

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Université de Blida -1-**

**Faculté de Technologie**

**Département de Génie des Procédés**



**Mémoire**

En vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER EN GENIE DES PROCEDES**

**Spécialité : Pharmacie Industrielle**

**Formulation d'un sirop Bio à base de nanocurcumines  
édulcoré à la *Stévia Rébaudiana Bertoni* : Etude de  
l'effet sur le diabète et la réduction du stress oxydatif**

**Présenté par :**

*BOUFESSIS Wissem*

*MOHAMED MAMAR Lydia*

**Encadré par :**

Pr. Amel HADJ- ZIANE

FERRADJ Safa

**Année universitaire 2021/2022**

# Avant-Propos

*Tout d'abord, louange à « Allah » qui nous a guidé sur le droit chemin tout au long du travail et nous a inspiré les bons pas et les justes reflexes. Sans sa miséricorde, ce travail n'aurait pas abouti.*

Ce travail du projet de fin d'études a été réalisé au laboratoire de Génie Chimique de la faculté de Technologie de l'université de Blida conjointement au laboratoire de Pharmacologie de la faculté de médecine.

Nous voulons exprimer par ces quelques lignes nos remerciements, notre gratitude envers tous ceux et celles, qui par leur présence, leur soutien, leur disponibilité et leurs conseils, nous avons aboutir au terme de ce modeste travail.

Nous commencerons par remercier notre chère Professeur **Mme HADJ-ZIANE Amel**, qui nous avons fait l'honneur d'être notre encadrante, nous la remercions profondément pour son encouragement continu, et pour avoir été toujours là pour nous écouter, nous aider et nous guider à retrouver le bon chemin par sa sagesse et ses précieux conseils. Toutes nos expressions ne suffiront pas pour décrire son aimable bienveillance, nous avons senti que c'était notre deuxième maman que Dieu la protège.

Nous remercions également notre co-promotrice Mme FERRADJ Safa pour ses précieux conseils et l'aide précieuse pour la réalisation des différentes expériences

Nous exprimons nos aussi les plus vifs remerciements à Mme NABI Ikram, enseignante à la faculté des sciences de la nature et la vie et responsable au laboratoire de pharmacologie pour nous avoir guidé et encadré durant le déroulement de la partie d'étude in-vivo.

Notre profonde reconnaissance envers les membres du jury d'avoir accepté de juger ce et évaluer notre travail

Merci à nos chers(es) enseignants(es) et à tous le staff administratif et technique du département de Génie des procédés pour toute contribution afin de nous avoir assuré cette formation

**Un grand merci à tous.**



## Dédicace

C'est avec une profonde gratitude et de sincères mots, que je dédie ce modeste travail à **ma maman chérie, et mon cher papa**. Nulle dédicace ne peut exprimer mes sincères sentiments envers mes chers parents que j'aime de tout mon cœur, qui font tous les jours preuve d'une patience illimitée, une aide précieuse et un encouragement continu.

Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon éducation et ma formation.

« Que Dieu le tout puissant vous préserve, vous accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et vous protège de tout mal. »

A mes chères sœurs que j'adore : **Manel, Amina, Hasna** pour leur grand soutien et leur aide précieuse, qu'elles trouvent ici l'expression de ma haute gratitude.

A mes chers frères que j'aime profondément : **Zineddine, Zakaria, Bilel** pour leur soutien moral.

A mes tantes **Akila, Habiba** pour leur présence à mes côtés.

A toute ma famille paternelle et maternelle.

Un grand merci à tous mes amis qui m'ont encouragé de près ou de loin.

A ma très chère binôme **MOHAMED MAMAR Lydia**.

Merci à tous d'être là pour moi. Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite, et de sérénité.

**BOUFESSIS Wissem**





## **Dédicace**

*A chaque fois qu'on achève une étape importante dans notre vie, on fait une pensée pour se rappeler de ces personnes qui ont partagé avec nous tous les bons moments de notre existence, mais surtout les plus durs. Que le tout puissant nous garde ces personnes qui nous sont très chères.*

*Je rends un grand hommage à travers ce modeste travail, en signe de respect et de reconnaissance et je le dédie en premier lieu :*

*A mon cher Papa, mon pilier, mon exemple, mon guide, ma source de noblesse et d'affection, à celui qui a toujours été présent, qui m'a appris les vraies valeurs de la vie, à celui qui m'a soutenu en toutes circonstances, mon père que j'aime. Je te dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester ta fierté et ne jamais te décevoir.*

*A ma Maman d'amour, exemple de force et de générosité, source de tendresse, de patience, d'amour, ta prière m'a été d'un grand secours tout au long de ma vie. Merci de m'avoir poussée et motivée dans mes études.*

*A mes 2 frères et ma chère sœur Fadila avec toute l'affection et que vos Souhaits les plus fous se réalisent.*

*A tous les membres de la famille MOHAMED MAMAR et YAHIATENE.*

*A ma chère binôme « BOUFESSIS Wissem ».*

**MOHAMED MAMAR Lydia**



## ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تطوير تركيبتين أساسيتين للكوركومين النانوي (شراب) لعلاج ووقاية الإجهاد التأكسدي ومرض السكري. يُعرف الكركمين المستخدم كعنصر نشط بعدم قابليته للذوبان في الماء، وقد تم تصميمه بالميكرونات لتحسين توافره البيولوجي ومن أجل حمايته من التحلل الضوئي، تم تغليفه في اثنين من البوليمرات الحيوية (نشا الذرة ومصل الحلبة) بمعدلات تغليف 75% و 85% على التوالي.

تم دمج ستيفيا كمحلي. تم تقييم استقرار كلا التركيبين من خلال التحكم في توزيع حجم الجسيمات وإمكانات زيتا لمدة 25 يومًا. ظل حجم الجسيمات مستقرًا بين 95-119.1 نانومتر. أيضًا، تم تحسين معدلات ذوبان الكركمين النانوي المغلف بنسبة 67% و 70% على التوالي مقارنة بالكركمين الخام. أظهرت كلتا التركيبتين نشاطًا ممتازًا لمضادات الأكسدة كما حدده البوليفينول. دراسة تأثير النشاط المضاد للسكري في جردان وبستار المصابة بمرض السكري عن طريق التحريض باستخدام الستريبتوزوتوسين. يساعد الاستهلاك اليومي للشراب لمدة 21 يومًا على خفض نسبة الجلوكوز في الدم الصائم من 392 مجم/ديسيلتر إلى 187 مجم/مل. أظهرت الملاحظة العيانية للكبد بوضوح التأثير المضاد للأكسدة لشراب الحلبة في تقليل الإجهاد التأكسدي.

**الكلمات المفتاحية :** الكركمين النانوي، ستيفيا ريبوديانا بيرتونني، البوليمرات الحيوية، النشاط المضاد للسكري، النشاط المضاد للأكسدة، التوافر البيولوجي، التغليف.

## **Abstract**

The objective of this study is to develop two nanocurcumin-based formulations (syrups) for the treatment and prevention of oxidative stress and diabetes. Curcumin used as an active ingredient is known for its insolubility in water, has been micronized to improve its bioavailability and in order to protect it from photodegradation, it has been encapsulated in two biopolymers (corn starch and fenugerc mucilage) with encapsulation rates of 75% and 85% respectively. The *Stevia Rebaudiana Bertoni* was incorporated as a sweetener. The stability of both formulations was assessed by controlling the particle size distribution and zeta potential for 25 days. The particle size determined by DLS remained stable between 95-119.1 nm with PDIs < 1. Also, the dissolution rates of the encapsulated nanocurcumin have been improved 67% and 70% respectively in relation to gross curcumin. Both formulations exhibited excellent antioxidant activity determined by the determination of polyphenols with DPPH. Study of the effect of antidiabetic activity in Wistar rats rendered diabetic by induction with streptozotocin. Daily consumption of syrup for 21 days helps to lower fasting blood glucose from 392 to 187 mg/ml. Macroscopic observation of livers has clearly demonstrated the antioxidant effect of CURF syrup in reducing oxidative stress.

**Keywords:** nanocurcumin, *Stevia Rebaudiana Bertoni*, biopolymer, antidiabetic activity, antioxidant activity, bioavailability, encapsulation.

## Résumé

L'objectif de cette présente étude est l'élaboration de deux formulations (sirops) à base de nanocurcumine pour le traitement et la prévention contre le stress oxydatif et le diabète. La curcumine utilisée comme principe actif est connue pour son insolubilité dans l'eau, a été micronisée afin d'améliorer sa biodisponibilité et dans le but de la protéger contre la photodégradation, elle a été encapsulée dans deux biopolymères (amidon de maïs et mucilage de fenugrec) avec des taux d'encapsulation de 75% et 85% respectivement. La *Stevia Rebaudiana Bertoni* a été incorporée en tant que édulcorant. La stabilité des deux formulations a été évaluée par contrôle de la distribution granulométrique et du potentiel zêta pendant une durée de 25 jours. La taille des particules déterminée par DLS est restée stable entre 95-119,1 nm avec des PDI < 1. Aussi, les taux de dissolution de la nanocurcumine encapsulée ont été améliorés de 67% et 70% respectivement par rapport à la curcumine brute. Les deux formulations ont présentées une excellente activité antioxydante déterminée par le dosage des polyphénols au DPPH. L'étude de l'effet d'activité antidiabétique réalisée sur des rats Wistar rendus diabétiques par induction avec la streptozotocine. La consommation quotidienne de sirop pendant 21 jours contribue à abaisser la glycémie à jeun de 392 jusqu'à 187 mg/ml. L'observation macroscopique des foies a prouvée clairement l'effet antioxydants de sirop de CURF dans la réduction du stress oxydatif.

**Mots clés :** nanocurcumine, la *Stevia Rebaudiana Bertoni*, biopolymères, activité antidiabétique, activité antioxydante, biodisponibilité, encapsulation.

## Sommaire

<b>Avants propos</b>	
<b>Dédicace</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>Sommaire</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Introduction générale.....</b>	<b>1</b>

### Partie 1 : Recherche bibliographique

#### Chapitre I : CURCUMA ET CURCUMINE

I.1. LE CURCUMA.....	3
I.1.1. Définition .....	3
I.1.2. Description de la plante.....	3
I.1.3. Composition chimique .....	4
I.2. LA CURCUMINE.....	5
I.2.1. Définition .....	5
I.2.2. Extraction et purification de la curcumine.....	5
I.2.3. Propriétés physico-chimiques de la curcumine.....	7
I.2.4. Stabilité de la curcumine.....	7
I.2.5. Propriétés pharmacocinétiques.....	9
I.2.6. Méthodes d'amélioration de la biodisponibilité.....	9
I.2.7. Nanoformulations de la curcumine.....	10
I.2.8. Activités biologiques de la curcumine.....	14
I.2.8.1. L'activité antioxydante.....	15
I.2.8.2. L'activité antidiabétique.....	15

## **Chapitre II : STEVIA REBAUDIANA BERTONI**

II.1. Généralité sur les édulcorants .....	17
II.2. Classification des édulcorants .....	18
II.3. Définition de la <i>stévia</i> .....	20
II.4. Description de la plante .....	21
II.5. Composition des feuilles de <i>stévia</i> .....	22
II.5.1. Les métabolites primaires.....	22
II.5.2. Les métabolites secondaires.....	22
II.6. Avantages de la <i>stévia</i> pour la santé.....	25
II.7. Processus de fabrication de la <i>stévia rebaudiana</i> .....	25

## **Chapitre III : LES SIROPS ET LA VOIE ORALE**

III.1. La voie orale .....	28
III.2. Les formes destinées à la voie orale.....	28
III.2.1. Les formes solides.....	28
III.2.2. Les formes liquides.....	29
III.3. Les facteurs d'influence sur la stabilité d'une préparation liquide.....	30
III.4. Les sirops.....	31
III.4.1. Définition.....	31
III.4.2. La composition de sirop.....	31
III.4.3. Les avantages et les inconvénients de sirop.....	33
III.4.4. Les sirops bio.....	33

## **Partie 2 : Partie expérimentale**

### **Chapitre VI : MATRERIEL ET METHODES**

IV.1. L'objectif du travail.....	40
IV.2. Matériel .....	41
IV.2.1. Appareillage.....	41
IV.3. Méthodes.....	41
IV.3.1. Matières premières de la formulation .....	41

IV.3.1.1. Principe actif.....	41
VI.3.1.2. Les excipients .....	42
IV.3.2. Formulation des sirops.....	44
IV.3.3. Caractérisations physico-chimiques des différentes formulations .....	48
IV.3.3.1. Micronisation de la curcumine.....	48
IV.3.3.1.1. Détermination de la taille des particules.....	48
IV.3.3.1.2. Détermination du potentiel zêta.....	48
IV.3.3.2. Mucilage de fenugrec.....	49
IV.3.3.2.1. Caractéristiques organoleptiques.....	49
IV.3.3.2.2. Solubilité de la poudre du mucilage de fenugrec.....	49
IV.3.3.2.3. Identification par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) .....	49
IV.3.3.3. Caractérisation des sirops à base de nanocurcumines.....	49
IV.3.3.3.1. Evaluation des paramètres organoleptiques .....	49
IV.3.3.3.2. Mesure du pH.....	50
IV.3.3.3.3. Mesure de la densité.....	50
IV.3.3.3.4. Mesure de degré Brix.....	50
IV.3.3.3.5. Détermination de la taille des particules.....	51
IV.3.3.3.6. Détermination du potentiel zêta.....	51
IV.3.3.3.7. Détermination du taux d'encapsulation du PA.....	51
IV.3.3.3.8. Etude de la cinétique de dissolution in vitro.....	51
IV.3.3.3.9. Etude de la stabilité.....	53
IV.3.3.3.10. Etude du comportement rhéologique.....	54
IV.3.4. Evaluation des activités biologiques.....	55
IV.3.4.1. L'activité antioxydante in vitro.....	55
IV.3.4.2. L'activité antidiabétique in vivo.....	56
IV.3.4.2.1. Les animaux d'expérimentation.....	57
IV.3.4.2.2. Induction du diabète.....	58
IV.3.4.2.3. Mesures de la glycémie et confirmation du diabète.....	59
IV.3.4.2.4. Gavage des rats par les formulations.....	59
IV.3.4.2.5. Dissection et prélèvement des organes.....	60

## **Chapitre V : RESULTATS ET DISUSSION**

V.1. Caractérisations physico-chimiques des différentes formulations.....	61
V.2.1. Micronisation de la curcumine.....	61
V.2.1.1. Détermination de la taille des particules.....	61
V.2.1.2. Détermination du potentiel zêta.....	63
V.2.2. Extraction du mucilage de fenugrec.....	64
V.2.2.1. Solubilité de la poudre du mucilage de fenugrec.....	65
V.2.2.2. Identification par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	66
V.2.3. Caractérisation des sirops à base de nanocurcumines.....	67
V.2.3.1. Evaluation des paramètres organoleptiques.....	67
V.2.3.2. Mesure du pH.....	67
V.2.3.3. Mesure de la densité.....	68
V.2.3.4. Mesure du degré Brix.....	68
V.2.3.5. Détermination de la taille des particules des formulations.....	68
V.2.3.6. Détermination du potentiel zêta.....	69
V.2.3.7. Détermination des taux d'encapsulation du PA.....	70
V.2.3.8. Etude de la cinétique de dissolution in vitro.....	70
V.2.3.9. L'étude de la stabilité.....	73
V.2.3.10. L'étude du comportement rhéologique.....	75
V.2. Evaluation des activités biologiques.....	77
V.2.1. L'activité antioxydante in vitro.....	77
V.2.2. L'activité antidiabétique in vivo.....	79
V.2.2.1. Evaluation de la glycémie.....	79
V.2.2.2. Dissection et prélèvement des organes.....	82
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>83</b>

## **Références bibliographiques**

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.1:</b> Comparaison entre la curcumine et les nanocurcumines.....	11
<b>Tableau III.1 :</b> Les avantages et les inconvénients de sirop.....	33
<b>Tableau III.2:</b> Les compléments alimentaires à base de curcuma.....	39
<b>Tableau IV.1 :</b> Les appareils utilisés pour la formulation et la caractérisation.....	41
<b>Tableau IV.2 :</b> Les propriétés physico-chimiques de la curcumine.....	42
<b>Tableau IV.3 :</b> Les propriétés physico-chimiques du <i>rébaudioside A</i> .....	43
<b>Tableau IV.4 :</b> Les propriétés physico-chimiques de l'amidon de maïs.....	43
<b>Tableau IV.5 :</b> La répartition des lots de l'étude.....	58
<b>Tableau V.1:</b> Les tailles des particules et les indices de polydispersité de nanocurcumines.....	61
<b>Tableau V.2:</b> Le potentiel zêta de nanocurcumines.....	63
<b>Tableau V.3 :</b> Les solubilités du mucilage de fenugrec dans les différents solvants...	65
<b>Tableau V.4 :</b> L'identification des pics de FTIR du mucilage de fenugrec.....	66
<b>Tableau V.5 :</b> Les propriétés organoleptiques des sirops.....	67
<b>Tableau V.6 :</b> Les tailles des particules et les indices de polydispersité des sirops....	69
<b>Tableau V.7 :</b> Le potentiel zêta des sirops.....	69
<b>Tableau V.8 :</b> Les taux de dissolution de la curcumine brute et des sirops.....	71

## Liste des figures

<b>Figure I.1</b> : La plante du <i>curcuma longa</i> .....	3
<b>Figure I.2</b> : La structure chimique des curcuminoïdes.....	4
<b>Figure I.3</b> : La tautomérisation de la curcumine.....	5
<b>Figure I.4</b> : Les techniques d'extraction et de purification de la curcumine.....	6
<b>Figure I.5</b> : Les dérivées de la curcumine.....	8
<b>Figure I.6</b> : Les nanoformulations à base de la curcumine.....	14
<b>Figure I.7</b> : Les activités biologiques de la curcumine.....	14
<b>Figure II.1</b> : La teneur en <i>glycosides de stéviol</i> dans les feuilles de <i>stévia rebaudiana</i> (% du poids sec).....	20
<b>Figure II.2</b> : La plante du <i>stévia</i> .....	21
<b>Figure II.3</b> : La structure chimique de <i>rébaudioside A</i> .....	24
<b>Figure II.4</b> : Le processus de fabrication de la <i>stévia rebaudiana</i> .....	25
<b>Figure II.5</b> : Les techniques d'extraction des feuilles de <i>stévia</i> .....	27
<b>Figure III.1</b> : Les différentes formes solides.....	28
<b>Figure III.2</b> : Les différentes formes liquides.....	29
<b>Figure III.3</b> : Le sirop d'érable.....	34
<b>Figure III.4</b> : Le sirop d'agave.....	35
<b>Figure III.5</b> : Le sirop de dattes.....	36
<b>Figure III.6</b> : Le sirop de <i>sorgho</i> .....	37
<b>Figure III.7</b> : Le sirop de yacon.....	37
<b>Figure III.8</b> : Le sirop de maïs à haute teneur en fructose.....	38
<b>Figure III.9</b> : Le sirop de la curcumine édulcoré à la <i>stévia</i> .....	39

<b>Figure IV.1 :</b> La curcumine pure.....	42
<b>Figure IV.2 :</b> La structure chimique du mucilage de fenugrec.....	44
<b>Figure IV.3 :</b> Les étapes de l'extraction et isolation du mucilage des graines de fenugrec.....	45
<b>Figure IV.4 :</b> Les étapes de formulation des sirops à base de nanocurcumines encapsulées dans les biopolymères.....	47
<b>Figure IV.5 :</b> Equipement de la diffusion dynamique de la lumière (DLS) (photo originale).....	48
<b>Figure IV.6:</b> Un réfractomètre portable (photo originale).....	50
<b>Figure IV.7:</b> Un dissoluteur à palette tournante (photo originale).....	53
<b>Figure IV.8 :</b> Le rhéomètre utilisé (photo originale).....	54
<b>Figure IV.9 :</b> Le mécanisme réactionnel du test DPPH°.....	55
<b>Figure IV.10 :</b> La structure chimique de la streptozotocine.....	56
<b>Figure IV.11:</b> Le mécanisme d'action de la streptozotocine.....	57
<b>Figure IV.12:</b> La voie d'administration de la streptozotocine (photo originale).....	58
<b>Figure IV.13 :</b> La mesure de la glycémie d'un rat (photo originale).....	59
<b>Figure IV.14 :</b> Le gavage d'un rat (photo originale).....	59
<b>Figure IV.15 :</b> La dissection d'un rat (photo originale).....	60
<b>Figure V.1 :</b> Les courbes de distribution granulométrique de la solution de nanocurcumines pour les formulations (« A CURA », « B CURF »).....	62
<b>Figure V.2 :</b> Norme de référence du potentiel zêta de DLS HORIBA.....	64
<b>Figure V.3 :</b> La poudre du mucilage de fenugrec (photo originale).....	64
<b>Figure V.4 :</b> La solubilité du mucilage de fenugrec dans les différents solvants (photo originale).....	65
<b>Figure V.5 :</b> Le spectre FTIR du mucilage de fenugrec.....	66
<b>Figure V.6 :</b> La courbe d'étalonnage de la curcumine brute.....	70

<b>Figure V.7 :</b> Les profils de dissolution de la curcumine brute et des sirops.....	72
<b>Figure V.8 :</b> La variation de la taille des particules des nanocurcumines au cours du temps (« A sirop CURA », « B sirop CURF »).....	73
<b>Figure V.9 :</b> La variation du potentiel zêta des nanocurcumines au cours du temps (« A sirop CURA »,« B sirop CURF »). ....	74
<b>Figure V.10 :</b> Les caractéristiques organoleptiques des sirops au cours du temps (« A sirop CURA »,« B sirop CURF ») (photo originale).....	74
<b>Figure V.11 :</b> Evolution de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement pour les deux formulations.....	76
<b>Figure V.12 :</b> Les taux de la glycémie à jeun des lots traités.....	79
<b>Figure V.13 :</b> Photos des foies des différents lots (photo originale).....	82

## Liste des abréviations

- AIP** : Phosphure d'aluminium.
- CURA** : Sirop d'amidon de maïs.
- CURF** : Sirop du mucilage de fenugrec.
- CEP** : Champs électriques pulsés.
- DLS** : Diffusion dynamique de la lumière.
- DPPH** : 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl.
- DEHT** : Décharge électrique à haute tension.
- DMSO** : Diméthylsulfoxyde.
- FTIR** : La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier.
- FOS** : Fructooligosaccharides.
- HFCS** : Sirop à haute teneur en fructose.
- KBr** : Bromure de potassium.
- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>** : Phosphate de potassium monobasique.
- NaOH** : Hydroxyde de sodium.
- PA** : Principe actif.
- PDI** : L'indice de polydispersité.
- ROS** : Dérivé réactif de l'oxygène.
- STZ** : La streptozotocine.
- SLN** : Les nanoparticules lipidiques solides.
- UV-Vis** : La spectroscopie Ultraviolet-Visible.
- AA%** : Le pourcentage d'activité antioxydante.
- Abs** : Absorbance.
- DID** : Diabète insulino-dépendant.
- NP** : Les nanoparticules.
- IC50** : Concentration d'inhibition à 50%.
- GLUT4** : Le transporteur de glucose 4'.
- 4-OH-Ile** : 4-hydroxy isoleucine.

# **Introduction générale**

## Introduction générale

Ces dernières décennies, on assiste à un regain d'intérêt des consommateurs pour les produits naturels et de nombreux industriels mettent en avant les effets de principes actifs issus de matières premières végétales. Malgré les développements spectaculaires de la médecine moderne, les plantes médicinales trouvent encore leurs indications thérapeutiques dans le traitement d'une multitude d'affections et de maladies dans les différentes sociétés et cultures [1].

En effet, de très nombreux exemples de principes actifs phytochimiques ont été mis en évidence tels que la curcumine, une phytomolécule prometteuse dans le domaine pharmaceutique pour son profil d'innocuité supérieure et son coût accessible à toutes les tranches de la population [2].

La curcumine est un composé polyphénolique naturel et un puissant composé bioactif hydrophobe de faible poids moléculaire qui est considéré comme le principal agent actif du curcuma végétal (*Curcuma longa L*) et est extrait de son rhizome. Il est utilisé depuis longtemps comme épice nutritionnelle, colorant et conservateur alimentaire. En effet, l'Organisation mondiale de la santé reconnaît comme « cliniquement justifié » l'usage du curcuma dans « les digestions difficiles avec hyperacidité et flatulences » [1].

Malheureusement, de multiples facteurs limitent souvent les applications pratiques de la curcumine. Par exemple, faible solubilité dans l'eau et instabilité physicochimique, faible pharmacocinétique et biodisponibilité (11 ng/mL au pH physiologique, Les doses orales administrées n'entraînent que des traces apparaissant dans le sang, la majeure partie de la dose étant excrétée in vivo rapidement), mauvaise absorption bioactive, métabolisation rapide, faible pénétration et efficacité de ciblage, sensibilité aux conditions alcalines, chaleur et lumière des ions. C'est ainsi que son utilisation comme médicament a été entravée [3].

Cependant, ces obstacles ont été résolus en encapsulant la curcumine dans des nanoformulations (nanocurcumine). L'intégration de la curcumine dans les nanotransporteurs par diverses méthodes est un choix approprié et fructueux pour stimuler son activité biologique, ce qui augmente sa biodisponibilité, sa circulation à long terme et sa rétention dans le corps, et surmonter les barrières physiologiques [4].

Les données de recherche existantes fournissent des preuves à l'appui des effets bénéfiques de la curcumine sur différentes maladies humaines, y compris les inflammations articulaires, les arthrites, le diabète et autres maladies [4].

En effet, le diabète est une maladie métabolique caractérisée par un niveau de sucre trop élevé dans le sang et l'altération de la production d'insuline, l'hormone qui contrôle le passage du sucre du sang vers les cellules. On distingue le diabète de type 1 ou insulino-dépendant, dans lequel il n'y a aucune production d'insuline, et le diabète de type 2 ou résistant à l'insuline, où la production d'insuline et/ou ses effets sont altérés [5].

Aussi, Le stress oxydatif est une complication physiopathologique qui induit des changements des structures et des fonctions de manière irréversibles sur les différents organes et tissus des êtres humains et des animaux, ce phénomène est en même temps un facteur permettant l'induction du diabète [6].

C'est dans ce contexte précis que s'inscrit l'objectif de notre travail qui consiste en la formulation de sirops à base de curcumine micronisée en vue d'améliorer sa biodisponibilité, stabilité et solubilité aqueuse. L'indication de cette formulation est principalement la prévention contre le diabète et ses complications et aussi contre le stress oxydatif.

Pour ce faire, Ce manuscrit est structuré en deux parties :

- Une partie bibliographique qui comporte trois chapitres : le premier présente des généralités sur le curcuma et la curcumine ainsi que les méthodes d'amélioration de la biodisponibilité, le deuxième est une description sur la *Stévia Rébaudiana Bertoni* et le troisième décrit les sirops et l'administration par voie orale.
- Une partie expérimentale composée de deux chapitres : le premier décrit le matériel utilisé au cours de notre travail expérimental et les méthodes de caractérisations de notre sirop, le deuxième expose les principaux résultats avec une discussion.

Enfin cette étude est achevée par une conclusion générale et des perspectives à envisager pour la continuité et la poursuite dans cet axe de recherche.

# Partie 1

## Recherche bibliographique

# Chapitre I

## CURCUMA ET CURCUMINE

# I. CURCUMA ET CURCUMINE

## I.1. LE CURCUMA

### I.1.1. Définition

Le curcuma est une plante médicinale qui est traditionnellement utilisé comme épice, colorant alimentaire ou agent aromatisant [1]. Il est largement utilisé pour plusieurs maladies telles que ; les troubles biliaries, la toux, les troubles hépatiques, les rhumatismes, la cicatrisation des plaies, le diabète, troubles cardiaques et troubles neurologiques. Il appartient à la famille des Zingibéracées [1].

Le curcuma est principalement originaire d'Inde et actuellement cultivée dans plusieurs autres régions du monde, notamment en Asie du Sud-Est, en Chine et en Amérique latine [7].

### I.1.2. Description de la plante

Le *curcuma longa* est une plante herbacée rhizomateuse vivace ce qui signifie qu'elle peut vivre plusieurs années en subsistant l'hiver sous forme d'organes spécialisés souterrains protégés du froid et chargés en réserve, c'est une plante à tige courte qui atteint environ 1m de hauteur, ses feuilles sont recourbées et ses rhizomes sont oblongs, ovés ou cylindriques [2].



**Figure I.1 :** La plante du *curcuma longa*.

### ➤ Le rhizome

Le rhizome est tubéreux, court, charnu et de forme et de taille sympodiale, avec une odeur camphrée agréable et une saveur amère. Il est sessile, aplati latéralement et couvert de racines adventives, de cicatrices radiculaires et de verrues ; il présente également des rides circulaires longitudinales en surface qui donnent au rhizome l'apparence de zones nodales et internodales [8].

### ➤ La feuille

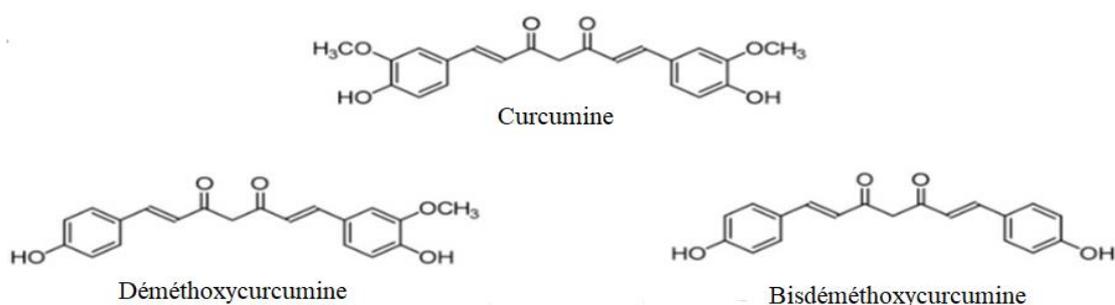
Ses feuilles, très longues, oblongues à elliptiques, engainantes, possèdent une puissante nervure axiale et des nervures secondaires parallèles. Les gaines des feuilles forment une pseudotige courte, les limbes sont vert foncé au-dessus, vert très clair en dessous, criblés de points translucides [9].

### ➤ La fleur

Au sein des feuilles s'élève l'inflorescence constituée d'un épi cylindrique atteignant 20 cm de long. Celui-ci est formé de bractées imbriquées vert foncé et stériles, à l'aisselle desquelles naissent les fleurs blanches ou jaunâtres, une pour chaque bractée. Seules les bractées sommitales, roses, sont de plus bel effet [9].

## I.1.3. Composition chimique

Le curcuma contient plus de 350 molécules actives contenues dans sa racine, il se compose d'environ 70% de glucides, 13% d'humidité, 6% de protéines, 6% d'huiles essentielles, 5% de matières grasses, 3% de minéraux, des traces de vitamines (B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, C et niacine) et 3 à 5 % de curcuminoïdes (déméthoxycurcumine, bisdéméthoxycurcumine et la curcumine) [10].



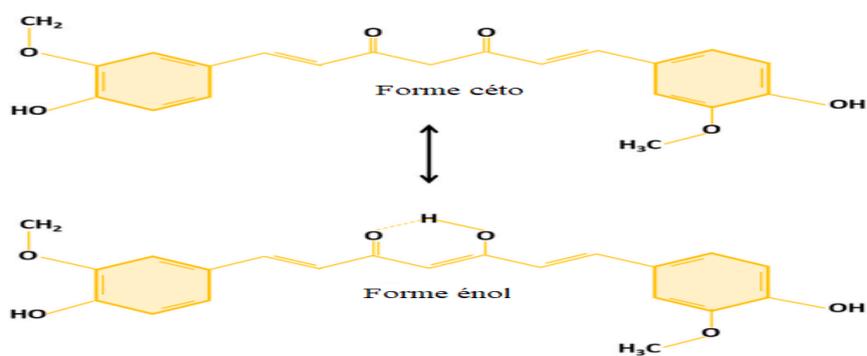
**Figure I.2:** La structure chimique des curcuminoïdes.

## I.2. LA CURCUMINE

### I.2.1. Définition

La curcumine est le composant principal des curcuminoïdes, qui est un dérivé du rhizome. Elle est responsable de la couleur jaune du curcuma ainsi que de la majorité de ces activités biologiques [3].

La curcumine est un ligand bidenté monobasique avec une fraction,  $\beta$ -insaturée-dicéto qui forme des complexes forts et stables avec les ions métalliques. Elle s'agit d'un composé tautomère céto-énol qui existe sous deux formes principales, forme 1,3 dicéto et 1,3 diénol, la forme énol étant la plus courante et la plus stable [11].



**Figure I.3** : La tautomérisation de la curcumine.

### I.2.2. Extraction et purification de la curcumine

Plusieurs solvants organiques polaires et non polaires ont été utilisés dans l'extraction de la curcumine, notamment l'hexane, l'acétate d'éthyle, l'acétone, le méthanol, etc. Parmi les solvants organiques utilisés, l'éthanol s'est avéré être le solvant le plus préféré pour extraire la curcumine [12].

Avec l'utilisation croissante de cette molécule active dans les compléments alimentaires, les chercheurs développent des méthodes d'extraction en utilisant des solvants de qualité alimentaire tels que le triacylglycérol pour donner de bons rendements [12].

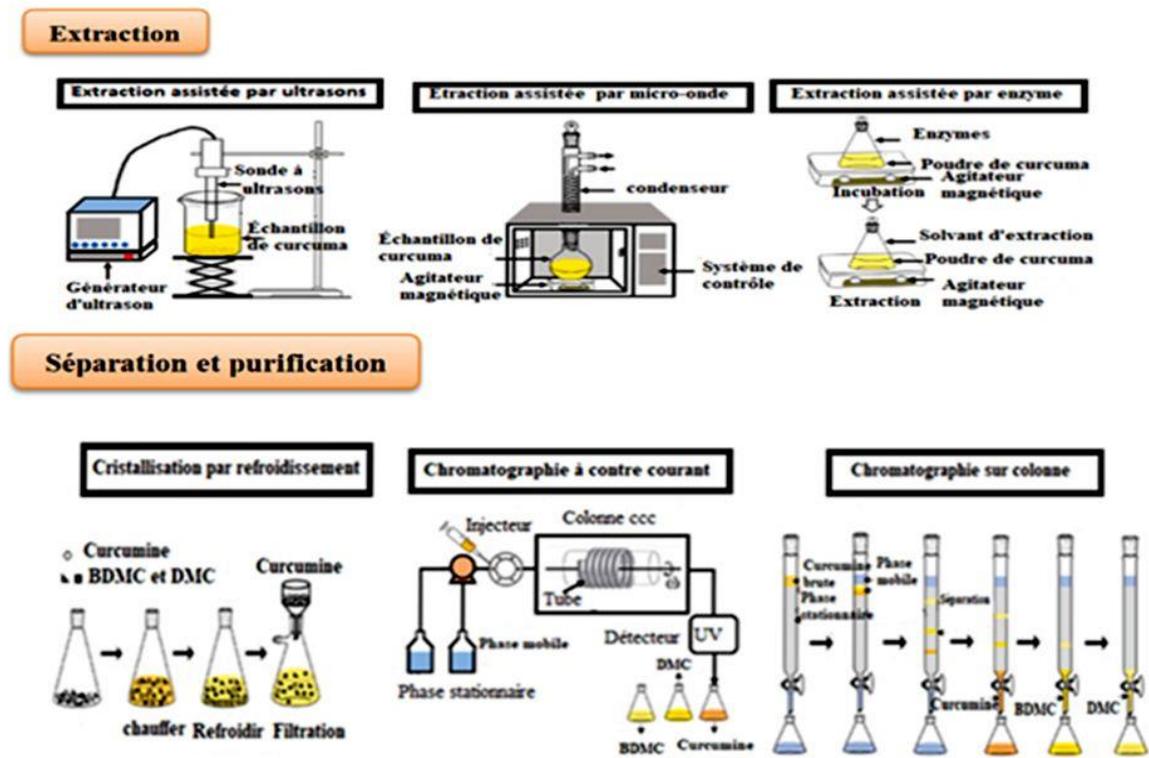
La diversité des méthodes disponibles pour l'extraction de la curcumine telles que ; le Soxhlet, l'extraction assistée par micro-ondes, par ultrasons, par enzyme et l'extraction au dioxyde de carbone supercritique, les méthodes de raffinage de zone et

de trempage avaient été essayées, et parmi celles-ci, les extractions au Soxhlet, aux ultrasons et aux micro-ondes sont les méthodes les plus couramment utilisées [13].

D'autre part, les méthodes de séparation et de purification comprennent des techniques de cristallisation à froid et de purification par chromatographie [14].

La cristallisation par refroidissement est la sursaturation et la précipitation cristalline de la solution après refroidissement de l'état solide dissous dans un solvant chaud pour atteindre la saturation. En raison de la différence de degré de solubilité, la substance purifiée est précipitée hors de la solution, tandis que la plupart des impuretés restent dans la solution. Cependant, le produit purifié est obtenu par filtration, atteignant le but de la cristallisation de refroidissement. Le solvant utilisé pour cristalliser et séparer la curcumine du mélange était l'acétone, l'acétonitrile et l'isopropanol [14].

La chromatographie sur colonne est la méthode la plus courante pour la purification des substances. Son principe est basé sur la différence d'adsorption de substances à une phase particulière, des substances faciles à adsorber avec une polarité élevée mais pas une faible polarité [14].



**Figure I.4** : Les techniques d'extraction et de purification de la curcumine.

### **I.2.3. Propriétés physico-chimiques de la curcumine**

La curcumine est une molécule bioactive hydrophobe et polyphénolique. Elle possède plusieurs propriétés physico-chimiques parmi lesquelles :

#### **➤ La solubilité**

La curcumine est pratiquement insoluble dans l'eau à pH acide et neutre, mais elle est facilement soluble dans les solvants organiques non polaire et polaires tels que ; le diméthylsulfoxyde (DMSO), le méthanol, l'éthanol, l'acétone, l'acétonitrile, le dichlorométhane, le chloroforme et l'acétate d'éthyle, ainsi que dans les solvants extrêmement acides tels que l'acide acétique glacial, elle est peu soluble dans le cyclohexane et l'hexane [4].

#### **➤ Le pKa et le coefficient de partage**

Le coefficient de partage ( $\log P$ ) et la solubilité dans l'eau de la curcumine dépendent fortement du pH. Aux valeurs de pH neutres et acides ( $\text{pH} < 8$ ) la curcumine a un  $\log P$  de 3,2 à 4,1, ce qui signifie que la curcumine a des propriétés lipophiles modérées et une faible solubilité aqueuse. En effet, la solubilité de la curcumine dans l'eau est minimale dans des conditions acides et neutres ( $11 \text{ ng.ml}^{-1}$  à température ambiante) [15].

En revanche, à pH alcalin ( $\text{pH} > 8$ ), le  $\log P$  diminue et atteint -3,4 à pH 14. Cela est attribué au fait que la forme énol de la curcumine a trois atomes d'hydrogène qui peuvent être dissociés à des pKa de 8,38 / 9,88 et 10,51. Par conséquent, l'ion phénolate provoqué par la déprotonation du groupe phénol rend la curcumine facilement soluble dans l'eau [15].

### **I.2.4. Stabilité de la curcumine**

La curcumine se dégrade facilement pendant le stockage en raison de sa photosensibilité et de sa sensibilité thermique [17]. Divers paramètres tels que ; le pH, la température et l'exposition à la lumière, déterminent la stabilité et donc l'efficacité de la curcumine pour les applications de santé [18]. Cependant, la curcumine est plus stable chimiquement dans des conditions acides, par rapport à des conditions neutres ou alcalines [15].

### ➤ Le pH

La stabilité de la curcumine dépend du pH, ce qui est prouvé par le changement de couleur de la solution de curcumine à différentes valeurs de pH. A  $\text{pH} < 1$ , les solutions de curcumine sont de couleur rouge en raison de la présence de la forme protonée. À un pH de 1 à 7 les solutions de curcumine sont jaunes, la majorité des molécules étant sous forme neutre. À des valeurs de pH supérieures à 7,5 les solutions de curcumine présentent un changement de couleur en rouge orangé [16].

### ➤ La température

La curcumine commence à se décomposer à des températures supérieures à  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$  et sa vitesse de décomposition s'accélère à mesure que son absorbance diminue à des températures supérieures à  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ . De plus, faire bouillir la curcumine pendant 15 à 20 minutes entraîne une perte partielle de curcumine de 27 % et 32 %, respectivement [4].

### ➤ Les propriétés photochimiques

La curcumine est stable à la chaleur mais est sensible à la lumière et produit de l'oxygène singulet et d'autres espèces réactives de l'oxygène (ROS) lorsqu'elle est exposée au soleil, ce qui est également une caractéristique photobiologique et photodynamique de la curcumine [4].

Elle se décompose en vanilline, acide férulique, aldéhyde férulique et acide vanillique lorsqu'il est exposé au soleil en suivant la cinétique du premier ordre. La curcumine serait également phototoxique pour les cellules bactériennes [4].

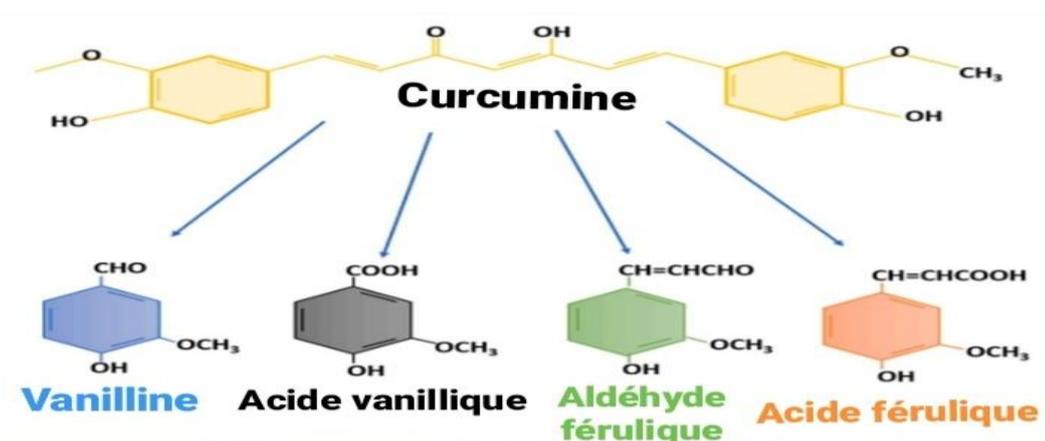


Figure I.5 : Les dérivées de la curcumine.

### **I.2.5. Propriétés pharmacocinétiques**

Il est bien admis que la curcumine présente un profil pharmacocinétique insatisfaisant. Malgré son efficacité et son innocuité, le potentiel thérapeutique de la curcumine est en effet encore débattu en raison d'une biodisponibilité relativement faible chez l'homme, même lorsqu'elle est administrée à forte dose (12 g/jour) [19].

Généralement, la biodisponibilité orale de la curcumine est faible en raison d'une absorption relativement faible par l'intestin grêle couplée à un métabolisme réducteur et conjugatif important dans le foie et à une élimination par la vésicule biliaire [19].

### **I.2.6. Méthodes d'amélioration de la biodisponibilité**

Différentes méthodes ont été étudiées pour augmenter la biodisponibilité de la curcumine. Ils ont été conçus pour inhiber le métabolisme afin de la rendre plus biodisponible tels que [20] :

- ✓ Les analogues synthétiques qui peuvent être l'un des moyens d'augmenter l'activité biologique de la curcumine.
- ✓ Les adjuvants comme la pipérine qui ont été sélectionnés en fonction de leurs capacités à empêcher le métabolisme rapide de la curcumine en interagissant avec les enzymes qui catalysent le métabolisme.
- ✓ Des formulations encapsulées telles que ; des nanoémulsions, des liposomes, des micelles, des nanoparticules polymères, des complexes phospholipidiques et des hydrogels etc. L'encapsulation a été suggérée comme une méthode prometteuse pour améliorer la solubilité et la stabilité aqueuses de la curcumine [20].

Au niveau cellulaire, en tant que nanosupport de curcumine organique, la curcumine liposomale est considérée comme la meilleure stratégie pour améliorer leur biodisponibilité [11].

### **I.2.7. Nanoformulations de la curcumine**

Un grand nombre de données publiées montrent que les nanoformulations peuvent modifier profondément la pharmacocinétique et la biodisponibilité de la curcumine [18].

#### **➤ Les nanoparticules polymères**

Les nanoparticules polymères sont des formes colloïdales solides qui peuvent être chargées d'un médicament de choix piégé à l'intérieur ou adsorbé en surface sur le noyau polymère et sont constituées de polymères naturels ou synthétiques qui comprennent des sous-unités monomères répétées liées par des liaisons covalentes [4].

La curcumine peut être encapsulée dans le noyau de la nanoparticule, piégée dans la matrice polymère, conjuguée chimiquement au polymère ou fixée à la surface de la nanoparticule [4].

Plusieurs études sur l'encapsulation de curcumine dans un biopolymère ont montré une diminution de la dégradation hydrolytique et photochimique, ainsi qu'une augmentation de la capacité de charge et de la stabilité du médicament. Des nanocapsules conjuguées à la curcumine construite avec des cadres organiques de cyclodextrine-métal se sont avérées améliorer la stabilité de la curcumine [4].

#### **➤ Les nanoparticules**

Les nanoparticules présentent de nombreux avantages et peuvent être utilisées comme vecteurs pour administrer des médicaments à des endroits précis de notre corps en raison de leurs propriétés multifonctionnelles, telles que ; leur petite taille, leur rapport surface/volume élevé et leur solubilité accrue. Étant donné que ces nanoparticules mesurent 10 nm ou moins, la libération du médicament peut être contrôlée et elles sont rapidement excrétées par le corps [4].

La nano-curcumine est la formulation de curcumine à base de nanoparticules, améliore la stabilité de la curcumine en empêchant la décomposition non enzymatique lors d'une exposition à un pH élevé ou à l'auto-oxydation, et la dégradation enzymatique par les réductases. Les formulations de curcumine améliorent également la solubilité du composé, augmentent l'absorption dans l'intestin et réduisent l'efflux cellulaire [18].

Par conséquent, l'administration médiée par les nanoparticules augmente les concentrations de curcumine dans les fluides corporels [18].

Les traitements à base de curcumine présentent plusieurs problèmes qui limitent actuellement les applications en santé. Une comparaison entre la curcumine et les nanocurcumines est citée dans le tableau I.1 [18].

**Tableau I.1:** Comparaison entre la curcumine et les nanocurcumines.

<p style="text-align: center;"><b>Curcumine</b></p> 	<p style="text-align: center;"><b>Nanocurcumine</b></p> 
Mauvais profil pharmacocinétique	Amélioration des paramètres pharmacocinétiques
Mauvaise absorption intestinale	Meilleure absorption intestinale
Faible biodisponibilité	Augmentation de la biodisponibilité
Circulation courte (demi-vie)	Temps de circulation accrus
Dégradation enzymatique et non enzymatique rapide	Une meilleure stabilité
Faible bioaccumulation	Augmentation de la bioaccumulation
Non ciblées sur des cellules ou des organites spécifiques	Ciblage des cellules et/ou des organites
Doses élevées pouvant avoir des effets indésirables	Absence des effets indésirables

### ➤ **Les nanoémulsions**

Les nanoémulsions sont des systèmes colloïdaux de deux substances non miscibles qui améliorent la biodisponibilité de nombreux médicaments bioactifs. Ces structures sont principalement constituées d'eau et d'huiles qui se dispersent les unes dans les autres, formant de minuscules gouttelettes de tailles nanométriques thermodynamiquement instables, nécessitant l'inclusion d'émulsifiants pour les stabiliser [4].

Des études *in vitro* et *in vivo* ont montré que l'encapsulation de la curcumine dans des nanoémulsions améliore sa biodisponibilité par rapport aux cristaux de curcumine dispersés dans l'eau. En particulier, les niveaux de curcumine dans le plasma des souris étaient beaucoup plus élevés après leur administration de curcumine sous forme de nanoémulsions plutôt que de cristaux [21].

Une autre étude a montré que l'encapsulation de curcumine dans des nanoémulsions contenant des gouttelettes lipidiques enrobées de chitosane augmentait les taux plasmatiques de rats par rapport aux cristaux de curcumine [21].

### ➤ **Les nanoparticules lipidiques solides**

Les nanoparticules lipidiques solides (SLN) sont des supports lipidiques colloïdaux (50-1000 nm) constitués de lipides physiologiques biocompatibles et biodégradables. Bien que de nature lipidique (contrairement aux liposomes), les SLN sont des particules rigides qui ne conviennent que pour charger des médicaments hydrophobes. Les facettes importantes des SLN sont leur capacité de charge médicamenteuse élevée, leur bonne stabilité, leur excellente biocompatibilité et leur biodisponibilité améliorée [22].

Les SLN sphériques fabriqués à partir de cire blanche chinoise ont montré un potentiel d'administration efficace de curcumine en raison de sa petite taille, de sa capacité de pénétration, de sa stabilité physique et de son efficacité de chargement du médicament. Ils ont réussi à inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus* et réduit la formation de biofilms [4].

### ➤ **Les micelles**

Les micelles sont des dispersions aqueuses d'agrégats auto-assemblés de molécules de tensioactif ou de copolymère séquencé d'une taille comprise entre 5 et 100 nm. Ils se forment lorsque la concentration en copolymère séquencé est supérieure à la concentration micellaire critique en solution aqueuse. Des micelles peuvent se former par simple dissolution, dialyse, émulsion huileuse, évaporation de solvant et lyophilisation [22].

Les résultats *in vitro* ont montré que les micelles chargées de curcumine pourraient servir de nanosupport potentiel pour améliorer la solubilité et l'activité biologique de la curcumine [23]. Elles peuvent également augmenter la stabilité chimique, la bioaccessibilité, l'absorption et la biodisponibilité globale de la curcumine [21].

### ➤ **Les nanogels**

Les nanogels sont dotés de réseaux de chaînes polymères tridimensionnelles réticulées qui sont créés par des liaisons covalentes et peuvent être personnalisés pour gélifier des réseaux avec des propriétés biocompatibles et dégradables [23].

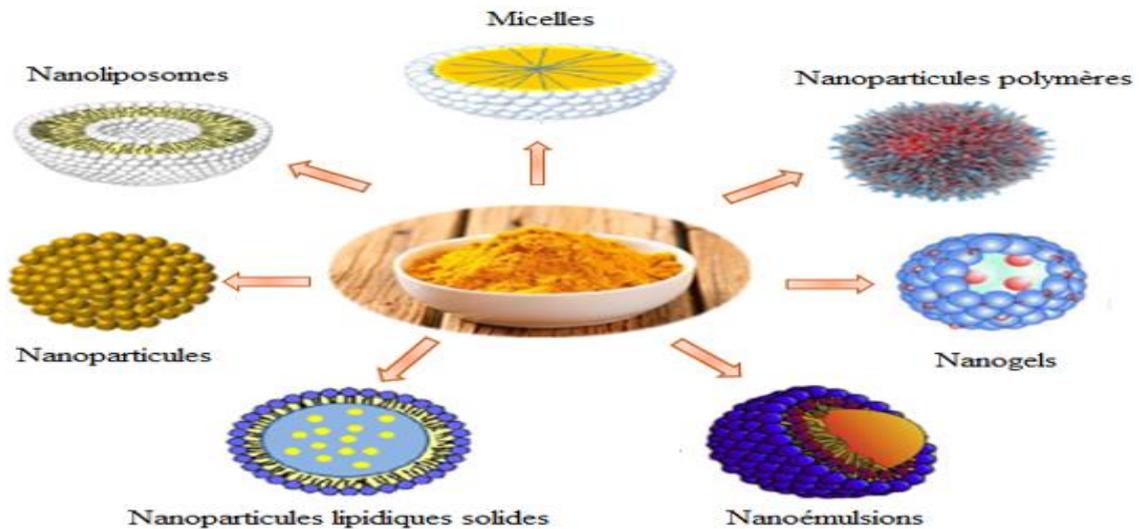
La porosité de ces réseaux réticulés fournit non seulement un réservoir parfait pour le chargement des médicaments, mais les protège également de la dégradation de l'environnement [23].

Mangalathillam et al ont chargé de la curcumine dans des nanogels de chitine et les ont analysés par diffusion dynamique de la lumière, microscope électronique à balayage et spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier. L'analyse confocale a confirmé une forte absorption de nanogels de curcumine-chitine par les cellules de mélanome humain. De plus, il a été rapporté que la concentration la plus élevée de nanogels de curcumine-chitine dans la gamme cytotoxique peut montrer une apoptose comparable à la curcumine libre [23].

### ➤ **Les nanoliposomes**

Les liposomes sont des systèmes vésiculaires à base de phospholipides. Ils comprennent une ou plusieurs couches aqueuses entourées de bicouches membranaires phospholipidiques qui présentent une biocompatibilité élevée et une faible toxicité. Ils peuvent être préparés à partir de phospholipides naturels ou synthétiques [22].

L'encapsulation de la curcumine dans des liposomes améliore sa dispersibilité dans l'eau et augmente sa stabilité chimique vraisemblablement en l'isolant des composants de la phase aqueuse qui favorisent la dégradation [21].



**Figure I.6 :** Les nanoformulations à base de la curcumine.

### I.2.8. Activités biologiques de la curcumine

La curcumine possède une large gamme d'activités pharmacologiques y compris des activités anti-inflammatoires, anticancéreuses, antioxydantes, cicatrisantes, des effets antimicrobiens et antiparasitaires. Le mécanisme d'action est complexe et probablement multifactoriel. Nombre de ces effets biologiques de la curcumine sont illustrés dans la figure I.7 [24].



**Figure I.7 :** Les activités biologiques de la curcumine.

### **I.2.8.1. L'activité antioxydante**

Les substances synthétiques ou naturelles qui empêchent ou retardent certaines formes de dommages aux cellules sont connues sous le nom d'antioxydants [26]. La nanocurcumine peut être classée comme un antioxydant naturel ayant un puissant agent bioactif [26]. La structure chimique de la curcumine lui confère une puissante capacité antioxydante qui est 2,75 fois celle de la vitamine C et 1,6 fois celle de la vitamine E [25]. La curcumine peut servir de piègeur de radicaux libres dans le corps et favorise également la synthèse endogène du glutathion antioxydant pour protéger les cellules ou les tissus des dommages causés par les radicaux libres [25].

Dans une étude réalisée, l'impact régulateur de la nanocurcumine a été évalué par rapport aux lésions induites par la tartrazine sur le statut antioxydant des rats. Il a été constaté que le foie et les reins de rats présentaient une augmentation de chacune des activités antioxydantes des enzymes, et les niveaux de glutathion et la capacité antioxydante totale ont également été récupérés avec l'administration de nanocurcumine dans une large mesure [27].

Une étude comparative entre les effets défensifs de la nanocurcumine et de la curcumine contre les lésions pulmonaires induites par l'exposition au paraquat. Il a été constaté dans l'étude que l'impact protecteur de la nanocurcumine était bien meilleur que celui de la curcumine dans le cas de la prévention des lésions pulmonaires induites par le paraquat qui était principalement en modulant le niveau de stress oxydatif avec l'expression des gènes [26].

### **I.2.8.2. L'activité antidiabétique**

Le diabète sucré est devenu l'une des maladies chroniques les plus courantes dans le monde et est devenu un énorme fardeau financier. L'hyperglycémie, l'altération du métabolisme des glucides, des lipides et des protéines et la glycosurie sont quelques-uns des symptômes observés dans de tels cas. Parmi tous, le diabète de type 2 est le plus courant dans lequel le corps développe une résistance à l'insuline. D'autre part, dans le diabète de type 1, les cellules bêta pancréatiques responsables de la production d'insuline sont soit endommagées, soit incapables de produire suffisamment d'insuline pour l'absorption du glucose [28].

La curcumine est considérée comme un médicament pour contrôler le diabète et les complications qui y sont associées. Il s'avère qu'il améliore la résistance à l'insuline en stimulant la glycolyse et en réduisant le métabolisme de la néoglucogenèse dans le foie. De plus, le fort profil antioxydant atténue l'hyperglycémie en réduisant le stress oxydatif et la production de ROS [26].

La streptozotocine (STZ) est une toxine considérée comme provoquant un stress oxydatif et des dommages aux cellules bêta du pancréas par apoptose. Une étude a conclu que la nanocurcumine s'est avérée efficace contre le diabète induit par la STZ chez le rat. Elle a diminué l'inflammation et l'apoptose des cellules bêta pancréatiques et a réduit le stress oxydatif [29].

**Chapitre II**

***STEVIA REBAUDIANA***

***BERTONI***

## ***I. STEVIA REBAUDIANA BERTONI***

### **II.1. Généralité sur les édulcorants**

Les édulcorants sont classés comme additifs alimentaires. Les additifs alimentaires sont des substances ajoutées en petite quantité aux aliments pour leur donner des propriétés spécifiques mais qui ne sont pas consommés comme aliment en soi, ils peuvent être naturels obtenus à partir de microorganismes, d'algues, d'extraits végétaux ou minéraux ou obtenus par synthèse. Ils possèdent quatre fonctions principales ; garantir la qualité sanitaire des aliments (conservateurs, antioxydants), conférer une texture particulière (épaississants, gélifiants), garantir la stabilité du produit (émulsifiants, anti-agglomérants, stabilisants) et enfin améliorer l'aspect et le goût d'une denrée (colorants, exhausteurs de goût, édulcorants) [30].

Le terme édulcorant fait référence à des ingrédients destinés à améliorer le goût d'un aliment ou d'un médicament, en lui conférant une saveur sucrée. Certains édulcorants n'apportent pas de calories, d'autres moins que le sucre de table, d'autres présentent l'avantage de ne pas être cariogènes et certains s'avèrent plus sucrés que le sucre [30].

Les édulcorants sont divisés en deux groupes ; nutritifs apportant des calories à l'organisme et non nutritif très faible en calories ou ne contenant aucune calorie du tout [31]. Un grand nombre d'études ont vu le jour avec des données selon lesquelles les édulcorants artificiels provoquent une prise de poids, des tumeurs cérébrales, des cancers de la vessie et peuvent poser d'autres risques pour la santé [31].

## II.2. Classification des édulcorants

En général, les édulcorants peuvent être classés en six grands groupes : les édulcorants artificiels, les sucres modifiés, les édulcorants caloriques naturels, les édulcorants naturels sans calorie, les sucres et alcools de sucre [32].

### ➤ Les édulcorants artificiels

Les édulcorants artificiels sont une classe de composés très sucrés, ils sont appelés édulcorants non nutritifs, édulcorants à haute intensité et édulcorants non caloriques, car ils fournissent peu ou pas de calories ou de glucides et n'augmentent pas la glycémie. En raison de cette dernière caractéristique, ils pourraient être utilisés dans les boissons et dans les aliments pour réduire la teneur en calories tout en conservant l'appétence. Parmi les principaux édulcorants artificiels sont ; l'acésulfame-potassium, l'advantame, l'aspartame, le néotame, la saccharine et le sucralose [33].

### ➤ Les sucres modifiés

Ce sont les plus nocifs de tous les sucres, car ils ont tendance à avoir un index glycémique élevé et ils sont cariogènes. Les principaux sucres modifiés comprennent le caramel, le sirop doré, le sirop de maïs à haute teneur en fructose, le sirop raffiné et le sucre inverti. Ce sont généralement des sucres produits par la conversion de l'amidon à l'aide d'enzymes et sont souvent utilisés dans la cuisine ou dans les aliments transformés [32].

### ➤ Les édulcorants caloriques naturels

Ce sont les plus anciens édulcorants connus. Il existe deux grandes cultures sucrières : la betterave sucrière et la canne à sucre. Le sucre et les sirops sont également produits à partir de la sève de certaines espèces d'érables, du sorgho sucré lorsqu'il est cultivé explicitement pour faire du sirop et du palmier à sucre [34].

Ils contiennent du sucre mais aussi d'autres qualités nutritives et ont tendance à avoir un index glycémique inférieur à celui du sucre, mais ils doivent tout de même être consommés avec modération car ils peuvent être nocifs pour la santé en grande quantité. Les principaux édulcorants caloriques naturels sont le miel, le sirop d'érable, le sucre de coco et le sirop de sorgho [32].

### ➤ **Les sucres**

Les sucres sont des glucides qui contiennent 4 calories par gramme et se trouvent naturellement dans de nombreux aliments, notamment les fruits, les légumes, les céréales et le lait. Cette catégorie comprend une grande variété de monosaccharides (glucose, fructose, galactose et tagatose) et de disaccharides (saccharose, lactose, maltose, isomaltulose et tréhalose), qui existent soit à l'état cristallisé sous forme de sucre, soit sous forme liquide épaisse sous forme de sirops [32].

Les monosaccharides nécessitent le moins d'effort de la part de l'organisme pour se décomposer, ce qui signifie qu'ils sont disponibles pour l'énergie plus rapidement que les disaccharides. Ils ont tendance à avoir un index glycémique élevé [36].

### ➤ **Les alcools de sucre**

Les alcools de sucre (polyols ou alcools polyhydriques) sont des glucides présents naturellement en petites quantités dans les légumes, les plantes et les céréales. Cette catégorie d'édulcorant ne provoque pas une augmentation soudaine de la glycémie. Ils sont utilisés dans l'industrie alimentaire comme additifs pour donner de la couleur, pour adoucir ou pour aider à la conservation des aliments [37].

Les alcools de sucre comprennent les monosaccharides hydrogénés tels que ; le xylitol, l'érythritol, le sorbitol et le mannitol et les disaccharides hydrogénés tels que ; l'isomalt, le maltitol et le lactitol [32].

### ➤ **Les édulcorants naturels zéro calorie**

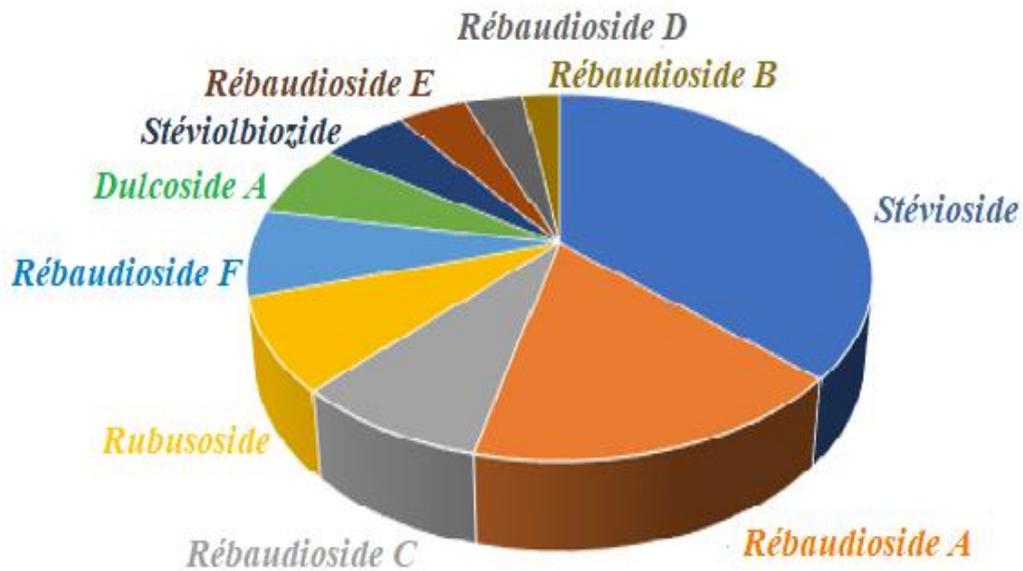
La demande mondiale d'édulcorants d'origine naturelle sans calorie a considérablement augmenté au cours de la dernière décennie, les consommateurs étant de plus en plus soucieux de leur santé, car ce type d'édulcorant est une meilleure alternative aux édulcorants artificiels [35].

Ces édulcorants ont un indice glycémique nul, mais comme les édulcorants artificiels, ils peuvent avoir un arrière-goût. Les principaux édulcorants naturels à zéro calorie comprennent ; Luo Han Guo, *stévia*, thaumatine, pentadine, monelline et brazzéine [32].

### II.3. Définition de la *stévia*

La *stévia rebaudiana Bertonii* est communément appelée *stévia* et se trouve principalement dans les régions du nord-est de l'Amérique du Sud. C'est une plante appartenant à la famille des Astéracées [38]. Elle est considérée comme un édulcorant naturel non calorique a une contribution calorique de seulement 2,67 Kcal/g, ce qui est négligeable [39].

La plante de *stévia* est une source naturelle des *glycosides de stéviol* qui sont plus sucrés que le saccharose. La principale responsabilité du goût sucré des feuilles de *stévia* est principalement la teneur élevée en *stéviolside* et en *rébaudioside A* [40]. Les édulcorants *stéviolside*s sont considérés comme une pratique saine et un aliment sûr pour les patients diabétiques car ces édulcorants ne contiennent aucun allergène et réduisent le niveau de sucre dans l'alimentation sans créer de réaction allergique dans le corps [38].



**Figure II.1 :** La teneur en *glycosides de stéviol* dans les feuilles de *stévia rebaudiana* (% du poids sec).

#### II.4. Description de la plante

Cette plante peut atteindre un mètre de haut. Il a un système racinaire étendu avec des tiges délicates et de petites feuilles elliptiques. Les feuilles sont sessiles, de 3 à 4 cm de long, de forme allongée lancéolée ou spatulée avec un limbe à bout émoussé, une marge dentelée du milieu à l'extrémité et entière en dessous. La face supérieure de la feuille est légèrement pubescente granuleuse [41].

La tige est ligneuse et faiblement pubescente à la base. Le rhizome a des racines légèrement ramifiées. Les fleurs sont pentamères, petites et blanches avec une gorge violet pâle. Ils sont composites entourés d'un involucre d'épicalice. Les capitules sont en cymes lâches, irrégulières et sympodiales. Les minuscules fleurons blancs sont portés en petits corymbes de 2 à 6 fleurons disposés en panicules lâches [41].

Ce genre de *stévia* est unique en raison de sa morphologie florale. Il contient environ 200 à 230 espèces de plantes herbacées et arbustives vivaces. Ces espèces peuvent survivre naturellement dans de multiples endroits comme les régions montagneuses, les vallées sèches et les bords de rivières [38].



**Figure II.2 :** La plante du *stévia*.

## **II.5. Composition des feuilles de *stévia***

La composition chimique des feuilles de *stévia* change en fonction du degré de leur transformation [42]. On distingue deux types de métabolites ; primaires et secondaires.

### **II.5.1. Les métabolites primaires**

Les métabolites primaires ont un rôle essentiel pour le métabolisme et le développement du végétal. Ils contiennent trois différents types de composés organiques ; les glucides, les lipides et les protéines.

#### **➤ Les protéines**

Les protéines, les peptides et les acides aminés, étant des matrices différentes, sont des composants cellulaires essentiels. Dans les feuilles de *stévia* ont identifié 9 acides aminés essentiels à savoir l'acide glutamique, l'acide aspartique, la lysine, la sérine, l'alanine, la proline, la tyrosine, l'isoleucine et la méthionine [42].

#### **➤ Les glucides**

Les glucides remplissent de nombreux rôles essentiels chez les êtres vivants. Ainsi, les monosaccharides sont la principale source d'énergie dans le métabolisme humain, tandis que les polysaccharides servent de stockage d'énergie et peuvent agir comme composants structurels [41]. Leur action positive est liée à des propriétés prébiotiques favorisant la prolifération de la microflore intestinale bénéfique [42].

#### **➤ Les lipides**

Les lipides sont des substances biologiquement actives essentielles pour l'organisme humain, emmagasinant de l'énergie, formant des éléments de structures membranaires cellulaires, régulant les fonctions. Tous les acides gras ne peuvent pas être synthétisés dans l'organisme, leur prise avec de la nourriture est donc nécessaire [42].

### **II.5.2. Les métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont des molécules directement impliquées dans différents processus physiologiques, auxquelles ont été attribués des effets bioactifs importants. On les trouve dans différentes combinaisons dans différentes parties de la plante (feuilles, racines, pousses et tige) [40].

### ➤ **Glycosides diterpéniques**

Les glycosides sont des composés que l'on trouve principalement dans les plantes et se composent de molécules de glucides avec du sucre lié à la partie non glucidique de la molécule. Par clivage hydrolytique, ils peuvent être convertis en sucre et en aglycone, un composant non sucré [31].

Dans les feuilles de *stévia*, les *glycosides de stéviol* contiennent plusieurs composés tels que *stévioside*, *stéviolbiozide*, *rebaudioside A, B, C, D, E et F* et *dulcoside A*. Cependant, il existe certaines preuves que *le stévioside* et *le rébaudioside B* ne sont pas des composants naturels du plante de *stévia* car certains chercheurs ont rapporté qu'ils se forment lors de l'extraction [31].

#### **a. Le stévioside**

Le *stévioside* représente 4 à 13 % de tous les glycosides de la *stévia*. Il a un arrière-goût amer permanent ou rigoureux. Des analyses organoleptiques comparatives ont montré que le *stévioside* pur est 300 fois plus sucré que le saccharose à une concentration de 0,4 %, 150 fois plus sucré que le saccharose lorsqu'il correspond à une solution de saccharose à 4 % et 100 fois lorsqu'il correspond à une solution de saccharose à 10 % [42].

Les molécules de *stévioside* sont très stables dans des solutions aqueuses dans une large gamme de pH (1 à 10) et de températures jusqu'à 200 °C. Des études ont montré que les *stéviosides* sont stables dans diverses conditions de traitement et de stockage et dans les interactions avec les vitamines hydrosolubles, les acides organiques, les édulcorants et le café [42].

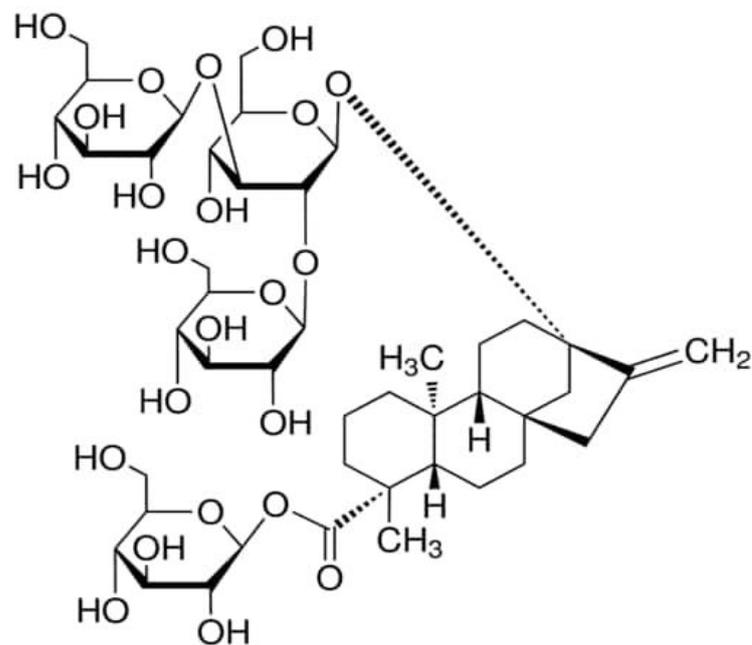
#### **b. Le rebaudioside A**

Le *rebaudioside A* est le rebaudioside le plus important, il est 250 à 450 fois plus sucré que le saccharose et on le trouve dans les feuilles de *stévia rebaudiana* à 2 - 4 %. C'est le plus stable des glycosides et il n'a pas d'arrière-goût amer, contrairement aux *stéviosides*. Il est métabolisé par les micro-organismes intestinaux en *stévioside* et ensuite il est transformé en glucose et en une molécule de *stéviol* [42].

Le *rébaudioside A* est relativement stable sous forme de poudre sèche, avec seulement 1 % à 2 % de perte après 2 ans de stockage dans des sacs en polyéthylène, alors qu'en solution aqueuse, il est plus susceptible de se dégrader via plusieurs voies de réaction [43].

Sur la base de données quantifiant ses produits de dégradation en fonction du temps, les différentes voies de dégradation du *rebaudioside A* et leurs vitesses sont affectées par le pH. Dans des solutions à différents niveaux de pH, le *rebaudioside A* est plus stable à neutralité que dans les systèmes acides [43].

Cependant, Gong et Bell ont noté qu'avec l'augmentation des valeurs de pH, les constantes de vitesse de dégradation du *rebaudioside A* augmentaient dans le tampon phosphate et diminuaient dans le tampon citrate, indiquant un effet de type tampon. À basse température, le *rebaudioside A* en solution peut se conserver plusieurs mois, mais sa vitesse de dégradation est accélérée lorsque la température augmente [43].



**Figure II.3 :** La structure chimique de *rebaudioside A*.

### ➤ Polyphénols

Les polyphénols sont des composés aromatiques avec plus de substituants hydroxyle. Il a été constaté que la plus forte concentration de polyphénols à la racine de la plante, puis les feuilles qui sont suivies de la tige, et les fleurs qui contiennent le moins de ce groupe de composés. Cela reflète directement l'activité antioxydante des parties de la plante [31].

### ➤ Caroténoïdes et chlorophylles

Les chlorophylles sont des pigments, solubles dans les solvants polaires, responsables de la couleur verte des feuilles de *stévia*, et appartiennent au groupe des tétrapyrroles avec des atomes de magnésium au centre de la molécule [31].

Les chlorophylles (a et b) sont le groupe le plus important de chlorophylle chez les plantes, leurs couleurs diffèrent. La chlorophylle « a » a une couleur vert bleuâtre, tandis que la chlorophylle « b » a des nuances vert pâle [31].

## II.6. Avantages de la *stévia* pour la santé

Selon certaines recherches récentes, la plante de *stévia* possède divers avantages pour la santé, telles que des activités antioxydantes, antibactériennes, antifongiques, antivirales, antidiabétiques, anti-hypertenseurs, diurétiques et gastroprotectrices, anticancérigènes, anti-obésité et anti-hyperglycémiant [44]. De plus, plusieurs études ont rapporté que les *glycosides de stéviol* des feuilles de *stévia* ne sont pas tératogènes, cancérigènes et mutagènes, et ne provoquent aucune toxicité subaiguë ou aiguë [41].

La consommation régulière de ces composés diminue la teneur en sucre, et en cholestérol dans le sang, améliore la régénération cellulaire et la coagulation sanguine, supprime la croissance néoplasique et renforce les vaisseaux sanguins [45].

## II.7. Processus de fabrication de la *stévia rebaudiana*

La *stévia* peut être utilisée sous forme de plante entière, de feuilles broyées (fraîches ou séchées) ou d'extraits (liquides ou en poudre). La feuille de *stévia* est la partie la plus largement utilisée de la plante en termes de fabrication d'édulcorants et d'isolement de composés bioactifs [46].



**Figure II.4** : Le processus de fabrication de la *stévia rebaudiana*.

La déshydratation et l'extraction sont les deux étapes essentielles après la récolte pour que les *glycosides de stéviol* soient isolés des feuilles de *stévia* fraîches. Des études ont montré que la sélection d'un solvant et d'une méthode spécifiques pendant le processus de fabrication a un impact sur le rendement final de ses phytoconstituants et sa propriété thérapeutique [46].

Un processus de déshydratation ou de séchage est nécessaire dans la fabrication pour empêcher la croissance de microorganismes et les changements de caractéristiques biochimiques. Les méthodes courantes de déshydratation comprennent la lyophilisation, le séchage sous vide, par convection, par microondes, par infrarouge et les méthodes traditionnelles telles que le séchage au soleil et à l'ombre qui peuvent augmenter le risque de contamination de l'environnement et avoir un impact négatif sur sa qualité [46].

Ainsi, les feuilles de *stévia* déshydratées après le processus de séchage sont ensuite broyées en fines poudres pour l'extraction d'ingrédients fonctionnels tels que les *glycosides de stéviol* [46].

L'extraction est nécessaire pour transférer les *glycosides de stéviol* et les phytoconstituants de la plante dans un solvant liquide afin qu'une séparation et un isolement supplémentaires puissent être effectués [47].

Les méthodes d'extraction conventionnelles des *glycosides de stéviol* comprennent le solvant, le Soxhlet, le chauffage sous flux et l'extraction à froid. Ces techniques traditionnelles présentent plusieurs inconvénients, tels que le temps, la température et l'utilisation de grandes quantités de solvants organiques [47].

De nos jours, de plus en plus de recherches se sont concentrées sur le développement de nouvelles technologies d'extraction telles que l'extraction de liquide sous pression, l'extraction d'eau chaude sous pression, l'extraction assistée par microondes, par ultrasons, par haute pression, par champs électriques pulsés (CEP), par décharge électrique à haute tension (DEHT). Ces techniques offrent une plus grande efficacité avec une consommation réduite de l'énergie et de solvants organiques, un meilleur contrôle de la température, un rendement plus élevé et des extraits de qualité supérieure [47].

Suite à l'extraction, l'extrait de *stévia* obtenu est soumis à l'étape d'isolement et de purification pour récupérer les *glycosides de stéviol* [48].

Les techniques chromatographiques ont fourni un moyen simple, efficace et peu coûteux d'obtenir des *glycosides de stéviol* de haute pureté. Cette stratégie de séparation comprend la chromatographie traditionnelle sur support solide telle que la chromatographie en couche mince, la chromatographie sur colonne, la chromatographie liquide à moyenne pression et la chromatographie liquide à haute performance [49].

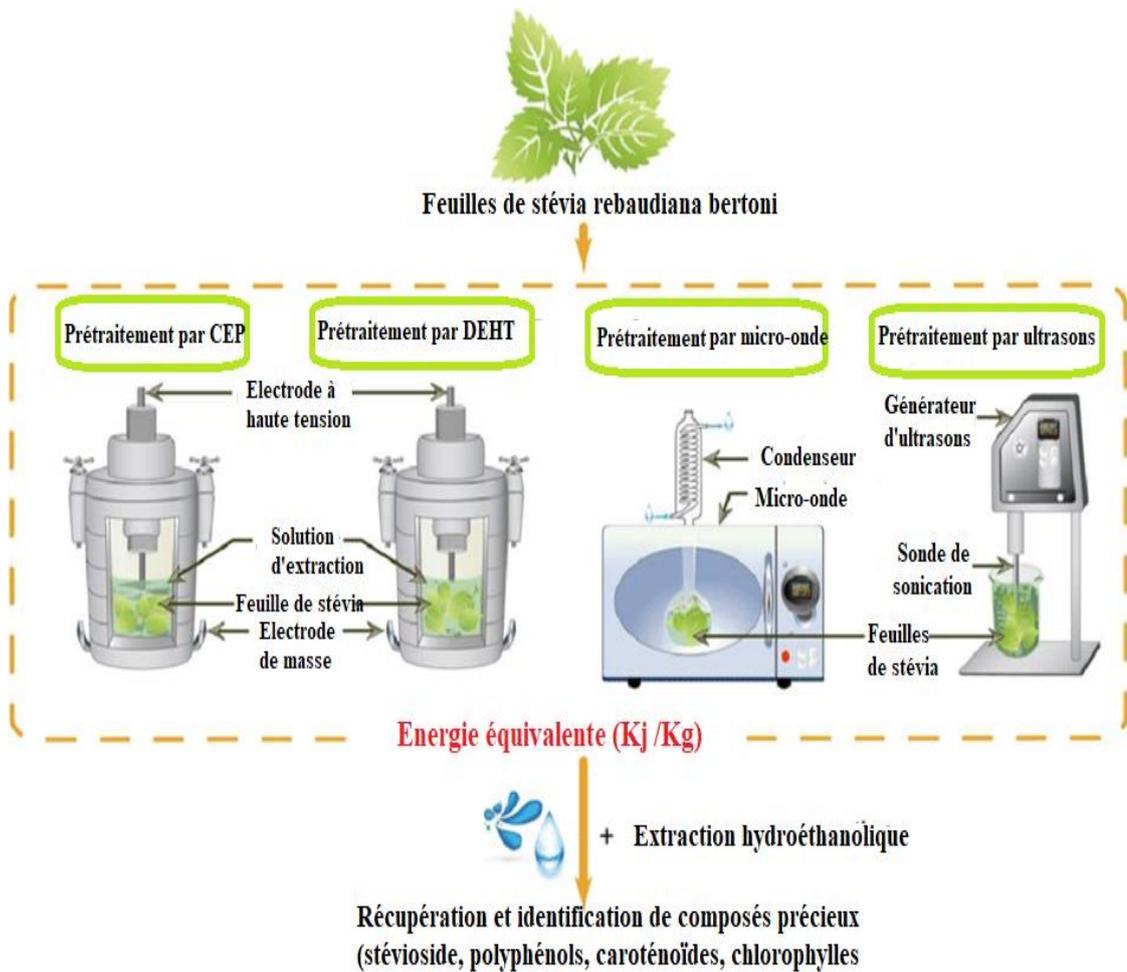


Figure II.5 : Les techniques d'extraction des feuilles de *stévia*.

## **Chapitre III**

# **Les sirops et la voie orale**

### III. LES SIROPS ET LA VOIE ORALE

#### III.1. La voie orale

Dans le cas de voie orale, la forme médicamenteuse, les excipients et les conditions de fabrication jouent un rôle important sur la libération du principe actif dans la lumière du tube digestif et sur sa vitesse de pénétration dans l'organisme. Avant d'aborder la formulation d'un médicament destiné à la voie orale, il faut chercher à préciser l'influence que peuvent avoir sur la biodisponibilité du principe actif [50].

#### III.2. Les formes destinées à la voie orale

Les formes pharmaceutiques destinées à la voie orale sont multiples et ont des caractéristiques variées. Parmi ces formes, on distingue ; les formes liquides et les formes solides.

##### III.2.1. Les formes solides

Les formes solides orales sont les produits pharmaceutiques les plus couramment utilisés. Elles sont généralement fabriquées au moyen d'une série de procédés qui transforment un mélange de poudres de principe actif et d'excipient en un produit densifié avec des attributs de qualité uniformes [51]. Le système de dosage unitaire peut également garantir une administration précise de la dose [52].

Il existe plusieurs types de formes posologiques solides, chacune avec des caractéristiques spécifiques tels que les gélules, les poudres, les comprimés [53]. La forme « comprimé » est le plus souvent adoptée et un peu moins fréquemment la forme « gélule ». Ce sont des doses unitaires solides qui ont comme avantages de bien se conserver, de convenir aux traitements ambulatoires et de pouvoir être fabriqués industriellement avec précision et avec de très hauts rendements [50].



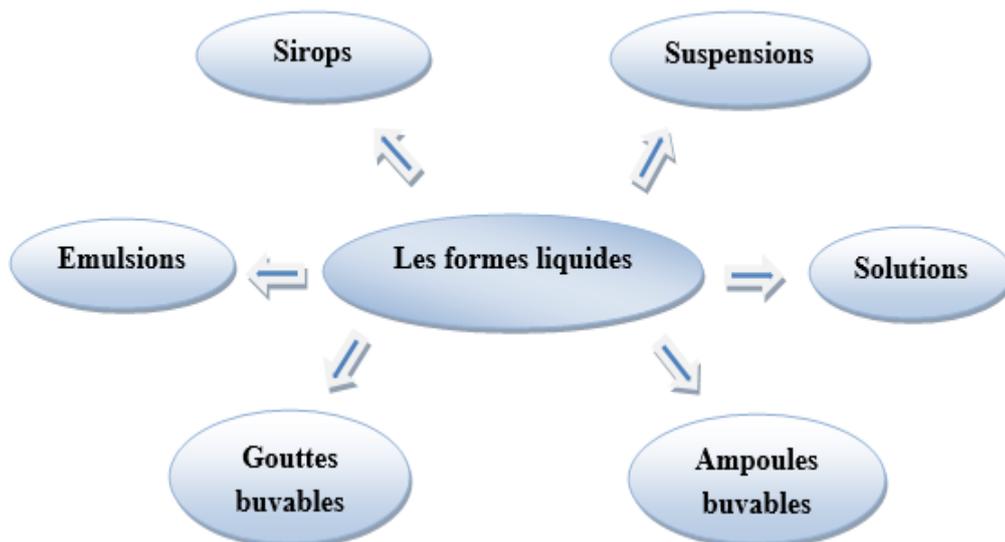
Figure III.1 : Les différentes formes solides.

### III.2.2. Les formes liquides

Les formes liquides pour usages orales sont divisées en solutions, suspensions, émulsions, sirops, gouttes buvables, ampoules buvables...etc. Les formulations liquides contenant un ou plusieurs principes actifs en solution ou sous forme de dispersion dans un véhicule approprié. L'eau est le véhicule le plus utilisé, les autres véhicules utilisés sont l'huile minérale, le polyéthylène glycol, la glycérine et les alcools [53].

En raison de la nature complexe des formulations liquides, plusieurs excipients fonctionnels sont utilisés pour faciliter les processus de fabrication et optimiser la formulation afin de promouvoir et d'améliorer la stabilité et la palatabilité [54]. Ceux-ci comprennent les conservateurs antimicrobiens appropriés, des antioxygènes et d'autres substances auxiliaires telles que des agents de dispersion, de suspension, des substances épaississantes, émulsionnantes, des tampons, des mouillants, des solubilisants, des stabilisants, des aromatisants, des édulcorants et des matières colorantes autorisées [50].

Elles sont conditionnées en récipients multidoses ou unidoses. Ils sont administrés soit en volumes, soit en petits volumes (gouttes). Chaque dose d'une préparation multidose est administrée à l'aide d'un dispositif permettant de mesurer la quantité prescrite [50].



**Figure III.2 :** Les différentes formes liquides.

### **III.3. Les facteurs d'influence sur la stabilité d'une préparation liquide**

#### **➤ Le potentiel d'hydrogène**

Le pH a un rôle important dans la solubilisation, et par conséquent la biodisponibilité du principe actif, mais peut également, à des valeurs extrêmes, être responsable d'une dégradation importante de la préparation. Le taux de dégradation est en effet beaucoup plus élevé aux valeurs extrêmes. Le pH optimal est souvent identique à celui de la meilleure solubilité pour une molécule donnée. Des tampons sont très souvent intégrés dans les formulations des spécialités pharmaceutiques et permettent une très bonne stabilité de celle-ci [55].

#### **➤ La température**

Une augmentation de la température entraînerait une accélération des réactions d'oxydations, de réductions, et les réactions d'hydrolyses conduisant à la dégradation. Une augmentation de 10°C de la température de conservation, peut augmenter de 2 à 5 fois la vitesse des réactions de dégradation. Certains produits sont plus sensibles que d'autres et doivent être maintenus le plus possible dans la fourchette de température spécifiée. Certains produits sont instables à température ambiante alors que d'autres le seraient au réfrigérateur. Bien que la conservation au réfrigérateur permettrait d'améliorer la durée de stabilité du produit fini [56].

#### **➤ L'oxygène**

L'Oxygène est un catalyseur important des réactions d'oxydoréduction et d'hydrolyse affectant la stabilité. Durant la formulation, une attention particulière lui est portée en ajoutant des antioxydants, par des techniques de fabrication dans une atmosphère sous azote et un conditionnement approprié pour limiter le plus possible la diffusion de l'oxygène dans le médicament [56].

#### **➤ Les matériaux**

Les emballages primaires et leurs fermetures sont des éléments cruciaux ayant une influence sur la stabilité du produit fini pharmaceutique. Il en va de même des dispositifs médicaux utilisés pour l'administration des préparations tels les perfuseurs, les prolongateurs, les filtres...etc. Les matériaux constitutifs de ces articles de conditionnement ou dispositifs médicaux peuvent être responsables de différents types d'instabilités ou incompatibilités [55].

### ➤ **La lumière**

La lumière est un paramètre susceptible de provoquer une instabilité chimique des molécules photosensibles. Certaines formes galéniques comme les solutions sont particulièrement photosensibles. Dans leurs formulations, on met une attention particulière à les protéger de la lumière par divers moyens comme des flacons colorés, opaques, des emballages et films protecteurs. En complément, une notice particulière peut être mise sur la notice ou l'étiquette indiquant le danger d'une exposition à la lumière. Parlant des sirops, on les conditionne dans des flacons ambrés ou bruns et en les maintenant, à l'abri de la lumière [55].

## **III.4. Les sirops**

### **III.4.1. Définition**

Les sirops sont des préparations aqueuses sucrées et de consistance visqueuse. Ils sont généralement préparés avec du saccharose qui a une concentration voisine de 65 %, leur assure en prenant un minimum de précautions, une protection antimicrobienne. Par convention, ce n'est qu'à partir de la concentration de 45 % qu'une solution de saccharose est appelée sirop [50].

De même, il a été admis que le saccharose pouvait être remplacé par du glucose, du fructose, du sucre inverti ou d'autres sucres et que les sirops pouvaient même être obtenus à partir de polyols de saveur sucrée (glycérol, sorbitol, xylitol...), d'édulcorants artificiels et d'épaississants pour atteindre une viscosité voisine de celle du sirop de saccharose. Les sirops peuvent contenir un ou plusieurs principes actifs et aussi des substances auxiliaires telles que colorants, aromatisants et agents antimicrobiens [50].

### **III.4.2. La composition de sirop**

#### ➤ **Les agents édulcorants**

Un édulcorant est une substance possédant une saveur sucrée et peuvent être d'origine naturelle ou synthétique qui est utilisée pour son action sucrante. Les substances douées d'une saveur sucrée peuvent être regroupées en deux catégories [58] :

- Les édulcorants nutritifs dont le pouvoir sucrant est inférieur ou voisin de celui du sucre. Parmi eux on distingue les « sucres » comme le saccharose, le fructose, le glucose, l'isoglucose, etc. qui sont des denrées alimentaires, et les polyols ou

sucres-alcool comme le sorbitol, le mannitol et le lactitol qui sont des additifs alimentaires.

- Les édulcorants intenses (non nutritifs) qui comptent tenu de leur haut pouvoir sucrant, ne présentent qu'une charge pondérale infime dans la denrée alimentaire sont des additifs alimentaires.

➤ **Les colorants**

En général, le colorant est soluble dans l'eau et ne réagit pas avec les autres composants du sirop, de couleur stable à la gamme de pH et sous l'intensité de la lumière que le sirop est susceptible de rencontrer pendant sa durée de vie [57].

➤ **Les aromatisants**

La plupart des sirops sont aromatisés avec des arômes synthétiques ou naturels, tels que les huiles essentielles, la vanilline et d'autres pour rendre le sirop agréable au goût. Parce que les sirops sont des préparations aqueuses, ces aromatisants doivent être soluble dans l'eau. Cependant, parfois une petite quantité d'alcool est ajoutée à un sirop pour assurer la solution continue d'un aromatisant peu soluble dans l'eau [57].

➤ **Les agents de conservation antimicrobiens**

La quantité d'un agent de conservation nécessaire pour protéger un sirop contre la croissance microbienne varie selon la proportion d'eau disponible pour la croissance, la nature et l'activité de conservation inhérente de certains matériaux de formulation et la capacité de l'agent de conservation lui-même [57].

Parmi les conservateurs couramment utilisés dans les sirops ; l'acide benzoïque, le benzoate de sodium, et diverses combinaisons de méthylparabènes, de propylparabènes et de butylparabènes [57].

### III.4.3. Les avantages et les inconvénients de sirop

Les sirops possèdent plusieurs avantages et inconvénients, ils sont résumés dans le tableau III.1 [59].

**Tableau III.1 :** Les avantages et les inconvénients de sirop.

Avantages	Inconvénients
Facile à avaler	Conservation limitée par la dégradation plus rapide du principe actif en milieu liquide
Principes actifs mieux tolérés	Obligation de masquer une saveur désagréable
Meilleure biodisponibilité donc action plus rapide	Péremption relativement courte après ouverture du flacon
La formule de la préparation comporte peu de composants donc moins de risques d'effets notoires	Nécessite une manipulation soignée et a des conditions de stockage spécifiques

### III.4.4. Les sirops bio

#### ➤ Le sirop d'érable

Le sirop d'érable est un édulcorant naturel produit à partir de différentes espèces d'érables canadiens. Les propriétés du sirop d'érable, telles que le pH, la couleur, les sucres, selon la zone de culture. Il peut être classé en quatre types : doré, ambré, foncé et très foncé, des études récentes ont porté sur le fait qu'une couleur plus foncée est liée à des composés phénoliques plus élevés [60]. Le sirop d'érable a montré des activités biologiques importantes en tant qu'antioxydant, anti-mutagènes, anti-inflammatoire, antidiabétique, anticancéreux et des activités neuroprotectrices [61].

Des études récentes ont montré que le sirop d'érable est constitué de plus de 60 % de saccharose, suivi de traces de glucose à 0,43 % et de fructose à 0,34 %, les minéraux tels que ; le potassium, le calcium, le magnésium, le sodium, le manganèse, l'aluminium, le zinc et le fer, des vitamines telles que ; la riboflavine, la niacine et la

thiamine, des acides aminés tels que ; l'arginine, la thréonine et la proline, ainsi que des acides organiques (fumarique et malique). De plus, il possède une variété de composés phytochimiques tels que les composés phénoliques [62].



**Figure III.3 :** Le sirop d'érable.

#### ➤ **Le sirop d'agave**

Le sirop d'agave est aussi appelé «miel d'agave», «nectar d'agave», «concentré d'agave» et «sève d'agave» [62].

Le nectar d'agave est également plus sucré que la plupart des sirops à forte teneur en glucose ou en saccharose (par exemple, le miel et les sirops d'érable). Par conséquent, de plus faibles quantités de nectar d'agave sont nécessaires pour atteindre la douceur souhaitée et se traduisent par un apport calorique inférieur. L'avantage favorise le nectar d'agave comme alternative au sucre raffiné ordinaire, adapté à l'obésité et à la prévention des maladies (comme le diabète) [63].

Une étude récente a montré que le sirop d'agave a une capacité édulcorante élevée, il est considéré comme substitut du sucre en raison de son indice glycémique, de sa capacité antioxydante et de ses propriétés antibactériennes. Une autre étude récente a montré que le sirop d'agave atténue les changements métaboliques chez les souris riches en graisses et réduit le poids, la glycémie et les taux de lipides hépatiques chez ces souris [62].

Certains des effets médicaux de l'agave ont été attribués à la présence de composés phytochimiques (par exemple, des flavonoïdes et des saponines, ces composés se caractérisent par des activités anticancéreuses, anti-inflammatoires et antivirale [62].



**Figure III.4:** Le sirop d'agave.

#### ➤ **Le sirop de dattes**

Le sirop de datte est identifié comme une substance brun foncé, c'est le principal produit dérivé de la datte, l'un des principaux arbres fruitiers dans la région du Moyen-Orient [64].

Les propriétés les plus importantes du sirop de dattes sont ses avantages potentiels pour la santé, qui sont liés à ses profils nutritionnels élevés, c'est-à-dire une teneur élevée en acides gras insaturés et une combinaison de 15 minéraux, dont potassium, fer, magnésium et calcium. Le sirop contient également du fluor et du sélénium, qui offrent une bonne protection des dents contre la carie et stimulent la fonction immunitaire. Il contient également au moins six vitamines, dont thiamine B<sub>1</sub>, riboflavine B<sub>2</sub>, acide nicotinique, A et C, une teneur en eau de 16% et un sucre total de 79,5%. En raison du mélange complexe de molécules non sucrées, le sirop présente une viscosité élevée et 4,1 % de matières colorantes [65].

Le sirop de dattes est l'un des sous-produits de dattes les plus attrayants dans le traitement des dattes avec de nombreuses applications alimentaires notamment l'utilisation comme agent aromatisant et édulcorant. Certaines études rapportent également l'utilisation de ce sirop comme substrat de fermentation. En effet, les sous-produits de la datte sont riches en sucres fermentescibles (glucose et fructose) et en de nombreux éléments essentiels propices à la croissance microbienne. Par conséquent, le sirop de dattes peut être utilisé comme milieu de culture, afin de produire des composés à valeur ajoutée par des procédés de fermentation [64].



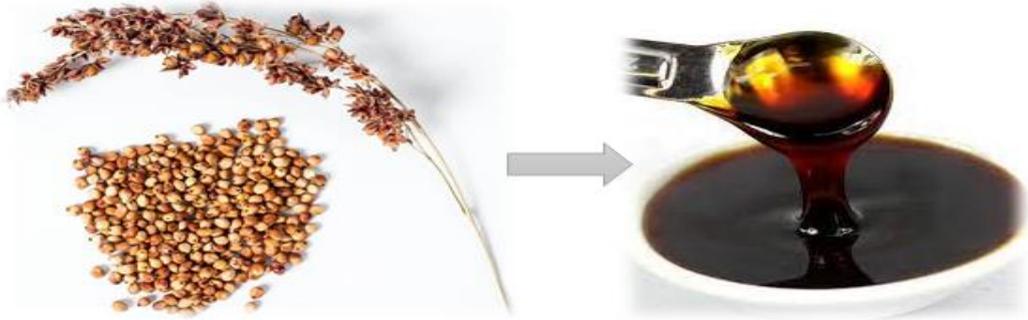
**Figure III.5:** Le sirop de dattes.

➤ **Le sirop de *sorgho***

*Sorgho bicolor* fait partie des céréales les plus produites au monde, avec le blé, le riz, le maïs et l'orge et utilisé pour produire du sirop pour les industries des boissons et de l'alimentation. Les propriétés physico-chimiques du sirop de *sorgho* sont comparables à celles du sirop de canne à sucre puisque tous deux sont extraits du même *Poacées* famille d'espèces [66].

Cette céréale est un aliment essentiel dans les régions semi-arides, comme l'Afrique et certaines parties de l'Asie. Les composés phénoliques isolés de la plante ont montré des effets thérapeutiques dans la prévention de plusieurs conditions, telles que le cancer, l'obésité et les maladies cardiovasculaires [67].

De plus, le *sorgho* est constitué d'autres composés bioactifs, tels que les caroténoïdes, les protéines et les vitamines, extraits de parties spécifiques du grain [67].



**Figure III.6:** Le sirop de *sorgho*.

#### ➤ Le sirop de yacon

Yacon est une plante vivace originaire de la région andine en Amérique du Sud. Les tubercules de cette plante peuvent être transformés en jus (ou sirop) et consommés comme substitut du sucre. Ils sont principalement composés de fructooligosaccharides (FOS) et d'inuline, constituant 60% de leur masse sèche [68].

Les FOS sont utilisés comme édulcorants hypocaloriques car les enzymes digestives humaines ne les hydrolysent pas ainsi, ils ne sont pas métabolisés dans le tractus gastro-intestinal [69].

La caractérisation du sirop de yacon a révélé la présence d'acide chlorogénique, un composé phénolique et bioactif, connu pour ses effets thérapeutiques, ses activités antioxydantes, antibactériennes, anti-inflammatoires et hépatoprotectrices [70].



**Figure III.7:** Le sirop de yacon.

➤ **Le sirop de maïs à haute teneur en fructose**

Le maïs est la principale source de sirop à haute teneur en fructose ou le HFCS dénommé par son origine. Il peut être obtenu à partir de pomme de terre, de riz, de sorgho, de blé, de topinambour, de dahlias, de chicorée et de manioc [71]. Il est utilisé comme édulcorant majeur dans les boissons gazeuses et non gazeuses transformées, les jus, les céréales, le pain, les fruits en conserve, les confitures, les gelées, les condiments et les desserts préparé. Les avantages de ce sirop sont qu'il est moins cher que le saccharose et plus facile à manipuler que le saccharose cristallin [62].

Il existe des preuves expérimentales et cliniques qui suggèrent l'association entre la consommation de HFCS et l'obésité et d'autres processus de blessures , la bronchite chronique et l'asthme [62].



**Figure III.8:** Le sirop de maïs à haute teneur en fructose.

➤ **Le sirop de curcumine édulcoré à la *stévia***

A notre connaissance, il n'existe pas de sirop à base de curcumine édulcoré à la *stévia*. Les formes qui sont fabriquées à base de curcuma sont les formes solides tel que ; les gélules, les comprimés. Des exemples sont donnés dans le tableau III.2.

Dans notre travail nous allons faire une forme innovante d'un sirop à base de nanocurcumine édulcoré à la *stévia Rébaudiana Bertoni*, et nous allons choisir cette forme car les formes liquides oraux sont très faciles à avaler pour les personnes âgées avec une flexibilité de dose élevée.

**Tableau III.2:** Les compléments alimentaires à base de curcuma.

<b>Les comprimés</b>	Arthroplit	Dietaroma	Soria Natural	Nutri'Sentiels bio
<b>Les gélules</b>	Nutrimea	Fortéflexe	NutriVeggies	Flexofytol



**Figure III.9 :** Le sirop de la curcumine édulcoré à la *stévia*.

## Partie 2

# Partie expérimentale

## **Chapitre IV**

# **Matériel et méthodes**

## IV. MATERIEL ET METHODES

### IV.1. L'objectif du travail

Ce travail a été réalisé aux laboratoires de Génie Chimique du département de Génie des procédés de la faculté de Technologie et de Pharmacologie de la faculté de médecine de l'université de Blida 1. Dans ce chapitre, nous présenterons le matériel, les matières premières et les protocoles expérimentaux utilisés dans les différentes étapes du projet et les méthodes de caractérisations.

L'objectif principal de ce travail est la formulation d'un complément alimentaire sous forme d'un sirop Bio buvable à base de curcumine micronisée. Cette dernière opération a été réalisée afin d'augmenter la biodisponibilité et améliorer la stabilité de la curcumine. Des excipients naturels (amidon de maïs, *stevia rebaudiana* et mucilage de fenugrec) ont été incorporés dans la formulation en vue de lui conférer des caractéristiques organoleptiques appréciées par le consommateur.

Les effets de la combinaison de toutes les molécules ont été mis en évidence par des tests in-vivo sur des rats Wistar pour le traitement du diabète de types 2 et in vitro par la détermination de l'activité antioxydante pour la prévention contre le stress oxydatif.

Les étapes de l'étude ont été réparties comme suit :

- ✓ Extraction du mucilage de fenugrec qui sera utilisé comme excipient dans le complément alimentaire.
- ✓ Encapsulation de nanocurcumines dans les biopolymères afin de les protéger contre la dégradation par la lumière.
- ✓ Caractérisations des formulations par différentes méthodes physico-chimiques et spectroscopiques.
- ✓ Etude de stabilité physico-chimique du PA.
- ✓ Evaluation des activités antidiabétiques et antioxydantes.

## IV.2. Matériel

### IV.2.1. Appareillage

Les équipements utilisés au cours de notre travail pratique sont résumés dans le tableau IV.1 ci-dessous :

**Tableau IV.1** : Les appareils utilisés pour la formulation et la caractérisation.

Appareillages	Utilité
Balance électronique (KERN ALS 220-4N)	Pesée des matières premières
Homogénéisateur (Ultra turax)	Homogénéisation et micronisation de la curcumine
DLS (HORIBA SCIENTIFIC NANO PARTICA, nano particule analyzer SZ-100)	Mesure de la taille et du potentiel zêta des particules
UV-visible (HITACHI, U-5100 spectrophotometer)	Analyse qualitative et quantitative du PA
Dissolutest (Erweka)	Contrôle de la libération du PA dans le milieu intestinal
Rhéomètre (ANTON PAAR modular compact rhéomètre MCR 302)	Evaluation des paramètres rhéologiques de la formulation
Centrifugeuse (HETTICH)	Détermination de taux d'encapsulation
FTIR (SHIMADZU)	L'analyse qualitative du produit
Réfractomètre (ORA 20BA - Brix – KERN)	Détermination du degré Brix
Glucomètre (VITAL CHECK)	Mesure de la glycémie

## IV.3. Méthodes

### IV.3.1. Matières premières de la formulation

#### IV.3.1.1. Principe actif

La curcumine utilisée au cours de la partie expérimentale est de grade pharmaceutique ayant les propriétés regroupées sur le tableau ci-dessous. Elle se présente sous forme de poudre jaune comme illustré sur la photo IV.1.



**Figure IV.1 :** La curcumine pure.

**Tableau IV.2 :** Les propriétés physico-chimiques de la curcumine.

Les propriétés	Les spécifications
<b>Aspect</b>	Poudre de couleur jaune orangé
<b>Propriétés physiques et chimiques</b>	<b>Formule moléculaire ;</b> $C_{21}H_{20}O_6$ <b>Masse moléculaire ;</b> $368.38 \text{ g.mol}^{-1}$ <b>Température de fusion ;</b> $183^{\circ}\text{C}$ <b>Absorption maximale dans l'UV ;</b> $421\text{nm}$ <b>Solubilité ;</b> insoluble dans l'eau, soluble dans l'éthanol, le DMSO, le méthanol, l'acétone, le chloroforme et l'acide acétique glacial
<b>Rôle</b>	Principe actif et agent de conservation

### VI.3.1.2. Les excipients

Les excipients ont été utilisés dans le but d'améliorer les propriétés physico-chimiques et organoleptiques de la formulation. Ils sont énumérés ci-après :

#### ➤ *Rébaudioside A*

Le tableau ci-dessous résume les caractéristiques physico-chimiques du *rébaudioside A*. C'est un composé qui confère à la formulation un goût sucré, c'est un édulcorant naturel extrait de l'espèce végétale *stévia rebaudiana*.

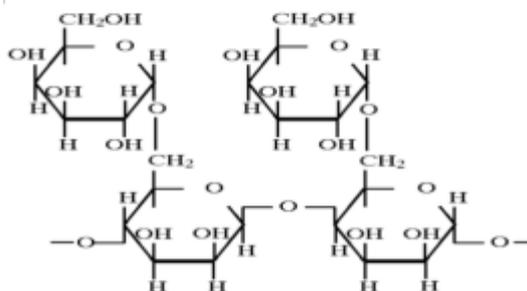
**Tableau IV.3 :** Les propriétés physico-chimiques du *rébaudioside A*.

Les propriétés	Les spécifications
Aspect	Poudre cristalline blanche
Propriétés physiques et chimiques	<b>Formule moléculaire ;</b> $C_{44}H_{70}O_{23}$ <b>Masse moléculaire ;</b> $967 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ <b>Température de fusion ;</b> $242\text{-}244^\circ\text{C}$ <b>Solubilité ;</b> soluble dans l'eau.
Rôle	Edulcorant et agent conservateur

➤ **Amidon de maïs**

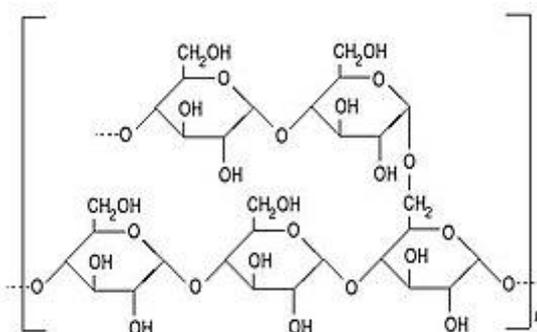
Le tableau ci-dessous résume les caractéristiques physico-chimiques de l'amidon de maïs.

**Tableau IV.4 :** Les propriétés physico-chimiques de l'amidon de maïs.

Les propriétés	Les spécifications
Aspect	Poudre blanche inodore
Propriétés physiques et chimiques	<b>Formule moléculaire ;</b> $(C_6H_{10}O_5)_n$ <b>Température de fusion ;</b> $200^\circ\text{C}$ <b>Solubilité ;</b> insoluble dans les solvants aqueux dans les conditions normales de température et de pression mais soluble à haute température
Structure chimique	
Rôle	Agent épaississant et viscosifiant

### ➤ Mucilage de fenugrec

Le mucilage a été extrait et isolé à partir des grains de fenugrec selon les étapes décrites ci-après (IV.3.2). Dans notre formulation, il est utilisé comme un agent épaississant. Sa structure chimique est schématisée ci-dessous :



**Figure IV.2 :** La structure chimique du mucilage de fenugrec.

## IV.3.2. Formulation des sirops

### a) Micronisation de la curcumine

Le choix du solvant a pris compte de deux facteurs ; la toxicité et la solubilité de la curcumine. D'après la recherche bibliographique, il a été démontré que le DMSO donne une meilleure solubilité par rapport aux autres solvants mais on a opté dans notre formulation pour l'éthanol car il est non toxique et le plus recommandé [73].

Des nanoparticules de curcumine ont été préparées selon [73]. La curcumine a été dissoute dans l'éthanol. Ensuite la solution préparée a été ajoutée goutte à goutte à de l'eau bouillante (50 ml) sous ultraturax pendant 1h.

### b) Encapsulation de nanocurcumines

Le choix de la composition des différents excipients a été réalisé sur la base de la recherche bibliographique et des essais préliminaire.

#### b1) Dans l'amidon de maïs

La première opération consiste à faire chauffer 40 ml de l'eau distillée, puis une quantité de l'amidon de maïs a été ajoutée dans l'eau bouillante sous agitation.

La deuxième étape consiste à ajouter goutte à goutte la solution de nanocurcumines à l'aide d'une seringue dans la solution de l'amidon de maïs sous homogénéisation.

## **b2) Dans le mucilage de fenugrec extrait des graines**

Les graines ont été recueillies et lavées à l'eau pour éliminer les impuretés et les débris. Elles ont été macérées dans de l'eau distillée à température ambiante pendant 24h puis chauffés jusqu'à ébullition pendant 1h. Après refroidissement, la solution a été filtrée à travers des compresses. Le filtrat a été refroidi et conservé au réfrigérateur pendant une nuit [73].

Le filtrat a été incorporé avec un rapport (1/1) dans l'alcool éthylique. Le mucilage précipité a été filtré et séché dans l'étuve à une température de 45°C pendant 12h. Le produit obtenu a été broyé et passé à travers le tamis pour garantir une granulométrie homogène [73].



**Figure IV.3 :** Les étapes de l'extraction et isolation du mucilage des graines de fenugrec.

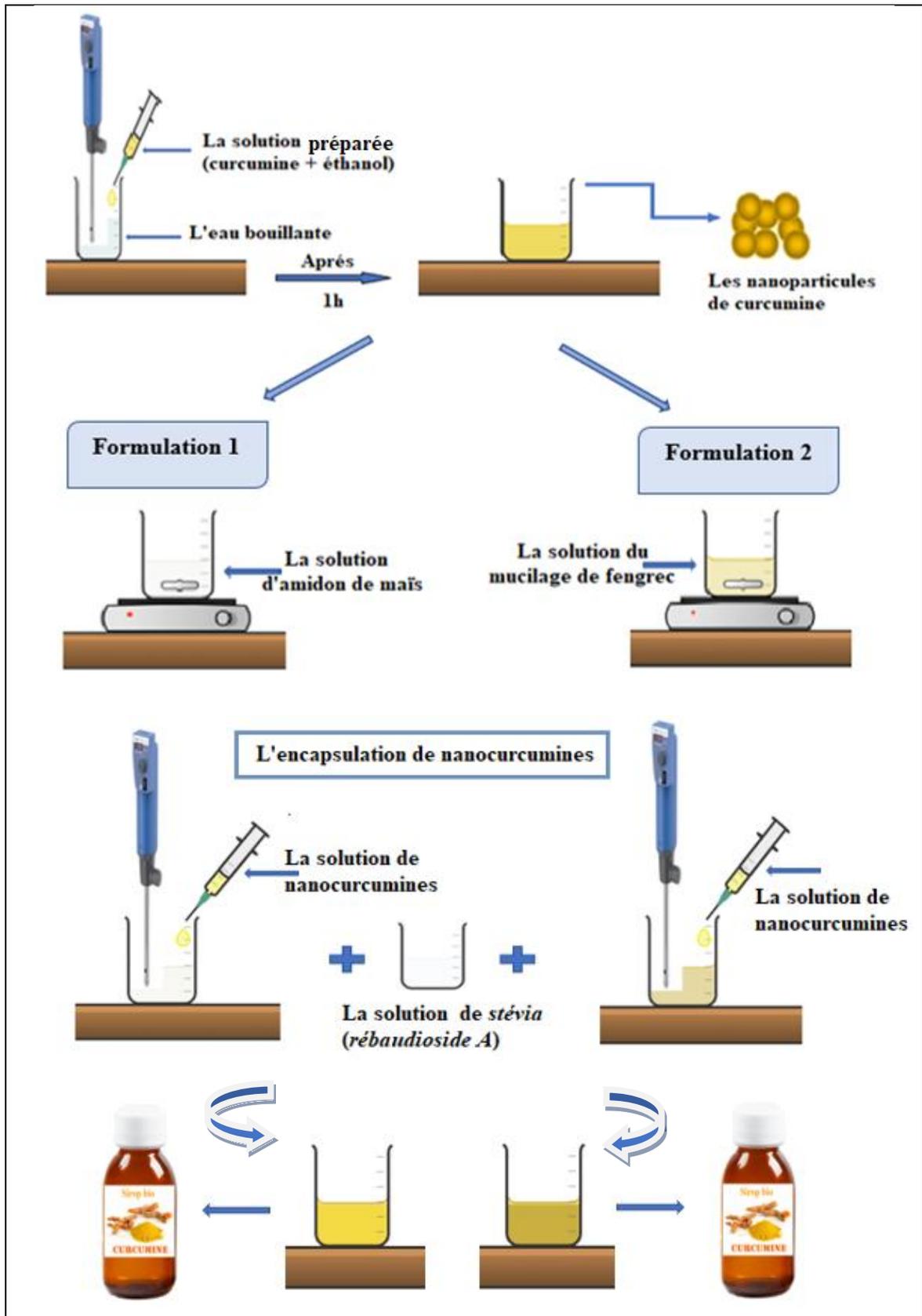
Afin d'encapsuler la solution de nanocurcumines dans le mucilage de funegrec, une solution de ce dernier a été préalablement préparée. A cet effet, première étape consiste à chauffer 40 ml de l'eau distillée à laquelle une quantité de mucilage de fenugrec a été ajoutée sous agitation.

La deuxième étape consiste à incorporer goutte à goutte la solution de nanocurcumines à l'aide d'une seringue dans la solution de mucilage de fenugrec sous homogénéisation.

### **c) Préparation de la solution *rébaudioside A* et formulation des sirops**

Les formulations ont été édulcorées avec un composé naturel extrait de la stévia. Une quantité de *rébaudioside A* a été dissoute dans l'eau froide sous agitation. Un volume de 10 ml de la solution de *stévia* a été ajouté dans la solution de nanocurcumines encapsulée dans les biopolymères sous homogénéisation.

Le schéma ci-dessous illustre les différentes étapes de formulation.



**Figure IV.4 :** Les étapes de formulation des sirops à base de nanocurcumines encapsulées dans les biopolymères.

### **IV.3.3. Caractérisations physico-chimiques des différentes formulations**

#### **IV.3.3.1. Micronisation de la curcumine**

##### **IV.3.3.1.1. Détermination de la taille des particules**

Les tailles des particules de nanocurcumines ont été mesurées par diffusion dynamique de la lumière DLS. Des échantillons dilués ont été agités pendant 15 min. Les mesures ont été effectuées à 25°C avec un angle de détection de 90° en utilisant le Zêtasizer Horiba.

##### **IV.3.3.1.2. Détermination du potentiel zêta**

Le potentiel zêta est le potentiel électrique au niveau du plan de cisaillement des nanoparticules, des gouttelettes ou des colloïdes. Les nanoparticules dispersées dans un milieu liquide forment une charge à la surface, appelée double couche. Si une particule se déplace en solution, les ions se déplacent avec elle, et une chute de potentiel se produit entre les différentes couches. Cette différence s'appelle le potentiel zêta. La valeur du potentiel zêta donne une indication de la stabilité potentielle du système.

Le potentiel zêta de nanocurcumines a été mesuré par DLS dans les mêmes conditions que précédemment.



**Figure IV.5 :** Equipement de la diffusion dynamique de la lumière (DLS) (photo originale).

### **IV.3.3.2. Mucilage de fenugrec**

#### **IV.3.3.2.1. Caractéristiques organoleptiques**

Les propriétés organoleptiques d'un produit peuvent être définies comme l'ensemble des caractéristiques physiques et chimiques perçues par les organes des sens (odorat, vue et goût). Ces caractéristiques jouent un rôle primordial dans sa perception avant usage ou consommation et dans son appréciation lorsqu'il est consommé ou utilisé.

Par observation visuelle nous avons examiné l'aspect et la couleur de la poudre du mucilage de fenugrec.

#### **IV.3.3.2.2. Solubilité de la poudre du mucilage de fenugrec**

La solubilité du mucilage de fenugrec a été déterminée dans différents solvants à savoir l'eau chaude, l'eau à température ambiante, l'éthanol, l'acétone et le méthanol. Pour ce faire, 50 mg de la poudre a été ajoutée à 5 ml de chaque solvant.

#### **IV.3.3.2.3. Identification par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)**

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier est une technique d'analyse basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par l'échantillon à analyser. Ce dernier peut être à l'état gazeux, solide ou liquide. Elle permet via l'absorption des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques de détecter la présence de certaines fonctions chimiques présentes dans la matière.

L'échantillon utilisé est sous forme de poudre. 1 mg du mucilage de fenugrec a été mélangé avec 100 mg de KBr, puis la poudre a été broyée uniformément avec un mortier, ensuite elle a été compactée en disque transparent sous haute pression, enfin le disque a été placé avec le porte-échantillon à travers la lumière émise par le spectrophotomètre IR. Le spectre obtenu a été enregistré [74].

### **IV.3.3.3. Caractérisation des sirops à base de nanocurcumines**

#### **IV.3.3.3.1. Evaluation des paramètres organoleptiques**

Par une appréciation visuelle nous avons examiné l'aspect et la couleur des sirops.

#### IV.3.3.3.2. Mesure du pH

Le pH donne une indication de l'acidité, la neutralité ou l'alcalinité d'une solution aqueuse, il est déterminé à partir de la quantité d'ions d'hydrogène ( $H^+$ ) ou d'ions hydroxyde ( $OH^-$ ) contenus dans la solution.

Elle se fait par méthode potentiométrique à l'aide d'un pH-mètre calibré sur une échelle de 0 à 14 dont l'électrode est directement immergée dans le sirop. La valeur obtenue est lue sur l'écran de l'appareil.

#### IV.3.3.3.3. Mesure de la densité

La densité d'un liquide est définie comme étant le rapport de la masse volumique du liquide et la masse volumique de l'eau à la même température. Pour la mesure, il suffit de peser au moyen d'une balance de précision le pycnomètre avant et après remplissage pour déterminer par calcul la densité d'un produit liquide.

La densité de sirop a été calculée par la formule suivante :

$$d = \frac{m_{péch} - m_{pvide}}{m_{peau} - m_{pvide}} \quad (IV.1)$$

Où :  $m_{péch}$  est la masse du pycnomètre avec l'échantillon,  $m_{peau}$  est la masse du pycnomètre avec l'eau distillée et  $m_{pvide}$  est la masse du pycnomètre vide.

#### IV.3.3.3.4. Mesure de degré Brix

Le degré Brix sert à identifier le taux de sucre dans un liquide, cette mesure a été réalisée à l'aide d'un réfractomètre portable. Après homogénéisation du sirop, un échantillon a été prélevé et quelques gouttes ont été déposées sur le réfractomètre comme schématisé ci-dessous. A travers l'oculaire, il suffit de détecter la démarcation entre le bleu et le blanc sur l'échelle pour lire la valeur de degré Brix.



Figure IV.6: Un réfractomètre portable (photo originale).

#### **IV.3.3.3.5. Détermination de la taille des particules**

La taille des particules des sirops a été mesurée par DLS dans les mêmes conditions opératoires citées préalablement au paragraphe (IV.3.3.1.1).

#### **IV.3.3.3.6. Détermination du potentiel zêta**

Aussi, le potentiel zêta des sirops a été mesuré comme mentionné auparavant dans le paragraphe (IV.3.3.1.2).

#### **IV.3.3.3.7. Détermination du taux d'encapsulation du PA**

Le taux d'encapsulation du PA dans les biopolymères est un paramètre important en génie des formulations. Les échantillons prélevés ont été centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 min, le surnageant de chaque tube a été retiré, les absorbances des échantillons et des sirops ont été mesurés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à 421 nm [75].

Le taux d'encapsulation de nanocurcumines a été calculé par la formule ci-dessous :

$$\text{Le taux d'encapsulation (\%)} = \frac{\text{Abs de l'échantillon}}{\text{Abs de sirop}} \times 100 \quad \text{(IV.2)}$$

#### **IV.3.3.3.8. Etude de la cinétique de dissolution in vitro**

Cette étude a été réalisée pour comparer le taux de dissolution des deux formulations à base de nanocurcumines par rapport au taux de dissolution de la curcumine brute dans le milieu intestinal et c'est le paramètre important qui nous renseigne sur l'amélioration de la biodisponibilité qui est l'un des principaux objectifs de cette étude.

Le test a été réalisé à l'aide d'un dissolutest de type « USP ERWEKA » à palettes tournantes constitué de 8 récipients cylindriques à fond hémisphérique avec une capacité de 1000 millilitres, d'un agitateur constitué d'une tige verticale dont la partie inférieure est fixée à une palette et d'un bain d'eau thermostaté qui permet de maintenir la température du milieu de dissolution à  $37 \pm 0,5$  °C pendant l'essai.

➤ **Préparation du milieu intestinal à pH=6,8**

Nous avons préparé 5L de ce milieu. Pour se faire, une quantité de 34 g de phosphate de potassium monobasique  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a été dissoute dans 4500 ml de l'eau distillée, et une quantité de 20 g d'hydroxyde de sodium NaOH a été dissoute dans 500 ml de l'eau distillée. La solution de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  a été ajustée par NaOH jusqu'à l'obtention d'un pH égal à 6,8. Une quantité de l'eau distillée a été ajoutée pour compléter le milieu jusqu'à 5L [76].

➤ **La réalisation du test de dissolution**

Un volume de 500 ml du milieu intestinal a été introduit dans chaque godet et chauffé préalablement à  $(37 \pm 0,5)$  °C. Un échantillon de 10 ml a été introduit dans chaque godet sous une agitation de 100 tr/min pendant 4h. À divers intervalles de temps à des pas de 30 min, un volume de 5 ml a été prélevé dans des tubes après filtration sur un filtre à seringue puis remplacé par une quantité égale de milieu frais. Les échantillons prélevés ont été analysés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à 421 nm.

➤ **La courbe d'étalonnage de la curcumine**

Une solution mère de la curcumine de concentration de 0.04mg/ml a été préparée par le milieu intestinal, puis une série de solutions filles a été préparée par prélèvement de différents volumes à partir de la solution mère. Les absorbances de chaque solution ont été mesurée à 421 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, les concentrations des solutions filles ont été calculées afin de tracer la courbe d'étalonnage  $\text{Abs} = f(C)$ .

### ➤ Détermination de taux de dissolution

A partir de l'équation de la courbe d'étalonnage de la curcumine dans le milieu intestinal, la concentration de chaque échantillon prélevé dans différents intervalles de temps a été calculée et notée « C<sub>1</sub> », puis la concentration de l'échantillon qui a été introduite dans le milieu intestinal a été calculée et notée « C<sub>2</sub> ». Le taux de dissolution (%) a été calculé par la formule ci-dessous :

$$\text{Le taux de dissolution (\%)} = \frac{C_1}{C_2} \times 100 \quad \text{(IV.3)}$$



**Figure IV.7:** Un dissolutest à palette tournante (photo originale).

#### IV.3.3.3.9. Etude de la stabilité

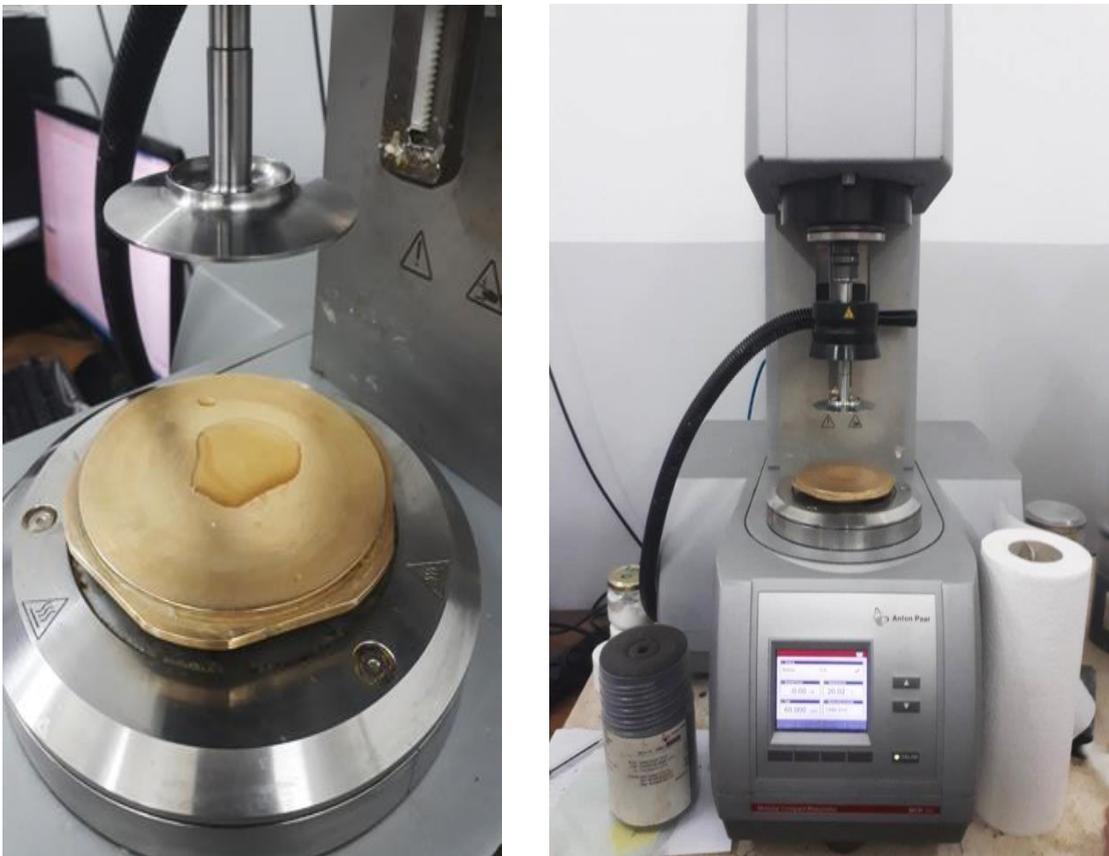
Un médicament est considéré comme pratiquement stable lorsque dans un laps de temps déterminé ses propriétés essentielles ne changent pas ou changent à des proportions tolérables. De plus, il est entendu que le médicament doit être conservé dans des conditions appropriées et prescrites de température, d'humidité et d'exposition à la lumière dans l'article de conditionnement convenable.

Pour évaluer la stabilité au cours du temps, les sirops ont été stockés dans deux conditions ; dans le réfrigérateur à 4°C et à température de 25°C. Un suivi de la taille des particules et du potentiel zêta pendant 25 jours. Les propriétés organoleptiques ont également été prises en compte pour évaluer la stabilité de sirop.

#### IV.3.3.3.10. Etude du comportement rhéologique

Cette étude a été réalisée pour étudier le comportement des formulations et de déterminer la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement.

Le test a été réalisé à l'aide d'un rhéomètre de marque « MCR 302 Anton PAAR PHYSICA » qui fonctionne en régime continu et en oscillation. Le dispositif est muni d'un logiciel qui permet le pilotage du rhéomètre et le traitement des données ainsi que leur exploitation. La géométrie utilisée est le cône plan 60 mm qui permet d'appréhender des viscosités les plus faibles aux viscosités les plus fortes dans des conditions de température de 20°C. La figure ci-dessous représente une photo originale du rhéomètre utilisé.



**Figure IV.8 :** Le rhéomètre utilisé (photo originale).

#### IV.3.4. Evaluation des activités biologiques

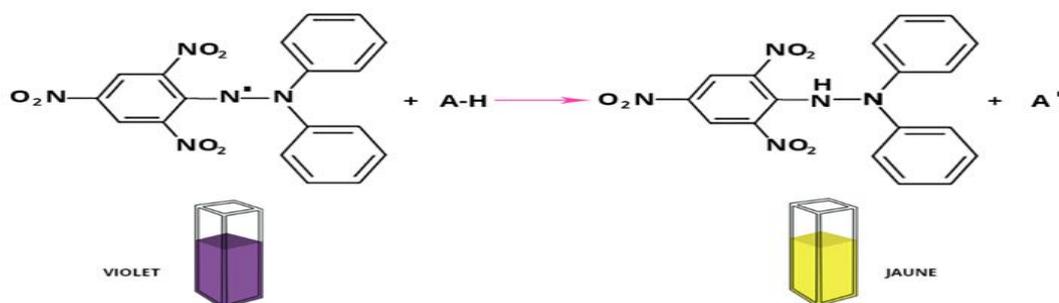
##### IV.3.4.1. L'activité antioxydante in vitro

L'activité antioxydante a été déterminée pour les deux formulations par le test au DPPH.

##### ➤ Principe de la méthode :

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable de couleur violette intense, sa formule moléculaire est  $C_{18}H_{12}N_5O_6$  avec une masse moléculaire de 394,32 g/mol, il est insoluble dans l'eau mais soluble dans les solvants organiques tels que méthanol, l'acétone, le chloroforme et l'éther.

Le test DPPH° permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH° par transfert d'un hydrogène. Le DPPH°, initialement violet, se transforme en DPPH-H, jaune pâle comme illustré par le mécanisme suivant [75] :



**Figure IV.9 :** Le mécanisme réactionnel du test DPPH°.

Le protocole a été décrit par [75]. Une solution de DPPH a été préparée en dissolvant 4 mg dans 100 ml de méthanol, 3 ml de DPPH sont ensuite mélangés avec 1 ml de chaque échantillon dans le tube test, parallèlement, un contrôle négatif a été préparé en mélangeant 1ml de méthanol avec 3ml de la solution méthanolique de DPPH. Après agitation rapide, les tubes sont incubés pendant 30 minutes dans l'obscurité à 25°C. Le contrôle positif a été représenté par une solution d'un antioxydant standard « l'acide gallique » dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions

que les échantillons. La capacité de piégeage a été mesurée en utilisant un spectrophotomètre UV-visible à 517 nm par rapport au blanc. Les tests de reproductibilités ont été réalisés.

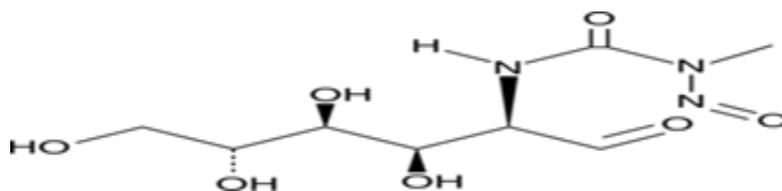
Le pourcentage d'activité antioxydante (AA%) a été calculé selon l'équation citée ci-dessous :

$$AA\% = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100 \quad (IV.4)$$

Où : AA est le pourcentage de l'activité antioxydante,  $A_0$  est l'absorbance de la solution de DPPH et  $A_1$  est l'absorbance de la solution de DPPH contenant l'échantillon à analyser.

#### IV.3.4.2. L'activité antidiabétique in vivo

Dans cette partie de notre travail, il a été question de prouver l'efficacité des deux formulations sur la régulation de la glycémie chez les rats rendus diabétiques par induction de streptozotocine. Cette dernière est une substance de référence pour les études expérimentales sur le diabète. Elle se présente sous forme de poudre de couleur jaune pâle, ayant un poids moléculaire de 265,2 g/mol, sa formule chimique schématisée ci-après est  $C_8H_{15}N_3O_7$ . Elle est soluble dans l'eau, le sérum physiologique et les solvants organiques.

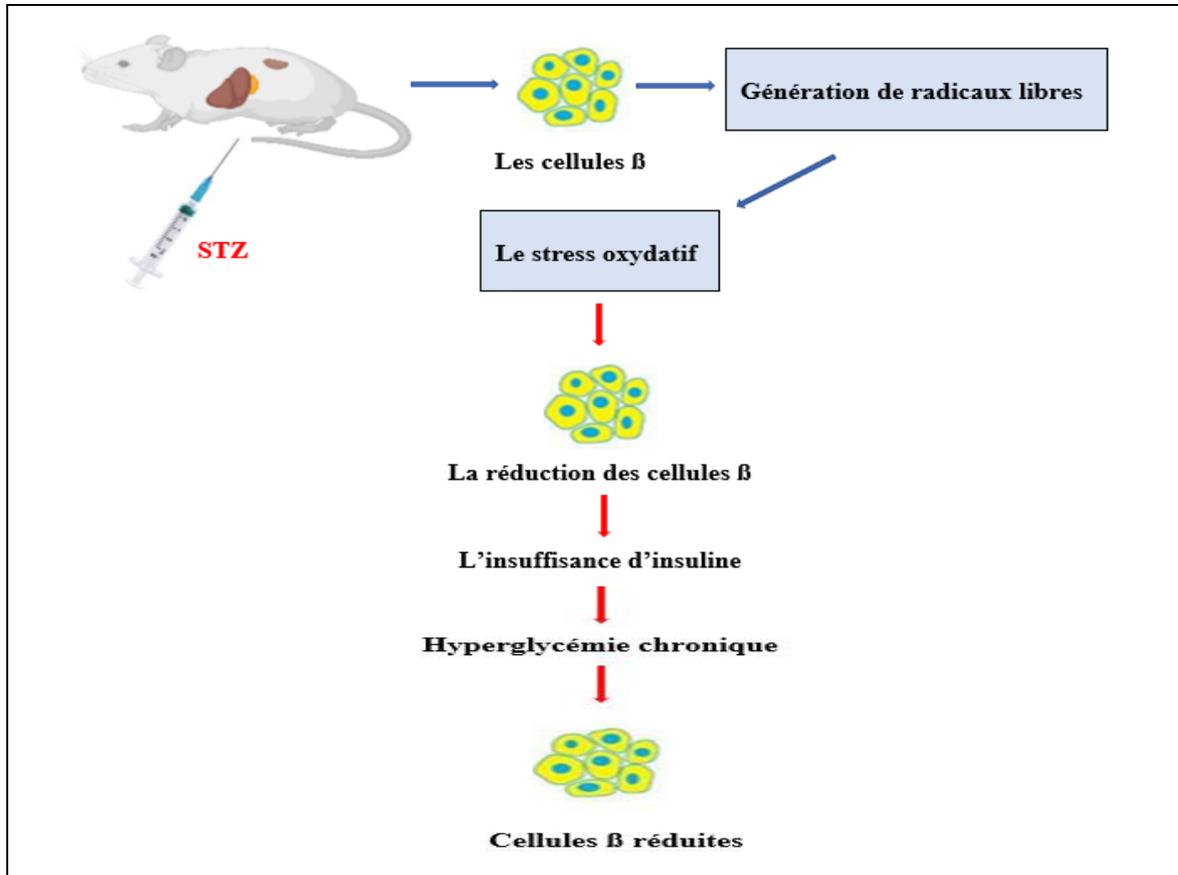


**Figure IV.10** : La structure chimique de la streptozotocine.

Elle a été isolée en 1956 à partir de *Streptomyces* (dérivés de la glucosamine) et utilisée pour la première fois en 1967. Cette substance est d'autant plus diabétogène que la glycémie est basse au moment de son administration. Elle possède une toxicité sélective et toxique sur les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas endocrine induisant ainsi un diabète insulino-dépendant (DID). Cette endocrinopathie se caractérise par la destruction des cellules  $\beta$  langerhansiennes responsables d'une carence

insulinique, suivie par une hypersécrétion d'hormones de contre-régulation glycémique comme le glucagon, les catécholamines, le cortisol et l'hormone de croissance [77].

La figure ci-dessous illustre le mécanisme d'action de la streptozotocine chez un rat.



**Figure IV.11:** Le mécanisme d'action de la streptozotocine [77].

#### **IV.3.4.2.1. Les animaux d'expérimentation**

Douze rats mâles adultes en bonne santé de souche Wister, âgés de 2 mois de poids corporel compris entre 200 et 240g ont été utilisés dans cette étude.

Les rats ont été gardés dans des cages en matière plastique ayant un couvercle en acier inoxydable dans des conditions du laboratoire standard (période de lumière de 12 heures par jour), ils ont été nourris avec des aliments (les bouchons, graines de tournesol) et l'eau était distribuée par des biberons en plastiques.

Les rats ont été divisés en trois groupes de quatre rats par cage, chaque groupe a été marqué avec des bandes de couleurs différentes afin que chaque rat soit clairement identifié. La répartition de chaque lot de l'étude a été exprimée comme mentionné sur le tableau IV.5 ci-dessous :

**Tableau IV.5** : La répartition des lots de l'étude.

<b>Les groupes</b>	<b>Spécification</b>
Groupe 1	Témoin négatif (rats normaux)
Groupe 2	Témoin positif (rats diabétiques)
Groupe 3	Des rats diabétiques gavés par la formulation du mucilage de fenugrec

#### **IV.3.4.2.2. Induction du diabète**

Les rats de groupe 2 et 3 ont été soumis à un régime alimentaire standard, jeûné pendant 24h. L'induction du diabète consiste en l'administration de la streptozotocine dissoute dans une solution saline physiologique à 0,9%.

La dose administrée était de 50 mg / kg de poids corporel par une seule injection intrapéritonéale dans le quart inférieur gauche de l'abdomen de chaque rat comme montré sur la figure ci-dessous. Ensuite, les rats sont gardés dans des cages avec accès à la nourriture et des bouteilles de solutions de glucose à 5% pendant 24 heures pour éviter un choc hypoglycémique [78].



**Figure IV.12:** La voie d'administration de la streptozotocine (photo originale).

#### IV.3.4.2.3. Mesures de la glycémie et confirmation du diabète

Le taux de la glycémie à jeun des rats a été mesuré après 48h de l'induction de la streptozotocine. Le rat a été immobilisé dans une boîte à contention en stérilisant l'extrémité terminale de la queue avec une solution d'alcool éthylique à 20 %, puis en piquant la queue, l'échantillon de sang a été prélevé et déposé sur une bandelette qui a été placée dans un glucomètre. Le site piqué de la queue a été immédiatement pressé avec du coton et à nouveau stérilisé pour protéger les rats contre l'infection. Le diabète a été confirmé après 10 jours au bout desquels les rats ont présenté une glycémie à jeun supérieure à 120 mg / dl et donc considérés comme diabétiques [79].



**Figure IV.13 :** La mesure de la glycémie d'un rat (photo originale).

#### IV.3.4.2.4. Gavage des rats par les formulations

Les rats du groupe 3 ont été gavés à l'aide d'une sonde de gavage, ils ont reçu une dose quotidienne de 0,5 ml de formulation du mucilage de fenugrec, une fois par jour et à jeun, pendant 3 semaines de traitement. La mesure de la glycémie a été faite une fois par semaine.



**Figure IV.14 :** Le gavage d'un rat (photo originale).

#### IV.3.4.2.5. Dissection et prélèvement des organes

Au 30ème jour (fin de l'expérimentation), tous les rats ont été sacrifiés sous une légère anesthésie de chloroforme. On procède à la dissection des rats dans le but de prélever les pancréas et les foies qui seront tout d'abord rincés au NaCl à 0,9 %, puis ont été conservés dans du formol à 10 % dans le but d'effectuer des coupes histologiques ultérieurement.

Toutefois des observations macroscopiques ont permis de détecter l'efficacité du traitement sur les foies. A cet effet des photos ont été prises et analysées.



**Figure IV.15 :** La dissection d'un rat (photo originale).

# Chapitre V

## Résultats et discussion

## V. RESULTATS ET DISCUSSION

Dans ce chapitre seront présentés les principaux résultats auxquels notre étude a abouti et s'articulent autour des points suivants :

- ✓ Micronisation de la curcumine et caractérisation
- ✓ Caractérisations physico-chimiques des formulations.
- ✓ Evaluation des activités biologiques.

### V.1. Caractérisations physico-chimiques des différentes formulations

#### V.2.1. Micronisation de la curcumine

La solution de la curcumine micronisée se présente sous forme de solution transparente homogène de couleur jaune, caractéristique de la matière première.

##### V.2.1.1. Détermination de la taille des particules

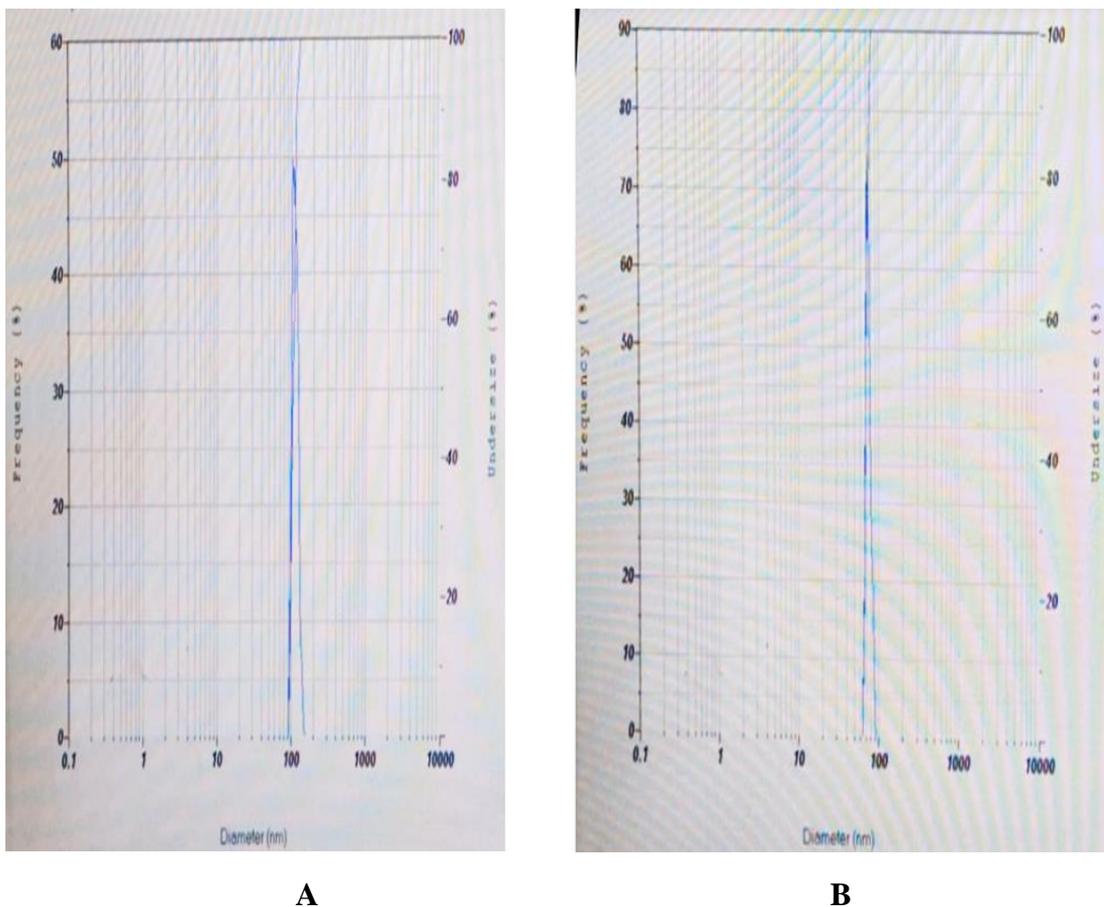
Les tailles des particules et les indices de polydispersités (PDI) de nanocurcumines ont été déterminés par DLS. Les résultats sont regroupés dans le tableau V.1 ci-dessous :

**Tableau V.1:** Les tailles des particules et les indices de polydispersité de nanocurcumines.

	La taille des particules (nm)			La taille moyenne (nm)	L'indice de polydispersité			PDI moyen
	Essai 1	Essai 2	Essai 3		Essai 1	Essai 2	Essai 3	
La solution de nanocurcumines (formulation 1)	104,9	102,8	100,7	<b>102,8</b>	0,392	0,396	0,382	<b>0,390</b>
La solution de nanocurcumines (formulation 2)	90,9	101,7	94,5	<b>95,7</b>	0,424	0,419	0,417	<b>0,420</b>

La taille des particules affecte les propriétés physicochimiques des nanoparticules, la stabilité au stockage, l'incorporation de la substance active et la biodisponibilité. Elle joue aussi un rôle majeur dans le mécanisme d'action du produit après administration.

Les résultats obtenus montrent d'une part que la taille moyenne de la solution des nanocurcumines pour la formulation 1 est de 102,8 nm avec un PDI de 0,390. D'autre part, la taille moyenne de la solution des nanocurcumines pour la formulation 2 était de 95,7 nm avec un PDI de 0,420, ce qui signifie que la taille des particules des nanocurcumines est réduite jusqu'à la taille nanométrique. De plus, les valeurs de PDI sont inférieures à 1, ce qui indique que la taille de la solution des nanocurcumines présente un modèle de distribution granulométrique homogène, ceci est justifié par une courbe monomodale comme illustré sur la figure V.1 ci-dessous.



**Figure V.1 :** Les courbes de distribution granulométrique de la solution de nanocurcumines pour les formulations (« A CURA », « B CURF »).

### V.2.1.2. Détermination du potentiel zêta

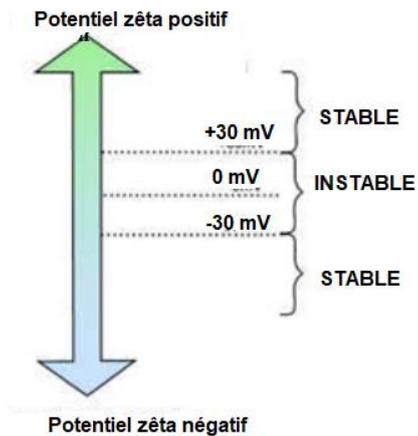
Les valeurs du potentiel zêta de nanocurcumines sont regroupées sur le tableau V.2 ci-dessous :

**Tableau V.2:** Le potentiel zêta de nanocurcumines.

	Le potentiel zêta (mV)			Le potentiel zêta moyen (mV)
	Essai 1	Essai 2	Essai 3	
<b>La solution de nanocurcumines (formulation 1)</b>	35,2	36,4	34,6	<b>35,4</b>
<b>La solution de nanocurcumines (formulation 2)</b>	39,5	42,2	40,1	<b>40,6</b>

La charge de surface représente essentiellement le potentiel électrique des NP, qui dépend entièrement de sa composition chimique. Les NP à haut potentiel zêta négatif ou positif sont extrêmement stables car ces charges évitent l'agrégation de ces particules. Lorsque le potentiel zêta tend vers zéro, les forces inter-particulaires diminuent. Les forces attractives deviennent alors prépondérantes et les particules s'agrègent et le système se déstabilise.

Les résultats obtenus montrent que le potentiel zêta des nanoparticules de curcumine pour les 2 formulations était de 35,4 et 40,6 mV respectivement, ces nanoparticules présentent un potentiel zêta fortement positif, ce qui signifie qu'il existe une interaction électrostatique fortement répulsive entre les nanoparticules de curcumine, ceci empêche les nanoparticules de se rapprocher les unes des autres et de former des agglomérats, ce qui contribue à la stabilité des nanoparticules de curcumine. Ces résultats sont conformes aux références de l'équipement utilisé comme illustré dans la figure V. 2 ci-dessous :

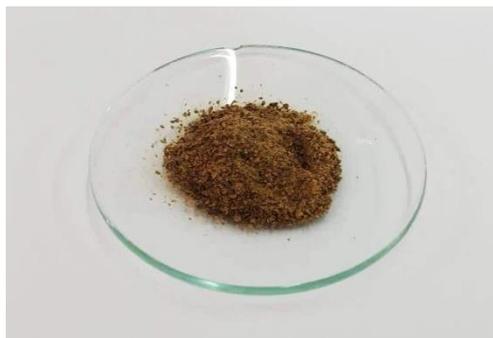


**HORIBA**

**Figure V.2 :** Norme de référence du potentiel zêta de DLS HORIBA.

### V.2.2. Extraction du mucilage de fenugrec

Le mucilage de fenugrec a été extrait des graines, il a présenté une couleur marron foncé est une texture rugueuse et irrégulière comme illustré sur la figure V.3 ci-dessous, il a été utilisé comme matériau pour l'encapsulation de nanocurcumines en vue de les protéger des facteurs environnementaux. La figure suivante illustre l'aspect du mucilage obtenu.



**Figure V.3 :** La poudre du mucilage de fenugrec (photo originale).

### V.2.2.1. Solubilité de la poudre du mucilage de fenugrec

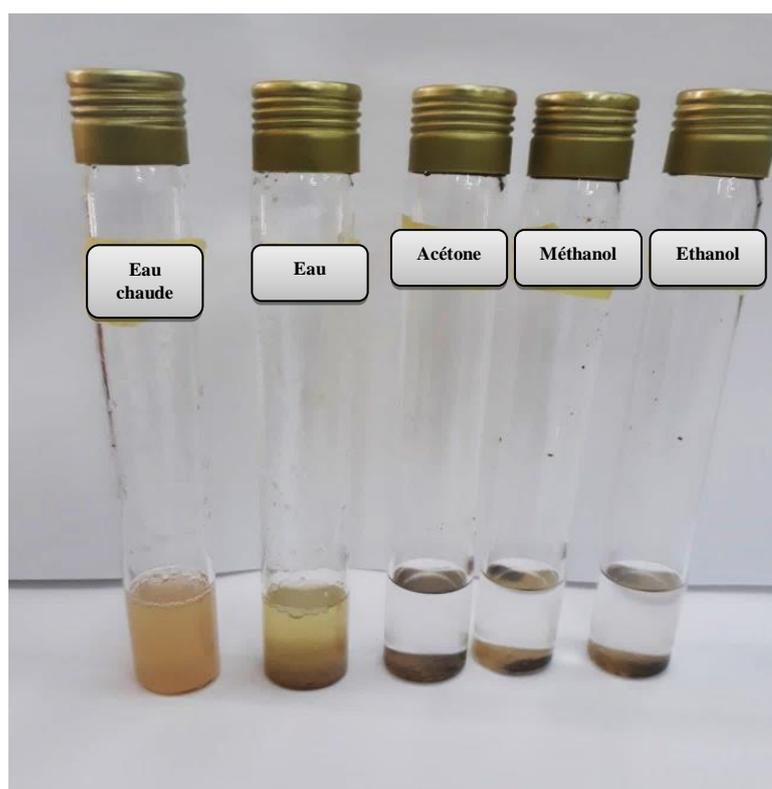
Avant son utilisation comme matériau d'encapsulation, la solubilité du mucilage de fenugrec dans les différents solvants a été examinée. Les résultats sont mentionnés dans le tableau V.3 ci-dessous :

**Tableau V.3 :** Les solubilités du mucilage de fenugrec dans les différents solvants.

Solvants	Eau chaude	Eau T° ambiante	Ethanol	Méthanol	Acétone
Solubilité	+	±	-	-	-

Où : (+) soluble, (-) insoluble et (±) peu soluble.

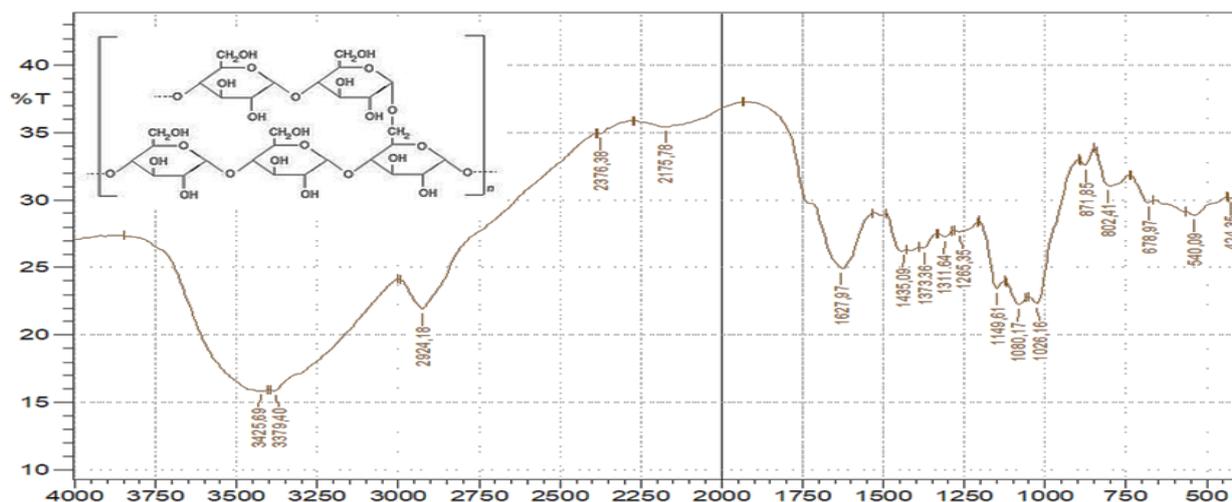
Les résultats obtenus montrent que le mucilage de fenugrec est soluble dans l'eau chaude, peu soluble dans l'eau à température ambiante et insoluble dans les solvants organiques (éthanol, méthanol, acétone) comme illustré dans la figure V.4 ci-dessous.



**Figure V.4 :** La solubilité du mucilage de fenugrec dans les différents solvants (photo originale).

### V.2.2.2. Identification par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Le spectre FTIR obtenu du mucilage de fenugrec est représenté dans la figure V.5 ci-dessous. Cette analyse a été réalisée dans le but d'identifier les groupements caractéristiques de ce composé.



**Figure V.5 :** Le spectre FTIR du mucilage de fenugrec.

Pour étudier la structure chimique du mucilage de fenugrec, les mesures ont été réalisées dans une gamme de nombres d'onde de 4000 à 400  $\text{cm}^{-1}$ . Les principaux pics caractéristiques observés sont regroupés dans le tableau V.4 ci-dessous.

**Tableau V.4 :** L'identification des pics de FTIR du mucilage de fenugrec.

Les groupements	Fréquences ( $\text{cm}^{-1}$ )
-OH	Entre 3425,69 et 3379,40
C-H	2924,18
C-C	1627,97
C-O	Entre 1435,09 et 1265,35
C-O	Entre 1149,61 et 1026,16

A la lumière des résultats trouvés, la structure du mucilage a été confirmée. En effet, (Kamit K. Nayak et al), ont identifié les mêmes groupements dans mucilage isolé du *Trigonella foenum graecum* qui n'était autre que le mucilage des graines de fenugrec [73].

### V.2.3. Caractérisation des sirops à base de nanocurcumines

Une fois formulés, les produits ont été caractérisés afin de mettre en évidence leurs principales caractéristiques

#### V.2.3.1. Evaluation des paramètres organoleptiques

Les propriétés organoleptiques des sirops sont regroupées dans le tableau V.5 ci-dessous :

**Tableau V.5** : Les propriétés organoleptiques des sirops.

	<b>Couleur</b>	<b>Aspect</b>
<b>Formulation 1 (amidon de maïs)</b>	Jaune pâle	peu visqueux
<b>Formulation 2 (mucilage de fenugrec)</b>	Jaune foncé	peu visqueux

#### V.2.3.2. Mesure du pH

Le pH est un facteur important qui affecte la stabilité du produit. La curcumine pourrait subir une dégradation en solution aqueuse dans certaines conditions du pH. L'une des limites de la curcumine est son instabilité dans des conditions alcalines, elle reste relativement stable à pH acide et neutre. Les pH correspondants aux deux formulations sont de 6.22 et 6.94 respectivement.

Ces valeurs sont proches de la neutralité, ce qui semble indiquer que la stabilité des nanocurcumines a été probablement améliorée lorsqu'elles sont encapsulées dans les biopolymères.

Notons par ailleurs, qu'en plus du pH, la lumière et la chaleur peut altérer aussi les propriétés du PA.

### V.2.3.3. Mesure de la densité

Les densités correspondantes aux deux formulations sont de 1,10 et 1,15 respectivement. Les résultats obtenus montrent que la densité des 2 formulations est supérieure à celle de l'eau, ce qui est bien conforme aux exigences dans les propriétés physico-chimiques pour un sirop. On remarque que la densité de sirop CURF est légèrement supérieure à celle de sirop CURA, ceci est probablement lié à la nature et le poids des biopolymères utilisés qui sont le mucilage de fenugrec et l'amidon de maïs respectivement.

### V.2.3.4. Mesure du degré Brix

Les valeurs du degré Brix des sirops renseignent sur les goûts sucrés des produits.

Les deux formulations édulcorées par le *rebaudioside A* montrent un degré Brix de 1,3341° pour le sirop de CURA et 1,3369° pour le sirop CURF respectivement. Elles sont significativement plus faibles par rapport au sirop à base de saccharose, c'est un bon signe pour les patients diabétiques car la *stévia* possède un pouvoir sucrant de 300 fois supérieur à celui du saccharose avec zéro calorie. De plus, elle est constituée de 4 molécules du glucose qui ne vont pas franchir la barrière intestinale et atteindre la circulation sanguine d'où une régulation de la glycémie, pour ce fait, la *stévia* stimule le système nerveux pour augmenter la sécrétion de l'insuline sans qu'elle soit absorbée par le corps, ce qui permet de diminuer la glycémie à jeun. Par ailleurs, aucune différence significative dans la valeur du degré Brix n'a été observée entre les deux formulations.

### V.2.3.5. Détermination de la taille des particules des formulations

Les tailles des particules et les indices de polydispersité des sirops formulés sont regroupés dans le tableau V.6 ci-dessous :

**Tableau V.6 :** Les tailles des particules et les indices de polydispersité des sirops.

	La taille des particules (nm)			La taille moyenne (nm)	L'indice de polydispersité			PDI moyen
	Essai 1	Essai 2	Essai 3		Essai 1	Essai 2	Essai 3	
<b>Formulation 1 (amidon de maïs)</b>	114,8	116,9	119,3	<b>117</b>	0,497	0,496	0,492	<b>0,495</b>
<b>Formulation 2 (mucilage de fenugrec)</b>	121,4	119,6	118,7	<b>119,9</b>	0,508	0,512	0,507	<b>0,509</b>

Les résultats obtenus montrent que la taille moyenne des deux formulations est de 117 et 119,9 nm avec un PDI de 0,495 et 0,509 respectivement, ce qui explique que l'encapsulation des nanocurcumines dans les biopolymères permet de garder la taille nanométrique de nanocurcumines, ce qui signifie une stabilité des formulations. Les particules de la solution de nanocurcumines non encapsulée peuvent s'agréger, ce qui provoque une déstabilisation au cours du temps résultant d'une augmentation de la taille des particules.

#### V.2.3.6. Détermination du potentiel zêta

Le potentiel zêta des sirops est regroupé dans le tableau V.7 ci-dessous :

**Tableau V.7 :** Le potentiel zêta des sirops.

	Le potentiel zêta (mV)			Le potentiel zêta moyen (mV)
	Essai 1	Essai 2	Essai 3	
<b>Formulation 1 (amidon de maïs)</b>	48,3	45,1	47,9	<b>47,1</b>
<b>Formulation 2 (mucilage de fenugrec)</b>	50,4	48,7	51,5	<b>50,2</b>

Les résultats obtenus montrent que les potentiels zêtas des nanoparticules de curcumine encapsulées dans les biopolymères sont de 47,1 et 50,2 mV, ce qui indique une amélioration du potentiel zêta par rapport à la solution des nanocurcumines non encapsulée. Par conséquent les nanoparticules à haut potentiel zêta sont relativement stables car elles se repoussent mutuellement et leur fréquence de collision est inexistante ou relativement faible.

### V.2.3.7. Détermination des taux d'encapsulation du PA

Les taux d'encapsulation de nanocurcumines dans les 2 formulations sont très importants, 75% pour le sirop de CURA et 85% pour le sirop de CURF, ce qui signifie que la réduction de la taille des particules de la curcumine favorise le taux d'encapsulation et c'est l'avantage des nanotechnologies qui sont très prometteuses dans ce contexte. De plus, le taux d'encapsulation de nanocurcumines dans le mucilage de fenugrec est relativement meilleur que celui de l'amidon de maïs, ceci semble dû aux caractéristiques des deux polymères.

### V.2.3.8. Etude de la cinétique de dissolution in vitro

Afin de déterminer les profils de dissolution des formulations dans le milieu intestinal, nous avons établi préalablement la courbe d'étalonnage représentée ci-après :

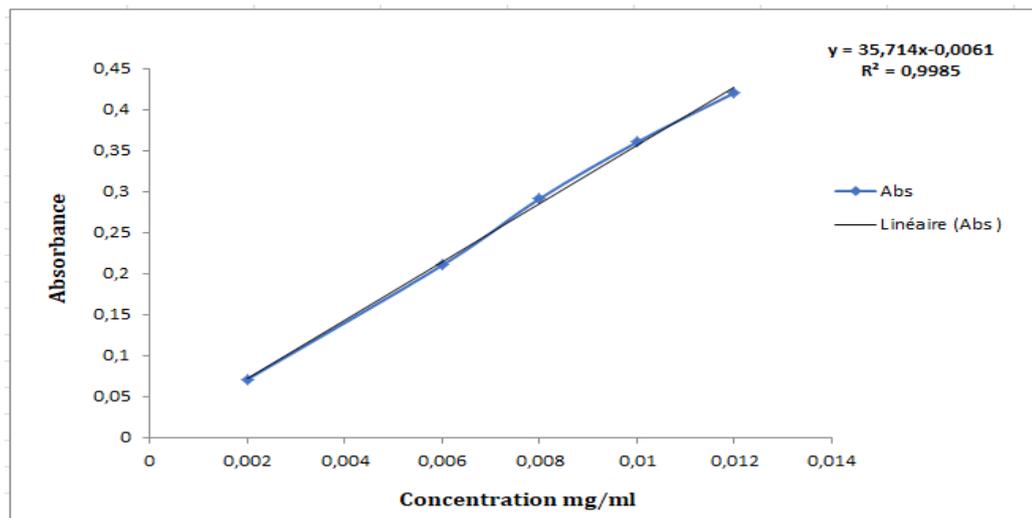


Figure V.6 : La courbe d'étalonnage de la curcumine brute.

La courbe d'étalonnage obtenue  $Abs = f(C)$  représente une droite linéaire se forme  $Y = ax + b$ , avec un facteur de corrélation  $R^2 = 0,9985$ .

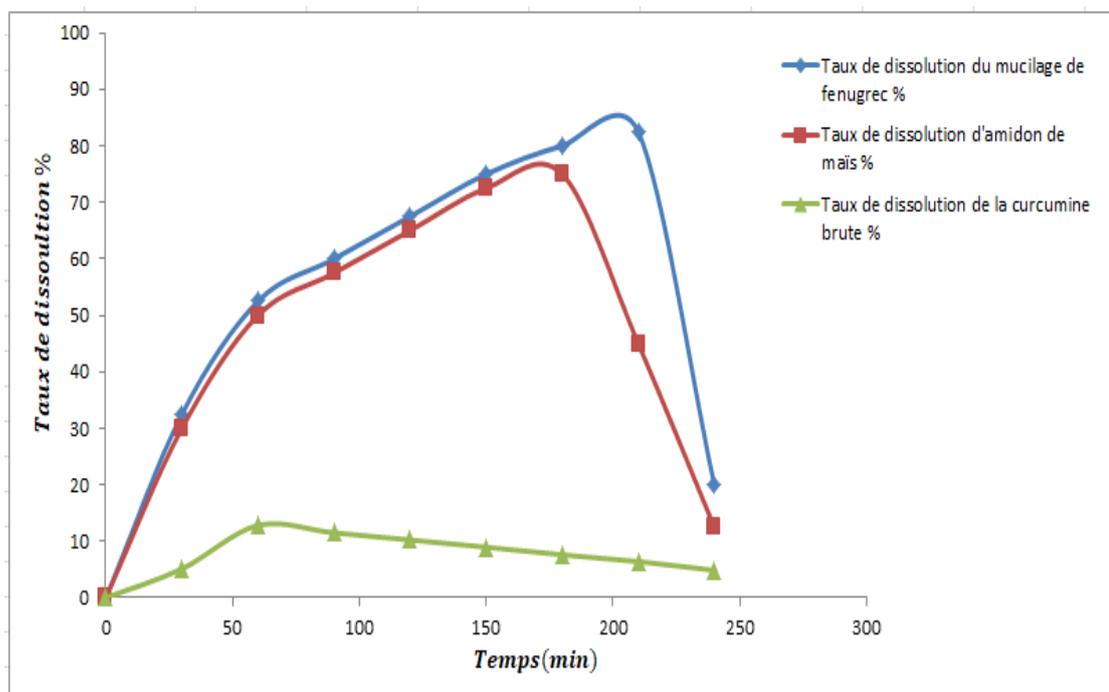
➤ **Les taux de dissolution de la curcumine brute et des sirops**

Les résultats obtenus des taux de dissolution de la curcumine brute et des sirops sont mentionnés dans le tableau V.8 ci-dessous.

**Tableau V.8 :** Les taux de dissolution de la curcumine brute et des sirops.

<b>La curcumine brute</b>								
<b>Temps (min)</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>90</b>	<b>120</b>	<b>150</b>	<b>180</b>	<b>210</b>	<b>240</b>
<b>Taux de libération (%)</b>	5,12	12,82	11,5	10,25	8,97	7,62	6,41	4,87
<b>Sirop du mucilage de fenugrec</b>								
<b>Temps (min)</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>90</b>	<b>120</b>	<b>150</b>	<b>180</b>	<b>210</b>	<b>240</b>
<b>Taux de libération (%)</b>	32,5	52,5	60	67,5	75	80	82,5	20
<b>Sirop d'amidon de maïs</b>								
<b>Temps (min)</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>90</b>	<b>120</b>	<b>150</b>	<b>180</b>	<b>210</b>	<b>240</b>
<b>Taux de libération (%)</b>	30	50	57,5	65	72,5	75	45	12,5

Les profils de dissolution de la curcumine brute et les sirops dans le milieu intestinal sont illustré dans la figure V.7 ci-dessous.



**Figure V.7 :** Les profils de dissolution de la curcumine brute et des sirops.

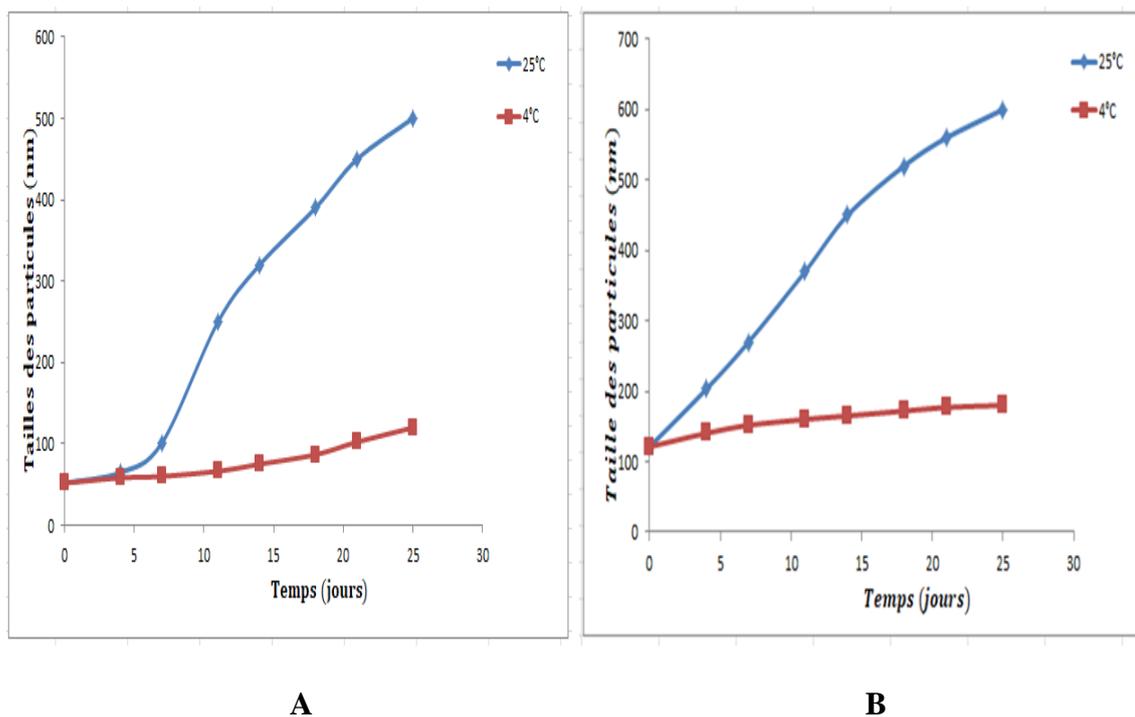
Le taux de libération de nanocurcumines encapsulées dans le biopolymère du mucilage de fenugrec augmente progressivement en fonction du temps pour atteindre un taux maximal de 82,5 % au bout de 210 min, ce qui justifie une libération prolongée de la curcumine. Une amélioration de 70% a été observée par rapport à la curcumine brute qui atteint un taux maximal de 12,82 % au bout de 60 min. D'autre part, le taux de libération de la nanocurcumine encapsulée dans l'amidon de maïs croît progressivement et atteint un taux maximal de 75 % au bout de 180 min ce qui signifie un même profil de libération avec une amélioration de 62% qui a été soulevée par rapport à la curcumine brute. De plus, le taux de libération de la nanocurcumine encapsulée dans le mucilage de fenugrec est relativement meilleur par rapport au taux de libération de la nanocurcumine encapsulée dans l'amidon de maïs, ceci peut être dû à la morphologie du matériau d'encapsulation et le mécanisme de diffusion du PA à travers les chaînes macromoléculaires.

Les différences des taux de dissolution pour les 2 formulations par rapport à la curcumine brute confirme les données de la bibliographie confirment la non

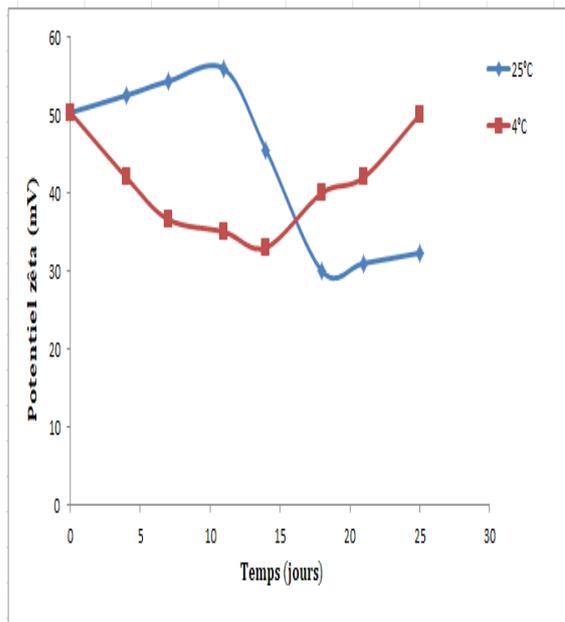
disponibilité de la curcumine et c'est la raison qui limite son utilisation dans les médicaments et explique bien l'importance de la réduction de la taille de la curcumine à l'échelle nanométrique et l'encapsulation des nanoparticules par les biopolymères qui permet d'augmenter sa biodisponibilité et sa solubilité aqueuse par conséquent son absorption à travers le tractus gastro intestinal d'une part et aussi de protéger le PA photosensible contre la dégradation et l'instabilité d'une part. Ces résultats confirment bien ceux trouvés par [75].

### V.2.3.9. Etude de la stabilité

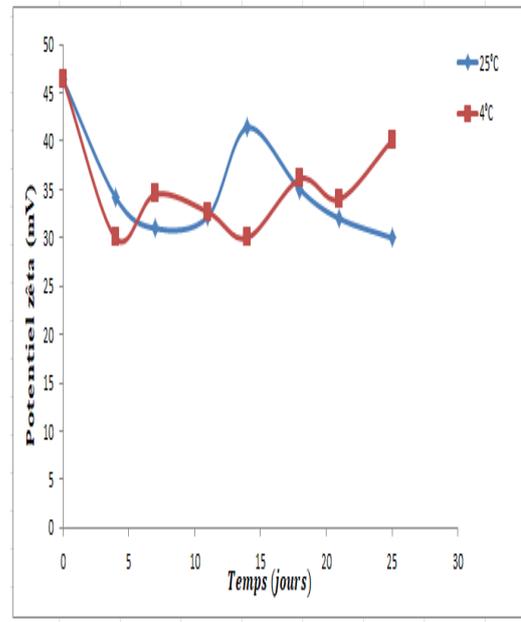
Afin de confirmer la stabilité des formulations au cours du temps, un suivi des variations de la taille des particules, du potentiel zêta et les propriétés organoleptiques dans les conditions de stockage (4°C et à 25°C). Les résultats sont illustrés dans les courbes ci- dessous :



**Figure V.8 :** La variation de la taille des particules des nanocurcumines au cours du temps (« A sirop CURA », « B sirop CURF »).



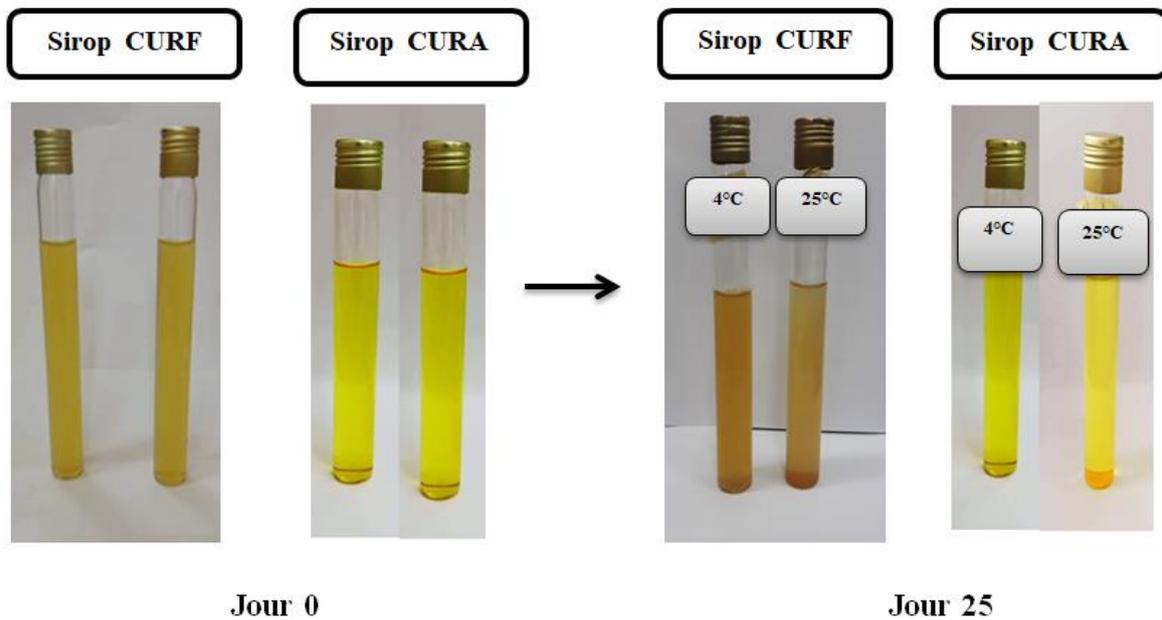
**A**



**B**

**Figure V.9 :** La variation du potentiel zêta des nanocurcumines au cours du temps (« A sirop CURA », « B sirop CURF »).

Les aspects des différentes formulations sont représentés sur les figures ci-dessous :



**Figure V.10 :** Les caractéristiques organoleptiques des sirops au cours du temps (« A sirop CURA », « B sirop CURF ») (photo originale).

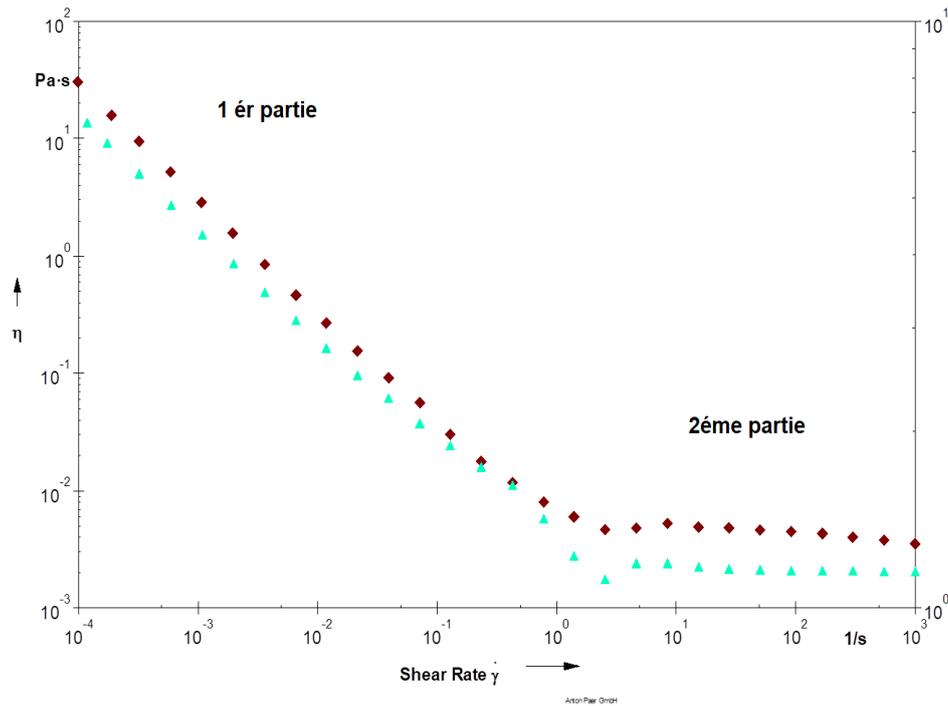
Les courbes obtenues montrent que la taille des particules et le potentiel zêta au jour zéro dans les deux conditions (4°C et 25°C) étaient de 52,1 nm et 50,3 mV pour la formulation 1 CURA et de 121,3 nm et 46,4 mV pour la formulation 2 CURF respectivement. A 4°C, une faible augmentation de la taille et une variation du potentiel a été observée jusqu'à le jour 25 avec des valeurs de 120 nm et 50 mV pour CURA et de 180 nm et 40,1 mV pour CURF respectivement. A 25°C, une augmentation significative de la taille et une variation du potentiel qui atteignent des valeurs de 500,9 nm et 32,3 mV pour CURA et de 600 nm et 30 mV pour CURF. D'autre part, il apparaît clairement d'après les photos ci-dessus que le sirop à 4 °C a conservé son aspect initial au bout de 25 jours de l'étude notamment les propriétés organoleptiques macroscopiques telles que la couleur, la texture et l'odeur sans observations de précipitations ou d'agréations des particules. Par contre, le sirop à 25°C a présenté une légère agrégation et une très légère précipitation des particules à cause de l'augmentation probable de la taille des particules sous l'effet de la température.

Ces résultats expliquent que les deux formulations à 4°C sont plus stables par rapport à 25°C ce qui signifie que les sirops sont mieux conservés au réfrigérateur à 4°C pour garder leurs propriétés à cause de la fragilité des nanocurcumines sous l'effet de la température.

Ces résultats suggèrent que les sirops doivent impérativement être conservés au réfrigérateur. Toutefois, la différence aux deux températures dans la période d'étude ne constitue en aucun cas un obstacle majeur pour la consommation du produit.

#### **V.2.3.10. Etude du comportement rhéologique**

La viscosité est l'un des paramètres importants pour évaluer la qualité d'un composé utilisé comme stabilisant et épaississant dans les formulations alimentaires et pharmaceutiques. La figure V.11 ci-dessous représente la courbe d'écoulement des sirops sous l'effet de la contrainte en fonction de la vitesse de cisaillement ainsi que son comportement.



**Figure V.11** : Evolution de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement pour les deux formulations.

Les courbes obtenues montrent deux parties de l'évolution de la viscosité. Pour le sirop de CURA: la première est caractéristique d'un système rhéofluidifiant (non Newtonien) ou on observe une diminution de la viscosité d'une manière significative avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement dans lequel la déformation commence dès qu'une contrainte est exercée. La valeur de la viscosité  $\mu_0$  est de  $1,36 \times 10^1$  Pa.s quand la vitesse de cisaillement est de  $1,18 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$ . Dans la 2ème partie il s'agit d'un comportement Newtonien ou la viscosité devient constante et indépendante de la contrainte et du temps, elle dépend uniquement de la température et de la pression. La valeur de la viscosité  $\mu_\infty$  est de  $2,04 \times 10^{-3}$  Pa.s quand la vitesse de cisaillement est de  $1 \times 10^3 \text{ s}^{-1}$ . Un comportement similaire a également observé dans le sirop de CURF dans laquelle la valeur de la viscosité  $\mu_0$  est de  $3,05 \times 10^1$  Pa.s quand la vitesse de cisaillement est de  $9,83 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$ , la valeur de la viscosité  $\mu_\infty$  est de  $3,54 \times 10^{-3}$  Pa.s quand la vitesse de cisaillement est de  $1,00 \times 10^3 \text{ s}^{-1}$ . D'après ces valeurs, la viscosité de sirop du mucilage de fenugrec est meilleure que celle à base d'amidon de maïs, ceci est tout à fait raisonnable compte tenu des résultats préalablement trouvés.

## V.2. Evaluation des activités biologiques

### V.2.1. L'activité antioxydante in vitro

Nous avons réalisé cette étude afin d'évaluer les effets synergiques des activités antioxydantes des 3 composés (la curcumine, la *stévia* et le mucilage de fenugrec) de nos formulations. Par ailleurs, ces activités ont été déjà prouvées pour chaque composé pris séparément dans des travaux antérieurs.

En effet, l'activité antioxydante de la curcumine a été prouvée dans des modèles biologiques par de nombreux chercheurs. Il existe de nombreuses preuves scientifiques sur la capacité de la curcumine sur les cellules vivantes à piéger les radicaux libres comme les espèces réactives de l'azote et de l'oxygène par plusieurs moyens et présentant ainsi la propriété antioxydante. Il a été démontré que la curcumine améliore les marqueurs systémiques du stress oxydatif et augmente l'efficacité des enzymes liées à l'activité de piégeage des radicaux libres, mais produit également des effets inhibiteurs sur les enzymes qui produisent des radicaux libres [80].

Certains chercheurs ont préparé une suspension de nanocurcumine pour tester son activité antioxydante en utilisant le DPPH. Les résultats ont montré que l'efficacité de ces nanosuspensions était supérieure à celles de la curcumine pure. Une étude comparative a été réalisée entre la curcumine et la nanocurcumine, l'activité antioxydante des mitochondries du foie en utilisant la toxicité induite par le phosphore d'aluminium (AIP). Les résultats de l'étude ont mis en évidence le fait que les mitochondries hépatiques ont subi de graves effets toxiques oxydatifs après exposition à l'AIP. Cependant, des améliorations considérables pourraient être apportées aux facteurs provoquant le stress oxydatif en traitant avec de la nanocurcumine. Cela recommande à son tour que l'administration de nanocurcumine pourrait être bénéfique dans le cas de l'impact nocif de la toxicité hépatique induite par l'AIP par élimination des radicaux libres et de la stabilisation de l'état oxydatif du foie [26].

Dans une autre étude, Il a été constaté que l'impact protecteur de la nanocurcumine était bien meilleur que celui de la curcumine dans le cas de la prévention des lésions pulmonaires induites par le paraquat qui en modulant le niveau du stress oxydatif avec l'expression des gènes. L'ensemble de ces études ont mis en évidence l'efficacité de la nanocurcumine en tant qu'antioxydant contre divers types de toxicités provoquée dans l'organisme [26].

Une autre étude a montré une forte activité anti radicalaire par DPPH de 83,5% pour les nanocurcumines encapsulées, il est crucial que les polymères chargés de nancurcumine conserve sa capacité antioxydante et libère efficacement la curcumine pour réduire les radicaux. L'augmentation de l'activité antioxydante indique que la réduction de la taille des particules déclenche la libération du groupe hydroxyle de la curcumine qui piège les radicaux DPPH [75].

D'autre part, l'application de la *stévia* comme étant un antioxydant naturel a été investiguée par plusieurs chercheurs. La mise en évidence du potentiel antioxydant des extraits de glycoside de stéviol a fait l'objet de plusieurs recherches. Les résultats varient d'une étude à l'autre d'après l'extrait utilisé. Les dosages ont porté sur le pourcentage d'inhibition et les IC50. L'évaluation de sa capacité de captation des radicaux libres DPPH a montré un effet positif avec un pourcentage d'inhibition allant de 40 à 80 % avec des concentrations minimales de l'ordre du microgramme [82].

Par ailleurs, des études ont montré que le mucilage de fenugrec présente des propriétés antioxydantes, la supplémentation dans l'alimentation entraîne une réduction des biomarqueurs des dommages oxydatifs chez les rats diabétiques [81]. D'autres études ont montré que l'activité de piégeage des radicaux OH pour le mucilage de fenugrec est de l'ordre de 76,2 % [82].

#### ➤ **L'effet synergique des formulations**

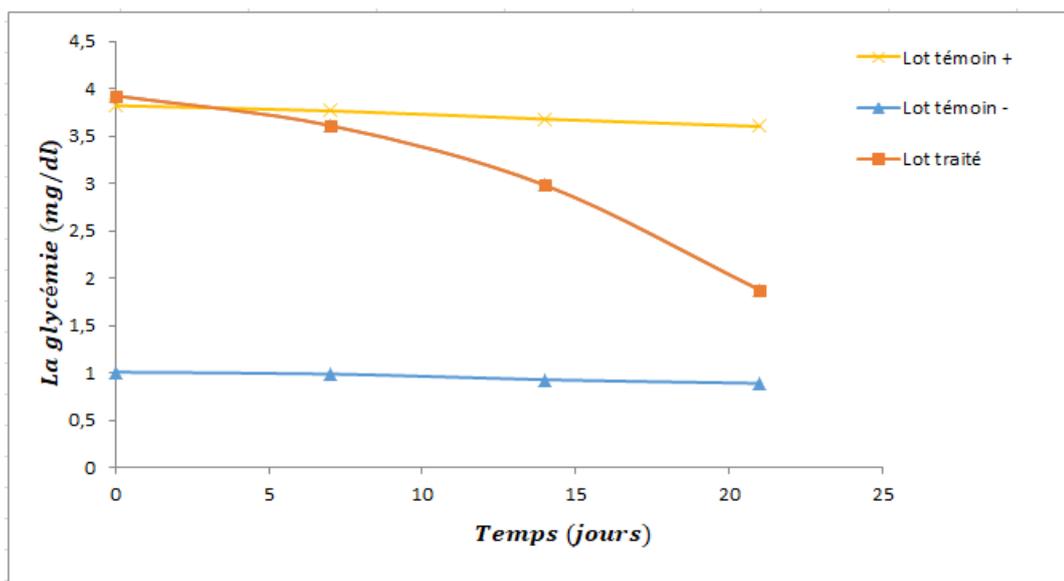
D'après les résultats trouvés, le sirop de CURF possède un pourcentage d'inhibition de 75% et de 60 % pour le sirop de CURA, ce qui signifie que l'encapsulation des nanocurcumines dans les biopolymères améliore considérablement son activité de piégeage des radicaux libres par rapport à la curcumine libre. D'autre part l'effet synergique du mucilage de fenugrec avec la *stévia* et la curcumine dans le sirop CURF a donné un effet antioxydant plus élevé par rapport au sirop de CURA ce qui explique l'absence de l'effet antioxydant dans l'amidon de maïs. Pour ce fait, le sirop de CURF a été sélectionné pour les prochaines études.

## V.2.2. L'activité antidiabétique in vivo

Afin de prouver l'efficacité du sirop à base du mucilage de fenugrec dans la régulation de la glycémie et envisager une consommation pour les diabétiques.

### V.2.2.1. Evaluation de la glycémie

Les résultats de l'étude in-vivo sur des rats Wistar pendant une durée de traitement d'un mois sont représentés dans la figure V. 12 ci-dessous :



**Figure V.12 :** Les taux de la glycémie à jeun des lots traités.

D'après la figure ci-dessus, on remarque que les taux de la glycémie à jeun des rats du groupe 1 (témoin négatif) étaient inférieurs à 120 mg / dl, ce qui confirme que les rats sont en bonne santé.

Pour les rats du groupe 2 (témoin positif), une seule injection intrapéritonéale de la streptozotocine a entraîné une hyperglycémie (un état diabétique), le taux d'insuline sérique était inférieur à celui du groupe 1 (témoin négatif) et également les symptômes associés comme une polydipsie, une polyphagie et une polyurie dans lesquels la consommation de l'alimentation et l'eau a été doublée par rapport au groupe 1 (témoin négatif), une perte de poids due à une dégradation excessive des protéines tissulaires.

D'après la bibliographie, l'injection de la streptozotocine a également entraîné une augmentation du stress oxydatif, ce dernier est considéré comme l'un des principaux facteurs dommageables responsables d'induire divers facteurs responsables du développement de la résistance à l'insuline, de la sécrétion altérée d'insuline par les cellules  $\beta$  des îlots pancréatiques et de la pathogenèse du diabète de type 2 [77].

D'après la courbe, les taux de la glycémie à jeun des rats du groupe 2 (témoin positif) sont plus élevés que ceux du groupe 1. Toutes les valeurs étaient supérieures à 300 mg / dl, ce qui confirme l'induction du diabète par la dose administrée de la streptozotocine.

Pour le groupe 3, et afin de savoir l'effet synergique des 3 composés (la curcumine, la *stévia* et le mucilage de fenugrec) de notre formulation, En outre, les effets de chaque composé pris séparément sur la réduction de la glycémie ont été déjà mis en évidence et prouvés dans des travaux antérieurs.

En effet, des études ont montré que l'administration orale de la curcumine a entraîné une réduction significative de la glycémie et une augmentation significative des taux d'insuline plasmatique, elle stimule la production d'insuline par les cellules  $\beta$  et le transport du glucose dans le sang [84]. Certaines biomolécules de la curcumine modifient également la structure de la protéine de transport du glucose et stimulent les récepteurs de l'insuline. Lors des tests sur des rats, la curcumine a provoqué une régénération et une restauration des îlots de Langerhans [26]. Mohiti et coll ont confirmé que la curcumine stimule l'absorption du glucose par les cellules en améliorant la translocation de GLUT4 et en augmentant la sensibilité à l'insuline des tissus musculaires. Dans une autre revue, une amélioration des taux de glycémie rapide et d'hémoglobine glyquée lors de l'induction de la curcumine a été observée [26].

Des souris diabétiques traitées avec de la nanocurcumine pendant environ 20 jours ont montré une augmentation subséquente de l'effet antioxydant par réduction du stress oxydatif. L'efficacité de la réduction de ce dernier était également meilleure dans les nanoparticules de curcumine [26].

Quant à la *stévia*, Kujur, R.S., et coll ont montré que son effet antidiabétique pourrait être lié à l'augmentation de la sécrétion d'insuline. Ceci est lié à la capacité de la *stévia* à contrecarrer la glucotoxicité des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans du pancréas ou à la suppression de la sécrétion de glucagon par les cellules  $\alpha$ . Ces résultats

peuvent être interprétés par l'action du *Rebaudioside A* en agissant comme un modulateur de la sécrétion d'insuline via l'inhibition des canaux  $K^+$  sensibles à l'ATP. Ceci montre clairement que la *stévia* s'oppose aux actions hyperglycémiques chez les rats diabétiques traités et présente la capacité d'améliorer la tolérance au glucose et d'augmenter la sensibilité cellulaire à l'insuline et son effet sur le stress oxydatif dans les cellules hépatiques en favorisant leur action [77].

Nabi et coll ont montré que la glycémie a été réduite après 10 jours de traitement quotidien des rats diabétiques avec la *stévia* à une dose allant de 0,02 % à 0,04 % [82].

Aussi, Les effets antidiabétiques bénéfiques du mucilage de fenugrec ont été prouvés par diverses études menées chez des rats diabétiques. Des études ont montré une amélioration de 46% de la glycémie à jeun chez les rats après consommation du mucilage de fenugrec, cet effet est lié à la présence d'un composé bioactifs qui est l'acide aminé libre la 4- hydroxy isoleucine (4-OH-Ile) responsable du contrôle de la glycémie et l'amélioration de la tolérance orale au glucose chez des rats diabétiques de type 2 à jeun . Il a été démontré que la 4-OH-Ile augmente la sécrétion d'insuline par des îlots de Langerhans isolés et induit une réponse insulinique biphasique dans le pancréas du rat perfusé isolé [83].

#### ➤ **L'effet synergique de la formulation**

D'après la courbe ci-dessus, le gavage des rats du groupe 3 par la formulation du mucilage de fenugrec a entraîné une diminution de la consommation alimentaire, de l'eau, de la production d'urine et le poids corporel a été limité par rapport au groupe 2 (témoin positif), d'autre part la diminution des taux de la glycémie à partir du 7<sup>ème</sup> jour de traitement avec une différence d'une valeur de 0,7g , cette amélioration est dû à la synergie des trois composés (la curcumine, la *stévia* et le mucilage de fenugrec) dans la formulation par rapport aux effets de chaque composé seul, l'efficacité de la formulation sur les rats pendant la durée de traitement a été augmentée jusqu'à le jour 21 donc la glycémie a été réduite de 392 jusqu'à 187 mg/ml.

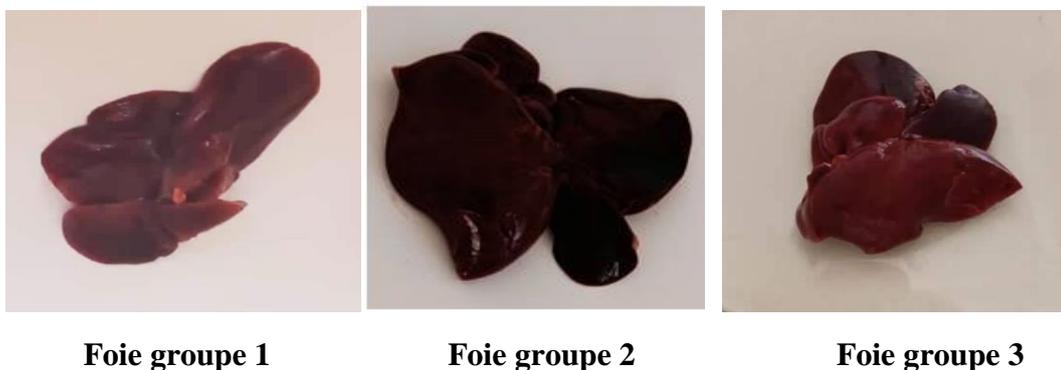
L'effet antidiabétique de la formulation a augmenté de manière significative, le niveau d'insuline sérique à jeun, la sensibilité à l'insuline et la résistance à l'insuline réduite, ce qui a été mis en évidence par une diminution significative des taux de la glycémie avec une amélioration des fonctions des cellules  $\beta$  ce qui a entraîné une

amélioration du métabolisme et du transport du glucose vers les cellules et qui permet en parallèle de réduire le stress oxydatif.

Enfin, la consommation du sirop à base du mucilage de fenugrec a permis un contrôle de la glycémie, du poids corporel. Ce dernier effet permet de prévenir l'obésité chez le patient diabétique. Cette étude mérite d'être mieux approfondie.

#### **V.2.2.2. Dissection et prélèvement des organes**

Les observations macroscopiques sur le foie après dissection ont données les résultats illustrés dans la figure V.13 ci-dessous :



**Figure V.13 :** Photos des foies des différents lots (photo originale).

Les photos ont montré que les rats du groupe 1 (témoin négatif) présentent un foie à aspect normal de couleur rougeâtre. Tandis que le groupe 2 (Témoin positif) présente un foie de couleur rouge foncé à brun ce qui signifie que la STZ a un effet secondaire sur le foie par l'augmentation des molécules de peroxyde libérées à cause du stress oxydatif, ce qui permet le changement de la couleur du foie. Les rats du groupe 3 ayant subi le traitement présentent un foie de couleur rouge claire en meilleur état que ceux des foies des rats du groupe 2, ce qui explique que la formulation a augmenté le niveau d'enzymes antioxydants et pourrait être efficace en éliminant ces radicaux libres. Il semble que d'après les résultats que le sirop a présentés une protection significative contre les dommages oxydatifs de STZ.

Toutefois, ce genre d'études mérite une investigation sur une longue période entamée par des équipes multidisciplinaires.

# **Conclusion générale**

## Conclusion générale

La plupart des consommateurs reconnaissent les bienfaits de la curcumine notamment pour le traitement des inflammations articulaires, son incorporation dans les plats est presque quotidienne. Malheureusement l'organisme ne bénéficie que d'une très faible quantité en raison de la faible solubilité de cette plante traditionnelle.

Et donc l'objectif de cette présente étude est la formulation de compléments alimentaires en utilisant des excipients 100% naturels.

Les résultats obtenus ont démontré d'une part que la réduction de la taille des particules a permis d'améliorer les propriétés physico-chimiques et principalement la taille des particules de l'ordre de 100 à 200 nm, la surface et la charge de surface justifiée par le potentiel Zêta de valeurs supérieures à 30mV.

D'autre part, les polysaccharides semblent présenter d'excellentes propriétés de protection du PA contre les facteurs environnementaux, la dégradation et donc l'instabilité.

D'après l'étude, les expériences réalisées, l'encapsulation des nanoparticules de curcumine dans l'amidon de maïs et le mucilage de fenugrec a permis l'obtention des sirops très stables pendant 25 jours, ceci a été mis en évidence par le contrôle de la taille et du potentiel zêta à deux températures différentes 4°C et 25°C. Le mucilage de fenugrec a permis d'assurer la meilleure protection du PA.

Le mucilage de fenugrec en raison de leur caractéristique de surface et de leur taille optimale possède également une grande capacité de charge permettant d'augmenter le potentiel thérapeutique, les activités pharmacologiques et la biodisponibilité de la curcumine avec un taux élevé de la dissolution et d'encapsulation des nanocurcumines par rapport à la curcumine brute, une amélioration de la solubilité aqueuse et la stabilité des sirops a été observée.

Les tests in-vitro ont mis en évidence l'effet antioxydant synergique des trois composés (curcumine, *stévia* et mucilage de fenugrec) par rapport à leurs activités antioxydantes individuelles, ce qui confirme bien l'intérêt des formulations pour la prévention contre le stress oxydatif.

Le suivi de la glycémie pendant un mois sur des rats rendus diabétiques par induction de la streptozotocine a aussi démontré un effet hypoglycémiant remarquable. C'est ainsi que la glycémie à jeun a été réduite de 392 à 187 mg/dl.

Enfin, ce travail est très loin d'être achevé, ce n'est qu'un début qui ouvre l'appétit pour une continuité dans ce domaine et qui doit s'articuler sur les perspectives suivantes :

- ✓ La composition de la formulation peut être optimisée par la planification expérimentale.
- ✓ Réaliser l'étude in-vivo sur une période de traitement plus longue.
- ✓ Tester ce produit sur d'autres pathologies telles que les inflammations et autres.
- ✓ Réaliser des études de transposition d'échelle.
- ✓ Un contrôle de la stabilité microbiologique et le dosage du PA.

Enfin, la curcumine existe dans toutes les cuisines comme épice, mais il est temps de profiter de ses bienfaits sur la santé en la consommant en tant que complément alimentaire biodisponible.

# Références bibliographiques

- [1] Ahsan R, Arshad M, Khushtar M, Ahmad MA, Muazzam M, Akhter MS, et al. A Comprehensive Review on Physiological Effects of Curcumin. *Drug Res (Stuttg)* 2020.
- [2] Gupta SC, Kismali G, Aggarwal BB: Curcumin, a component of turmeric: From farm to pharmacy. *Biofactors* 2013.
- [3] Sasikumar, B. Genetic resources of Curcuma: diversity, characterization and utilization. *Plant Genet. Resour* 2005.
- [4] Elanthendral G, Shobana N, Meena R, P P, Samrot AV. Utilizing pharmacological properties of polyphenolic curcumin in nanotechnology. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 2021.
- [5] Darenskaya MA, Kolesnikova LI, Kolesnikov SI. Oxidative Stress: Pathogenetic Role in Diabetes Mellitus and Its Complications and Therapeutic Approaches to Correction. *Bull Exp Biol Med* 2021.
- [6] Zhang P, Li T, Wu X, Nice EC, Huang C, Zhang Y. Oxidative stress and diabetes: antioxidative strategies. *Front Med* 2020.
- [7] Amalraj, A.; Pie, A.; Gopi, S.; Gopi, S. Activités biologiques des curcuminoïdes, d'autres biomolécules du curcuma et de leurs dérivés - Une revue. *J. Tradit. Complément. Méd.* 2017.
- [8] Ghosh R, Bhowmik R, Nath R, Roy R. Curcumin: A Systematic Review. *IJPSRR* 2021.
- [9] BOULLARD B. Dictionnaire des plantes médicinales du monde. Paris : Estem, 2001.
- [10] Prasad.S; Gupta.SC; Tyagi.AK ; Aggarwal B.B, Curcumine, un composant de l'épice dorée : Du chevet au banc et au dos. *Biotechnologie. Av.* 2014.
- [11] Alagawany M, Farag MR, Abdelnour SA, Dawood MAO, Elnesr SS, Dhama K. Curcumin and its different forms: A review on fish nutrition. *Aquaculture* 2021.
- [12] Priyadarsini, KI La chimie de la curcumine : de l'extraction à l'agent thérapeutique. *Molécules* 2014.

- [13] Li, M. ; Ngadi, Missouri ; Ma, Y. Optimisation de l'extraction pulsée par ultrasons et micro-ondes pour les curcuminoïdes par la méthodologie de surface de réponse et l'étude cinétique. *Chimie alimentaire* 2014.
- [14] Yixuan L, Qaria MA, Sivasamy S, Jianzhong S, Daochen Z. Curcumin production and bioavailability: A comprehensive review of curcumin extraction, synthesis, biotransformation and delivery systems. *Industrial Crops and Products* 2021.
- [15] Sabet S, Rashidinejad A, Melton LD, McGillivray DJ. Recent advances to improve curcumin oral bioavailability. *Trends in Food Science & Technology* 2021.
- [16] Lestari MLAD, Indrayanto G. Chapter Three - Curcumin. In: Brittain HG, editor. *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*, vol. 39, Academic Press; 2014.
- [17] Hu Q, Luo Y. Chitosan-based nanocarriers for encapsulation and delivery of curcumin: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* 2021.
- [18] Mahjoob M, Stochaj U. Curcumin nanoformulations to combat aging-related diseases. *Ageing Research Reviews* 2021.
- [19] Dei Cas M, Ghidoni R. Dietary Curcumin: Correlation between Bioavailability and Health Potential. *Nutrients* 2019.
- [20] Abd El-Hack ME, El-Saadony MT, Swelum AA, Arif M, Abo Ghanima MM, Shukry M, et al. Curcumin, the active substance of turmeric: its effects on health and ways to improve its bioavailability. *J Sci Food Agric* 2021.
- [21] Sanidad KZ, Sukamtoh E, Xiao H, McClements DJ, Zhang G. Curcumin: Recent Advances in the Development of Strategies to Improve Oral Bioavailability. *Annu Rev Food Sci Technol* 2019.
- [22] Ipar VS, Dsouza A, Devarajan PV. Enhancing Curcumin Oral Bioavailability Through Nanoformulations. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2019.
- [23] Ghalandarlaki N, Alizadeh AM, Ashkani-Esfahani S. Nanotechnology-Applied Curcumin for Different Diseases Therapy. *BioMed Research International* 2014.

- [24] Amalraj A, Pius A, Gopi S, Gopi S. Biological activities of curcuminoids, other biomolecules from turmeric and their derivatives – A review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine* 2017.
- [25] Fu Y-S, Chen T-H, Weng L, Huang L, Lai D, Weng C-F. Pharmacological properties and underlying mechanisms of curcumin and prospects in medicinal potential. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2021.
- [26] Chopra H, Dey PS, Das D, Bhattacharya T, Shah M, Mubin S, et al. Curcumin Nanoparticles as Promising Therapeutic Agents for Drug Targets. *Molecules* 2021.
- [27] El-Desoky GE, Wabaidur SM, AlOthman ZA, Habila MA. Regulatory Role of Nano-Curcumin against Tartrazine-Induced Oxidative Stress, Apoptosis-Related Genes Expression, and Genotoxicity in Rats. *Molecules* 2020.
- [28] Perry RJ, Samuel VT, Petersen KF, Shulman GI. The role of hepatic lipids in hepatic insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* 2014.
- [29] Ganugula, R.; Arora, M.; Jaisamut, P.; Wiwattanapatapee, R.; Jørgensen, H.G.; Venkatpurwar, V.P.; Zhou, B.; Hoffmann, A.R.; Basu, R.; Guo, S.; et al. Nano-curcumin safely prevents streptozotocin-induced inflammation and apoptosis in pancreatic beta cells for effective management of Type 1 diabetes mellitus. *Br. J. Pharm.* 2017.
- [30] Moriniaux V. Les édulcorants : une autre histoire du sucré, une nouvelle étape dans l'histoire du sucre .
- [31] Putnik P, Bezuk I, Barba FJ, Lorenzo JM, Polunić I, Kovačević B, Bursać D. Sugar reduction: *Stevia rebaudiana* Bertoni as a natural sweetener. *Agri-Food Industry Strategies for Healthy Diets and Sustainability*, Elsevier; 2020.
- [32] Misra, S., 2016. Sugars and starches. In: *Reversing Diabetes, the High 5 Way*. Education Publishing, New Delhi.
- [33] Sylvetsky A, Rother KI, Brown R. Artificial Sweetener Use Among Children: Epidemiology, Recommendations, Metabolic Outcomes, and Future Directions. *Pediatric Clinics of North America* 2011.
- [34] Popkin BM, Nielsen SJ. The Sweetening of the World's Diet. *Obesity Research* 2003.
- [35] DuBois GE, Prakash I. Non-Caloric Sweeteners, Sweetness Modulators, and Sweetener Enhancers. *Annu Rev Food Sci Technol* 2012.

- [36] Aller EEJG, Abete I, Astrup A, Martinez JA, Baak MA van. Starches, Sugars and Obesity. *Nutrients* 2011.
- [37] Shankar P, Ahuja S, Sriram K. Non-nutritive sweeteners: Review and update. *Nutrition* 2013.
- [38] Basharat S, Huang Z, Gong M, Lv X, Ahmed A, Hussain I, et al. A review on current conventional and biotechnical approaches to enhance biosynthesis of steviol glycosides in *Stevia rebaudiana*. *Chinese Journal of Chemical Engineering* 2021.
- [39] Ameer K, Jiang G-H, Amir RM, Eun J-B. Antioxidant potential of *Stevia rebaudiana* (Bertoni). *Pathology*, Elsevier; 2020.
- [40] Salehi B, López MD, Martínez-López S, Victoriano M, Sharifi-Rad J, Martorell M, et al. *Stevia rebaudiana* Bertoni bioactive effects: From in vivo to clinical trials towards future therapeutic approaches. *Phytotherapy Research* 2019.
- [41] Ahmad J, Khan I, Blundell R, Azzopardi J, Mahomoodally MF. *Stevia rebaudiana* Bertoni.: an updated review of its health benefits, industrial applications and safety. *Trends in Food Science & Technology* 2020.
- [42] Department of Human Nutrition and Hygiene, Poznań University of Life Sciences, Poland, Marcinek K, Krejpcio Z. *Stevia rebaudiana* Bertoni - chemical composition and functional properties. *Acta Sci Pol Technol Aliment* 2015.
- [43] Zhang J, Bell LN. Stability of the Stevia-Derived Sweetener Rebaudioside A in Solution as Affected by Ultraviolet Light Exposure: Stability of rebaudioside A to UV light.... *Journal of Food Science* 2017.
- [44] Khan SA. Chapter 13 - Exploration of biotechnological studies in low-calorie sweetener *Stevia rebaudiana*: present and future prospects .
- [45] Lemus-Mondaca R, Vega-Gálvez A, Zura-Bravo L, Ah-Hen K. *Stevia rebaudiana* Bertoni, source of a high-potency natural sweetener: A comprehensive review on the biochemical, nutritional and functional aspects. *Food Chemistry* 2012.
- [46] Wang J, Zhao H, Wang Y, Lau H, Zhou W, Chen C, et al. A review of stevia as a potential healthcare product: Up-to-date functional characteristics, administrative standards and engineering techniques. *Trends in Food Science & Technology* 2020.
- [47] Bursać Kovačević D, Maras M, Barba FJ, Granato D, Roohinejad S, Mallikarjunan K, et al. Innovative technologies for the recovery of phytochemicals from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves: A review. *Food Chemistry* 2018.

- [48] Castro-Muñoz R, Díaz-Montes E, Cassano A, Gontarek E. Membrane separation processes for the extraction and purification of steviol glycosides: an overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 2021.
- [49] Kumari N, Ranac RC, Sharma YP, Kumar S. Extraction, Purification and Analysis of Sweet Compounds in *Stevia rebaudiana* Bertoni using Chromatographic Techniques. *Pharmaceutical-Sciences* 2017.
- [50] Le Hir A, Chaumeil J-C, Brossard D. Pharmacie galénique : bonnes pratiques de fabrication des médicaments. Paris : Elsevier Masson ; 2009.
- [51] Stranzinger S, Markl D, Khinast JG, Paudel A. Review of sensing technologies for measuring powder density variations during pharmaceutical solid dosage form manufacturing. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 2021.
- [52] Lam JKW, Xu Y, Worsley A, Wong ICK. Oral transmucosal drug delivery for pediatric use. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2014.
- [53] Moreira M, Sarraguça M. How can oral paediatric formulations be improved? A challenge for the XXI century. *International Journal of Pharmaceutics* 2020.
- [53] Khan D, Kirby D, Bryson S, Shah M, Rahman Mohammed A. Paediatric specific dosage forms: Patient and formulation considerations. *International Journal of Pharmaceutics* 2022.
- [55] Sautou V. Guide méthodologique des études de stabilité des préparations. Clermont-Ferrand] [Pau: SFCP GERPA; 2013.
- [56] Cha J, Gilmor T, Lane P, Ranweiler JS. Stability Studies. *Separation Science and Technology*, vol. 10, Elsevier; 2011.
- [57] Allen LV, Popovich NG, Ansel HC. Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems n.d.:722.
- [58] Parent-Massin D. Édulcorants intenses : point d'actualité sur leur sécurité d'emploi et les dernières innovations. *Cahiers de Nutrition et de Diététique* 2011.
- [59] Oliver ALLO, Pascale BLANC, Marie-Ange DELMASSO, Pharmacie galénique BP 2<sup>ème</sup> édition, 2005.

- [60] Garcia EJ, McDowell T, Ketola C, Jennings M, Miller JD, Renaud JB. Metabolomics reveals chemical changes in *Acer saccharum* sap over a maple syrup production season. PLoS ONE 2020.
- [61] Gad HA, Ramadan MF, Farag MA. Authentication and quality control determination of maple syrup: A comprehensive review. Journal of Food Composition and Analysis 2021.
- [62] González-Montemayor Á-M, Flores-Gallegos AC, Serrato-Villegas LE, López-Pérez MG, Montañez-Sáenz JC, Rodríguez-Herrera R. Honey and Syrups: Healthy and Natural Sweeteners with Functional Properties. Natural Beverages, Elsevier; 2019.
- [63] Barajas JA M, Ortiz E M, Aguirre CR S. Quick Method for Determination of Fructose-Glucose Ratio in Agave Syrup. J Food Process Technol 2017.
- [64] Hashemi SMB, Mousavi Khaneghah A, Saraiva JA, Jambrak AR, Barba FJ, Mota MJ. Effect of ultrasound on lactic acid production by *Lactobacillus* strains in date (*Phoenix dactylifera* var. Kabkab) syrup. Appl Microbiol Biotechnol 2018.
- [65] Ghnimi S, Umer S, Karim A, Kamal-Eldin A. Date fruit (*Phoenix dactylifera* L.): An underutilized food seeking industrial valorization. NFS Journal 2017.
- [66] Asikin Y, Wada K, Imai Y, Kawamoto Y, Mizu M, Mutsuura M, et al. Compositions, taste characteristics, volatile profiles, and antioxidant activities of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L.) and sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) syrups. Food Measure 2018.
- [67] De Moraes Cardoso L, Pinheiro SS, Martino HSD, Pinheiro-Sant'Ana HM. Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 2017.
- [68] Kamp L, Hartung J, Mast B, Graeff-Hönninger S. Plant growth, tuber yield formation and costs of three different propagation methods of yacon (*Smallanthus sonchifolius*). Industrial Crops and Products 2019.
- [69] Yan MR, Welch R, Rush EC, Xiang X, Wang X. A Sustainable Wholesome Foodstuff; Health Effects and Potential Dietotherapy Applications of Yacon. Nutrients 2019.

- [70] Castro-Muñoz R, Correa-Delgado M, Córdova-Almeida R, Lara-Nava D, Chávez-Muñoz M, Velásquez-Chávez VF, et al. Natural sweeteners: Sources, extraction and current uses in foods and food industries. *Food Chemistry* 2022.
- [71] Goran MI, Uliaszek SJ, Ventura EE. High fructose corn syrup and diabetes prevalence: A global perspective. *Global Public Health* 2013.
- [72] Rajasekar A, Devasena T, Suresh S, Senthil B, Sivaramakrishnan R, Pugazhendhi A. Curcumin nanospheres and nanorods: Synthesis, characterization and anticancer activity. *Process Biochemistry* 2022.
- [73] Nayak AK, Pal D, Santra K. Screening of polysaccharides from tamarind, fenugreek and jackfruit seeds as pharmaceutical excipients. *International Journal of Biological Macromolecules* 2015.
- [74] Sheikhzadeh S, Alizadeh M, Rezazad M, Hamishehkar H. Application of response surface methodology and spectroscopic approach for investigating of curcumin nanoencapsulation using natural biopolymers and nonionic surfactant. *J Food Sci Technol* 2016.
- [75] Li J, Shin GH, Lee IW, Chen X, Park HJ. Soluble starch formulated nanocomposite increases water solubility and stability of curcumin. *Food Hydrocolloids* 2016.
- [76] Miskeen S, An YS, Kim J-Y. Application of starch nanoparticles as host materials for encapsulation of curcumin: Effect of citric acid modification. *International Journal of Biological Macromolecules* 2021.
- [77] Shivanna N, Naika M, Khanum F, Kaul VK. Antioxidant, anti-diabetic and renal protective properties of *Stevia rebaudiana*. *Journal of Diabetes and Its Complications* 2013.
- [78] Abdel-Aal RA, Abdel-Rahman MS, Al Bayoumi S, Ali LA. Effect of stevia aqueous extract on the antidiabetic activity of saxagliptin in diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2021.
- [79] Akbar MU, Zia KM, Akash MSH, Nazir A, Zuber M, Ibrahim M. In-vivo anti-diabetic and wound healing potential of chitosan/alginate/maltodextrin/pluronic-based mixed polymeric micelles: Curcumin therapeutic potential. *International Journal of Biological Macromolecules* 2018.

[80] Karthikeyan A, Senthil N, Min T. Nanocurcumin: A Promising Candidate for Therapeutic Applications. *Front Pharmacol* 2020.

[81] Kaviarasan S, Naik GH, Gangabhagirathi R, Anuradha CV, Priyadarsini KI. In vitro studies on antiradical and antioxidant activities of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seeds. *Food Chemistry* 2007.

[82] Nabi I, Megateli I, Nait Bachir Y, Djellouli S, Hadj-Ziane-Zafour A. Effect of stevia and pectin supplementation on physicochemical properties, preservation and in-vivo hypoglycemic potential of orange nectar. *J Food Process Preserv* 2021.

[83] Upaganlawar AB, Badole SL, Bodhankar SL. Antidiabetic Potential of Trigonelline and 4-Hydroxyisoleucine in Fenugreek. *Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes*, Elsevier; 2013.

[84] Kotha RR, Luthria DL. Curcumin: Biological, Pharmaceutical, Nutraceutical, and Analytical Aspects. *Molecules* 2019.