

République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université A. Mira de Bejaia



Faculté de Technologie
Département de Génie des procédés
Laboratoire génie pharmaceutique

Mémoire EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE Master

Domaine : Science et Technologie Filière : Génie des Procédés
Spécialité : Génie pharmaceutique

Présenté par

Kaddour Elyana

&

Maouche Zine Ela

Thème

Encapsulation des huiles essentielles par les cyclodextrines

Soutenue le 24 / 06 / 2024

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade	Affiliation	Qualité
Mr AZZOUG Moufok	Professeur	Université de Béjaïa	Président
Mr REZGUI Farouk	Professeur	Université de Béjaïa	Examinateur
Mr FATMI Sofiane	Professeur	Université de Béjaïa	Encadrant
M ^{me} LAZREG Hayet Ahlem	Doctorante	Université de Béjaïa	Co- Encadrant

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciements

Avant tout propos, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude au bon Dieu Tout-Puissant, qui nous a guidé et nous a donné la force, la volonté, et le courage nécessaires pour mener à bien ce travail.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre encadrant, Mr. FATMI Sofiane, pour sa confiance, sa patience, et sa pédagogie sans faille. Son expertise et son soutien constant ont été des moteurs inestimables tout au long de notre parcours. Nous souhaitons également exprimer notre profonde reconnaissance à notre co-encadrante, Mme LEZREG Ahlem, pour ses compétences, sa bienveillance, et sa disponibilité inépuisable. Ses conseils avisés et son encouragement ont été déterminants pour la réussite de ce travail.

Nous exprimons notre gratitude envers les membres du jury, Mr. AZZOUG, pour avoir accepté la présidence du jury, et Mr. REZGUI, pour avoir examiné notre travail avec attention et rigueur.

Nos remerciements vont aussi à tous les enseignants et responsables de la Faculté des Sciences et Technologies de Béjaia, en particulier au département de Génie des Procédés et les ingénieurs de son laboratoire, pour leurs efforts continus et la qualité exceptionnelle de la formation qu'ils nous ont dispensé tout au long de notre cursus universitaire.

Nous tenons à exprimer nos remerciements les plus sincères à Mme Toutou Zahra, pour son soutien précieux et son aide tout au long de ce travail. Merci pour votre encouragement constant et pour avoir partagé votre savoir avec tant de générosité.

Enfin, nous tenons à exprimer notre reconnaissance à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Nos familles respectives et nos amis méritent une mention spéciale pour leur amour, leur affection, leur soutien indéfectible, et l'énergie positive qu'ils n'ont cessé de nous insuffler.

Dédicaces - Zine El

À mon défunt père,

Cet homme exceptionnel qui n'a jamais cessé de m'encourager et qui, par ses enseignements, m'a inculqué les valeurs essentielles tout en m'incitant à poursuivre mes rêves sans limites.

À ma mère,

Mon paradis sur terre, la personne qui ne cesse jamais de sacrifier son temps et son bonheur pour ma réussite. Aucune dédicace ne saurait exprimer pleinement l'amour que je te porte et la gratitude que j'ai pour tes efforts incessants.

À mon mari,

Pour son amour inconditionnel et sa patience infinie, je te remercie chaleureusement pour ton soutien moral indéfectible et tes nombreux conseils tout au long de mon cursus.

À mes chers frères, Youcef et Mehdi, l'épaule solide, l'oreille attentive, et ma force incommensurable. Je vous dois tant et vous êtes une source inestimable de soutien.

À mes chères cousines et confidentes : Kahina, Tinhinane, Zora, Thiziri, Yasmine, Nesrine, Souhila. Je vous remercie de m'avoir soutenue et épaulée pour atteindre mes objectifs, quelles que soient les conditions.

À mes chères tantes : Lynda, Rafika, et Malika. Merci pour votre soutien moral et vos précieux conseils tout au long de mes études.

À mes adorables nièces : Hafsa, Djouwayria, Imene, Djamila et Maria. Mes précieuses, que je considère comme mes propres enfants.

À mes beaux-parents et mes beaux-frères, Pour votre accueil chaleureux et votre soutien constant.

À mes très chères amies : Maya, Celia, Yousra, Chanez, Liza, Romaiassa, Kenza, Sofia, Azaria, Rachel. Symbole d'amitié sincère et de fidélité. Avec vous, j'ai appris que tout est surmontable.

À toute la promotion 2019/2024, et mes chers camarades de la spécialité GPH, Pour les moments partagés et le soutien mutuel.

À toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, Votre aide précieuse est inestimable.

Dédicaces - Elhana

À mes parents,

Pour votre amour inconditionnel, votre soutien indéfectible et vos encouragements constants. Vous avez toujours cru en moi et m'avez donné la force de poursuivre mes rêves. Ce mémoire est dédié à vous, en reconnaissance de tous les sacrifices que vous avez faits pour moi.

À ma tante,

Pour ton amour incommensurable, ton soutien indéfectible et tes encouragements constants. Ta présence bienveillante et tes conseils avisés ont été une source inestimable de force et d'inspiration tout au long de ce parcours.

Merci pour ta générosité, ta sagesse et ta patience. Ce mémoire est dédié à toi, en reconnaissance de tout ce que tu as fait pour moi.

À la mémoire de mes grands-parents,

Pour votre amour, votre sagesse et les valeurs que vous m'avez transmises. Bien que vous ne soyez plus parmi nous, votre influence continue de guider mes pas chaque jour.

Merci pour les souvenirs précieux et les leçons de vie que vous m'avez laissés. Ce mémoire est dédié à vous, en hommage à votre héritage et à l'impact indélébile que vous avez eu sur ma vie.

À mes amis,

Pour votre amitié précieuse, votre soutien et vos moments de joie partagés. Vous avez rendu cette aventure plus agréable et plus enrichissante.

À mes enseignants,

Pour votre guidance, votre patience et votre savoir. Vous m'avez permis de développer mes compétences et de réaliser ce travail avec rigueur et passion.

À tous ceux qui ont cru en moi et m'ont soutenu,

Merci de tout cœur.

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale	1
Partie 1 : Etude bibliographique	4
Chapitre I : Les huiles essentielles	4
I.1. Introduction.....	4
I.2. Définition.....	4
I.3. Extraction des huiles essentielles.....	4
I.4. Répartition botanique et localisation des huiles essentielles.....	5
I.5. Les techniques d'extraction des huiles essentielles.....	5
I.5.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.....	5
I.5.2. Extraction par hydrodistillation.....	6
I.5.3. Extraction à froid.....	7
I.5.4. Extraction par CO ₂ supercritique.....	7
I.5.5. Extraction assistée par micro-onde.....	8
I.5.6. Extraction par solvants volatils.....	9
I.6. Les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles.....	9
I.7. Composition chimique de l'huile essentielle.....	10
I.7.1. Les composés terpéniques.....	10
I.7.2. Les monoterpènes.....	10
I.7.3. Les sesquiterpènes.....	10
I.7.4. Les phénylpropanoïdes.....	11
I.8. Méthodes d'identifications et d'analyses chimiques.....	11
I.8.1 Techniques chromatographiques de séparation.....	11
I.8.1.1 Chromatographie sur couche mince (CCM).....	11
I.8.1.2 Chromatographie en phase gazeuse (CPG).....	11
I.8.2. Techniques de couplage.....	13
I.8.2.1. Le couplage CPG-SM.....	13
I.9. Domaine d'utilisation des huiles essentielles.....	13
I.9.1 Industrie agroalimentaire.....	13
I.9.2. Phytothérapie.....	13
I.9.3. Pharmacie.....	14

I.9.4	Cosmétique et parfumerie	14
I.10.	Etude de cas : le Romarin et l'Armoise	14
I.10.1.	Le Romarin (<i>Rosmarinus Officinalis</i>)	14
I.10.1.1.	Composition et profil chimique (chénotype).....	15
I.10.1.2.	Description et identité botanique	16
I.10.1.3.	Principaux composants	16
I.10.1.4.	Applications et domaines d'utilisation	16
I.10.2.	L'armoise blanche (<i>Artemisia herba-alba</i>)	17
I.10.2.1.	Description botanique	17
I.10.2.2.	Classification de l'armoise blanche	18
I.10.2.3.	Composition chimique de l'huile essentielle de l'armoise blanche.....	18
I.10.2.4.	Usage traditionnel de l'Armoise blanche	19
I.11.	Principaux composants chimiques utilisés dans l'étude	19
I.11.1.	1-8 Cinéole : l'eucalyptol	19
I.11.1.2	Propriétés physicochimiques	20
I.11.2.	Le camphre	20
I.11.2.1	Propriétés physicochimiques	21
Chapitre II : Les cyclodextrines.	23
II.1	Définition.....	23
II.2	Les cyclodextrines	24
II.2.1	Historique.....	24
II.2.2	La structure chimique des cyclodextrines et leur production	26
II.2.3	Propriétés physico-chimiques des cyclodextrines	28
II.2.3.1	Cyclodextrines natives	28
II.2.3.2	Cyclodextrines modifiées.....	29
II.2.4	Stabilité des cyclodextrines en solution.....	31
II.2.5	Toxicité des cyclodextrines.....	31
II.2.6	Applications des cyclodextrines	32
II.2.6.1	Domaine pharmaceutique	32
II.2.6.2	Domaine agro-alimentaire	33
II.2.6.3	Domaine environnemental	33
II.2.6.3	Domaine industriel du textile.....	34
II.3.	Complexe d'inclusion.....	35
II.3.1.	Définition	35
II.3.2	Mécanisme de formation.....	36

II.3.3 Les « forces conductrices » de la complexation	38
II.3.4 Conséquences de la complexation	38
II.3.5 Techniques de complexation.....	38
II.3.5.1 L'inclusion par cristallisation de la solution (Co-précipitation)	39
II.3.5.2 L'inclusion par pétrissage (Past/Kneading)	39
II.3.5.3 Lyophilisation.....	39
II.3.5.4 L'inclusion par Co-évaporation.....	40
II.3.5.5 L'inclusion à sec.....	40
II.3.5.6 Neutralisation	41
II.3.5.7 L'inclusion en suspension (<i>slurry</i>).....	41
II.3.5.8 L'inclusion en méthode humide (<i>damp</i>)	41
II.3.5.9 L'inclusion par extrusion	41
II.3.6 Caractérisation d'un complexe d'inclusion	42
II.3.6.1 .Méthode spectrophotométrie UV-visible	42
II.3.6.2 La Microscopie Electronique à Balayage (MEB)	42
II.3.6.3 La Diffraction des Rayons X (DRX).....	43
II.3.6.4 La Spectroscopie Infrarouge	44
II.3.6.5 Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN).....	45
II.3.6.5 Analyse calorimétrique différentielle (DSC)	46
II.3.6.6 L'analyse thermogravimétrique (ATG)	46
II.3.6.7 Le test de dissolution.....	47
II.3.7 Diagramme de phase (Diagramme d'Higuchi).....	48
II.3.7.1 Point A.....	49
II.3.7.2 Point B.....	49
II.4 Conclusion	50
Chapitre III : Activités biologiques des huiles essentielles.	52
III.1. Activités biologiques de l'huile essentielle	52
III.1.1. Activités antibactérienne, antifongique et antivirale	52
III.1.2. Activité antioxydante.....	52
III.1.2.1.Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles.....	53
III.2.Stress oxydatif	54
III.2.1. Définition.....	54
III.2.2.Espèces réactives de l'oxygène (ERO).....	55
III.2.2.1.Définition	55
III.2.2.2. Les différents types d'ERO.....	56

III.3. Analyse de sperme avec CASA (Computer Assisted Semen Analysis)	56
III.3.1. Les différentes vitesses de mobilités des spermatozoïdes mesurées par le CASA (Camputer Sperm Analyzer).....	57
III.4. Activités Biologiques du romarin et de l'armoise blanche	58
III.4.1. Activité antioxydante.....	58
III.4.2. Activité antimicrobienne et antifongique	59
III.5 Travaux antérieurs	60
Partie 2 : Pratique et Analyses.	66
Chapitre IV : Matériels et méthodes.	66
IV.1 Courbes d'étalonnages	66
IV.1.1 Matériels	66
IV.1.2 Appareillages	66
IV.1.3 Produits chimiques	66
IV.1.4 Méthode.....	67
IV.2 TEST D'HIGUCHI.....	67
IV.2.1 Matériels	67
IV.2.2 Appareillages	67
IV.2.3 Produits chimiques	67
IV.2.4 Méthode.....	68
IV.3 Préparation des complexes d'inclusion.....	69
IV.3.1 Matériels	69
IV.3.2 Appareillages.....	70
IV.3.3 Produits chimiques	70
IV.3.4 Méthode.....	70
IV.4 Caractérisation des différents traitements seuls et encapsulés.....	71
IV.4.1 Analyse thermogravimétrique (ATG)	71
IV.5 Tests biologiques.....	71
IV.5.1. Test de motilité des spermatozoïdes (déterminations de la VSL)	71
IV.5.1.1 Matériels	71
IV.5.1.2 Appareillages	71
IV.5.1.3 Produits chimiques.....	72
IV.5.1.4 Méthode	72
IV.5.2 Test DDPH	74
IV.5.2.1 Matériels	74
IV.5.2.2 Appareillages	75

IV.5.2.3 Produits chimiques.....	75
IV.5.2.4 Méthode	75
IV.5.3 Test hémolytique	76
IV.5.3.1 Matériels	76
IV.5.3.2 Appareillages	76
IV.5.3.3 Produits chimiques.....	77
IV.5.3.4 Méthode	77
Partie 2 : Pratique et Analyses.....	81
Chapitre V : Résultats et discussion.	81
V.1 Introduction	81
V.2 Diagramme de solubilité	81
V.2.1 Courbes d'étalonnage	81
V.2.2 Diagramme d'Higuchi	83
V.3 Préparation des complexes d'inclusion	88
V.4 Analyse thermogravimétrique (ATG)	89
V.5 Test spermatique.....	93
V.6 L'activité anti-oxydante	96
V.7 Test hémolytique	100
Conclusion générale	102
Références bibliographiques	
Résumé.	

Liste des abréviations

A.herba alba : Artemisia herba alba.

ABS : Absorbance.

AFNOR : Association française de normalisation.

ALH : Amplitude of Lateral Head Displacement.

ATG : Analyse Thermogravimétrique.

BCF : Beat Cross Frequency.

β-CD : Beta-Cyclodextrine.

CASA : Computer Assisted Semen Analysis.

CCM : Chromatographie en Phase Gazeuse.

CDs : Cyclodextrines.

CPG : Chromatographie sur Couche Mince.

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl.

DRX : Diffraction des Rayons X.

DSC : Differential Scanning Calorimetry (Analyse Calorimétrique Différentielle).

ERO : Espèces Réactives de l'Oxygène.

FTIR : Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier.

GC-MS : Chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse.

HEs : Huiles essentielles.

HPβCD : Hydroxypropyl-β-Cyclodextrine.

IR : Spectroscopie Infrarouge.

KBr : Bromure de Potassium.

KND : Kneading.

MβCD : Methyl-β-Cyclodextrine.

MEB : Microscopie Electronique à Balayage.

Mg : Milligramme.

Min : Minute.

ml : Millilitre.

mmol : Millimole.

NaCl : Chlorure de Sodium.

Nm : Nanomètre.

R.officinalis : Rosmarinus officinalis.

RBC : Red Blood Cells.

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

SACD : Acide succinique modifié β -cyclodextrine.

SBE β CD : Sulfobutyl Ether- β -Cyclodextrine.

SL : Suspension.

Tris : Tri-hydroxy-méthyl-aminométhane.

VAP : Average Path Velocity.

VCL : Curvilinear Velocity.

VSL : Straight-Line Velocity.

α -CD : Alpha-Cyclodextrine.

γ -CD : Gamma-Cyclodextrine.

μ g : Microgramme.

μ l : Microlitre.

Liste des figures

Figure I.1 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante.	6
Figure I.2 : L'hydrodistillation traditionnelle.....	6
Figure I.3 : Schéma représentatif de l'extraction à froid.....	7
Figure I.4 : Procédé d'extraction par CO ₂ Super critique.....	8
Figure I.5 : Extraction par solvant assistée par micro-ondes.....	9
Figure I.6 : Schéma représentatif d'un appareillage pour CPG.....	12
Figure I.7 : Le romarin.....	16
Figure I.8 : Artemisia Herba-Alba.	18
Figure I.9 : Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans l'huile essentielle d'Artemisia herba alba.	19
Figure I.10 : Structure du cinéole 1,8.....	20
Figure I.11 : Structure du camphre.....	21
Figure II.1 : Structures chimiques de α , β et γ cyclodextrine.....	23
Figure II.2 : Evolution du nombre de publications (articles, brevets, résumés de conférences, etc.) relatives aux CDs depuis leur découverte.	25
Figure II.3 : Évolution des publications sur les cyclodextrines dans les années 2000 (● Toutes les cyclodextrines, ■ -HP β CD et ▲ SBE β CD).....	25
Figure II.4 : Structure de la Cyclodextrine.....	28
Figure II.5 : Densités de probabilité de présence des molécules d'eau au voisinage des cyclodextrines.	28
Figure II.6 : Propriétés structurales et forme tridimensionnel des cyclodextrines natives.....	29
Figure II.7 : Cyclodextrines modifiées.....	31
Figure II.8 : Les différents domaines d'application des cyclodextrines.....	32
Figure II.9 : Complexe d'inclusion.	35
Figure II.10 : Représentation schématique de complexes d'inclusion 1 :1, 1 :2 , 2 :1 et 2 :2.....	37
Figure II.11 : Empilements possibles de complexes d'inclusion cristallisés des cyclodextrines : (a) chevrons, (b) briques, (c) canal tête-tête.	37
Figure II.12 : Schéma représentatif d'un lyophilisateur.....	39
Figure II.13 : Schéma représentatif d'un rotavapeur.....	40
Figure II.14 : Schéma représentatif du principe de fonctionnement de l'UV-Visible.	42
Figure II.15 : Schéma représentatif d'un microscope électronique à balayage (MEB).	43
Figure II.16 : Schéma explicatif de la DRX présentant les différents angles pris en compte.	44
Figure II.17 : Schéma du principe de la spectrométrie infrarouge.....	45
Figure II.18 : Schéma du principe d'un spectromètre RMN.....	45
Figure II.19 : Schéma représentatif du dispositif expérimental (DSC).....	46

Figure II.20 : Schéma de l'analyseur Thermogravimétrique (ATG).	47
Figure II.21 : Représentation graphique des types de diagramme de solubilité selon la classification de Higuchi et Connors.	49
Figure III.1 : Schéma illustrant le stress oxydatif.	53
Figure III.2 : Le processus d'inhibition du radical DPPH°.	54
Figure III.3 : Illustration de la relation entre les ERO et les antioxydants.	55
Figure III.4 : La neutralisation d'un radical libre par un antioxydant.	56
Figure III.5 : Schéma représentant les différents types de vitesse de mobilité du spermatozoïde.	57
Figure IV.1.1 (1) Cinéole ; (2) Camphre ;(3) Ethanol.	66
Figure IV.2.1. Différentes cyclodextrines utilisées.	68
Figure IV.2.2 Représentation du test d'Higuchi).	69
Figure IV.3.1 Evaporateur rotatif (IKA RV 10 digital).	70
Figure IV.4.1 Analyseur thermique (Parkin elmer STA 8000).	71
Figure IV.5.1 (1) Vortex (VELP scientifica) (2) CASA (3) Plaque chauffante (TRADE Raypa).	72
Figure IV.5.2 Conténants de la solution de tris.	73
Figure IV.5.3 Résumé des étapes du test spermatique.	74
Figure IV.5.4 (1) Balance analytique de précision (Denver instrument) ; (2) Plaque agitatrice multiple (VELP scientifica).	75
Figure IV.5.5 (1) Solution de DPPH ; (2) Test DPPH.	76
Figure IV.5.6 (1) Centrifugeuse (SIGMA 1-14) ; (2) Centrifugeuse (MIKRO 200 R Réfrigérée Hettich) ; (3) Spectrophotomètre UV-visible (JENWAY Genova Bio).	77
Figure IV.5.7 Résumé des étapes du test hémolytique.	79
Figure V.1 : Courbe d'étalonnage du camphre.	82
Figure V.2 : Courbe d'étalonnage du cinéole.	82
Figure V.3 : Diagramme d'Higuchi de l' α -CD-Camphre.	83
Figure V.4 : Diagramme d'Higuchi de la β -CD-Camphre.	84
Figure V.5 : Diagramme d'Higuchi de la γ -CD-Camphre.	84
Figure V.6 : Diagramme d'Higuchi de l'HP- β -CD-Camphre.	85
Figure V.7 : Diagramme d'Higuchi de la β -CD-Cinéole.	85
Figure V.8 : Diagramme d'Higuchi de l'HP- β -CD-Cinéole.	86
Figure V.10 Ballon récupéré de l'évaporateur rotatif.	88
Figure V.10 Différents complexes d'inclusion.	89
Figure V.11 Graphiques thermogravimétriques de l' α -CD, du camphre et du complexe d'inclusion camphre- α -CD.	89
Figure V.12 Graphiques thermogravimétriques de l'HP- β -CD, du cinéole et du complexe d'inclusion cinéole-HP- β -CD.	90

Figure V.13 Histogramme montrant les paramètres de mobilité des spermatozoïdes après l'ajout du camphre et de son complexe à différents temps et concentration.....	93
Figure V.14 Histogramme montrant les paramètres de mobilité des spermatozoïdes après l'ajout du cinéole et de son complexe à différents temps et concentrations.....	94
Figure V.15 Histogramme comparatif de nos traitements à leur concentration optimale les montrant paramètres de mobilité des spermatozoïdes à différents temps.	94
Figure V.16 Histogramme de l'activité antioxydante (Camphre- α -CD).	97
Figure V.17 Histogramme de l'activité antioxydante (Cinéole-HP- β -CD).	98
Figure V.18 Histogramme comparatif de l'activité antioxydante de nos différents traitements.....	98
Figure V.19 Histogramme représentant le pourcentage en HB de nos différents traitements à une seule et même concentration (0,1 mg/ml).....	100

Liste des tableaux

Tableau II.1 : Jalons importants dans l'histoire des cyclodextrines [64].....	26
Tableau II.2 : Propriétés physico-chimiques des principales Cyclodextrines [67].....	29
Tableau II.3 : Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrines dans divers domaines industriels [77].....	34
Tableau III.1 : Exemples de complexes d'inclusion entre les CDs et des composants d'HEs obtenus par différentes méthodes de préparation [73].....	61
Tableau III.2 : Différents travaux antérieurs de l'encapsulation des huiles essentielles.....	62
Tableau IV.1 : Les concentrations du camphre et du cinéole utilisées.....	67
Tableau IV.2 . Les masses des différentes CDs utilisées pour le camphre.....	68
Tableau IV.3 . Les masses des différentes CDs utilisées pour le cinéole.....	69
Tableau V.1 : Constantes de solubilité (K_S) du camphre et du cinéole calculées à partir des différents diagrammes de phases.....	87

Introduction générale

Introduction générale

L'essor des produits naturels dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et alimentaire a conduit à une réévaluation croissante des huiles essentielles (HE) en raison de leurs propriétés biologiques diversifiées. Les huiles essentielles, constituées de métabolites secondaires, deviennent de plus en plus intéressantes en tant que source potentielle de molécules naturelles bioactives. Parmi les nombreuses HE disponibles, celles de l'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*) et du romarin (*Rosmarinus officinalis*) sont particulièrement connues pour leurs effets bénéfiques, notamment leurs activités antimicrobiennes, antifongiques et antioxydantes. Cependant, l'application directe de ces HE est souvent limitée par leur volatilité, leur sensibilité à l'oxydation et leur faible solubilité dans l'eau, ce qui freine leur utilisation optimale dans divers domaines, notamment en pharmaceutique [1].

Le camphre et le cinéole, des composés naturels présents dans diverses plantes médicinales telles que le romarin et l'armoise blanche, sont aussi appréciés pour leurs caractéristiques chimiques et biologiques. Ils constituent des ingrédients essentiels dans différentes applications médicales, cosmétiques et industrielles. Grâce à leur potentiel thérapeutique et à leurs nombreuses applications, ces substances font l'objet de nombreuses recherches [1].

L'encapsulation par les cyclodextrines offre une solution prometteuse pour surmonter ces obstacles. La stabilité et la solubilité des huiles essentielles peuvent être significativement améliorées par la formation de complexes d'inclusion avec ces composés hydrophobes. Les complexes d'inclusion formés à partir de ces molécules sont devenus des modèles couramment utilisés en raison de leurs structures moléculaires uniques et de leur variété d'applications, telles que la solubilisation, la protection physique et chimique, ainsi que la réduction de la volatilité. Une variété d'interactions entre l'hôte et l'invité stabilise la formation de ces complexes d'inclusion, comme les forces de Van der Waals, les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes [2].

Cette approche d'encapsulation par les cyclodextrines soulève donc une question cruciale : **comment l'encapsulation des huiles essentielles par les cyclodextrines peut-elle améliorer leur solubilité et réduire leur volatilité, afin d'élargir leur utilisation dans diverses applications, notamment pharmaceutiques ?** Ce mémoire s'articule autour de cette problématique, en explorant les bénéfices potentiels et les mécanismes sous-jacents de l'encapsulation des composés majoritaires de l'armoise blanche et du romarin (camphre et cinéole) par les cyclodextrines.

Introduction générale

Dans le premier chapitre, nous aborderons les huiles essentielles, en détaillant leurs méthodes d'extraction et les propriétés des composés majoritaires. Le deuxième chapitre sera consacré aux cyclodextrines, en discutant de leur définition, de leurs propriétés et de leur importance dans l'encapsulation. Le troisième chapitre explorera les activités biologiques des huiles essentielles, telles que leurs effets antibactériens, antioxydants, antifongiques et antimicrobiens. Dans le quatrième chapitre, nous présenterons les matériels et méthodes comportant les différents matériels et appareillages utilisés dans l'élaboration de ce mémoire, les courbes d'étalonnage pour le camphre et le cinéole, ainsi que divers tests tels que les tests spermatiques, hémolytiques et DPPH, et la caractérisation par ATG et infrarouge. Enfin, le dernier chapitre sera dédié à la discussion des résultats obtenus au cours de cette recherche.

Partie 1 : Etude bibliographique.
Chapitre I : Les huiles essentielles.

Partie 1 : Etude bibliographique.

Chapitre I : Les huiles essentielles.

I.1. Introduction

Les huiles essentielles représentent des composés naturels précieux issus de plantes aromatiques. Leur utilisation remonte à des siècles, où elles étaient appréciées pour leurs propriétés thérapeutiques, aromatiques et cosmétiques. De nos jours, elles suscitent un intérêt croissant dans divers domaines, notamment en pharmacie, en cosmétique, en aromathérapie, en alimentation et en parfumerie. Dans ce chapitre, nous explorerons les aspects fondamentaux des huiles essentielles notamment leurs effets biologiques tels que : l'effet antioxydant et antibactérien.

I.2. Définition

Malgré l'utilisation courante du terme « huile essentielle », il est très difficile de lui donner une seule définition car ses domaines d'application sont tellement variés qu'il est impossible d'avoir une seule définition qui englobe et reflète toutes ses caractéristiques.

" Les huiles essentielles sont des produits odorants, volatils du métabolisme secondaire d'une plante aromatique, généralement formées dans des cellules spécialisées ou groupe de cellules" [3].

Les huiles essentielles sont des combinaisons de composés lipophiles, volatils et souvent liquides qui sont fabriqués et conservés dans certains tissus végétaux spécifiques. Elles contribuent à l'odeur distinctive de la plante [4].

Selon la définition de l'AFNOR, l'huile essentielle est "un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation".

La phase aqueuse est séparée physiquement de l'huile essentielle. La définition est limitée car elle exclut les produits extraits à l'aide de solvants ainsi que ceux obtenus par d'autres méthodes (gaz sous pression, fleurage).

I.3. Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances volatiles et aromatiques extraites à partir de diverses parties des plantes, telles que les feuilles, les fleurs, les tiges, les racines et les écorces. Elles sont souvent obtenues par des méthodes d'extraction telles que la distillation à la vapeur d'eau, l'expression à froid, l'extraction par solvant. Chaque méthode d'extraction est adaptée aux caractéristiques des plantes et aux composés que l'on souhaite obtenir [5].

I.4. Répartition botanique et localisation des huiles essentielles

Seulement dix pour cent des espèces végétales, soit 700 000, sont considérées comme aromatiques, ce qui signifie qu'elles synthétisent et secrètent des infimes quantités d'huiles essentielles [6].

Les appareils sécréteurs des organes végétaux (feuilles, fleurs, écorces, bois racine, fruit et graine) contribuent à la synthèse des huiles essentielles. Ces dispositifs sont fréquemment placés sur ou à proximité de la surface du végétal et c'est l'espèce à laquelle l'arbre ou la plante qui déterminera lequel entrera en action est : Les labiées et les géraniacées ont des poils sécréteurs externes, des cellules sécrétrices, des Lauracées, des Magnoliacées et des Pipéracées, des poches sécrétrices, des Myrtacées, des Rosacées et des Rutacées, et des canaux sécréteurs pour les ombellifères et les conifères [6].

La molécule majoritairement présente dans une huile essentielle est connue sous le nom de chémotype, une forme de classification chimique, biologique et botanique. Le climat, le sol, la période de récolte, le choix de la méthode d'extraction et d'autres facteurs peuvent influencer la composition de l'HE [6].

I.5. Les techniques d'extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles doivent être extraites de leur matrice avant de pouvoir être utilisées ou analysées. Plusieurs techniques d'extraction ont été développées [7].

I.5.1. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

On dispose le matériel végétal sur une grille perforée à travers laquelle la vapeur d'eau passe. Les cellules végétales sont endommagées par la vapeur, ce qui libère les molécules volatiles qui sont ensuite dirigées vers le réfrigérant. Cette approche permet d'améliorer la qualité de l'huile essentielle en réduisant au minimum les modifications hydrolytiques [8].

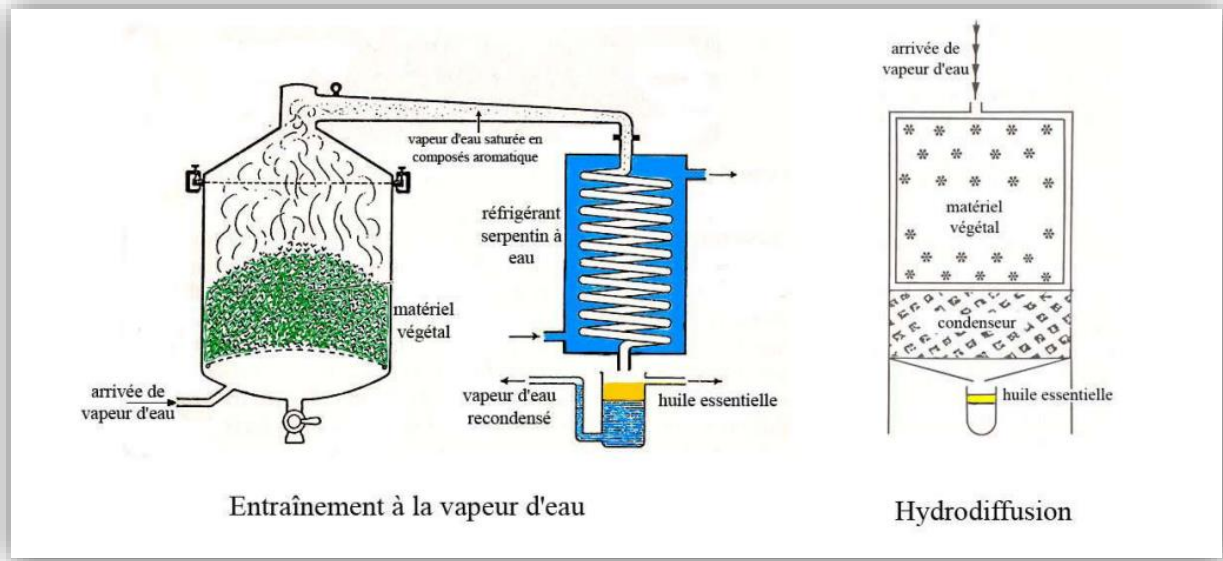


Figure I.1 : Entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante.

I.5.2. Extraction par hydrodistillation

L'hydrodistillation est un procédé qui implique d'immerger la biomasse végétale dans un alambic rempli d'eau (aujourd'hui remplacé par un Clevenger), puis de la faire bouillir. La pression de vapeur du corps pur est égale à la vapeur d'eau et à l'essence libérée par le vapeur d'un composant. Cette méthode repose sur un principe simple et son équipement n'est pas coûteux [9].

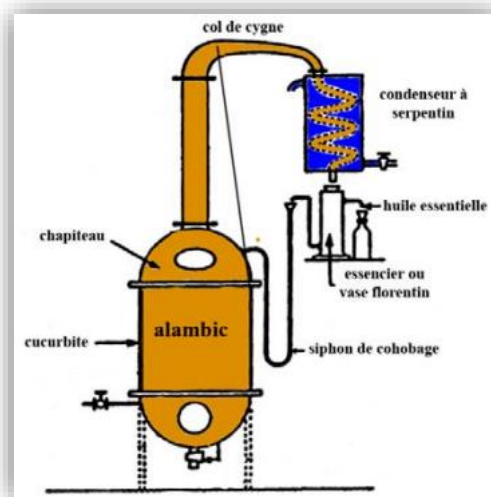


Figure I.2 : L'hydrodistillation traditionnelle.

I.5.3. Extraction à froid

On utilise cette méthode d'extraction pour obtenir des essences d'agrumes ou d'hespéridés tels que la bergamote, le citron, la mandarine, etc. Le zeste, la partie supérieure de l'écorce de ces fruits, contient de l'huile essentielle. La technique dite (à l'écuelle) était autrefois de frotter le fruit, à la main, dans un bol en bois rempli de picots. Le jus était collecté en utilisant une éponge, puis exprimé dans un récipient avant d'être filtré. En ce moment, on compresse les fruits à froid ; on sépare l'huile essentielle et le jus recueillis par centrifugation. La méthode rapide et efficace offre une essence de qualité supérieure [10].

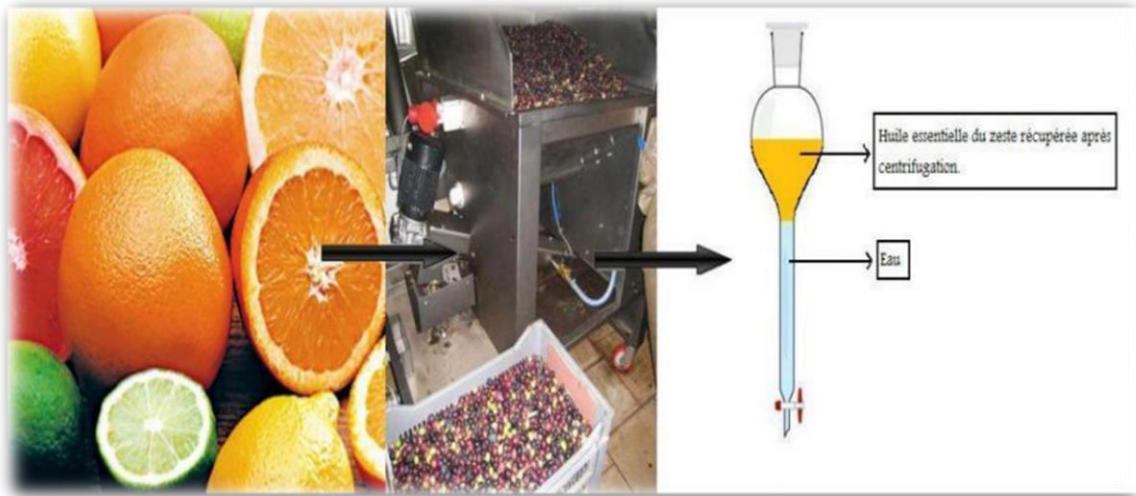


Figure I.3: Schéma représentatif de l'extraction à froid.

I.5.4. Extraction par CO2 supercritique

Le CO₂ offre la possibilité d'extraire dans le domaine supercritique et de séparer dans le domaine atomique. On le refroidit et on le comprime à la pression d'extraction désirée, puis on l'injecte dans l'extracteur contenant le matériau vivant. Une fois que le liquide se détend, il se transforme en gaz et est ensuite transporté vers un séparateur où il sera séparé en extrait et en solvant [11].

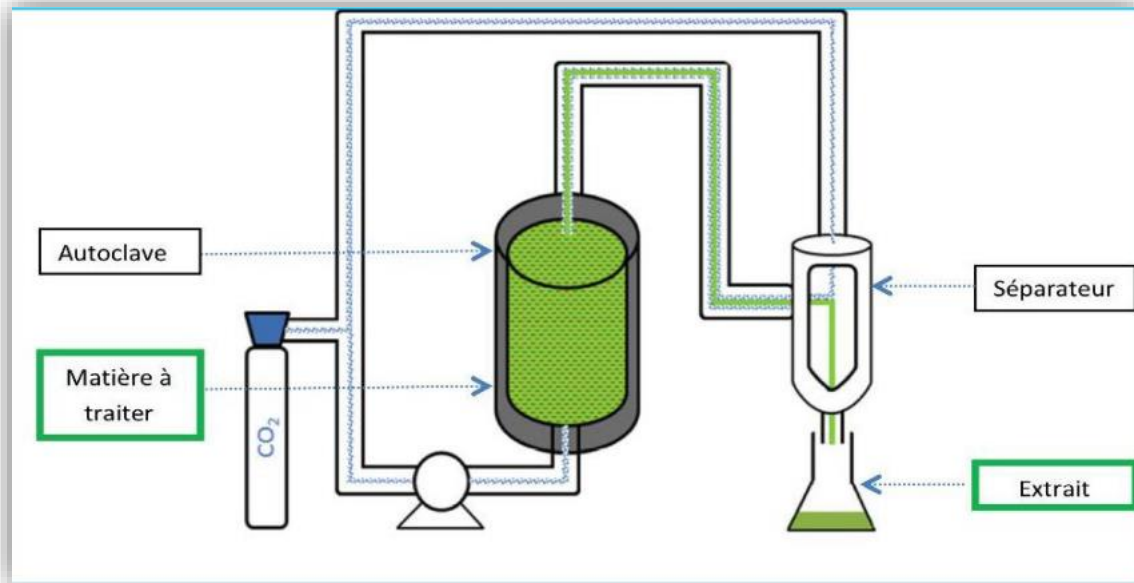


Figure I.4: Procédé d'extraction par CO₂ Super critique.

I.5.5. Extraction assistée par micro-onde

Le procédé d'extraction par micro-ondes, connu sous le nom de "Vacuum Microwave Hydro distillation", a été développé ces dernières décennies à des fins analytiques. Ce procédé implique l'irradiation par micro-ondes de matière végétale broyée en présence d'un solvant absorbant fortement les micro-ondes, tel que le méthanol, pour l'extraction de composés polaires, ou en présence d'un solvant n'absorbant pas les micro-ondes, comme l'hexane, pour l'extraction de composés apolaires. La matière est chauffée sans jamais atteindre l'ébullition pendant de courtes périodes, entrecoupées par des étapes de refroidissement. L'avantage principal de ce procédé est la réduction significative de la durée de distillation et l'obtention d'un bon rendement d'extract [12].

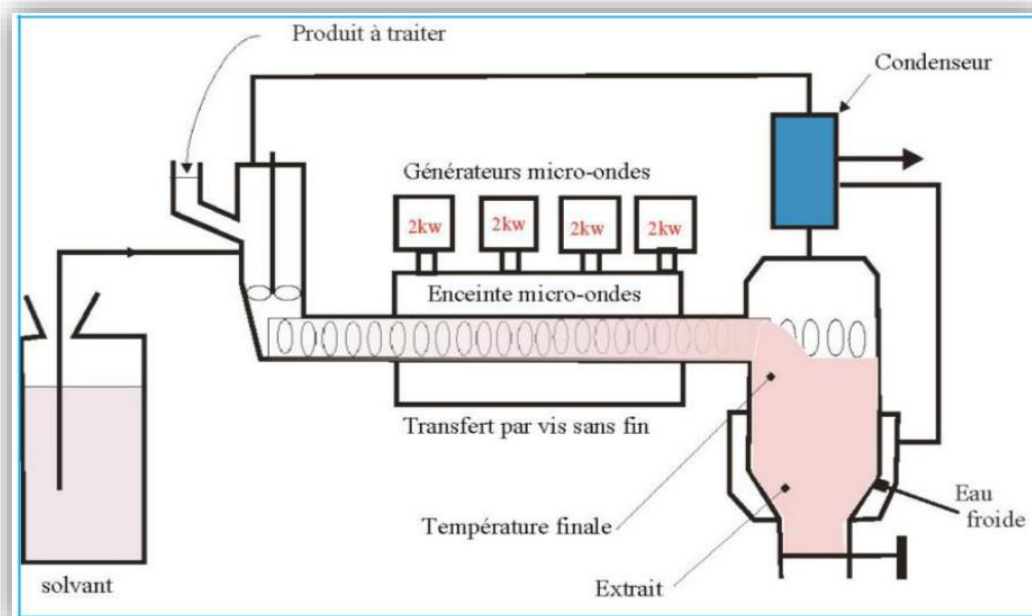


Figure I.5: Extraction par solvant assistée par micro-ondes.

I.5.6. Extraction par solvants volatils

La méthode la plus pratique est l'extraction par solvant organique volatil. Actuellement, les solvants les plus couramment employés sont l'hexane, le cyclohexane, l'éthanol, moins souvent le dichlorométhane et l'acétone [13].

Selon la méthode et le solvant employés, on obtient :

- Les hydrolysats se produisent en utilisant un solvant en présence d'eau.
- Les alcoolats sont extraits à partir d'éthanol dilué, puis traités avec de l'éthanol ou des mélanges d'éthanol/eau.
- L'utilisation limitée de l'extraction par solvants est utilisée pour les rétinoides ou les extraits éthanoliques concentrés, en raison de la protection de l'environnement [14].

I.6. Les caractéristiques physico-chimiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles diffèrent des huiles fixes en raison de leur volatilité à température ambiante. Elles ne sont colorées que rarement. Ils ont généralement une densité inférieure à celle de l'eau (les huiles essentielles de girofle ou de cannelle sont exceptionnelles). En raison de leur indice de réfraction élevé, la majorité d'entre elles se transforment en lumière polarisée.

Les huiles essentielles peuvent être solubles dans les alcools, les huiles fixes et la majorité des solvants organiques [15]. Il est important de les conserver à l'abri de la lumière et

de l'humidité car ils sont très altérables, sensibles à l'oxydation et ont tendance à se polymériser, ce qui entraîne la formation de produits résineux [16].

I.7. Composition chimique de l'huile essentielle

Les huiles essentielles sont des mélanges très complexes du point de vue chimique. En fonction de leur voie de biosynthèse, ils sont classés en deux catégories : les terpénoïdes (composés terpéniques) et les phénylpropanoïdes [17]. De plus, ils peuvent inclure une variété de produits provenant du processus de dégradation qui implique des composants non volatils [18].

I.7.1. Les composés terpéniques

Les composés terpéniques sont des hydrocarbures de structure cyclique ou de chaîne ouverte qui se trouvent dans la nature. Leur squelette contient des unités isopréniques (C_5H_8) [19]. L'IPP (isopentylpyrophosphate) est le composant principal, qui est obtenu à partir de l'Acétyl CoA, qui est obtenu directement du fructose en tant que PEP (phosphoenolpyruvate). Ils sont classés en fonction du nombre d'entités isoprènes :

- **Monoterpènes** : sont constitués de deux isoprènes ($C_{10}H_{16}$).
- **Sesquiterpènes** : sont constitués de trois isoprènes ($C_{15}H_{24}$).
- **Diterpènes** : sont constitués de quatre isoprènes ($C_{20}H_{32}$).
- **Tetraterpènes** : sont des isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes.
- **Polyterpènes** : leur formule générale est (C_5H_8) ou n se situe entre 9 et 30.
- **Terpénoïdes** : sont des terpènes qui possèdent une ou plusieurs propriétés chimiques, telles que l'alcool, les aldéhydes, la cétone ou l'acide. Un certain nombre de substances chimiques se rattachent à ces terpènes [20].

I.7.2. Les monoterpènes

La majorité des constituants des HE sont des monoterpènes, qui sont des volatils à odeur souvent agréable. Ils peuvent être acycliques (myrcène, ocimène), monocycliques (terpinène, p-cimène) ou bicycliques (pinène, sabinène, camphène).

I.7.3. Les sesquiterpènes

C'est la classe de terpènes la plus variée. Elle contient plus de 3000 molécules, y compris le β -caryophyllène, β -bisabolène, α -humulène, α -bisabolol et le farnesol [20].

I.7.4. Les phénylpropanoïdes

Les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (C6-C3) sont également présents dans les huiles essentielles, mais ils sont moins courants que les terpènes et ont une biogenèse complètement différente. Les acides aminés aromatiques phénylalanine et tyrosine sont biosynthétisés pour produire des phénylpropanoïdes, également appelés composés phénoliques. La présence d'un groupement hydroxyle fixé à un cycle phényle les caractérise généralement [21].

Certains de ces composés sont fréquemment des alkyl- et propenyl phénols, parfois des aldéhydes, qui sont caractéristiques de certaines huiles essentielles d'Apiacées (anis, fenouil : anéthole, anisaldehyde, estragole, persil : apiole), ainsi que de celles du girofle (eugénol), de la muscade (safrol, eugénol), de l'estragon (eugénol), du basilic (eugénol), de l'acore (asarone) ou de la cannelle (cinnamaldéhyde, eugénol, safrol) [22].

I.8. Méthodes d'identifications et d'analyses chimiques

Il existe de nombreuses méthodes pour analyser les huiles essentielles et les extraits végétaux, y compris la chromatographie de séparation des composants chimiques, la spectroscopie et le couplage [23].

I.8.1 Techniques chromatographiques de séparation

I.8.1.1 Chromatographie sur couche mince (CCM)

Il s'agit de la technique chromatographique la plus couramment utilisée et la première à fournir des informations simples sur les caractéristiques physicochimiques des composants d'un mélange. Cette méthode doit être utilisée pour déterminer rapidement les différentes voies et/ou familles chimiques présentes dans une huile essentielle spécifique [23].

I.8.1.2 Chromatographie en phase gazeuse (CPG)

La chromatographie en phase gazeuse permet de s'assurer de l'identité biochimique et du chémotype de l'huile essentielle en séparant les molécules d'un mélange complexe. 0,2 à 0,5 ml d'échantillon d'huile essentielle sont injectés dans le chromatographe à chaleur tournante. La chaleur du four le transformera en gaz pendant 1 à 2 minutes [24]. Lorsque le gaz vecteur (azote, hydrogène, hélium et air comprimé) augmente la température, le composant sensible à cette température est propulsé vers le sommet du four où il est transporté et soufflé vers une colonne capillaire. Dans cette colonne, les molécules de l'huile essentielle injectée sont classées en fonction de leur affinité avec la phase stationnaire. Cela entraîne une rétention

chromatographique ; Plus le composé sera proche de la phase stationnaire, plus il aura de temps pour sortir de la colonne. Le composant s'étend sur toute la colonne jusqu'au point où le détecteur émet un signal, qui est représenté par un pic. Le temps de rétention correspondant à chaque pic est le temps s'écoulant entre l'injection de l'échantillon et l'apparition du signal maximum du soluté au détecteur.

Les indices pour identifier chaque composant sont établis à partir d'un ensemble d'alcanes ou plus rarement d'esters méthyliques linéaires, à température constante (indice de Kováts) [25], ou dans le domaine de la programmation de température (indices de rétention) [26]. On compare les coefficients de rétention polaire (IRP) et apolaire (IRA) des échantillons étudiés aux valeurs référencées disponibles dans des bases de données labo, commerciales et publiées dans la littérature scientifique [27].

Pour une analyse approfondie, il est courant d'associer les chromatographes à d'autres équipements analytiques tels que la spectroscopie infrarouge ou la spectrométrie de masse [28].

Cette méthode d'analyse offre plusieurs avantages, tels qu'elle permet de repérer les fraudes et de mesurer précisément le pourcentage de chaque constituant pour chacune des catégories chimiques. De plus, conformément aux normes internationales, cette procédure de contrôle de performance globale (CPG) est nécessaire pour assurer la qualité des huiles essentielles employées dans des fins thérapeutiques [29].

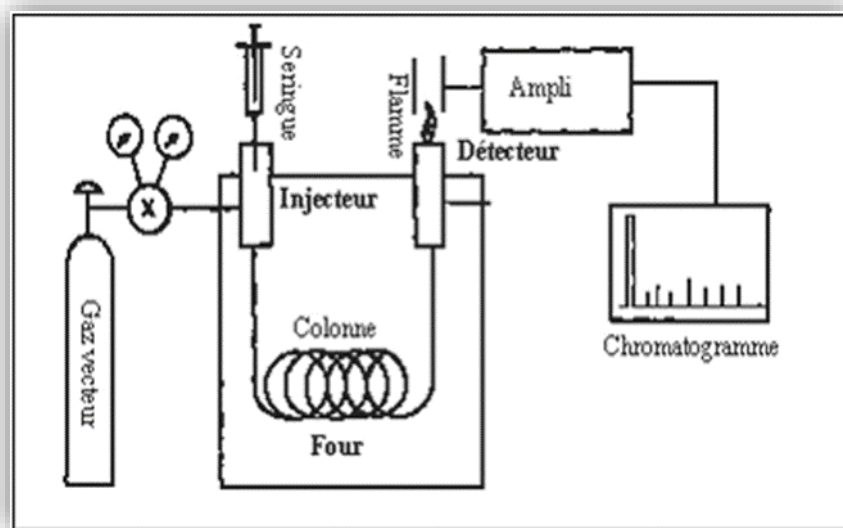


Figure I.6: Schéma représentatif d'un appareillage pour CPG.

I.8.2. Techniques de couplage**I.8.2.1. Le couplage CPG-SM**

Dans le domaine des huiles essentielles, le couplage de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse (GC-MS) est la méthode la plus couramment utilisée. L'association de ces deux techniques donne un instrument d'analyse particulièrement performant [30]. Les molécules sélectionnées séquentiellement dans la phase stationnaire de la colonne CPG sont ensuite ionisées dans la source d'ionisation du spectromètre de masse, ce qui permet d'obtenir des niveaux de sensibilité très élevés [31].

I.9. Domaine d'utilisation des huiles essentielles**I.9.1 Industrie agroalimentaire**

Le consommateur en industrie alimentaire recherche constamment une conservation saine et de longue durée pour les produits consommés ainsi qu'une qualité organoleptique meilleure. L'utilisation d'huiles essentielles est une méthode pour réduire la prolifération des micro-organismes [32].

Les plantes aromatiques comme l'origan, le thym, la sauge, le romarin et les clous de girofle sont fréquemment utilisées comme ingrédients alimentaires. Les huiles essentielles de ces plantes partagent une caractéristique commune : elles sont riches en composés phénoliques tels que l'eugénol, le thymol et le carvacrol. Ces substances ont une forte activité antibactérienne. Le carvacrol est considéré comme l'un des composés les plus actifs et non toxiques. Il est utilisé comme conservateur et comme parfum dans les boissons, les friandises et d'autres produits [33].

Selon plusieurs études, les huiles essentielles de plantes aromatiques telles que le romarin, le thym, l'origan, la cannelle et d'autres ont un effet inhibiteur sur la croissance et la toxigenèse de plusieurs bactéries et champignons responsables de toxi-infections alimentaires [34].

I.9.2. Phytothérapie

En milieu clinique, les huiles essentielles sont utilisées pour traiter les maladies inflammatoires comme les rhumatismes, les allergies ou l'arthrite, ainsi que certaines maladies internes et externes telles que les infections bactériennes ou virales, les troubles humoraux ou nerveux [35].

Ces dernières années, les chercheurs se sont penchés sur les huiles essentielles pour leur potentiel thérapeutique varié et leur potentielle activité contre le cancer. Par conséquent, les huiles essentielles et leurs composants volatils sont actuellement étudiés dans le but de créer de nouveaux produits naturels anticancéreux [36].

I.9.3. Pharmacie

Les terpènes phénoliques, tels que le thymol et le carvacrol, sont fréquemment utilisés dans les préparations pharmaceutiques comme antiseptiques, antibactériens et antifongiques [37].

I.9.4 Cosmétique et parfumerie

Grâce à leurs propriétés antiseptiques et antioxydantes et à leur odeur agréable, l'utilisation d'huiles essentielles dans les crèmes et les gels permet de préserver ces cosmétiques [38]. Les produits de beauté, les parfums, les articles de toilette et les produits d'hygiène les utilisent également [39].

I.10. Etude de cas : le Romarin et l'Armoise

Cette première partie théorique se concentre spécifiquement sur deux plantes aromatiques célèbres : le romarin (*Rosmarinus officinalis*) et l'armoise (*Artemisia herba alba*).

Le romarin est reconnu pour ses propriétés stimulantes, tonifiantes et antioxydantes, alors que l'armoise est réputée pour ses propriétés digestives, antispasmodiques et anti-inflammatoires. Leur utilisation traditionnelle et leur potentiel thérapeutique en font des sujets d'étude pertinents dans le domaine du génie des procédés pharmaceutiques.

En explorant les propriétés, les méthodes d'extraction et les applications spécifiques du romarin et de l'armoise, cette partie théorique vise à approfondir notre compréhension de ses huiles essentielles et de leur importance dans divers contextes scientifiques et industriels.

I.10.1. Le Romarin (*Rosmarinus Officinalis*)

Environ 258 genres et 6900 espèces différentes font partie de la famille des lamiacées, également appelée labiées. Cependant, la majorité de ces espèces vivent dans le bassin méditerranéen, comme le thym, la lavande et le romarin. Elle est divisée en deux principales sous-familles : les Stachyoideae et les Ocimoideae. Les lamiacées sont des herbacées, parfois sous-arbrisseaux ou ligneuses, ayant la consistance et la couleur de l'herbe. La majorité de ces plantes sont aromatiques et riches en huile essentielle, ce qui explique leur intérêt économique

et médical. La famille Lamiaceae contient de nombreux genres qui produisent des terpénoïdes, des flavonoïdes et des iridiodes glycosylés [40].

Le romarin a donné le nom de rose de mer parce qu'il pousse naturellement près de la mer. C'est un arbrisseau de 50 cm à 1 mètre et plus, toujours vert, très aromatique, très rameux et très feuilleté. Les fleurs ont une couleur bleu pâle ou blanc. Les branches les plus âgées ont des écorces qui s'écaillent et dégagent une forte odeur [41].

Rosmarinus officinalis est le nom scientifique du romarin, qui fait partie de la famille des Lamiaceae et sa floraison entre janvier et mai. La couleur blanc grisâtre de son pollen est un signe distinctif [42].

Examinons plus en détail chaque aspect du romarin :

I.10.1.1. Composition et profil chimique (chémotype)

Le romarin (*Rosmarinus officinalis*) est une plante aromatique riche en composés chimiques. Son profil chimique, ou chémotype, peut varier selon plusieurs facteurs, y compris la variété de romarin, son habitat, les conditions de croissance et la méthode d'extraction des huiles essentielles. Les principaux composants du romarin comprennent le 1,8-cinéole, le camphre, le pinène, le camphène, le limonène et l'alpha-pinène. Ces composés confèrent au romarin ses propriétés thérapeutiques et aromatiques uniques.

- Le **1,8-cinéole**, également connu sous le nom d'eucalyptol, est un monoterpène oxygéné présent en grande quantité dans certaines variétés de romarin. Il est réputé pour ses propriétés expectorantes, anti-inflammatoires et antispasmodiques.
- Le **camphre** est un cétonne bicyclique qui possède des propriétés analgésiques, antiseptiques et stimulantes.
- Le **pinène** est un monoterpène présent dans de nombreuses huiles essentielles, offrant des propriétés anti-inflammatoires, antiseptiques et stimulantes.
- Le **camphène** est un autre monoterpène qui contribue aux propriétés expectorantes et anti-inflammatoires du romarin.
- Le **limonène** est un monoterpène largement utilisé pour ses propriétés antioxydantes, stimulantes et aromatiques.
- L'**alpha-pinène** est un isomère du pinène et possède des propriétés similaires, notamment des effets anti-inflammatoires et expectorants [43].

I.10.1.2. Description et identité botanique

Le romarin peut atteindre une hauteur jusqu'à 1,50 mètre. Il a des feuilles coriaces et persistantes, sans pétiole, légèrement enroulées aux bords, d'un vert sombre sur le dessus et blanchâtres en dessous, et une forte odeur de camphrée. Les fleurs ont une couleur allant du bleu pâle au violet [44].

Le romarin est originaire de la région méditerranéenne, mais il est également cultivé dans d'autres régions du monde pour ses utilisations médicinales, culinaires et cosmétiques. Il pousse bien dans les climats chauds et secs et peut être trouvé dans des jardins, des parcs et des zones sauvages.



Figure I.7: Le romarin.

I.10.1.3. Principaux composants

Les composants chimiques du romarin sont responsables de ses multiples propriétés thérapeutiques et aromatiques. En plus des principaux composants mentionnés précédemment, le romarin contient également des acides phénoliques, tels que l'acide rosmarinique et l'acide caféique, qui contribuent à ses propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires [45].

I.10.1.4. Applications et domaines d'utilisation

Le romarin est cultivé fréquemment pour son huile essentielle. La médecine traditionnelle utilise ses parties aériennes par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et agir comme antispasmodique. Il est considéré comme bénéfique pour gérer l'érosion du sol [45]. Pendant des siècles, l'huile de romarin a été largement utilisée comme un ingrédient dans les produits de beauté, les savons, ainsi que pour l'assaisonnement et la conservation des aliments [46].

Le romarin est utilisé dans de nombreux domaines [47] :

- **En cuisine** : Les feuilles de romarin fraîches ou séchées sont utilisées pour parfumer les plats, en particulier les viandes, les poissons, les sauces et les soupes.
- **En cosmétique** : Les extraits de romarin sont utilisés dans la fabrication de produits de soins de la peau et des cheveux pour leurs propriétés antioxydantes et tonifiantes.
- **En aromathérapie** : L'huile essentielle de romarin est utilisée pour ses propriétés stimulantes, tonifiantes et revitalisantes.
- **En pharmacie** : Le romarin est utilisé dans la préparation de produits pharmaceutiques pour ses propriétés médicinales, notamment pour soulager les douleurs musculaires et articulaires, améliorer la circulation sanguine, stimuler la digestion et renforcer la mémoire et la concentration.

I.10.2. L'armoise blanche (*Artemisia herba-alba*)

I.10.2.1. Description botanique

Artemisia herba-alba est une espèce de plantes steppiques de la famille des Astéracées, un petit chamaéphyte à tiges ligneuses très ramifiées et très feuillues, mesurant de 30 à 80 cm de haut [48]. Les feuilles sont allongées, argentées, de taille variable en fonction des variétés, pouvant varier de 2 à 3 cm chez les variétés courantes. Les feuilles inférieures sont pétiolées, profondément bipinnatiséquées avec un segment terminal souvent trifide. Au cours de l'inflorescence, les feuilles supérieures ou caulinaires diminuent et se transforment en bractées sessiles. On retrouve les capitules homogènes en grappe et en une longue panicule. Ce sont des arbustes à peu près sessiles, cylindracés, petits, avec cinq fleurs hermaphrodites [49].

L'armoise blanche présente de nombreuses racines obliques qui pénètrent généralement à 20 à 30 cm dans le sol et s'étendent horizontalement jusqu'à 50 cm, avec une rhizosphère peu profonde [50].



Figure I.8: Artemisia Herba-Alba.

I.10.2.2. Classification de l'armoise blanche

La classification botanique de l'*Artemisia herba-alba* a été établie par [51] :

- Règne : Plantae ;
- Sous-règne : Tracheobionta ;
- Division : Magnoliophyta ;
- Classe : Magnoliopsida ;
- Sous-classe : Asteridae ;
- Ordre : Asterales ;
- Famille : Asteraceae ;
- Genre : *Artemisia* ;
- Espèce : *Artemisia herba alba*.

I.10.2.3. Composition chimique de l'huile essentielle de l'armoise blanche

Au cours des dernières décennies, des études approfondies ont été menées sur l'huile essentielle de l'armoise blanche, et la variété de la composition phytochimique de cette huile recueillie dans divers pays a donné lieu à de nombreux chemotypes. En règle générale, l'huile contient des monoterpénoïdes, notamment des monoterpénoïdes oxygénés tels que le cinéole 1-8, le chrysanthénone, les thujones α et β et le camphre [52].

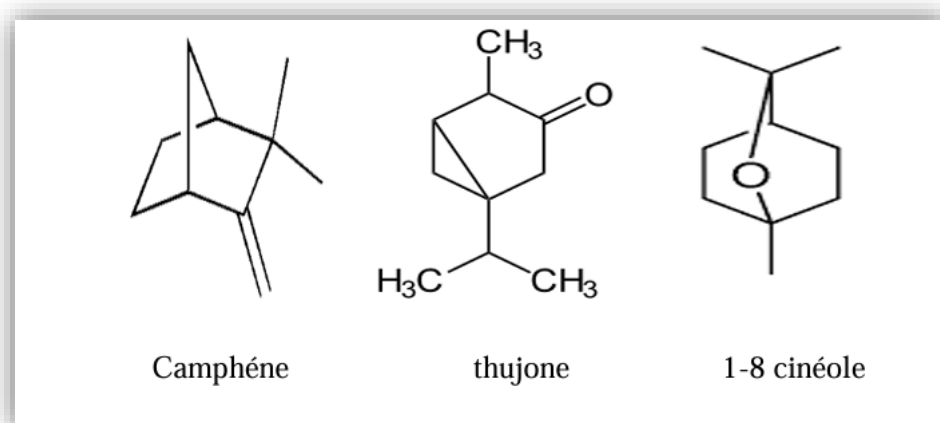


Figure I.9: Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba*.

I.10.2.4. Usage traditionnel de l'Armoise blanche

L'histoire thérapeutique de l'Armoise blanche est très variée et bien établie dans la médecine traditionnelle. Cette médecine traditionnelle arabo-musulmane offre une solution miracle. Les extraits aqueux sont couramment employés dans le traitement de certaines formes d'intoxication, de troubles gastriques, hépatiques et de diverses affections. Il a récemment été démontré qu'il a des propriétés antitumorales, antispasmodiques, antiseptiques, antigénotoxiques, antidiabétiques et antibactériennes [53].

I.11. Principaux composants chimiques utilisés dans l'étude

I.11.1. 1-8 Cinéole : l'eucalyptol

Le 1,8-cinéole, également connu sous le nom d'« eucalyptol », est une substance naturelle incolore et organique. Chimiquement, il est un oxyde terpénique, dont il est le principal représentant. Il s'agit d'un monoterpène avec un atome d'oxygène. Elle porte le nom IUPAC suivant : Octane de 1, 3,3-triméthyl-2-oxa-bicyclo [2, 2,2]. Cependant, il est également connu sous de nombreux autres noms similaires : Eucalyptol, Limonène-1,8-oxyde, 1,8-époxy-p-menthane, Cinéol, etc [54].

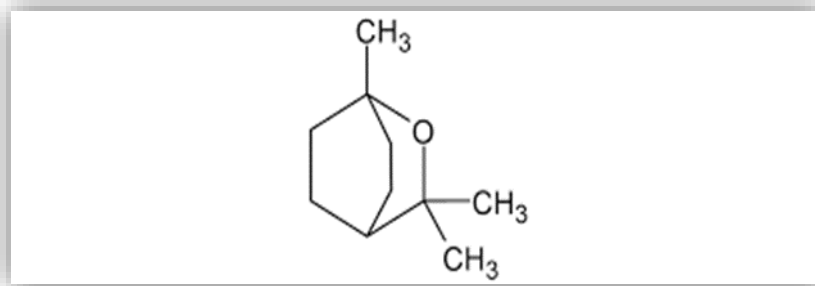


Figure I.10: Structure du cinéole 1,8.

I.11.1.2 Propriétés physicochimiques

I.11.1.2.1 Propriétés chimiques

- Formule : C₁₀H₁₈O ;
- Masse moléculaire : 154,24 g/mol ;
- Moment dipolaire : 1,58 D ;
- Diamètre moléculaire : 0,660 nm.

I.11.1.2.2 Propriétés physiques

- La densité est de 0,925 g/cm³ à une température de 20°C.
- La solubilité : insoluble dans l'eau (3,25 g/L à 21°C), mais elle est soluble dans l'éther, l'éthanol, le chloroforme, le sulfure de carbone et l'acide acétique pur.
- Température d'ébullition : 174-177°C
- Température de l'inflammation : 49°C
- Point de fusion : 1,5°C
- Température de congélation : 0 à 1 °C
- Le point de liquéfaction est de -1°C.

I.11.1.2.3 Propriétés optiques

- Indice de réfraction : 1,455 à 1,460 à 20°C [55].

I.11.2. Le camphre

Le camphre est une cétone terpénique bicyclique. Il est appelé selon la norme IUPAC 1, 7,7-triméthylbicyclo [2, 2,1].Heptan-2-one. Il apparaît comme un solide cristallin blanc, semi-Transparent, doux au toucher, cassant, amer, piquant, forte odeur aromatique caractéristique [56,57].

I.11.2.1 Propriétés physicochimiques**I.11.2.1.1. Propriétés chimiques**

- Formule : $C_{10}H_{16}O$;
- Masse moléculaire : 152,23 g/mol.

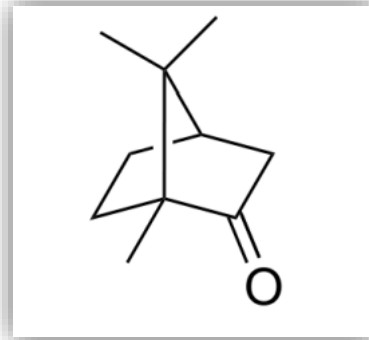


Figure I.11: Structure du camphre.

I.11.2.1.2. Propriétés physiques

- Température de fusion : 178,8°C ;
- Température de sublimation : 204°C ;
- Densité : varie de 0,986 à 0,996 ;
- Masse volumique : 0,992 g·cm⁻³ (25 °C) ;
- Température d'auto-inflammation : 466 °C ;
- Pression de vapeur saturante : 27 Pa à 20 °C ;
- Solubilité : insoluble dans l'eau et soluble dans l'éthanol à 95°, dans l'acétone, dans l'éther, dans le benzène et dans une majeure partie des solvants organiques [58].

Chapitre II : Les cyclodextrines.

Chapitre II : Les cyclodextrines.

II.1 Définition

Les cyclodextrines sont des excipients fonctionnels utiles qui sont principalement utilisés dans les produits pharmaceutiques en raison de leur aptitude à interagir avec les médicaments solubles dans l'eau et les substances médicales candidates, accroissant ainsi leur solubilité dans l'eau, ce qui en fait un choix judicieux pour les applications pharmaceutiques. Le mécanisme de cette solubilisation fait appel à la propriété de la cyclodextrine de former des complexes d'inclusion dynamiques et non covalents en solution. Les cyclodextrines (CD) sont des oligosaccharides cycliques composés d'unités de glucopyranose. Ils sont non hygroscopiques, homogènes et cristallins. Les cyclodextrines les plus utilisées sont composées de six unités de glucopyranose. (α -CD), sept (β -CD) ou huit (γ -CD) unités de D-glucopyranose (Figure II.1), avec des tailles de cavité respectives d'environ 0,5, 0,6 et 0,8 nm. Parmi les nombreux CD testés, la (2-hydroxypropyl)-bêta-cyclodextrine (HP- β -CD) est un vecteur très efficace qui pourrait convenir pour la pour la conception d'une nouvelle formulation encapsulant les huiles essentielles [59, 60].

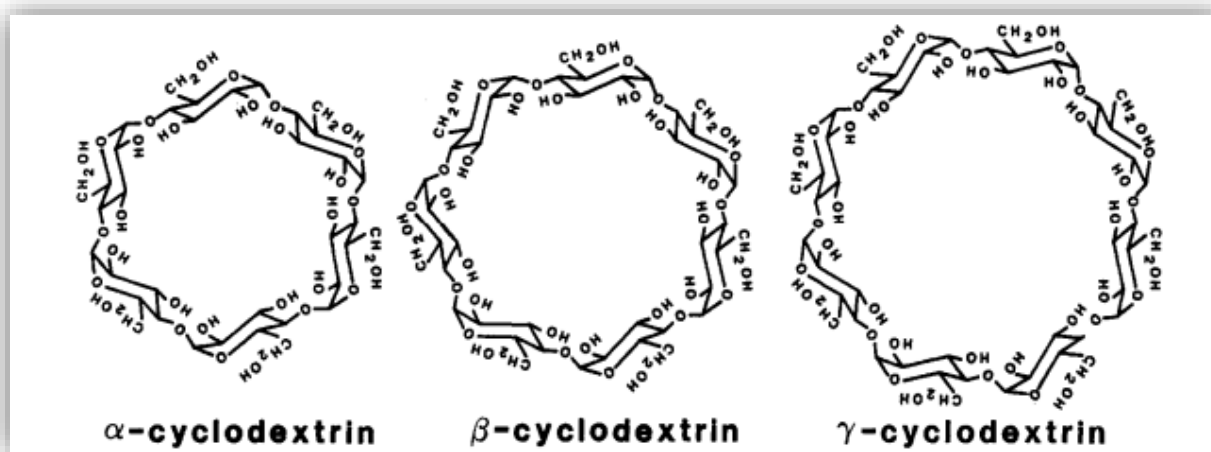


Figure II.1 : Structures chimiques de α , β et γ cyclodextrines.

II.2 Les cyclodextrines

II.2.1 Historique

Les cyclodextrines (CD), également dénommées dextrines de Schardinger ou cycloamyloses, ont été pour la première fois isolées par Villiers en 1891, lorsqu'il a effectué des expériences sur la dégradation de l'amidon par une souche de micro-organismes et a distingué deux produits (α - et β -cyclodextrine) dont les propriétés physicochimiques étaient proches de celles de la cellulose.

Les cyclodextrines ont été définies en 1903 par Schardinger comme des oligosaccharides cycliques ; c'est pour cette raison qu'elles sont appelées dextrines de Schardinger dans les premières publications traitant des cyclodextrines.

En 1938, Freudenberg et son équipe ont démontré que les cyclodextrines sont formées d'unités de D-glucose reliées entre elles par des liaisons α (1 \rightarrow 4) glucosides ; ils ont découvert que les cyclodextrines étaient capables de former des complexes d'inclusion et ont intégralement déterminé la structure de la γ -cyclodextrine.

Dans les années 1950, French et Cramer ont travaillé intensivement sur la synthétisation et la purification des complexes de cyclodextrine.

Le premier brevet concernant l'application des cyclodextrines pour la mise en forme d'un composé ayant une activité biologique a été déposé par Freudenberg en 1953 [61].

En 1957, French rapporte l'existence de CDs plus grandes et publie la première revue sur les CDs.

A la fin des années 1960, la préparation des CDs, leurs structures, leurs propriétés physicochimiques ainsi que leur capacité à former des complexes d'inclusion ont été élucidées.

Après que des études de toxicologie ont prouvé que la toxicité primitivement attribuée aux CD était en fait due à des impuretés complexées, à une administration inappropriée ou à un surdosage, le nombre de publications concernant les CD a augmenté de façon considérable (figure I.2) [62]. Fin 2003, ce nombre dépassait les 26 000.

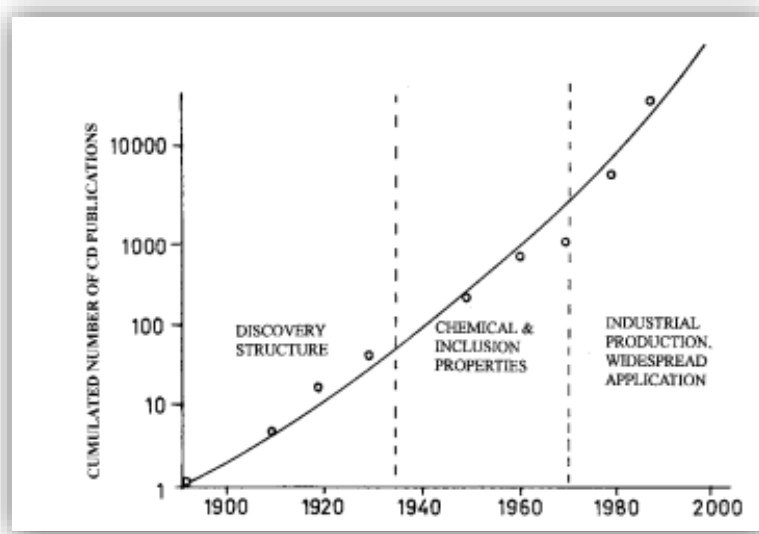


Figure II.12: Evolution du nombre de publications (articles, brevets, résumés de conférences, etc.) relatives aux CDs depuis leur découverte.

En 1981 est organisé le premier symposium international sur les CDs qui a lieu tous les deux ans depuis 1984. Alors que dans les années 1970, les CD n'étaient que peu disponibles et à des prix exorbitants (près de 2 000 \$/kg pour le b-CD), elles sont aujourd'hui produites par une dizaine de fabricants à raison de 10 000 tonnes/an et ont vu leurs prix décroître considérablement (quelques \$/kg pour le b-CD) [63]. De nombreuses dérivées sont aujourd'hui produites industriellement, et d'autres sont commercialisées en plus petites proportions.

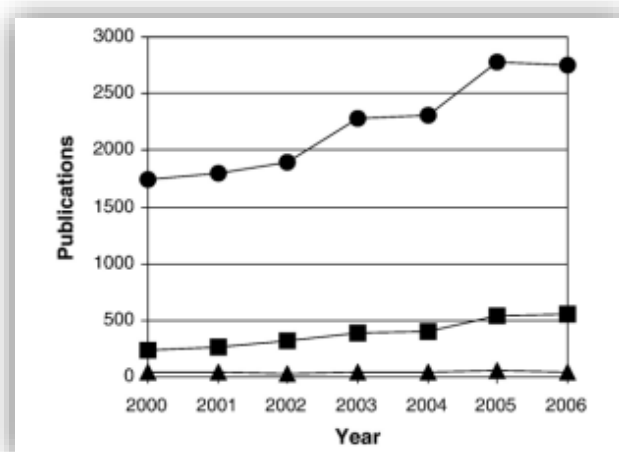


Figure II.3 : Évolution des publications sur les cyclodextrines dans les années 2000 (● Toutes les cyclodextrines, ■-HPβCD et ▲-SBEβCD).

Tableau II.1 : Jalons importants dans l'histoire des cyclodextrines [64].

Années	Jalons importants
1891	Découverte de l' α -cyclodextrine
1930	Premiers brevets pour l'utilisation des cyclodextrines dans l'industrie textile
1940	Utilisation des cyclodextrines dans l'industrie pharmaceutique
1970	Développement de nouvelles technologies de production de cyclodextrines
1981	Organisation du premier symposium international sur les CDs à Budapest par Szejtli
1881-1986	Recrudescence dans la synthèse des dérivés de CDs et des brevets en Europe et aux Etats Unis
1990	Un brevet sur la sulfobutyl-éther- β -CD par Stella et Rajewski
2003	26000 publications sur les CDs
2008-2014	Applications des CDs dans les domaines : pharmaceutique, cosmétique, catalyse, dépollution, chromatographie, etc.
2016	Amélioration de la biodisponibilité de certains médicaments, en particulier ceux qui sont mal absorbés par le corps
2018	-Utilisation des CDs dans le développement des matériaux nanocomposites utilisable dans la fabrication de dispositifs électroniques flexibles. -Utilisation des CDs dans la détection de gaz toxiques dans l'air, ouvrant la voie à de nouvelles applications dans le domaine de la surveillance environnementale
2020	Amélioration de l'efficacité des CDs dans les traitements du cancer en permettant une libération contrôlée des médicaments

II.2.2 La structure chimique des cyclodextrines et leur production

Les cyclodextrines comprennent une famille de trois produits industriels majeurs bien connus et de plusieurs oligosaccharides cycliques rares. Ces derniers sont obtenus par dégradation enzymatique de l'amidon, ou plus précisément de l'amylose. L'enzyme en question,

la cyclodextrine glycosyl transférase (CGT-ase), est générée par une variété de micro-organismes, dont *Bacillus macerans* et *Klebsiella oxytoca* [62].

L'amidon est chauffé et en partie hydrolysé pour diminuer la viscosité, puis la CGT-ase est incorporée au mélange. Au cours de la réaction, la structure hélicoïdale de l'amylose est déstructurée pour devenir une structure cyclique, et les flèches ainsi naturellement formées sont transférées via des liaisons pour donner des oligosaccharides cycliques [65].

Les principales CD obtenues sont des substances cristallines, homogènes et non hygroscopiques, qui sont des macro-anneaux en forme de tore construits à partir d'unités de glucopyranose : α -CD, β -CD, γ -CD composée chacune de 6, 7 et 8 unités de glucose. Pour promouvoir la formation d'une CD donnée, un solvant peut être additionné à l'environnement de la réaction, créant ainsi un complexe insoluble. Le toluène, par exemple, entraîne la formation d'un complexe β -CD-toluène qui est éliminé par filtration, ce qui dirige la réaction vers la β -CD. Les proportions de ces différentes CD varient en fonction des micro-organismes utilisés [62].

Après filtration, les solvants utilisés pour la formation du complexe sont éliminés par distillation ou extraction, puis par plusieurs étapes de purification (traitement au charbon actif, filtration, cristallisation), ce qui permet d'obtenir des CD d'une pureté en général supérieure à 99 %.

En raison de la conformation en chaise des unités de glucopyranose, les CD se présentent sous la forme d'un cône tronqué ou d'un tore plutôt que d'un cylindre parfait. Les fonctions hydroxyle sont orientées vers l'extérieur du cône, les groupes hydroxyle primaires des résidus de sucre portés par les carbones C6 se trouvent sur le bord étroit du cône (« face primaire ») et les groupes hydroxyle secondaires portés par les carbones C2 et C3, sur le bord le plus large et on parle cette fois de « face secondaire ». Ces nombreux groupes hydroxyle procurent à l'extérieur des CDs un caractère hydrophile. La cavité centrale de la molécule CD est tapissée de carbones squelettiques et d'oxygènes éthers du résidu glucose, ce qui lui confère un caractère relativement lipophile [59,63].

Autrement dit, les CD ont une structure macrocyclique avec un aspect extérieur hydrophile et hydrophobe à l'intérieur. Ces particularités structurelles sont à l'origine des propriétés hautement spécifiques des CD [65].

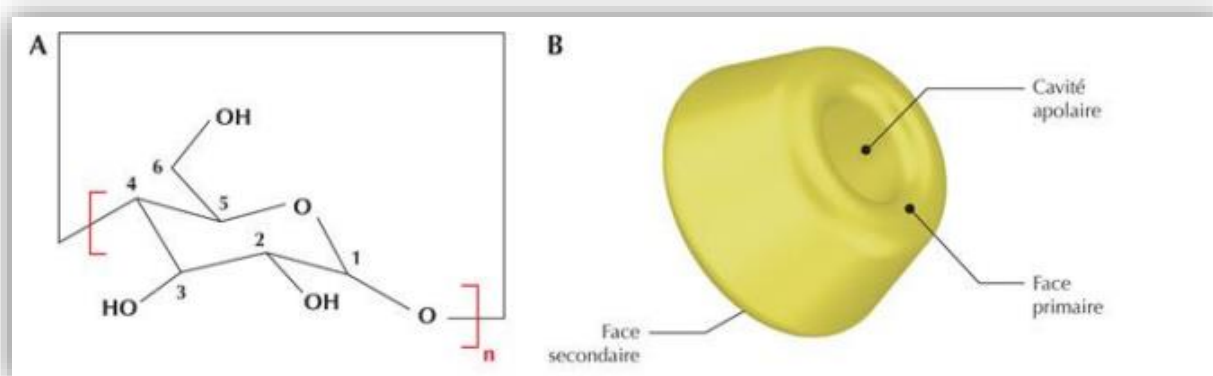


Figure II.4 : Structure de la cyclodextrine.

II.2.3 Propriétés physico-chimiques des cyclodextrines

II.2.3.1 Cyclodextrines natives

Les propriétés physico-chimiques des principales cyclodextrines natives (Figure I.5) sont regroupées dans le tableau ci-dessous. Elles ont une solubilité élevée dans l'eau, à l'exception de la β -CD, qui est bien moins soluble que les autres cyclodextrines natives du fait de l'orientation et de l'intensité des liaisons hydrogène qui sont établies entre les groupes hydroxyles de glucose adjacents, ce qui limite les interactions avec l'eau [66].

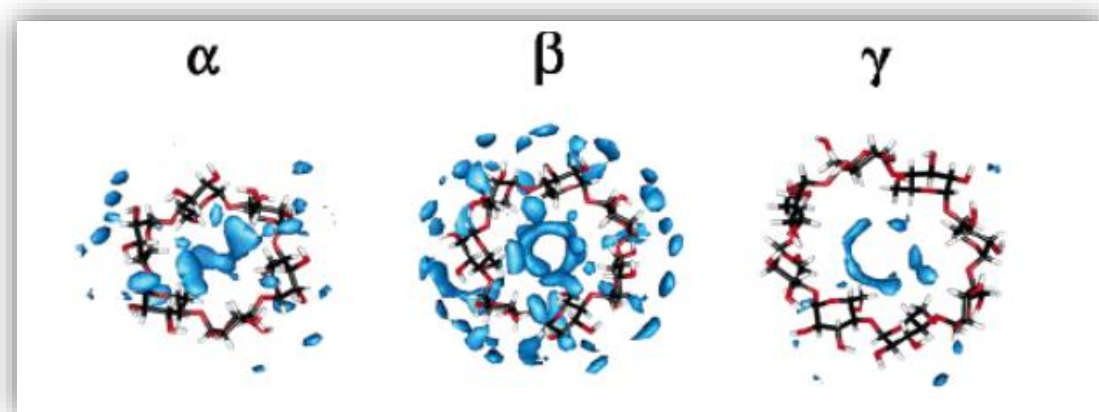


Figure II.5 : Densités de probabilité de présence des molécules d'eau au voisinage des cyclodextrines.

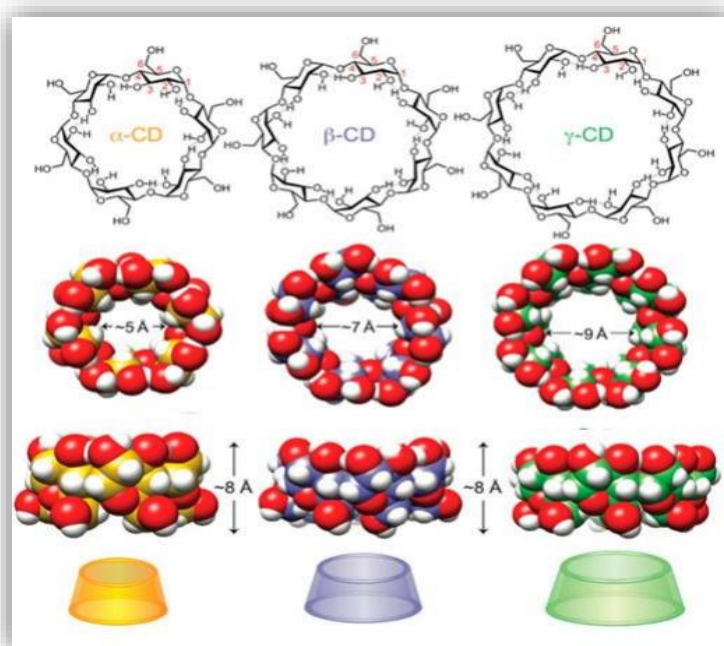


Figure II.6 : Propriétés structurales et forme tridimensionnel des cyclodextrines natives.

Tableau II.2: Propriétés physico-chimiques des principales Cyclodextrines [67].

Propriétés	α- Cyclodextrine		β- Cyclodextrine			γ-Cyclodextrine	
	α-CD	β-CD	HP-β-CD	SBE-β-CD	RM-β-CD	γ-CD	HP-γ-CD
Substitution molaire	–	–	0,65	0,9	1,8	–	0,6
Poids moléculaire	972,8	1135	1400	2163	1312	1297	1576
Log K calculé à 25°C	–13	–14	–11	< –10	–6	–17	–13
Solubilité dans l'eau à 25°C (mg/ml)	130	18,4	> 600	> 500	> 600	249	> 600
H Donneur	18	21	21	15	8	24	24
H Accepteur	30	35	39	53	35	40	45
Biodisponibilité orale approximative chez le rat (%)	2 to 3	–0,6	≤ 3	1,6	≤ 12	< 0,1	< 0,1

II.2.3.2 Cyclodextrines modifiées

Les CD naturelles, en particulier les βCD, sont peu solubles dans l'eau ce qui sous-entend que les complexes issus de l'interaction des lipophiles avec ces CD peuvent être

également peu solubles, ce qui entraînerait la précipitation des complexes solides de CD dans l'eau et dans d'autres systèmes aqueux. En effet, la solubilité aqueuse des CD naturelles est beaucoup plus faible que celle des dextrines acycliques comparables. On suppose que cela est dû à une liaison hydrogène intramoléculaire suffisamment forte dans le réseau cristallin. La substitution de l'un des groupes hydroxyle formant des liaisons hydrogène, même par des fonctions lipophiles entraîne une amélioration considérable de leur solubilité en milieu aqueux [68]. En général, ces ajustements ont pour but d'améliorer la solubilité induite des cyclodextrines natives (en particulier celle des β -CD), de les rendre moins légères et de renforcer leur aptitude à former des complexes d'inclusion dans l'eau et dans les émulsions.

Ces modifications chimiques portent sur :

- Remplacement d'un ou de plusieurs groupes hydroxyle par des groupes halogène ou des groupes amines.
- Substitution d'un ou de plusieurs atomes d'hydrogène (hydroxyles primaires ou secondaires) pour former des éthers ou des esters.
- La substitution nucléophile interne avec formation d'époxyde...
- L'oxydation des alcools primaires pour former des aldéhydes ou des acides carboxyliques [61].

Les dérivés CD présentant un intérêt pharmaceutique comprennent les dérivés hydroxypropylés de la β -CD et de la γ -CD (c'est-à-dire HP- β -CD et HP- γ -CD), la β -CD méthylée de façon aléatoire (RM- β -CD), le sulfobutyléther β -CD (SBE- β -CD), et les dérivés ramifiés tels que le maltosyl- β -CD (G2- β -CD) [69].

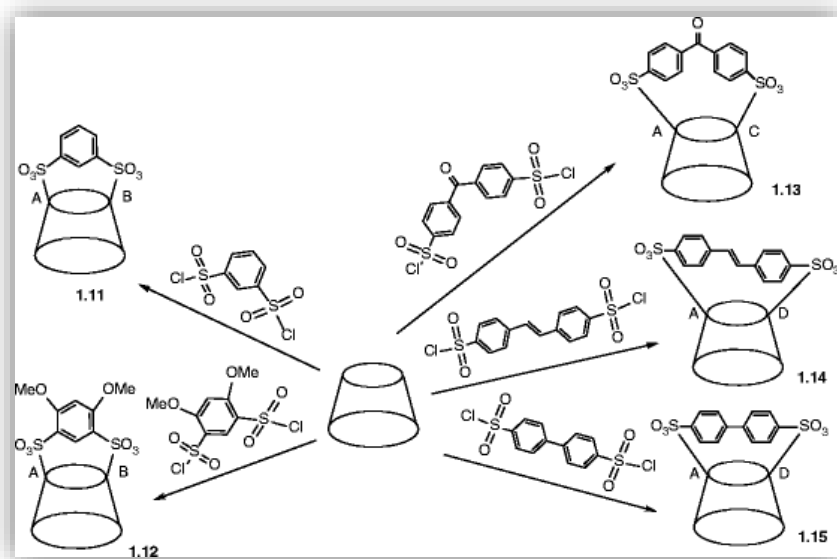


Figure II.7 : Cyclodextrines modifiées.

II.2.4 Stabilité des cyclodextrines en solution

Les paramètres de pH et de température ont peu de répercussions sur la stabilité des cyclodextrines en solution. Dans des conditions de pH très acide (< 1) et à 80°C , une hydrolyse des cyclodextrines peut se manifester. Les liaisons alcoolates peuvent être plus solubles que les cyclodextrines neutres dans les milieux très basiques.

II.2.5 Toxicité des cyclodextrines

En 1957, des chercheurs français ont mené des expériences sur des rats pour étudier leur capacité à utiliser les dextrines de Schardinger. Ils ont nourri des rats avec un régime contenant une portion de carbonates d'hydrates fournis par de la β -dextrine purifiée. Cependant, tous les rats nourris avec ce régime sont morts en une semaine et les examens post-mortem n'ont pas révélé la cause du décès. Depuis, de nombreux animaux ont été nourris avec des CD, mais aucun ne l'a refusé. Il a été soupçonné que les échantillons CD utilisés contiennent des substances toxiques jusqu'à ce que de récentes études toxicologiques réfutent ces résultats [70].

Il est démontré dans toutes les études que les cyclodextrines ne sont pas hydrolysées par les amylases salivaires et pancréatiques de l'homme et présentent ainsi une toxicité orale quasi-nulle. Cependant, l' α -CD et la β -CD peuvent être fermentées par la flore microbienne intestinale. L'administration orale de CD est la plupart du temps bien tolérée et n'est pas associée à des effets néfastes significatifs sur la santé.

II.2.6 Applications des cyclodextrines

La cyclodextrine solubilise de multiples composés hydrophobes dans l'eau par le biais de sa cavité structurale. Grâce à des propriétés telles que la non toxicité, la biodégradabilité et le coût relativement faible, les cyclodextrines sont utilisées dans divers domaines, notamment le domaine pharmaceutique, l'agroalimentaire, le domaine environnemental et le domaine cosmétique [71].

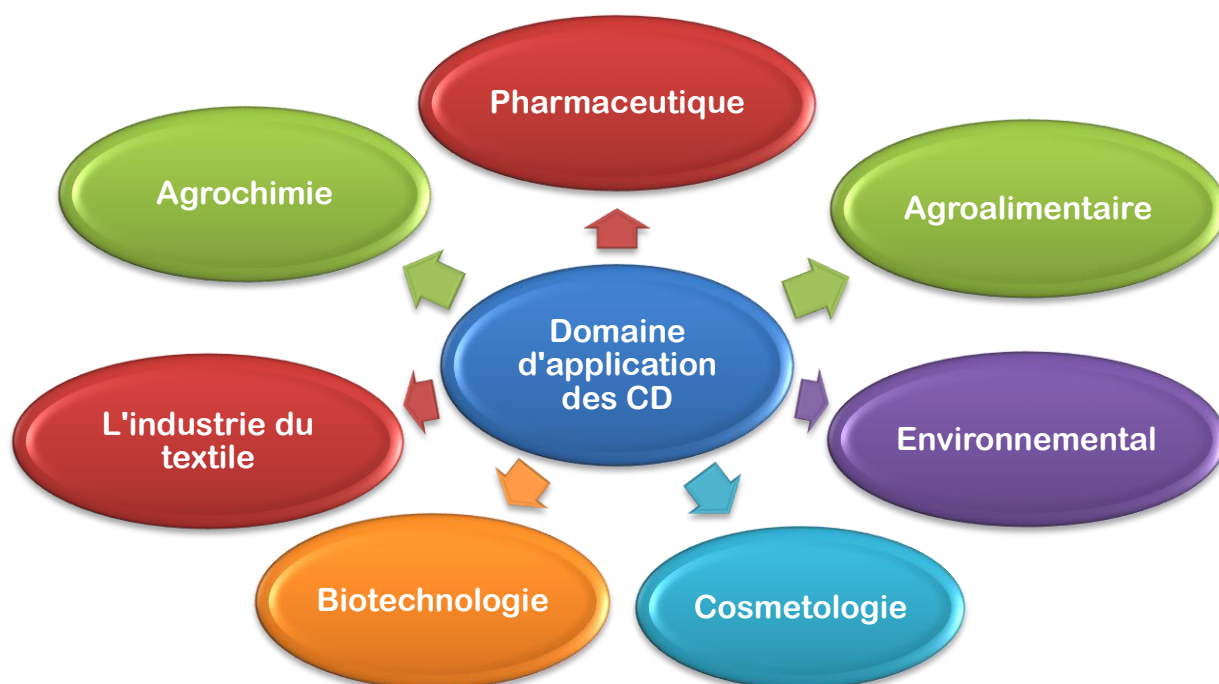


Figure II.8 : Les différents domaines d'application des cyclodextrines.

II.2.6.1 Domaine pharmaceutique

Les cyclodextrines sont abondamment utilisées dans le domaine pharmaceutique pour accroître les propriétés d'inclusion, optimiser la stabilité, la solubilité et la biodisponibilité des principes actifs des médicaments. Elles sont fonctionnalisées de manière sélective pour modifier chimiquement les cyclodextrines commerciales, ce qui favorise la monofonctionnalisation et la synthèse de cyclodextrines anioniques, cationiques et ambiphiliques [72].

Ces composés sont utilisés pour encapsuler des ingrédients actifs, améliorer leur solubilité et faciliter leur administration par voie orale, en particulier pour les patients pédiatriques. Les cyclodextrines sont également utilisées pour complexer les huiles essentielles,

augmentant ainsi leur solubilité et leur stabilité pour diverses applications pharmaceutiques [73].

II.2.6.2 Domaine agro-alimentaire

Les cyclodextrines sont très répandues dans l'industrie alimentaire pour une variété d'applications. Elles sont utilisées comme additifs alimentaires, en particulier la β -cyclodextrine (E459), qui est utilisée comme exhausteur de goût dans des produits tels que les snacks, les boissons aromatisées et les chewing-gums.

Les cyclodextrines sont également utilisées pour encapsuler des molécules fragiles, assurer une libération lente, protéger des composés sensibles et augmenter la solubilité de médicaments insolubles dans l'eau. Leur capacité à former des complexes d'inclusion avec des molécules hydrophobes en fait un outil précieux pour améliorer les performances de divers produits alimentaires et protéger les ingrédients sensibles [74].

II.2.6.3 Domaine environnemental

Les cyclodextrines sont également employées dans le domaine de l'environnement, en particulier pour purger les sols. On les utilise dans des procédés de bioremédiation, d'extraction, de sorption sur les sols et elles possèdent des caractéristiques industrielles intéressantes.

Les cyclodextrines ont la capacité d'encapsuler des molécules hydrophobes afin de créer des complexes d'inclusion, ce qui les rend pratiques pour préserver des molécules fragiles, garantir une libération lente et accroître la solubilité des composés insolubles dans l'eau, tels que des médicaments.

Des méthodes comme la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) et l'informatique moléculaire ont prouvé cette capacité d'inclusion des cyclodextrines, permettant ainsi d'obtenir une vision tridimensionnelle de la structure du complexe d'inclusion en solution.

De plus, il est possible de modifier chimiquement les cyclodextrines afin d'améliorer leurs interactions avec les molécules contenues, d'augmenter la solubilité du complexe et de diriger le complexe vers l'organe cible, ce qui offre un potentiel de "ciblage moléculaire" dans le domaine environnemental [75].

II.2.6.3 Domaine industriel du textile

Les cyclodextrines sont largement utilisées dans l'industrie textile pour diverses applications, telles que la modification de l'extraction d'une solution colorante, l'amélioration de l'uniformité des couleurs et la réduction de la consommation de colorants. Ils fixent également des composés actifs comme des parfums et des agents antibactériens sur les textiles, offrant ainsi des propriétés fonctionnelles aux tissus. Les cyclodextrines peuvent être greffées sur des textiles pour diverses applications, comme dans l'industrie hospitalière, où elles détectent des matières organiques. Leur capacité à former des complexes d'inclusion avec divers composés est un outil précieux pour améliorer les propriétés textiles, telles que l'imprimabilité, la teinture, la finition antibactérienne, la protection UV, l'élimination des polluants et la libération des parfums [76].

Tableau II.3 : Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrines dans divers domaines industriels [77].

Domaine industriel	Exemple de propriétés	Exemple de substances concernées
Pharmacie	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Amélioration de la biodisponibilité ▪ Augmentation de la solubilité ▪ Stabilisation de molécules volatiles ▪ Masquage de l'amertume ▪ Libération contrôlée ▪ Amélioration de l'assimilation ▪ Protection de principes actifs 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Indométacine ▪ Prostaglandines, anti-inflammatoires, vitamines ▪ Menthol, camphre ▪ Eszopiclone, Ibuprofène ▪ Médicaments ▪ Compléments alimentaires ▪ Vaccins
Cosmétologie	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Stabilité des parfums ▪ Masquage d'odeurs désagréables ▪ Amélioration du pouvoir moussant ▪ Protection contre les UV 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Essence de citron ▪ Mercaptans, couches, produits capillaires ▪ Savons, mousses ▪ Crèmes
Agroalimentaire	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Clarification de produits ▪ Extraction de substances indésirables ▪ Masquage d'odeurs indésirables ▪ Prolongation des arômes 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Jus de fruits ▪ Cholestérol (lait, beurre, œuf) ▪ Café, thé ▪ Bonbons, chewing-gum, épices
Agrochimie	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Amélioration du temps d'action ▪ Augmentation de la durée de 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Pesticides ▪ Bactéricides ▪ Pesticides

	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Diminution de la toxicité 	
Chromatographie	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Séparation de molécules 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Stéréo-Isomères, Diastéréo-Isomères
Chimie	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Synthèse organique ▪ Inducteur de chiralité ▪ Catalyse ▪ Chimie supramoléculaire 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Contrôle de la régiosélectivité de réactions ▪ Halogénéation, epoxidation ▪ Réactions organométalliques ▪ Superstructures tubulaires

II.3. Complexe d'inclusion

II.3.1. Définition

Les complexes d'inclusion sont une technologie prometteuse avec un large éventail d'applications potentielles. Leurs propriétés uniques en font un outil précieux pour la formulation de médicaments, d'aliments, de cosmétiques et d'autres produits.

«Hôte et invité», sont là, deux termes très utilisés en chimie supramoléculaire : discipline qui s'intéresse aux associations entre molécules, non pas à l'aide de liaisons covalentes, mais plutôt par des interactions intermoléculaires. On désigne par « hôte » l'espèce réceptrice qui présente généralement une cavité ou sera incluse, plus ou moins profondément, une molécule de plus faible dimension appelée «invité». L'association entre ces deux molécules donne lieu à la formation d'un complexe moléculaire. Parmi les multiples hôtes existantes, celles qui nous intéressent dans notre étude sont les « cyclodextrines » et la molécule invitée est l'eugénol [64].

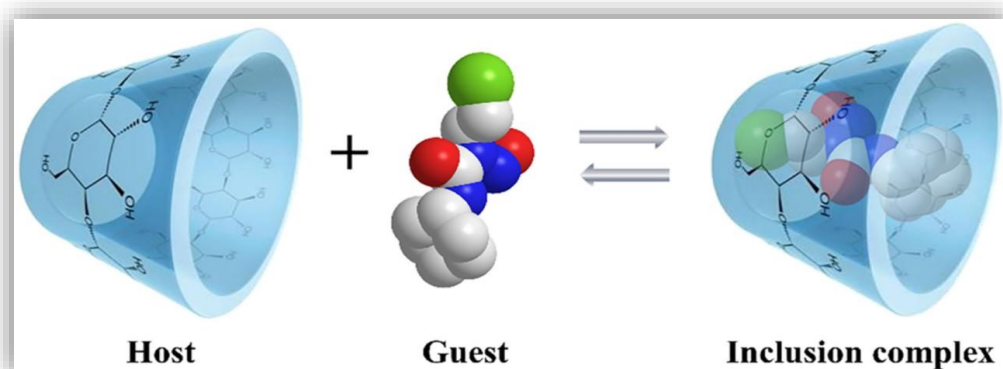


Figure II.9 : Complexe d'inclusion.

II.3.2 Mécanisme de formation

Un complexe d'inclusion est une substance chimique formée par cette association de deux ou plusieurs molécules. La molécule hôte est en mesure d'inclure la molécule invitée dans sa cavité, ce qui aboutit à une encapsulation stable sans la formation de liaisons covalentes [78].

Les CD sont encerclés par des molécules d'eau d'hydratation qui sont potentiellement thermolabiles et peuvent être ôtées par séchage, ainsi que par des molécules d'eau d'inclusion énergétiquement défavorables dans la cavité apolaire, qui peuvent être remplacées par une "molécule invitée" appropriée moins polaire que l'eau.

Ces molécules invitées pénètrent dans la cavité par la plus grande ouverture et le côté le plus aisément accessible. Elles sont incorporées de manière à éloigner leur partie non polaire du contact hydrophobe avec la cavité hydrophobe, et leur partie polaire interagit avec la surface hydrophile de la CD. De ce fait, le mécanisme de formation du complexe est principalement régi par un facteur géométrique : le substrat doit être de taille compatible avec les dimensions de la cavité. En effet, les molécules trop volumineuses ne pourront pénétrer que partiellement et ne pourront pas former de complexes stables. Les molécules de trop petite taille, en revanche, pourront pénétrer rapidement, car les interactions formées seront trop faibles pour les maintenir à l'intérieur de la cavité. Une relative proximité avec la molécule invitée est donc indispensable à la formation d'un complexe d'inclusion stable avec la molécule hôte. Une, deux ou trois molécules de cyclodextrine contiennent une ou plusieurs molécules « invitées » piégées.

Ces inclusions partielles ou totales entraînent la formation de complexes présentant divers arrangements structurels. Le plus souvent, le ratio hôte : invité est de 1:1. C'est l'essence de « l'encapsulation moléculaire ». C'est le cas le plus simple et le plus fréquent. Cependant, 2:1, 1:2, 2:2, voire des associations plus compliquées, et des équilibres d'ordre supérieur existent, presque toujours simultanément : 2:1 si la molécule invitée est de grande taille et que plusieurs molécules de CDs peuvent interagir avec, ou de type 1 :2, 1 :3 ou la cavité de la CD est assez spacieuse pour accueillir deux molécules invité [79].

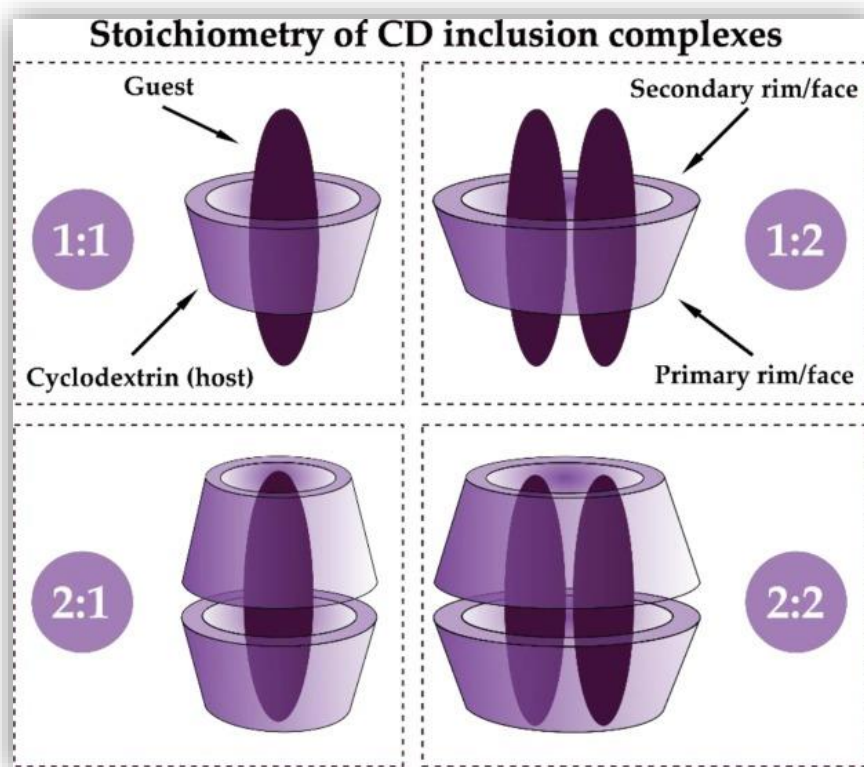


Figure II.10 : Représentation schématique de complexes d’inclusion 1 :1, 1 :2 , 2 :1 et 2 :2.

Pour les complexes à l’état solide, différents types d’empilement sont possible. Les plus communs étant présentés dans la figure ci-dessous :

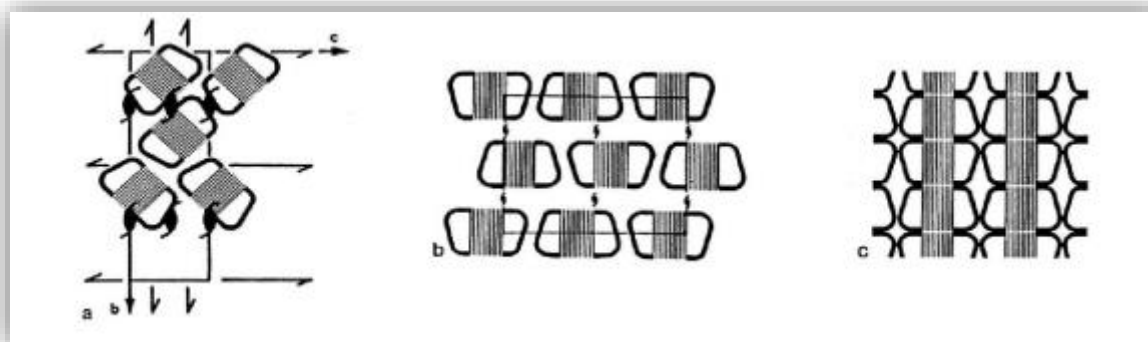


Figure II.11 : Empilements possibles de complexes d’inclusion cristallisés des cyclodextrines : (a) chevrons, (b) briques, (c) canal tête-tête.

II.3.3 Les « forces conductrices » de la complexation

Le phénomène de complexation implique de nombreuses interactions entre les molécules hôtes, invitées et solvantes, aboutissant à l'état thermodynamique le plus stable. La nature et l'importance de ces facteurs font encore l'objet de débats, les « forces directrices » les plus communément évoquées sont les suivantes [80] :

- ✚ Interactions électrostatiques (ion-ion, ion-dipôle, dipôle-dipôle),
- ✚ Interactions de van der Waals (dipôle-dipôle induit, dipôle induit-dipôle induit),
- ✚ Interactions hydrophobes,
- ✚ Liaisons hydrogènes (qui sont en fait de nature électrostatique),
- ✚ Soulagement des contraintes de conformation de la CD (tension),
- ✚ Exclusion des molécules d'eau initialement présentes dans la cavité,
- ✚ Interactions de transfert de charges (type d'interaction de van der Waals).

II.3.4 Conséquences de la complexation

L'inclusion de molécules invitées dans la cavité CD équivaut à une encapsulation moléculaire, et les propriétés physicochimiques de ces molécules sont alors modifiées. Parmi ces modifications on peut citer [63 ,81] :

- ✦ L'amélioration de la dissolution et de la solubilité du soluté et l'augmentation de sa biodisponibilité (dans le cas de principes actifs),
- ✦ La diminution de sa diffusion, de sa volatilité et de sa sublimation,
- ✦ La modification de ses propriétés spectrales (déplacements chimiques en RMN, longueur d'onde du maximum d'absorption en UV, intensité de la fluorescence, etc.),
- ✦ La modification de sa réactivité (en règle générale diminuée). Le soluté bénéficie ainsi d'une protection contre la dégradation thermique ou photochimique, l'oxydation, l'hydrolyse et voit sa stabilité accrue.

II.3.5 Techniques de complexation

La génération d'un complexe consiste principalement à substituer les molécules d'eau présentes dans la cavité de la cyclodextrine par une autre molécule. La libération de ces molécules d'eau et la formation d'interactions de Van der Waals entre la cyclodextrine et la molécule invitée fait passer le complexe à un niveau d'énergie plus propice. Il existe un certain nombre de processus différents pour produire des complexes d'inclusion.

II.3.5.1 L'inclusion par cristallisation de la solution (Co-précipitation)

La méthode de Co-précipitation est l'une des méthodes les plus utilisées à l'échelle laboratoire. Cette dernière consiste à ajouter à une solution de cyclodextrines sous agitation magnétique avec chauffage à une quantité requise de l'invité dissoute dans de l'eau ou dans un autre solvant. On obtient ainsi un liquide concentré, visqueux et translucide. Le complexe est obtenu par précipitation du mélange réalisé, qui est séparé par décantation, centrifugation ou filtration sous vide et séché à la température ambiante pour obtenir l'inclusion pleine [82].

II.3.5.2 L'inclusion par pétrissage (Past/Kneading)

Cette méthode consiste à triturer la cyclodextrine dans un mortier avec une petite quantité d'eau pour obtenir une pâte homogène. La molécule invitée est ensuite ajoutée et malaxée pendant une durée déterminée. Afin de faciliter la dissolution de cette dernière il est possible d'y ajouter une petite quantité de solvant (éthanol / méthanol). Le produit est ensuite séché complètement à l'air libre ou à l'aide d'une étuve pendant 45 minutes [73].

II.3.5.3 Lyophilisation

Appelée autrefois cryodessiccation, la lyophilisation est une dessiccation sous vide à basse température de produit liquide préalablement congelé. Le principe de cette méthode consiste à congeler les préparations puis à effectuer une sublimation de la glace obtenue c'est-à-dire une transformation de cette glace directement en vapeur d'eau, éliminée au fur et à mesure de sa formation (sans passage intermédiaire par l'état liquide). La molécule invitée est ajoutée à la solution aqueuse de CDs, après mélange sous agitation, la substance obtenue est congelée puis lyophilisée dans un lyophilisateur [83].

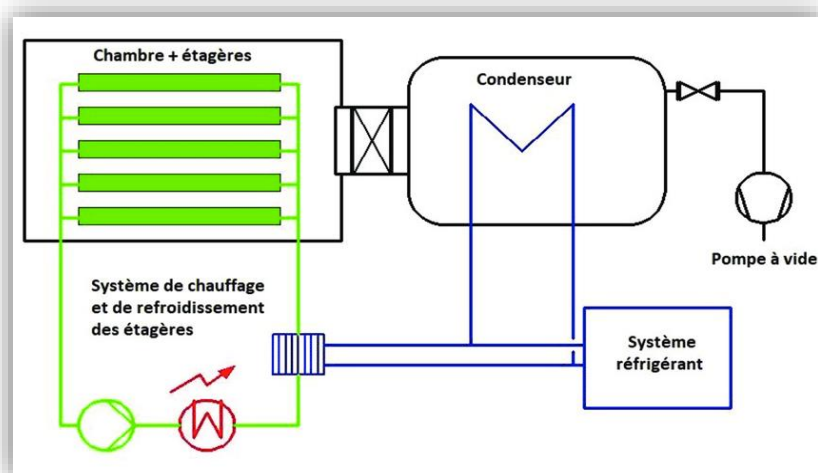


Figure II.12 : Schéma représentatif d'un lyophilisateur.

II.3.5.4 L'inclusion par Co-évaporation

Cette méthode se résume à éliminer le solvant utilisé pour la réalisation des complexes d'inclusion à basse température. La molécule invitée est ajoutée à la solution généralement alcoolique (ou mélange eau/alcool) de CDs, après mélange sous agitation, la substance obtenue est séchée à l'air chaud ou dans un four sous vide, ou mieux, pour accélérer le processus, par évaporation sous vide à l'évaporateur rotatif ou ce qu'on appelle également le rotavapeur [84].

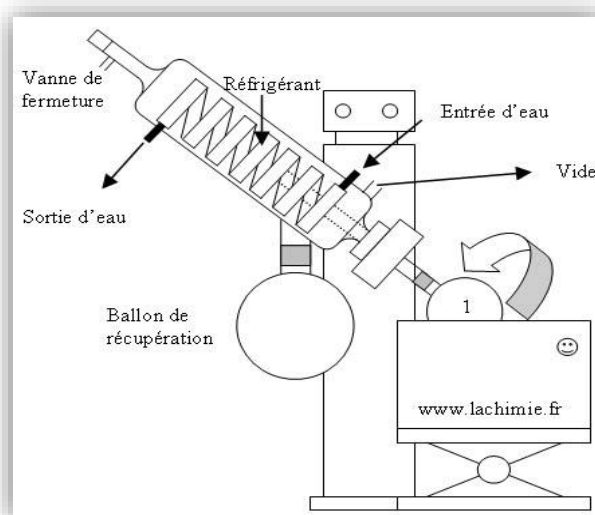


Figure II.13 : Schéma représentatif d'un rotavapeur.

II.3.5.5 L'inclusion à sec

Ce qu'on appelle également « mélange physique », cette méthode est basée essentiellement sur le mélange homogène des cyclodextrines et du substrat dans un mortier, ce dernier s'effectue sans ajout de solvant et à température ambiante. Les molécules invitées peuvent être complexées par simple mélange des deux poudres ensemble. Le principal bénéfice réside dans le fait qu'il ne nécessite pas d'eau, tandis que ses désavantages incluent le risque de formation de croûtes dans les poudres et l'obtention d'un mélange incomplet qui entraîne une complexation insuffisante. Ce n'est généralement pas une méthode efficace de fabrication des complexes car le temps de mélange peut aller de quelques heures à plusieurs jours. Il existe quelques exceptions, comme l'huile de citron où la complexation est terminée en quelques minutes [85].

II.3.5.6 Neutralisation

Les invités sous forme d'ions peuvent être complexés à l'état solide par une méthode de neutralisation : dans une solution aqueuse acide pour les invités alcalins ou basique pour les invités acides, l'invité est dissout. L'acide chlorhydrique ou la solution d'hydroxyde de sodium est ensuite utilisée sous agitation pour neutraliser la solution limpide résultante. Le complexe d'inclusion est donc formé et représenté sous forme d'un précipité blanc au point d'équivalence. Ce précipité est filtré, lavé et stocké dans des dessiccateurs à 25°C et séché pendant 24 h [86].

II.3.5.7 L'inclusion en suspension (*slurry*)

Une solution aqueuse surnageant de CD est préparée. Le pourcentage de CD non dissous peut atteindre 50 à 60 %. L'invité est ensuite incorporé à cette suspension et agité. Il contribuera à la formation de complexes d'inclusion avec les CD en solution. La solution étant saturée en CD, les complexes se formeront progressivement, tandis que les cristaux de CD se dissoudront et renforceront la complexité des molécules de l'invité. Le complexe d'inclusion peut être recueilli par précipitation, décantation ou filtration. Il est possible d'améliorer le taux de complexation en chauffant, mais cela peut perturber le complexe. Il est essentiel d'optimiser la quantité d'eau et le temps nécessaire à la complexation pour chaque invité [73].

II.3.5.8 L'inclusion en méthode humide (*damp*)

Cette méthode consiste à mélanger la CD avec l'invité, en y ajoutant une petite quantité d'eau. Le mélange est ensuite déposé dans un récipient scellé et chauffé à une température de 100°C. L'eau d'hydratation de la CD et de l'invité peut représenter jusqu'à 20-25% de la masse de la matière sèche en humidité. Il est nécessaire de bien optimiser le mélange et le temps de chauffage en fonction de la nature de l'hôte et de la quantité d'eau. Cette approche nécessite une quantité considérable d'énergie et ne devrait être utilisée qu'avec des hôtes stables et à haute température [73].

II.3.5.9 L'inclusion par extrusion

Ce procédé est une alternative à l'inclusion par pétrissage, car il est réalisé en continu. La CD, l'invité et l'eau sont mélangés et introduits dans une extrudeuse sous l'effet de la chaleur. Le degré de mélange, la température et le temps de chauffage sont régulés dans le réservoir de cette dernière. Le complexe peut être séché par chauffage ou par simple refroidissement. En raison de la température générée, certains hôtes thermolabiles sont dégradés au cours de ce processus. L'avantage de cette méthode est qu'elle utilise une quantité limitée d'eau [87].

II.3.6 Caractérisation d'un complexe d'inclusion

La plus grande et plus intéressante propriété des cyclodextrines est leur aptitude à former des complexes d'inclusion avec une assez large palette de molécules. Cependant, de nombreuses études théoriques ont été élaborées sur ces derniers, principalement pour anticiper le processus d'encapsulation d'un grand nombre de molécules et évaluer les forces motrices qui interviennent dans la stabilité des systèmes (hôte, invité) formés au cours de la complexation et déterminer diverses propriétés structurales, électroniques et thermodynamiques. Ces complexes d'inclusion peuvent se former de différentes manières induisant des changements potentiels dans les propriétés physico-chimiques de la molécule invitée. Ces derniers peuvent être quantifiés et les complexes caractérisés par différentes méthodes d'analyse.

II.3.6.1 .Méthode spectrophotométrie UV-visible

La méthode de spectrophotométrie UV-visible est une technique analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique en solution. Cette méthode permet de déterminer la quantité de certaines substances en mesurant l'absorption de lumière à des longueurs d'onde spécifiques [88]. Elle est particulièrement intéressante pour la mise en évidence de la formation des complexes d'inclusion. Mais il faut que la molécule étudiée absorbe à des longueurs d'onde différentes de celle des CDs [89].

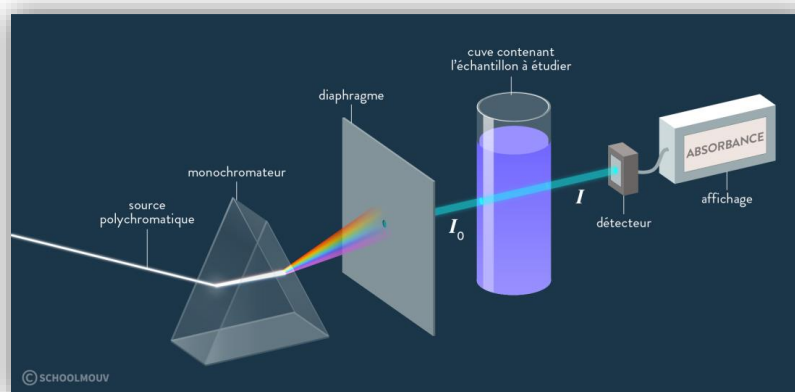


Figure II.13 : Schéma représentatif du principe de fonctionnement de l'UV-Visible.

II.3.6.2 La Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

La Microscopie Électronique à Balayage (MEB) est une technique de microscopie électronique qui permet d'observer la surface d'échantillons à une échelle très fine. Elle utilise un faisceau d'électrons très fin qui balaie, point par point, la surface de l'échantillon à observer,

permettant la construction de l'image de l'échantillon sur l'écran de visualisation [90]. Cette méthode est utilisée pour étudier les aspects microscopiques de la CD et de la molécule invitée d'une partie, ainsi que le produit obtenu par complexation. Il y a une différence entre l'état de cristallisation des molécules brutes (CD + molécule invitée) et le produit obtenu ; cette différence indique le développement d'un complexe d'inclusion [91].

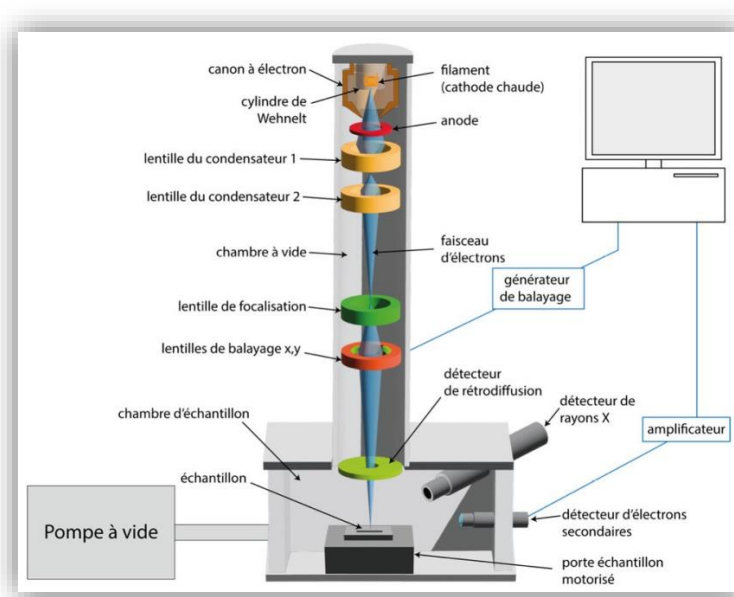


Figure II.14 : Schéma représentatif d'un microscope électronique à balayage (MEB).

II.3.6.3 La Diffraction des Rayons X (DRX)

La Diffraction des Rayons X (DRX) est une technique analytique non destructive qui permet d'analyser les propriétés physiques de divers matériaux. Elle est basée sur la diffraction des rayons X par la matière, qui fournit des informations sur les dimensions et l'orientation du réseau cristallin. Un complexe d'inclusion à l'état solide est identifié à l'aide de cette technique d'analyse. Les diffractogrammes du composé formé sont comparés à ceux de la CD et de la molécule invitée. Il est possible de faire cela à condition que ces dernières soient traitées dans les mêmes conditions que le complexe créé. La formation d'un complexe CD-molécule invitée modifie les modèles de diffraction et modifie la nature cristalline de la molécule invitée. La diffraction aux rayons X permet de prouver l'inclusion et par la même occasion d'obtenir des informations sur la structure du complexe formé [92].

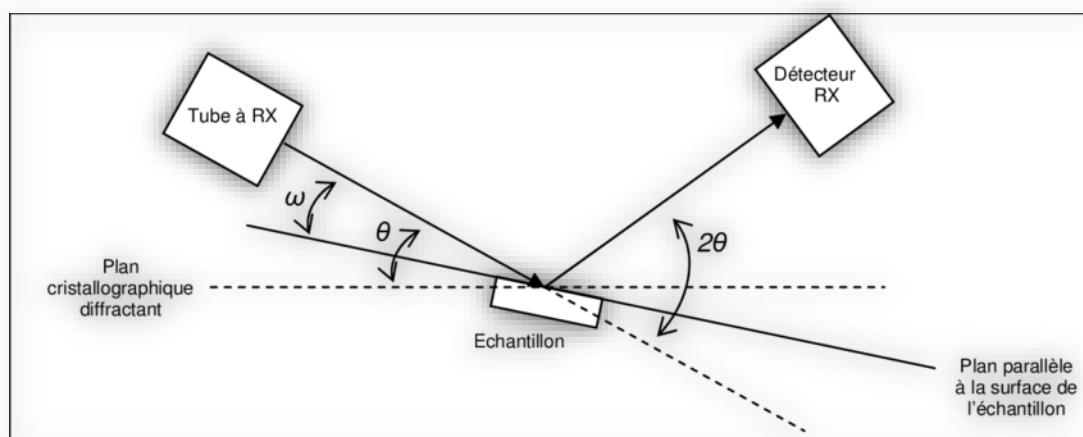


Figure II.15 : Schéma explicatif de la DRX présentant les différents angles pris en compte.

II.3.6.4 La Spectroscopie Infrarouge

La spectroscopie infrarouge (IR) est une technique d'analyse utilisée pour identifier les groupes fonctionnels au sein des molécules organiques. Elle fonctionne en mesurant l'excitation vibrationnelle induite par une exposition à des radiations électromagnétiques [4]. Ces mesures sont généralement réalisées avec un échantillon à l'état solide. Elle est utilisée dans ce cas pour estimer l'interaction des groupements fonctionnels entre les cyclodextrines et les molécules invitées. La spectroscopie infrarouge ne peut être utilisée qu'avec des invités ayant quelques bandes caractéristiques [93]. Chaque bande du spectre caractérise un groupe fonctionnel de la molécule, et leur déplacement permet la désignation de quelle partie de la molécule invitée interagit avec la CD. Cette méthode est souvent peu efficace pour la détection des complexes car la position des bandes d'absorption dépend de la nature des groupes fonctionnels présents dans une molécule [94].

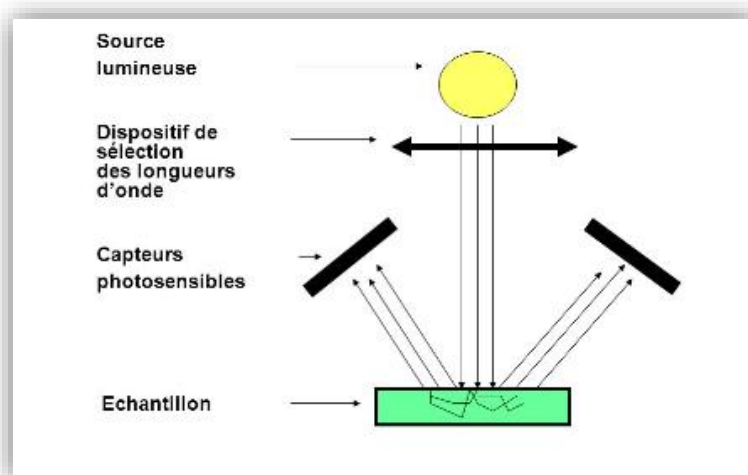


Figure II.16 : Schéma du principe de la spectrométrie infrarouge.

II.3.6.5 Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)

La méthode la plus importante pour élucider la structure tridimensionnelle des composés organiques, en particulier à l'état liquide, est la résonance magnétique nucléaire. Il s'agit d'une méthode basée sur l'étude de noyaux atomiques possédant des propriétés magnétiques (spin-actif) dans un champ magnétique extérieur puissant (H1, C13). La méthode d'étude des complexes d'inclusion consiste à observer les atomes d'hydrogène à l'intérieur (H3 et H5) et à l'extérieur de la cavité (H-2, H-4 et H-6) : la présence d'une molécule invitée dans la cavité de cette CD modifie l'environnement électronique des protons à l'intérieur de la cavité, cela est caractérisé par une modification du déplacement chimique, tandis que les protons situés en dehors de la cavité restent presque inchangés du fait de leur très faible interaction avec la molécule invitée. [95, 96].

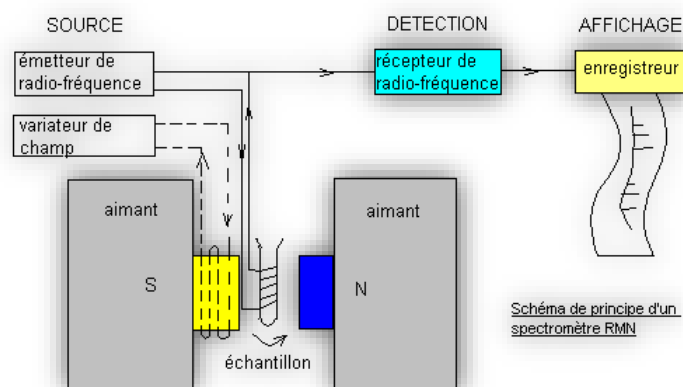


Figure II.17 : Schéma du principe d'un spectromètre RMN.

II.3.6.5 Analyse calorimétrique différentielle (DSC)

La calorimétrie différentielle à balayage (DSC) est une technique permettant de mesurer le flux thermique d'un échantillon en fonction de la température. Elle est destinée à déterminer la température et l'enthalpie des transitions de phase, telles que la fusion, la cristallisation et la transition vitreuse. Cette méthode peut être utilisée pour vérifier la formation des complexes d'inclusion en examinant l'impact thermodynamique de la présence de la molécule invitée. Cependant, cette méthode ne peut être utilisée qu'avec des composés ayant une température de fusion et d'ébullition inférieure à celle de dégradation de la CD. Il a été observé que la formation de complexes CD-molécules invitées diminuait le pic endothermique de fusion de la molécule invitée (lors d'un mélange physique) et qu'elle disparaissait lors d'une complexation complète [61].

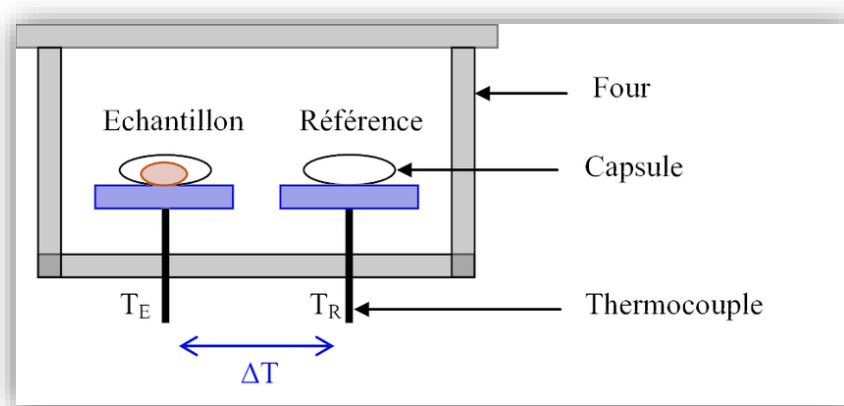


Figure II.18 : Schéma représentatif du dispositif expérimental (DSC).

II.3.6.6 L'analyse thermogravimétrique (ATG)

L'analyse thermogravimétrique (ATG) est une technique utilisée pour étudier le comportement d'un échantillon en fonction de la variation de sa masse dans un environnement contrôlé de température, d'atmosphère et de pression. Il s'agit d'une technique simple à la base, mais qui peut être couplée à d'autres techniques telles que l'analyse thermogravimétrique (ATG), l'analyse thermique différentielle (ATD), la calorimétrie différentielle à balayage (DSC) et la spectrométrie de masse (SM) afin d'obtenir une compréhension plus complète des transformations qui se produisent dans une plage de température donnée [97].

Cette technique permet de vérifier si la substance invitée subit des modifications avant la détérioration thermique de la CD. Il est possible que ces modifications soient la fonte,

l'évaporation, la décomposition ou l'oxydation ; elles témoignent de la formation du complexe et entraînent une baisse de la masse [91].

Plus précisément, l'ATG possède des propriétés spécifiques en fonction de la température : les points de fusion, d'ébullition et de sublimation, qui symbolisent le passage du produit à différents états (amorphe, cristallin, état de fusion). Ces points se déplacent vers des températures plus élevées pour la molécule invitée ou disparaissent dans l'intervalle de température où la cyclodextrine est décomposée lors de la formation de complexes.

Cette méthode permet d'évaluer toutes les modifications structurales de la molécule invitée avant le début de la dégradation thermique et de l'oxydation de la cyclodextrine [98].

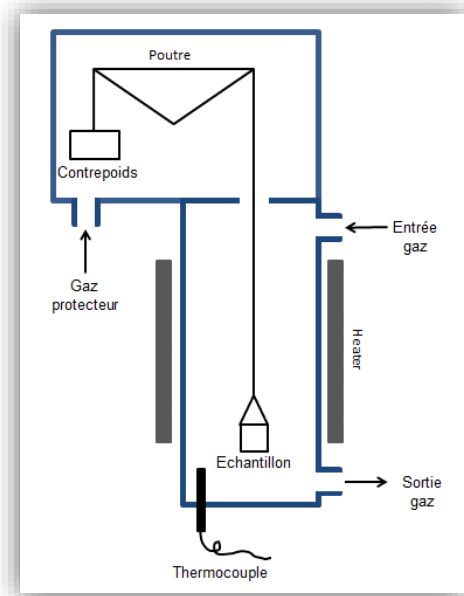


Figure II.19 : Schéma de l'analyseur Thermogravimétrique (ATG).

II.3.6.7 Le test de dissolution

Un test de dissolution est une analyse essentielle utilisée dans l'industrie pharmaceutique pour évaluer la libération d'un principe actif d'une forme semi-solide ou solide lors du développement d'un produit. Ce test permet de mesurer la vitesse et l'étendue de la libération du principe actif d'une forme pharmaceutique donnée dans un milieu de dissolution spécifique. Il est crucial pour évaluer la biodisponibilité du principe actif, déterminer les mécanismes de dissolution du médicament et contrôler sa qualité.

Dans le cas des complexes d'inclusion, ce test est destiné à identifier la quantité et le profil de libération de la molécule invitée, et à étudier l'amélioration éventuelle de sa solubilité.

Le test de dissolution du disque rotatif est le plus courant. Pour ce faire, les complexes sont pulvérisés ou compressés afin d'obtenir des comprimés de surface identiques. Ensuite, les comprimés sont placés dans les bacs de l'appareil contenant une solution aqueuse, gastrique ou basique conservée dans un bain thermostaté à 37°C. Des échantillons de 4 à 5 ml sont prélevés à des intervalles réguliers afin d'être filtrés de préférence puis analysés [99].

II.3.7 Diagramme de phase (Diagramme d'Higuchi)

La méthode d'Higuchi et Connors est une technique connue pour étudier la solubilité des cyclodextrines et les complexes d'inclusion qu'elles forment avec diverses molécules. L'analyse de cette solubilité nous éclaire un peu plus sur la stœchiométrie de l'équilibre.

Les diagrammes de solubilité ou isothermes de solubilité sont réalisés en introduisant dans différentes fioles un excès d'une substance peu soluble dans l'eau auxquelles est ajouté un véhicule aqueux contenant de cyclodextrines de concentrations croissantes à une température donnée. Afin d'atteindre l'équilibre de la complexation, un temps d'agitation est nécessaire (plusieurs heures à plusieurs jours). La quantité de substance solubilisée est ensuite déterminée par une méthode de dosage appropriée après avoir filtrer les suspensions [100].

Le diagramme de phase est alors créé en évaluant l'impact de la cyclodextrine sur la solubilité apparente des molécules invitées et cela en rapportant la concentration molaire du soluté sur l'axe abscisse et la concentration molaire de l'agent complexant (les cyclodextrines) sur l'axe ordonnées sur un graphique.

Les implications pratiques et phénoménologiques de ce diagramme ont été développées par Higuchi et Connors dans leurs travaux publiées en 1964. Ils ont classé les différents types de diagrammes en caractérisant les interactions substrat-ligand, auxquelles peuvent être assimilées les interactions cyclodextrine-molécule invitée. Deux profils majeurs sont distingués ; le profil A et le profil B [101].

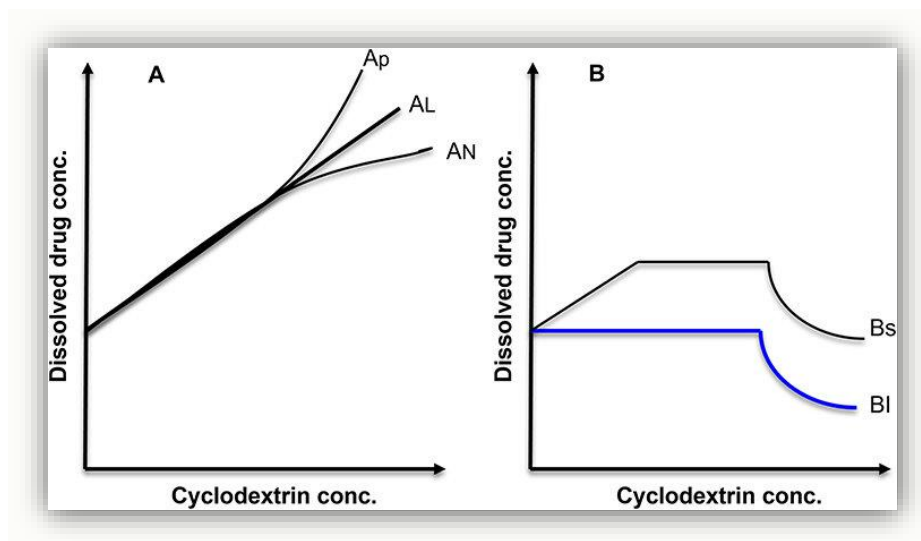


Figure II.20 : Représentation graphique des types de diagramme de solubilité selon la classification de Higuchi et Connors.

II.3.7.1 Point A

Le profil A est obtenu lorsque la solubilité du substrat augmente avec des concentrations croissantes en CD. Il contient trois (03) variantes :

- La solubilité apparente augmente linéairement en fonction de la concentration de CD, selon les profils de type AL. Certains attribuent ces profils à la formation de complexes de stœchiométrie égale (1 :1, 2 :2...) [102].
- Les profils de type AP montrent une déviation positive de la linéarité isotherme, ce qui signifie que la CD est plus efficace à de hautes concentrations. Ces profils représentent la formation simultanée de complexes à différentes stœchiométries (1 : 1 initialement, puis 1 : 2, 1 : 3...) [103].
- Les profils de type AN montrent une déviation négative par rapport à la linéarité, c'est-à-dire que la CD est proportionnellement moins efficace dans les concentrations élevées. Cependant, il peut être difficile d'interpréter ces profils. La diminution de la solubilité par rapport au profil linéaire peut être due à des changements dans la solubilité du complexe, à la constante diélectrique du milieu ou à l'association de CD entre elles à de hautes concentrations [104].

II.3.7.2 Point B

Le type B est obtenu lorsque le complexe présente une solubilité limitée, elle est inférieure à celle de la CD. On distingue deux sous-types :

- Le profil de type Bs suit au départ le profil de type AL puis à partir d'un certain point tout ajout de cyclodextrines provoque la précipitation du complexe (au fur et à mesure que le complexe précipite, le principe actif non encore dissout se solubilise sous forme libre). La courbe décroît ensuite (tout l'excès de principe actif est dissous et cette fraction est progressivement complexée et précipitée).
- Le profil de type BI peut être interprété de la même manière sauf que dans ce cas, le complexe est tellement insoluble que l'augmentation initiale de la solubilité ne peut être détectée [105].

L'établissement de ces diagrammes de solubilité permet de calculer, à partir de la pente de la droite, une constante de stabilité apparente K_c , en se basant sur l'équation d'Higuchi.

$$K_c = \frac{\alpha}{S_0(1 - \alpha)}$$

Avec α : la pente de la partie linéaire de la courbe. S_0 : la solubilité aqueuse en mol/L du principe actif sans cyclodextrine. K_c : la constante de stabilité en M^{-1}

La stabilité du complexe formé et sa progression dans les milieux biologiques peuvent être représentées par cette constante. Le principe actif est libéré plus rapidement lorsque la constante de stabilité est inférieure [61].

II.4 Conclusion

Il a été vu dans ce chapitre que les CDs et leurs dérivés sont utilisés dans de nombreux domaines d'applications.

Toutefois, la synthèse des CDs modifiées conduisant le plus souvent à des mélanges de plusieurs dérivés aux propriétés différentes, il est nécessaire de mettre au point des méthodes permettant d'analyser ces mélanges le plus finement possible.

Une fois caractérisées, les CDs possèdent la capacité de complexer de nombreuses molécules et d'en modifier ainsi les propriétés physicochimiques, ce qui en fait des molécules très attractives pour de nombreuses industries.

Notons enfin que les CDs sont produites à partir d'une ressource renouvelable ce qui laisse penser qu'elles seront disponibles à des prix raisonnables pour longtemps encore.

Chapitre III : Activités biologiques des huiles essentielles.

Chapitre III : Activités biologiques des huiles essentielles.**III.1. Activités biologiques de l'huile essentielle**

Dans ce contexte, le terme "biologique" englobe toutes les caractéristiques, allant de "abdomen" à "zymase", que tout produit naturel peut posséder. Et ceux-ci peuvent être attribués à toute la nature animée, à tous les êtres vivants, plantes, animaux, et surtout humains. Toutefois, cette étude ne concerne que les effets des huiles essentielles (HEs).

Les activités « botaniques » exclues comprennent par exemple les effets antioxydants, les propriétés anticancéreuses et antibactériennes et les activités améliorant la pénétration [106].

III.1.1. Activités antibactérienne, antifongique et antivirale

La majorité des huiles essentielles combattent une variété de microorganismes, y compris les bactéries, les champignons, les levures, les virus et les protozoaires, avec un spectre d'action très étendu. La grande complexité de la composition des huiles essentielles est responsable de leurs propriétés antibactériennes et antifongiques. Les phénols par exemple le carvacrol et le thymol ont le plus grand coefficient antibactérien et antifongique, suivis des monoterpénols (géraniol, menthol) et des aldéhydes [107].

Les virus provoquent des pathologies très variées, dont certaines posent des problèmes encore non résolus. Les huiles essentielles peuvent être utilisées pour traiter ces fléaux infectieux. Les virus sont extrêmement sensibles aux phénylpropanoïdes, monoterpènes et sesquiterpènes des huiles essentielles [108].

III.1.2. Activité antioxydante

Un antioxydant est une substance capable de retarder ou d'empêcher l'oxydation des substrats biologiques. Les antioxydants sont des composés qui réagissent avec les radicaux libres et les rendent inoffensifs. Tout le contenu en phénol est lié à la capacité antioxydante des huiles essentielles [109].

L'activité antioxydante est la raison pour laquelle les huiles essentielles et leurs composants possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques. De ce point de vue, elle peut être considérée comme l'une des plus cruciales car le stress oxydatif est responsable de nombreuses pathologies (Figure III.1).

En outre, les huiles essentielles jouent également un rôle anti-inflammatoire en tant que piègeurs de radicaux libres, car l'une des réactions inflammatoires est une "explosion oxydative" qui se produit dans les cellules du système immunitaire, telles que les monocytes, les neutrophiles, les éosinophiles et les macrophages. Les types d'oxygène réactifs sont considérés comme l'un des stimulants les plus puissants de la réaction inflammatoire [110]. On peut exercer cette fonction soit en capturant directement les radicaux libres, soit en activant les mécanismes antioxydants des cellules. La présence de composés tels que les phénols permet de ralentir ou d'arrêter l'oxydation de la matière organique, ce qui explique cette activité biologique antioxydante. Bien que certaines huiles essentielles qui ne contiennent pas de composés phénoliques aient également cette activité antioxydante [111].



Figure III.1 : Schéma illustrant le stress oxydatif.

III.1.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles

Plusieurs méthodes permettent d'évaluer l'activité antioxydante des huiles essentielles à la fois in-vitro et in-vivo.

Le DPPH (1,1, diphenyl-2-picrylhydrazyl) est l'un des tests les plus couramment utilisés, car il est le plus simple. Cependant, une étude ultérieure a mis en évidence le manque de pertinence de certains tests pour évaluer l'effet antioxydant des huiles essentielles [112]. Le test le plus couramment employé pour évaluer l'activité antioxydante des huiles essentielles est :

La méthode de DPPH° : Le test DPPH° est utilisé pour évaluer la capacité anti radicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il évalue la capacité d'un antioxydant (principalement des composés phénoliques) à diminuer le radical chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. Le DPPH°, initialement violet, se métamorphose en DPPH-H, jaune pâle [112].

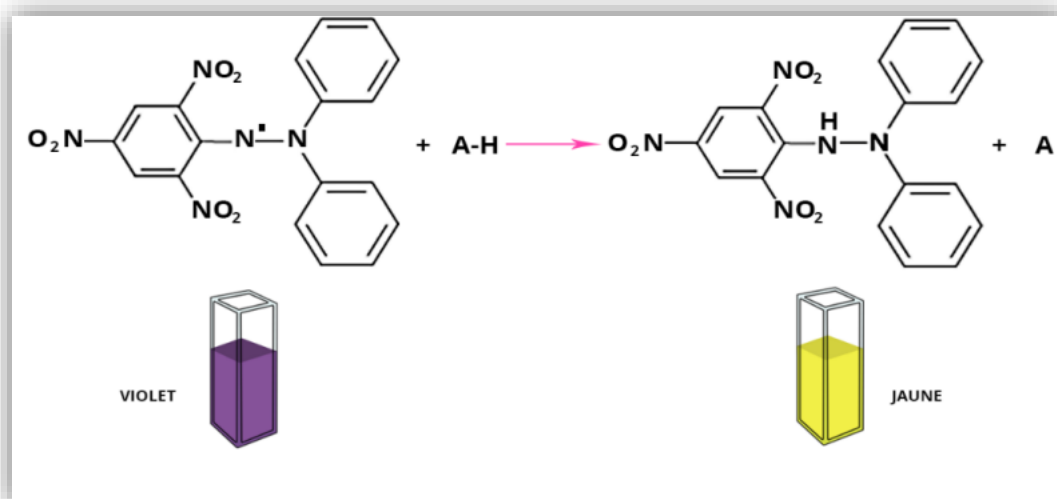


Figure III.2 : Le processus d'inhibition du radical DPPH°.

La diminution du DPPH° peut être facilement évaluée à l'aide de la spectrophotométrie à 515 nm. Selon la nature de l'antioxydant, la réaction sera plus ou moins rapide, et la quantité de DPPH-H produite sera influencée par la concentration de l'antioxydant [110].

III.2.Stress oxydatif

Depuis quelques années, un nouveau concept, celui du « stress oxydant », s'est imposé dans le domaine des sciences biologiques et médicales, c'est-à-dire une situation où la cellule ne peut plus contrôler la présence excessive des radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs associent à la plupart des maladies humaines [113].

III.2.1. Définition

On définit le stress oxydant comme un déséquilibre entre la capacité antioxydante et le niveau des espèces réactives à l'oxygène (ERO) en faveur de ces dernières, ce qui entraîne l'accumulation du produit de l'oxydation. Ce déséquilibre entraîne une perturbation des systèmes de signalisation cellulaire ainsi que d'autres fonctions [114].

Le stress oxydatif est un processus normal de l'organisme tant qu'il ne dépasse pas certaines caractéristiques. Effectivement, tous les êtres vivants qui absorbent de l'oxygène génèrent des radicaux libres, qui sont de petites substances chimiques très oxydées lorsqu'elles sont en contact avec l'oxygène, et dont nos cellules sont habituellement capables de se débarrasser très facilement. Lorsque les cellules sont soit dépassées par la quantité de radicaux libres à éliminer, soit n'ont pas suffisamment de ressources antioxydantes (vitamines, oligoéléments, enzymes) pour les éliminer, le stress oxydatif devient inhabituel [115].

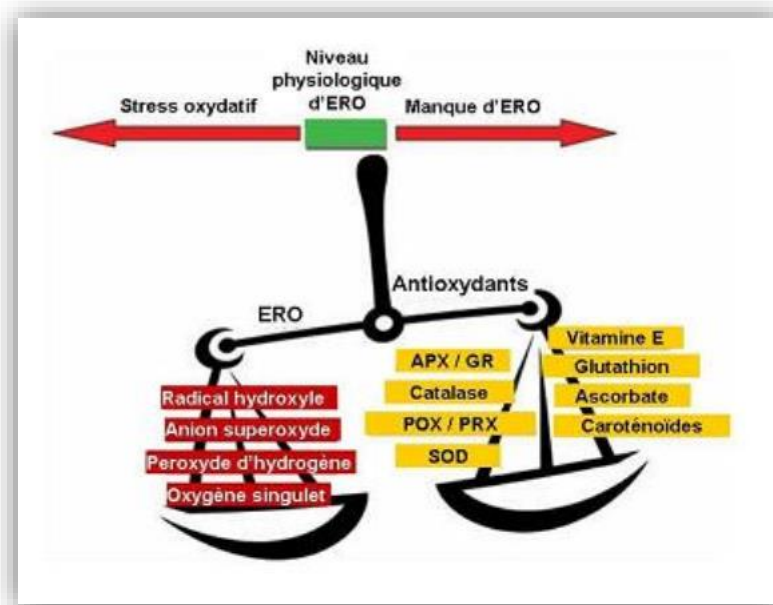


Figure III.3 : Illustration de la relation entre les ERO et les antioxydants.

III.2.2. Espèces réactives de l'oxygène (ERO)

III.2.2.1. Définition

- ✓ **L'oxygène** : Il joue un rôle crucial dans les organismes multicellulaires car il permet de générer de l'énergie en oxydant de la matière organique. Cependant, notre organisme transforme une partie de cet oxygène en des métabolites toxiques : les radicaux libres organiques.
- ✓ **Les radicaux libres ou ERO** : Ils désignent des substances chimiques (atomes ou molécules) qui ont un électron unique (ou électron non apparié) sur leur surface externe. Ils présentent le principal risque de causer des dommages lorsqu'ils interagissent avec des éléments cellulaires essentiels tels que l'ADN ou la membrane cellulaire, ce qui peut

entraîner une multiplication anormale des cellules, entraînant un dysfonctionnement ou une mort cellulaire, voire un cancer [116].

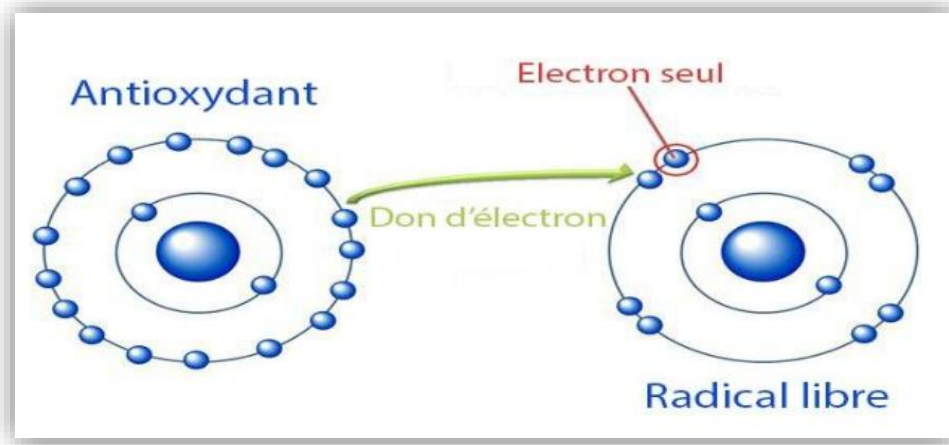


Figure III.4 : La neutralisation d'un radical libre par un antioxydant.

III.2.2.2. Les différents types d'ERO

- ✓ **Les radicaux primaires** : Ils forment un groupe limité de substances radicalaires, qui sont directement dérivées de l'oxygène par réduction à un électron, comme l'anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$) et le radical hydroxyle (OH°), ou de l'azote comme le monoxyde d'azote (NO°).
- ✓ **Les radicaux secondaires** : Les radicaux secondaires se produisent lorsque les radicaux primaires réagissent aux composés biochimiques de la cellule. À la différence des ERO primaires qui sont produites régulièrement et en grande quantité par les cellules, les ERO secondaires ne sont formées que dans des conditions spécifiques [117].

III.3. Analyse de sperme avec CASA (Computer Assisted Semen Analysis)

Un système CASA (Computer Assisted Semen Analysis ou analyse de sperme assistée par ordinateur) est un dispositif qui permet d'évaluer automatiquement, de manière objective et standardisée, la concentration, la mobilité, la morphologie et la viabilité des spermatozoïdes d'un échantillon. La majorité de ces systèmes reposent sur des méthodes d'analyse d'images. Il existe d'autres méthodes d'analyse, mais elles ne sont pas classées comme des systèmes CASA [118].

III.3.1. Les différentes vitesses de mobilités des spermatozoïdes mesurées par le CASA (Computer Sperm Analyzer)

Les données intéressantes fournies par l'Analyseur informatique concernent les divers mouvements et trajectoires des spermatozoïdes, et des valeurs cinématiques sont calculées pour chaque spermatozoïde. Les valeurs des vitesses de développement des spermatozoïdes les plus significatives sont mentionnées ci-dessous :

La VSL (Straight-Line Velocity) : il s'agit de la distance entre le point d'origine et celui d'arrivée du spermatozoïde, quel que soit son trajet, en ligne droite ;

La VCL (Curvilinear Velocity) : il s'agit de la distance totale parcourue par le spermatozoïde pendant une période spécifique ;

La VAP (Velocity Average Pathway) : c'est l'équivalent de la VCL après lissage de son trajet ;

L'ALH (Amplitude of Lateral Head Displacement) : il s'agit de la distance parcourue par la tête du spermatozoïde pendant son mouvement ;

La BCF (Beat Cross Frequency) : il s'agit de la fréquence à laquelle la tête du spermatozoïde traverse la trajectoire moyenne, mesurée en Hertz [119].

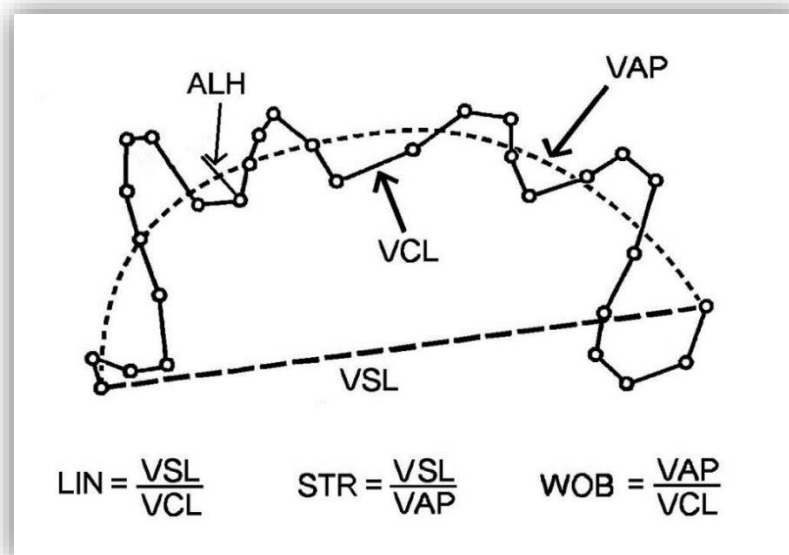


Figure III.5 : Schéma représentant les différents types de vitesse de mobilité du spermatozoïde.

III.4. Activités Biologiques du romarin et de l'armoise blanche

Le romarin ainsi que l'armoise présentent une activité biologique diversifiée en raison de leurs composés bioactifs. Elles possèdent des propriétés antioxydantes qui aident à neutraliser les radicaux libres et à protéger les cellules contre les dommages oxydatifs. Ainsi que d'autres propriétés (anti-inflammatoires, antispasmodiques, antimicrobiennes et stimulantes).

Pour conclure, le romarin est une plante polyvalente qui offre une multitude de bienfaits pour la santé et le bien-être. Sa composition chimique complexe et ses propriétés thérapeutiques en font un sujet d'intérêt continu pour la recherche scientifique et son utilisation dans divers domaines reste très répandue [120].

En ce qui concerne l'armoise, de nombreuses recherches scientifiques ont démontré l'efficacité de l'armoise blanche en tant qu'antidiabétique, antiparasitaire, antibactérien, antiviral, antioxydant, antispasmodique et antibiotique [121].

D'autres recherches menées sur des plantes médicinales algériennes, dont *A. herba-alba*, démontrent que ces plantes ont une activité antioxydante puissante et une teneur élevée en composés phénoliques supérieure à celle des plantes alimentaires habituelles. Ces recherches ont également souligné que ces plantes algériennes sont efficaces pour neutraliser les radicaux libres et peuvent être considérées comme une source fiable d'antioxydants naturels à des fins médicinales et commerciales [122].

III.4.1. Activité antioxydante

Différentes maladies chroniques humaines ont été associées aux dommages cellulaires causés par le stress oxydatif et les espèces réactives de l'oxygène, y compris les maladies cardiovasculaires, certains cancers et certaines maladies neurodégénératives. Les antioxydants naturels gagnent en popularité, non seulement dans le domaine de la nutrition (conservation et stabilité des aliments), mais aussi dans le domaine de la médecine préventive [123].

La famille des Lamiacées a suscité de nombreuses études sur les antioxydants en raison de sa richesse en polyphénols [124] qui ont la capacité de préserver les tissus des dommages

causés par les espèces réactives de l'oxygène, ce qui permet de diminuer le risque de maladies chroniques chez l'homme [125].

De nombreux produits phytochimiques de *Rosmarinus officinalis* peuvent être utilisés comme sources potentielles de composés naturels tels que les diterpènes phénoliques, les acides phénoliques, les flavonoïdes et les huiles essentielles.

La principale raison de l'activité antioxydante de *Rosmarinus officinalis* est la présence élevée de composants non volatils tels que l'acide carnosique, le carnosol (diterpènes phénoliques) et l'acide rosmarinique [126].

III.4.2. Activité antimicrobienne et antifongique

Différentes études ont mis en évidence les propriétés antibactériennes du romarin [127], ont examiné les conséquences des extraits aqueux et méthanoliques du romarin sur la prolifération de *Streptococcus sobrinus* et l'activité extracellulaire de l'enzyme glucosyltransferase.

D'après les résultats, il a été démontré que le romarin prévient la formation de caries en inhibant la prolifération de *Streptococcus sobrinus* et permet de supprimer les plaques dentaires en supprimant l'activité de la glucosyltransférase. De plus, l'extrait de romarin, extrait à partir du dioxyde de carbone (CO₂), a démontré une grande activité antimicrobienne contre 28 souches bactériennes [128].

11 huiles essentielles ont été évaluées pour leur activité antifongique, y compris celle du romarin. Selon les résultats, ces huiles ont une activité inhibitrice modérée sur les cinq espèces fongiques examinées (*Candida albicans*, *Rhodotorulaglutinis*, *Schizosaccharomycespombe*, *Saccharomycescerevisiae*, *Yarrowialypolitica*) [129].

La présence d'huile essentielle et de l'extrait des parties aériennes de romarin présente une action antibactérienne et antifongique, ce qui empêche la prolifération des bactéries, la croissance des mycéliums et la genèse des spores. Les principaux composants de l'extrait brut, tels que l'acide carnosique, le carnosol et le 12-méthoxy-transacide carnosique, ainsi que les principaux composants de l'huile essentielle, tels que le 1,8-cineole, le camphre, le bornéol, l' α -pinène et d'autres constituants, contribuent à cette activité [130].

Une étude a été réalisée sur l'activité antibactérienne de l'Armoise blanche collectée près de Sde Boker (désert du Néguev). On a constaté que seule l'huile essentielle est active contre certaines bactéries Gram-positives (*Streptococcus Hemolyticus* et *Staphylococcus aureus*) et les bactéries Gram négatives (*Escherichia coli*, *Shigella sonnei* et *Salmonella typhosa*). La chromatographie sur colonne a été utilisée pour séparer l'huile essentielle, puis ses fractions ont été analysées pour leur activité antibactérienne. L'alcool santoline a été le principal élément de la fraction la plus active.

De plus, l'activité antibactérienne des quatre huiles essentielles provenant de populations *Artemisia herba-alba* en Israël (Sde Boker-, Mizpe Ramon, désert de Judée et d'Eilat) a été examinée. Une activité antibactérienne est présente dans toutes les huiles légères dans la plage de concentration de 2,1 mg/ml. Les huiles ont démontré leur efficacité contre les bactéries Gram négatives (*Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhosa*, *Serratia marcescens* et *Pseudomonas aeruginosa*) ainsi que contre les bactéries Gram positives (*Bacillus subtilis*, *Streptococcus hemolyticus* et *Staphylococcus aureus*). L'huile issue de la variété Sde Boker avait une activité antibactérienne la plus élevée [122].

En ce qui concerne l'activité antifongique de l'armoise semble être liée à deux composés volatils majeurs, le carvone et le pipéritone, qui sont très actifs contre diverses espèces de levures et de moisissures (*Penicillium*, *Fusarium* et *Candida*), en inhibant la croissance des levures et la germination des spores, en étendant le mycélium, en sporulant et en produisant des toxines chez les moisissures [131].

III.5 Travaux antérieurs

Le processus d'encapsulation vise à emprisonner une substance ou un mélange de substances spécifiques avec des matériaux adaptés. Le matériau encapsulé peut être soit liquide, soit solide, soit gazeux. En général, il s'agit d'éléments actifs (huiles essentielles, arômes, antioxydants,...) qui ont des effets spécifiques qui peuvent être sensibles ou instables à certains facteurs environnementaux. Il s'agit également d'une substance que l'on souhaite altérer, comme transformer un liquide en solide [132].

La littérature rapporte de nombreux exemples d'amélioration des propriétés des HE et de leurs composants après leur encapsulation par des CD comme le représente bien le tableau ci-dessous :

Tableau III.1 Exemples de complexes d'inclusion entre les CDs et des composants d'HEs obtenus par différentes méthodes de préparation [73].

Composant d'HE	CD	Caractéristiques améliorées
Acétaldéhyde	α -, β -, γ -CD	Antifongique
Bornéol	β -CD	Solubilité, stabilité
Camphor	α -, β -, γ -CD	Solubilité
Carvacrol	α -, β -, HP- β -CD	Solubilité, antibactérienne, antifongique
trans-Cinnamaldéhyde	β -CD	Solubilité, antibactérienne
p-Cymène	β -CD	Analgésique, anti-inflammatoire
Eugénol	α -, β -, HP- β -CD	Stabilité, solubilité, antibactérienne, antifongique
Géranol Limonène Menthol Menthone Myrcène Nérol Pérrillaldehyde	β -, G2-, GUG- β -CD	Solubilité, stabilité
Linalol	α -, β -, HP- β -CD	Solubilité, stabilité, analgésique, anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique
2-Pentanoylfuran	α -, β -, HP- β -CD	Solubilité, antibactérienne, antifongique
Pulégone	β -, γ -CD	Stabilité
Terpinéol	β -, HP- β -, G2-, GUG- β -CD	Stabilité, solubilité

Thymol	β -CD	Solubilité, stabilité, antifongique, profil pharmacocinétique
--------	-------------	---

Tableau III.2 : Différents travaux antérieurs de l'encapsulation des huiles essentielles.

Titre	Auteurs et années	Type de cyclodextrine	Méthode utilisée	But
Development of a Syzygium aromaticum, L. essential oil/hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion complex : Preparation, characterization, and evaluation [133].	Jialing Huang et al (2024)	HP- β -Cyclodextrine	Co-précipitation assistée par ultrasons	Optimisation des paramètres du complexe d'inclusion
Preparation and characterization of a biopesticide based on Artemisia herba-alba Essential oil encapsulated with acid-modified succinicBeta-cyclodextrin [134].	Amine Ez-Zoubi et al (2023)	Acide succinique modifié β -cyclodextrine (SACD)	Co-précipitation	Evaluation de l'activité antifongique contre <i>B. cinerea</i>
β-Cyclodextrin inclusion complexes of combined		β -Cyclodextrine	Co-précipitation	Optimisation de la méthode d'encapsulation (microencapsulation)

<p>Moroccan Rosmarinus officinalis, Lavandula angustifolia and Citrus aurantium volatile oil : production optimization and release kinetics in food models [135].</p>	<p>Sara El Kharraf et al (2023)</p>			<p>par RSM (response surface methodology)</p>
<p>Optimization and characterization of 1,8-cineole/ hydroxypropyl-β-cyclodextrin inclusion complex and study of its release kinetics [136].</p>	<p>Hao Yin, Chenxiao Wang et al (2021)</p>	<p>HP-β-Cyclodextrine</p>	<p>Co-précipitation</p>	<p>Optimisation des paramètres du complexe d'inclusion et modélisation (cinétique de libération)</p>
<p>Synthesis and characterization of inclusion complexes of rosemary essential oil with various β-cyclodextrins and evaluation of their antibacterial activity against Staphylococcus aureus [137].</p>	<p>Abedalghani Halahlah et al (2021)</p>	<p>β-CD Me-β-CD HP-β-CD</p>	<p>Co-précipitation et pétrissage (KND)</p>	<p>L'évaluation de l'activité antibactérienne (<i>Staphylococcus aureus</i>)</p>

<p>Development and Evaluation of Antimicrobial and Modulatory Activity of Inclusion Complex of Euterpe oleracea Mart Oil and β-Cyclodextrin or HP-β-Cyclodextrin [138].</p>	<p>Thalita Sévia Soares de Almeida Magalhães et al (2020)</p>	<p>β-CD HP-β-CD</p>	<p>Pétrissage (KND) et suspension (SL)</p>	<p>Amélioration de la solubilité et de la biodisponibilité et évaluation de l'activité antimicrobienne</p>
<p>Post-harvest management control of Ectomyelois ceratoniae (Zeller) (Lepidoptera : Pyralidae) : new insights through essential oil encapsulation in cyclodextrin [60].</p>	<p>Maha Ben Abada et al (2019)</p>	<p>HP-β-CD</p>	<p>Co-précipitation</p>	<p>Evaluation de l'activité antiparasitaire</p>
<p>Characterization of bêta-cyclodextrin inclusion complexes containing an essential oil component [139].</p>	<p>Romina L. Abarca et al (2015)</p>	<p>β-CD</p>	<p>Co-précipitation</p>	<p>Evaluation de l'activité antifongique et antimicrobienne</p>

Partie 2 : Pratique et Analyses.
Chapitre IV : Matériels et méthodes.

Partie 2 : Pratique et Analyses.**Chapitre IV : Matériels et méthodes.****IV.1 Courbes d'étalonnages****IV.1.1 Matériels**

- Bêchers ;
- Barreaux magnétiques ;
- Spatule ;
- Verre de montre ;
- Pipette de 5 mL ;
- Micropipettes.

IV.1.2 Appareillages

- Balance analytique de précision (Denver instrument) ;
- Plaque agitatrice multiple (VELP scientifica) ;
- Spectrophotomètre UV-visible (Shimadzu).

IV.1.3 Produits chimiques

- Cinéole (fournie généreusement par l'université d'Opole) ;
- Camphre (fournie généreusement par l'université d'Opole) ;
- Ethanol (Biochem Chemopharma).



(1)

(2)

(3)

Figure IV.1.1 (1) Cinéole ; (2) Camphre ; (3) Ethanol.

IV.1.4 Méthode

Nous avons préparé une gamme étalon contenant des concentrations croissantes de camphre et de cinéole dans 25 mL d'éthanol afin d'établir une courbe d'étalonnage pour chacun de ces derniers.

Les concentrations du camphre et du cinéole utilisées sont résumées dans le tableau IV.1.

[C] Camphre (mg/ml)	0,01	0,02	0,04	0,05	0,06	0,08	0,09		
[C] Cinéole (μ l/ml)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,8	0,9	1

IV.2 TEST D'HIGUCHI

IV.2.1 Matériels

- Béchers ;
- Barreaux magnétiques ;
- Spatule ;
- Verre de montre ;
- Filtres seringues ;
- Seringues.

IV.2.2 Appareillages

- Balance analytique de précision (Denver instrument) ;
- Plaque agitatrice multiple (VELP scientifica).

IV.2.3 Produits chimiques

- Cyclodextrines : α -CD, β -CD, HP- β -CD et γ -CD (fournie généreusement par le laboratoire de Pharmacie Galénique de l'Université de Rouen) ;
- Cinéole (fournie généreusement par l'université d'Opole) ;

- Camphre (fournie généreusement par l'université d'Opole) ;
- Eau distillée.



Figure IV.2.1. Différentes cyclodextrines utilisées.

IV.2.4 Méthode

La mise en évidence de l'effet des cyclodextrines sur la solubilité du camphre et du cinéol se fait essentiellement par l'observation du passage en solution de ces principes actifs.

Les diagrammes de solubilité de l' α -CD, HP- β -CD, la β -CD et la γ -CD sont chacun réalisés selon la méthode d'Higuchi et Connors [140], nous avons préparé des solutions de (7 ml) de concentrations croissantes en CD dans de l'eau distillée. Nous avons ensuite ajouté un excès de camphre et de cinéole séparément à ces solutions. Ces dernières sont placées à l'obscurité, à température ambiante et sous agitation pendant sept jours.

Tableau IV.2. Les masses des différentes CDs utilisées pour le camphre.

α -CD	0	0,0161	0,0647	0,086	0,193	1,013	
β -CD	0	0,0161	0,0647	0,086	0,1295		
γ -CD	0	0,0161	0,0647	0,086	0,203	1,624	
HP- β -CD	0	0,086	0,193	0,5	1,015	2,432	2,773

Tableau IV.3. Les masses des différentes CDs utilisées pour le cinéole.

β -CD	0	0,0161	0,031	0,066	0,08	0,1295	
HP- β - CD	0	0,285	0,5	0,928	1,362	1,5	2,04

Après 7 jours, les solutions sont décantées et filtrées avec des micro-filtres (0.45 μ m). Le camphre et le cinéole dissouts par la formation de complexes avec les CD sont quantifiés. La méthode de dosage utilisée est la spectroscopie UV-Visible.

La lecture se fait à une longueur d'onde λ égale à 286 nm pour le camphre et 206 nm pour le cinéole.

**Figure IV.2.2** Représentation du test d'Higuchi.

IV.3 Préparation des complexes d'inclusion

IV.3.1 Matériels

- Bêchers ;
- Barreaux magnétiques ;
- Spatule ;
- Verre de montre ;
- Pipette de 5 mL ;
- Micropipettes.

IV.3.2 Appareillages

- Balance analytique de précision (Denver instrument) ;
- Plaque agitatrice multiple (VELP scientifica) ;
- Evaporateur rotatif (IKA RV 10 digital).



Figure IV.3.1 Evaporateur rotatif (IKA RV 10 digital)

IV.3.3 Produits chimiques

- Cyclodextrines : α -CD et HP- β -CD (fournie généreusement par le laboratoire de Pharmacie Galénique de l'Université de Rouen) ;
- Cinéole (fournie généreusement par l'université d'Opole) ;
- Camphre (fournie généreusement par l'université d'Opole) ;
- Ethanol (Biochem Chemopharma).

IV.3.4 Méthode

Nous avons procédé par la méthode de co-évaporation afin de former nos complexes d'inclusions et pour cela nous avons dissout une quantité de cyclodextrine : (α -CD) pour le camphre et (HP- β -CD) pour le cinéole. Nous y avons par la suite ajouté respectivement une quantité équivalente de camphre, c'est-à-dire 0,08 g pour un ratio de (1,1) et 0,16 g pour un ratio de (1,2) et enfin une quantité de 0,053 g de cinéole pour un ratio de (1,1). Le tout a été mis sous agitation pendant 24h. Les solutions sont alors mises dans un évaporateur rotatif jusqu'à

évaporation totale du solvant. Les produits sont par la suite récupérés sous forme de poudre cristalline et conservés dans un dessiccateur [141].

IV.4 Caractérisation des différents traitements seuls et encapsulés

IV.4.1 Analyse thermogravimétrique (ATG)

L'analyse thermogravimétrique a été réalisée en utilisant l'analyseur thermique (Parkin elmer STA 8000). Les échantillons ont été chauffés de 25 °C à 600 °C, à une vitesse de chauffage de 10 °C/min sous flux d'azote gazeux (10 ml/min) [142].

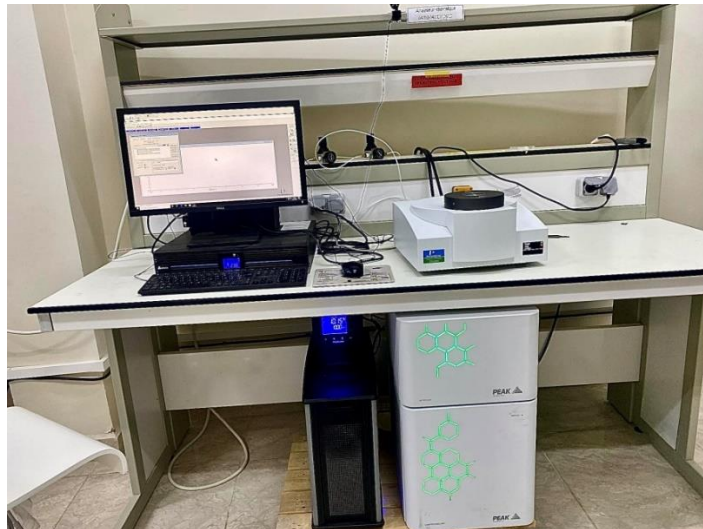


Figure IV.4.1 Analyseur thermique (Parkin elmer STA 8000).

IV.5 Tests biologiques

IV.5.1. Test de motilité des spermatozoïdes (détermination de la VSL)

IV.5.1.1 Matériels

- Seringues ;
- Lames stériles ;
- Bêchers ;
- Eppendorfs ;
- Barreaux magnétiques ;
- Micropipettes ;
- Eprovettes.

IV.5.1.2 Appareillages

- Plaque agitatrice multiple (VELP scientifica) ;

- Plaque chauffante (TRADE Raypa) ;
- Vortex (VELP scientifica) ;
- Microscope optique relié à un ordinateur (Nikon ECLIPSE E200), l'ensemble constitue le CASA (Computer Sperm Analyzer).



(1)



(2)



(3)

Figure IV.5.1 (1) Vortex (VELP scientifica) (2) CASA (3) Plaque chauffante (TRADE Raypa).

IV.5.1.3 Produits chimiques

- Complexe α -CD-Camphre ;
- Complexe HP- β -CD-Cinéole ;
- Cinéole (fournie généreusement par l'université d'Opole) ;
- Camphre (fournie généreusement par l'université d'Opole) ;
- Armoise ;
- Romarin ;
- Tris ;
- La semence.

IV.5.1.4 Méthode

Nous avons commencé par préparer une solution de tris de 100 ml contenant (tris, acide citrique, fructose et antibiotique).



Figure IV.5.2 Conténants de la solution de tris.

Voici un petit schéma résumant les différentes étapes du test spermatique :

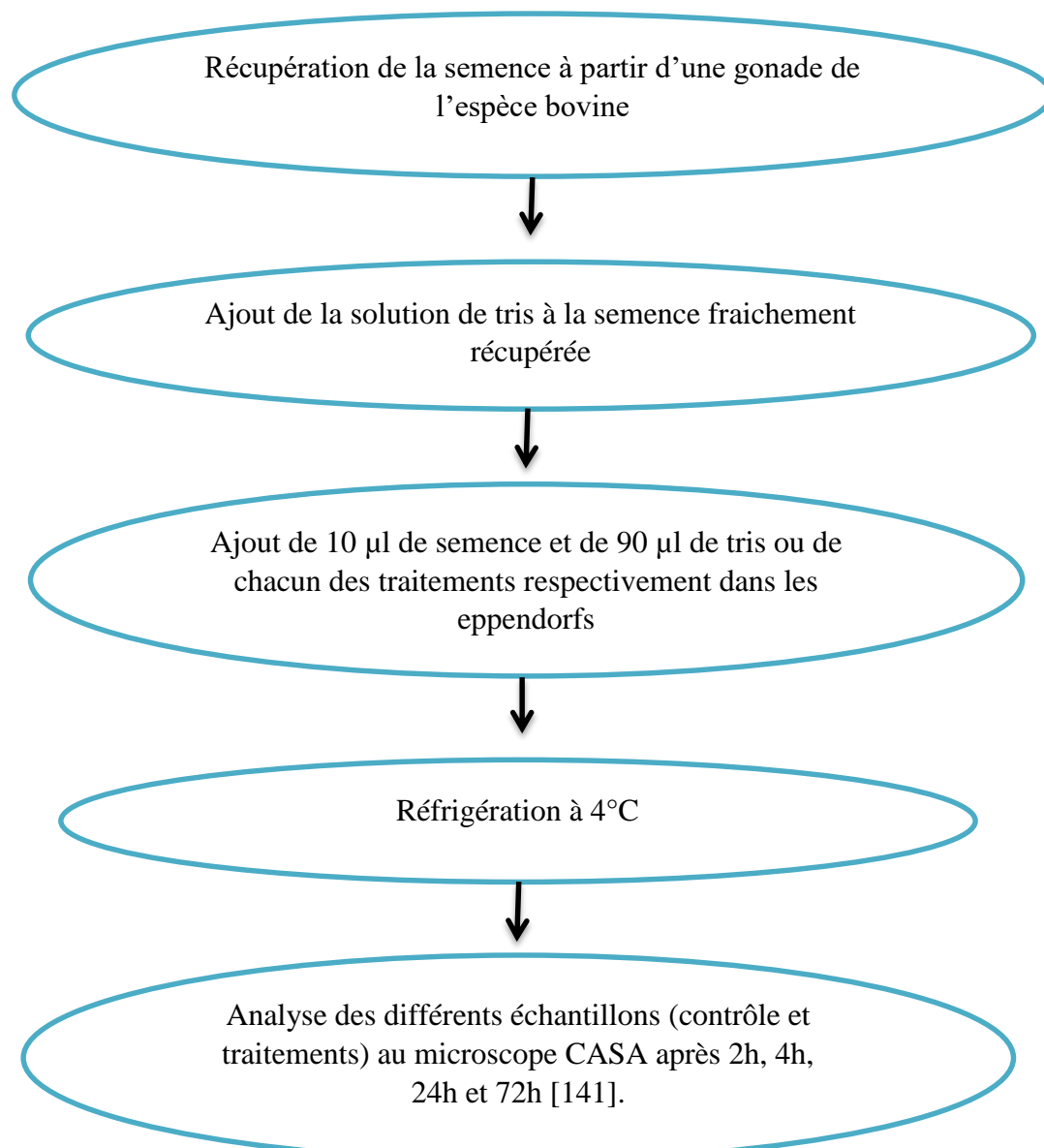




Figure IV.5.3 Résumé des étapes du test spermatique.

IV.5.2 Test DDPH

IV.5.2.1 Matériels

- Béchers ;
- Barreaux magnétiques ;
- Micropipettes ;
- Spatules ;
- Tubes à essais.

IV.5.2.2 Appareillages

- Plaque agitatrice multiple (VELP scientifica) ;
- Balance analytique de précision (Denver instrument) ;
- Spectrophotomètre UV-visible (Shimadzu).



(1)



(2)

Figure IV.5.4 (1) Balance analytique de précision (Denver instrument) ; (2) Plaque agitatrice multiple (VELP scientifica).

IV.5.2.3 Produits chimiques

- 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle (DDPH) ;
- Méthanol (Biochem Chemopharma) ;
- Complexe α -CD-Camphre ;
- Complexe HP- β -CD-Cinéole ;
- Cinéole (fournie généreusement par l'université d'Opole) ;
- Camphre (fournie généreusement par l'université d'Opole) ;
- Armoise ;
- Romarin.

IV.5.2.4 Méthode

En premier lieu, nous avons préparé une solution méthanolique de DPPH d'une concentration de 0,3 mM mais aussi plusieurs concentrations de nos différents traitements et du contrôle positif (acide ascorbique). Dans des tubes à essais, on ajoute 2,5 ml d'extrait et 1 ml de la solution méthanolique de DPPH, ces dernières sont placées à l'abri de la lumière pendant 30 min, puis nous procédons à la lecture de l'abs à 517 nm [143]. Le calcul du pourcentage des radicaux libres est réalisé à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Inhibition ratio (\%)} = \frac{Ac - As}{Ac} \times 100$$

Avec : Ac est l'abs du contrôle ;

As est l'abs du traitement.



(1)



(2)

Figure IV.5.5 (1) Solution de DPPH ; (2) Test DPPH.

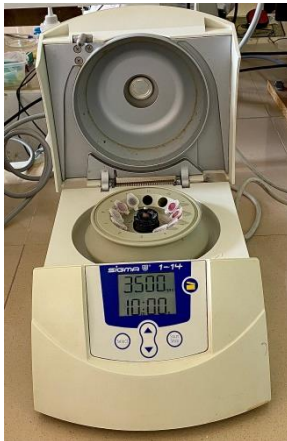
IV.5.3 Test hémolytique

IV.5.3.1 Matériels

- Tubes à essais ;
- Bêchers ;
- Seringues stériles ;
- Micropipettes ;
- Eppendorfs.

IV.5.3.2 Appareillages

- Centrifugeuse (MIKRO 200 R Réfrigérée- Hettich) et (SIGMA 1-14) ;
- Spectrophotomètre UV-visible (JENWAY Genova Bio) ;
- Vortex (VELP scientifica).



(1)



(2)



(3)

Figure IV.5.6 (1) Centrifugeuse (SIGMA 1-14) ; (2) Centrifugeuse (MIKRO 200 R Réfrigérée- Hettich) ; (3) Spectrophotomètre UV-visible (JENWAY Genova Bio).

IV.5.3.3 Produits chimiques

- Chlorure de sodium (NaCl) ;
- Sang humain ;
- Eau distillée ;
- Complexe α -CD-Camphre ;
- Complexe Hp- β -CD-Cinéole ;
- Cinéole (fournie généreusement par l'université d'Opole) ;
- Camphre (fournie généreusement par l'université d'Opole) ;
- Armoise ;
- Romarin.

IV.5.3.4 Méthode

Dans un premier temps, une quantité de sang est centrifugée à 3500 tours par minute pendant 10 minutes, on procède ensuite au lavage en remplaçant le surnageant par une solution de NaCl préparée précédemment (0,9%).

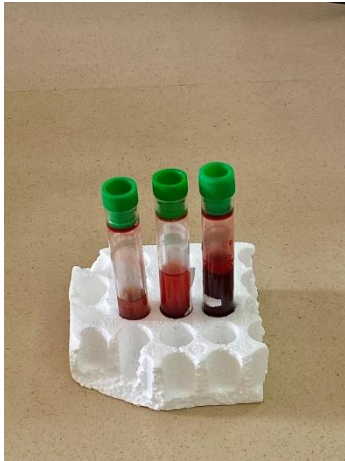
Après préparation de la solution RBC (Red Blood Cells), 1 ml de cette dernière est ajoutée à 1ml de nos différents traitements. Après incubation pendant 10 minutes, on centrifuge pendant 20 minutes à température ambiante [144].

L'absorbance est mesurée à 540 nm et le pourcentage du prélèvement hémolysé est calculé par l'équation suivante :

$$\% HB = \frac{Ac - As}{Ac} \times 100$$

Avec : Ac est l'abs du contrôle ;

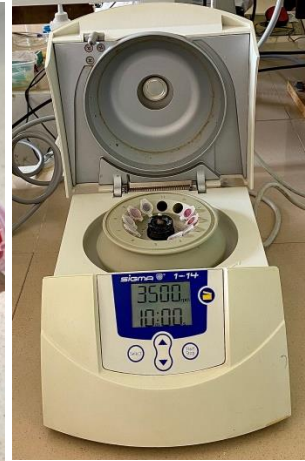
As est l'abs du traitement.



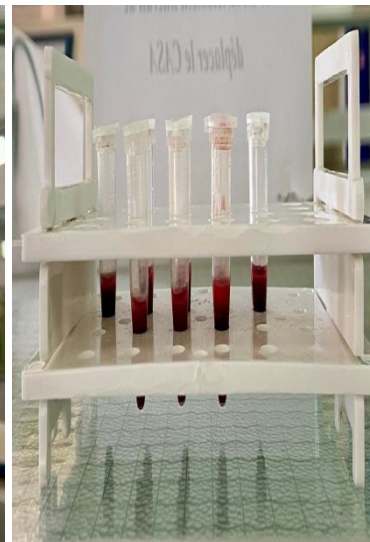
Sang humain



Sang distribué dans des eppendorfs



Centrifugation du sang



« Procéder au lavage du sang en remplaçant le surnageant par une solution de NaCl plusieurs fois »



« Ajout de la solution RBC aux différents traitements »

Figure IV.5.7 Résumé des étapes du test hémolytique.

Partie 2 : Pratique et Analyses.
Chapitre V : Résultats et discussion.

Partie 2 : Pratique et Analyses.**Chapitre V : Résultats et discussion.****V.1 Introduction**

Le camphre et le cinéole, également connu sous le nom d'eucalyptol, sont deux composés organiques naturels présents dans de nombreuses huiles essentielles, telles que celles de romarin, d'eucalyptus, d'armoise et de lavande mais la faible solubilité de ces dernières et leur instabilité limitent leur utilisation dans plusieurs produits. C'est dans ce contexte que nous nous sommes fixé comme objectif d'explorer d'autres options, pratiques et peu coûteuses pour exploiter les huiles essentielles de manière optimale.

Le choix est porté sur une méthode qui a montré son efficacité en termes de solubilisation et de stabilisation à savoir : la complexation par cyclodextrines.

Pour cette méthode, l'objectif est la préparation des complexes d'inclusion, les caractériser par les méthodes adéquates telles que : ATG, FTIR..., réaliser différents tests afin d'étudier la cytotoxicité ainsi que l'effet protecteur de nos différents traitements.

V.2 Diagramme de solubilité**V.2.1 Courbes d'étalonnage****a) Résultats**

Le dosage de la gamme étalon par UV-visible permet de tracer les courbes d'étalonnage du camphre et du cinéole qui donne l'absorbance en fonction de la concentration en camphre et en cinéole (Figures V.1 et V.2).

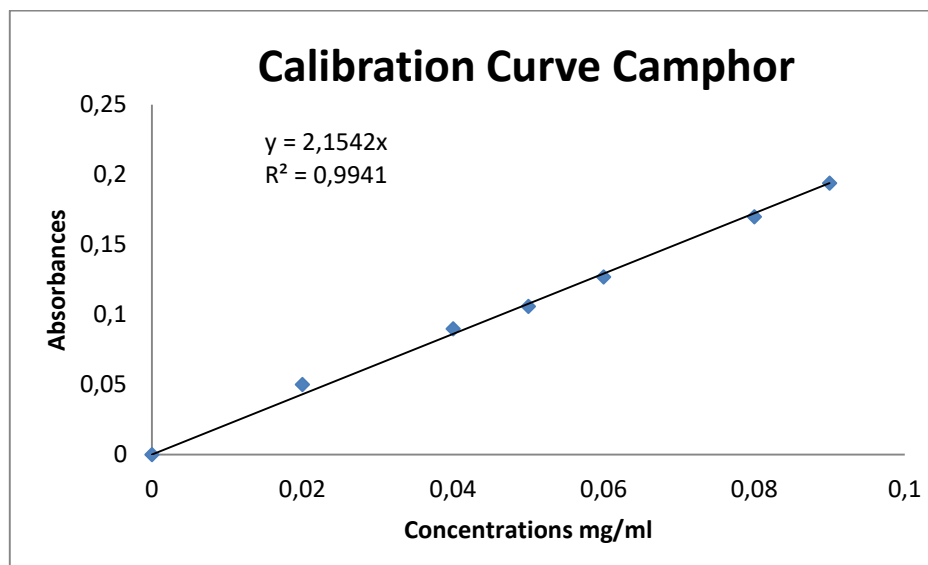


Figure V.1 : Courbe d'étalonnage du camphre.

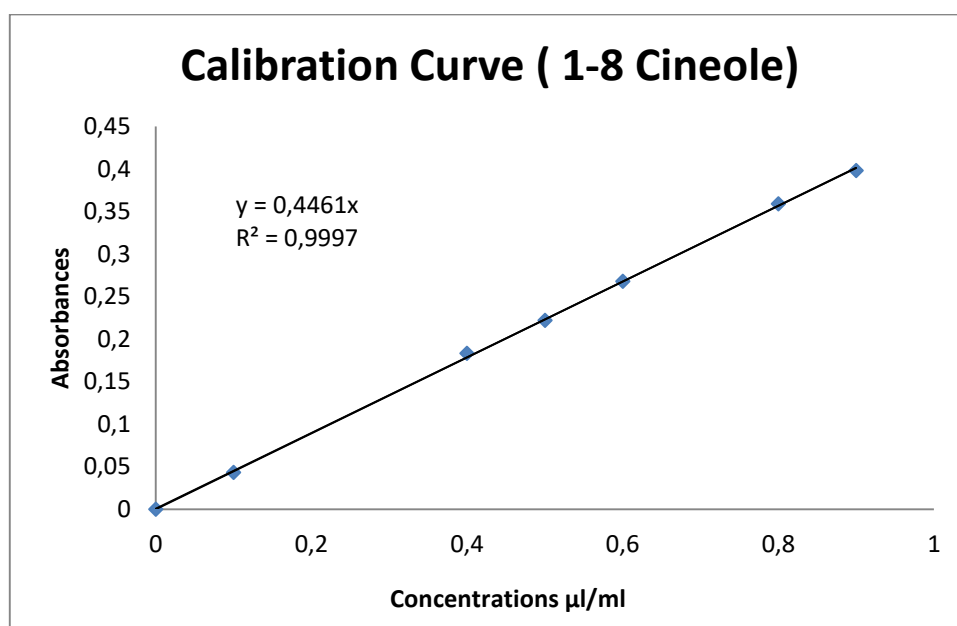


Figure V.2 : Courbe d'étalonnage du cinéole.

b) Observations

Figure V.1 : L'équation de la droite est $y = 2,1542 x$. Le coefficient de corrélation R^2 a une valeur satisfaisante de 0,9941.

Figure V.2 : L'équation de la droite est $y = 0,4461 x$. Le coefficient de corrélation R^2 a également une valeur satisfaisante de 0,9997.

c) Interprétations

Une valeur positive et proche de 1 du coefficient de corrélation indique une corrélation positive, c'est-à-dire que les deux variables augmentent ou diminuent ensemble. Ce qui est le cas ici, la courbe $ABS = f(C)$ montre que les absorbances et les concentrations du camphre et du cinéole augmentent proportionnellement l'une par rapport à l'autre, d'où $R^2 = 0,9941$ pour le camphre et $R^2 = 0,9997$ pour le cinéole.

V.2.2 Diagramme d'Higuchi

a) Résultats

Grâce à la courbe d'étalonnage, nous avons déterminé les concentrations en camphre et en cinéole correspondant aux absorbances obtenues après les sept jours d'agitation. Ce qui nous a permis par la suite de tracer le diagramme d'Higuchi.

Les solubilités du camphre en fonction des différentes concentrations de CDs sont représentées dans les figures ci-dessous.

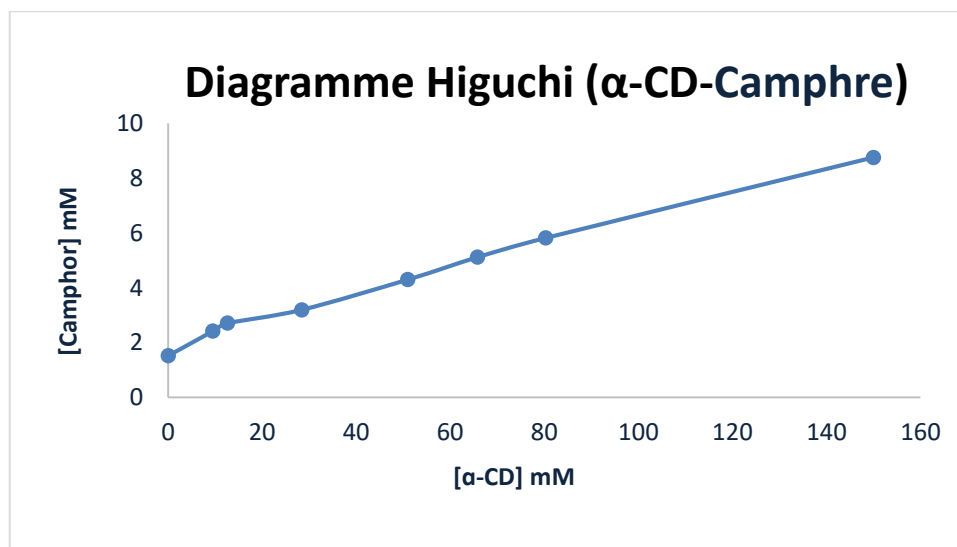


Figure V.3 : Diagramme d'Higuchi de l' α -CD-Camphre.

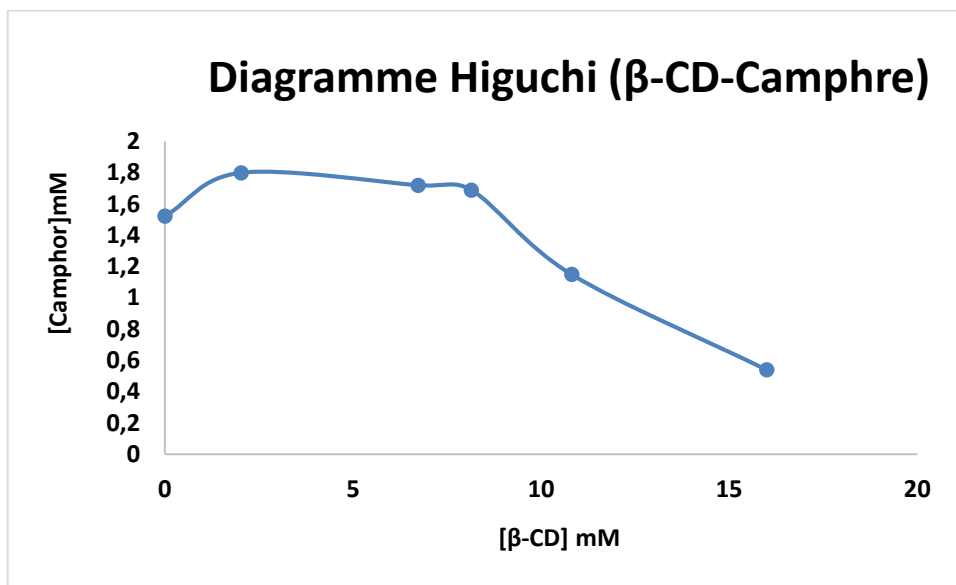


Figure V.4 : Diagramme d'Higuchi de la β -CD-Camphre.

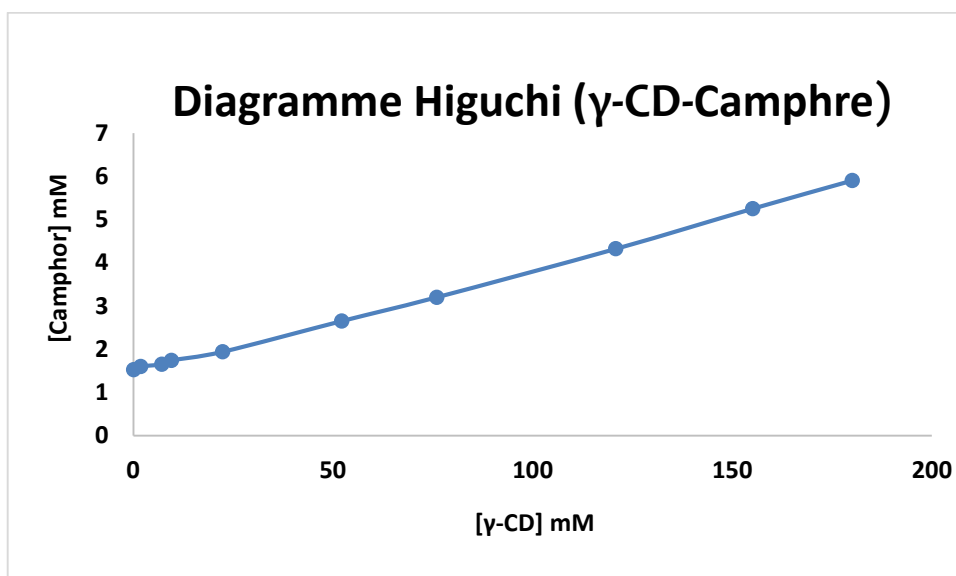


Figure V.5 : Diagramme d'Higuchi de la γ -CD-Camphre.

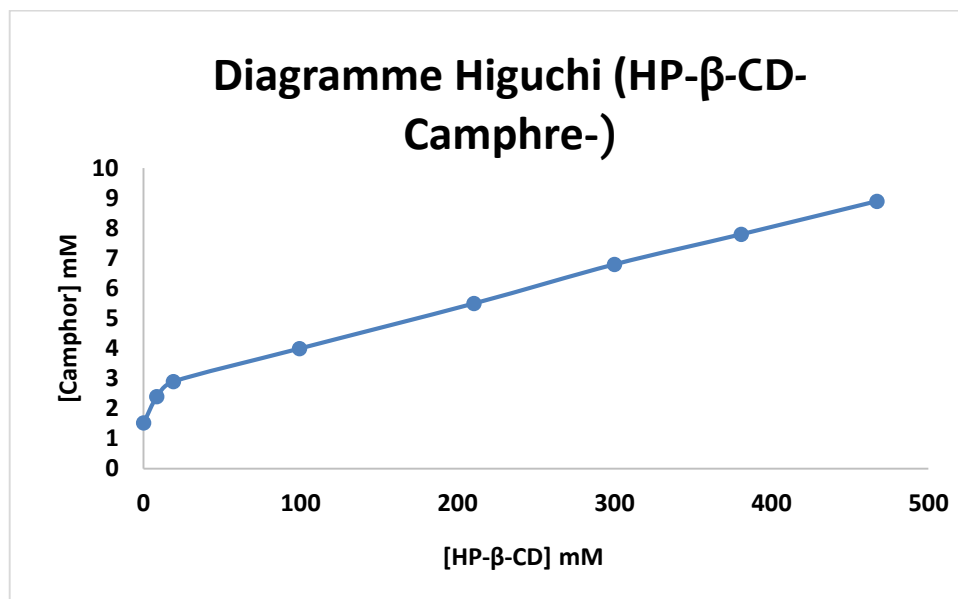


Figure V.6 : Diagramme d'Higuchi de l'HP- β -CD-Camphre.

Les solubilités du cinéole en fonction des différentes concentrations de CDs sont représentées dans les figures ci-dessous.

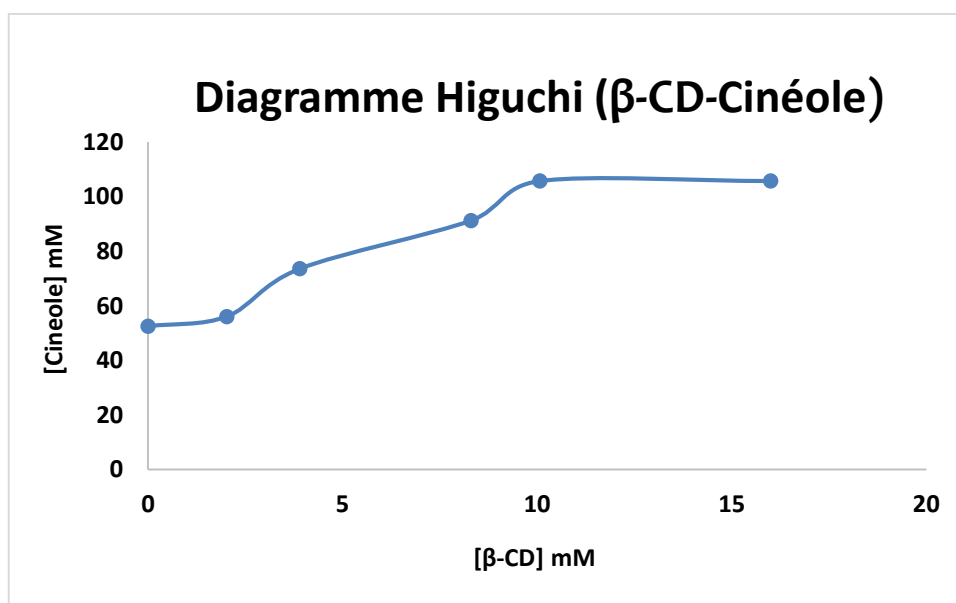


Figure V.7 : Diagramme d'Higuchi de la β -CD-Cinéole.

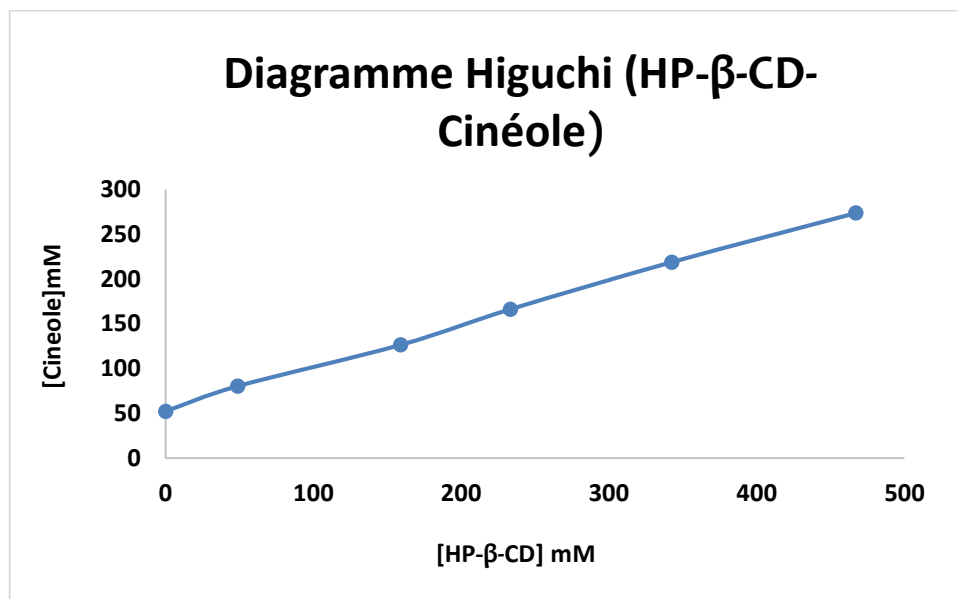


Figure V.8 : Diagramme d'Higuchi de l'HP-β-CD-Cinéole.

b) Observations

Figure V.3 : Nous remarquons une augmentation linéaire de la concentration du camphre en fonction de la concentration en α-CD.

Figure V.4 : Nous remarquons une faible augmentation de la concentration du camphre en fonction de la concentration en β-CD puis une stabilisation de cette dernière et enfin une baisse significative.

Figure V.5 : Nous remarquons une augmentation linéaire de la concentration du camphre en fonction de la concentration en γ-CD.

Figure V.6 : Nous remarquons une augmentation linéaire de la concentration du camphre en fonction de la concentration en HP-β-CD.

Figure V.7 : Nous remarquons une augmentation de la concentration du cinéole en fonction de la concentration en β-CD puis une stabilisation de cette dernière.

Figure V.8 : Nous remarquons une augmentation linéaire de la concentration du cinéole en fonction de la concentration en HP-β-CD.

c) Interprétations

Lors de l'utilisation des CDs suivantes : α, γ, et HP-β-CD, la solubilité du camphre ou du cinéole augmente de façon linéaire. Ainsi, selon la classification émise par : Higuchi et Connors

cela correspond au type A_L [145], qui généralement indique un rapport molaire équivalent entre la CD et la molécule invitée (1:1), qui est dans notre cas le camphre et le cinéole. La constante de solubilité (K_S) ; qui représente la force de liaison entre les cyclodextrines et les molécules hôtes, est alors calculée dans la partie linéaire du diagramme d'Higuchi en utilisant une équation proposée par ce dernier et Connors (Equation 1) :

$$K_S = \frac{Slope}{S_0 (1 - Slope)}$$

S_0 est la solubilité de l'invitée (camphre ou cinéole dans notre cas) sans la présence de CDs.

Quant à la β -CD, selon la classification émise par : Higuchi et Connors, elle présente des courbes de type B_S et B_i pour chacun du camphre et du cinéole. Sachant que le profil de type B_S suit au départ le profil de type A_L puis à partir d'un certain point, tout ajout de CDs entraîne une précipitation du complexe et le profil de type B_i peut être interprété de la même manière sauf que dans ce cas, le complexe est tellement insoluble que l'augmentation initiale de la solubilité ne peut être détectée [140].

Les constantes de solubilité calculées sont rapportées dans le tableau V.1.

Tableau V.1 : Constantes de solubilité (K_S) du camphre et du cinéole calculées à partir des différents diagrammes de phases.

<i>CDs</i>	$K_S (M^{-1})$
α -CD-Camphre	25,72854159
γ -CD-Camphre	16,81314896
HP- β -CD-Camphre	6,616690578
HP- β -CD-Cinéole	16,53432918

Dans notre liste, les valeurs de K_S indiquent la force de liaison de chaque molécule invitée avec sa cyclodextrine respective. Les valeurs plus élevées de K_S indiquent une plus grande stabilité du complexe d'inclusion. Pour le camphre, il s'agit de l' α -CD et pour le cinéole

il s'agit de l'HP- β -CD. Ceci signifie que leurs cavités sont de tailles adéquates pour encapsuler chacun du camphre et du cinéole.

V.3 Préparation des complexes d'inclusion

a) Résultats

Afin de préparer nos complexes d'inclusion, nous avons procédé par la méthode de co-évaporation et nous avons obtenu à la fin des produits en forme de poudre cristalline comme le montre les figures ci-dessous



Figure V.10 Ballon récupéré de l'évaporateur rotatif.



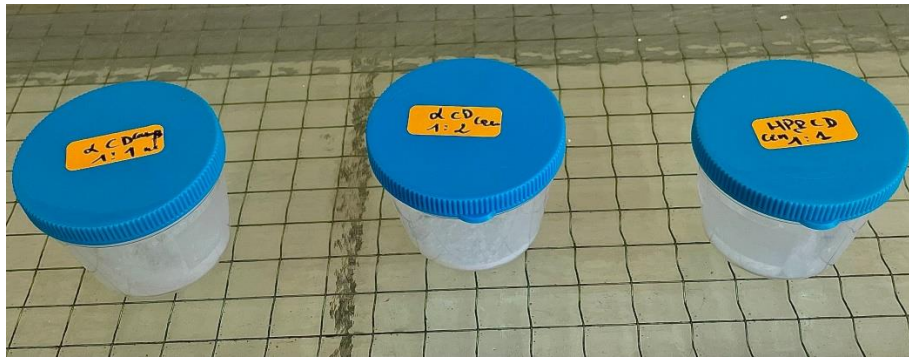


Figure V.10 Différents complexes d'inclusion.

V.4 Analyse thermogravimétrique (ATG)

a) Résultats

L'analyse thermogravimétrique est généralement utilisée dans le domaine pharmaceutique pour contrôler la pureté, la stabilité et la teneur en eau des médicaments. Les résultats de notre analyse sont représentés dans les figures ci-dessous

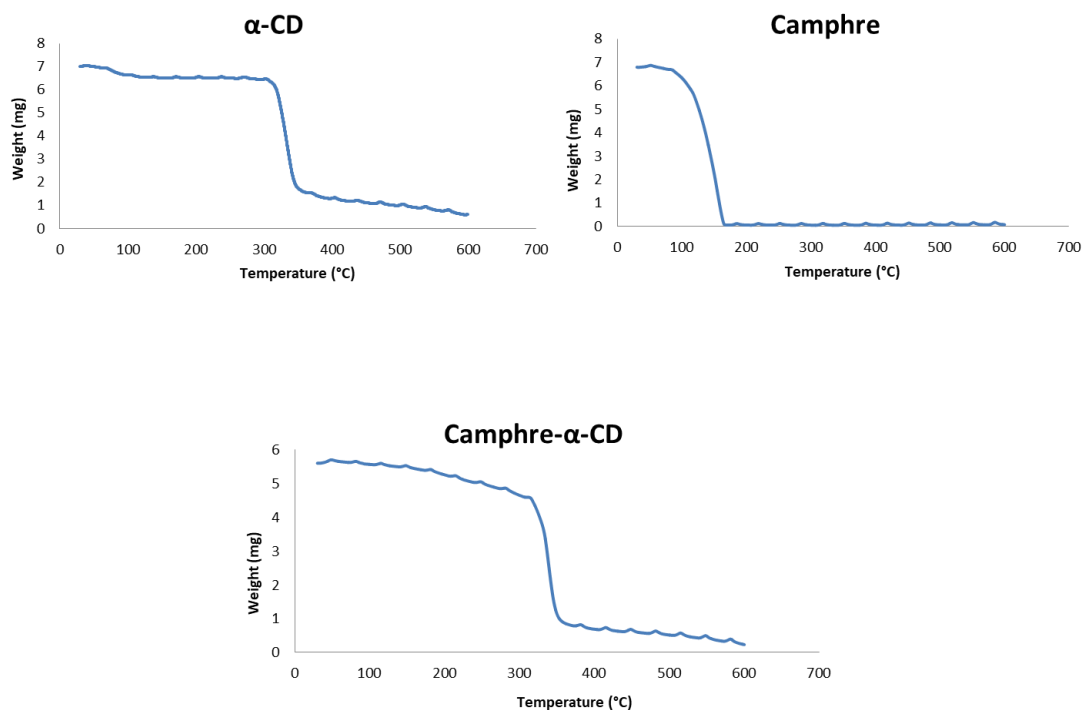


Figure V.11 Graphiques thermogravimétriques de l' α -CD, du camphre et du complexe d'inclusion camphre- α -CD.

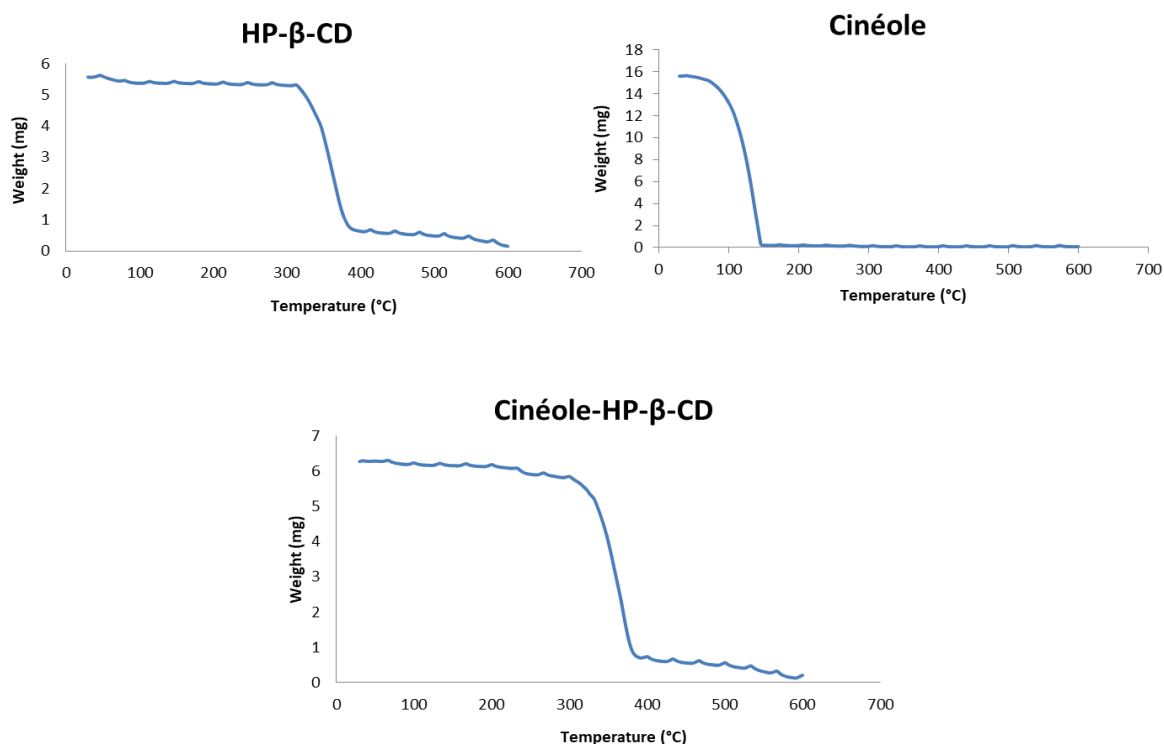


Figure V.12 Graphiques thermogravimétriques de l'HP-β-CD, du cinéole et du complexe d'inclusion cinéole-HP-β-CD.

b) Observations et interprétations

L'analyse thermogravimétrique a été employée comme technique éprouvée pour évaluer la molécule invitée interagissant avec les matériaux hôtes dans un régime de contrôle cinétique.

Pour la **Figure V.11** :

Graphique du camphre

- **Perte de masse initiale** : On observe une perte de masse significative commençant autour de 50°C et se terminant autour de 170°C. Cette perte de masse est probablement due à la volatilisation ou à la décomposition du camphre.
- **Stabilité thermique** : Après la perte initiale, la courbe se stabilise, indiquant que le camphre s'est complètement évaporé ou décomposé à cette température [146].

Graphique de l'α-CD

- **Perte de masse initiale** : La première étape entre 20 et 105 °C correspond à l'évaporation de l'eau.

La seconde consiste en une perte de poids qui commence autour de 300°C et se termine autour de 350°C. Cette perte de poids est typique de la décomposition thermique de la structure de l' α -CD due à la transition de l'état solide à l'état liquide.

- **Stabilité thermique** : Avant cette perte de masse, l'échantillon montre une bonne stabilité thermique, indiquant qu'il ne subit pas de décomposition significative jusqu'à environ 300°C. Après cette dernière, une dégradation thermique est observée résultant des résidus formés lors de la seconde étape de décomposition de CD [147].

Graphique du complexe d'inclusion camphre- α -CD

- **Perte de masse initiale** : On remarque une diminution du pourcentage d'évaporation de l'eau dans le complexe indiquant la substitution des molécules d'eau par la molécule hôte (camphre).

La courbe de l'échantillon du complexe montre une perte de masse commençant autour de 250°C et se terminant autour de 380°C. Cette transition est plus douce que celles des échantillons individuels, suggérant une interaction entre le camphre et l' α -CD dans le complexe.

- **Stabilité thermique** : La perte de masse plus tardive et plus progressive par rapport aux composants individuels indique que le camphre est partiellement stabilisé par l' α -CD dans le complexe, ce qui retarde sa volatilisation ou décomposition [148].

Pour la **Figure V.12** :

Graphique du cinéole

- **Perte de masse initiale** : On observe une perte de masse significative commençant autour de 50°C et se terminant autour de 170°C. Cette perte de masse est probablement due à la volatilisation ou à la décomposition du cinéole.
- **Stabilité thermique** : Après la perte initiale, la courbe se stabilise, indiquant que le cinéole s'est complètement évaporé ou décomposé à cette température [149].

Graphique de l'HP- β -CD

- **Perte de masse initiale** : La première étape entre 40 et 110 °C correspond à l'évaporation de l'eau.

La courbe montre une perte de masse qui commence autour de 300°C et se termine autour de 390°C. Cette perte de masse est typique de la décomposition thermique de l'HP- β -CD.

- **Stabilité thermique** : Avant cette perte de masse, l'échantillon montre une bonne stabilité thermique, indiquant qu'il ne subit pas de décomposition significative jusqu'à

environ 300°C. Après cette dernière, une dégradation thermique est observée résultant des résidus formés lors de la seconde étape de décomposition de CD [150].

Graphique du complexe d'inclusion cinéole-HP- β -CD.

- **Perte de masse initiale** : On remarque une diminution du pourcentage d'évaporation de l'eau dans le complexe indiquant la substitution des molécules d'eau par la molécule hôte (cinéole).

La courbe de l'échantillon du complexe montre une perte de masse commençant autour de 300°C et se terminant autour de 390°C. Cette transition est plus douce que celles des échantillons individuels, suggérant une interaction entre le cinéole et la HP-CD dans le complexe.

- **Stabilité thermique** : La perte de masse plus tardive et plus progressive par rapport aux composants individuels indique que le cinéole est partiellement stabilisé par la HP-CD dans le complexe, ce qui retarde sa volatilisation ou décomposition [151].

V.5 Test spermatique

a) Résultats

Après avoir analysé nos différents échantillons (contrôle et traitements) au microscope CASA, nous avons obtenu des résultats qui nous ont permis de tracer les histogrammes ci-dessous

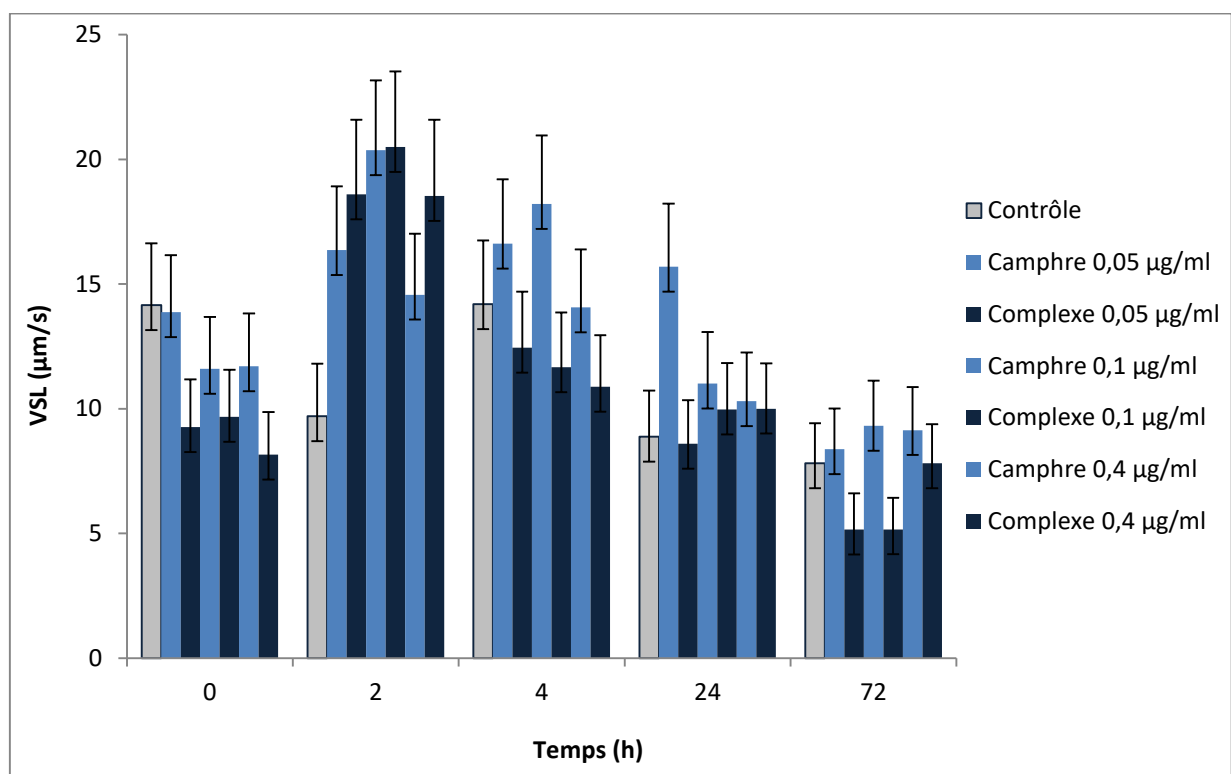


Figure V.13 Histogramme montrant les paramètres de mobilité des spermatozoïdes après l'ajout du camphre et de son complexe à différents temps et concentrations.

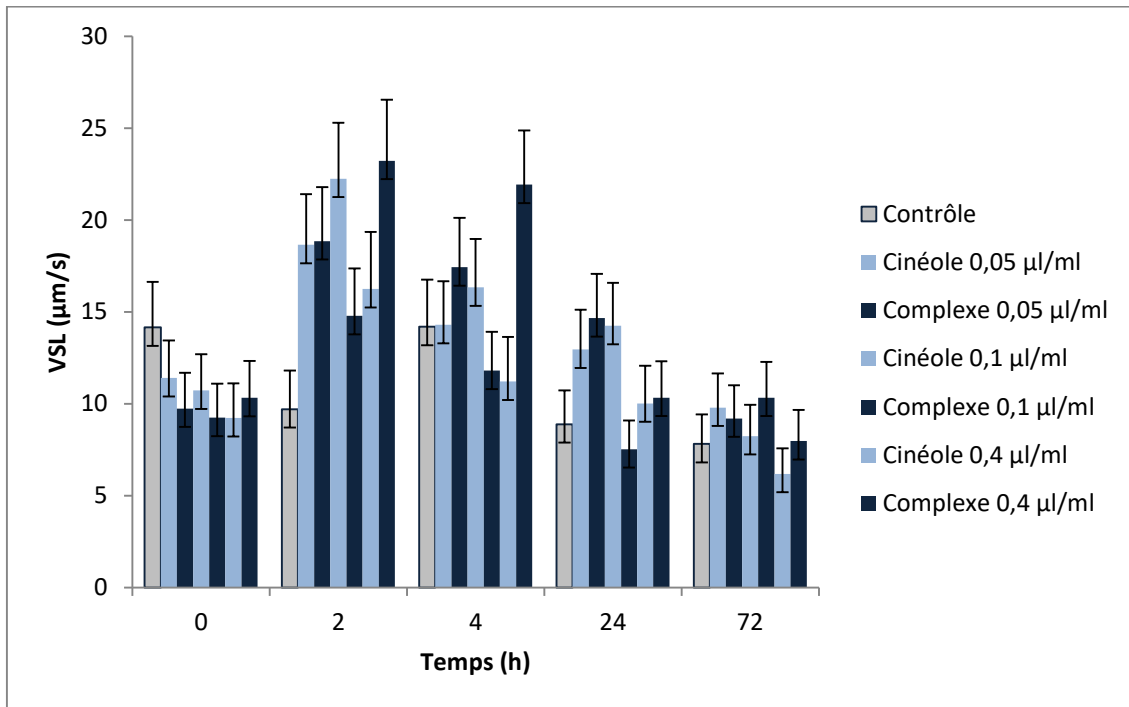


Figure V.14 Histogramme montrant les paramètres de mobilité des spermatozoïdes après l’ajout du cinéole et de son complexe à différents temps et concentrations.

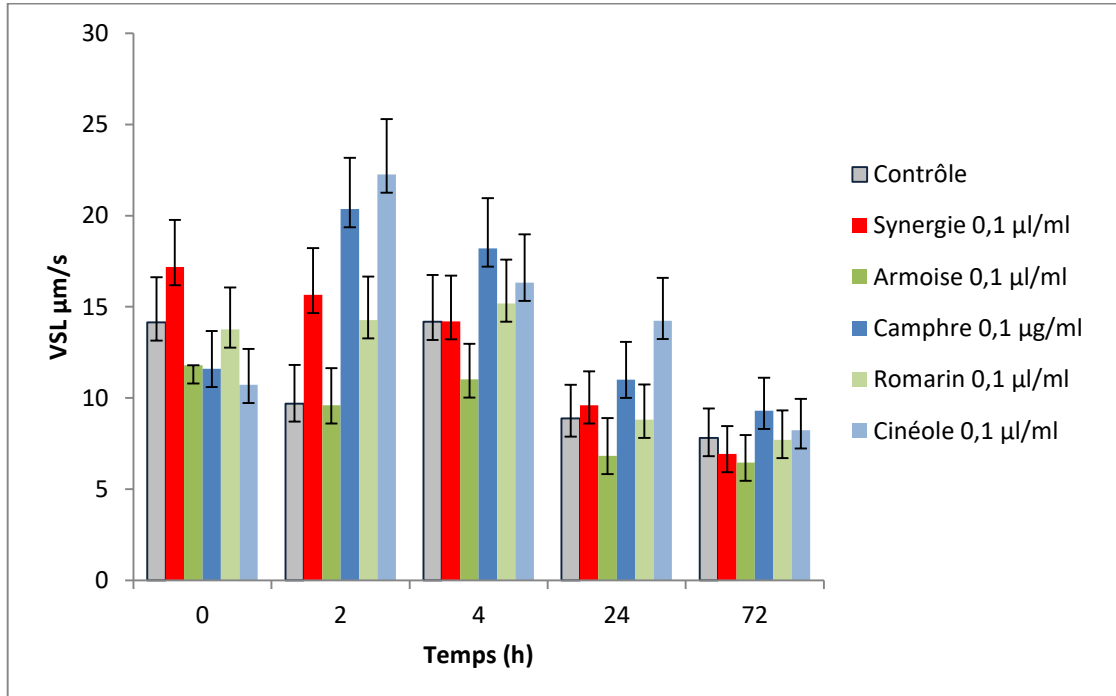


Figure V.15 Histogramme comparatif de nos traitements à leur concentration optimale les montrant paramètres de mobilité des spermatozoïdes à différents temps.

b) Observations

Figure V.13 et Figure V.14 Avant la cryoconservation (à T_0), nous observons que le contrôle est meilleur que nos traitements.

Après 2h, nous observons que nos deux traitements seuls (camphre et cinéole) et leur complexe à toutes les concentrations sont meilleurs que le contrôle.

Après 4h, nous remarquons que le camphre seul à différentes concentrations est meilleur que le contrôle ce qui n'est pas le cas de ses complexes d'inclusion et cela à toutes les concentrations.

En ce qui concerne le cinéole, à $C_1 = 0,05 \mu\text{l/ml}$, le traitement et son complexe sont meilleurs que le contrôle. A $C_3 = 0,4 \mu\text{l/ml}$, le complexe prime sur le traitement seul ce qui n'est pas le cas pour $C_2 = 0,1 \mu\text{l/ml}$ qui va à l'encontre de cette dernière.

Après 24h, nous observons qu'à toutes les concentrations, nos deux traitements (camphre et cinéole) seuls sont meilleurs que le contrôle.

À $C_1 = 0,05 \mu\text{l/ml}$, concernant le camphre son complexe d'inclusion a moins d'effet que le contrôle à l'opposé de celui à $C_2 = 0,1 \mu\text{l/ml}$ pour le cinéole qui est meilleur.

Nous observons par la même occasion que pour le reste des concentrations, nos deux traitements encapsulés sont meilleurs que le contrôle.

Après 72h, nous remarquons que le camphre seul est meilleur que le contrôle à toutes les concentrations contrairement à son complexe d'inclusion.

Nous observons également qu'à $C_1 = 0,05 \mu\text{l/ml}$ et $C_2 = 0,1 \mu\text{l/ml}$, le cinéole seul et encapsulé sont meilleurs que le contrôle inversement à ces derniers à $C_3 = 0,4 \mu\text{l/ml}$.

Figure V.15 Avant la cryoconservation (à T_0), nous observons également que le contrôle est meilleur que nos traitements mis à part celui de la synergie qui lui est plus élevé que le contrôle.

Après 2 et 4h, nous observons également que nos traitements sont meilleurs que le contrôle mis à part celui de l'armoise car le contrôle est plus élevé que ce dernier.

Après 24h, nous observons que nos traitements sont meilleurs que le contrôle à l'exception de l'armoise et du romarin qui sont moins bons que ce dernier.

Après 72h, nous observons que la plupart de nos traitements sont moins bons que le contrôle excepté le camphre et le cinéole qui sont meilleur que ce dernier.

c) Interprétations

Les spermatozoïdes manifestent une sensibilité aux huiles essentielles. Des études médicales ont en partie prouvé que ces molécules actives possédaient un fort effet spermicide. Dans cette étude, nous avons émis l'hypothèse que l'encapsulation peut favoriser l'application des HE à la cryoconservation des spermatozoïdes de bélier en surmontant la faible solubilité dans l'eau, la volatilité et la sensibilité à l'oxygène et à la lumière, qui pourraient considérablement réduire la biodisponibilité des huiles essentielles.

Avant la cryoconservation (à T_0), le contrôle a montré le meilleur impact et cela s'explique car nos traitements seuls ou encapsulés n'ont pas eu le temps nécessaire afin d'interagir avec les spermatozoïdes ce qui n'est pas le cas de la synergie des deux huiles essentielles qui présentent un meilleur impact que le contrôle et cela revient essentiellement à l'action combinée des composés bioactifs de ces dernières, chacun ayant des effets potentiels sur la viabilité et la mobilité des spermatozoïdes.

Après réfrigération et cela a une cinétique de 2h, nos traitements sont meilleurs que le contrôle et cela se justifie par l'interaction de ces derniers sur la mobilité des spermatozoïdes.

Le cinéole encapsulé a montré un meilleur impact que le camphre seul et cela s'explique par la protection de ce dernier contre la dégradation : le cinéole est un composé volatil qui peut se dégrader facilement lorsqu'il est exposé à l'air à l'oxygène ou à la lumière. Son encapsulation par le HP- β -CD a fait qu'il soit protégé de la dégradation, lui permettant de rester stable et biodisponible pour les spermatozoïdes et s'explique également par l'amélioration de sa solubilité sachant que ce dernier est peu soluble dans l'eau, lui permettant de se disperser plus facilement dans le milieu aqueux environnant les spermatozoïdes et d'entrer en contact plus facilement avec eux [141].

Quant au camphre, ce dernier seul a montré un meilleur impact que son complexe d'inclusion. Cependant, il semble que l' α -CD ne renforce pas l'activité antioxydante, ce qui révèle que d'autres mécanismes sous-jacents sont probablement impliqués dans la protection des spermatozoïdes [141].

L'histogramme de la Figure V.15 nous montre que le meilleur effet protecteur revient aux composés majoritaires des deux huiles essentielles [152].

V.6 L'activité anti-oxydante

a) Résultats

L'activité anti-radicalaire est évaluée par le test DPPH. Les résultats de ce dernier nous ont permis de tracer les diagrammes représentés dans les figures ci-dessous

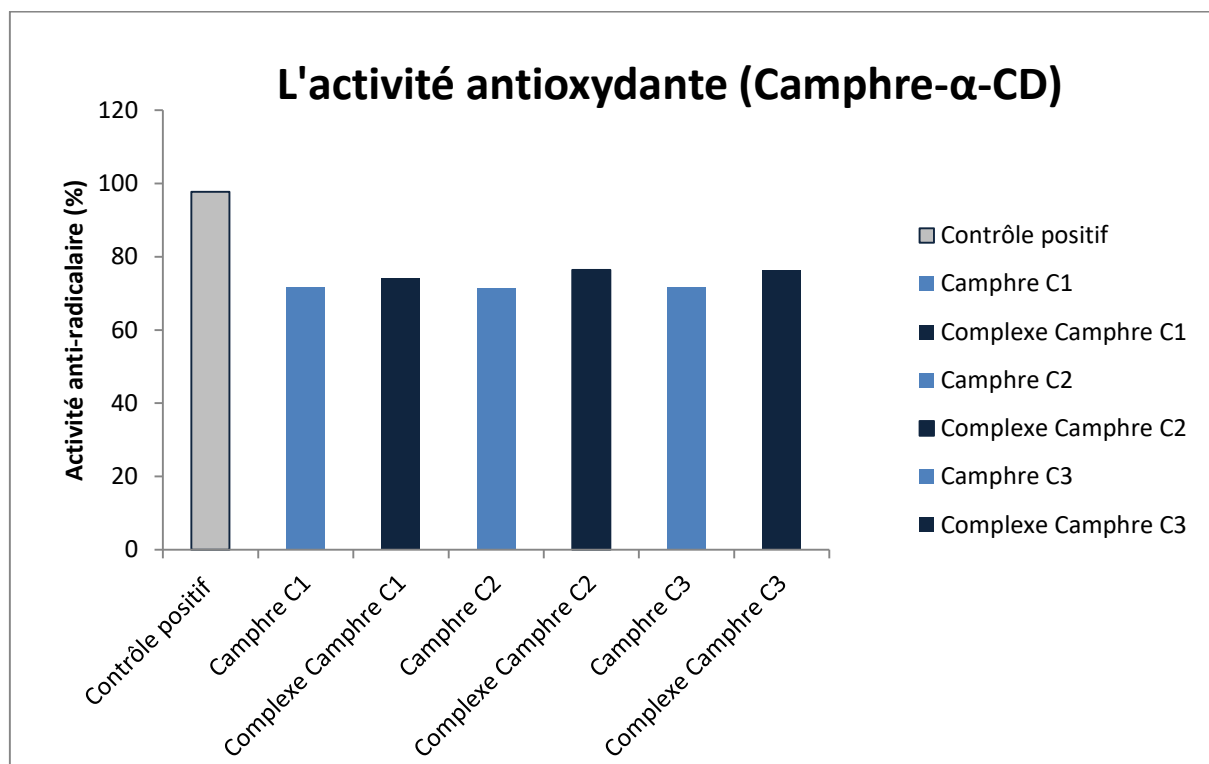


Figure V.16 Histogramme de l'activité antioxydante (Camphre- α -CD).

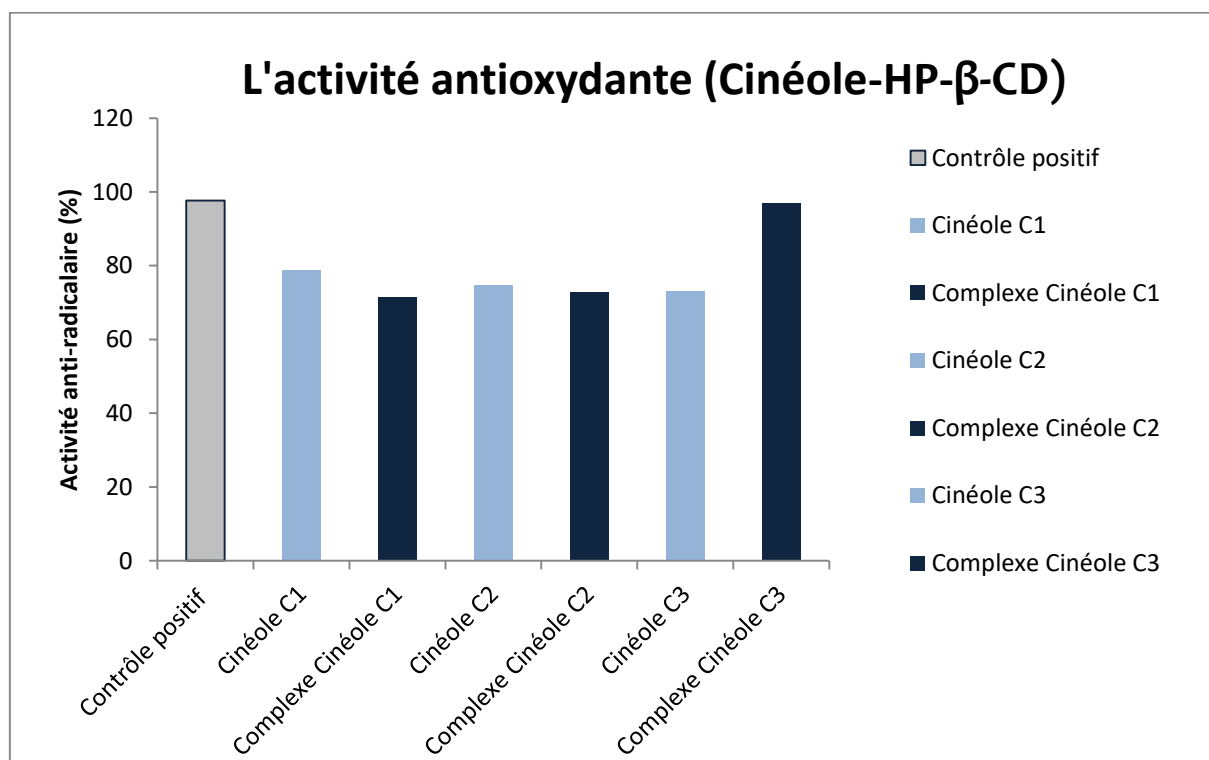
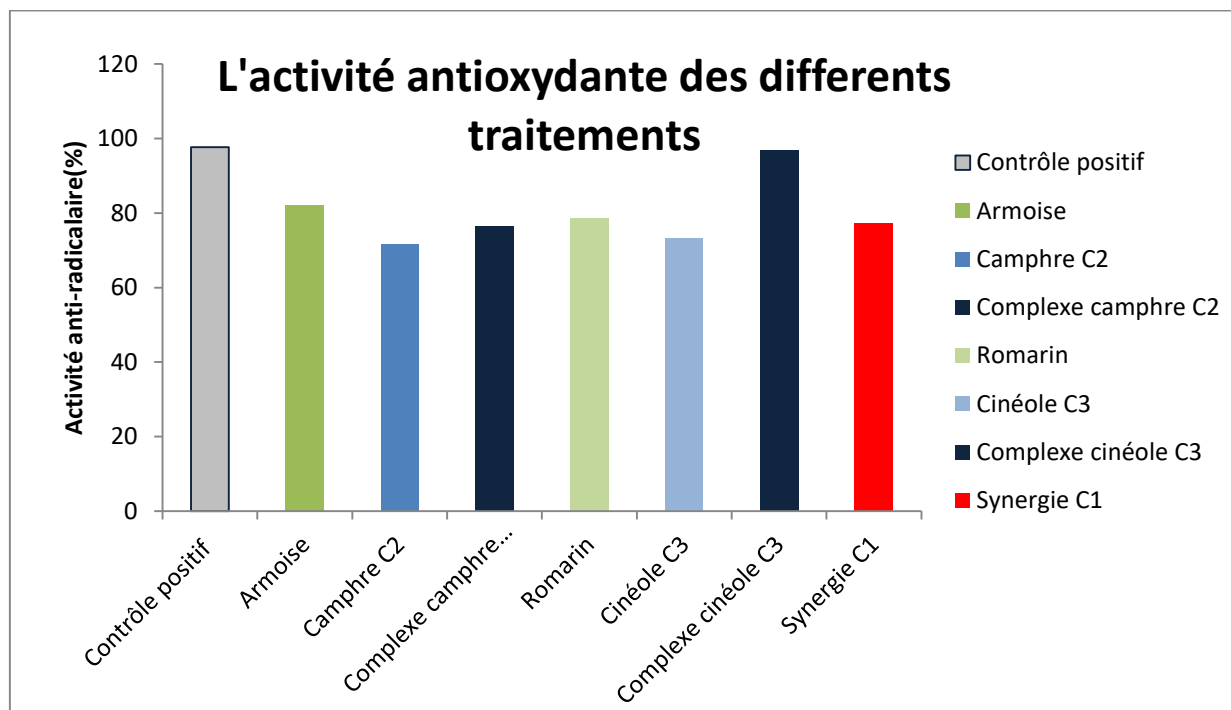


Figure V.17 Histogramme de l'activité antioxydante (Cinéole-HP- β -CD).**Figure V.18** Histogramme comparatif de l'activité antioxydante de nos différents traitements.

b) Observations

Les résultats de l'activité anti-radicalaire sont représentés dans les différents diagrammes (Figure V.16, Figure V.17, Figure V.18). Le pouvoir antioxydant le plus élevé a été obtenu par le camphre encapsulé $C_2 = 150 \mu g/ml$ qui est de 76,43 % et le cinéole encapsulé $C_3 = 300 \mu g/ml$ qui est de 96,88 % respectivement dans les trois diagrammes.

Nous observons également une activité antioxydante plus élevée pour l'armoise 81,92 % et le romarin 78,53 % par rapport au camphre 71,48 % et au cinéole 73,18 %.

c) Interprétations

On déduit que nos traitements possèdent une activité anti-radicalaire et sont capables de piéger les radicaux libres DPPH grâce à l'encapsulation par les cyclodextrines qui a permis de protéger nos composés et d'améliorer leurs performances [143].

Nous constatons aussi que chacune de nos deux huiles essentielles ont une meilleure capacité de piégeage des radicaux libres DPPH que chacun du camphre et du cinéole seuls et

cela revient au fait que nos huiles sont composées d'un mélange de terpènes, ce qui crée une synergie entre ces derniers, améliorant ainsi leur pouvoir contre le stress oxydatif [153].

V.7 Test hémolytique

a) Résultats

Afin d'étudier la cytotoxicité de nos différents traitements nous avons effectué un test direct sur les globules rouges. Les résultats de ce dernier nous ont permis de tracer l'histogramme suivant

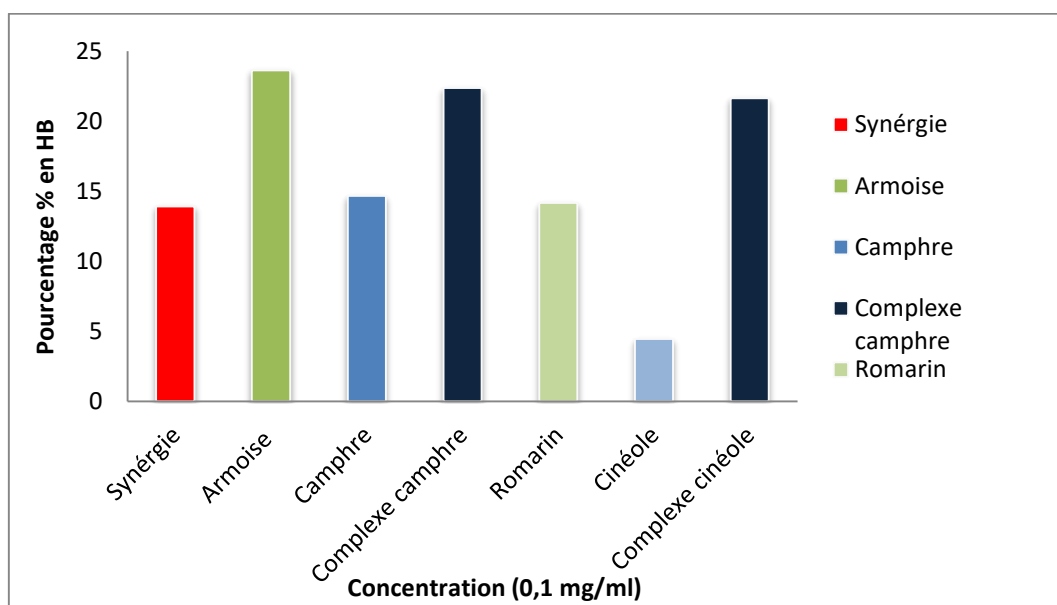


Figure V.19 Histogramme représentant le pourcentage en HB de nos différents traitements à une seule et même concentration (0,1 mg/ml).

b) Observations

Nous observons que chacun de nos traitements présentent un pourcentage en HB différent l'un de l'autre, le plus élevé est celui de l'armoise avec un pourcentage de 23,63 % et le moins élevé est celui du cinéole avec un pourcentage de 4,47 %.

Nous observons également que le pourcentage en HB de nos traitements (camphre et cinéole) encapsulés est plus important que celui des traitements seuls.

Il est important de noter que tous les pourcentages en HB de nos traitements sont supérieurs à 10 % mis à l'exception du cinéole.

c) Interprétations

Dans la recherche de nouvelles méthodologies alternatives, le test hémolytique a été utilisé pour évaluer le potentiel de toxicité de certains extraits de plantes connus essentiellement pour leur potentiel antimicrobien [154]. La sensibilité est l'une des caractéristiques qui fait du test d'hémolyse une excellente option, car les globules rouges sont généralement sensibles à la

moindre action toxique qui entraînerait une perturbation de la cellule, en raison de la fragilité de leur membrane, ce qui se traduirait par une hémolyse.

Le traitement ayant présenté le pourcentage d'activité hémolytique le plus élevé (> 10 %) parmi tous nos traitements est de l'armoise blanche et cela est considéré comme un seuil toxique [154].

Néanmoins, le cinéole ayant présenté un pourcentage d'activité hémolytique moins élevé n'a pas produit de toxicité comparable aux valeurs fixées comme faible activité hémolytique (<10%) [144].

Conclusion générale

Conclusion générale

Le cinéole (eucalyptol) et le camphre sont des composés bioactifs présents dans diverses huiles essentielles, reconnus pour leurs propriétés thérapeutiques. Le cinéole, principalement extrait de l'eucalyptus, est prisé pour ses effets expectorants et antiseptiques, tandis que le camphre, dérivé du camphrier, est utilisé pour ses propriétés analgésiques et anti-inflammatoires, cependant, ces derniers sont des composés volatils et peu solubles dans l'eau, limitant leur utilisation directe en formulations hydrophiles. Leur volatilité entraîne une évaporation rapide, réduisant leur efficacité thérapeutique. De plus, ils sont sensibles à la lumière, à la chaleur et à l'oxygène, ce qui peut dégrader leurs propriétés bioactives.

Dans le présent travail, nous nous sommes fixés comme objectif de rendre le camphre et le cinéole exploitable en :

- ❖ Améliorant la solubilité de ces derniers,
- ❖ Les protégeant contre la dégradation due aux facteurs environnementaux,
- ❖ Réduisant leur volatilité, augmentant ainsi leur stabilité et efficacité dans les applications pharmaceutiques et cosmétiques.

Pour atteindre ces objectifs, notre démarche a été d'utiliser les cyclodextrines (CDs) en mettant à profit leurs propriétés structurales et physico-chimiques, notamment leur propriété de complexation.

Cette démarche a nécessité de passer par plusieurs étapes cruciales, chacune a impliqué des techniques spécifiques et rigoureuses pour garantir la préservation des propriétés thérapeutiques des huiles essentielles. Elles peuvent être résumées comme suit :

- La première étape fut le diagramme de phase ou diagramme d'Higuchi qui a consisté à identifier les cyclodextrines susceptibles de donner des complexes d'inclusion stables avec la molécule invitée. Nous avons particulièrement étudié l'impact des différentes cyclodextrines (α -CD, β -CD, γ -CD, HP- β -CD) sur la solubilité du camphre et du cinéole.
- Ensuite, nous sommes passés à la préparation des complexes d'inclusion et leur caractérisation en utilisant l'analyse thermogravimétrique (ATG), ce qui a permis de démontrer que le camphre et le cinéole ont été encapsulés dans les cyclodextrines.
- Enfin, nous avons étudié les différentes propriétés biologiques de nos traitements seuls et de leurs complexes d'inclusion en effectuant plusieurs tests biologiques (test spermatique, test antioxydant et test hémolytique). Le test spermatique a prouvé que nos

Conclusion générale

traitements ont un effet protecteur sur la cellule spermatique tout en améliorant la motilité des spermatozoïdes. Le test antioxydant a montré que nos traitements ont un effet antioxydant et le test hémolytique a démontré que la plupart de nos traitements sont toxiques.

A la lumière des résultats obtenus dans le présent travail, des perspectives intéressantes pointent à l'horizon et méritent d'être exploitées dans un futur proche. L'exploitation d'autres cyclodextrines telles que la M- β -CD et la SBE- β -CD pour l'étude de la solubilité du camphre et du cinéole et l'exploration d'autres méthodes d'encapsulation telles que la co-précipitation et le malaxage, permettront d'augmenter les effets thérapeutiques de nos traitements. Enfin nous ne pouvons conclure le présent travail, sans souligner l'intérêt de l'exploitation d'autres effets biologiques tels que l'effet anti-inflammatoire et antioxydant (scavenging of β -carotene radical cations by antiinflammatory salicylates).

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] M. Damyeh, & M. Niakousari. Impact of ohmic-assisted hydrodistillation on kinetics data, physicochemical and biological properties of Prangos ferulacea Lindle. essential oil: Comparison with conventional hydrodistillation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 33, 387-396 (2016).
- [2] S. Djehaichia. Contribution à l'étude du complexe d'inclusion de la 3-AC @ β -Cyclodextrine par les méthodes quantiques. Mémoire du Projet de fin d'étude, Université 8 Mai 1945 Guelma (juin 2023).
- [3] D. E. Conner. Naturally occurring compound: antimicrobials in foods. In Davidson (Ed.), New York, 468p (1993).
- [4] E. Teuscher, R. Anton, & A. Lobstein. Plantes aromatiques: épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Paris: Lavoisier, 522p (2005).
- [5] K. H. C. Baser, & G. Buchbauer (Eds.). Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications. CRC Press (2015). DOI: 10.1201/b19388 (Routledge) (AromaWeb).
- [6] J. Bruneton. Pharmacognosie et phytochimie, médicinales plantes. Paris: Lavoisier (1999).
- [7] J. France-Ida. Bref survol de diverses méthodes d'extraction d'huiles essentielles. *Info essences, Bulletin sur les huiles essentielles*, 3, 5-6 (1996).
- [8] Z. Hellal. Contribution à l'étude des propriétés antimicrobiennes (2010).
- [9] M. E. Lucchesi. Extraction sans solvant assistée par microondes : Conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de Doctorat en sciences (option : Chimie), Faculté des Sciences et Technologies, Université de la Réunion, p. 17, 23, 52 (juillet 2005).
- [10] E. Beneteaud. Comité français du parfum (2011).
- [11] S. Chemat, A. Lagha, H. Ait Amar, P. V. Bartels, & F. Chemat. Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. *Flavour and Fragrance Journal*, 19, 188-195 (2004). DOI: 10.1002/ffj.1339 (Sci-Hub).
- [12] D. Wang, P. J. Collins, & X. Gao. Optimizing indoor phosphine fumigation of paddy rice bag-stacks under sheeting for control of resistant insects. *Journal of Stored Products Research*, 42(2), 207-217 (2006). DOI: 10.1016/j.jspr.2005.02.001.
- [13] N. S. Kim, & D. S. Lee. Comparison of different extraction methods for the analysis of fragrances from Lavandula species by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography*, 98, 31-47. Labiateae family. Paper presented at VII International Congress of Essential Oils (Cannes), 118-123 (2002). DOI: 10.1016/S0021-9673(02)01445-0.

Références bibliographiques

- [14] Afnor. Huiles essentielles. Echantillonnage et méthodes d'analyse (Tome 1) Monographies relatives aux huiles essentielles (Tome 2. 1 et 2) (2000).
- [15] K. H. C. Baser, & G. Buchbauer. Handbook of Essential Oil: Science, Technology, and Applications. Ed. Taylor and Francis, USA (2010). DOI : 10.1201/b19388.
- [16] H. Zabeirou, & Hachimou. Étude comparative entre les Huiles essentielles de la Menthe Verte (*Mentha spicata* L.) et de la Poivrée (*Mentha piperita* L.) dans la région d'Ouargla. Mémoire de DES Biochimie. Université de Kasdi Merbbah, Ouargla (2005).
- [17] B. B. Buchanan, W. Gruissem, & R. L. Jones. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists: Rockville, Maryland, USA, 1367p (2000).
- [18] J. Bruneton. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (3ème éd.). Tec & Doc (Ed), Paris, 575p (1999).
- [19] F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, & M. Idaomar. Biological effects of essential oils - A review. Food and Chemical Toxicology, 46, 446-475 (2008). DOI : 10.1016/j.fct.2007.09.106.
- [20] J. Bruneton. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4ème éd.). Tec & Doc, Lavoisier, Paris (2009).
- [21] B. B. Buchanan, W. Gruissem, & R. L. Jones. Biochemistry and Molecular Biology of Plants. American Society of Plant Physiologists: Rockville, Maryland, USA, 1367p (2000).
- [22] J. Bruneton. Pharmacognosie et phytochimie, médicinal plantes. Paris: Lavoisier (1999).
- [23] M.-A. Benazzouz. Les huiles essentielles, importance et potentialité: mise à jour bibliographique des dernières recherches sur leurs emplois, toxicité et l'analyse de la composition de l'huiles essentielles de quinze plantes les plus consommées au Maroc. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Mohammed V de Rabat (2011).
- [24] P. Arpino, A. Prévôt, J. Serpinet, J. Tranchant, A. Vergnol, & P. Witier. Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse (4ème éd.). Paris: Masson, 700p (1995).
- [25] E. Kováts. Gas Chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. Advances in Chromatography, ed. by J. C. Giddings, & R. A. Keller. New York: M. Decker Inc, 229-247 (1965).
- [26] H. Van den Dool, & P. D. Kratz. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. Journal of Chromatography, 11, 463-471 (1963). DOI : 10.1016/S0021-9673(01)80844-0.

Références bibliographiques

- [27] R. P. Adams. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois (1995).
- [28] C. Bicchi, E. Liberto, M. Matteodo, B. Sgorbini, L. Mondello, B. A. Zellner, R. Costa, & P. Rubiolo. Quantitative analysis of essential oils: a complex task. *Flavour and Fragrance Journal*, 23, 382-391 (2008). DOI : 10.1002/ffj.1886.
- [29] M. Leplat. Le romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinale de la garrigue provençale. *Sciences pharmaceutiques* (2017).
- [30] F. Lucaccioni, R. Deneyer, & B. Tilquin. Pour une analyse des huiles essentielles. *Chimie nouvelle*, 11(43), 1253-1256 (1993).
- [31] L.-B. Fay. Application du couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse en tandem (CPG/SM/SM) à l'analyse de produits alimentaires: Chromatographie en phase gazeuse. *Analisis*, 26(1), 28-29 (1998).
- [32] K. J. Lachowicz, G. P. Jones, D. R. Briggs, F. E. Bienvenu, J. Wan, A. Wilcock, & M. J. Coventry. The synergistic preservative effects of the essential oils of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) against acid-tolerant food microflora. *Letter Applied Microbiology*, 26(3), 209-214 (1998). DOI : 10.1046/j.1472-765x.1998.00329.x.
- [33] A. Zambonelli, A. Z. D'Aurelio, A. Severi, E. Benvenuti, & L. Maggi. Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *Thymus vulgaris* L. *Journal of Essential Oil Research*, 16(1), 69-74 (2004). DOI : 10.1080/10412905.2004.9698690.
- [34] K. S. Bilgrami, K. K. Sinha, & A. K. Sinha. Inhibition of aflatoxin production and growth of *Aspergillus flavus* by eugenol, onion, and garlic extracts. *Indian Journal of Medical Research*, 96, 171-175 (1992).
- [35] N. Maruyama, N. Sekimoto, & H. Ishibashi. Suppression of neutrophil accumulation in mice by cutaneous application of geranium essential oil. *Journal of Inflammation*, 2, 1-11 (2005). DOI : 10.1186/1476-9255-2-1.
- [36] A. E. Edris. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. *Phytotherapy Research*, 21, 308-323 (2007). DOI : 10.1002/ptr.2072.
- [37] A. Zambonelli, A. Z. D'Aurelio, A. Severi, E. Benvenuti, & L. Maggi. Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of *Thymus vulgaris* L. *Journal of Essential Oil Research*, 16(1), 69-74 (2004). DOI : 10.1080/10412905.2004.9698690.
- [38] I. Vargas, I. Sanz, & E. Prima-Yufer. Antimicrobial and antioxidant compounds in the nonvolatile fraction of expressed orange essential oil. *Journal of Food Protection*, 62(8), 929-932 (1999). DOI : 10.4315/0362-028X-62.8.929.

Références bibliographiques

- [39] N. Porter. Essential oils and their production. *Crop & Food Research*, 39 (2001).
- [40] M. Botineau. *Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs*. Ed Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 1021-1043 (2010).
- [41] A. Makhloufi. Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de Bechar (*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L.) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat en Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments. Université Aboubaker Belkaid, 166p (2013).
- [42] A. C. Figueiredo, J. G. Barroso, L. G. Pedro, & J. J. Scheffer. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 23(4), 213-226 (2008). DOI : 10.1002/ffj.1875.
- [43] A. I. Hussain, F. Anwar, S. T. H. Sherazi, & R. Przybylski. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry*, 108(3), 986-995 (2008). DOI : 10.1016/j.foodchem.2007.12.010.
- [44] H. Coste. *Flore descriptive et illustrée de la France de la Corse et des contrées limitrophes* (2ème tirage). Paris: Librairie des Sciences et des Arts, 807p (1937).
- [45] C. Bicchi, C. Cordero, P. Rubiolo, & P. Sandra. Headspace solid-phase microextraction–high resolution gas chromatography combined with mass spectrometry in the analysis of the volatile fraction of aromatic and medicinal plants. *Journal of Chromatography A*, 892(1-2), 469-485 (2000). DOI : 10.1016/S0021-9673(00)00263-2.
- [46] Henrich et al. *Ethnobotany and Flavonoids-potent and versatile* (2006).
- [47] N. Arnold et al. Comparative study of the essential oils from *Rosmarinus eriocalyx* Jordan & Fourr. from Algeria and *R. officinalis* L. from other countries. *Journal of Essential Oil Research*, 167-175 (1997). DOI : 10.1080/10412905.1997.9700763.
- [48] A. Ouyahya. *Systématique du genre Artemisia au Maroc*. Thèse de Doctorat Sciences. Université d'Aix-Marseille III, 433p (1987).
- [49] P. Quézel, & S. Santa. *Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales* (Tome 2). Ed. Paris: CNRS, 1170p (1963).
- [50] R. Negre. *Petite flore des régions arides du Maroc occidental Tome II*. Edi. C. N. R. S. Paris VII (1962).

Références bibliographiques

- [51] J. Friedman, Z. Yaniv, A. Dafni, & D. Palewitich. *J Ethno Pharm*, 16(2-3), 275-287 (1986).
- [52] A. H. Mohamed, M. A. El-Sayed, & N. S. Mohamed. *Chemical constituents* (2010).
- [53] L. Bezza. *Composition chimique de l'huile essentielle d'Artemisia herba-alba* (2010).
- [54] V. Laguerre. *Huiles essentielles et 1,8-cinéole*. Thèse, Université de Lorraine (2015).
- [55] P. Erau. *L'eucalyptus: botanique, composition chimique, utilisation thérapeutique et conseil à l'officine*. Thèse, Faculté de Pharmacie, Aix-Marseille (2019).
- [56] J. C. Herpin. *Récréations chimiques, ou, Recueil d'expériences curieuses et instructives : auxquelles on a joint, un précis élémentaire de chimie, l'explication raisonnée des phénomènes produits dans les diverses expériences ...*, volume 1. Audot (1824).
- [57] P. Patnaik. *A comprehensive guide to the hazardous properties of chemical substances*. John Wiley & Sons (2007).
- [58] G. Patri, V. Silano, & R. Anton. *Plantes dans les cosmétiques*, volume 3. Council of Europe (2006).
- [59] M. E. Brewster, & T. Loftsson. *Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59, 645-666 (2007). <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.05.012>
- [60] M. Ben Abada, S. Haouel Hamdi, R. Gharib, C. Messaoud, S. Fourmentin, H. Greige-Gerges, & J. Mediouni Ben Jemâa. *Post-harvest management control of Ectomyelois ceratoniae (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae): new insights through essential oil encapsulation in cyclodextrin*. *Pest Management Science*, 75, 2000-2008 (2019). <https://doi.org/10.1002/ps.5315>
- [61] S. Fatmi. *Polycopié de cours Matière : Systèmes de délivrance des médicaments Niveau : Master I génie pharmaceutique* (2022/2023).
- [62] J. Szejtli. *Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistry*. *Chem. Rev.*, 98, 1743-1753 (1998). <https://doi.org/10.1021/cr970022c>
- [63] J. Szejtli. *Past, present and future of cyclodextrin research*. *Pure Appl. Chem.*, 76, 1825-1845 (2004). <https://doi.org/10.1351/pac200476101825>
- [64] N. Bouhalit. *Réactivité et interactions intermoléculaires dans le complexe d'inclusion eugénol@ β-Cyclodextrine*. Mémoire de projet de fin d'études Master II, Université 8 Mai 1945 Guelma, Algérie (2023).
- [65] G. Crini, M. Morcellet, & N. Morin. *Quelques applications des complexes d'inclusion cyclodextrine/substrat*. *L'actualité chimique*, 247, 18-25 (2001).

Références bibliographiques

- [66] S. Benhadi. Greffage de cyclodextrines modifiées par traitement corona sur matériaux cellulosiques. Thèse de doctorat en Sciences du bois et des fibres, Université de Nancy 1, France (2010).
- [67] T. Loftsson, & M. E. Brewster. Pharmaceutical applications of cyclodextrins: basic science and product development. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 63(9), 1119-1135 (2011). <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2010.01030.x>
- [68] Z. Hammoud et al. Cyclodextrin-membrane interaction in drug delivery and membrane structure maintenance. *International Journal of Pharmaceutics*, 564, 59-76 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.03.063>
- [69] T. Loftsson et al. Pharmaceutical applications of cyclodextrins: basic science and product development. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 1607-1621 (2010). <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.2010.01030>
- [70] J. Szejtli. Cyclodextrins in drug formulations: Part II. *Pharmaceutical Technology International*, 3, 16-24 (1991).
- [71] T. Loftsson, & D. Duchêne. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 329, 1-11 (2007). DOI: 10.1016/j.ijpharm.2006.10.044
- [72] J. Bouckaert, Z. Li, C. Xavier, M. Almant, V. Caveliers, T. Lahoutte, S. D. Weeks, J. Kovensky, & S. G. Gouin. Heptyl α -D-mannosides grafted on a β -cyclodextrin core to interfere with *Escherichia coli* adhesion – an in vivo multivalent effect. *European Journal of Chemistry*, 24, 7847-7855 (2013). DOI: 10.1002/chem.201204015
- [73] M. Kfoury. Préparation, caractérisation physicochimique et évaluation des propriétés biologiques de complexes d'inclusion à base de cyclodextrines: applications à des principes actifs de type phénylpropanoïdes. Thèse de doctorat en Chimie/Biotechnologie. Université du Littoral – Côte d'Opale et l'Université Libanaise (2015).
- [74] G. Astray et al. A review on the use of cyclodextrins in foods. *Food Hydrocolloids*, 23, 1631 (2009). <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.01.001>
- [75] F. Djedâini-Pilard, & B. Perly. *New Trends in Cyclodextrins and Derivatives*. Chapitre 6 (1990).
- [76] E. El-Sayed, H. A. Othman, & A. G. Hassabo. *Journal of Textile Coloration and Polymer Science*, 18(2), 111-119 (2021).
- [77] É. Euvrard, N. Morin-Crini, B. Martel, C. Cosentino, & G. Crini. Cyclodextrines réticulées pour traiter des eaux contaminées. Chapitre XII, 341-371 du livre «Eaux industrielles contaminées» (2017).

Références bibliographiques

- [78] D. French. The Schardinger dextrans. *Advances in Carbohydrate Chemistry*, 12, 189-260 (1957). DOI: 10.1016/s0096-5332(08)60209-x
- [79] G. Linde, A. Giani Jr, & N. Colauto. Changes to taste perception in the food industry: use of cyclodextrins (2011). DOI: 10.1007/978-0-387-92271-3_8
- [80] L. Liu, & Q. X. Guo. The driving forces in the inclusion complexation of cyclodextrins. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, 42, 1-14 (2002). <http://dx.doi.org/10.1023/A:1014520830813>
- [81] E. Martin del Valle. Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochemistry*, 39, 1033-1046 (2004). [https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00258-9](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00258-9)
- [82] B. Belgacem. Investigation des complexes d'inclusion acide acétylsalicylique : β -cyclodextrine via la méthode AIM et la dynamique moléculaire. Thèse de doctorat en sciences. Université 8 Mai 1945 de Guelma, Algérie (2019).
- [83] P. Verlhac. Étude et optimisation des cycles de lyophilisation d'une souche probiotique modèle. Thèse de doctorat en génie des procédés, Université de Lyon I, France (2019).
- [84] M. M. Nitalikar, D. M. Sakarkar, & P. V. Jain. The cyclodextrins: A review. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 10, 1-6 (2012).
- [85] Z. Y. Jin. *Cyclodextrin Chemistry: Preparation and Application* (2013). DOI: 10.1142/8630
- [86] H. G. Choi, B. J. Lee, J. H. Han, M. K. Lee, K. M. Park, C. S. Yong, J. D. Rhee, Y. B. Kim, & C. K. Kim. Terfenadine- β -cyclodextrin inclusion complex with antihistaminic activity enhancement. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 27(8), 857-862 (2001). DOI: 10.1081/ddc-100107250
- [87] B. Demian. Correlation of the solubility of several aromatics and terpenes in aqueous hydroxypropyl- β -cyclodextrin with steric and hydrophobicity parameters. *Carbohydrate Research*, 328, 635-639 (2000). DOI: 10.1016/S0008-6215(00)00139-7
- [88] M. S. A. Khan. Solid dispersions: Formulation, characterization, permeability and genomic evaluation. Thèse de doctorat. Université Aston, Angleterre (2010).
- [89] C. Suporn et al. Improvement of the dissolution rate of piroxicam by surface solid dispersion (2004).
- [90] S. Decossas. Nanotribologie par microscopie à force atomique sur des nanotubes de carbone. Thèse de doctorat en sciences et structure des matériaux, Université Joseph Fourier, Grenoble (2001).

Références bibliographiques

- [91] R. Singh et al. Characterization of cyclodextrin inclusion complexes – A review. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 2 (2010).
- [92] G. Fleury. Des polyrotaxanes de haute masse moléculaire au réseau topologique: les gels à points de réticulation glissants. Thèse de doctorat en chimie et science des matériaux, Université Louis Pasteur – Strasbourg I, France (2005).
- [93] R. Singh et al. Characterization of cyclodextrin inclusion complexes. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 171-183 (2010).
- [94] C. Bisson-Boutelliez. *Desulfovibrio* spp. dans la maladie parodontale: interactions avec les cellules endothéliales KB et activité de l'amoxicilline libre ou complexée sur ses formes extracellulaires et intracellulaires. Thèse de doctorat en pharmacologie, Université Henri Poincaré - Nancy 1, France (2009).
- [95] D. Duchêne. Cyclodextrin and their industrial uses. Editions de Santé (1987). DOI: 10.1016/0168-3659(88)90086-7
- [96] C. G. Floare. Dynamique réactionnelle dans des environnements restreints. Thèse de doctorat en physique, Université Joseph Fourier, Grenoble (2005).
- [97] E. Carsalade. Transitions et relaxations dans les assemblages polymères à base de polyester à finalité ballon stratosphérique. Thèse de doctorat en science et génie des matériaux, Université Paul Sabatier - Toulouse III, France (2009).
- [98] Y. Bakkour. Étude par RMN des complexes d'inclusion avec des cyclodextrines natives et polymérisées. Thèse de doctorat en chimie, Université de Lille I, France (2005).
- [99] M. T. Zaidi. Amélioration de la solubilité d'un anticancéreux : La camptothécine par complexation avec les cyclodextrines. Mémoire de projet de fin d'études Master II en génie des procédés, Université A. MIRA – Béjaia (2012).
- [100] T. Loftsson, M. Másson, & M. E. Brewster. Self-association of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 93, 1091-1099 (2004). DOI: 10.1002/jps.20047
- [101] T. Higuchi et al. Phase-solubility techniques. *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*, 117-212 (1965).
- [102] A. Rasheed et al. Cyclodextrins as drug carrier molecules: a review. *Scientia Pharmaceutica*, 76(4), 567-598 (2008). DOI: <https://doi.org/10.3797/scipharm.0808-05>
- [103] D. Castagne. Étude des interactions entre les cyclodextrines et les membranes liposomales ou biologiques. Thèse de doctorat en sciences biomédicales et pharmaceutiques, Université de Liège, Belgique (2010).

Références bibliographiques

- [104] T. Loftsson et al. Cyclodextrins in drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 335-351 (2005). DOI: 10.1517/17425247.2.1.335
- [105] M. Brewster, & T. Loftsson. Complexation—use of cyclodextrins to improve pharmaceutical properties of intramuscular formulations. In P. Gupta & G. Brazeau (Eds.), *Injectable Drug Development—Techniques to Reduce Pain and Irritation* (pp. 307-336). Interpharm Press, Buffalo Grove, IL (1999).
- [106] K. H. C. Baser, & G. Buchbauer. *Handbook of essential oils: science, technology, and applications*. CRC Press (2009).
- [107] B. Benjilali, A. Tantaoui-Elaraki, M. Ismaili-alaoui, & A. Ayadi. Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, 20, 155-167 (1986).
- [108] A. Astani, J. Reichling, & P. Schnitzler. Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. *Phytotherapy Research*, 24(5), 673-679 (2010). DOI : 10.1002/ptr.2955.
- [109] N. V. Yanishlieva, E. M. Marinova, M. H. Gordon, & V. G. Raneva. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. *Food Chemistry*, 64, 59-66 (1999). DOI : 10.1016/S0308-8146(98)00086-7.
- [110] Géraldine. *Activité antioxydante des huiles essentielles*. Chimactiv Agroparistech (2020). <https://www.aromaressources.com/activite-antioxydante-huiles-essentielles/>
- [111] R. Amorati, M. C. Foti, & L. Valgimigli. Antioxidant activity of essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(46), 10835-10847 (2013). DOI : 10.1021/jf403096v.
- [112] M. Chenni. *Etude comparative de la composition chimique et de l'activité biologique de l'huile essentielle des feuilles du basilic Ocimum basilicum L. Thèse de doctorat en chimie moléculaire: Analyse, modélisation, synthèse*. Université Ahmed Ben Bella Oran, 112-114 (2016).
- [113] A. Favier. Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, 108-115 (2003).
- [114] A. Azzi. Oxidative stress: a dead end or a laboratory hypothesis? *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 362, 230-232 (2007). DOI : 10.1016/j.bbrc.2007.07.174.
- [115] W. L. Chu, Y. W. Lim, A. K. Radhakrishnan, & P. E. Lim. Protective effect of aqueous extract from *Spirulina platensis* against cell death induced by free radicals. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 10(53), 2-8 (2010). DOI : 10.1186/1472-6882-10-53.

Références bibliographiques

- [116] M. Zibouche, & C. Grimes. Contribution à l'étude des flavonoïdes et de l'activité antioxydant de l'orge: *Hordeum vulgare*. University des Frères Mentouri Constantine, 25 (2016).
- [117] P. Bertrand. Implication du stress oxydant dans la toxicité du plomb sur une plante modèle, *Vicia faba*. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, 297p (2008).
- [118] J. G. Wilson-Leedy, & R. L. Ingermann. Computer analyzer de sperme assisté. *Theriogenology*, 67, 666-669 (2006). DOI : 10.1016/j.theriogenology.2006.03.010.
- [119] Y. M. Amrane et al. Optimisation de la Conservation par Réfrigération du Sperme Aviaire. Mémoire de projet de fin d'études, Université Abderrahmane MIRA de Béjaïa (2012/2013).
- [120] B. Bozin, N. Mimica-Dukic, I. Samojlik, & E. Jovin. Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (*Rosmarinus officinalis* L. and *Salvia officinalis* L., Lamiaceae) essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19), 7879-7885 (2007).
- [121] A. Boudjelal. Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga reptans*, *Artemisia herba-alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar Annaba, 61p (2013).
- [122] S. Mansour. Evaluation de l'effet anti-inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium* L., *Artemisia herba-alba* Asso et *Hypericum scaberrimum* (2015).
- [123] K. G. Lee, & T. Shibamoto. Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 17(50), 4947-4952 (2002).
- [124] N. Botsoglou, I. Taitzoglou, I. Zervos, E. Botsoglou, M. Tsantarliotou, & P. S. Chatzopoulou. Potential of long-term dietary administration of rosemary in improving the antioxidant status of rat tissues following carbon tetrachloride intoxication. *Food and Chemical Toxicology*, 48(3), 944-950 (2010).
- [125] S. A. Aherne, J. P. Kerry, & N. M. O'Brien. Effects of plant extracts on antioxidant status and oxidant-induced stress in Caco-2 cells. *British Journal of Nutrition*, 97(2), 321-328 (2007).

Références bibliographiques

- [126] P. Bradley et al. British herbal compendium: a handbook of scientific information on widely used plant drugs, companion to the British herbal pharmacopoeia. British Herbal Medicine Association (BHMA), Bournemouth, United Kingdom (2006).
- [127] Tsai et al. In vitro inhibitory effects of rosemary extracts on growth and glucosyltransferase activity of *Streptococcus sodirinus*. Food Chemistry (in press) (2007).
- [128] Weckesser et al. Screening relevance. Phytomedicine (in press) (2007).
- [129] G. Sacchetti et al. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. Food Chemistry, 91(4), 621-632 (2005).
- [130] P. Goetz, & K. Ghedira. Phytothérapie anti-infectieuse. Ed Springer Verlag France, Paris, 342-345 (2012).
- [131] E. L. Souza, N. B. Guerr, T. L. M. Stamford, & E. de Oliveira Lima. Spices: alternative sources of antimicrobial compounds to use in food conservation. Revista Brasileira de Farmacognosia, 87(1), 22-25 (2006).
- [132] L. Akdim. Comparaison de méthodes d'absorption et d'encapsulation de l'huile essentielle de *Copaifera Officinalis* L. en vue d'une application en cosmétique (2017).
- [133] J. Huang et al. Development of a *Syzygium aromaticum*, L. essential oil/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex: Preparation, characterization, and evaluation, Industrial Crops and Products 214, (2024). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.118500>
- [134] A. Ez-Zoubi et al. Preparation and characterization of a biopesticide based on *Artemisia herba-alba* Essential oil encapsulated with acid-modified succinic Beta-cyclodextrin, Journal of Chemistry Hindawi, Volume 2023, numéro d'article 3830819, 8 pages, (2023). DOI: <https://doi.org/10.1155/2023/3830819>
- [135] S. El Kharraf et al. β -Cyclodextrin inclusion complexes of combined Moroccan *Rosmarinus officinalis*, *Lavandula angustifolia* and *Citrus aurantium* volatile oil: production optimization and release kinetics in food models, Journal of Essential Oil Research, 35:3, 247-261, (2023). DOI: <https://doi.org/10.1080/10412905.2023.2185309>
- [136] H. Yin et al. Optimization and characterization of 1,8-cineole/ hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complex and study of its release kinetics, Food Hydrocolloids 110, (2021). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106159>
- [137] A. Halahlah et al. Synthesis and characterization of inclusion complexes of rosemary essential oil with various β -cyclodextrins and evaluation of their antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*. Journal of Drug Delivery Science and Technology 65, (2021). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102660>

Références bibliographiques

- [138] T. S. S. de Almeida Magalhães et al. Development and Evaluation of Antimicrobial and Modulatory Activity of Inclusion Complex of Euterpe oleracea Mart Oil and β -Cyclodextrin or HP- β -Cyclodextrin, *International Journal of Molecular Sciences*, 21 (3), 942, (2020). DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21030942>
- [139] R. L. Abarca, F. J. Rodríguez, A. Guarda, M. J. Galotto, & J. E. Bruna. Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing an essential oil component. *Food Chemistry* 196, Pages 968-975, (2016). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.023>
- [140] S. Fatmi. Amorphous Solid Dispersion Studies Of Camptothecin-Cyclodextrin Inclusion Complexes In Peg 6000, *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, Vol. 72 No. 1 pp. 179-192, (2015).
- [141] A. Benberkane. Rosmarinus officinalis Essential Oil Preloaded In β -Cyclodextrin: Effect On Ram Spermatozoa Motility, Membrane Integrity And Oxidative Status During 4°C Storage, *CryoLetters* 40 (4), 219-225 (2019).
- [142] A. Halahlah et al. Synthesis and characterization of inclusion complexes of rosemary essential oil with various β -cyclodextrins and evaluation of their antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 65 (2021). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102660>
- [143] Z. Toutou. Optimization, characterization and biological effect of Algerian propolis, *Acta fytotechn zootechn*, 25, (4): 269–278, (2022). DOI: <https://doi.org/10.15414/afz.2022.25.04.269-278>
- [144] N. M. Ribeiro. Red blood cell hemolytic assay: an alternative to assess cytotoxicity of essential oils, *International Journal of Development Research* Vol. 10, Issue, 03, pp. 34565-34569, (2020).
- [145] S. Shimizu et al. Relationship Between Phase Solubility Diagrams and Crystalline Structures During Dissolution of Cimetidine/Cyclodextrin Complex Crystals, *Journal of Pharmaceutical Sciences* 109 P2206-2212, (2020). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2020.03.029>
- [146] C. Yuan et al. Physicochemical characterization and antibacterial activity assessment of lavender essential oil encapsulated in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin, *Industrial Crops & Products* 130 P104-110 (2019). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.067>
- [147] A. Celebioglu et al. Electrospun nanofibers from cyclodextrin inclusion complexes with cineole and p-cymene: enhanced water solubility and thermal stability, *International Journal of Food Science and Technology* (2017). DOI : <https://doi.org/10.1111/ijfs.13564>

Références bibliographiques

- [148] D. Garcia-Sotelo et al. Antimicrobial activity and thermal stability of rosemary essential oil: β -cyclodextrin capsules applied in tomato juice, *LWT - Food Science and Technology* 111 P837-845 (2019). DOI : <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.061>
- [149] A. Herrera. Antifungal and physicochemical properties of inclusion complexes based on β -cyclodextrin and essential oil derivatives, *Food Research International* 121 P127-135 (2019). DOI : <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.03.026>
- [150] T. A. Andrade et al. Physico-chemical characterization and antibacterial activity of inclusion complexes of *Hyptis martiusii* Benth essential oil in β -cyclodextrin, *Biomedicine & Pharmacotherapy* 89 P201–207 (2017). DOI : <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.01.158>
- [151] R. Piletti et al. Microencapsulation of garlic oil by β -cyclodextrin as a thermal protection method for antibacterial action, *Materials Science and Engineering: C* 94 P139-149 (2019). DOI : <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.09.037>
- [152] L. Touazi et al. Effect of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* (L.) on rooster sperm motility during 4°C short-term storage, *Veterinary World*, 11(5): 590-597 (2018). DOI : [10.14202/vetworld.2018.590-597](https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.590-597)
- [153] M. Chraibi et al. Characterization, antioxidant, antimycobacterial, antimicrobial effects of Moroccan rosemary essential oil, and its synergistic antimicrobial potential with carvacrol, *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research* 11(1): 25-29 (2020). DOI : [10.4103/japtr.JAPTR_74_19](https://doi.org/10.4103/japtr.JAPTR_74_19)
- [154] N. M. Ribeiro et al. Red blood cell hemolytic assay: an alternative to assess cytotoxicity of essential oils, *International Journal of Development Research*, 10(03), 34565-34569 (2021).

Résumé

Les huiles essentielles (HEs) sont prisées pour leurs propriétés biologiques, mais leur volatilité et faible solubilité limitent leur utilisation. Ce mémoire explore l'encapsulation des HE par les cyclodextrines pour améliorer leur solubilité et réduire leur volatilité, en se focalisant sur le camphre et le cinéole, principaux composants de l'armoise blanche et du romarin. Les objectifs de cette étude sont d'améliorer la solubilité des composés majeurs des HE et de minimiser leur volatilité. Des tests biologiques (spermatique, DPPH, hémolytique) et des analyses physico-chimiques, incluant la spectroscopie UV-Visible, ont été utilisés pour évaluer l'effet des cyclodextrines. Les résultats montrent une amélioration significative de la solubilité et une réduction de la volatilité du camphre et du cinéole. En conclusion, cette technique offre une solution prometteuse pour optimiser l'utilisation des HEs dans diverses applications, notamment pharmaceutiques, permettant une meilleure exploitation de leurs propriétés bioactives et ouvrant la voie à des applications élargies dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et alimentaire.

Mots clés : Encapsulation, cyclodextrines, cinéole, camphre, solubilité, volatilité, huiles essentielles, propriétés biologiques, armoise blanche, romarin

Abstract

Essential oils (EOs) are valued for their biological properties, but their volatility and low solubility limit their use. This thesis explores the encapsulation of EOs by cyclodextrins to improve their solubility and reduce their volatility, focusing on camphor and cineole, the main components of *Artemisia herba Alba* and *Rosmarinus Officinalis*. The objectives of this study are to enhance the solubility of the major EO compounds and minimize their volatility. Biological tests (spermatocidal, DPPH, hemolytic) and physicochemical analyses, including UV-Visible spectroscopy, were used to evaluate the effects of cyclodextrins. The results show a significant improvement in the solubility and a reduction in the volatility of camphor and cineole. In conclusion, this technique offers a promising solution for optimizing the use of EOs in various applications, particularly pharmaceuticals, enabling better exploitation of their bioactive properties and paving the way for expanded applications in pharmaceutical, cosmetic, and food industries.

Keywords : Encapsulation, cyclodextrins, cineole, camphor, solubility, volatility, essential oils, biological properties, *Artemisia herba Alba*, *Rosmarinus officinalis*.

