

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche scientifique**

Université Saad DAHLEB **Blida-1**  
Faculté des sciences technologiques  
Département de Génie des Procédés



Mémoire de fin d'étude présenté en vue de l'obtention du diplôme de  
Master 2 en **Génie des Procédés**

**Spécialité** : Pharmacie Industrielle

***Intitulé***

---

***Encapsulation et étude de l'activité  
antioxydante des flavonoïdes extraits à partir  
des feuilles d'*Inula Viscosa L.****

---

Présenté par :

**Mme BAGHDADI Assia**

Encadré par :

**Dr. BOUTEMAK Khalida**

Année universitaire 2020-2021



# REMERCIEMENTS

---

*Tout d'abord je loue le bon Dieu qui m'a donné le courage de réaliser ce modeste travail.*

*Je veux également remercier vivement mon directeur de recherche docteur **BOUTEMAK Khalida** d'avoir accepté de diriger ce travail, pour sa confiance, ses conseils, son aide et ses encouragements qu'elle n'a pas ménagés.*

*J'exprime encore ma gratitude aux membres du jury non seulement pour avoir accepté de lire et d'évaluer mon travail et de participer à cette soutenance, mais aussi pour leurs travaux et leur manière de faire de la recherche qui ont stimulé mon étude.*

*Aussi, je tiens à remercier vivement professeur **A. HADJ-ZIANE** pour leurs judicieux conseils, pour sa disponibilité et son aide durant cette année et pour ses encouragements et l'intérêt qu'elle a porté pour mon travail.*

*J'exprime ma profonde gratitude au **M. LATELLI Lazhar** qui m'a aidé à la rédaction de ce travail et m'a prodigué des conseils précieux.*

*Je voudrais ensuite exprimer toute ma gratitude et mes vifs remerciements au **Dr SADOUNE Zineb** pour son soutien, sa collaboration et pour le temps qu'elle a pu consacrer pour m'aider à la réalisation de ce travail.*

*Mes remerciements vont ensuite à mes professeurs, durant cette période de recherche, pour tout ce qu'ils m'ont offert comme savoirs, **Dr N.TAOUALIT, Dr N.BENSACIA, Dr H.LARJBI.***

*Je remercie également les personnes qui me sont très chères et particulièrement mes deux amies **REBOUH F.Z** et **BENZINA Narjes** d'être toujours disponible de m'avoir accompagnée au cours de cette aventure avec toute l'attention et la fraternité.*

*Je remercie tout le personnel des laboratoires pour leur sympathie, leur aide et leur soutien sur le plan scientifique et humain surtout l'ingénieur, madame **Zahira.***

*Je remercie tous celles et ceux qui ont apporté leur concours à mon travail, en m'accordant leur temps et leur parole.*

*Merci à tous.*

*C'est avec une grande modestie  
et un immense plaisir que je dédie ce travail de recherche à :*

*Ma mère Mira source de douceur et de bienveillance*  
*Mon épouse Zahir source d'espoir, de conseils, et de fierté*  
*Mes petits fils Pounes et Fahia*  
*Ma belle fille Olafo*  
*Mes sœurs et frères*  
*Mes deux familles*

*Baghdadi*  
*Latelli*

*A*

*Assia*

## **RESUME :**

*Inula Viscosa* est fréquemment utilisée comme plante médicinale en Algérie. Les flavonoïdes sont des substances actives qui donnent une valeur thérapeutique à cette espèce. Ce sont la source de la majorité des antioxydants naturels. Ce travail a pour objectif la valorisation de cette espèce médicinale, par la mise en évidence des propriétés antioxydante de ses extraits, ces derniers extraient par macération, à partir des feuilles fraîches. Le pouvoir antioxydant a été évalué par la technique de piégeage du radical libre DPPH (2.2-diphényl-1-picrylhydrazyl).

En effet, la sensibilité des flavonoïdes à la lumière a limité leurs applications, à cet effet l'encapsulation des molécules actives constitue un outil très attrayant en mesure de résoudre l'inconvénient majeur des flavonoïdes en assurant la protection de la substance active et également le contrôle de sa libération au sein d'une matrice polymérique.

**Mots clés :** *Inula Viscosa*, flavonoïdes, principe actif, activité anti oxydante, encapsulation.

### **ملخص:**

كثيرا ما تستخدم *Inula Viscosa* كنبات طبي في الجزائر. الفلافونويد هي مواد فعالة تعطي قيمة علاجية لهذا النوع. هي مصدر غالبية مضادات الأكسدة الطبيعية. يهدف هذا العمل إلى تعزيز قيمة هذا النوع الطبي، من خلال إبراز الخصائص المضادة للأكسدة في مستخلصاتها، والتي يتم استخلاصها عن طريق النقع من الأوراق الطازجة. تم تقييم قوة مضادات الأكسدة بتقنية محاصرة الجذور الحرة. DPPH (2.2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

في الواقع ، فإن حساسية الفلافونويد للضوء قد حدت من استخدامها، ولهذا الغرض، بشكل تغليف الجزيئات النشطة أداة فعالة للغاية بالنسبة لحل العيب الرئيسي للفلافونويدات، وذلك من خلال ضمان حماية المادة الفعالة وكذا التحكم في إطلاقها داخل مصفوفة بوليمر.

**الكلمات المفتاحية:** *Inula Viscosa*، الفلافونويد ، المبدأ النشط ، النشاط المضاد للأكسدة ، التغليف.

## **ABSTRACT :**

*Inula Viscosa* is frequently used as a medicinal plant in Algeria. Flavonoids are active substances which give therapeutic value to this species. These are the source of the majority of natural antioxidants. This work aims to enhance the value of this medicinal species, by highlighting the antioxidant properties of its extracts, which are extracted by maceration from the fresh leaves. The antioxidant power was evaluated by the technique of trapping the free radical DPPH (2.2-diphenyl-1-picrylhydrazyl).

Indeed, the sensitivity of flavonoids to light has limited their applications, for this purpose the encapsulation of active molecules constitutes a very attractive tool able to solve the major disadvantage of flavonoids by ensuring the protection of the active substance and also the control of its release within a polymer matrix.

**Keywords:** *Inula Viscosa*, flavonoids, active principle, antioxidant activity, encapsulation.

# TABLE DES MATIERES

RESUME

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABRÉVIATIONS

INTRODUCTION ..... 01

## PARTIE THÉORIQUE

### Chapitre 1 : GÉNÉRALITÉS SUR *INULA VISCOSA*

1. Définition.....	04
2. Étymologie.....	04
3. Classification taxonomique.....	04
4. Appellations.....	05
5. Habitats.....	05
6. Description botanique.....	05
7. Utilisation médicinale.....	06
8. Travaux réalisés sur <i>Inula Viscosa</i> .....	08
8.1 Aspects phytochimiques.....	08
8.2 Aspects pharmacologiques.....	09
9. Métabolites secondaires d' <i>Inula Viscosa</i> .....	10

### Chapitre 2 : FLAVONOÏDES

1. Qu'est-ce qu'un flavonoïde ? .....	12
2. Structure chimique.....	12
3. Classification et caractéristiques.....	13
4. Présence et rôle dans la plante.....	15
5. Travaux réalisés sur les flavonoïdes : Propriétés pharmacologiques.....	16
6. Activité biologique : Pouvoir antioxydant.....	17
6.1 Radicaux libres.....	17
6.2 Types de radicaux libres.....	17
6.3 Stress antioxydant.....	17
6.4 Méthodes d'évaluation du caractère antioxydant.....	17
6.5 Piégeage du radical du DPPH.....	18

## Chapitre 3 : ENCAPSULATION

1. Qu'est-ce qu'une encapsulation? .....	20
1.1 Définition.....	20
1.2 Terminologie.....	20
1.3 Structure des particules.....	20
1.4 Objectifs.....	21
2. Matériaux d'encapsulation.....	22
2.1 Polymères naturels .....	22
2.2 Polymères synthétiques.....	23
3. Techniques d'encapsulation.....	23
3.1 Procédés physicochimiques.....	24
3.1.1 Coacervation simple.....	24
3.1.2 Coacervation complexe.....	24
3.1.3 Emulsion et Evaporation-Extraction de solvant.....	24
3.1.4 Gélification thermique.....	25
3.2 Procédés mécaniques.....	25
3.2.1 Nébulisation-séchage par atomisation.....	25
3.2.2 Gélification et Congélation des gouttes.....	25
3.2.3 Extrusion sphéronisation.....	26
3.2.4 Enrobage en lit d'air fluidisé.....	26
3.3 Procédés chimiques.....	27
3.3.1 Polycondensation interfaciale.....	27
3.3.2 Polymérisation interfaciale.....	27
3.3.3 Polymérisation en milieu disperse.....	27
4. Libération du principe actif.....	28
4.1 Modes de libération.....	28
4.2 Mécanismes de libération des substances encapsulées.....	28
5. Domaines d'encapsulation.....	29

PARTIE EXPÉRIMENTALE

## Chapitre 4 : MATERIELS ET METHODES

1. Matériel.....	31
1.1 Matériel végétal.....	31
1.2 Produits et équipements.....	31

2. Méthodes.....	32
2.1 Extraction des flavonoids.....	32
2.1.1 Protocole expérimental.....	32
2.1.1.1 Préparation de l'extrait brut.....	32
2.1.1.2 Fractionnement de l'extrait brut.....	34
2.1.2 Rendement en extrait flavonoïques.....	36
2.2 Dosage des polyphénols.....	36
2.3 Dosage des flavonoids.....	37
2.4 Evaluation de l'activité antioxydante.....	38
2.5 Encapsulation.....	39
2.5.1 Production des microcapsules.....	40
2.5.1.1 Composition des capsules.....	40
2.5.1.2 Mode opératoire.....	40
2.5.2 Test de dissolution in vitro.....	41
2.5.2.1 Mode opératoire.....	41
2.5.3 Simulation du compartiment gastrique.....	42
<b>Chapitre 5 : RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
<hr/>	
1. Extraction des flavonoïdes.....	45
1.1 Rendement en extrait flavonoïques.....	45
1.2 Dosage des polyphénols.....	46
1.3 Dosage des flavonoïdes.....	48
2. Évaluation de l'activité antioxydante (Test au DPPH).....	51
3. Encapsulation.....	56
3.1 Aspect morphologique.....	57
3.2 Humidité.....	57
3.3 Densité.....	57
3.4 Rendement.....	58
3.5 Cinétique de libération.....	58
Conclusion.....	65
<hr/>	
Bibliographie	
<hr/>	
Annexes	
<hr/>	
ANNEXE A : Produits et réactifs.	
ANNEXE B : Matériels utilisés.	
<hr/>	



## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1.1</b> : <i>Inula Viscosa</i> .....	04
<b>Figure 2.1</b> : Noyau flavone.....	12
<b>Figure 2.2</b> : Noyau flavane.....	12
<b>Figure 2.3</b> : Squelette de base des flavonoïdes.....	13
<b>Figure 2.4</b> : Structure chimique des flavonols.....	13
<b>Figure 2.5</b> : Structure chimique des flavones.....	14
<b>Figure 2.6</b> : Structure chimique des flavanones.....	14
<b>Figure 2.7</b> : Structure chimique des flavanols.....	15
<b>Figure 2.8</b> : Structure chimique des anthocyanidines.....	15
<b>Figure 3.1</b> : Capsule (structure cœur / membrane) .....	21
<b>Figure 3.2</b> : Capsule Sphère (structure matricielle) .....	21
<b>Figure 3.3</b> : Techniques d'encapsulation.....	23
<b>Figure 4.1</b> : Matériel végétal ( <i>Inula Viscosa</i> ) .....	31
<b>Figure 4.2</b> : Macération.....	32
<b>Figure 4.3</b> : Filtration.....	33
<b>Figure 4.4</b> : Evaporation.....	33
<b>Figure 4.5</b> : Extrait brut.....	33
<b>Figure 4.6</b> : Décantation.....	33
<b>Figure 4.7</b> : Décantation (extraction liquide-liquide) .....	34
<b>Figure 4.8</b> : E.Eth.....	34
<b>Figure 4.9</b> : E.Ac.....	34
<b>Figure 4.10</b> : E.n-BuOH.....	34
<b>Figure 4.11</b> : E.Aq.....	34
<b>Figure 4.12</b> : Schéma de l'extraction des flavonoïdes d' <i>Inula Viscosa</i> .....	35
<b>Figure 4.13</b> : Réaction d'un donneur hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH●.....	38
<b>Figure 4.14</b> : Structure d'alginate de sodium.....	40
<b>Figure 5.1</b> : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	47
<b>Figure 5.2</b> : Polyphénols totaux dans les extraits.....	48

---

<b>Figure 5.3:</b> Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	49
<b>Figure 5.4:</b> Flavonoïdes totaux dans les extraits.....	50
<b>Figure 5.5:</b> Pourcentage de réduction du radical libre (DPPH) par l'E brut.....	52
<b>Figure 5.6:</b> Pourcentage de réduction du radical libre (DPPH) par l'E Aq.....	52
<b>Figure 5.7:</b> Pourcentage de réduction du radical libre (DPPH) par l'EEth.....	53
<b>Figure 5.8:</b> Pourcentage de réduction du radical libre (DPPH) par l'E Ac.....	53
<b>Figure 5.9:</b> Pourcentage de réduction du radical libre (DPPH) par l'E n-BuOH.....	54
<b>Figure 5.10:</b> Concentration (IC50) des extraits.....	54
<b>Figure 5.11:</b> Principaux éléments de l'activité antioxydante des flavonoïdes.....	56
<b>Figure 5.12:</b> Capsules E brut.....	56
<b>Figure 5.13:</b> Capsules E Aq.....	56
<b>Figure 5.14:</b> Capsules E Eth.....	56
<b>Figure 5.15:</b> Capsules E Ac.....	56
<b>Figure 5.16:</b> Capsules E n-buOH.....	56
<b>Figure 5.17:</b> Absorbance de l'E Brut en fonction du temps.....	59
<b>Figure 5.18:</b> Absorbance de l'E Aq en fonction du temps.....	60
<b>Figure 5.19:</b> Absorbance de l'E Eth en fonction du temps.....	60
<b>Figure 5.20:</b> Absorbance de l'E Ac en fonction du temps.....	61
<b>Figure 5.21:</b> Absorbance de l'En-buOH en fonction du temps.....	62
<b>Figure 5.22:</b> Différents profils de libération des PAs.....	63

---

---

# LISTE DES TABLEAUX

---

<b>Tableau 1.1</b> : Classification taxonomique d' <i>Inula Viscosa</i> .....	05
<b>Tableau 3.1</b> : Objectifs d'encapsulation.....	22
<b>Tableau 5.1</b> : Rendement des fractions.....	45
<b>Tableau 5.2</b> : Absorbance d'acide gallique.....	46
<b>Tableau 5.3</b> : Teneur en composés phénoliques des extraits.....	47
<b>Tableau 5.4</b> : Absorbance de quercétine.....	49
<b>Tableau 5.5</b> : Teneur en composés flavonoïques des extraits.....	49
<b>Tableau 5.6</b> : Absorbances des extraits.....	51
<b>Tableau 5.7</b> : Pourcentage d'inhibition des extraits.....	51
<b>Tableau 5.8</b> : Concentration d'inhibition des extraits à 50%.....	54
<b>Tableau 5.9</b> : Caractéristiques des capsules.....	57
<b>Tableau 5.10</b> : Taux d'humidité des Extraits.....	57
<b>Tableau 5.11</b> : Densités relatives aux Extraits.....	58
<b>Tableau 5.12</b> : Rendement d'encapsulation.....	58
<b>Tableau 5.13</b> : Absorbance de l'E Brut à 765 (nm).....	59
<b>Tableau 5.14</b> : Absorbance de l'E Aq à 765 (nm).....	59
<b>Tableau 5.15</b> : Absorbance de l'E ETh à 430 (nm).....	60
<b>Tableau 5.16</b> : Absorbance de l'E Ac à 430 (nm).....	61
<b>Tableau 5.17</b> : Absorbance de l'En-buOH à 430 (nm).....	62

---

# LISTE DES ABRIVIATIONS

---

**Abs** : Absorbance.

**Ac** : Acétate d'éthyle.

**Aq** : Aqueux.

**CCM** : Chromatographie sur Couche Mince.

**CI 50** : Concentration Inhibitrice à 50 %.

**DPPH**: 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyle.

**E** : Extrait.

**Eth** : Ether diéthylique .

**HE** : Huile Essentielle.

**mg EAG / g E**: milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait de plante.

**n-BuOH** : n-butanol.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**PA** : Principe Actif.

**Rdt**: Rendement.

**µg ESQ / g E**: microgramme d'équivalent de la quercétine par gramme d'extrait de plante.

**UV**: Ultra Violet.

---

# INTRODUCTION

## INTRODUCTION

Les plantes médicinales ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme, puisqu'il s'en sert pour se nourrir et se soigner [01]. L'utilisation de ces plantes en thérapeutique à travers le monde est très ancienne et connaît actuellement un regain d'intérêt auprès de la population et cela malgré les progrès de la médecine moderne. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), plus de 80 % de la population mondiale a recours à la médecine dite traditionnelle pour faire face à ses problèmes de santé [02].

Depuis toujours les plantes ont constitué la source majeure de médicaments grâce à la richesse de ce qu'on appelle le métabolisme secondaire [03]. Elles sont capables de produire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires, ils accumulent des métabolites dits secondaires [04].

Ces plantes doivent leur pouvoir thérapeutique aux substances, dites actives qu'elles renferment. Dans la plupart des cas, l'activité biologique des métabolites secondaires est reconnue bien avant la détermination de leurs structures chimiques.

Environ 35000 espèces des plantes sont employées par le monde à des fins médicinales, ce qui constitue le plus large éventail de biodiversité utilisé par les êtres humains [05].

En effet, la flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques [06], parmi lesquelles la famille des *Astéracées* représentée par le genre *Inula Visvosa* [07].

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires qui donnent une valeur thérapeutique à cette espèce. Ils constituent une richesse largement exploitée par les industries pharmaceutiques. La sensibilité à la lumière a limité leurs applications. En effet, l'encapsulation des molécules actives constitue un outil très attrayant en mesure de résoudre l'inconvénient majeur des flavonoïdes en assurant la protection de la substance active, le masquage du goût, l'augmentation de sa solubilité et assure également le contrôle de sa libération au sein d'une matrice polymérique.

Dans le cadre de la valorisation des espèces végétales algériennes, et compte tenu des vertus thérapeutiques que représentent les plantes médicinales, et dans cette optique se situe notre étude, au cours de laquelle nous allons évaluer *in vitro* l'activité antioxydante

des extraits d'*Inula Viscosa* et les encapsuler dans un biopolymère afin d'introduire le système dans une matrice médicale.

Alors, nous sommes intéressés dans ce travail à l'étude de cette espèce provenant de la région de *Larhat (Dairat de Damous)* à l'ouest de la wilaya de *Tipaza* en *Algérie*, cette plante de la famille *Astéracées*, appréciée pour ses propriétés aromatiques, antioxydantes, largement utilisée dans les produits pharmaceutiques et en médecine traditionnelle. Il nous semble donc, d'inscrire notre travail dans ce contexte de recherche.

Notre choix est porté sur cette plante, car elle est très répandue en *Algérie* et largement utilisée en médecine traditionnelle.

L'objectif de ce travail est d'encapsuler les flavonoïdes de la plante choisie en évaluant l'activité antioxydante tout en utilisant la méthode d'extraction par macération.

De ce fait, notre étude est présentée en cinq chapitres.

Le premier chapitre est réservé à la présentation de la matière végétale *Inula Viscosa*, en abordant leur classification, description, compositions chimiques et leur utilisation en médecine traditionnelle avec les travaux réalisés.

Le second chapitre est consacré à la présentation d'un abrégé sur les flavonoïdes et leur activité antioxydante.

Le troisième chapitre sera la présentation générale des techniques d'encapsulation dans le domaine pharmaceutique ainsi que les types de polymères utilisés. Nous donnerons par la suite quelques applications de cette technique. Un point sera consacré sur le mode et le mécanisme de libération de la substance active encapsulée.

Pour le quatrième chapitre, la partie expérimentale, nous présenterons en premier lieu le matériel, les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail suivi par une évaluation de l'activité antioxydante et la technique d'encapsulation. Puis en abordant les différents résultats obtenus et leurs discussions dans le chapitre cinq. Nous terminerons par une conclusion qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

# PARTIE THÉORIQUE

Chapitre

**1**

GENERALITES SUR *INULA VISCOSA*



## 1. Définition

*Inula Viscosa* (**Figure 1.1**) est une plante des régions méditerranéennes, largement utilisée en médecine traditionnelle, et qui fournit en fin de saison du nectar et du pollen en abondance aux abeilles [08].

C'est une plante herbacée pérenne ou vivace à racine pivotante de la famille *Astéracées*. Elle a une racine pivotante, toute glanduleuse-visqueuse, et une odeur agréable. Elle est ligneuse à sa base. Elle est dressée, d'assez grande taille et peut former d'assez vastes populations [08].



**Figure 1.1 :** *Inula Viscosa*

## 2. Étymologie

*Inula Viscosa* est une plante connue depuis longtemps, elle a été utilisée au moyen âge jusqu'à nos jours pour ses vertus médicinales variées [09].

Le nom *Inula* viendrait du grec : *Inéo* qui désigne je purge. Et *Viscosa* signifié visqueuse : Aunée visqueuse [09].

## 3. Classification taxonomique

La taxonomie de cette espèce est configurée selon *Quezel et Santa* [10]. Elle est présentée dans le tableau suivant :

**Tableau 1.1:** *Classification taxonomique d'Inula Viscosa*

<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta ou plantes vasculaires
<b>Sous-embranchement</b>	Angiosperme
<b>Classe</b>	Magnoliopsida ou dicotylédones
<b>Sous-classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	Asterales
<b>Famille</b>	<i>Asteracées (composées)</i>
<b>Genre</b>	<i>Inula L</i>
<b>Espèce</b>	<i>Viscosa</i>
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta ou plantes vasculaires

#### 4. Appellations

*Inula Viscosa* connaît par plusieurs dénominations, selon la langue et la région. En général on trouve :

- Nom scientifique : *Dittrichia Viscosa (L) Greut, Inula viscosa Ait* [11] ;
- Français: *Inule visqueuse, Aunée visqueuse* [12] ;
- Anglais: *Woody fleabane* [12] ;
- Arabe: *Magramane, Bagramane, El Tibek, El Tyoun, Mersitt* [11] ;
- Berbère: *Amagramane ou bayraman* ;
- Au Maroc on la trouve sous le nom *Trehla* [13].

#### 5. Habitats

Selon *Catherine Reeb*, *Inula Viscosa* se rencontre dans les lieux incultes surtout en région méditerranéenne : bords de chemins, décombres, terrains abandonnés, jachères, arrière-dunes ou garrigues bien ouvertes. Elle affectionne les milieux fraîchement perturbés par des travaux ou le passage du feu. Elle se rencontre autant sur sols argileux que sableux [08].

En Algérie, *Inula Viscosa* est largement répandue dans les rocailles et les terrains argileux, sur les sols salés, les prairies humides et les bords de cours d'eau [14].

#### 6. Description botanique

*Inula Viscosa* se caractérise par sa taille qui peut atteindre *150 cm* de hauteur. Sa tige est dressée en éventail et très ramifiée qui devient avec le temps ligneuse et d'une

couleur plus foncée à la base. Elle est recouverte d'un poil glanduleux, libérant une résine collante, à forte odeur (odeur de camphre), présente sur toute la plante.

La racine de cette plante est forte, visqueuse, glanduleuse, odoriférante, peut atteindre jusqu'à 30 cm de long et présente la particularité d'être tournante.

Les feuilles d'*Inula Viscosa* ont une taille moyenne (larges de 2-3 cm). Elles n'ont pas de pétioles. Elles sont rattachées directement à la tige. Elles sont ondulées, dentées, denses, alternes, lancéolées, glanduleuses aigües, rudes recouvertes sur les deux faces de glandes visqueuses qui dégagent pendant la phase végétative une odeur forte et âcre.

Les fruits sont des akènes de un à 2 mm de long. Ils sont rassemblés sur le réceptacle du capitule [08].

Les fleurs regroupées en inflorescences, elles forment des grappes de capitules d'un diamètre entre 10-20 mm, elles sont de deux types : des fleurs jaune orange en tubes et des fleurs jaunes à pétales [15].

La floraison selon les régions où elle se développe, l'*Inula Viscosa* fleurit à partir d'aout-septembre jusqu'à la fin du mois d'octobre et parfois même novembre, donc elle fleurit à la fin de l'été et au début de l'automne [08].

La dissémination des graines de l'*Inula Viscosa* se fait par le vent. C'est la petite touffe qui surmonte la graine qui facilite sa dispersion dans l'air.

## 7. Utilisation médicinale

*Inula Viscosa* est une plante médicinale traditionnelle majeure du bassin méditerranéen, dont on retrouve les traces dans de très anciens écrits romains, hébreux ou arabes. Les principes actifs (PA) d'*Inula Viscosa* sont notamment le camphre, l'eucalyptol et le thymol [08]. Cette plante connaît par de multiples applications :

### 7.1 Comme poudre

- Les feuilles fraîches ou poudre de feuilles sèches sur les plaies ouvertes et pour l'arrêt de l'hémorragie et sert comme antiseptique.
- Une pâte à partir de poudre des feuilles mélangées avec de l'huile d'olive comme une pommade au corps.
- Dans le traitement des mycoses cutanées [16].

## 7.2 Comme tisanes

Les inflorescences et les feuilles sont utilisées séchées en tisanes ou des huiles essentielles en sont extraites. Citons, parmi les dizaines d'indications référencées, le traitement des rhumatismes, des bronchites, des maladies du système urinaire, digestif et même du paludisme [08].

- En Algérie, *Inula Viscosa* est utilisée dans la médecine populaire comme antipyrétique en tisanes ou en bains dans la lutte contre le paludisme.

## 7.3 Comme décoction

Les parties aériennes de la plante sont employées comme décoction dans le traitement du diabète, de l'hypertension et des maladies rénales, dans le secteur méditerranéen [17].

## 7.4 Comme Cataplasme

- Pour les douleurs de rhumatisme [18,19].
- La plante écrasée est appliquée directement sur la plaie [17].
- Contre les maux de tête et les affections pulmonaires : chauffer la plante dans un couscoussier, l'asperger d'huile d'olive et l'appliquer, enroulée dans un linge, sur les parties à traiter (tête, poitrine) [17].
- En Maroc, les feuilles sont utilisées en cataplasme pour traiter les abcès, la gale, dermatoses, furoncles, des ulcères, des gerçures et comme cicatrisant des plaies cutanées [20].
- Mastication des feuilles : Analgésique dentaire [17].

## 7.5 Comme traitement d'autres maladies

- Utilisée comme *antigale*, *antiinflammatoire*, elle est connue pour ses propriétés antiseptiques et son efficacité contre les inflammations de la peau, *antilytique* rénal, diurétique, *Antihypertensive* [21].
- Agit comme sédatif de la toux et des spasmes bronchiques [17].
- Corrige l'atonie de l'estomac et de l'intestin, elle améliore l'appétit et elle est antiémétique [22].
- Intervient dans le traitement des leucorrhées et sa propriété antiseptique au niveau de l'appareil génital et des voies urinaires [23].
- Ainsi, elle est utilisable comme anthelminthique, expectorant, et pour traitement de l'anémie et aussi prescrite comme un agent dans l'induction de l'avortement et la stérilité des femelles [18,19].

- La partie aérienne de cette plante est utilisée pour le traitement de la pression artérielle et diabète et des pathologies rénales [24].
- La racine crue écrasée est ingérée dans le traitement de l'hypertension, de la tuberculose, des affections poitrinaires, des infections respiratoires et bronchiques [25].
- Intervient dans le traitement des troubles gastroduodénaux [26,27,28].
- Employée contre les affections pulmonaires et les maux de tête [21].
- Des propriétés antibactériennes notamment contre *mycobacterium tuberculosis*, anti-protozoaires contre *Entamoeba histolytica*, qui cause des amibiases et antifongiques contre de pathogènes opportunistes comme certains *dermatophytes* [21].
- Employée pour ses propriétés anthelminthiques donc vermifuge et ses activités antipyrétiques [17].

### 7.6 Autres usages

- Elle possède une activité biologique pour prolonger la durée de conservation de nourriture [29].
- Ses huiles essentielles exploitées dans l'industrie agroalimentaire à fin d'augmenter la durée de vie d'un grand nombre de produits alimentaires en particulier les corps gras [30,31].
- Elle agit comme un insecticide végétal qui combat la mouche de l'olive.
- Contre les odeurs des pieds, étaler quelques feuilles à l'intérieur des chaussures avant de les mettre [17].
- Est un désinfectant, un cicatrisant, et un déodorant de premier ordre.

## 8. Travaux réalisés sur *Inula Viscosa*

L'espèce *Inula Viscosa* est considérée comme la reine des plantes médicinales. Grâce à sa richesse en divers métabolites secondaires, elle a fait l'objet de nombreuses études antérieures.

### 8.1 Aspects phytochimiques

Des travaux rapportent que les parties aériennes d'*Inula Viscosa* contiennent des flavonoïdes, des acides *sesquiterpéniques* et des *triterpènes* esters [17].

Plusieurs équipes dont celle de chercheurs espagnols, anglo-saxons et algériens ont pu isoler sur des feuilles d'*Inula Viscosa*, couvertes de leurs exsudats visqueux, de

nombreux flavonoïdes à savoir : *l'Hispiduline*, la *Népétine* la *Sakuranétine*, *l'Aromadendrine* et la *Taxifoline* [32].

Une étude *phytochimique* aussi réalisée sur la racine et la partie aérienne d'*Inula Viscosa*, d'origine espagnole, a abouti à l'isolement de nouveaux *sesquiterpénoïdes* tel que *l'Inulviscolide*, *4-HTomentosin*, et *l'acide Ilicique* [30].

Des recherches ont montré que la plante contient également d'autres substances dites « mineures », comportant des résines et des pectines constituant une matière noirâtre appelée : *la Phytomélane* [14].

D'autres études réalisées sur l'espèce confirment l'existence de nombreux composés au niveau de sa partie aérienne à savoir : les *flavonoïdes*, les *lactones sesquiterpéniques* et les *triterpènes esters*. Ces mêmes travaux ont permis également de révéler la présence d'autres constituants au niveau des racines. Il s'agit principalement de la *Paraffine*, de *l'Inuline*, de *l'Hélénine* et de trois *Sesquiterpènes essentiels* à savoir *l'Alantole*, *l'Alantolactone* et *l'Acide Allantique* [17].

De plus, d'autres équipes de chercheurs ont étudié la composition chimique de l'huile essentielle (HE) d'*Inula Viscosa*, dont la teneur varie selon ses différentes parties : les feuilles (0,42 %), les fleurs (0,29%) et les racines (0,28%). L'analyse de l'HE par chromatographie CG/MS a révélé la présence de plusieurs constituants variés dont les composants majoritaires sont :  $\gamma$ -*terpène* (36,9%),  $\alpha$ -*pinène* (18,9%),  $\beta$ -*pinène* (8,9%), *p-cymène* (11,7%), *limonène* (18,9%), *2,5-dimethoxy-p-cymène* (21,2%),  $\beta$ -*caryophyllène* (16,58%) et  $\alpha$ -*cadinol* (4,2%) [33].

## 8.2 Aspects pharmacologiques

Selon les travaux antérieurs, la plante médicinale *Inula Viscosa* a plusieurs activités : *antiinflammatoire*, *antidiabétique*, *antipyrétique* et *antiseptique*, *antifongique* contre les cératophytes et contre les moisissures, *antimicrobienne* curative de blessure *hypolipidémies*, *antiulcérogénique*, *antioxydante*, *antivirale* et *antitumorale*.

*Harmonic* et *Parrissot* ont mis en évidence son action dans le traitement des leucorrhées et sa propriété antiseptique au niveau de l'appareil génital et des voies urinaires. [34]

*Reeb* en 1987 montre l'action hypoglycémiant de *Inula Viscosa* absorbée en infusion chez l'homme diabétique [08].

En 1988 *Abdellah et al* par des essais «in vivo » sur le cochon nain, démontrent l'action spasmolytique de l'extrait aqueux d'*Inula Viscosa* sur les fibres lisses intestinales et bronchiques en prouvant l'inhibition de l'action de l'Acétylcholine [35].

Les travaux de *Chari et Hamdi Pacha* en 1999 attribuent à *Inula* un pouvoir cicatrisant certain d'après les essais de traitement des brûlures expérimentales réalisées sur des lapins [35].

## 9. Métabolites secondaires d'*Inula Viscosa*

D'un point de vue pharmacologique, les métabolites secondaires constituent la base des PAs que l'on retrouve chez les plantes médicinales. Ils font, en outre, l'objet de nombreuses recherches. Ils ont un intérêt multiple et sont mis à profit aussi bien dans l'industrie alimentaire, cosmétique que pharmaceutique. Ils sont également utilisés en thérapie pour leurs propriétés *antioxydantes*, *antimicrobiennes* et *antiinflammatoires*.

Les propriétés médicinales des plantes du genre *Inula* sont dues à leur richesse en métabolites secondaires. La composition chimique de ce genre est représentée par :

- Hispiduline [36].
- Les Terpenoides : Sesquiterpènes, Lactones [37,38].
- Les dérivés d'Acide anthranilique [39].
- Les HEs avec différents composants chimiques [40].
- Les Flavonoïdes : Comme la Quercétine, Apigénine, Sakuranétine

# PARTIE THÉORIQUE

Chapitre

2

## FLAVONOÏDES



## 1. Qu'est-ce qu'un flavonoïde ?

Le terme flavonoïde (de flavus, «jaune» en latin) désigne une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols [41]. Ils représentent la classe la plus répandue des composés phénoliques dans le règne végétal.

Les flavonoïdes sont des pigments végétaux qui sont responsables de la coloration des fleurs et des fruits. Du point de vue chimique, ils possèdent deux cycles benzéniques [42]. Assurant ainsi la protection des tissus contre les agressions des ultraviolets [43].

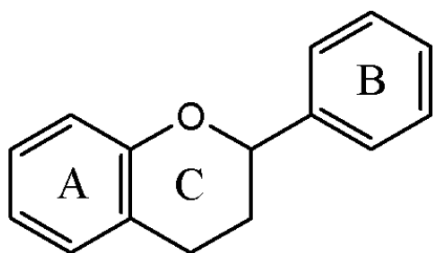
Selon *Marie-Céline Ray*, les flavonoïdes ont été découverts par *Albert Szent-Gyorgyi* (prix Nobel de physiologie ou médecine 1937 après avoir isolé la vitamine C).

De nombreux flavonoïdes, comme le *lycopène* dans les tomates, et les *procyanidines* dans les pommes, le raisin et les fraises, sont utilisés en médecine pour la prévention du cancer et des maladies cardiovasculaires, ainsi que comme agents antiviraux, d'autres sont utilisés pour leur saveur ou leur parfum [44].

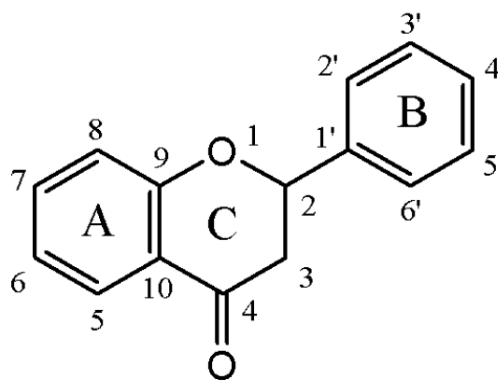
Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, dont les plus importantes sont les *flavones*, les *flavonols*, les *flavanones*, les *dihydroflavonols*, les *isoflavones*, les *isoflavanones*, les *chalcones*, les *aurones* et les *anthocyanes*.

## 2. Structure chimique

Les flavonoïdes sont une grande classe de métabolites secondaires englobant plus de 10 000 structures [45]. La structure des flavonoïdes est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C). Ce sont des dérivés du noyau *flavone* (**Figure 2.1**) ou *2-phényl chromone* portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides.

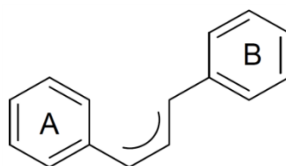


**Figure 2.2** : Noyau Flavane



**Figure 2.1** : Noyau Flavone

Les flavonoïdes ont tous la même structure chimique de base (**Figure 2.3**), ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbone constitués de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) [46].



**Figure 2.3** : Squelette de base des flavonoïdes

### 3. Classification et caractéristiques

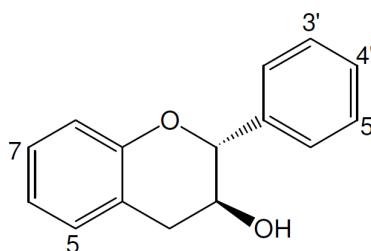
En général, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules, selon la structure et les modifications apportées aux anneaux A, B et C qui constituent leur produit chimique structurel [47].

Les composés flavonoidiques les plus répandus sont les flavonols et les flavones, alors que les flavanones, les flavonols et les anthocyanidines sont considérés comme des flavonoïdes minoritaires [48,49,50,51].

Il y a d'autres flavonoïdes qui se trouvent à faible concentrations dans les aliments tels que les flavane-3,4-diols, les dihydroflavonols, les coumarines, les dihydrochalcones, les chalcones, et les auronnes.

#### 3.1 Les flavonols

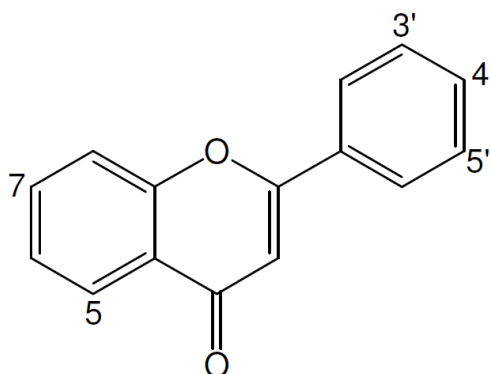
Les flavonols (hydroxy-3 flavone) sont les plus omniprésents dans les aliments avec la quercétine le composé le plus représentatif. Ils sont incolores. Ils ont une double liaison entre C2 et C3, avec un groupe hydroxyle en position C3 (**Figure 2.4**). Les flavonols qui possèdent en plus des hydroxydes en 6 ou 8 colorent certaines fleurs en jaune tels que la primevère (*Guignard 1996 ; Alais et Linden, 1997*). Les principales sources de flavonols sont l'oignon, poireau, brocolis, pomme, chou frisé, olive, tomate [46,52].



**Figure 2.4** : Structure chimique des flavonols

### 3.2 Les flavones

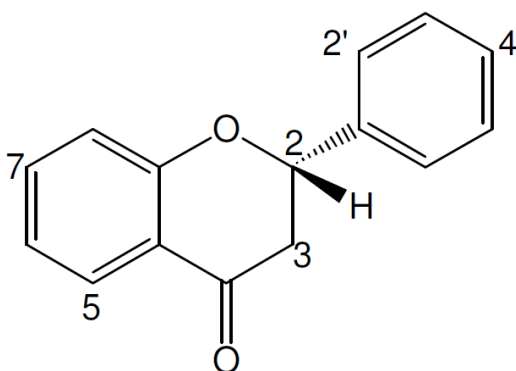
Les flavones ont une double liaison entre C2 et C3 et sont les flavonoïdes les moins communs (**Figure 2.5**). Ils se distinguent des flavonols seulement par l'absence d'un OH libre en C3, ce qui affecte leur absorption aux UV (Ultra-Violet), mobilité chromatographique et la réaction de coloration. Ils se trouvent essentiellement dans le persil, le cèleri, le thym, romarin, peau des fruits [46,52].



**Figure 2.5** : Structure chimique des flavones

### 3.3 Flavanones

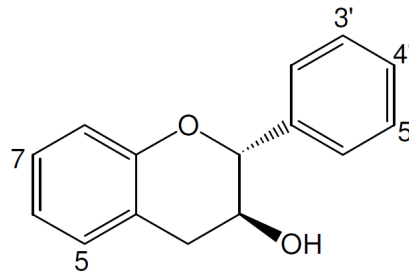
Les flavanones se caractérisent par la présence d'une chaîne saturée à trois atomes de carbone et d'un atome d'oxygène dans le C4 (**Figure 2.6**). Ces composés ne comportent pas des groupements OH en position 3 et présentent de fortes similitudes de structures avec les flavonols. Dans cette catégorie sont assemblés les flavonoïdes responsables de la saveur amère de certains fruits tels que les pamplemousses (*Alais et Linden, 1997*). Ils sont présents dans les plantes sous forme libre ou glycosylée. Les flavanones existent dans certains aliments tels : Graines de soja et produits qui en dérivent et fruit de genre citrus. [46,52].



**Figure 2.6** : Structure chimique des Flavanones

### 3.4 Les Flavanols

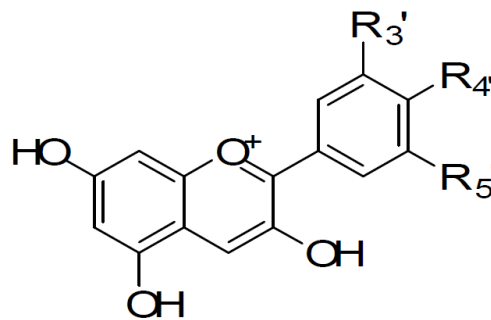
Les flavan-3-ols ou flavanols (*Figure 2.7*) sont un sous-groupe de flavonoïdes avec un carbone C3 saturé dans l'hétérocycle C. Ils représentent la sous-classe de flavonoïdes la plus complexe allant des simples monomères (catéchine et épicatechine), aux polymères de proanthocyanidines qui sont connus aussi comme des tanins condensés [53]. Ces composés existent dans : Vin rouge, thé noire, thé vert, cacao et chocolat [46,52].



**Figure 2.7** : Structure chimique des Flavanols

### 3.5 Anthocyanidines

Les anthocyanes (*Figure 2.8*) sont des pigments hydrosolubles, responsables de la plupart des couleurs rouge, bleu et violet des fruits, légumes et fleurs [54]. Ils existent dans : Raisins, vin rouge, certaines variétés de céréales, et certains légumes, mais ils sont plus abondants dans les fruits [53].



**Figure 2.8** : Structure chimique des Anthocyanidines

## 4. Présence et rôle dans la plante

Les flavonoïdes peuvent être présents dans toutes les parties de la plante. Généralement, ils sont présents sous forme glycosylée car la glycosylation a pour effet de les rendre moins réactifs et plus hydrosolubles permettant alors leur stockage dans les vacuoles des cellules épidermiques des fleurs, tiges et racines [55].

Ces composés sont responsables de donner la coloration aux végétaux. Cette dernière attire et guide les insectes vers le nectar en assurant le transport du pollen [56].

Ainsi, les flavonoïdes repoussent certains insectes par leur goût désagréable, en jouant un rôle dans la protection des plantes. Certains d'entre eux jouent également un rôle pour lutter contre une infection causée par des champignons ou par des bactéries [57].

De plus ils sont impliqués dans la photosensibilisation, morphogénèse, détermination sexuelle, photosynthèse et régulation des hormones de croissance des plantes [55].

## 5. Travaux réalisés sur les flavonoïdes : Propriétés pharmacologiques

Plusieurs propriétés biologiques ont été attribuées aux polyphénols, exactement les flavonoïdes:

- L'équipe de (Choi *h et al*, 2009 [58]) montre que les flavonoïdes possèdent une activité antivirale.
- Une recherche a été faite par *A.Boutlelis Djahra et al* sur l'activité antibactérienne des flavonoïdes. Ils ont montré que l'extraction des flavonoïdes a donné un rendement assez important égal à 5.9 %. Les composés flavonoïques isolés ont été séparés par CCM (Chromatographie sur Couche Mince) et leur activité antibactérienne vis-à-vis de six souches bactériennes responsables de certaines maladies infectieuses a été déterminée *in vitro* [59].
- Des études montrent que les flavonoïdes sont des agents antimicrobiens [49]. Ils s'attaquent à un grand nombre de souches bactériennes. Ils sont capables d'inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus* [60],
- *Escherichia coli* [61].
- Le travail de (Kuster *et al*, 2009 [62]) qui a été réalisé sur les flavonoïdes extraits de *Tibouchina grandifolia*, montre qu'ils ont une forte activité antifongique contre différents types de moisissures.
- Plusieurs recherches montrent que les flavonoïdes sont capables de moduler le fonctionnement du système immunitaire grâce à leurs propriétés anti-inflammatoires (Middleton *et Elliott*, 1996).
- *MANACH* indique dans son étude sur les polyphénols et leurs propriétés que d'autres métaanalyses solides montrent qu'une forte consommation de flavonoïdes réduit le risque de maladies cardiovasculaires et le diabète de type 2 [63].

## 6. Activité biologique : Pouvoir antioxydant

Les effets antioxydants d'huiles essentielles et d'extraits des plantes sont dus principalement à la présence des groupes d'hydroxyle dans leur structure chimique [64].

### 6.1 Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié, extrêmement instable, donc très réactif. Cette molécule est très instable et réagit rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir la stabilité, une réaction en chaîne débute lorsqu'un radical libre attaque la molécule stable la plus proche en lui arrachant son électron, et la molécule attaquée devient elle-même un radical libre [65,66].

### 6.2 Types de radicaux libres

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux primaires. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires, se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [67].

Du point de vue de la terminologie, il est souvent fait mention d'espèces réactives de l'oxygène. Ces espèces incluent non seulement des radicaux libres dérivés de l'oxygène : anion superoxyde ( $O_2^-$ ), radical hydroxyle (OH), radical hydroperoxyde ( $HO_2$ ), radical peroxyde ( $RO_2$ ), radical alcoyle (RO), mais d'autres espèces non radicalaires dérivées de l'oxygène : peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), acide hypochloreux, ozone ( $O_3$ ), oxygène ( $O_2$ ), peroxydinitrite ( $ONOO^-$ ) [68].

Par ailleurs, tous les radicaux libres ne sont pas des dérivés de l'oxygène, par exemple le monoxyde d'azote (NO) est un radical libre dérivé de l'azote [68].

### 6.3 Stress antioxydant

Un antioxydant est toute substance capable de retarder ou d'inhiber l'oxydation des substrats biologiques. Ce sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent ainsi inoffensifs [69].

### 6.4 Méthodes d'évaluation du caractère antioxydant

Les méthodes d'évaluation du caractère antioxydant sont nombreuses et peuvent être qualitatives ou quantitatives. Les méthodes qualitatives, utilisées pour repérer l'activité antioxydante des composés, sont relativement nombreuses et font intervenir en général, la

coloration ou la décoloration d'un réactif spécifique en présence d'agents antioxydants. Une des méthodes les plus utilisées pour la détection d'antioxydants est la CCM, qui donne naissance à des réactions colorées en présence de tels composés [70].

D'autres méthodes, moins pratiques, nécessitent la pulvérisation successive de deux solutions différentes. Une méthode à phase inversée de la CCM, combinée avec la détection visuelle pour l'évaluation de l'activité de balayage de radical libre des fractions antioxydantes en employant le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) [71].

La plupart des méthodes sont basées sur l'utilisation de systèmes générant des radicaux très variés. Ce sont principalement des méthodes dites "d'inhibition" dans lesquelles une espèce chimique capable de générer des radicaux libres est utilisée avec une substance capable de détecter ces espèces. L'échantillon dont on souhaite mesurer le pouvoir antioxydant est capable d'inhiber la génération des radicaux. Compte tenu de la complexité des processus d'oxydation, il n'existe pas de méthode unique qui permettrait de refléter le profil antioxydant d'un échantillon. C'est pourquoi on effectue différents tests de mesure de pouvoir antioxydant [72].

### **6.5 Piégeage du radical du DPPH**

Le composé chimique DPPH fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure activité antioxydante des composés phénoliques.

La réduction du radical DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à  $517nm$  provoquée par la présence des extraits phénoliques.

Le DPPH est initialement violet, se décolore lorsque l'électron célibataire s'apparie. Cette décoloration est représentative de la capacité des composés phénoliques à piéger ces radicaux libres indépendamment de toutes activités enzymatiques.

Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir antiradicalaire direct de différentes substances phénoliques des extraits [73].

# PARTIE THÉORIQUE

Chapitre

3

## ENCAPSULATION



## 1. Qu'est-ce qu'une encapsulation ?

L'encapsulation fait référence aux technologies permettant de formuler un (ou plusieurs) actif (s) au sein de particules individualisées présentant une géométrie et des propriétés spécifiques.

C'est dans les années 50 que les premiers produits encapsulés ont vu le jour, avec la fabrication du papier copie sans carbone, sur lequel étaient fixées des microcapsules contenant de l'encre [74].

### 1.1 Définition

L'encapsulation peut être définie comme un processus pour piéger une substance dans une autre substance, produisant ainsi un support de délivrance d'un diamètre de quelques nanomètres à quelques millimètres [75].

C'est un procédé qui a pour but de piéger une substance ou un mélange de substances précis à l'aide de matériaux adaptés. Les substances qui feront l'objet d'une encapsulation peuvent être liquides, solides ou gazeuses. Généralement, ce sont des principes actifs sensibles ou instables à certains facteurs environnementaux et qui ont une action bien ciblée. Il peut aussi s'agir de substances dont on souhaite modifier l'état comme par exemple la transformation d'un liquide en solide [74].

### 1.2 Terminologie

Dans la terminologie, ne discute pas uniquement l'encapsulation, mais bien aussi on peut mentionner la microencapsulation et la nanoencapsulation.

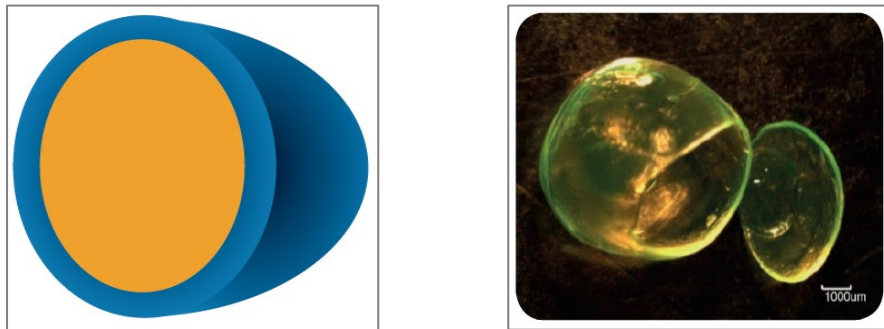
- Le terme «encapsulation» ne définit pas une gamme de taille particulière / donnée ;
- Le terme « microencapsulation» fait référence à des particules de tailles comprises entre  $1 \mu\text{m}$  et  $1 \text{mm}$  ;
- Le terme « nanoencapsulation» est utilisé pour les particules de tailles nanométriques, mais est parfois utilisé pour des objets de 1 ou quelques  $\mu\text{m}$  [76].

### 1.3 Structure des particules

Généralement, les produits d'encapsulation se présentent sous deux formes différentes [74]:

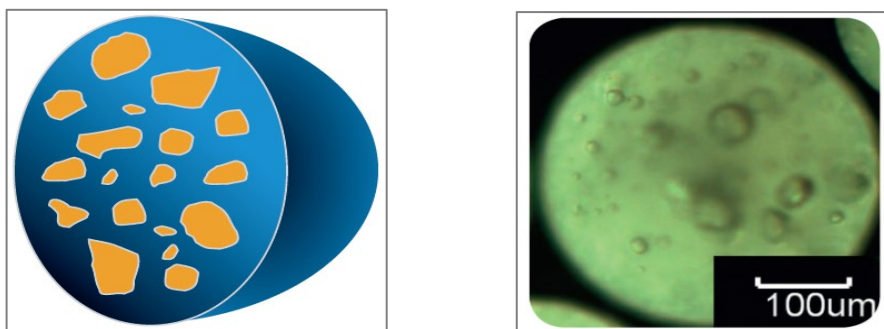
- Capsule (structure cœur / membrane): Particule réservoir comportant un actif liquide ou solide au cœur de sa structure (**Figure 3.1**). Le cœur est entouré d'un matériau enrobant constituant une membrane solide. En effet l'actif (pur ou non)

est confiné dans un cœur par une ou plusieurs membranes (microparticules, microcapsules).



**Figure 3.1** : Capsule (structure cœur / membrane)

- Sphère (structure matricielle) : Particule comportant un réseau polymérique ou lipidique continu constituant une matrice dans laquelle un composé actif finement y est dispersé à l'état de molécules, de particules fines et solides, ou de gouttelettes de solution (**Figure 3.2**). C'est-à-dire la dispersion du (ou des) actif (s) au sein du matériau support (billes, microparticules, microsphères).



**Figure 3.2** : Capsule Sphère (structure matricielle)

- Les deux structures peuvent être combinées : cœur matriciel / membrane, ou cœur / membrane matricielle (un actif dans le cœur et un autre dans la membrane) etc. [76].

Dans ce cas, il est nécessaire de différencier les deux morphologies. Une capsule est caractérisée par sa structure cœur-couronne où la matière active (solide, liquide ou gazeuse) est confinée au cœur tandis que le matériau polymère constitue autour une membrane. La sphère, quant à elle, contient la matière active sous forme dispersée au sein d'une matrice polymère [77].

#### 1.4 Objectifs

L'encapsulation d'un principe actif (PA) répond à quatre grands objectifs (**Tableau 3.1**) [76].

**Tableau 3.1:** Objectifs d'encapsulation

Objectifs	Pourquoi encapsuler ?
<b>Immobilisation</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Composés volatils (fragrances, arômes) ;</li> <li>▪ Procédés de bioconversion en continu (enzymes, microorganismes).</li> </ul>
<b>Protection / Stabilisation</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Stabiliser et protéger le composé actif vis-à-vis de son environnement (O<sub>2</sub>, lumière, T°, H<sub>2</sub>O, pH) ;</li> <li>▪ Protéger le manipulateur ou le consommateur (protéases dans les détergents, pesticides).</li> </ul>
<b>Libération contrôlée (à un temps donné, sous l'action d'un déclencheur)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Diffusion, réhydratation, dégradation, rupture ;</li> <li>▪ Libération déclenchée par une condition prédéterminée (chimique, physique, mécanique) : température, pH, humidité, pression...</li> <li>▪ Libération prolongée avec un profil cinétique déterminé (vitamines, arômes, pesticides).</li> </ul>
<b>Structuration / Fonctionnalisation</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Conversion d'un liquide ou d'un gaz en solide ;</li> <li>▪ Masquage de gout, d'odeur ou de couleur ;</li> <li>▪ Propriétés de surface et rhéologique des poudres, absence de fines ;</li> <li>▪ Aspect visuel et concept marketing.</li> </ul>

## 2. Matériaux d'encapsulation

Les matériaux d'encapsulation sont principalement des polymères d'origine naturelle ou synthétique, ou des molécules amphiphiles pour leur double polarité.

### 2.1 Polymères naturels

Les polymères naturels, également appelés biopolymères, sont des matériaux naturels, formés au cours des cycles de vie des plantes vertes, des animaux, des bactéries et des champignons. Ils sont classés principalement en trois groupes: les polysaccharides, les polypeptides et les polynucléotides [78].

Parmi les biopolymères d'origine végétale, animale ou bactérienne, on peut citer: alginates, pectines, chitosanes, carraghénanes, gomme arabique, dérivés cellulosiques, amidons, gélatines, protéines de lait, gomme de gellane...

## 2.2 Polymères synthétiques

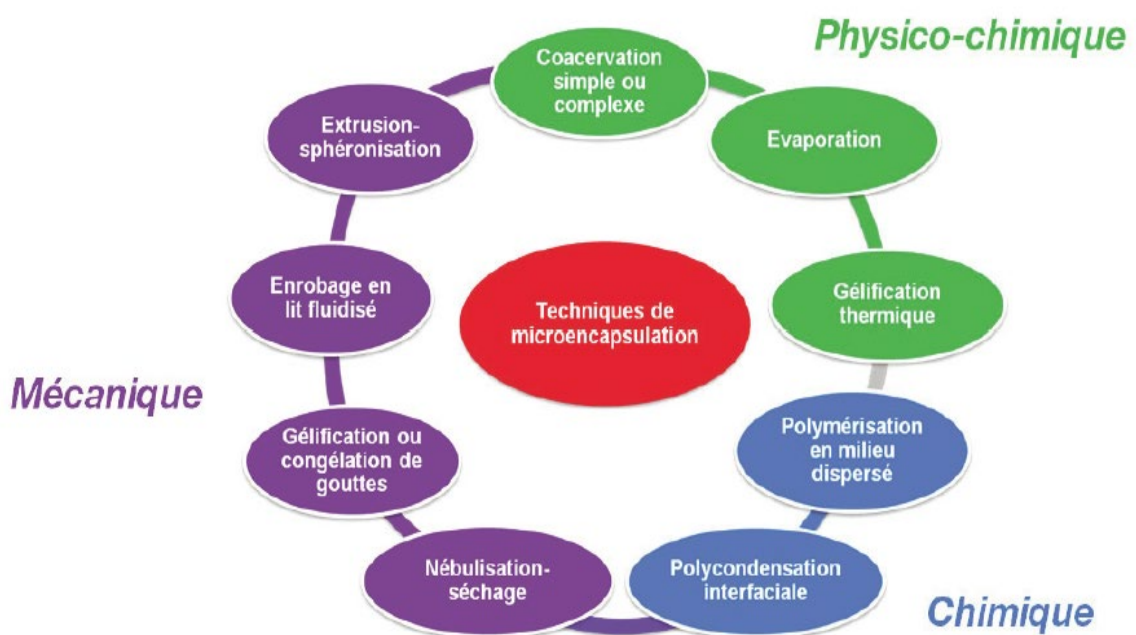
Les polymères synthétiques biodégradables sont actuellement à l'étude en tant que véhicules ou comme échafaudages pour l'ingénierie tissulaire. La caractéristique la plus importante de polymères biodégradables dans l'administration de médicaments est qu'il n'y a pas de retrait chirurgical de suivi une fois que le médicament de l'offre est épuisé. Les produits de dégradation sont biocompatibles avec les tissus vivants et peuvent être facilement éliminés du corps [79].

Parmi les polymères synthétiques : PVA, PEG, PLGA, polyurée, isocyanates, polycaprolactone, polyamides, polyuréthanes, mélamine formaldéhyde...

## 3. Techniques d'encapsulation

Plusieurs procédés permettant l'encapsulation de principes actifs sont disponibles (*Figure 3.3*). Le choix d'une technique se fera en fonction de la nature de l'actif à encapsuler, de la taille de particule souhaitée, de l'application envisagée (cosmétique, pharmaceutique, agroalimentaire, peinture...), de la vitesse et des conditions de libération prévues, des rendements d'encapsulation nécessaires, mais également des contraintes de fabrication et de cout.

En effet, la classification des techniques d'encapsulation la plus répandue s'intéresse principalement au principe même du procédé [80]:



**Figure 3.3** : Techniques d'encapsulation

### 3.1 Procédés physicochimiques

Les procédés physicochimiques basés sur des variations de solubilité des agents enrobant sous l'effet de variations de conditions physiques (température, pH, ajout d'un non-solvant ou d'un polymère incompatible...), et de changements d'état (fusion et solidification) des agents enrobants.

#### 3.1.1 Coacervation simple

Le procédé de coacervation consiste à abaisser la solubilité d'un polymère (coacervation simple) initialement solubilisé dans un solvant organique ou en milieu aqueux, en variant la température ou par ajout d'un électrolyte, d'un non-solvant ou d'un deuxième polymère (agent de coacervation). Il se formera deux phases liquides : l'une riche en polymère appelée coacervat et l'autre pauvre en polymère [81].

Au départ la dispersion du PA dans la solution de polymère. Ensuite, la formation des gouttelettes de coacervat, et le dépôt du coacervat. Puis, la fusion des gouttelettes de coacervat et formation d'un enrobage continu. Enfin, la solidification de l'enveloppe.

#### 3.1.2 Coacervation complexe

La coacervation complexe permet de fabriquer des microcapsules à base de deux polymères de charges différentes qui en complexant, fixent les composés du PA. Ces microcapsules sont ensuite emprisonnées dans une enveloppe sous forme de billes. Il s'agit d'une double encapsulation.

Au départ, le PA à encapsuler est dispersé dans une solution aqueuse comportant les deux polymères. Ensuite, la coacervation est réalisée par un ajustement du pH de la solution, de sorte que les charges positives du premier polymère équilibrent les charges négatives du deuxième. Un coacervat mixte apparaît grâce à l'attraction électrostatique des deux polymères. Finalement, les gouttelettes de coacervats ainsi formées vont venir s'adsorber à la surface du PA à encapsuler et former un enrobage continu. Cet enrobage sera consolidé par réticulation des macromolécules constituant du coacervat [74].

#### 3.1.3 Emulsion et Evaporation-Extraction de solvant

Le principe consiste à l'évaporation de la phase interne d'une émulsion donnant lieu à la précipitation du polymère d'enrobage préalablement dissout dans cette phase, sous forme de microsphères [81].

En effet, l'utilisation des polymères généralement hydrophobes dissous dans un solvant organique peu miscible avec l'eau (dichlorométhane). De plus, le PA dissout ou

dispersé dans la solution de polymère. Ensuite, le mélange est émulsifié afin d'obtenir une émulsion huile-dans-eau. Enfin, l'évaporation du solvant après diffusion progressive dans la phase continue est réalisée sous pression atmosphérique ou pression réduite et sous agitation lente.

### 3.1.4 Gélification thermique

Au départ, la dissolution ou la dispersion du PA à encapsuler dans le matériau d'enrobage en fusion puis à émulsionner l'ensemble dans une phase dispersante à une température supérieure à la température de fusion du matériau enrobant. Matériau d'enrobage : des lipides de bas point de fusion (cire de Carnauba, alcool cétylique...). Enfin, le refroidissement rapide afin de solidifier les particules obtenues [81].

## 3.2 Procédés mécaniques

Ces procédés sont basés sur le séchage ou la solidification de gouttelettes contenant tous les constituants de la future particule, comme l'extrusion ou la formation des gouttes.

### 3.2.1 Nébulisation-séchage par atomisation

C'est un procédé continu en une étape permettant d'obtenir une poudre à partir d'une solution, d'une suspension liquide, ou encore d'une émulsion. Le principe de base consiste à pulvériser la formulation liquide à travers une buse d'atomisation sous forme d'un aérosol de fines gouttelettes de 5 à 500 $\mu$ m dans une enceinte.

Les microgouttelettes formées sont mises en contact avec un flux d'air établi à contre-courant ou co-courant préalablement chauffé. Grâce à une surface d'échange importante, l'évaporation du liquide est rapide ce qui permet la formation de microparticules solides. En effet, dans le cas d'une solution, le volume liquide diminuant, la concentration du produit dissout augmente et il y a apparition du solide par précipitation [82].

### 3.2.2 Gélification et Congélation des gouttes

La gélification de gouttes est basée sur une solution, dispersion ou émulsion de matière active dans une solution aqueuse de polymère capable de former des gels sous une action extérieure physique (température) ou chimique (pH, présence d'un composé induisant la précipitation) [83].

### 3.2.3 Extrusion sphéronisation

La technique d'extrusion peut être utilisée pour l'encapsulation de matière active dans des polymères thermoplastiques, dont la viscosité à l'état fluide permet de préparer des microcylindres homogènes et réguliers [84].

D'abord, le produit à encapsuler et le matériau enrobant sont préalablement mélangés. Ce mélange est passé à travers une extrudeuse où il subit un certain nombre d'opérations: mélange, malaxage, mise en pression, échauffement, détente. La séquence de ces opérations est établie de manière à obtenir une transition d'état de la matière (solide/liquide).Après extrusion, la matière obtenue est découpée en microparticules cylindriques, qui sont ensuite érodées mécaniquement pour rendre leur forme voisine de celle de microsphères. Enfin, le PA doit être stable thermiquement à la température d'extrusion et les tailles initiales des poudres de polymère et de PA doivent être voisines. La taille des particules est supérieure à  $200 \mu\text{m}$  [85].

### 3.2.4 Enrobage en lit d'air fluidisé

Ce procédé, il s'applique exclusivement à des matières actives sous forme solide (granules, cristaux). Durant le procédé d'enrobage, il y a formation d'une couche de matrice homogène autour du PA donnant aux microparticules obtenues une structure de type capsule [86].

L'encapsulation se déroule dans une chambre cylindrique verticale d'un lit fluidisé et les particules à encapsuler sont "fluidisées" à l'aide d'un flux d'air.

En effet, le matériau enrobant est pulvérisé sur cette suspension fluide de particules. Les gouttelettes de la solution de polymère entrent en contact avec la surface de particules du PA et si les conditions d'étalement sont respectées, le polymère s'adsorbe a la surface des particules. Ainsi, la couche d'enrobage se forme après plusieurs passages successifs par les zones de pulvérisation et séchage permettant de couvrir la totalité de la surface de la particule par une couche continue et homogène.de plus, l'épaisseur de la couche de polymère formé peut être variable de quelques  $\mu\text{m}$  à une vingtaine de  $\mu\text{m}$  [86].

L'obtention d'un bon enrobage va dépendre à la fois des paramètres de pulvérisation (concentration de la formulation, débit, taille des gouttelettes) et des paramètres de séchage (volume d'air de fluidisation, température de l'air, degré d'humidité) [80].

### 3.3 Procédés chimiques

Les procédés chimiques au cours desquels se déroulent de manière simultanée la synthèse de la membrane (ou de la matrice) et l'encapsulation de la substance active. Ces procédés chimiques n'utilisent donc pas de matrices enrobantes préformées.

#### 3.3.1 Polycondensation interfaciale

Ce procédé consiste à faire réagir deux monomères, l'un dans la phase dispersée, l'autre dans la phase dispersante, afin d'obtenir une membrane de polymère à la surface des gouttelettes formées [9,82].

Dans le cas d'un PA lipophile, la première étape consiste à préparer une solution contenant le PA et un premier monomère dans un solvant organique puis de former une émulsion grâce à un tensioactif. On ajoute ensuite dans cette phase aqueuse le second monomère hydrosoluble afin d'induire la réaction des deux monomères à l'interface huile/eau où ils auront diffusé [80].

#### 3.3.2 Polymérisation interfaciale

L'encapsulation par polymérisation interfaciale nécessite la formation d'une émulsion, dans laquelle deux monomères réactifs sont solubles respectivement dans chacune des phases de l'émulsion et/ou la matière active se trouve dans la phase dispersée. La réaction de polymérisation se déroule alors à l'interface des gouttelettes contenant la matière active (pure, en solution ou en dispersion) créant ainsi la paroi des microcapsules [87].

#### 3.3.3 Polymérisation en milieu dispersé

Le procédé chimique de microencapsulation en milieu dispersé peut avoir lieu en dispersion, émulsion ou encore en microsuspension. La voie de polymérisation peut être soit anionique soit radicalaire [84].

Au début, le monomère est solubilisé dans la phase continue d'une dispersion (émulsion, suspension), alors que le PA se trouve dans la phase dispersée). Après amorçage de la réaction de la polymérisation, les polymères formés précipitent à partir d'une longueur de chaînes critique formant ce que l'on appelle les noyaux primaires. Ensuite, la précipitation des chaînes polymériques autour du PA permet la formation d'une particule finale de type microcapsule.



## 4. Libération du principe actif

### 4.1 Mode de libération

Dans le cas de la majorité des applications de la micro-encapsulation, les substances actives sont dans un premier temps maintenues et protégées dans le cœur des microcapsules durant une période de temps définie, et dans un second temps sont soit libérées progressivement à travers la membrane selon une certaine vitesse de libération, soit libérées massivement en une seule fois. Dans ce cas la libération est déclenchée par un procédé assurant une libération spécifique [88].

La libération de l'agent actif encapsulé dépend de la solubilité, de la diffusion et de la biodégradation des matériaux d'enveloppe ou de matrice. Cette libération peut être modifiée par le choix du polymère ou du matériau de revêtement. La capacité de charge est directement proportionnelle à la vitesse d'éclatement et de libération des molécules nano-encapsulées [75,89].

Un certain nombre de facteurs physicochimiques permettent de caractériser la membrane d'une microcapsule ou la matrice d'une microsphère : charge électrique de surface, mouillabilité, porosité, tortuosité des pores, degré de gonflement.

Le taux d'encapsulation (ou la teneur en matière active) peut être très élevée dans les microcapsules, de l'ordre de 85 à 90 % (rapport massique). Comparés à ceux rencontrés dans les microsphères qui sont plus faibles, de l'ordre de 20 à 35 %.

Le rendement d'encapsulation est le rapport entre la masse de PA encapsulé et la masse de PA à encapsuler [88].

### 4.2 Mécanismes de libération des substances encapsulées

Plusieurs mécanismes sont possibles, mais dépendent de la façon dont le PA doit être libéré, ainsi que des capacités du PA d'atteindre sa cible. Les différentes pratiques sont:

- La pression externe : Le contenu de la capsule est libéré par rupture de la membrane suite à l'écrasement de cette dernière ;
- La pression intérieure : Ceci n'est possible que si le PA produit des composants gazeux qui augmentent la pression à l'intérieur de la capsule jusqu'à l'éclatement ;
- L'abrasion : la capsule est progressivement usée jusqu'à la libération de la substance contenant ;

- La chaleur : le contenu est libéré suite à la fusion de l'enveloppe de la microcapsule ;
- La combustion-décomposition : les substances extinctrices d'incendie libèrent leurs contenus suite à la combustion ou la décomposition de l'enveloppe ;
- Les solvants : Certaines microcapsules sont destinées à être dissoutes dans un solvant spécifique ;
- Le pH : la libération du PA par dissolution de la membrane au contact d'une substance à pH donné permet de libérer le produit dans un site spécifique ;
- La dégradation enzymatique : Cela permet de libérer la substance à un endroit donné c'est-à-dire où les enzymes sont présentes et digèrent la membrane ;
- La perméabilité : la membrane étant perméable, le contenu est libéré progressivement par diffusion, dissolution ou évaporation. La membrane peut également être semi-perméable pour le substrat qui va diffuser à travers la membrane [88].

## 5. Domaines d'encapsulation

Actuellement, les applications de l'encapsulation sont très nombreuses et généralisées à plusieurs secteurs d'activités partant de la chimie à l'agroalimentaire en passant par les secteurs pharmaceutiques, cosmétiques, l'agriculture, les textiles ou encore la peinture.

Il est facile de constater que les domaines d'application de l'encapsulation sont très larges et diversifiés. Chaque procédé d'encapsulation répond à des critères bien définis [80].

# PARTIE EXPÉRIMENTALE

Chapitre

**4**

MATERIELS ET METHODES

## 1. Matériel

Ce travail expérimental a été réalisé sur une période de 3 mois, allant du mois d'avril jusqu'au mois de juin 2021, au sein du laboratoire de chimie organique de l'université Saad DAHLAB Blida 1.

### 1.1 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé au cours de cette étude est constitué de feuilles fraîches d'*Inula Viscosa* (**Figure 4.1**) dont l'identification a été réalisée par des personnes qui ont des connaissances préalables sur cette plante.



**Figure 4.1** : Matériel végétal (*Inula Viscosa*)

Les feuilles d'*Inula Viscosa* ont été récoltées dans la région de Larhat (*Damous*) à l'ouest de la wilaya de Tipaza en Algérie au mois d'avril 2021 durant la période printanière. Cette période correspond au stade feuillaison de la plante. La récolte a été effectuée dans une matinée, ensoleillée où la température variait entre 20 et 24°C.

Les feuilles d'*Inula* sont débarrassées des impuretés et conservées à l'abri de la lumière et de l'humidité puis les utilisées fraîches après un jour.

### 1.2 Produits et équipements

Pour réaliser le travail expérimental, nous avons utilisé des solvants pour faire l'extraction et le dosage de polyphénols et flavonoïdes, ainsi des solvants pour évaluer l'activité antioxydante, l'encapsulation et la dissolution. De plus nous avons exploité les appareils, instruments et verreries de laboratoire (*voir Annexe B*).

## 2. Méthodes

### 2.1 Extraction des flavonoïdes

Nous avons réalisé l'extraction des flavonoïdes de l'espèce à l'échelle laboratoire par macération dans un mélange de solvant organique /aqueux.

L'extraction est une étape très importante dans l'isolement et la récupération des composés d'intérêt. Elle est influencée par plusieurs facteurs notamment la méthode utilisée et la présence de substances interférentes.

La macération est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple qui consiste à mettre en contact prolongé le matériel végétal avec un solvant, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser. C'est une extraction qui se fait à température ambiante afin de préserver les substances thermosensibles [90].

#### 2.1.1 Protocole expérimental

##### 2.1.1.1 Préparation de l'extrait brut

Les flavonoïdes sont extraits du matériel végétal par macération (**Figure 4.2**) dans un mélange hydroalcoolique : éthanol/eau (50/50 : V/V) à température ambiante et à l'obscurité, cette opération est renouvelée trois fois toute les 24h. Le rapport solvant / matériel végétal utilisé était de 10/1 (ml / g) [91].



**Figure 4.2 : Macération**

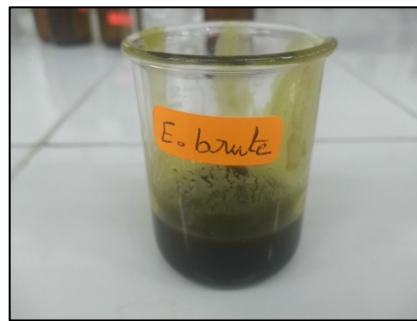
L'extrait hydroalcoolique est récupéré après filtration (**Figure 4.3**). Ensuite, le mélange éthanol/eau est éliminé du filtrat par évaporation (**Figure 4.4**) permettant d'obtenir l'extrait brut (**Figure 4.5**) de l'espèce.



**Figure 4.3:** Filtration



**Figure 4.4:** Evaporation



**Figure 4.5 :** Extrait brut

L'extrait brut est repris dans de *100 ml* de l'eau distillée bouillante solubilisant quantitativement les flavonoïdes, ensuite il est laissé décanter à température ambiante pendant *24 heures (Figure 4.6)*. La décantation est nécessaire pour éliminer les boues, les graisses et les résines risquant de gêner la suite des opérations. Un volume *50 ml* de cet extrait a été soumis à une évaporation jusqu'à l'élimination de l'eau puis conservé jusqu'à usage et cela donne l'extrait aqueux. Le volume restant sera fractionné ultérieurement [91].



**Figure 4.6 :** Décantation

### 2.1.1.2 Fractionnement de l'extrait brut

Dans des ampoules à décanter, l'extrait brut est épuisé successivement par 3 solvants (éther diéthylique ; l'acétate d'éthyle et le n-butanol) L'extrait brut est initialement mélangé avec 20 ml d'éther diéthylique le mélange est laissé décanter pendant 30 min ; la phase organique supérieure est récupérée (**Figure 4.7**). L'extraction est refaite deux fois, l'éther diéthylique est par la suite évaporé à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif puis pesées et reprises par 5 ml du méthanol, et conservés jusqu'à utilisation. L'extrait résultant est considéré comme étant la fraction d'éther diéthylique. La phase aqueuse résiduelle est soumise à une autre extraction liquide-liquide par l'acétate d'éthyle et le n-butanol, en suivant les mêmes étapes que la première extraction. [91]



**Figure 4.7 :** Décantation (extraction liquide-liquide)

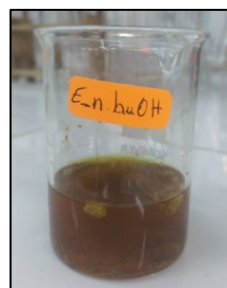
La série d'extraction permet d'obtenir quatre fractions, la fraction d'éther diéthylique (*EEth*) (**Figure 4.8**), la fraction d'acétate d'éthyle (*EAc*) (**Figure 4.9**), la fraction du n-butanol (*En-BuOH*) (**Figure 4.10**), et la fraction aqueuse (*EAg*) résiduelle (**Figure 4.11**).



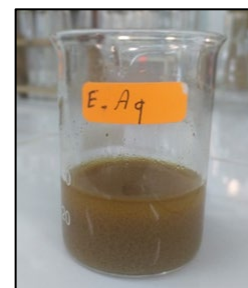
**Figure 4.8 :** E.Eth



**Figure 4.9:** E.Ac

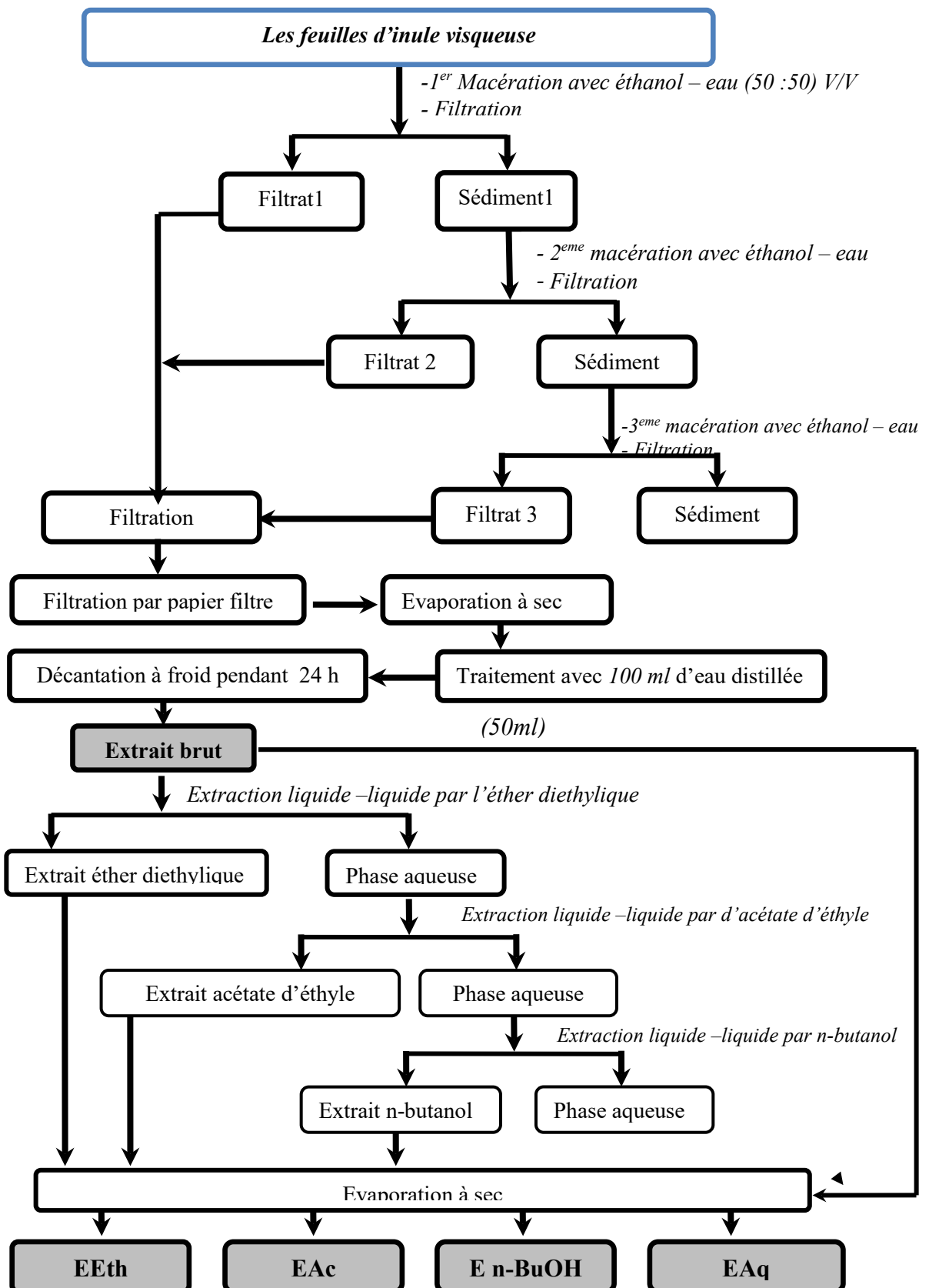


**Figure 4.10 :** E.n-BuOH



**Figure 4.11 :** E.Aq

Le schéma (**Figure 4.12**) représente les différentes étapes de l'extraction des flavonoïdes. [91]



**Figure 4.12:** Schéma de l'extraction des flavonoïdes *d'Inula Viscosa*



### 2.1.2 Rendement en extrait flavonoïques

Le calcul du rendement de l'extrait brut et le rendement de chaque extrait flavonoïque (fraction éther d'éthylique, acétate d'éthyle, 1-butanol et aqueuse) a été déterminé par rapport à 100 g du matériel végétal selon la relation suivante :

$$Rdt (\%) = [(M1 - M2) / M3] \times 100 \longrightarrow (Eq: 4.1)$$

- M1 : masse du ballon après évaporation.
- M2 : masse du ballon avant évaporation (ballon vide).
- M3 : masse de la matière végétale de départ.

Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids du ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant le transfert du filtrat à évaporer)

## 2.2 Dosage des polyphénols

Le dosage des Polyphénols a été effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode citée par [91].

### 2.2.1 Principe

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu consiste en une solution jaune acide contenant un complexe polymérique d'ions (hétéropolyacides). En milieu alcalin, le réactif de Folin-Ciocalteu, oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéropolyacides, d'où la formation d'un complexe bleu. Cette coloration bleue dont l'intensité est proportionnelle aux taux de composés phénoliques présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 765 nm [91].

### 2.2.2 Mode opératoire

- Introduire 200 µl de la solution de l'acide gallique à différentes concentrations dans les tubes d'une première série ;
- 200 µl de chaque extrait dilué dans 5 ml du méthanol dans les tubes d'une deuxième série ;
- Ajout de 1ml du réactif Folin Ciocalteu dilué 10 fois ;
- Laisser agir 4 min puis ajouter 800 µl de la solution de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) à 7.5% dans chaque tube ;
- Agitation puis incubation à l'obscurité pendant 2 heures ;
- Lecture des absorbances à 765 nm.

Le blanc est représenté par 200  $\mu\text{l}$  de méthanol, additionnée de 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu et 800  $\mu\text{l}$  de carbonate de sodium à 7.5 % [91].

### 2.2.3 Expression des résultats

La concentration en composés phénoliques extractibles totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait de plante (mg EAG / g E).

Le total des composés phénoliques est déterminé selon l'équation suivante :

$$T = C.V/M \longrightarrow (Eq : 4.2)$$

- $T$  : Représente le total des composés phénoliques (mg EAG / g d'extrait sec de la plante) ;
- $C$  : Concentration d'extrait éthanolique équivalente à l'acide gallique, obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (mg/ml) ;
- $V$  : le volume d'extrait éthanolique (ml) ;
- $M$  : masse sèche d'extrait éthanolique de la plante (g).

## 2.3 Dosage des flavonoïdes

La méthode du trichlorure d'aluminium est utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits de l'*Inula Viscosa* [89].

### 2.3.1 Principe

La méthode de chlorure d'aluminium est basée sur la formation d'un complexe Flavonoïdes-aluminium, ce dernier à un maximum d'absorption 430nm.

### 2.3.2 Mode opératoire

Une gamme de 05 concentrations de quercétine allant de 2,5 à 25  $\mu\text{g}$  /ml a été préparée à partir d'une solution mère de 40  $\mu\text{g}$  /ml de concentration 1 ml de chaque extrait et du standard a été ajouté à un volume égal d'une solution d' $\text{AlCl}_3$  (2% dans le méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation à l'aide d'un spectrophotomètre [90].

### 2.3.3 Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = a x + b$ ) réalisé par un standard étalon " la quercétine " et les résultats sont

exprimés en microgrammes d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait ( $\mu\text{g EQ/g}$  d'extrait).

## 2.4 Evaluation de l'activité antioxydante

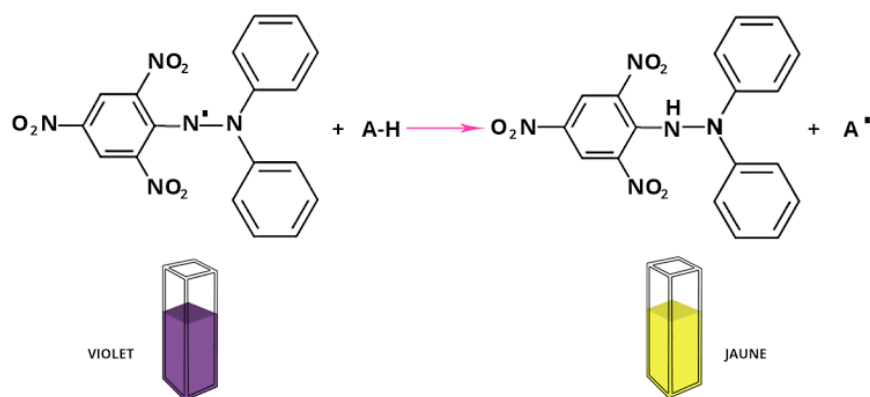
### 2.4.1 Principe

Pour évaluer l'activité antioxydante, Nous avons utilisé la méthode du DPPH (2,2 diphényl-1-picrylhydrazyl) selon le protocole qui permet de mesurer le pouvoir réducteur par le calcul de la CI50 des substances antioxydantes contenues dans un extrait [92].

Le DPPH est un radical libre, stable de couleur violette qui absorbe à 517nm. En présence de composés antiradicalaires, le radical DPPH● est réduit et change de couleur en virant au jaune.

Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH● qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon [92].

Le schéma ci-dessous (**Figure 4.13**) montre la réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH●.



**Figure 4.13** : Réaction d'un donneur d'hydrogène (antioxydant) avec le radical DPPH●

### 2.4.2 Mode opératoire

Pour cette expérience, nous avons réalisé les étapes suivantes :

- La solution de DPPH est préparée avec 4mg de DPPH dissout dans 100 ml de méthanol absolu, nous obtenons une solution mère d'une concentration de 0.004%.
- En parallèle, nous avons préparé une solution mère de 0.1 g de chaque extrait dans 1 ml de méthanol. Par la suite des dilutions sont réalisées à différentes concentrations (0.05 mg/ml, 0.025 mg/ml, 0.01 mg/ml, 0.005 et 0.0025).

- 1 ml de la solution DPPH est rajouté aux différentes solutions à tester. Après agitation, les tubes sont placés à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 min.
- La lecture de l'absorbance des échantillons est faite contre un blanc à 517 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

### 2.4.3 Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH est exprimé par la formule suivante [92]:

$$I\% = [(A \text{ contrôle} - AE) / A \text{ contrôle}] \times 100 \quad \text{-----} \text{Eq 4.3)$$

Avec:

- $I\%$ : Pourcentage de DPPH réduit ;
- $A \text{ contrôle}$ : Absorbance du blanc (absorbance du DPPH à  $t_0$ ) ;
- $AE$ : Absorbance de l'échantillon à tester.

Nous allons déterminer la valeur de la concentration inhibitrice à 50% (CI50) des extraits. Elle représente la concentration de l'extrait qui cause la perte de 50% de l'activité du DPPH.

### 2.5 Encapsulation

Dans le cadre de cette étude, nous nous proposons de préparer des microcapsules à base d'alginate contenant les différents extraits de l'espèce étudiée *Inula Viscosa* comme PA. L'objectif visé par cette étude est de suivre, en fonction du temps, la libération de PA des microcapsules formées de chaque extrait dans un milieu similaire au milieu gastrique de l'homme, dont le PH de milieu assez acide.

Le choix de polymère s'est fait en tenant compte aux quatre critères suivants :

- Sa biodégradabilité ;
- Sa disponibilité ;
- De faible cout de l'encapsulation ;
- Conditionnement relativement simple de l'encapsulation (sans impact négatif sur l'activité du PA).

La libération s'exécutera en trois étapes :

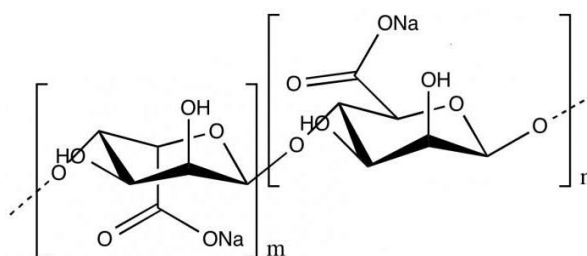
- Pénétration de milieu de dissolution à travers la membrane qui par la suite se gonfle après certains temps ;
- Dissolution du PA à l'intérieur du réservoir ;
- Diffusion vers l'extérieur.

## 2.5.1 Production des microcapsules

### 2.5.1.1 Composition des capsules

#### a) Comme Polymère : Alginate de sodium

L'alginate de sodium (ou polymannuronate sodique), est un polymère. C'est une longue molécule extraite d'algues brunes séchées, constituée par la répétition régulière d'unités appelées monomères (de formule brute  $NaC_6H_7O_6$ ) reliées entre elles pour former une chaîne (**Figure 4.14**). Ces monomères étant des sucres, l'alginate est donc un polysaccharide composé d'acide D-mannuroniques et L-glucuroniques. Il est utilisé dans ce travail comme excipient pour transporter les médicaments sous forme de microcapsules ou microsphères.



**Figure 4.14** : Structure d'Alginate de sodium

#### b) Comme Réticulant : Chlorure de Calcium

Le chlorure de calcium ( $CaCl_2$ ) utilisé comme agent réticulant pour la synthèse des billes à base d'alginate. nous avons choisi ce réticulant pour sa disponibilité, sa bonne réactivité avec l'alginate et sa faible toxicité.

#### c) Comme Principe actif

L'extrait brut obtenu par macération des feuilles fraîches de la plante *Inula Viscosa* et les extraits obtenus par fractionnement sont utilisés comme PA dans l'encapsulation.

### 2.5.1.2 Mode opératoire

En effet, la production des microcapsules selon cette technique nécessite une préparation en quatre étapes principales. Ces dernières sont répétées avec tous les extraits.

**Étape 01** : Cette étape consiste à préparer la solution nécessaire au processus de gélification. Pour cela, une solution d'alginate de sodium à 2% est préparée par dissolution dans l'eau distillée sous agitation rapide à température ambiante durant cinq heures.

**Étape 02 :** Dans cette étape, on ajoute l'extrait à la solution d'alginate de sodium sous agitation jusqu'à l'obtention d'une solution homogène stable de couleur marron clair et caractérisée par l'odeur de l'extrait.

**Étape 03 :** Cette étape comprend à préparer la solution qui servira de bain réticulant. Elle nécessite de dissoudre le Chlorure de Calcium ( $Ca Cl_2$ ) dans l'eau distillée à  $0.1 M$ .

**Étape 04 :** Le mélange est introduit ensuite dans la solution de ( $Ca Cl_2$ ) à l'aide d'une seringue pour l'obtention des microcapsules.

Les microcapsules obtenues sont laissées *24 heures* dans la solution de  $Ca Cl_2$ , puis nous avons les rincé, les égoutté et les laissé dans des boites à pétri jusqu'à l'utilisation.

**Remarque :** Un assemblage adéquat serait la constitution dans un délai de quelques secondes de billes assez résistantes et solides pour être manipulé avec les doigts.

### 2.5.2 Test de dissolution in vitro

Le test de dissolution in vitro appliqué aux capsules permet de s'assurer qu'une fois administrés, ces derniers libèreront le PA qu'ils contiennent, pour le mettre à la disposition de l'organisme, et ceci dans les limites de concentration et de vitesse déterminées, afin de garantir l'effet thérapeutique désiré [93].

L'essai de dissolution in vitro appliqué aux capsules est destiné à déterminer leur plus ou moins grande aptitude à laisser passer en solution dans un milieu déterminé, le ou les PA qu'ils contiennent. Le passage en solution est apprécié par dosage du PA dans des échantillons prélevés dans le milieu de dissolution à intervalles de temps différents [94].

Les pharmacopées préconisent l'appareil à palette tournante pour réaliser le test de dissolution in vitro des formes pharmaceutiques orales solides à libération immédiate [93].

#### 2.5.2.1 Mode opératoire

Pour réaliser le test de dissolution in vitro des capsules à tester, en utilisant l'appareil à palette tournante ou l'appareil à panier tournant, il faut procéder de la manière suivante [95]:

- Prélevez les capsules à contrôler ;
- Introduisez dans le récipient de l'appareil utilisé, le volume indiqué ( $\pm 1\%$ ) du milieu de dissolution prescrit. Assemblez l'appareil. Chauffez le milieu de dissolution à  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  et retirez le thermomètre.
- Placez les capsules au fond du récipient avant que la palette ne soit mise en action.
- Mettez immédiatement l'appareil en marche à la vitesse indiquée qui est contrôlée.
- Effectuez les prélèvements du milieu de dissolution.
- Lorsque des prélèvements multiples, par intervalles de temps, du milieu de dissolution sont exigés, compensez chaque volume prélevé, soit par addition d'un volume égal du milieu de dissolution, soit par calcul. Gardez le récipient couvert pendant toute la durée du test et vérifiez la température du milieu de dissolution par intervalle de temps.
- Filtrez les prélèvements du milieu de dissolution et procédez à l'analyse du filtrat suivant les indications données.

Pour chaque test de dissolution in vitro à réaliser, les conditions suivantes sont précisées par les pharmacopées :

- l'appareil à utiliser ;
- la composition, le volume et la température du milieu de dissolution ;
- la vitesse de rotation ;
- l'intervalle de temps, la méthode et le volume d'échantillonnage du milieu de dissolution ou les conditions d'enregistrement continu ;
- la méthode d'analyse du milieu de dissolution prélevé ;
- les critères d'acceptation.

Les résultats du test peuvent être exprimés en cinétiques de dissolution (pourcentage de PA dissout en fonction du temps).

### 2.5.3 Simulation du compartiment gastrique

Nous avons réalisé le test de dissolution des capsules utilisant l'appareil à palette.

Ce test a été réalisé dans les conditions suivantes [96] :

- Durée de l'essai :  $6\text{ h}$  ;
- Milieu de dissolution : solution aqueuse d' $\text{HCl}$  à  $0,1\text{M}$  et  $\text{NaCl}$  ;
- Volume du milieu de dissolution :  $600\text{ ml}$  ;
- Température du milieu de dissolution :  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  ;
- Vitesse de rotation de la palette :  $50$  rotations par minute

- Volume de prélèvement du milieu de dissolution : *05 ml* (prélèvement manuel à l'aide d'une seringue de *05ml* du milieu de dissolution) ;
- Temps de prélèvements : Dans les deux premières heures, nous avons prélevé chaque *15 min*, puis chaque *30 min* pour les heures restantes.
- Nombre de capsules prélevées : une quantité de *10 à 15* capsules de chaque extrait.

Au cours du test de dissolution, nous allons déterminer le pourcentage de libération de PA dissoute à partir de chaque extrait, en mesurant l'absorbance à chaque temps mentionné précédemment des milieux de dissolution de chaque extrait.



# PARTIE EXPÉRIMENTALE

Chapitre

5

RESULTATS ET DISCUSSION

*Inula Viscosa* est une plante qui est utilisée par les Algériens en médecine traditionnelle pour traiter de nombreuses pathologies. Cette étude avait pour but de valoriser les substances actives et d'évaluer au laboratoire leur activité antioxydante. De ce fait, nous avons adopté la technologie de l'encapsulation afin de contrôler leur libération dans un milieu similaire à ce de l'homme. Les expériences ont été réalisées sur cette espèce de plante et par la suite nous avons obtenu les résultats donnés ci-après.

## 1. Extraction des flavonoïdes

La méthode d'extraction par macération sous agitation permet d'accélérer le processus d'extraction et de minimiser le temps de contact d'eau avec l'extrait tout en préservant la bioactivité de ses constituants. De même, le déroulement de cette extraction à température ambiante ainsi que l'épuisement d'extrait à pression réduite permet d'obtenir le maximum des composés et de prévenir leur dénaturation ou modification probable dues aux températures élevées utilisées dans d'autres méthodes d'extraction.

### 1.1 Rendement en extrait flavonoïques

#### a) Résultats

- Calcul du rendement de l'extrait brut :

$$Rdt (\%) = [(M1 - M2) / M3] \times 100 \quad \longrightarrow \quad (\text{Eq 4})$$

- M1 : masse du ballon après évaporation = 377.31 g ;
- M2 : masse du ballon avant évaporation (ballon vide) = 357.95 g ;
- M3 : masse de la matière végétale de départ = 100 g.

$$Rdt (\%) = [(377.31 - 357.95) / 100] \times 100$$

$$Rdt (\%) = 19.36$$

- Calcul du rendement des fractions :

Le tableau (*Tableau 5.1*) représente les résultats obtenus après le calcul de rendements des fractions

**Tableau 5.1: Rendement des fractions**

Extraits	EAq	EEth	EAc	E n-BuOH
M1 (g) - M2 (g)	111,76 - 103,12	104,42 - 104,10	105,56 - 105,35	109,59 - 108,18
Rdt (%)	8,64	0,32	0,21	1,41

## b) Interprétation

Le résultat obtenu par le calcul du rendement de l'extrait brut des feuilles montre que ce dernier a enregistré un rendement appréciable, il est de 19.36 % en comparant avec les autres extraits.

Selon le tableau, au contraire, nous avons observé que l'extrait aqueux a marqué un rendement assez remarquable de 8,64% par rapport aux extraits de l'Eth, l'AC et le n-BuOH qui ne représentent que 0,32% ; 0,21 % et 1,41% respectivement, des teneurs très faibles.

Le résultat du rendement de l'extrait brut est appréciable comparativement à celui rapporté par *Haoui et al* [40], qui notent des rendements de 0,148% et 0,22% respectivement.

Cette différence est due à plusieurs facteurs : l'origine géographique, l'âge de la plante, les facteurs écologiques notamment climatiques (la température et l'humidité), l'organe végétal, le stade de développement, la période de récolte, la conservation du matériel végétal matériel employé, et la méthode d'extraction.

D'une manière générale, les rendements en extraits varient non seulement d'une plante à une autre de la même famille, mais également en fonction de plusieurs paramètres de l'extraction solide-liquide [97,98].

### 1.2 Dosage des polyphénols

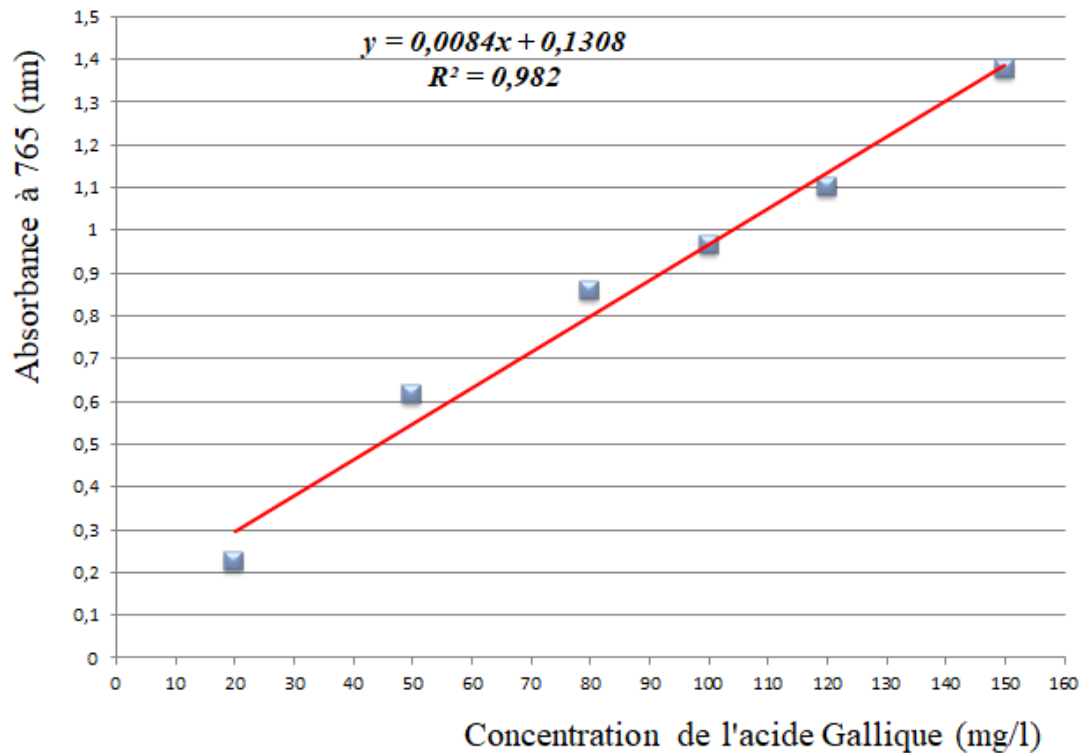
La quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire réalisé par une solution étalon (l'acide gallique) à différentes concentrations (*Figure 5.1*).

#### a) Résultats

Les résultats obtenus des absorbances en fonction des concentrations sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 5.2: Absorbance d'acide gallique**

[C] (mg/l)	20	50	80	100	120	150
Abs	0,226	0,616	0,856	0,963	0,963	0,963



**Figure 5.1:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

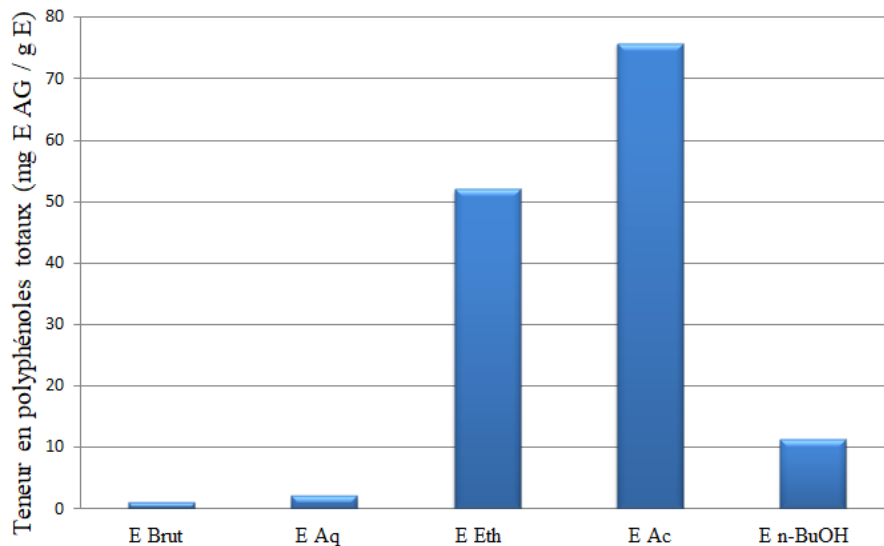
Les polyphénols totaux dans cet extrait sont dosés selon la méthode de bleu de Folin Ciocalteu. La teneur en composés phénoliques des extraits a été calculée à partir de la courbe d'étalonnage et exprimée en milligrammes équivalents en acide gallique par gramme de la matière végétale, la mesure de la densité optique a été effectuée à la longueur d'onde de 765 nm. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant:

**Tableau 5.3:** Teneur en composés phénoliques des extraits

Extraits	EBrut	EAq	EEth	EAc	E n-BuOH
Abs	0,968	0,8 92	0,8 30	0,7 99	0,879
[C] (mg/l)	99,66	90,61	83 ,23	79,54	88,23
(mgEAG / g E)	01,02	2,09	52,01	75,75	11,19

#### b) Interprétation

La figure ci-après (*Figure 5.2*) indique la quantité des phénols totaux dans l'extrait aqueux et les autres extraits équivalant d'acide gallique.



**Figure 5.2:** Polyphénols totaux dans les extraits

D'après les résultats présentés dans cette figure indique que la teneur la plus élevée en phénols totaux est celle de EAc (75,75  $\mu\text{g}$  EAG / g E) par rapport EEth (52,01  $\mu\text{g}$  EAG / g E) et E n-BuOH (11,19  $\mu\text{g}$  EAG / g E) qui sont les deux aussi sont marqués une teneur remarquable. Concernant l'EAq (2,09  $\mu\text{g}$  EAG / g E) et EBrut (01,02  $\mu\text{g}$  EAG / g E) ils ont une teneur assez faible.

Ces résultats que nous avons obtenus sont au contraire aux travaux de l'équipe algérien de (Bekkara en 2008) qui montre que l'extrait ethanologique d'*Inula viscosa* a une teneur de  $2.745 \pm 0.38$  mg EAG / g E [99].

Dans une autre étude, la teneur en phénols totaux de l'extrait méthanolique et aqueux *Satureja calamintha* est de  $2,968 \pm 0,809$  et  $12,6 \pm 0,775$  mg EAG / g E respectivement [100].

Une étude montre que le méthanol est l'un des solvants les plus utilisés pour une haute récupération des composés phénoliques [101], et cela confirme l'effet de solvant pour récupérer les polyphénols existants dans la plante.

### 1.3 Dosage des flavonoïdes

L'étude quantitative des extraits que nous avons obtenus au moyen des dosages spectrophotométriques, selon la méthode de trichlorure d'aluminium avait pour objectif la détermination de teneur totale des flavonoïdes. Pour cet objectif, nous avons tracé la courbe d'étalonnage (**Figure 5.3**) qui a été établie avec la quercétine à différentes concentrations. Des mesures de densité pour chaque fraction réalisées à 430 nm.

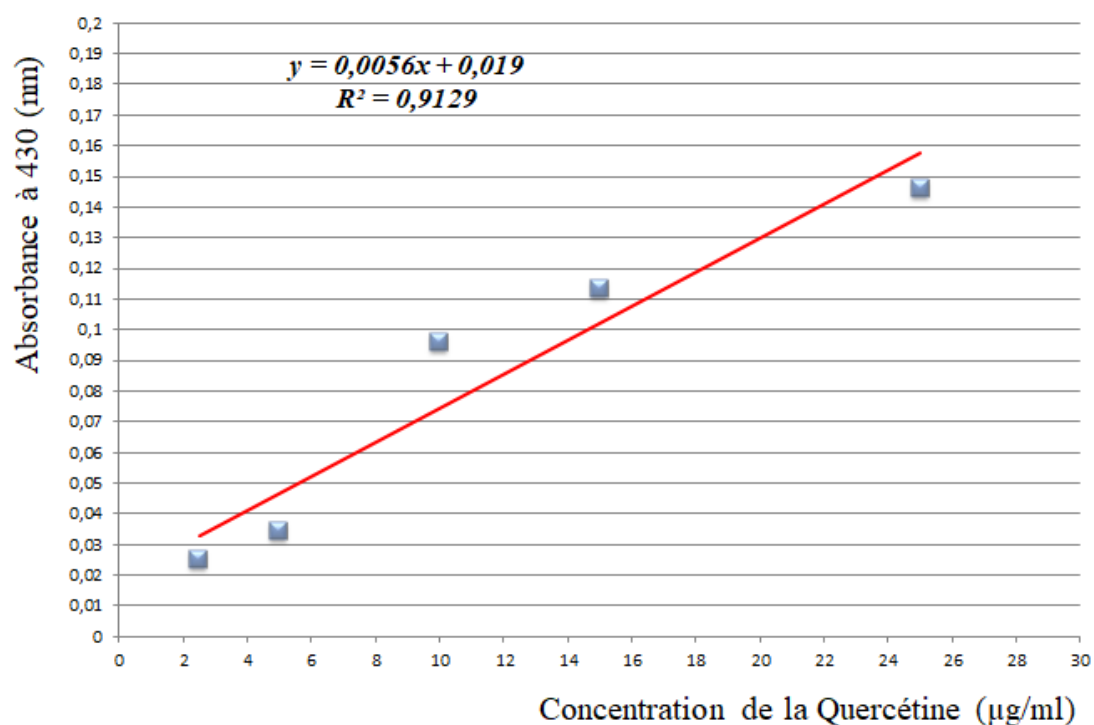
Les quantités des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en équivalent microgramme de quercitrine par gramme d'extrait et déterminées par l'équation de type ( $y = a x + b$ ).

### a) Résultats

Les résultats obtenus des absorbances en fonction des concentrations sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau 5.4:** Absorbance de Quercétine

[C] (µg/l)	2,5	5	10	15	25
Abs	0,025	0,034	0,096	0,113	0,146



**Figure 5.3:** Courbe d'étalonnage de la Quercétine

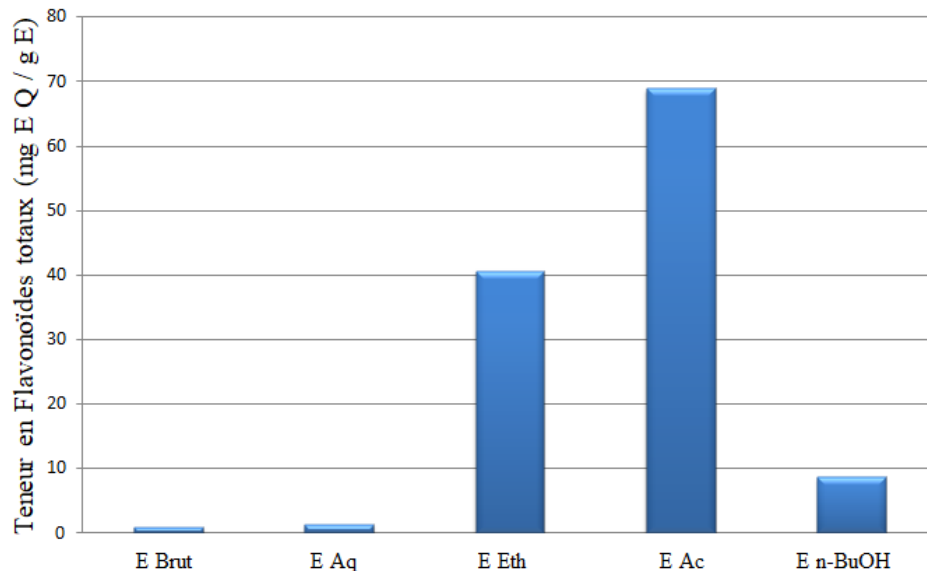
Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant:

**Tableau 5.5:** Teneur en composés flavonoïques des extraits

Extraits	EBrut	EAq	EEth	EAc	E n-BuOH
Abs	0,121	0,084	0,092	0,100	0,087
[C] (mg/l)	18,21	11,60	13,03	14,46	12,14
T (mg EQ / g E)	0,94	01,34	40,62	68,85	08,60

### b) Interprétation

La figure ci-après (**Figure 5.4**) indique la quantité des phénols totaux dans extraits équivalant d'acide gallique.



**Figure 5.4:** Flavonoïdes totaux dans les extraits

La détermination quantitative des flavonoïdes totaux par la méthode du trichlorure d'aluminium révèle que E Ac (68,85 mg EQ / g E) possède la teneur la plus grande en flavonoïdes par rapport E Eth (40,62 mg EQ / g E) et E n-BuOH (8,60 mg EQ / g E). Concernant l'E Aq (1,34 mg EQ / g E) et E Brut (0,94 mg EQ / g E) ils ont une teneur assez faible.

Notre résultat se diffère avec ce de (BAKHTA, 2013) où la teneur en flavonoïdes de l'extrait méthanolique d'*Inula Viscosa* est de  $13,25 \pm 0,34$  mg Eq/g. [102].

Cette variation de la teneur en flavonoïdes peut être due au standard utilisé ou au solvant d'extraction. En effet l'utilisation de solvants à polarité différente permet de séparer des composés selon leur degré de solubilité dans le solvant d'extraction.

En général, la teneur en flavonoïde est variée d'une espèce à une autre de la même famille. Les résultats de ce travail sont relativement en accord avec des études qui ont montré que la teneur en flavonoïdes totaux varie d'une plante médicinale à une autre [103,104].

## 2. Évaluation de l'activité antioxydante (Test au DPPH)

Le DPPH $\cdot$  est un radical libre stable de couleur violacée qui absorbe à 517 nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH $\cdot$  est réduit et change de couleur en virant au jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH $\cdot$ , qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon.

### a) Résultats

L'Absorbance du blanc (absorbance du DPPH à t0) que nous avons trouvé est de 0,877, et à partir la relation mentionnée dans le chapitre 4 (Eq 4.3), nous avons calculé les concentrations inhibitrices des extraits.

Les résultats des absorbances des extraits à tester sont mentionnés dans le tableau (*Tableau 5.6*) et ceux des concentrations d'inhibitions sont indiqués dans le tableau (*Tableau 5.7*).

**Tableau 5.6:** Absorbances des extraits

[C] (mg/l)	0,0025	0,005	0,01	0,025	0,05
<b>E brut</b>	0,745	0,721	0,523	0,356	0,041
<b>E Aq</b>	0,721	0,601	0,544	0,234	0,034
<b>E Eth</b>	0,794	0,664	0,652	0,479	0,097
<b>E Ac</b>	0,863	0,791	0,721	0,442	0,132
<b>E n-BuOH</b>	0,824	0,812	0,654	0,339	0,208

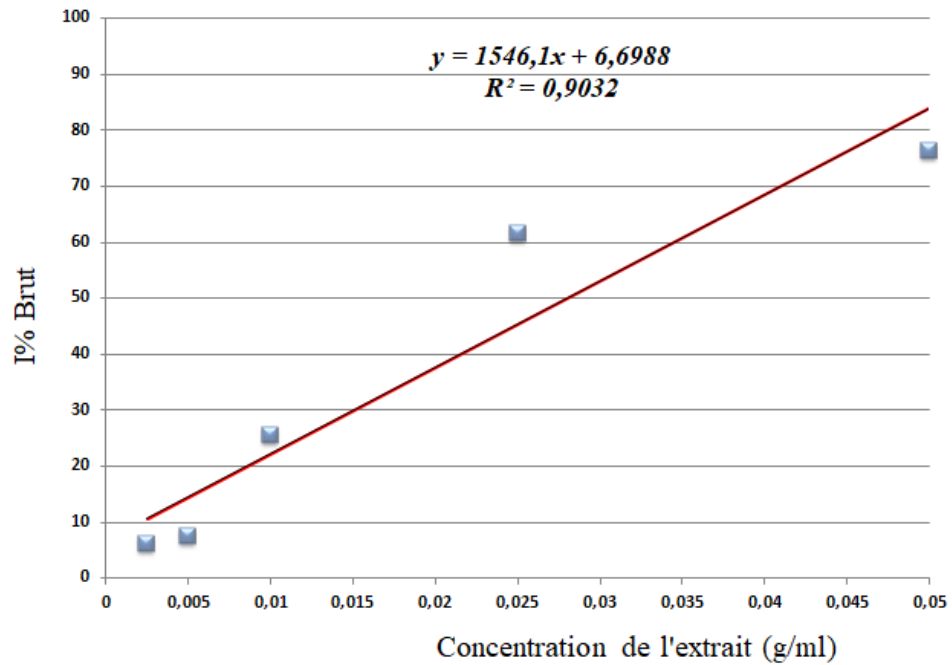
**Tableau 5.7:** Pourcentage d'inhibition des extraits

[C] (mg/l)	0,0025	0,005	0,01	0,025	0,05
<b>E brut</b>	06,04	07,41	25,42	61,34	76,28
<b>E Aq</b>	01,59	09,80	17,78	49,60	84,94
<b>E Eth</b>	15,05	17,78	40,36	59,40	95,32
<b>E Ac</b>	17,78	31,47	37,97	73,31	96,12
<b>E n-BuOH</b>	09,46	24,28	25,65	45,38	88,93



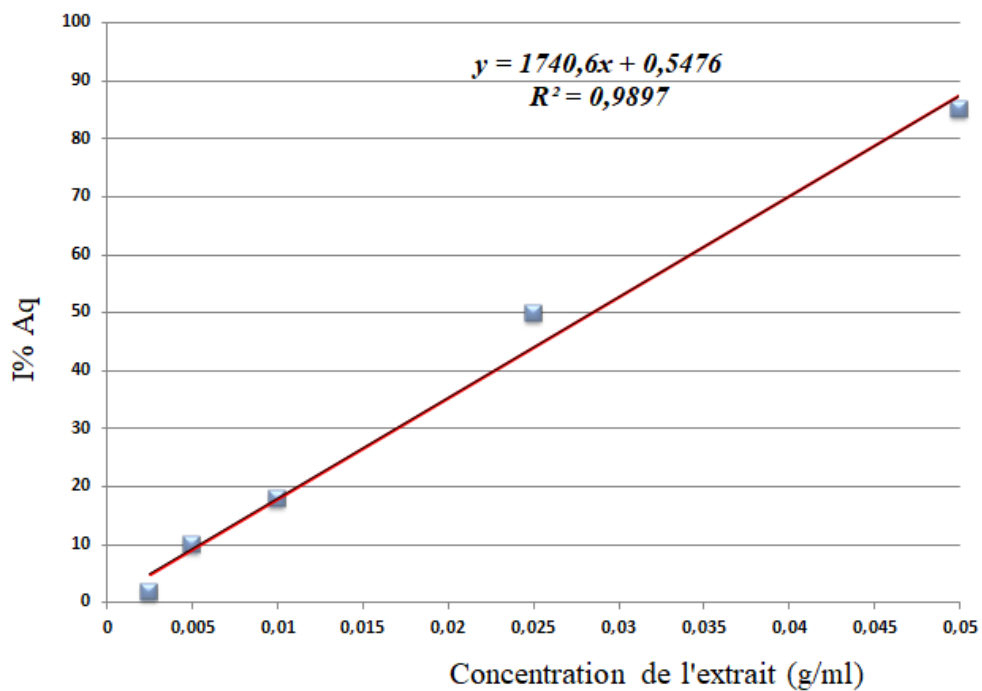
Les figures suivantes montrent le pourcentage de réduction du radical libre (DPPH) en fonction des concentrations des extraits.

▪ **Extrait brut**

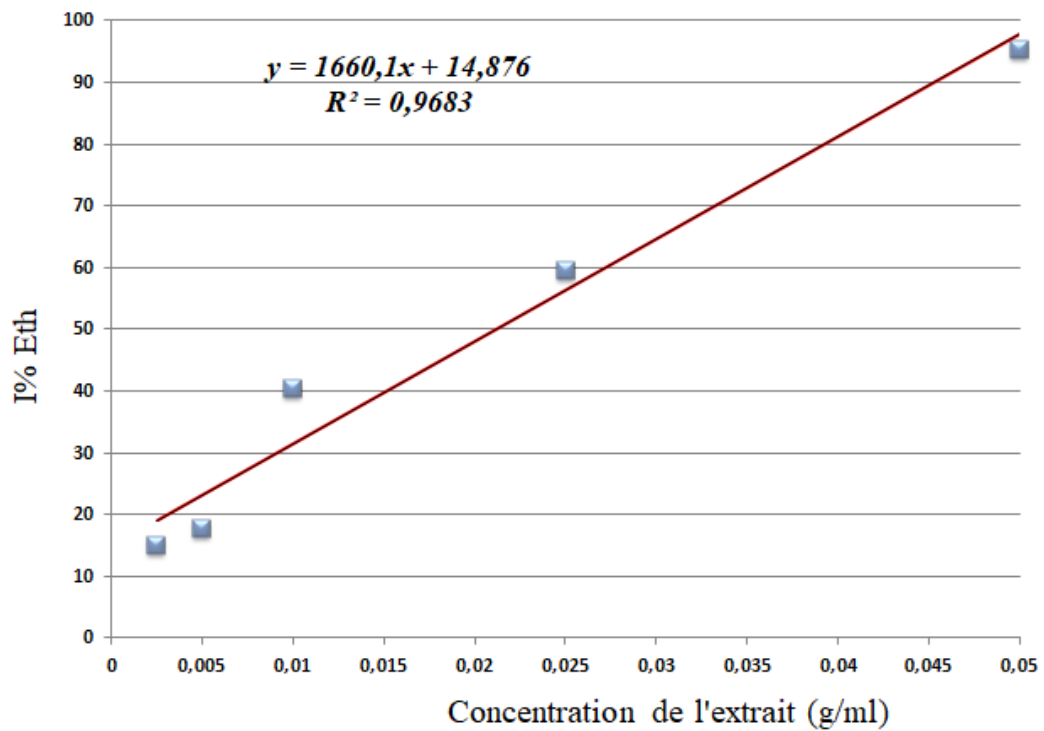
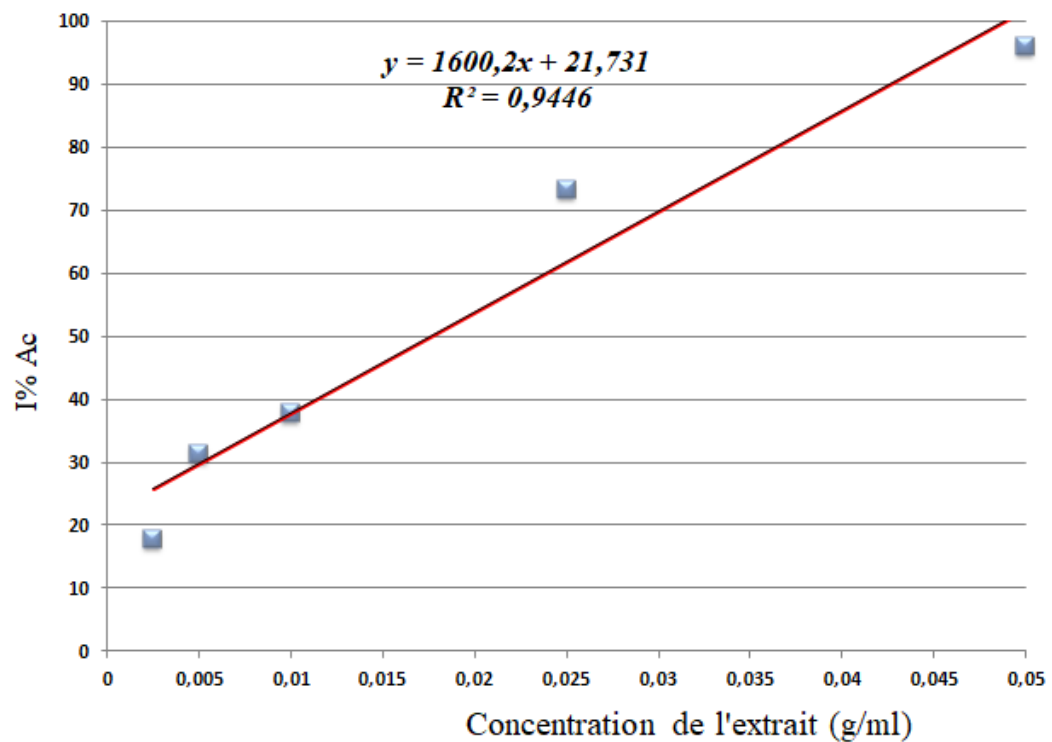


**Figure 5.5:** Pourcentage de réduction du radical libre (DPPH) par l'Extrait brut

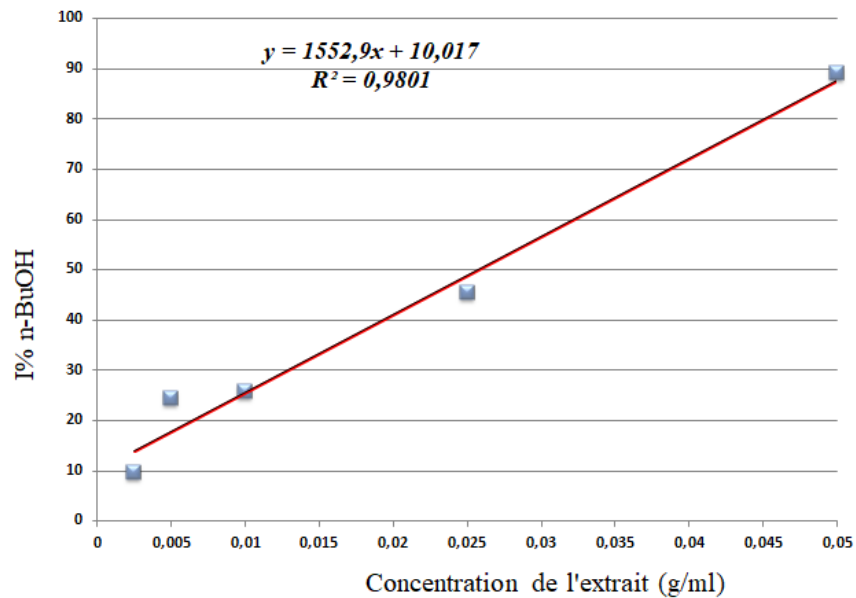
▪ **Extrait Aq**



**Figure 5.6:** Pourcentage de réduction du radical libre (DPPH) par l'Extrait Aq

**▪ Extrait Eth****Figure 5.7:** Pourcentage de réduction du radical libre (DPPH) par l'EEth**▪ Extrait Ac****Figure 5.8:** Pourcentage de réduction du radical libre (DPPH) par l'E Ac

▪ **Extrait n-BuOH**



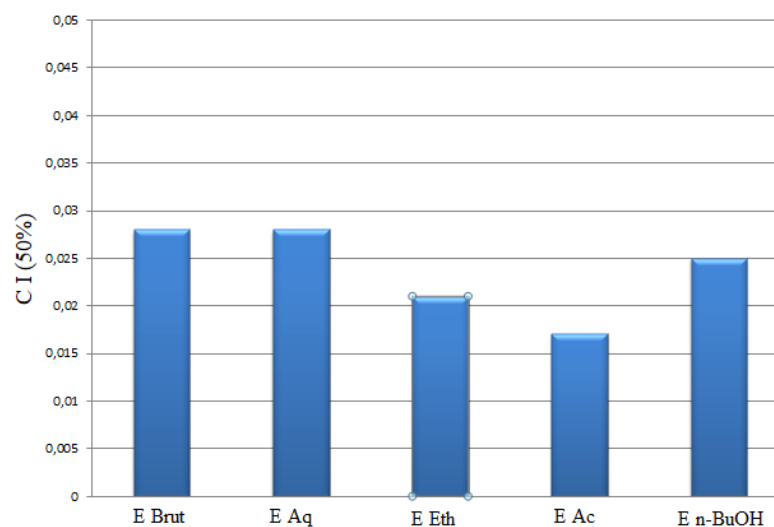
**Figure 5.9:** Pourcentage de réduction du radical libre (DPPH) par l'E n-BuOH

Les concentrations des extraits qui causent la perte de 50% de l'activité du DPPH sont mentionnées dans le tableau suivant :

**Tableau 5.8:** Concentration d'inhibition des extraits à 50%

Extraits	E Brut	E Aq	E Eth	E Ac	E n-buOH
CI50%	0,028	0,028	0,021	0,017	0,025

La figure suivante montre les résultats obtenus pour l'activité antioxydante des extraits d'*Inula Viscosa*.



**Figure 5.10:** Concentration (IC50) des extraits

**b) Interprétation**

D'après la figure ci-dessus, nous avons remarqué que l'effet antiradicalaire des extraits est varié entre 0,17g/ml et 0,028g/ml.

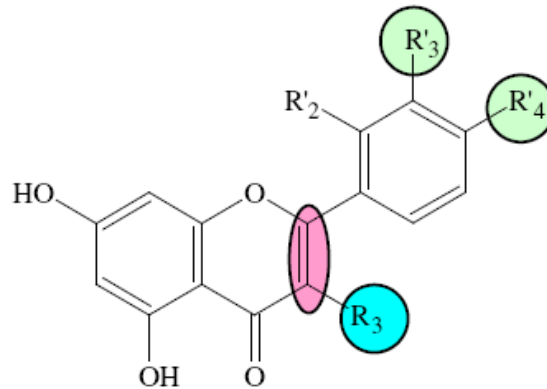
Les extraits E Brut et E Aq, possèdent la même concentration d'inhibition de DPPH (0,028g/ml) et ceux de E Eth, E Ac et E n-BuOH présente les valeurs (0,021 g/ml, 0,017 g/ml et 0,025 g/ml) respectivement. Cela montre que l'activité antiradicalaire manifestée par les deux extraits E Brut et E Aq est plus faible que celle de l'E Eth, l'E Ac et l'E n-BuOH. Alors que l'E Ac inhibe par une concentration plus à celui de Et, et ce dernier inhibe plus que E Ac. En effet l'E Ac son inhibition du radical libre atteint 96,12%, et celui de E Et, E n-BuOH, E Brut et E Aq atteint 95,32% ; 88,93%, 84,94%, 76,28% respectivement. Cela a montré que L'E Ac présente une grande activité de piégeage des radicaux hydroxyles par rapport aux autres extraits.

En effet, nos résultats ne concordent pas avec l'étude qui montre que l'extrait méthanolique d'*Inula Viscosa* étudié à la concentration 0,5 mg/ml a donné un piégeage de radical hydroxyle par un pourcentage (78,23%) supérieur à ce de l'extrait éthanolique (28.35%) à la même concentration [95]. Ainsi, avec ceux obtenus par Chahmi et al [105], qui indiquent que tous les extraits d'*Inula Viscosa* montrent un effet antioxydant important et contiennent des niveaux importants de phénols.

Selon ces études nous pouvons signifier que notre plante *Inula Viscosa* peut être considérée comme un bon piègeur de radicaux hydroxyles. De plus, nous avons constaté qu'il y a une corrélation entre le potentiel de l'activité antioxydante et la quantité de composés phénoliques dans la plante. Il serait probable que le contenu phénolique soit responsable de l'activité antiradicalaire libre de l'espèce ce qui suggère que *Inula Viscosa* constitue une bonne source de composés naturels antioxydants qui pourraient avoir des avantages pour la santé.

En général, le mécanisme de la réaction entre l'antioxydant et le DPPH dépend de la conformation structurale de l'antioxydant [106,74]. Quelques composés se réagissent très vite avec le DPPH en réduisant un nombre de molécules de DPPH égal à celui des groupements hydroxyles de l'antioxydant [107]. L'effet antioxydant des flavonoïdes sur les radicaux libres dépend de la présence des groupements OH libres [105]. Le nombre et/ou la position des groupes hydroxyle sur les noyaux de ces molécules, les substitutions sur les cycles B et A avec la présence de la double liaison C2-C3 en conjugaison avec la

fonction sur le cycle C renforcent l'activité antioxydante des flavonoïdes (*Figure 5.12*) [108].



**Figure 5.11:** Principaux éléments de l'activité antioxydante des flavonoïdes

### 3. Encapsulation

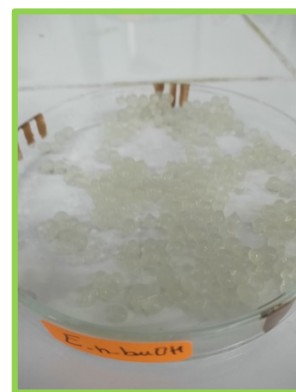
Après la combinaison entre les différents composants de l'encapsulation, les capsules formées sont montrées dans les figures suivantes :



**Figure 5.12:** Capsules E brut

**Figure 5.13:** Capsules E Aq

**Figure 5.14:** Capsules E Eth



**Figure 5.15:** Capsules E Ac

**Figure 5.16:** Capsules E n-butOH

### 3.1 Aspect morphologique

Le tableau suivant montre la forme, la surface, la couleur et la taille des capsules formées.

**Tableau 5.9 : Caractéristiques des capsules**

Extraits	Forme et surface	Couleur	Taille
Brut, Aq, Eth, AC et n-BuOH	Billes sphériques résistantes à la déformation mécanique avec une surface lisse.	Elles sont claires et de couleur marron	Environ 01 mm

D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué que tous les extraits ont presque les mêmes caractéristiques soit la forme, la couleur ou bien la taille (une différence assez faible). En effet, La couleur marron des microcapsules de chaque extrait implique la présence de PA.

### 3.2 Humidité

Pour calculer le taux d'humidité des extraits, nous avons pris une masse de microcapsules de chaque extrait et nous avons cherché leur masse après le séchage à l'aide d'une étuve à une température de 60.

Nous avons pesé les microcapsules chaque 05 minutes jusqu'à l'obtention d'une masse finale stable à chaque extrait. La différence entre la masse finale et la masse initiale de chaque extrait constitue le taux d'humidité.

Les résultats que nous avons obtenus sont mentionnés dans le tableau suivant :

**Tableau 5.10: Taux d'humidité des Extraits**

Extrait	$m_i$ (g)	$m_f$ (g)	Taux d'humidité
Brut	1	0.92	8
Aq	1	0.91	9
Eth	1	0.96	4
AC	1	0.99	1
n-BuOH	1	0.9	10

### 3.3 Densité

La densité relative d'une substance est le rapport entre la masse d'un certain volume de cette substance et la masse d'un volume égal d'eau à la même température.

Les résultats de calcul de la densité sont montrés dans le tableau suivant :

**Tableau 5.11:** Densités relatives aux Extraits

Extraits	V <sub>i</sub> (ml)	V <sub>f</sub> (ml)	V (ml)	m (g)	Densité (g/cm <sup>3</sup> )
<b>Brut</b>	1	2.1	1.1	0.98	0.89
<b>Aq</b>	1	2	1	0.95	0.95
<b>Et</b>	1	1.8	0.8	0.93	1.16
<b>AC</b>	1	2	1	0.95	0.95
<b>n-BuOH</b>	1	1.9	0.9	0.97	1.07

### 3.4 Rendement

Selon l'équation suivante, nous avons calculé le rendement d'encapsulation.

$$Rdt = (M2 / M1) \times 100 \longrightarrow (Eq\ 5)$$

Avec :

Rdt(%) : Rendement d'encapsulation ;

M2 : masse de principe actif encapsuler ;

M1 : masse de principe actif à encapsulé.

Les résultats de calcul du rendement sont mentionnés dans le tableau suivant :

**Tableau 5.12:** Rendement d'encapsulation

Extraits	brut	Aq	Eth	Ac	n-BuOH
<b>Rdt(%)</b>	62.07	57.73	59.45	53.55	45.29

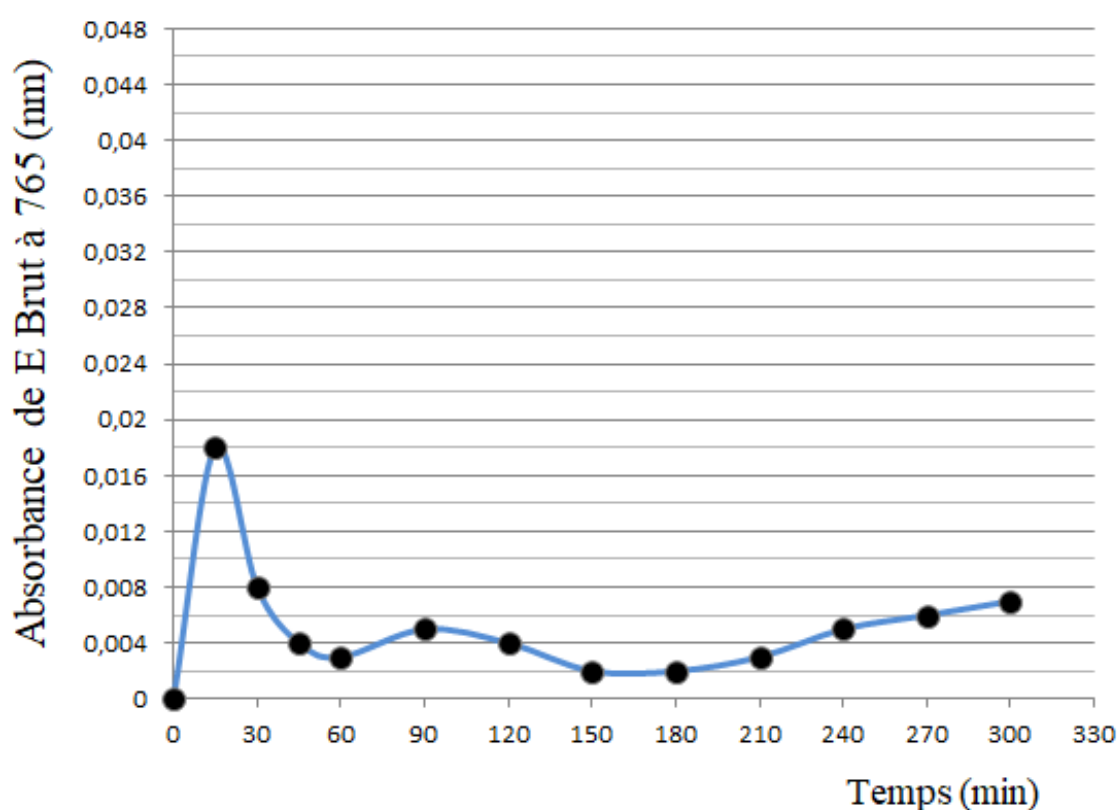
Selon les résultats, nous avons constaté que le rendement d'encapsulation atteint un pourcentage assez important. Donc, nous pouvons dire que la méthode adoptée nous a donné un taux appréciable avec tous les extraits.

### 3.5 Cinétique de libération

A des temps prédéterminés, des échantillons de 05mL étaient prélevés et le dosage était réalisé en spectrophotométrie UV visible à  $\lambda=430$  nm pour les trois extraits flavonoïques et à  $\lambda=765$  nm pour les deux extraits, brut et aqueux. Pour déterminer la cinétique de libération de PA dissouts au cours du test de dissolution, nous avons eu recours aux résultats montrés dans les tableaux suivants et les figures ci-dessous.

a) **Résultats**▪ **Extrait Brut****Tableau 5.13:** Absorbance de l'E Brut à 765 (nm)

Temps (min)	0	15	30	45	60	90	120	150	180	210	240	270	300
ABS EBrut	0	0,018	0,008	0,004	0,003	0,005	0,004	0,002	0,002	0,003	0,005	0,006	0,007

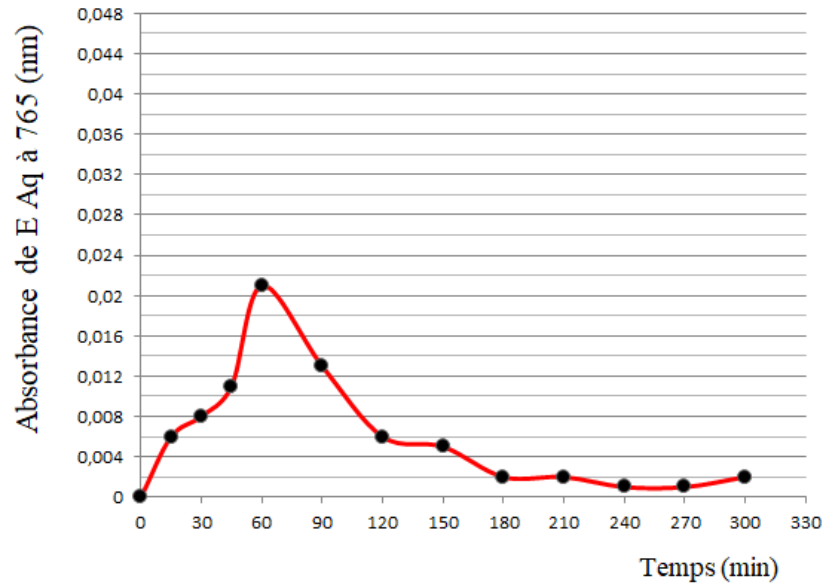
**Figure 5.17:** Absorbance de l'E Brut en fonction du temps

Cette figure montre que la libération du PA de l'E Brut a été faite à 15 min puis elle a diminué jusqu'à 60 min. Ensuite elle a fixé dans le temps restant.

▪ **Extrait Aq****Tableau 5.14:** Absorbance de l'E Aq à 765 (nm)

Temps (min)	0	15	30	45	60	90	120	150	180	210	240	270	300
ABS E Aq	0	0,006	0,008	0,011	0,021	0,013	0,006	0,005	0,002	0,002	0,001	0,001	0,002





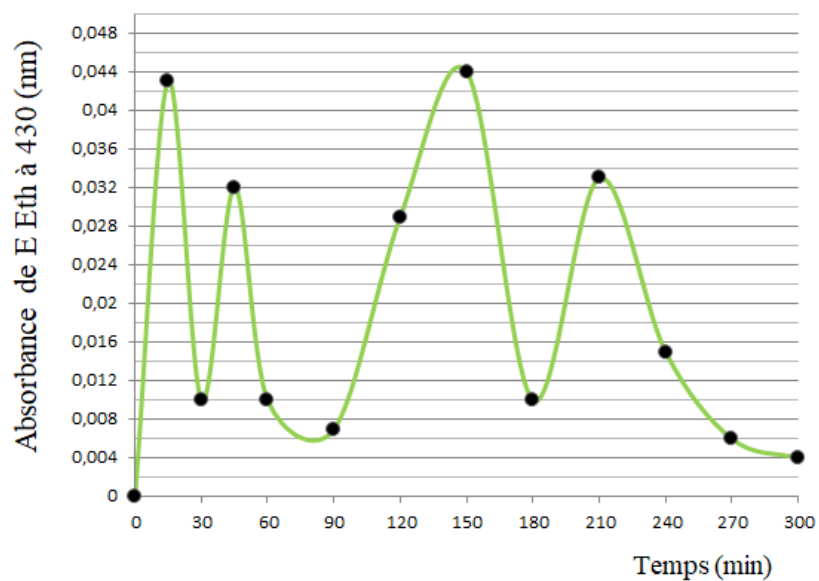
**Figure 5.18:** Absorbance de l'E Aq en fonction du temps

La figure indique que la libération du PA de l'E Aq a été faite à 60 min puis elle a diminuée jusqu'à 180 min. Ensuite elle a fixé dans le temps restant.

▪ **Extrait ETh**

**Tableau 5.15:** Absorbance de l'E ETh à 430 (nm)

Temps (min)	0	15	30	45	60	90	120	150	180	210	240	270	300
ABS E ETh	0	0,043	0,01	0,032	0,01	0,007	0,029	0,044	0,01	0,033	0,015	0,006	0,004



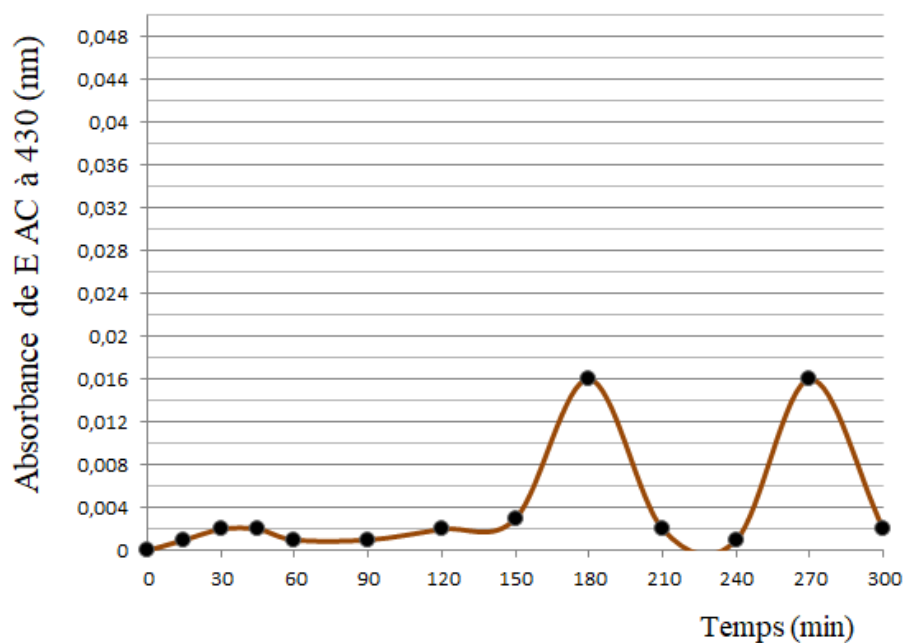
**Figure 5.19:** Absorbance de l'E ETh en fonction du temps

Dans cette figure, nous avons remarqué que la libération du PA de l'E Eth a été faite à 15 min puis elle a diminué jusqu'à 30 min. Ensuite, cette libération a été répétée chaque période dans le temps restant.

▪ Extrait Ac

**Tableau 5.16:** Absorbance de l'E Ac à 430 (nm)

Temps (min)	0	15	30	45	60	90	120	150	180	210	240	270	300
ABS E Ac	0	0,001	0,002	0,002	0,001	0,001	0,002	0,003	0,016	0,002	0,001	0,016	0,002



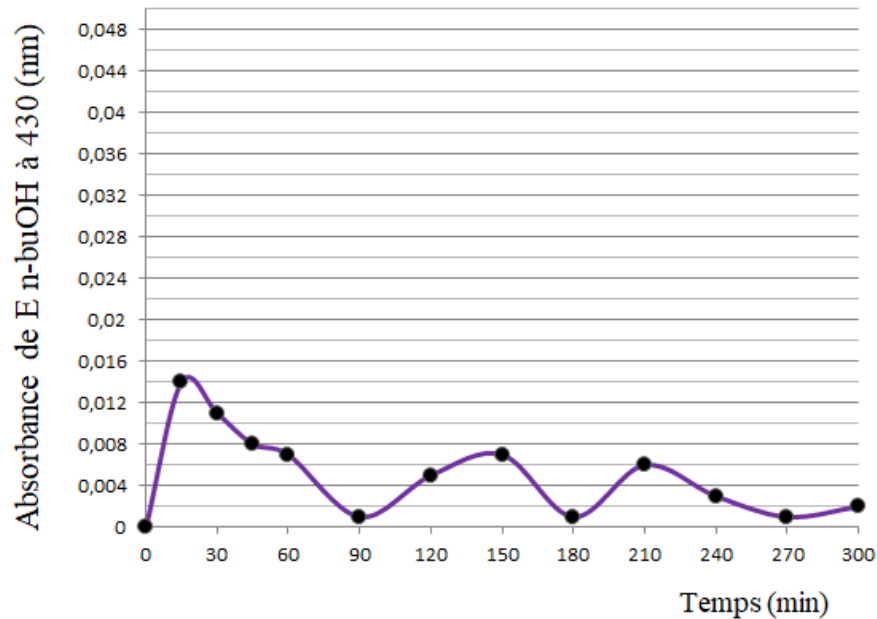
**Figure 5.20:** Absorbance de l'E Ac en fonction du temps

Dans cette figure, nous avons constaté que la libération du PA de l'E Ac a été commencée après 150 min puis elle a diminué jusqu'à 240 min. Ensuite, cette libération a été répétée encore une fois.

▪ **Extrait nBu-OH**

**Tableau 5.17:** Absorbance de l'En-buOH à 430 (nm)

Temps (min)	0	15	30	45	60	90	120	150	180	210	240	270	300
ABS En-buOH	0	0,014	0,011	0,008	0,007	0,001	0,005	0,007	0,001	0,006	0,003	0,001	0,002



**Figure 5.21:** Absorbance de l'En-buOH en fonction du temps

Pour l'E n-buOH, la figure représente libération du PA avant *15 min*, puis elle a diminuée jusqu'à *90 min*. Ensuite, cette libération a été répétée chaque période.

**b) Interprétation**

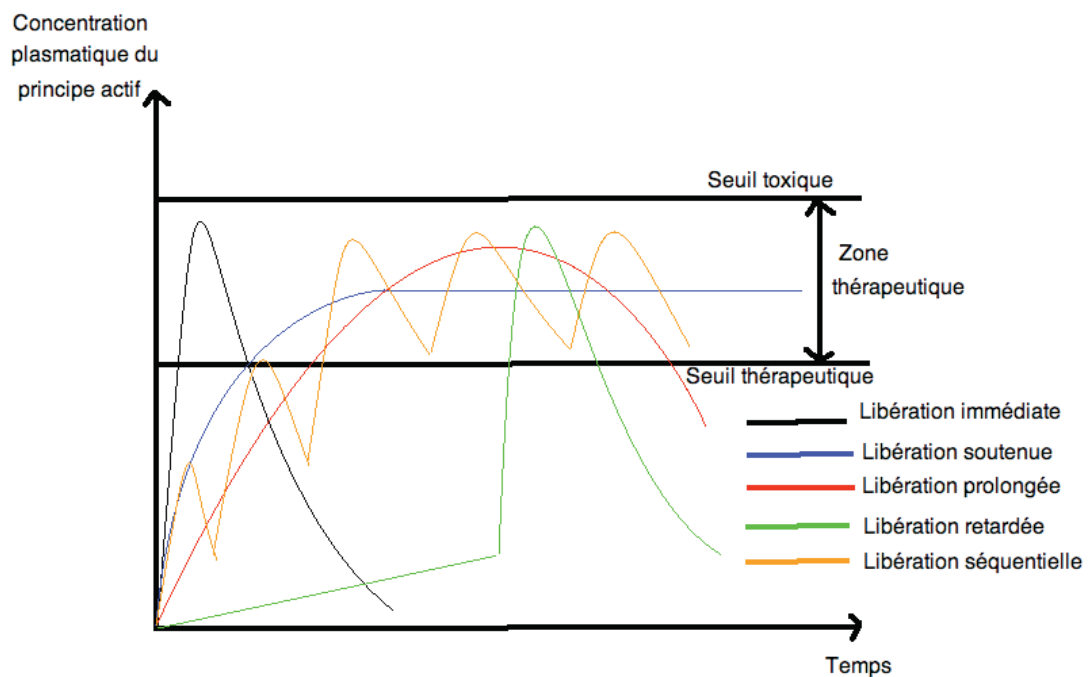
La libération de PA à partir des capsules de chaque extrait dans le milieu similaire aux conditions du milieu gastrique a été faite durant les 06 h.

Les figures ci-dessous ont presque la même allure, cela montre que les extraits possèdent la même libération, mais dans des temps différents.

Ainsi, les trois extraits bruts, nBuOH et Eth qui montrent le taux de libération le plus élevé dans le milieu simulant dès les premières minutes. Aussi, une plus faible libération de l'extrait Ac en comparant avec ce de EAq qui représente un taux élevé et répété chaque durée.

En général, il est largement connu que le niveau d'enrobage influence le taux de libération. En plus de cette étude, il a été observé que le facteur entre le PA et son excipient avait un important effet sur le taux de libération. Ainsi un faible taux est dû au caractère physiologique de polysaccharide utilisé.

En effet si nous comparons les résultats avec les courbes présentées dans la figure (**Figure 5.22**) qui indique les différents profils de libération des PAs des formes solides à administration orale, cela explique que les extraits ont un profil de libération immédiate [109].



**Figure 5.22:** Différents profils de libération des PAs

En fin, nous pouvons dire que la vitesse de libération du PA de la forme galénique peut être accélérée, retardée, ciblée par rapport à la libération immédiate grâce à des formulations, des excipients ou des processus de fabrication différents.

# CONCLUSION

## CONCLUSION

Pendant plusieurs années, les plantes médicinales ont été utilisées dans la médecine traditionnelle. Elles sont toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Les flavonoïdes sont parmi les composés phénoliques qui se trouvent dans ces plantes. Ce sont la source de la majorité des antioxydants naturels ils ont des potentiels antiradicalaires très importants. Leur caractère de sensibilité à la lumière a limité leurs applications. En effet, l'encapsulation des molécules actives constitue un outil très attrayant en mesure de résoudre l'inconvénient majeur des flavonoïdes en augmentant leur stabilité chimique et de les protéger au sein d'une matrice enrobante pour donner son efficacité réelle.

Cette étude a concerné une plante appartenant à la famille des Astéracées, *Inula Viscosa* employée en Algérie grâce à ses effets thérapeutiques.

Ce travail a porté sur la détermination de l'activité antioxydante de cette plante et de mener à bien ses métabolites secondaires par l'utilisation de la technologie de l'encapsulation.

Dans un premier temps, la macération reste une méthode d'extraction des extraits bruts à partir des feuilles fraîches. Cette méthode, nous a permis de montrer que la plante donne un rendement assez appréciable de l'extrait brut (19.36 %).

De plus, la teneur en polyphénols, en flavonoïdes des extraits (E brute, Aq, EETH, E AC et E nBu-OH) a été effectuée.

En effet, la teneur en polyphénols des extraits et celle des flavonoïdes est remarquable, et elle se diffère d'un extrait à un autre selon cette étude.

Dans un second temps, l'étude pharmacologique a montré que les feuilles de la plante possèdent une activité antioxydante marquante. En effet le potentiel antiradicalaire des extraits a été déterminé par la méthode de DPPH. Donc, nous pouvons dire que les extraits donnent une capacité de piégeage de radicaux libres et un effet inhibiteur assez bien.

En ce qui concerne l'encapsulation, et au cours de cette étude également le test de libération in vitro dans le milieu gastrique a été réalisé. Nous avons noté que la libération

du principe actif dans ce milieu a été faite. De plus ce test a montré une libération considérée pour chaque principe actif de chaque extrait dans cette étude.

En conclusion, la plante médicinale *Inula Viscosa* est une source prometteuse d'agents antioxydants ce qui est expliqué par la nature des composés présents dans cette plante. Et la technologie d'encapsulation reste une étude intéressante pour la valorisation des plantes médicinales d'une façon ou d'une autre.

En fin, cette étude nous mène à ouvrir ce thème sur d'autres recherches sur la plante médicinale *Inula Viscosa*. Il serait intéressant de :

- Procéder d'autres techniques d'extraction pour avoir la méthode optimale qui donne le meilleur rendement des extraits de l'espèce étudiée.
- Réaliser d'autres activités pour une connaissance approfondie sur l'effet thérapeutique de cette espèce comme: l'activité antidiabétique, anticancéreuses, anti inflammatoire etc.
- Faire une étude approfondie sur l'encapsulation pour valoriser la substance active de l'espèce étudiée par d'autres technologies comme l'encapsulation par émulsion.

# ANNEXES



## Annexe

# A

## PRODUITS ET REACTIFS

### 1. Solvants employés pour l'extraction

- Ether diéthylique ;
- Acétate d'éthyle ;
- n- butanol ;
- Méthanol ;
- Ethanol ;
- Eau distillée.

### 2. Solvants utilisés pour le dosage des polyphénols

- Standard des acides phénoliques (acide gallique) ;
- Réactif des phénols de Folin-Ciocalteu ;
- Carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ).

### 3. Solvants utilisés pour le dosage des flavonoïdes

- Standard des flavonoïdes (la quercétine) ;
- Chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ).

### 4. Solvants utilisés pour l'activité antioxydante

- DPPH (2, 2- Diphényl-1-DicrylHydrazyl) ;
- Méthanol.

### 5. Solvants utilisés pour l'encapsulation

- Alginate de sodium ;
- Chlorure de Calcium ( $\text{Ca Cl}_2$ ).

### 6. Solvants utilisés pour la dissolution

- Acide chlorhydrique ( $\text{HCl}$ ) ;
- Chlorure de sodium ( $\text{NaCl}$ ).

## Annexe

# B

## MATERIELS UTILISES

### 1. Verreries

- Béchers ;
- Pipette ;
- Eprouvette ;
- Burette ;
- Ballon à fond rond ;
- Fioles jaugées ;
- Tubes à essais ;
- Boîtes à pétri ;
- Cristalliseur ;
- Ampoule à décanté ;
- Entonnoir ;
- Verre de montre ;
- Capsule de pesée ;
- Erlenmeyer.

### 2. Instruments

- Micropipette ;
- Barreau ;
- Pro pipette ;
- Pissette ;
- Papier filtre ;
- Spatule ;
- Support.

### 3. Appareillage

- Agitateur magnétique ;
- Balance de précision ;
- Rota vapeur ;
- Spectrophotomètre UV-visible ;
- Dissolutest ;
- Plaque chauffante.



Rota vapeur



Spectrophotomètre UV-visible



Dissolutest

# BIBLIOGRAPHIE

## BIBLIOGRAPHIE

- [01] LUCCHESI M E (2005). *Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles*. Thèse de doctorat. Université de La Réunion.
- [02] PACOME SERGE, GOUEGOU BOHUI, AUGUSTIN AMISSA ADIMA, FLORENCE BOBELE NIAMKE, JEAN DAVID N'GUESSAN. *Etude comparative de trois méthodes d'extraction des flavonoïdes totaux à partir des feuilles de plantes médicinales : Azadirachta indica et Psidium guajava*. Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie. Laboratoire de Pharmacodynamie Biochimique, UFR Biosciences-Université Félix Houphouët-Boigny, Côte d'Ivoire. 10 pages.
- [03] MOUHAMMEDI Z (2009). *Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de tlemcen*. thèse de magistère. département de biologie, laboratoire produits naturels, université Abou bakr belkaid tlemcen, Algérie.
- [04] MERZOUGUI I, TADJ H (2012). *Etude de l'effet antibactérien et antioxydant d'Ammodendron verticillata De la région de Tlemcen*. Université Abou Bakr BELKAÏD/ Tlemcen.
- [05] ELQAJ M, AHAMI A, BELGHYTI D (2007). *La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires*. Journée scientifique de ressources naturelles et antibiotiques. Maroc : p 22.
- [06] GAUSSEN H, DEUROY J.F, OZENDA P. *Précis de botanique II. Les végétaux supérieurs*. Ed: Masson. 1982; pp 215-408.
- [07] BAI N, ZHOU Z, ZHU N, ZHANG L, QUAN Z, HE K (2005). *Antioxidative flavonoids from the flower of Inula britannica*. Journal of Food Lipids, 12, 141–149.
- [08] REEB, C PLANTES mellifères. *L'Inule visqueuse*. Abeilles & Fleurs. N° 720- Octobre 2010. Page 19-20.

- [09] AMEL BENYAHIA. *Contribution à l'étude photochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales inula viscosa et inula montana*. Mai 20 14. MASTER EN CHIMIE. 75p
- [10] QUEZEL P, Santa S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Centre national de la recherche scientifique. Tome 2 : 218-940.
- [11] BARTËLS A. (1997). *Guide des plantes du bassin méditerranéen*. Ed Eugenulmer. Paris. 172p.
- [12] LEGER J. (2007). *Fiche de Flore de Dittrichia viscosa subsp. Viscosa. Tela Botanica*. vol 3: 3.
- [13] ZEGGWAGH et Al. (2006). *Study of hypoglycaemic and hypolipidemic effects of Inula viscosa L aqueous extract in normal and diabetic rats*. Journal of ethnopharmacology (108). 223-227p.
- [14] TOUNSI L (2001). *Etudes «in vitro» de l'effet antibactérien et antifongique de :Inula viscosa la wsonia inermis\_ Asphodelus microcarpus\_ Aloe vera\_ Juniperus oxycedrus*. Thèse de Magister. Département vétérinaire. Université de Constantine. Algérie.
- [15] LAOUER H (2001). *Contribution à l'étude des plantes médicinales du massif Boutaleb*. Thèse de Magistère.
- [16] ULUBELEN A, GOUN S (1986). *Sesquiterpene acids from Inula viscosa*. *Phytochemistry*. Vol 26 n° 4: 1223-1224.
- [17] BENAYACHE S, BANAYACHE F, DENDOUGHI H, JAY M (1991). *Les Flavonoïdes de Inula Viscosa*. *Plantes médicinales et phytothérapie*. Tome 25, n° 4. P 170-176.
- [18] KARIM F, QURAAN S (1986). *Medicinal Plants of Jordan (Jordan Natural History Museum)*. Irbid. P: 65.
- [19] AL-KHALIL S, AL-EISAWI D et FISCHER N (1992). *Phytochemical analysis of Jordanian medicinal plants*.
- [20] HMAMOUCHE M (2001). *Les plantes Médicinales et aromatiques Marocaines*. 2<sup>ème</sup> Edition.

- [21] MICHELA Ion Scotta (2013). *Présentation de l'inule visqueuse*. Journal Volet Botanique.
- [22] ROULIER G (1990). *Traité pratique d'aromathérapie, propriétés et indications thérapeutiques des Essences de plantes*. Ed Dangles. Pp 64-65.
- [23] FOURNIER G, HABIB J, REGUIGUI A, SAFTA F, GUETARI S, CHEMLI R (1989). *Etude de divers échantillons d'huile essentielle de Rosmarinus de Tunisie. Plantes médicinales et phytothérapies*, XXIII (3): 180-185.
- [24] EDDOUKS M, MAGHRANI M, LEMHADRI A, OUAHIDI M L, JOUAD H. (2002). *Ethnopharmacological survey of medicinal plants used for the treatment of diabetes mellitus, hypertension and cardiac diseases in the southeast region of Morocco (Tafilalet)*. Jethnopharmacol 82, 97-103.
- [25] BELLAKHDAR J (1997). *La pharmacopée marocaine traditionnelle*. Edition Techniques Nord-Africaine. Rabat. 764 p.
- [26] ALARCON C, DE LA LASTRA, LOPEZ A, and V MOTILVA (1993). *Planta Medica*. 59: 497.
- [27] LASTRA C, LOPEZ A, MOTIVA V (1993). *Gastroprotection and prostaglandin E2 generation in rats by flavenoids of Dittrichia viscosa*. *Planta Medica*. 59,497-501.
- [28] HERNANDEZ V, RECIO M C, MANEZ S, GINER R M, RIOS J L (2007). *Effects of naturallyoccurring dihydroflavonols fom Inula viscosa on inflammation and enzymes involved in the arachidonic acid metabolism*. Life Sci 81, 480-488.
- [29] FRANCO MICAN S X, CASTRO J, CAMPOS M (2008). *Observation du complexe parasitaire de l'inule visqueuse en Espagne, et ses méthodes de propagation*. Le Nouvel Olivier. N°66. Novdéc.
- [30] BOUMAZA D (2011). *Séparation et caractérisation chimique de quelques biomolécules actives de deux plantes médicinales : Inula viscosa, Rosmarinus officinalis de la région d'Oran*. Thèse de Magister. Université d'Oran. Algérie.
- [31] MANEZ S, HERNANDEZ V, GINER R.M, RIOS J, MARIADEL CARMEN R (2007). *Les plantes aromatiques et les huiles essentielles Fitoterapia*.78:329.

- [32] AIT YOUSSEF M. (2006). *Plantes médicinales de Kabylie*, édition. Ibis. Press. Paris :164.
- [33] BENCHOHRA H A, HAMEL L, BENDIMERED F Z et BENCHOHRA M (2011). *Composition chimique des huiles essentielles d'Inula viscosa*. Science Lib, 1(3) :1-7.
- [34] DJEDIOUI A (2010). *Evaluation de l'activité hypoglycémiant et anti-hyperglycémiant de l'extrait aqueux d'inula viscosa, une plante de l'Est Algérien*. Thèse de magister. Département biochimie, université Badji Mokhtar. Annaba. Algérie.
- [35] HAMILTON M, SHAH S (2004). *Activity of tea componement epicatechin gallate and analoges against méthicilin resiastance staphylococcus aureus*. Jornal of antimicrobial chemotherapy. 46-847-863.
- [36] ZHANG H B, WEN J K, WANG Y Y, ZHENG B et HAN M. (2009). *Flavonoids from Inula Britannica. L. inhibit injury-induced neointimal formation by suppressing oxidative stressgeneration*. J Ethnopharmacol.126 (1): 176-183.
- [37] MAMOCI E, CAVOSKI I, SIMEONE V, MONDELLI D, AI-BITAR L et CABONI P (2011).*Chemical composition and In vitro activity of plant extracts from Ferulacommunis and Dittrichia viscosa against Postharvest Fungi*. Molecules. 16: 2609-2625.
- [38] KHAN A L, HUSSAIN J, HAMAYUN M, GILANI S A, AHMAD S, REHMAN G, KIM Y H, KANG S M et LEE I G (2010). *Secondary metabolites from Inula britannica L and their biological activities*. Molecules, 15: 1562-1577.
- [39] QIN J J, JIN H Z, FU J J, HU X J, ZHU Y et SHEN Y H (2008). *Anthranilic acid derivatives from Inula japonica*. Chin Chem Lett ,19: 556-558.
- [40] HAOUI I E, DERRICHE R, MADANI L et OUKALI Z (2011). *Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian Inula viscosa, Aiton*. Arab. J. Chem., In Press.
- [41] BOUAKAZ I (2006). *Etude phytochimique de la plante GenistaMicrocephala*. Mémoire de magister, Batna.



- [42] MARIE-CELINE RAY. Journaliste. FUTURA SANTE. Définition FLAVONOIDE. Classé sous : NUTRITION, SANTE, FLAVONOIDE , Page visité le 21 mai 2021. <http://www.Futura-sciences.com>.
- [43] ÇAKAR S, GÜY N, ÖZACAR M, FINDIK F (2016). *Investigation of Vegetable Tannins and Their, Iron Complex Dyes for Dye Sensitized Solar Cell Applications*. *Electrochimica Acta*. 209:407-22.
- [44] NABORS M. (2009). *Biologie végétale (structure, fonctionnement, écologie et biotechnologies)*. pearson Education France, Paris.
- [45] Mohamed K (2009). *Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante Ranunculus repens L: effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine*: Université de Jijel.
- [46] ERDMAN J W, BALENTINE J D, ARAB L, BEECHER G, Dwyer J T, FOLTS J, J HARNLY, P HOLLMAN, LC KEEN, G MAZZA, M MESSINA, A SCALBERT, J VITA, G WILLIAMSON, J BURROWES (2007). *Flavonoids and heart health: Proceeding of the ILSI North America flavonoids workshop*. May 31-June 1, 2005, Washington. *Journal of Nutrition*, 137(3 supp1): 718 s-737.
- [47] SANDHAR HK, KUMAR B, PRASHER S, TIWARI P, SALHAN M, SHARMA P2011. *A review of phytochemistry and pharmacology of flavonoids*. *Internationale Pharmaceutica Scientia*.1(1):25-41.
- [48] BRUNETON J (2009). *Pharmacognosie. Phytochimie. Plantes médicinales*. *Lavoisier*. 4ème édition. TEC & DOC, Paris : 80.
- [49] HARBORNE J B & WILLIAMS C A (2000). *Advances in flavonoid research since 1992*. *Phytochemistry*, 55:481-504.
- [50] HAVSTEEN B H (2002). *The biochemistry and medical significance of the flavonoids*. *Pharmacol Therap*, 96 : 67-202.
- [51] DACOSTA Y (2003). *Les phytonutriments bioactifs*. édition.,Yves Dacosta, Paris :317.

- [52] MARFAK A. (2003). *Radiolyse Gamma des Flavonoïdes : etude de leur Réactivité avec les radicaux issus des alcools : Formation de depsides*. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 187 p.
- [53] D ARCHIVIO M, FILESI C, DI BENEDETTO R, GARGIULO R, GIOVANNINI C. and MASELLA R (2007). *Polyphenols, dietary sources and bioavailability*. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*, 43, 348.
- [54] MAZZA G, CACACE J E and KAY C D (2004). *Methods of analysis for anthocyanins in plants and biological fluids*. *Journal of AOAC international*, 87, 129-145.
- [55] MEDJROUBI K, BENAYACHE F, LEON F and BERMEJO-BARRERA J. (2003). *Complete assignment of the <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR spectra of two known guaianolides isolated from *Centaurea musimomum**. *Revista Colombiana de Quimica*, 32, 17.
- [56] YOSHIKAWA M, HARADA E, NAITOH Y, INOUE K, MATSOUDA H, SHIMODA H, YAMAHARA J and MURAKAMI N (1994). *Developpement of bioactive Function in *Hydrangeae dulcis folium*. III. On the antiallergic and antimicrobial Principles of *Hydrangeae dulcis folium** *Chem. Pharm Bull.* 42 (11): 2225-2230.
- [57] HRAZDINA KREUZALER F, HAHLBROCK K and GRISEBACH G H (1976). *Substrate specificity of flavanone synthase from cell suspension cultures of parsley and structure of release products in vitro*. 175(2): 392-399.
- [58] CHOI H, SONG J, AND PARK K (2009). *Inhibitory effects of quercetin 3-hamnoside on influenza A virus replication*. *Eur.J.Pharm.Sci*, 37 (3-4): 329-33.
- [59] ALI BOUTLELIS DJAHRA, OUAHIBA BORDJIBA et SALAH BENKHERARA (2012). *Activité antibactérienne des flavonoïdes d'une plante médicinale spontanée *Marrubium vulgare L* de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien)*. Laboratoire de Biologie Végétale et Environnement, Faculté des Sciences Département de Biologie, Université Badji Mokhtar. *Rev. Sci. Technol. Synthèse* 24: 29-37 .09 pages.
- [60] BABAYI H, KOLO I and OKOGUM J I (2004). *The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogen microorganisms*. *Biochemisten*, 16(2): 102-105.

- [61] ULANOWSKA K, TRACZYK A, KONOPA G and WEGRZYM G (2006). *Differential antibacterial activity of genistein arising from global inhibition of DND, RNA and protein synthesis in some bacterial strains*. Arch.Microbiol, 184(5): 271-8.
- [62] KUSTER R, ARNOLD N and WESSJOHANN L (2009). *Anti-fungal flavonoids from Tibouchina grandifolia*. Biochem. Syst.Ecol, 37 (1): 63-5.
- [63] MANACH CLAUDINE (2019). *Les polyphénols et leurs propriétés*. Human Nutrition Unit. UMR1019 Clermont-Ferrand. INRA sciences et impact. Page 15.28p
- [64] BOUGUERRA M A (2012). *Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de Foeniculum vulgare Mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire*. Mémoire de master. Institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires. Université de Constantine.
- [65] ANDRE R (1998). *La maladie de parkinson*. Ed. Masson. 16-19
- [66] BECKMAN K B and AMES B N (1998). *The free radical theory of aging matures*. Physiol. Rev. (78) : 574-581.
- [67] FAVIER A (2003). *Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel*.
- [68] BONNEFONT-ROUSSELOT D, THEROND P & DELATTRE J (2003). *Radicaux libres et antioxydants*.
- [69] AL-MAMARY M, AL-MEERI A and AL-HABOUI M (2002). *Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey*. Nutrition Research. 22: 1041-1047.
- [70] LI P, ANU H, JARI S, TEIJO Y, HEIKKI V (1999). *TLC method for evaluation of freeradical scavenging activity of rapeseed meal by video scanning technology*. Chemistry and Nutrition 10: 123-187.
- [71] MAAMRI S (2008). *Etude de Pistacia atlantica de deux régions de sud algérien : Dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens*. Mémoire en vue de l'obtention de diplôme de Magister en biochimie et microbiologie appliqués. p 26.
- [72] BELKHEIRI N (2010). *Dérivés phénoliques et activités antiathérogènes*. Thèse en vue de L'obtention du Doctorat de l'université de Toulouse. p 113.

- [73] TSIMOGIANNIS P, SONG KLAMA KARIN J SCI, TECHNOL (2004). *The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxydant activity*, 26 (2): 211-219.
- [74] AKDIM, LOUBNA (2017). *Comparaison de méthodes d'absorption et d'encapsulation de l'huile essentielle de Copaifera Officinalis L. en vue d'une application en cosmétique*. Mmoire de MASTER BIOINGÉNIEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUES. 67 page
- [75] PANDIT J, AQIL M., SULTANA Y. (2016). *Nanoencapsulation technology to control release and enhance bioactivity of essential oils*. Elsevier Inc, <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-804307-3.00014-4>.
- [76] *Introduction aux Technologies d'encapsulations. Capsulae innovative microencapsulation*. 21 pages
- [77] ODILE D. (2012). *Synthèse de nanocapsules polymères pour la détection de tumeurs solides par échographie et IRM du Fluor : vers un outil théranostique*. Sciences agricoles. Université Paris Sud - Paris XI, 2012. Français. NNT : 2012PA114854.
- [78] HABIBAA K, BRACHO-RINCON DP, GONZALEZ-FELICIANO JA, VILLALOBOS-SANTOS JC, MAKAROVA VI, Ortiz D, AVALOS JA, GONZALEZ CI, WEINER BR, MORELL G (2015). *Synergistic antibacterial activity of PEGylated silver-grapheme quantumdots nanocomposites*. Appl Mat Today 2015; 1:80-7.
- [79] KHAN MJ, SVEDBERG A, SINGH AS, ANSARI MS, and KARIM Z. (2019). *Use of Nanostructured Polymer in the Delivery of Drugs for Cancer Therapy*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816771-7.00013-2>.
- [80] [*Pharmacie galénique : Formulation et technologie pharmaceutique*. (2007), Editions Maloine – 27, rue de l'école de médecine, 75006 Paris, France.
- [81] DFG-SP-2/ Biopharmacie Microencapsulation. 35page
- [82] HE P. (2009). *Conception et realisation d'un systeme microfluidique pour la production de gouttes calibrées et leur encapsulation*, Université De Technologie De Compiègne, France.

- [83] RICHARD J, BENOIT P. (2009). *Micro encapsulation* (ref.j2210.mars2000) Technique de l'ingénieur. traité Génie des procédés. paris.
- [84] JYOTHI SRI S, SEETHADEVI A, SURIA PRABHA K, MUTHUPRASANNA P, PAVITRA P. (2012). *Micro encapsulation : A Review*, Department Of Pharmaceutics, Hindu College Of pharmacy, India.
- [85] CAROLINE M. (2012). *Le SO<sub>2</sub> supercritique : Un fluide prometteur dans la formulation pharmaceutique*. Université Henri Poincaré-NANCY 1 (France).
- [86] GARDINER G, E OSULLIVAN, J KELLY, M.AUTY, G FITZGERALD, J COLLINS, R Ross & C STANTON. (2000). *Comparative Survival rates of Human-Derived Probiotic Lactobacillus paracasei and L. salivarius strains during Heat Treatment and Spray Drying.* " *Applied and Environmental Microbiology*, 66 (6): 2605-2612.
- [87] GHARSALLAOUI A, ROUDAUT G, CHAMBIN O, VOILLEY A and SAUREL R. (2007). *Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview*. *Food Res Int*, 40, 1107-1121.
- [88] NESTERENKO A. (2012). *Étude et fonctionnalisation de protéines végétales en vue de leur application en microencapsulation*, Institut National Polytechnique de Toulouse, France.
- [89] KUMARI A, YADAV SK, YADAV SC. (2010). *biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems*. *Colloids Surf. B* 75, 1–18.
- [90] BOUCHOUKA E (2016). *Extraction des polyphénols et étude des activités antioxydante et antibactérienne de quelques plantes sahariennes in chimie*, université Badji Mokhtar de Annaba. p. 114.
- [91] MERGHEM R (1985). *Etude du polymorphisme genetique à l'aide de marqueurs biochimiques chez une plante d'intiré économique THIMUSE*. Thèse de magister, institut de biologie.
- [92] AMMAR R B, BHOURI W, SGHAIER M B, BOUBAKER J, SKANDRANI I, NEFFATI A, BOUHLEL I, KILANI S, MARIOTTE A M, CHEKIR-GHEDIRA L, DIJOUX-FRANCA M G D. and GHEDIRA K. (2009). *Antioxidant and free radical-scavenging properties of three flavonoids isolated from the leaves of Rhamnus alaternus L. (Rhamnaceae): A structure-activity relationship study*. *Food Chem.*116: 258-264.

- [93] A LE HIR (2001). *Biodisponibilité des formes orales*. In : *Abrégés de pharmacie galénique, Bonnes pratiques de fabrication des médicaments*, 8ème édition. Masson. p:290-304.
- [94] P WEHRLE (2007). *Contrôle biopharmaceutique des formes orales solides*. In: *Pharmacie galénique, formulation et technologie pharmaceutique*. p : 96-105.
- [95] *Pharmacopée européenne -5ème Edition ; 2004 - Version électronique (CD-ROM)*
- [96] DEKYNDT BERENGERE (2015). *La libération modifiée de principes actifs, développement de deux approches*. Thèse de doctorat. 280 page.
- [97] BEN AMOR B (2008). *Maitrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs : texturation par détente instantanée contrôlée*. Thèse de doctorat. Université de la rochelle, 207p.
- [98] PENCHEV P (2010). *Etude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions*. Thèse doctoral. Université de Toulouse. 1-239 p.
- [99] BEKKARA F A, BENHAMMOUIN and TATJANA KADIFKOVA PANOVSKA T K. (2008). Biological activities of the essential oil and ethanolic extract of *inula viscosa* from the tlemcen region of algeria; 30 – no 3.scie
- [100] BENDIMERAD N (2013). *Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de Satureja calamintha ssp.Nepeta (L)*. Pages 14 à 19 nces.
- [101] XIA E Q, DENG G F, GUOY J, and LIH B (2010). *Biological activities of polyphenols from grapes*. International Journal of Molecular Sciences.622-646p.
- [102] BERHAIL BOUDOUDA H (2014). *Etude phytochimique et biologique des espèces Biscutella raphanifolia, Zilla macroptera, Inula graveolens et Inula viscosa*: Université de Constantine.
- [103] JEONG S M, KIM S Y, KIM D R, JO S C, NAM K C, AHN D U et LEE S C (2004). *Effects of heat treatment on the antioxidant activity of extracts from citrus peels*. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 52 3389–3393.

- [104] SIDDHURAJU PET BECKER K (2007). *The antioxidant and free radical scavenging activities of processed cowpea (Vigna unguiculata (L.) Walp.) seed extracts.* Food Chemistry. 101(1), 10-19.
- [105] CHAHMI N, ANISSI J, EL HASSOUNI M (2015). *Les activités antioxydantes et teneur en phénol totale de viscose inula extraits choisis parmi trois régions du Maroc.* Asian pacific. Journal of tropical biomedicine, Vol.5 (3): 228-233.
- [106] MOLYNEUX P (2004). *The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.* Songklanakarin J. Sci. Technol. **26**, 211-219.
- [107] BONDET V, WILLIAMS W B, and BERSET C (1997). *Kinetic and mechanism of antioxidant activity using the DPPH free radical method.* Lebensmittel -Wissenschaft und Technologie 30, 609-615
- [108] HEIM K E, TAGLIAFERRO A R, BOBILYA D J (2002). *Flavonoid antioxidants: chemistry.*
- [109] BOUDENDOUNA ABDELHAKIM (2010). *Méthodologie de a formation d'une forme orale solide à libération prolongée.* Thèse doctorat. Université de Toulouse.

