

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة سعد دحلب البليدة (1)1  
Université SAAD DAHLEB-Blida



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie  
Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV  
Filière : Sciences Biologiques  
Option : Biochimie

## Thème

Application de l'intelligence artificielle pour l'extraction des biomolécules  
contenues dans les feuilles de *Melia azedarach* par un procédé assisté par  
microonde et leur incorporation dans une formulation cicatrisante

Présenté par :

Soutenu le : Mardi 21 Mai 2024

Mr Mousserati Ouassim

Mr Sitahar Assil

Devant le jury :

Mme DROUCHE Imene	MCB /USDB1	Présidente
Mme EDDAIKRA Atika	MCB/USDB1	Examinatrice
Mr NAIT BACHIR Yacine	MCA/USDB1	Promoteur
Mme TOUZOUT Soraya	Docteur	Co-promotrice

Année universitaire : 2023/2024

## **Résumé :**

Ce mémoire explore l'utilisation de l'intelligence artificielle (IA) pour optimiser l'extraction des molécules bioactives de *Melia azedarach* par micro-ondes, en vue de leur incorporation dans des formulations cicatrisantes et antimicrobiennes. *Melia azedarach*, connue pour ses propriétés médicinales, contient des composés bioactifs tels que les polyphénols et les flavonoïdes. L'optimisation des paramètres d'extraction à l'aide du Système Inférentiel Neuro-Fuzzy Adaptatif (ANFIS) a permis de maximiser le rendement et la qualité des extraits, avec des conditions optimales identifiées comme étant 400 W de puissance d'irradiation, 30 minutes d'extraction, et un ratio liquide/solide de 30:1. Les extraits obtenus ont montré une activité antioxydante élevée et une efficacité antimicrobienne significative contre *Staphylococcus aureus*. Les formulations de gels contenant ces extraits ont également démontré une bonne bio-adhésion et stabilité, ainsi qu'un effet gastro-protecteur in vivo. En conclusion, ce travail met en lumière le potentiel de l'IA pour améliorer l'extraction des composés bioactifs et développer de nouvelles solutions thérapeutiques à base de plantes.

## **Abstract:**

This thesis explores the use of artificial intelligence (AI) to optimize the extraction of bioactive molecules from *Melia azedarach* using microwave technology, with the aim of incorporating them into wound healing and antimicrobial formulations. *Melia azedarach*, known for its medicinal properties, contains bioactive compounds such as polyphenols and flavonoids. The optimization of extraction parameters using the Adaptive Neuro-Fuzzy Inference System (ANFIS) allowed for maximizing the yield and quality of the extracts, with optimal conditions identified as 400 W irradiation power, 30 minutes extraction time, and a liquid-to-solid ratio of 30:1. The obtained extracts showed high antioxidant activity and significant antimicrobial efficacy against *Staphylococcus aureus*. Gel formulations containing these extracts also demonstrated good bio-adhesion and stability, as well as in vivo gastro-protective effects. In conclusion, this work highlights the potential of AI to improve the extraction of bioactive compounds and develop new plant-based therapeutic solutions.

## ملخص:

يستكشف هذا البحث استخدام الذكاء الاصطناعي (AI) لتحسين استخراج الجزيئات النشطة بيولوجيًا من نبات *Melia azedarach* باستخدام تقنية الميكروويف، بهدف دمجها في تركيبات علاج الجروح ومضادات الميكروبات. يُعرف نبات *Melia azedarach* بخصائصه الطبية، ويحتوي على مركبات نشطة بيولوجيًا مثل البوليفينولات والفلافونويدات. وقد سمح تحسين معايير الاستخراج باستخدام نظام الاستدلال العصبي الضبابي التكيفي (ANFIS) بزيادة العائد وجودة المستخلصات، وتم تحديد الظروف المثلى كالتالي: قوة إشعاع تبلغ 400 واط، ومدة استخراج تبلغ 30 دقيقة، ونسبة سائل إلى صلب تبلغ 1:30. أظهرت المستخلصات المستحصلة نشاطًا مضادًا للأكسدة عاليًا وفعالية كبيرة كمضاد للميكروبات ضد *Staphylococcus aureus*. كما أظهرت تركيبات الهلام التي تحتوي على هذه المستخلصات التصاقًا بيولوجيًا جيدًا واستقرارًا، بالإضافة إلى تأثير واثق للمعدة في الدراسات الحيوية. في الختام، يسلط هذا العمل الضوء على إمكانيات الذكاء الاصطناعي في تحسين استخراج المركبات النشطة بيولوجيًا وتطوير حلول علاجية جديدة قائمة على النباتات.

## **Remerciements**

*Nous souhaitons exprimer notre gratitude à tous ceux qui ont contribué à l'élaboration de ce travail, sans lesquels nous n'aurions pas pu mener à bien ce projet.*

*Tout d'abord, nous adressons nos vifs remerciements au **Pr SAIDI Fairouz**, responsable de l'option **BIOCHIMIE**, pour nous avoir orientés vers le **Dr NAIT BACHIR Yacine** afin de nous encadrer.*

*Nous exprimons notre profonde reconnaissance à notre promoteur, le **Dr NAIT BACHIR Yacine**, pour son encadrement précieux, ses conseils avisés et le temps qu'il nous a généreusement consacré. Sa disponibilité et son soutien ont été essentiels à la réussite de notre projet de fin d'études.*

*Nous remercions notre co-promotrice, le **Dr TOUZOUTE Soraya**, pour son encadrement et son aide lors de la réalisation du présent travail.*

*Nous remercions également **Dr DROUCHE Imene**, pour l'honneur qu'elle nous a fait en présidant notre jury.*

*Notre reconnaissance va également à **Dr EDAIKRA Atika**, notre examinatrice, pour avoir accepté d'évaluer notre mémoire de master.*

*Nous tenons à remercier vivement **Mme SLAMANI Mounira** et **M. ABDELI Mohamed Lamine** pour leur soutien au laboratoire et leur aide sans faille.*

*Nous remercions également **M. GHRIBI Youcef**, responsable du*

*laboratoire pédagogique d'extraction, qui nous a soutenus depuis le début de notre stage de PFE.*

*Enfin, nous tenons à remercier tous les enseignants qui ont contribué à notre formation, ainsi que nos amis(es) pour leur soutien et leurs encouragements, qui ont été une source de motivation constante dans l'achèvement de ce projet.*

*Merci à toutes et à tous.*

# *Dédicace*

*À mes parents,*

*Votre amour inconditionnel, votre soutien constant et vos innombrables sacrifices ont tracé le chemin vers la réalisation de mes rêves. Je vous suis reconnaissant pour votre patience infinie, votre compréhension sans faille et votre encouragement tout au long de ce parcours.*

*À mes frères,*

*Votre soutien affectueux, votre compréhension profonde et vos encouragements constants ont été mes piliers dans les moments les plus difficiles. Je vous remercie du fond du cœur pour votre présence indéfectible.*

*À mes amis,*

*Votre amitié sincère, votre soutien moral et vos précieux conseils ont illuminé les étapes de ce voyage académique. Merci pour les moments de partage, de rire et de réconfort qui ont rendu cette expérience encore plus précieuse.*

*À mes enseignants,*

*Votre dévouement, votre passion pour l'enseignement et votre engagement à nous guider vers l'excellence ont été une source d'inspiration constante. Votre soutien inestimable a été essentiel à chaque étape de ce projet.*

*À tous ceux qui ont cru en moi,*

*Votre confiance en mes capacités et votre soutien constant ont été des moteurs puissants dans ma quête de réussite. Je vous adresse ma plus profonde gratitude pour vos mots encourageants et vos gestes bienveillants qui m'ont donné la force*

**OUASSIM**

*de persévérer et de réussir.*

*Que cette dédicace témoigne humblement de ma reconnaissance et de ma gratitude infinie envers vous tous.*

**OUASSIM**

*À mes parents et ma soeur*

*Pour leur amour inconditionnel et leur soutien sans faille tout au long de mon parcours universitaire. Votre confiance en moi m'a donné la force et la détermination de surmonter chaque obstacle. Vous m'avez appris la valeur du travail acharné et de la persévérance, et je vous en suis éternellement reconnaissant.*

*À mes professeurs et encadrants,*

*Pour leur guidance précieuse et leurs conseils avisés. Votre expertise et votre dévouement ont été une source d'inspiration continue. Vous avez su éveiller ma curiosité intellectuelle et m'encourager à repousser mes limites. Merci pour votre patience et votre engagement envers mon succès.*

*À tous ceux qui ont cru en moi,*

*Pour votre soutien indéfectible et votre aide précieuse dans la réalisation de ce projet. Que ce soit par des conseils, des ressources ou simplement par des mots d'encouragement, vous avez joué un rôle essentiel dans l'accomplissement de cette étape importante de ma vie.*

*Enfin, à tous ceux qui m'ont accompagné de près ou de loin dans cette aventure académique. Votre contribution, si petite soit-elle, a eu un impact significatif sur mon cheminement.*

*Merci à vous tous.*

**Assil**

# Sommaire

Introduction.....	1
1) Rappels bibliographiques .....	2
1.1) La phytothérapie .....	2
1.2) Les molécules bioactives contenus dans les plantes .....	2
1.2.1) Les molécules volatiles.....	2
1.2.2) Les molécules non volatiles .....	3
1.3) Les activités pharmacologiques des plantes.....	3
1.3.1) Activités antimicrobiennes .....	3
1.3.2) Activités anti-inflammatoires et cicatrisantes.....	4
1.4) Etat de l'art sur <i>Melia azedarach</i> .....	5
1.4.1) Généralités.....	5
1.4.2) Classification botanique .....	5
1.4.3) Composition chimique de <i>Melia azedarach</i> .....	6
1.4.4) Activités biologiques de <i>Melia azedarach</i> .....	6
1.5) Les procédés d'extraction des molécules bioactives.....	6
1.5.1) Les procédés conventionnels .....	6
Macération .....	6
1.5.2) Les procédés innovants .....	6
1.5.2.1. Les procédés d'extraction assistés par Microondes .....	6
Principes et mécanismes de l'extraction assistée par micro-ondes (MAE).....	6
Avantages de l'extraction assistée par micro-ondes (MAE) .....	7
Inconvénients et limitations de l'extraction assistée par micro-ondes (MAE) .....	7

Exemples d'études.....	8
1.6) La formulation à base de molécules bioactives naturelles.....	8
1.6.1. Classification des formulations (S.S) .....	8
Formes semi-solides .....	8
1.6.2) Formulation des gels .....	9
Matières premières .....	9
Procédé de préparation .....	9
Techniques de caractérisations et étude de stabilité des gels.....	10
1.7) Méthodologie d'optimisation des procédés d'extraction et de formulation .....	11
1.7.1) Méthodologie des plans d'expérience .....	11
1.7.2) L'optimisation en moyennant l'Intelligence artificielle .....	11
1.7.3) ANFIS pour l'optimisation et la prédiction .....	12
1.7.3.1.Principe et fonctionnement des systèmes ANFIS (Adaptive Neuro Fuzzy InferenceSystems).....	12
1.7.3.2.Le processus d'apprentissage dans les systèmes ANFIS est réalisé en plusieurs étapes .....	12
1.7.3.3.Application des ANFIS pour la modélisation, l'optimisation et la prédiction des procédés pharmaceutiques.....	12
2) Matériel et méthode.....	13
2.1) -Matériel .....	13
2.1.1. Matériel végétale .....	13
2.1.2. Matériel animale .....	13
2.1.3. Matériel microbiologique.....	14
2.2) - Extraction des molécules bioactives par procédé assistée par Microondes .....	15
2.2.1) -Procédure générale .....	15

2.2.2) -Optimisation du procédé d'extraction en moyennant l'intelligence artificielle.....	16
2.2.2.1. Les facteurs à optimiser .....	16
2.2.2.2. Matrice des essais .....	16
2.2.2.3. Outil informatique utilisé et application de la méthode.....	17
2.3) - Caractérisation des extractions .....	17
2.3.1) - Calcul du rendement.....	18
2.3.2) - Dosage des PPT (poly phénols totaux) .....	18
2.3.3) - Évaluation de l'activité anti-oxydant .....	19
2.3.3.1. Principe .....	19
2.3.3.2. Procédure .....	19
2.4) -Formulation et caractérisation d'un gel buvable à base de l'extrait obtenu .....	20
2.4.1) -Proposition de la composition du gel buvable .....	20
2.4.2) -Procédé de formulation .....	20
2.4.3) -Optimisation du procédé de formulation.....	21
2.4.4) -Caractérisation du gel buvable.....	22
2.4.4.1. Tests organoleptiques .....	22
2.4.4.2. Détermination de la bio-adhésion des gels buvables sur la muqueuse digestive .....	22
2.5) -Évaluation de l'effet cicatrisant de l'extrait et du gel buvable sur la muqueuse gastrique .....	23
2.5.1. Design expérimental .....	23
2.5.2. Préparation des solutions.....	24
2.5.3. Administration des traitements par gavage .....	24
2.5.4. Induction de l'ulcère par gavage de l'éthanol .....	25
2.5.5. Sacrifice des souris, récolte des estomacs et prise des photos .....	25
2.5.6. Calcul des indices d'ulcères et des pourcentages d'inhibition des ulcères .....	25
2.6) -Évaluation de l'activité antimicrobienne in vitro de l'extrait .....	26

2.6.1) -Préparation de l'extrait végétale .....	26
2.6.2) -Méthode de diffusion sur disque.....	26
3) Résultats et discussion.....	27
3.1) -Optimisation du rendement d'extraction des molécules bioactives de <i>M. azedarach</i> par intelligence artificielle ANFIS .....	27
3.1.1) - Structure de l'ANFIS (Système Inférentiel Neuro-Fuzzy Adaptatif) .....	27
3.1.2) - Erreur d'entraînement .....	27
3.1.3) - Matrice des réponses (sorties) et comparaison entre les valeurs expérimentales et les valeurs prédites .....	28
3.1.4) - Règles de l'ANFIS et surfaces de prédictions des sorties .....	29
3.2) - Caractérisation des extraits obtenus.....	33
3.2.1) - Dosage des polyphénols totaux.....	33
3.3) - Préparation et caractérisation du gel .....	33
3.3.1) - Propriétés organoleptiques des gels buvables.....	34
3.3.2) - Analyse de la bio-adhésion.....	34
3.4) - Evaluation de l'effet cicatrisant et gastro-protecteur de l'extrait et du gel buvable sur la muqueuse gastrique .....	34
3.5) - Activité antimicrobienne de l'extrait de <i>Melia azedarach</i> .....	37
Conclusion .....	39

## Liste des figures

<b>Figure 1.1 :</b> Photographie de l'arbre <i>Melia azedarach</i> .....	5
<b>Figure 1.2 :</b> Schéma montrant l'assemblage de l'extraction assistée par micro-ondes (MAE) 7	
<b>Figure 2.1 :</b> Photographie de la poudre de plante utilisée lors de notre étude .....	13
<b>Figure 2.2 :</b> Photographie des souris de souche NMRI utilisées dans notre étude.....	13
<b>Figure 2.3 :</b> Boite de Petrie contenant une culture de la souche <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923) sur gélose nutritive .....	14
<b>Figure 2.4 :</b> Photographie de l'installation d'extraction par microonde (Laboratoire pédagogique d'extraction, Bloc C, Ex-ISV, Université Blida 1).....	15
<b>Figure 2.5 :</b> Photographie montrant le changement de couleurs lors du dosage des polyphénols totaux .....	18
<b>Figure 2.6 :</b> Photographie montrant le changement de couleurs lors de l'évaluation de l'activité antioxydante .....	20
<b>Figure 2.7 :</b> Homogénéisateur de type Ultra-turrax .....	21
<b>Figure 2.8 :</b> Système mis en place pour les mesures des forces de bio-adhésion .....	22
<b>Figure 2.9 :</b> Photographie de la formulation placebo, la formulation contenant l'extrait et la solution d'extrait a 1% utilisées pour l'étude in-vivo .....	24
<b>Figure 2.10 :</b> Photographie montrant le gavage intragastrique des souris .....	24
<b>Figure 2.11 :</b> Dissection des souris.....	25
<b>Figure 2.12 :</b> Disques pour microbiologie vierge imbibés d'extrait.....	26
<b>Figure 3.1 :</b> La structure de l'ANFIS (Système Inférentiel Neuro-Fuzzy Adaptatif) .....	27
<b>Figure 3.2 :</b> Evolution de l'erreur d'entraînement en fonction des époques.....	28
<b>Figure 3.3 :</b> Comparaison des rendements observés et prédits avec un coefficient de corrélation $R^2$ .....	29
<b>Figure 3.4 :</b> Les règles de l'ANFIS .....	30
<b>Figure 3.5 :</b> Surface de sortie de l'ANFIS « rendement » en fonction de la puissance et le temps	31
<b>Figure 3.6 :</b> Surface de sortie de l'ANFIS « rendement » en fonction de la puissance et le ratio.....	31
<b>Figure 3.7 :</b> Surface de sortie de l'ANFIS « rendement » en fonction du temps et du ratio ..	32
<b>Figure 3.8 :</b> Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux	33
<b>Figure 3.9 :</b> Formulation des 5 gels à base d'extrait de <i>M. azedarach</i> .....	33
<b>Figure 3.10 :</b> Observation macroscopique des ulcères pour chaque lot .....	35

<b>Figure 3.11 :</b> Observation du phénomène de bio-adhésion in-vivo lors de la dissection et l'ouverture de l'estomac .....	<b>36</b>
<b>Figure 3.12:</b> Les zones d'inhibition des extraits de <i>M. azedarach</i> contre la souche <i>S. aureus</i> en fonction des concentrations .....	<b>37</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1.1</b> : Classification botanique de <i>Melia azedarach</i> .....	<b>5</b>
<b>Tableau 2.1</b> : les facteurs a optimisé .....	<b>16</b>
<b>Tableau 2.2</b> : Matrice des essais.....	<b>17</b>
<b>Tableau 2.3</b> : Liste des matières premières utilisées pour la formulation... ..	<b>20</b>
<b>Tableau 2.4</b> : Matrice des essais de formulation des gels.....	<b>21</b>
<b>Tableau 2.5</b> : Design expérimental de l'étude in-vivo... ..	<b>23</b>
<b>Tableau 3.1</b> : Matrice de conception de l'ANFIS .....	<b>28</b>
<b>Tableau 3.2</b> : Propriétés organoleptiques des gels buvables obtenus.....	<b>34</b>
<b>Tableau 3.3</b> : Les forces de bio-adhésions pour les gels buvables obtenus.....	<b>34</b>
<b>Tableau 3.4</b> : Résultats de l'activité gastro-protectrice in-vivo... ..	<b>35</b>
<b>Tableau 3.5</b> : Diamètre de la zone d'inhibition (mm) des extraits de <i>M. azedarach</i> en fonction des concentrations .....	<b>37</b>

## Introduction

La recherche scientifique contemporaine se trouve à la croisée des chemins entre l'innovation technologique et la quête de solutions durables et efficaces pour les défis de santé publique. Dans ce contexte, l'intelligence artificielle (IA) et les techniques d'extraction assistée par micro-ondes se révèlent être des outils prometteurs pour exploiter le potentiel thérapeutique des plantes médicinales [1-3]. Ce mémoire s'inscrit dans cette dynamique en proposant une approche novatrice pour l'extraction et l'utilisation de molécules bioactives de *Melia azedarach*, une plante reconnue pour ses propriétés médicinales variées [4].

L'objectif principal de ce travail est de démontrer comment l'intelligence artificielle peut optimiser le procédé d'extraction assistée par micro-ondes afin d'obtenir des extraits de *Melia azedarach* riches en molécules bioactives [5]. Ces molécules, une fois extraites, seront ensuite intégrées dans des formulations cicatrisantes et antimicrobiennes, offrant ainsi des solutions potentielles pour les soins des lésions et la lutte contre les infections [6].

*Melia azedarach*, aussi connu sous le nom de lilas de Perse, est une plante dont les propriétés pharmacologiques ont été largement étudiées [7]. Elle contient divers composés bioactifs aux effets antimicrobiens, anti-inflammatoires et cicatrisants. Cependant, la variabilité des méthodes d'extraction peut influencer significativement la qualité et la quantité des composés extraits. L'extraction assistée par micro-ondes est une technique innovante qui permet de surmonter certaines limitations des méthodes conventionnelles en termes d'efficacité et de sélectivité [8].

L'application de l'IA dans ce contexte permet de modéliser et d'optimiser les paramètres du procédé d'extraction. Grâce à des algorithmes avancés, il est possible de prédire et d'ajuster les conditions optimales pour maximiser le rendement et la qualité des extraits. Cette synergie entre l'IA et les techniques d'extraction vise à améliorer l'efficacité du processus, tout en réduisant les coûts et l'impact environnemental [9,10].

Ce mémoire est structuré en plusieurs parties. La première partie est dédiée à l'optimisation du procédé d'extraction des molécules bioactives en utilisant l'intelligence artificielle ANFIS. La deuxième partie est consacrée à la formulation d'un gel buvable 100 % BIO à base de l'extrait obtenu. Enfin, la dernière partie porte sur l'évaluation des activités biologiques de l'extrait avant et après son incorporation dans la formulation.

## **Chapitre 1 : La phytothérapie et *Melia azedarach***

### **1.1. La phytothérapie**

La phytothérapie est une approche médicale ancienne qui utilise des extraits de plantes et leurs composants naturels pour traiter ou prévenir diverses maladies. Ces composants comprennent les feuilles, les fleurs, les racines et même les plantes entières, qu'elles soient cultivées à la maison ou récoltées dans des forêts sauvages. Toutefois, il est nécessaire de respecter des normes strictes en matière de culture afin de s'assurer que les plantes utilisées sont de bonne qualité. Des infections telles que la gonorrhée ou la chlamydia provoquent souvent des symptômes similaires à ceux de la vaginose bactérienne, ce qui conduit à des erreurs de diagnostic.

Il y a des millénaires, cette pratique médicale était déjà utilisée au Paléolithique supérieur par l'homme de Neandertal, il y a environ 60 000 ans. Les civilisations anciennes, comme les Grecs et les Romains, ont également contribué à ces découvertes en répertoriant plus de 500 plantes médicinales. Aujourd'hui, plusieurs cultures, dont la chinoise, l'arabe et l'indienne, s'appuient encore sur ces méthodes de guérison historiques. [11]

### **1.2. Les molécules bioactives contenues dans les plantes**

#### **1.2.1. Les molécules volatiles**

Les substances bioactives volatiles vitales des plantes, telles que les terpénoïdes, les terpènes et les composés phénoliques, ont une influence significative sur diverses fonctions biologiques. Les terpènes et les terpénoïdes extraits des huiles essentielles sont réputés pour leurs nombreuses propriétés thérapeutiques, notamment leurs effets anti-inflammatoires, antiseptiques, antiviraux, antifongiques, antiparasitaires et cicatrisants. De plus, ces composés peuvent être libérés en quantités suffisamment importantes pour influencer la composition chimique de l'atmosphère. En outre, ces substances sont essentielles pour protéger les plantes contre les attaques biotiques et abiotiques. Elles contribuent à renforcer la résistance des plantes à la sécheresse en favorisant la rétention de l'humidité dans les plantes et en les protégeant contre divers stress environnementaux. De plus, elles sont largement utilisées - essentiellement en aromathérapie - pour leurs nombreux bienfaits thérapeutiques et environnementaux [12].

Les molécules bioactives volatiles que l'on trouve dans les plantes sont appelées composés phénoliques. Ces composés sont qualifiés d'aromatiques parce que leur structure comporte un anneau benzénique. La base de ces composés est le phénol, qui se compose d'un anneau benzénique relié à un groupe hydroxyle (OH). Ils se transforment en acides phénoliques tels que l'acide salicylique et la vanilline.

Les composés phénoliques constituent le groupe le plus abondant de substances phytochimiques présentes dans les plantes. Les molécules simples, comme les acides phénoliques, vont des molécules simples aux polymères complexes, comme les tanins, car leur complexité structurale diffère grandement d'une molécule à l'autre. Les principaux contributeurs aux qualités sensorielles et nutritionnelles des aliments d'origine végétale sont les flavonoïdes ainsi que d'autres polyphénols [13].

### **1.2.2. Les molécules non volatiles**

Les molécules bioactives non volatiles des plantes, telles que les alcaloïdes et les polyphénols, englobent une large gamme de composés dont la structure et les fonctions varient. Les alcaloïdes sont des substances azotées naturelles qui constituent des métabolites secondaires dérivés des acides aminés et qui contiennent généralement un atome d'azote basique fusionné à un anneau. Les alcaloïdes contiennent du carbone et de l'hydrogène en plus de l'azote, et généralement de l'oxygène. Dans de rares cas, certains alcaloïdes peuvent également contenir du soufre [14].

Ces composés aminés naturels ont diverses actions physiologiques sur le corps humain, allant d'effets toxiques et nocifs à des effets stimulants et thérapeutiques. Les alcaloïdes, en raison de leur diversité et leurs caractéristiques bioactives font des alcaloïdes un élément crucial de la pharmacologie et de la médecine, car ils offrent des applications potentielles variées allant de l'analgésie à la stimulation nerveuse. Les polyphénols sont des molécules non volatiles que l'on trouve dans les plantes avec de multiples groupes phénoliques associés dans des structures complexes souvent de poids moléculaire élevé. Ces composés proviennent du métabolisme secondaire des plantes et jouent un rôle important dans leur défense contre les stress environnementaux. Les polyphénols participent à divers processus physiologiques dont la prolifération, la différenciation et l'organogenèse des cellules. Dans les racines, les tiges, les fleurs et les feuilles des plantes, ils sont très répandus. Les polyphénols se trouvent en grandes quantités dans les légumes verts à feuilles, les fruits et certaines boissons. Ils ont attiré les chercheurs en médecine préventive pour le cancer, les maladies inflammatoires, les accidents vasculaires cérébraux et la maladie d'Alzheimer en raison de leurs propriétés antioxydantes naturelles. Ils sont également utilisés comme additifs dans l'industrie alimentaire, pharmaceutique et cosmétique. [15]

## **1.3. Les activités pharmacologiques des plantes**

### **1.3.1. Activités antimicrobiennes**

Les plantes sont une source importante de composés aux activités pharmacologiques variées, y compris des activités antimicrobiennes. Voici quelques-unes des activités antimicrobiennes

associées aux plantes :

**Inhibition de la croissance bactérienne** : De nombreuses plantes produisent des composés qui peuvent inhiber la croissance de bactéries pathogènes. Par exemple, l'ail (*Allium sativum*) et le thym (*Thymus vulgaris*) sont connus pour leurs propriétés antibactériennes [16]

**Antifongique** : Certains extraits de plantes ont également montré des activités antifongiques contre divers champignons pathogènes. Par exemple, l'extrait de feuilles de neem a été utilisé traditionnellement pour traiter les infections fongiques de la peau et des ongles [17].

**Antimicrobien topique** : De nombreux extraits de plantes sont utilisés dans des préparations topiques pour traiter les infections cutanées, les brûlures et les plaies infectées. Par exemple, l'aloé vera est connu pour ses propriétés antimicrobiennes et cicatrisantes lorsqu'il est appliqué sur la peau [18].

### 1.3.2. Activités anti-inflammatoires et cicatrisantes

Les plantes possèdent souvent des composés aux activités anti-inflammatoires et cicatrisantes, ce qui les rend précieuses dans de nombreux systèmes de médecine traditionnelle et complémentaire.

**Activités anti-inflammatoires** : De multiples végétaux présentent des caractéristiques anti-inflammatoires qui peuvent aider à réduire l'inflammation et la douleur. À titre d'exemple, Une étude a montré que les peptides bioactifs issus des plantes peuvent supprimer l'inflammation en affectant la phosphorylation clé dans la voie NF- $\kappa$ B et en régulant la réponse de la cascade de phosphorylation [19].

**Activités cicatrisantes** : Certaines plantes sont connues pour leurs propriétés cicatrisantes et sont fréquemment utilisées dans le traitement des plaies pour favoriser la régénération tissulaire. Par exemple, une étude a démontré que les plantes médicinales africaines et leurs nanoparticules biogéniques qu'elles génèrent, stimulent la cicatrisation des plaies par divers mécanismes, incluant l'amélioration de la contraction de la plaie et de l'épithélialisation, ainsi que des activités antibactériennes, antioxydantes et anti-inflammatoires [20]. Une autre étude a révélé que les plantes sont une source importante de molécules pour le développement de nouveaux médicaments, ce qui intensifie l'intérêt des industries transnationales pour la recherche de substances obtenues à partir de sources végétales [21].

## 1.4. L'état de l'art sur *Melia azedarach*

### 1.4.1. Généralités

Le chinaberry, également connu sous le nom persan et le nom scientifique *Melia azedarach*, est un membre de la famille des Méliacées. Il se multiplie bien par les graines, les bourgeons ou in vitro sur des explants. Il est principalement utilisé pour l'alimentation animale et l'ombrage dans des régions telles que la Jordanie, l'Afrique et le Liban [22]. En Inde, il est cultivé pour ses fleurs et ses graines parfumées, utilisées de la même manière dans la religiosité culturelle. Dans une moyenne de 15 m<sup>2</sup>, le tronc d'un arbre modeste de la queue présente de petites fenêtres avec un diamètre de 110 cm et sert à l'abri et à la défense contre la sécheresse. Il pousse naturellement dans l'Inde du Nord-Ouest et en Chine, mais sa présence est plus marquée dans les zones tropicales et subtropicales. Actuellement, on le trouve en Afrique et en Australie, ainsi que dans les Amériques, avec une présence significative en Argentine. En raison de sa large répartition géographique, il porte différents noms dans les différentes parties du monde.



**Figure 1.1** : Photographie de l'arbre *Melia azedarach*.

### 1.4.2. Classification botanique

La famille des Méliacées comprend 51 genres et 550 espèces. Conformément à la classification présentée dans le tableau ci-dessous [23].

**Tableau 1.1** : Classification botanique de *Melia azedarach*.

Regne	plantae
Division	MAGNOLIOPHYTA
Classe	MAGNOLIOPSIDA
Ordre	SAPINDALES
Famille	MELIACEAE

Genre	MELIA
Espèce	MELIA AZEDARACH

### 1.4.3. Composition chimique de *Melia azedarach*

Des recherches montrent que *M. Azedarach* contient les terpanoïdes, les flavonoïdes, les stéroïdes, les acides, les anthraquinones les alcaloïdes, les saponines, et les tannins. [24], [25], [26].

### 1.4.4. Activité biologique du *Melia azedarach*

#### Activité anti microbienne :

Des études ont mis en évidence que les extraits provenant des fruits de *Melia azedarach* présentent une activité antimicrobienne. Cette activité a été observée vis-à-vis des bactéries inoculées dans des pousses in vitro de prunier 'MRS 2/5' et de calla lily [27].

#### Activité anti inflammatoire et cicatrisante :

Une étude a montré que les extraits de *Melia azedarach* ont des effets anti-inflammatoires remarquables qui sont associés à une inhibition de la monoacylglycérol lipase humaine (MAGL), une enzyme impliquée dans les processus inflammatoires.

Une autre étude a évalué l'efficacité d'un hydrogel chargé d'extrait de *Melia azedarach* sur le processus de cicatrisation des brûlures. Les résultats de l'étude ont montré que l'utilisation de cet hydrogel favorisait la cicatrisation des plaies tout en possédant une activité antibactérienne significative contre les bactéries gram-positives et gram-négatives. [28].

## 1.5. Les procédés d'extraction des molécules bioactives

### 1.5.1. Procédés conventionnels

#### Macération

La macération consiste à immerger le matériau végétal dans un solvant, à une température chaude ou froide. Le choix du solvant est basé sur sa polarité, et le processus utilise un cadre pour favoriser la diffusion des composés bioactifs dissous dans le solvant en décomposant la membrane cellulaire. Après l'extraction, l'excès de solvant est évaporé et l'échantillon est pressé et filtré pour séparer l'extrait des débris végétaux [30], [31], [32]

### 1.5.2. Les procédés innovants

#### 1.5.2.1. Les procédés d'extraction assistés par Micro-ondes

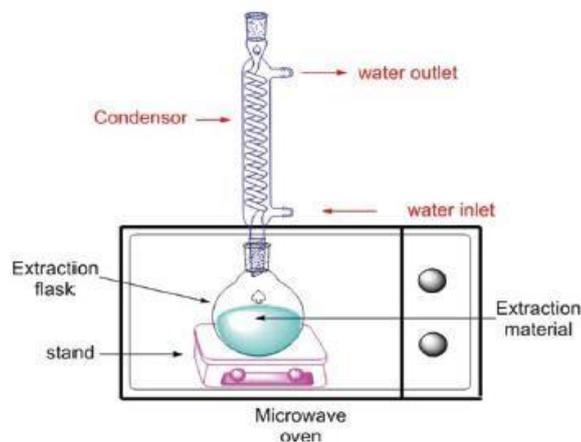
#### Principes et Mécanismes de l'Extraction Assistée par Micro-Ondes (MAE) :

- Les micro-ondes induisent des mouvements moléculaires et des rotations, entraînant un chauffage

volumétrique à l'intérieur du milieu irradié. Cette méthode offre un chauffage plus rapide et plus uniforme par rapport aux méthodes conventionnelles [33].

- L'utilisation de l'énergie micro-ondes permet de distendre les cellules végétales, de rompre les glandes et de libérer l'huile essentielle, sans ajout de solvant ou d'eau [33].

- L'énergie micro-ondes induit la rotation des dipôles et la conduction ionique dans l'échantillon, générant de la chaleur. L'efficacité dépend du facteur de dissipation ( $\tan\delta$ ), qui est lié à la constante diélectrique ( $\epsilon'$ ) et à la perte diélectrique ( $\epsilon''$ ) du solvant sont les plus adaptés pour un chauffage et une extraction par micro-ondes efficaces [34].



**Figure 2.2** : schéma montrant l'assemblage de l'extraction assistée par micro-ondes (MAE) ([35])

#### **Avantages de l'extraction assistée par Micro-Ondes (MAE) :**

- L'absorption de l'énergie micro-ondes est rapide, ce qui entraîne une réduction des gradients thermiques, un chauffage sélectif, un contrôle de processus plus rapide et une augmentation de l'efficacité de production. Ces caractéristiques sont particulièrement bénéfiques pour les processus d'extraction d'huiles essentielles ([36]).
- La MAE offre des temps d'extraction plus rapides, généralement en quelques minutes, et une consommation de solvant plus faible par rapport aux méthodes conventionnelles. Elle préserve les composés thermolabiles grâce à un chauffage rapide et permet d'obtenir des rendements d'extraction plus élevés en composés bioactifs [34].
- Le processus est rapide et uniforme, augmentant l'intensité de l'extraction et préservant les composants thermosensibles [37].
- Utilisation d'une quantité de solvant réalisable et d'une durée d'extraction courte (15 à 30 minutes) [29].

#### **Inconvénients et Limitations de l'Extraction Assistée par Micro-Ondes (MAE) :**

- La MAE en récipient ouvert atteint une température maximale inférieure par rapport à la MAE en récipient fermé, ce qui limite la gamme des composés extractibles. La MAE sous vide et la MAE

assistée par ultrasons ont été développées pour pallier certaines limitations de la MAE conventionnelle. La sélection de la technique de MAE appropriée et des conditions de fonctionnement est cruciale pour une extraction efficace des composés cibles [38]

- Nécessité de contrôler la puissance de rayonnement et la température d'extraction pour retrouver l'efficacité des métabolites secondaires [39]
- L'efficacité de la MAE dépend du pouvoir diélectrique constant de l'eau et de l'échantillon [40].
- Les températures et pressions des micro-organismes peuvent entraîner une baisse des analyses ou une réduction de la solvabilité [41]

### **Exemples d'études :**

- L'extraction des polyphénols et du café des jours précédents du repas suivant prend 4 minutes avec la MAE, contre 20 heures à différentes températures avec d'autres méthodes [42].

- Optimisation des conditions MAE pour l'extraction des flavonoïdes d'*Hibiscus sabdariffa* à 164 °C en 20 min avec 60% d'éthanol [41].

- Application de la MAE pour l'extraction des anthocyanes du maïs pour la cuisson avec une température de traitement de 19 min, une absorption solide-liquide de 1:20 et une micro-ondes de 555 W [43].

- La MAE est plus efficace que les méthodes d'extraction conventionnelles pour l'extraction des tanshinones des racines de *Salvia miltiorrhiza*, avec des durées d'opération de 2 minutes contre 24 heures, 45 minutes, 75 minutes et 90 minutes pour d'autres méthodes [44].

- La MAE à 600 W pour extraire les triterpènes de *Centella asiatica* et doubler le débit à 75 °C [45].

## **1.6. Les formulations à base de molécules bioactives naturelles**

### **1.6.1. Classification des formulations**

#### **Formes semi-solides**

**Pommades** : Préparations grasses destinées à une application cutanée, offrant une barrière protectrice.

**Crèmes** : Emulsions d'huile et d'eau pour une application topique, procurant des effets hydratants et protecteurs.

**Gels** : Systèmes semi-solides constitués de petites molécules inorganiques ou de grandes molécules organiques interpénétrées par un liquide, pour des applications topiques ou muqueuses.

**Pâtes** : Préparations épaisses contenant une forte concentration de particules solides, pour des applications topiques protectrices et thérapeutiques.[46].

Les formulations semi-solides sont des mélanges complexes d'ingrédients destinés à une application topique, transdermique ou par injection sous-cutanée. Leur viscosité varie de liquide à épaisse, ce qui nécessite une sélection minutieuse des ingrédients inactifs et des agents fonctionnels pour atteindre la viscosité désirée et assurer la stabilité du produit. Ces préparations, telles que les pommades, crèmes et gels, offrent une libération locale des substances actives avec des propriétés émoullientes ou protectrices. Elles sont formulées avec des excipients, naturels ou synthétiques, monophasés ou multiphasés, hydrophiles ou hydrophobes, qui influencent leur activité. Ces systèmes visqueux et auto-supportés combinent les propriétés mécaniques des solides et des liquides, ce qui permet une administration efficace et une adhérence à la peau. En conséquence, ils sont largement utilisés dans les domaines pharmaceutique et cosmétique pour la délivrance topique de substances actives [47].

### 1.6.2. Formulation des gels

#### **Matières premières**

Les gels sont des systèmes semi-solides composés d'un réseau tridimensionnel de polymères dispersés dans un milieu liquide. Ils trouvent de nombreuses applications dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et industriel.

Il existe plusieurs types de polymères à savoir :

#### **Polymères naturels :**

1. **Gélatine** : Provenant de collagène, la gélatine est souvent utilisée dans les gels alimentaires et pharmaceutiques.
2. **Alginates** : Extraits d'algues brunes, ils sont utilisés pour la formation de gels dans les produits alimentaires et pharmaceutiques.
3. **Carraghénane** : Un autre polysaccharide extrait d'algues, utilisé dans les gels alimentaires et cosmétiques.
4. **Gomme xanthane** : Un polysaccharide bactérien utilisé comme agent gélifiant dans les produits alimentaires et cosmétiques [48]

#### **Procédé de préparation**

Les gels sont formés par des réactions chimiques douces en phase liquide. Un précurseur réagit avec des réactifs, catalyseurs ou sous l'effet de la température pour former des particules solides qui s'organisent en un réseau tridimensionnel. Les paramètres de préparation tels que le pH, la température et l'agitation ont une influence significative sur les propriétés du gel [49].

On retrouve plusieurs types de techniques de préparation des gels, à savoir :

#### **Les méthodes physiques :**

**Méthode thermique** : Utilisation de la température pour induire la gélification de polymères thermosensibles.

**Méthode d'agitation** : Agitation mécanique pour disperser le polymère dans le solvant et former le gel.

#### **Les méthodes chimiques :**

1. **Réaction de réticulation** : Utilisation de agents réticulants pour créer des liaisons covalentes entre les chaînes polymères.
2. **Neutralisation** : Ajustement du pH pour induire la formation de gels, particulièrement avec des polymères tels que la gélatine ou l'alginate [50]

#### **Influence des paramètres de préparation :**

1. **Température** : La température influence la solubilité des polymères et des agents gélifiants, ainsi que la vitesse de formation du gel.
2. **Agitation** : L'agitation mécanique peut influencer la distribution des polymères et la structure du réseau tridimensionnel dans le gel [51].

#### **Étapes clés du processus de formulation :**

1. **Préparation de la solution polymère** : Dissolution du polymère dans le solvant à une concentration spécifique.
2. **Ajout d'agents gélifiants ou de réticulants** : Intégration des agents gélifiants ou des agents réticulants pour former le réseau tridimensionnel.
3. **Ajustement du pH et de la température** : Ajustement des paramètres de pH et de température pour induire la formation du gel.
4. **Agitation et mélange** : Agitation mécanique pour assurer une distribution homogène des polymères et des agents gélifiants.
5. **Stabilisation et ajustement des propriétés** : Ajout d'agents stabilisants ou de modificateurs de viscosité pour optimiser les propriétés du gel [52]

#### **Techniques de caractérisations et étude de stabilité des gels**

La caractérisation des gels est cruciale pour évaluer leur qualité, leur efficacité et leurs performances. Les méthodes physiques telles que la rhéologie, la spectroscopie et la microscopie sont couramment utilisées pour caractériser les propriétés des gels. Voici un aperçu de ces méthodes et de leur importance dans l'évaluation des gels [53]

**Viscosité** : Mesurée à l'aide d'un viscosimètre, la viscosité est un indicateur clé de la consistance et de la stabilité du gel.

**Stabilité** : Étudiée en mesurant les variations de la viscosité, du pH, de la température et d'autres paramètres physico-chimiques du gel sur une période de temps [54].

## **Importance de la caractérisation pour la qualité et l'efficacité du gel :**

- 1. Assurer la qualité :** Permet d'identifier et de contrôler les paramètres critiques du gel tels que la viscosité, la stabilité et la libération du principe actif.
- 2. Optimiser l'efficacité thérapeutique :** Fournit des informations sur la performance du gel en termes de libération du principe actif et de biodisponibilité.
- 3. Garantir la sécurité :** Aide à identifier et à minimiser les risques associés à l'utilisation du gel, tels que la toxicité et les effets secondaires [55]

### **1.7.Méthodologie d'optimisation des procédés d'extraction et de formulation**

#### **1.7.1. Méthodologie des plans d'expérience**

L'optimisation des procédés d'extraction et de formulation peut être réalisée en utilisant des méthodes de planification expérimentale telles que la méthode de Box-Behnken, la méthode de surface de réponse et la méthode de Doehlert pour déterminer les conditions optimales des facteurs opérationnels [56], [57].

1. Conception d'expériences (DOE): Une approche statistique utilisée pour évaluer l'effet des différents paramètres (temps, température, pH) sur les propriétés du gel. Elle permet d'identifier les paramètres significatifs et d'optimiser les conditions de formulation pour maximiser le rendement et la qualité du gel.
2. Surfaces de réponse : Une technique de modélisation statistique utilisée pour visualiser et optimiser la réponse (rendement, qualité) en fonction des variables indépendantes (temps, température, pH). Elle permet d'identifier les conditions optimales de formulation et d'extraction [58]

#### **1.7.2. L'optimisation en moyennant Intelligence artificielle**

L'optimisation des procédés d'extraction et de formulation peut également être réalisée en utilisant des techniques de modélisation basées sur l'IA telles que les réseaux de neurones artificiels, les algorithmes génétiques et les méthodes statistiques avancées pour prédire et optimiser les performances du processus [59]

L'intelligence artificielle (IA), en particulier les algorithmes d'apprentissage automatique, est de plus en plus utilisée pour optimiser les procédés d'extraction et de formulation des gels. Voici quelques applications clés :

- Prédiction des propriétés des formulations : Les modèles d'apprentissage automatique peuvent être formés pour prédire les propriétés des gels en fonction des paramètres de formulation (temps, température, pH, etc.).
- Optimisation des conditions de formulation : Les algorithmes d'optimisation peuvent être utilisés pour trouver les conditions de formulation optimales qui maximisent le rendement et la qualité du gel.
- Analyse de sensibilité : L'IA peut être utilisée pour identifier les paramètres les plus influents sur les propriétés du gel et orienter les études expérimentales [60].

### **1.7.3. ANFIS pour l'optimisation et la prédiction**

#### **1.7.3.1. Principe et fonctionnement des systèmes ANFIS (Adaptive Neuro Fuzzy Inference Systems)**

Les systèmes ANFIS (Adaptive Neuro Fuzzy Inference Systems) combinent les avantages des réseaux de neurones artificiels (ANN) et des systèmes de logique floue pour modéliser des relations complexes entre les entrées et les sorties d'un système. Voici les principaux composants et le fonctionnement des systèmes ANFIS :

1. Neurones de base : Les neurones de base sont des fonctions d'appartenance floues qui représentent les variables d'entrée du système.
2. Couches cachées : Les couches cachées du réseau de neurones adaptent les fonctions d'appartenance floues en utilisant des méthodes d'apprentissage supervisé pour optimiser les paramètres du modèle.
3. Couche de sortie : La couche de sortie combine les fonctions d'appartenance floues et les poids des neurones de la couche cachée pour produire une sortie crisp (valeur réelle) [61].

#### **1.7.3.2. Le processus d'apprentissage dans les systèmes ANFIS est réalisé en plusieurs étapes :**

1. Propagation vers l'avant : Les valeurs d'entrée sont propagées à travers les fonctions d'appartenance floues et les neurones de la couche cachée pour calculer la sortie du système.
2. Apprentissage hybride : Les paramètres du modèle sont optimisés en utilisant des techniques d'apprentissage supervisé, telles que la méthode de rétropropagation du gradient, pour minimiser l'erreur entre les prédictions du modèle et les valeurs cibles [62].

#### **1.7.3.3. Application des ANFIS pour la modélisation, l'optimisation et la prédiction des procédés pharmaceutiques**

Les systèmes ANFIS sont particulièrement bien adaptés pour la modélisation, l'optimisation et la prédiction des procédés pharmaceutiques en raison de leur capacité à gérer des données complexes et non linéaires [63]). Voici quelques applications clés des ANFIS dans le domaine pharmaceutique [64] :

1. Modélisation des propriétés des gels : Les ANFIS peuvent être utilisés pour modéliser les relations entre les paramètres de formulation (temps, température, pH, etc.) et les propriétés des gels (viscosité, libération du principe actif, stabilité, etc.) [65].
2. Optimisation des conditions de formulation : Les ANFIS peuvent être utilisés pour optimiser les conditions de formulation afin de maximiser le rendement et la qualité du gel en utilisant des méthodes d'optimisation intégrées [66].

## Chapitre 2 : Matériel et méthode

### 2.1. Matériel

#### 2.1.1. Matériel végétale

Une récolte des parties aériennes (feuilles et tiges) de *Melia azedarach* a été réalisée au printemps 2023, à Blida, Algérie. L'identification botanique de la plante a été effectuée au niveau de l'INRF (Institut National de recherche forestière), Ain El-benian, Alger, Algérie.

Feuilles de *Melia azedarach* ont été séchées à l'ombre, broyées dans un broyeur en inox inoxydable ensuite tamisées à l'aide d'un tamis de porosité de 500 micromètres (figure 2.1).



**Figure 2.1** : Photographie de la poudre de plante utilisée lors de notre étude.

#### 2.1.2. Matériel animal

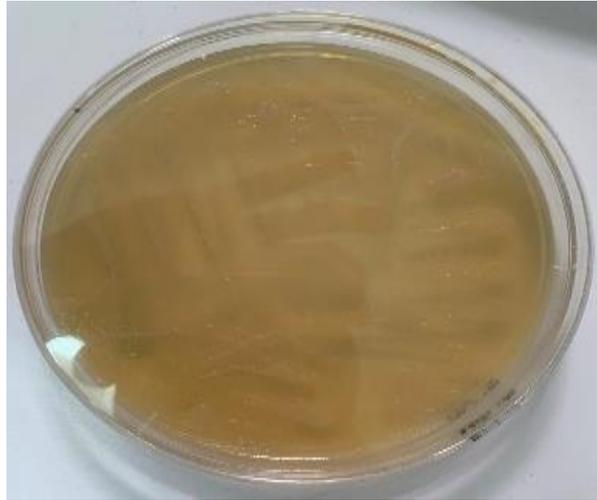
Les souris blanches de souche NMRI ont été gracieusement offertes par le laboratoire du Dr EDDAIKRA Nawel de l'IPA (Institut Pasteur d'Alger). Les souris utilisées sont des femelles d'un poids moyen de  $24 \pm 1.46$  g (Figure 2.2).



**Figure 2.2** : Photographie des souris de souche NMRI utilisées dans notre étude.

### 2.1.3. Matériel microbiologique

Lors de cette étude, nous avons utilisé une souche de référence de la bactérie *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), c'est une bactérie pathogène de type Gram +; Elle a été obtenue à partir de la collection des cultures du laboratoire de microbiologie de l'école nationale supérieur vétérinaire, Alger, Algérie.



**Figure 2.3 :** Boite de Petrie contenant une culture de la souche *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) sur gélose nutritive.

## 2.2. Extraction des molécules bioactives par procédé assisté par micro-ondes

### 2.2.1. Procédure générale

**1. Tamisage du matériel végétal** : la poudre des feuilles de *Melia azedarach* a été tamisée à l'aide d'un tamis de porosité de l'ordre de 500 micromètres afin d'augmenter la surface de contact entre la poudre et le solvant d'extraction (granulométrie optimale) [67].

**2. Sélection du solvant** : l'éthanol dans l'extraction assistée par micro-ondes offre une efficacité accrue, une rapidité optimisée, une sélectivité améliorée, une réduction de la consommation de solvant et une préservation de la qualité des composés extraits. De plus, l'éthanol est un solvant vert non toxique et respectueux envers l'environnement, ce qui nous permet de respecter le concept des procédés assistés par micro-ondes qui sont des procédés écologiques [68-70].

**3. Mélange de la poudre de plante et du solvant d'extraction** : la poudre de plante a été incorporée dans un ballon à base plate d'un volume de 500 ml ensuite mélangée avec le solvant. Incorporer la poudre de *Melia azedarach* et l'éthanol dans un ballon de 500 ml aux micro-ondes.

**4. Irradiation par micro-ondes** : le ballon est introduit dans un four à micro-ondes de type LG dont tous les paramètres sont réglables (Figure 2.4). On utilise un système fermé (ballon, réfrigérateur et condensateur) pour éviter les pertes de solvants. Les paramètres réglables sont : le temps et la puissance d'irradiation.



**Figure 2.4** : Photographie de l'installation d'extraction par micro-onde (Laboratoire pédagogique d'extraction, Bloc C, Ex-ISV, Université Blida 1).

**5. Filtration, évaporation du solvant et récupération de l'extrait** : après une durée de chauffage bien précise au four micro-ondes, le ballon est récupéré ensuite son contenu est filtré à l'aide de papier filtre Wattman n°1. Le filtrat contenant le solvant et les molécules extraites est récupéré, le solvant est évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif et l'extrait est récupéré.

**6. Conservation de l'extrait** : les concrètes sont introduites dans des flacons en verre recouverts avec du papier aluminium et congelées à -20°C.

### 2.2.2. Optimisation du procédé d'extraction en moyennant l'intelligence artificielle

Lors de cette étude nous avons utilisé un algorithme d'intelligence artificielle de type ANFIS, le présent choix est basé sur l'efficacité que cette méthode a déjà montré lors de l'optimisation des procédés d'extraction [71-73].

#### 2.2.2.1. Les facteurs à optimiser

Les facteurs à optimiser sont donnés dans le tableau ci-dessus.

**Tableau 2.1** : les facteurs à optimiser.

N°	Facteurs	Abréviation	Unité	Niveaux		
				Bas (-1)	Contre (0)	Haut (+1)
Facteur 1	Puissance d'irradiation	X1	Watt (W)	400	700	1000
Facteur 2	RatioLiquide:Solide	X2	-	10 : 1	20 : 1	30 : 1
Facteur 3	Temps d'irradiation	X3	Minutes (min)	10	20	30

#### 2.2.2.2. Matrice des essais

La matrice des essais présentant toutes les conditions expérimentales est donnée dans le tableau 2.2. Cette matrice est basée sur une modélisation de type RSM (Response Surface Methodology) pour un plan d'expérience composite centré à trois facteurs et trois niveaux.

**Tableau 2.2** : Matrice des essais.

N°	X1	X2	X3	Puissance (W)	Ratio Liquide : Solide	Temps (min)
1	+1	+1	+1	1000	30 : 1	30
2	-1	+1	+1	400	30 : 1	30
3	+1	-1	+1	1000	10 : 1	30
4	-1	-1	+1	400	10 : 1	30
5	+1	+1	-1	1000	30 : 1	10
6	-1	+1	-1	400	30 : 1	10
7	+1	-1	-1	1000	10 : 1	10
8	-1	-1	-1	400	10 : 1	10
9	+1	0	0	1000	20 : 1	20
10	-1	0	0	400	20 : 1	20
11	0	+1	0	700	30 : 1	20
12	0	-1	0	700	10 : 1	20
13	0	0	+1	700	20 : 1	30
14	0	0	-1	700	20 : 1	10
15	0	0	0	700	20 : 1	20
16	0	0	0	700	20 : 1	20
17	0	0	0	700	20 : 1	20

### 2.2.2.3. Outil informatique utilisé et application de la méthode

Le logiciel utilisé lors de cette étude est **Matlab** version R2015a. L'outil GENFIS est appliqué après avoir introduit les données d'entrées (facteurs X1, X2 et X3) et les données de sorties qui sont les rendements de chaque extraction.

La réponse étudiée lors de cette optimisation est le rendement de chaque extraction en pourcentage.

### 2.3. Caractérisation des extraits

Les 17 extraits obtenus ont été étudiés en calculant leurs rendements et en mesurant les taux de polyphénol totaux et l'activité antioxydante in-vitro.

### 2.3.1. Calcul du rendement

Le rendement de l'extraction pour chaque essai a été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$R (\%) = \frac{\text{Poids de l'extrait obtenu}}{\text{Poids de la matière végétale totale.}} \cdot 100$$

Le poids de l'extrait sec est calculé comme la différence entre le poids du flacon plein et le poids du flacon vide (après élimination du solvant par évaporation rotative).

### 2.3.2. Dosage des Polyphénols totaux

La teneur en polyphénols contenue dans les extraits de *M. azedarach* a été déterminée selon la méthode de Nait bachir et al en utilisant comme réactif révélateur le Folin-Ciocalteu. Une solution de 0.25 ml de réactif de Folin diluée dix fois ainsi que 2.5 ml de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 7% est ajoutée à 0.25 ml d'extrait végétal (dont la concentration de l'extrait est de l'ordre de 1 mg/ml). La solution réactionnelle est laissée au repos pendant 1h30 à température ambiante et à l'obscurité totale. La même opération est effectuée pour chaque extrait à tester. Après le temps d'incubation, l'absorbance de tous les extraits a été mesurée par un spectrophotomètre UV-visible à 760 nm par rapport au blanc mesuré en absence d'extrait [74].

Dans les mêmes conditions expérimentales que pour les extraits végétaux, une courbe d'étalonnage a été réalisée à partir d'une gamme de concentrations de solution d'acide gallique préalablement préparée (de 1 à 0.0035 mg/ml). Les données sont exprimées en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg GAE/g d'extrait).

La présente méthode est basée sur un dosage colorimétrique. Le réactif de folin qui est de couleur jaune devient bleu lors de sa complexation avec les fonctions OH contenues dans les polyphénols (Figure 2.5).



**Figure 2.5** : Photographie montrant le changement de couleurs lors du dosage des polyphénols totaux.

### 2.3.3. Évaluation de l'activité antioxydante in-vitro

L'activité antioxydante des feuilles de *M. azedarach* a été évaluée par une analyse colorimétrique simple et classique, la plus communément utilisée pour évaluer le pouvoir de piégeage du radical libre DPPH.

#### 2.3.3.1.Principe

Le DPPH est fréquemment utilisé pour étudier la capacité d'un composé à combattre les radicaux libres et évaluer l'efficacité des antioxydants d'un extrait. Le DPPH•+ (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl), un radical synthétique de couleur violette intense, stable à température ambiante et en solution, est dégradé pour tester la capacité d'une substance à piéger les radicaux libres. Les anti-oxydants provoquent la saturation de la couche électrique de ce radical, ce qui explique la disparition de sa couleur. Les composants phénoliques des extraits diminuant le radical, résultent en un changement de couleur par spectrophotométrie à 517 nm, ce qui explique la capacité de l'extrait végétal à le piéger [75].

#### 2.3.3.2.Procédure

La mesure de l'activité antioxydante des différents extraits par le test DPPH a été réalisée par la méthode de Brand-Williams et al, avec quelques adaptations. La solution DPPH (0.04 g/l) est préalablement préparée et laissée au repos pendant deux heures dans un réfrigérateur, à l'obscurité. Cinq dilutions de chaque extrait ont été préparées en utilisant du méthanol : 2.5, 2, 1.5, 1, 0.5 mg/ml (Figure 2.6).

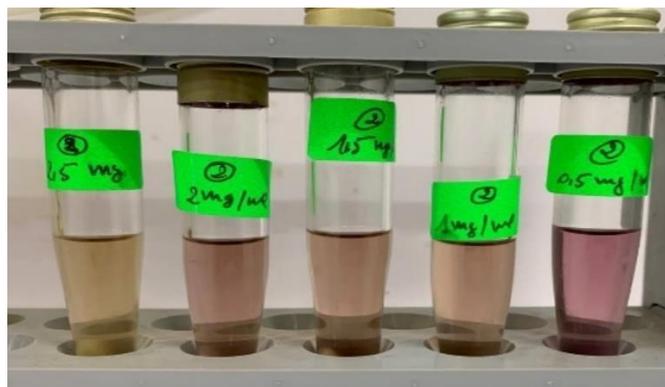
Une prise de 0.5 ml de chaque échantillon dilué est mélangée à 3 ml d'une solution de DPPH. Le mélange a ensuite été incubé dans l'obscurité pendant 45 minutes.

L'absorbance de chaque extrait a été mesurée à 517 nm afin de calculer la diminution du DPPH•+. Le pourcentage d'inhibition de l'oxydation des radicaux causée par les concentrations d'extraits de *M. azedarach* a été calculé pour évaluer l'effet de piégeage des radicaux libres à l'aide de la formule ci-dessous [76] :

$$\{AA\% \} = ((A_{\{0\}} - A_{\{S\}}) / \{A_{\{0\}}\}) \times 100$$

Où :

- $A_{\{0\}}$  est l'absorbance de la solution de DPPH sans extrait (témoin).
- $A_{\{S\}}$  est l'absorbance de la solution de DPPH avec l'extrait de plante.



**Figure 2.6 :** Photographie montrant le changement de couleurs lors de l'évaluation de l'activité antioxydante.

## 2.4. Formulation et caractérisation d'un gel buvable à base de l'extrait obtenu

### 2.4.1. Proposition de la composition du gel buvable

Le gel buvable est composé principalement de 6 matières premières toutes naturelles à 100%, le tableau ci-dessous représente les différentes matières premières en précisant leurs rôles dans la formulation.

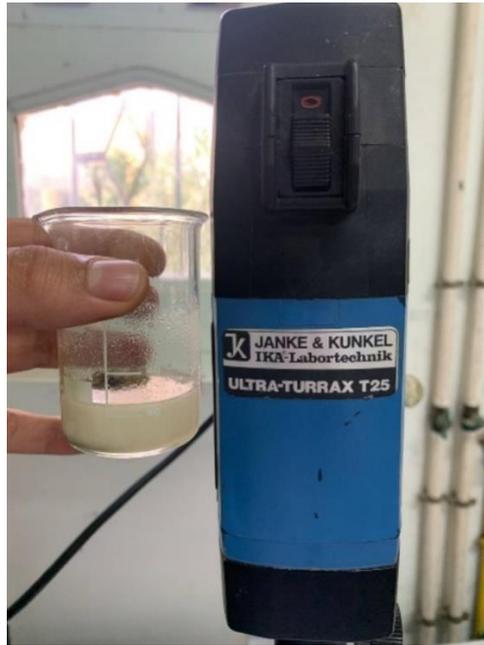
**Tableau 2.3 :** Liste des matières premières utilisées pour la formulation.

N°	Nom de la matière première	Rôle	Remarque
1	Pectine de pomme	Agent gélifiant [94]	Variable
2	Chlorure de calcium	Agent réticulant [95]	Variable
3	Glycérol	Agent humectant [96]	Fixe
4	Extrait de <i>Melia Azedarach</i>	Principe actif [97]	Fixe
5	Acide citrique	Conservateur [98]	Fixe
6	Eau distillée	Diluant	QSP

### 2.4.2. Procédé de formulation

Le procédé de formulation utilisé est une combinaison entre un procédé physique de dispersion qui est l'Ultra-turrax et la gélification ionique faisant intervenir les cations de calcium  $Ca^{++}$  et les charges négatives réparties tout au long des chaînes polymériques de la pectine [77].

Les différents composés sont mélangés dans un ordre bien précis et homogénéisé à froid à l'aide de l'homogénéisateur Ultra-turrax T25 (Figure 2.7) pendant une durée de 15min.



**Figure 2.7 :** Homogénéisateur de type Ultra-turrax.

### 2.4.3. Optimisation du procédé de formulation

Cinq essais de formulations ont été réalisés, la composition de chaque formulation est donnée dans le tableau 2.4. Le choix des essais est basé sur un plan d'expérience Factoriel Complet avec deux niveaux, deux facteurs et un point au centre.

**Tableau 2.4 :** Matrice des essais de formulation des gels.

N°	Facteur 1	Facteur 2	Composants fixes			
	X1	X2	Principe actif (Extrait)	Agent humectant (Glycérol)	Conservateur (Acide citrique)	Diluant (eau distillée)
1	8%	3%	1%	5%	0.2%	82.8%
2	2%	3%	1%	5%	0.2%	88.8%
3	8%	1%	1%	5%	0.2%	84.8%
4	2%	1%	1%	5%	0.2%	90.8%
5	5%	2%	1%	5%	0.2%	86.8%

## 2.4.4. Caractérisation des gels buvables

### 2.4.4.1. Tests organoleptiques

Lors de cette étape nous avons évalué la couleur, l'odeur et la texture des gels obtenus.

### 2.4.4.2. Détermination de la bio-adhésion des gels buvables sur la musques digestive

Cette caractéristique est la réponse étudiée dans le plan d'expérience de type PFC  $2^{2+1}$  préalablement proposé.

La figure 2.8 représente le système mis en place pour les mesures des forces de bio-adhésion.



**Figure 2.8 :** Système mis en place pour les mesures des forces de bio-adhésion.

#### **Principe de fonctionnement :**

Un intestin de souris bien hydraté est immobilisé sur une lame en verre et maintenu à 37°C.

Une lamelle en verre de 1 cm<sup>2</sup> est liée à une boîte par un fil est suspendue à l'aide d'une poulie.

Lors de l'essai de bio-adhésion le gel est appliqué sur la lamelle, cette dernière est soigneusement posée sur l'intestin, ensuite on commence à remplir la boîte avec du sable fin jusqu'au décollement de la lamelle de l'intestin.

La masse (m) de la boîte remplie de sable est déterminée à l'aide d'une balance de précision et la force de bio-adhésion est calculée en utilisant l'équation suivante [78] :

$$P = m \cdot g$$

Où :

- P est la force de bio-adhésion en Newton (N),
- m est la masse nécessaire pour le décollement de la lamelle de l'intestin en kilogramme (Kg),
- g est la gravité terrestre qui est égale à (9,81 N/ kg à Alger).

## 2.5. Evaluation de l'effet cicatrisant de l'extrait et du gel buvable sur la muqueuse gastrique

### 2.5.1. Design expérimental

24 souris de souche NMRI ont été réparties en 4 lots de 6 souris chacun. Le design expérimental de cette étude in-vivo est donné dans le tableau suivant [79] :

**Tableau 2.5** : Design expérimental de l'étude in-vivo.

N° du groupe	Nombre de souris	Nom du groupe	Gavage a t0	Gavage à t0+30min	Sacrifice à t0+4h30min
1	6	Témoin négatif	0.25 ml d'eau physiologique	0.1 ml d'éthanol absolu	Oui
2	6	Essai extrait	0.25 ml de solution d'extrait a 1%	0.1 ml d'éthanol absolu	Oui
3	6	Essai formulation e	0.25 ml de formulation F1	0.1 ml d'éthanol absolu	Oui
4	6	Essai placebo	0.25 ml de placebo de la formulation F1	0.1 ml d'éthanol absolu	Oui

### 2.5.2. Préparation des Solutions

Lors de cette étude in-vivo une solution d'extrait à 1% a été préparée et le placebo de la formulation utilisée (contenant de l'eau physiologique à la place de l'extrait) a également été préparé (Figure 2.9).



**Figure 2.9** : Photographie de la formulation placebo, la formulation contenant l'extrait et la solution d'extrait à 1% utilisées pour l'étude in-vivo.

### 2.5.3. Administration des traitements par gavage (Figure 2.10) :

À  $t_0$  : 0,25 ml de traitement (eau physiologique, extrait, formulation, placebo) sont administrés pour chaque groupe, respectivement (Groupe 1, 2, 3 et 4).



**Figure 2.10** : Photographie montrant le gavage intragastric des souris.

#### 2.5.4. Induction de l'ulcère par gavage de l'éthanol

30 minutes après l'administration des traitements ( $t_0 + 30 \text{ min}$ ) 0,1 ml d'éthanol absolu ont été administrés par voie orale à chaque souris pour induire l'ulcère gastrique.

#### 2.5.5. Sacrifice des souris, récolte des estomacs et prise des photos

Après 4 heures de l'administration d'éthanol ( $t_0 + 4\text{h}30 \text{ min}$ ) les souris sont sacrifiées par dislocation cervicale après étourdissement au chloroforme.

Les animaux sont disséqués (Figure 2.11) et leurs estomacs sont prélevés délicatement, rincés avec de l'eau physiologique, séchés avec du papier absorbant et bien étalés sur une surface plate pour les prendre en photo.

Après avoir correctement photographiés, les estomacs sont mis dans du formol à 10% pour une analyse histopathologique ultérieure.

#### 2.5.6. Calcule des indices d'ulcères et des pourcentages d'inhibition des ulcères [80]

Les photographies prises des différents estomacs sont analysées par traitement d'image en utilisant le logiciel image-J afin de déterminer les pourcentages de l'ulcère (PU) en utilisant l'équation suivante :

$$PU = \frac{\text{surface de l'ulcer}}{\text{surface totale de l'estomac}} \cdot 100$$

Les pourcentages d'inhibitions de l'ulcère sont calculés pour chaque groupe en utilisant l'équation suivante :

$$PI = \frac{PU_{\text{témoin négatif}} - PU_{\text{groupe traité}}}{PU_{\text{témoin négatif}}} \cdot 100$$



**Figure 2.11** : Dissection des souris.

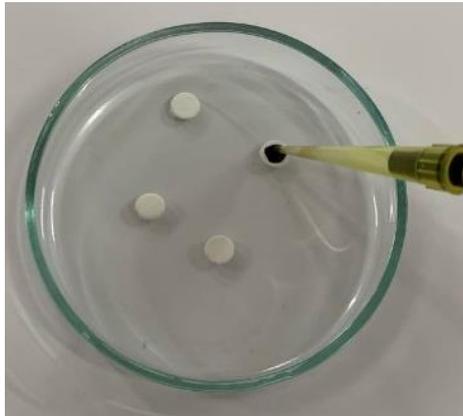
## 2.6. Évaluation de l'activité antimicrobienne in-vitro de l'extrait

### 2.6.1. Préparation de l'extrait végétal

- Peser 150 ou 300 mg de plante sèche et les placer dans un récipient stérile.
- Ajouter 200  $\mu\text{l}$  de DMSO et 800  $\mu\text{l}$  d'eau physiologique à la plante sèche.
- Mélanger soigneusement jusqu'à obtention d'une solution homogène.

### 2.6.2. Méthode de diffusion sur disque [81]

- Préparer des disques stériles de papier Wattman de 6 mm de diamètre.
- Placer les disques sur un milieu Muller Hinton (MH) préalablement coulés dans des boîtes de Pétri.
- Déposer 10  $\mu\text{l}$  de chaque extrait végétal sur les disques de papier.
- Incuber les boîtes de Pétri à 37°C pendant 24 heures.
- Après incubation, mesurer le diamètre des halos d'inhibition autour des disques.
- Réaliser chaque expérience en triplicata pour assurer la fiabilité des résultats.



**Figure 2.12** : Disques pour microbiologie vierges imbibés d'extrait.

## Chapitre 3 : Résultats et discussion

### 3.1. Optimisation du rendement d'extraction des molécules bioactives de *M. azedarach* par intelligence artificielle ANFIS

#### 3.1.1. Structure de l'ANFIS (Système Inférentiel Neuro-Fuzzy Adaptatif)

La structure de l'ANFIS est donnée dans la figure 3.1. Les composantes du réseau intelligent sont détaillées ci-dessous.

Nombre de nœuds : 78

Nombre de paramètres linéaires : 27

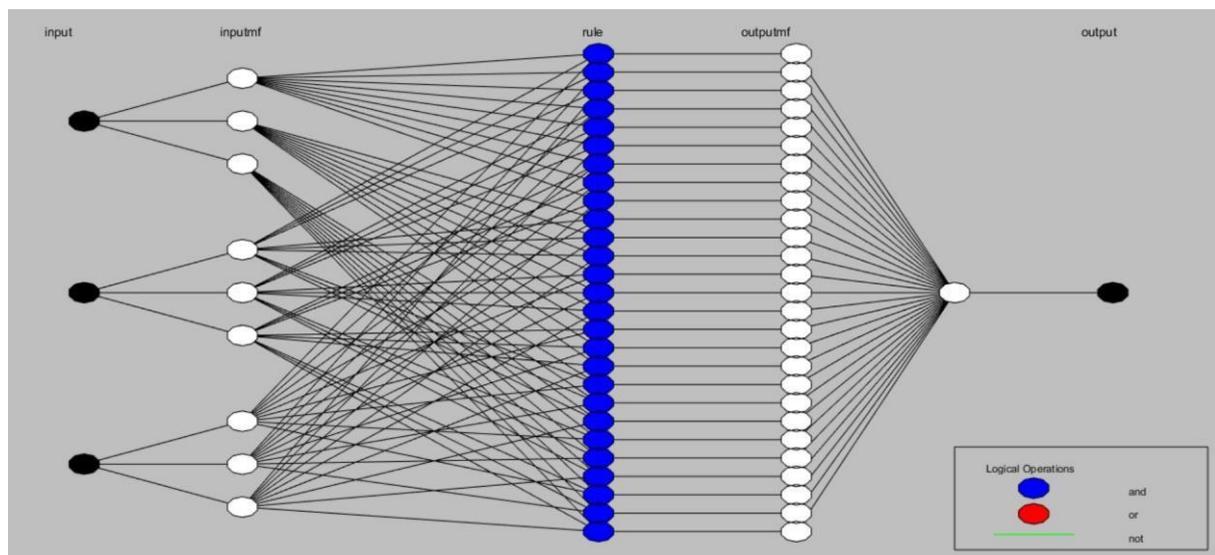
Nombre de paramètres non linéaires : 27

Nombre total de paramètres : 54

Nombre de paires de données d'entraînement : 17

Nombre de paires de données de vérification : 0

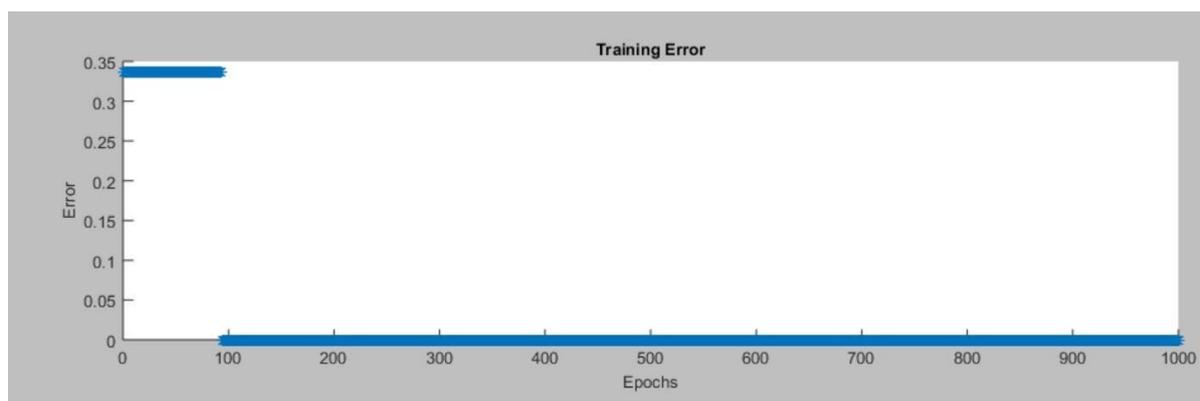
Nombre de règles floues : 27



**Figure 3.1** : La structure de l'ANFIS (Système Inférentiel Neuro-Fuzzy Adaptatif).

#### 3.1.2. Erreur d'entraînement

Le pourcentage d'erreur est de 0.35% pour des époques 93, au-delà de cette époque l'erreur sera très proche de 0. La figure 3.2 représente l'évolution de l'erreur d'entraînement en fonction des époques.



**Figure 3.2 :** Evolution de l'erreur d'entraînement en fonction des époques.

### 3.1.3. Matrice des réponses (sorties) et comparaison entre les valeurs expérimentales et les valeurs prédites

La matrice de conception de l'ANFIS (valeurs expérimentales et prédites) sont données dans le tableau ci-dessous. Les conditions optimales pour l'extraction des molécules bioactives contenues dans notre plante sont les suivantes : **Puissance d'irradiation de 400 W, 30 min d'extraction et un ratio liquide : solide de 30 : 1.**

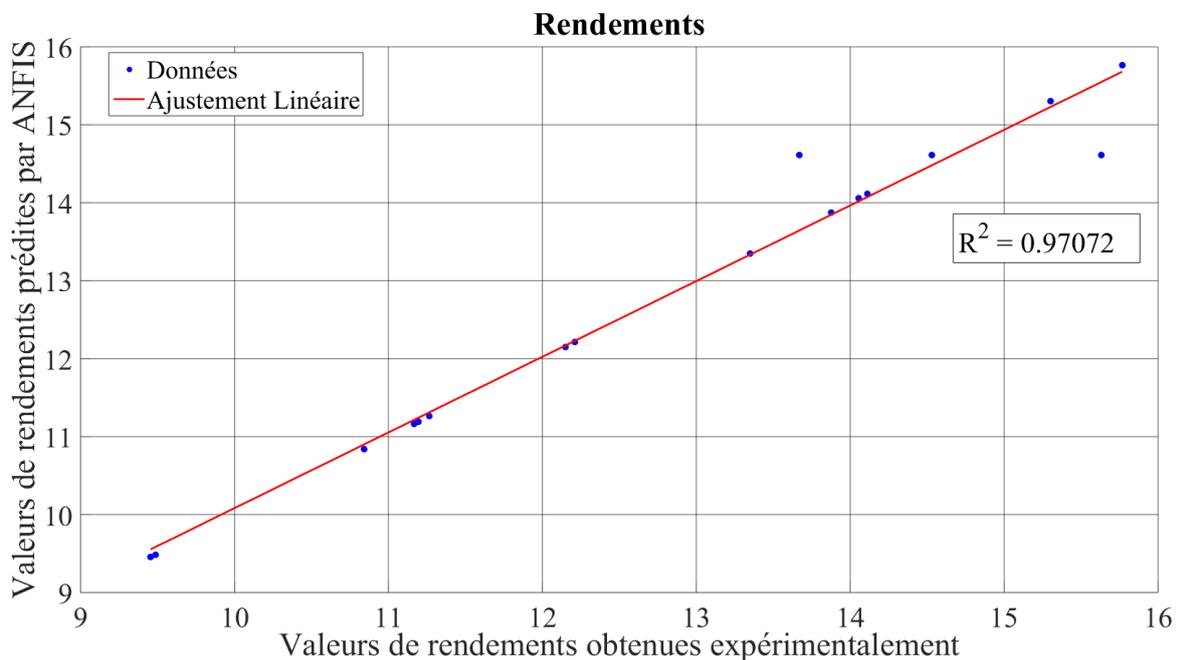
**Tableau 3.1 :** Matrice de conception de l'ANFIS.

Puissance d'irradiation (W)	Le temps (min)	Ratio	Rendement expérimental %	Rendement prédit par ANFIS %
1000	30	30	14.055 %	14,057 %
<b>400</b>	<b>30</b>	<b>30</b>	<b>15.766 %</b>	<b>15,766 %</b>
1000	10	30	11.165 %	11,169 %
400	10	30	11.195 %	11,193 %
1000	30	10	11.266 %	11,266 %
400	30	10	12.211 %	12,211 %
1000	10	10	9.485 %	9,500 %
400	10	10	9.455 %	9,531 %
1000	20	20	13.35 %	13,001 %
400	20	20	14.11 %	14,614 %

700	30	20	13.876 %	13,876 %
700	10	20	10.84 %	10,932 %
700	20	30	15.3 %	15,234 %
700	20	10	12.15 %	12,702 %
700	20	20	14.53 %	<b>14,61 %</b>
700	20	20	13.67 %	<b>14,61 %</b>
700	20	20	15.63 %	<b>14,61 %</b>

La figure 3.3 représente graphiquement une comparaison des rendements observés et prédits avec un coefficient de corrélation  $R^2$  de l'ordre de 0.97072.

A partir des résultats présentés dans le tableau 3.1 et la figure 3.3 on déduit que les résultats obtenus présentent de très bonnes corrélations entre eux mais les prédictions restent difficiles vu le nombre d'essais très faibles, nous devons augmenter le nombre d'essais à 93 (avancer dans les époques) pour minimiser l'erreur en augmentant l'apprentissage des phénomènes par l'intelligence artificielle ANFIS utilisée.



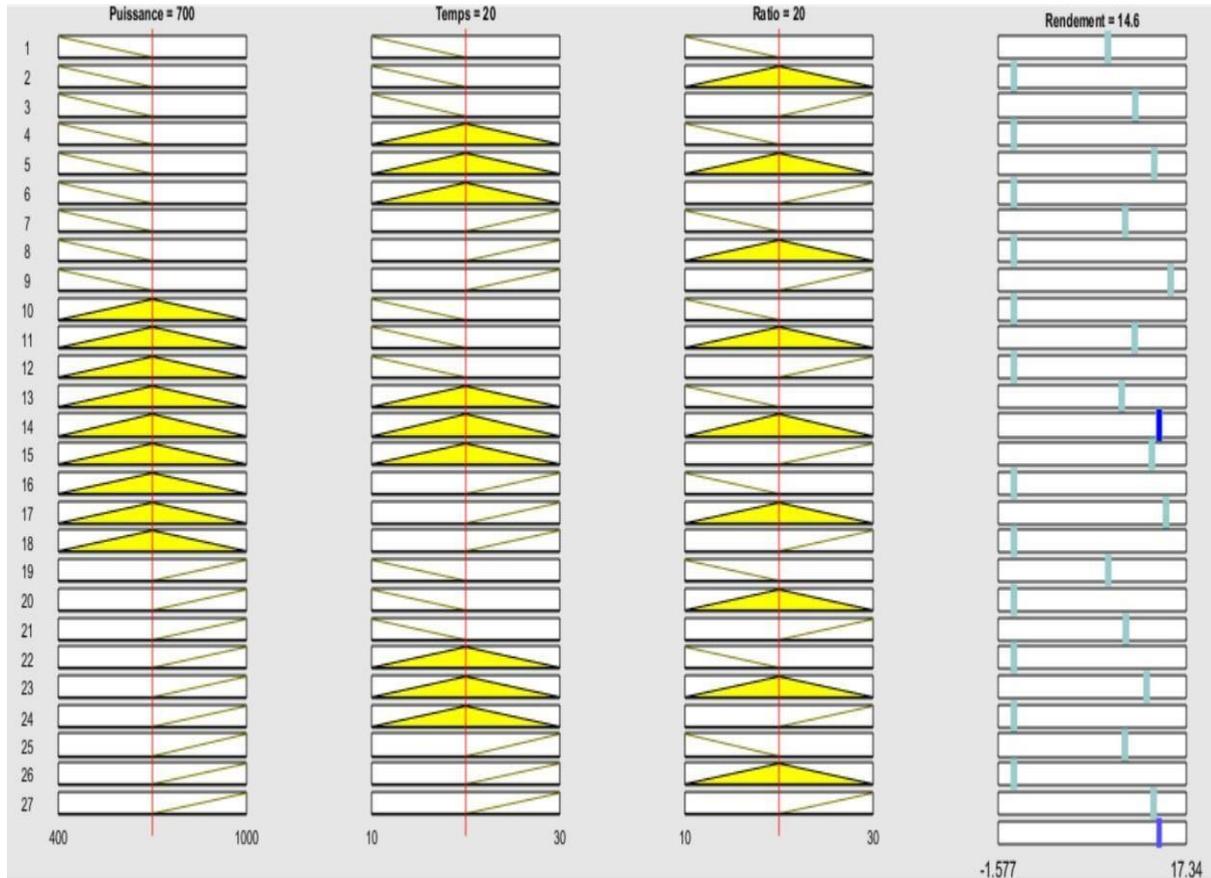
**Figure 3.3 :** Comparaison des rendements observés et prédits avec un coefficient de corrélation  $R^2$ .

### 3.1.4. Règles de l'ANFIS et surfaces de prédictions des sorties

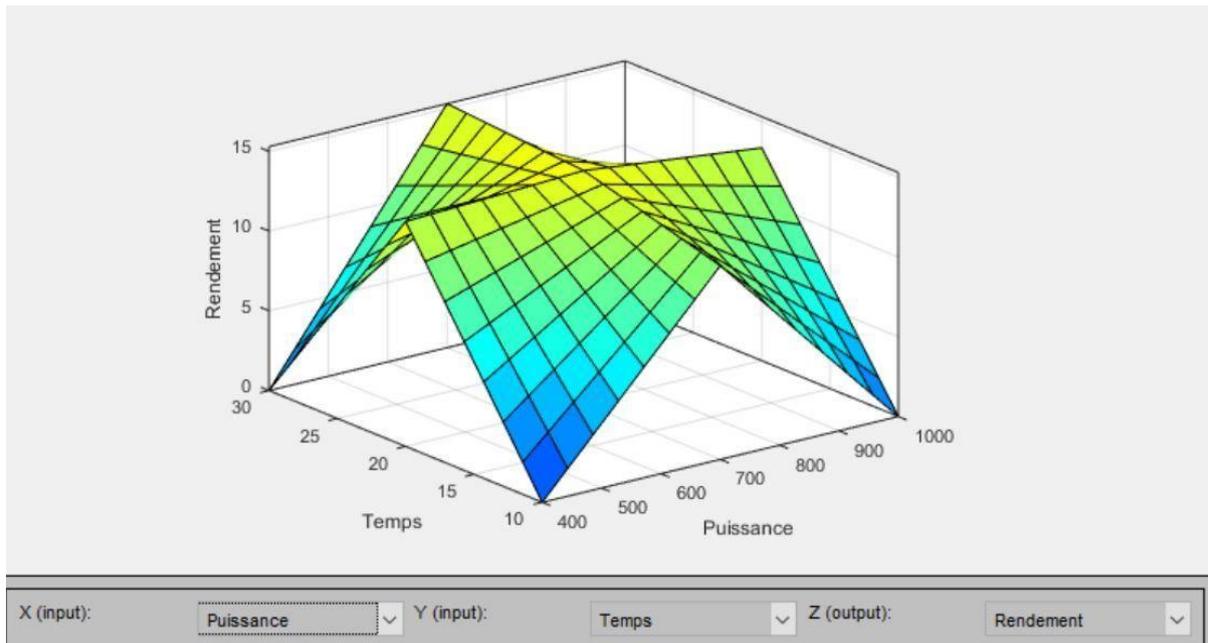
La figure 3.4 représente graphiquement les règles de l'ANFIS qui nous permettent de générer les surfaces de prédiction de notre sortie étudiée (le rendement de l'extraction). Les figures

3.5, 3.6 et 3.7 permettent de visualiser en 3D les règles de l'ANFIS.

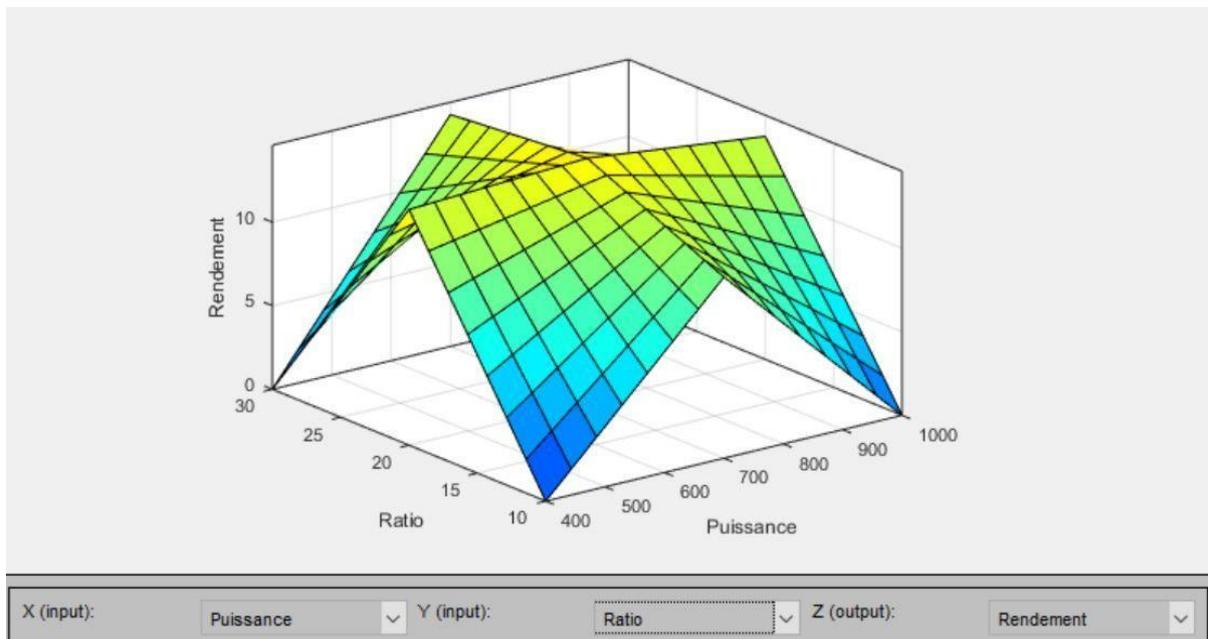
De manière générale les représentations des règles de l'ANFIS sous formes de surfaces nous permettent de conclure que les valeurs centrales des facteurs étudiés sont les conditions optimales pour la puissance de chauffage. Par contre, le facteur le plus influent reste le ratio liquide : solide.



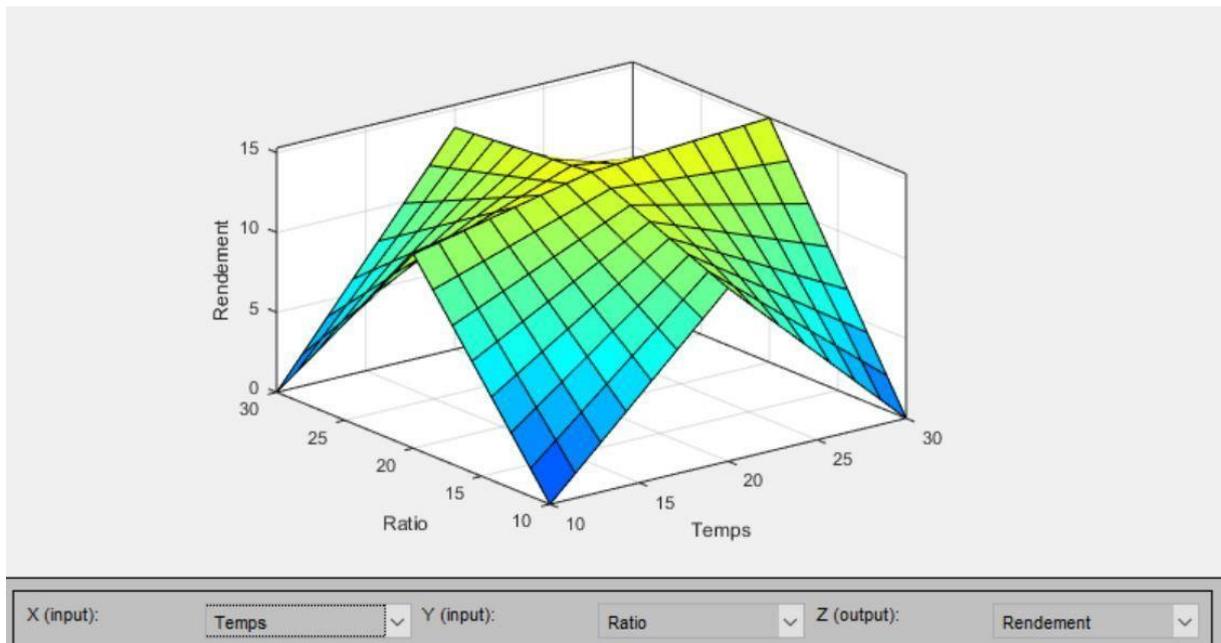
**Figure 3.4** : Les règles de l'ANFIS.



**Figure 3.5 :** Surface de sortie de l'ANFIS « rendement » en fonction de la puissance et le temps.



**Figure 3.6 :** Surface de sortie de l'ANFIS « rendement » en fonction de la puissance et le ratio.

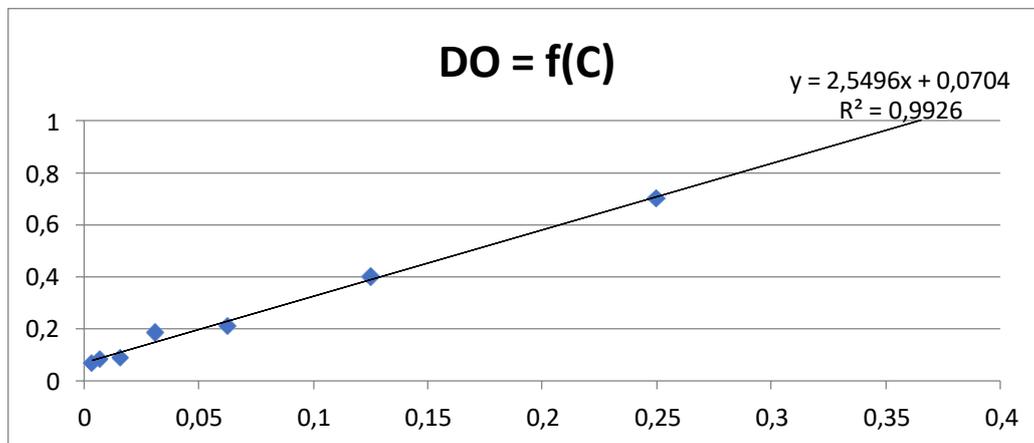


**Figure 3.7 :** Surface de sortie de l'ANFIS « rendement » en fonction du temps et du ratio.

### 3.2. Caractérisation des extraits obtenus

#### 3.2.1. Dosage des polyphénols totaux

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour la quantification des polyphénols dans les différents extraits obtenus est donnée dans la figure 3.8.



**Figure 3.8** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

### 3.3. Préparation et caractérisation du gel

La photographie des différents gels obtenus est donnée dans la figure 3.9.



**Figure 3.9** : Formulation des 5 gels à base d'extrait de *M.azedarach*.

### 3.3.1. Propriétés organoleptiques des gels buvables

Les résultats des analyses sensoriels et organoleptiques sont donnés dans le tableau 3.4.

**Tableau 3.2 :** Propriétés organoleptiques des gels buvables obtenus.

Caractéristiques	Formulation 1	Formulation 2	Formulation 3	Formulation 4	Formulation 5
Couleur	Verte	Verte	Verte	Verte	Verte
Odeur	Caractéristique de la plante				
Texture	Moyennement visqueuse	Moyennement visqueuse	Visqueuse	Moyennement visqueuse	Visqueuse
Acceptabilité	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable	Acceptable
Stabilité après 24h	Stable	Stable	Stable	Stable	Stable

### 3.3.2. Analyse de la bio-adhésion

Les résultats des mesures de forces de bio-adhésions en Newton sont donnés dans le tableau 3.5. La formulation 5 a montré la plus grande bio-adhésion qui est de l'ordre de 0.252 N.

**Tableau 3.3 :** Les forces de bio-adhésions pour les gels buvables obtenus.

Formulations	Masse (Kg)	Force de bio-adhésion(N)
1	0,0132	0,129492
2	0,0139	0,136359
3	0,021	0,20601
4	0,015	0,14715
<b>5</b>	<b>0,0257</b>	<b>0,252117</b>

### 3.4. Evaluation de l'effet cicatrisant et gastro-protecteur de l'extrait et du gel buvable sur la muqueuse gastrique

Les résultats de l'activité biologique in-vivo sont donnés dans le tableau 3.6. La figure 3.10 présente également les photographies des estomacs des différents groupes de souris.

**Tableau 3.4** : Résultats de l'activité gastro-protectrice in-vivo.

Groupes	Macroscopiques	
	Pourcentages de l'ulcère (%)	Pourcentages d'inhibitions (%)
Groupe 1	98.25±2.17	
Groupe 2	14.73± 0.18	71.71±2.43
Groupe 3	0.05± 0.25	99.76±2.54
Groupe 4	62.9± 3.26	33.85±1.61

Sur la figure 3.10 (E) on observe la photographie d'un estomac physiologique dont la muqueuse est de couleur beige clair, parfaitement intacte et ne présente aucune lésion.

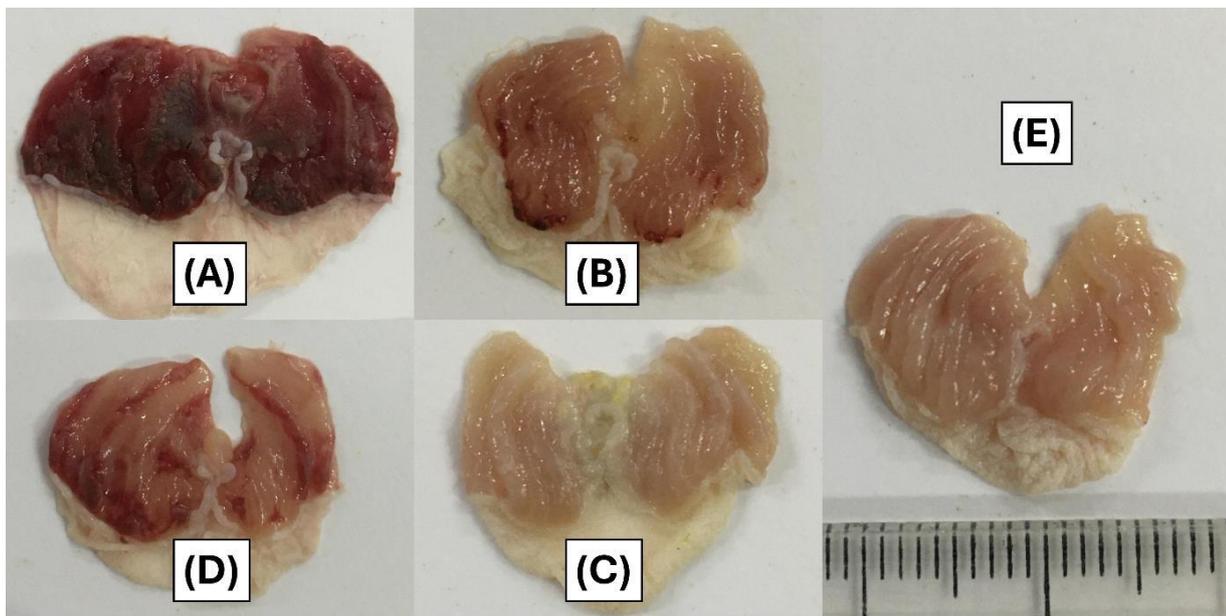
La figure 3.10 (A) présente un muqueux complètement inflammé de couleur rouge vif ainsi que des zones hémorragiques (saignement) et des nécroses (zones très sombres).

Sur la photographie 3.10 (B) on observe de légères ulcérations sur une partie de l'estomac ( $14.73 \pm 0.18$  % de la surface de l'estomac), la dose de 100 mg/kg d'extrait a permis un pourcentage d'inhibition de l'ulcère de l'ordre de  $71.71 \pm 2.43\%$ .

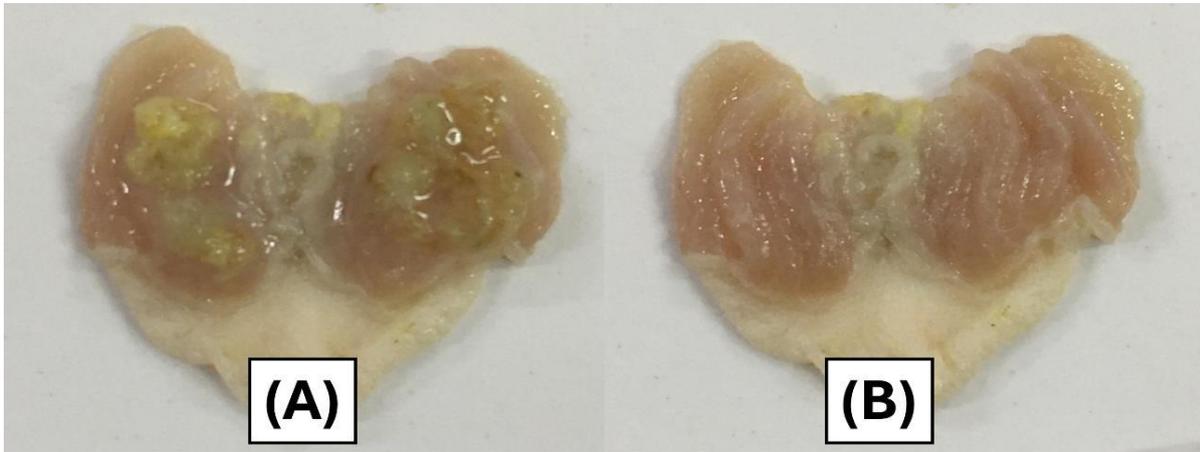
Sur la photographie 3.10 (D) on observe que le placebo a lui aussi présenté un effet gastro-protecteur qui a permis un pourcentage de l'ulcère de l'ordre de  $71.71 \pm 2.43\%$ .

Sur la figure 3.10 (C) nous avons pu observer un estomac intact sans aucune lésion. Lors de la dissection et l'ouverture de l'estomac nous avons observé que la muqueuse gastrique était tapissée de gel contenant les molécules bioactive (figure 3.11 (A)).

**Figure 3.10** : Observation macroscopique des ulcères pour chaque lot.



**Figure 3.11** : Observation du phénomène de bio-adhésion in-vivo lors de la dissection et l'ouverture de l'estomac.

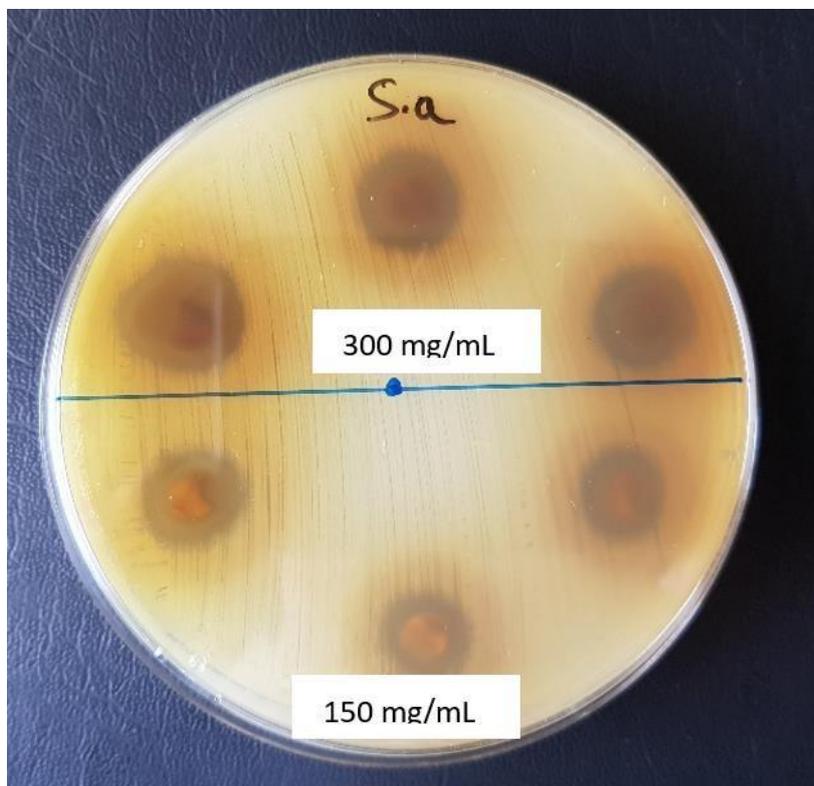


A partir des résultats obtenus nous avons pu conclure plusieurs nouveaux résultats qui ne figurent pas dans la bibliographie à savoir :

- L'extrait éthanolique de *Melia azedarach* permet une bonne protection de la muqueuse gastrique à une dose de 100 mg/kg.
- La nouvelle formulation développée 100 % bio nous a permis d'améliorer l'efficacité thérapeutique de notre extrait et d'atteindre une protection qui avoisine le 100%.
- Le placebo seul a également présenté un léger effet gastro-protecteur. Effectivement, la pectine de pommes contenue dans la formulation permet une bio-adhésion à la muqueuse gastrique, cette dernière est favorisée par la présence d'ions de calcium contenus dans la formulation qui favorisent la formation de ponts entre la pectine réticulée et l'épithélium de l'estomac [82].

### 3.5. Activité antimicrobienne de l'extrait de *Melia azedarach*

Les résultats de l'activité antimicrobienne in-vitro sont donnés dans le tableau 3.7 et illustrés dans la figure 3.12. Les valeurs sont représentées sous forme de diamètre d'inhibition  $\pm$  écart type de trois mesures indépendantes.



**Figure 3.12:** Les zones d'inhibition des extraits de *M. azedarach* contre la souche *S. aureus* en fonction des concentrations.

**Tableau 3.5 :** Diamètre de la zone d'inhibition (mm) des extraits de *M. azedarach* en fonction des concentrations.

S. aureus	Concentration (mg/mL)	
	150	300
Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	<b>09,43<math>\pm</math>0,62</b>	<b>14,2<math>\pm</math>2,55</b>

Les plantes médicinales sont fréquemment utilisées dans la médecine populaire comme remèdes contre de nombreuses maladies infectieuses (infections intestinales, paludisme, tuberculose, etc). C'est pour cela que la recherche d'antimicrobiens à partir de sources

naturelles a fait l'objet d'une grande attention. Les antibiotiques de synthèse sont largement prescrits et parfois de manière inappropriée, ce qui peut entraîner la sélection de souches multi-résistantes, augmentant le risque d'infections microbiennes et compliquant le traitement de maladies graves qui deviennent résistantes à de nombreux antibiotiques couramment utilisés [83-85]. Bien que l'industrie pharmaceutique ait produit un certain nombre de nouveaux médicaments antimicrobiens au cours des dernières années, la résistance des microorganismes à ces médicaments a augmenté car les bactéries ont la capacité génétique de transmettre et d'acquérir une résistance aux médicaments utilisés comme agents thérapeutiques. Par conséquent, la recherche de nouvelles substances phytochimiques dérivées de produits végétaux servant de prototype pour développer des médicaments moins toxiques et plus efficaces dans la lutte contre les maladies infectieuses par le contrôle de la croissance des micro-organismes est devenu une nécessité urgente. De nombreuses substances organiques, en particulier les dérivés phénoliques, se sont avérées avoir des propriétés antibactériennes considérables. Dans ce contexte, nous discutons de nos recherches sur l'extrait méthanolique de *M. azedarach*, une plante attrayante utilisée à des fins thérapeutiques contre une bactérie à Gram positif qui est la *Staphylococcus aureus* pour tester l'activité antibactérienne de cet extrait [86].

La méthode de diffusion sur disque a été utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de l'extrait de feuilles de *M. azedarach*. Un extrait est considéré comme actif lorsqu'il produit une zone d'inhibition d'un diamètre d'au moins 10 mm, selon la littérature [87].

L'activité antibactérienne de la plante est attribuée à ces métabolites secondaires, principalement à sa teneur en polyphénols. La présence de tanins, de triterpénoïdes, d'alcaloïdes et de flavonoïdes à savoir l'hyperoside et la quercétine [88] qui pourraient avoir des effets physiologiques sur le corps humain, notamment un effet antibactérien, pourrait être utilisée pour soutenir cette activité antimicrobienne [89].

## ***Conclusion***

L'optimisation des procédés d'extraction des molécules bioactives de *Melia azedarach* par l'application de l'intelligence artificielle, notamment via le Système Inférentiel Neuro-Fuzzy Adaptatif (ANFIS), ouvre de nouvelles perspectives dans le domaine de la phytothérapie et de la formulation de produits thérapeutiques. Ce travail a démontré que l'utilisation de l'ANFIS permet de modéliser et d'optimiser les conditions d'extraction, maximisant ainsi le rendement des composés bioactifs de cette plante.

Les résultats obtenus révèlent que les conditions optimales d'extraction par micro-ondes incluent une puissance d'irradiation de 400 W, un temps d'extraction de 30 minutes et un ratio liquide : solide de 30:1. Ces paramètres ont permis d'obtenir des rendements significativement élevés, validés par une corrélation robuste entre les valeurs expérimentales et les valeurs prédites par l'ANFIS, avec un coefficient de corrélation  $R^2$  de 0,97072.

La caractérisation des extraits a montré une variabilité notable dans les taux de polyphénols totaux et l'activité antioxydante. Les essais ont révélé que certains extraits, notamment ceux obtenus dans des conditions optimisées, présentaient des concentrations élevées de polyphénols et une forte activité antioxydante. Ces résultats soulignent l'importance de l'optimisation des paramètres d'extraction pour améliorer la qualité des extraits.

En outre, les formulations de gels à base d'extraits de *Melia azedarach* ont démontré des propriétés organoleptiques acceptables, une bio-adhésion significative et une stabilité après 24 heures. L'évaluation in vivo de l'effet gastro-protecteur a révélé une protection quasi totale de la muqueuse gastrique, confirmant le potentiel thérapeutique des extraits. L'effet protecteur du gel est attribué à la bio-adhésion facilitée par les ions de calcium, qui forment des ponts avec la pectine réticulée.

L'activité antimicrobienne des extraits de *Melia azedarach* a également été confirmée, avec des zones d'inhibition significatives contre *Staphylococcus aureus*. La présence de métabolites secondaires, tels que les polyphénols, tanins, triterpénoïdes, alcaloïdes et flavonoïdes, contribue à cette activité, offrant une alternative prometteuse aux antibiotiques de synthèse face à la résistance microbienne croissante.

En conclusion, ce travail a mis en lumière l'efficacité de l'IA pour optimiser les procédés d'extraction des molécules bioactives et a démontré le potentiel thérapeutique des extraits de *Melia azedarach* dans des formulations cicatrisantes et antimicrobiennes. Les résultats obtenus ouvrent la voie à des applications cliniques potentielles et au développement de nouveaux produits thérapeutiques basés sur des extraits de plantes optimisés par des technologies avancées. Pour aller plus loin, il serait pertinent d'augmenter le nombre d'essais afin de renforcer la robustesse des prédictions de l'ANFIS et d'explorer d'autres plantes médicinales avec des approches similaires pour diversifier les applications thérapeutiques.

### **Références bibliographiques :**

- [1] J.-C. Létard *et al.*, “Phytothérapie – Principes généraux,” *Hegel*, vol. 1, no. 1, pp. 29–35, Jan. 2015, doi: 10.3917/HEG.051.0029.
- [2] N. Soualeh and R. Soulimani, “Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts,” *Phytotherapie*, vol. 14, no. 1, pp. 44–57, Feb. 2016, doi: 10.1007/s10298-016-1024-9.
- [3] H. H. Al Mamari, “Phenolic Compounds: Classification, Chemistry, and Updated Techniques of Analysis and Synthesis,” Feb. 2022, doi: 10.5772/INTECHOPEN.98958.
- [4] S. Desmet, K. Morreel, and R. Dauwe, “Origin and Function of Structural Diversity in the Plant Specialized Metabolome,” *Plants (Basel)*, vol. 10, no. 11, Nov. 2021, doi: 10.3390/PLANTS10112393.
- [5] T. Pinto *et al.*, “Bioactive (Poly)phenols, Volatile Compounds from Vegetables, Medicinal and Aromatic Plants,” *Foods 2021, Vol. 10, Page 106*, vol. 10, no. 1, p. 106, Jan. 2021, doi: 10.3390/FOODS10010106.
- [6] Z. El Astal, “The inhibitory action of aqueous garlic extract on the growth of certain pathogenic bacteria,” *European Food Research and Technology*, vol. 218, no. 5, pp. 460–464, Apr. 2004, doi: 10.1007/S00217-003-0864-3.
- [7] Mondall, N. & Mojumdar, A. & Chatterje, S. & Banerjee, Arnab & Datta, Jayanta & Gupta, Srimanta. (2009). Antifungal activities and chemical characterization of Neem leaf extracts on the growth of some selected fungal species in vitro culture medium. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management (ISSN: 1119-8362) Vol 13 Num 1.* 13.
- [8] S. Arbab *et al.*, “Comparative study of antimicrobial action of aloe vera and antibiotics against different bacterial isolates from skin infection,” *Vet Med Sci*, vol. 7, no. 5, p. 2061, Sep. 2021, doi: 10.1002/VMS3.488.
- [9] W. Liu, X. Chen, H. Li, J. Zhang, J. An, and X. Liu, “Anti-Inflammatory Function of Plant-Derived Bioactive Peptides: A Review,” *Foods 2022, Vol. 11, Page 2361*, vol. 11, no. 15, p. 2361, Aug. 2022, doi: 10.3390/FOODS11152361.
- [10] C. Tyavambiza, P. Dube, M. Goboza, S. Meyer, A. M. Madiehe, and M. Meyer, “Wound Healing Activities and Potential of Selected African Medicinal Plants and Their Synthesized Biogenic Nanoparticles,” *Plants 2021, Vol. 10, Page 2635*, vol. 10, no. 12, p. 2635, Nov. 2021, doi: 10.3390/PLANTS10122635.
- [11] J.-C. Létard *et al.*, “Phytothérapie – Principes généraux,” *Hegel*, vol. 1, no. 1, pp. 29–35, Jan.

2015, doi: 10.3917/HEG.051.0029.

- [12] N. Soualeh and R. Soulimani, "Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts," *Phytotherapie*, vol. 14, no. 1, pp. 44–57, Feb. 2016, doi: 10.1007/s10298-016-1024-9.
- [13] H. H. Al Mamari, "Phenolic Compounds: Classification, Chemistry, and Updated Techniques of Analysis and Synthesis," Feb. 2022, doi: 10.5772/INTECHOPEN.98958.
- [14] S. Desmet, K. Morreel, and R. Dauwe, "Origin and Function of Structural Diversity in the Plant Specialized Metabolome," *Plants (Basel)*, vol. 10, no. 11, Nov. 2021, doi: 10.3390/PLANTS10112393.
- [15] T. Pinto *et al.*, "Bioactive (Poly)phenols, Volatile Compounds from Vegetables, Medicinal and Aromatic Plants," *Foods 2021, Vol. 10, Page 106*, vol. 10, no. 1, p. 106, Jan. 2021, doi: 10.3390/FOODS10010106.
- [16] Z. El Astal, "The inhibitory action of aqueous garlic extract on the growth of certain pathogenic bacteria," *European Food Research and Technology*, vol. 218, no. 5, pp. 460–464, Apr. 2004, doi: 10.1007/S00217-003-0864-3.
- [17] Mondall, N. & Mojumdar, A. & Chatterje, S. & Banerjee, Arnab & Datta, Jayanta & Gupta, Srimanta. (2009). Antifungal activities and chemical characterization of Neem leaf extracts on the growth of some selected fungal species in vitro culture medium. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management (ISSN: 1119-8362) Vol 13 Num 1*. 13.
- [18] S. Arbab *et al.*, "Comparative study of antimicrobial action of aloe vera and antibiotics against different bacterial isolates from skin infection," *Vet Med Sci*, vol. 7, no. 5, p. 2061, Sep. 2021, doi: 10.1002/VMS3.488.
- [19] W. Liu, X. Chen, H. Li, J. Zhang, J. An, and X. Liu, "Anti-Inflammatory Function of Plant-Derived Bioactive Peptides: A Review," *Foods 2022, Vol. 11, Page 2361*, vol. 11, no. 15, p. 2361, Aug. 2022, doi: 10.3390/FOODS11152361.
- [20] C. Tyavambiza, P. Dube, M. Goboza, S. Meyer, A. M. Madiehe, and M. Meyer, "Wound Healing Activities and Potential of Selected African Medicinal Plants and Their Synthesized Biogenic Nanoparticles," *Plants 2021, Vol. 10, Page 2635*, vol. 10, no. 12, p. 2635, Nov. 2021, doi: 10.3390/PLANTS10122635.
- [21] C. dos R. Nunes *et al.*, "Plants as Sources of Anti-Inflammatory Agents," *Molecules 2020, Vol. 25, Page 3726*, vol. 25, no. 16, p. 3726, Aug. 2020, doi: 10.3390/MOLECULES25163726.
- [22] A. Juan, A. Sans, and M. Riba, "Antifeedant activity of fruit and seed extracts of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on larvae of *Sesamia nonagrioides*," *Phytoparasitica*, vol.

28, no. 4, pp. 311–319, 2000, doi: 10.1007/BF02981826.

- [23] M., Azam & M., Mamun-Or-Rashid & Towfique, Nayeem & K., Sen & S, Nasrin. (2013). Pharmacological potentials of *Melia azedarach* L. - A review address.
- [24] Kumar, Rishi & Singh, Ram & Meera, Puja & Kalidhar, And. (2003). CHEMICAL COMPONENTS AND INSECTICIDAL PROPERTIES OF BAKA/N (*MELIA AZEDARACH* L.) -A REVIEW. 24. 101-115.
- [25] Bahuguna, DrYogendr & Patil, Kalpana & Rawat, Mohan & Jalalpure, Sunil & Uniyal, Sampada. (2009). Antiulcer activity of *Melia azedarach* linn in aspirin induced and pylorus ligated rats. *Journal of Pharmacy Research*.
- [26] Kumarasamy, Suresh & Deepa, P. & Harisaranraj, R. & Achudhan, V.. (2008). Antimicrobial and Phytochemical Investigation of the Leaves of *Carica papaya* L., *Cynodon dactylon* (L.) Pers., *Euphorbia hirta* L., *Melia azedarach* L. and *Psidium guajava* L.. *Ethnobotanical Leaflets*. 12. 1184-1191.
- [27] B. G. Marino, F. Gaggia, L. Baffoni, C. Toniolo, and M. Nicoletti, “Antimicrobial activity of *Melia azedarach* fruit extracts for control of bacteria in inoculated in-vitro shoots of ‘MRS 2/5’ plum hybrid and calla lily and extract influence on the shoot cultures,” *Eur J Plant Pathol*, vol. 141, no. 3, pp. 505–521, Mar. 2015, doi: 10.1007/S10658-014-0559-6.
- [28] J. S. Lee, K. H. Sun, and Y. Park, “Evaluation of *Melia azedarach* extract-loaded poly (vinyl alcohol)/pectin hydrogel for burn wound healing,” *PLoS One*, vol. 17, no. 6, Jun. 2022, doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0270281.
- [29] D. Grigonis, P. R. Venskutonis, B. Sivik, M. Sandahl, and C. S. Eskilsson, “Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*),” *J Supercrit Fluids*, vol. 33, no. 3, pp. 223–233, Mar. 2005, doi: 10.1016/J.SUPFLU.2004.08.006.
- [30] N. N. Azwanida, “A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation,” *Med Aromat Plants (Los Angel)*, vol. 04, no. 03, 2015, doi: 10.4172/2167-0412.1000196.
- [31] S., K. S. P. , L. G. and R. D. D. Handa, “Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants.,” *United Nations Industrial Development Organization and the International Centre for Science and High Technology.*, pp. 0–260, 2008.
- [32] M. B. Soquetta, L. de M. Terra, and C. P. Bastos, “Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables,” *CyTA - Journal of Food*, vol. 16, no. 1, pp. 400–412, Jan. 2018, doi: 10.1080/19476337.2017.1411978.

- [33] Dall'armellina, Alice. (2021). Extraction-formulation de produits naturels issus du végétal dans des émulsions stables et conception de formulations sèches bioactives : Conception d'extrémulsion de curcumine.
- [34] J. L. Luque-García, "Extraction - Microwave-Assisted Solvent Extraction," *Encyclopedia of Analytical Science: Second Edition*, pp. 584–591, Jan. 2004, doi: 10.1016/B0-12-369397-7/00693-2.
- [35] Alvi, Sahir & Ahmad, Parvej & Ishrat, Maleeha & Iqbal, Danish & Khan, Salman. (2019). Secondary Metabolites from Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.): Structure, Biochemistry and Therapeutic Implications Against Neurodegenerative Diseases. 10.1007/978-981-13-7205-6\_1.
- [36] Sebastien Curet, "Procédés de chauffage par micro-ondes : approches expérimentales et numériques des interactions avec les produits alimentaires," <https://www.openscience.fr>, vol. 2, no. 1, Jan. 2019, doi: 10.21494/ISTE.OP.2021.0676.
- [37] C. Sparr Eskilsson and E. Björklund, "Analytical-scale microwave-assisted extraction," *J Chromatogr A*, vol. 902, no. 1, pp. 227–250, Nov. 2000, doi: 10.1016/S0021-9673(00)00921-3.
- [38] H. López-Salazar, B. H. Camacho-Díaz, M. L. Arenas Ocampo, and A. R. Jiménez-Aparicio, "Microwave-assisted Extraction of Functional Compounds from Plants: A Review," *Bioresources*, vol. 18, no. 3, pp. 6614–6638, 2023, doi: 10.15376/BIORES.18.3.LOPEZ-SALAZAR.
- [39] M. M. Zin, C. B. Anucha, and S. Bánvölgyi, "Recovery of Phytochemicals via Electromagnetic Irradiation (Microwave-Assisted-Extraction): Betalain and Phenolic Compounds in Perspective," *Foods 2020, Vol. 9, Page 918*, vol. 9, no. 7, p. 918, Jul. 2020, doi: 10.3390/FOODS9070918.
- [40] A. Brachet, ... P. C.-P. A. A., and undefined 2002, "Focused microwave-assisted extraction of cocaine and benzoylecgonine from coca leaves," *Wiley Online Library*, vol. 13, no. 3, pp. 162–169, 2002, doi: 10.1002/pca.637.
- [41] S. Pimentel-Moral, I. Borrás-Linares, J. Lozano-Sánchez, D. Arráez-Román, A. Martínez-Férez, and A. Segura-Carretero, "Microwave-assisted extraction for *Hibiscus sabdariffa* bioactive compounds," *J Pharm Biomed Anal*, vol. 156, pp. 313–322, Jul. 2018, doi: 10.1016/J.JPBA.2018.04.050.
- [42] O. R. Alara, N. H. Abdurahman, and O. A. Olalere, "Ethanollic extraction of flavonoids, phenolics and antioxidants from *Vernonia amygdalina* leaf using two-level factorial design," *J*

*King Saud Univ Sci*, vol. 32, no. 1, pp. 7–16, Jan. 2020, doi: 10.1016/J.JKSUS.2017.08.001.

- [43] Z. Yang and W. Zhai, “Optimization of microwave-assisted extraction of anthocyanins from purple corn (*Zea mays* L.) cob and identification with HPLC-MS,” *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, vol. 11, no. 3, pp. 470–476, Jul. 2010, doi: 10.1016/J.IFSET.2010.03.003.
- [44] X. Pan, G. Niu, and H. Liu, “Comparison of microwave-assisted extraction and conventional extraction techniques for the extraction of tanshinones from *Salvia miltiorrhiza bunge*,” *Biochem Eng J*, vol. 12, no. 1, pp. 71–77, Oct. 2002, doi: 10.1016/S1369-703X(02)00039-6.
- [45] P. Puttarak and P. Panichayupakaranant, “A new method for preparing pentacyclic triterpene rich *Centella asiatica* extracts,” *Nat Prod Res*, vol. 27, no. 7, pp. 684–686, Apr. 2013, doi: 10.1080/14786419.2012.686912.
- [46] Barry, Brian W. *Dermatological Formulations: Percutaneous Absorption*. New York (N.Y.): Dekker, 1983.
- [47] M.-A. BOLZINGER, S. BRIANÇON, Y. CHEVALIER, and M.-E. MILLION, “Systèmes pâteux ou préparations semi-solides,” *Ref: TIP598WEB - “Médicaments et produits pharmaceutiques,”* Mar. 2023, doi: 10.51257/A-V2-PHA2016.
- [48] J. A. Rather *et al.*, “A comprehensive review on gelatin: Understanding impact of the sources, extraction methods, and modifications on potential packaging applications,” *Food Packag Shelf Life*, vol. 34, p. 100945, Dec. 2022, doi: 10.1016/J.FPSL.2022.100945.
- [49] S. S. Mahato *et al.*, “Perspective Chapter: Sol-Gel Science and Technology in Context of Nanomaterials – Recent Advances,” *Sol-Gel Method - Recent Advances*, Aug. 2023, doi: 10.5772/INTECHOPEN.111378.
- [50] E. M. Ahmed, “Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review,” *J Adv Res*, vol. 6, no. 2, pp. 105–121, Mar. 2015, doi: 10.1016/J.JARE.2013.07.006.
- [51] C. S. F. Picone and R. L. Cunha, “Influence of pH on formation and properties of gellan gels,” *Carbohydr Polym*, vol. 84, no. 1, pp. 662–668, Feb. 2011, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2010.12.045.
- [52] M. Gholami, M. Tajabadi, A. Khavandi, and N. Azarpira, “Synthesis, optimization, and cell response investigations of natural-based, thermoresponsive, injectable hydrogel: An attitude for 3D hepatocyte encapsulation and cell therapy,” *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 10, p. 1075166, Jan. 2023, doi: 10.3389/FBIOE.2022.1075166/BIBTEX.
- [53] J. SCHER, “Rhéologie, texture et texturation des produits alimentaires,” *Agroalimentaire*, Dec. 2006, doi: 10.51257/A-V3-F3300.

- [54] J. Brady, T. Drig, P. I. Lee, and J. X. Li, "Polymer properties and characterization," *Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory and Practice: Second Edition*, pp. 181–223, 2017, doi: 10.1016/B978-0-12-802447-8.00007-8.
- [55] L. G. Fonkwe, G. Narsimhan, and A. S. Cha, "Characterization of gelation time and texture of gelatin and gelatin–polysaccharide mixed gels," *Food Hydrocoll*, vol. 17, no. 6, pp. 871–883, Nov. 2003, doi: 10.1016/S0268-005X(03)00108-5.
- [56] Montgomery, D.C. (2017) *Design and Analysis of Experiments* Arisona, State University. Ninth Edition, John Wiley & Sons, New York, 640 p.
- [57] Q. W. Zhang, L. G. Lin, and W. C. Ye, "Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review," *Chinese Medicine (United Kingdom)*, vol. 13, no. 1, pp. 1–26, Apr. 2018, doi: 10.1186/S13020-018-0177-X/FIGURES/13.
- [58] S. A. Weissman and N. G. Anderson, "Design of Experiments (DoE) and Process Optimization. A Review of Recent Publications," *Org Process Res Dev*, vol. 19, no. 11, pp. 1605–1633, Nov. 2015, doi: 10.1021/OP500169M/SUPPL\_FILE/OP500169M\_SI\_001.XLSX.
- [59] Y. Nagata and K. H. Chu, "Optimization of a fermentation medium using neural networks and genetic algorithms," *Biotechnol Lett*, vol. 25, no. 21, pp. 1837–1842, Nov. 2003, doi: 10.1023/A:1026225526558/METRICS.
- [60] I. Negut and B. Bitu, "Exploring the Potential of Artificial Intelligence for Hydrogel Development—A Short Review," *Gels 2023, Vol. 9, Page 845*, vol. 9, no. 11, p. 845, Oct. 2023, doi: 10.3390/GELS9110845.
- [61] P. R. Souza, G. L. Dotto, and N. P. G. Salau, "Artificial neural network (ANN) and adaptive neuro-fuzzy interference system (ANFIS) modelling for nickel adsorption onto agro-wastes and commercial activated carbon," *J Environ Chem Eng*, vol. 6, no. 6, pp. 7152–7160, Dec. 2018, doi: 10.1016/J.JECE.2018.11.013.
- [62] B. Ustaoglu, H. K. Cigizoglu, and M. Karaca, "Forecast of daily mean, maximum and minimum temperature time series by three artificial neural network methods," *Meteorological Applications*, vol. 15, no. 4, pp. 431–445, Dec. 2008, doi: 10.1002/MET.83.
- [63] E. Buyukbingol, A. Sisman, M. Akyildiz, F. N. Alparslan, and A. Adejare, "Adaptive neuro-fuzzy inference system (ANFIS): A new approach to predictive modeling in QSAR applications: A study of neuro-fuzzy modeling of PCP-based NMDA receptor antagonists," *Bioorg Med Chem*, vol. 15, no. 12, pp. 4265–4282, Jun. 2007, doi: 10.1016/J.BMC.2007.03.065.
- [64] F. Zhong *et al.*, "Artificial intelligence in drug design," *Science China Life Sciences 2018*

61:10, vol. 61, no. 10, pp. 1191–1204, Jul. 2018, doi: 10.1007/S11427-018-9342-2.

- [65] K. M. Yashawantha and A. V. Vinod, “ANFIS modelling of effective thermal conductivity of ethylene glycol and water nanofluids for low temperature heat transfer application,” *Thermal Science and Engineering Progress*, vol. 24, p. 100936, Aug. 2021, doi: 10.1016/J.TSEP.2021.100936.
- [66] E. Betiku, V. O. Odude, N. B. Ishola, A. Bamimore, A. S. Osunleke, and A. A. Okeleye, “Predictive capability evaluation of RSM, ANFIS and ANN: A case of reduction of high free fatty acid of palm kernel oil via esterification process,” *Energy Convers Manag*, vol. 124, pp. 219–230, Sep. 2016, doi: 10.1016/J.ENCONMAN.2016.07.030.
- [67] E. M. Ahmed, “Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review,” *J Adv Res*, vol. 6, no. 2, pp. 105–121, Mar. 2015, doi: 10.1016/J.JARE.2013.07.006.
- [68] C. S. F. Picone and R. L. Cunha, “Influence of pH on formation and properties of gellan gels,” *Carbohydr Polym*, vol. 84, no. 1, pp. 662–668, Feb. 2011, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2010.12.045.
- [69] M. Gholami, M. Tajabadi, A. Khavandi, and N. Azarpira, “Synthesis, optimization, and cell response investigations of natural-based, thermoresponsive, injectable hydrogel: An attitude for 3D hepatocyte encapsulation and cell therapy,” *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 10, p. 1075166, Jan. 2023, doi: 10.3389/FBIOE.2022.1075166/BIBTEX.
- [70] J. SCHER, “Rhéologie, texture et texturation des produits alimentaires,” *Agroalimentaire*, Dec. 2006, doi: 10.51257/A-V3-F3300.
- [71] A. Y. Malkin, S. R. Derkach, and V. G. Kulichikhin, “Rheology of Gels and Yielding Liquids,” *Gels 2023, Vol. 9, Page 715*, vol. 9, no. 9, p. 715, Sep. 2023, doi: 10.3390/GELS9090715.
- [72] J. Brady, T. Drig, P. I. Lee, and J. X. Li, “Polymer properties and characterization,” *Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory and Practice: Second Edition*, pp. 181–223, 2017, doi: 10.1016/B978-0-12-802447-8.00007-8.
- [73] L. G. Fonkwe, G. Narsimhan, and A. S. Cha, “Characterization of gelation time and texture of gelatin and gelatin–polysaccharide mixed gels,” *Food Hydrocoll*, vol. 17, no. 6, pp. 871–883, Nov. 2003, doi: 10.1016/S0268-005X(03)00108-5.
- [74] H. Yaich *et al.*, “Impact of extraction procedures on the chemical, rheological and textural properties of ulvan from *Ulva lactuca* of Tunisia coast,” *Food Hydrocoll*, vol. 40, pp. 53–63, Oct. 2014, doi: 10.1016/J.FOODHYD.2014.02.002.
- [75] U. Pathak, S. Kumari, A. Kumar, and T. Mandal, “Process parametric optimization toward augmentation of silica yield using Taguchi technique and artificial neural network approach,”

*Energy Ecol Environ*, vol. 5, no. 4, pp. 294–312, Aug. 2020, doi: 10.1007/S40974-020-00152-8.

- [76] D. C. A. S. U. Montgomery, “Design and Analysis of Experiments Ninth Edition,” *Arizona State University*, p. 640, 2017, Accessed: May 11, 2024. [Online]. Available: [www.wiley.com/go/permissions.%0Ahttps://lccn.loc.gov/2017002355](http://www.wiley.com/go/permissions.%0Ahttps://lccn.loc.gov/2017002355)
- [77] B. Ustaoglu, H. K. Cigizoglu, and M. Karaca, “Forecast of daily mean, maximum and minimum temperature time series by three artificial neural network methods,” *Meteorological Applications*, vol. 15, no. 4, pp. 431–445, Dec. 2008, doi: 10.1002/MET.83.
- [78] E. Buyukbingol, A. Sisman, M. Akyildiz, F. N. Alparslan, and A. Adejare, “Adaptive neuro-fuzzy inference system (ANFIS): A new approach to predictive modeling in QSAR applications: A study of neuro-fuzzy modeling of PCP-based NMDA receptor antagonists,” *Bioorg Med Chem*, vol. 15, no. 12, pp. 4265–4282, Jun. 2007, doi: 10.1016/J.BMC.2007.03.065.
- [79] F. Zhong *et al.*, “Artificial intelligence in drug design,” *Science China Life Sciences* 2018 61:10, vol. 61, no. 10, pp. 1191–1204, Jul. 2018, doi: 10.1007/S11427-018-9342-2.
- [80] K. M. Yashawantha and A. V. Vinod, “ANFIS modelling of effective thermal conductivity of ethylene glycol and water nanofluids for low temperature heat transfer application,” *Thermal Science and Engineering Progress*, vol. 24, p. 100936, Aug. 2021, doi: 10.1016/J.TSEP.2021.100936.
- [81] E. Betiku, V. O. Odude, N. B. Ishola, A. Bamimore, A. S. Osunleke, and A. A. Okeleye, “Predictive capability evaluation of RSM, ANFIS and ANN: A case of reduction of high free fatty acid of palm kernel oil via esterification process,” *Energy Convers Manag*, vol. 124, pp. 219–230, Sep. 2016, doi: 10.1016/J.ENCONMAN.2016.07.030.
- [82] S. Desmet, K. Morreel, and R. Dauwe, “Origin and Function of Structural Diversity in the Plant Specialized Metabolome,” *Plants (Basel)*, vol. 10, no. 11, Nov. 2021, doi: 10.3390/PLANTS10112393.
- [83] T. Pinto *et al.*, “Bioactive (Poly)phenols, Volatile Compounds from Vegetables, Medicinal and Aromatic Plants,” *Foods* 2021, Vol. 10, Page 106, vol. 10, no. 1, p. 106, Jan. 2021, doi: 10.3390/FOODS10010106.
- [84] Z. El Astal, “The inhibitory action of aqueous garlic extract on the growth of certain pathogenic bacteria,” *European Food Research and Technology*, vol. 218, no. 5, pp. 460–464, Apr. 2004, doi: 10.1007/S00217-003-0864-3.
- [85] Mondall, N. & Mojumdar, A. & Chatterje, S. & Banerjee, Arnab & Datta, Jayanta & Gupta,

Srimanta. (2009). Antifungal activities and chemical characterization of Neem leaf extracts on the growth of some selected fungal species in vitro culture medium. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* (ISSN: 1119-8362) Vol 13 Num 1. 13.

- [86] S. Arbab *et al.*, “Comparative study of antimicrobial action of aloe vera and antibiotics against different bacterial isolates from skin infection,” *Vet Med Sci*, vol. 7, no. 5, p. 2061, Sep. 2021, doi: 10.1002/VMS3.488.
- [87] W. Liu, X. Chen, H. Li, J. Zhang, J. An, and X. Liu, “Anti-Inflammatory Function of Plant-Derived Bioactive Peptides: A Review,” *Foods 2022, Vol. 11, Page 2361*, vol. 11, no. 15, p. 2361, Aug. 2022, doi: 10.3390/FOODS11152361.
- [88] C. Tyavambiza, P. Dube, M. Goboza, S. Meyer, A. M. Madiehe, and M. Meyer, “Wound Healing Activities and Potential of Selected African Medicinal Plants and Their Synthesized Biogenic Nanoparticles,” *Plants 2021, Vol. 10, Page 2635*, vol. 10, no. 12, p. 2635, Nov. 2021, doi: 10.3390/PLANTS10122635.
- [89] J.-C. Létard *et al.*, “Phytothérapie – Principes généraux,” *Hegel*, vol. 1, no. 1, pp. 29–35, Jan. 2015, doi: 10.3917/HEG.051.0029.