

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE SAAD DAHLEB

Faculté De Technologie

Département de génie des procédés



MEMOIRE DE MASTER PROFESSIONNEL

Spécialité : Génie Des Procédés

Option : Pharmacie Industrielle

**Extraction, Formulation semi solide et application
antibactérienne de l'extrait de scolyme
d'Espagne(Cardousse)**

Présenté par :

Keciour Imen

Guendouz Houria.

Encadré par : Mr.H.Boutoumi

Promotion : 2017/2018

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à ceux qui me sont chers:

A mes très chers parents, qui m'ont guidés durant les moments les plus importants de toute ma vie, ma mère qui a toujours été présente pour moi dans toute les étapes de mon existence, et mon père allah yarhmo qui m'a aidé dans mes choix et qui m'a toujours fait confiance.

A mes très chers frère : Farid, Kamel, Omar, Farouk et mes chères sœurs : Zouina, Fouzia, Zakia, Gania et Asma. et toute la famille KECIOUR, Et Mon binôme houria

Mes très chères amies: Kheira, Fatima, Keltoum , Ihsen, Asma, Karima.....

A tous mes camarades de la classe de master 2 Phi.

Je remercie enfin tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin dans l'accomplissement de ce travail.

Et à tous ceux qui me connaissent ...

KECIOUR IMEN



Dédicace

Je dédie ce travail à :

Ma très chère maman « Nacéra », pour son aide et son encouragement tout au long de mes études, et qui présentes pour moi le symbole de la bonté et le courage.

Mon chère papa « M'hamed », l'homme de ma vie, mon soutien moral, et celui qui s'est toujours sacrifier pour me voir heureuse.

Mes frères « Nour el islam et Sid Ali »

A ma meilleure copine et ma sœur « Ahlem » pour son soutien et mes amies « Amina » et « Fatima Zahra »

A mes cousines « Zahia », « Chaima » et « Rayane » et a toute ma famille en particulier à la mémoire de ma tante « Ratiba », paix à son âme.

A tous ceux qui m'aiment et tous ceux qui ont cru en moi.

GUENDOUZ Houria



REMERCIEMENTS

on remercie tout d'abord ALLAH le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté, la santé et la patience de mener à terme ce présent travail.

On remercie également nos chères parents, nos famille ,nos frère et nos sœurs qui nous ont beaucoup aidé, soutenus et surtout encouragé pour pouvoir terminer ce précieux travail.

Nous adressons le grand remerciement à notre Promoteur Mr Boutoumi qui a proposé le thème de ce mémoire, pour ses conseils, ses orientations et ses encouragements du début à la fin de ce travail.

On remercie sincèrement les membres du Jury pour avoir accepté et pris le temps de juger ce travail.

On tient à remercier aussi tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce modeste travail.

Enfin, on remercie, nos amis qui nous ont encouragé et soutenu, durant la réalisation de ce travail

RESUME

Les principes actifs de sources naturelle sont appréciés par leurs efficacités, leurs puretés et l'absence d'effets secondaires qui encourage les scientifiques à la redécouverte du patrimoine végétale locale et surtout actuellement où la santé est devenu un enjeu économique. Parmi les plantes du tiroir comme le scolyme hispanicus connue sous le nom de Cardousse utilisé en culinaire mais inconnu comme source d'activité thérapeutique que le travail a été entrepris.

L'extraction par Soxhlet avec le méthanol des feuilles et des racines pendant les mois de février et mars ont fournis des extraits avec des rendements respectifs de 13,5%, 30,70 %, 1,93% et 12,96.

Le screening chimique et les analyses UV-Vis et IRTF révèlent la richesse des extraits des feuilles et des tiges en alcaloïdes, flavonoïdes et en saponines. Les extraits ont montrés des activités antifongiques et antibactériennes remarquables en leur conférant une mise en forme en gel par le biais des tests rhéologiques comme médicament antiseptique.

Mots clés : Scolyme d'Espagne, extraction, gel, activité antifongique et antibactérienne.

ABSTRACT

The active ingredients of natural sources are appreciated by their efficiency, their purity and the absence of side effects that encourages scientists to rediscover the local plant heritage and especially now where health has become an economic issue. Among the drawer plants as the scolyme hispanicus known as Cardousse used in culinary but unknown as a source of therapeutic activity that the work was undertaken.

Sohxlet extraction with methanol from leaves and roots during the months of February and March yielded extracts with respective yields of 13.5%, 30.70%, 1.93% and 12.96.

Chemical screening and UV-Vis and FTIR analyzes reveal the richness of leaf and stalk extracts in alkaloids, flavonoids and saponins. The extracts showed remarkable anti-fungal and antibacterial activities by giving them a gel shaping through rheological tests as an antiseptic drug.

Key words: Spanish scoloma, extraction, gel, antifungal and antibacterial activity.

ملخص

تقدر المكونات النشطة للمصادر الطبيعية بكفاءتها ونقاوتها وغياب الآثار الجانبية التي تشجع العلماء على إعادة اكتشاف التراث النباتي المحلي وخاصة الآن حيث أصبحت الصحة قضية اقتصادية. من بين هذه النباتات منها ما يستخدم في الطهي ولكنها غير معروفة كمصدر للنشاط العلاجي الذي تم الاضطلاع به مثل السكوليم الاسباني او ما يعرف باسم .cardousse

أنتجت عملية الاستخلاص بطريقة سوهسكلي مع الميثانول من الأوراق والجذور خلال شهري فبراير ومارس مقتطفات مع عائذات كل منها 13.5 % ، 30.70 % ، 1.93 % و 12.96

يكشف التحليل الكيميائي وتحاليل الأشعة فوق البنفسجية والأشعة تحت الحمراء عن ثراء مستخلصات الأوراق والجذور بالالكالويدات والفلافونويدات والصابونين. وأظهرت المستخلصات نشاطاً مضاداً للفطريات ومضاداً للبكتيريا بإعطائهم هلاماً من خلال الاختبارات الريولوجية كدواء مطهر

الكلمات المفتاحية: السكوليم الاسباني، استخراج هلام، النشاط المضاد للفطريات والبكتيريا.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 : DESCRIPTION DE LA PLANTE.

1. Introduction :	1
1.1. Classification botanique :	1
1.1.1. Les Astéracées :	1
Le genre Scolymus :	2
➤ Le genre Scolymus maculatus :	2
➤ Le genre Scolymus grandiflorus :	3
➤ Le genre Scolymus hispanicus :	4
1.2. Méthode d'extraction des principes actifs des composés de scolymus hispanicus :	5
1.2.1. Méthodes d'extractions conventionnelles :	5
1.3. Composition de scolyne d'Espagne :	10
1.4. Les travaux scientifiques réalisés sur le genre scolymus:	11
1.5. Utilisations :	11

CHAPITRE 2 : FORMULATION SEMI SOLIDE.

Introduction :	12
2.1. Généralités sur les pommades :	13
2.1.1. Définition :	13

2.1.2. Classification des pommades :	13
2.2. Les crèmes :	13
2.2.1. Définition :	13
2.2.2. Préparation :	14
2.3. Les gels :	14
2.3.1. Généralités :	14
2.3.2. Définition :	15
2.3.3. Préparation :	15
2.3.4. Classification des gels :	15
2.3.4.1. Les gels hydrophobes (Oléogels) :	16
2.3.4.2. Les gels hydrophiles(Carbogels) :	16
2.3.5. Différents gélifiants :	16
2.3.5.1. Les gélifiants pour hydrogels :	16
2.3.5.2. Les gélifiants pour oléogels :	17
2.3.6. Caractéristiques des gels :	17
2.3.7. Application pharmaceutique des gels de carbomères :	18
2.3.8. Gélification des carbomères en fonction du pH :	18
2.3.9. Caractérisation des hydrogels de carbomères :	19
2.3.9.1. Caractérisation rhéologiques :	19
2.3.9.2. Caractérisation du réseau des hydrogels de carbomères :	22

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES.

3.1. Matériels biologiques :	23
3.1.1. Matériel végétale :	23
3.1.2. Les souches micro-organismes :	23
3.1.2.1. Bactéries :	23
3.1.2.2. Champignons :	23
3.3. Appareils de mesure :	24

3.4. Méthodes :	24
3.4.1. Préparation des échantillons de la plante <i>Scolymus hispanicus</i> :	24
3.4.2. Extraction par Soxhlet :	24
3.4.3. Calcul du rendement :	25
3.4.4. Screening phytochimique :	25
3.4.4.1. Détection des alcaloïdes :	25
3.4.4.2. Détection des flavonoïdes :	25
3.4.4.3. Détection des tannins :	26
3.4.4.4. Détection des quinones :	26
3.4.4.5. Détection des saponines :	26
3.4.4.6. Détection des stérols et polyterpènes :	26
3.4.4.7. Détection des sucres réducteurs :	26
3.4.4.8. Détection des protéines :	27
3.4.5. Activité microbiologique :	27
3.4.5.1. Préparation des extraits :	27
3.4.5.2. Préparation de l'inoculum bactérien :	28
3.4.5.3. Préparation des disques :	28
3.4.5.4. Préparation des milieux de culture :	28
3.4.5.5. Ensemencement :	29
3.4.5.6. Lecture :	29
3.4.6. Méthode de formulation :	29
3.4.7. Caractérisations de la formulation :	30
3.4.7.1. La stabilité de la formulation :	30
3.4.7.2. Le pH de la formulation :	30
3.4.7.3. La viscosité :	30

CHAPITRE 4 : RESULTAT ET DISCUSSION

4.1. Extraction et caractérisation de l'extrait :	33
4.2. Identification :	34
4.2.1. Par Analyse spectroscopique Infra Rouge :	34
4.2.2. Par Analyse UV visible :	36

4.2.3. Les résultats de screening phytochimique:	39
4.3. Formulation du gel :.....	41
4.3.1. Caractérisation physico-chimique :	42
4.3.1.1. Etude de Stabilité :.....	42
4.3.1.2. Mesure du pH :.....	42
4.3.1.3. Résultats de la caractérisation rhéologique :.....	43
4.3.1.4. Résultats de l'analyse microbiologique :.....	44

CONCLUSION

Liste des tableaux :

Tableau 1.1 : la composition du scolymus hispanicus [26]	10
Tableau 3.1 :les produits chimiques utilisés au cours du travail.....	23
Tableau3.2 : les appareils utilisés au cours du travail.....	24
Tableau 4.1 : Les caractéristiques des extraits obtenus.	33
Tableau 4.2 : les valeurs de l'absorbance et la longueur d'onde des extraits des feuilles de Scolymus hispanicus du mois de février et mars.	37
Tableau 4.3 : les valeurs de l'absorbance et la longueur d'onde des extraits des racines de Scolymus hispanicus du mois de février et mars.	38
Tableau 4.4 : Résultat de Screening phytochimique des racines et des feuilles de scolyme d'Espagne (Cardousse).....	39
Tableau 4.5 : les essais de formulation	41
Tableau 4.6 : Quantités des composants du gel final formulé.	41
Tableau 4.7 : Résultats de la stabilité des gels à la centrifugation.....	42
Tableau 4.8 : Les valeurs de PH mesuré du gel formulé	42
Tableau 4.9 :Résultats de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles et des racines de Scolymus hispanicus.	44
Tableau 4.10 : Résultats de l'activité antifongique des extraits des feuilles et des racines de Scolymushispanicus.	45

Liste des figures :

Figure 1.1 : représente la fleur du <i>Scolymus maculatus</i>	3
Figure 1.2 : représente la fleur du <i>Scolymus grandiflorus</i>	3
Figure 1.3 :représente la plante Scolyme d'Espagne.....	4
Figure 1.4 : Distribution géographique du <i>Scolymus hispanicus</i>	5
Figure 1.5 : Transferts thermiques sous les deux modes de chauffage.	8
Figure 2.1 : Schéma de formation d'un gel réversible [36].....	15
Figure 2.2 : Schéma d'un gel irréversible [37].....	15
Figure 2.3 : Structure générale du carbomère.	16
Figure 2.4 : Formation du gel de Carbopol par neutralisation au TEA.....	19
Figure 2.5 : courbe de linéarité d'un fluide newtonien.	20
Figure 2.6 : (a) Contrainte de cisaillement : σ et (b) viscosité apparente : η en fonction du cisaillement pour un fluide non-newtonien.....	21
Figure 3.1 : Extraction par soxhlet.	25
Figure 3.2 :Schéma simplifié du principe de la méthode de l'aromatogramme.....	27
Figure 3.3 : les préparations d'extraits.....	28
Figure 3.4 : les suspensions bactériennes.....	28
Figure 3.5 : boîtes de pétri contenant le milieu de culture.....	28
Figure 3.6 : Rhéomètre Anton Paar Modular Compact Rheometer MCR 302.....	31
Figure 4. 1 : Spectre IR de l'extrait des feuilles de <i>Scolymus hispanicus</i>	34
Figure 4.2 : Spectre IR de l'extrait des racines de <i>Scolymus hispanicus</i>	35
Figure 4.3 : Spectre UV visible des extraits des feuilles de <i>Scolymus hispanicus</i> du mois de février et mars	36
Figure 4.4 : Spectre UV visible des extraits des racines de <i>Scolymus hispanicus</i> du mois de février et mars	38
Figure 4.5 : Rhéogrammes des solutions de carbopol neutralisé dans l'eau à différents pourcentage massique.	43
Figure 4.6 : Histogramme des résultats de l'activité antibactérienne.....	45

LISTE DES ABREVIATION

ml : Millilitre.

pH : Potentiel hydrogène.

g : Gramme.

PA: Principe Actif

IR : Chromatographie par Infra Rouge.

γ : Vitesse de cisaillement [S^{-1}].

η : Viscosité [Pa.s].

τ : Contrainte de cisaillement [Pa].

m : mètre

cm : centimètre

min : minute

h : heure

mL : millilitre

g : gramme

S. maculatus : scolymus maculatus.

S. grandiflorus : scolymus grandiflorus

S. hispanicus : scolymus hispanicus

$^{\circ}C$: Degré Celsius.

E/H : émulsion eau dans huile

H/E : émulsion huile dans l'eau

TEA : triéthanolamine

AMP : aminométhylpropanol

σ : la contrainte.

MEB : microscopie électronique à balayage

DLS : diffusion dynamique de la lumière

DMSO : dimethyl sulphoxide

UV : ultraviolet

Ech : échantillon

R(%) : Rendement exprimé en %

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

DO : la densité optique

F1F : échantillon 1 feuilles de février

F2F : échantillon 2 feuilles de février

F3M : échantillon 3 des feuilles de mois de mars

R1,2F : échantillon 1 et 2 racines de mois février

R3M : échantillon 3 racines de mars

$\dot{\gamma}(s^{-1})$: Taux de cisaillement.

$\tau(Pa)$: Contrainte de cisaillement.

Introduction générale

INTRODUCTION

La valorisation des ressources naturelles est une préoccupation qui devient de plus en plus importante dans de nombreux pays. Ainsi, depuis son assemblée générale, l'OMS recommande l'évaluation de l'innocuité et de l'efficacité des médicaments à base des plantes en vue de standardiser leur usage et les intégrer dans les systèmes de soins conventionnels [1,2, 3].

L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité.

Les plantes médicinales sont des espèces végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Elles constituent 90% de la médecine traditionnelle en Afrique. Elles occupent actuellement un rang très important dans la production agricole et dans l'industrie [1-4]. Elles sont également des sources principales de principes actifs utilisés dans les domaines pharmaceutiques, cosmétique, détergent et agro-alimentaire [2]. Dans le monde, 80% des populations ont recours aux plantes médicinales pour se soigner, cela est dû à leurs bonnes performances thérapeutiques et leur faible toxicité.

Parmi ces plantes ; le Scolyme d'Espagne dont où nous nous sommes intéressés, connu aussi par Cardousse, elle fait partie de la famille des Astéracées. Cette espèce est originaire principalement des bords de la méditerranée, elle est largement répandue en Algérie. Dans le domaine de la pharmacologie de nombreuses recherches ont été réalisées pour démontrer ses éventuelles propriétés antibactériennes, antifongiques, antidiabétiques et diurétiques [5].

Dans ce contexte, l'objectif visé par cette présente étude consiste à valoriser les feuilles, les tiges et les racines considérées pour des fins thérapeutiques en utilisant son principe actif afin de formuler un gel antifongique.

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

La première partie est consacrée à une étude bibliographique dans laquelle, on présentera la plante et ses caractéristiques. La seconde partie est une étude expérimentale dans laquelle on décrit la méthode d'extraction utilisée, la caractérisation physico-chimique et biologique ainsi qu'une description succincte du procédé de formulation de la crème, suivi d'une discussion des résultats obtenus.

Enfin, ce mémoire est achevé par une conclusion générale dans laquelle sont résumés les résultats les plus importants de cette étude, suivi de perspectives pour des études ultérieures.

Chapitre 1

Description de plante

1. Introduction :

Les plantes médicinales sont des matières actives dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses [6]. On appelle plante médicinale toutes plantes renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies [7].

Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus [8].

1.1. Classification botanique :

1.1.1. Les Astéracées :

Les Astéracées ont la caractéristique commune d'avoir des fleurs réunies en capitules, c'est-à-dire serrées les unes à côté des autres, sans pédoncules, placées sur l'extrémité d'un rameau ou d'une tige et entourées d'une structure formée par des bractées florales. Cette structure en forme de coupe ou de collerette est appelée un involucre.

Ainsi, contrairement à l'opinion populaire, ce qu'on appelle une « fleur » de tournesol, de chardon, ou de pissenlit... n'est en réalité pas « une » fleur mais un capitule de fleurs. Les fleurs des Astéracées, appelées aussi fleurons, se présentent sous deux formes :

- Des languettes, ou ligules, dans lesquelles les équivalents des pétales sont soudés, généralement par cinq, parfois par trois, reconnaissables seulement aux dents de la languette.
- Des tubes terminés par des lèvres imperceptibles ou s'ouvrant plus ou moins largement en cinq lobes. Pour déterminer la plupart des plantes de cette famille, il est nécessaire de récolter des capitules défleuris, portant des fruits mûrs ou au moins déjà bien formés. L'observation des bractées de l'involucre est également très importante [9].

Les astéracées sont pourvues d'un appareil sécréteur bien développé. Les espèces aromatiques comme la camomille et l'armoise ont des cellules, des canaux et des poils sécréteurs d'essences.

Les espèces à lactifère comme les chicorées exsudent un latex blanchâtre lorsqu'on brise leur tige. Toutes sont caractérisées biochimiquement par l'inuline qui représente leur principal glucide de réserve. Enfin elles sont riches en dérivés polyacétilénique et en lactones sésquiterpéniques. On peut classer les astéracées en deux grandes classes :

- Les Astéracées à latex : chicorées et plantes affines (Pissenlit, Salsifis Laitue...).
- Les Astéracées à résine et à essence, généralement sans latex : chardons, Bleuet, Bardane, Armoise, Camomille..... [10].

Le genre Scolymus :

Le genre *Scolymus* appartient à la famille des Astéracées qui sont une famille appartenant aux Dicotylédones comprenant plus de 1500 genres et plus de 25000 espèces décrites dont 750 endémiques, C'est une des familles la plus importante des Angiospermes.

Ce sont presque toujours des plantes herbacées avec souvent des racines charnues : rhizomateuses, tubéreuses ou pivotantes [11].

Cette famille présente des caractères morphologiques divers : herbes annuelles ou vivaces, plus rarement des arbustes, arbres ou plantes grimpantes et quelques fois, plantes charnues [12].

Le genre *Scolymus* comprend 3 espèces le *S. hispanicus* le *S. maculatus* et le *S. grandiflorus*. Ce sont des chardons qui se caractérisent par des capitules homogames, multiflores avec des fleurs ligulées, tous hermaphrodites involucre à bractées imbriquées sur plusieurs rangs ; portant par ailleurs un involucre supplémentaire constitué par des bractées pectinées épineuses [13].

➤ **Le genre *Scolymus maculatus* :**

C'est une plante annuelle. Qui atteint 1m et peut même le dépasser elle est caractérisée par tiges blanches, glabres, à 2-4 ailes très larges, épineuses et pourvues d'une très large marge cartilagineuse et blanche. Capitules involucre par 3-5 bractées supplémentaires à très longues épines rigides des capitules tous terminaux, disposés en inflorescences avec des Akènes surmontés d'une couronne courte, denticulée et inerme [14].



Figure 1.1 : représente la fleur du *Scolymus maculatus*

➤ **Le genre *Scolymus grandiflorus* :**

Nom scientifique *S. grandiflorus*

Nom vulgaire zernije

Classification

Règne : plante

Embranchement : spermatophytes (angiosperme)

Classe : dicotylédones

Famille : Astéracées.

Genre : *Scolymus*.

Plante : vivace de 15 à 50 cm dressée



Figure 1.2 : représente la fleur du *Scolymus grandiflorus*

➤ **Le genre Scolymus hispanicus :**

C'est une plante bisannuelle qui atteint jusqu'à 1,20 m et même plus, elle est caractérisée par des tiges a ailles interrompues, très rameuse. Bractées externes de l'involucre non cupide, ses capitules sont plus petits que les deux autres espèces à involucre non supplémentaire de 3 bractées, Feuille caulinaire, largement amplexicaules [13].

a) **L'espèce Scolymus hispanicus:**

Nom latin : Scolymus Hispanicus.

Autres noms : Scolyme d'Espagne, Cardon d'Espagne et Epine Jaune.

En français : Cardousse.

En arabe : guernina.

Et en kabyle : Taghdiwt, Jeniz.

Famille : Astéracées.

Origine : Bassin Méditerranéen.

Type de végétation : Légume racine ancien annuel, bisannuel. Très rustique il supporte les températures négatives et les gelées.



Figure 1.3 : représente la plante Scolyme d'Espagne.

Type de feuillage : Feuilles très épineuses, lancéolées et dentées, de couleur vert pâle et vert foncé.

a) **Distribution géographique :**

Cette espèce est originaire principalement des bords de la Méditerranée : Afrique du Nord, du Maroc à l'Égypte, Europe méridionale du Portugal à la Grèce, Europe orientale (Roumanie, Ukraine), Asie occidentale, de Chypre et la Turquie jusqu'à l'Iran. En France, on la trouve surtout dans la région méditerranéenne et un peu dans le Sud-Ouest. Elle s'est naturalisée dans de nombreux pays, y compris en Amérique. En Algérie, comme dans d'autres pays, elle est considérée comme une plante envahissante. [15].



Figure 1.4 : Distribution géographique du *Scolymus hispanicus*

1.2. Méthode d'extraction des principes actifs des composés de scolymus hispanicus :

1.2.1. Méthodes d'extractions conventionnelles :

a) . **L'extraction par macération :**

L'extraction par macération est une extraction solide-liquide où le composé bioactif (Soluté) à l'intérieur de la plante est extrait en faisant tremper le matériel végétal dans un solvant spécifique pour une période de temps [16].

L'efficacité du processus de macération est déterminée en deux facteurs principaux, La solubilité et la diffusion efficace. La solubilité est régie par la règle de base de «comme dissout comme » là où il est indiqué que des composés polaires se dissolvent dans les solvants polaires, et les composés non polaires se dissolvent dans les solvants non polaires [17].

Le taux de dissolution d'un soluté dans le solvant d'extraction est déterminé par le taux de transfert de masse d'un soluté du matériel au solvant.

En raison du gradient de la concentration dans l'interface solide-liquide, le transfert du soluté à l'intérieur de la matière végétale se produit en montrant une diffusion efficace qui se déroule [16].

Aucun ustensile compliqué et l'équipement qui sont nécessaires pour la mise en place d'un système d'extraction par macération a été un choix populaire pour les chercheurs. Le seul facteur primordial à payer attention à des fins du renforcement d'extractibilité est la connaissance de l'intérêt de la similitude des composés bioactif et la polarité du solvant.

L'éthanol et le méthanol sont les solvants d'extraction les plus utilisés pour extraire les saponines végétales du matériel et l'éthanol est mieux préféré sans doute en raison de l'inquiétude amicale à l'environnement. La durée d'extraction est longue et parfois il faut jusqu'à des semaines en utilisant cette méthode, donc, l'extraction par macération est souvent aidée avec un agitateur mécanique pour raccourcir le temps d'extraction [18].

b) Extraction par reflux et Soxhlet :

En raison du principe de travail similaire de l'extraction Soxhlet et reflux, la discussion est effectuée sous le même titre subsidiaire. La seule différence entre reflux et Soxhlet est que l'appareil de Soxhlet est constitué d'un dé à coudre pour loger le matériel végétal.

L'extraction par Soxhlet et par reflux impliquent un processus de distillation qui est couramment utilisé dans les laboratoires et industries en alimentaire et non-alimentaire.

Le processus consiste à chauffer une solution à ébullition et en retournant ensuite les vapeurs condensées à un flacon original. L'inconvénient de reflux et extraction Soxhlet est le temps consommé lorsqu'il prescrit au moins une heure pour une extraction [19].

1.2.2. Technologies d'extraction vertes :

a) Extraction assistée par ultrasons (EAU) :

Le phénomène de l'échographie dans la création de cavitation des bulles dans les solvant en agissant comme un micro jet pour dénaturer la paroi cellulaire végétale quand les bulles s'effondrent à raréfaction a donné lieu à une extraction supérieure produisant des composés bioactifs. Bien que l'extraction assistée par ultrasons soit employée couramment dans beaucoup de composés bioactifs, seuls quelques-uns ont été trouvés dans l'extraction des saponines [20].

b) Extraction assistée par micro-ondes (EAM) :

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques non-ionisantes avec une bande passante entre 0,3 et 300 GHz [21, 22].

L'EAM a attiré l'attention pour l'extraction de composés bioactif de matériel végétal en raison du temps d'extraction court, solvant minime son utilisation et son mécanisme de chauffage spécial [21].

Les applications récentes de l'EAM de planter des métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les quinones, les phénylpropanoïdes, les terpénoïdes, les alcaloïdes et des saponines ont été étudiés [23].

Les micro-ondes sont en mesure de pénétrer dans les biomatériaux et de générer de la chaleur en interagissant avec des molécules polaires telles que l'eau à l'intérieur des matériaux. La profondeur de pénétration des micro-ondes dans la matrice de la plante dépend de la constante diélectrique, taux d'humidité, la température et la fréquence du champ électrique [22].

L'eau contenue dans la matière végétale est responsable de l'absorption de l'énergie des micro-ondes ce qui conduit à une surchauffe interne et perturbation de la structure cellulaire, et par conséquent, facilite la diffusion du composé bioactif de la matrice de la plante [22].

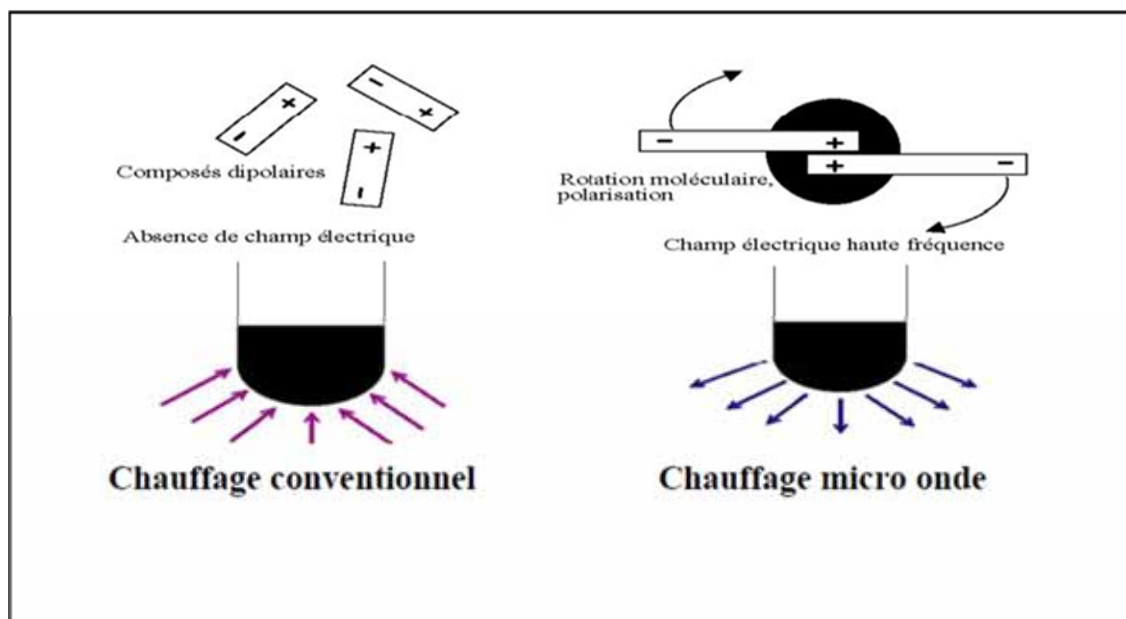


Figure 1.5 : Transferts thermiques sous les deux modes de chauffage.

c) Extraction accélérée par solvant :

L'extraction par solvant accélérée a été considérée comme une technique verte dans la préparation de l'échantillon du matériau végétal avant l'analyse chromatographique [21]. Elle est également connue sous le nom extraction liquide sous pression, parfois, appelée aussi extraction de l'eau chaude sous pression, extraction sous-critiques ou surchauffée de l'eau, lors que l'eau est utilisée comme solvant [25].

C'est une technique d'extraction rapide automatisée qui utilise des solvants minime à pression et température élevée. Le mérite d'augmentation de la température est d'améliorer le transfert de solubilité et de la masse du soluté dans le solvant, et la tension élevée maintient le solvant inférieur à son point d'ébullition, activation rapide, sûre et efficace des analyses cibles à partir de matières végétales dans le solvant d'extraction [25].

Le processus d'extraction est habituellement réalisé dans 15 à 25 minutes à l'aide de seulement 15 à 45 ml de consommation de solvant. Par conséquent, il a été largement appliqué dans les domaines de l'environnement, nourriture, polymère et les recherches pharmaceutiques.

L'EAS est composée de deux configurations principales, il y a les instruments statiques et dynamiques. La Configuration statique est le remplacement du solvant entre cycles si le procédé d'extraction se compose de plusieurs cycles d'extraction. Une pompe à haute pression est nécessaire pour pomper le solvant d'extraction dans le vaisseau de l'échantillon en permanence dans le programme d'installation dynamique.

Les paramètres affectant le rendement de l'EAS sont la température, la pression, le type et de la composition des solvants, les modificateurs et les additifs, la composition de la matrice et le mode d'extraction [26].

La température de fonctionnement plus couramment appliquée et la pression pour EAS sont 100 ° C à 1500 psi [26].

1.3. Composition de scolyne d'Espagne :

Tableau 1.1 : la composition du *scolymus hispanicus* [27]

	UVmax	Racines	Tiges	Feuilles	Fleurs
<u>Acides phénoliques</u>					
Acide gallique	270	42.95	25.05	187.01	124.24
Pyrogallol	220	0.98	0.42	4.67	1.35
Acide chlorogénique	246	110.50	936.18	3429.46	5033.86
Acide p-hydrobenzoïque	254	16.87	58.68	116.98	99.36
Acide vanilique	260	11.63	2.45	14.99	3.53
Acide caféique	322	79.19	1106.63	349.59	4400.14
Acide syringique	273	0.72	0.25	3.60	0.39
Acide p-coumarique	309	0.47	1.99	17.25	3.95
Acide ferulique	322	0.97	3.89	9.45	20.10
Acide synapique	322	0.25	0.08	0.23	0.10
Acide salicylique	220	2.29	9.41	46.50	4.67
Acide rosmarinique	219	0.47	0.16	1.64	47.34
Resvératrol	219	0.0947	0.0067	0.1133	0.0040
<u>Flavonoïdes</u>					
Catéchine	278	0.0090	0.0167	0.1842	0.3296
Rutin	254	0.75	328.92	1497.60	2548.64
Acide tannique	279	0.52	0.23	1.05	2.96

1.4. Les travaux scientifiques réalisés sur le genre scolymus:

-En 1997 des études ont été menées sur l'extrait éthanolique de l'écorce et de la racine de *S. hispanicus*, son composé principal l'acétate de Taraxasteryl à montrer une activité antispasmodique sur l'iléon des rats isolé. [28]

-En 2009 une équipe de chercheurs a testé l'activité antifongique de l'extrait hydro alcoolique de *S. hispanicus* qui a inhibé le développement d'un champignon [29]

-En 2013 des scientifiques ont étudié le potentiel thérapeutique des extraits aqueux méthanol de *S. hispanicus* contre le diabète type 1 qui a été provoqué par une injection de la streptozotocine (65mg/kg de poids corporel) chez des rats après une semaine de l'injection, puis ils ont administré à ces rats des extraits de plantes à des doses de 100 mg/kg de poids corporel par jour pendant 28 jours. Les résultats ont montré que l'extrait du *S. hispanicus* ($p < 0,05$) a modifié à jeun le niveau de glucose dans le sang. [30]

-En Turquie les écorces et de racines de *S. hispanicus* est commercialisés pour un médicament prescrit pour faire passer les calculs rénaux et de la vessie [31]

-*S. hispanicus* a été reconnu comme ayant des propriétés diurétiques, anti-sudorifique et litholytique. [32]

-Les Grecs le savaient et il est mentionné par Théophraste. Pline fait référence à elle et considère que c'est un anti-transpirant.

1.5. Utilisations :

Scolymus hispanicus a été utilisée pour ces propriétés dans différentes applications pharmaceutiques et alimentaires.

- Les fleurs de *S. hispanicus* ont été utilisées depuis longtemps comme substitut du safran. Plusieurs parties de cette plante ont une saveur assez délicate. Les jeunes feuilles basales sont consommées comme légume en salade, cuites, dans les soupes, les ragoûts, les omelettes, etc. [33] a mentionné que cette plante est appréciée dans presque toutes les provinces de l'Espagne au cours du printemps [34].

Chapitre 2

Formulation semi-solide

Introduction :

La formulation est «la Connaissance de la science des matériaux et de la chimie physique, jointe à l'art d'arriver à la meilleure combinaison de constituants. Alors que la chimie traite de la réaction chimique entre substances, la formulation traite de la coexistence de substances sans réactions chimiques » [35].

Elle est aussi «l'Ensemble des connaissances et des opérations mises en œuvre lors du mélange, de l'association ou de la mise en forme d'ingrédients d'origine naturelle ou synthétique, souvent incompatibles entre eux, de façon à obtenir un produit commercial caractérisé par sa fonction d'usage et en aptitude à satisfaire un cahier de charges préétabli » [36].

La formulation touche toutes les industries de transformation de la matière depuis les industries amont produisant les matières premières jusqu'aux industries aval, directement en contact avec l'utilisateur final.

Les préparations semi-solide pour application cutanée, sont définies par la pharmacopée européenne .comme des « préparations formulées en vue d'une libération locale ou transdermique des substances actives, ou pour leur action émolliente ou protectrice. Elles présentent un aspect homogène, peuvent être constitués d'un excipient simple ou composées dans laquelle sont habituellement dissoutes ou dispersées une ou plusieurs substances actives.

Il existe plusieurs catégories de préparations semi-solides pour application cutanées : pommades, crèmes, gels, pâtes, cataplasmes, emplâtres médicamenteux, dispositifs cutanés les systèmes pâteux sont des formes galéniques sous un état physique intermédiaire entre un matériau solide et un liquide. Ils ont des propriétés proches de solides au repos, mais peuvent néanmoins être transformés en liquides visqueux par application d'une contrainte mécanique suffisante pour être manipulés, déformés et étalés lors de leur utilisation. Une définition peut-on être donnée conformément au sens commun lié aux applications pratiques : un système pâteux et un matériau visqueux et autosupporté .Le terme semi-solide résume bien cette combinaison de propriétés mécaniques, le matériau est un solide qui peut subir de grandes déformations irréversibles (visqueuses).dans le domaine des applications pharmaceutiques et

cosmétiques ,les systèmes pâteux sont des formes galéniques de choix pour l'administration topique de substances actives pharmaceutiques ou cosmétiques .

2.1. Généralités sur les pommades :

2.1.1. Définition :

« Les pommades se composent d'un excipient monophasé dans lequel peuvent être dispersés des liquides ou des solides » [37].

2.1.2. Classification des pommades :

La pommade pourra avoir des propriétés hydrophiles ou lipophiles, ce qui amène la pharmacopée européenne à distinguer 3 types de pommades :

- ✓ Les pommades hydrophobes : elles ne peuvent absorber que de petites quantités d'eau.
- ✓ Les pommades absorbant l'eau : elles peuvent absorber des quantités importantes d'eau, donc par conséquent on obtient d'émulsions E/H ou H/E selon la nature des agents émulsifiants.
- ✓ Les pommades hydrophiles : l'excipient utilisé dans la préparation est miscible à l'eau, dont l'excipient est constitué habituellement de mélange microgol (polyoxyéthylèneglycol) liquide et solide. [38]

2.2. Les crèmes :

2.2.1. Définition :

Les crèmes sont des préparations de consistance liquide résultant de la dispersion d'un liquide sous forme de fines gouttelettes (huile) au sein d'un autre liquide non miscible (eau) :Ce sont des émulsions.

Elles forment un système hétérogène dans lequel le liquide sous forme de gouttelettes constitue la phase dispersée ou discontinue ou encore appelée phase interne et l'autre est la phase dispersante ou continue ou encore phase externe.

Les émulsions se caractérisent surtout par leur instabilité car les molécules se trouvant dans l'interface liquide-liquide sont déséquilibrées. [39]

2.2.2. Préparation :

Les différents constituants qui entrent dans la formulation des émulsions sont la phase aqueuse, la phase lipidique, le(s) principe(s) actif(s).

Les excipients utilisés pour leur préparation sont des émulsionnants de type eau dans huile (E/H) ou de type huile dans eau (H/E). Ces émulsionnants agissent sur la stabilité de l'émulsion et cela de trois principales manières :

- Soit en diminuant la tension interfaciale entre les deux phases. C'est le cas des tensioactifs ou sulfactifs.
- Soit en augmentant la viscosité de la préparation.
- Soit en agissant à la fois sur la tension interfaciale et sur la viscosité de la préparation.

2.3. Les gels :

2.3.1. Généralités :

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

Les gels dont il est question dans cette étude sont des hydrogels produits par réticulation à partir de chaînes de polymères. Selon les interactions qui existent au sein du milieu, on classe les réseaux de macro molécules en deux principales catégories [40] :

Les gels non permanents ou réversibles et les gels permanents ou irréversibles.

- les gels non-permanents, les nœuds de réticulation sont des associations intermoléculaires dues à des liaisons faibles réversibles (énergie de liaisons comprise entre 1 et 40 kJ.mol⁻¹) [42], ponts d'hydrogène (ex : H-O•••H), interactions électrostatiques de type Vander Waals, ponts ioniques (ex : COO-•••Na•••-OOC). Ces liaisons conduisent à la formation de zones de jonction ayant une structure plus ou moins ordonnée.
- Les gels permanents sont produits par liaisons covalentes (énergie de liaison comprise entre 150 et 900 kJ.mol⁻¹) [41] entre les chaînes linéaires préexistantes (vulcanisation) ou entre des unités de monomères dont certaines au moins ont une fonctionnalité

supérieure à deux (polycondensation) ou encore par polymérisation en chaîne de monomères dont les groupes de réactifs sont des doubles liaisons.

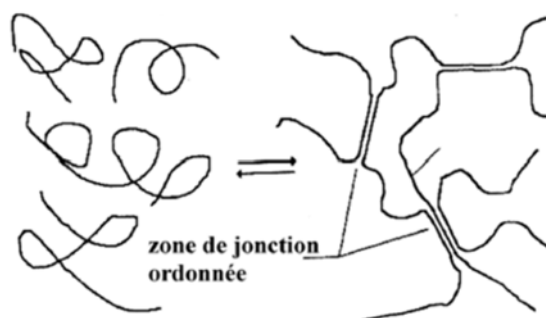


Figure 2.1: Schéma de formation d'un gel réversible [42]



Point de réticulation boucle extrémité pendante

Figure 2.2 : Schéma d'un gel irréversible [43].

2.3.2. Définition :

Les gels sont des préparations de consistance semi solide constituées de liquides gélifiés à l'aide d'agents appropriés [44].

2.3.3. Préparation :

Les gels peuvent être préparés par dissolution ou dispersion du principe actif puis ajout du gélifiant en petite quantité tout en triturant jusqu'à homogénéité totale. Ils sont conditionnés dans des tubes ou dans des pots et étiquetés [45].

2.3.4. Classification des gels :

Les gels sont classés en gels hydrophobes et hydrophiles : [46]

2.3.4.1. Les gels hydrophobes (Oléogels) :

Ce sont des préparations dont les excipients sont habituellement constitués par la paraffine liquide additionnée de polyéthylène, les huiles grasses gélifiées par la silice ou par des savons d'aluminium.

2.3.4.2. Les gels hydrophiles (Carbogels) :

Ce sont des gels dont les excipients sont généralement l'eau, le glycérol ou le polyéthylène glycol gélifié par la gomme adragante, les celluloses, l'amidon, les silicates de magnésium ou d'aluminium, les polymères synthétiques.

2.3.5. Différents gélifiants :

2.3.5.1. Les gélifiants pour hydrogels :

Les gels hydrophiles sont formulés principalement grâce à 3 grandes catégories de gélifiants :

➤ **Les carbomères (environ 50% de gels) :**

Ce sont des polymères synthétiques, définis par la pharmacopée européenne comme des « polymères d'acide acrylique de masse moléculaire élevée, réticulés avec les éthers polyacétyliques de sucres ou de polyalcools ». Deux types de carbomères sont utilisés : les carbomères non modifiés (homopolymères de l'acide de l'acide acrylique qui sont de simples gélifiants) et les carbomères greffés par diverses chaînes alkyles ce qui leur confère, outre propriétés gélifiantes, des propriétés de tensioactifs. Parmi les carbomères rencontrés dans les gels topiques, on peut citer le carbomère 934, le carbomère 934P, le carbomère 940, le carbomère 974P, le carbomère 980, le carbomère 5984 Cette famille de gélifiants est commercialisée sous divers noms (Carbopol, Synthalen, Ultrez).

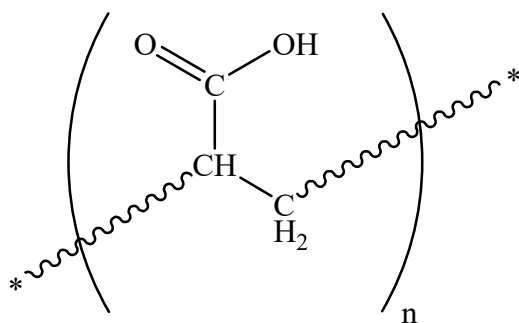


Figure 2.3 : Structure générale du carbomère.

➤ **Les dérivés de celluloses :**

Ce sont des gélifiants d'hémi synthèse, obtenus par « traitement avec des acides minéraux de l'alpha-cellulose obtenus sous forme de pulpe à partir des matières végétales fibreuses (pharmacopée européenne). Les cinq dérivés de cellulose utilisée dans l'industrie pharmaceutiques sont l'hypermellose ou hydroxypropylméthylcellulose, la carmellose sel de sodium ou carboxyméthylcellulose sodique, l'hyprolose ou hydropropylcellulose et la hyétellose ou hydroxyéthylcellulose.

➤ **Les macrogols :**

Appelés autrefois polyéthylène glycols (PEG), les macrogols sont définis par la pharmacopée européenne comme des « mélanges de polymères de formule générale $H-(OCH_2-CH_2)_n-OH$, n représente le nombre d'unités oxyéthylène. Ce dernier conditionne les caractéristiques physico-chimiques de la matière première. Les macrogols rencontrés dans les gels pharmaceutiques sont : macrogol 300 et 400, macrogol 1500, 3350, 4000 et 6000. Le monostéarate de macrogol 400 et le macrogol 350 éther monoéthylique.

Les autres gélifiants utilisés de façon sporadique sont L'amidon, le poloxamère, la gomme guar, la silice colloïdale et les carraghénates. [47]

2.3.5.2. Les gélifiants pour oléogels :

Les gels huileux ou oléogels se composent de paraffine liquide additionnée d'un gélifiant approprié tel que l'oxyde de silicium ou un stéarate métallique (d'aluminium ou de zinc). [48]

2.3.6. Caractéristiques des gels :

- Pas totalement transparent à la lumière (effet de Tyndall)
- Plus ou moins visqueux (la viscosité augmente avec le soluté)
- Les macromolécules sont chargées + ou – et possèdent toute la même charge c'est t'a dire stabilité car elles se repoussent
- En changeant l'acidité de milieu ou en ajoutant un électrolyte on neutralise les charges électriques et on annulant les forces de répulsion, les particules s'agglomèrent

- Au de certaines concentrations de soluté, les solutions colloïdales se transforment en gels par liaison des macromolécules entre elles et formation d'un réseau tridimensionnel plus ou moins rigide [49].

2.3.7. Application pharmaceutique des gels de carbomères :

Les carbomères hydrophiles, sont actuellement très utilisés dans divers applications pharmaceutiques telles que la libération contrôlée de médicament, les films bio-adhésifs pour la voie buccale, les gels ophtalmiques et dans les applications pour voie transdermique, nasale et intestinale.

Parmi leurs avantages d'utilisation sous forme gel pour usage topique on peut citer :

- La viscosité élevée à faible concentration,
- L'intervalle de viscosité large et un écoulement caractéristique,
- Une bonne compatibilité avec plusieurs principes actifs,
- Des propriétés bioadhésives,
- Une bonne stabilité thermique,
- Une bonne caractéristique organoleptique et un bon profil d'innocuité.

Des chercheurs ont étudié la diffusion de methotrexate dans un gel de Carbopol® 934 et dans un onguent de vaseline blanche en utilisant la méthode de seringue. Les tests ont montré que le flux de diffusion dans le carbopol® 934, a augmenté d'un facteur 20 comparativement à celui d'un onguent de même composition en principe actif.

2.3.8. Gélification des carbomères en fonction du pH :

Il est également possible d'obtenir un gel en tirant profit d'un changement de solubilité en fonction du pH. Les solutions aqueuses de Carbopol® présentent une transition sol-gel (solution-gel) lorsque le pH est amené au-dessus de son pKa, soit environ 5,5.

Au pH physiologique (7-7,1), le carbomère est sous forme gélifiée.

La neutralisation s'effectue à l'aide d'une base inorganique hydrosoluble (NaOH, KOH, NH₄OH....) ou d'amines hydrosolublkes comme le triéthanolamine (TEA), aminométhylpropanol (AMP-95) ou le tetrahydroxypropyléthylènediamine (Neutrol TE).

Le gel obtenu est aqueux, stable, transparent, incolore et non collant au toucher. Dans notre cas d'étude, nous avons préparé des gels (figure 2.4) à base de carbopol Ultrez 21 (neutralisé par le triéthanolamine (TEA) à partir d'une nanosuspension de 1-docosanol, pour la préparation d'une forme semi-solide.

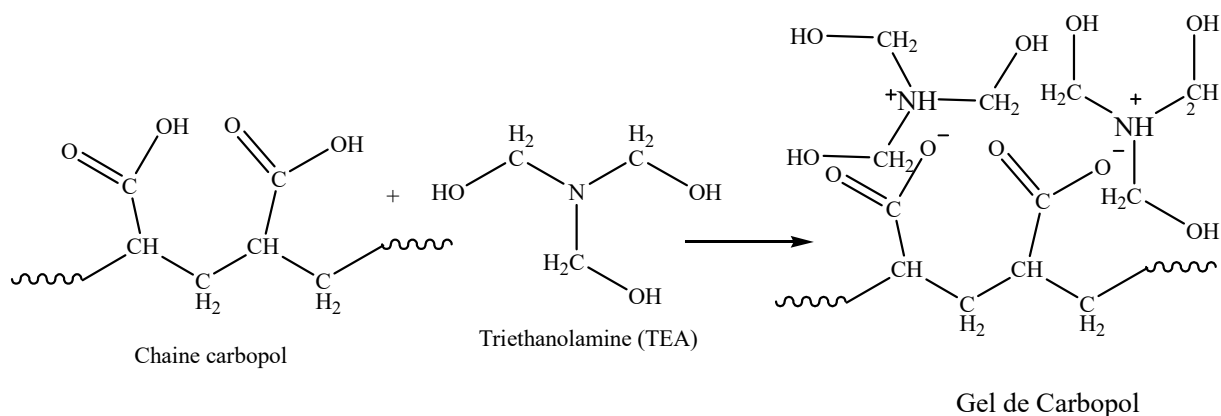


Figure 2.4 : Formation du gel de Carbopol par neutralisation au TEA

2.3.9. Caractérisation des hydrogels de carbomères :

2.3.9.1. Caractérisation rhéologiques :

Les hydrogels de carbomères sont caractérisés par l'étude de leurs propriétés rhéologiques telles que la viscosité et le degré de thixotropie. Pour évaluer la rhéologie d'un matériau, il est possible de lui appliquer une contrainte ou une déformation et de mesurer sa réponse mécanique. La rhéologie est utilisée pour évaluer la force de réseau formé (gel fort ou faible). Elle permet aussi d'établir le lien entre la structure de la molécule gélifiante et les propriétés mécaniques du gel. Un groupe de chercheurs ont étudié le comportement rhéologique des hydrogels de carbopol et les ont classés parmi les fluides ayant un comportement non newtonien et pseudoplastique.

➤ **Fluide newtonien :**

Un fluide est dit newtonien lorsque la contrainte appliquée (σ) est une fonction linéaire de la vitesse de déformation (taux de cisaillement : S) (Figure3.). Le facteur de proportionnalité est appelé viscosité (η), il est constant et indépendant de la vitesse de déformation.

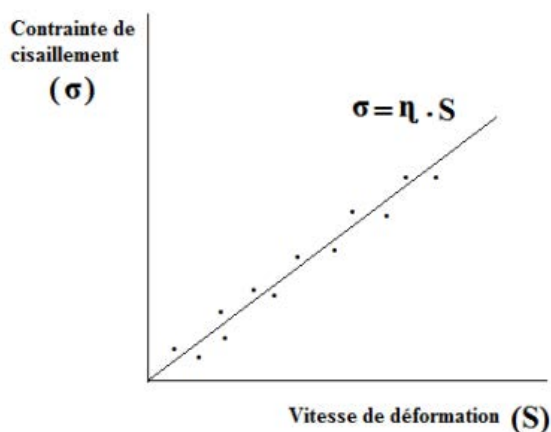


Figure 2.5 : courbe de linéarité d'un fluide newtonien.

➤ **Fluide non newtonien au comportement indépendant du temps :**

Au contraire, un fluide est dit non-newtonien lorsque sa contrainte de cisaillement n'est pas une fonction linéaire de la vitesse de déformation ($\sigma = k \cdot S^n$). Autrement dit sa viscosité (appelé viscosité apparente) dépend elle aussi de la vitesse de cisaillement $\eta = f(S)$. Parmi les fluides non-newtonien au comportement indépendant du temps, on peut citer : Fluide rhéofluidifiant ou pseudoplastique : il est caractérisé par une viscosité apparente qui diminue quand la vitesse de cisaillement augmente (Zone rouge : Figure 4.b). La courbe d'écoulement ($\sigma = f(S)$) d'un fluide pseudoplastiques s'incurve vers le bas (Zone rouge : Figure 4.a). Pour de très faibles et très grandes valeurs de S, le fluide a un comportement newtonien. A chacun de ces domaines est associée respectivement, une viscosité constante appelée viscosité de cisaillement nul (η_0) (ou viscosité en écoulement continu) et viscosité infinie (η). Le cas de fluides rhéofluidifiants est le plus fréquent pour des fluides tels que les polymères en solution, les émulsions, les suspensions, les dispersions et les gels de carbomères. Fluide rhéoépaississant ou dilatant : à l'inverse de la rhéofluidification, le comportement rhéoépaississant est assez rare. Dans ce cas de fluide, la viscosité augmente lorsque la vitesse de déformation (taux de cisaillement) augmente (Zone verte : Figure 4.b) et la courbe d'écoulement correspondante s'incurve vers le haut (Zone verte : Figure 4.a).

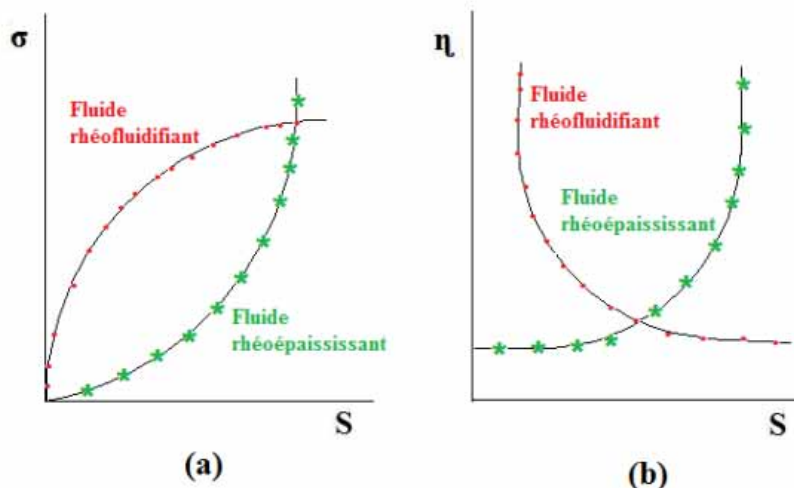


Figure 2.6 : (a) Contrainte de cisaillement : σ et (b) viscosité apparente : η en fonction du cisaillement pour un fluide non-newtonien.

➤ **Fluide non-newtonien au comportement dépendant du temps :**

• **Fluide thixotrope :**

La thixotropie est un comportement dépendant de la contrainte de cisaillement (σ) et du temps. Un fluide est thixotrope si sous contrainte (σ) constante, la viscosité apparente diminue au cours du temps. La structure du fluide est désorganisée par cisaillement et le fluide retrouve graduellement son état initial après un long repos (dans le cas contraire, il s'agit d'une thixotropie partielle). La thixotropie est souvent associée à un comportement rhéofluidifiant.

• **Fluide antithixotrope :**

A l'inverse de la thixotropie, le fluide antithixotrope (très rare) est caractérisé par une viscosité apparente qui augmente dans le temps sous l'effet d'une contrainte de cisaillement constante et sa structure est organisée par cisaillement. L'antithixotropie est souvent liée à un comportement rhéoépaississant.

➤ **Modélisation rhéologique :**

Le comportement rhéologique d'un fluide non-newtonien est ajusté par le modèle mathématique d'Ostwald-de Waele qui s'écrit :

$$\eta = K \cdot S^{-n}$$

Où η la viscosité apparente, K une constante, S la vitesse de déformation et n le degré de thixotropie (ou indice de rhéofluidifiant). Selon les valeurs de n on distingue :

- $0 < n < 1$: le fluide est rhéofluidifiant ou pseudoplastique ;
- $n = 0$: le fluide est newtonien ;
- $n < 0$: le fluide est rhéoépaississant ou dilatant.

2.3.9.2. Caractérisation du réseau des hydrogels de carbomères :

Pour obtenir une connaissance détaillée sur l'arrangement moléculaire et la structure des agrégats (morphologie, orientation, cristallinité) qui constituent le gel, diverses techniques peuvent être utilisées. Tout d'abord, les techniques d'imagerie directes, soit la microscopie optique ou la microscopie électronique à balayage MEB. Elles permettent d'obtenir des informations sur la structure du réseau dans l'espace et sur la taille des nanoparticules dans le réseau du gel. Aussi les techniques de diffusion dynamique de la lumière DLS et la colorimétrie différentielle à balayage DSC sont de plus en plus utilisées dans ce domaine. La DLS permet d'évaluer la taille des nanoparticules dans le gel et la DSC est fréquemment employée pour la détermination de la température de transition gel-solution et solution-gel pour des gels thermosensibles. Elle est aussi utilisée pour la détermination de la nature cristalline ou amorphe des particules de médicament incorporées dans un gel de carbomère. [50]

Partie expérimentale
Chapitre 3
Matériels et méthodes

3.1. Matériels biologiques :

3.1.1. Matériel végétale :

La plante de *Scolymus hispanicus* a été récoltée de région de wilaya de Tipaza et Blida en printemps et hiver 2018 (février et mars).

3.1.2. Les souches micro-organismes :

Le matériel microbien comprend les bactéries pathogènes et des champignons phytopathogènes, provenant du laboratoire d'hygiène Feroudja, Blida.

3.1.2.1. Bactéries :

Les bactéries comprennent un à Gram positif qui sont : *Staphylococcus aureus*, et deux à Gram négatif : *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*.

3.1.2.2. Champignons :

Les champignons sont *Candida albicansel*, *Aspergillus Niger*, *Aspergillus brasiliensis*, *fusarium*.

3.2. Produits chimiques :

Tableau 3.1 : les produits chimiques utilisés au cours du travail

produits	Fournisseur
Méthanol	Panreac
Ethanol	Panreac
Ether de pétrole 40-60 °	Biochem
DMSO	Panreac
Propylène glycol	Biochem
Carbopol G71	Lubrizol
TEA	Panreac
Gélose Mueller Hinton	Institut pasteur Alger
Gélose saboraud	Institut pasteur Alger

3.3. Appareils de mesure :

Tableau 3.2 : les appareils utilisés au cours du travail

Appareils	Marque
pH mètre	Hanna HI 2210
Spectrophotomètre UV visible	SHIMAGZU UV-1800
Spectrophotomètre IR	JASCO FT/IR-4100
Rhéomètre	Anton Paar Modular Compact Rheometer MCR302.
Centrifugeuse	Fisher Bioblock scientific 2-5

3.4. Méthodes :

3.4.1. Préparation des échantillons de la plante *Scolymus hispanicus* :

La plante (feuilles et racines) est nettoyée avec l'eau puis séchée à l'étuve au laboratoire pendant une semaine.

3.4.2. Extraction par Soxhlet :

Les extraits utilisés au cours de notre étude sont préparés selon un mode d'extraction par Soxhlet.

Dans un système conventionnel de Soxhlet, on place la matière végétale dans une cartouche et on remplit le méthanol dans un ballon à distiller mis dans un bain marie.

Dans notre cas pour 90 g de poudre on a utilisé 300 ml de méthanol.

Quand le liquide atteint le niveau de débordement, un siphon aspire la solution de la cartouche et la décharge de nouveau dans le ballon à distiller. L'opération est répétée 5 fois pour avoir une meilleure extraction.



Figure 3.1 : Extraction par soxhlet.

3.4.3. Calcul du rendement :

Le pourcentage de rendement pour chaque extrait a été calculé par la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{M}{M_0} * 100$$

Avec : **R** : Rendement exprimé en %.

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traiter.

3.4.4. Screening phytochimique : [51]

3.4.4.1. Détection des alcaloïdes :

Les alcaloïdes ont été mis en évidence avec les réactifs de Dragendorff et de Burchard (réactifs de précipitation) : 0.1g de résidu est repris dans 6 mL d'éthanol à 60%, puis reparti dans 2 tubes à essai. Dans le premier tube, sont ajoutées 2 gouttes de réactif de Dragendorff.

L'apparition d'un précipité rouge orangé ou brun- rougeâtre indique un test positif.

Dans le deuxième, sont ajoutées 2 gouttes de réactif de Burchard. L'apparition d'un précipité brun indique un test positif.

3.4.4.2. Détection des flavonoïdes :

Les flavonoïdes ont été mis en évidence par la cyanidine. A un aliquote de résidu dissout dans mL d'éthanol chorhydrique (2 :1, v/v) sont additionnées deux à trois copeaux de Mg (ou 30-50mg de poudre de Zn) et quelques gouttes d'isopentanol.

L'apparition d'une coloration intense rose-orange ou violacée (rouge ou rouge-orange avec le Zn) indique une réaction positive.

3.4.4.3.Détection des tannins :

À 2mL d'extraits brut sont additionnées quelques gouttes d'une solution aqueuse de FeCl_3 à 2%. L'apparition d'une coloration bleu-noir ou vert-noir indique respectivement la présence de tannoïdes ou de tannins vrais.

3.4.4.4.Détection des quinones :

Les quinones ont été mises en évidence par le réactif de Borntraeger. Un aliquote de résidu dissout dans 5mL de HCl dilué au 1/5, est chauffée au bain -marie bouillant pendant 30 min, puis extraite avec 20mL de CHCl_3 après refroidissement. A la phase organique, sont additionnés 0.5mL de NH_4OH dilué à 50%. L'apparition d'une teinte allant du rouge au violet indique une réaction positive.

3.4.4.5. Détection des saponines :

Les saponines ont été mises en évidence par le test de mousse, puis leur présence confirmée par le test de sang et par la détermination de la densité optique (DO).

Les résidus sont repris dans 5ml d'eau distillée, puis introduits dans un tube à essai.

Le tube à essai est agité vigoureusement. La formation d'une mousse (hauteur supérieure à 1cm) stable, persistant pendant 1h indique la présence abondante de saponines.

3.4.4.6.Détection des stérols et polyterpènes :

Les stérols et poly terpènes ont été mis en évidence par la réaction de Liebermann. Un aliquote de résidu est dissoute à chaud dans 1ml d'anhydride acétique dans une capsule, puis reprise dans un tube à essai dans lequel sont coulées 0.5mL de H_2SO_4 concentré. L'apparition d'une coloration violette qui vire au bleu puis au vert indique une réaction positive.

3.4.4.7.Détection des sucres réducteurs :

Les sucres réducteurs ont été mis en évidence par le réactif de Fehling, puis, leur présence confirmée par le test de Tollens. Pour réaliser le test de Fehling, à 5mL d'extrait brut sont additionnés 5ml de liqueur de Fehling. La formation d'un précipité rouge brique après 2-3min de chauffage au bain marie à 70°C indique une réaction positive.

La détection des sucres réducteurs par le test de Tollens a consisté à ajouter à 5 mL d'extrait brut, 5ml du réactif de Tollens. La formation d'un miroir d'argent après quelques minutes indique une réaction positive.

3.4.4.8. Détection des protéines :

Les protéines ont été mises en évidence par la réaction du biuret. A un aliquote de résidu dissout dans 2mL de NaOH aqueux à 20% dans un tube à essai, sont ajoutées 2-3 gouttes d'une solution aqueuse de CuSO₄ à 2%. L'apparition d'une coloration violette, quelquefois avec une teinte rougeâtre, indique une réaction positive. [52]

3.4.5. Activité microbiologique :

Pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits méthanolique, nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant des disques stériles en cellulose : appelée aromatoگرامme.

Le principe de la méthode est tiré à partir du titrage des antibiotiques. [53]

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antibactérien en milieu solide dans une boîte de pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible.

L'effet du produit antibactérien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante.

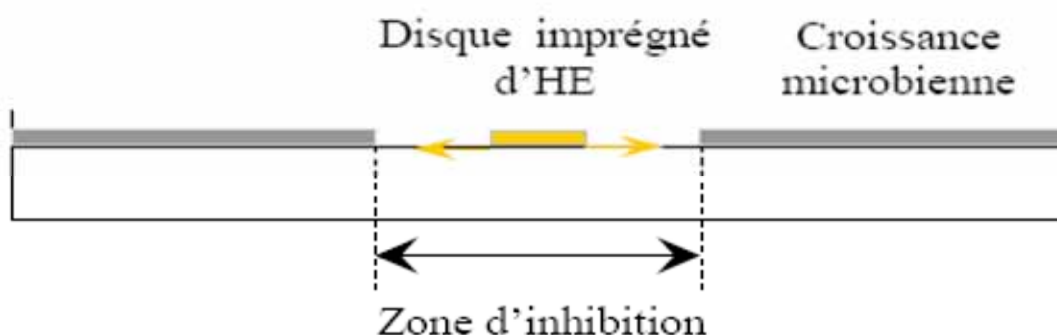


Figure 3.2 : Schéma simplifié du principe de la méthode de l'aromatogramme.

3.4.5.1. Préparation des extraits :

Afin d'évaluer l'activité antibactérienne nous avons mené nos extraits a des concentrations de (0.1g/ml pour les racines et 0.05g/ml pour les feuilles) dilué dans DMSO dans des tubes en verre stériles.

3.4.5.2. Préparation de l'inoculum bactérien :

A partir d'une culture de 18 h, une suspension bactérienne a été préparée de façon à obtenir une densité équivalente au standard de 0,5 Mac Farland. Cette densité correspond à une concentration de $10^6 - 10^8$ UFC/ml.



Figure 3.3 : les préparations d'extraits
des feuilles et des racines de scolymus
hispanicus



Figure 3.4 : les suspensions
bactériennes

3.4.5.3. Préparation des disques :

Des disques de papier Wathman n°1 de 6mm de diamètre stériles (stérilisation à 120°C pendant 20 min par autoclavage), sont chargés de l'extrait naturel à tester, des disques imprégnés de l'eau sont également utilisés qui vont servir de témoin négatif.

3.4.5.4. Préparation des milieux de culture :

La gélose de Muller Hinton stérile et Sabouraud prêtes à l'usage ont été coulées dans des boîtes de pétri stériles. L'épaisseur de la gélose est de 2 mm répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières doivent être séchées 30 min à une température ambiante du laboratoire avant leur emploi.



Figure 3.5 : boîtes de pétri contenant le milieu de culture

3.4.5.5. Ensemencement :

Des boîtes de pétrie stériles préalablement coulées, sontensemencées par étalage à l'aide d'un écouvillon, l'ensemencement s'effectue de telle sorte à assurer une distribution homogène des bactéries.

A l'aide d'une pince stérile, les disques de papier filtre contenant les produits à tester sont déposés à la surface de la gélose inoculée au préalable.

Les activités antibactérienne et antifongique sont déterminées en termes de diamètre de la zone d'inhibition produite autour des disques après 24 h d'incubation à 37° C pour les bactéries et 120h d'incubation à 28° C pour les champignons.

3.4.5.6. Lecture :

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'une règle en (mm).

Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des champignons vis-à-vis des concentrations testées de nos extraits.

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre 9mm ;
- Sensible (+) diamètre compris entre 9 à 14mm ;
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15à 19 mm ;
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre 20mm.

3.4.6. Méthode de formulation :

Pour le but d'utiliser les extraits des plantes étudiés et bénéficier leurs propriétés thérapeutique, nous allons proposer une forme galénique semi-solide simple, un gel pour application dermique antifongique.

Les étapes de formulations de notre gel sont comme suite :

a) Principes actifs :

- ❖ Dans un bécher, on a dispersé notre extrait dans le mélange d'éthanol et propylène glycol afin d'obtenir une concentration de 1g d'extrait/5ml d'éthanol +propylène glycol pour chaque extrait.

b) Excipients :

- ❖ on ajoute dans le mélange précédent 20ml de l'eau distillé et 1g de carbopol G71, On disperse la quantité de carbopol lentement sous agitation, ensuite on a mesuré le PH de mélange on obtient un pH acide entre 2 et 3 et une viscosité faible on lui ajoute triéthanolamine sous agitation pour augmenter le pH du gel jusqu'à 7.

3.4.7. Caractérisations de la formulation :

Il existe des tests à effectuer pour l'évaluation d'un gel, les tests recommandés sont les suivants :

3.4.7.1.La stabilité de la formulation :

La stabilité de notre formulation au cours du temps et sous des conditions physique rigoureuse est déterminée en utilisant une centrifugeuse régler à une vitesse de 3000 tours/min pendant 30 min.

3.4.7.2.Le pH de la formulation :

L'acidité de gel formulée est très importante à connaître étant donné que cette dernière est destinée à être appliqué sur la peau du corps. Cette acidité est généralement interprétée par la mesure du pH avec un pH-mètre.

3.4.7.3.La viscosité :

La plupart des produits formulés (produits alimentaires, produits de soins ou cosmétiques, peintures et vernis...) exhibent un comportement rhéologique complexe, en ce sens qu'ils ne peuvent être caractérisés par une mesure unique de viscosité [54].

Pour cela il faut utiliser un rhéomètre à fin de préciser la viscosité de telle produit [55].

L'objectif assigné est de caractériser le comportement rhéologique de gel qui est en écoulement variable afin de déterminer le modèle rhéologique auquel elle obéit.

La procédure se résume à faire varier la vitesse de cisaillement (γ), En utilisant un rhéomètre type plan-plan de marque Anton Paar Modulat Compact Rheometer MCR 302 (la figure ci-dessous), relié à un bain thermostaté et commandé à un logiciel qui permet de traiter les données.



Figure 3.6 : Rhéomètre Anton Paar Modular Compact Rheometer MCR 302.

La vitesse de cisaillement a été imposée sur une fourchette de $0,001$ à 1000 s^{-1} avec une trentaine de prise d'essai. Le tracé de la variation viscosité en fonction de la contrainte de cisaillement est représenté sur un rhéo-gramme.

Comme résultat, on obtient alors une valeur de contrainte en fonction du gradient de vitesse (ou vitesse de déformation) appliqué. Cette fonction caractérise les propriétés d'écoulement du matériau [55].

La viscosité η (Pa.s) est exprimée par le rapport de la contrainte sur le gradient de vitesse

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$$

Le gradient de vitesse ou vitesse de déformation (*shear rate*) est :

$$\dot{\gamma} = \frac{d\gamma}{dt}$$

Le comportement rhéologique est représenté soit sous la forme d'une relation entre la contrainte et la vitesse de cisaillement, soit sous la forme d'une relation entre la viscosité et la vitesse de cisaillement.

Il existe plusieurs comportement rhéologique qui exprime le caractère d'un fluide donné on site alors :

- le comportement **Newtonien**, qui est celui des liquides simples. La viscosité est constante en fonction de la force appliquée, et elle ne dépend pas du gradient de vitesse. La courbe contrainte en fonction du gradient de vitesse est alors une droite.

-le comportement **Rhéoépaississant**, où la viscosité augmente en fonction de la vitesse d'écoulement. Ce comportement est très rare. On l'obtient avec certaines formulations de suspensions de particules anisotropes (argiles) où quand l'écoulement provoque la floculation des suspensions.

-le comportement **Rhéofluidifiant** (ou pseudo-plastique), où la viscosité diminue quand le gradient de vitesse augmente. L'écoulement est donc plus facile avec l'augmentation du cisaillement. Le comportement rhéofluidifiant est le plus fréquent dans le domaine des émulsions [56].

Chapitre 4

Résultats et discussion

Dans ce chapitre nous allons exposer et discuter l'essentiel des résultats expérimentaux obtenus.

4.1. Extraction et caractérisation de l'extrait :

Nous allons d'abord calculer le rendement d'extraction de la concrète récupérée après l'extraction de la plante par la méthode du Soxhlet.

Le rendement de l'extraction exprime la quantité de concrète contenue dans les feuilles et des racines du *scolymus hispanicus*, séchées et broyées.

La masse de la matière végétale des racines de février utilisée est de 82.62g.

La masse de la concrète récupérée après séparation du solvant par ROTAVAP est de 1.60 g.

Ainsi, on obtient un rendement de 1,93%.

La masse de la matière végétale des racines de mars utilisée est de 372.92g.

La masse de la concrète récupérée après séparation du solvant par ROTAVAP est de 48.36 g.

Ainsi, on obtient un rendement de 12.96%.

Les extraits préparés des feuilles et des racines de scolyme d'Espagne par soxhlet (F1F, F2F, F3M, R1F, R2F, R3M) à différentes caractéristiques physico-chimiques qui sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 4.1 : Les caractéristiques des extraits obtenus.

Caractéristique	Aspect	Couleur	Rendement %
F1F	Liquide visqueux	verte foncé	13.50
F2F	Liquide visqueux	verte foncé	34
F3M	Liquide visqueux	verte foncé	30.70
R1F	Liquide visqueux	Marron	1,93
R2F	Liquide visqueux	Marron	9.84
R3M	Liquide visqueux	Marron foncé	12,96

F1 : Extraits des feuilles échantillon **1**,

R1 : Extraits des racines échantillon**1**,

M : mars. **F** : février

Selon les résultats, on remarque que l'aspect de tous les extraits est liquide visqueux et de couleur verte foncé pour les feuilles et visqueux de couleur marron foncé pour les racines,

L'extrait des racines R3M (mars) présente un meilleur rendement par rapport à d'autres extraits de février.

L'extrait des feuilles F2F (Février) présente un meilleur rendement par rapport à d'autres extraits de mars.

4.2. Identification :

4.2.1. Par Analyse spectroscopique Infra Rouge :

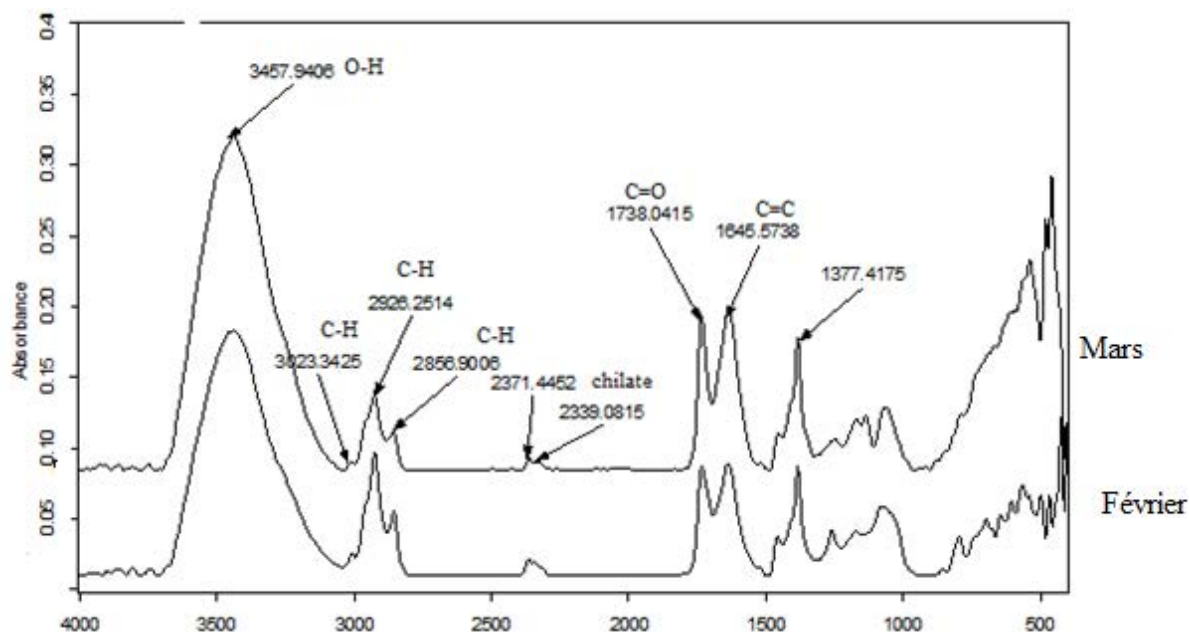


Figure 4.1: Spectre IR de l'extrait des feuilles de *Scolymus hispanicus*.

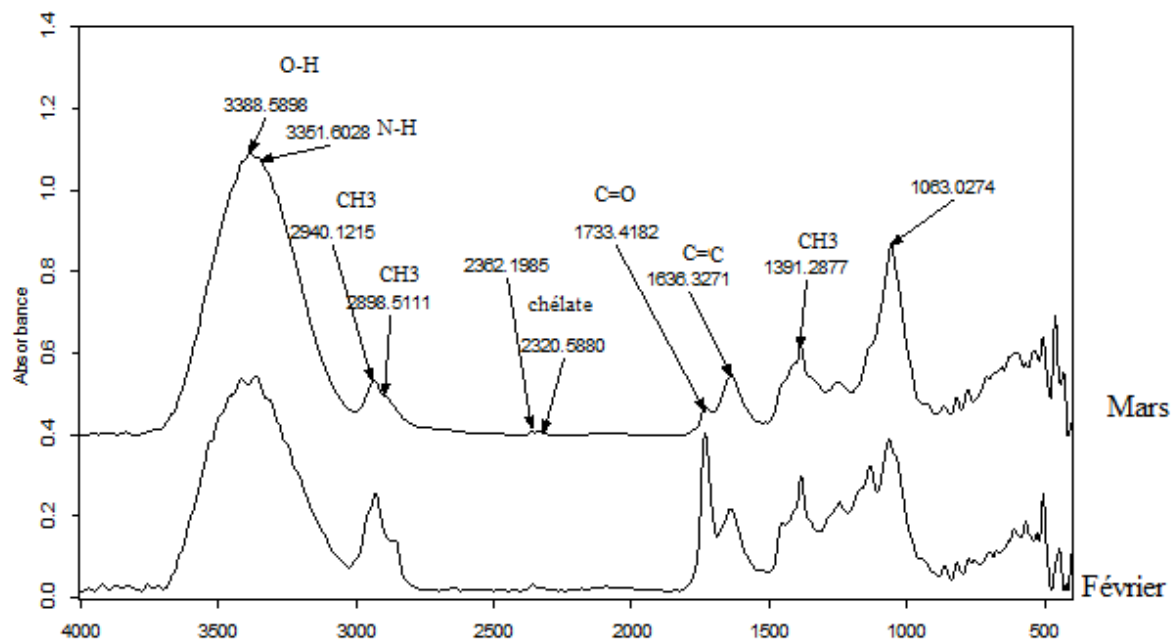


Figure 4.2: Spectre IR de l'extrait des racines de *Scolymus hispanicus*.

➤ **Interprétation du spectre IR :**

Le spectre enregistré pour les différents échantillons des feuilles et des racines récolté pendant les mois de février et de mars sont sensiblement identiques.

La figure (**figure 4.1**) relative au spectre infrarouge enregistré par les feuilles récolté pendant les mois de février et mars totalement identiques. Une bande large localisée à 3458cm^{-1} est attribuée aux vibrations à la liaison O-H des alcools et des phénols produits grâce au pont d'hydrogène présent au sein de la structure de la molécule.

Un petit pic situé à 3023cm^{-1} relatif à la vibration de la liaison CH d'un noyau aromatique.

Un ensemble des pics visible dans la région entre 2926cm^{-1} et 2856cm^{-1} sont attribuée à la vibration de la liaison CH de groupement méthyle (CH_3) et méthylène (CH_2).

Deux pics situés à 2371cm^{-1} et 2339cm^{-1} sont caractéristiques de la vibration de la liaison chélate présent au sein de structure de la molécule comme liaison intermoléculaire.

La plus important parmi les piques situés juste avant la région des empreintes végétale de la molécule sont les pics localisés à 1738cm^{-1} et 1645cm^{-1} . Le premier pic situé à 1738 représente la vibration de la liaison C=O caractéristiques des esters ou des lactones (flavonoïdes), le second pic de 1645cm^{-1} montre la présence d'une forme alcène grâce à la vibration de liaison C=C.

La figure (**figure 4.2**) relative au spectre infrarouge enregistré par les racines récolté pendant les mois de février et mars ne sont pas totalement identiques

Une bande large localisée à des ensembles pics visible dans la région entre 3388 cm^{-1} et 3351 cm^{-1} sont attribuées à la vibration de la liaison O-H et NH respectivement

Deux petites pics situés à 2940 cm^{-1} et 2898 cm^{-1} relatif à la vibration de la liaison CH₃

Deux pics situés à 2362 cm^{-1} et 2320 cm^{-1} sont caractéristique de la vibration de la liaison chélate présent au sein de structure de la molécule comme liaison intermoléculaire.

La différence entre les deux spectres IR IF des racines récoltés pendant les mois de février et de mars réside dans la partie contenant les deux pics de la vibration de la liaison C=O et la liaison C=C.

Le pic relatif à la vibration de la liaison C=O carbonyle localisé à 1733 cm^{-1} et plus important dans l'extrait du mois de février et qui disparaît presque totalement dans l'extrait du mois de mars. Par contre, celui de la vibration de la liaison C=C reste identique, cette observation montre le changement de la composition de l'extrait des racines au cours de la transition du mois de février au mois de mars.

Le second pic de 1391 cm^{-1} montre la présence d'une forme hydrocarbure grâce à la vibration de la liaison CH₃.

4.2.2. Par Analyse UV visible :

➤ Interprétation UV visible :

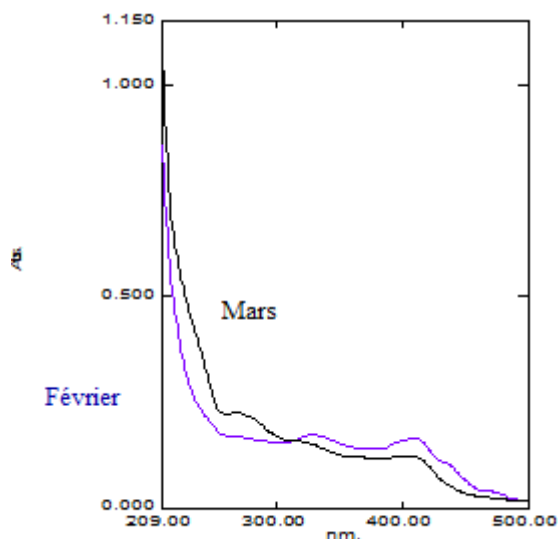


Figure 4.3 : Spectre UV visible des extraits des feuilles de *Scolymus hispanicus* du mois de février et mars

Tableau 4.2 : les valeurs de l'absorbance et la longueur d'onde des extraits des feuilles de *Scolymus hispanicus* du mois de février et mars.

λ (nm)	Echantillons des feuilles	Absorbance (Février)	Absorbance (Mars)
276		0.166	0.228
326		0.174	0.155
410		0.167	0.123
437		0.104	-

La **figure 4.3** représente les spectres UV visible des deux échantillons de *Scolymus hispanicus* récolté pendant le mois de février et de mars qui sont caractérisés par un large domaine d'absorption à 437-276, mis en évidence la richesse de ces échantillons en composés organiques potentiellement biologique et actifs.

L'échantillon composé de feuilles récolté pendant le mois de février est plus riche en composés que celui récolté pendant le mois de mars.

Dans la zone UV les deux échantillons absorbent respectivement 276 et 326 nm par contre dans la région visible l'échantillon récolté pendant le mois de février absorbe les deux longueurs d'onde à 410 et 437 nm mais l'échantillon récolté pendant le mois de mars absorbe seulement à 410 nm.

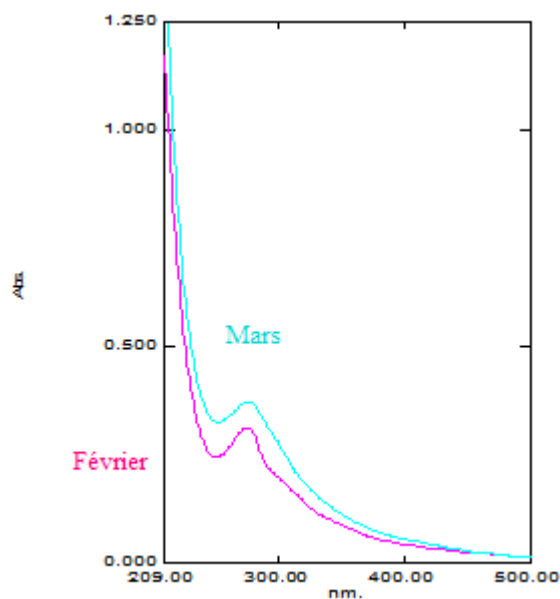


Figure 4.4 : Spectre UV visible des extraits des racines de *Scolymus hispanicus* du mois de février et mars

Tableau 4.3 : les valeurs de l'absorbance et la longueur d'onde des extraits des racines de *Scolymus hispanicus* du mois de février et mars.

Echantillon des racines	Abs (février)	Abs (mars)
λ (nm)		
276	0.309	0.370

La **figure 4.4** représente les deux spectres d'absorption UV visible de deux échantillons de racines de *Scolymus hispanicus* récolté pendant deux mois différents février et mars. Les deux échantillons sont caractérisés par la présence d'une même bande d'absorption localisée à 276 nm. Cependant, la bande des échantillons de mars est plus importante que celui du mois de février.

4.2.3. Les résultats de screening phytochimique:

Tableau 4.4 : Résultat de Screening phytochimique des racines et des feuilles de scolyme d'Espagne (Cardousse).

Composés phytochimiques	Racines	Feuilles
Alcaloïdes	+	+
Flavonoïdes	+	+
Tannins	-	-
Quinones	-	-
Saponines	+	+
Stérols et poly terpènes	+	+
Sucres réducteurs	+	+
Protéines	-	-

➤ **Interprétation des résultat de screening phytochimique :**

a) Détection des alcaloïdes :

La révélation à travers screening phytochimique des alcaloïdes présent dans les feuilles et racines de *Scolymus hispanicus* récolté pendant le mois de février mis en évidence par des réactifs de précipitation comme celui de Dragendroff et Burchard en conduit à la formation d'un précipité de couleur brune comme signe de présence positive des alcaloïdes dans les feuilles et racines de *Scolymus hispanicus*.

b) Détection des flavonoïdes :

La révélation des flavonoïdes présents dans les feuilles et les racines de *Scolymus hispanicus* récolté pendant le mois de février mis en évidence par la cyanidine en conduit à l'apparition d'une coloration intense violacée qui indique une réaction positive dans les feuilles et les racines de *Scolymus hispanicus*.

c) Détection des tannins :

L'absence d'un aucun changement dans les feuilles et les racines de *Scolymus hispanicus* récolté pendant le mois de février lors de la révélation des tannins indique l'absence des tannins dans les feuilles et les racines de *Scolymus hispanicus*.

d) Détection des quinones :

L'absence d'un aucun changement dans les feuilles et les racines de *Scolymus hispanicus* récolté pendant le mois de février lors de la révélation des quinones mis en évidence par le réactif de Borntraeger indique une réaction négative dans les feuilles et les racines de *Scolymus hispanicus*.

e) Détection des saponines :

La révélation à travers screening phytochimique des saponines présent dans les feuilles et racines de *Scolymus hispanicus* récolté pendant le mois de février mis en évidence par le test de mousse en conduit à la formation d'une mousse comme signe de présence positive des saponines dans les feuilles et racines de *Scolymus hispanicus*.

f) Détection des stérols et polyterpènes :

La révélation des stérols et poly terpènes présents dans les feuilles et les racines de *Scolymus hispanicus* récolté pendant le mois de février mis en évidence par la réaction de Liebermann en conduit à l'apparition d'une couleur verte comme signe de présence positive des stérols et polyterpènes dans les feuilles et les racines de *Scolymus hispanicus*.

g) Détection des sucres réducteurs :

La révélation à travers screening phytochimique des sucres réducteurs présent dans les feuilles et racines de *Scolymus hispanicus* récolté pendant le mois de février mis en évidence par le réactif de Fehling et le test de Tollens en conduit à la formation d'un précipité rouge brique et d'un miroir d'argent indique une réaction positive des sucres réducteurs dans les feuilles et racines de *Scolymus hispanicus*.

h) Détection des protéines :

L'absence d'un aucun changement dans les feuilles et les racines de *Scolymus hispanicus* récolté pendant le mois de février lors de la révélation des protéines mis en évidence par le réactif de Biuret indique une réaction négative dans les feuilles et les racines de *Scolymus hispanicus*.

4.3. Formulation du gel :

Tableau 4.5 : les essais de formulation

Essai	Modifications	Observations
Essai a	1g de carbopol dans 25ml d'eau distillé	Gel moins liquide que celui de l'essai 03
Essai b	1g de carbopol dans 20ml d'eau distillé	Gel consistant, collant
Essai c	1g de carbopol dans 37.5ml d'eau distillé	le gel est un peu liquide
Essai d	2g de carbopol dans 25ml d'eau distillé	Gel consistant moins collant

Tableau 4.6 : Quantités des composants du gel final formulé.

Les composants	Les quantités
L'extrait de la plante	2g
Ethanol	2.5ml
Propylène glycol	2.5ml
Eau distillé	25ml
Carbopol G71	1g
Triéthanolamine	Quelques gouttes jusqu'à pH=7.

4.3.1. Caractérisation physico-chimique :

4.3.1.1. Etude de Stabilité :

➤ Etude de stabilité accélérée par la technique de centrifugation :

Les gels formulés ont subi une centrifugation à une vitesse de 3000 tr/mn pendant 30 minutes. Ce test permet d'accélérer le vieillissement des échantillons et voir s'ils vont rester stables ou pas dans le temps.

Tableau4.7 : Résultats de la stabilité des gels à la centrifugation.

Les essais :	Observation
a) 1/25	Stable
b) 1/20	Stable
c) 1/37.5	Stable
d) 2/25	Stable

D'après les résultats de la centrifugation nos gels présentent toujours une forme de stabilité sauf qu'on a une formulation des fins fils pour les gels a), b et c).

- a) : 1g de carbopol dans 25 mL de l'eau distillé.
- b) : 1g de carbopol dans 20 mL de l'eau distillé.
- c) : 1g de carbopol dans 37.5 mL de l'eau distillé.
- d) : 2g de carbopol dans 25 mL de l'eau distillé.

4.3.1.2. Mesure du pH :

Le paramètre le plus important après l'étude de la stabilité est la teneur en pH de ces gels étant donné que le produit va être mis en contact directe avec la peau.

Pour cela, nous avons procédé à un test à l'aide d'un pH mètre. Tout d'abord, il est nécessaire de savoir que la valeur lue sur le pH mètre ne peut être retenue comme mesure que lorsqu'elle est stabilisée.

Tableau 4.8 : Les valeurs de PH mesuré du gel formulé

Le produit	pH
Extrait de la plante + 2.5ml de l'éthanol+2.5de propylène glycol	4.11
Ajoute 2g de carbopol	3.04
Ajoute TEA	7

4.3.1.3. Résultats de la caractérisation rhéologique :

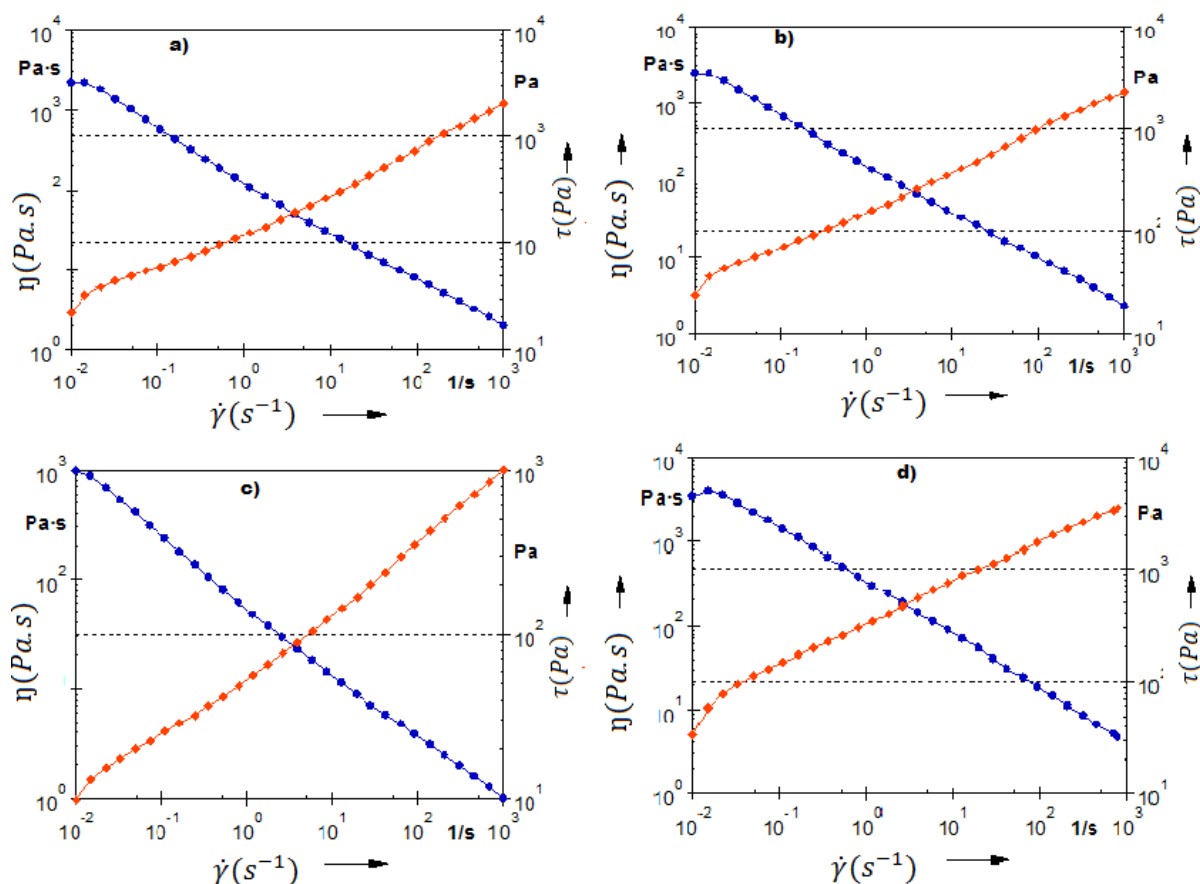


Figure 4.5 : Rhéogrammes des solutions de carbopol neutralisé dans l'eau à différents pourcentage massique.

➤ Caractère rhéofluidifiant non-newtonien :

L'eau est connue pour ce comportement newtonien ou la viscosité diminue linéairement en fonction du taux de cisaillement.

L'incorporation du carbopol des différents volumes d'eau à permet d'obtenir des rhéogrammes ou les solutions **(a)**, **(b)** et **(d)** ont un écoulement non-newtonien avec un comportement rhéofluidifiant caractérisé pour une diminution progressive et non linéaire de viscosité en fonction du taux de cisaillement.

Le taux de cisaillement en contrepartie augmente avec l'augmentation de la contrainte de cisaillement pour les courbes **(a)**, **(b)** et **(d)**

La valeur de la viscosité pour l'échantillon **(d)** est plus grande par rapport à ce des échantillons **(a)**, **(b)** et **(c)** pour les taux de cisaillement de 672 et de 1000

Cependant l'échantillon (c) ou la quantité du solvant aqueux est importante à provoquer un comportement newtonien de la solution diluée de polymère par conséquent la diminution linéaire de la viscosité.

A travers les observations des différents rhéogrammes et les valeurs de viscosité des différentes solutions de micro gel préparés l'échantillon dont la composition est de 2/25 g/ml, après la neutralisation avec triéthanolamine est le placebo idéal pour la préparation du gel antiseptique.

4.3.1.4. Résultats de l'analyse microbiologique :

Les tableaux suivants montrent la présence d'effet antibactérien des extraits de *Scolymus hispanicus*

Tableau 4.9 : Résultats de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles et des racines de *Scolymus hispanicus*.

Souches bactérienne	Diamètres d'inhibition en mm					
	Les extraits des feuilles			Les extraits des racines		Témoin positif
	F1F	F2F	F3M	R1, 2F	R3M	
Staphylococcus aureus(G+)	16	15	10	0	3	40
Escherichia coli(G-)	17	16	14	16	12	30
Pseudomonas aeruginosa(G-)	10	7	7	8	11	9

Tableau 4.10 : Résultats de l'activité antifongique des extraits des feuilles et des racines de *Scolymus hispanicus*.

Souches champignons	Diamètres d'inhibition en mm					
	Les extraits des feuilles			Les extraits des racines		Témoin positif
	F1F	F2F	F3M	R1, 2F	R3M	
Candida albicansel	0	15	0	0	0	31
Aspergillus niger	0	0	0	0	0	20
Aspergillus brasiliensis	0	0	0	0	0	20
Fusarium	35	23	0	0	26	65

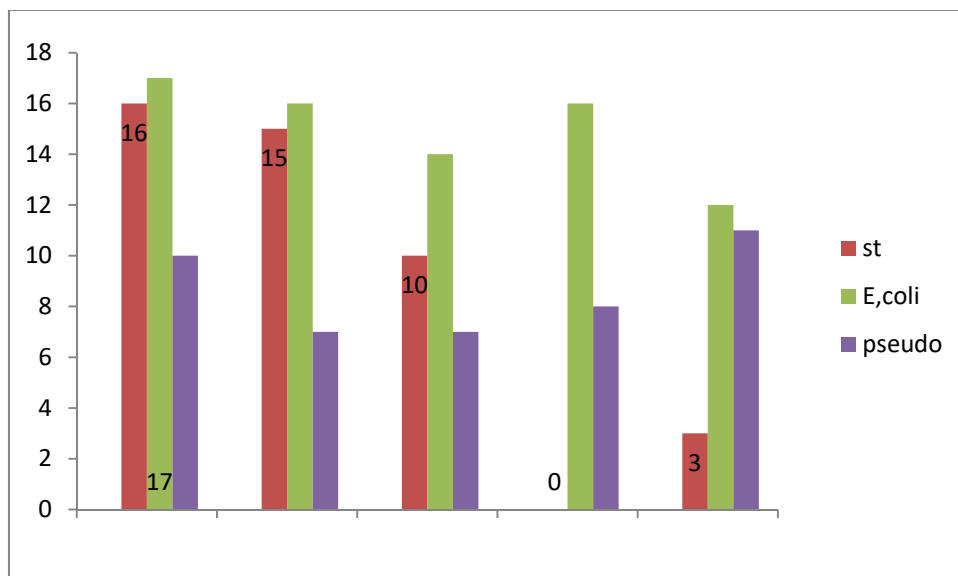


Figure4.1 : Histogramme des résultats de l'activité antibactérienne.

Escherichia coli, Pseudomona saeruginosa : Gram négatif

Staphylococcus aureus : Gram positif

Les extraits des feuilles et des racines de *Scolymus hispanicus* sont plus actifs vis-à-vis des bactéries Gram positif comme le *Staphylococcus aureus* et les bactéries Gram négatif comme *Escherichia coli* et *pseudomonas aeruginosa*. Cependant l'activité vis-à-vis les champignons est limitée seulement au champignon *Fusarium*.

L'activité des extraits de feuilles de *Scolymus hispanicus* vis-à-vis le *staphylococcus* est plus marqué que celle des extraits obtenir à partir des racines de *Scolymus hispanicus*.

Remarquablement, les extraits des feuilles et des racines sont très actifs vis-à-vis des bactéries Gram négatif comme *Escherichia coli* et *Pseudomonas*. Comparativement l'activité de ces extraits est importante dans le cas d'*Escherichia coli* que celle de *Pseudomonas*.

Ces résultat permettent de prévoir une forte activité des antiseptiques formulés à partir des extraits des feuilles et des racines vis-à-vis *Escherichia coli* pour les extraits des feuilles et des racines, une activité modérée vis-à-vis le *Pseudomonas* par contre le gel formulé à partir des extraits de feuilles peut être utilisé comme antiseptique contre *Staphylooccus aureus*.

L'activité antifongique des extraits des feuilles et des racines est confirmée grâce au diamètre obtenu d'hors l'exposition de *Fusarium* au différentes extraits.

Conclusion

Conclusion :

Le recours à l'exploration des médicaments d'origines naturels constitue une alternative aux médicaments de synthèses dont les effets parallèles ne sont pas inconnus en plus de la libération du marché au dépend de la santé.

Dans cette stratégie que ce travail a été entrepris dans l'objectif de la mise en œuvre d'un antiseptique sous forme semi-solide à partir d'une plante endémique le *Scolymus hispanicus*, appelé Cardousse et connue sous le nom de Guernina très appréciée en tant que légumes utilisées dans divers menus.

L'extraction par solvant volatils à l'aide d'un soxhlet avec du méthanol des feuilles et des racines du *Scolymus hispanicus* préalablement séchées et broyées pendant les mois de Février et Mars ont fournit des rendements quantitatifs variant entre 13,5 à 34,0 % pour les feuilles et de 1,96 à 12,96 % pour les racines.

Les produits d'extractions sont sous formes visqueux signes de présences de molécules sous formes d'hétérosides constitués de sucres réducteurs et d'aglycones. Ces observations ont été confirmées par les différentes analyses structurales effectuées dont le screening chimique effectués sur les différents extraits des feuilles et des racines récoltés pendant les mois de Février et Mars.

Les méthodes de précipitation ont permis de révélées par les testes positifs la présence des alcaloïdes, des flavonoïdes, des saponines, des stérols, des terpènes et des sucres réducteurs dans tous les extraits étudiés.

Les spectres IRTF des différents extraits enregistrés confirment les résultats du screening photochimique et mettent en évidence la présence d'une structure aromatique, d'une fonction carbonyle d'un ester, la même composition des feuilles du mois de Février et Mars, et la richesse des racines du mois de Février par rapport au mois de Mars. Cependant, les résultats obtenus grâce à la spectrophotométrie UV-Vis entre 200 et 400 nm montre la richesse des feuilles par rapport aux racines avec la présence de plusieurs bandes dans les extraits des feuilles par rapport à ceux des racines.

L'activité antimicrobienne des extraits du *Scolymus hispanicus* a été réalisée en parallèle avec les analyses rhéologiques à travers l'étude de la variation de la viscosité et la contrainte de cisaillement en fonction du taux de cisaillement ou le gel formulé après neutralisation avec le triéthanolamine de composition 2 :25 (m : v) garde une viscosité importante.

Ces extraits ont montrés des activités bien marquées vis-vis des bactéries et une activité antifongique surtout contre le champignon *Fusarium*.

Ces résultats confirment l'opportunité d'avoir abordé ce travail, qui devrait être repris pour déterminer le composé responsable de cette activité antiseptique.

D'autres analyses devrait être effectué afin de déterminer les structures chimiques du ou des composés constituant les extraits étudiées et tout cela après séparation de ces différentes molécules.

Références bibliographiques

REFERENCES

- [1] Altiok, E., 2010. Recovery of phytochemicals(Having antimicrobial and antioxidant characteristics) from local plants. Thèse in chemical Engineering. Izmir institute of technology.
- [2] Amalia Kartika.I, 2005. Nouveau procédé de fractionnement des graines de tournesol: expression et extraction en extrudeur bi vis, purification par ultrafiltration de l'huile de tournesol, Thèse doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, France.
- [3] Ames. BN, Gold. LS, Willett .WC., 1995. The causes and prevention of cancer. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 92: 5258-65.
- [4] OMS., 2003-Série de Rapports techniques,1ère couverture,130p
- [5] I. Marmouzia, M.El Karbane**b**, M. El Hamdanic, M. Kharbach**d,e**, H. Naceiri Mrabtia, R.Alamia, S. Dahraouif, M. El Jemlia, Z. Ouzziff, Y. Cherraha, S. Derrajia and F. El Abbes . Phytochemical and Pharmacological Variability In Golden Thistle Functional Parts: Comparative Study of Roots, Stems, Leaves and Flowers. Faculté de Médecine et de Pharmacie, Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie, Mohammed V University, Laboratoire de Contrôle de Qualité de Médicament, Division de Médicament et Pharmacie, Ministère de santé, Service de Physicochimie, Faculté des Sciences Kénitra,Université Ibn Tofail, Laboratory of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medicine and Pharmacy, Pharmaceutical and Toxicological Analysis Research Team, Mohammed V University, Biochemistry Department, Military Hospital Mohammed V. Rabat, Morocco,2003.
- [6] OMS, 2015. Organisation Mondiale de Santé, « Antibiotiques : à manipuler avec précaution ».
- [7] OMS,2003 cité parMADI, 2010. Caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques. Thèse de magister en biotechnologie végétale. Département de biologie et écologie. Université Mentouri de Constantine)

- [8] Eddouks M, Ouahidi M.L, Farid O, Moufid A, Khalidi A, Lemhadri A. (2007). L'utilisation des plantes médicinales dans le traitement du diabète au Maroc. Springer Phytothérapie 5: 194–203.
- [9] Bernard B .1988. Dictionnaire de botanique. Ellipse, International Standard Book Number. 4, 398-171.
- [10] Grimaud F. 2009. Les astéracées du Ladakh dans la médecine tibétaine, Springer. 7, 255-261.
- [11] Brahim H. 2011. Valorisation et identification structurale des principes actifs de la plante de la famille Asteraceae: *scorzonera undulata*.
- [12] Junich K., masanabu A., yasuka T. 1994. Triterpenoid constituents of *Ficusthunbergii*. Chemical pharmaceutical bulletin. 42(3), 608-610
- [13] Quezel P., Santa S. 1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 2. Ed. C.N.R.S.
- [14] Ladhari A., Omezzine F., Rinez A., haouala R., Gnidium L. 2011. Phytotoxicity of *Daphne Gnidium L.* Occurring in Tunisia, Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering 5(11). These /8776.
- [15] Vazquez F.M. 2000. The Genus *Scolymus tourn.* EX L. (Asteraceae) taxonomy and distribution, Anales jardin botanico madrid. 58(1), 83-100.
- [16] CHEOK C Y, SALMAN H A K, SULAIMAN R. Extraction and quantification of saponins. Food Research International, 2014
- [17] TAKEUCHI T M, PEREIRA C G, BRAGA M E M, MAROSTICA M R, LEAL P F, MEIRELES M A A. Low-pressure solvent extraction (solid-liquid extraction, microwave assisted, and ultrasound assisted) from condimentary plants. In: Extracting bioactive compounds for food products – Theory and Applications, ed. M.A.A. Meireles, p 140– 144, p 151-158, 2009.
- [18] REICHARDT C, WELTON T. Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry. 4th Edn, p 63-64, p 219- 220, p 443-457.
- [19] LEE S T, MITCHELL R B, GARDNER D R, WANG Z, AZADI P, HEISS C. Isolation, characterization, and quantification of steroidal saponins in Switchgrass

(*Panicumvirgatum* L.).*Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009.)

[20] OLESZEK W A. Composition and quantitation of saponins in Alfalfa (*Medicagosativa*L.seedlings.*Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998.)

[21] ZHANG Z S, WANG L J, LI D, JIAO S S, CHEN X D, MAO Z H.Ultrasound assisted extraction of oil from flaxseed. *Separation and Purification Technology*. 2008.

[22] HENG M Y, TAN S N, YONG J W H, ONG E S.Emerging green technologies for thechemicalstandardization of botanicals and herbalpreparations. *Trends in Analyticalchemistry*, 2013.

[23] TAKEUCHI T M, PEREIRA C G, BRAGA M E M., MAROSTICA M R., LEAL P F, MEIRELES M AA. Low-pressure solvent extraction (solid-liquid extraction, microwave assisted, and ultra sound assisted) from condimentary plants. In: *Extracting bioactive compounds for food products – Theory and Applications*. ed. M.A.A. Meireles, Boca Raton:CRC Press, p 140– 144,p 151-158, 2009.

[24] ZHANG H F, YANG X H,WANG Y. Microwave assisted extraction of secondary metabolites from plants: Currentstatus and future directions. *Trends in Food Science &Technology*, 2011.

[25] MUSTAFA A, TURNER C. Pressurized liquid extraction as a green approach in foodand herbal plants extraction: A review. *Analytical ChimicaActa*, 2011.

[26] SUNH, GE X, LV Y, WANG A. Application of accelerated solvent extraction in theanalysis of organic contaminants, bioactive and nutritional compounds in food and feed.*Journal of Chromatography*, p 1-23, 2012.

[27] I.MARMOUZI, M. El KARBANE, M. El HAMDANI, M.KHARBACH, H .NACEIRI MRABTI, R. ALAMI, S.DAHRAOUI, M .El JEMLI, Z .OUZZIF, Y .CHERRAH, S .DERRAJI, My El ABBES. F, Phytochemical and pharmacological variability in Golden Thistle functional parts : comparative studyof roots, stems, leaves and flowers, *Natural Product Research*, (2017) 31, 22, 2669–2674

[28] N. Kirimer, Z.Tunalier, K. HüsU Can Baer, and lpekCingi. Antispasmodic and Spasmogenic Effects of *Scolymus hispanicus* and *Taraxasteryl Acetate* on Isolated Ileum Preparations, *Anadolu University, Medicinal and Aromatic Plant*

- [29] Polo S, Tardío J, Vélez-del-Burgo A, Molina M, Pardo-de-Santayana M. 2009. Knowledge, use and ecology of golden thistle (*Scolymus hispanicus* L.) in Central Spain. *J Ethnobiol Ethnomed.* 5:42. doi:10.1186/1746-4269-5-42.
- [30] Albergamo A, Rotondo A, Salvo A, Pellizzeri V, Bua DG, Maggio A, Cicero N, Dugo G. 2016. Metabolite and mineral profiling of “Violetto di Niscemi” and “Spinoso di Menfi” globe artichokes by ¹H NMR and ICP-MS. *Nat Prod Res.* 31:990–999. doi:10.1080/14786419.2016.1258563. Camacho MDR, Phillipson JD, Croft SL, Solis PN, Marshall SJ, Ghazanfar SA. 2003. Screening of plant extracts for antiprotozoal and cytotoxic activities. *J Ethnopharmacol.* 89:185–191.
- [31] N. Kirimer, Z.Tunalier, K. HüsnU Can Baer, and IpekCingi. Antispasmodic and Spasmogenic Effects of *Scolymus hispanicus* and Taraxasteryl Acetate on Isolated Ileum Preparations, Anadolu University, Medicinal and Aromatic Plant
- [32] M.A. González, M.P. Gómez-Serranillos, T. Ortega, M.E. Carretero and A.M. Villar Complutense. **Analgesic and diuretic activity of *Scolymus hispanicus* L.** University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology, 28040 Madrid, Spain, 1997.
- [33] Font Quer (1990)
- [34] (Duke, 1983)
- [35] Hänsel R, Keller K, Rimpler H, Schneider G. *Drogen E-O.* Berlin : Springer-Verlag, p399-404, 1993.
- [36] K. Anikumar [Enseigner la formulation chimique] Vangelis Antzoulatos 2015.
- [37] (Pharmacopée Européenne. 6ème Ed. 16 juillet 2007.)
- [38] A.Le Hir, J-C Chaumeil, D Brossard. *Pharmacie galénique – Formulation et technologie pharmaceutique.* P.WEHRLE. 9e édition, Maloine. P375)
- [39] (Keita, 2006).
- [40] LAFFORGUE Christine, THIROUX Jannick. *Produits dermo cosmétiques : modes d’emploi.* Éd. Walters Kluwer, 2008.)
- [41] D. Durand, *Les réseaux macromoléculaires et les gels,* Groupe Français des Polymères, chap 5, 1990.
- [42] J. N. Israelachvili, *Intermolecular and Surface forces,* Academic Press, 1985.

- [43] P. G. de Gennes, *Scaling concepts in polymer physics*, Cornell University Press, Ithaca, NY, 1979.)
- [44] (Legrand et Aiache, 1993)
- [45] (www.asso.étude Unige).
- [46] (Legrand et Aiache, 1993 ; www.asso.étude Unige)
- [47],[48] P. WEHRLE . Pharmacie galénique (formulation et technologie pharmaceutique), P201-207.
- [49] les mélanges homogènes CQP Dermocosmétologie pharmaceutique. Toulouse 2012.
- [50] Benhadid S., Maurice S., Devienne G., Lebouché M., Lucius M. 1988 Caractéristiques rhéologiques, coefficients de frottement et écoulement en situation réelle de fluide à seuil. *Rhéologica Acta*, 27, 628-633.
- [51] Yves-Alain BÉKRO, Janat A. MAMYRBEKOVA BÉKRO , Boua B. BOUA , Fézan H. TRA BI & Ehouan E. ÉHILÉ, Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae), *Sciences & Nature* (2007) 4 (2), 217-225
- [52] Yves-Alain BÉKRO, Janat A. MAMYRBEKOVA BÉKRO, Boua B. BOUA, Fézan H. TRA BI & Ehouan E. ÉHILÉ, Étude ethnobotanique et screening phytochimique de *Caesalpinia benthamiana* (Baill.) Herend. et Zarucchi (Caesalpinaceae), *Sciences & Nature* (2007) 4 (2), 217-225
- [53] (BENDJELALI et al. 1986).
- [54] Choplin, L. and P. Marchal, La rhéologie systémique ou une rhéologie au service d'un génie des procédés et des produits. *Rhéologie*, 2007. **12**: p. 9-18.
- [55] Traore, F., Proposition de formulation d'un sirop antipaludique a base de argemone mexicana l. papaveraceae. *Médecine, de Pharmacie et d'Odonto Stomatologie du Mali*, 2010. **94**.
- [56] Frelichowska, J., *Émulsions stabilisées par des particules solides: études physico-chimiques et évaluation pour l'application cutanée*, 2009, Université Claude Bernard-Lyon I.