

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

**Talbi Sofia**

**Haddad Kenza**

*Thème*

**Optimisation et caractérisation du procédé d'encapsulation de l'extrait  
de propolis en utilisant les cyclodextrines et les niosomes**

Soutenue le 23/06/2024

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade	Affiliation	Qualité
Mr REZGUI Farouk	Professeur	Université de Bejaia	Président
M <sup>me</sup> CHIBANI Nacera	MCA	Université de Bejaia	Examineur
Mr FATMI Sofiane	Professeur	Université de Bejaia	Encadrant
M <sup>me</sup> TOUTOU Zahra	Doctorante	Université de Bejaia	Co- Encadrant

Année Universitaire : 2023/2024

# Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu Tout-Puissant de nous avoir donné la force, le courage et la persistance nécessaires pour accomplir ce modeste travail. Merci de nous avoir éclairé le chemin de la réussite. Ce mémoire n'aurait pas pu être ce qu'il est sans l'aide d'Allah qui nous a donné la force afin de l'accomplir.

Nous tenons à exprimer nos plus profonds remerciements et notre vive reconnaissance à notre encadrant, **Pr FATMI SOFIANE**, qui nous a fait confiance en s'engageant à nos côtés dans ce travail. Il a su, à sa façon, nous conseiller et nous orienter tout au long de la réalisation de ce travail.

Nos vifs remerciements vont également à **M<sup>lle</sup> TOUTOU ZAHRA**, pour son orientation, sa patience, ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail. Nous avons grandement bénéficié de son savoir et de sa présence tout au long de ces longs mois d'efforts.

Nous remercions également les membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche. Nous sommes très honorés que **Dr CHIBANI NACERA** ait accepté d'examiner notre travail et de l'enrichir par ses propositions. Nous remercions également **Pr REZGUI FAROUK** qui nous a fait l'honneur de présider le jury.

Nous souhaitons également exprimer notre plus sincère gratitude à **M<sup>lle</sup> LEZRAG AHLAM HAYET** ainsi qu'à tout le personnel du Laboratoire de Génie Pharmaceutique, du département de Génie des Procédés du pôle de Bejaïa. Votre gentillesse, votre soutien constant, vos encouragements et votre disponibilité ont été d'une aide précieuse tout au long de notre parcours. Merci infiniment pour votre accompagnement et votre bienveillance.

Enfin, nous tenons à remercier tous ceux qui ont été là pour nous tout au long de notre travail. Que toute personne ayant participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail trouve ici l'expression de nos plus vifs remerciements et de notre profond respect.



# Dédicace

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à mes parents. Leur amour, leur soutien inconditionnel et leur patience tout au long de mes études ont été des piliers essentiels de ma réussite. Ils ont toujours cru en moi, même dans les moments les plus difficiles, et leur confiance m'a donné la force de persévérer. Leur sacrifice et leur encouragement ont été inestimables et je ne saurais les remercier assez pour tout ce qu'ils ont fait pour moi.

À ma famille, je souhaite dire un grand merci pour leur présence réconfortante et leurs encouragements constants. Mes frères et sœurs, ainsi que mes proches, ont su me soutenir moralement et m'apporter des moments de joie et de détente qui ont été indispensables pour maintenir mon équilibre tout au long de ces années d'études.

Je tiens également à remercier mes amis et collègues pour leur soutien et leurs encouragements. Les discussions enrichissantes, les moments de partage et les encouragements mutuels ont été d'une grande aide. Leur amitié et leur soutien m'ont permis de garder le cap et de surmonter les obstacles.

Enfin, je n'oublie pas de remercier toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce mémoire. Que ce soit par leurs conseils, leur aide matérielle ou simplement leur présence, chacune de ces contributions a été précieuse. Je pense notamment à mes professeurs, mes camarades de promotion et toutes les personnes que j'ai pu rencontrer et qui ont enrichi mon parcours académique.

HADDAD Kenza

# Dédicace

A mes parents, mes piliers depuis le premier jour d'école jusqu'à cette soutenance, leur amour inconditionnel et leur soutien constant ont été  
ma force.

A Sara ma confidente, dont la bonté éclairait mon chemin.

A Yanis, source d'inspiration par son savoir-vivre.

A ma grand-mère, dont la gentillesse et les prières ont été un phare.

A Sihem, mon amie d'enfance, dont l'humour a illuminé mes journées.

Chaque échec et succès ont sculpté ma croissance personnelle.

Ce mémoire vous est dédié avec amour et sincérité.

**Talbi Sofia**

# Sommaire

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des abréviations**

INTRODUCTION GÉNÉRALE ..... 1

## **PREMIÈRE PARTIE : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **CHAPITRE I : LA PROPOLIS**

I.1. Introduction ..... 4

I.2. Historique ..... 4

I.3. Définition ..... 4

I.4. Composition chimique ..... 5

I.5. Origine et types de propolis ..... 5

    I.5.1. Origine de la propolis produite en Algérie ..... 7

I.6. Propriétés physico-chimiques de la propolis ..... 7

    I.6.1. Propriétés physiques ..... 7

    I.6.2. Propriétés chimiques ..... 8

I.7. Récolte de la propolis ..... 8

    I.7.1. Récolte de la propolis sur l'arbre par l'abeille ..... 8

    I.7.2. Récolte de la propolis par l'homme ..... 9

        I.7.2.1. Récolte de la propolis par grattage des cadres ..... 9

        I.7.2.2. Grille à propolis ..... 10

I.8. Conservation ..... 11

I.9. Propriétés thérapeutiques de la propolis ..... 11

    I.9.1. Action antivirale ..... 11

I.9.2. Action cicatrisante.....	12
I.9.3. Action antibactérienne .....	12
I.9.4. Activité antiparasitaire.....	12
I.9.5. Activité antiinflammatoire .....	12
I.9.6. Activité antioxydante.....	12
I.10. Effets indésirables–toxiques .....	13
I.11. L’extraction de la propolis .....	13
I.11.1. Méthodes d’extraction .....	13
I.12. Utilisation de la propolis .....	13
I.12.1. Utilisation de la propolis par l’abeille .....	13
I.12.2. Utilisation de la propolis par l’homme.....	14
I.12.2.1. Les formes commercialisées de la propolis .....	14
I.13. Conclusion.....	15

## **CHAPITRE II : LES CYCLODEXTRINES**

II.1. Introduction.....	16
II.2. Historique.....	16
II.3. Définition .....	16
II.4. Structure et nomenclature des cyclodextrines .....	16
II.5. Les Caractéristiques physico-chimiques.....	18
II.5.1. Amphiphilité.....	18
II.5.2. Basicité.....	19
II.5.3. Solubilité .....	19
II.5.4. Stabilité .....	19
II.5.5. Toxicité .....	19

II.6. Les Complexes d'inclusions .....	20
II.6.1. Formation des complexes d'Inclusions.....	20
II.6.2. Intérêt de complexation.....	21
II.6.3. Techniques analytiques de caractérisation des complexes d'inclusion .....	21
II.6.4. Préparation des complexes d'Inclusion.....	22
II.6.4.1. Par la méthode de co-précipitation.....	22
II.6.4.2. Inclusion par Extrusion .....	22
II.6.4.3. Par la méthode de pétrissage (Kneading) .....	22
II.6.4.4. Inclusion par co-evaporation .....	22
II.6.4.5. Séchage par lyophilisation (Freeze Drying).....	23
II.7. Applications des cyclodextrines .....	23
II.7.1. Applications pharmaceutiques.....	23
II.7.2. Applications cosmétiques.....	24
II.7.3. Applications alimentaires.....	24
II.7.4. Applications agricoles .....	25
II.7.5 Applications en textiles .....	25
II.7.6 Applications environnementales.....	25
II.8. Les Modifications des cyclodextrines .....	25
II.9. Conclusion .....	26

### **CHAPITRE III : LES NIOSOMES**

III.1. Introduction.....	27
III.2. Historique .....	27
III.3. Définition.....	27
III.4. Structure.....	27

III.5. Composition des niosomes .....	28
III.5.1. Cholestérol .....	28
III.5.2. Tensioactifs non ioniques .....	29
III.5.3. Autres additifs .....	30
III.6. Types de niosomes .....	30
III.6.1. Les multi lamellaires .....	30
III.6.2. Les uni lamellaires.....	31
III.7. Méthodes de préparation .....	31
III.7.1. Méthode de chauffage .....	31
III.7.2. Méthode d'injection d'éther.....	32
III.7.3. Sonication .....	32
III.7.4. Méthode d'évaporation en phase inverse .....	33
III.7.5. Méthode de micro fluidisation .....	34
III.8. Avantages des niosomes.....	34
III.9. Inconvénients des niosomes .....	34
III.10. Facteurs influant sur la formulation niosomale .....	34
III.10.1. Nature du médicament encapsulé.....	35
III.10.2. Résistance au stress osmotique .....	35
III.10.3. Teneur et charge en cholestérol.....	36
III.10.4. Quantité et type de tensioactif.....	36
III.10.5. Température d'hydratation .....	36
III.10.6. Caractérisation des niosomes.....	36
III.11. Les différents domaines d'applications des niosomes.....	37
III.11.1. Applications thérapeutiques des niosomes .....	37

III.11.2. Applications cosmétiques. ....	38
III.13. Conclusion .....	38

## **CHAPITRE IV : ENCAPSULATION MIXTE**

IV.1. Introduction .....	39
IV.2. Historique .....	39
IV.3. Définition de l'encapsulation .....	39
IV.4. Les types d'encapsulation mixte .....	40
IV.4.1. Encapsulation cohérente .....	40
IV.4.2. Encapsulation hétérogène .....	40
IV.5. Les procédés d'encapsulation mixte .....	40
IV.5.1. Coacervation complexe .....	41
IV.5.2. Coextrusion.....	41
IV.5.3. Émulsification double .....	41
IV.5.4. Coacervation simple avec inclusion .....	41
IV.6. Les différents agents d'encapsulation .....	42
IV.6.1. Vecteurs particuliers .....	42
IV.6.2. Agents de support à base de polysaccharides.....	42
IV.6.3. Agents d'encapsulation à base de protéines .....	43
IV.7. Les avantages et les inconvénients de l'encapsulation mixte.....	43
IV.7.1. Les avantages .....	43
IV.7.2. Les inconvénients.....	43
IV.8. Les facteurs clés de réussite .....	44
IV.9. Applications de l'encapsulation mixte.....	45
IV.10. Conclusion .....	46

## DEUXIÈME PARTIE : ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

### CHAPITRE V MATÉRIELS ET MÉTHODES

V.1. Introduction.....	47
V.2. Optimisation d'un procédé d'encapsulation mixte de la propolis par les cyclodextrines (PM-βCD) et les niosomes.....	47
V.2.1. Extraction de propolis.....	47
a. Principe .....	47
b. Matériels .....	47
c. Appareillages.....	47
d. Produits chimiques .....	48
e. Méthodes.....	48
V.2.2. Préparation de suspension niosomale avec les conditions optimales .....	48
V.2.2.1. Plan d'expériences .....	48
a. Matériels .....	50
b. Appareillages .....	50
c. Produits chimiques .....	50
d. Méthode.....	51
V.2.3. Détermination des repasses du plan d'expérience .....	52
V.2.3.1. Dosage des flavonoïdes des suspensions niosomales par l'UV-visible (détermination du taux d'encapsulation).....	52
V.2.3.1.1. Principe spectrophotomètre UV-visible.....	52
V.2.3.1.2. Principe Dosage des flavonoïdes de l'extrait de propolis( la quercétine) .....	53
a. Matériels .....	53
b. Appareillages .....	53

c. Produits chimiques .....	53
d. Méthodes .....	53
V.2.4. Détermination de la taille des niosomes formées dans les suspensions niosomales .....	54
a. Principe .....	54
b. Matériels .....	54
c. Appareillage .....	54
d. Produit .....	54
e. Méthodes.....	54
V.2.5. Préparation de la suspension niosomale optimale .....	55
V.2.5.1. La centrifugation de la suspension Niosomale optimale .....	55
a. Principe de la centrifugation.....	56
b. Matériels .....	56
c. Appareillages.....	56
d. Produits chimiques .....	56
e. Méthodes.....	56
V.3. Caractérisation physico-chimique de suspension niosomale.....	58
V.3.1. Analyse thermique (ATG) .....	58
a. Principe .....	58
b. Appareillage .....	58
c. Produits chimiques.....	58
d. Méthode.....	58
V.4. L'étude des activités biologiques des suspensions niosomales .....	59
V.4.1. Test de motilité des spermatozoïdes (déterminations de VSL) après réfrigération... 59	
a. Principe .....	59

b. Matériels .....	59
c. Appareillages.....	59
d. Produits chimiques .....	59
e. Méthode .....	60
V.4.2. L'activité antioxydante des suspensions niosomales .....	61
a. Principe .....	61
b. Matériels .....	61
c. Appareillages.....	62
d. Produits chimiques .....	62
e. Méthode .....	62
V.4.3. Test Hémolitique (GR) hémoglobines .....	64
a. Principe .....	64
b. Matériels .....	64
c. Appareillages.....	64
d. Produits chimiques .....	64
e. Méthode .....	65

## **CHAPITRES VI : RÉSULTATS ET DISCUSSIONS**

VI.1. Introduction .....	67
VI.2. Le taux d'extraction de la propolis .....	67
VI.3. Dosage des flavonoïdes de l'extrait de propolis (Quercétine).....	67
VI.3.1. Courbe d'étalonnage.....	67
VI.3.1.1. Résultats.....	66
VI.3.1.2. Observations.....	68
VI.3.1.3. Interprétations.....	68

VI.4. Détermination des réponses du plan expérimental .....	68
VI.4.1. Résultats.....	69
VI.4.2. Observation et interprétation.....	70
VI.4.3. Modèle mathématique .....	70
VI.4.4. Analyse statistique.....	71
VI.4.5. Explication des données du plan d'expérience .....	72
VI.4.6. Étude des effets propres.....	72
VI.4.6.1. L'influence des facteurs sur la taille des niosomes .....	72
VI.4.6.2. Les effets propres des facteurs sur le taux d'encapsulation .....	73
VI.5. Détermination des conditions optimales .....	74
VI.5.1. Résultats.....	74
VI.6. Détermination de la taille des suspensions niosomales.....	74
VI.7. Détermination du taux d'encapsulation des suspensions niosomales .....	76
VI.7.1. Observation et interprétation.....	76
VI.8. Caractérisation de la formulation optimale .....	77
VI.8.1. Analyse thermogravimétrique (ATG).....	77
VI.8.1.1. Résultats.....	77
VI.8.1.2. Observation et interprétation.....	78
VI.9. Les effets biologiques.....	79
VI.9.1. Test de motilité des spermatozoïdes (déterminations de la trajectoire en ligne droite de VSL) .....	79
VI.9.1.1. Résultats.....	79
VI.9.1.2. Observation et interprétation.....	79
VI.9.2. Activité antioxydante par la méthode de DPPH.....	80
VI.9.2.1. Résultats.....	80

VI.9.2.2. Observation et interprétation.....	81
VI.9.3. Activité cytotoxique (test hémolytique) .....	81
VI.9.3.1. Résultats.....	81
VI.9.3.2. Observation et interprétation.....	82
CONCLUSION GENERALE .....	83
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

**Liste des figures**

<b>Figure I.1 :</b> Propolis.....	5
<b>Figure I.2 :</b> Différentes couleurs de propolis selon l'origine de la flore naturelle.....	7
<b>Figure I.3 :</b> Récolte de la propolis par grattage.....	10
<b>Figure I.4 :</b> Récolte de la propolis en utilisant la grille en plastique.....	10
<b>Figure I.5 :</b> Close-up de propolis sur la grille en plastique.....	11
<b>Figure II.1 :</b> Structure générale des cyclodextrines.....	17
<b>Figure II.2 :</b> Structures en cage des cyclodextrines $\alpha$ -CD, $\beta$ -CD, $\gamma$ -CD.....	17
<b>Figure II.3.</b> Structures tridimensionnelles des cyclodextrines.....	17
<b>Figure II.4 :</b> Processus de complexation des cyclodextrines de type 1:1.....	21
<b>Figure II.5 :</b> Représentations des stœchiométries des complexes les plus fréquemment observés.....	21
<b>Figure II.6 :</b> Domaines d'application des cyclodextrines.....	23
<b>Figure III.1 :</b> Structure des niosomes.....	28
<b>Figure III.2 :</b> Structure chimique du cholestérol.....	28
<b>Figure III.3 :</b> Structure chimique des tensioactifs.....	29
<b>Figure III.4 :</b> Représentation schématique des vésicules multilamellaires.....	30
<b>Figure III.5 :</b> Représentation schématique des vésicules unilamellaires.....	31
<b>Figure III.6 :</b> Schéma illustratif de la technique d'injection d'éther pour la formation de niosomes.....	32
<b>Figure III.7 :</b> Schéma illustratif de la formulation de niosomes par la technique de sonication.....	33
<b>Figure III.8 :</b> Schéma illustratif de la formulation de niosomes par la technique d'évaporation en phase inverse.....	33
<b>Figure III.9 :</b> Facteurs influençant la formulation des niosomes.....	35

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure IV.1</b> : Concept de base de l'encapsulation des composés bioactifs .....	40
<b>Figure IV.2</b> : Représentation schématique du processus d'encapsulation d'ingrédients bioactifs par extrusion avec technologie vibratoire .....	41
<b>Figure IV.3</b> : Représentation schématique du processus de coacervation simple et complexe en utilisant des tensioactifs et des polymères.....	42
<b>Figure IV.4</b> : Répartition de l'utilisation de l'encapsulation mixte dans différents domaines d'application.....	46
<b>Figure V.1</b> : Méthode d'extraction de la propolis .....	48
<b>Figure V.2</b> : Présentation du Rota vapeur IKA RV 10.....	52
<b>Figure V.3</b> : Présentation du spectrophotomètre UV-visible .....	52
<b>Figure V.4</b> : Suspension niosomale .....	55
<b>Figure V.5</b> : Centrifugeuse MIKRO 200R.....	56
<b>Figure V.6</b> : Analyse par spectrométrie UV-visible (UV-1900 i).....	57
<b>Figure V.7</b> : Échantillon de niosome .....	58
<b>Figure V.8</b> : Epididyme bovin.....	61
<b>Figure V.9</b> : Récolte de sperme .....	61
<b>Figure V.10</b> : DPPH.....	60
<b>Figure V.11</b> : Échantillons après dosage DPPH.....	63
<b>Figure V.12</b> : Test hémolytique (GR).....	66
<b>Figures VI.1</b> : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes .....	68
<b>Figures VI.2</b> : Facteurs statistiques du plan d'expérience étudié.....	71
<b>Figures VI.3</b> : Influence des facteurs sur la taille des niosomes .....	72
<b>Figures VI.4</b> : Influence des facteurs sur le taux d'encapsulation.....	73
<b>Figure VI.5</b> : Taille des niosomes formés (optimum) évaluée à l'aide d'un microscope optique.....	75

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure VI.6 :</b> Taille des niosomes formés (placebo) évaluée à l'aide d'un microscope optique .....	76
<b>Figures VI.7 :</b> Perte de masse de différents échantillons .....	77
<b>Figures VI.8 :</b> Vitesse de la trajectoire en ligne droite (VSL) .....	79
<b>Figures VI.9 :</b> Évaluation de l'activité antioxydante.....	80
<b>Figure VI.10 :</b> Test hémolytique .....	81

**Liste des tableaux**

<b>Tableau I.1 :</b> Les types de propolis les plus répandus avec leurs principales familles de composés poly phénoliques.....	6
<b>Tableau II.2 :</b> Dimension, en Angströms (Å), des cyclodextrines.....	18
<b>Tableau II.3 :</b> Caractéristiques physico-chimiques d'α-CD, β-CD, γ-CD .....	19
<b>Tableau III.4 :</b> Diffèrent types de tensioactifs non ioniques .....	29
<b>Tableau V.1 :</b> Matrice d'essais .....	49
<b>Tableau V.2 :</b> Matrice d'expérience.....	55
<b>Tableau VI.2 :</b> Résultats expérimentaux de la matrice.....	69
<b>Tableau VI.3 :</b> Présentation des valeurs de l'analyse statistiques .....	71
<b>Tableau VI.4 :</b> Les conditions optimales de notre système d'encapsulation .....	74

### Liste des abréviations

**AlCl<sub>3</sub>**: Chlorure d'aluminium.

**α-CD**: Alpha-cyclodextrine.

**β-CD**: Beta-cyclodextrine.

**CASA**: Computer assisted sperm analyse.

**CD(s)** : Cyclodéxtrine (s).

**DCP** : dicétylphosphate.

**DPPH** : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl.

**DRX** : Diffraction des rayons X.

**ERO** : espèces réactives de l'oxygène.

**γ-CD**: Gamma-cyclodextrin.

**HCL** : chlorure d'hydrogène.

**HO** : radical hydroxyle.

**HPβCD** : Hydroxyl-propylbêta-cyclodextrine.

**IR** : Spectroscopie infrarouge.

**KBr** : Bromure de potassium.

**LUV** : Vésicule unilamellaires de grande taille.

**Mg** : milligramme.

**ml** : millilitre.

**MLV** : Vésicule multilamellaires.

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>**: Nitrite de sodium.

**NaCl** : chlorure de sodium.

**NaOH** : hydroxyde de sodium.

**PMβCD** : Perméthyl bêta-cyclodextrine.

## LISTE DES ABREVIATIONS

**RBC:** red blood cells.

**RMN :** Résonance magnétique nucléaire.

**SA :** staphylococcus aureus.

**SUV :** Vésicules unilamellaire de petite taille.

**TRIS :** trisaminométhane.

**UV-visible :** Ultrat violet.

**VSL :** Vitesse de la trajectoire en ligne droite.

**µl :** microlitre.

# **INTRODUCTION GENERALE**

## Introduction

Depuis l'aube des temps, l'homme a toujours été intrigué et intéressé par la nature qui l'entourait. Il a su tirer parti des ressources naturelles pour s'adapter à son environnement et ainsi évoluer, créant la domestication de l'agriculture. Parmi les espèces animales domestiquées, il en est une particulièrement exceptionnelle : l'abeille. Les produits de la ruche sont depuis des millénaires exploités par l'homme. Leurs utilisations assurent un bon marché et représentent un revenu d'appoint pour l'apiculteur. Parmi ces produits, la propolis ; La propolis est l'un des six produits de la ruche avec le miel, la gelée royale, le pollen, la cire et le venin d'abeille.

En effet, la propolis c'est une substance naturelle résineuse collectée par les abeilles soit sur des bourgeons ou sur l'écorce de certains arbres tels que le peuplier, le chêne, l'aulne etc., soit sur des conifères, amalgamés à une sécrétion salivaire des abeilles. Elle a une odeur balsamique et une couleur variable selon ses origines végétales, elle varie du jaune clair au brun très foncé presque noir.

Son utilisation est limitée par des défis tels que sa faible solubilité dans des milieux aqueux, sa biodisponibilité et sa dégradation chimique [1].

La recherche sur l'encapsulation mixte des médicaments a été un domaine d'intérêt important, visant à améliorer continuellement les caractéristiques physico-chimiques de la propolis afin d'obtenir des résultats optimaux en termes d'efficacité.

Les cyclodextrines (CDs) sont des oligosaccharides naturels, reconnus pour leur capacité à encapsuler des molécules hydrophobes plus petites. Leur structure présente une face externe hydrophile et une cavité hydrophobe, favorisant un équilibre dynamique dans l'eau. Ce phénomène peut engendrer divers avantages pour les composés inclus, tels qu'une amélioration de leur solubilité aqueuse, de leur stabilité, de leur biodisponibilité, ou de leurs propriétés organoleptiques. Ces modifications des propriétés physico-chimiques suscitent un grand intérêt dans de nombreux domaines d'application, notamment dans le secteur pharmaceutique [2].

## INTRODUCTION GENERALE

Les niosomes sont de nouveaux nano-vecteurs de médicaments permettant de concevoir des systèmes d'administration de médicaments efficaces. Ils offrent une excellente occasion de charger des substances hydrophiles, lipophiles ou les deux ensembles.

Dans le domaine de la pharmacotechnie, l'encapsulation mixte représente une approche novatrice qui combine différentes matrices d'encapsulation pour optimiser la délivrance de principes actifs. Au cœur de cette stratégie, l'union entre la propolis, les cyclodextrines et les niosomes incarne un potentiel significatif pour améliorer l'efficacité et la protection des formulations pharmaceutiques.

Ce mémoire se consacre à explorer en profondeur cette convergence entre la nature et la technologie, mettant en lumière les avancées récentes de l'encapsulation mixte de la propolis. Chaque chapitre offre un regard analytique sur les aspects fondamentaux et appliqués de cette approche, depuis les caractéristiques intrinsèques de la propolis jusqu'aux mécanismes d'action des cyclodextrines et des niosomes en tant qu'agents d'encapsulations.

La première partie résumera une recherche bibliographique qui est répartie en quatre chapitres.

Le premier chapitre offre une vue d'ensemble de la propolis, une substance apicole aux propriétés remarquables. Nous explorerons sa définition, sa composition chimique, son origine et les méthodes de récolte, ce chapitre posera les bases nécessaires pour une compréhension approfondie de ce précieux produit de la ruche.

Le deuxième chapitre se concentre sur les cyclodextrines, nous aborderons leurs structures, leurs propriétés physico-chimiques, les méthodes de formation de complexe d'inclusion et leurs applications dans différents domaines.

Et le troisième chapitre explore les niosomes, des vecteurs de médicaments innovants qui offrent de nouvelles perspectives dans le domaine de la délivrance ciblée de médicaments, en abordant leur structure, leur fonctionnement et leurs applications potentielles, ce chapitre illustre l'importance croissante des niosomes dans le domaine de pharmacologie.

Enfin un quatrième chapitre se penchera sur les principes et les applications de l'encapsulation mixte, en mettant en évidence les avantages et les inconvénients de cette nouvelle approche.

A travers ces chapitres, nous visons à approfondir notre compréhension de la propolis, des cyclodextrines et des niosomes et de l'encapsulation mixte, en mettant en lumière leurs caractéristiques uniques et leurs potentiels dans divers domaines d'application.

## **INTRODUCTION GENERALE**

La deuxième partie de ce travail consiste en une étude expérimentale, qui se divise en deux sections principales : une présentation des matériels et méthodes utilisés pour mener à bien cette étude, suivie d'une discussion détaillée des résultats obtenus.

**CHAPITRE I**  
**LA PROPOLIS**

### I.1. Introduction

Dans le paysage dynamique de la pharmacopée moderne, la propolis émerge comme une ressource précieuse. Dotée de propriétés médicinales bien établies, elle suscite un intérêt continu dans le domaine de l'ingénierie pharmaceutique. Sa composition chimique diversifiée, comprenant plus de 300 composés identifiés, en fait un sujet d'étude passionnant et prometteur pour de nouvelles découvertes thérapeutiques [3].

### I.2. Historique

La propolis existe depuis que l'abeille est apparue sur terre, elle a une histoire fascinante qui s'étend sur des millénaires et traverse différentes civilisations, où les Égyptiens ont exploité ses propriétés anti-putréfiâtes pour embaumer les cadavres. Les médecins grecque et romain, tels qu'Aristote, Dioscoride, Plin l'Ancien et Galien, reconnaissaient ses vertus médicinales, l'utilisant comme antiseptique et cicatrisant. Aristote la signalé comme un remède aux infections de la peau, plaies Les Romains l'ont donné à tous les soldats pour soigner leurs blessures pendant les différentes invasions.

Cet intérêt croissant pour la propolis a conduit à des applications variées, allant de la médecine traditionnelle à la recherche scientifique moderne. La propolis occupe désormais une place significative dans la pharmacopée actuelle et suscite un intérêt continu en raison de ses propriétés médicinales reconnues et de son potentiel pour de nouvelles découvertes dans le domaine de la santé [3].

### I.3. Définition

Étymologiquement en grec, le terme « propolis » signifie « PRO » (avant, devant, ou à l'entrée de) et « POLIS » (ville ou communauté) ; une substance qui est pour ou en défense de la ville ou de la ruche.

La propolis est une substance fabriquée par les abeilles à partir de résines, de cires et de gommes trouvées sur les arbres et plantes, tels que le peuplier, le bouleau, l'aulne, le marronnier d'inde, le frêne, le saule, l'épicéa et le chêne. Les abeilles transportent ces substances vers la ruche, ou elles les mélangent avec leur propre cire et leurs sécrétions pour produire de la propolis (Figure I.1) [4].



**Figure I.1.** Propolis.

### **I.4. Composition chimique**

L'analyse de divers échantillons de propolis provenant de différentes régions du monde a révélé une diversité remarquable de plus de 300 composés chimiques distincts.

La composition de la propolis peut varier en fonction des végétaux que les abeilles visitent, elle est généralement composée de 50% de résines et de baumes, 30% de cire, 10% d'huiles essentielles et aromatiques, 5% de pollen et 5% d'autres substances, notamment des flavonoïdes, des acides phénoliques, des acides organiques, des terpènes, des vitamines et des minéraux, qui lui confèrent des propriétés anti-inflammatoires, anti-cancéreuses, anesthésique, cicatrisante et régénératrice et antimicrobiennes [5].

### **I.5. Origine et types de propolis**

Il existe une variété de types de propolis qui dépendent de plusieurs facteurs tels que l'espèce d'abeille, la région géographique, la diversité de la flore locale et la disponibilité des plantes tout au long de la saison. Ainsi, la propolis peut se présenter sous différentes couleurs telles que le jaune ambre, le brun foncé, le vert ou encore le rouge [6].

Les propolis les plus fréquemment étudiées sont classés par origine géographique, botanique et ses principaux constituants comme cela est indiqué dans le tableau I.1

**Tableau I.1.** Les types de propolis les plus répandus avec leurs principales familles de composés polyphénoliques.

Type de propolis	Origine géographique	Origine botanique	Principaux constituant
<b>Peuplier Ambrée à brun</b>	Europe, Amérique du nord, régions non tropicales de l'Asie, Nouvelle-Zélande	<i>Populus spp. Et</i> principalement <i>P. nigra L.</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Flavones</li> <li>➤ Flavonones,</li> <li>➤ Acides phénols et ses esters et ses quiterpènes</li> </ul>
<b>Verte du Brésil</b>	Zone tropicale du Brésil	<i>Baccharis spp.</i> Principalement <i>B. dracunculifolia DC</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Dérivés prénylés de l'acide coumarique</li> <li>➤ Acides diterpéniques</li> <li>➤ Lignanes</li> </ul>
<b>Bouleau</b>	Nord de la Russie	<i>Betula verrucosa</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Flavones</li> <li>➤ Flavonols</li> <li>➤ Flavonones et ses quiterpènes</li> </ul>
<b>Propolis rouge</b>	Cuba, Brésil, Mexique, Venezuela	<i>Dalbergia ecastophyllum</i> <i>Clusia rosea</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Isiflavones</li> <li>➤ Isoflavanes</li> <li>➤ Flavonoides</li> <li>➤ Benzophénones isoprénylées</li> </ul>
<b>Méditerranéenne</b>	Sicile, Grèce, Malte, Crète, Turquie	Famille de <i>cupressacea</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Acides diterpéniques et principalement de types labdane</li> </ul>

<b>Pacifique</b>	Zone pacifique : Taiwan, Okinawa, Indonésie	<i>Macaranga tanarius</i>	➤ Prényl-flavanones
------------------	---	-------------------------------	---------------------

### I.5.1. Origine de la propolis produite en Algérie

En raison de la variété des espèces végétales présentes en Algérie, la propolis produite dans ce pays pourrait provenir du pin (*Pinus* sp) qui se trouve dans les zones semi-arides, du chêne présent dans le nord-est, du châtaignier, du cyprès (*Cupressus* sp), du Casuarina, ou encore du peuplier (*Populus* sp) [7].

L'étude réalisée par Moudir, « les polyphénols de la propolis algérienne », thèse de doctorat, Université de M'Sila en 2004, sur la propolis algérienne récoltée dans quatre régions différentes (Tlemcen, Guelma, M'sila et Tizi-Ouzou) a montré qu'elle provenait surtout du peuplier (*Populus nigra*), exceptée celle de Tizi-Ouzou qui avait une composition différente [8].

## I.6. Les propriétés physico-chimiques de la propolis

### I.6.1. Propriétés physiques

#### Couleur

Très variable suivant sa provenance, allant du jaune clair au brun très foncé, presque noir, en passant par toute la gamme des bruns (Figure I.2) [9].



**Figure I.2.** Différentes couleurs de propolis selon l'origine de flore naturelle.

### **Saveur**

Saveur souvent âcre et parfois amère.

### **Consistance**

La consistance de la propolis varie en fonction de la température.

- A 15°C la propolis est dure et friable ;
- A 30°C elle mole et malléable ;
- A 40°C elle devient gluante ;
- A partir de 70°C elle devient liquide [10].

### **Odeur**

Elle a une odeur variable selon son origine botanique, en générale arôme agréable et douceâtre. Mais lorsqu'elle est brûlée, elle dégage une odeur très délicate, liée aux résines aromatiques qu'elle contient [9].

## **I.6.2. Propriétés chimiques**

### **Solubilité**

La propolis d'abeille est insoluble dans l'eau à froid, mais elle est soluble de façon partielle dans l'Alcool, l'Acétone, l'Ether, le chloroforme, le benzène, le trichloréthylène...etc.

### **Point de fusion**

Son point de fusion se situe autour de 70°C. Chauffée doucement au bain-marie, elle se divise en 2 parties bien distinctes :

- L'une visqueuse qui tombe au fond ;
- L'autre liquide (cire de propolis) qui surnage à la surface et trouve de nombreux usages dans le domaine apicole [10].

### **Densité**

La densité de la propolis est de 1,2 (soit supérieure à celle de l'eau) [9].

## **I.7. Récolte de la propolis**

### **I.7.1. Récolte de la propolis sur l'arbre par l'abeille**

Au sein d'une ruche d'abeilles, toutes les ouvrières ne sont pas chargées de la collecte de propolis. Seules quelques-unes se verront assigner cette tâche, généralement au printemps ou à

la fin de la miellée. La propolis récoltée sera ensuite utilisée dans les préparatifs en vue de l'hivernage de la colonie [11].

### **Le travail se fait en plusieurs étapes**

La butineuse commence par utiliser ses antennes pour repérer la partie la plus intéressante de la source. Elle attaque ensuite cette zone avec ses mandibules. En relevant la tête, elle recule pour étirer la résine saisie jusqu'à ce qu'elle forme un fil, qu'elle rompt ensuite. La butineuse travaille la résine avec ses mandibules, la transfère aux pattes antérieures, puis aux pattes centrales. Enfin, elle dépose la résine dans la corbeille du même côté. Cette séquence se répète jusqu'à ce que la corbeille soit chargée [9].

La propolis est amenée à la ruche sous la forme de petites boules accrochées sur les pattes arrière, Au cours de l'opération de récolte de la propolis, l'abeille retourne parfois à la ruche, vraisemblablement pour se nourrir. La manipulation d'une substance si dure et collante n'est pas une tâche aisée, elle prend de nombreuses heures, d'autant que le déchargement de la propolis à la ruche n'est pas non plus une opération simple. La propolis nécessite donc beaucoup de temps et d'effort [5].

### **I.7.2. Récolte de la propolis par l'homme**

Il existe de différentes méthodes pour récolter la propolis, elle peut être récoltée par grattage des têtes de cadres ou à l'aide d'une grille.

#### **I.7.2.1. Récolte de la propolis par grattage des cadres**

Ne permet pas de récolter une propolis de qualité car elle peut être assez ancienne donc partiellement dégradée et elle contient souvent des résidus indésirables comme les morceaux de bois, les pattes ou ailes d'abeilles, de la cire... etc ,il faudra alors la purifier avant toute utilisation, elle reste néanmoins facile (Figure I.3) [11].



**Figure I.3.** Récolte de la propolis par grattage.

#### **I.7.2.2. Grille à propolis**

Une autre méthode qui permet de récolter de la propolis contenant moins d'impureté, Consiste à intercaler une grille sur la tête des cadres, Cette grille perforée en plastique souple ou métal va stimuler les abeilles à venir combler ces interstices par de la propolis, il suffit alors de la secouer à une température inférieure à 15C° pendant 24 heures. Ainsi par simple torsion de la grille au-dessus d'un récipient ou d'un linge propre, il pourra récupérer la propolis (Figure I.4) [12,9].



**Figure I.4.** Récolte de la propolis en utilisant la grille en plastique.



**Figure I.5.** Close-up de propolis sur la grille en plastique.

### **I.8. Conservation**

Pour assurer la préservation des propriétés de la propolis, il est recommandé de la stocker à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur. Idéalement, elle doit être utilisée aussi fraîche que possible. Une méthode de conservation courante consiste à la lyophiliser (dessiccation obtenue par congélation brutale à basse température, suivie d'une sublimation sous vide, permettant d'obtenir une poudre poreuse qui se conserve indéfiniment sous vide), permettant ainsi à la propolis de conserver toutes ses caractéristiques bénéfiques sur une période prolongée [5].

### **I.9. Les propriétés thérapeutiques de la propolis**

Ces dernières années, la propolis a suscité beaucoup d'intérêt en tant que substance précieuse ou potentiellement utilisée dans les produits médicaux et cosmétiques. Elle est connue pour présenter des activités thérapeutiques et biologiques précieuses. Ses propriétés sont liées à sa composition chimique, qui compte actuellement environ 300 composés identifiés, dont les principaux groupes sont les flavonoïdes, les acides gras, les alcools, les acides aminés, les vitamines et les minéraux [13].

#### **I.9.1. Action antivirale**

Des recherches ont démontré que la propolis et/ou ses composants étaient efficaces contre divers virus tels que le myxovirus, le poliovirus, le coronavirus, le rotavirus et l'adénovirus. En particulier, la propolis et certains de ses constituants, tels que l'api génine et la chrysrine,

possèdent un effet prophylactique contre le virus de la grippe. Ils atténuent les symptômes en agissant sur l'anti neuraminidase [9].

### **I.9.2. Action cicatrisante**

La propolis exerce un rôle essentiel dans la stimulation métabolique cellulaire et circulatoire, ainsi que dans la synthèse des fibres de collagène. Ses actions favorisent un renouvellement plus rapide des tissus et confèrent une meilleure élasticité. Les flavonoïdes présents dans la propolis sont en grande partie responsables de ses bienfaits réparateurs [9].

### **I.9.3. Action antibactérienne**

L'efficacité bactéricide de la propolis et de ses composants est bien documentée, avec de nombreuses études examinant leur action contre une variété de germes, qu'ils soient aérobies ou anaérobies, Gram positifs ou Gram négatifs. De plus, la plupart de ces études se concentrent sur les souches bactériennes associées à diverses affections affectant les systèmes otorhino pharyngé, gastro-intestinal, génital et buccal. Ces domaines sont au cœur de la recherche médicale en quête de nouvelles solutions thérapeutiques. Le mécanisme par lequel la propolis exerce son activité bactériostatique et bactéricide semble être associé à son effet inhibiteur sur la synthèse des protéines et sur la division cellulaire des bactéries [6].

### **I.9.4. Activité antiparasitaire**

Quelques études ont montré que la propolis était efficace contre la plupart des parasites tel que trichomonas, les trypanosoma (responsable de la maladie du sommeil), les leishmania ou Giardia lamblia (parasitose intestinale) [14].

### **I.9.5. Activité antiinflammatoire**

Sur des modèles in vivo d'arthrite, d'œdème de la patte ou d'inflammation chronique et aiguë, la propolis exerce un effet anti-inflammatoire significatif, cet effet est dû à son action inhibitrice (principalement celles des flavonides qu'elle contient) sur la prostaglandine synthèse, empêchant ainsi la synthèse des prostaglandines, composants responsables de la réaction inflammatoire [14].

### **I.9.6. Activité antioxydante**

Les extraits de propolis sont réputés pour leur potentiel antioxydant élevé. En effet, ces extraits démontrent une capacité significative à piéger les radicaux libres et à agir comme de puissants agents réducteurs. Le stress oxydatif est impliqué dans le développement de nombreuses maladies chroniques telles que les troubles neurodégénératifs, divers cancers et le diabète sucré.

Un équilibre oxydatif adéquat est essentiel pour un bon fonctionnement des organes humains [6].

### **I.10. Effets indésirables–toxiques**

La propolis présente une toxicité très faible, mais elle est fortement déconseillée aux personnes allergiques aux produits apicoles. Des tests cliniques ont démontré que son utilisation prolongée peut entraîner des effets indésirables et des réactions allergiques. En effet, la propolis peut engendrer plusieurs effets secondaires désagréables, tels que des œdèmes, une irritation cutanée ou des irritations des muqueuses [3].

### **I.11. L'extraction de la propolis**

La propolis peut être directement utilisée de manière naturelle, soit en la mâchant ou en l'avalant telle quelle. Cependant, pour des applications médicales, il est essentiel d'avoir recours à des méthodes d'extraction et de purification. Cela permet d'obtenir des solutions où les composants de la propolis sont clairement identifiés et quantifiés, assurant ainsi la reproductibilité des produits dérivés de la propolis [5].

#### **I.11.1. Méthodes d'extraction**

Les méthodes principalement utilisées pour extraire l'extrait de la propolis :

- La macération;
- L'extraction par ultrasons (UE);
- L'extraction assistée par micro-ondes (MAE);
- La turbo-extraction;
- L'extraction supercritique;
- L'extraction via des solvants non alcooliques;
- L'extraction à l'aide d'émulsions.

### **I.12. Utilisation de la propolis**

#### **I.12.1. Utilisation de la propolis par l'abeille**

- La propolis est utilisée par les abeilles pour calfeutrer leur ruche, boucher les fissures éventuelles et assurer son étanchéité. Elle agit à la fois comme un ciment et comme un mastic, contribuant ainsi à maintenir la structure de la ruche et à protéger la colonie des intempéries et des intrusions ;
- À l'approche de l'hiver, les abeilles réduisent les dimensions de l'ouverture d'entrée de la ruche afin d'empêcher le froid d'entrer et de favoriser une meilleure régulation thermique à l'intérieur de la ruche. Cette réduction de la taille de l'entrée permet de

limiter les pertes de chaleur et de maintenir des conditions optimales pour la survie de la colonie pendant la saison hivernale ;

- Les abeilles utilisent également la propolis pour recouvrir les corps étrangers tels que les souris, les cétoines, les frelons, etc., qu'elles ne peuvent pas évacuer de la ruche. Cela permet d'isoler ces intrus et de réduire les risques de contamination ou de détérioration de l'environnement interne de la colonie [9].

### **I.12.2. Utilisation de la propolis par l'homme :**

La propolis est largement utilisée dans plusieurs domaines tels que le domaine cosmétique, la médecine, la technologie alimentaire ...ect.

#### **I.12.2.1. Les formes commercialisées de la propolis**

Dans le domaine commercial, la propolis est disponible dans une variété de présentations, principalement sous forme de produits parapharmaceutiques. Elle est proposée seule ou en association avec d'autres substances à des fins thérapeutiques ou cosmétologiques. On trouve ainsi :

- La propolis naturelle, seule substance active : pâte et fragment, granulés ou poudre ;
- La propolis naturelle est souvent combinée avec différents produits diététiques tels que le miel, le pollen, la gelée royale, l'argile, ainsi que certaines plantes médicinales et huiles essentielles ;
- Des extraits de propolis, seule substance active : extrait fluide (teinture alcoolique), extrait mou ou extrait sec [10].

La propolis se retrouve dans de nombreuses formes de préparations :

- Gomme à mâcher : Utilisable comme un chewing-gum naturel ;
- Gélules : Prises pour renforcer les défenses immunitaires et comme traitement à long terme ;
- Spray : Utile pour maintenir une bonne hygiène bucco-dentaire, nettoyer les voies nasales et soulager les symptômes de la rhinite ;
- Sirop : Les sirops à base de propolis et de miel renforcent le système immunitaire, offrent un soutien en cas de fatigue, de maux de gorge ou de toux ;
- Pâte dentifrice : Utilisée pour protéger et soigner les gencives ;
- Shampoings : Utilisés pour nettoyer et prendre soin des cheveux fragiles ;
- Crème : Appliquée pour apaiser les irritations cutanées et les petites plaies ;
- Stick lèvres : Pour hydrater et réparer les lèvres gercées ;
- Savons : Adaptés au soin des peaux sujettes aux problèmes cutanés [7].

### **I.13. Conclusion**

La propolis se distingue comme un trésor de la nature, offrant une multitude de bienfaits pour la santé grâce à sa composition chimique variable et à ses propriétés biologiques uniques. Son utilisation séculaire dans la médecine traditionnelle et son intérêt croissant dans la recherche contemporaine témoignent de son importance dans le domaine médical. Que ce soit pour ses propriétés antibactériennes, antivirales, antifongiques ou anti-inflammatoires, la propolis demeure une source précieuse d'inspiration pour de futures avancées thérapeutiques.

**CHAPITRE II**  
**LES CYCLODEXTRINES**

### II.1. Introduction

Les cyclodextrines (CD) sont des composés synthétiques dérivés de l'amidon par des processus microbiologiques ou enzymatiques. Ces oligosaccharides cycliques, qui appartiennent à la famille des molécules cage, ont une structure hydrophile à l'extérieur et une cavité hydrophobe à l'intérieur. Cette cavité peut encapsuler d'autres molécules sous forme de complexes d'inclusion, créant une relation de type "hôte-invité". Cette interaction permet de modifier ou d'améliorer les propriétés physiques, chimiques et/ou biologiques de la molécule invitée [15].

### II.2. Historique

L'histoire des cyclodextrines (CDs) débute avec l'isolement de la "cellulosine" par Villiers en 1890, issue de la fermentation bactériologique de l'amidon. Shardingier, vingt ans plus tard, identifie les dextrines cristallisées, marquant le début de l'étude des CDs. Les années 30 voient Pringsheim révéler leurs propriétés complexes, confirmées en 1936 par Freudenberg, établissant leur nature cyclique [16]. Dans les années 40, la structure des CDs est élucidée, suivie d'une intense exploration de leurs propriétés d'inclusion dans les années 50 par Cramer. En 1953, un brevet officialise leur application dans des composés biologiques [17]. À partir des années 70, les CDs, reconnues comme non toxiques, entrent dans l'industrie [16]. Leur essor, à partir de 1980, grâce à l'isolement de l'enzyme CGTase, trouve des applications étendues, notamment dans le domaine pharmaceutique, où ils sont employés pour améliorer la solubilité, la stabilité et la biodisponibilité de médicaments [18].

### II.3. Définition

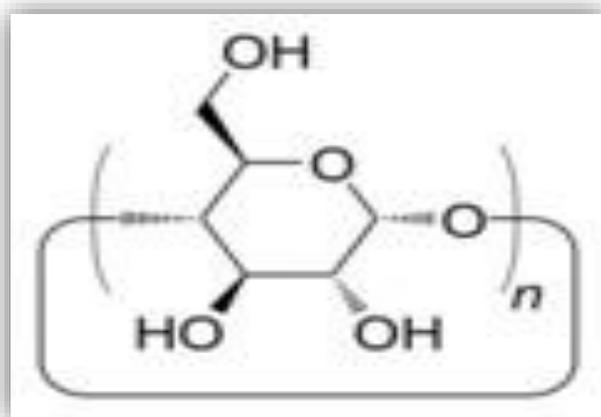
Les cyclodextrines (CDs) sont des oligosaccharides cycliques constitués d'unités d' $\alpha$ -1,4D-glucopyranose. Elles se forment lors de la dégradation de l'amidon par une enzyme appelée glycosyltransférase, qui favorise la cyclisation des unités de glucose en formant des liaisons  $\alpha$ -1,4 [19].

### II.4. Structure et Nomenclature des cyclodextrines

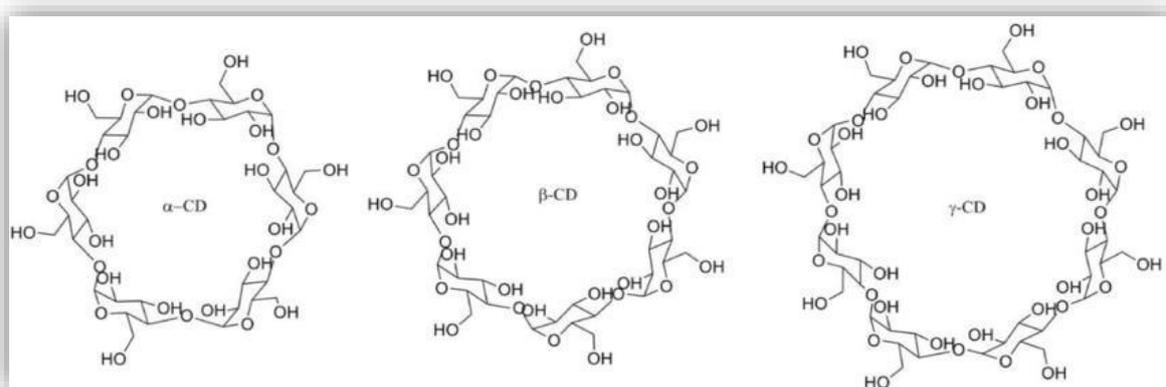
Leur architecture tridimensionnelle présente une cavité hydrophobe à l'intérieur et une surface extérieure hydrophile, résultant de la disposition spécifique des groupes fonctionnels le long de la molécule (Figure II.3) [18]. Les CDs les plus courantes sont l' $\alpha$ -cyclodextrine, la  $\beta$ -cyclodextrine et la  $\gamma$ -cyclodextrine, composées respectivement de six, sept et huit unités de glucose [12]. Leur structure en forme de tonneau leur confère la capacité unique de former des

## CHAPITRE II : LES CYCLODEXTRINES

complexes d'inclusion avec une grande variété de composés hôtes, allant des molécules hydrophobes aux ions et aux substances aromatiques.



**Figure II.1.** Structure générale des cyclodextrines.



**Figure II.2.** Structure en cage des cyclodextrines  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD,  $\gamma$ -CD.



**Figure II.3.** Structures tridimensionnelles des cyclodextrines.

### Volume et taille de la cavité

La taille de la cavité de la cyclodextrine permet certaines sélectivités pour la complexation des molécules invitées.

Étant donné que le volume de la cavité varie selon les cyclodextrines naturelles (voir Tableau II.2), la capacité des molécules à s'adapter à cette cavité diffère également. Par exemple, l' $\alpha$ -cyclodextrine a une affinité préférentielle pour les petites molécules dotées de chaînes aliphatiques, tandis que la taille de la cavité de la  $\beta$ -cyclodextrine convient particulièrement aux composés aromatiques. En revanche, la  $\gamma$ -cyclodextrine offre la possibilité de complexer des composés de poids moléculaire plus élevé, tels que des macrocycles ou des stéroïdes [20,21].

**Tableau II.1.** Dimension, en Angströms (Å), des cyclodextrines.

Type des CDs	Diamètre intérieur	Diamètre extérieur	Hauteur	Volume approximative de la cavité (Å)
Alpha CD	5.7	13.7	7.8	174
Beta CD	7.8	15.3	7.8	262
Gamma CD	9.5	16.9	7.8	427

### II.5. Les caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physicochimiques font des cyclodextrines des excipients précieux pour l'industrie pharmaceutique, permettant de résoudre des défis liés à la solubilité, à la stabilité et à la biodisponibilité des médicaments.

Les principales caractéristiques physico-chimiques des cyclodextrines sont rassemblées et présentées dans le tableau II.3.

#### II.5.1. Amphiphilité

Les cyclodextrines sont des molécules amphiphiles, avec une cavité hydrophobe à l'intérieur et une surface extérieure hydrophile, ce qui leur permet de former des complexes d'inclusion avec des composés hydrophobes [16].

### II.5.2. Basicité

Les cyclodextrines sont des molécules neutres, ce qui leur confère une faible basicité. Cela les rend adaptées à une utilisation pharmaceutique, car elles ne réagissent pas avec les composés acides ou basiques [18].

### II.5.3. Solubilité

Les cyclodextrines sont solubles dans l'eau, mais leur solubilité dépend de leur degré de substitution et de leur taille. Les cyclodextrines modifiées chimiquement peuvent être ajustées pour améliorer leur solubilité dans différents milieux [18].

### II.5.4. Stabilité

Les cyclodextrines sont stables à des températures élevées et à des pH extrêmes. De plus, leur structure en forme de tonneau leur confère une grande stabilité thermique [22].

### II.5.5. Toxicité

La toxicité des cyclodextrines a été examinée à plusieurs reprises, à la fois sur des animaux et en utilisant différents modes d'administration, tels que l'injection intraveineuse ou l'administration orale. Aucun effet toxique n'a été observé avec les diverses cyclodextrines. Cette constatation revêt une importance particulière pour les applications médicales, alimentaires ou cosmétiques des cyclodextrines [23].

**Tableau II.2.** Caractéristiques physico-chimiques d' $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD,  $\gamma$ -CD.

	<b>Alpha CD</b>	<b>Beta CD</b>	<b>Gamma CD</b>
<b>Formule brute</b>	C <sub>36</sub> H <sub>60</sub> O <sub>30</sub>	C <sub>42</sub> H <sub>70</sub> O <sub>35</sub>	C <sub>48</sub> H <sub>80</sub> O <sub>40</sub>
<b>Masse molaire (g /mol)</b>	972.87	1135.01	1297.1
<b>Nombre de molécules d'H<sub>2</sub>O</b>	6-7	11-12	7-13
<b>Solubilité dans l'eau a 25C° (concentration en mM)</b>	149	16.3	178.9
<b>Point de fusion</b>	275	280	270

### II.6. Les complexes d'inclusions

#### II.6.1. Formation des complexes d'inclusions

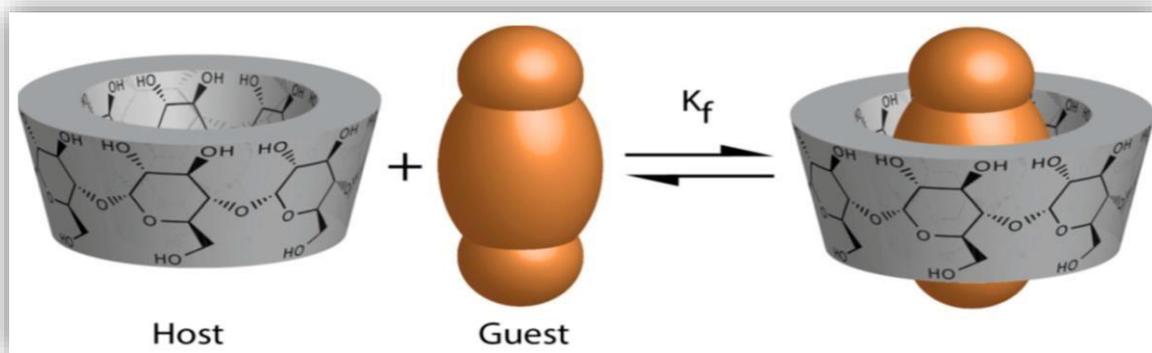
Les cyclodextrines présentent des structures moléculaires en forme de cage capables de former des complexes d'inclusion de type hôte-invité avec des substances peu solubles dans l'eau. Cette formation de complexe se produit grâce à des interactions non covalentes à l'intérieur de la cavité, telles que les liaisons hydrogènes ou les interactions électroniques de Van der Waals [24].

La possibilité de formation d'inclusion dépend de la stéréochimie et éventuellement, de la polarité de l'hôte ainsi que des molécules invitées.

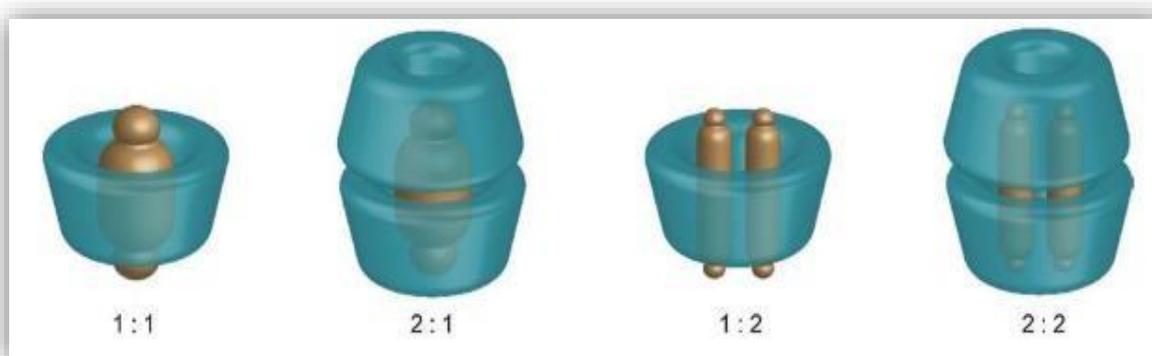
Dans une solution aqueuse, la cavité légèrement apolaire de la cyclodextrine est généralement occupée par des molécules d'eau, ce qui constitue une interaction polaire-apolaire énergétiquement défavorable. Ces molécules d'eau peuvent donc être facilement remplacées par des "molécules invitées" appropriées qui sont moins polaires que l'eau.

La formation du complexe entre une cyclodextrine (CD) et une molécule invitée peut être décrit en cinq étapes successives. Tout d'abord, le substrat approche la CD, entraînant l'expulsion des molécules d'eau de la cavité de la CD. Ensuite, la molécule invitée est libérée de ses molécules d'eau, un processus appelé désolvatation. Une fois libérée, la molécule invitée est introduite dans la cavité libre de la CD, où elle est stabilisée par des interactions faibles. Parallèlement, les molécules d'eau expulsées subissent un réarrangement. Enfin, la structure d'eau est rétablie autour de la partie du substrat restant en contact avec le solvant. Ce processus séquentiel démontre la sophistication des interactions impliquées dans la formation de ces complexes d'inclusion, mettant en évidence la délicate orchestration nécessaire pour créer et stabiliser efficacement ces structures hôte-invité [24].

Il existe une très grande variété de complexes hôte(s)-invité(s), Les complexes les plus courants sont de type 1:1. Cependant, des associations 2:1, 1:2, 2:2, ou même des associations plus compliquées et des équilibres d'ordre supérieur existent [25].



**FigureII.4.** Processus de complexation des cyclodextrines de type 1:1.



**FigureII.5.** Représentations des stœchiométries des complexes les plus fréquemment observés.

### II.6.2. Intérêt de complexation

L'intérêt des CDs réside dans leur capacité à créer des complexes d'inclusion hôte/invité avec divers composés hydrophobes. Cette caractéristique est largement utilisée dans divers secteurs tels que la pharmacie, l'industrie alimentaire, etc, pour favoriser la solubilisation des molécules organiques dans des environnements aqueux [19].

### II.6.3. Techniques analytiques de caractérisation des complexes d'inclusions

La détection de la formation d'un complexe d'inclusion entre une cyclodextrine (CD) et une molécule invitée peut être réalisée grâce à diverses méthodes d'analyse spectroscopique.

En milieu aqueux, l'inclusion est souvent vérifiée par :

- La résonance magnétique nucléaire du proton (RMN  $^1\text{H}$ ) ;
- La spectroscopie d'absorption UV-visible ;
- L'headspace peut être utilisée pour étudier la complexation des composés volatils.

L'étude des complexes d'inclusions en phase solide peut être réalisée par :

- La technique de diffraction des rayons X (DRX) ;
- L'infrarouge (IR) [26].

### **II.6.4. Préparation des complexes d'inclusion**

La préparation des complexes d'inclusion peut se faire en phase solide ou en phase liquide. De nombreuses méthodes sont décrites pour la préparation de complexes d'inclusion [27].

#### **II.6.4.1. Par la méthode de Co-précipitation**

Pour obtenir le complexe d'inclusion en phase solide, on débute en ajoutant la molécule invitée dissoute dans un solvant tel que l'acétone ou l'éthanol, à une solution aqueuse de cyclodextrine à température ambiante. Ce mélange est ensuite maintenu pendant quelques heures ou quelques jours. Ensuite, pour éliminer l'eau et obtenir le complexe en phase solide, on utilise différentes méthodes telles que le séchage à froid, l'application d'un spray, ou la filtration dans le cas où un précipité se forme [28].

#### **II.6.4.2. Inclusion par Extrusion**

Réalisation en mode continu, mélangeant CD, invité et l'eau dans un extrudeur sous chauffage. Convient aux invités stables à la température, mais cela peut dégrader des invités thermolabiles [29].

#### **II.6.4.3. Par la méthode de pétrissage (kneading)**

Les cyclodextrines ne sont pas dissoutes dans la solution ; plutôt, elles sont mélangées avec une petite quantité d'eau dans laquelle la substance invitée a été préalablement ajoutée. Étant donné que le complexe cyclodextrine-eau est généralement moins stable que le complexe cyclodextrine-molécule invitée et que leurs structures cristallines diffèrent, l'inclusion de la molécule invitée dans la cavité de la cyclodextrine peut se produire [28].

#### **II.6.4.4. Inclusion par Co-Évaporation**

Mélange de CD et invité en présence d'un solvant, suivi de la récupération du complexe solide par co-évaporation des solvants, assurant un contrôle précis du processus, cette méthode permet d'éliminer le solvant utilisé pour la réalisation des complexes d'inclusion à basse température à l'aide de la création de vide [29].

### II.6.4.5. Séchage par Lyophilisation (Freeze Drying)

La lyophilisation est une méthode idéale pour sécher les complexes, surtout lorsqu'il s'agit de composés volatils et/ou thermolabiles, en raison de la faible température utilisée. Dans ce processus, la molécule invitée est ajoutée à la solution aqueuse de cyclodextrines. Après un mélange sous agitation, la substance obtenue est congelée, puis elle est soumise à la lyophilisation dans un lyophilisateur. Ce procédé permet de retirer efficacement l'eau tout en préservant la structure et l'intégrité des complexes formés [29].

### II.7. Applications des cyclodextrines

En raison de leur aptitude à former des complexes avec des molécules hydrophobes, les cyclodextrines (CDs) sont largement étudiées et exploitées dans de nombreux domaines d'applications tels que l'industrie du textile, cosmétique, de biotechnologie ou dans l'industrie chimique, pharmaceutique et agroalimentaire (Figure II.6).



Figure II.6. Les domaines d'applications des CDs.

#### II.7.1. Applications pharmaceutiques

- Elles améliorent la solubilité et la biodisponibilité des principes actifs hydrophobes en formant des complexes d'inclusion [29] ;

## CHAPITRE II : LES CYCLODEXTRINES

- Les CDs peuvent encapsuler des principes actifs, facilitant ainsi leur administration et réduisant les effets secondaires ;
- Elles sont utilisées dans la formulation de spécialités pharmaceutiques pour simplifier la production de comprimés et assurer la stabilité des médicaments sensibles ;
- Les CDs réduisent l'amertume de certains médicaments [18] ;
- Des recherches sont menées sur l'utilisation des CDs pour le transport et le relargage de principes actifs à travers les membranes biologiques, facilitant ainsi leur ciblage vers la destination souhaitée [29].

### II.7.2. Applications cosmétiques

L'industrie cosmétique utilise régulièrement les CDs dans la formulation de leurs produits :

- Diminution de l'effet irritant ;
- Masquage d'odeurs désagréables ;
- Amélioration du pouvoir moussant tels que les savons et les mousses ;
- Elles assurent la stabilité des parfums, offrant une durée prolongée des fragrances [30];
- Stabilisation des Émulsions et protection des substances contre la photo dégradation ou l'oxydation, garantissant la qualité des produits cosmétiques [18] ;
- Réduction des quantités de conservateurs utilisés [31].

### II.7.3. Application alimentaire

Les cyclodextrines ont été préconisées pour diverses applications dans le domaine alimentaire et en tant qu'additifs alimentaires, ayant plusieurs objectifs :

- Protéger les composants alimentaires lipophiles sensibles à l'oxygène, à la lumière ou à la chaleur ;
- Solubiliser les colorants alimentaires et les vitamines ;
- Stabiliser les parfums, arômes, vitamines et huiles essentielles contre les altérations indésirables ;
- Éliminer les odeurs ou saveurs désagréables ;
- Assurer une libération contrôlée de certains constituants alimentaires ;
- Réduit ou élimine les contaminations microbiologiques, les fibres et autres composants indésirables [31].

### II.7.4. Applications agricoles

Il a été observé que les cyclodextrines peuvent former des complexes d'inclusion avec divers produits chimiques agricoles, tels que les herbicides, les insecticides, les fongicides, les répulsifs, les phéromones et les régulateurs de croissance [32].

### II.7.5. Applications en textiles

Les cyclodextrines sont utilisées dans le domaine textile pour diverses applications, telles que le remplacement des agents tensioactifs lors des lavages ou leur élimination après le lavage. Elles peuvent également être attachées aux fibres textiles pour modifier leurs propriétés, comme l'augmentation de leur caractère hydrophile, leur aptitude à la teinture, ou pour piéger des molécules actives ou odorantes. Des recherches sont en cours pour développer des méthodes permettant de fixer les cyclodextrines de manière permanente sur les textiles [22].

### II.7.6. Applications environnementales

Les cyclodextrines jouent un rôle crucial dans les sciences environnementales en facilitant la solubilisation des contaminants organiques, ainsi que l'enrichissement et l'élimination des polluants organiques et des métaux lourds présents dans le sol, l'eau et l'atmosphère. Leur utilisation dans le traitement de l'eau améliore l'adsorption, l'encapsulation et la stabilisation des contaminants, contribuant ainsi à la purification de l'eau. Les cyclodextrines sont notamment efficaces pour éliminer les substances hautement toxiques des effluents industriels grâce à la formation de complexes d'inclusions [31].

### II.8. Les modifications des cyclodextrines

En raison de la présence de trois groupes hydroxyles chimiquement distincts par unité de glucose (OH-2, OH-3 et OH-6), les cyclodextrines offrent la possibilité d'une fonctionnalisation sélective [28].

Les principales méthodes de modification des cyclodextrines incluent l'éthérisation dérivés (alkylés et silylés), l'estérification (dérivés acylés et sulfonés), l'halogénéation, ainsi que les substitutions nucléophiles de groupes partants (comme les tosylates, les halogénures, etc.) [33]. Les cyclodextrines les plus utilisées sont (les hydroxypropylcyclodextrines: HP $\beta$ CD et HP $\gamma$ CD) et les méthyl cyclodextrines (Me $\beta$ CD) [22].

L'objectif est de renforcer les propriétés d'inclusion, de susciter des fonctions biomimétiques, ou simplement augmenter leur solubilité dans un milieu spécifique [15].

### II.9. Conclusion

Les propriétés d'inclusion et de solubilisation des cyclodextrines ont été largement exploitées dans divers secteurs. De plus, leur capacité à être modifiées structurellement offre des opportunités considérables. Cela permet non seulement d'améliorer l'encapsulation et la solubilisation des molécules actives, mais aussi d'étendre leur application dans de nouveaux domaines.

**CHAPITRE III**  
**LES NIOSOMES**

### **III.1. Introduction**

La nanotechnologie, une avancée majeure du 21<sup>e</sup> siècle, offre des opportunités remarquables dans divers domaines scientifiques, notamment la médecine, la pharmacie, la cosmétique, la chimie médicale et le génie génétique. Les niosomes, structures biologiquement acceptables composées de tensioactifs non ioniques et de cholestérol, sont utilisés comme systèmes d'administration de médicaments. Ces émulsions colloïdales sont largement étudiées pour leur capacité à transporter une variété de médicaments, qu'ils soient hydrophiles ou hydrophobes, grâce à leurs propriétés exceptionnelles telles que l'insolubilité, la biocompatibilité et la libération contrôlée. Ils peuvent être ajustés en modifiant leur composition pour répondre aux besoins spécifiques, ce qui en fait une plateforme polyvalente et prometteuse pour l'administration de médicaments [34].

### **III.2. Historique**

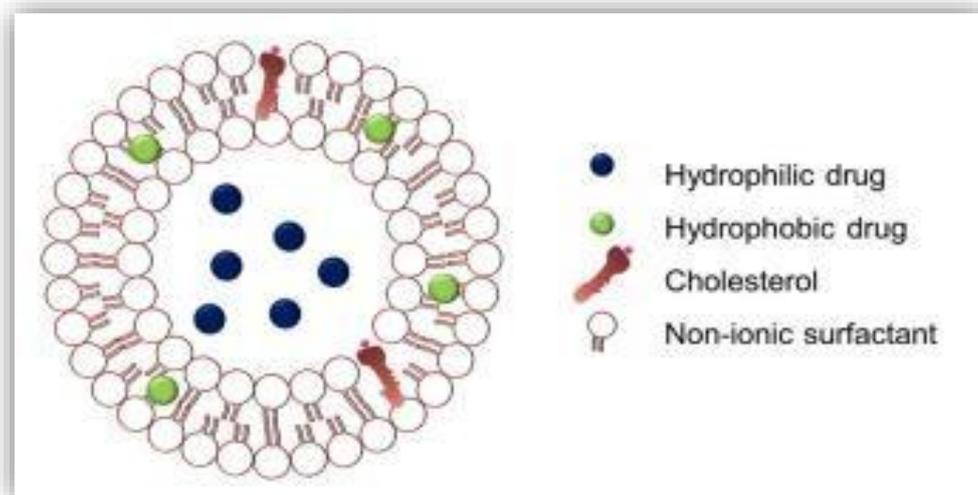
Les niosomes ont été initialement développés en 1975 par la société cosmétique L'Oréal, basée à Clichy, France. Cette avancée a été brevetée, et les produits ont été lancés sur le marché sous le nom commercial de Lancôme en 1987 à Paris, France. Depuis lors, les niosomes ont continué à évoluer dans divers domaines tels que la pharmacie et la cosmétique. Leur capacité à encapsuler une variété de médicaments et d'ingrédients actifs en a fait un sujet de recherche majeur, offrant de nouvelles perspectives dans la délivrance des médicaments et les soins de la peau. Ils sont étudiés pour leurs applications potentielles dans le traitement de diverses affections, ainsi que dans la formulation de produits cosmétiques de pointe, tels que les crèmes anti-âges, les écrans solaires et les produits éclaircissants pour la peau [35].

### **III.3. Définition**

Les niosomes, également appelés vésicules tensioactives non ioniques, sont des minuscules structures lamellaires formées par un mélange de tensioactifs non ioniques tels que les éthers d'alkyle ou de polyglycérol dialkyle, ainsi que du cholestérol, suivis d'une hydratation dans un milieu aqueux [36].

### **III.4. Structure**

Une vésicule niosomale est typiquement constituée d'un amphiphile formant la vésicule, qui est un tensioactif non ionique, ainsi que du cholestérol ajouté pour stabiliser la structure de la vésicule. Une petite quantité de tensioactif anionique, tel que le phosphate de diacétyle, est également utilisée pour renforcer la stabilité de la vésicule (voir figure III.1) [37].



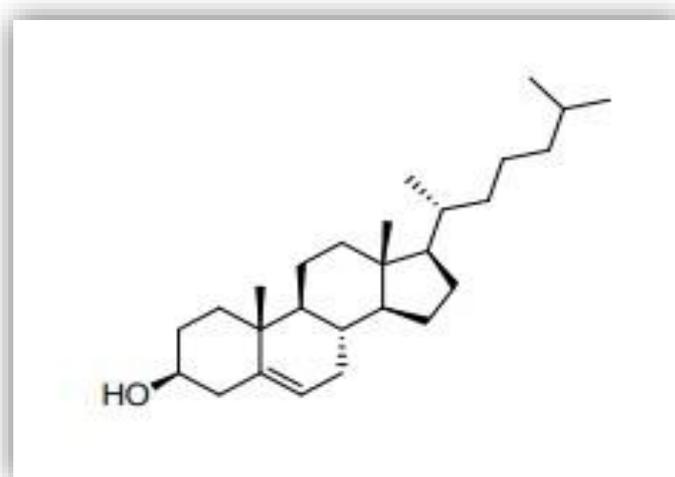
**Figure III.1.** Structure des niosomes.

### III.5. Composition des niosomes

Les composants vitaux utilisés dans la formulation des niosomes sont :

#### III.5.1. Cholestérol

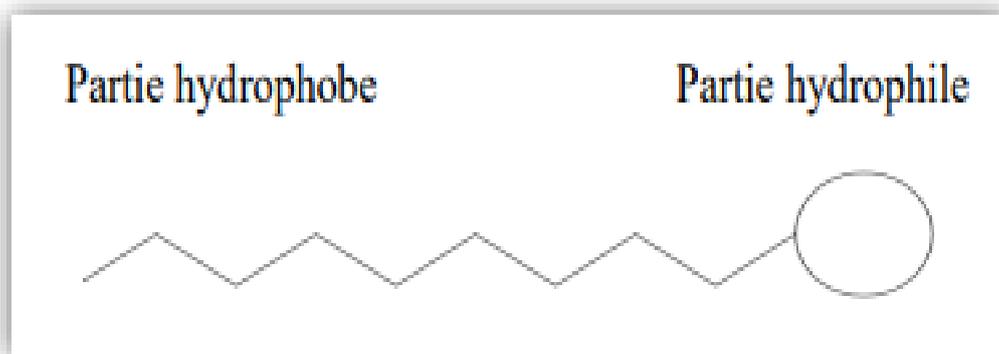
Le cholestérol est un dérivé cireux de stéroïdes présent dans la membrane cellulaire qui est principalement utilisé dans la préparation des niosomes. L'étanchéité de la membrane cellulaire est diminuée en stabilisant la membrane en incorporant du cholestérol dans la constitution bicouche des niosomes ; Cela augmente fréquemment l'efficacité de piégeage des niosomes. Le cholestérol est généralement ajouté aux tensioactifs non ioniques pour donner de la dureté et une direction/ajustement appropriés à la bicouche niosomale (voir figure III.2) [38].



**Figure III.2.** Structure chimique de cholestérol.

### III.5.2. Tensioactifs non ioniques

Le principal composant utilisé dans la formulation des niosomes est l'agent tensioactif. Ils sont de nature amphiphile et comprennent une tête polaire et une queue non polaire (voir figure III.3) [38].



**Figure III.3.** Structure chimique des tensioactifs.

Tensioactifs non ioniques sont les plus courants dans la préparation des niosomes en raison de leur stabilité, de leur compatibilité et de leur faible toxicité par rapport à d'autres tensioactifs tels que les tensioactifs anioniques, cationiques et amphotères car ils ne portent aucune charge [34].

Les types suivants de tensioactifs non ioniques sont principalement utilisés pour la formation des niosomes (voir tableau III.4) :

**Tableau III.1.** Différents types de tensioactifs non ioniques.

Types de tensioactifs non ioniques	Exemples
Alcool gras	Alcool stéarylique, Alcool cétylique, Alcool oléylique
Éthers	Brij, Lauryl glucoside, Decyl glucoside, Nonoxynol-9
Esters	laurate de glycéryle, Spans, Polysorbates
Polymères à blocs	Poloxamères

### III.5.3. Autres additifs

Tout comme avec les liposomes, les phospholipides chargés, tels que le dicétylphosphate (DCP) et la st arylamine (SA), ont été employés pour conférer une charge aux formulations de niosomes. Le DCP confère une charge négative aux vésicules, tandis que la SA est utilisée pour la préparation de niosomes chargés positivement, également appelés niosomes cationiques [39].

### III.6. Types des niosomes

La littérature mentionne de nombreux types de niosomes, classés selon différents critères tels que leur taille (SUV, LUV, etc.) ou le nombre de bicouches (SUV, MLV, etc.) [34], Les différents types de niosomes sont décrits ci-dessous :

#### III.6.1. Les multilamellaires

Regroupent les MLV (multilamellar large vesicle), les OLV (oligo lamellar vesicle) et les MVV (multi vesicular vesicle). Ce sont des vésicules qui comportent soit plusieurs bicouches concentriques séparées par des compartiments aqueux (d'où MLV sont environ 5 à 20 bicouches, et OLV environ 5 bicouches), soit plusieurs bicouches non concentriques tels les MVV (voir figure III.4) [40].

La taille approximative de ces vésicules est de 0,5 à 10  $\mu\text{m}$  de diamètre. Ces niosomes sont les plus utilisés en raison de leur préparation simple et de leur stabilité mécanique lorsqu'ils sont stockés pendant de longues périodes. Ces vésicules sont très adaptées comme vecteurs de médicaments pour les composés lipophiles [34].



**Figure III.4.** Représentation schématique des vésicules multi lamellaires.

### III.6.2. Les Uni lamellaire

Regroupent les LUV (large unilamellar vesicle) avec un diamètre supérieur de 100 nm, et les SUV (Small unilamellar vesicle) de petite taille dont leur diamètre est de 20 à 100 nm (voir figure III.5) [40]. Les large uni lamellaire vésicules ont une teneur élevée en eau par rapport au compartiment liquide, de sorte que de plus grands volumes de matériaux bioactifs. La taille des grandes vésicules uni lamellaire est de l'ordre de 100 à 3000 nm de longueur [38]. Généralement, les petites vésicules unies lamellaires (SUV) sont produites à partir de vésicules multi lamellaires (MLV) par diverses méthodes, telles que la sonication, l'extrusion sous haute pression et l'homogénéisation à haute pression. La taille approximative des petites vésicules uni lamellaires est de 10 à 100 nm (ils ne comportent qu'une seule paroi).



**Figure III.5.** Représentation schématique des vésicules uni lamellaires.

### III.7. Méthodes de préparation

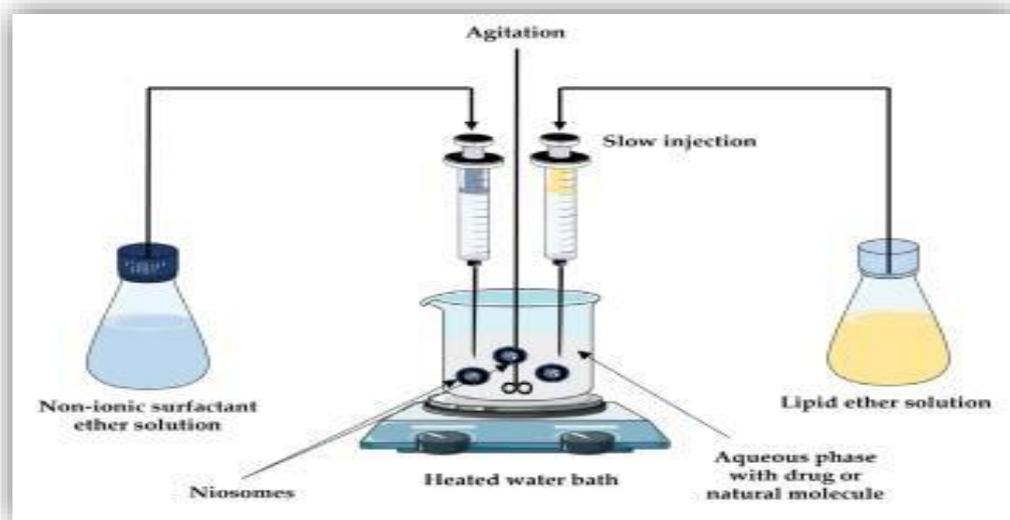
Il existe de nombreuses façons de préparer des formulations en fonction de la taille des particules, de la lamellarité et des utilisations potentielles à des fins thérapeutiques différentes.

#### III.7.1. Méthode de chauffage

Cette procédure consiste à chauffer le cholestérol (solution A) et tensioactif non ionique (solution B) séparément dans une solution d'hydratation (PBS pH 7.4, eau distillée, etc.) Pendant 60 à 90 minutes sous atmosphère d'azote. Pendant 15 à 20 minutes. Enfin, la solution A et la solution B sont combinées et agitées pendant 15 minutes à une température réduite de 60 °C pour produire des niosomes. Les niosomes obtenus sont conservés à 4 °C après les avoir gonflés à température ambiante [41].

### III.7.2. Méthode d'injection d'éther

La méthode d'injection d'éther consiste à préparer les niosomes en introduisant une solution de tensioactif dissous dans de l'éther diéthylique, un solvant organique volatil, dans de l'eau chauffée à 60°C. Le mélange de tensioactif dans l'éther est ensuite injecté dans une solution aqueuse du matériau à l'aide d'une aiguille de calibre 14 (voir figure III.6). Les vésicules monocouches sont formées par évaporation de l'éther [42]. L'inconvénient de cette méthode est la solubilité limitée des matériaux dans l'éther et la difficulté d'éliminer l'éther de la formulation finale [43].



**Figure III.6.** Représentation schématique de la technique d'injection d'éther.

### III.7.3. Sonication

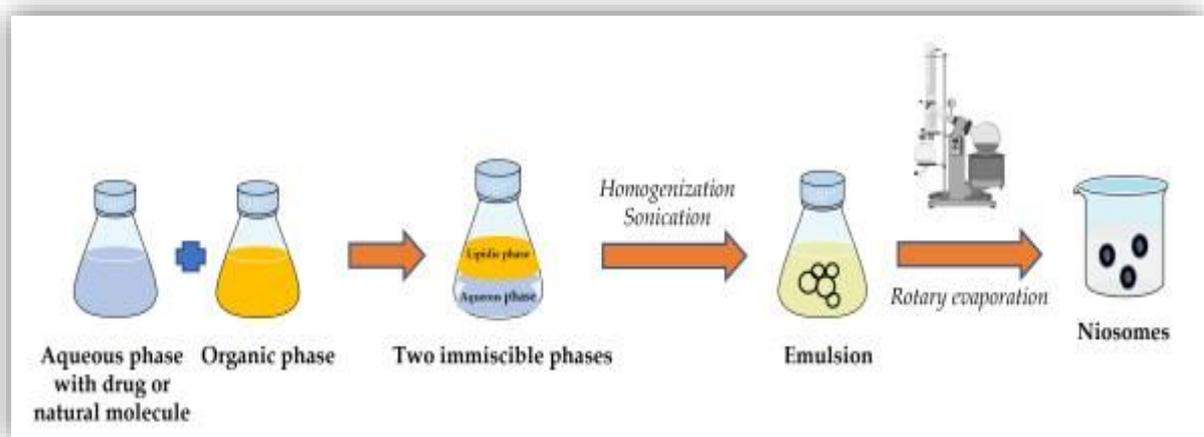
La sonication est une méthode efficace pour la production de petites vésicules. Dans cette méthode, fournir une énergie élevée par sonication peut réduire la taille moyenne des niosomes. Il existe deux modes de sonication : la sonication par sonde est utilisée pour la préparation de suspensions en petit volume, tandis que la sonication par bain est plus adaptée à la formation d'un grand volume de dispersions (voir figure III.7) [34].



**Figure III.7.** Schéma illustratif pour la formulation de niosomes avec la technique de sonication

#### III.7.4. Méthode d'évaporation en phase inverse

Dans cette méthode, le tensioactif est dissous dans du chloroforme et ajouté à un volume de 0,25 ml de solution tampon saline au phosphate et émulsionné pour obtenir une émulsion sans eau. Le mélange est ensuite sollicité puis le chloroforme est évaporé sous pression réduite. Le lipide ou le tensioactif forme d'abord un gel puis s'hydrate pour former des vésicules (voir figure III.8) [9,10].



**Figure III.8.** Schéma illustratif pour la formulation de niosomes avec la technique d'évaporation en phase inverse.

### **III.7.5. Méthode de micro fluidisation**

Cette méthode peut être une stratégie actuelle pour planifier des vésicules unies lamellaires de circulation estimée caractérisée basée sur le principe du jet submergé. Au cours de cette stratégie, deux flux fluidisés se connectent à des vitesses ultra-élevées, dans des canaux à plus petite échelle caractérisés avec précision à l'intérieur de la chambre d'interaction. Il en résulte une consistance plus populaire, une taille plus petite et une meilleure reproductibilité de la forme des niosomes [44].

### **III.8. Avantages des niosomes**

- Les niosomes peuvent être utilisés pour le ciblage des sites par voie orale, parentérale et topique ;
- Ils ont une durée de conservation et une stabilité chimique plus longues que les liposomes ;
- Le médicament est protégé contre le métabolisme de premier passage et la dégradation gastro-intestinale ;
- Les médicaments labiles et sensibles peuvent être facilement administrés par les niosomes ;
- Les tensioactifs sont biodégradables, biocompatibles et non immunogènes ;
- Ils améliorent les performances thérapeutiques des molécules médicamenteuses en retardant la clairance de la circulation, la protection du médicament de l'environnement biologique et en limitant les effets indésirables ;
- La manipulation et le stockage des tensioactifs ne nécessitent pas de conditions particulières ;
- Peut améliorer la pénétration cutanée des médicaments ;
- Ils sont osmotiquement actifs et stables [36,37,38,45].

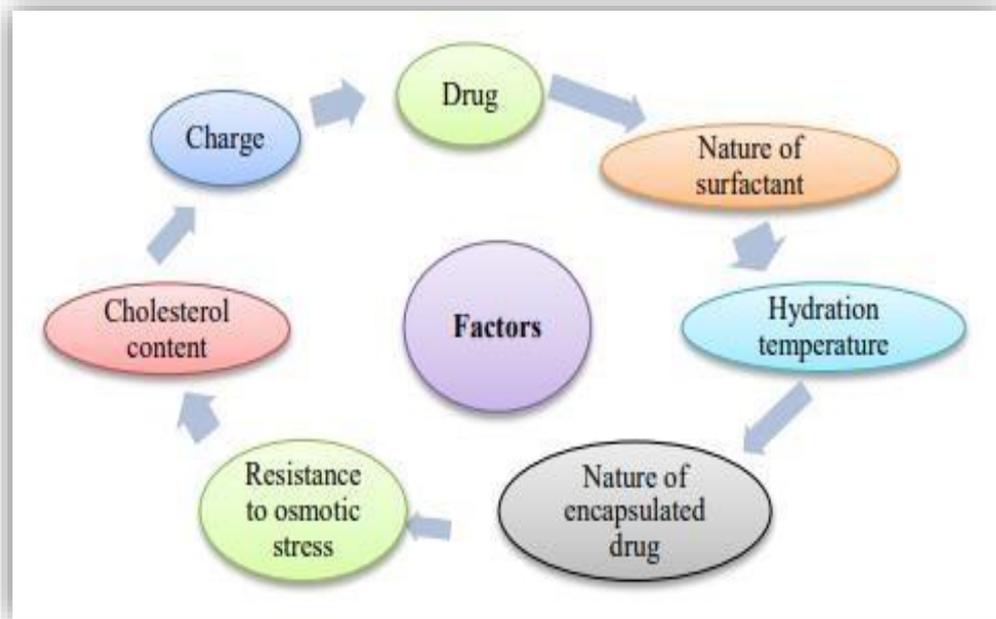
### **III.9. Inconvénients des niosomes**

- Il peut y avoir de petits problèmes d'instabilité physique et chimique ;
- Des équipements spécialisés sont nécessaires pour le traitement ;
- Durée de conservation limitée en raison de : fusion, agrégation, fuite des médicaments piégés, hydrolyse des médicaments encapsulés [37,38].

### **III.10. Facteurs influençant la formulation niosomale**

La préparation des niosomes et l'obtention de la structure souhaitée dépendent d'une compréhension approfondie des propriétés physicochimiques de leurs composants. Plusieurs

facteurs influent sur la formulation des niosomes (la taille de la vésicule, l'efficacité du piégeage et les modalités de libération ...), notamment le type et la quantité de médicament, la méthode de préparation, la concentration des tensioactifs, la teneur en cholestérol et sa charge... (voir figure III.9).



**Figure III.9.** Facteurs influençant la formulation niosomale.

### III.10.1. Nature du médicament encapsulé

Le processus de piégeage du médicament dans les niosomes entraîne généralement une augmentation de la taille des vésicules. Cela est probablement dû à l'interaction du médicament avec les groupes de tête des tensioactifs, ce qui accroît la charge et la répulsion entre les bicouches de tensioactifs, favorisant ainsi l'agrandissement des vésicules. Le degré de piégeage est également influencé par l'équilibre lipophile-hydrophile du médicament [46].

### III.10.2. Résistance au stress osmotique

L'ajout d'une solution saline hypertonique à la suspension niosomale entraîne la réduction du diamètre des niosomes. Encore une fois, après l'ajout d'une solution saline hypotonique, il conduit initialement à une libération lente avec un léger gonflement des vésicules en raison de l'inhibition du liquide d'éluion des vésicules [38].

### **III.10.3. Teneur et charge en cholestérol**

Le cholestérol améliore à la fois le diamètre hydrodynamique et l'efficacité de piégeage des niosomes. En général, il a deux effets principaux. D'une part, il augmente l'ordre des chaînes des bicouches en phase liquide et diminue cet ordre en phase gel. À des concentrations élevées, le cholestérol favorise une transition de la phase gel à la phase liquide ordonnée. En conséquence, la rigidité des bicouches augmente avec la teneur en cholestérol, ce qui ralentit la libération du matériau encapsulé [5].

### **III.10.4. Quantité et type de tensioactif**

La taille moyenne des niosomes augmente proportionnellement à l'augmentation de l'HLB des tensioactifs, cela est dû à la diminution de l'énergie libre de surface avec l'accroissement de l'hydrophobie du tensioactif. Les bicouches des vésicules peuvent adopter soit un état liquide, soit un état de gel, en fonction de la température du type de tensioactif et de la présence d'autres composants tels que le cholestérol. À l'état de gel, les chaînes alkyles sont disposées de manière ordonnée, tandis qu'à l'état liquide, la structure des bicouches est plus désordonnée. Les tensioactifs et les lipides sont caractérisés par leur température de transition de phase gel-liquide (TC) et influence également l'efficacité du piégeage [38].

### **III.10.5. Température d'hydratation**

La taille et la forme des niosomes sont affectées par la température d'hydratation. La température d'hydratation doit être supérieure à la température de transition du gel et de la phase liquide. Le changement de température affecte l'assemblage des tensioactifs en vésicules et la modification de la forme des vésicules.

Une mauvaise sélection de la température, de la durée et du volume du milieu d'hydratation produit des niosomes fragiles et des problèmes de fuite de médicament peuvent survenir [46].

### **III.10.6. La caractérisation des niosomes**

La caractérisation physicochimique des niosomes est essentielle pour assurer la qualité des produits. Il est nécessaire d'évaluer divers paramètres tels que la morphologie, la taille, la structure de la bicouche, la charge de la vésicule, la stabilité, l'efficacité de piégeage et la libération in vitro.

### III.11. Les différents domaines d'applications des niosomes

#### III.11.1. Applications thérapeutiques

Les Niosomes ont été d'abord utilisés dans l'industrie cosmétique et ont attiré l'attention des compagnies pharmaceutiques du fait de leur bonne stabilité et biodisponibilité.

L'utilisation de médicaments sous forme niosomale présente un potentiel d'application pour de nombreux agents pharmacologiques dans le traitement d'une variété de maladies. Certaines de leurs applications thérapeutiques seront abordées ci-dessous :

- **Ciblage des agents bioactifs** : Les niosomes comme vecteurs de médicaments ciblent spécifiquement le système réticulo-endothélial et d'autres organes grâce à une méthode de délivrance précise [38].
- **Ciblage des tumeurs** : Pour une chimiothérapie anticancéreuse efficace, il est crucial d'atteindre une concentration élevée d'agents anticancéreux sur le site de la tumeur. Les niosomes permettent de concentrer ces agents au site de la tumeur, réduisant ainsi les effets secondaires potentiels.
- **Traitement de la leishmaniose** : La leishmaniose est une maladie caractérisée par l'invasion du parasite dans les cellules et le foie. L'utilisation des niosomes dans le traitement de la leishmaniose présente une perspective prometteuse pour le traitement des infections parasitaires cutanées et muco-cutanées [47].
- **Traitement du SIDA** : Les niosomes assurent une libération prolongée des médicaments antirétroviraux, comme la zidovudine, dans le traitement du SIDA.
- **Administration d'antibiotiques** : Les niosomes facilitent l'administration ophtalmique d'antibiotiques solubles dans l'eau, améliorant ainsi l'efficacité du traitement.
- **Protéines et peptides** : Les niosomes permettent une libération prolongée de peptides et de protéines par voie orale, offrant une alternative pratique pour le transport de ces médicaments [48].
- **Administration transdermique** : Les niosomes améliorent la pénétration des médicaments à travers la peau, réduisant ainsi l'irritation cutanée et augmentant l'efficacité de la délivrance des médicaments [38].

### **III.11.2. Applications cosmétiques**

Les niosomes ont été largement étudiés comme système de support pour les actifs cosmétiques en raison de leurs nombreux avantages, notamment une meilleure stabilité des ingrédients actifs encapsulés, une amélioration de la pénétration cutanée, une biodisponibilité accrue, une meilleure adhérence à la surface de la peau et des propriétés de libération prolongée. Leur utilité dans les formulations cosmétiques a été comparée à celle des formulations conventionnelles telles que les émulsions, et les niosomes ont démontré une toxicité plus faible, permettant une libération contrôlée des ingrédients actifs chargés, ce qui est bénéfique pour les produits d'hydratation et de bronzage de la peau. De plus, les niosomes ont été utilisés pour améliorer l'efficacité de nombreux composés bioactifs d'origine végétale, qui présentent des effets bénéfiques tels que des propriétés antioxydantes et anti-âge, dans le domaine de la recherche cosmétique [35].

### **III.12. Conclusion**

Les niosomes, sont considérés comme des vecteurs prometteurs dans l'administration des médicaments. Leur conception biocompatible et leur capacité à transporter une variété d'agents thérapeutiques en font des outils efficaces pour la délivrance contrôlée de médicaments. Malgré leur potentiel prometteur, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour comprendre pleinement leur comportement et leur interaction avec le corps humain, afin de garantir leur sécurité et leur efficacité à long terme. En somme, les niosomes représentent une frontière passionnante de la science et de la médecine, ouvrant la voie à de nouvelles perspectives thérapeutiques et diagnostiques.

**CHAPITRE IV**

**L'ENCAPSULATION MIXTE**

### IV.1. Introduction

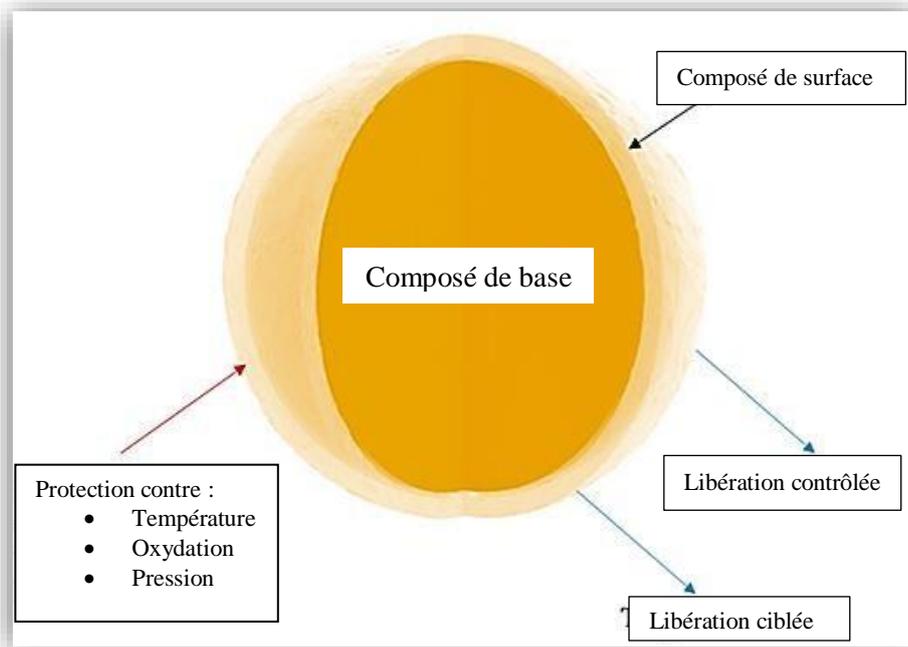
L'encapsulation mixte est une approche qui combine différentes techniques ou matériaux d'encapsulation pour obtenir des systèmes d'encapsulation avec des propriétés spécifiques. Dans ce chapitre, nous exploiterons de près les fondements et les applications de l'encapsulation mixte, mettant en lumière les avantages et inconvénients offerts par cette approche innovante [49].

### IV.2. Historique

L'encapsulation originellement développée dans les années 50 aux États-Unis, cette technique s'est étendue dans de divers secteurs. Elle débuta dans l'industrie de l'imprimerie pour créer du papier autocopiant sans carbone, puis fut utilisée pour masquer les saveurs désagréables d'ingrédients et convertir des liquides et solides [50]. Dans les années 80, elle prit place dans la communication olfactive, notamment via des encarts parfumés dans les magazines, et fut ensuite intégrée au domaine alimentaire pour masquer les arômes indésirables et protéger les principes actifs [51]. Récemment, l'encapsulation mixte a attiré l'attention des chercheurs des industries, notamment pharmaceutique, permettant le développement des formulations plus efficaces et mieux adaptées à leurs besoins, ainsi que l'ouverture vers de nouvelles avancées scientifiques.

### IV.3. Définition de l'encapsulation

L'encapsulation est une méthode qui consiste à piéger ou enrober une substance ou un mélange de substances spécifiques en utilisant des matériaux adaptés. Ces substances peuvent être liquides, solides ou gazeuses. En fonction de la taille des particules on parlera de micro encapsulation (entre 1 $\mu$ m et 1mm), nano encapsulation (10<sup>ème</sup> – 100<sup>ème</sup> de nm) ou minigranule (>1mm). Offrant ainsi diverses applications [52]. L'encapsulation mixte est une variante avancée de cette méthode, combine différents systèmes d'encapsulation cherchant à surmonter les limitations individuelles de chaque système, tout en exploitant leurs avantages respectifs. Cette approche hybride permet d'atteindre une libération contrôlée plus précise des substances encapsulées, une meilleure protection contre les conditions environnementales, ainsi une amélioration de la biodisponibilité des ingrédients actifs [52,53]. La figure IV.1 ci-dessus illustre le concept de base de l'encapsulation des composés bioactifs.



**Figure IV.1.** Concept de base de l'encapsulation des composés bioactifs.

### IV.4. Les types d'encapsulation mixte

L'encapsulation mixte combine différents types d'encapsulation, les principaux sont les suivants :

#### IV.4.1. Encapsulation cohérente

Les composants encapsulés ont des propriétés similaires en termes de composition chimique, de structure ou de fonction. Cela peut être avantageux dans plusieurs applications comme la combinaison de nutriments, protection mutuelle et libération coordonnée [54,55].

#### IV.4.2. Encapsulation hétérogène

Ce type d'encapsulation implique l'encapsulation des composants qui sont fondamentalement différents les uns des autres. Cela peut être bénéfique pour diverses applications comme la protection d'ingrédients sensibles, contrôle de la libération et la combinaison de matériaux fonctionnels [54,55].

### IV.5. Les procédés d'encapsulation mixte

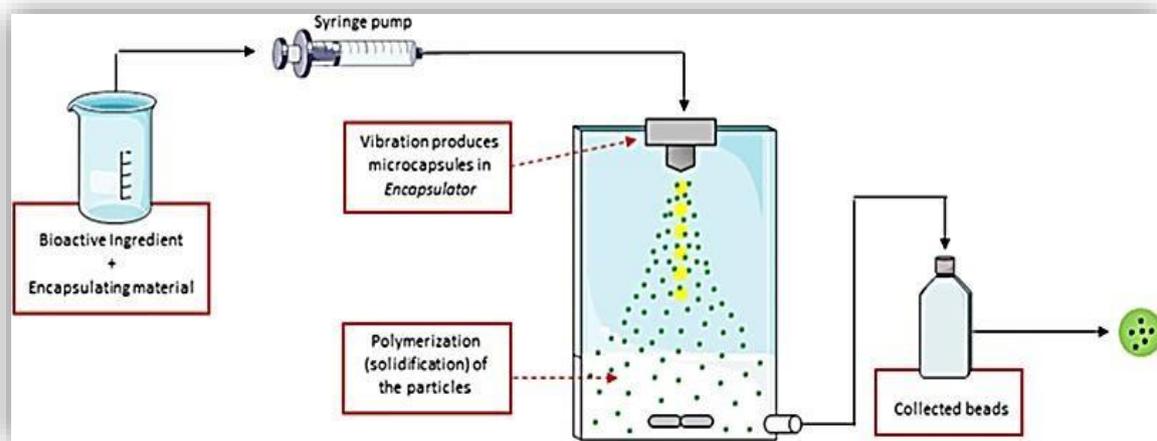
Les procédés d'encapsulation mixte combinent différentes techniques d'encapsulation pour obtenir des systèmes complexes adaptés à diverses applications. Voici quelques-uns des procédés d'encapsulation mixte les plus couramment utilisés :

- **Coacervation complexe**

Ce procédé implique la formation de complexes polys électrolytiques entre des polymères chargés opposés, par exemple entre deux protéines et des polysaccharides (voir figure IV.4) [56].

- **Coextrusion**

Les matériaux d'encapsulations sont mélangés dans une extrudeuse et extrudés ensemble pour former des structures complexes, comme des particules d'encapsulation mixte [57]. Voici un exemple du processus d'encapsulation par extrusion représenté dans la figure IV.2 ci-dessus.



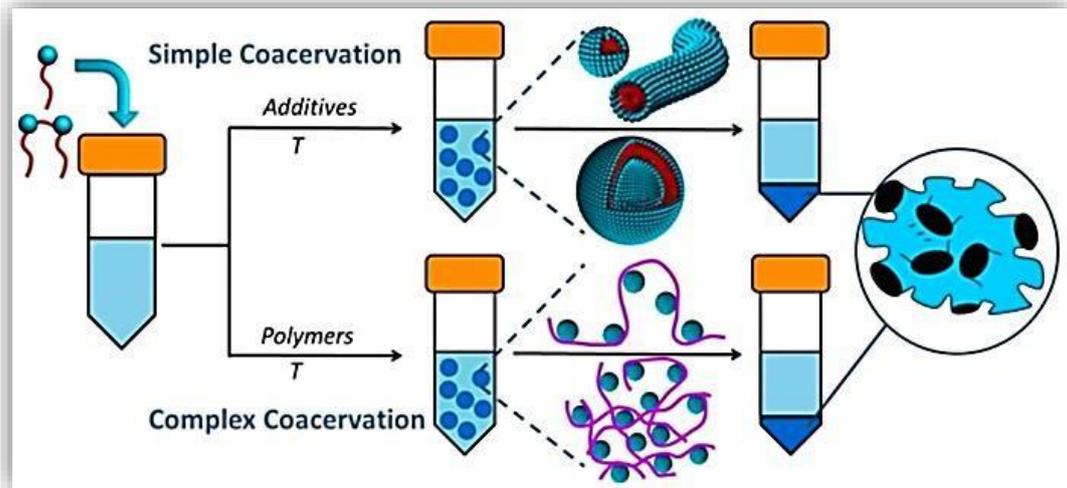
**Figure IV.2.** Une représentation schématique du processus d'encapsulation d'ingrédients bioactifs par extrusion avec technologie vibratoire

- **Emulsification double**

Ce procédé consiste à former deux émulsions successives pour encapsuler des substances actives dans des gouttelettes encapsulées dans une matrice [58].

- **Coacervation simple avec inclusion**

Des substances actives sont encapsulées à l'intérieur des particules formées par coacervation simple entre deux polymères, par exemple entre l'alginate et le calcium (voir figure IV.4) [59].



**Figure IV. 3.** Une représentation schématique du processus de coacervation simple et complexe en utilisant des tensioactifs et des polymères.

Ces procédés offrent une variété d'approches pour encapsuler des substances actives et peuvent être choisis en fonction des propriétés des substances à encapsuler et des exigences spécifiques de l'application.

## IV.6. Les différents agents d'encapsulation

### IV.6.1. Vecteurs Particulaires

Les vecteurs particuliers sont des nanoparticules utilisées comme supports pour encapsuler des substances actives. Contrairement aux autres agents d'encapsulations, les vecteurs particuliers offrent une grande flexibilité dans la conception des systèmes d'encapsulation grâce à la possibilité de combiner différents matériaux comme les lipides, les polymères ou les protéines. Ils permettent également un contrôle précis de la libération des substances actives et peuvent améliorer leur biodisponibilité [60].

### IV.6.2. Agents de support à base de polysaccharides

Les agents de support à base de polysaccharides utilisent des polysaccharides naturels ou modifiés, tels que la gomme arabique, la pectine ou l'alginate, pour encapsuler des ingrédients actifs. Ils se distinguent des autres agents d'encapsulations par leur capacité à former des matrices stables autour des substances actives, offrant une protection contre les conditions environnementales et permettant un contrôle de la libération. De plus, ils sont largement reconnus pour leur biocompatibilité et leur utilisation sûre dans diverses applications [61].

### IV.6.3. Les agents d'encapsulation à base de protéines

Utilisent des protéines naturelles ou modifiées, telles que la caséine, le lactosérum ou la gélatine, pour encapsuler des substances actives. Contrairement aux autres agents d'encapsulation, les protéines sont choisies pour leur capacité de former des matrices solides et stables, ainsi que pour leur biocompatibilité. Elles offrent une alternative efficace pour l'encapsulation des substances sensibles et peuvent être utilisées seules ou en combinaison avec d'autres agents d'encapsulation pour obtenir des résultats spécifiques [62].

### IV.7. Les avantages et les inconvénients de l'encapsulation mixte

#### IV.7.1. Les avantages

- **Protection accrue** : Les systèmes d'encapsulation mixte offrent une protection renforcée aux substances actives contre les environnements hostiles, tels que les pH extrêmes, les enzymes digestives et les conditions oxydatives, ce qui peut améliorer leur stabilité et leur efficacité [62].
- **Libération contrôlée** : En combinant différents vecteurs d'encapsulations, il est possible de contrôler plus précisément la vitesse et le moment de libération des substances actives, ce qui permet d'obtenir des profils de libération plus adaptés aux besoins thérapeutiques [62].
- **Délivrance ciblée** : En combinant différentes approches d'encapsulation, il est possible de cibler spécifiquement les substances actives vers des sites d'action particuliers dans le corps, ce qui permet une délivrance plus précise et efficace des composés [62].
- **Solubilité améliorée** : L'encapsulation mixte permet d'améliorer la solubilité des composés actifs, notamment des composés hydrophobes, ce qui peut augmenter leur biodisponibilité et leur efficacité dans le corps.
- **Polyvalence** : Les systèmes d'encapsulations mixte peuvent être adaptés pour encapsuler une grande variété de substances actives, qu'elles soient hydrophiles, lipophiles ou amphiphiles, ce qui les rend polyvalents et adaptables aux différents besoins en matière de formulation.

#### IV.7.2. Les inconvénients

- **Complexité de formulation** : La combinaison de différentes approches d'encapsulations peut rendre la formulation plus complexe, nécessitant des compétences techniques et des ressources supplémentaires pour la mise au point et la production.

## CHAPITRE IV : L'ENCAPSULATION MIXTE

- **Compatibilité des composés** : Certains composés actifs peuvent interagir de manière imprévisible lorsqu'ils sont combinés dans une même formulation, ce qui peut affecter la stabilité et l'efficacité de l'encapsulation mixte [52].
- **Coût de production** : La fabrication des formulations d'encapsulations mixte peut être plus coûteuse en raison de l'utilisation de plusieurs vecteurs d'encapsulation et des étapes de production supplémentaires nécessaires pour les combiner d'une manière efficace.
- **Stabilité à long terme** : La stabilité à long terme des formulations d'encapsulations mixte peut être un défi, car les différents vecteurs d'encapsulation peuvent interagir avec le temps, ce qui peut entraîner une perte de stabilité et d'efficacité des composés actifs encapsulés [64,65].
- **Contrôle de la libération** : Le contrôle de la libération des composés actifs peut être 6 plus difficile dans les formulations d'encapsulations mixte, car les différents vecteurs peuvent avoir des profils de libération différents, ce qui peut affecter la performance globale de la formulation [65].
- **Échelle de production** : Passer à une échelle de production industrielle pour les formulations d'encapsulations mixte peut poser des défis supplémentaires en termes de standardisation des procédés et de garantie de la qualité des produits finaux. Bien que l'encapsulation mixte offre de nombreuses possibilités en termes de protection, de délivrance contrôlée et de ciblage des composés actifs, elle présente également des défis en termes de formulation, de production et de stabilité, qui doivent être pris en compte lors de son développement et de son utilisation.

### IV.8. Les facteurs clés de réussite

Pour réussir le processus d'encapsulation mixte, plusieurs facteurs doivent être pris en compte

- **Choix des méthodes d'encapsulations** : sélectionner les méthodes adaptées en fonction des caractéristiques des matériaux à encapsuler, des objectifs de l'encapsulation, et des propriétés souhaitées des particules encapsulées [64,65].
- **Compatibilité des matériaux** : assurer l'harmonie entre les matériaux utilisés aux différentes étapes de l'encapsulation mixte pour garantir la stabilité et l'efficacité de la structure encapsulée [52].

## CHAPITRE IV : L'ENCAPSULATION MIXTE

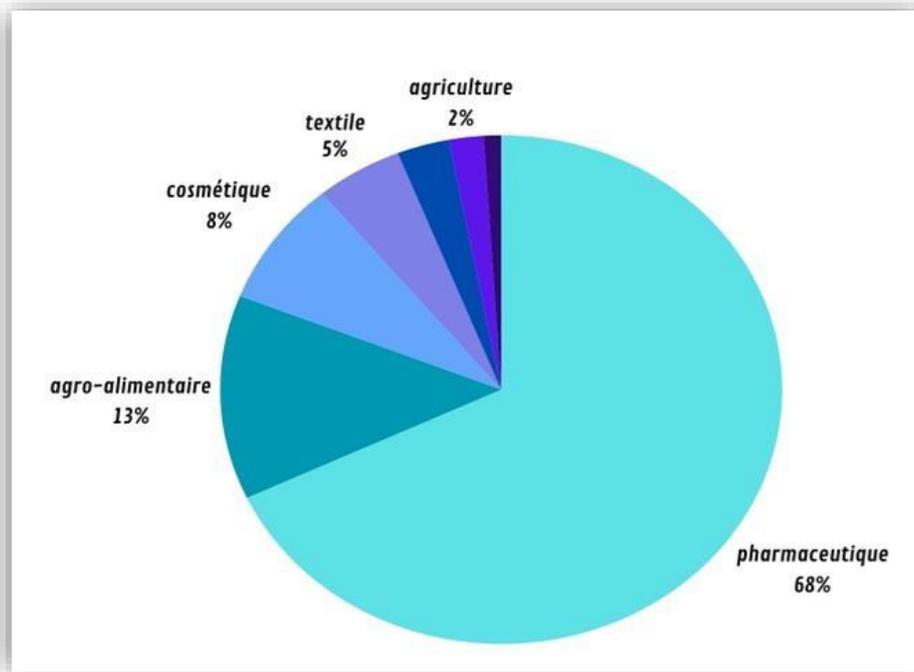
- **Sélection des solvants** : choisir les solvants appropriés selon la nature des matériaux à encapsuler et les méthodes d'encapsulations utilisées, garantissant une bonne solubilisation des composés à encapsuler [65].
- **Paramètres de fabrications** : optimiser la température, le pH, la vitesse d'agitation et la concentration des composants pour obtenir des particules encapsulées de taille uniforme, et avec une distribution appropriée.
- **Stabilité de la structure encapsulée** : veiller à la stabilité de la structure encapsulée dans des conditions physiologiques ou environnementales, incluant la stabilité thermique [49].
- **Contrôle de la libération** : Concevoir la structure encapsulée pour permettre un contrôle précis de la libération des composés encapsulés en ajustant la composition de la matrice, la paroi ou en introduisant des agents de contrôle de la libération [49].
- **Caractérisation des particules** : Effectuer une caractérisation exhaustive des particules encapsulées pour évaluer leur taille, leur morphologie, leur distribution de taille, leur charge de surface, leur stabilité, leur capacité d'encapsulation et leur cinétique de libération [49].

### IV.9. Applications de l'encapsulation mixte

L'encapsulation mixte est une stratégie largement adoptée dans différents secteurs. Son application diversifiée est mise en évidence à travers plusieurs domaines : dans le domaine pharmaceutique, elle représente une part importante des applications, principalement axée sur la protection, la compatibilité et la stabilisation des principes actifs dans les formulations pharmaceutiques. De plus, elle permet de contrôler la cinétique de libération pour obtenir des effets prolongés ou déclenchés [52].

Dans le secteur alimentaire, l'encapsulation mixte est employée pour protéger les ingrédients sensibles, prolonger les effets des arômes dans les produits lessiviels et augmenter l'efficacité des parfums. Cela contribue à réduire la nocivité et la toxicité des produits encapsulés, avec des avantages tels que la minimisation des risques pour les utilisateurs et la réduction des pertes de produits [49]. L'industrie cosmétique fait également usage de l'encapsulation mixte pour améliorer l'aspect des produits, masquer les odeurs ou les saveurs indésirables, et réguler la libération des ingrédients actifs. Cette approche vise à optimiser l'efficacité des produits cosmétiques tout en offrant une expérience sensorielle supérieure aux consommateurs [49]. Outre ces secteurs clés, l'encapsulation mixte trouve des applications dans d'autres domaines

comme l'agriculture, les textiles, l'électronique (notamment les textiles intelligents) et la peinture. Cette technique offre une multitude de possibilités pour créer des produits à haute valeur ajoutée en modifiant les propriétés physiques des substances actives afin de faciliter leur manipulation [52]. Cette figure IV.5 illustre de manière schématique la répartition de l'utilisation de l'encapsulation mixte à travers divers domaines d'application.



**Figure IV.4.** Représentation schématique de la répartition de l'utilisation de l'encapsulation mixte dans les différents domaines d'application.

### IV.10. Conclusion

L'encapsulation mixte offre une approche novatrice pour les industries, permettant une conception plus efficace et une gestion optimale des systèmes complexes. En continuant à explorer ses applications, cette approche promet des avancées significatives dans la conception des produits en favorisant l'innovation et l'amélioration des technologies existantes.

**CHAPITRE V**

**MATERIELS ET METHODES**

### V.1. Introduction

Dans ce chapitre, nous rassemblerons toutes les étapes de l'optimisation des conditions de préparation de la suspension niosomale contenant la cyclodextrine (PM- $\beta$ CD) et l'extrait de propolis. Par la suite, cette suspension sera soumise à une caractérisation détaillée à l'aide de différentes méthodes d'analyse afin d'obtenir une compréhension approfondie de ses propriétés physico-chimiques.

### V.2. Optimisation d'un procédé d'encapsulation mixte de la propolis par les cyclodextrines (PM- $\beta$ CD) et les niosomes

#### V.2.1. Extraction de propolis

##### a. Principe

L'extraction de la propolis implique la dissolution de ses composés dans un solvant, généralement de l'éthanol. Après macération ou agitation, les composés actifs de la propolis se dissolvent dans le solvant. Ensuite, le mélange est filtré pour éliminer les impuretés, produisant ainsi un extrait concentré de propolis utilisé dans diverses applications.

##### b. Matériels

- Ballon fond rond de 100 ml ;
- Spatule ;
- Bêchers ;
- Éprouvette de 100 ml ;
- Boîte stérile (plastique) ;
- Barreaux magnétiques.

##### c. Appareillages

- Balance analytique (Denver) ;
- Rota vapeur (IKA RV 10) ;
- Plaque agitatrice (Velp Scientifica) ;
- Plaque chauffante (Velp Scientifica) ;
- Centrifugeuse MIKRO 200R.

### d. Produits chimiques

- La propolis brute est collectée dans la région de (Melbou) Béjaïa ;
- Ethanol (Biochem Chemopharma).

### e. Méthodes

Les extraits éthanoliques de propolis (EEP) sont obtenus par méthode d'agitation. Les paramètres choisis comprennent les quantités de propolis (33g), la durée (40 minutes), avec fixation du volume et de la température du solvant à 100 ml et 50 °C respectivement (voir la figure V.1) [66].



**Figure V.1.** Méthode d'extraction de propolis.

### V.2.2. Préparation des suspensions niosomales avec les conditions optimales

#### V.2.2.1. Plan d'expériences

Afin d'obtenir un procédé d'encapsulation avec les conditions optimales d'une manière scientifique, nous avons choisis l'utilisation d'un plan d'expérience Box-Behnke (logiciel MODDE 6.0) qui permet de modéliser et optimiser.

Il est à noter que lors de la préparation des suspensions niosomales, nous avons opté à varier les facteurs suivants : cyclodextrine [3.333-30mg/ml], Span [20-60mg/ml] et le cholestérol [5-

## CHAPITRE V : MATERIELS ET METHODES

20mg/ml]. Le logiciel a calculé les quantités nécessaires pour chaque constituant afin de mener à bien 15 expériences différentes, de la même manière nous avons choisit comme réponse à étudier le taux d'encapsulation et les tailles des niosomes formées. Ce processus nous a permis d'optimiser la formulation pour obtenir les meilleures conditions d'encapsulation de l'extrait de la propolis. Nous avons obtenu la matrice d'expérience suivante (Tableau V.1).

Dans cette suspension, deux phases distinctes sont préparées : une phase aqueuse contenant de la PM- $\beta$ CD et l'extrait diluée dans de l'eau, et une phase organique composée de cholestérol, de Span 60 et d'éthanol.

**Tableau V.1.** Matrice d'essais.

<b>Exp No</b>	<b>Exp name</b>	<b>C CD</b>	<b>C Span</b>	<b>C CHL</b>	<b>Tailles des particules</b>	<b>Taux d'encapsulation</b>
<b>1</b>	N1	3,333	20	12,5		
<b>2</b>	N2	30	20	12,5		
<b>3</b>	N3	3,333	60	12,5		
<b>4</b>	N4	30	60	12,5		
<b>5</b>	N5	3,333	40	5		
<b>6</b>	N6	30	40	5		
<b>7</b>	N7	3,333	40	20		
<b>8</b>	N8	30	40	20		
<b>9</b>	N9	16,6665	20	5		
<b>10</b>	N10	16,6665	60	5		
<b>11</b>	N11	16,6665	20	20		
<b>12</b>	N12	16,6665	60	20		
<b>13</b>	N13	16,6665	40	12,5		
<b>14</b>	N14	16,6665	40	12,5		
<b>15</b>	N15	16,6665	40	12,5		

### a. Matériels

- Ballon fond rond de 100 ml ;
- Spatule ;
- Béchers ;
- Éprouvette de 100 ml ;
- Boîte stérile (plastique) ;
- Barreaux magnétiques.

### b. Appareillages

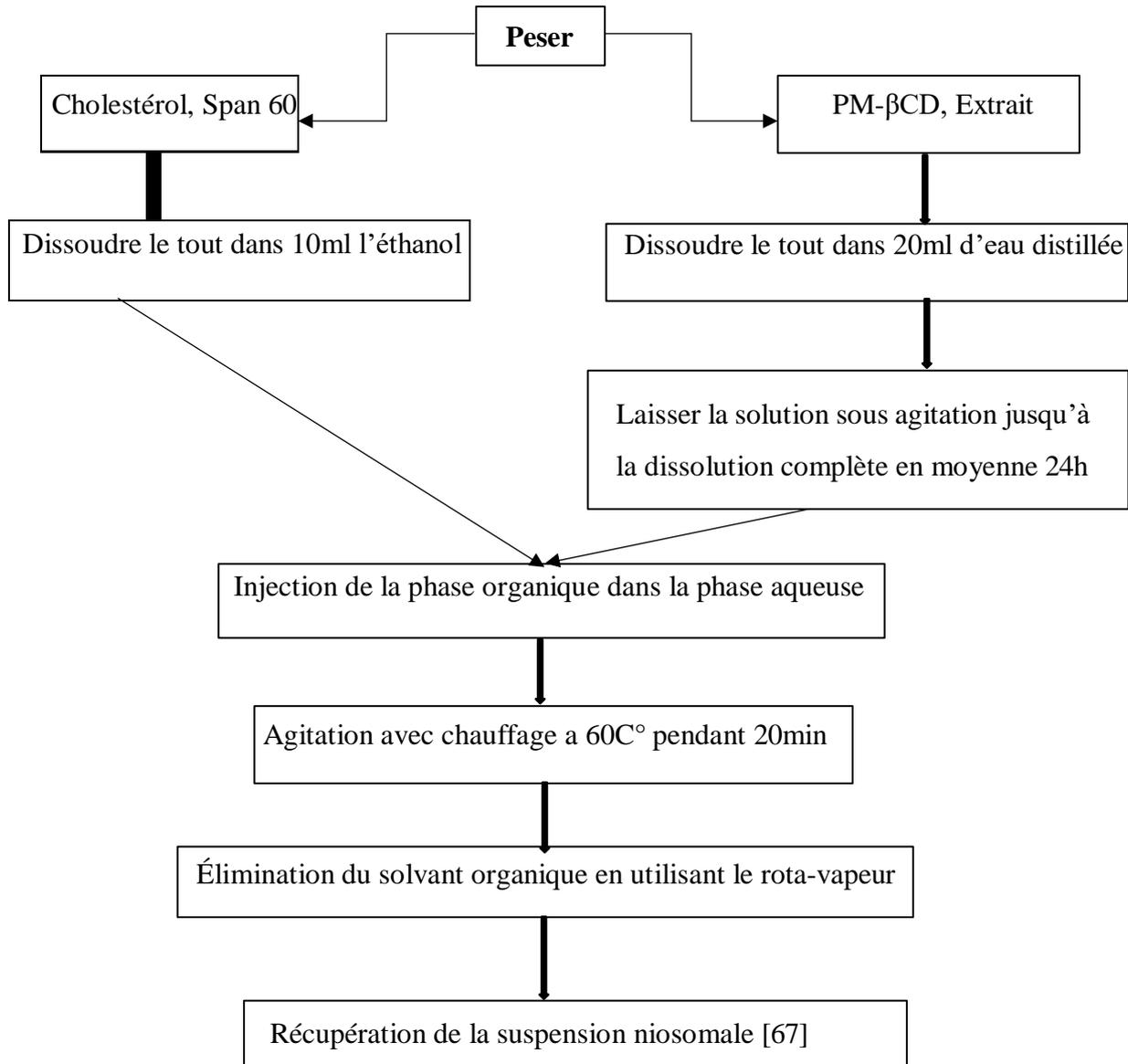
- Balance analytique (Denver) ;
- Rota vapeur (IKA RV 10) ;
- Plaque agitatrice (Velp Scientifica) ;
- Plaque chauffante (Velp Scientifica).

### c. Produits chimiques

- Extrait sec de propolis ;
- La PM- $\beta$ CD (fournie généreusement par le laboratoire pharmacie galénique de l'université de Rouen) ;
- Ethanol (Biochem Chemopharma) ;
- Span 60 ;
- Cholestérol.

**d. Méthode**

Les suspensions niosomales ont été préparés par la méthode d'évaporation du solvant, les étapes sont résumées ci-dessous :





**Figure V.2.** Présentation d'un Rota vapeur IKA RV 10.

### **V.2.3. Détermination des réponses du plan d'expérience**

#### **V.2.3.1. Dosage des flavonoïdes des suspensions niosomales par l'UV-visible (détermination du taux d'encapsulation)**

##### **V.2.3.1.1. Principe spectrophotomètre UV-visible**

Le spectrophotomètre UV-visible mesure l'absorption de lumière par une solution en fonction de sa longueur d'onde dans le domaine UV et visible du spectre électromagnétique. Un faisceau de lumière monochromatique est dirigé à travers l'échantillon, et la quantité de lumière absorbée est mesurée par un détecteur. En comparant l'absorption de l'échantillon à celle d'une référence, le spectrophotomètre permet de déterminer la concentration d'une substance dans la solution.



**Figure V.3.** Présentation d'un spectrophotomètre UV visible.

### V.2.3.1.2. Principe Dosage des flavonoïdes (la quercétine)

Le dosage des flavonoïdes, tels que la quercétine, est réalisé dans le but d'évaluer la concentration de ces composés dans un échantillon de propolis. Les flavonoïdes sont des composés phytochimiques présents dans de nombreux aliments d'origine végétale tels que les fruits, les légumes, le vin et le thé. La quercétine, en particulier, est un flavonoïde largement étudié pour ses potentielles propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et autres effets bénéfiques sur la santé.

#### a. Matériels

- Spatule ;
- Tubes à essais ;
- Pipette de 1 ml, 2 ml, 5ml et 10 ml ;
- Barreaux magnétiques ;
- Becher ;
- Fiole de 25 ml ;
- Eprouvette ;
- Poire ;
- Porte tube.

#### b. Appareillages

- Spectrophotomètre UV–visible (UV-1900 i);
- Balance analytique de précision (Denver) ;
- Plaque agitatrice (Velp Scientifica).

#### c. Produits chimiques

- Quercétine (Sigma-Aldrich) ;
- Méthanol (Biochem Chemopharma) ;
- Nitrite de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (Biochem Chemopharma) ;
- Hydroxyde de sodium (NaOH) (Biochem Chemopharma) ;
- Chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) (Sigma-Aldrich).

#### d. Méthodes

Cette méthode repose sur l'usage de l' $\text{AlCl}_3$  pour former un complexe jaune avec les flavonols et les flavones. Pour débiter l'analyse, 400  $\mu\text{l}$  d'extrait sont mélangés avec 120  $\mu\text{l}$  de  $\text{NaNO}_2$  et

laissés à reposer pendant 5 minutes. Par la suite, 120 µl de solution d'AlCl<sub>3</sub> sont ajoutés au mélange, agités, puis laissés pendant 6 minutes. Une fois ce laps de temps écoulé, 800 µl de NaOH sont introduits. L'absorbance de la solution est alors mesurée à une longueur d'onde de 510 nm. En parallèle, une courbe d'étalonnage de la quercétine est établie, à différentes concentrations [68].

### **V24 Détermination de la taille des niosomes formées dans les suspensions niosomales**

#### **a. Principe**

Le microscope optique, essentiel en génie pharmaceutique, permet l'observation et la mesure précise de particules microscopiques. En utilisant des lentilles et des objectifs ajustables, il offre un grossissement détaillé des échantillons. Les micromètres oculaires et objectifs facilitent les mesures précises, cruciales pour le développement et le contrôle qualité des formulations pharmaceutiques.

#### **b. Matériels**

- Lames de microscope ;
- Lamelles de microscope ;
- Micromètre oculaire ;
- Micromètre objectif.

#### **c. Appareillage**

- Microscope optique.

#### **d. Produit**

- Suspensions niosomales.

#### **e. Méthodes**

Pour déterminer la taille des suspensions niosomales avec un microscope optique, une goutte de suspension est placée sur une lame et recouverte d'une lamelle. On utilise un micromètre oculaire étalonné avec un micromètre objectif pour mesurer les niosomes observés à travers le microscope. Les divisions du micromètre oculaire, converties en unités de longueur grâce à l'étalonnage, permettent de calculer la taille des niosomes en multipliant par le facteur d'étalonnage.

**V.2.5. Préparation de la suspension niosomale optimale**

Après avoir réalisé les 15 expériences de la matrice, le MODE 6.0 nous donne l'optimum.

**Tableau V.2.** Matrice d'expérience.

<b>C CD</b>	<b>C Span</b>	<b>C CHL</b>	<b>Tailles des particules</b>	<b>Taux D'encapsulations</b>
<b>3.333 mg/ml</b>	20mg/ml	20mg/ml	516.821nm	56.585%



**Figure V.4.** Suspension niosomale.

**V251. La centrifugation de la suspension niosomale optimale**

**a. Principe de la centrifugation**

La centrifugation est une technique de séparation utilisée pour séparer les composants d'un mélange hétérogène en fonction de leur densité, leur taille, leur viscosité ou leur forme. Elle est couramment utilisée dans divers domaines, tels que la chimie, la biologie et la médecine.



Figure V.5. Centrifugeuse MIKRO 200R.

**b. Matériels**

- Eppendorfs ;
- Filtre seringues de 0.45 $\mu$ m ;
- Seringue.

**c. Appareillages**

- Centrifugeuse (MIKRO 200R) ;
- Spectrophotomètre UV-visible (UV-1900 i).

**d. Produits chimiques**

- Suspension niosomale optimale ;
- Méthanol (Biochem Chemopharma).

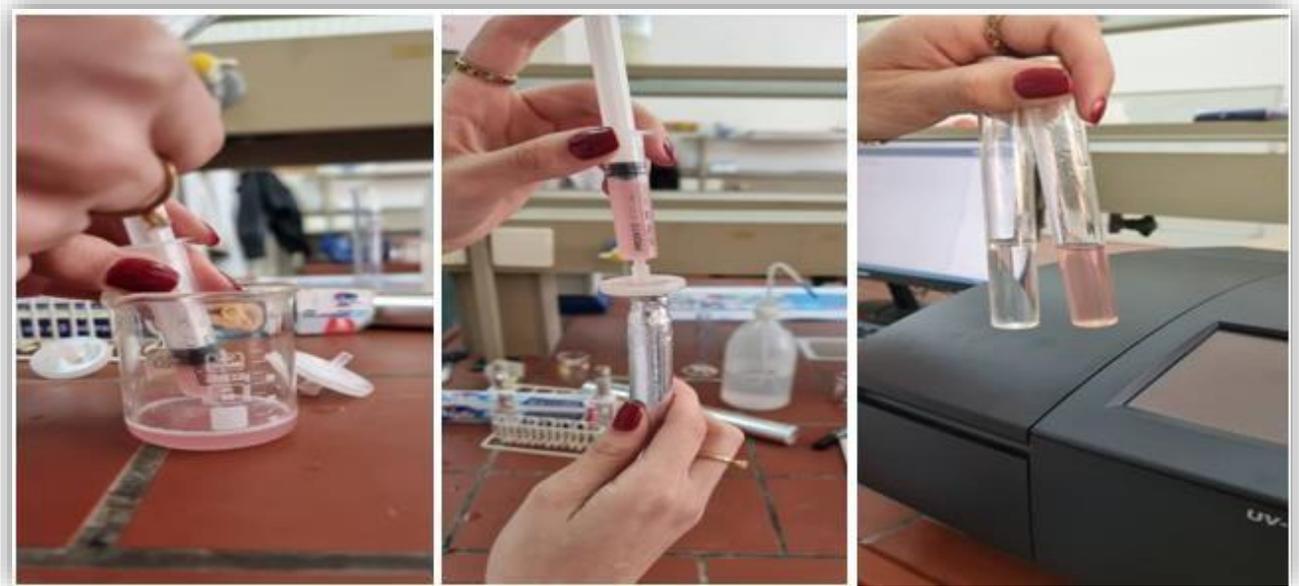
**e. Méthodes**

Le procédé de la centrifugeuse de la solution optimale a été lancé, tout en fixant les paramètres suivants :

- Une agitation de 1500 tout /min ;
- Une température de 4 $^{\circ}$ c ;
- Un temps de 60 min.

## CHAPITRE V : MATERIELS ET METHODES

Après l'ultracentrifugation on a obtenu une phase aqueuse transparente et un culot, le surnageant a été séparé et on l'a remplacé par le méthanol, ensuite la filtration a été effectuée avec des filtres seringues de 0,45  $\mu\text{m}$ , et enfin analysé afin d'effectuer le dosage [69].



**Figure V.6.** Analyse par spectrométrie UV-visible (UV-1900 i).



**Figure V.7.** Représentation d'un échantillan de la suspension niosomale.

### V.3. Caractérisation physico-chimique de la suspension niosomale

#### V.3.1. Analyse thermique (ATG)

##### a. Principe

L'analyse thermogravimétrique (ATG) consiste à observer la variation de la masse d'un échantillon de matériau en fonction du temps ou de la température de chauffe. Cette méthode est utilisée pour étudier divers phénomènes, notamment la désorption, les réactions solides-gaz et la décomposition des matériaux.

##### b. Appareillage

- Analyseur thermogravimétrique ( Parkin elmer STA 8000).

##### c. Produits chimiques

- Solution niosomale optimale (2.717 mg) ;
- Placebo (3.313 mg) ;
- Extrait de propolis (23.232 mg) ;
- Mélange physique (8.256 mg).

##### d. Méthode

L'analyse thermogravimétrique L'analyse thermogravimétrique (TGA) a été réalisée à l'aide d'un analyseur thermogravimétrique Mettler Toledo. Environ 23.232 mg de l'extrait, 2.717 mg de la suspension niosomale optimale et 3.313 mg des échantillons à placebo et 8.256 mg de mélange physique ont été soumis à une analyse. Les mesures TGA ont été effectuées sur une Plage de température allant de 40°C à 600°C à une vitesse de chauffage de 20°C/min.

#### Préparation des mélanges physique

Nous avons combiné 0,4 g de Span et 0,4 g de cholestérol avec 0,066 g de cyclodextrine dans un mortier, puis avons broyé le mélange pendant environ 15 minutes.

### V.4. L'étude des activités biologiques des suspensions niosomales

#### V.4.1. Test de motilité des spermatozoïdes (déterminations de VSL) après réfrigération

##### a. Principe

Le test de motilité des spermatozoïdes évalue la capacité de déplacement des spermatozoïdes, crucial pour la fertilité masculine. Les vitesses VSL, mesurée lors de ce test fournissent des informations sur la qualité du mouvement des spermatozoïdes. En ce qui concerne le traitement à base d'extrait de propolis et de niosomes, des études suggèrent qu'il peut avoir un effet protecteur en améliorant la motilité des spermatozoïdes et en protégeant leur fonctionnalité contre les dommages oxydatifs. Ces substances pourraient agir en réduisant le stress oxydatif et en fournissant des nutriments essentiels pour la santé des spermatozoïdes.

##### b. Matériels

- Micro pipette ;
- Embouts (jaunes et bleus) ;
- Seringue ;
- Eppendorfs ;
- Bêchers.

##### c. Appareillages

- Réfrigérateurs biologiques ;
- Microscope CASA (MiK oneclipse E200).

##### d. Produits chimiques

- Sperme ;
- Testicules (bovin) ;
- Tris ;
- Extrait de propolis ;
- Placebo (suspension niosomale sans extrait) ;
- Suspension niosomale optimale ;
- Contrôle (Tris /sperme).

e. Méthode

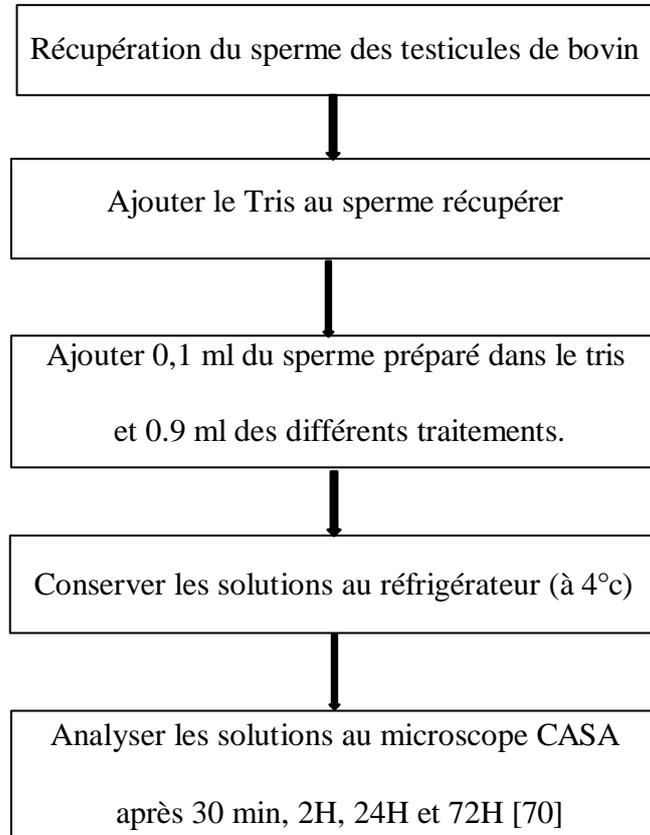


Figure V.8. Épididyme bovin.



**Figure V.9.** Récolte de sperme.

### V.4.2. L'activité antioxydante des suspensions niosomales

#### a. Principe

Ce dosage est réalisé par l'utilisation du réactif 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) qui est défini comme un radical libre stable par vertu de la délocalisation de l'électron disponible qui provoque la couleur violette profonde, caractérisée par une absorption.

#### b. Matériels

- Spatule ;
- Pipette de 1 ml, 2 ml, 5ml et 10 ml ;
- Seringue ;
- Barreaux magnétiques ;
- Béchers ;
- Tubes à essais ;
- Fiole de 25 ml ;
- Eprouvette ;
- Poire ;
- Porte tube.

#### c. Appareillages

- Spectrophotomètre UV-visible (UV-1900i);
- Balance analytique de précision (Denver) ;
- Plaque agitatrice (Velp Scientifica).

### d. Produits chimiques

- 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-Aldrich) ;
- Méthanol (Biochem Chemopharma) ;
- Extrait de propolis ;
- Suspension niosomale ;
- Eau distillée.

### e. Méthode

Pour évaluer l'activité antioxydante des extraits, nous avons utilisé le test au 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Nous avons commencé par préparer une solution de DPPH ainsi que des solutions de nos différents traitements et du contrôle positif (standard acide ascorbique). Dans des tubes à essai, nous avons combiné 1 ml de la solution méthanolique de DPPH (0,3 mM) avec 2,5 ml d'extrait (à une concentration de 2,5 mg/ml). Après agitation, les tubes ont été placés dans l'obscurité pendant 30 minutes, puis nous avons mesuré l'absorbance à une longueur d'onde de 517 nm. Le calcul du pourcentage des radicaux libres est déterminé à l'aide de l'équation suivante [71].

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$



Figure V.10. DPPH.



Figure V.11. Présentation des échantillons après le dosage DPPH.

### V.4.3. Test Hémolytique (GR) hemoglobines

#### a. Principe

Le test hémolytique évalue la capacité d'un agent à provoquer la lyse des globules rouges (GR), libérant ainsi l'hémoglobine. Les globules rouges sont exposés à l'agent testé, et l'hémolyse est mesurée par la quantité d'hémoglobine libérée dans la solution. La concentration d'hémoglobine est déterminée par spectrophotométrie à 540 nm. Ce test permet d'évaluer la toxicité et l'effet des substances sur les membranes cellulaires.

#### b. Matériels

- Micro pipette ;
- Embouts (jaunes et bleus) ;
- Seringue ;
- Eppendorfs ;
- Bêchers ;
- Filtre seringues de 0.45 $\mu$ m .

#### c. Appareillages

- Réfrigérateurs biologiques ;
- Centrifugeuse SIGMA 1-14;
- Spectrophotomètre UV-visible ( JENWAY Genova bio ) .

#### d. Produits chimiques

- Le sang ;
- Extrait de propolis ;
- Suspension Placebo ;
- Suspension niosomale optimale ;
- Complexe propolis-PM- $\beta$ CD-niosome optimale 1 ;

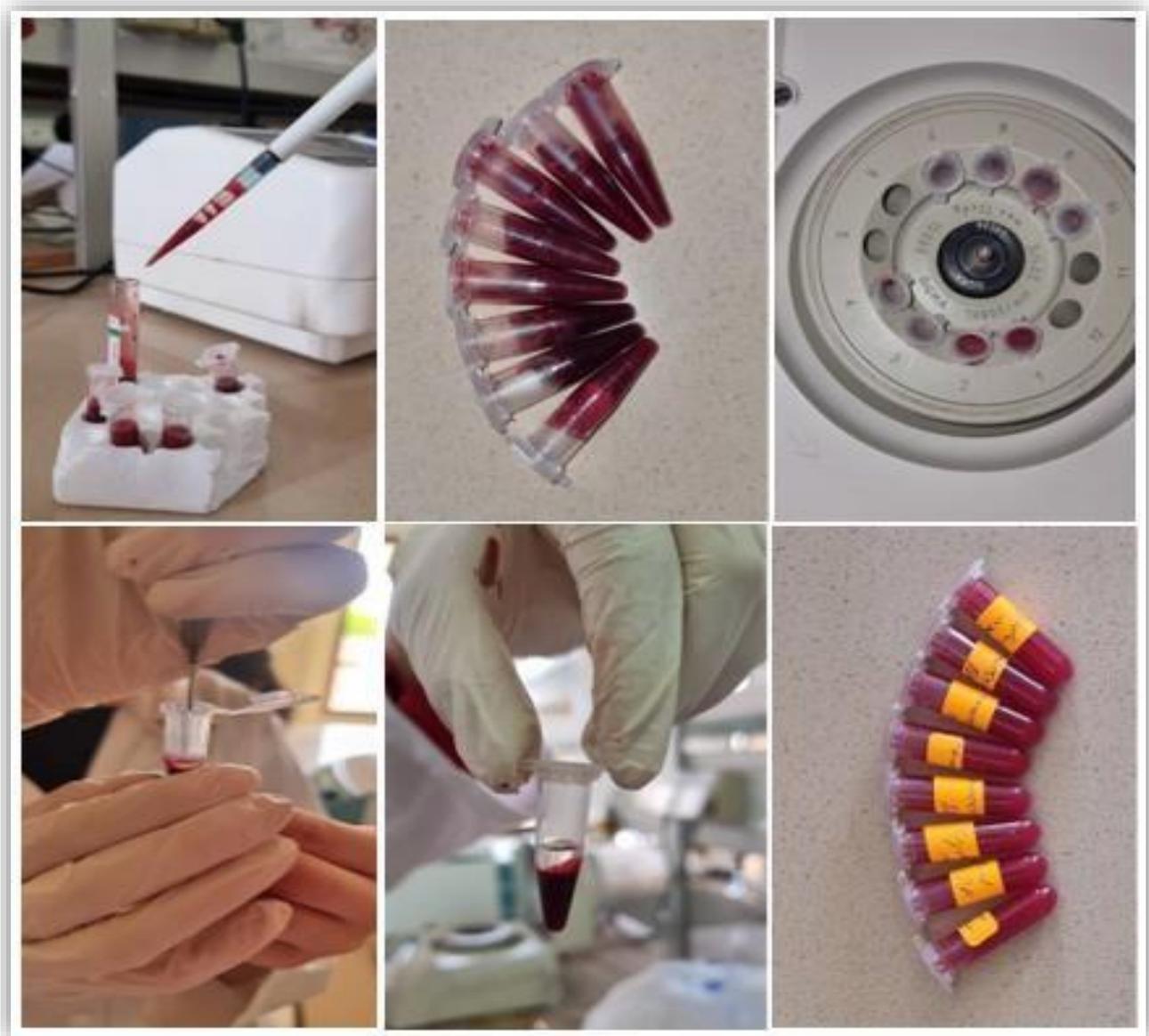
- Complexe propolis-PM-βCD-niosome optimale 2 ;
- NaCl 0.9%, NaCl 0.2% ;
- Eau distillée.

### e. Méthode

Dans un premier temps, une quantité de sang est centrifugée à 3500 tours par minute pendant 10 minutes. Ensuite, le surnageant est soigneusement retiré et remplacé par une solution de NaCl à 0,9% pour effectuer un lavage des globules rouges. Une fois le lavage terminé, une solution de globules rouges (RBC) est préparée.

Ensuite, 1 ml de la solution RBCs est combiné avec 1 ml de chacun de nos différents traitements. Après une incubation de 10 minutes à température ambiante et centrifugation, nous mesurons l'absorbance du surnageant à 540 nm.. Le pourcentage hémolytique est calculé par l'équation suivante [70].

$$\%HR = \frac{A_c - A_t}{A_c} \times 100$$



**Figure V.12.** Test Hémolytique (GR) hémoglobines.

**CHAPITRES VI**  
**RESULTATS ET DISCUSSIONS**

### VI.1. Introduction

Dans ce chapitre, nous allons présenter et analyser les résultats de notre étude, visant à réaliser une encapsulation mixte de la propolis en utilisant les cyclodextrines (CDs) et les niosomes. Notre objectif est d'obtenir des particules de taille minimale avec un taux d'encapsulation maximal, en utilisant un plan d'expérience pour optimiser ses paramètres.

### VI.2. Le taux d'extraction de la propolis

L'extraction des composés bioactifs de la propolis, tels que les flavonoïdes ou les composés phénoliques, est réalisée en utilisant la méthode d'évaporation du solvant. Cette procédure permet d'obtenir un extrait visqueux de couleur marron, appelé "extrait éthanolique de propolis". Le rendement d'extraction est exprimé en pourcentage massique, indiquant la masse d'extrait sec obtenue par rapport à la masse de propolis brute.

Le rendement de l'extrait éthanolique de propolis dépend non seulement des techniques d'extractions employées, mais aussi de la composition chimique de la propolis brute elle-même

Le rendement de l'extrait éthanolique de propolis de la région de Melbou , évalué à 12.16%. Ce dernier est déterminé en utilisant la formule suivante :

$$R (\%) = (m_{\text{ext}} / m_{\text{mv}}) * 100$$

D'où : R(%) : Rendement de l'extrait en %.

$m_{\text{ext}}$  : masse de l'extrait sec en g.

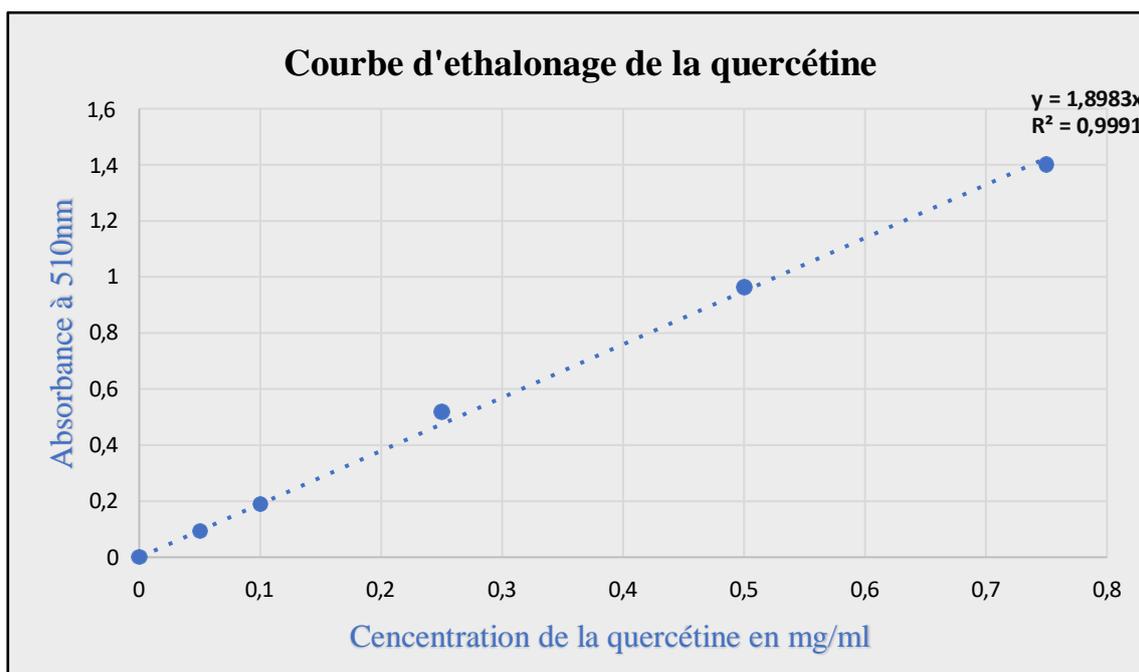
$m_{\text{mv}}$  : masse de la matière végétale brute en g.

### VI.3. Dosage des flavonoïdes de l'extrait de propolis (Quercétine)

#### VI.3.1. Courbe d'étalonnage

##### VI.3.1.1. Résultats

Les résultats obtenus sont représentés sous forme d'une courbe d'étalonnage de la quercétine représentée ci-dessous:



Figures VI.1. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

### VI.3.1.2. Observations

Nous remarquons que la droite d'étalonnage passe par l'origine, celle-ci nous a fourni une droite dont l'équation est de forme :  $y = ax$  ; avec  $y =$  absorbance,  $a =$  la pente,  $x$  : la concentration de quercétine.

D'ou :  $Y = 1.8983x$  sachant que  $R^2 = 0,9991$

### VI.3.1.3. Interprétations

La courbe  $Abs = f(C)$  illustre la proportionnalité entre les absorbances et les concentrations de quercétine. Cette relation est étayée par le coefficient de corrélation  $R^2$ , qui approche de 1 avec une valeur de 0,9991, confirmant une corrélation très étroite entre les deux variables.

À l'aide de cette courbe, nous avons pu déterminer la concentration de l'extrait de propolis exprimées en mg/ml, qui est de : 0.1275 mg/ml.

### VI.4. Détermination des réponses du plan expérimental

Après avoir réalisé la préparation des suspensions niosomales (extrait-PM- $\beta$ CD-niosomes) en variant les quantités du span 60 et du cholestérol conformément au plan d'expérience, nous avons réussi à déterminer à la fois le taux d'encapsulation et les tailles des particules (voir le tableau VI.1).

## CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSIONS

**Tableau VI.1.** Résultats expérimentaux de la matrice.

Exp No	PM- $\beta$ CD	C Span	C CHL	Taille des particules	Taux d'encapsulation
1	3,333	20	12,5	466,2	38,02
2	30	20	12,5	628,43	52,12
3	3,333	60	12,5	947,91	43,65
4	30	60	12,5	1050,56	54,01
5	3,333	40	5	1122,09	50,05
6	30	40	5	1229,34	64,53
7	3,333	40	20	1090,35	55,89
8	30	40	20	1201,75	54,79
9	16,6665	20	5	1199,28	46
10	16,6665	60	5	1311,45	60,1
11	16,6665	20	20	973,33	53,69
12	16,6665	60	20	1478,82	55,2
13	16,6665	40	12,5	1427,4	43,18
14	16,6665	40	12,5	1365,52	40,19
15	16,6665	40	12,5	1427,4	40

### VI.4.1. Résultats

Les résultats indiquent que le Span 60 exerce un effet important sur la taille des particules, avec une augmentation notable à chaque augmentation de sa quantité. La PM- $\beta$ CD semble également influencer la taille des particules, bien que leur effet soit moins marqué que celui du Span 60. En revanche, le cholestérol semble avoir un impact relativement mineur sur la taille des particules par rapport aux autres composants.

Selon les résultats, le taux d'encapsulation augmente avec l'utilisation de grande quantité du Span 60 et de la PM- $\beta$ CD, tandis que le cholestérol n'a pas une influence significative.

### VI.4.2. Observations et interprétations

Les résultats obtenus indiquent que l'utilisation de Span 60 conduit généralement à la formation de niosomes plus grands et plus stables en raison de sa longue chaîne alkyle. Cela améliore l'efficacité d'encapsulation des substances actives, notamment hydrophobes, comme observé dans notre cas avec la propolis, grâce aux propriétés hydrophobes du Span 60 et à la rigidité qu'il confère à la membrane [72]. En revanche, la PMBCD améliore la capacité d'encapsulation en augmentant à la fois la stabilité et la solubilité [70]. L'effet du cholestérol ne se manifeste que lorsque sa quantité est augmentée.

### VI.4.3. Modèle mathématique

La modélisation par le plan d'expérience Box–Behnken, nous a permis d'obtenir le modèle suivant :

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^2 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3.$$

$a_0$ : terme constant de l'équation;

Les constantes :  $a_1, a_2, a_3$  sont les coefficients linéaire polynomials ;

$a_{11}, a_{22}, a_{33}$  : effets quadratiques;

$a_{12}, a_{13}, a_{23}$  : effets d'interactions.

$$\text{Réponse} = \text{cst} + a_1\text{CD} + a_2\text{Span} + a_3\text{CHL} + a_{11}\text{CD}*\text{CD} + a_{22}\text{Span}*\text{Span} + a_{33}\text{CHL}*\text{CHL} + a_{12}\text{CD}*\text{Span} + a_{13}\text{CD}*\text{CHL} + a_{23}\text{Span}*\text{CHL}.$$

$$\text{Taille des particules} = 1390,17 + 37,4849\text{CD} - 140,667 \text{Span} - 11,0627\text{CH} - 205,051\text{CD}*\text{CD} + 151,424\text{Span}*\text{Span} - 75,5692\text{CHL}*\text{CHL} + 7,31327\text{CD}*\text{Span} + 6,17966\text{CD}*\text{CHL} + 61,6237\text{Span}*\text{CHL}.$$

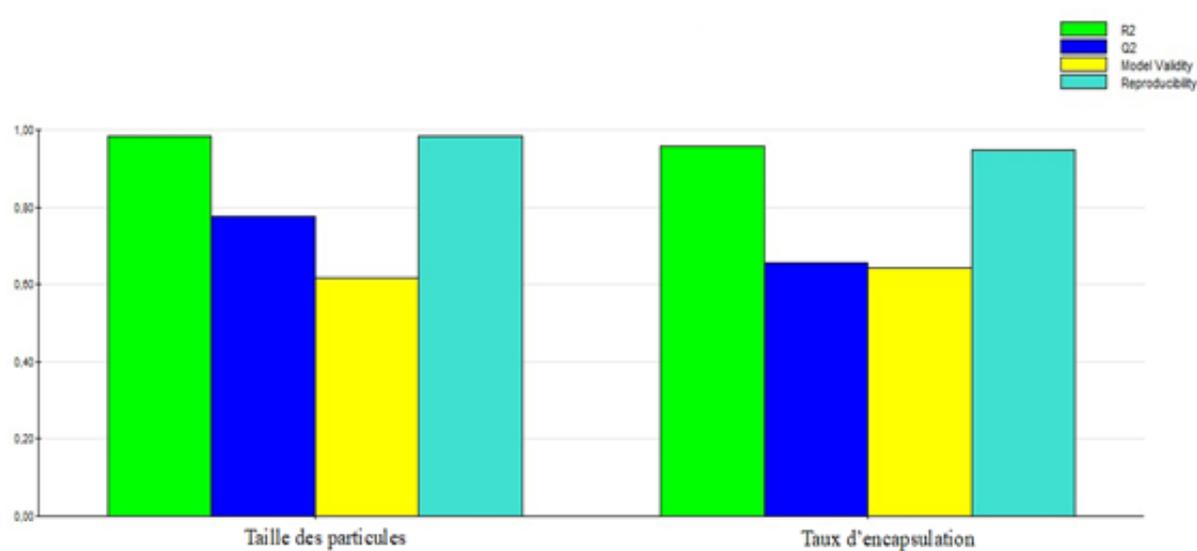
$$\text{Taux d'encapsulation} = 41,5452 + 3,66721\text{CD} + 2,01403\text{Span} - 0,0883176\text{CHL} + 2,36712\text{CD}*\text{CD} + 0,619395\text{Span}*\text{Span} + 6,17367\text{CHL}*\text{CHL} - 0,544675\text{CD}*\text{Span} - 2,33982\text{CD}*\text{CHL} - 2,00022\text{Span}*\text{CHL}.$$

Ce modèle offre la possibilité de déterminer un optimum, qui sera examiné ultérieurement.

## CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSIONS

### VI.4.4. Analyse statistique

Les paramètres statistiques présentés dans la figure (VI.2) sont R<sup>2</sup> et Q<sup>2</sup>, qui représentent respectivement l'aptitude du modèle à expliquer et à prédire les résultats observés. Lorsque ces paramètres se rapprochent de 1, cela indique que le modèle est capable d'expliquer la variation des données et de prédire précisément la réponse, ce qui confirme la validité du modèle. En revanche, lorsque ces paramètres tendent vers 0, le modèle ne peut ni expliquer la variation des données ni fournir des prédictions précises, suggérant ainsi que le modèle n'est pas valide et ne peut pas être utilisé.



**Figure VI.2.** Facteurs statistiques du plan d'expérience étudié.

Les valeurs numériques des facteurs statistiques les plus significatifs sont récapitulées dans le tableau ci-dessous:

**Tableau VI.2.** Présentation des valeurs de l'analyse statistiques.

	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Adj	Q <sup>2</sup>	Lack of fit	Reproductibilité
<b>Taille des particules</b>	0.985	0.959	0.775	0.216	0.984
<b>Taux d'encapsulation</b>	0.957	0.879	0.656	0.241	0.949

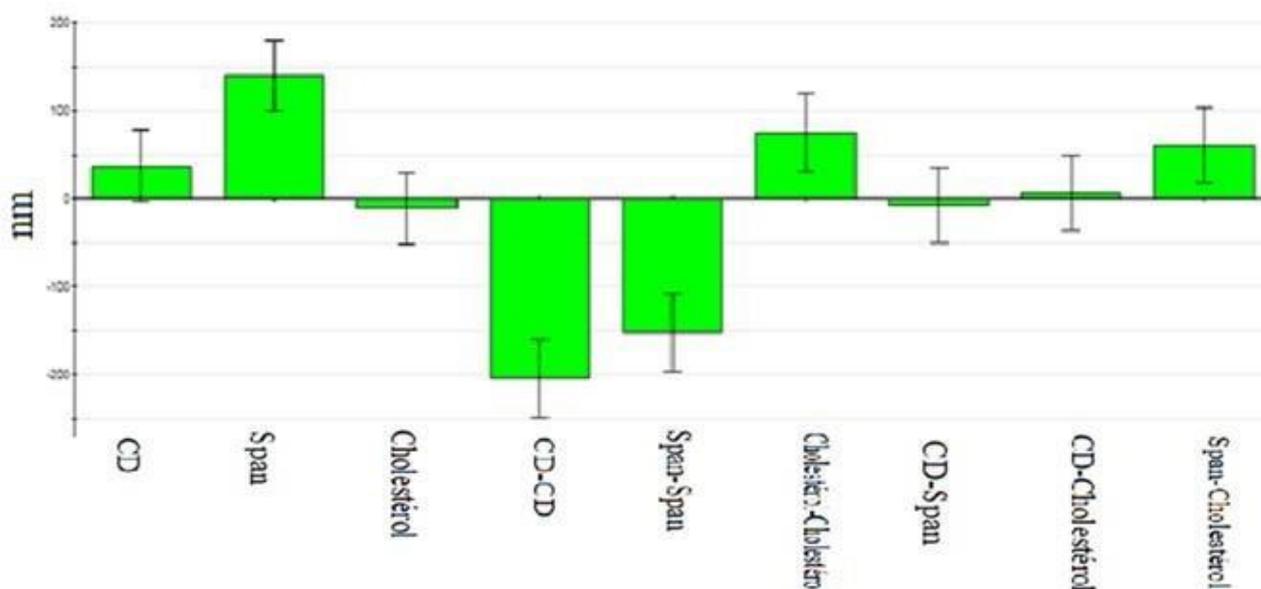
### VI.4.5. Explication des données du plan d'expérience

Les résultats expérimentaux du tableau VI.2 montrent que la valeur de R<sup>2</sup> est proche de 1, ce qui indique que notre modèle explique efficacement les effets des facteurs sur la taille des niosomes et sur le taux d'encapsulation. De plus, la valeur de Q<sup>2</sup> démontre que le modèle prédit avec précision, à hauteur de 77.5% la taille des particules et à 87.9% le taux d'encapsulation.

### VI.4.6. Etude des effets propres

#### VI.4.6.1. L'influence des facteurs sur la taille des niosomes

Les effets propres des facteurs sur les tailles des niosomes sont présentés dans la figure (VI.3)



**Figures VI.3.** Histogramme représente l'influence des facteurs sur la taille des niosomes.

Nous remarquons que la CD, le Span, ainsi que les interactions Span-cholestérol et cholestérol-cholestérol et CD-Cholestérol ont un effet positif sur la taille des particules, ce qui se traduit par une augmentation (barre dirigée vers le haut). En revanche, le cholestérol, les interactions Span-Span, CD-CD, CD-Span ont une influence négative sur la taille des particules ce qui se traduit par une diminution de la taille (barre dirigée vers le bas).

La CD stabilise les bicouches des niosomes en formant des complexes d'inclusion avec l'extrait de propolis, favorisant ainsi leur croissance[53].

Le Span, un tensioactif non ionique, est essentiel pour former et stabiliser les bicouches niosomales en réduisant la tension superficielle, ce qui favorise la formation de bicouches plus grandes. Cependant, une concentration élevée de Span peut déséquilibrer la composition

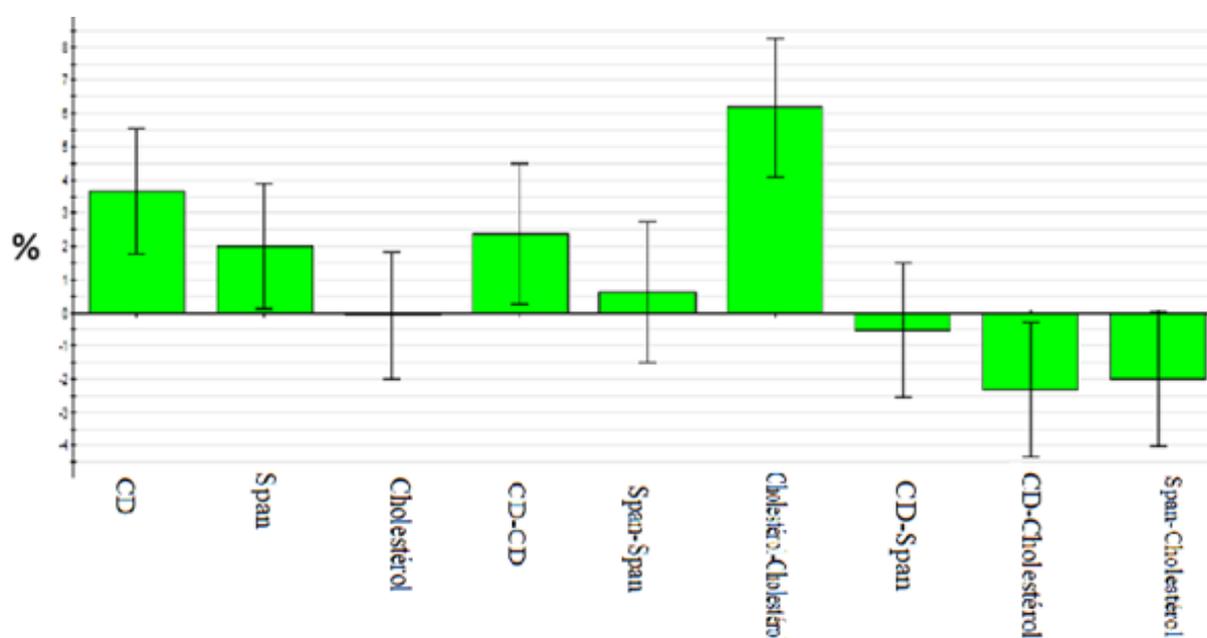
## CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSIONS

lipidique, altérer la fluidité membranaire, et provoquer une courbure excessive et une instabilité des niosomes, ce qui réduit leur taille.

À faible concentration, le cholestérol renforce la cohésion des bicouches lipidiques, augmentant leur stabilité tout en réduisant leur taille. En interagissant avec lui-même ou avec le Span, le cholestérol sature les bicouches, les rendant plus rigides et favorisant la formation de niosomes plus grands et plus stables. L'interaction entre CD et Span réduit la taille des particules en raison de la compétition pour l'incorporation dans les bicouches.

### VI.4.6.1. Les effets propres des facteurs sur le taux d'encapsulation

Les effets propres des facteurs sur le taux d'encapsulation sont présentés dans la figure (VI.4)



**Figures VI.2.** Histogramme représente l'influence des facteurs sur le taux d'encapsulation.

La CD et le Span et les interactions CD-CD, cholestérol-cholestérol exercent un effet positif sur le taux d'encapsulation cela s'explique par la présence de la CD qui peut encapsuler plus de composés actifs de la propolis [70]. Le Span, en tant que composant majeur de la formation des niosomes, assure et renforce également la stabilité en augmentant la cohésion de la bicouche. Par ailleurs, le doublement de la quantité de cholestérol a un effet positif sur le taux d'encapsulation, car il joue un rôle crucial dans la structure et la fonctionnalité des niosomes. Le cholestérol contribue à stabiliser la bicouche lipidique et à augmenter la rigidité de la membrane. De plus, il diminue la perméabilité, ce qui permet de retenir les molécules encapsulées à l'intérieur des vésicules, empêchant ainsi leur fuite prématurée [72].

## CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSIONS

D'autre part, les interactions CD-Span, CD-Cholestérol, Span-Cholestérol ont un effet négatif sur le taux d'encapsulation qui peut être réduit en raison des interactions entre la CD, le Span et le cholestérol. En d'autres termes, le Span et le cholestérol occupent la bicouche à la place de l'extrait, ce qui diminue le taux d'encapsulation de ce dernier.

### VI.5. Détermination des conditions optimales

Notre objectif est de rechercher la taille minimale des niosomes permettant d'atteindre le taux d'encapsulation le plus élevé afin d'améliorer la solubilité des constituants de l'extrait de propolis.

Grâce au logiciel Modde 6.0, nous avons identifié les conditions optimales de fabrication des niosomes pour notre système d'encapsulation (voir tableau VI.3).

**Tableau VI.3.** Les conditions optimales de notre système d'encapsulation.

C CD	C Span	C CHL	Tailles des particules	Taux d'encapsulations
3.333 mg/ml	20 mg/ml	20 mg/ml	516.821 nm	56.585 %

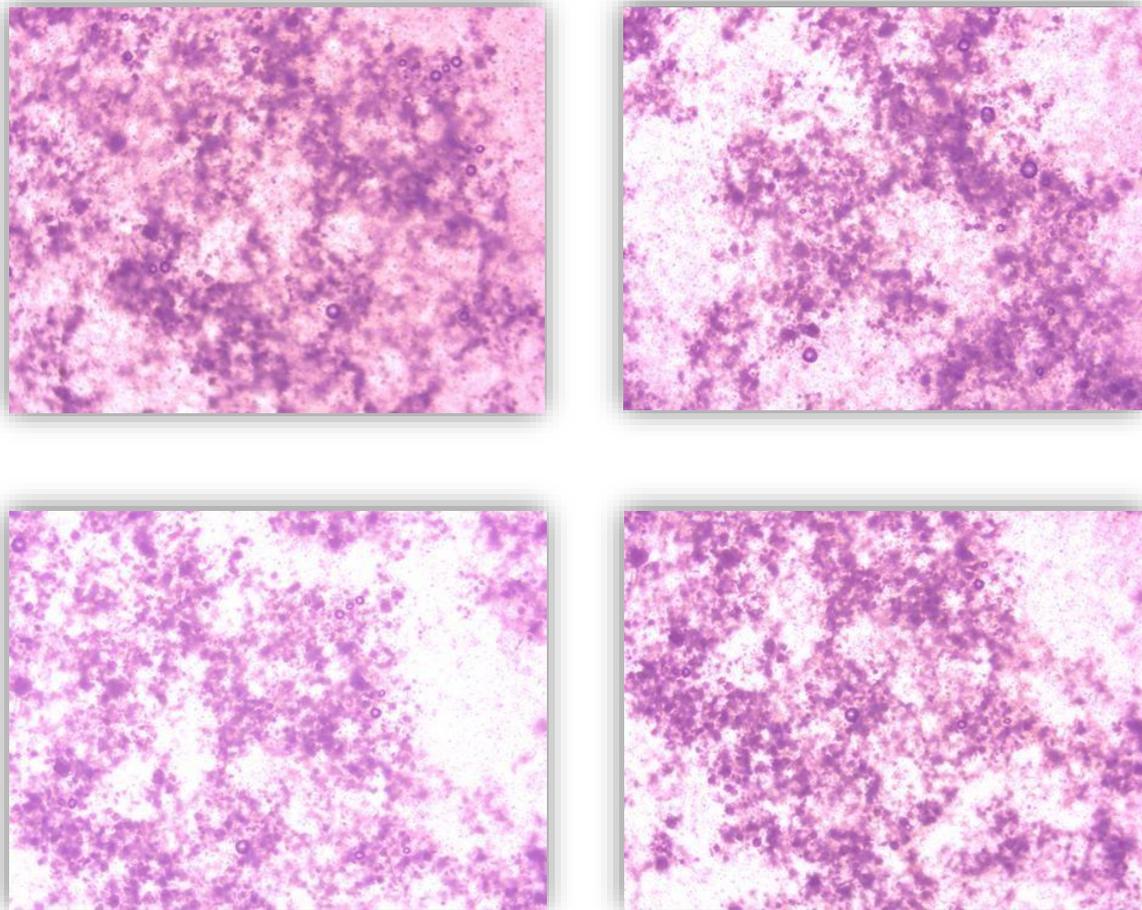
#### VI.5.1. Resultats

Pour atteindre l'optimum, les résultats suggèrent l'utilisation d'une concentration de 3,333 mg/ml de PM- $\beta$ CD et de 20 mg/ml de span et 20 mg/ml de cholestérol pour obtenir la taille et le taux désirés.

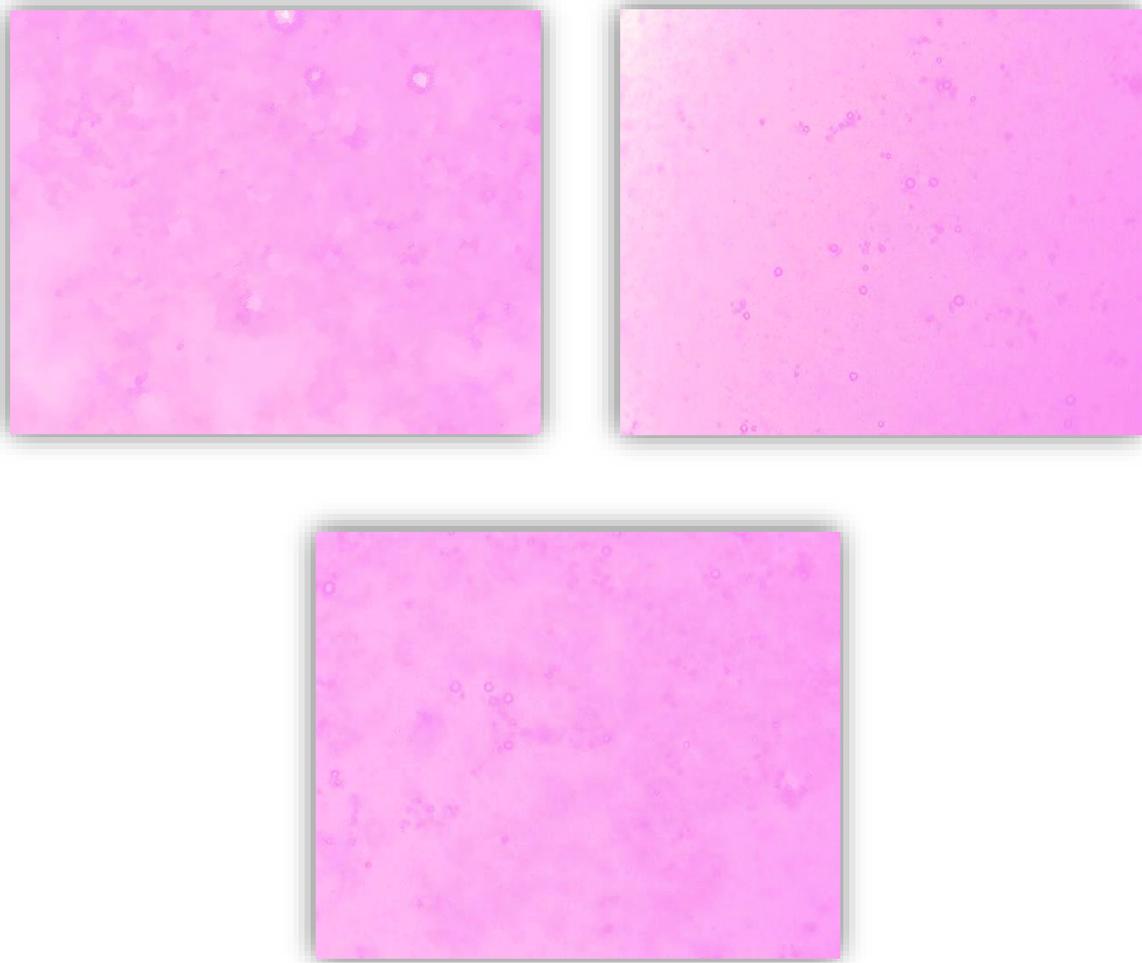
En se basant sur les résultats, nous avons préparé deux suspensions niosomales optimales : une contenant de l'extrait de propolis et l'autre sans extrait (placebo).

### VI.6. Détermination de la taille des suspensions niosomales optimales

Après avoir réalisé la préparation des suspensions niosomales selon les paramètres définis dans le plan d'expérience, nous avons pu évaluer la taille des niosomes à l'aide d'un microscope optique, nous avons obtenu une taille de 557.283 nm (voir la figure VI.5) pour l'optimum, et la taille des particules du placebo est de 426.80 nm (voir la figure VI.6).



**Figures VI.3.** Taille des niosomes formés (optimum) évaluée à l'aide d'un microscope optique.



**Figure IV.4.** Taille des niosomes formés (placebo) évaluée à l'aide d'un microscope optique

### VI.7. Détermination de taux d'encapsulation des suspensions niosomales optimales

Après avoir préparé les suspensions niosomales avec les conditions proposées par le plan d'expérience, nous avons pu déterminer le taux d'encapsulation qui est de 34.81%.

Le taux d'encapsulation a été déterminé en utilisant la formule suivante :

$$\text{Taux d'encapsulation \%} = 100 - ((C_i - C_{\text{encapsulé}}) / C_i) * 100$$

#### VI.7.1. Observation et interprétation

Les résultats expérimentaux indiquent que la taille des niosomes correspond aux valeurs visées, cependant le taux d'encapsulation est légèrement inférieur à ce qui était prévu par le plan d'expérience. Cette différence peut s'expliquer par la volatilité des composants actifs de la

## CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSIONS

propolis ou par une éventuelle dégradation de la suspension niosomale, peut-être due à une mauvaise conservation.

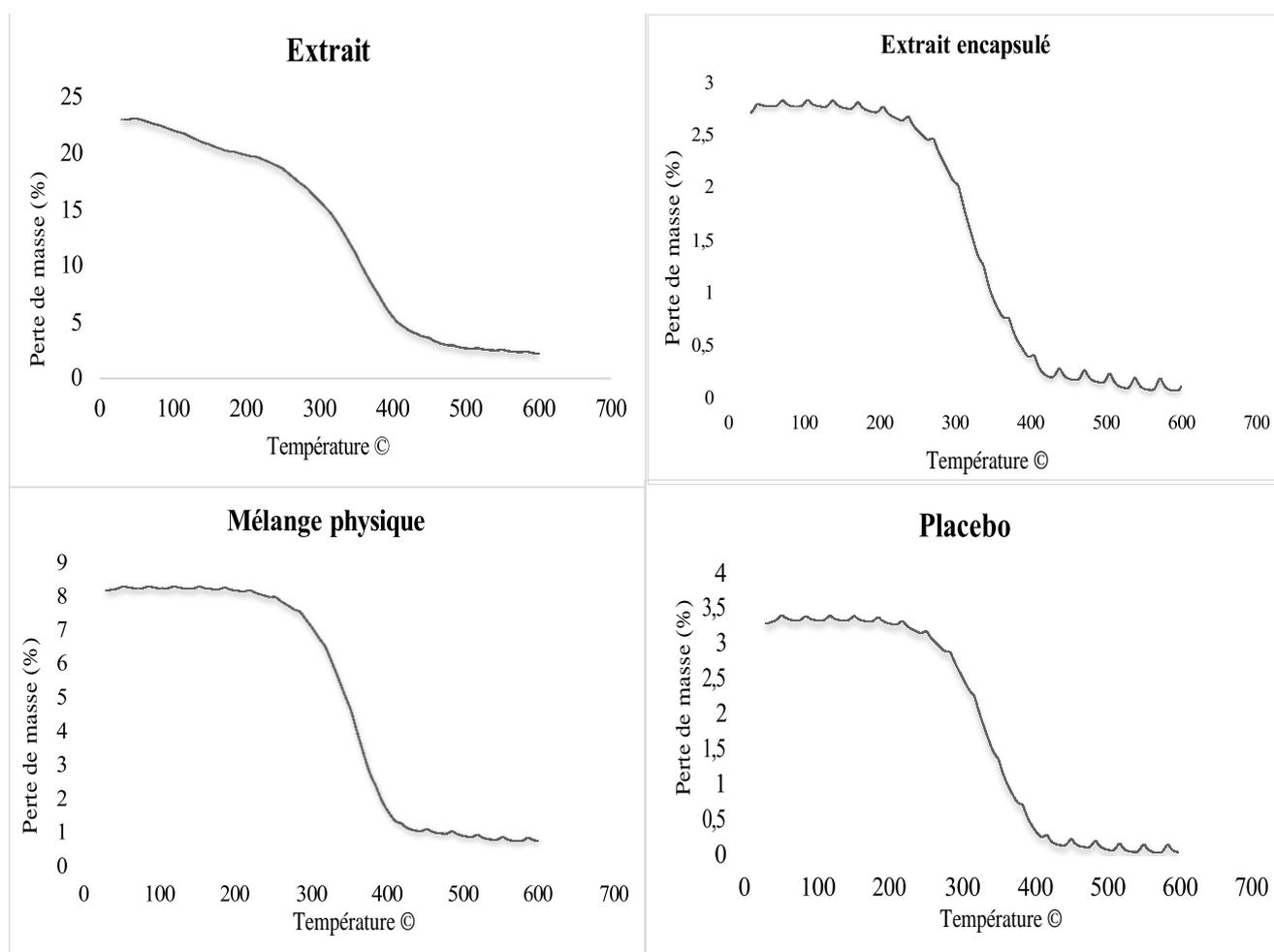
En comparant les résultats de la taille des particules de la suspension niosomale contenant l'extrait avec ceux du placebo, on observe une augmentation de la taille dans la première, confirmant ainsi que notre extrait a été encapsulé.

### VI.8. Caractérisation de la formulation optimale

#### VI.8.1. Analyse thermogravimétrique (ATG)

##### VI.8.1.1. Résultats

Les résultats de l'analyse thermogravimétrique (ATG) sont présentés sous forme des courbes suivantes :



**Figure VI.7.** Courbes présentent la perte de masse des différents échantillons.

### VI.8.1.2. Observations et interprétations

Pour l'extrait on observe une diminution significative de la masse à partir de 50°C, attribuable à la volatilité de certains composés de l'extrait de propolis. Cette diminution se poursuit jusqu'à 400°C, où la plupart des composés de la propolis semblent se dégradés.

Entre 30°C et 200°C, la courbe du placebo est stable. Au-delà de 220°C, une chute notable de la masse est observée, indiquant la dégradation des composés de la suspension niosomale, tels que le cholestérol, le Span et la cyclodextrine. Cette dégradation se poursuit jusqu'à 400°C, où une décomposition totale des niosomes est constatée.

Pour l'optimum, on remarque que la perte de masse commence presque à 220°C. En comparant avec l'extrait, on observe qu'il n'y a pas d'évaporation des composés volatils de l'extrait de propolis, ce qui prouve que l'extrait a été bien encapsulé. Au-delà de cette température, la courbe montre un comportement similaire à celui du placebo, avec la dégradation des différents composés de la suspension niosomale, suivie de leur décomposition totale.

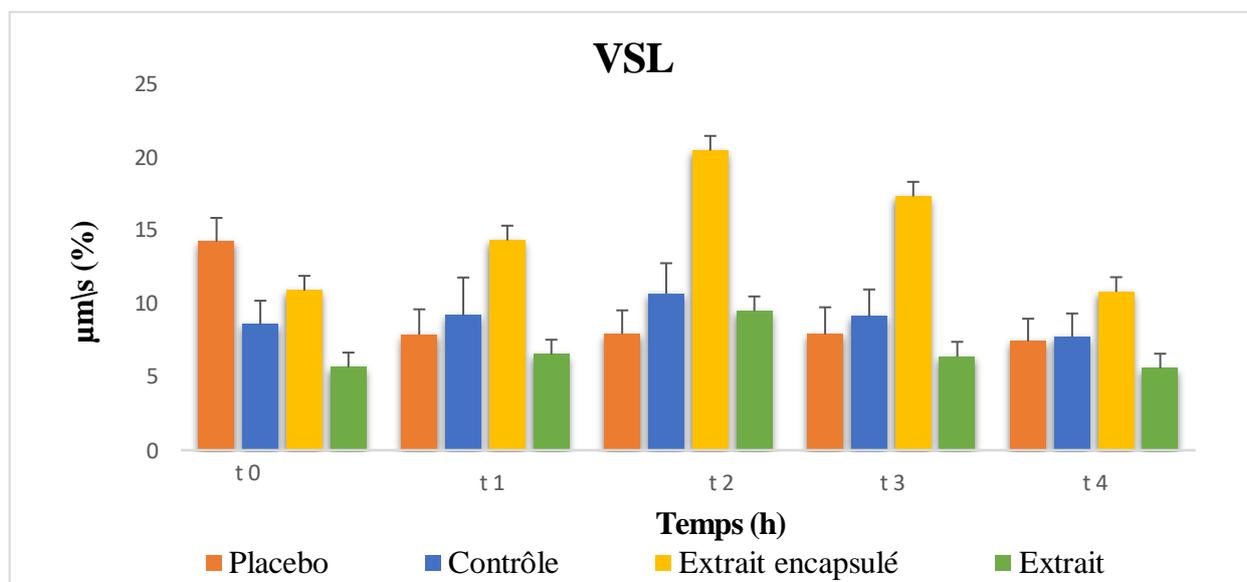
Le mélange physique constitué de cyclodextrines, de Span et de cholestérol présente une perte de masse débutant autour de 220°C, ce qui correspond à la dégradation thermique des composés, et s'étend sur une large plage de températures. Au-delà de 400°C, la courbe se stabilise, indiquant la décomposition totale des composés du mélange physique.

## VI.9. Les effets biologiques

### VI.9.1. Test de motilité des spermatozoïdes (détermination de la trajectoire en ligne droite (VSL))

#### VI.9.1.1. Résultats

Les résultats du test de motilité spermatique sont représentés dans le diagramme suivant :



Figures VI.8. Diagramme de la vitesse de la trajectoire en ligne droite (VSL).

La figure VI.8. Présente les effets de divers traitements, notamment l'extrait de propolis, le contrôle (sperme), le placebo et L'extrait encapsulé (niosome-CD-propolis) sur la motilité des spermatozoïdes, en examinant spécifiquement leur vitesse de déplacement.

#### VI.9.1.2. Observations et interprétations

A t0, le placebo (niosome-CD) a un effet positif et significatif. Cela s'explique par la similitude de sa membrane avec celle du sperme, renforcée par la présence de cholestérol, qui joue un rôle important contre le stress oxydatif. En revanche, l'extrait encapsulé montre un effet positif mais moins marqué que le placebo. Par rapport au contrôle, l'extrait n'a pas d'effet notable, car il n'a pas eu suffisamment de temps pour interagir avec le sperme.

À t1=2H, on observe une diminution de l'effet du placebo, tandis que les extraits, y compris l'extrait encapsulé, ont commencé à augmenter. Cette augmentation est attribuable au début de la réaction de la propolis avec le sperme, ce qui renforce leur effet sur la VSL.

## CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSIONS

À t<sub>2</sub>=4H, l'extrait encapsulé a montré une amélioration significative par rapport au contrôle. Cette amélioration est due au temps suffisant pour que la propolis réagisse avec le sperme, et à l'efficacité de l'encapsulation qui a préservé les composants actifs de notre extrait. Cette réponse positive est principalement attribuée à l'effet antioxydant des polyphénols contenus dans la propolis. En revanche, l'extrait non encapsulé n'a toujours montré aucun effet sur le sperme, probablement en raison de la volatilité des composants actifs de la propolis.

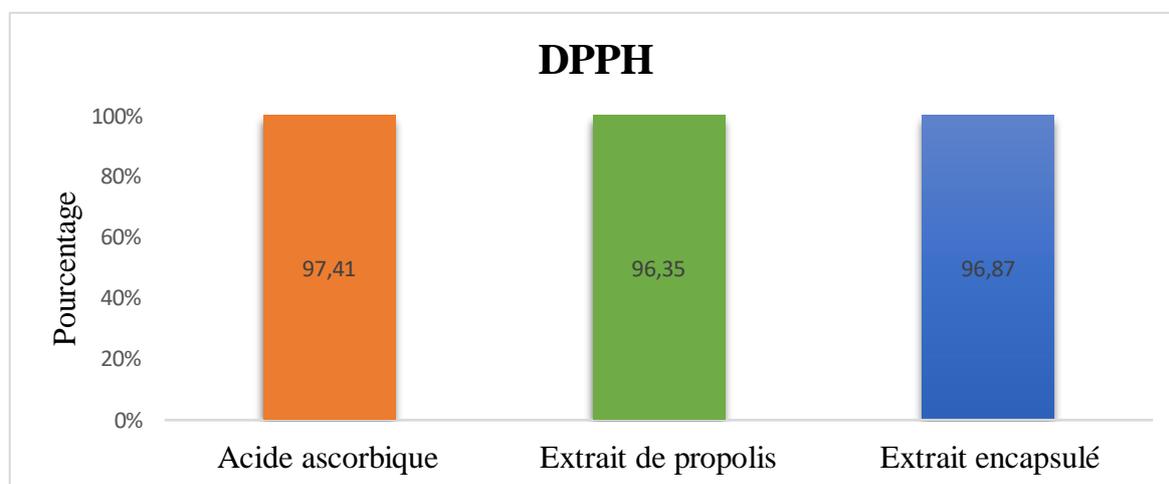
À t<sub>3</sub>=24H et à t<sub>4</sub>=72H, on constate que l'extrait encapsulé continue à présenter un effet positif par rapport aux autres échantillons. Cette observation peut s'expliquer par l'effet antioxydant des composés actifs de la propolis, tels que les polyphénols et les flavonoïdes. De plus, la présence de cholestérol dans l'extrait encapsulé contribue à protéger la membrane cellulaire des spermatozoïdes en formant des complexes avec les radicaux libres pendant la cryoconservation.

Les résultats de l'étude mettent en évidence le potentiel prometteur des niosomes pour améliorer la solubilité de la propolis dans le milieu de conservation tout en renforçant la protection des spermatozoïdes. En encapsulant les composés actifs de la propolis, tels que les polyphénols et les flavonoïdes, les niosomes offrent une libération contrôlée et une meilleure efficacité. Des résultats similaires ont été trouvés sur l'impact et l'effet de l'extrait par TOUTOU et al, 2022 [74].

### VI.9.2. Activité antioxydante par la méthode de DPPH

#### VI.9.2.1. Résultats

L'activité antioxydante des extraits et ceux encapsulés ont montré des taux d'inhibition variables. Les résultats obtenus sont présentés sous forme de diagramme suivant :



**Figures VI.9.** Diagramme de l'évaluation de l'activité antioxydante.

### VI.9.2.2. Observation et interprétation

L'effet antioxydant d'acide ascorbique (vitamine C) atteint 97.41% (contrôle positif) présente le taux le plus élevé, confirmant son puissant effet antioxydant.

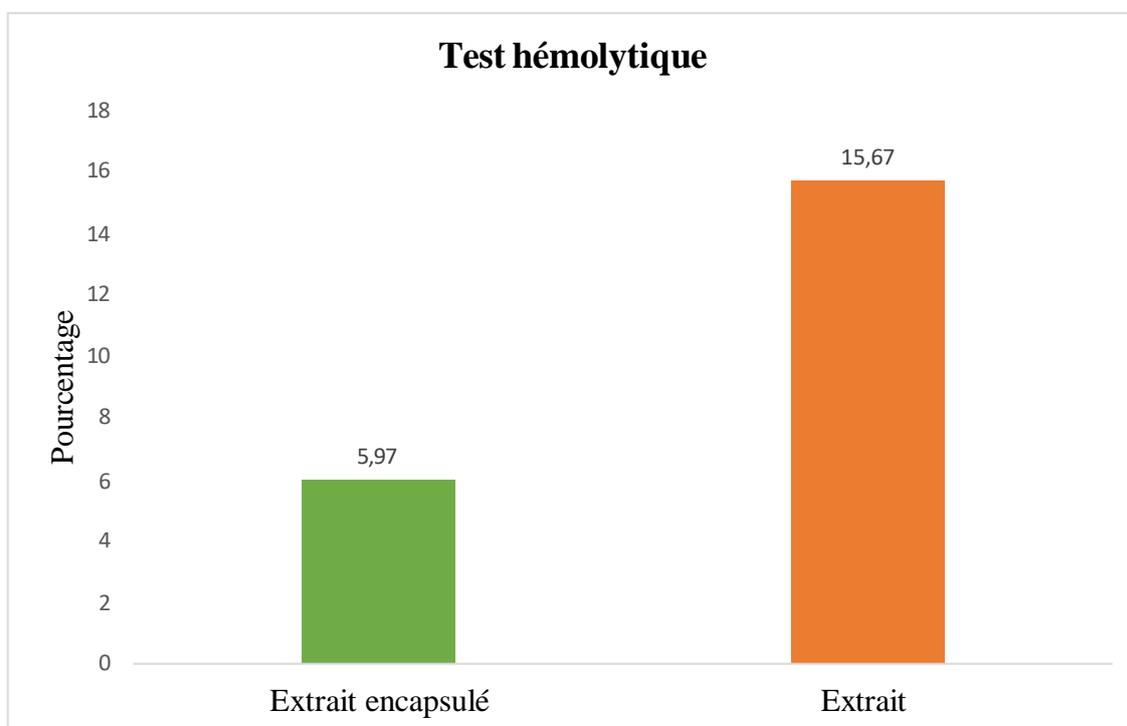
Le pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH est élevé pour l'extrait de propolis, ainsi que l'extrait encapsulé, cela indique une grande capacité antioxydante. Cette capacité est largement influencée par la variation de la composition chimique de la propolis, constituant ainsi le principal facteur contribuant à l'effet antiradicalaire observé dans cette étude. En raison de son pouvoir réducteur important, la propolis est susceptible de jouer un rôle crucial dans le maintien de la stabilité des membranes cellulaires et dans la lutte contre le stress oxydatif.

Ces résultats confirment l'efficacité des extraits de propolis en tant qu'agents antioxydants, avec des performances comparables à l'acide ascorbique.

### VI.9.3. Activité cytotoxique (test hémolitique)

#### VI.9.3.1. Résultats

Les résultats du test hémolitique sont présentés dans le diagramme suivant :



**Figure VI.10.** Diagramme de test hémolitique.

## CHAPITRE VI : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le pourcentage d'inhibition d'hémolyse a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\% = (\text{abs contrôle} - \text{abs échantillon}) / \text{abs contrôle} \times 100$$

### VI.9.3.2. Observations et interprétations

Les résultats du test hémolytique indiquent que l'extrait de propolis, montre un taux d'inhibition de l'hémolyse de 15.67 %. En revanche, l'extrait encapsulé affiche un taux d'inhibition de 5.97 %.

L'action anti hémolytique de l'extrait de propolis est notable grâce à leurs composants phénoliques, notamment les flavonoïdes. Ces derniers piègent efficacement les espèces réactives de l'oxygène (ERO), responsables de l'oxydation des lipides membranaires. De plus, les flavonoïdes s'intègrent dans la membrane cellulaire des érythrocytes.

Les résultats des tests ont révélé que l'extrait présente une toxicité supérieure à 10 %, indiquant une certaine toxicité. En revanche, l'extrait encapsulé montre une toxicité inférieure à 10 %, confirmant qu'il peut être utilisé sans risque d'hémolyse. De plus, l'encapsulation mixte a joué un rôle crucial en facilitant le mécanisme d'action des composants de l'extrait de propolis.

Des résultats similaires ont été trouvés sur la propolis par TOUTOU et al, 2023[70] et par Wozniak et al, 2020 [76].

# **CONCLUSION GENERALE**

## CONCLUSION GENERALE

Dans ce travail, nous avons optimisé et caractérisé le procédé d'encapsulation mixte de l'extrait de propolis en utilisant la cyclodextrine et les niosomes, afin d'améliorer la solubilité de l'extrait de propolis.

Un enchaînement d'étapes importantes et nécessaires ont été suivi. La première partie de ce travail concerne la préparation d'un extrait de propolis provenant de la région de Melbou. Ensuite, nous avons préparé la suspension niosomale en utilisant un plan d'expérience, ce qui nous a permis d'étudier les paramètres influençant sur le taux d'encapsulation et la taille des niosomes formés. Après avoir réalisé les 15 essais proposés par le plan d'expérience, nous avons pu déterminer la suspension niosomale optimale.

La suspension niosomale optimale obtenue a été caractérisée par une analyse thermogravimétrique (ATG). Nous avons également étudié son effet antioxydant, ainsi que son effet cytotoxique (test hémolytique) et son impact sur la motilité des spermatozoïdes.

D'après cette étude, nous avons obtenu les résultats suivants :

- ✓ Le rendement d'extraction de la propolis provenant de la région de Melbou est de 12,16 %.
- ✓ En utilisant l'analyse UV-visible, nous avons quantifié la teneur en flavonoïdes, notamment en quercétine présente dans l'extrait de propolis.
- ✓ Après la préparation de la suspension niosomale optimale nous avons calculé le taux d'encapsulation qui est de 34,81 %. De plus, nous avons évalué sa taille à l'aide d'un microscope optique, obtenant une mesure de 557,283 nm, tandis que la taille des particules du placebo était de 426,80 nm.
- ✓ L'analyse thermogravimétrique (ATG) nous a permis de constater une amélioration de la stabilité thermique de l'extrait encapsulé par rapport à l'extrait seul.
- ✓ Les résultats obtenus ont démontré l'effet antioxydant puissant et la faible toxicité de l'extrait encapsulé sur les globules rouges, ainsi que son effet protecteur et conservateur sur les cellules spermatiques.

Ces résultats soulignent les avantages de l'encapsulation mixte, notamment une meilleure solubilité et stabilité de la propolis, ouvrant la voie à de futures recherches et à une valorisation industrielle.

Il serait intéressant de compléter cette étude par :

## CONCLUSION GENERALE

- ✓ Inclure dans la formulation niosomale d'autres types de cyclodextrine, possédant une meilleure solubilité tels que : HP $\beta$ CD et  $\gamma$ -CD.
- ✓ Réaliser d'autres caractérisations physico-chimique tels que : le MEB, la DSC, l'index de polydispersité, et l'RMN.
- ✓ Effectuer des tests in vivo de la formulation niosomale optimale obtenue.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] H. Abbad et al. « Contribution à l'étude des effets antioxydants d'extrait éthanolique de propolis de la Wilaya de Sétif ». Mémoire de fin d'études, Université Abou-Bekr Belkaid Tlemcen, 2016.
- [2] G. Pereira. « Synthèse de nouveaux polymères en étoile à cœur cyclodextrine ». Thèse de doctorat, Université d'Évry Val d'Essonne, 2015.
- [3] B. Séverine. « Caractérisation chimique et valorisation biologique d'extraits de propolis ». Thèse de doctorat, Université d'Angers, 2014.
- [4] D. Abdelhadi. « L'apiculture à la portée de tous ». Éditions Béjaïa : Talantikit, Douzième édition, p.237-239, 2018.
- [5] F. Poitier. « La propolis, propriétés et intérêt thérapeutique ». Thèse de doctorat, Université de Lorraine, 2014.
- [6] N. Elisabeth. « L'intérêt de la propolis dans la prévention bucco-dentaire : propriétés bactéricides et cariostatiques d'un produit naturel ». Thèse de doctorat, Université de Bordeaux, 2020.
- [7] T. Ouadjir. « Propolis : production, composition, propriétés biologiques et utilisation ». Mémoire de fin d'études, Université Mouloud Mammeri, 2021.
- [8] Y. Mokhtaria. « Exploration du potentiel antimicrobien et antioxydant de la propolis ». Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis, 2014.
- [9] H. Abbad et al. « Contribution à l'étude des effets antioxydants d'extrait éthanolique de propolis ». Mémoire de fin d'études, Université Sétif, 2016.
- [10] N. El Housseini. « Intérêts et applications cliniques de la propolis en médecine bucco-dentaire ». Thèse de doctorat, Université de Nantes, 2013.
- [11] K. Boureghda et al. « Étude de l'effet de la propolis sur le système immunitaire ». Mémoire de fin d'études, Université 8 Mai 1945, 2019.
- [12] J. Lacube. « L'ABC de l'apiculture ». Édition Rustica Paris, p.80-84, 2013.
- [13] M. Barbosa. « Therapeutic properties of propolis for treatment of skin lesions ». Acta Paul Enferm, 22(3):318-22, 2009.
- [14] N. Cardinault et al. « La propolis : origine, composition et propriétés ». Phytothérapie, 10:298-304, 2012.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [15] P. Guillaume. « Synthèse de nouveaux polymères en étoile à cœur cyclodextrine ». Thèse de doctorat, Université d'Évry Val d'Essonne, 2015.
- [16] N. Florian. « Étude Structure, Activité de nouveaux vecteurs membranaires à base de Cyclodextrines Amphiphiles ». Thèse de doctorat, Université de Picardie Jules Verne, 2015.
- [17] S. Margot. « Relation entre la structure et les propriétés d'organisation de nouvelles cyclodextrines amphiphiles ». Thèse de doctorat, Université de Picardie Jules Verne, 2003.
- [18] E. Oliva. « Nano-réacteurs à base de cyclodextrines amphiphiles pour la catalyse et la vectorisation ». Thèse de doctorat, Université de Picardie Jules Verne, 2019.
- [19] G. Pembouong. « Caractérisation de polymères supramoléculaires hiérarchiques à base de cyclodextrines fonctionnalisées ». Thèse de doctorat, Sorbonne Université, 2018.
- [20] S. Rigaud. « Outils analytiques dédiés aux Cyclodextrines : de l'analyse des complexes d'inclusion à la caractérisation d'isomères ». Thèse de doctorat, Université de Picardie Jules Verne, 2022.
- [21] R. Jacquet. « Cyclodextrines hydrophiles : caractérisation et étude de leurs propriétés énantiométrique et complexante ». Thèse de doctorat, Université d'Orléans, 2006.
- [22] M. Jaremko et al. « Cyclodextrins: Structural, chemical, and physical properties, and applications ». *Polysaccharides*, 3(1):1-31, 2021.
- [23] H. Dhordain. « Fonctionnalisation d'une structure non tissée par la cyclodextrine pour l'élaboration d'un textile biocide ». Thèse de doctorat, Université des Sciences et Technologies de Lille, 2011.
- [24] A. Decottignies. « Catalyse dans l'eau en présence de cyclodextrine native ou modifiée – Application au couplage croisé de type Suzuki ». Thèse de doctorat, École doctorale 71, Sciences pour l'ingénieur Compiègne, 2013.
- [25] J. Szejtli. « Cyclodextrins and Molecular Encapsulation ». *Chimica oggi*, 3:17-21, Université Budapest, 1987.
- [26] S. Khaoulani. « Traitement d'eaux usées par adsorption sur des polymères de cyclodextrine et développement de capteurs chimiques à base de membranes de verres de chalcogénures destinées à la détection des ions  $Hg^{2+}$  ». Thèse de doctorat, Université du Littoral Côte d'Opale, 2015.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [27] S. Benhadi. « Greffage de cyclodextrines modifiées par traitement Corona sur matériaux celluloseux ». Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré Nancy 1, 2010.
- [28] B. Cheirsilp et al. « Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing an essential oil component ». *Food Chemistry*, 196:968-975, 2015.
- [29] 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, Université du Littoral Côte d'Opale, 2015.
- [30] Société Chimique de France (SCF). « Quelques applications des complexes d'inclusion cyclodextrine/substrat ». *L'Actualité Chimique*, N°251, 2020.
- [31] B. Cheirsilp et al. « Inclusion complex formation of cyclodextrin with its guest and their applications ». *Food Chemistry*, 2(1), 2017.
- [32] N. Bouchalta et al. « Les cyclodextrines : applications en science pharmaceutique ». Thèse de doctorat, Université Mohammed V de Rabat, 2017.
- [33] M. Florian. « Synthèses de nouveaux Podants et Coilants Bipyridines-Cyclodextrine et Caractérisation de leurs Complexes Métallo-Supramoléculaires ». Thèse de doctorat, Université de Lorraine, 2016.
- [34] S. Khoei et al. « Niosome: a novel approach in modern drug delivery systems ». *Nanostructures for Drug Delivery*, 207-237, Université of Tehran, 2017.
- [35] S. Chen et al. « Recent advances in non-ionic surfactant vesicles (niosomes) : fabrication, characterization, pharmaceutical and cosmetic applications ». *Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics European*, 144:18-39, 2019.
- [36] T. Pranshu et al. « Niosomes : formulation and evaluation ». *International Journal of Biopharmaceutics*, 2(1):47-53, 2011.
- [37] R. Mohammed et al. « Niosomes: A nanocarrier drug delivery system ». *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 22(2):120-127, 2023.
- [38] K. Arumugam. « A Novel Carrier Drug Delivery System ». *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 11(1):162-170, 2021.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [39] B.S. Reddy et al. « Niosomes as nanocarrier systems ». *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(6):1560-1568, 2012.
- [40] S. Hadj et al. « Encapsulation du Fluconazole dans les niosomes et les liposomes ». Mémoire de fin d'études, Université Abou-Bekr Belkaid Tlemcen, 2019.
- [41] A. Shewaiter et al. « Niosomes as a Novel Pharmaceutical Carrier: Structure, Classification and Preparation Methods ». *Records of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2023.
- [42] S. Deepak. « Niosomes: a novel vesicular approach ». *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5(12), 2016.
- [43] A. Bagheri et al. « Niosomal Drug Delivery Systems: Formulation, Preparation and Applications. Institute of Bioproduct Development, University Teknologi Malaysia ». *World Applied Sciences Journal*, 32(8):1671-1685, 2014.
- [44] Motwani et al. « Effet de la qualité des solvants sur la détermination de la taille des particules et de la polydispersité des nanoparticules de niosomes ». *Le Bulletin de l'Union des Professeurs de Physique et de Chimie*, 107(952):327-339, 2013.
- [45] P.K. Arunothayan et al. « Niosomes as novel vesicular drug delivery system ». *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(2), 2018.
- [46] D. Satish et al. « Nanoparticles : effective carriers for drug delivery ». *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9(2):1-5, 2020.
- [47] M. Abdelkader et al. « Encapsulation of a hydrophilic drug by the niosomes ». *International Journal of Research in Controlled Release*, 1(1):1-8, 2011.
- [48] K. Dhanvir et al. « Niosomes: present scenario and future aspects ». *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 8(5):35-43, 2018.
- [49] L. Akdim. « Comparaison de méthodes d'adsorption et d'encapsulation de l'huile essentielle de *Copaifera officinalis* L ». Projet de fin d'étude, Université de Liège, 2017.
- [50] N.D. Estrella et al. « Encapsulation des huiles essentielles de clou de girofle pour leur application dans l'industrie alimentaire ». Thèse de doctorat, Université d'Avignon, 2011.
- [51] M. Whelehan et al. « Microencapsulation using vibrating technology ». *Journal of Microencapsulation*, 28:669-688, 2011.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [52] N. Zeghouani. « Encapsulation de molécules biologiquement actives dans des systèmes complexes à base de biopolymères ». Projet de fin d'étude, Université Frères Mentouri, Constantine 1, 2022.
- [53] N.D. Machado et al. « Cyclodextrin modified niosomes to encapsulate hydrophilic compounds ». RSC Advances, 8:29909-29916, 2018.
- [54] B. Hettich et al. « Encapsulation of Hydrophilic Compounds in Small Extracellular Vesicles: Loading Capacity and Impact on Vesicle Functions ». A Versatile Biomaterial, 11(5), 2021.
- [55] S. Margot. « Encapsulation d'espèces lipophiles actives par émulsion double ». Thèse de doctorat, Université de Bordeaux, 2018.
- [56] A. Faure. « L'encapsulation chimique et physico-chimique d'actifs ». Recherche & Développement, 2023.
- [57] N. Morin. « Quelques applications des complexes d'inclusion cyclodextrine/substrat ». Actualité Chimique, N°251, 2001.
- [58] F. Benaïssa et al. « Caractérisation des émulsions doubles (huile dans eau dans huile) stabilisées avec du caseinate de sodium ». Rev. Sci. Technol., Synthèse, 27:99-106, Université de Médéa, 2013.
- [59] A. Belhadi et al. « Synthèse par coprécipitation et caractérisation des nanopoudres d'oxyde de zinc dopé ». Journal of Materials Science and Chemical Engineering, 4:1-15, 2016.
- [60] M.J. Lis Arias. « Study of Microcapsules of Essential Oils: Drug Delivery and Particle Characterization ». Polymer Sci Peer Rev J, 4(2), 2022.
- [61] I. Goujon. « Les Alginates : excipients d'origine marine utilisés dans l'industrie pharmaceutique ». Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré - Nancy I, 2004.
- [62] K. Rouabah et al. « Des polysaccharides extraits des végétaux et le système immunitaire ». Mémoire de fin d'études, Université Frères Mentouri - Constantine 1, 2015.
- [63] Y.P. Timilsena et al. « Encapsulation in the food industry: A brief historical overview to recent developments ». Food and Nutrition Sciences, 11:481-508, 2020.
- [64] M. Belabed et al. « Contrôle de libération à partir des microparticules préparées et caractérisées ». Mémoire de fin d'études, Université Ibn Khaldoun - Tiaret, 2017.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [65] K. Meziani et al. « L'encapsulation des substances bioactives ». Mémoire de fin d'études, Université de Bejaia, 2021.
- [66] O. Mircea et al. « Influence of ultrasonic amplitude, temperature, time and solvent concentration on bioactive compounds extraction from propolis ». *Journal Pre-proofs*, 64(19), 2020.
- [67] Taouzinat et al. « Alpha Tocopherol Loaded in liposome : preparation, optimization, characterization and sperm motility protection ». 10(2),2020.
- [68] Ali Rachedi F et al. « Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Martima L* ». 87 :13-21, 2018.
- [69] Permana A.D. et al. « New HPLC–MS method for rapid and simultaneous quantification of doxycycline, diethylcarbamazine and albendazole metabolites in rat plasma and organs after concomitant oral administration ». 170 :243–253, 2019.
- [70] T. Zahra et al. « Cyclodextrins Propolis Extract Encapsulation : Physicochemical Characterization, Toxicity Effect, and Application on Animal Sperm Cold Preservation ». 1(8), 2023.
- [71] A. Lila. « Etude de la solubilité de la propolis par la méthode d'Higuchi de différentes cyclodextrines ». Mémoire de fin d'études, Université de Bejaia, 2021.
- [72] J. Patel et al. « Potentiating antimicrobial efficacy of propolis through niosomal-based system for administration ». 4(2):94-101, 2014.
- [73] S. Zolghadri et al. « Span 60/Cholesterol Niosomal Formulation as a Suitable Vehicle for Gallic Acid Delivery with Potent In Vitro Antibacterial, Antimelanoma, and Anti-Tyrosinase Activity ». *Pharmaceuticals*, 16(12):1680., 2023.
- [74] T. Zahra. « Optimization, characterization and biological effects of Algerian propolis ». *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 25(4):269–278,202
- [75] Ganjali Koli et al. « Explorer le rôle des cyclodextrines en tant qu'éliminateurs de cholestérol : une étude de la dynamique moléculaire des changements conformationnels et de la thermodynamique ». *Scientific Reports*, 13(1) :21765, 2023.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[76] M. Woźniak et al. « Effect of the Solvent on Propolis Phenolic Profile and Its Antifungal, Antioxidant, and In Vitro Cytoprotective Activity in Human Erythrocytes under Oxidative Stress ». *Molecules*, 25(18):4266, 2020.

## **Résumé**

Ce mémoire explore l'interaction entre nature et technologie à travers **l'encapsulation mixte** de la propolis, un produit de la ruche reconnu pour ses propriétés thérapeutiques. L'étude se concentre sur l'amélioration de la solubilité de l'extrait de la **propolis** provenant de la région de Melbou en utilisant les **cyclodextrines (PM $\beta$ -CD)** et les **niosomes** comme agents d'encapsulation. Le mémoire est divisé en deux parties : une recherche bibliographique détaillée sur la propolis, les cyclodextrines, et les niosomes et l'encapsulation mixte suivie d'une étude expérimentale. Les résultats expérimentaux montrent une encapsulation optimale avec un taux de 56,585% et une taille des particules de 557.283 nm, un effet antioxydant de 96.87%, une protection des cellules spermatiques et une faible toxicité de 5.97%. Ces résultats démontrent le potentiel de l'encapsulation mixte pour améliorer la solubilité et l'efficacité thérapeutique de la propolis, ouvrant la voie à des applications industrielles et à de futures recherches.

**Mots clés : Propolis, cyclodextrine, niosomes, plan d'expérience, activités biologiques**

## **Abstract**

The present study explores the interaction between nature and technology through the mixed encapsulation of propolis, a beehive product recognized for its therapeutic properties. Our work focuses on enhancing the solubility of propolis extract from Melbou region using cyclodextrins (PM $\beta$ -CD) and niosomes as encapsulating agents. This investigation is divided into two parts: a detailed literature review on propolis, cyclodextrins, and niosomes, followed by an experimental study on mixed encapsulation. The experimental results show optimal encapsulation with a rate of 56.585% and a particle size of 557.283 nm, an antioxidant effect of 96.87%, protection of sperm cells, low toxicity of 5.97% were obtained. These findings demonstrate the potential of mixed encapsulation to enhance the solubility and therapeutic effects of propolis, paving the way for industrial applications and future research.

**Keywords : Propolis, cyclodextrins, niosomes, experimental design, biological activities**