

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ SAAD DAHLEB BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie de Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

Master en génie de procédés

Spécialité Pharmacie industrielle

Intitulé de mémoire

**Elaboration d'un anti inflammatoire à
base d'*Inula Viscosa***

Soutenu le 8 juillet 2021

Présenté par

DIFALLAH Adel et DEBBAH Abd ELFetah

Devant le jury composé de

Mme CHEMAT Z.

Pr.

Université Blida1

Présidente

Mme REBIHA M.

MCB

Université Blida1

Examinatrice

Mr BOUTOUMI.H

Pr.

Université Blida1

Promoteur

Année universitaire 2020/2021

Résumé

Le but de notre travail est d'exploiter l'activité de l'extrait méthanolique des feuilles de la plante *Inula Viscosa* qui est connu depuis longtemps pour ces propriétés thérapeutiques et la présenter sous une forme galénique semi solide : emulgel afin d'assurer la conservation et la stabilité d'une préparation semi solide utilisé dans le traitement des inflammations comme alternatif au médicament préconisé, le Diclofenac Sodique qui possèdent plusieurs effets indésirable tels que la nausée, vomissements, diarrhée, ballonnements, constipation et l'ulcères de l'estomac.

Notre choix de formulation s'est porté sur la forme émulsion car elle est plus avantageuse de fait qu'elle soit facile à étalée, non grasse, bio-compatible, émouline et cosmétiquement acceptable. Elle possède une meilleure stabilité, une longue durée de stockage et elle est mieux sélective pour un site spécifique.

Une étude de la stabilité et des essais d'activité anti-inflammatoire ont été effectuées sur l'émulsion. Ces essais ont révélés une bonne homogénéité, une stabilité d'émulsion et absence d'irritation au niveau cutané. Le contrôle galénique effectué révèle que l'émulsion est blanc, opaque, pâteux, stable et de pH = 5,6.

L'émulsion à base des polyphénols extraite d'inule visqueuse peut être effectivement utilisé au vue de ces résultats (pourcentage d'inhibition = 45.15 %) comme un anti-inflammatoire.

Mots clés : *Inula viscosa*, Anti-inflammatoire, Emulsion, polyphénols.

Abstract

The aim of our work is to exploit the activity of the methanolic extract of the leaves of the plant *Inula Viscosa* which is known for a long time for its therapeutic properties and present it in a semi solid galenic form: emulgel in order to ensure the conservation and stability of a semi-solid preparation used in the treatment of inflammation as an alternative to the recommended drug, Diclofenac Sodium which have several secondary undesirable effects such as nausea, vomiting, diarrhea, bloating, constipation and stomach ulcers.

Our choice of formulation is the emulgel form because it is more advantageous as it is easy to spread, non-greasy, bio-compatible, emollient and cosmetically acceptable. It has a better stability, a long storage life and is more selective for a specific site.

A stability study and anti-inflammatory activity tests were carried out on the emulgel. These tests revealed a good homogeneity, a stability of emulgel and absence of irritation at the cutaneous level. The galenic control revealed that the emulgel is white, opaque, pasty, stable and of pH = 5.6.

The polyphenols extract emulgel can be effectively used in view of these results (inhibition percentage = 45.15 %) as an anti-inflammatory.

Keywords: *Inula viscosa*, Anti-inflammatory, Emulgel, polyphenols.

ملخص

الهدف من عملنا هو استغلال نشاط المستخلص الميثانولي لأوراق نبات الطيون (الماغرامان) والمعروف منذ القدم بخصائصه العلاجية وتقديمه في شكل جالينيك مائع (امولجيل) من أجل ضمان حفظ واستقرار المنتج المستخدم في علاج الالتهابات كبديل للدواء الموصى به ديكلوفيناك صوديوم الذي له عدة تأثيرات جانبية مثل الغثيان والقيء والإسهال والانتفاخ والإمساك وتقرحات المعدة.

وقع اختيارنا على تركيبة امولجيل لأنه أكثر فائدة من حيث انه سهل للطي وغير دهني ومتوافق بيولوجيًا ومقبولاً من الناحية التجميلية ويتمتع باستقرار أفضل وعمر تخزين طويل وهو أكثر انتقائية لموقع معين.

تم إجراء دراسات الثبات واختبار النشاط مضاد للالتهابات على منتجنا وكشفت هذه الاختبارات عن تجانس واستقرار جيد وعدم وجود تهيج على مستوى الجلد. كشفت ايضا تجارب الهيئة التي اجريناها على المنتج انه أبيض، معتم، ذو مظهر كريمي مستقر ويتمتع بدرجة الحموضة = 5,6.

كشفت نتائج تجارب تثبيط الالتهابات عن نسبة مئوية تقدر ب 45.15 بالمئة ومنه يمكن استخدام الامولجيل المصنع من متعدد الفينولات المستخلصة من نبات الطيون بفعالية كمضاد للالتهابات

الكلمات المفتاحية: الطيون، مضاد الالتهاب، امولجيل، متعدد الفينولات.

Remerciement

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu

*De nous avoir donné la santé, la volonté et la patience
pour mener à terme notre formation de master et pouvoir
réaliser ce travail.*

*Nous adressons tout nos remerciements à Mr
BOUTOUMI.H notre promoteur qui nous a toujours
soutenus par ses conseils et ses encouragements.*

*Nous tenons à remercier Mme Belkadi.A notre Co-
promotrice pour tous les efforts qu'elle consenti tout au
long de l'élaboration de ce modeste travail Ses
encouragements et ses conseils.*

*A tous les enseignants de notre département qui n'ont cessé
à aucun moment de nous faire savourer le goût du savoir,
de nous avoir bénéficié de leurs conseils, de leurs
orientations et nous ont formés dans un domaine aussi
stratégique qu'est la pharmacie industrielle.*

*Enfin, nous adressons nos remerciements les plus sincères
tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la
concrétisation de ce travail notamment groupe CRD
SAIDAL qui nous a prêté main forte pour
l'accomplissement de ce thème.*

Dédicaces

Je dédie tout d'abord ce travail :

A mes parents qui n'ont jamais cessé de croire en mes capacités à obtenir ce diplôme et qui m'ont poussé à continuer malgré les difficultés.

A mon frère : Walid pour son encouragement.

A mon binôme : Abdelfetah pour son amitié et sa patience.

A mes amis : Youcef, Mohammed, Abdelallah, Djamel, Hamza, ihab, Ahmed, Reda, Idriss et Redouane pour leurs appuis et leurs encouragements.

A mon amie Nesrine pour son aide et son soutien moral.

A tous mes amis, et tous ceux qui me sont chers, qui occupent une place

Dans mon cœur.

A toutes personnes ayant contribué de près ou de loin

Pour la réalisation de ce travail.

ADEL.

Dédicaces

Je dédie tout d'abord ce travail à mes parents qui n'ont jamais cessé de croire en mes capacités à obtenir ce diplôme et qui m'ont poussé à continuer malgré les difficultés.

A mon frère Zaki pour son encouragement.

A mes sœurs Zineb, Khaoula, Wafaa pour leurs encouragements permanent et leur soutien moral.

A mon binôme Adel pour son amitié et sa patience.

A tous mes amis pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire.

A toutes personnes ayant contribué de près ou de loin

Pour la réalisation de ce travail.

ABDELFETAH.

Table de matière

Introduction générale.....	15
Chapitre 1.....	17
Inule Visqueuse	17
1.1 Généralité sur les plantes médicinales	17
1.1.1 Historique	17
1.1.2 Définition	17
1.1.3 Les plantes médicinales et leurs utilisations	17
1.1.4 Présentation de la plante <i>Inula viscosa</i>	18
1.1.4.1 Taxonomie.....	18
1.1.4.2 La systématique	18
1.1.4.3 Description de la plante	18
1.1.4.5 Répartition géographique.....	19
1.1.4.6 Composition chimique	19
1.1.4.7 Usages traditionnels.....	20
1.1.4.8 Les activités biologiques d' <i>Inula viscosa</i>	21
1.2 Métabolites secondaires de l'inule visqueuse.....	21
1.2.1 Généralités sur les métabolites secondaires	21
1.2.2 Classification des métabolites secondaires.....	22
1.2.2.1 Alcaloïdes	22
1.2.2.2 Terpénoïdes.....	22
1.2.2.3 Les composés phénoliques	22
1.2.2.3.1 Flavonoïdes.....	24
a) Les flavonols.....	24
b) Les flavanones	25
1.2.2.3.2 Les tanins.....	25
1.3 Activité anti-inflammatoire.....	26
1.3.1 Définition de l'inflammation	26
1.3.2 Action anti-inflammatoire	26
1.3.3 Type d'anti-inflammatoires.....	26
1.3.3.1 Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)	26
1.3.3.2 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)	27
1.3.3.3 Les anti-inflammatoires naturels à base de plantes	27
Chapitre 2.....	28

Formulation semi solide	28
2.1 La formulation	29
2.1.1 Définition de la formulation	29
2.1.2 Les différents domaines de la formulation	29
2.1.2.1 Formulation agro-alimentaire	29
2.1.2.2 Formulation pharmaceutiques	29
2.1.2.3 Formulation cosmétiques	29
2.2 Les émulsions	30
2.2.1 Définition des émulsions	30
2.2.2 La composition des émulsions	31
2.2.2.1 Phases hydrophobe	31
2.2.2.2 Phases hydrophile	31
2.2.3 Les émulsifiants	31
2.2.4 Les divers types d'émulsions	32
2.2.4.1 Emulsions simples	33
2.2.4.2 Emulsions selon la taille des gouttelettes	34
2.3 Les gels	34
2.3.1 Généralité sur les gels	34
2.3.2 Les types de gel	34
2.3.2.1 Les gels lipophiles	34
2.3.2.2 Les gels hydrophiles	35
2.4 Emulgels	35
2.4.1 Avantage des émulgels	36
2.4.2 Formulation d'un émulgel	36
2.4.3 Emulsification	37
2.4.4 Choix d'agent gélifiant	38
Chapitre 3	39
Matériels et Méthodes	39
Introduction	40
3.1 Matériels	41
3.1.1 Matériels végétales	41
3.1.2 Matériels animales	41
3.1.3 Produits chimique	41
3.1.3.1 Solvants chimiques	41

3.1.3.2	Matières Premières	41
3.1.4	Instruments utilisées	43
3.2	Méthodes.....	44
3.2.1	Extraction par Soxhlet.....	44
3.2.1.1	Délipidation	45
3.2.1.2	Extraction des polyphénols	45
3.2.2	Screening phytochimique	45
3.2.3	Dosages des polyphénols utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu	46
3.2.4	Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> par la méthode de dénaturation de sérum bovine albumine	49
3.2.5	Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> en utilisant l'extrait l'aqueux	49
3.2.6	Préparation de l'émulgel	50
3.2.7	Contrôle de produit fini	51
3.2.8	Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> sur l'emulgel	53
Chapitre 4.....		56
Résultats et Discussion		56
4.1	Détermination de rendement	57
4.2	Screening phytochimique	57
4.3	Dosage des polyphénols totaux par le réactif Folin-Ciocalteu.....	58
4.4	Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> par la méthode de dénaturation de Sérum Bovine Albumine	58
4.5	Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> en utilisant l'extrait l'aqueux.....	61
4.6	Caractérisation de l'émulgel à base d' <i>Inula viscosa</i>	62
4.6.1	Propriétés organoleptique.....	63
4.6.2	Test de stabilité (Centrifugation)	63
4.6.3	Mesure de pH.....	64
4.6.4	Mesure de conductivité.....	64
4.6.5	Microscope Optique.....	64
4.6.6	Diffraction dynamique de la lumière (DLS)	65
4.6.7	Etude de comportement rhéologique	66
4.7	Activité anti-inflammatoire <i>in vivo</i> en utilisant le produit fini (émulgel).....	68
Conclusion Générale		70
Conclusion.....		71
Références bibliographiques.....		72
Référence bibliographique.....		73

Liste de figures

Figure 1.1 : feuilles d'inule Visqueuse.

Figure 1.2 : Fleures d'inule visqueuse.

Figure 1.3 : Répartition géographique de la plante.

Figure 1.4 : Structure générale des flavonoïdes.

Figure 1.5 : Structure chimique d'un flavonol.

Figure 1.6 : Structure chimique d'un flavonone.

Figure 2.1 Représentation schématique d'une émulsion phase dispersée et phase dispersante.

Figure 2.2 Représentation schématique d'une émulsion avec émulsifiant.

Figure 2.3. Schématisation classique des tensioactifs.

Figure 2.4. Représentation schématique d'une émulsion des deux types simples H/E et E/H.

Figure 2.5. Aspect des émulsions selon la taille des gouttelettes.

Figure 2.6 : Schéma de préparation de l'Emulgel.

Figure 3.1 : schéma de l'extracteur Soxhlet.

Figure 3.2 : courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

Figure 4.1 : Résultats d'inhibition de la dénaturation

Figure 4.2 : Pattes coupés de souris de différents lots

Figure 4.3 : Résultats de l'activité anti-inflammatoire in vivo par voie orale

Figure 4.4 : Emulgel a base de polyphénols

Figure 4.5 : Résultat de test de centrifugation

Figure 4.6 : Grossissement x 10

Figure 4.7 : Grossissement x 40

Figure 4.8 : Tailles des particules de premier essai (1)

Figure 4.9 : Tailles des particules de premier essai (2)

Figure 4.10 : Tailles des particules de deuxième essai.

Figure 4.11: Variation de la viscosité (η) de l'émulgel en fonction du taux de cisaillement ($\dot{\gamma}$).

Figure 4.12 : Variation de la contrainte de cisaillement (τ) de l'émulgel en fonction de taux de cisaillement ($\dot{\gamma}$).

Figure 4.13: Variation des modules de conservation (élastique) G' et des modules au repos (visqueux) G'' de l'émulgel.

Figure 4.14 : Oreilles droites et gauches de souris de chaque lot.

Figure 4.15 : Résultats de l'activité anti-inflammatoire in vivo en utilisant l'émulgel

Liste de tableaux

Tableau 1.1 : Classification systématique d'*Inula viscosa*.

Tableau 1.2 : Usages traditionnels de quelques espèces du genre *Inula*.

Tableau 1.3 : Les principales classes des composés phénoliques.

Tableau 2.1 : Les 2 types d'émulsions simples.

Tableau 3.1 : Solvants Chimiques utilisés.

Tableau 3.2 : Les procédés utilisés et leurs produits chimiques.

Tableau 3.3 : les instruments utilisés.

Tableau 3.4 : différentes concentrations des solutions d'acide gallique.

Tableau 4.1 : Résultats du screening phytochimique.

Tableau 4.2: Résultats de dosage des polyphénols totaux.

Tableau 4.3 : Résultats de test anti-inflammatoire in vitro.

Tableau 4.4 : Poids des pattes de souris de chaque lot.

Tableau 4.5 : Résultats de test anti-inflammatoire in vivo en utilisant l'extrait aqueux.

Tableau 4.6 : Epaisseur d'Oreilles droite de souris de chaque lot avant et après 4h.

Tableau 4.7 : Résultats de test anti-inflammatoire in vivo en utilisant l'émulgel.

Liste des abréviations

AIS : Anti-inflammatoires stéroïdiens

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

EI : Effets indésirables

DLS : Dynamic Light Scattering (Diffusion Dynamique de la lumière)

Emulsion H/E : émulsion huile dans eau

Emulsion E/H : émulsion eau dans huile

FC : Follin Ciocalteu

pH : potentiel hydrogène

UV-visible : ultraviolet-visible

SBA : Sérum Bovine Albumine

Introduction générale

Au fil des siècles, de nombreuses plantes ont été utilisées par la majorité des habitants de la terre, compte tenu de leurs propriétés thérapeutiques, comme remède en médecine traditionnelle. L'Algérie a une position géographique particulière qui lui confère une large bande de végétation très variée, notamment de plantes aromatiques médicinales, dont la phytothérapie est une pratique très ancienne dans ce pays. Cette dernière possède une flore riche et variée. Il existe environ 3000 espèces de plantes dont 15% sont endémiques et appartenant à plusieurs familles botaniques [1].

Dans le monde 80 % de la population a recours aux plants médicinales pour se soigner et cela est dû à :

- Leurs bonnes performances thérapeutiques et leur faible toxicité.
- Le cout élevé des médicaments non accessibles à certaines catégories de la population.
- Les habitudes socioculturelles de la population.

Ces plantes fournissent des métabolites primaires en grande quantité et des métabolites secondaires en faible quantité mais en plus grande importance [2].

De ce fait, et dans le cadre de la valorisation de la flore Algérienne, nous nous sommes intéressés aux espèces de la famille des Astéracées *Inula viscosa*, une plante abondante choisie parmi cette biomasse végétale en raison du bénéfice des propriétés thérapeutiques qui lui sont attribuées en médecine traditionnelle.

Actuellement ces molécules bioactives issues de plantes suscitent un intérêt particulier par leurs multiples activités (antibactérienne, antioxydant, anti-inflammatoire et insecticides...etc.). C'est ainsi que, l'homme exploite ces métabolites pour un rôle bénéfique, dans un large éventail d'application (la santé humaine et l'industrie pharmaceutique) [3].

Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les anti-inflammatoires, comme les polyphénols sont largement utilisés dans les domaines pharmaceutiques pour leurs effets Thérapeutiques [4].

Ces polyphénols, font l'objet de nombreuses recherches. Ils sont souvent utilisés en phytothérapie comme inhibiteurs enzymatiques, antioxydants, anti-inflammatoires et anti radicalaires [5].

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) constituent une classe thérapeutique très utilisée en raison de leur activité antipyrétique, antalgique et anti-inflammatoire. Ils sont utilisés dans de nombreuses indications comme dans les douleurs ostéo-musculaires, les affections rhumatologiques et traumatologie.

L'utilisation des AINS exposent les patients à de nombreux effets indésirables (EI) via leur toxicité digestive, hépatique, rénale et cardiovasculaire. Selon des études réalisées en Grande Bretagne, en France, aux USA un grand nombre d'hospitalisations dues aux EI des médicaments étaient imputables aux AINS [6].

Nous assistons à un regain d'intérêt des consommateurs pour les produits naturels. C'est pour cela que les industriels développent de plus en plus des procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Ainsi que, les biologistes et les chimistes reconnaissent bien l'importance majeure de ces biomolécules et leurs méthodes d'extraction [7].

Notre travail est basé sur la formulation d'une forme galénique semi-solide émulgel à base de polyphénols extraite des feuilles d'*Inula Viscosa* comme alternatif aux autres formes galéniques semi solide à base de Diclofenac Sodique qui possède plusieurs effets secondaires indésirables.

Pour réaliser cet objectif, nous avons structuré le travail comme suite :

- La première partie est la recherche bibliographique, nous y présenterons Les matières végétales, leur extrait, leurs utilisations et les travaux dont elles font objet.
- La deuxième partie est une étude expérimentale dans laquelle est décrite la technique d'extraction utilisée, le screening phytochimique de l'extrait, la caractérisation physico-chimique et biologique des substances obtenus ainsi que le processus de préparation de l'Emulgel.
- Enfin, cette étude est achevée par une conclusion générale qui mettra l'accent sur les points forts des résultats obtenus.

Chapitre 1

Inule Visqueuse

1.1 Généralité sur les plantes médicinales

1.1 Historique

Des plantes médicinales ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines parce qu'elles contiennent des composants de valeur thérapeutique. Récemment, l'acceptation de la médecine traditionnelle comme forme alternative de santé et le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques disponibles a mené des auteurs à étudier l'activité antimicrobienne des plantes médicinales et en raison d'une conscience croissante des effets secondaires négatifs infligés par les drogues modernes, beaucoup cherchent les remèdes normaux sans effets secondaires et bien sûr coût élevé de médecine conventionnel [8].

Depuis toujours les plantes ont constitué la source majeure de médicaments grâce à la richesse de ce qu'on appelle le métabolisme secondaire. Cependant, l'homme n'a découvert les vertus bénéfiques des plantes que par une approche progressive, facilitée par l'organisation des rapports sociaux, en particulier à partir du néolithique (8000 ans av. J.C.). L'observation liée à l'expérience et la transmission des informations glanées au cours du temps font que certains hommes deviennent capables de poser un diagnostic, de retrouver la plante qui soigne et finalement de guérir le malade [9].

1.2 Définition

Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses, [10].

Environ 35000 espèces des plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains [11].

1.3 Les plantes médicinales et leurs utilisations

Les plantes médicinales sont utilisées pour prévenir, soigner ou soulager divers maux. Cette connaissance ancestrale fut à l'arrivée de la médecine traditionnelle mise de côté au profit de la prise de médicaments d'ordonnance souvent plus puissants et agissant plus rapidement que la médecine traditionnelle utilisée auparavant. Par contre, aujourd'hui nous assistons au retour de l'utilisation des plantes médicinales pour favoriser la santé. Chaque plante médicinale a une propre définition et une utilisation spécifique [12].

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisées directement comme des agents thérapeutiques, mais aussi comme matière première pour la synthèse des médicaments ou comme modèles pour les composés pharmaco-logiquement actifs [13]. Les plantes sont donc la source principale de substances actives, et pas uniquement dans la médecine traditionnelle [14].

1.4 Présentation de la plante *Inula viscosa*

1.4.1 Taxonomie

Inula : viens du grec : Inéo, qui signifie-je purge. (Allusion à une propriété thérapeutique de la plante) [15].

Viscosa : veut dire visqueuse [16].

1.4.2 La systématique

Tableau 1.1 : Classification systématique d'*Inula viscosa* [17].

Embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotyledones
Ordre	Campunulales
Famille	Composées
Genre	<i>Inula</i>
Espèce	viscosa - L

1.4.3 Description de la plante

L'Inule visqueuse est une plante toute glanduleuse agréable (selon certains, désagréable pour d'autres), à odeur forte qui appartient à la famille des Astéracées. Elle est ligneuse à sa base (forte racine pivotante lignifiée pouvant atteindre 30 cm de long. Elle atteint de 50 cm à 1m de hauteur et présente des capitules à fleurs jaunes très nombreux au sommet de la tige. Les feuilles sont entières ou dentées, aiguës [17]. C'est une plante largement répandue dans le nord de l'Algérie et dans tout le pourtour méditerranéen, les rocailles, garrigues, terrains argileux un peu humide et les bords des routes. Son histoire thérapeutique est très diversifiée et connu depuis longtemps par les guérisseurs.



Figure 1.1 : feuilles d'inule visqueuse.



Figure 1.2 : Fleures d'inule visqueuse.

1.4.5 Répartition géographique

Répandue dans tout le bassin méditerranéen, sur les sols salés, les prairies humides et les bords de cours d'eau [17], largement répandue en Algérie dans les rocailles et les terrains argileux.



Figure 1.3 : Répartition géographique d'*Inula viscosa*.

1.4.6 Composition chimique

Des recherches antérieures sur les composants chimiques isolés à partir de l'inule visqueuse ont révélé chez cette espèce la présence de nombreux composés biologiquement et pharmaco-logiquement actifs, notamment des flavonoïdes, terpénoïde, [18], lactones sesquiterpènes (tomentosine, inuviscolide et acide isocostique) [19], et huiles essentielles [20]. Dont la concentration varie selon les différentes parties (feuilles, racines et fleurs). Ses composants majoritaires sont le camphre, l'eucalyptol et le thymol [21].

De plus, une étude menée sur l'extrait des feuilles d'*Inula viscosa* a montré sa richesse en constituants des polyphénols [22]. Donc, elle est une bonne source de phénols et d'antioxydants naturels qui pourraient avoir des avantages pour la santé [23].

1.4.7 Usages traditionnels

La médecine traditionnelle a attribué de nombreuses propriétés thérapeutiques aux espèces du genre *Inula* [24]. Le tableau 1.2 présente les multiples usages traditionnels de quelques espèces du genre *Inula*.

Tableau 1.2 : Usages traditionnels de quelques espèces du genre *Inula*.

Espèces	Usages traditionnels	Réf
<i>Inula helenium</i> L.	Comme un remède familial en Japon. Comme une diaphorèse en Europe, et en Taïwan et Chine, comme un agent thérapeutique pour la tuberculose et l'entrogastrique chronique. Elle a aussi des propriétés antiseptiques, antibiotiques, antispasmodiques, toniques et aromatiques.	[25].
<i>Inula britannica</i> L.	Les fleurs de ces plantes ont été utilisées pour le traitement des troubles digestifs, la bronchite, et l'inflammation. <i>Inulabritanica</i> a aussi une activité anti-inflammatoire, antibactérienne, antihepatique .	[26].
<i>Inula royleana</i> L.	Ces racines possèdent une activité anti-inflammatoire antibiotique, et une activité vermifuge.	[27, 28].
<i>Inula racemosa</i> L.	En médecine traditionnelle Chinoise, les racines d'herbe d' <i>Inularacemosa</i> ont été habituellement employées pour fortifier la rate, réguler la fonction de l'estomac, soulager la dépression du qi de foie, alléger les douleurs rhumatismales particulièrement entre le cou et les épaules	[24].

<i>Inula montana</i> L.	Possède une activité sur le système digestif	[25].
<i>Inula salicina</i> L.	Digestif, antidiarrhéique	[24].
<i>Inula conyza</i> DC.	Laxative, vulnéraire	[24].
<i>Inula viscosa</i> L.	Possède une activité curative de blessure avec l'extrait du d' <i>Inula viscosa</i>	[24].

1.4.8 Les activités biologiques d'*Inula viscosa*

La médecine traditionnelle a attribué de nombreuses propriétés thérapeutiques aux espèces du genre *Inula*. L'Inule visqueuse est considérée comme la reine des plantes médicinales, elle est utilisée pour traiter divers maux grâce à ses différentes activités qui ont été effectués à partir des travaux antérieures dont :

- Activité anti-inflammatoire [29].
- Activité antidiabétique [30].
- Activité antipyrétique et antiseptique [31].
- Activité antifongique contre les cérotophytes [32] et contre les moisissures [33].
- Activité antimicrobienne [34].
- Activité curative de blessure [35].
- Activité hypolipémiante [30].
- Activité anti-ulcérogénique [36].
- Activité antioxydant [37].
- Activité antivirale [38].
- Activité anti tumoral [39].

1. Métabolites secondaires de l'inule visqueuse

2.1 Généralités sur les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des composés produits par des végétaux. Ils appartiennent à des groupes chimiques variés et sont souvent produits en faible quantité. Ils interviennent dans l'adaptation de la plante à son environnement. La défense contre les prédateurs et les pathogènes, comme agents allélopathiques et pour attirer les agents chargés de la pollinisation ou de la dissémination des fruits [40].

2.2 Classification des métabolites secondaires

On observe 03 classes principales des métabolites secondaires : les alcaloïdes, les terpénoïdes et les composés phénoliques.

2.2.1 Alcaloïdes

Un alcaloïde est un composé organique azoté plus ou moins basique d'origine naturelle le plus souvent végétale dont l'action sur l'homme et les animaux peut être bénéfique [41]. On les rencontre chez de nombreux végétaux et ils peuvent être présents dans tous les organes [37].

Les alcaloïdes sont généralement très amers et bien qu'ils soient souvent toxiques, ils peuvent néanmoins avoir certaines propriétés pharmacologiques, tels que l'activité sédatrice, les effets sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) et des propriétés antispasmodiques [42].

2.2.2 Terpénoïdes

Les terpénoïdes, appelés aussi terpènes, existent chez toutes les plantes et représentent de loin la plus vaste catégorie de métabolites secondaires, avec plus de 22.000 composés décrits [43]. Les terpènes sont des molécules organiques constituées par un multiple de 5 carbones nommé isoprène de formule générale $[C_5H_8]_n$ [41]. On peut classer tous les terpénoïdes en fonction du nombre de leurs unités isoprènes. Le groupe des terpénoïdes comprend des monoterpènes (10 atomes de carbone dans la molécule), des sesquiterpènes (15 atomes de carbone), des di terpènes (20 atomes de carbone) [44].

Les propriétés thérapeutiques des terpènes sont surtout connues pour lutter contre l'inflammation [45]. Ils sont aussi antiseptiques et bactéricides [46].

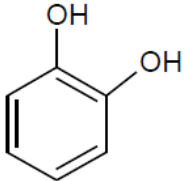
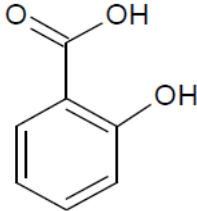
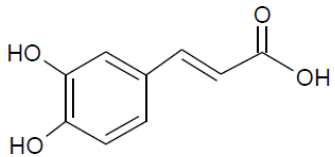
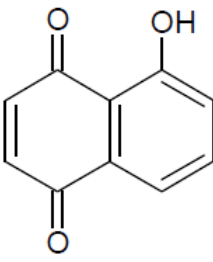
2.2.3 Les composés phénoliques

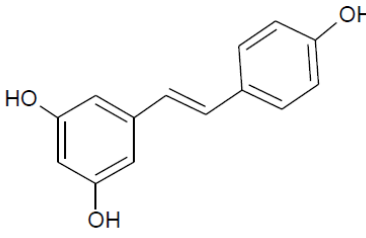
Les composés phénoliques sont présents chez toutes les plantes. Ils sont d'importants produits du métabolisme secondaire des plantes. On les trouve en abondance dans les parties vertes. Le nombre de composés phénoliques connus, se monte à des milliers. Ils sont partout dans la nature et, bien qu'ils n'en constituent qu'une toute petite partie, ils jouent un rôle important dans notre alimentation. Ils sont à l'origine de l'astringence de certains aliments et de l'amertume que d'autres laissent sur la langue. Ils sont aussi en partie, responsables de la couleur ni-jaune ni-brune de certains fruits et légumes [47]. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié

au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside [48].

Ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anti-allergènes, vasodilatateurs et antioxydants [49].

Tableau 1.3 : Les principales classes des composés phénoliques [50].

Squelette carbonée	Classe	Exemple	Structure
C ₆	Phénols simples	Catéchol	
C ₆ -C ₁	Acides hydroxybenzoïques	Acide salicylique	
C ₆ -C ₃	Acides hydroxycinnamiques Coumarines	Acides caféïque	
C ₆ -C ₄	Naphtoquinones	Juglone	

C ₆ -C ₂ -C ₆	Stilbènes	Resvératrol 
--	-----------	---

2.2.3.1 Flavonoïdes

Ce sont des pigments quasiment universels chez les végétaux. Ils sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles [51].

Les flavonoïdes sont des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétéro cycleoxygéné, cycle C [51].

La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques, parmi eux les : flavanols, flavanones [52].

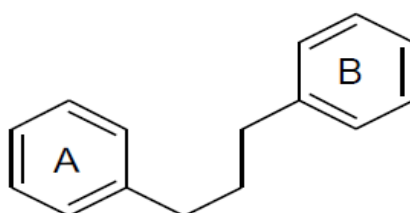


Figure 1.4 : Structure générale des flavonoïdes.

a) Les flavonols

Les flavonols (hydroxy-3 flavone) sont largement répandus. Ils sont incolores. Ils sont caractérisés par la présence de Carbone en position 4 et d'un groupement hydroxyle en position 3. Les flavonols qui possèdent en plus des hydroxydes en 6 ou 8 colorent certaines fleurs en jaune telle que la primevère [53].

Exemple de Structure chimique : 3-hydroxy-2-phénylchromén-4-one.

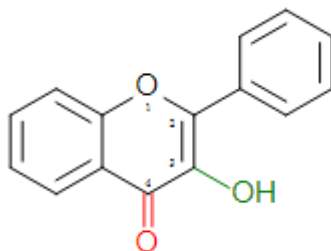


Figure 1.5 : Structure chimique d'un flavonol.

b) Les flavanones

Ces composés ne comportent pas des groupements OH en position 3 et présentent de fortes similitudes de structures avec les flavonols. Dans cette catégorie sont rassemblés les flavonoïdes responsables de la saveur amère de certains fruits tels que les pamplemousses [51].

Exemple de structure chimique : dihydro-2-phenylchromén-4-one.

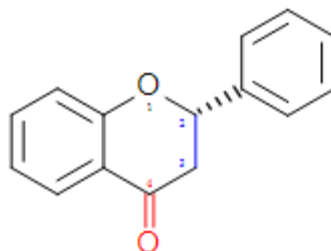


Figure 1.6 : Structure chimique d'un flavanone.

2.2.3.2 Les tanins

Les tanins, ou acides tanniques, sont des composés organiques complexes présents dans pratiquement toutes les plantes à des concentrations diverses [53]. Ils sont souvent contenus dans l'écorce ou dans les feuilles. Ils ont un goût piquant désagréable les rendant immangeables pour le bétail. Les tanins peuvent resserrer les cellules de la peau. Ils peuvent être utilisés pour tanner le cuir ou encore à des fins thérapeutiques pour traiter la diarrhée ou les irritations cutanées [54].

2. Activité anti-inflammatoire

3.1 Définition de l'inflammation

L'inflammation est une réaction de défense et d'adaptation de l'organisme à une stimulation cellulaire excessive ou anormale due à une agression tissulaire d'origine diverse. Cette dernière peut être d'origine physique, chimique, biologique (réponse immunitaire) ou infectieuse [55].

Depuis près de vingt siècles, l'inflammation est diagnostiquée grâce aux signes cardinaux : Rougeur, chaleur, douleur.

3.2 Action anti-inflammatoire

Elle inhibe la réponse inflammatoire quel que soit l'agent pathogène responsable, entraînant une réduction de la vasodilatation et de l'œdème en diminuant le chimiotactisme et la migration leucocytaire vers le foyer inflammatoire.

Dans les pays en voie de développement les plantes possédant une activité anti-inflammatoire pourraient éventuellement constituer une alternative dans la thérapeutique anti-inflammatoire du fait de leur meilleure accessibilité et de leur moindre toxicité en général, en comparaison aux anti-inflammatoires classiques [56].

3.3 Type d'anti-inflammatoires

On distingue 3 différents types d'anti-inflammatoires, en fonction de leurs modes d'action :

- les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ;
- les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) ;
- les anti-inflammatoires naturels à base de plantes.

3.3.1 Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens sont utilisés depuis plusieurs dizaines d'années pour le traitement des maladies inflammatoires chroniques telles que l'arthrite rhumatoïde, dermatoses inflammatoires, maladies gastro-entérologiques et les maladies auto-immunes. Ils constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol, principal glucocorticoïde surrénalien, qui ont tous une activité hormonale, concernant principalement les régulations métaboliques, et exercent un effet freinateur sur l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien [55].

Les glucocorticoïdes de synthèse, communément appelés corticoïdes, permettent d'obtenir une meilleure activité anti-inflammatoire et la dissociation entre les effets anti-inflammatoires et les effets physiologiques cortisoniques cortisoliques [55].

Il se trouve que les AIS ont de nombreux effets indésirables, à l'exemple des troubles gastro-intestinaux, l'hypertension artérielle, la dérégulation de la synthèse des glucocorticoïdes à la fin du traitement, l'ostéoporose, les cataractes et la prise de poids [57].

3.3.2 Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Actuellement, il y a plus de 50 différents anti-inflammatoire non stéroïdiens sur le marché mondial. Grace à leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétique et antalgiques ; les AINS sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde [58].

Il s'agit d'une famille hétérogène regroupent des différentes classes chimiques de synthèse de structure non stéroïdienne, différence des glucocorticoïdes. Ils peuvent être prescrits pour le traitement de la douleur, la polyarthrite rhumatoïde et l'arthrose [59].

Néanmoins, l'usage de ces drogues est associé à des effets secondaires défavorables graves, tels que le saignement gastro-intestinal et ulcères peptiques souvent dues à leur utilisation clinique à long terme [60]. Ils influent aussi sur le système nerveux central [61].

Administrés par voie générale, les AINS atteignent des concentrations intra-articulaires suffisantes pour qu'il ne soit pas nécessaire de les administrer localement. La voie percutanée a une bonne diffusion dans les tissus mous et les petites articulations, une fraction minime du produit passe dans la circulation générale [60].

3.3.3 Les anti-inflammatoires naturels à base de plantes

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

Des études ont montré que des extraits de plantes médicinales sont riches en composés phénoliques, qui semblent présenter un intérêt réel et potentiel dans le traitement de l'inflammation aigue et chronique, la protection contre les effets du stress oxydatifs [62]. Pareillement aux extraits de la plante médicinale Inule visqueuse, ils constituent une source inestimable en divers composés phénoliques doués d'activité antioxydants et anti-inflammatoires, ce qui témoigne et justifie leur utilisation dans le traitement des diverses maladies [63].

Chapitre 2

Formulation semi solide

2.1 La formulation

2.1.1 Définition de la formulation

La formulation est la connaissance de la science des matériaux et de la chimie physique, jointe à l'art d'arriver à la meilleure combinaison de constituants. Alors que la chimie traite de la réaction chimique entre substances, la formulation traite de la coexistence de substances sans réactions chimiques [64].

Elle est aussi l'ensemble des connaissances et des opérations mises en œuvre lors du mélange, de l'association ou de la mise en forme d'ingrédients d'origine naturelle ou synthétique, souvent incompatibles entre eux, de façon à obtenir un produit commercial caractérisé par sa fonction d'usage et en aptitude à satisfaire un cahier de charges préétabli [65].

2.1.2 Les différents domaines de la formulation

La formulation touche toutes industries de transformation de la matière depuis les industries amont produisant les matières premières jusqu'aux industries aval, directement en contact avec l'utilisateur final (industriel ou grand public), qui fabriquent des formulations prêtes à l'emploi on site :

2.1.2.1 Formulation agro-alimentaire

L'industrie alimentaire est basé sur quatre principes qui sont : la transformation des produits par cuisson ou fermentation, l'extraction, séparation ou bien la purification des constituants des produits naturels, d'effectuer des mélanges pour obtenir les goûts et les textures voulues, et enfin de stabiliser les produits de l'agriculture et de la pêche par séchage, traitement thermique ou frigorifique, etc.

2.1.2.2 Formulation pharmaceutiques

Ce type de formulation consiste en générale au développement des médicaments en terme simple, c'est de transformer des idées en principes actifs potentiels pour le développement, l'objectif du développement étant de transformer un principe actif en un médicament [66]. Le développement regroupe 3 étapes : pré-formulation, formulation et optimisation [67, 68,69].

2.1.2.3 Formulation cosmétiques

Par définition, la cosmétique, terme générale appliqué à toute substance ou préparation destinée à être mise en contact avec les divers parties superficielles du corps humains ou avec les dents et les muqueuses buccales en vue exclusivement ou principalement de les nettoyer,

de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de corriger les odeurs corporelles et/ou de les protéger ou les maintenir en bon état [70].

Dans ce qui suit le centre d'intérêt va se basé sur la formulation pharmaceutique.

2.2 Les émulsions

2.2.1 Définition des émulsions

On désigne sous le nom d'émulsion, l'ensemble des systèmes liquide/liquide dont le prototype le plus répandu est le lait. Une émulsion selon la définition courante est un système constitué par un liquide se trouvant dispersé sous forme de fines gouttelettes dans un autre liquide, les deux liquides considérés étant insolubles ou très peu solubles l'un dans l'autre [71].

Le liquide sous forme de gouttelettes est qualifié de phase dispersée, phase discontinue ou phase interne ; l'autre liquide est appelé phase dispersante, phase continue ou phase externe.

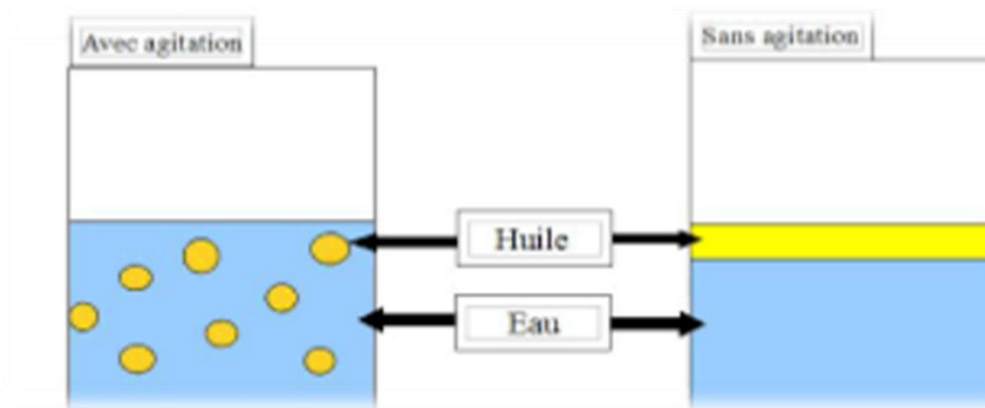


Figure 2.1 Représentation schématique d'une émulsion phase dispersée et phase dispersante.

Les émulsions, instables thermodynamiquement, possèdent un minimum de stabilité cinétique, assurée le plus souvent par l'addition d'agents tensioactifs, de polymères ou de macromolécules (émulsifiants) [72].

2.2.2 La composition des émulsions

2.2.2.1 Phases hydrophobe

La phase huileuse, appelée également phase grasse, phase lipophile, phase hydrophobe ou phase organique, comporte des huiles, des cires et des graisses (respectivement liquides, solides ou semi-solides à température ambiante) d'origine végétale, animale ou minérale. Des substances synthétiques dérivées ou non dérivées de substances naturelles sont aussi utilisées. La phase huileuse d'une émulsion est généralement composée d'un mélange d'ingrédients.

2.2.2.2 Phases hydrophile

La phase aqueuse ou phase hydrophile contient l'eau et divers composants hydrosolubles. Les solutés de la phase aqueuse sont de nature diverse : ions minéraux, acides, bases, vitamines, glucides, protéines...etc.

En fonction du type d'émulsion (alimentaire, cosmétique, pharmaceutique) des substances peuvent être ajoutées à l'une ou l'autre phase pour conférer au produit diverses propriétés (augmentation de la durée de conservation, modification du goût, de la texture, de l'aspect, maintien de l'humidité...etc.). Les additifs utilisés sont très variés. Ils se distribuent entre phase aqueuse et phase grasse suivant leur solubilité. Leur utilisation est soumise à une réglementation qui dépend du secteur industriel. Les produits pharmaceutiques et les produits cosmétiques de soin comportent d'autre part au moins un principe actif dans l'une ou l'autre phase de l'émulsion [73].

2.2.3 Les émulsifiants

Les émulsions conventionnelles sont des systèmes thermodynamiquement instables qui se séparent, plus ou moins rapidement, en deux phases. On parle de systèmes hors équilibre. En raison de cette instabilité les émulsions industrielles comportent toujours des émulsifiants, ou émulsionnants, formant un film interfacial, ou film mince, ou membrane interfaciale, autour des globules de phase dispersée. Il s'agit le plus souvent de petites molécules amphiphiles appelées tensioactifs, surf actifs, surfactants ou agents de surface [66].

La schématisation classique des tensioactifs met en évidence un pôle (tête) hydrophile et un pôle (queue) hydrophobe.

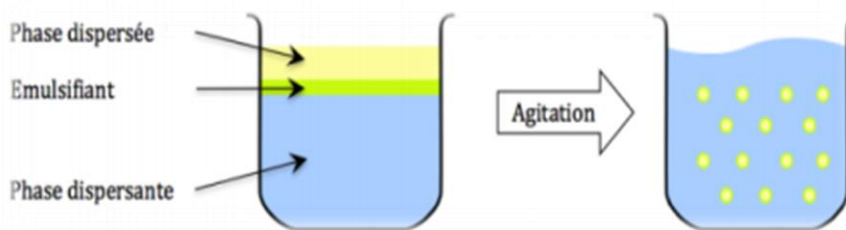


Figure 2.2 Représentation schématique d'une émulsion avec émulsifiant.



Figure 2.3. Schématisation classique des tensioactifs.

Une partie apolaire (Queue hydrophobe) : Hydrophobe, lipophile, présentant une affinité pour la phase huileuse (soluble dans l'huile).

Une partie polaire (Tête hydrophile) : Hydrophile, présentant une affinité pour la phase aqueuse (soluble dans l'eau).

La partie lipophile est constituée par une ou plusieurs chaînes hydrocarbonée(s) aliphatique(s), linéaire(s), ramifiée(s), aromatique (s) ou alkyl aromatique(s). Le caractère hydrophobe de la partie hydrocarbonée varie avec le nombre d'atomes de carbone, le nombre d'insaturations et les ramifications.

La partie hydrophile, ou tête polaire, est constituée par un ou plusieurs groupements polaires (s), ionique (s) ou non ioniques (s).

C'est cette polarisation fonctionnelle qui détermine l'organisation des tensioactifs dans l'émulsion. Même si elles sont thermodynamiquement instables, les émulsions industrielles peuvent donc présenter une stabilité très importante dans le temps (stabilité cinétique) [73].

2.2.4 Les divers types d'émulsions

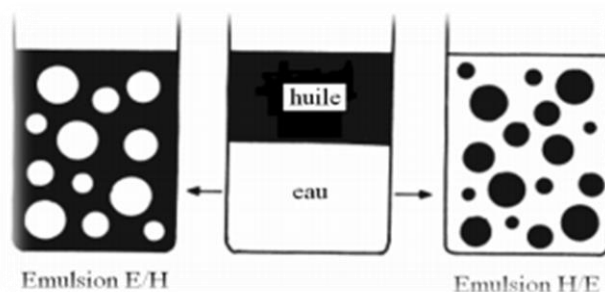
Les deux phases non miscibles de l'émulsion n'ont pas la même solubilité. L'une est hydrophobe ou lipophile. On parle couramment de phase huileuse (mais elle n'est pas forcément lipidique). L'autre est hydrophile, on parle aussi de phase aqueuse.

2.2.4.1 Emulsions simples

Elles sont composées d'une phase lipophile, d'une phase hydrophile et d'un émulsifiant. Suivant que la phase continue est lipophile ou hydrophile, on définit deux types d'émulsions qui sont classés dans tableau (2.1). Les symboles utilisés désignent toujours la phase dispersée en premier. Les émulsions de type huileux étant les moins courantes, elles sont parfois appelées émulsions inverses.

Tableau 2.1 : Les 2 types d'émulsions simples [74].

Sens de l'Émulsion	Phase dispersée	Phase dispersante	Symboles
Émulsion Huile dans Eau (= Huile/Eau = Oil/Water) = émulsion de type aqueux = émulsion à eau externe	Lipophile	hydrophile	L/H, O/W, H/E
Émulsion Eau dans Huile (= Eau/Huile = Water/Oil) = émulsion de type huileux = émulsion à huile externe	Hydrophile	lipophile	H/L, W/O, E/H

**Figure 2.4.** Représentation schématique d'une émulsion des deux types simples H/E et E/H.

2.2.4.2 Emulsions selon la taille des gouttelettes

L'émulsion telle qu'elle a été définie est une dispersion liquide/liquide dont la taille des gouttelettes est supérieure à 1 μm . Ce type d'émulsions présente un aspect opaque généralement blanchâtre. Lorsque les gouttelettes dispersées deviennent, par l'emploi des matières de procédés particulier, dix fois plus petites, c'est-à-dire $\leq 0,1 \mu\text{m}$, on arrive à la dispersion colloïdale ayant un aspect laiteux. Si le diamètre est voisin de 50 nm l'aspect laiteux fait place à un aspect translucide ou opalescent, c'est la microémulsion. Si la finesse augmente encore on atteint alors le domaine de la solution micellaire.

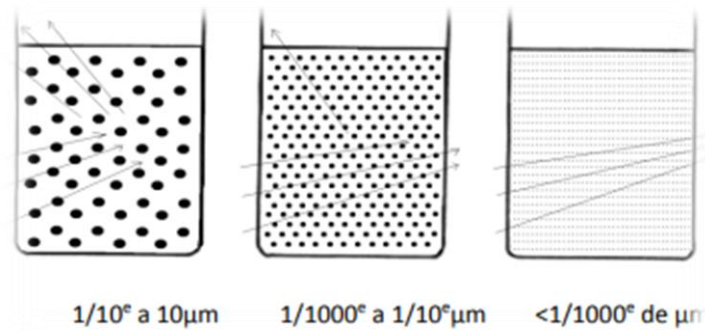


Figure 2.5. Aspect des émulsions selon la taille des gouttelettes.

2.3 Les gels

2.3.1 Généralité sur les gels

Les gels sont des réseaux tridimensionnels constitués par une faible quantité (0,1 à 10 %) d'une substance dans laquelle l'eau ou un autre solvant est retenue. Ils peuvent ainsi être obtenus à l'aide de tensioactifs, d'émulsions, de suspensions ou de polymères.

Selon les interactions qui existent au sein du milieu, on classe les réseaux de macromolécules en deux principales catégories : les gels non permanents ou réversibles et les gels permanents ou irréversibles [75].

2.3.2 Les types de gel

Selon la Pharmacopée européenne, « les gels sont des liquides gélifiés à l'aide d'agents gélifiants » [76].

2.3.2.1 Les gels lipophiles

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

2.3.2.2 Les gels hydrophiles

L'excipient est habituellement de l'eau, du glycérol ou du polyéthylène glycol gélifiés par des poloxamères, de l'amidon, des dérivés de la cellulose, des carbomères ou des silicates de magnésium-aluminium.

On parle d'hydrogels si la phase liquide est l'eau et d'oléogels si elle est huileuse.

2.4 Emulgels

Les gels font actuellement l'objet d'une attention accrue en particulier les formulations d'hydrogel, pour application topique de médicaments, car ils ont un aspect attrayant et

procurent une agréable sensation de fraîcheur. Ils sont faciles à appliquer et à retirer et permettent généralement une libération plus rapide des médicaments par rapport aux pommades et aux crèmes. Les gels à usage topique ont plusieurs propriétés favorables en tant que non gras, facile à étaler, facile à enlever, émollient, non tachant, compatible avec plusieurs excipients et solubles ou miscibles dans l'eau.

L'activité pharmacologique des formulations en gel peut ne pas changer aussi rapidement que celle des solutions [77].

Les formes de dosage de gel sont utilisées avec succès comme systèmes d'administration de médicaments pour contrôler la libération des médicaments et pour protéger les médicaments d'un environnement hostile [78].

Malgré les nombreux avantages des gels, l'une de leurs principales limites réside dans l'administration de médicaments hydrophobes. Les médicaments qui sont pratiquement insolubles dans l'eau qui ne peuvent pas être dispersés dans une formulation de gel que parce que plus de 90 % de la composition est un véhicule aqueux ou hydroalcoolique. Par conséquent, ils ont un composant aqueux plus élevé qui limite la dissolution des médicaments, ainsi qu'une migration facile du médicament à travers un véhicule qui est essentiellement liquide [79].

Pour surmonter cette limitation, les émulgels sont préparés et utilisés de manière à ce que même un groupe thérapeutique hydrophobe puisse bénéficier des propriétés uniques des gels. Les émulgels sont des gels d'émulsion, c'est-à-dire des hydrogels contenant des microgouttelettes d'huile réparties de façon aléatoire [77].

Il s'agit d'émulsions de type huile dans l'eau ou eau dans l'huile, qui sont gélifiées en utilisant un agent gélifiant. Ils ont été récemment utilisés comme véhicules pour administrer divers médicaments à la peau [80,77].

2.4.1 Avantage des émulgels

Les gels émulsifiés sont stables et constituent de meilleurs véhicules pour les médicaments hydrophobes ou peu solubles dans l'eau. Ils présentent les avantages des émulsions et des gels. Ils sont utilisés pour délivrer divers médicaments à la muqueuse en raison de l'absorption améliorée du médicament à travers la muqueuse puisque la substance médicamenteuse est en solution. Ils présentent une libération aqueuse plus importante des médicaments hydrophobes que les formulations conventionnelles en gel.

Les emulgels ont été utilisés pour surmonter les effets indésirables causés par les substances médicamenteuses, rendant ainsi la formulation plus tolérante. Il a été constaté que l'emulgel à base de Carbopol 940 avec de l'huile de sésame n'a montré aucun signe de rougeur ou de sécheresse comparé aux formulations de crème et de gel commercialisées [81].

2.4.2 Formulation d'un émulgel

La préparation des émulgels contient des étapes simples et courtes qui augmentent la faisabilité de la production. Aucun instrument spécialisé n'est nécessaire pour la production d'émulgels. De plus, les matériaux utilisés sont facilement disponibles et non coûteux. Tous ces éléments permettent de réduire le coût de production des emulgels. Les propriétés rhéologiques et le comportement des gels remplis de gouttelettes d'émulsion peuvent être modifiés en changeant les interactions entre les gouttelettes d'huile et la matrice du gel, la teneur en huile et la taille des gouttelettes d'huile [77].

La préparation d'un emulgel se fait essentiellement en deux étapes : l'émulsification et l'incorporation de l'émulsion dans une base de gel. Les constituants importants de l'emulgel sont la phase aqueuse, la phase huileuse et les agents gélifiants. Les agents aqueux couramment utilisés sont l'eau et les alcools.

Les gélifiants sont des agents utilisés pour augmenter la consistance de toute forme de dosage et peuvent également être utilisés comme agents épaississants. Le choix du polymère pour la préparation du gel est normalement basé sur le caractère de la phase externe [82].

Le choix du polymère comme agent gélifiant dépend de sa capacité à obtenir le profil de libération souhaité et de sa propriété muco-adhésive. Afin d'optimiser les caractéristiques de libération du médicament et d'obtenir un bon temps de rétention, il est possible d'utiliser une combinaison de polymères ayant des propriétés chimiques différentes.

De nombreuses émulsions à usage topique contiennent des huiles qui servent de support au principe actif. Par conséquent, la phase huileuse doit de préférence être un bon solvant pour le principe actif, ce qui garantit également une grande capacité de charge de la formulation. Le type d'huile utilisé peut avoir un effet sur la stabilité du produit final.

2.4.3 Emulsification

L'emulgel permet l'incorporation de médicaments hydrophobes dans la phase huileuse, puis les globules huileux sont dispersés dans la phase aqueuse, ce qui donne une émulsion H/E. Cette émulsion peut être mélangée à un gel de base. Et cette émulsion peut être

mélangée à la base du gel. Par conséquent, il faut faire attention aux composants de l'émulsion lors de la dissolution du composant hydrophobe en milieu aqueux.

Pour créer une émulsion huile dans l'eau (qui reste stable pendant une période suffisamment longue), il faut surmonter la tension superficielle entre les deux phases. On peut y parvenir en mélangeant, mais le mélange, même à des vitesses très élevées, ne suffit pas pour assurer la stabilité à long terme. Un émulsifiant ou une combinaison d'émulsifiants est nécessaire pour stabiliser les gouttelettes de la phase dispersée.

En général, l'introduction d'un agent émulsifiant diminue la tension superficielle des deux phases et diminue la coalescence des gouttelettes dispersées. Le pourcentage du volume de la phase interne, le type et la concentration de l'émulsifiant affectent la taille des particules de la phase interne, la viscosité apparente et le volume de sédimentation d'une émulsion, ce qui détermine sa stabilité [83]. Plus la taille des particules est petite, plus l'émulsion sera plus stable [84].

La séquence d'addition et la vitesse d'agitation des deux phases déterminent également la surface de tout volume de phases internes données, et par conséquent la stabilité du système [83].

En raison de la faible solubilité dans l'eau des médicaments hydrophobes, une quantité d'alcools à chaîne courte est nécessaire pour dissoudre le principe actif. Ces alcools incorporés dans le système d'émulsion rendent non seulement les principes actifs lipophiles solubles dans le système mais réduisent également la tension superficielle entre la phase huileuse et la phase aqueuse [84].

La présence des alcools diminue la contrainte de flexion de l'interface et permet de créer un film interfacial d'avoir une flexibilité suffisante pour prendre différentes courbures sur une large gamme de compositions et elle ajuste également la valeur HLB de la formulation en rendant le solvant polaire moins hydrophile. Les alcools peuvent également augmenter la miscibilité des phases aqueuses et huileuses en raison de leur partitionnement entre ces phases [85].

2.4.4 Choix d'agent gélifiant

L'incorporation d'un épaississant polymère hautement hydrophile augmente considérablement la viscosité de la phase aqueuse externe dans le cas d'émulsions H/E, retardant ainsi la probabilité de collisions et la fusion ultérieure des globules dispersés de la phase interne [86].

Les polymères jouent un rôle majeur dans divers paramètres de caractérisation des gels topiques tels que la libération in vitro et les propriétés rhéologiques. La formulation d'un gel efficace nécessite l'utilisation d'un agent gélifiant approprié, généralement un polymère.

Les caractéristiques préférées d'un tel polymère comprennent l'inertie, la sécurité et la biocompatibilité avec d'autres ingrédients, la perméation du médicament tout en n'étant pas absorbé dans le corps, l'absence d'irritation et de préférence, la biodégradabilité [87].

Incorporation l'émulsion dans une base de gel :

Après la préparation de l'émulsion et la phase de gel on introduit l'émulsion dans le gel en utilisant un homogénéisateur.

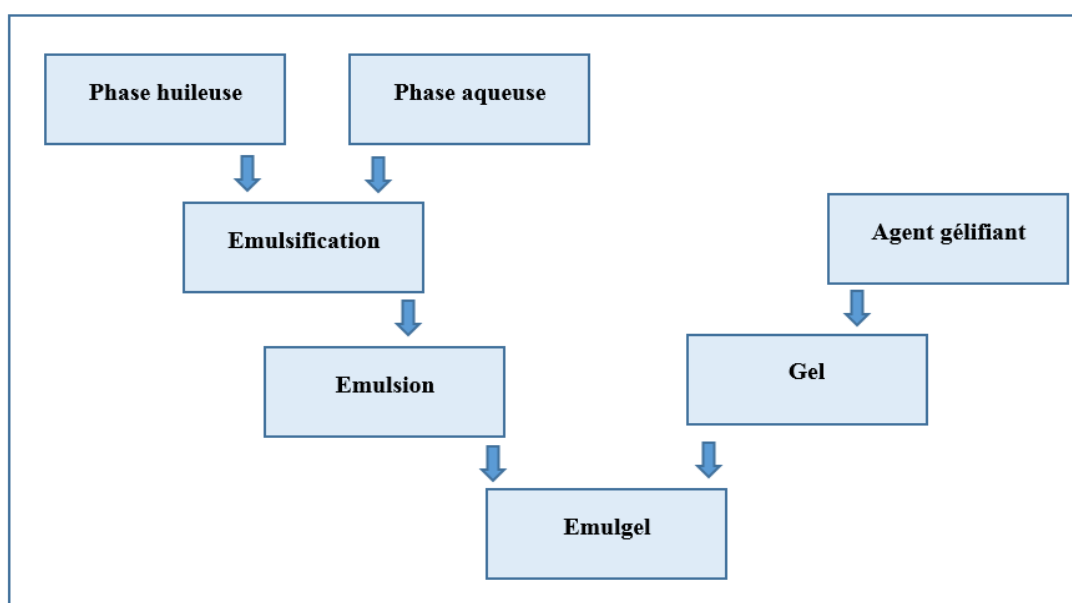


Figure 2.6 : Schéma de préparation de l'Emulgel.

Chapitre 3

Matériels et Méthodes

Introduction

Notre travail expérimental se divise en quatre étapes principales. La première consiste de l'extraction et l'identification des substances actifs issu des feuilles de la plante *Inula Viscosa*, la deuxième étape est la vérification de l'activité thérapeutique de l'extrait obtenu, la troisième étape est le processus de formulation d'une forme galénique semi solide : émulsion. La dernière étape consiste à étudier le comportement rhéologique, les propriétés physico-chimique et organoleptique ainsi que l'activité thérapeutique de l'émulsion obtenue.

Ce travail est réalisé en cinq mois du mois de février au mois du juin 2021 au sein de différents laboratoires :

- ✓ Laboratoire de recherches : Génie chimiques (département des génies des procédés université Saad Dahlab Blida1) pour l'extraction méthanolique de la plante et le dosage des polyphénols totaux ainsi que les tests de Screening phytochimique de l'extrait végétale, et en dernier l'activité anti-inflammatoire in vitro de l'extrait méthanolique de *I.viscosa*.
- ✓ Laboratoire de pharmacotoxicologie du centre de recherche et développement (CRD) Saidal gué de Constantine pour la réalisation de l'activité anti inflammatoire in vivo.

Ce chapitre est consacré à la description des différents produits et matériels utilisés ainsi que les méthodes de travail.

3.1 Matériels

3.1.1 Matériels végétales

Les feuilles d'*Inula viscosa* ont été récoltées durant le mois du février 2021 dans la région de Blida (Soumaa) et la plante a été identifiée par Monsieur METTAI, Botaniste et enseignant à l'université de Blida1.

Les feuilles ont été séchées à l'ombre et à température ambiante (18 C°) et séchées dans l'étuve à 50° C pendant 24 heures. Les feuilles broyées sont conservées à l'abri de l'humidité dans des flacons propres en verre hermétiquement fermés.

3.1.2 Matériels animales

Les tests anti-inflammatoire ont été réalisés sur des souris mâles et femelles Albino Swiss dont le poids varie entre 21 et 29 g fourni par l'animalerie du centre de recherche et développement (CRD).

Les animaux sont entretenus dans des cages en polypropylène numérotées.

3.1.3 Produits chimique

3.1.3.1 Solvants chimiques

Tableau 3.1 : Solvants Chimiques utilisés.

Réactifs	Pureté	Marque
Ether de pétrole (40-60)	/	Sigma-Aldrich
Ethanol technique	96 %	Biochem
Méthanol	99 %	Chemopharma

3.1.3.2 Matières Premières

Tableau 3.2 : Les procédés utilisés et leurs produits chimiques.

Procédés	Produits chimiques
Screening Phytochimique	<ul style="list-style-type: none"> - Chlorure Ferrique - Chlorure d'aluminium - Acide Acétique - Acide Sulfurique - Acide chlorhydrique - Chloroforme - Réactif de Wagner - Gomme Arabique -Follin Ciocaltou -Acide Gallique -Quercétine
Test anti inflammatoire in Vitro	<ul style="list-style-type: none"> - Sérum Bovine Albumine -Carbonate de Sodium - Diclofenac Sodique . Phosphate Buffer Saline
Formulation de l'Emulgel	<ul style="list-style-type: none"> -Huile de paraffine -Tween 80 -Span 80 -Carbopol -Triéthanoleamine (TEA) -NaOH
Test Anti inflammatoire in Vivo	<ul style="list-style-type: none"> -Huile de Croton -Carragénine -Acétone - Diclofenac Sodique - Kétamine

3.1.4 Instruments utilisées

Tableau 3.3 : les instruments utilisés.

Instruments	Noms	Description
Spectrophotomètre UV/Visible	SHIMADZU UV 1800	Un appareil qui nous permet de faire une mesure spectrométrique entre 200-800 nm.
Cryothermostat	HUBER Ministat 240	un instrument qui permet d'obtenir des températures cryogéniques par l'utilisation de l'inertie thermique d'un liquide très froid.
Evaporateur Rotatif (RotaVap)	HEIDOLPH	Le principe de cet appareil est basé sur la distillation simple sous vide, qui permet d'éliminer rapidement de grandes quantités de solvant.
Homogénéisateur	IKA ULTRATURRAX T25	Un homogénéisateur est un appareil utilisé pour la réalisation de suspensions et d'émulsions stables et homogènes et pour le broyage fin de matières solides.
Centrifugeuse	Micro centrifugeuse Centurion C1005	Une centrifugeuse permet d'impulser un mouvement de rotation à forte vitesse pour mélanger un contenant et ainsi séparer des molécules.
Rhéomètre	Anton Paar MCR 102	Un rhéomètre est un appareil capable de faire des mesures relatives à la rhéologie d'un fluide en appliquant un cisaillement à l'échantillon.
Microscope optique	Optika Microscope Italy Series	Le microscope optique est un système optique à lentilles dont le but est d'obtenir une image agrandie de l'objet observé.
Instrument de diffusion dynamique de la lumière (DLS)	HORIBA SZ 100	une technique d'analyse spectroscopique non destructive permettant d'accéder à la taille de particules en suspension dans un interval de 1 à 500 nm.

3.2 Méthodes

3.2.1 Extraction par Soxhlet

Un extracteur Soxhlet est une pièce de verrerie utilisée en chimie analytique et en chimie organique qui permet de faire l'extraction par solvant en continu d'une espèce chimique contenue dans une cartouche solide. Cet appareil porte le nom de son inventeur : Franz Von Soxhlet.

a) Principe

Le solvant d'extraction est porté à ébullition. Les vapeurs traversent le Soxhlet, sont condensées au niveau du réfrigérant et s'écoulent au travers de l'échantillon dans la cartouche. Ce système de distillation-condensation assure au solvant une circulation en continu dans l'échantillon. Un siphon permet au solvant de s'écouler de la cartouche pour retourner dans le ballon. Le solvant peut donc recommencer un nouveau cycle d'évaporation-condensation. Cette méthode est utilisée pour l'extraction des composés non volatils et semi volatils.

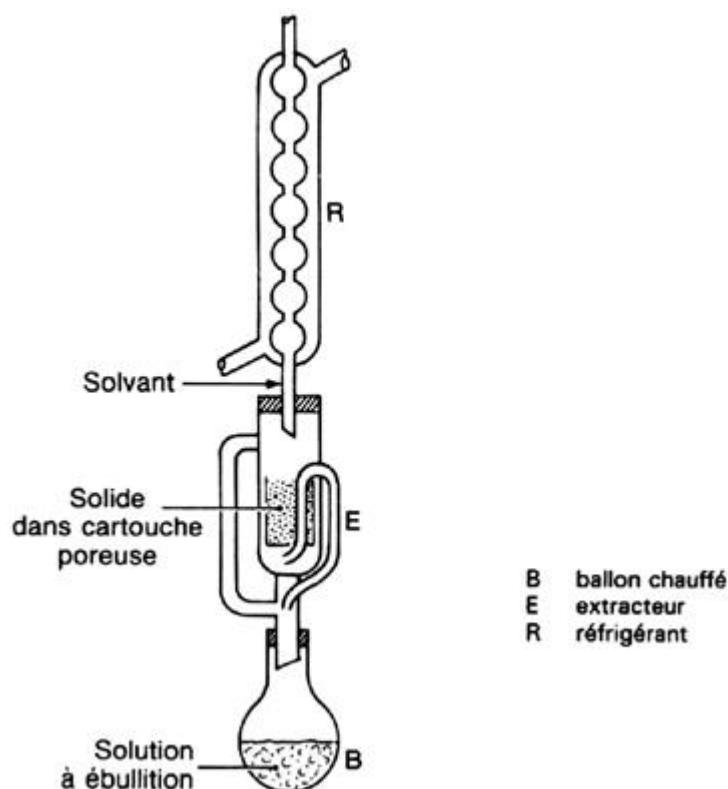


Figure 3.1 : schéma de l'extracteur Soxhlet.

3.2.1.1 Délipidation

60 g de poudre d'*Inula viscosa* sont introduit dans la cartouche en papier filtre. Cette dernière est placée dans le soxhlet surmonté d'un réfrigérant. Une quantité de 300 ml d'Ether de Pétrole est versée dans un ballon. Le mélange est porté à ébullition. Le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec la matière végétale. La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus en soluté à chaque cycle d'extraction (siphonage). Après deux siphonage une récupération de solvant enrichi en substances solubles est effectuée dans un ballon. Après concentration à l'aide d'un évaporateur rotatif, nous obtenons la fraction lipidique.

3.2.1.2 Extraction des polyphénols

La même cartouche est ensuite traiter par le méthanol en suivant les mêmes étapes utilisées dans le protocole de la délipidation (Le nombre de siphonage cette fois est 5 Cycles) le but est de récupérer la fraction polaire.

3.2.2 Screening phytochimique

Ces tests phytochimique sont réalisés pour identifier les métabolites secondaires existant dans la plante. Les tests sont effectués sur l'extrait végétal de la poudre des feuilles de la plante.

a) Mise en Evidence des polyphénols

0.2 ml d'extrait methanolique d'*Inula Viscosa* sont ajoutés à 0.8 ml de la solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (7.5 %) après agitation 1 ml de la solution de folin- ciocalteu est ajouté à l'ensemble après 20 minutes d'incubation a l'obscurité.

L'apparition de la couleur bleu confirme la présence des polyphénols.

b) Mise en évidence des tanins

A 2 ml de la solution à tester, ajouter 2 à 3 gouttes de la solution de FeCl_3 à 2 %, un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue –noire et une précipité (laisse reposer quelques minutes).

c) Mise en évidence des saponosides

Test 1 : 5 ml de la solution à tester sont bien mélangé avec 10 ml d'eau distillée pendant 2 min, La formation d'une mousse persistante après 15 min confirme la présence des aponosides.

Test 2 : 5 ml de l'extrait sont mélangés avec 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré une couleur rouge marronne de la couche d'interface indique la présence des triterpéneshétérosidique.

d) Mise en évidence des flavonoïdes

5 ml d'extrait sont traités avec quelques gouttes d' AlCl_3 (1%). la présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition d'une couleur jaune.

e) Mise en évidence des composés réducteurs

Ce teste est basé sur la réaction de Keller Kiliani. A 1 ml de l'extrait ajouter 5 ml d'acide acétique contenant des traces de FeCl_3 et 5 ml d'acide sulfurique contenant des traces de FeCl_3 . La présence des composés réducteurs est confirmé par la formation de deux phase une colorée en brun-rouge (acide acétique) et la deuxième en bleu-vert (acide sulfurique).

f) Mise en évidence des alcaloïdes

Ce test est fait pour révéler la présence ou l'absence des alcaloïdes sels .A l'extrait sec, ajouter 5 ml d' HCL (2N) au résidu et chauffer dans un bain marie. Filtrer le mélange et réaliser les tests avec le réactif de Wagner (2 g de KI et 1,27 g d' I_2 solubilisé dans 100 ml d'eau distillée). La présence de turbidité ou précipitation indique la présence des alcaloïdes sels.

3.2.3 Dosages des polyphénols utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu

Le dosage des composés phénoliques totaux a été effectué par la méthode utilisant le réactif de Folin – Ciocalteu. Depuis, son utilisation elle s'est largement répandue pour caractériser les extraits végétaux d'origines plus diverses.

Le réactif de Folin - Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phospho-tungstique et d'acide phospho-molybdique. Le réactif est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum se fait à 732 nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux.

a) Principe

A 0.2 ml d'extrait méthanolique de feuilles de plante est ajouté à 1 ml de la solution de carbonate de sodium (7.5 %), après agitation 1 ml de la solution de folin-Ciocalteu est ajouté à l'ensemble. Après 20 minutes d'incubation à l'obscurité, l'absorbance est lue à la longueur d'onde 760 nm.

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements Hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu est une solution acide de couleur jaune qui contient un complexe polymérique d'ions (hétéro polyacides). En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéro-polyacides, d'où la formation d'un complexe de couleur bleue.

b) Courbe d'étalonnage d'acide gallique

La courbe d'étalonnage standard est obtenue à partir des solutions d'acide gallique de différentes concentrations (de 0,2 à 1 mg/ml). On introduit 0.2 ml de chaque solution précédente à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai. On additionne 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (diluée 10 fois). Après incubation pendant 2 minutes, 0.8 ml de carbonates de sodium à 7.5% sont ajoutés puis maintenus à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance de chaque solution a été mesurée à une longueur d'onde de 760 nm contre un blanc préparé de la même manière sauf qu'il ne contient pas d'acide gallique. Les lectures de la densité sur un spectrophotomètre, des solutions ainsi préparées ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

La solution standardisée d'acide gallique est préparé de manière à avoir les concentrations suivantes :

Tableau 3.4 : différents concentrations des solutions d'acide gallique.

Solutions	1	2	3	4	5
Concentration mg/ml	0.2	0.4	0.6	0.8	1

Les solutions sont diluées avant introduction dans le spectromètre UV/Visible.

Solution 1 FC (0.2 C) : 2 ml dans 10 ml.

Solution 2 FC (0.4 C) : 2 ml dans 10 ml.

Solution 3 FC (0.6 C) : 2 ml dans 10 ml.

Solution 4 FC (0.8 C) : 2 ml dans 25 ml.

Solution 5 FC (1 C) : 2 ml dans 25 ml.

Solution échantillon 2 ml dans 25 ml.

Tableau 3.5 : Absorptions de différentes concentrations d'acide gallique.

C (µg/ml)	0	40	64	80	120
Abs	0	0.225	0.337	0.45	0.636

Traçage de la courbe

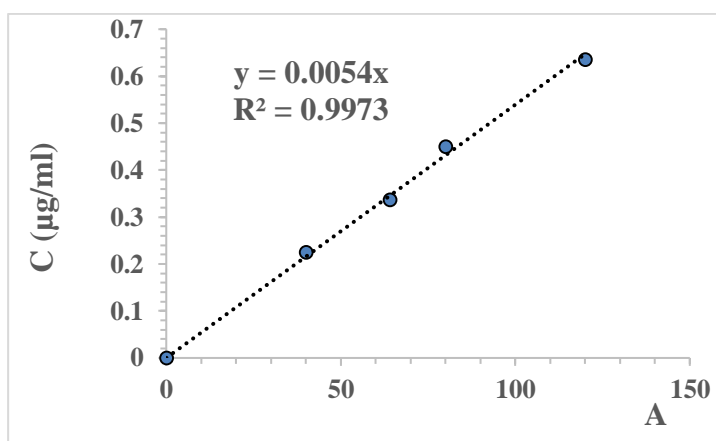


Figure 3.2 : courbe d'étalonnage d'acide gallique.

A : Absorbance.

a : la pente = 0.0054.

Calcul de teneur des polyphénols :

$$\text{Taux de polyphénols} = \frac{Re \times Cp}{Ce} \times 100$$

R_e : Rendement brute de l'extraction.

C_p : Concentration des polyphénols.

C_e : Concentration de l'extrait.

3.2.4 Activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de dénaturation de sérum bovine albumine

0,05 ml de concentration (500 µg/ml) de l'extrait méthanolique, de concentration (500 µg/ml) du médicament standard diclofénac sont mélangées chacune avec 0,45 ml de SAB (0,5% p/v). Les échantillons sont incubés à 37°C pendant 20 min, ensuite la température est portée à 57°C (A l'aide d'un Thermocouple) pendant 3 min. Après refroidissement, 2,5 ml de tampon phosphate sont ajoutés aux solutions ci-dessus.

L'absorbance est mesurée en utilisant un spectrophotomètre UV-Visible à 600 nm. Le contrôle représente 100% de la dénaturation des protéines. L'inhibition de la dénaturation de la protéine est déterminée en % par rapport au contrôle, en utilisant la formule suivante :

$$\text{Inhibition de dénaturation (\%)} = \frac{A \text{ de contrôle} - A \text{ de l'extrait}}{A \text{ de contrôle}} \times 100$$

A : absorbance.

La moyenne retenue est obtenue sur trois répétitions.

3.2.5 Activité anti-inflammatoire *in vivo* en utilisant l'extrait l'aqueux

a) Principe

L'œdème de la patte postérieure droite de la souris est provoquée par application local d'une solution de carragénine plus acétone avec un rapport de 1:1. La mise en évidence de l'effet anti-inflammatoire a été réalisée selon la méthode d'œdème de patte à la carragénine.

b) Mode opératoire

Avant l'expérimentation, les souris sont soumises à un jeun pendant 16h avec accès libre à l'eau. Avec préparation de 3 lots de 5 souris chacun.

Une introduction de l'extrait aqueux par voie orale est appliquée au premier lot => lot échantillon.

Une introduction de la solution de Diclofénac par voie orale est appliquée pour le deuxième lot => lot témoin positif (Référence).

Pour le dernier lot aucune introduction n'est réalisé => lot témoin négatif.

Après 15 minutes de l'introduction des solutions, les souris sont exposé a une inflammation au niveau de la patte postérieure droite du souris provoqué à l'aide d'une seringue rempli d'une solution de carragénine et acétone sous un volume de 0.025 ml.

4 heures après les souris ont été sacrifiées par un sur dosage d'anesthésie, les pattes droites et gauche de chaque souris sont pesés pour calculer le pourcentage d'œdème selon la formule :

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{M_{mg} - M_{md}}{M_{mg}} \times 100$$

Où

M_{md} = Moyenne de masse de pattes droite dans un lot.

M_{mg} = Moyenne de masse de pattes gauche dans un lot.

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule :

$$\% \text{ d'inhibition} = \frac{O_t - O_e}{O_t} \times 100$$

Où

O_t = Pourcentage d'œdème de lot Témoin négatif.

O_e = Pourcentage d'œdème de lot Echantillon.

3.2.6 Préparation de l'émulgel

La préparation d'une émulsion (e/h ou h/e), suivie de l'introduction dans un gel c'est la formulation d'un émulgel.

a) Préparation de la phase gel

Dans un Becher disperser de Carbopol dans l'eau distillé à l'aide d'un agitateur mécanique de type (IKA RW 16) ensuite ajouter quelques gouttes de Triéthanolamine (Trolamine) sous homogénéisation jusqu'à la gélification de cette phase.

b) Préparation de la phase huileuse de l'émulsion

Dans un bécher solubiliser de Span 80 dans l'huile de paraffine à l'aide d'un agitateur magnétique.

c) Préparation de la solution principe actif plus solvant

Dans un bécher solubiliser les polyphénols issus de l'extrait des feuilles de *Inula viscosa* dans l'éthanol.

d) Préparation de la phase aqueuse de l'émulsion

Solubiliser de Tween 80 dans l'eau distillée à l'aide d'un agitateur magnétique, ensuite ajouter la solution de principe actif dedans.

e) Préparation de l'émulsion

La préparation de l'émulsion commence d'abord par le chauffage séparé de la phase huileuse et de la phase aqueuse à 70-80°C. Après cela, les deux phases sont mélangées sous agitation constante jusqu'à ce qu'elles refroidissent à la température ambiante. Ensuite le mélange est introduit dans l'homogénéisateur sous une vitesse d'homogénéisation de 7000 tours /minutes jusqu'à l'obtention d'une émulsion homogène.

f) Préparation de l'émulgel

Un mélange a été effectué de phase d'émulsion dans la phase gel avec un rapport de 1 : 1 avec l'introduction dans l'homogénéisateur jusqu'à l'obtention d'un émulgel.

3.2.7 Contrôle de produit fini**a) Centrifugation**

L'émulsion est centrifugée à 3000 rpm pendant 10 minutes pour vérifier la crémation ou la séparation des phases. Ce test est utilisé pour évaluer la stabilité physique.

b) Microscope Optique

La microscopie optique est une technique très utile pour l'étude des émulsions. Elle constitue un excellent moyen pour suivre la stabilité de ces systèmes lors du vieillissement. La microscopie optique est une méthode d'analyse usuelle pour la multiplicité des systèmes, cette méthode permet d'avoir une idée sur la taille des gouttelettes internes souvent de l'ordre du micromètre. L'analyse microscopique des crèmes formulées a été effectuée à l'aide d'un microscope optique menu de caméra type.

c) Mesure de pH

La mesure de pH a été réalisée avec un pH-mètre type INOLAB muni d'une électrode pour produits visqueux. Le pH de la crème en contact de la peau doit se situer à une fourchette allant de 5,5 à 6 car la peau est normalement légèrement acide, ce qui lui permet de développer une protection plus efficace contre les attaques naturelles et permanentes des micro-organismes.

d) Rhéologie de l'émulgel

Les objectifs généraux des mesures rhéologiques (la rigidité, module, viscosité, dureté et la force) sont:

- Obtenir une description quantitative des propriétés mécaniques.
- Obtenir l'information liée à la structure moléculaire et à la composition du matériel.
- Caractériser et simuler l'exécution du matériel pendant le traitement et pour le contrôle de la qualité.

Les mesures du comportement rhéologique sont importantes non seulement pour évaluer la stabilité physique mais elles sont en même temps des indicateurs des paramètres de type qualité du système et utilité. Les études sur ces propriétés sont devenues un outil crucial dans l'analyse des produits pharmaceutiques, dans le but de produire des profils physiques et structurels stables.

Pour se faire, deux tests ont été effectués :

e) Le test de viscoélasticité

Les propriétés viscoélastiques des crèmes ont été mesurées en mode dynamique par un test non destructif d'oscillations de faible amplitude. Un balayage croissant en déformation, de 0,0001 à 1000 a été effectué à la fréquence de 1 Hz (mode logarithmique, 4 points/décade). Cette mesure a permis d'obtenir les valeurs des modules G' , G'' dans le domaine linéaire viscoélastique.

G' : le module de conservation, il représente le caractère élastique de la crème, l'énergie emmagasinée dans le matériau.

G'' : le module de perte, qui représente le caractère visqueux de la crème et correspond à l'énergie dissipée.

f) Le test d'écoulement

Des courbes d'écoulement ont été déterminées en régime continu sous cisaillement variable, traduisant la viscosité apparente η_{app} (Pa.s) en fonction de la vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$ (s^{-1}).

Pour l'obtention de ces courbes, on fait varier la vitesse de cisaillement par pas logarithmique de 0,001 à 1000 s^{-1} , avec un nombre de point de mesure de 5 par décade, et un temps de mesure entre deux points successifs variant de 50 à 5s.

Les courbes d'écoulement issues de ce test sont ensuite modélisées par des modèles mathématiques qui représentent le comportement rhéologique des crèmes à l'aide du logiciel « STATISTICA » qui offre une multitude de technique de méthodes d'optimisation non linéaires se basant sur un calcul itératif.

Ce test rhéologique permet de déterminer la viscosité de différents échantillons et pour cela un rhéomètre de marque Anton Paar Modulat Compact Rhéomètre MCR 302 a été utilisé et relié à un bain thermostat et commandé à l'aide d'un logiciel qui permet de traiter les données.

3.2.8 Activité anti-inflammatoire in vivo sur l'emulgel

a) Principe

Une seule dose de l'emulgel testé est appliquée sur la peau des souris, pour l'expérience, d'autres zones de l'animal servant de témoin en absence de la crème.

Une observation a été réalisé avec une prise de note selon une échelle de valeurs le degré d'irritation ou de corrosion à intervalles déterminés, décrire de façon plus détaillée afin de fournir une évaluation complète des effets. La durée de l'étude doit être suffisante pour permettre d'évaluer la réversibilité des effets observés.

Les animaux qui manifestent des signes persistants de détresse et/ou de douleurs aiguës à n'importe quel stade de l'essai doivent être euthanasiés, et ces symptômes seront pris en compte dans l'évaluation du produit testé.

b) Mode opératoire

Préparation ou constitution des lots

- Etiquetage des cages.
- Faire la pesée et identification des animaux.
- Mettre 5 souris dans chaque lot.

Ces lots sont ensuite divisés comme suit

Lot Témoin/Lot échantillon/Lot référence.

Préparation de la solution phlogogénique

- Préparer une solution d'acétone et eau physiologique 15 µl (v/v).
- Ajouter à cette dernière 80 µg d'huile de croton pure.
- Ajouter quelques gouttes de Tween 80 pour solubiliser la solution.
- Mélanger les solutions.

Faire une anesthésie des animaux à l'aide de la kétamine.

Mesurer l'épaisseur des deux oreilles de chaque souris à l'aide d'un pied à coulisse avant l'application de l'agent phlogogénique.

Appliquer la solution d'huile de croton localement sur la phase interne de l'oreille droite et imbiber bien le coton (frotter bien l'oreille bien jusqu'à rougeur et inflammation de cette dernière). Après 15 minutes, appliquer sur l'oreille droite de chaque souris une quantité de l'émulgel à base de l'extrait => Lot échantillon.

Appliquer l'émulgel à base de Diclofenac sur l'oreille droite de chaque souris=>Lot référence.

Ne rien appliquer sur le troisième lot de souris => Lot témoin.

Après 4h de traitement procéder à une deuxième mesure de l'épaisseur des oreilles pour chaque lot de souris pour déterminer le pourcentage d'œdème.

Le pourcentage d'œdème est mesuré par la formule suivante :

$$\% d'œdème = \frac{Emd(t0) - Emd(t4)}{Emd(t0)} \times 100$$

Emd (t0) : Epaisseur de l'oreille droite avant l'induction de l'inflammation.

Emd (t4) : Epaisseur de l'oreille droite après 4 heures de l'induction de l'inflammation.

Le pourcentage d'inhibition est mesuré par la formule suivante :

$$\% d'inhibition = \frac{\% Ot - \% Oe}{\% Ot} \times 100$$

Où

% d'œdème T : Le pourcentage d'œdème de lot témoin.

% d'œdème E : Le pourcentage d'œdème de lot échantillon.

% d'œdème R : Le pourcentage d'œdème de lot référence.

Chapitre 4

Résultats et Discussion

**4.1 Détermination de rendement

Le processus d'extraction à l'aide d'un appareil de type Soxhlet pour les feuilles de l'extrait nous a permis de calculer le rendement à partir de la masse initiale de la plante et la masse de l'extrait brut. On obtient le rendement suivant :

Résultats

$$R = 6.92 \%$$

Le rendement des feuilles de la plante *Inula viscosa* est : 6.92 %

Discussion

Le rendement d'extraction des polyphénols avec de méthanol est de l'ordre 6.92 %, cette valeur est due aux deux choses :

- La première c'est le taux faible de métabolites secondaire que la plante produit en faible quantité et seulement en cas de nécessité.
- La deuxième c'est l'extraction avec le solvant sélectif éther de pétrole où la totalité des constituants apolaire de la plante comme les lipides et pigment ont été retiré.

4.2 Screening phytochimique

Résultats

Les résultats de différentes réactions montrent que les feuilles d'*Inula viscosa* possèdent les composés suivants (Tableau 4.1).

Tableau 4.1 : Résultats du screening phytochimique

Composés phénoliques	Feuilles
Polyphénols	+
Flavonoïde	+
Aponosides	+
Triterpéneshétérosidique	-
Composés réducteurs	-
Alcaloïdes	-
Tanins	+

Présence (+) ; Absence (-)

Discussion

Le screening phytochimique a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau des feuilles d'*Inula viscosa*. La détection de ces derniers est basée sur des réactions de précipitation ou un changement de couleur spécifique.

Ces tests ont déterminés la présence des polyphénols, en générale les tanins et les flavonoïdes par contre les alcaloïdes, les Aponisides et les Triterpéneshétérosidique n'ont pas été trouvé.

4.3 Dosage des polyphénols totaux par le réactif Folin-Ciocalteu

Résultats

$$\text{Concentration échantillon} = 428.25 \frac{\mu\text{g}}{\text{ml}} = 0.43\text{mg/ml}$$

Concentration : 43 mg/eqg d'acide gallique.

Calcul de teneur des polyphénols

$$\text{Taux de polyphénols} = 0.3 \%$$

Tableau 4.2 : Résultats de dosage des polyphénols totaux.

A	C (μg/ml)	Taux (%)
0.185	0.43	0.3

Discussion

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode de folin-ciocalteu a permis d'obtenir une concentration de 43 mg/eqg d'acide gallique. Cette teneur représente une composition de 0.3% par rapport à la quantité initiale de la poudre des feuilles d'*Inula viscosa*.

4.4 Activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de dénaturation de Sérum Bovine Albumine

Cette étude a pour objectif la vérification *in vitro* de l'effet anti-dénaturation induit par l'extrait des feuilles d'*inula viscosa* dans le sérum albumine bovine sous incubation.

Résultats

Tableau 4.3 : Résultats de test anti-inflammatoire in vitro.

Produits	Absorbance	Inhibition de la dénaturation (%)
Blanc eau	0.351	/
Diclofénac Sodique 500 µg/ml	0.0049	98.6
Blanc éthanol	0.3836	/
Echantillon éthanologique 500 µg/ml	0.0196	94.89

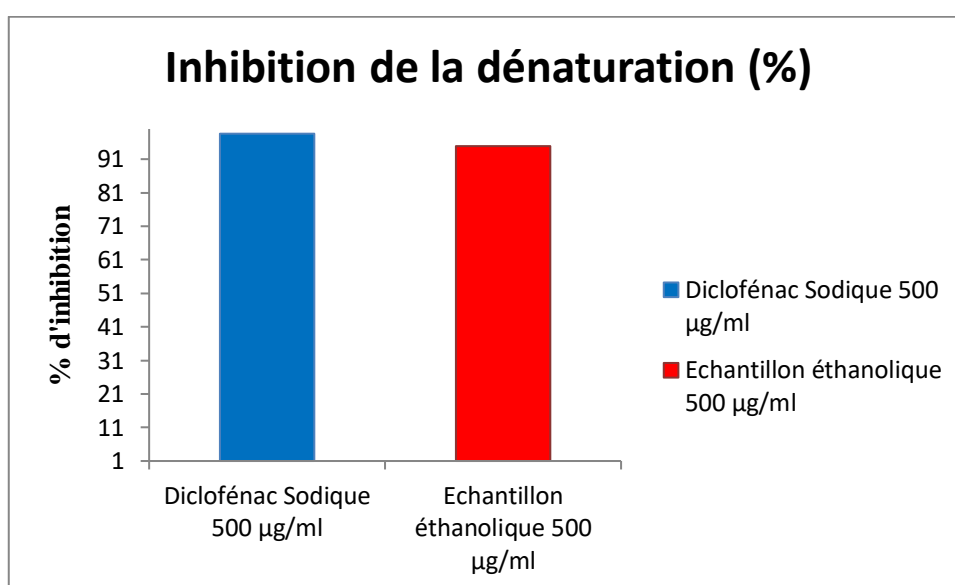


Figure 4.1 : Résultats d'inhibition de la dénaturation.

L'effet maximum d'inhibition et de dénaturation de l'extrait méthanolique, à la concentration de 500 µg/ ml était de 94.89 % alors que le standard du diclofénac à 500 µg/ml a montré une inhibition de 98.603 % de la dénaturation de Sérum bovine albumine

Discussion

La dénaturation des protéines est une cause d'inflammation bien démontrée. Dans le cadre de l'enquête sur le mécanisme de l'activité anti-inflammatoire, la capacité inhibitrice de l'extrait a été étudiée contre la dénaturation des protéines du sérum bovine albumine.

Nos résultats ont clairement démontré que l'extrait des feuilles d'*Inula viscosa*, à une concentration de 500 µg/ml présente une activité anti-dénaturante du sérum bovine albumine de 94.89% obtenu par rapport au Diclofenac sodique

4.5 Activité anti-inflammatoire in vivo en utilisant l'extrait l'aqueux

Pour étudier l'activité anti-inflammatoire qui résulterait de l'utilisation de l'extrait des feuilles, notre expérimentation a été réalisée sur le modèle de l'œdème aigu de la patte gauche de souris induit par la carragénine. Une dose de 500 µg/ml a été administrée aux souris par voie orale.

Résultats

Les résultats de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait à la dose 500 µg/ml est comparé à ceux de la référence Diclofinac 50 mg et avec celui du lot témoin négatif recevant uniquement de l'eau physiologique.



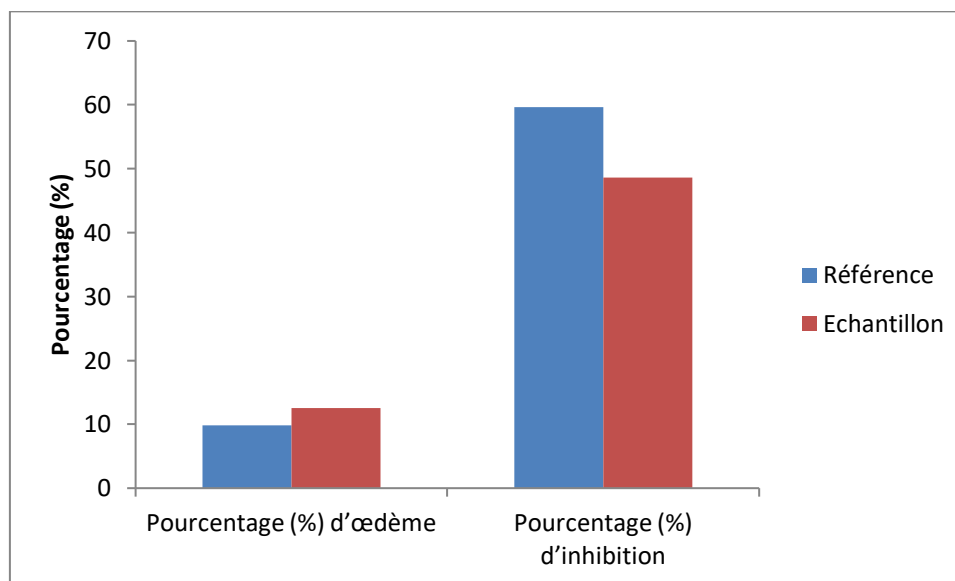
Figure 4.2 : Pattes coupés de souris de différents lots.

Tableau 4.4 : Poids des pattes de souris de chaque lot.

Souris	Lot échantillon		Lot référence		Lot témoin	
	Pattes gauche	Pattes droite	Pattes gauche	Pattes droite	Pattes gauche	Pattes droite
1	0.165	0.142	0.265	0.1402	0.2177	0.134
2	0.166	0.152	0.123	0.151	0.1685	0.1614
3	0.155	0.131	0.1138	0.1056	0.1636	0.142
4	0.168	0.142	0.1685	0.1738	0.217	0.1572
5	0.152	0.138	0.1187	0.1408	0.2116	0.1453
Moyenne	0.1612	0.141	0.1578	0.14228	0.19568	0.14798

Tableau 4.5 : Résultats de test anti-inflammatoire in vivo en utilisant l'extrait aqueux.

Lots	Pourcentage d'œdème (%)	Inhibition de l'inflammation (%)
Lot référence	9.83	59.66
Lot échantillon	12.53	48.58
Lot témoin	24.37	/

**Figure 4.3** : Résultats de l'activité anti-inflammatoire in vivo par voie orale.

Discussion

La réduction de l'œdème sous traitement avec l'extrait aqueux des feuilles d'*Inula viscosa* est importante puisque l'œdème est réduit d'une façon similaire à celui de Diclofénac comme référence. Cette réduction se manifeste par une augmentation de taux d'inhibition d'inflammation pour atteindre une valeur de 48.58 % qui est très proche de la valeur obtenue par le Diclofénac (59.8 %).

Ces résultats montrent le pouvoir anti-inflammatoire de l'extrait aqueux de *Inula viscosa* qui peut remplacer l'utilisation de Diclofénac comme anti inflammatoire non stéroïdien.

4.6 Caractérisation de l'émulgel à base d'*Inula viscosa*

La caractérisation de l'émulgel consiste à étudier comme variable les caractéristiques organoleptiques, le pH, le microscope optique, la conductivité et le comportement rhéologique.

4.6.1 Propriétés organoleptique

L'émulgel préparé à partir de l'extrait éthanolique d'*Inula viscosa* possède un aspect opaque de couleur blanche caractérisé par une bonne homogénéité et d'un étalement facile (Figure 4.6).



Figure 4.4 : Emulgel a base de polyphénols.

4.6.2 Test de stabilité (Centrifugation)

L'observation visuelle lors de la formulation indique que notre préparation est stable (une meilleure homogénéité des phases) et donne la couleur préférable blanche (pas de séparation de phases), comme est montré dans la figure ci-dessous.



Figure 4.5 : Résultat de test de centrifugation.

4.6.3 Mesure de pH

L'émulgel préparé à base de l'extrait éthanolique des feuilles d'*Inula viscosa* possède un pH de 5.6 conforme aux normes établies par les recommandations relatifs aux préparations semi solides (pH = 5.5-6.5).

4.6.4 Mesure de conductivité

L'émulgel préparé à base de l'extrait éthanolique des feuilles d'*Inula viscosa* possède une valeur de conductivité nulle, caractéristique de sens d'émulsion E/H (eau dans l'huile).

4.6.5 Microscope Optique

Les photos des figures 4.7 et 4.8 obtenus à l'aide de microscope optique pour un grossissement de x 10 et de x 40 montrent que :

Grossissement x 10 : Aspect homogène de système dispersé.

Grossissement x 40 : Présence des globules lipidique sous différents formes avec des portes irréguliers.

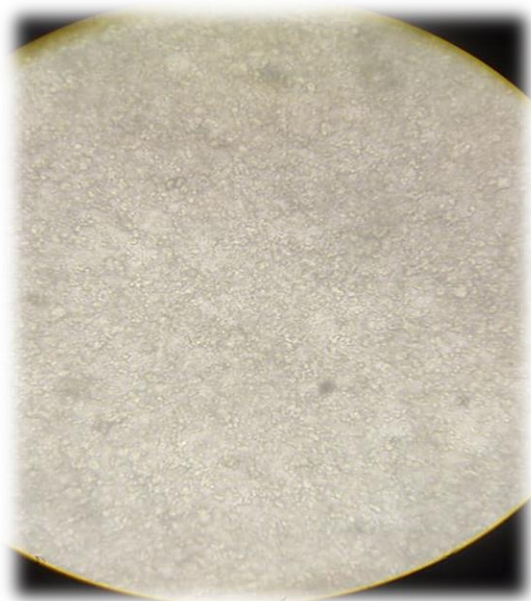


Figure 4.6 : Grossissement x 10.

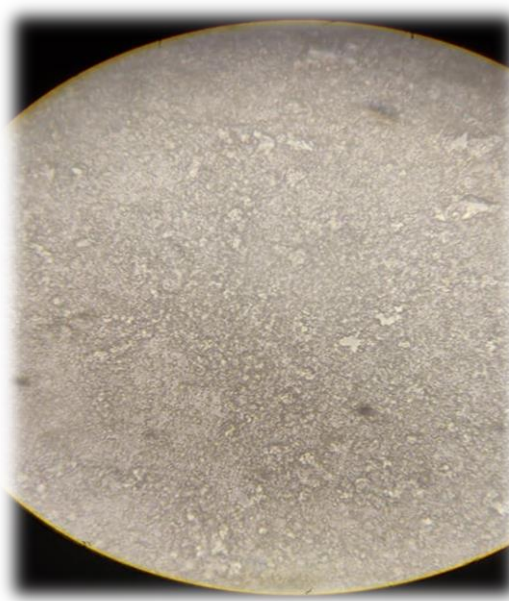


Figure 4.7 : Grossissement x 40.

4.6.6 Diffraction dynamique de la lumière (DLS)

L'analyse par la diffraction dynamique de la lumière de l'émulgel préparé à partir de l'extrait des feuilles d'*Inula viscosa* a conduit à l'obtention selon deux essais à des diamètres de gouttelettes variant de 1.4 nm et 190 nm pour le premier essai (Figure 4.9 et Figure 4.10) et de 27.6 nm pour le deuxième essai (Figure 4.11). Ces valeurs de diamètres de gouttelettes permettent de classer ces émulgels entre les nano-émulgels et micro-émulgels.

Premier essai

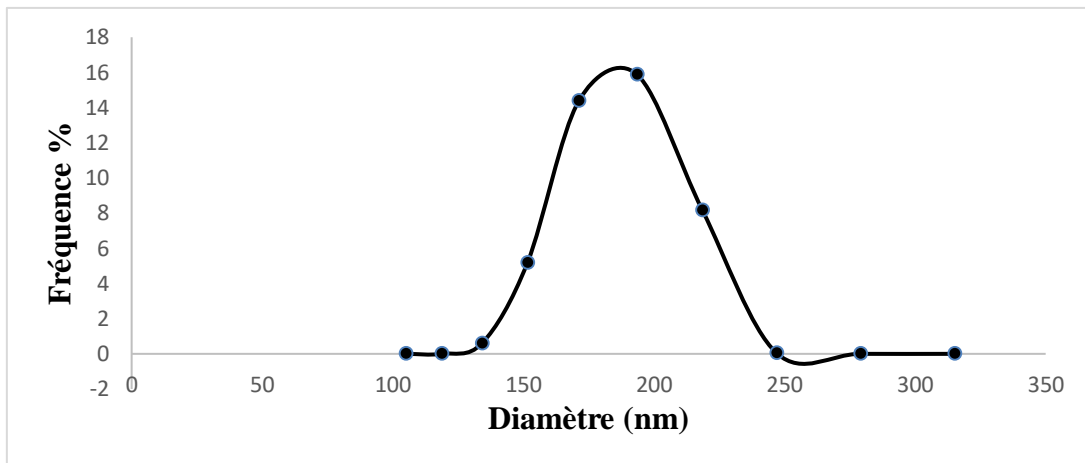


Figure 4.8 : Tailles des particules de premier essai (1).

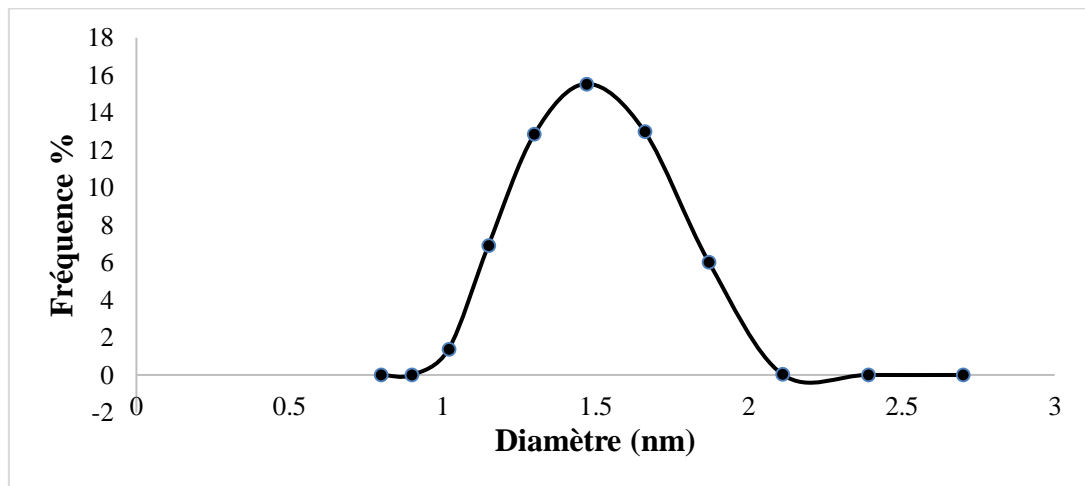


Figure 4.9 : Tailles des particules de premier essai (2).

Deuxième essai :

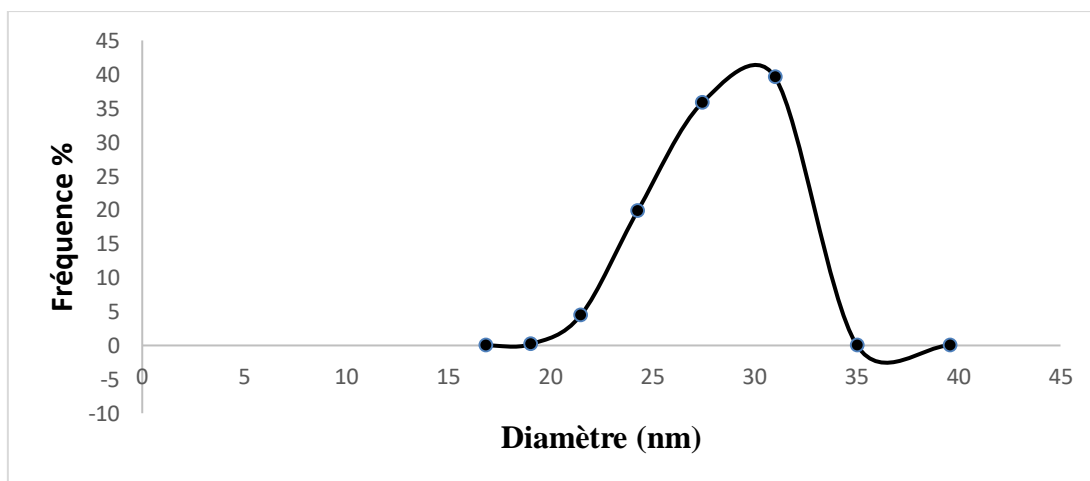


Figure 4.10 : Tailles des particules de deuxième essai.

4.6.7 Etude de comportement rhéologique

L'objectif de ce test est de caractériser le comportement rhéologique des formes semi-solides dans le domaine linéaire et sous écoulement.

Cette partie concerne la caractérisation le comportement rhéologique de notre émulsion.

Résultats

Test d'écoulement

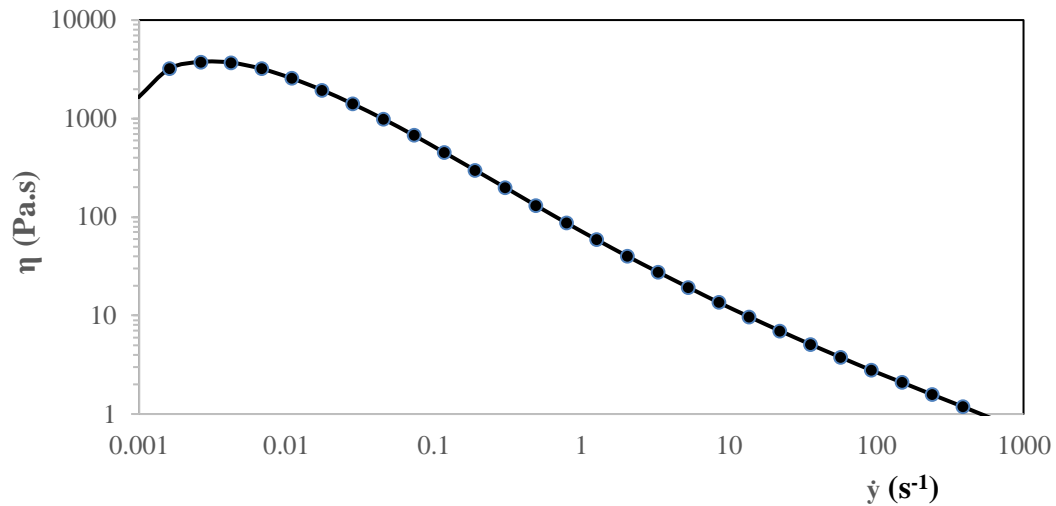


Figure 4.11: Variation de la viscosité (η) de l'émulsion en fonction du taux de cisaillement ($\dot{\gamma}$).

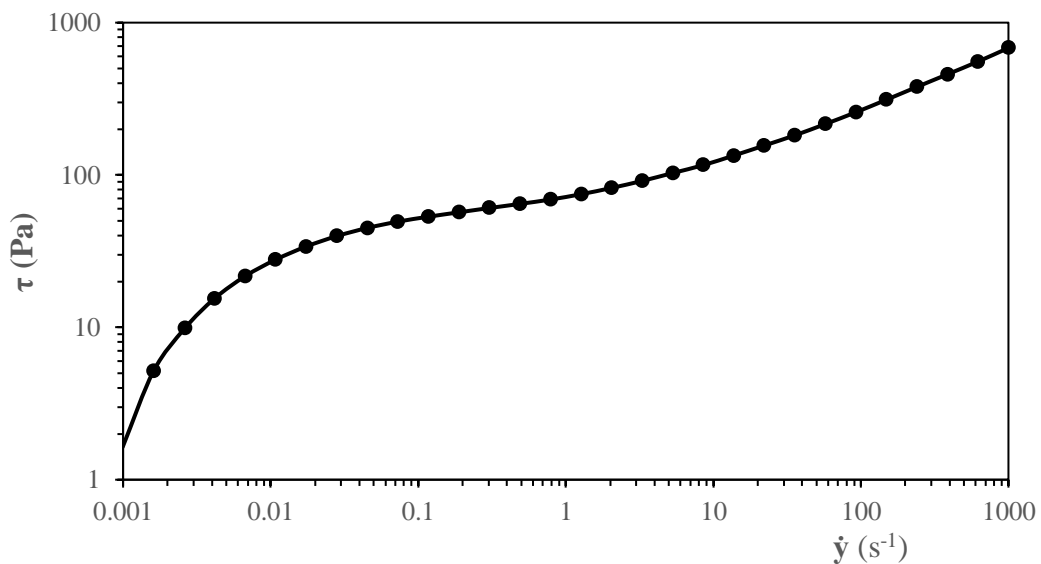


Figure 4.12 : Variation de la contrainte de cisaillement (τ) de l'émulsion en fonction de taux de cisaillement ($\dot{\gamma}$)

Test de viscoélasticité

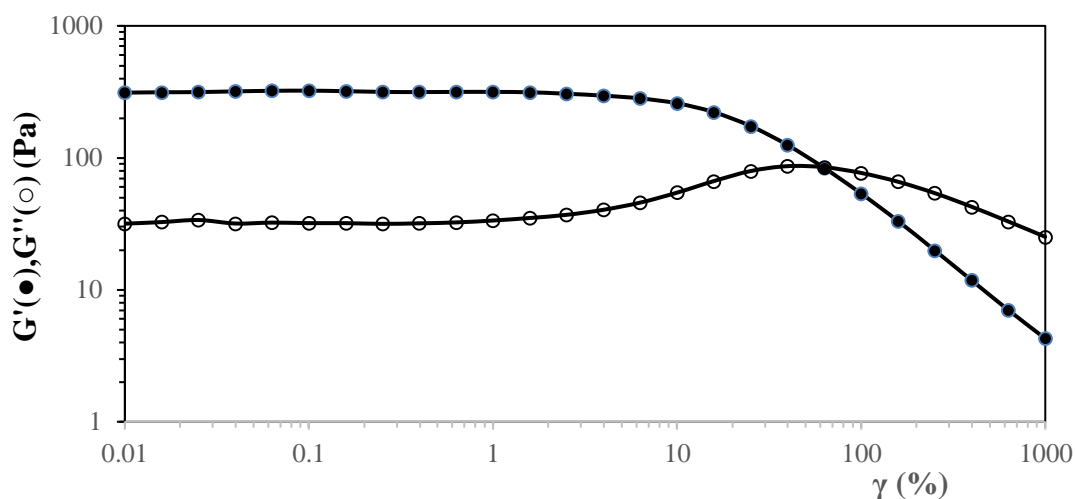


Figure 4.13 : Variation des modules de conservation (élastique) G' et des modules au repos (visqueux) G'' de l'émulgel

Discussions

Test d'écoulement

Les rhéogrammes de la variation de la viscosité en fonction du taux de cisaillement (Figure 4.12) et celui de la variation de la contrainte de cisaillement en fonction du taux de cisaillement (Figure 4.13) montrent un comportement non newtonien et rhéofluidifiant de l'émulgel préparé à partir des polyphénols extraite de *Inula viscosa* avec du méthanol à cause de la diminution de la viscosité apparente avec l'augmentation du taux de cisaillement.

Test de viscoélasticité

En ce qui concerne la variation du module de conservation et du module au repos en fonction de la fréquence (Figure 4.14), l'émulgel préparé à partir des polyphénols extraite de *Inula viscosa*, un comportement élastique est identifié grâce aux 2 courbes linéaires constantes du rhéogramme connue sous le nom de région viscoélastique linéaire (linear viscoelastic regions : LVR) ou le caractère élastique est prédominant que le caractère visqueux pour $G' > G''$. Par contre, une fois les 2 courbes dépassant le point de relaxation, le caractère visqueux devient plus dominant que le caractère élastique pour $G'' > G'$.

4.7 Activité anti-inflammatoire in vivo en utilisant le produit fini (émulgel)

Pour étudier l'activité anti-inflammatoire qui résulterait de l'utilisation de l'émulgel à base de l'extrait de l'inule visqueuse, notre expérimentation a été réalisée sur le modèle de l'œdème aigu de l'oreille gauche de souris induit par l'huile de croton. Une quantité de l'émulgel a été administré aux souris, et on a comparé les résultats avec une crème de référence.

Résultats



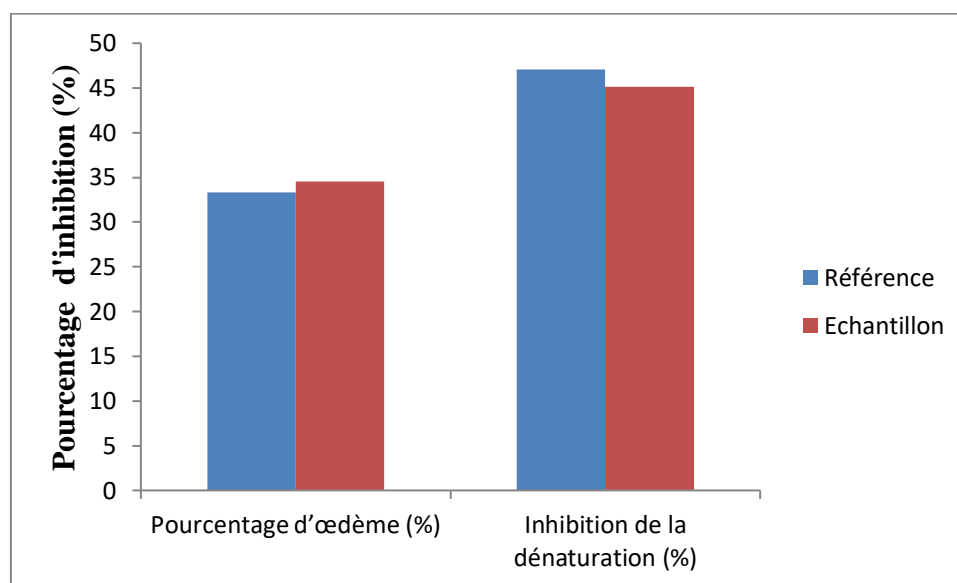
Figure 4.14 : Oreilles droites et gauches de souris de chaque lot.

Tableau 4.6 : Epaisseur d'Oreilles droite de souris de chaque lot avant et après 4h.

Souris	Lot échantillon		Lot référence		Lot témoin	
	oreilles droite (t_0)	oreilles droite (t_4)	oreilles droite (t_0)	oreilles droite (t_4)	oreilles droite (t_0)	oreilles droite (t_4)
1	0.19	0.28	0.17	0.29	0.113	0.327
2	0.11	0.16	0.19	0.26	0.131	0.348
3	0.16	0.20	0.20	0.21	0.112	0.293
4	0.16	0.29	0.10	0.16	0.137	0.347
5	0.10	0.17	0.10	0.22	0.125	0.381
Moyenne	0.144	0.22	0.152	0.228	0.1256	0.3392

Tableau 4.7 : Résultats de test anti-inflammatoire in vivo en utilisant l'émulgel.

Lots	Pourcentage d'œdème (%)	Inhibition de la dénaturation (%)
Référence	33.33	47.07
Echantillon	34.54	45.15
Témoin	62.97	/

**Figure 4.15** : Résultats de l'activité anti-inflammatoire in vivo en utilisant l'émulgel.

Discussion

La réduction de l'œdème sous traitement avec l'émulgel à base de l'extrait des feuilles d'*Inula viscosa* est importante puisque l'œdème est réduit d'une façon similaire à celui de Diclofénac comme référence. Cette réduction se manifeste par une augmentation de taux d'inhibition d'inflammation pour atteindre une valeur de 45.15 % qui est très proche de la valeur obtenue par le Diclofénac (47.07%).

Ces résultats montrent le pouvoir anti-inflammatoire de l'émulgel à base de polyphénols extraite des feuilles d'*Inula viscosa* qui peut remplacer l'utilisation de Diclofénac comme anti inflammatoire non stéroïdien.

Conclusion Générale

Conclusion

Malgré les progrès considérables de la chimie, de l'industrie pharmaceutique et de la médecine, les plantes médicinales n'ont rien perdu de leurs importances. Ces plantes possèdent des composés qui ont des propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes, ce qui permet leurs utilisations dans le domaine thérapeutique.

Dans ce contexte, l'activité anti-inflammatoire de l'extrait des feuilles d'*Inula viscosa* et les tests physico-chimiques, organoleptiques, comportement rhéologique et ainsi l'activité anti-inflammatoire de l'émulgel formulé ont été évalués.

L'émulgel à base de polyphénols extraite de l'*Inula viscosa* possède une activité anti-inflammatoire confirmée par les résultats des tests *in vitro* (94.89 % d'inhibition de la dénaturation des protéines) et *in vivo* (48.58 % d'inhibition de l'inflammation pour l'extrait aqueux et 45.15 % pour l'émulgel formulé) l'évaluation de la formulation a révélé une bonne homogénéité et stabilité de l'émulgel.

L'étude du comportement rhéologique de cette émulsion a confirmé un comportement non newtonien rhéofluidifiant avec une taille des gouttelettes nanométriques.

La recherche de l'activité anti-inflammatoire a montré que les polyphénols extraite d'*Inula viscosa* et l'émulgel formulé à base de ce dernier, possèdent une activité anti-inflammatoire qui est similaire à celle de produit de référence Diclofénac Sodique et par conséquent peut être remplacé par notre produit.

Références bibliographiques

Référence bibliographique

- [1] : Gaussen H., et Leroy H. F., (1982) « Précis de botanique, végétaux supérieurs » 2ème Ed, Masson. Paris. 426 p.
- [2] : Lucchesi M. E., (2005) « Extraction sans solvant assistée par microondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles »Thèse de doctorat. Université de la Réunion. Français.p. 56, 59.
- [3] : Bahorun T., Gressier B., Trotin F., Brunet C., Dine T., Luyckx M., Vasseur J., Cazin M., Cazin J. C. and Pinkas M., (1996), « Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations». *Arznei. Forschung.* 46: 1086-1089.
- [4]: Anderson C.M., Hallberg A., Hogberg, T., (1996) « Advances in development of pharmaceutical antioxidants. »*Adv. Drug. Res.*, 28: 65-180.
- [5]:El-demerdash F.M., Youcef M.I., Zoheir M.A., (2005) « Stannous chloride induces alterations in enzyme activities, lipid peroxidation and histopathology in male rabbit: Antioxidant role of vitamin C., *Food Chem., Toxicol.* » 43:1743-1752.
- [6] : Blower A.L, Brooks A., FennG.c, Hills A., Pearce M.Y, Monart S., Bardhan K.D. (1997) *Emergency admissions for upper gastrointestinal disease and their relation to NSAIDs use.* *Aliment Pharmacol Ther*; 11:238_291
- [7] : Clardy J and Walsh C.,(2004)- Lessons from natural molecules. *Nature.* 432: 829-837.
- [8]: Hamilton.M,Shah.S (2004). «Activity of tea component epicatechin gallate and analogues against methicillin resistance *staphylococcus aureus*» *jornal of antimicrobial chemotherapy*,46,847-863.
- [9] : Mouhammedi,Z, (2009). «Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et plantes de la région de Tlemcen», thèse de magistère, département de biologie laboratoire produits naturels, université Abou Bakr Belkaid Tlemcen, Algérie
- [10]: Farnsworth, N.R., Akerele, O., Bingel, A.S., Soejarto, D.D., Guo, Z. (1986). Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. *Bulletin de l'organisation mondiale de la santé*; 64(2): p 159-164.
- [11]: Elqaj, M., Ahami, A., Belghyti, D. (2007). La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. *Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques «-Maroc: p 22.*

- [12]: Kansole M., (2009). Etude Ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du Burkina-Faso : cas de *leucasMartinicensis* (Jacquin) R. Brown,
- [13]: Decaux I. (2002) Phytothérapie: mode d'emploi. Ed Le Bien Public : p 6-7.
- [14]: Palomo N. (2011) La gestion des plantes médicinales chez les communautés autochtones Nahuas de la HuastecaPotosina, Mexique. Université de Montréal Nadja Palomo Contreras.
- [15]: Fauron F., Moati R. Donadien Y., (1983). Guide pratique de phytothérapie. Éd. maloïne, p811
- [16]: Fournier.P, (1999). Les plantes médicinales et vénéneuses de France. *Connaissance et mémoires européennes*. PP : 49-53
- [17]: P.Leroux. Lamene, R.Fritz, (1992). *pestic.Sci*.36. p261.
- [18]: Barrero, Alejandro F., et al. (2008) "*Dittrichiaviscosa* L. Greuter: Phytochemistry and biological activity." *Natural Product Communications* 3.11: 1934578X0800301110.
- [19]: Messaoudi, M., et al. (2016): "Cytotoxic effect and chemical composition of *Inulaviscosa* from three different regions of Morocco." *European Journal of Medicinal Plants* 1-9.
- [20]: Haoui, ImadEddine, et al. (2015) "Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inulaviscosa* (L.) Aiton." *Arabian Journal of Chemistry* 8.4: 587-590.
- [21]: AROUI Hamza, HALLIL Tayeb, (2017) « Inhibition de la dénaturation de la sérum albumine bovine par les huiles essentielles d'Inule visqueuse, d'Origanet de Verveine », Mémoire de Master en Sciences de la Nature et de la Vie, Université A. MIRA – Bejaia,
- [22]: Brahmi-Chendouh, Nabila, et al. (2019) "A nutraceutical extract from *Inulaviscosa* leaves: UHPLC-HR-MS/MS based polyphenol profile, and antioxidant and cytotoxic activities." *journal of food and drug analysis* 27.3: 692-702.
- [23]: Chahmi, Naima, et al. (2015) "Antioxidant activities and total phenol content of *Inulaviscosa* extracts selected from three regions of Morocco." *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 5.3: 228-233.
- [24]: P.Montoro, A.Braca, C.Pizza, N. De Tommasi, (2005) Structure antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species, *Food Chem.* 92: 349-55,.

- [25]: J.L.Fauchère, J.L.Avril, (2002).Bactériologie générale et médicale. Ed. Ellipses, Paris. p 365,
- [26]: R. Grillot, (1996). Les mycoses humaines : Démarche diagnostique. Ed. Scientifiques et médicales Elsevier, Paris. p 392,
- [27]: V.Guillaume, (2006) Mycologie.Ed, de boeck, Bruxelles. p55,.
- [28]:S.Neggaz, (2010). Analyse chromatographiques et spectroscopiques des composés antimicrobiens d'une espèce de terpez : Tirmaniapinoi (Maire).Thèse de magister.
- [29]: Manez S., V.Hernandez, R.M.Giner, J.Rios, R.Mariadel Carmen., (2007). Les plantes aromatiques et les huiles essentielles Fitoterapia.78:329.
- [30]: Zeggwagh N.A., Ouhidi M.L., Lemhadri A., Eddouks M., (2006). Journal of Ethnopharmacology.p 108-223.
- [31]: L.Lauro, C.Rolih (1990). BollettinoSocietaItaliana Biological Sperimentable.66: 829.
- [32]:Cafarchia C., De Laurentis N., Milillo M.A., Losacco V., (2002). Antifungal activity of oils leaves and flowers of *Inulaviscosa* (Asteraceae) by Apulian region . Parassitologia 44, 153- 156.
- [33]: Franco-Mican S.X., Castro J., Campos M.. 2008. Observation du complexe parasitaire de l'inule visqueuse en Espagne, et ses méthodes de propagation. Le Nouvel Olivier, n°66, novdéc.
- [34]: Adam K., Sivropoulou A, Kokkini S., Laranas T, Arsenakis M. 1989. J.Agric, Food Chem, Vol46 :1739-1745,
- [35]: Susplugas C., G.Balansard, J.Julien, Herba Hung (1980). 19:19,
- [36]: Alkofahi A., Atta A.H., (1999). Pharmacological screening of the anti-ulcerogenic effects of some Jordanian medicinal plants in rats. J Ethnopharmacol 67, 341-345.
- [37]: Schinella G.R., Tournier H.A., Prieto J.M., Mordujovich de Buschiazzo P., Rios J.L., (2002). Antioxidant activity of anti-inflammatory plant extracts. Life Sciences 70, 1023-1033.
- [38]: Sassi A.B., Harzallah-Skhiri F., Bourgougnon N., Aouni M., (2008. Antiviral activity of some Tunisian medicinal plants against Herpes simplex virus type 1. Nat Prod Res 22, 53-65.
- [39]: Rozenblat S., Grossman S., Bergman M., Gottlieb H., Cohen Y., Dovrat S., (2008).Induction of G2/M arrest and apoptosis by sesquiterpene lactones in humain melanoma cell lines. Biochem Pharmacol 75, 369-382.

- [40]: Jiofack T., Fokunang C., Guedje N.M., Kemeuze V., Fongnzossie E., Nkongmeneck B.A, Mapongmetsem P.M., et Tsabang, N. (2010) Ethnobotanical uses of medicinal plants of two ethnoecological regions of Cameroon. *International Journal of Medicine and Medical Sciences* 2 (3) : 60-79.
- [41]: Ulubelen A. Goun S. (1986). Sesquiterpene acids from *Inula Viscosa*. *Phytochemistry*.vol 26 n° 4 pp 1223-1224.
- [42]: Anonyme, (2008). Pharmacopée Européenne, tome 1, Ed conseil de l'Europe, Strasbourg, 1170p.
- [43]: Lamarti, A. Badoc A., Deffieux D.,Carde J.-P; (1994); biogenèse des monoterpènes: terpènes etterpénoides, biosynthèse des terpénoides; bull. soc. Pharm. Bordeaux, 133.
- [44]: Croteau F., (1986). Biochemistry of monoterpenes and sesquiterpenes of the essential herbs: spices and medicinal plants, recent advances in botany, horticulture and pharmacology. Vol., 1, Craken, Simon, Oryx Press, Phoenix.
- [45]: Sofowora, A. (1993). Medicinal plants and traditional medicine in Africa, 2 Spectrum Books Limited, Ibadan, Nigeria, 289.
- [46]: Benhouhou S., (2005). Usage spécial : plantes médicinales en Afrique du nord Institut agronomique national, Alger (Algérie).
- [47]: Salhi, S., Fadli, M., Zidane, L., Douira, A. (2010). Floristic and ethnobotanical study of medicinal plants of Kénitra (Maroc). *Lazaroa* 31: 133-146.
- [48]: Bruneton J., (1993). *Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales, Tec &Doc. Lavoisier, Paris, 2ème édition, 915 p.*
- [49]: Benseguini-Tounsi L., (2001). Etude in vitro de l'effet antibactérien et antifongiques de : *Inula Viscosa, Lawsoniainermis, Asphodelusmicrocarpus, Aloevera et Juniperusoxycedrus*. Mémoire de magistère en médecine vétérinaire. Université de Constantine.110p.
- [50]: Sarni-Manchado P, Cheynier V. (2006) « Les polyphénols en agroalimentaire ». Tec et Doc Lavoisier-Paris.
- [51]: Remli B., (2013) .Extraction des Flavonoïdes de la plante *Inulaviscosa*, de la région d'Oran et mise en évidence de l'activité microbienne. Mémoire de magistère en chimie. Université d'Oran .770p.
- [52]: Bai N., Zhou Z., Zhu N., Zhang L., Quan Z., He K., (2005) . Antioxydative flavonoids from the flower of *Inulabritannica*. *Journal of Food Lipids*, 12, 141–149.
- [53]: Guignard J.L., (2000). Biochimie végétale, 2ème édition, Ed. Duond , Paris ,274 p.

- [54]: Boumaza D., (2011). Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales : *Inule Visqueuse*, *Rosmarinus officinalis* de la région d'Oran, thèse de Magister.
- [55]: Faure, Sébastien. (2009) "Anti-inflammatoires stéroïdiens." *Actualités pharmaceutiques* 48.487: 51-56.
- [56]: Khalil E.A., Afifi F.U., Al-hussaini M.,(2007). Essential oils. *Journal of Ethnopharmacology*.109 104-112.
- [57]: BOUCHEBBAH Souhila, KARA Karima, (2016) « Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire des extraits de plante : *Inula viscosa* L », Mémoire de Master en Sciences biologiques, Université Abderrahmane Mira de Béjaia.
- [58]: Blain, H., et al. (2000) "Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inhibiteurs sélectifs de la cyclooxygénase 2. Intérêt et perspectives." *La revue de médecine interne* 21.11: 978-988.
- [59]: Muster, D. (2005) : "Médicaments de l'inflammation." *EMC-Stomatologie* 1.1 21-29.
- [60]: Tayeb Cherif Aldjia, (2012) « Evaluation *in vivo* de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique d'écorce de *Fraxinus angustifolia* (Oleaceae) », Mémoire de Master en Génétique appliquée, Université Abderrahmane MIRA –Bejaia,
- [61]: AMAMRA SAMRA, (2009) « Synthèse et caractérisation d'espèces nano confinées hôtes d'intercalation et d'encapsulation d'espèces actives dans des structures cationiques et anioniques. Application à des biomolécules », Mémoire de MAGISTER en Génie des procédés pharmaceutiques, UNIVERSITE FERHAT ABBAS-SETIF,
- [62]: Seoussen, (2018) « Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques », Thèse de Doctorat en Sciences, Université Ferhat Abbas Sétif 1,
- [63]: Hernández, Victoriano, et al. (2007) "Effects of naturally occurring dihydroflavonols from *Inula viscosa* on inflammation and enzymes involved in the arachidonic acid metabolism." *Life Sciences* 81.6: 480-488.
- [64]: Hänsel R, Keller K, Rimpler H, Schneider G. *Drogen E-O*. Berlin: Springer-Verlag, (1993). p399-404,
- [65]: K. Anikumar (2015). [Enseigner la formulation chimique] Vangelis Antzoulatos

- [66]: J.M.Aubry (2015). [Enseigner la formulation chimique] Vangelis Antzoulatos
- [67]: GIBSON, M., (2004).Pharmaceutical Preformulation and formulation. Interpharm/CRC,
- [68]: G. COHEN, Méthodologie des choix du galéniste (1990). : vers une optimisation de la formulation, in S.T.P. PHARMA, p 20-23,
- [69]: Cavatur Raghu, K., N. Vemuri Murti, and R. Suryanarayanan, Preformulation Studies for Tablet Formulation Development, in Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets Volume 1: Unit Operations and Mechanical Properties. p 465-484.
- [70]: Halbert Gavin, W., Preformulation, in Modern pharmaceutics p327-356.
- [71]: J.Poré. (1976) « Les dispersions aqueuses ». Ed Le Cuir, Neuilly.
- [72]: P. Becher (1965). « Émulsions : theory and practice 2e ed ». reinhold Publishing corp.
- [73]:O. Doumeix Joël Cnokaert Françoise G «Opérations unitaires en génie biologique b i o l o g i e t e c h n i q u e » CNDP-CRDP
- [74]: J.Poré. (1998). « Émulsions, microémulsions, émulsions multiple ». Ed. Techniques des industries.
- [75]: LAFFORGUE Christine, THIROUX Jannick. (2008). Produits dermo cosmétiques: modes d'emploi. Éd. Walters Kluwer,
- [76]: P. G. de Gennes, (1979) Scaling concepts in polymer physics, Cornell University Press, Ithaca, NY ,
- [77]: Jain A., Gautam S.P., Gupta Y., Khambete H., and Jain S. (2010). Development and characterization of ketoconazole emulgel for topical drug delivery. *Der Pharmacia Sinica*, 1: 221-231.
- [78]: Khunt DM, Mishra AD, and Shah DR (2012). Formulation Design & Development of Piroxicam Emulgel. *Int J PharmTech Res*, 4: 1332-1344.
- [79]: Patel J, Trivedi J, Chudhary S (2014). Formulation and evaluation of diacerein emulgel for psoriatic arthritis. *Int J Pharm Res Bio-Scie*, 3: 625-638.
- [80]: Sabri LA, Sulayman HT, and Khalil YI (2009). An Investigation Release and Rheological Properties of Miconazole Nitrate from Emulgel. *Iraqi J Pharm Sci*, 18: 26-31.
- [81]: Thakur N. K., Bharti P., Mahant S., Rao R. (2012). Formulation and Characterization of Benzoyl Peroxide Gellified Emulsions. *Sci Pharm*, 80: 1045–1060.

- [82]: Baboota S., Alam S., Sharma S., Sahni J.K., Kumar A., and Ali J. (2011). Nanocarrier-based hydrogel of betamethasone dipropionate and salicylic acid for treatment of psoriasis. *Int J Pharm Investig*, 1: 139–147.
- [83]: Sepulveda E, Kildsig DO, and Ghaly ES (2003). Relationship between Internal Phase Volume and Emulsion Stability: The Cetyl Alcohol/Stearyl Alcohol System. *Pharm Dev Tech*, 8: 263–275.
- [84]: Lee E., Balakrishnan P., Song C.K., Choi J., Noh G.Y., Park C.G., Choi A., Chung S., Shim C.K. and Kim D.D. (2010). Microemulsion-based Hydrogel Formulation of Itraconazole for Topical Delivery. *J Pharmaceu Inves*, 40: 305-311.
- [85]: Azeem A, Rizwan M, Ahmad FJ, Iqbal Z, Khar RK, Aqil M, and Talegaonkar S (2009). Nanoemulsion Components Screening and Selection: a Technical Note. *AAPS Pharm Sci Tech*, 10: 69-76.
- [86]: Kumthekar KR (2012). Studies in Mixed Surfactant Systems and Vegetable Oil Emulsions.
- [87]: Garg A, Aggarwal D, Garg S, and Singla AK (2002). Spreading of Semisolid Formulations: An Update. *Pharmaceutical Technology*. Circle/eINFO 74.