

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**UNIVERSITÉ de BLIDA 1**

**Faculté de Technologie**

**Département de Génie des Procédés**



# Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER EN GENIE DES PROCEDES**

**Spécialité : Pharmacie Industrielle**

Intitulé du mémoire

Elaboration de formulation anti-inflammatoire  
à base d'extraits de *Schinus molle* L.

Présenté par :

Melle: SAHLI Safa

Mr: CAID Aymen

Encadré par :

Mr: BOUTOUMI Hocine

Année universitaire 2021/2022

## **Remerciements**

*Avant tout, nous remercions, Dieu le tout puissant, le Miséricordieux, le Maître des destins de nous avoir guidé et surtout assisté tout au long de nos études jusqu'à l'aboutissement de ce document*

*Nous tenons à remercier chaleureusement notre promoteur*

**Mr BOUTOUMI Hocine**

*Pour son dévouement, sa patience, et le partage de son savoir sans limite pour l'aboutissement de ce travail*

*Nos sincères remerciements pour tous le STAFF de laboratoire génie chimique*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions*

*On tient enfin nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont participé et contribué de près ou de loin pour accomplir ce travail.*

## ***Dédicaces***

***A ma chère mère***

***A mon cher père***

*Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir*

*Et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.*

***A ma chère sœur et son mari***

*Pour le soutien et leurs conseils précieux tout au long de mes études*

***A mon binôme et sa famille***

***A mon oncle Mustapha***

***A mes chers amis Nihad, Batoule, Sahar, Ihab , Walid ..***

*Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles*

*A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour*

***Safa***

## ***Dédicaces***

*Je dédie ce travail :*

*Louange à Dieu, le Tout Puissant, qui nous a permis de mener à bien ce travail.*

*On dit « les mots s'envolent, seuls les écrits restent » c'est pour cela que je vous écris ces petits mots.*

*À la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années d'études, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donnée confiance, courage et sécurité.*

*À mon père pour ses encouragements incessants et son soutien moral aux moments difficiles qui furent pour moi les meilleurs gages de réussite.*

*Que Dieu les protège et que ce travail soit la preuve modeste d'une reconnaissance infinie et d'un profond amour pour eux.*

*À mes très chères sœurs qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité.*

*À mon binôme : safa et sa famille.*

*À Mes très chers amis : Walid, Abderahim, Fouad, Batoule*

*À tous les membres de ma famille, petits et grands,*

*À tous mes autres proches et tous mes amis pour les instants de joie partagés en leur compagnie.*

*Enfin, je remercie également tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à ce travail.*

***Aymen***

## Liste des abréviations

<b>Abréviation</b>	<b>Signification</b>
AINS	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
AIS	Anti-inflammatoire stéroïdien
PGE2	La prostaglandine E2
PGE1	La prostaglandine E1
COX	Cyclooxygénase
OH	Groupement hydroxyle
ROO	Radicale peroxyde
ADN	Acide désoxyribonucléique
H/E	Huile dans eau
E/H	Eau dans huile
AFNOR	Association Française de Normalisation
pH	Potentiel hydrogène
UV	Ultra-Violet
PBS	Phosphate-Buffered saline
BSA	Albumine bovin sérum
Rpm	Rotation par minute
R	Rendement
EAG	Equivalent Acide Gallique
EQ	Equivalent Quercétine

# Liste des tableaux

Tableau 1: Répartition géographique des principaux genres des Anacardiacees d'après Mabberley _____	5
Tableau 2 : Les caractéristiques des différentes catégories d'émulsions. _____	26
Tableau 3 : Prélèvement des échantillons de Schinus molle L. _____	36
Tableau 4 : Les solvants utilisés _____	37
Tableau 5 : Produits chimiques utilisées _____	38
Tableau 6 : Produits utilisées pour le test anti inflammatoire in vitro _____	39
Tableau 7: Les matières utilisées pour la formulation de l'emulgel _____	39
Tableau 8 : Produits utilisées pour le test anti inflammatoire in vivo _____	39
Tableau 9 : Produits utilisées pour l'activité anti oxydante. _____	39
Tableau 10 : Les instruments et les appareils utilisés _____	40
Tableau 11: la formulation des deux émulgels feuille et résine. _____	52
Tableau 12 : Résultats de rendement pour chaque fraction (extraction par soxhlet) _____	56
Tableau 13 : Résultats de rendement pour chaque fraction (extraction par ultrason) _____	56
Tableau 14: Résultats du screening phytochimique de l'extrait méthanolique des feuilles de Schinus molle L. _____	57
Tableau 15 : Résultats de dénaturation d'albumine d'œuf pour Diclofénac et l'extrait aqueux des feuilles _____	63
Tableau 16 : Les résultats obtenus après l'injection du Carragénine pour la patte gauche de souris pour chaque extrait (feuille et résine) ainsi que la référence _____	64
Tableau 17 : Résultats taux d'œdème et réduction d'œdème. _____	65
Tableau 18 : Les caractéristiques des deux formulations à base des feuilles et de la résine de S.molle L. _____	67

# Liste des figures

Figure 1 : Répartition géographique de la famille Anacardiacees _____	5
Figure 2: Fruits et les feuilles de Schinus molle L. _____	6
Figure 3 : La résine _____	8
Figure 4 : Structure chimique de Citronnelle _____	10
Figure 5 : Structure chimique de l'acide gallique _____	11
Figure 6 : Structure de base des Flavonoïdes _____	12
Figure 7 : Structure chimique des tanins (peau de raisin) _____	13
Figure 8 : Les principales étapes de la réaction inflammatoire _____	16
Figure 9 : la réaction de l'inflammation aigue _____	19
Figure 10 : Mécanisme d'action des AINS _____	20
Figure 11 : Représentation schématique de microémulsion et de nano-émulsion _____	25
Figure 12: Représentations schématiques d'une émulsion directe et inverse _____	27
Figure 13 : Schéma structural d'un tensioactif _____	28
Figure 14 : Diagramme de préparation de l'émulgel. _____	31
Figure 15 : Photo de Schinus molle L. localisée à l'université Blida 1 _____	35
Figure 16 : Photo des feuilles séchées de Schinus molle L. _____	37
Figure 17 : Broyage des feuilles _____	37
Figure 18 : Tamiseur électrique _____	42
Figure 19: Poudre retenus des tamis _____	42
Figure 20 : Principe de fonctionnement de Soxhlet. _____	42
Figure 21 : Délipidation _____	43
Figure 22 : Séchage des quatre fractions après délipidation _____	43
Figure 23 : Extraction par le méthanol _____	44
Figure 24 : Eliminer le solvant par un rota vapeur _____	44
Figure 25 : L'extrait des feuilles _____	44
Figure 26 : Photo Extraction par bain ultrason _____	45
Figure 27 : Résine de S.molle L. _____	45
Figure 28 : Résine de S.molle L. pulvérisée _____	45
Figure 29: IRTF de l'extrait méthanolique résineux _____	59
Figure 30 : IRTF de l'extrait méthanolique des feuilles _____	60
Figure 31 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique _____	61
Figure 32 : Courbe d'étalonnage de Quercétine _____	61

Figure 33 : Courbe d'étalonnage de catéchine _____	62
Figure 34 : Résultats d'inhibition de la dénaturation par l'albumine d'œuf _____	63
Figure 35 : Concentration inhibitrice de 50% du radical DPPH, de l'extrait éthanolique ____	66
Figure 36: Grossissement des gouttelettes x16 _____	68
Figure 37 : Variation de la viscosité et la contrainte de cisaillement de l'émulgel de la résine en fonction de taux de cisaillement _____	68
Figure 38 : Variation du module de conservation (élastique) $G'$ et du module de perte (visqueux) $G''$ de l'émulgel de résine _____	69
Figure 39 : Courbe d'écoulement de l'émulgel des feuilles de Schinus molle L _____	70



## Résumé :

Les médicaments de synthèse sont devenus une source d'inquiétude pour le patient à cause des effets secondaires de plus en plus mis en cause ainsi les fluctuations des prix sur le marché et le système de protectionnisme apparu récemment pendant la pandémie du covid 19. Donc la recherche de solution alternative dans le règne végétale est la meilleure solution. A cet effet, les produits du faux poivrier (*Schinus molle* L.) comme les feuilles et la résine sont exploités pour leurs potentiels anti-inflammatoires.

L'extrait méthanolique des feuilles ayant subi un criblage granulométrique, le rendement d'extraction par Soxhlet est de l'ordre de 25,68% , l'extraction assistée par ultrasons (bain à ultrasons) est de l'ordre de 17,01%, les feuilles du faux poivrier ont montré la présence de métabolites secondaires comme les polyphénols, les flavonoïdes et les tanins dans les feuilles d'une part et des terpénoïdes dans la résine d'autre part, L'analyse quantitative illustre la richesse des feuilles de *Schinus molle* L. par des quantités appréciables pour les polyphénols 81,84 EAG/g d'extrait, les flavonoïdes 17,75mg EQ/g d'extrait et les tanins condensées 29,88 mg EC/g d'extrait , l'activité anti inflammatoire des feuilles in vitro pour le Diclofénac et pour l'extrait aqueux des feuilles a donner un taux d'inhibition de l'ordre de 18,2% , 31,93% respectivement , et in vivo 17,78% pour la résine , l'extrait des feuilles 54,8% , la référence Diclofénac 50,71% , l'activité anti oxydante par la méthode de DPPH pour la résine et l'extrait éthanolique des feuilles est de l'ordre 418,25 ug/ml et 785,5 ug/ml respectivement , l'élaboration d'une formulation semi solide émulsion a montrer une stabilité optimale pour les deux émulsions prouver par une étude rhéologique et le contrôle de produits.

**Mots clés :** *Schinus molle* L, la résine, polyphénols, extraction, anti inflammatoire, anti oxydante, émulsion

## Abstract:

Synthetic drugs have become a source of concern for the patient because of the increasingly questioned side effects as well as the price fluctuations on the market and the protectionism system that appeared recently during the covid 19 pandemic. Therefore, the search for an alternative solution in the plant kingdom is the best solution. For this purpose, the products of the false pepper tree (*Schinus molle* L.) such as leaves and resin are exploited for their anti-inflammatory potential.

The methanolic extract of the leaves having undergone a granulometric screening, the yield of extraction by Soxhlet is about 25.68%, the extraction assisted by ultrasound (ultrasound bath) is about 17.01%, The leaves of the false pepper tree showed the presence of secondary metabolites such as polyphenols, flavonoids and tannins in the leaves on the one hand and terpenoids in the resin on the other hand, The quantitative analysis illustrates the richness of the leaves of *Schinus molle* L. by appreciable quantities for polyphenols 81,84 EAG/g of extract, flavonoids 17,75mg EQ/g of extract and condensed tannins 29,88 mg EC/g of extract, the anti-inflammatory activity of the leaves in vitro for Diclofenac and for the aqueous extract of the leaves gave a rate of inhibition of the order of 18,2% , 31,93% respectively, and in vivo 17,78% for the resin, the extract of leaves 54.8%, the reference Diclofenac 50.71%, the anti-oxidant activity by the method of DPPH for the resin and ethanolic extract of leaves is about 418.25 ug/ml and 785.5 ug/ml respectively, the development of a semi-solid emulgel formulation has shown an optimal stability for both emulgels prove by a rheological study and product control

**Key words:** *Schinus molle* L, resin, polyphenols, extraction, anti-inflammatory, anti-oxidant, emulgel

## ملخص :

أصبحت الادوية مصدر قلق للمريض بسبب الآثار الجانبية المشكوك فيها بشكل متزايد وكذلك تقلبات الأسعار في السوق ونظام الحماية الذي ظهر مؤخرًا خلال جائحة كورونا . لذلك، فإن البحث عن حل بديل في مملكة النبات هو الحل مثل الأوراق واللبن لإمكاناتها (*Schinus molle* L.) الأفضل. لهذا الغرض، يتم استغلال منتجات شجرة الفلفل الكاذبة المضادة للالتهابات

مستخلص الميثانوليك للأوراق بعد أن خضع لفحص الحبيبات، عائد الاستخراج بواسطة صوكسلي بحوالي 25.68٪، والاستخراج بمساعدة الموجات فوق الصوتية حوالي 17.01٪، أظهرت أوراق شجرة الفلفل الكاذبة وجود مستقبلات ثانوية مثل البوليفينول، الفلافونويد والعفص في الأوراق من ناحية والتربينويدات في اللبن من ناحية أخرى، يوضح التحليل للفلافونويد من المستخلص 17.75 من المستخلص، بكميات ملحوظة للبوليفينول 81.84. الكمي ثراء أوراق مول شينوس من المستخلص، أعطى النشاط المضاد للالتهابات للأوراق في المختبر بالنسبة للمستخلص والعفص المكتف 29,88 مجم المائي للأوراق معدل تثبيط قدره 18.2٪، 31.93٪ على التوالي، و 17.78٪ في الجسم الحي للبن ، مستخلص الأوراق للراتنج والمستخلص الإيثانولي للأوراق حوالي 54.8٪، المرجعية 50.71 في المائة، يبلغ النشاط المضاد للأكسدة بطريقة 418.25 ميكروغرام/مل و 785.5 ميكروغرام/مل على التوالي، أظهر تطوير تركيبة مستحلب شبه صلبة استقرارًا مثاليًا لكل من المستحلبات التي أثبتتها دراسة ريولوجية ومراقبة المنتج

## الكلمات الرئيسية:

الفلفل الكاذب ، اللبن، بوليفينول، استخراج، مضاد للالتهابات، مضاد للأكسدة، مستحلب.

# Table des matières

## Liste des abréviations

## Liste des tableaux

## Liste des figures

## Résumé

Introduction générale .....	1
1 Chapitre 1 : Généralités sur les plantes médicinales.....	3
1.1 Historique des plantes médicinales.....	3
1.1.1 Une plante médicinale.....	3
1.2 La famille des anacardiées .....	4
1.2.1 Description botanique des Anacardiées.....	4
1.3 Répartition géographique d'Anacardiées .....	4
1.4 Présentation de <i>Schinus molle</i> .....	6
1.4.1 Origine .....	6
1.4.2 Définition .....	6
1.4.3 Propriétés médicinales .....	6
1.5 La résine .....	7
1.5.1 La chimie de la résine .....	7
1.5.2 Les types de résine.....	8
1.5.2.1 Résine époxy.....	8
1.5.2.2 Résine naturelle.....	8
1.6 Définition des métabolites.....	8
1.6.1 Métabolites primaires.....	9
1.6.2 Métabolites secondaires .....	9
1.7 Classification des métabolites secondaires .....	10
1.7.1 Les terpènes.....	10
1.7.2 Les alcaloïdes .....	10

1.7.3	Les polyphénols .....	11
1.7.4	Flavonoïdes .....	11
1.7.5	Les tannins.....	12
1.7.6	Type des tanins .....	13
1.8	Le rôle des métabolites secondaires.....	13
1.8.1	Promouvoir la coopération avec les animaux .....	13
1.8.2	Combattre la concurrence avec d'autres plantes .....	14
1.8.3	Défense.....	14
2	Chapitre 2 : Les activités pharmacologiques.....	16
2.1	L'inflammation.....	16
2.1.1	Les causes d'inflammation.....	16
2.2	Inflammation aigue .....	17
2.2.1	La phase vasculaire et plasmatique.....	17
2.2.2	La phase cellulaire .....	18
2.2.3	La phase de régénération.....	18
2.3	Inflammation chronique .....	19
2.4	Les anti-inflammatoires .....	19
2.4.1	Anti-inflammatoires conventionnels.....	20
2.4.2	Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) .....	20
2.4.3	Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) .....	21
2.4.4	Anti-inflammatoires traditionnels.....	21
2.5	Activité antioxydante .....	21
2.6	Activité anti antimicrobienne .....	22
2.7	L'activité anticancéreuse.....	22
3	Chapitre 3 : Les formes semi-solides à application cutanée .....	24
3.1	Pommade .....	24
3.2	Pâtes .....	24

3.3	Gels .....	24
3.4	Les émulsions .....	24
3.4.1	Définition .....	24
3.4.2	Différents systèmes .....	24
3.4.2.1	Les macro émulsions .....	25
3.4.2.2	Les nano émulsions .....	25
3.4.2.3	Les microémulsions .....	25
3.5	Différents types d'émulsion .....	26
3.5.1	Les émulsions simples .....	26
3.5.1.1	Les émulsions simples .....	26
3.5.1.2	Les émulsions multiples .....	26
3.6	Formulation .....	27
3.6.1	Phase dispersante .....	27
3.6.2	Phase dispersée .....	27
3.6.3	Phase inter faciale .....	27
3.6.4	Phase hydrophile .....	28
3.6.5	Phase lipophile .....	28
3.6.6	Tensioactifs .....	28
3.6.7	Additifs .....	28
3.7	Les émulgels .....	29
3.7.1	Constituants importants de la préparation d'émulgel .....	29
3.7.1.1	Véhicule .....	29
3.7.1.2	Matériau aqueux .....	29
3.7.1.3	Huile .....	30
3.7.1.4	Émulsifiants .....	30
3.7.1.5	L'agent gélifiant .....	30
3.7.1.6	Améliorateurs de perméation .....	30
3.8	Préparation de l'émulgel .....	30
3.9	Caractérisation des émulsions .....	31
3.9.1	Détermination du type de l'émulsion .....	31

3.9.1.1	Méthode par la mesure de la conductivité.....	32
3.9.1.2	Méthode par dilution.....	32
3.9.1.3	Méthode aux colorants.....	32
3.9.1.4	Autres méthodes.....	32
3.9.2	Aspect physique.....	32
3.9.3	Mesure du pH.....	32
3.9.4	Etude d'étalement.....	33
4	Chapitre 4 : Matériels et méthodes.....	35
4.1	Objectif.....	35
4.2	Matériels et méthodes.....	36
4.2.1	Matériels végétales.....	36
4.2.1.1	Description de lieu de prélèvement des échantillons.....	36
4.2.2	Matériels Animales.....	37
4.2.3	Produits chimique.....	37
4.3	Matériels.....	40
4.4	Méthodes.....	41
4.4.1	Etude granulométrique.....	41
4.4.2	Extraction par Soxhlet.....	42
4.4.2.1	Délipidation.....	43
4.4.2.2	Extraction des polyphénols.....	43
4.4.2.3	Extraction assistée par ultrasons (bain ultrasons).....	44
4.4.2.4	L'extrait de la résine.....	45
4.5	Screening phytochimique.....	45
4.5.1	Les Polyphénols.....	45
4.5.2	Les flavonoïdes.....	45
4.5.3	Les tanins.....	46
4.5.4	Les saponines.....	46
4.5.5	Les quinones libres.....	46
4.5.6	Les terpénoïdes.....	46

4.5.7	Les alcaloïdes .....	46
4.5.8	Stérols et tri terpènes.....	46
4.5.9	Détection des coumarines .....	47
4.6	Dosage quantitative.....	47
4.6.1	Dosage des polyphénols totaux .....	47
4.6.2	Dosage des flavonoïdes totaux .....	47
4.6.3	Dosage des tanins condensés.....	48
4.7	Evaluation de l'activité anti inflammatoire par dénaturation thermique d'ovalbumine (blanc d'œuf).....	48
4.8	Activité anti inflammatoire in vivo.....	49
4.8.1	Activité anti-inflammatoire in vivo en utilisant l'extrait l'aqueux.....	49
4.9	Activité anti oxydante (test DPPH) .....	50
4.10	Formulation d'un émulsion .....	51
4.10.1	Préparation de l'Emulgel.....	51
4.10.1.1	Préparation de la phase gel .....	51
4.10.1.2	Préparation de la phase huileuse de l'émulsion .....	51
4.10.1.3	Préparation de la solution principe actif.....	51
4.10.1.4	Préparation de la phase aqueuse de l'émulsion.....	51
4.10.1.5	Préparation de l'émulsion.....	51
4.10.1.6	Phase d'émulsification .....	51
4.10.2	Contrôle de produit fini .....	52
4.10.2.1	Centrifugation .....	52
4.10.2.2	Microscope Optique .....	52
4.10.2.3	Mesure de pH.....	53
4.10.2.4	Etude de comportement rhéologique.....	53
4.10.2.4.1	Rhéologie de l'émulsion.....	53
4.10.2.4.2	Le test de viscoélasticité .....	53
4.10.2.4.3	Le test d'écoulement.....	54
5	Résultats et discussion .....	56
5.1	Etude granulométrique .....	56
5.1.1	Extraction par Soxhlet.....	56

5.1.2	Extraction par ultrason.....	56
5.2	Détermination du rendement .....	57
5.2.1	Extraction par Soxhlet.....	57
5.3	Analyse qualitative .....	57
5.3.1	Les feuilles .....	57
5.3.2	Screening phytochimiques pour la résine .....	59
5.4	Résultats d'infra rouge.....	59
5.4.1	Pour la résine .....	59
5.4.2	Pour les feuilles .....	60
5.5	Dosage quantitative.....	61
5.5.1	Dosage des polyphénols totaux .....	61
5.5.2	Dosage des flavonoïdes totaux .....	61
5.5.3	Dosage des tanins condensés.....	62
5.6	Evaluation de l'activité anti inflammatoire par dénaturation thermique d'ovalbumine (blanc d'œuf).....	63
5.7	Activité anti inflammatoire in vivo.....	64
5.8	L'activité anti oxydante : .....	66
5.9	Formulation d'émulgel.....	67
5.9.1	Contrôle de produit fini.....	67
5.9.2	Etude microscopique.....	68
5.9.3	Etude du comportement rhéologique .....	68
5.9.4	Etude de la viscoélasticité .....	69
5.9.5	Etude d'écoulement d'émulgel des feuilles .....	70
	<b>Conclusion .....</b>	<b>71</b>
	<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>73</b>



## Introduction générale

Les plantes médicinales ont toujours eu une place importante dans l'arsenal thérapeutique de l'humanité. Jusqu'à 80% des populations des pays en développement sont totalement dépendantes des plantes pour leurs soins de santé primaire, et malgré les progrès remarquables de la chimie organique du vingtième siècle, plus de 25% des médicaments prescrits dans les pays industrialisés proviennent directement ou indirectement de plantes. [1]

Les plantes médicinales sont très prometteuses, car il existe environ 500 000 plantes dans le monde, dont la plupart n'ont pas été étudiées pour leur activité médicinale, peut être décisive pour les traitements recherchés actuels ou futurs, et dans le but de valoriser les espèces abondantes et diminuer l'utilisations des anti-inflammatoires non stéroïdiens à cause de leurs effets indésirables notre étude est faite sur *Schinus molle* L. ou faux poivrier qui est considéré comme un bio équivalent pour le Diclofénac sodique[2], des études pharmacologiques réalisées avec des extraits de *S. molle* L. montrent que cette arbruste exerce plusieurs effets biologiques, tels que : hypotenseur, anti tumoral, anti-inflammatoire, analgésique et anti oxydantes. [3]

Pour cela cette étude est consacrée à élaborer une formulation anti inflammatoire semi solide émulsion à base des extraits de *Schinus molle* L. par l'extraction méthanolique par Soxhlet à fin d'obtenir l'extrait méthanolique des feuilles, la révélation qualitative et quantitative des composants phytochimiques et l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire par les tests in vitro et in vivo ainsi que l'activité anti oxydante.

Notre travail présenté dans ce manuscrit est réparti en deux parties :

- 1- **La partie théorique** repartie en trois chapitres consacrés :
  - Généralités sur les plantes médicinales et Présentation de *Schinus molle*
  - Les activités pharmacologiques
  - Les formes semi-solides à application cutanée
- 2- **La partie expérimentale** repartie en deux chapitres :
  - Matériels et méthodes utilisés dans l'étude
  - Résultats et discussion

Et on clôture avec une conclusion générale

*Chapitre 1*

*Généralités sur les plantes*

*Médicinales*

## **1 Chapitre 1 : Généralités sur les plantes médicinales**

### **1.1 Historique des plantes médicinales**

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques est rapportée dans la littérature antique arabe, chinoise, égyptienne, hindou, grecque, romain. En Afrique, le pouvoir thérapeutique des plantes était connu par nos ancêtres et nos parents de façon empirique. [4]

Aux temps les plus reculés. Les écrits égyptiens confirment que l'herboristerie était, depuis des millénaires, tenue en grande estime. Le papyrus Ebers (XVe siècle av.J.-C.), un des plus anciens textes médicaux conservés, recense plus de 870 prescriptions et préparations, 700 plantes médicinales, En 77 après JC, Dioscoride écrit le « De materiamedica », un recueil de plus de 500 drogues. Cette œuvre ne décrit pas seulement l'usage de ces drogues, mais aussi les doses, les modes de préparation et de conservation. La traduction et la publication de cet ouvrage au 15ème siècle est une étape importante dans la dissémination des connaissances sur les vertus des plantes. La liste des drogues décrites par Dioscoride est élargie par Celse et Plinie l'Ancien, romains du 1er siècle de notre ère, alors que Galien est considéré comme le père de la pharmacie galénique. [5]

De son côté, l'épanouissement de la culture arabe (VII-XV siècles) a favorisé la préservation et le développement des acquis de la culture grecque puis romaine. Abu bakrArazi ou Rhazes (865- 925), persan d'origine, fut l'un des grands médecins de son temps. Cet érudit, a laissé une cinquantaine d'ouvrages, dont une véritable encyclopédie en 23 volumes. Il fut suivi par Ibn Sina ou Avicenne (980-1037) qui écrivit une œuvre qui s'intitule Canon de la médecine. Puis Ibn-Albaytar (1197-1248) qui rédigea, en Orient, le très complet Somme des Simples. [6]

Depuis fort longtemps, les ressources naturelles constituent la source principale de remède pour soigner différentes maladies et infections, et demeure jusqu'au présent, la source principale pour l'obtention des nouvelles molécules actives dans le domaine pharmaceutique. [7]

#### **1.1.1 Une plante médicinale**

Les plantes médicinales sont utilisées pour leurs propriétés particulières bénéfiques pour la santé humaine, En effet, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, macération et infusion. Une ou plusieurs de leurs parties peuvent être utilisées, racine, feuille, fleur. [8]

Ce sont des plantes utilisées en médecine traditionnelle dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Leur action provient de leurs composés chimiques (métabolites primaires ou secondaires) ou de la synergie entre les différents composés présents.

[9]

## 1.2 La famille des anacardiées

La famille des anacardiées appelée aussi térébinthacées, constitue une importante famille de plantes angiospermes dicotylédones. Habitant les contrées chaudes et tempérées du globe.

[10]

La famille comprend environ 70 genres et 600 espèces. Beaucoup d'entre elles sont utilisées traditionnellement comme agents cicatrisants, stomachiques et anti diarrhéiques, en raison de la présence de tanins et de résines huileuses. [11]

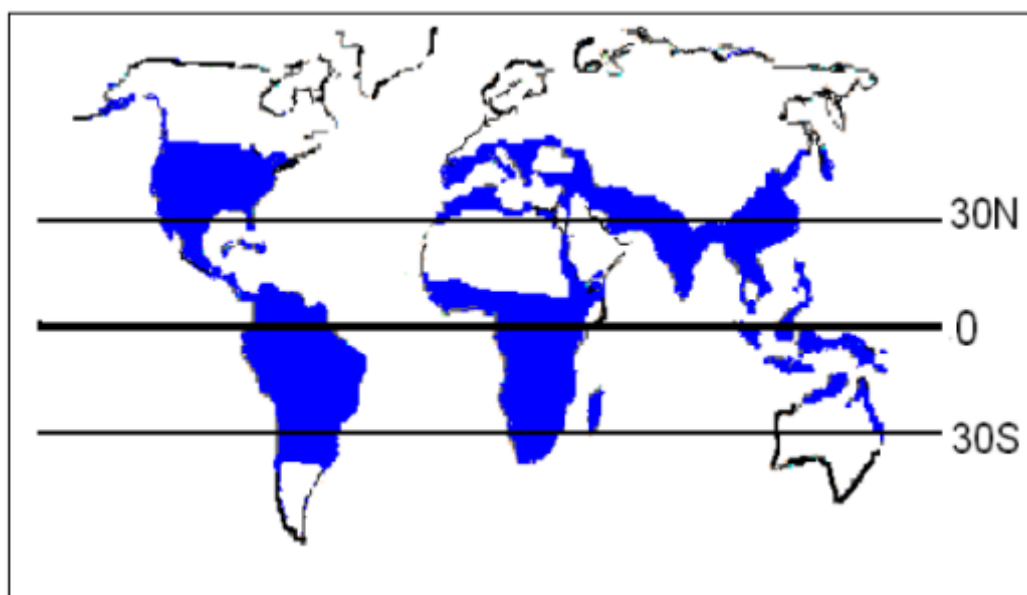
### 1.2.1 Description botanique des Anacardiées

La famille des Anacardiées sont des arbres, des arbustes (exceptionnellement plantes grimpantes), à canaux résinifères schizogénèse, à feuilles composées pennées ou trifoliolées, généralement alternes, dépourvues de glandes ponctiformes. Inflorescence en panicules. Fleurs actinomorphes, hétérochlamydées, parfois apétales, 5-mères, ♀ (hétérosexuées) et/ou unisexuées, généralement hypogynes, diplostémones ou haplostémones (à filets souvent concrecents, à la base), apocarpes ou syncarpes). Le fruit est généralement une drupe souvent à mésocarpe résineux. Graine ex albuminée ou presque, à embryon courbe. Pollen divers, souvent 2-3-colporé, ou avec 3-8 ouvertures circulaires ou non. Cloisons des vaisseaux à perforation unique (sauf quelques cas) GAUSSEN et al (1982). Les étamines sont opposées aux sépales et en même nombre que ceux-ci. [12]

## 1.3 Répartition géographique d'Anacardiées

La famille Anacardiées été proposée pour la première fois par Lindley en 1830. Les espèces de cette famille sont des arbres, des arbustes ou des lianes à feuilles alternes, composées et imparipennées. [13]

Que l'on rencontre surtout dans les régions tropicales à subtropicales et dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord



**Figure 1 :** Répartition géographique de la famille Anacardiacées

**Tableau 1:** Répartition géographique des principaux genres des Anacardiacées d'après Mabberley

[14]

	<i>Genre</i>	<i>Nombre d'espèces</i>	<i>Origine (région)</i>
1	<i>Anacardium</i>	8	Amérique tropicale
2	<i>Haematostaphis</i>	2	Afrique tropicale, Ouest
3	<i>Lannea</i>	40	Région tropicales, Indomalaisie
4	<i>Mangifera</i>	35	Région tropicales, Indomalaisie
5	<i>Ozoroa</i>	40	Afrique tropicale
6	<i>Pistacia</i>	9	Région méditerranéenne
7	<i>Pseudispondias</i>	2	Afrique tropicale : Ouest et centre
8	<i>Rhus</i> (incuant <i>Toxocodendron</i> )	200	Région tempérées
9	<i>Schinus molle</i>	27	<b>Amérique tropicale</b>
10	<i>Sclerocarya</i>	4	Afrique tropicale australe
11	<i>Sorindeia</i>	50	Afrique tropicale et Madagascar

## 1.4 Présentation de *Schinus molle*

### 1.4.1 Origine

Dans la région de la Cordillère et sur le versant ouest du Pérou, on trouve un petit arbre ou arbuste que les Péruviens appellent Molle ou Mulli. Le *Schinus molle* est probablement le membre le plus connu et le plus répandu de son genre, qui comprend quelque 15 à 20 espèces. On le trouve également dans les pays andins limitrophes du Pérou, au sud jusqu'au Chili et au nord jusqu'en Équateur et en Colombie. Il est également décrit au Paraguay, en Uruguay et dans le sud du Brésil. [15]



**Figure 2:** Fruits et les feuilles de *Schinus molle* L.

### 1.4.2 Définition

Cet arbuste ou arbre à feuilles appartenant à la famille des Anacardiaceae ou térébinthacées atteint une hauteur de 3 à 15 m ses feuilles sont composées et émettent une odeur malodorante lorsqu'elles sont écrasées comme le poivre noir. Il est fréquemment cultivé comme arbre ornemental dans la région méditerranéenne, et provient d'Amérique du Sud et son habitat s'étendait du sud du Brésil au Chili et au Mexique. Utilisé en médecine traditionnelle pour traiter diverses affections telles que rhumes, asthme, toux, diarrhée et dysenterie, hémorragie, laryngite, mal de gorge, spasme, les ulcères, les problèmes respiratoires, les plaies, les rhumatismes, la goutte, la diarrhée, les maladies cutanées, les maux de dents, les troubles menstruels et les infections des voies respiratoires et urinaires. [16]

### 1.4.3 Propriétés médicinales

*Schinus molle* L est utilisé en médecine populaire comme analgésique, antifongique, anti tumoral, antispasmodique, diurétique, antiseptique topique, et pour traiter l'hypertension, les plaies, les infections bactériennes et l'asthme. Des études pharmacologiques ont rapporté

plusieurs propriétés telles que sédatives , anti-inflammatoires, une activité antimicrobienne contre Staphylocoques aureus et Streptocoques pyogènes, Des activités biologiques ont également été décrites pour l'huile volatile, telles que des activités antibactériennes , antifongiques et insecticide contre Haematobia irritants de plus, l'huile volatile est utilisée comme adjuvant dans diverses applications dans les produits alimentaires en raison de ses propriétés antimicrobiennes et antioxydants ou comme antiparasitaire. [17]

## 1.5 La résine

Une résine d'origine végétale peut être définie comme un mélange partiellement liposoluble de composés de volatils et non-volatils. Ces molécules sont des métabolites secondaires, habituellement exsudés soit à l'intérieur de la plante soit à sa surface, et peuvent avoir une importance pour les interactions en écologie. Leur structure peut être terpénique ou phénolique donnant ainsi des résines terpéniques ou phénoliques. Il existe une autre catégorie de substances résineuses dites fossiles, comme l'ambre par exemple. [18]

Les sécrétions végétales sont abondantes et courantes dans la nature, telles les gommages, les mucilages, les huiles, les cires et le latex, Avant l'expansion des moyens techniques et analytiques, les résines naturelles n'ont pas pu être bien définies. Le développement d'outils analytiques a permis d'avoir une vision précise de ces produits, notamment en ce qui concerne leur structure chimique, leur sécrétion et leur fonction dans les plantes.

Dans le domaine de la chimie, les premiers travaux sur les résines ont été réalisés par Tschirch. Mais c'est dans les années 1940 et 1950, avec l'évolution de différentes techniques spectroscopiques et chromatographiques, qu'une connaissance plus approfondie de la composition chimique des résines, mais également des autres exsudats d'origine végétale, a ainsi été possible. [19]

### 1.5.1 La chimie de la résine

En raison de la diversité chimique des résines, l'isolement et la caractérisation des composants des résines provenant de différentes plantes ont constitué pendant de nombreuses années un défi pour les chimistes organiques. Grâce à leurs travaux, il existe une importante littérature sur l'isolement et la structure des composants spécifiques des résines, tous les différents composés de la résine ont été rigoureusement identifiés et quantifiés pour une espèce végétale particulière. Généralement la chimie de composés particuliers, ou de groupes de composés, qui a suscité l'intérêt. Une résine particulière peut être constituée de terpénoïdes, de flavonoïdes et de substances grasses, dans des proportions différentes. [20]



**Figure 3 :** La résine

## **1.5.2 Les types de résine**

### **1.5.2.1 Résine époxy**

Cette résine est fabriquée à partir de monomères (ou polymères courts) avec un époxyde à une ou à chaque extrémité qui doit être également mélangé avec un catalyseur pour démarrer la réaction qui permettra à la résine à durcir. En raison de leur structure chimique, les polymères sont fortement interconnectés, ce qui les rend époxy durci plus résistant aux chocs que la résine polyester. Cette résine aussi liquide à l'état de base et nécessite un catalyseur pour le rendre solide. La quantité du durcisseur nécessaire dépend généralement de l'époxy et de la température ambiante

### **1.5.2.2 Résine naturelle**

Ces résines, contrairement aux résines synthétiques, ne nécessitent pas un catalyseur, ce qui rend également impossible le durcissement complet de ces résines. Pour fabriquer des organites avec ces résines, il suffit de les chauffer pour les rendre plus liquides et mélangez-y des copeaux de métal et laissez le mélange refroidir. Elle peut encore fondre si la température ambiante devient trop élevée.

## **1.6 Définition des métabolites**

Les métabolites sont des produits intermédiaires du métabolisme. Par définition, le terme métabolite est généralement limité aux petites molécules. Les métabolites ont une variété de fonctions, y compris l'énergie, la structure, la signalisation, la stimulation et l'inhibition des enzymes. Chez les plantes, les métabolites secondaires sont importants pour la survie et la reproduction des espèces. Il joue différents rôles, comme les phéromones ou les signaux chimiques, pour adapter les plantes à l'environnement

Chez les plantes il existe deux grandes classes des métabolites :



### **1.6.1 Métabolites primaires**

Métabolites primaires sont des molécules organiques qui se trouvent dans toutes les cellules de l'organisme d'une plante pour y assurer sa survie. Ils sont classés en quatre grandes catégories: les glucides, les lipides, les acides aminés et les acides nucléiques

### **1.6.2 Métabolites secondaires**

Les métabolites secondaires sont des molécules organiques qui ne participent pas à la croissance et au développement normal d'un organisme. Alors que les métabolites primaires jouent un rôle essentiel dans la survie de l'espèce avec un rôle actif dans la photosynthèse et la respiration, l'absence de métabolites secondaires n'entraîne pas la mort immédiate de l'organisme, mais plutôt une de l'organisme, jouant souvent un rôle important dans la défense des plantes.

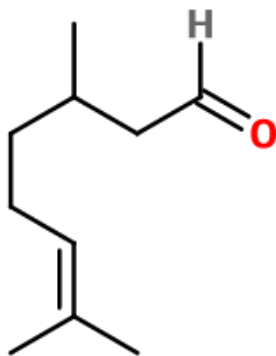
Ces composés constituent un groupe extrêmement diversifié de produits naturels synthétisés par les plantes, les champignons, les bactéries, les insectes et les animaux, la plupart des métabolites secondaires, tels que les terpènes, les composés phénoliques et les alcaloïdes, sont classés en fonction de leur origine biosynthétique, les différentes classes de ces composés sont souvent associées à un ensemble étroit d'espèces au sein d'un groupe phylogénétique. Et constituent le composé bioactif de plusieurs plantes médicinales, aromatiques, colorants, épices ou aliments fonctionnels. [21]

Les métabolites secondaires sont souvent produits à des niveaux élevés pendant la transition entre la croissance active et la phase stationnaire. L'organisme producteur peut se développer en l'absence de leur synthèse, ce qui suggère que le métabolisme secondaire n'est pas essentiel, du moins pour la survie à court terme. Un deuxième point de vue propose que les gènes impliqués dans le métabolisme secondaire fournissent un "terrain de jeu génétique" qui permet à la mutation et à la sélection naturelle de fixer de nouvelles bénéfiques par le biais de l'évolution. Un troisième point de vue caractérise le métabolisme secondaire comme une partie intégrante du métabolisme et de la biologie cellulaire. Il s'appuie sur le métabolisme primaire pour fournir les enzymes, l'énergie, les substrats et les protéines nécessaires. Et de la machinerie cellulaire nécessaires et contribue à la survie à long terme du produit. [22]

## 1.7 Classification des métabolites secondaires

### 1.7.1 Les terpènes

Les terpénoïdes constituent une grande famille de phytoconstituants ayant peu de points communs fonctionnels et structurels, Les stéroïdes, les caroténoïdes et l'acide gibbéréllique ne sont que quelques-uns de ses membres. Ils sont composés par le groupe le plus important de composés actifs dans les plantes, avec plus de 23 000 structures connues. Sont des polymères dérivés de l'isoprène et sont synthétisés à partir de l'acétate par la voie de l'acide mévalonique. Au cours de leur formation, les unités isoprènes sont liées en tête et en queue. Le nombre d'unités incorporées dans un terpène donné est la base de leur classification. Nombre d'entre eux ont une activité pharmacologique et sont utilisés pour le traitement des maladies humaines et animales. [23]



**Figure 4 :** Structure chimique de Citronnelle

### 1.7.2 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes présentent le groupe de métabolites secondaires qui contiennent des atomes d'azote basiques. Certains composés apparentés ayant des propriétés neutres et faiblement sont également inclus dans les alcaloïdes. En plus du outre le carbone, l'hydrogène et l'azote, ce groupe peut également contenir de l'oxygène, du soufre et rarement d'autres éléments tels que le chlore, le brome et le phosphore. [24]

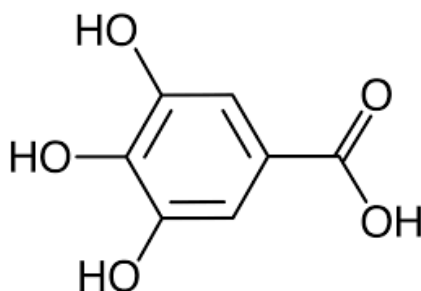
Les alcaloïdes sont produits par une grande variété d'organismes, tels que les bactéries, les champignons, les animaux, mais surtout par les plantes comme métabolites secondaires.

La plupart d'entre eux sont toxiques pour les autres organismes et peuvent être extraits par la méthode acide-base. Ils ont des effets pharmacologiques variés [25], Et ont une longue histoire dans la médication, Par rapport à la plupart des autres classes de métabolites

secondaires, les alcaloïdes sont caractérisés par une grande diversité structurale et il n'existe pas de classification uniforme. [26]

### 1.7.3 Les polyphénols

Les composés phénoliques des plantes constituent l'un des plus grands groupes de constituants secondaires des plantes synthétisés par les fruits, les légumes, les thés, le cacao et d'autres plantes qui possèdent certains avantages pour la santé. Ils sont caractérisés par des propriétés antioxydants, anti-inflammatoires, anti-cancérigènes et d'autres propriétés biologiques, et peuvent protéger du stress oxydatif et de certaines maladies [27]. Les composés phénoliques simples sont bactéricides, antiseptiques et anthelminthiques. Le phénol lui-même est un étalon pour d'autres agents antimicrobiens, Ils sont distribués dans la quasi-totalité des végétaux et font l'objet de nombreuses recherches appliquées chimiques, biologiques, agronomiques et médicales. [28]



**Figure 5 :** Structure chimique de l'acide gallique

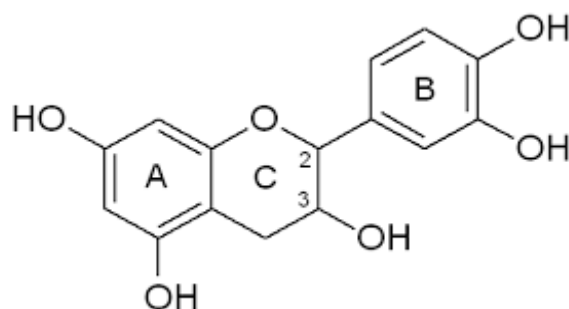
### 1.7.4 Flavonoïdes

Le terme « flavonoïdes » regroupe une très large gamme de composés polyphénoliques formés par un squelette de base à 15 atomes de carbones. Ces composés représentent le groupe de composés phénoliques le plus diversifié : plus de 4000 flavonoïdes ont déjà été identifiés. [29]

Le terme « flavonoïde » est dû à leur couleur jaune (flavus en latin) qu'ils engendrent. D'ailleurs, leurs fonctions principales chez les végétaux semblent être attribuées à leur coloration ; au-delà de la chlorophylle, des caroténoïdes et des bétalaïnes. [30]

Les flavonoïdes sont présents dans différentes parties des végétaux supérieurs selon le type de l'espèce : racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines, bois...etc. Aussi, ils varient quantitativement et qualitativement selon le stade de développement du végétal. [31]

Certains sont plus spécifiques de certains tissus, Exemple : les chalcones se trouvent plus fréquemment dans les pétales de fleurs.

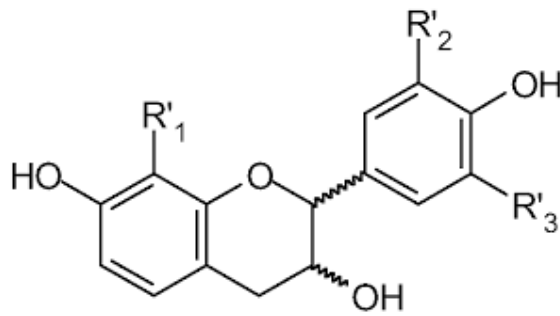


**Figure 6 :** Structure de base des Flavonoïdes

### 1.7.5 Les tannins

Le tanin est un nom dérivé du français « Tanin » (substance tannante) et utilisé pour une gamme de polyphénols naturels. Les tannins sont les composés phénoliques qui précipitent les protéines. Ils sont composés d'un groupe très diversifié d'oligomères et de polymères. Ils peuvent former le complexe avec les protéines, l'amidon, la cellulose et les minéraux. Ils sont synthétisés par la voie de l'acide shikimique. Également connue sous le nom de voie du phényle propanoïdes. La même voie conduit à la formation d'autres composés phénoliques tels que les isoflavones, les coumarines, les lignines et les acides aminés aromatiques. Les tanins sont des composés hydrosolubles, à l'exception de certaines moléculaires élevées.

Ils sont généralement subdivisés en deux groupes: les tanins hydrolysables qui comprennent les gallotanins, les ellagitanins, les tannins complexes, et également connus sous le nom de tannins condensés. Les tanins constituent également les principes actifs des médicaments à base de plantes. Selon la littérature, les plantes contenant des tanins sont utilisées comme astringents contre la diarrhée, a duré contre les tumeurs de l'estomac, et anti- inflammatoires. [32]



**Figure 7 :** Structure chimique des tanins (peau de raisin)

### 1.7.6 Type des tanins

- **Les tanins hydrolysables**

Sont des esters d'acide gallique qui se lient aux molécules de glucose. Plus précisément, un glucose se lie à plusieurs molécules d'acide gallique.

- **Les tanins condensés**

Ce sont des pro anthocyanidines. C'est-à-dire, des composés polyphénoliques hétérogènes : dimères, oligomères ou polymères de flavanes, flavan-3-ols, 5-flavanols, 5-deoxy-3-flavanols et flavan-3,4-diols (Ces composés sont formés par condensation des molécules de flavonoïdes entre elles. En effet, les tannins condensés ont tous comme précurseurs des flavonoïdes (C6-C3-C6) et diffèrent entre eux par le type de liaison, les monomères de flavonoïdes impliqués, la position stéréochimique des carbones 2, 3 et 4, les hydroxylations et la présence ou non de substituants comme l'acide gallique. [33])

## 1.8 Le rôle des métabolites secondaires

### 1.8.1 Promouvoir la coopération avec les animaux

Les métabolites secondaires peuvent servir des moyens de signalisation et d'interaction Entre les plantes et les animaux disperseurs ou pollinisateurs, certains métabolites secondaires interviennent dans les mécanismes d'attraction des animaux, nécessaires à la dispersion des graines et des insectes pollinisateurs, Par couleur (anthocyanes, caroténoïdes, etc.) et odeur (huiles essentielles et diverses substances volatiles) , Il est par ailleurs remarquable que ces produits apparaissent souvent au moment précis où la collaboration entre les deux parties (plante et animal) est nécessaire Dans certains cas, les plantes peuvent réagir rapidement changer les pollinisateurs en changeant de couleur : par exemple, les fleurs Lorsque les

anthocyanes sont dilués, l'herbe de haricot rouge passe du rouge au blanc leur première migration de pollinisateurs. [34]

### **1.8.2 Combattre la concurrence avec d'autres plantes**

Phénomène connu d'allélopathie (toxicité pour autrui) différentes sortes de plantes. Par conséquent, les feuilles de noyer contiennent des glycosides phénoliques quand ils touchent le sol, pluie. La juglone est une naphthoquinone qui est toxique pour la plupart des plantes et empêche son Germé, à l'exception de quelques-uns comme le pâturin qui ont développé une résistance. [35]

### **1.8.3 Défense**

On prête aux métabolites secondaires des plantes un rôle de défense contre les prédateurs et les pathogènes. Certaines observations semblent en accord avec cette hypothèse. Les stades juvéniles de croissance des plantes sont les formes les plus vulnérables aux différentes attaques et sont, de plus, des étapes nécessaires à l'accession à un stade reproductif inhérent à la transmission des gènes. Ce sont souvent ces formes immatures qui produisent des défenses chimiques qui disparaissent ensuite [36]. Ainsi, les plantes ou arbres immatures de la forêt boréale produisent en hiver.

## *Chapitre 2*

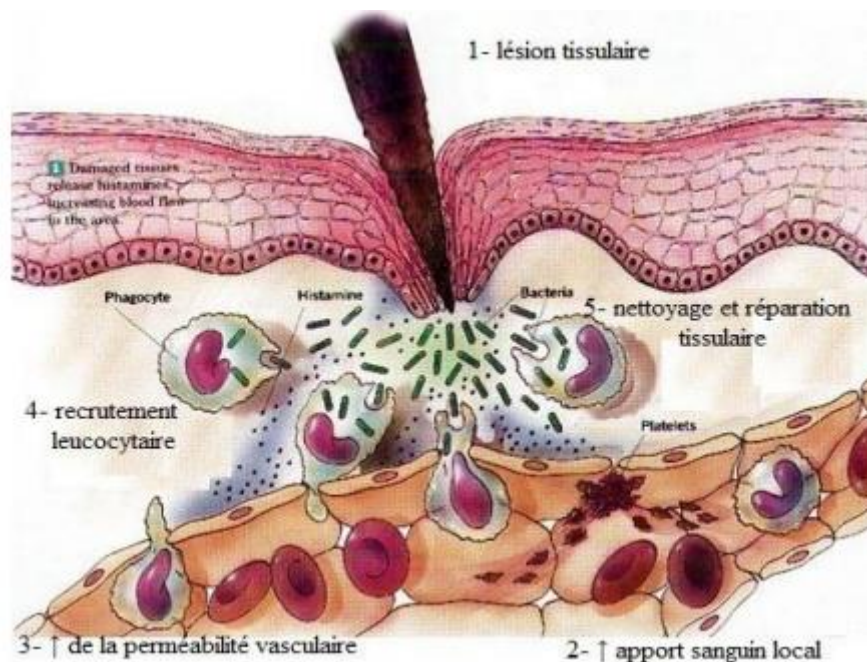
### *Les activités pharmacologiques*

## 2 Chapitre 2 : Les activités pharmacologiques

### 2.1 L'inflammation

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés, à une agression d'origine physique, chimique ou biologique dans le but de maintenir son intégrité (figure 08). C'est un ensemble de phénomènes réactionnels se produisant au point irrité par un agent pathogène. Elle se traduit ordinairement par quatre symptômes cardinaux : Rougeur, chaleur, douleur, et lésion fonctionnelle énoncés par Aulus Cornelius Celsius. [37]

L'inflammation est un processus habituellement bénéfique : son but est de mobiliser le système immunitaire afin d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois l'inflammation peut être néfaste du fait de l'agressivité de l'agent pathogène, de sa persistance, du siège de l'inflammation, ou encore de régulations anormales du processus inflammatoire.



**Figure 8** : Les principales étapes de la réaction inflammatoire

#### 2.1.1 Les causes d'inflammation

Les causes ou les facteurs qui vont déclencher l'inflammation sont multiples et variées. Elles peuvent avoir diverses origines :



Causes exogènes :

- Agents physiques : traumatisme, radiations, électricité, froid, chaleur, piqûre, coupure
- Agents chimiques : acide, base, substances minérales diverses,
- Agents biologiques : microorganismes pathogènes. [38]

Causes endogènes :

- Causes trophiques: elles sont en rapport avec un défaut de vascularisation ;
- Conflits immunitaires: rencontrés dans les maladies inflammatoires chroniques. [39]

On doit souligner que :

Les micro-organismes infectieux ne constituent qu'une partie des causes de l'inflammation et qu'une réaction inflammatoire n'est donc pas synonyme d'infection.

Un même agent pathogène peut entraîner des réactions inflammatoires différentes selon l'hôte d'où l'importance des facteurs liés à l'hôte (en particulier l'état des défenses immunitaires). Plusieurs causes peuvent être associées dans le déclenchement d'une réaction inflammatoire.

L'inflammation est dite :

- Primaire (ou aiguë) quand elle est de cause immédiate et localisée.
- Secondaire (ou chronique) lorsqu'elle est plus étendue comme c'est le cas de l'inflammation rhumatismale. [40]

## 2.2 Inflammation aiguë

L'inflammation aiguë est caractérisée par sa durée limitée dans le temps et par un rétablissement, à terme, d'homéostasie tissulaire. Elle est dite non-spécifique lorsque l'évènement déclencheur de la réaction inflammatoire est rencontré pour la première fois par l'organisme, Et qu'elle ne fait pas intervenir la « mémoire lymphocytaire ». Les inflammations aiguës guérissent spontanément ou avec un traitement, mais peuvent laisser des séquelles si la destruction tissulaire est importante.

### 2.2.1 La phase vasculaire et plasmatique

Caractérisée par une vasodilatation artérielle entraînant un érythème, un dégagement de chaleur locale. Il se produit une altération des micros capillaires par relâchement des cytokines et des substances vasoactives (histamine, bradykinine, sérotonine, prostaglandine, dérivés du

complément) [41]. Elle est suivie par la formation d'un œdème inflammatoire qui a une double origine. Il est, au début, lié à l'ouverture des sphincters pré-capillaires ; ouverture qui provoque une élévation de la pression capillaire. Secondairement c'est l'augmentation de la perméabilité vasculaire qui est en cause. Elle est due à l'histamine qui a une action immédiate mais transitoire. Les lésions de la paroi vasculaire causent une augmentation durable de la perméabilité. Le liquide d'œdème, au cours de l'inflammation, est riche en protéines : il s'agit d'un exsudat.

### **2.2.2 La phase cellulaire**

Correspond à l'arrivée au foyer inflammatoire des leucocytes. Elle débute avec les polynucléaires neutrophiles, qui sont remplacés progressivement par les cellules mononuclées, principalement les macrophages. La libération d'enzymes hydrolytiques des polynucléaires et le pouvoir phagocytaire des macrophages permettent la destruction de l'agent pathogène. [42]

### **2.2.3 La phase de régénération**

Il débute par une élimination de l'agent causal et des débris cellulaires et tissulaires du foyer inflammatoire de façon interne (phagocytose, pinocytose) ; externe par les orifices naturels ou par formation d'abcès : artificielle (incision chirurgicale). Puis réparation tissulaire par cicatrisation, qui aboutit à un tissu conjonctif néoformé qui remplace le tissu détruit, ou régénération, lorsque la destruction d'un tissu épithélial est partielle. Le tissu conjonctif est construit de nouveau par la synthèse de collagène, la multiplication cellulaire (fibroblastes) et le néogène vasculaire à partir des capillaires persistants ou localisés en périphérie du site. La surproduction de tissu conjonctif lors de la cicatrisation aboutit à la formation de cicatrices hypertrophiques et de chéloïdes. Un défaut de détersion peut entraîner également une persistance des phénomènes inflammatoires (chronicité). [43]

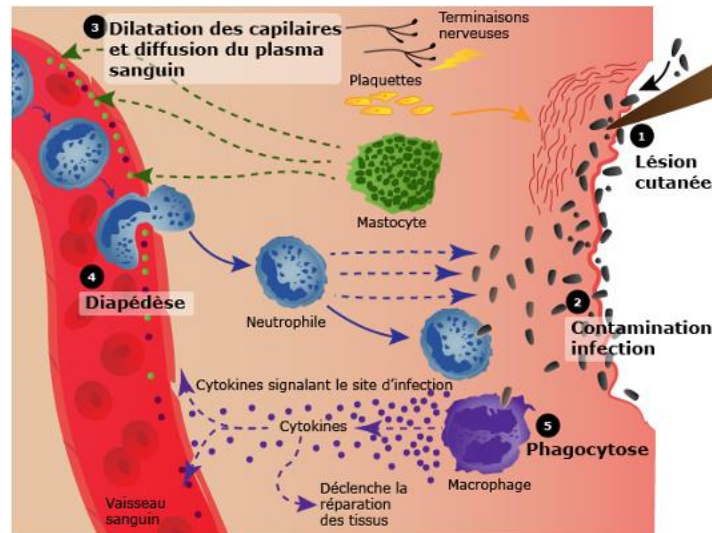


Figure 9 : la réaction de l'inflammation aiguë

### 2.3 Inflammation chronique

L'inflammation chronique est définie par la présence de lymphocytes, macrophages, et plasmocytes dans les tissus. Les inflammations chroniques n'ayant aucune tendance à la guérison spontanée évoluent en persistant ou en s'aggravant pendant plusieurs mois ou plusieurs années. On peut distinguer deux types de circonstances de survenue des inflammations chroniques : les inflammations aiguës évoluent en inflammations prolongées subaiguës et chroniques lorsque l'agent pathogène initial persiste dans les tissus (détertion incomplète) ou lorsqu'une inflammation aiguë récidive de façon répétée dans le même organe entraînant à chaque épisode des destructions tissulaires de moins en moins bien réparées.

### 2.4 Les anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont définis comme étant des substances qui agissent sur la douleur et le gonflement qui apparaissent suite à une agression d'un agent pathogènes. Elles bloquent la sécrétion ou l'action de certains médiateurs chimiques de l'inflammation (comme les prostaglandines) et donc diminuent la sensation de douleur mais aussi l'inflammation.

Le processus de défense de l'organisme peut parfois évoluer de façon anormale et déclencher des maladies auxquelles on oppose des médicaments dits anti-inflammatoires pouvant être conventionnels ou traditionnels.

### 2.4.1 Anti-inflammatoires conventionnels

Les anti-inflammatoires sont nombreux et appartiennent à des familles de médicaments différents puisqu'on y trouve des analgésiques, des corticoïdes, des antihistaminiques [44]. Ils sont une classe de médicaments subdivisée en deux catégories.

### 2.4.2 Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde en raison de leurs propriétés anti-inflammatoires, antipyrétique et antalgiques. Actuellement, il y a plus de 50 différents AINS sur le marché mondial. Le mécanisme d'action des AINS a été précisé par les travaux de Vane en 1971, il repose en grande partie sur l'inhibition compétitive, réversible ou non, de la cyclooxygénase enzyme qui permet la production de prostaglandine, à partir de l'acide arachidonique. Cette caractéristique commune à tous les AINS conduit à une diminution de la production des prostaglandines (notamment la PGE2 et la PGI2), Les prostaglandines sont directement impliquées dans l'inflammation, la douleur et l'hyperthermie (Figure 10). [45]

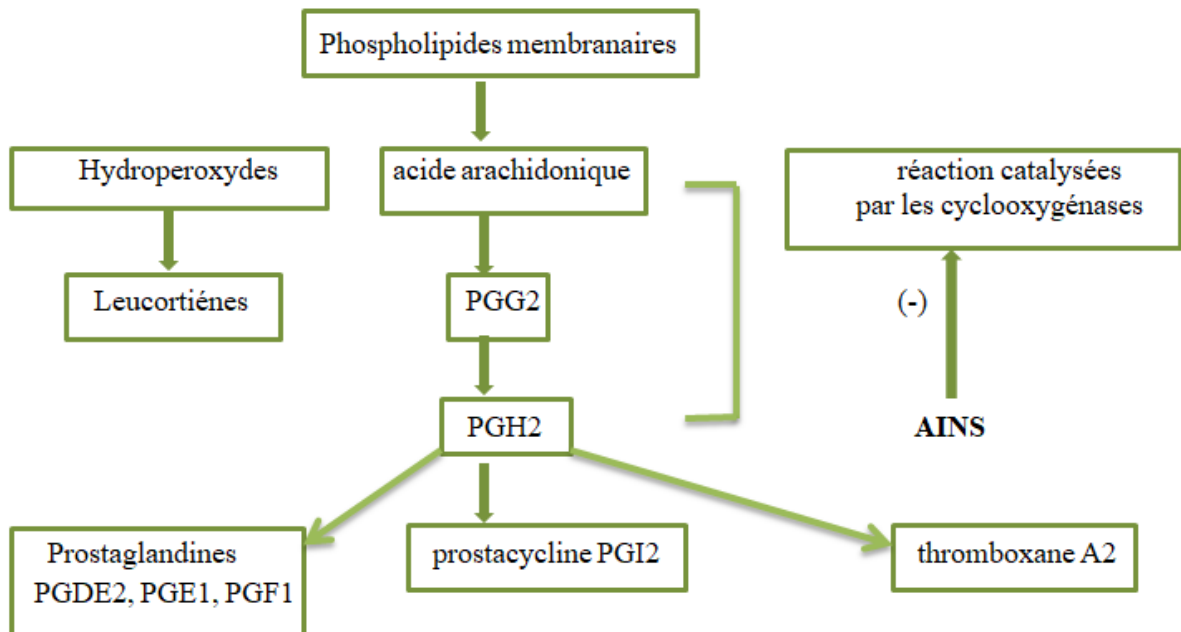


Figure 10 : Mécanisme d'action des AINS

### 2.4.3 Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) de référence (les glucocorticoïdes) sont représentées par la cortisone et l'hydrocortisone. Produits naturels sécrétés par la corticosurrénale, les produits synthétiques.

Ces corticoïdes agissent sur de nombreux métabolismes de l'organisme. Ils augmentent la production de la lipocortine, inhibant ainsi le phospholipide A2 donc la libération de l'acide arachidonique. Par contre ils diminuent fortement la migration des polynucléaires, monocytes-macrophages vers le site de l'inflammation et la production d'autres médiateurs comme l'histamine, la sérotonine, la bradykinine, les cytokines, les ions su peroxydes.

### 2.4.4 Anti-inflammatoires traditionnels

Les effets anti-inflammatoires des polyphénols de certaines plantes pouvaient agir sur les activités enzymatiques du métabolisme de l'acide arachidonique (AA) notamment, le phospholipide A2, cyclooxygénase et lipoxygénase. Une inhibition de ces enzymes par les polyphénols réduit ainsi la production d'AA, de NO<sup>•</sup>, de prostaglandines et de leucotriènes, médiateurs de l'inflammation. [46]

Des études ont également montré que des flavonoïdes comme la lutéoline ou l'épigénine inhibent la production de cytokines telles qu'IL-4, IL-5 et IL-13, que la quercétine inhibe la production de TNF- $\alpha$  par des macrophages stimulés au lipo polysaccharide (LPS), que le kaempférol inhibe l'expression et la sécrétion du TNF- $\alpha$ , de l'IL-1 $\beta$  ou de l'IL-6 dans les mastocytes. [47]

## 2.5 Activité antioxydante

L'oxygène est la source de vie pour les organismes aérobies. Mais l'oxygène peut être également une source d'agression pour ces organismes. En effet des dérivés hautement réactifs de l'oxygène peuvent apparaître au cours des réactions enzymatiques ou sous l'effet des rayons U.V, des radiations ionisantes et de métaux de transition. Les formes de l'oxygène provoquant ces troubles sont: l'oxygène singulet <sup>1</sup>O, le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, les peroxydes alkyles ROOH, le radical superoxyde O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, les radicaux hydroxyles HO<sup>•</sup>, peroxydes ROO<sup>•</sup> et alkoxydes RO<sup>•</sup>. Les conséquences au niveau de l'organisme se font ressentir sur l'ADN, les lipides et les protéines. [48]

## 2.6 Activité anti antimicrobienne

L'efficacité clinique de la plupart des antimicrobiens commercialisés est jugée menacée par l'émergence rapide des pathogènes multi résistantes qui accroissent la nécessité de trouver des solutions de rechange. [49]

Le succès connu de la médecine traditionnelle a guidé la recherche de nouveaux agents chimio thérapeutiques alternatives pour éliminer les infections causées par des microbes pharmaco résistants et à réduire les méfaits causés par les antibiotiques.

*Schinus molle* est utilisé en médecine populaire comme activité antimicrobienne contre Staphylocoques aureus et Streptocoques pyogènes. [50]

## 2.7 L'activité anticancéreuse

Les métabolites secondaires des plantes sont utilisés dans le système de santé depuis l'antiquité. Plus de milliers de plantes médicinales ont été identifiées comme possédant de nombreuses propriétés médicinales et propriétés pharmacologiques, y compris les agents anticancéreux.

Les études d'investigation chimique antérieures de *S. molle* ont été rapportées, il contient divers ingrédients chimiques, notamment des mono terpénoïdes, des sesquiterpénoïdes, des triterpénoïdes, des tanins et des flavonoïdes dans l'étude, les extraits de fruits de *S. molle* possédaient un potentiel cytotoxique prometteur contre l'HepG -2 lignée cellulaire. [51]

## ***Chapitre 3***

### ***Les formes semi-solides à application cutanée***

### 3 Chapitre 3 : Les formes semi-solides à application cutanée

Selon la Pharmacopée européenne, les préparations semi-solides sont des préparations d'apparence homogène, à appliquer sur la peau ou sur quelques muqueuses, formulées pour une action locale ou transdermique de principe actif, ou pour une action émollissante ou protectrice. Principales formes galéniques semi-solides

Les formes galéniques destinées à la voie cutanée sont extrêmement nombreuses, on distingue :

#### 3.1 Pommade

Préparations constituées d'un excipient monophasé dans lequel des substances liquides ou solides peuvent être dissoutes ou dispersées.

#### 3.2 Pâtes

Préparations semi-solides à haute teneur en poudre (> à 50 %) finement dispersées dans l'excipient.

On distingue deux types : pâte lipophile ou hydrophobe et pâte hydrophile.

#### 3.3 Gels

Préparations faites à partir de liquides gélifiés à l'aide d'agents gélifiants appropriés; on distingue deux types: Oléo gels (gels hydrophobes) et les hydrogels (gels hydrophiles). [52]

#### 3.4 Les émulsions

##### 3.4.1 Définition

« Les émulsions sont des systèmes dispersés de stabilité limitée ou thermodynamiquement instables formés de deux liquides non miscibles, l'un étant dispersé sous forme de globules de l'ordre du micron dans l'autre grâce à la présence de tensioactifs. Les émulsions sont des préparations généralement liquides, destinées à être administrées telles quelles ou à être utilisées comme excipient. » Pharmacopée Française 1987

##### 3.4.2 Différents systèmes

Trois catégories majeures d'émulsion sont distinguées selon la taille des gouttelettes présentes dans la phase dispersée. [53]



### 3.4.2.1 Les macro émulsions

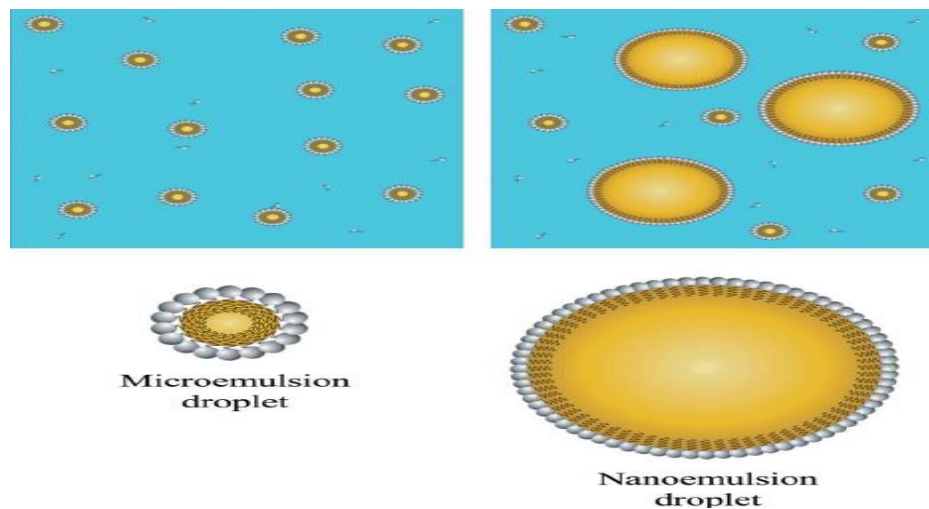
Il s'agit de systèmes dispersés hors équilibre composés de deux phases liquides non miscibles, le diamètre moyen de ses émulsions est supérieur ou égal à un micromètre. Sont instables à la sédimentation ou au crémage en tenant compte de la taille des gouttes et en fonction de la viscosité de la phase continue.

### 3.4.2.2 Les nano émulsions

Il s'agit de systèmes bi-phasiques avec des tailles de gouttelettes comprises entre 20 et 200 nm. Elles sont transparentes ou translucides à l'œil, stables à la sédimentation ou au crémage.

### 3.4.2.3 Les microémulsions

Sont des systèmes monophasiques obtenus grâce à un émulsifiant permettant la coexistence des molécules de la phase aqueuse et de la phase huileuse. Elles sont thermodynamiquement stables.



**Figure 11 :** Représentation schématique de microémulsion et de nano-émulsion

Tableau 2 : Les caractéristiques des différentes catégories d'émulsions.

Les caractéristiques	Macro-émulsion	Nano-émulsion	Nano-émulsion
Apparence	Opaque	Transparent ou légèrement turbide	Transparent ou légèrement turbide
Stabilité	Thermodynamiquement instable	Thermodynamiquement instable mais cinétiquement stable	Thermodynamiquement stable
Durée de vie	Courte	Courte	Longue
Taille des gouttelettes	Supérieur à 1 µm	Entre 20 et 500 µm	Entre 10 et 100 nm
Energie nécessaire à la formation	Méthode à forte ou faible énergie	Méthode à forte ou faible énergie	Méthode à faible énergie (formation spontanée)
Coût pour la formation	Peu important	Important	Peu important
Pourcentage de tensioactif	Inférieur à 5%	Entre 5 et 10%	Supérieur à 10%

### 3.5 Différents types d'émulsion

Selon la dispersion de la phase aqueuse et la phase huileuse, on distingue :

#### 3.5.1 Les émulsions simples

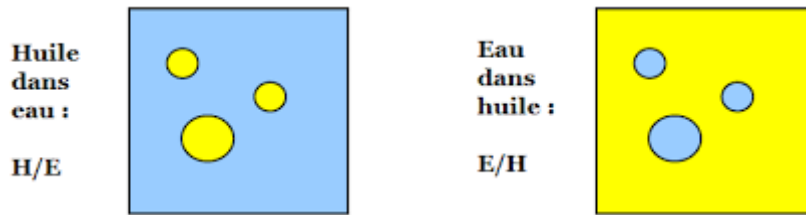
##### 3.5.1.1 Les émulsions simples

Sont composées d'une phase aqueuse, une phase huileuse et d'un émulsifiant. [54] Elles sont appelées eau-dans-huile (E/H) quand des gouttelettes d'eau sont dispersées dans la phase huileuse, et huile-dans-eau (H/E) pour l'inverse.

##### 3.5.1.2 Les émulsions multiples

Sont des émulsions dans lesquelles la phase dispersée renferme une autre phase dispersée (les émulsions d'émulsions). Ainsi, une émulsion E/H/E ou H/E/H est un système dans lequel des

globules d'eau sont dispersés dans des globules d'huile, ces derniers étant eux-mêmes dispersés dans une phase aqueuse. [55]



**Figure 12:** Représentations schématiques d'une émulsion directe et inverse

### 3.6 Formulation

Une émulsion est constituée par une homogénéisation de deux phases liquides non miscibles : une phase dispersée et une phase dispersante. Ce système est thermodynamiquement instable, mais il peut présenter une stabilité cinétique, parfois considérable, en présence des particules amphiphiles localisées à l'interface des deux phases (la phase inter faciale). [56]

#### 3.6.1 Phase dispersante

Également connu sous le nom de phase extérieure ou continue. Elle est formée, le plus souvent, du liquide présent en plus grande proportion, dans lequel le second liquide est dispersé sous forme de particules. Il existe la possibilité de formation de plusieurs types d'émulsions en fonction du type de liquide qui forme la phase dispersante.

#### 3.6.2 Phase dispersée

On parle également de phase interne ou de phase discontinue. Il est composé de particules du deuxième liquide, dispersées sous forme de gouttes. Les particules dispersées sont le plus souvent sphériques et peuvent avoir différentes tailles.

#### 3.6.3 Phase inter faciale

Il est constitué par un ou plusieurs agents émulsifiants. Ces corps sont appelés, selon les auteurs, émulsionnants, émulsifiants, émulsificateurs, émulsifs, amphiphiles. [57]

Les propriétés microscopiques (la répartition granulométrique, la morphologie) et macroscopiques (stabilité, viscosité, conductivité) des émulsions, dépendent de trois types de variables :

- Les variables de formulation : (nature d'émulsionnant et de l'huile, la pression, la température...).

- Les variables de composition : qui correspondent aux pourcentages relatifs des trois constituants principaux du système : la phase aqueuse, la phase huileuse et les émulsifiants ;
  - Les variables de procédés : (ordre d'incorporation des constituants, la vitesse d'agitation, le profil d'évolution de la température pendant l'émulsification...).
- [58]

### 3.6.4 Phase hydrophile

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

### 3.6.5 Phase lipophile

La phase lipophile appelée également phase grasse, huileuse ou phase organique, comporte des huiles, des cires et des graisses (respectivement liquides, solides ou semi-solides à T°C ambiante) d'origine végétale, animale ou minérale, des substances synthétiques dérivées ou naturelles. La phase lipophile est en général constituée d'un mélange d'ingrédients.

### 3.6.6 Tensioactifs

Un tensioactif, connu aussi sous différents noms tels que détergent, émulsifiant, agent mouillant ou encore surfactant est une substance chimique bien particulière. ILS 'agit d'une substance amphiphile, c'est-à-dire qu'il présente deux parties de polarités différentes, l'une est lipophile, constituée d'une chaîne hydrocarbonée et apolaire, et l'autre est hydrophile, contenant des hétéroatomes (O, P, S et N) polaire La molécule tensioactive, d'origine naturelle ou synthétique, se compose conjointement d'une partie hydrophile et d'une autre hydrophobe ce qui lui confère son caractère amphiphile (figure 13).

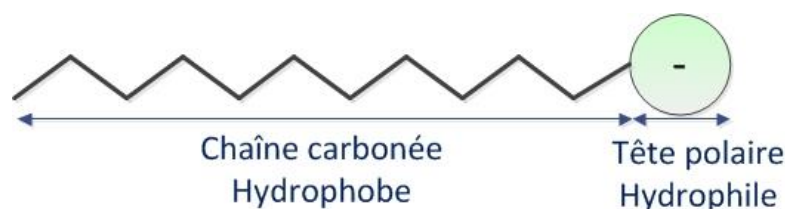


Figure 13 : Schéma structural d'un tensioactif

### 3.6.7 Additifs

En fonction du type d'émulsion (alimentaire, cosmétique, pharmaceutique) des substances peuvent être ajoutées à l'une ou l'autre phase pour conférer au produit diverses propriétés

(augmentation de la durée de conservation, modification du goût, de la texture, de l'aspect, maintien de l'humidité, etc.).

Les additifs utilisés sont très variés. Ils se distribuent entre phase aqueuse et phase grasse suivant leur solubilité. Leur utilisation est soumise à une réglementation qui dépend du secteur industriel considéré. Les produits pharmaceutiques et les produits cosmétiques de soin comportent d'autre part au moins un principe actif (appelé actif ou ingrédient actif pour les cosmétiques) dans l'une ou l'autre phase de l'émulsion.

### **3.7 Les émulgels**

Les émulgels sont la combinaison de gel et d'émulsion. Emulsion de type huile dans eau et eau dans huile utilisée comme véhicule pour administrer divers médicaments à la peau. Ils ont également une grande capacité à pénétrer dans la peau. L'émulgel à usage dermatologique possède plusieurs avantages comme la thixotropie, sans graisse, facile à étaler, facile à enlever, émouline, ne laisse pas de taches, soluble dans l'eau, possède une durée de conservation plus longue, respectueux de l'environnement, transparent et agréable.

#### **3.7.1 Constituants importants de la préparation d'émulgel**

##### **3.7.1.1 Véhicule**

Le véhicule est un lien important entre la puissance du médicament et l'efficacité thérapeutique, des recherches pharmaceutiques approfondies ont montré que la composition du véhicule peut profondément influencer la vitesse et l'étendue de l'absorption. Les substances contenues dans les véhicules, telles que les humectants, qui ont une grande affinité pour l'eau, peuvent dans certaines circonstances déshydrater la couche cornée et diminuer la pénétration. Ils affectent également la pénétration du médicament par perte de vapeur d'eau à la surface de la peau [59]. Le véhicule a les propriétés suivantes :

- Déposer le médicament sur la peau avec distribution.
- La libération de médicament migre librement sur le site d'action.
- Administrer le médicament au site cible et maintenir la libération du médicament.
- Formulé de manière appropriée pour le site anatomique à traiter.
- Cosmétiquement acceptable pour le brevet.

##### **3.7.1.2 Matériau aqueux**

Celle-ci constitue la phase aqueuse de l'émulsion. Les agents communément employés sont l'eau, les alcools. [60]

### 3.7.1.3 Huile

Ces agents forment la phase huileuse de l'émulsion. Pour les émulsions à application externe, les huiles minérales, soit seules ou associées à des paraffines molles ou dures, sont largement utilisées à la fois comme véhicule pour le médicament et pour leurs caractéristiques occlusives et sensorielles. Largement les huiles utilisées dans les préparations orales ne sont pas biodégradables huiles minérales et de ricin qui apportent un laxatif local effet, et les huiles de foie de poisson ou diverses huiles fixes de d'origine végétale (par exemple, arachides, graines de coton et huiles de maïs) comme suppléments nutritionnels.

### 3.7.1.4 Émulsifiants

L'agent émulsifiant est principalement utilisé pour favoriser l'émulsification de la phase huileuse et aqueuse au moment de la formulation. Ils retardent la séparation des phases de l'émulsion en augmentant la stabilité et la durée de conservation de l'émulsion pouvant varier de quelques jours à des mois ou des années pour une préparation commerciale. L'émulgel contient principalement du polyéthylène glycol, du mono oléate de sorbitan (Span 80), du mono oléate de polyoxyéthylènesorbitan (Tween 80), de l'acide stéarique et du stéarate de sodium comme agents émulsifiants. [61]

### 3.7.1.5 L'agent gélifiant

Ces agents sont employés pour former une base de gel pour intégrer une émulsion pour la préparation d'émulgel. Les agents gélifiants sont utilisés pour augmenter la consistance de toute forme posologique en gonflant en phase aqueuse et en formant une structure de type gel. Ceux-ci sont utilisés comme agent épaississant dans les émulgel. [62]

### 3.7.1.6 Améliorateurs de perméation

Ce sont les agents qui sont utilisés pour augmenter le pouvoir de pénétration du médicament à travers la peau. Ceux-ci favorisent l'absorption des médicaments à travers la peau et perturbent temporairement la structure hautement ordonnée de la barrière cutanée de la couche cornée, fluidifient les canaux lipidiques entre les cornéocytes, modifient la répartition du médicament dans les structures cutanées ou améliorent l'administration dans la peau. [63]

## 3.8 Préparation de l'émulgel

Etape 1 : Formation de l'émulsion H/E ou E/H.

Etape 2 : Formation la base de gel.

Etape 3 : Incorporation de l'émulsion dans la base de gel sous agitation continue

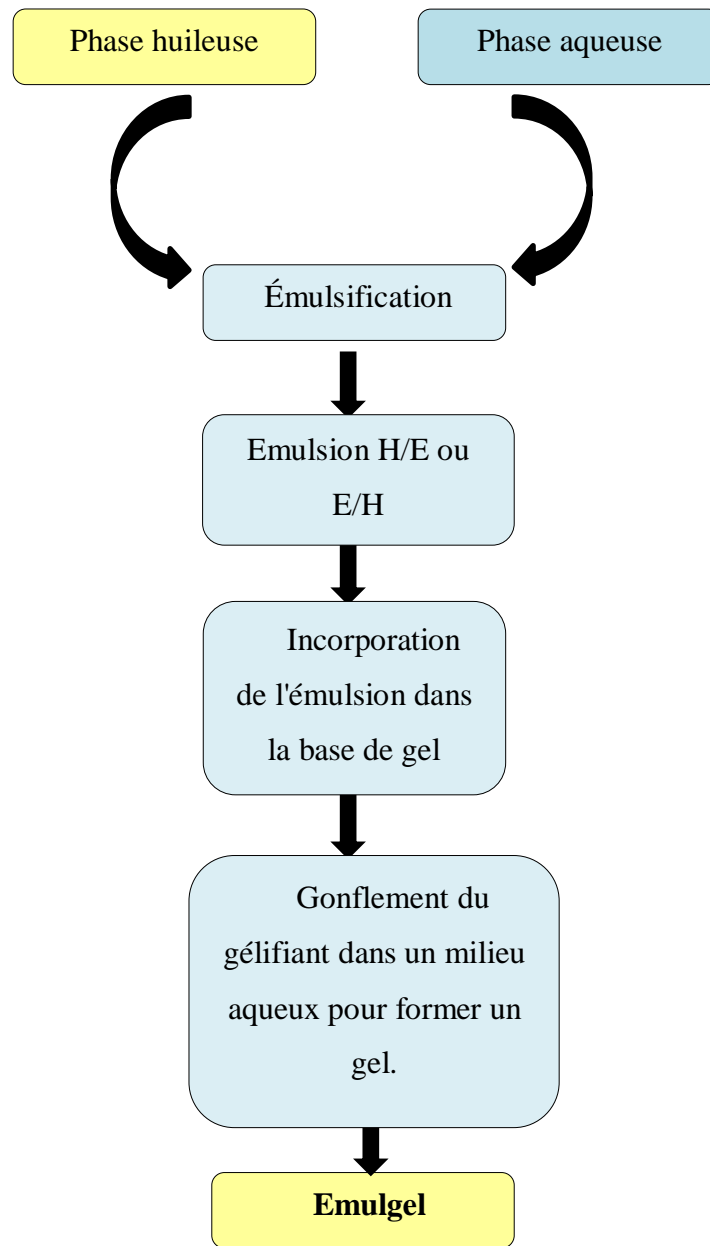


Figure 14 : Diagramme de préparation de l'émulgel.

### 3.9 Caractérisation des émulsions

#### 3.9.1 Détermination du type de l'émulsion

Selon la nature respective de la phase dispersée et la phase dispersante, l'émulsion peut être une dispersion de l'huile dans l'eau (H/E), ou l'eau dans l'huile (E/H), et pour la détermination de ce sens, différentes méthodes, de fiabilité variable, sont utilisées.

### 3.9.1.1 Méthode par la mesure de la conductivité

La Pharmacopée Française (V.5.C), ainsi que l'AFNOR réalisent la détermination du type de l'émulsion par la mesure de la conductivité électrique, à l'aide d'un conductimètre (V.6.A), ou à l'aide de tout autres dispositifs permettant de vérifier le passage du courant : une émulsion H/E aura une conductivité élevée est toujours supérieur à celle de la phase dispersante, alors que pour une émulsion E/H, elle sera pratiquement nulle, de l'ordre de quelque microsimens.

### 3.9.1.2 Méthode par dilution

Le principe de cette méthode est fondé sur le fait que la phase continue d'une émulsion peut être diluée ou non par l'une des deux phases.

### 3.9.1.3 Méthode aux colorants

Le principe est fondé sur obtention d'une répartition homogène ou hétérogène d'un colorant, généralement en solution, après son dépôt à la surface de l'émulsion, en fonction de sa solubilité dans la phase continue.

Le bleu de méthylène ou érythrosine sodique peuvent être utilisés comme colorants hydrosolubles, et le soudan 3 comme colorant liposoluble.

### 3.9.1.4 Autres méthodes

Il existe d'autres méthodes, on peut citer :

#### **Méthode microscopique**

L'émulsion colorée, par un ou deux colorants, est examinée entre lame et lamelle.

#### **Test au papier filtre**

Après étalement d'une émulsion, il se forme par capillarité une auréole aqueuse ou huileuse, selon la nature de la phase continue. [64]

## 3.9.2 Aspect physique

Les formulations d'émulgel préparées ont été inspectées visuellement pour leur couleur, leur homogénéité, leur consistance et leur séparation de phase. [65]

## 3.9.3 Mesure du pH

Les valeurs de pH de la formulation d'émulgel préparée ont été déterminées en utilisant des solutions aqueuses à 1 % p/v de l'émulgel préparé à l'aide d'un appareil de mesure numérique.



Un gramme d'émulgel a été dissous dans 100 ml d'eau distillée et il a été placé pendant deux heures. La mesure du pH de chaque formulation a été effectuée en triple et la valeur moyenne a été calculée. [66]

#### **3.9.4 Etude d'étalement**

Le coefficient d'étalement devait être déterminé par l'appareil proposé par Mutimer. L'appareil se compose d'un bloc de bois, qui est attaché à une poulie à une extrémité. Le coefficient d'étalement a été mesuré sur la base des caractéristiques de « glissement » et de « traînée » de l'émulgel préparé. Une lame de verre dépoli ayant la même dimension que celle de la lame de sol fixe était munie du crochet. Un poids de 20 g a été placé sur le dessus des deux lames pendant 5 minutes pour expulser l'air et fournir un film uniforme d'emulgel entre les deux lames. La quantité mesurée de poids a été placée dans le plateau attaché à la poulie à l'aide d'un crochet. Le temps (en secondes) requis par le toboggan supérieur pour se séparer du toboggan au sol a été noté. [67]

***Chapitre 4***  
***Matériels et Méthodes***

## 4 Chapitre 4 : Matériels et méthodes

### 4.1 Objectif

L'objectif de notre travail est d'élaborer une formulation à base des extraits de *Schinus molle* ainsi d'évaluer l'activité anti inflammatoire par les tests in vivo et in vitro.



**Figure 15** : Photo de *Schinus molle* L. localisée à l'université Blida 1

Ce travail était réalisé en quatre mois au sein de différents laboratoires :

- ✓ **Laboratoire de recherche** : Génie chimiques (département des Génies des Procèdes – Université Blida1)
- ✓ **SAIDAL** : Laboratoire de pharmacotoxicologie du centre de recherche et développement (CRD) Saidal gué de Constantine pour la réalisation de l'activité anti inflammatoire in vivo.
- ✓ **Laboratoire de recherche d'analyse fonctionnelle** : département des Génies des Procèdes – Université Blida1)

## 4.2 Matériels et méthodes

### 4.2.1 Matériels végétales

#### 4.2.1.1 Description de lieu de prélèvement des échantillons

Les échantillons utilisés pour l'étude proviennent des feuilles et de la résine d'arbre *Schinus molle* L. récoltés de la région de Blida localisées à l'université Blida 1 et la ville de Bouinan durant le mois de février 2022 pour les feuilles et en Mai 2022 pour la résine.

**Tableau 3 :** Prélèvement des échantillons de *Schinus molle* L.

		Date de récolte	Lieu de récolte	Heure de récolte
Les feuilles	1 <sup>er</sup> récolte	02-02-2022	Blida	12h30
	2 <sup>ème</sup> récolte	05-02-2022		12 h
La résine	1 <sup>er</sup> récolte	16-05-2022	Blida	10h30

Les échantillons récoltés ont été nettoyés et séchés à température ambiante dans un milieu frais et aéré ensuite pulvérisé à l'aide d'un broyeur



**Figure 16 :** Photo des feuilles séchées de *Schinus molle* L.



**Figure 17 :** Broyage des feuilles

#### 4.2.2 Matériels Animales

Des souris mâles et femelles Albinos Swiss dont le poids se situe entre 21 et 29 g. fournis par l'animalerie de L'institut Pasteur d'Alger.

#### 4.2.3 Produits chimique

**Tableau 4 :** Les solvants utilisés

Solvant
Ether de pétrole (40-60)
Méthanol (99%)
Ethanol (96%)
Acétone (99%)

Tableau 5 : Produits chimiques utilisées

<i>Screening phytochimique</i>	
-Folin Ciocalteu	-Chlorure ferrique
-Acide Gallique	-Chlorure d'aluminium
-Quercétine	-Acide Acétique
-L'ammoniaque	-Acide Sulfurique
-Carbonate de sodium	-Chloroforme
-Catéchine	-Réactif de Mayer
-Anhydride acétique.	-Nitrate de sodium
-Vanilline.	-Acide chlorhydrique
-hydroxyde de sodium	-Réactif de Wagner

**Tableau 6 :** Produits utilisées pour le test anti inflammatoire in vitro

<i>Test Anti inflammatoire In vitro</i>	
-Phosphate Buffer Saline	-Sérum Bovine d'Albumine BSA
-Diclofénac Sodique	

**Tableau 7:** Les matières utilisées pour la formulation de l'emulgel

<i>Formulation Semi Solide «Emulgel »</i>	
-Carbopol 934	-Huile de paraffine
-Triéthanolamine	-Span 20
-Tween 20	

**Tableau 8 :** Produits utilisées pour le test anti inflammatoire in vivo

<i>Test anti inflammatoire In vivo</i>
Carragénine
Diclofénac sodique

**Tableau 9 :** Produits utilisées pour l'activité anti oxydante.

<i>Activité anti oxydante</i>
DPPH

### 4.3 Matériels

Le tableau ci-dessous représente les instruments et les appareils utilisés :

**Tableau 10** : Les instruments et les appareils utilisés

Instruments	Noms	Description
<b>Spectrophotomètre UV/Visible</b>	Shimadzu V 1800	Un appareil qui nous permet de faire une mesure spectrométrique entre 200-800 nm.
<b>Infrarouge</b>	Shimadzu Infra rouge FTIR -8900-	Ils sont utilisés pour identifier les différents types de liaisons présentes dans les molécules organiques
<b>Evaporateur Rotatif (RotaVap)</b>	HEIDOLOF	Le principe de cet appareil est basé sur la distillation simple sous vide, qui permet d'éliminer rapidement de grandes quantités de solvant.
<b>Homogénéisateur</b>	IKA ULTRATURRAX T25	Sert à homogénéiser les différentes phases
<b>Centrifugeuse</b>	Micro Centrifugeuse Centurion C1005	Une centrifugeuse permet d'impulser un mouvement de rotation à forte vitesse pour mélanger un contenant et ainsi séparer des molécules.
<b>pH mètre</b>	Hanna instrument	Mesurer le pH
<b>Microscope optique</b>	Optika Microscope ItalySeries	Le microscope optique est un système optique à lentilles dont le but est d'obtenir une image agrandie de l'objet observé.



<b>pH mètre</b>	Hanna instrument	mesurer le pH
<b>Conductimètre</b>	Hanna instrument	Pour mesurer la conductivité
<b>Tamiseur</b>	Retsch AS 200	Pour tamiser la poudre à travers de plusieurs diamètres des tamis

## 4.4 Méthodes

### 4.4.1 Etude granulométrique

L'étude granulométrique des poudres comprennent la détermination de distribution granulométrique des particules qui composent les agrégats d'une taille comprise entre 100 microns et 500 microns afin de déterminer la taille appropriée pour donner le rendement le plus élevé dans l'extraction par Soxhlet, les propriétés phytochimiques de chaque classe de taille de particules à son rendement spécifique. Nous avons pris 274g de poudre pulvérisée et l'avons mis dans des tamis de différents diamètres de 100um, 250um, 400um et 500um pour déterminer la taille qui donne le meilleur rendement à l'étape suivante "extraction par Soxhlet" et par ultrason.



Figure 18 : Tamiseur électrique



Figure 19: Poudre retenus des tamis

#### 4.4.2 Extraction par Soxhlet

L'extracteur de Soxhlet est un appareil utilisé en chimie analytique qui permet de faire à chaud l'extraction par solvant d'un solide avec une grande efficacité. Cet appareil porte le nom de son inventeur: Franz Von Soxhlet, l'avantage de ce type d'extraction est que le solvant condensé, s'accumule dans un réservoir à siphon, ce qui augmente la durée de contact entre le solvant et le produit à extraire. Quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entraînant la substance dissoute.

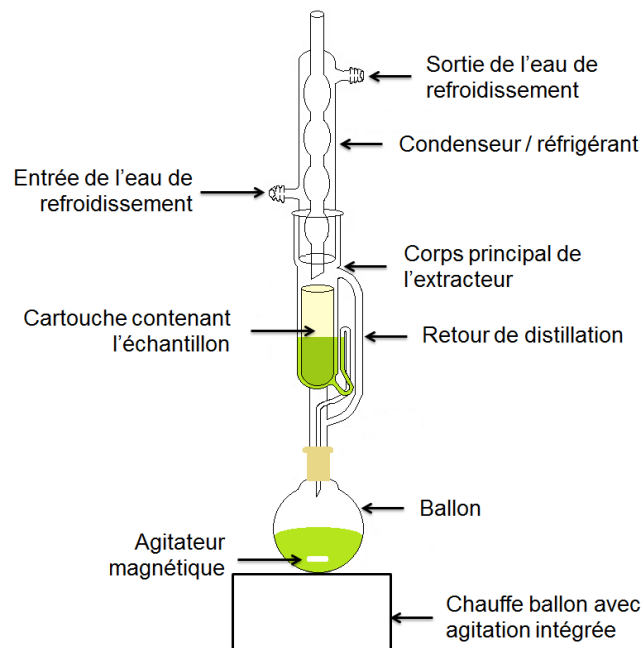


Figure 20 : Principe de fonctionnement de Soxhlet.

#### 4.4.2.1 Délipidation

Une quantité de poudre de *S. Molle* L obtenue par chaque fractions (100um, 250um, 400um, 500um) a été introduit dans une cartouche en papier filtre, elle est placée dans le soxhlet surmonté d'un réfrigérant, L'extraction par l'éther de pétrole a pour but d'entraîner les graisses ainsi que les substances lipophiles, Verser 300ml de l'éther de pétrole dans le ballon. Porter le mélange à ébullition. Le solvant est évaporé puis condensé tout en restant au contact de la matière végétale. A chaque cycle d'extraction (siphon), la solution recueillie dans le ballon devient de plus en plus riche en soluté. Après deux siphons, le solvant riche en substances solubles est récupéré dans le ballon.

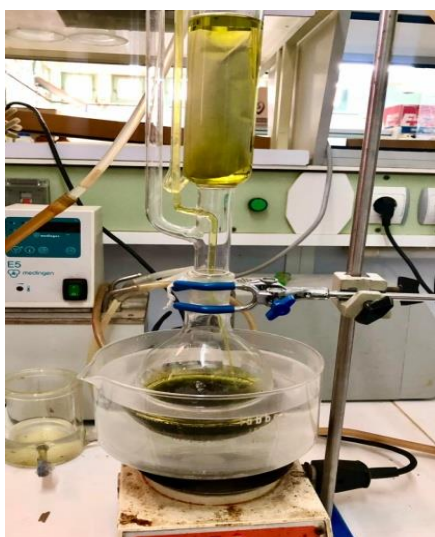


Figure 21 : Délipidation

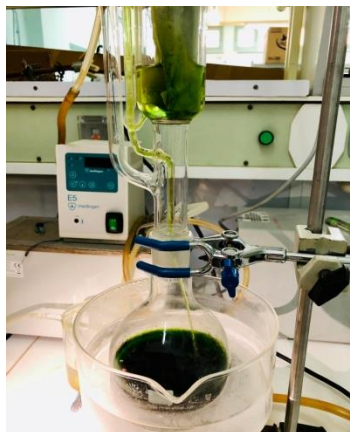


Figure 22 : Séchage des quatre fractions après  
délipidation

#### 4.4.2.2 Extraction des polyphénols

Après délipidation de l'échantillon, le résidu végétal récupéré a été soumis à une extraction avec du méthanol le matériau à extraire est placé dans une cartouche de Soxhlet, le méthanol a été introduit dans le ballon et chauffé pour démarrer l'extraction, l'extraction arrêtée Lorsque le liquide autour de la cartouche est clair, cette couleur indique le solvant Plus rien n'est extrait des solides. Le temps de traitement varie selon le solvant, généralement plus long 30 heures, le nombre de siphonage est de 9 cycles, le contenu du ballon est ensuite traité à l'aide du Rota vapeur pour éliminer le solvant et le résidu est pesé pour quantifier la masse d'extrait et

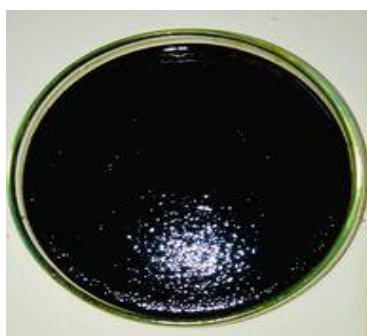
déterminer le rendement le plus élevé pour les 4 fractions (la délipidation et l'extraction par le méthanol a été faites pour chacune des fractions).



**Figure 23 :** Extraction par le méthanol



**Figure 24 :** Eliminer le solvant par un rota vapeur



**Figure 25 :** L'extrait des feuilles

#### 4.4.2.3 Extraction assistée par ultrasons (bain ultrasons)

L'extraction par ultrasons est la technique privilégiée pour isoler les composés bioactifs des plantes. La syndication permet d'obtenir une extraction complète et donc des rendements d'extraction supérieurs dans un temps d'extraction très court, après délipidation, il est ré extrait par le méthanol , Ajouter 50ml du méthanol sur la matière végétale récupérée de la phase de délipidation , bouché et dans Le bain à ultrasons à une fréquence de 35kHz, une puissance de 20w et une température de 30 c°, après avoir été extrait , le mélange est filtré à travers un papier whatman, la matière de plante est séchée à l'étuve à 40 C° ensuite est évaporée dans un rota vapeur à 40 C° pour éliminer le solvant et récupérer l'extrait sec pour les 4 fractions et calculer leurs rendement.

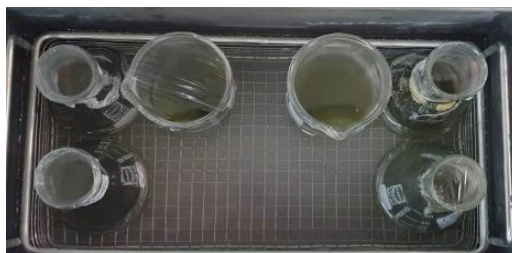


Figure 26 : Photo Extraction par bain ultrason

#### 4.4.2.4 L'extrait de la résine

Un volume de méthanol est ajouté à la résine pulvérisée avec un chauffage de 30 C°, cela permet d'obtenir la solution méthanolique de la résine.



Figure 27 : Résine de *S.molle* L.



Figure 28 : Résine de *S.molle* L. pulvérisée

### 4.5 Screening phytochimique

Les extraits méthanoliques ont été soumis à divers tests phytochimiques en vue de mettre en évidence les grands groupes chimiques contenus dans ces extraits méthanoliques, en utilisant la méthode standard basée sur des réactions de coloration et de précipitation. [68]

#### 4.5.1 Les Polyphénols

Deux millilitres d'extrait sont traités avec 1 ml de FeCl<sub>3</sub> à 1%, l'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte plus ou moins foncée est un signe de la présence des phénols. [69]

#### 4.5.2 Les flavonoïdes

À 1 ml de chaque extrait on ajoute quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl) concentré et quelques milligrammes de magnésium (Mg). La présence des flavonoïdes est confirmée par l'apparition de la couleur rouge ou orange.

### 4.5.3 Les tanins

Pour détecter la présence des tanins, on ajoute à 2 ml de chaque extrait quelques gouttes de  $\text{FeCl}_3$  à 1%. La couleur vire au bleu noir en présence de tanins galliques et au bleu verdâtre en présence de tanins catéchiques (tanins condensés). [70]

### 4.5.4 Les saponines

À 5ml de chaque extrait on ajoute 10 ml de l'eau distillée, le tout est agité avec énergie en position horizontale pendant 15 secondes. Puis, le mélange est laissé au repos pendant 15 min. La persistance de la mousse d'au moins 1 cm pendant 15 min indique la présence des saponines. [71]

### 4.5.5 Les quinones libres

Sur un volume de chaque extrait quelques gouttes de NaOH à 1% sont ajoutées. L'apparition d'une couleur qui vire au jaune, rouge ou violet indique la présence des quinones libres. [72]

### 4.5.6 Les terpénoïdes

À 5 ml de chaque extrait on ajoute 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré, la formation de deux phases et un couleur marron à l'interphase indique la présence de terpénoïdes. [73]

### 4.5.7 Les alcaloïdes

5 ml d'HCl 1% à 1ml de chaque extrait, le tout est chauffé au bain marie, puis on divise chaque extrait en deux volumes égaux. Un volume est traité par le réactif de Mayer, l'autre par le réactif de Wagner. La formation d'un précipité blanc ou brun révèle la présence des alcaloïdes. [74]

Les réactifs de Mayer et de Wagner sont préparés comme suite :

\* **Réactif de Mayer** : Dissoudre 1.358 g d' $\text{HgCl}_2$  dans 60ml d'eau distillée puis 5g de KI dans 10ml d'eau distillée. Mélanger les deux solutions et ajuster le volume total à 100 ml.

\* **Réactif de Wagner** : Dans 75 ml d'eau distillée, dissoudre 2g de KI et 1.27g de  $\text{I}_2$ . Le volume obtenu est ajusté à 100ml avec l'eau distillée.

### 4.5.8 Stérols et tri terpènes

Les stérols et les terpènes ont été recherchés par la réaction de Liebermann. Cinq (5) ml de chacun des trois extraits ont été évaporés sur bain de sable. Le résidu est dissout à chaud dans 1 ml d'anhydride acétique ; nous avons ajouté 0,5 ml d'acide sulfurique concentré au triturât.

L'apparition, à l'interphase, d'un anneau pourpre ou violet, virant au bleu puis au vert, a indiqué une réaction positive. [75]

#### 4.5.9 Détection des coumarines

Introduire 1ml d'extrait dans un tube à essai, ajouter 0.5 ml de  $\text{NH}_4\text{OH}$  à 25%, mélanger et observer sous UV à 366 nm. Une fluorescence intense indique la présence des coumarines. [76]

### 4.6 Dosage quantitative

#### 4.6.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. [77]

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (V.L. Singleton). [78] en y apportant quelques modifications. Brièvement, dans des tubes à hémolyse en verre, un volume de 200  $\mu\text{l}$  de chaque extrait a été ajouté, avec un mélange de 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois, et 800  $\mu\text{l}$  d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 %. Les tubes sont agités et conservés pendant 30 min. L'absorbance est lue à 765 nm. Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (0 à 1000  $\mu\text{g/ml}$ ).

#### 4.6.2 Dosage des flavonoïdes totaux

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. [79]

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par (Zhishen et al. 1999). [80] avec quelques modifications. Dans un tube à hémolyse en verre, 400  $\mu\text{l}$  d'extrait, ou d'étalon, ou de l'eau distillée pour le témoin, ont été ajoutés à 120  $\mu\text{l}$  de  $\text{NaNO}_2$  à 5 %. Après 5 minutes, 120  $\mu\text{l}$  d' $\text{AlCl}_3$  à 10 % ont été additionnés, et le milieu est mélangé vigoureusement. Après 6 minutes, un volume de 800  $\mu\text{l}$  de  $\text{NaOH}$  à 1 M a été ajouté au milieu. L'absorbance est lue immédiatement à 510 nm contre le témoin. Une solution méthanolique de Quercétine a été préparée. Des solutions filles préparées à partir de la solution mère à différentes concentrations comprises entre 0 et 1000  $\mu\text{g/ml}$ , permettront de tracer la courbe d'étalonnage.

### 4.6.3 Dosage des tanins condensés

Nous avons adopté la méthode à la vanilline avec l'HCl. Cette méthode dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminal des TCs et la formation de complexes rouges [81], cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline [82]. La teneur en tanins condensés a été déterminée par la méthode de vanilline décrite par (Julkunen-Titto, 1985). [83]

Un volume de 50 µl de chaque extrait a été ajouté à 1500 µl de la solution vanilline/méthanol à 4 %, puis mélangé vigoureusement. Ensuite, un volume de 750 µl de l'acide chlorhydrique concentré (HCl) a été additionné. Le mélange obtenu est laissé réagir à température ambiante pendant 20 min. L'absorbance est mesurée à 550 nm contre un blanc. Différentes concentrations comprises entre 0 et 1000 µg/ml préparées à partir d'une solution mère de la catéchine, permettront de tracer la courbe d'étalonnage.

### 4.7 Evaluation de l'activité anti inflammatoire par dénaturation thermique d'ovalbumine (blanc d'œuf)

Une solution de 5 ml, composée de 0,2mL d'albumine d'œuf, 2,8mL de solution saline de tampon phosphate (PBS pH 6,4) et 2mL de l'extrait méthanolique aux concentrations de 50, 100, 150, 200, 300 µg/ml a été préalablement préparée, Le Diclofénac a été utilisé comme anti inflammatoire AINS de référence aux concentrations de 50, 100, 150, 200, 300 µg/ml. Un volume double d'eau distillée a servi de contrôle. Les mélanges sont incubés à 37±2°C pendant 15 min puis chauffé à 70°C pendant 5 min. Après refroidissement, les absorbances sont mesurées à 660nm. [84]

Le taux d'inhibition de la dénaturation des protéines est calculé, en utilisant la formule

$$\text{taux d'inhibition}(\%) = 100 \times \frac{V_c}{V_c - V_t} \quad (1)$$

$V_t$  = absorbance de l'échantillon d'essai

$V_c$  = absorbance de contrôle



## 4.8 Activité anti inflammatoire in vivo

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

#### Principe

L'injection de la Carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti - inflammatoire.

Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration de doses égales du produit anti - inflammatoire à tester et du produit de référence correspondant.

[85]

#### Mode opératoire

Avant l'expérimentation, les souris sont soumises à un jeun pendant 16h avec accès libre à l'eau. On utilise 3 lots de 10 souris chacun :

- Un lot témoin,
- Un lot essai 1,
- Un lot essai 2.

#### Au temps T0

Administrer aux trois lots les suspensions suivantes :

- Lot témoin : chaque souris reçoit 0.5 ml d'eau distillée ;
- Lot essai 1 : chaque souris reçoit 0.5 ml de l'extrait aqueux ;
- Lot essai 2 : chaque souris reçoit 0.5 ml de la solution de Diclofénac.

#### Au temps T0 + 30 min

Après l'introduction des solutions buvables aux souris, on injecte la solution de Carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche sous un volume de 0,025 ml pour provoquer une inflammation.

#### Au temps T0 + 4 h

On sacrifie les souris par rupture de la nuque puis coupe les pattes postérieures à hauteur de l'articulation.

Les pattes droites et gauches de chacune des souris sont pesées, ensuite un calcul arithmétique des moyennes des poids pour calculer le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% d'œdème) par la formule suivante :

$$\text{Taux d'œdème (\%)} = \frac{\text{Mpg} - \text{Mpd}}{\text{Mpd}} \times 100 \quad (2)$$

**Mpg** : moyenne des poids de la patte gauche

**Mpd** : moyenne des poids de la patte droite

**Le pourcentage de réduction de l'œdème**

$$\text{Taux de réduction de l'œdème (\%)} = \frac{\%Ot - \%Oe}{\%Ot} \times 100 \quad (3)$$

**%Ot** : pourcentage de l'œdème témoin

**%Oe** : pourcentage de l'œdème essai

#### 4.9 Activité anti oxydante (test DPPH)

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution. Il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm. Sa couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl-hydrazine (jaune) par un composé à propriété anti radicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons. [86]

##### Mode opératoire

2,9 ml de la solution éthanolique de DPPH (0,025 g/l) est ajouté à 100 µl de la solution de chaque extrait à différentes concentrations (25, 50, 100, 200, 400, 600 µg/ml). Le mélange est vigoureusement agité, puis les tubes sont incubés à température ambiante et à l'obscurité pendant 30 minutes. La longueur d'onde d'absorption maximale a été préalablement déterminée. Toutes les lectures sont effectuées à 515 nm.

## 4.10 Formulation d'un émulgel

### 4.10.1 Préparation de l'Emulgel

La préparation d'une émulsion E/H, suivie de l'introduction dans un gel c'est formulation d'un émulgel.

#### 4.10.1.1 Préparation de la phase gel

Dans un bécher contient du l'eau distillée ajouter une quantité du Carbopol 934 avec une faible agitation au début pour disperser le Carbopol dans l'eau purifié et on applique une forte homogénéisation de la phase pendant un temps bien déterminé et à la fin ajouter quelques gouttes du TEA jusqu'à la gélification de cette phase.

#### 4.10.1.2 Préparation de la phase huileuse de l'émulsion

Mettre une quantité d'huile de paraffine dans un bécher et du Span 20 avec une agitation par une vitesse de 500 rpm et chauffer à une T= 60 °C, laisser sous agitation jusqu'à ce que le span20 soit complètement fondue.

#### 4.10.1.3 Préparation de la solution principe actif

Dans un bécher on solubilise le principe actif de l'extrait des feuilles de *S.molle* L. dans l'eau distillé à fin d'avoir l'extrait aqueux, et on refait la même opération pour la résine de *S.molle* chauffé à 50 C°

#### 4.10.1.4 Préparation de la phase aqueuse de l'émulsion

Le Tween 80 est solubilisé dans l'eau distillé à l'aide d'un agitateur mécanique chauffer au même temps à 60 C°, ensuite on ajoute de la solution aqueuse qui contient le principe actif pour la 1ere formulation on introduit la solution aqueuse des feuilles et pour la 2eme formulation on introduit la solution aqueuse de la résine.

#### 4.10.1.5 Préparation de l'émulsion

La préparation de l'émulsion commence d'abord par le chauffage séparé de la phase huileuse et de la phase aqueuse à 70-80°C. Après cela, les deux phases sont mélangées sous agitation. Ensuite on introduit le mélange dans l'homogénéisateur sous une vitesse d'homogénéisation de 7000 tours /minutes jusqu'à l'obtention d'une émulsion homogène pendant 13min.

#### 4.10.1.6 Phase d'émulsification

Avant de mélanger les deux phases assurer que les deux phases ont la même température soit comprise entre 60°C -70°C, puis mettre la phase huileuse dans la phase aqueuse sous

L'homogénéisation jusqu'à l'homogénéisation complète pendant 20 min puis ajouter cette émulsion dans le gel avec l'homogénéisation préparé et laisser l'émulgel jusqu'à le refroidissement.

**Tableau 11:** la formulation des deux émulgels feuille et résine.

	<i>Formulation</i>			
	<i>Formulation 1 : Feuilles</i>		<i>Formulation 2 : Résine</i>	
	<i>Matière</i>	<i>Quantité (g)</i>	<i>Matière</i>	<i>Quantité (g)</i>
<i>Gel</i>	Carbopol 934	0,75	Carbopol 934	0,8
	TEA	0,83	TEA	0,8
	Eau distillée	50	Eau distillée	60
<i>Phase Aqueuse</i>	Tween20	1	Tween20	0,8
	Eau distillée	30	Eau distillée	30
<i>Phase huileuse</i>	Huile de paraffine	30	Huile de paraffine	28
	Span20	1	Span20	0,8
<i>Extrait aqueux</i>	Matières végétales des feuilles	0,5→38qsp	Résine pulvérisée	1→ 40qsp

#### 4.10.2 Contrôle de produit fini

##### 4.10.2.1 Centrifugation

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

##### 4.10.2.2 Microscope Optique

La microscopie optique est une technique très utile pour l'étude des émulsions. Elle constitue un excellent moyen pour suivre la stabilité de ces systèmes lors du vieillissement. La microscopie optique est une méthode d'analyse usuelle pour la multiplicité des systèmes, cette méthode permet d'avoir une idée sur la taille des gouttelettes internes souvent de l'ordre du

micromètre. L'analyse microscopique des crèmes formulées a été effectuée à l'aide d'un microscope optique menu de caméra type.

#### 4.10.2.3 Mesure de pH

La mesure de pH est nécessaire, elle a été réalisée avec un pH-mètre type INOLAB menu d'une électrode pour produits visqueux. Le pH de la crème en contact de la peau doit se situer à une fourchette allant de 5,4 à 6 car la peau est normalement légèrement acide, ce qui lui permet de développer une protection plus efficace contre les attaques naturelles et permanentes des micro-organismes.

#### 4.10.2.4 Etude de comportement rhéologique

##### 4.10.2.4.1 Rhéologie de l'émulgel

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

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

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

Pour se faire, deux tests ont été effectués :

##### 4.10.2.4.2 Le test de viscoélasticité

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

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

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

#### 4.10.2.4.3 Le test d'écoulement

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

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

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

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

*Chapitre 5*

*Résultats et discussion*

## 5 Résultats et discussion

### 5.1 Etude granulométrique

#### 5.1.1 Extraction par Soxhlet

Le processus de l'extraction par l'appareil de Soxhlet pour les feuilles de *S. molle* est fait pour 4 fractions de différents diamètres :

**Tableau 12** : Résultats de rendement pour chaque fraction (extraction par soxhlet)

Diamètre de fraction ( $\mu\text{m}$ )	Rendement %
500	13,36
400	20,17
250	19,01
100	12,36

La fraction la plus adéquate pour un meilleur rendement c'est la fraction qui a le diamètre de 400 $\mu\text{m}$  pour un rendement de :

$$\mathbf{R = 20,17\%}$$

Donc pour les prochaines extractions on utilise cette fraction pour un taux de rendement élevé

#### 5.1.2 Extraction par ultrason

Le processus de l'extraction ce fait dans un bain à ultrason dans des conditions bien précisées pour 4 fractions de différents diamètres.

**Tableau 13** : Résultats de rendement pour chaque fraction (extraction par ultrason)

Diamètre de fraction ( $\mu\text{m}$ )	Rendement %
500	17,01
400	14,2
250	13,9
100	11



La fraction la plus adéquate pour un meilleur rendement c'est la fraction qui a le diamètre de 500um pour un rendement de :

$$R (\%)=17,01$$

## 5.2 Détermination du rendement

### 5.2.1 Extraction par Soxhlet

Après la détermination de la fraction le processus d'extraction des feuilles et à l'aide d'un é Soxhlet nous permet de calculer le rendement en fonction de la masse initiale de la plante et la masse de l'extrait brut. Nous obtenons le rendement suivant :

$$R=25,68\%$$

Le rendement des feuilles de *S. molle* L. est de : **25,68%**

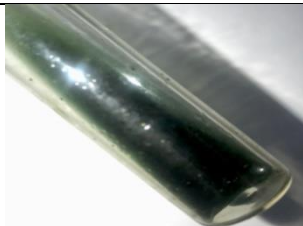
L'extraction des polyphénols à partir des feuilles de *Schinus molle* L. avec le méthanol par soxhlet a fournis un rendement plus important que l'extraction assistée par les ultrasons (bain d'ultrasons)


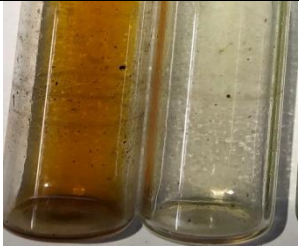





## 5.3 Analyse qualitative

### 5.3.1 Les feuilles

Les résultats du criblage phytochimique de l'extrait méthanolique des feuilles de *Schinus molle* L. a permis d'obtenir les résultats qui sont regrouper dans le tableau suivant :

**Tableau 14:** Résultats du screening phytochimique de l'extrait méthanolique des feuilles de *Schinus molle* L.

Composé	Présence	Absence	Illustration
<i>Polyphénols</i>	+		

<i>Flavonoïdes</i>	+		
<i>Alcaloïdes</i>	+		
<i>Quinones libres</i>	+		
<i>Stérol et tri terpènes</i>		-	
<i>Coumarine</i>	+		
<i>Tanins</i> <i>Catéchiques</i>	+		
<i>Terpenoïdes</i>		-	

### 5.3.2 Screening phytochimiques pour la résine

La présence des terpénoïdes.



Le screening phytochimique permet non seulement de révéler les constituants des extraits de plantes et celui qui prédomine sur les autres, mais il est également utile pour rechercher des agents bioactifs qui peuvent être utilisés dans la synthèse des médicaments utiles, pour notre étude et d'après les résultats obtenus par le screening on voit également la diversité des composés entre les différents extraits de *S.molle*, la présence des polyphénols, les flavonoïdes, les tanins ainsi que d'autres composés pour les feuilles, l'analyse qualitative de la solution méthanolique de la résine de *Schinus molle* L. a fournis des tests négatives pour les polyphénols, les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, par contre une présence des terpénoïdes a été mise en évidence grâce au test d'identification, ces résultats sont confirmés par le travail de [20]

## 5.4 Résultats d'infra rouge

### 5.4.1 Pour la résine

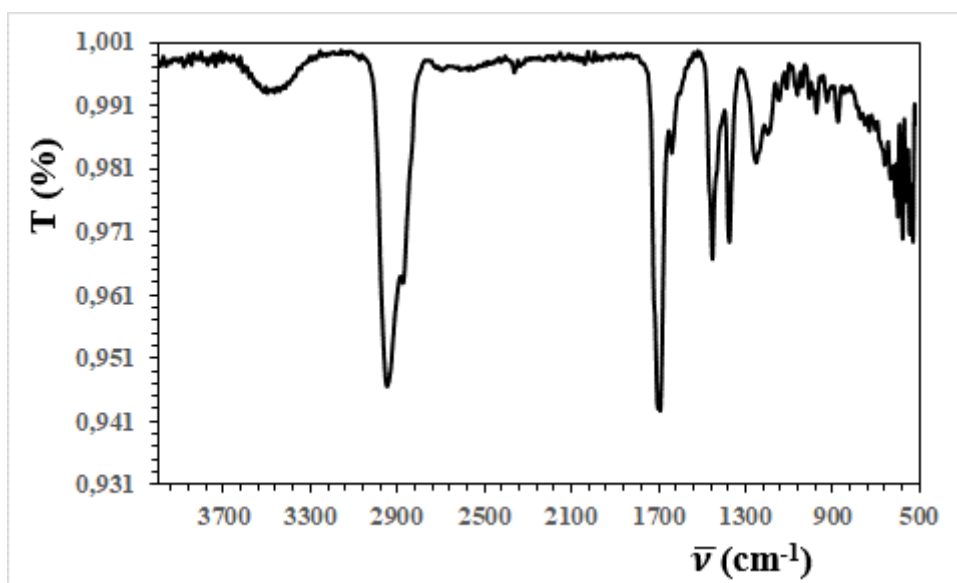
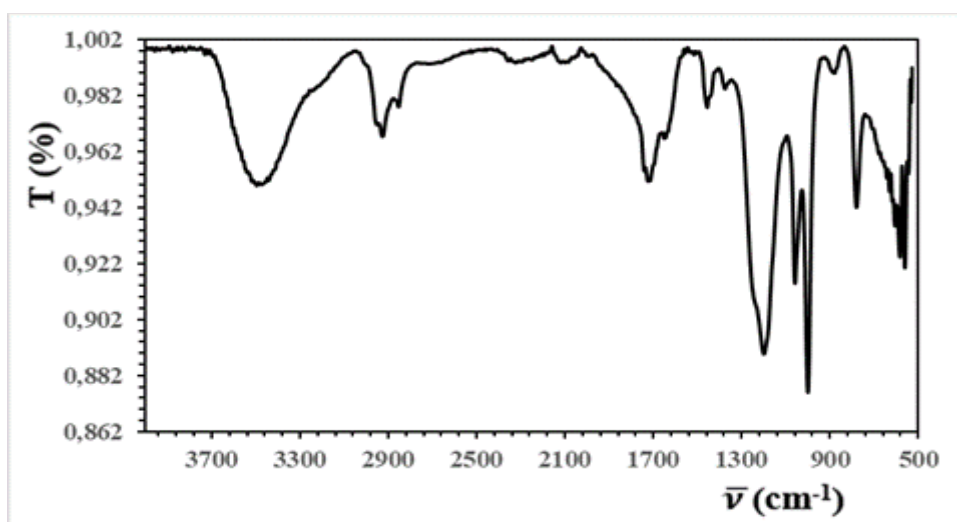


Figure 29: IRTF de l'extrait méthanolique résineux

Le spectre IRTF de l'extrait résineux du faux poivrier permet d'identifier une petite bande localisée au  $3517,87\text{ cm}^{-1}$  spécifique au groupement hydroxyle O-H d'où alcool, d'où phénol ou probablement de l'eau résiduelle, dans la région  $2950\text{-}2870\text{ cm}^{-1}$ , un ensemble de pic d'intensité importante est attribué aux vibrations de la liaison C-H des groupements méthyl et méthylène, à  $1708,77$  un pic important fin spécifique de la vibration de la fonction carbonyle.

#### 5.4.2 Pour les feuilles

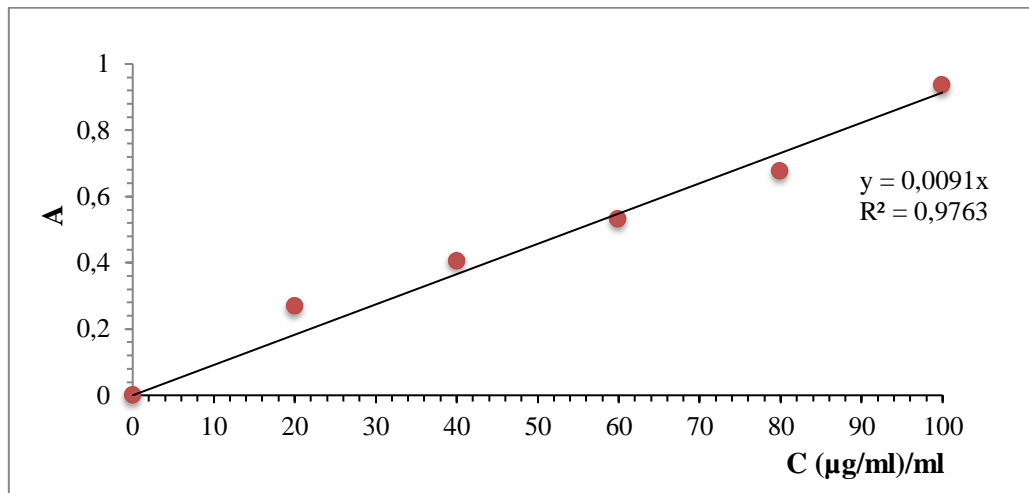


**Figure 30 :** IRTF de l'extrait méthanolique des feuilles

Le spectre IRTF de l'extrait des feuilles de *Schinus molle* L. montre un ensemble de vibration de  $3517,87\text{ cm}^{-1}$  spécifique aux alcaloïdes N-H confirmé par le screening phytochimique par la présence des alcaloïdes pour l'extrait des feuilles, dans la région  $2957,59\text{-}2880,6\text{ cm}^{-1}$  dus aux vibrations d'étirement C-H, nous observons un pic important de  $1743,49\text{ cm}^{-1}$ , correspondant à la liaison carbonyle d'un ester.

## 5.5 Dosage quantitative

### 5.5.1 Dosage des polyphénols totaux

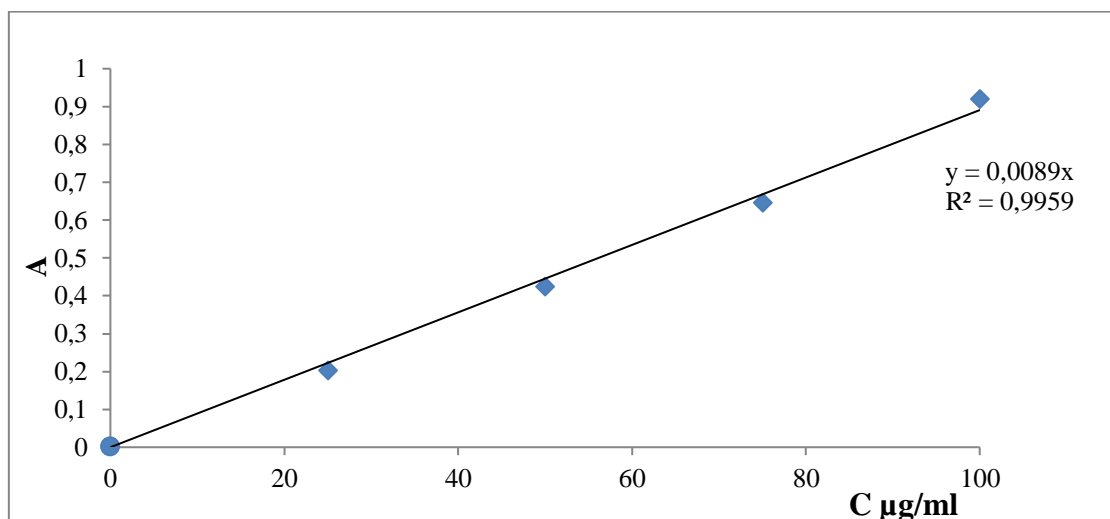


**Figure 31** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Quantité des polyphénols : **81,84 mg EAG/g d'extrait**

### 5.5.2 Dosage des flavonoïdes totaux

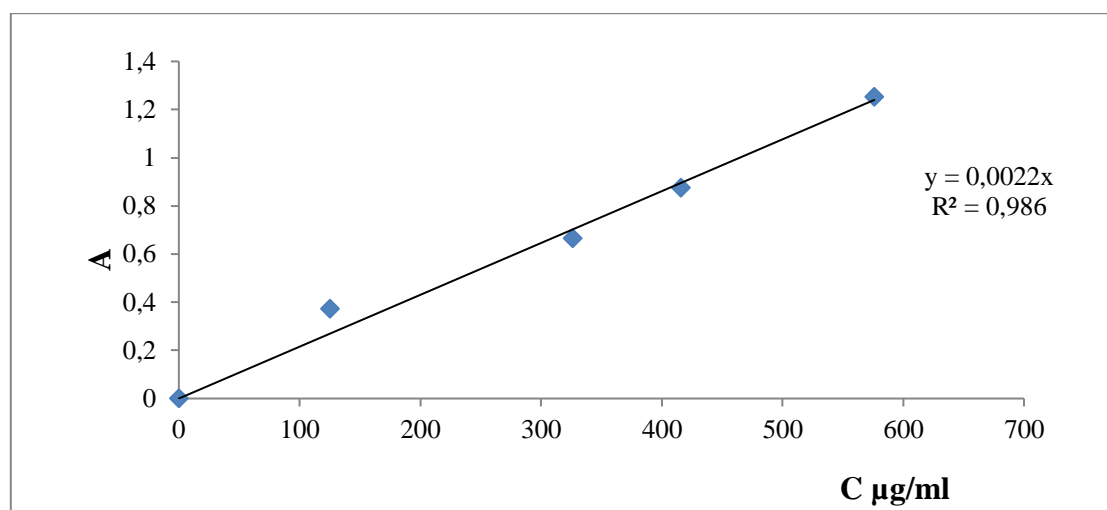
Les quantités des flavonoïdes correspondantes ont été rapportées en mg équivalent Quercétine par g d'extrait :



**Figure 32** : Courbe d'étalonnage de Quercétine

Quantité des flavonoïdes : **17,75 mg E Q/g d'extrait**

## 5.5.3 Dosage des tanins condensés

**Figure 33** : Courbe d'étalonnage de catéchine

Quantité des tanins condensés : **29,88 mg EC/g d'extrait**

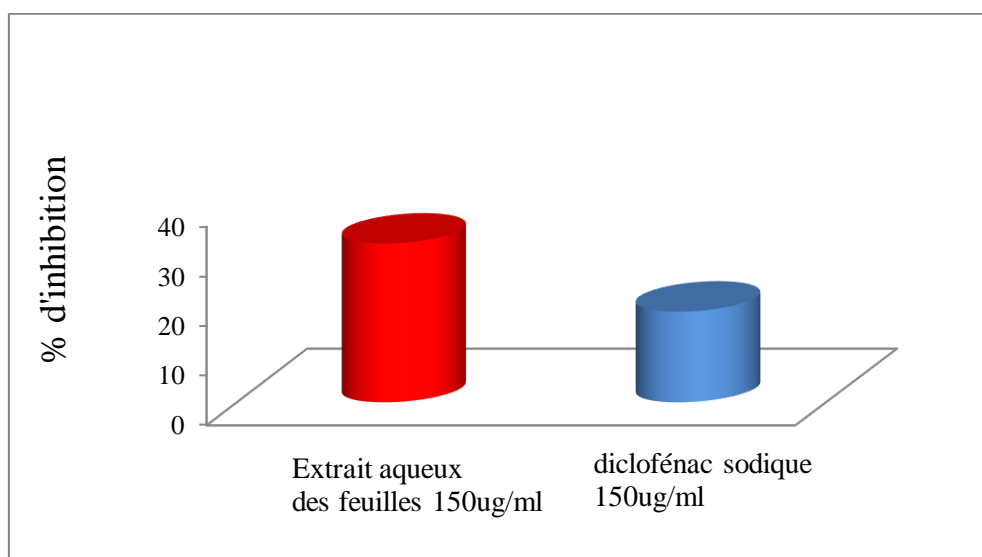
Cette étude propose la quantification spectrophotométrique des composés polyphénoliques dans de l'extrait méthanolique des feuilles de *S.molle* L, les études de **Seladji** sur les composés phénoliques de *S.molle* rassure notre résultats obtenus qui permettent de déduire que l'utilisation répétée de cette plante serait le fait qu'elles sont relativement abondantes dans leur composition polyphénoliques essentiellement les teneurs obtenus pour les polyphénols **81,84mg EAG/g**, les flavonoïdes **17,75 mg EQ/g** ainsi que les tanins condensées **29,88mg EC/g** ces valeurs indiquent réellement la richesse et la diversité de *S.molle* L.par les composés phénoliques.

### 5.6 Evaluation de l'activité anti inflammatoire par dénaturation thermique d'ovalbumine (blanc d'œuf)

L'absorbance du blanc : 1,500

**Tableau 15** : Résultats de dénaturation d'albumine d'œuf pour Diclofénac et l'extrait aqueux des feuilles

Concentration ug/ml	Abs Diclofénac	Inhibition de dénaturation Diclofénac %	Abs extrait aqueux	Inhibition de dénaturation Extrait aqueux %
10	1,901	0	1,172	21,86
100	1,577	0	1,137	24,22
150	1,227	18,2	1,021	31,93



**Figure 34** : Résultats d'inhibition de la dénaturation par l'albumine d'œuf

Les structures spatiales des protéines (conformation) sont sensibles à l'environnement (chaleur, pH, force ionique, solvants etc.) et changent alors de façon irréversible de forme : la dénaturation de l'albumine d'œuf est une protéine de réserve, globulaire, soluble dans l'eau. Elle est sensible à l'élévation de la température (coagulation thermique). La formation de ponts disulfures inter ou intramoléculaires au cours du chauffage par échanges irréversibles et la polymérisation désordonnées qui en résulte conduit à une diminution de sa solubilité. Lors des syndromes inflammatoires, une hypo albuminémie est aperçue, ce qui suppose sa dénaturation au cours de l'inflammation[87] , et d'après les résultats obtenus par la méthode de dénaturation

d'albumine d'œuf, l'extrait aqueux à la concentration de 150 µg/ml était de **31,93%** d'inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œufs, alors que le Diclofénac présentait un pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œuf de **18,2%** d'inhibition à une concentration de 150 µg/ml ce que signifiait que l'extrait aqueux des feuilles de *S.molle* L à un taux d'inhibition plus élevé que le Diclofénac sodique.

L'effet inhibiteur de l'extrait aqueux des feuilles de *S.molle* L. montre réellement que cette plante à une activité anti inflammatoire, et cela due à la richesse de l'extrait aqueux des feuilles de *S.molle* L.en composés bioactifs, principalement les flavonoïdes qui exercent une forte inhibition sur la cyclooxygénase (COX) et la lipoxygénase [88]. L'histogramme suivant récapitule les pourcentages obtenus.

### 5.7 Activité anti inflammatoire in vivo

Dans le but d'évaluer l'activité anti inflammatoire de *S.molle* L. in vivo pour ses extraits aqueux des feuilles et de résine, notre étude a été réalisée sur le modèle aigu de la patte gauche de souris injecté par la Carragénine, une dose de 10mg/ml a été administré par voie orale pour chaque extrait, le Diclofénac sodique été la référence pour cette étude car il possède une activité anti inflammatoire importante.

**Tableau 16 :** Les résultats obtenus après l'injection du Carragénine pour la patte gauche de souris pour chaque extrait (feuille et résine) ainsi que la référence

Poids	Extrait aqueux de résine		Extrait aqueux des feuilles		Référence Diclofénac	
	Poids patte Gauche	Poids patte droite	Poids patte gauche	Poids patte droite	Poids patte gauche	Poids patte Droite
<b>Souris 1</b>	0,185	0,116	0,107	0,084	0,160	0,130
	0,180	0,115	0,80	0,074	0,160	0,120



<b>Souris 2</b>						
<b>Souris 3</b>	0,195	0,114	0,109	0,085	0,170	0,125
<b>Souris 4</b>	0,140	0,135	0,093	0,081	0,20	0,150
<b>Souris 5</b>	0,169	0,122	0,089	0,075	0,155	0,170
<b>Poids moyen</b>	0,163,8	0,120	0,095	0,079	0,169	0,139

Après l'obtention de ces résultats on passe par la suite à calculer l'œdème et le pourcentage de réduction pour chaque extrait :

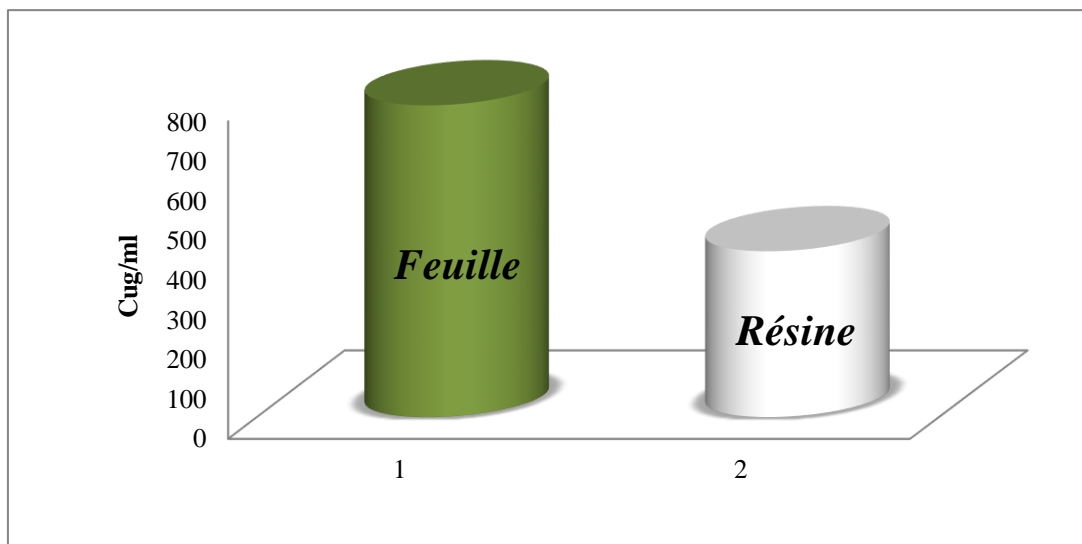
**Tableau 17** : Résultats taux d'œdème et réduction d'œdème.

Lot	PMG	PMD	Taux d'œdème	Taux de réduction de l'œdème
Témoin			43,79	0
Résine	0,163	0,120	36,01	17,78
Extrait feuilles aqueux	0,095	0,079	19,79	54,80
Référence	0,109	0,075	21,58	50,71

A la lumière de tous les résultats obtenus concernant l'activité anti-inflammatoire in vivo on observons clairement que les extraits aqueux de résine et des feuilles ont un taux de réduction important , la résine à un taux d'inhibition 17,78% , les feuilles 54,8% , ainsi que

le Diclofénac 50,71% , les feuilles ont une activité anti inflammatoire mieux que la résine avec une valeur approximative à celle du Diclofénac , on peut améliorer l'activité anti inflammatoire de résine par l'augmentation de la concentration pour une efficacité optimale.

### 5.8 L'activité anti oxydante :



**Figure 35 :** Concentration inhibitrice de 50% du radical DPPH, de l'extrait éthanolique

D'après la **figure 35**, nous observons une activité anti oxydante importante pour les extraits éthanoliques des feuilles et de la résine de *S. molle L.*

Si on compare IC50 entre les feuilles et la résine de *S.molle L*, la résine représente une meilleure activité 418,25 µg/ml par rapport aux feuilles avec une valeur de l'ordre 785,5 µg/ml, on constate que plus L'IC50 est faible plus l'extrait est avec un potentiel antioxydant puissant. Par contre la valeur de IC50 trouvée dans la littérature [89] pour le même extrait est sensiblement meilleure que celle obtenus par nous-même. Cette différence est attribuée à la période de la récolte.

## 5.9 Formulation d'émulgel

### 5.9.1 Contrôle de produit fini

**Tableau 18 :** Les caractéristiques des deux formulations à base des feuilles et de la résine de *S.molle* L.

	<i>Emulgel</i>		
	<i>Résine</i>	<i>Feuilles</i>	<i>Description</i>
<b>Caractéristiques Organoleptiques</b>			L'émulgel de la résine à un aspect opaque homogène de couleur blanche, ainsi que l'émulgel des feuilles à un aspect bien homogène avec une couleur verte due à le chlorophylle des feuilles de <i>S.molle</i> L.
<b>Test de stabilité</b>			Les figures montrent que les deux formulations ont une bonne stabilité (pas de séparation de phase) grâce à la bonne homogénéisation
<b>pH</b>	<b>5,7</b>	<b>5,4</b>	Le pH des deux formulations est dans les normes et correspond au pH naturel de la peau
<b>Conductivité</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	- les émulsions E/H sont des isolants électriques.

### 5.9.2 Etude microscopique

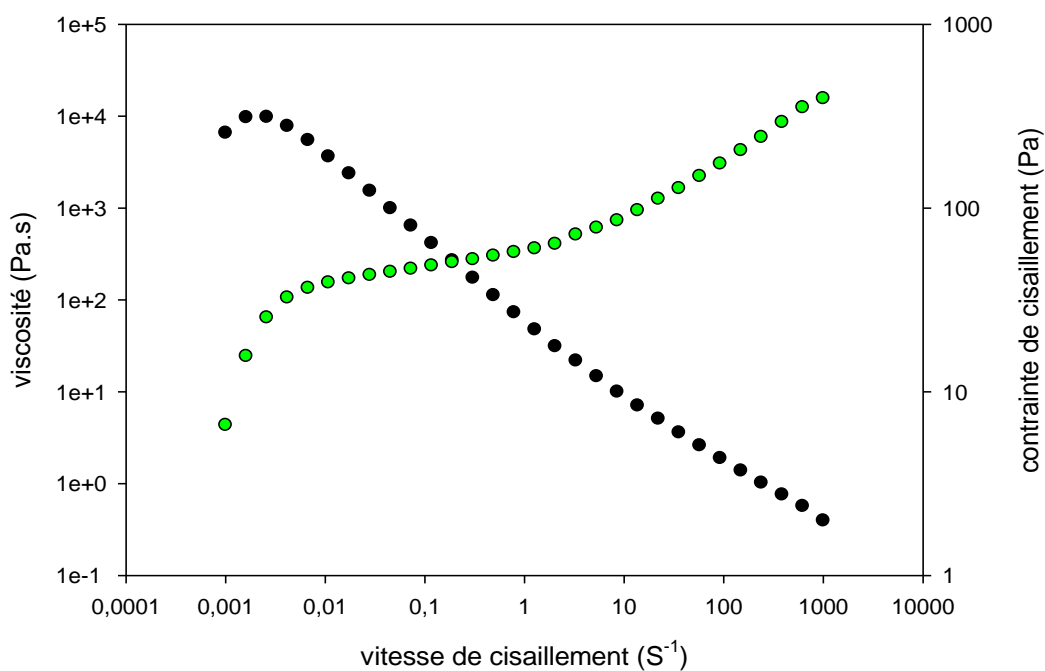


**Figure 36:** Grossissement des gouttelettes x16

La figure 36 représente un grossissement x16 de l'émulgel, nous montre bien la présence d'une phase huileuse dispersée une phase aqueuse dispersante, les tailles des gouttelettes sont de la même taille cela signifie une stabilité et un sens d'émulsion E/H.

### 5.9.3 Etude du comportement rhéologique

Variation de la contrainte de cisaillement et la viscosité d'emulgel "résine" en fonction de la vitesse de cisaillement

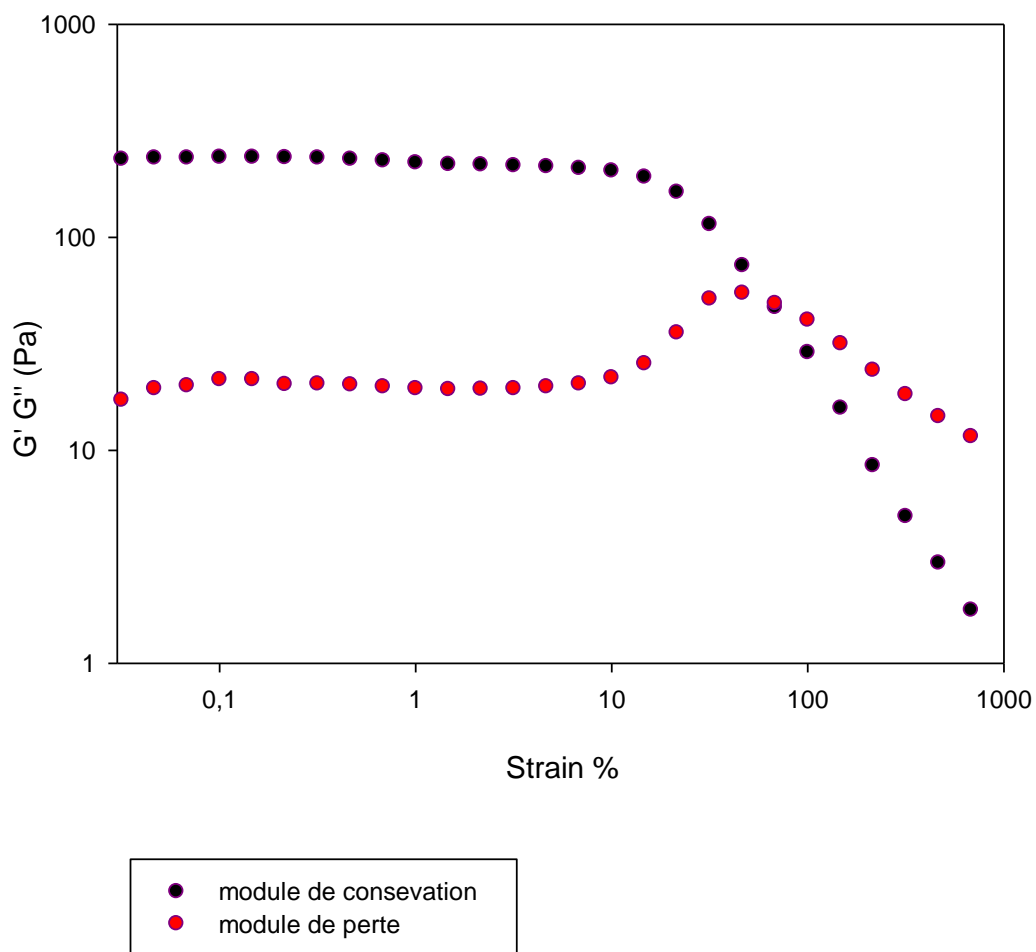


**Figure 37 :** Variation de la viscosité et la contrainte de cisaillement de l'émulgel de la résine en fonction de taux de cisaillement

Le graphe représente la variation de la viscosité apparente et la contrainte de cisaillement de l'émulgel de la résine en fonction de la vitesse de cisaillement, la viscosité change en fonction de la vitesse de cisaillement ce que signifie que le comportement de cet émulgel est un comportement non newtonien, la contrainte de cisaillement est de l'ordre  $< 1$  cela indique que cet emulgel est un fluide rhéofluidifiant.

#### 5.9.4 Etude de la viscoélasticité

variation de module de conservation élastique  $G'$  et de module au perte  $G''$



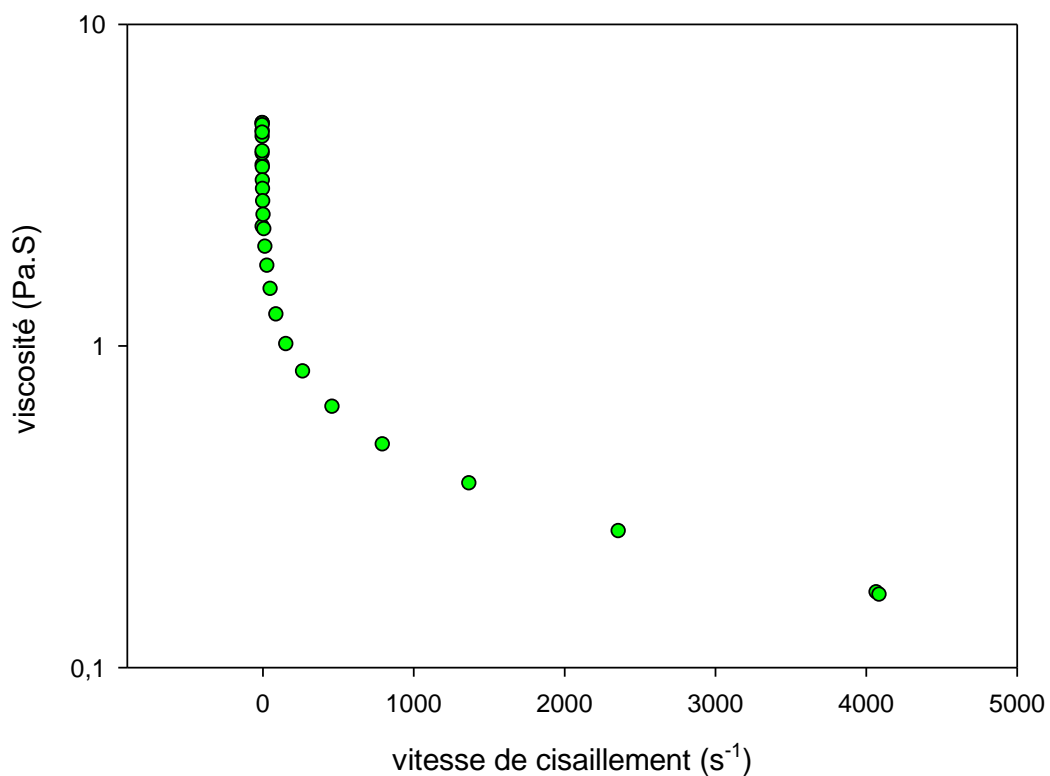
**Figure 38 :** Variation du module de conservation (élastique)  $G'$  et du module de perte (visqueux)  $G''$  de l'émulgel de résine

La figure 38 montre le module de conservation (élastique) ( $G'$ ) et le module de perte (visqueux) ( $G''$ ) en fonction de l'amplitude de la déformation à une fréquence angulaire fixe  $f=1$  Hz de l'émulgel de résine à  $T^{\circ}=20^{\circ}$ . Le module élastique présente un comportement solide

viscoélastique jusqu'à 10 % d'amplitude de déformation et un modèle décroissant au-dessus de cette valeur. Le module visqueux avait un profil linéaire à <10% d'amplitude de déformation et un comportement décroissant au-dessus de cette valeur ce que signifie une stabilité dans la région de LVE (linear viscoelasticity), Au-delà du LVE, on observe une évolution non-linéaire de  $G'$  et de  $G''$  associée à un comportement viscoélastique non-linéaire. Le comportement devient liquide viscoélastique sur toute la gamme de fréquences angulaires.

### 5.9.5 Etude d'écoulement d'émulgel des feuilles

courbe d'écoulement d'émulgel des feuilles



**Figure 39 :** Courbe d'écoulement de l'émulgel des feuilles de *Schinus molle L*

La figure illustre la variation de la viscosité apparente d'émulgel des feuilles en fonction de vitesse de cisaillement à température égale à 20 C°, on observe la diminution de la viscosité apparente en fonction de l'augmentation de vitesse de cisaillement cela indique que le comportement de cet émulsion est un comportement rhéofluidifiant non newtonien.

## Conclusion générale

Le travail reporte les résultats d'une étude faite sur une espèce cultivée *Schinus molle* L. Correspondant à des récoltes durant (le mois de février 2022 pour les feuilles et en Mai 2022 pour la résine) dans la région de Blida (Algérie).

L'objectif de cette étude était d'élaborer une formulation semi solide émulsion à base des extraits de feuilles et de résine de *Schinus molle* L. et évaluer l'activité anti inflammatoire de cette espèce.

Une étude granulométrique était faite sur la poudre des feuilles de *Schinus molle* séchés à fin d'estimer la meilleure fraction pour un bon rendement pour l'étape qui suit.

L'extraction méthanolique par Soxhlet pour les feuilles de *Schinus molle* à donner un rendement de l'ordre de **25,68%**, d'autre part l'extraction par le bain d'ultrason est à l'ordre de **17,01%** cela montre que l'extraction par Soxhlet c'est la meilleure méthode pour une extraction et un rendement optimal.

L'analyse qualitative « Le screening phytochimique » des feuilles et de la résine montre une diversité importante de composés pour cette arbuste, la présence des polyphénols, les flavonoïdes, les tanins catéchiques, les quinones libres, ainsi que les coumarines et les alcaloïdes et une absence pour les terpénoïdes, de l'autre coté la résine montre une absence de ces composés et une présence importante des terpénoïdes.

L'analyse quantitative illustre la richesse des feuilles de *Schinus molle* par des quantités appréciables pour les polyphénols **81,84 EAG/g d'extrait**, les flavonoïdes **17,75mg EQ/g d'extrait** et les tanins condensés **29,88 mg EC/g d'extrait**.

L'activité anti inflammatoire des feuilles de *Schinus molle* a été approuvé par la méthode de dénaturation de l'albumine d'œuf avec des résultats honorables pour la concentration 150ug/ml pour les feuilles **31,93%** et pour la référence Diclofénac **18,2%**

Pour le test in vivo sur l'activité anti inflammatoire sur les souris confirme les résultats obtenus pour la méthode de dénaturation de l'œuf d'albumine avec un taux d'inhibition pour la référence Diclofénac de **50,71%**, les feuilles **54,8%** ainsi que la résine **17,78%** cette valeur peut être améliorée par l'augmentation de la concentration.

L'activité anti oxydante montre et affirme les résultats obtenus lors de l'activité anti inflammatoire pour un IC50 pour la résine **418,25 ug/ml** et **785,5 ug/ml** pour les feuilles, cela indique aussi que la résine à une activité anti oxydante spécifique.

La formulation de l'émulgel pour les feuilles et la résine montre une stabilité importante approuvée par les contrôles de produit fini avec un pH de **5,7** pour la résine et **5,4** pour les feuilles, les deux formulations apportent une stabilité indiquée par une centrifugation (pas de séparation de phase), ainsi qu'une étude rhéologique qui a déterminé le comportement rhéofluidifiant de cette émulsion.

Les résultats obtenus de cette étude sont satisfaisants et importants, nous souhaitons dans les années à venir les approfondir et les compléter afin de valoriser et de bénéficier de cette arbuste espèce *Schinus molle* L.



## *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques :

- [1] Newman DJ, Craig GM & Sander KM (2000). The influence of Natural Product upon Drug discuté. *Nat. Prodi. Repo.* 17: 215– 234
- [2] SCHERRER A.M., MOTTI R. & WECKERLE C.S., 2005. Traditional plant use in the areas of Monte Vesole and Ascea, Cilento National Park (Campania, Southern Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, 97(1): 129 – 43
- [3] G. Machado, Manuella P. Kaster, Antidepressant-like effect of the extract from leaves of *Schinus molle* L. in mice: Evidence for the involvement of the monoaminergic system Daniele . *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 31 (2007) 421–428
- [4] Nacala, O. G. (1996). Plantes médicinales et pratiques médicales traditionnelles au Burkina Faso: cas du plateau central. *Faculté des Sciences et Techniques, Université de Ouagadougou*, 320, 42-53.
- [5] Quentin JL., 2002. Le voyage insolite de la plante au médicament. *Journal de Pharmacie de Belgique*.
- [6] Larousse des plantes médicinales : Identification, préparation, soins. Ed. Larousse
- [7] Kumasi A. Et al., *Journal of Advanced Resarci in Science and Technologie*, 2014, 1(1), 1-5
- [8] Duterre J., 2011. Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabinets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse. Doc. Uni. Bordeaux 2 - Victor Segalen. U.F.R des sciences médicales. 120p
- [9] Sanaga R., 2006. Le rôle des plantes médicinales en médecine traditionnelle. Université Bamako(Mali): 53.
- [10] GASTON B (1990). *La grande flore en couleurs*. Ed Belin. Paris. France
- [11] DO ROCIO DUARTE, Marcia, TOLEDO et DE OLIVEIRA, R. **La B. Diagnose.** *Visão Acadêmica*, 2006, vol. 7, no 2.
- [12] GAUSSEN H., LEROY J.F, OZENDA P (1982). *Précis de Botanique*. 2 – Les Végétaux Supérieurs, Ed. Masson, 2ème édition, pp.579.

- [13] **Carbonnier, M., 2002.** Arbres, arbustes et lianes des zones sèches d'Afrique de l'Ouest. Pont-sur-Yonne (France): CIRAD/MNHN, p. 574.
- [14] **Mabberley, D.J., 1987.** The Plant Book (A portable dictionary of the higher plants). Cambridge: University Press.
- [15] **FRITZ L. KRAMER** Department of Geology-Geography, Mackay School of Mines, Reno, Nevada
- [16] **Z. Salem Mohamed, M.H.M. Ali, M.S. Abd El-Kareem M.,** J. Wood Sci., 2016, 62, 548- 561
- [17] **Machado CD., Raman V., Rehman Ju., Maia B., Meneghetti E K., Almeida V P., Silva R Z.,** Schinus molle: anatomy of leaves and stems, chemical composition and insecticidal activities of volatile oil against bed bug (*Cimex lectularius*)
- [18] **Langenheim J.H. (2003),** «Plant resins», Timber Press Portland, Cambridge.
- [19] **Tschirch A. (1906),** «Die Harze und Harzbehälter», 2ème édition, Vol. 2, Boruträger, Leipzig.,
- [20] **DELL AND A. J. Mc** Plant Resins-Their Formation. Secretion and Possible Functions COMB School of Environmental and Life Sciences. Murdoch University. Murdoch. Western Australia 6153 Botany Department. University of Western Australia. Nedlands. Western Australia 6009
- [21] **Secondary Metabolites Tânia da S. Agostini-Costa<sup>1</sup>, Roberto F. Vieira<sup>1</sup>, Humberto R. Bizzo<sup>2</sup>, Dâmaris Silveira<sup>3</sup> and Marcos A. Gimenes** Embrapa Genetic Resources and Biotechnology, Brasília <sup>2</sup>Embrapa Food Technology, Rio de Janeiro, <sup>3</sup>Health Sciences Quality, University of Brasilia, Brasília, Brazil
- [22] **Roze, L.V., Chanda, A. & Linz, J.E. (2011).** Compartmentalization and molecular traffic in secondary metabolism: a new understanding of established cellular processes. Fungal Genetics and Biology, Vol. 48, p. 35–48.
- [23] **Paul M. Dewick (2009).** Medicinal natural products: abiosynthetic approach. John Wiley and Sons. ISBN 9780470741689.

- [24] **Nicolaou, K. C., Jason S. Chen, and Elias James Corey. 2011.** Classics in Total Synthesis. Further Targets, Strategies, Methods III. Weinheim: Wiley-VCH.
- [25] **Aniszewski, T. 2007.** Alkaloids-Secrets of Life: Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Applications and Ecological Role. Elsevier.
- [26] **Verpoorte, R. 1998,** “Exploration of Nature’s Chemodiversity: The Role of Secondary Metabolites as Leads in Drug Development.” *Drug Discovery Today* 3 (5): 232-8.
- [27] **Park, E. S., Moon, W. S., Song, M. J., Kim, M. N., Chung, K. H., and Yoon, J. S. 2001.** “Antimicrobial Activity of Phenol and Benzoic Acid Derivatives.” *International Biodeterioration and Biodegradation* 47 (4): 209-14 .
- [28] **Pengelly, A. 2004.** The Constituents of Medicinal Plants: An Introduction to the Chemistry and Therapeutics of Herbal Medicine, CABI Publishing.
- [29] **Harborne J.B.** Recent advances in chemical ecology. *Nat. Prod. Rep.* 1989, 25 (7): 85-109.
- [30] **(Wilson A.** Flavonoid pigments in chalkhill blue (*Lysandra coridon* poda) and other lycaenid butterflies. *J. Chem. Ecol.* 1987, 13 (3): 473-493.).
- [31] **(Fritch H, Griesbach H.** Biosynthesis of cyaniding in cell cultures of *Haplopappus gracilis*. *Phytochem.* 1975, 14: 2437-42.).
- [32] **Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties** *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, Xin He.
- [33] **Sarni-Manchado P, Cheynier V.** Les polyphénols en agroalimentaire, Ed. Lavoisier (Tec & Doc), Paris, 2006, 300-398.
- [34] **Paige, K.N., Whitham, T.G. (1985).** Individual and population shifts in flower color by scarlet gilia: a mechanism for pollinator tracking. *Science*, 227, 315-317.
- [35] **Harborne, J.B. (1988).** Introduction to ecological biochemistry. Academic Press, London.
- [36] **Bryant, J.P., Reichardt, P.B., Clausen, T.P., Provenza, F.D., Kuropat, P.J. (1992).** Woody Plant-Mammal Interactions. In Rosenthal, G.A., Berenbaum, M.R. (Eds), *Herbivores : their interactions with*

- [37] **Schorderet Michel, Dayer J-M. et coll. (1998).** Physiopathologie de la fièvre, de la douleur et l'inflammation; Analgésiques, antipyrétiques, anti-inflammatoires et immunosuppresseurs (in Pharmacologie des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques). Slatkine, Paris-Génève, 569-606.
- [38] **Dieng C. (1993).** Contribution à l'étude de *Khayasenegalensis* (DESR.) A.JUSS (Meliaceae). Thèse pharmacie, Dakar, 10, 109 P.
- [39] **Revillard H. (2001).** «Immunologie»; De Boeck Université 4ème Edition; p : 600.
- [40] **Moulin M. (1998).** Médicaments anti-inflammatoires, in :Abrégé de pharmacologie . Masson, Paris, 332-336.
- [41] **Cousins M.J. and Power I. (1999).** Acute and postoperative pain. In (P.D. Wall & R. Melzack Ed.). Textbook of Pain, 4th ed. Edinburgh, Churchill Livingstone, p. 447-491.
- [42] **Hajjaj G.** Screening phytochimique, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *matricariachamomilla* l. et de *l'ormenismixta* l. (asteraceae). Thèse de Doctorat, Université Mohammed V, Maroc, 2017. 216 p.
- [43] **Kidd B.L. &Urban L.A. (2001).** Mechanisms of inflammatory pain. British Journal of Anaesthesia, 87, (1), 3-11.
- [44] **Yvan T., (1997).** Pharmacologie 8ème Edit. Masson. Paris-Milan-Barcelone ; 388 p.
- [45] **Blain ;Jouzeau ; Netter and Jeandel. (2000).** Les anti-inflammatoires non stéroïdiens inh
- [46] **Kim H.Y., Moon B.H., Lee H.J., Choi D.H. (2004).** Flavonol glycosides from the leaves of *Eucommiaulmoides* O. with glycation inhibitory activity. Journal of Ethno pharmacology 93, 227-230.
- [47] **González-Gallego J, García-Mediavilla MV, Sánchez-Campos S, Tuñón MJ. (2010).** Fruit polyphenols, immunity and inflammation Br J Nutr3:S15-27.
- [48] **François MuandaNsemi.2015.** Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Biologie végétale. Université Paul Verlaine - Metz, 2010. Français
- [49] **ABOBAKR M, MAHMOUD R ,MAHMOUD A, ABOBAKR F.A, FADL G and GADM. (2016).** AntibacterialActivity of Essential Oils and in Combination with Some

Standard Anti microbials against Different Pathogens Isolated from Some Clinical Specimens. American Journal of Microbiological Research Vol. 4, No. 1, 2016, pp 16-25. doi:10.12691/ajmr-4-1-2.

**[50] Guerra-Boone 2013.** Schinus molle: anatomy of leaves and stems, chemical composition and insecticidal activities of volatile oil against bed bug (*Cimex lectularius*)

**[51] Ezzat E. A. Osman , Eman A. Morsi , Mortada M. El-Sayed, Adil Gobouri , El-Sayed S. Abdel-Hameed.** Identification of the volatile and nonvolatile constituents of *Schinus molle* (L.) fruit extracts and estimation of their activities as anticancer agents

**[52] WOUESSI DJEWED.** Formes galéniques administrées par voie cutanée. In : WOUESSI DJEWED D. UE6- pharmacie galénique : Formes galéniques administrées par voie cutanée. Université Joseph Fourier de Grenoble ; 2010/2011.

**[53] CAULLET L, DOS SANTOS A, KANIPPER G, RUSALEN M et SEIGNEUR M.** les émulsions alimentaires et cosmétiques. Projet professionnel 2017/2018.

**[54] PIERAT Nadine.** Préparation d'émulsion par inversion de phase induite par agitation [thèse]. Nancy, France : Université HENRI Poincaré, faculté de pharmacie ; 2010.

**[55] DENINE Rachid.** Cours de pharmacie galénique. Alger : Edition office des publications universitaires ; 2014.

**[56] Olivier DOUMEIX.** Opérations unitaires en génie biologique. 1, Emulsion. CRDP d'Aquitaine ; Aout 2011.

**[57] KASSA Dj, DENINE R, BENOUNICHE N, OUALI A.** Cours de pharmacie galénique, Tome 1. Alger : OPU ; 1989.

**[58] SALAGER JL, ANTON R, AUBRY JM.** Formulation des émulsions par la méthode de HLD. In : Technique de l'Ingénieur, Vol. Génie des procédés J2 ; 2006. P.1-16.

**[59] Kokand V and Naik S. (2014).** Formulation and evaluation of topical of Flurbiprofen gel using different gelling agents. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 3(9), 654-663.

**[60] Dadwal M.** Emulgel: A novel approach to topical drug delivery. Int J PharmSci 2013;4:847-56.

- [61] **Suvarnalata MS and Chaudhari RY. (2016).** Transdermal gel: As a novel drug delivery system. *International Journal of Pharmacy and Life Sciences*, 7(1), 4864-4871.
- [62] **Patel J, Trivedi J and Chudhary S. (2014).** Formulation and evaluation of Diacerin Emulgel for psoria ticarthritis. *International Journal of Pharmaceutical Research*, 3(2), 625-638.
- [63] **Sangale PT and Gadhav MV. (2014).** Organogel: A novel approach for transdermal drug delivery system. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 4(3), 423-442.
- [64] **M.Zuber.** Contrôle pharmaco-technique. In : Marie-Claude Martini, Monique Seiller. *Formes pharmaceutiques pour application locale*. Paris 11, rue Lavoisier ; 1996. P.125-143.
- [65] **Kumari B. (2018).** A Review on Nanoparticles: Their Preparation method and applications. *Indian Research Journal of Pharmacy and Science*, 5(2), 1420-1426.
- [66] **Kaur L and Kaur P. (2014).** Formulation and evaluation of topical gel of Meloxicam. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, 4(3), 619-623.
- [67] **Shukr MH and Metwally GF. (2013).** Evaluation of topical gel bases formulated with various essential oils for anti-bacterial activity against Methicillin resistant staphylococcus aureus. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(6), 877-884.
- [68] **Houmènou, V., Adjatin, A., Assogba, F., Gbénou, J., & Akoègninou, A. (2018).** Étude Phytochimique Et De Cytotoxicité De Quelques Plantes Utilisées Dans Le Traitement De La Stérilité Féminine Au Sud-Bénin. *European Scientific Journal*, 14(6), 156-171.
- [69] **Rasool R., Ganai B.A., Akbar S., Kamili A.N., Akbar M., 2010** : Phytochemical screening of *Prunella vulgaris* L. an important medicinal plant of Kashmir. *Pak J. Sci.* 23 : (4) : 399-402.
- [70] **Karumi, Y. O. V. O., Onyeyili, P. A., & Ogugbuaja, V. O. (2004).** Identification of active principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) leaf extract. *J Med Sci*, 4(3), 179-182.
- [71] **N'Guessan, K., Kadja, B., Zirihi, G., Traoré, D., & Aké-Assi, L. (2009).** Screening phytochimique de quelques plantes médicinales ivoiriennes utilisées en pays Krobou (Agboville, Côte-d'Ivoire). *Sciences & Nature*, 6(1).

- [72] **Oloyede, O. I. (2005).** Chemical profile of unripe pulp of Caricacpapaya. Pakistan journal of nutrition, 4(6), 379-381.
- [73] **Edeoga, H. O., Okwu, D. E., &Mbaebie, B. O. (2005).** Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants. African journal of biotechnology, 4(7), 685-688.
- [74] **Majob, F., Kamalinejab, M., Ghaderi, N., &Vahidipour, H. R. (2003).** Phytochemical screening of some species of Iranian plants. Iranian J Pharma Res, 2, 77-82.
- [75] **Yam M.F, Ang L.F, Ameer O.Z, Salman I.M, Aziz H.A, Asmawi M.Z.** Anti-inflammatory and analgesic effects of Elephantopus tomentosus ethanolic extract. Journal of acupuncture and meridian studies. 2009 ; 280-287.
- [76] **Elbidi., A. 2016.** Screening phytochimique de quelques plantes steppiques Artemisia Campestris et Teucrium Polium de la région de El Hamel wilaya de M'Sila. Mémoire Master professionnel Université Ziane Achoued -Djelfa.
- [77] **[V.L. Singleton, R.Orthofer , R.M.Lamuella-Raventos,** "Analysis of total phenols and other oxidant substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent" MethodsEnzymol., 1999, Vol. (299), page: 152.].
- [78] **V.L. Singleton, J.R. Rossi,** "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic – phosphothungstic acid" Am. J. Enol. Vitis, 1965, Vol. (16), page : 144.
- [79] **L.Lagnika,** "Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises" Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg, 2005, page : 249..
- [80] **J. Zhishen, T. Mengcheng, W. Jianming,** "The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals " J Food Chem, 1999, Vol. (64), page : 555et (Kim et al., 2003) et D. Kim, O. Chun, Y. Kim, H. Moon, C. Lee, "Quantification of phenolics and their antioxidant capacity in fresh plums" J. Agric. Food Chem., 2003, Vol. (51), page : 6509
- [81] **[H.P.S.Makkar,** "In Quantification of tannins in tree foliage" Working document, FAO/IAEA, Vienna, 2000., et P.Schofield, D.M. Mbugua, A.N.Pell, "Analysis of condensed tannins" a review. Anim. FeedSci. Technol. 2001, Vol. (91), page : 21.9],



[82] [B. Sun, JM. Richardo-da-Silvia, I.Spranger, "Critical factors of vanillin assay for catechins and proanthocyanidins" J. of Agriculture and Food Chemistry, 1998, Vol. (46), page : 4267.].

[83] [R.Julkunen-Titto, "Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics" Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1985, Vol. (33), page : 213.].

[84] D.Sunmathi, R.Sivakumar and K.Ravikumar, In vitro Anti-inflammatory and Antiarthritic activity of ethanolic leaf extract of *Alternanthera sessilis* (L.) R.Br. ex DC and *Alternanthera philoxeroides* (Mart.) Griseb. INTERNATIONAL JOURNAL OF ADVANCES IN PHARMACY, BIOLOGY AND CHEMISTRY

[85] COLOT . M ( 1972 ) : Notions techniques de pharmacologie générale édition Masson .

[86] Sánchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food science and technology international, 8(3), 121-137.

[87] CUQ J L. (2006). Biochimie des protéines. Département Sciences et Technologies des Industries Alimentaire université de Montpellier. Pp6.

[88] (KIM HP., MANI I., IVERSEN L. et ZIBOH V (1998). Effects of naturally –occurring flavonoids and biflavonoids on epidermal cyclooxygenase and lipoxygenase from guinea pigs. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 58(1), 17-24).

[89] Seladji meriem thèse doctorat, études phytochimique, activité anti oxydante et anti microbienne des extraits de cinq plantes médicinales et analyse de leurs huiles essentielles. université ABOU BEKER BELKAID TLEMCEN. P98.