

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 de Génie des procédés

Mémoire
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
Master

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

Présenté par

Zenadi Fatiha

et

Achour Rekia

Thème

Extraction des métabolites du Ficus Microcarpa L. Formulation par microencapsulation des extraits dans des polymères biodégradables et étude de l'effet antibactérien.

Soutenue le 02/07/2024

Devant le jury composé de :

| Nom et Prénom | Grade | Affiliation | Qualité |
|--------------------------------|------------|----------------------|---------------|
| Mr S. Fatmi | Professeur | Université de Béjaia | Président |
| M ^{lle} N. Ifourah | MAB | Université de Béjaia | Examinatrice |
| M ^{me} H. Belkacemi | Professeur | Université de Béjaia | Encadrante |
| M ^{lle} F. Benchallal | Doctorante | Université de Béjaia | Co-Encadrante |

Année Universitaire : 2023/2024

REMERCIEMENTS

Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant de nous avoir donné de la volonté pour accomplir ce travail.

*Nos sincères remerciements vont à notre promotrice **M^{me} H. BELKACEMI** (Professeur à l'Université de Bejaia) d'avoir accepté de nous encadrer, pour son aide, ses précieux conseils et ses encouragements qu'elle nous a prodigué tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nous tenons à remercier **Mr S. Fatmi** (Professeur) d'avoir accepté de présider le jury.*

*Nos remerciements vont à **M^{lle} N. Ifourah** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Je tiens également à exprimer notre gratitude à **M^{lle} F. Benchallal**, qui nous a fait l'honneur de Co-encadrer ce mémoire.*

*Nous souhaitons également exprimer notre gratitude à **Mr A. Touati** (Professeur et directeur du laboratoire de microbiologie) Pour nous avoir permis de travailler dans son laboratoire.*

Nous adressons également nos remerciements à l'ensemble des techniciens du laboratoire de génie des procédés du bloc 11, et en Mme Y. AMRANI pour son aide très précieuse durant la réalisation de notre mémoire.

Les plus sincères remerciements s'adressent également à toutes les personnes qui nous ont apporté leur aide, que ce soit de près ou de loin, dans la réalisation de ce mémoire.

F. Zenadi et R. Achour

Dédicaces

*Je consacre ce modeste travail à mon père, que Dieu le garde, et à ma mère,
que son âme soit paisible.*

*Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragement durant mon
parcours scolaire.*

*A mes adorables sœurs et mes petits frères Didin & Kader, mon neveu Daniel
ainsi qu'à toute ma famille.*

A tous mes amis

A tous ceux qui m'aiment

A tous ceux que j'aime

Sans oublier ma meilleure amie Rekia

Fatima

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents

Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leur encouragement durant mon parcours scolaire.

A mes adorables frères Yacine, Amine, Madjid et à ma sœur Wissame, mon neveu Ilyas ainsi qu'à tout ma famille.

A tous mes amis

A tous ceux qui m'aiment

A tous ceux que j'aime

Sans oublier ma meilleure amie Fatiha

Rekia



Liste des abréviations

| Abréviation | Mot complet |
|--------------------|--|
| AA | Acide Ascorbique |
| AG | Acide gallique |
| Abs | Absorbance |
| Dex | Dextrine |
| DCM | Dichlorométhane |
| DPPH | 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl |
| EB | Extrait brut |
| EEP | Efficacité d'encapsulation polyphénols |
| EP | Extrait éther de pétrole |
| FM | Ficus Microcarpa |
| FMF | Feuilles Ficus Microcarpa |
| HA | Hydro-alcoolique |
| HPLC | Chromatographie en phase liquide à haute performance |
| IRFT | Infrarouge à transformée de Fourier |
| MeOH | Méthanol |
| mg Eq AG/ g Ex Sec | Milligramme équivalent d'acide Gallique par gramme d'extrait sec |
| mg Eq Qr/g Ex Sec | Milligramme équivalent de quercétine par gramme d'extrait sec |
| PEBFMF | Pommade extrait brut feuilles microcarpa |
| PEG | polyéthylène glycol |
| PMFMF | Pommade microsphères feuilles ficus microcarpa |
| Qr | Quercétine |
| STPP | Tripolyphosphate de sodium |
| Tr | Temps de rétention |



Listes des Figures

Chapitre I : Etude bibliographique sur la plante ficus microcarpa

| Numéro | Titre de la figures | Page |
|--------------------|---|-----------|
| Figure I.1 | Arbre de Ficus Microcarpa (Bejaia,2024) | 04 |
| Figure I.2 | Origine et implantation du <i>Ficus Microcarpa</i> dans le monde | 06 |
| FigureI.3 | Photo d'arbre du Ficus microcarpa | 08 |
| Figure I.4 | Schéma global qui résume le métabolisme végétal | 11 |
| Figure I.5 | Structure du noyau phénol | 12 |
| Figure I.6 | Structure chimique des flavonoïdes | 13 |
| Figure I.7 | Principales classes de flavonoides et structure. | 13 |
| Figure I.8 | Structures de Nicotine et arécoline | 15 |
| Figure I.9 | Structure de la molécule d'isoprène | 15 |
| Figure I.10 | Structure des coumarines | 16 |
| Figure I.11 | Schéma du montage de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau. | 17 |
| Figure I.12 | Schéma du principe de l'hydrodistillation. | 17 |
| Figure I.13 | Schéma du principe de l'hydrodiffusion | 18 |

Chapitre II : La micro-encapsulations et la cinétique de la libération du principe actif

| Numéro | Titre de la figure | Page |
|---------------------|---|-----------|
| Figure II.1 | Représentation schématique d'une microcapsule et d'une microsphère | 22 |
| Figure II.2 | Intérêts de la microencapsulation | 24 |
| Figure II.3 | Représentation schématique de nanoparticules. a : nanosphères(NS),b :nanosphères + principe actif adsorbé, c, d :nanocapsules principe actif dissous (c)ou dispersé(d). | 24 |
| Figure II. 4 | Structure d'un liposome | 25 |



| | | |
|---------------------|--|-----------|
| Figure II.5 | Morphologie des microparticules | 25 |
| Figure II.6 | présentation des profils de libération prolongé et immédiat | 27 |
| Figure II.7 | Représentation du domaine expérimental pour un plan 2 ² | 30 |
| Figure II. 8 | plan composite centré | 32 |
| Figure II. 9 | Plan de Box-Behnken pour trois facteurs | 32 |

Chapitre III : Matériels et Méthodes

| Numéro | Titres de la figures | Page |
|----------------------|--|-------------|
| Figure III.1 | Photos montrant à gauche les graines et à droite une section du Fruit de <i>Ficus Microcarpa</i> | 33 |
| Figure III 2 | Broyage de fruit du Ficus Micrcarpa | 34 |
| Figure III.3 | Broyage à l'aide d'un broyeur à couteaux | 34 |
| Figure III.4 | Procédés de macération | 35 |
| Figure III.5 | Filtration | 35 |
| Figure III.6 | Séchage de résidu | 35 |
| Figure. III.7 | Extraction liquide-liquide | 37 |
| Figure III.8 | Extraction par l'éther de pétrole | 37 |
| Figure III.9 | Extraction par le dichlorométhane | 38 |
| Figure III.10 | Résultat de l'extraction liquide-liquide | 38 |
| Figure III.11 | Schéma des étapes de dosage des polyphénols dans les extraits du fruit du <i>ficus microcarpa</i> | 40 |
| Figure III.12 | schéma de réaction des flavonoïdes avec AlCl ₃ | 40 |
| Figure III.13 | Schéma des étapes pour le dosage des flavonoïdes dans les extraits du <i>ficus de microcarpa</i> | 42 |
| Figure III.14 | formule globale du DPPH | 42 |
| Figure III.15 | schéma des étapes de dilution des extrait du ficus microcarpa et mesure de l'activité anti-oxydantes par le DPPH | 43 |
| Figure III.16 | Principe de fonctionnement d'une chaine HPLC | 44 |
| Figure III.17 | Feuilles du Ficus Microcarpa | 46 |
| Figure III.18 | Broyage des feuilles du Ficus Microcarpa | 46 |
| Figure III.19 | Procédés de macération | 47 |



| | | |
|----------------------|---|-----------|
| Figure III.20 | Filtration | 47 |
| Figure III.21 | Extraction par l'éther de pétrole | 47 |
| Figure III.22 | Extraction par le dichlorométhane et évaporation par le rotavapeur | 48 |
| Figure III.23 | Structure chimique de Polyéthylène glycol. | 49 |
| Figure III.24 | Formule chimique de la dextrine | 50 |
| Figure III.25 | Formule chimique de TPPNa | 50 |
| Figure III.26 | La phase dispersée | 54 |
| Figure III.27 | La phase continue | 54 |
| Figure III.28 | Filtration | 55 |
| Figure III.29 | Microsphère | 55 |
| Figure III.30 | les compositions de la pommade | 56 |
| Figure III.31 | Pommade de l'extrait brut des feuilles PEBFMF | 57 |
| Figure III.32 | Pommade microsphères de l'essai 6 des feuilles PMFMF6 | 57 |
| Figure III.33 | Formulation des 3 pommades, témoin, PEBFMF et PMFMF6 | 57 |
| Figure III.34 | Milieu de culture Muller Hinton Agar | 59 |
| Figure III.35 | Les boites de pétri sous la haute stérile | 59 |
| Figure III.36 | Méthode de puit | 60 |
| Figure III.37 | Dépôt de disque | 60 |
| Figure III.38 | Détermination de la zone d'inhibition par la méthode de diffusion des disques | 62 |
| Figure III.39 | Ajustement le milieu physiologique avec un PH-mètre | 62 |
| Figure III.40 | dissolutest pour l'étude de la cinétique de Libération | 63 |
| Figure III.41 | Photo d'un microscope optique | 65 |

Chapitre IV : Résultats et discussions

| Numéro | Titre de la figures | Page |
|--------------------|---|-------------|
| Figure IV.1 | Courbe de dosage des polyphénols totaux | 68 |
| Figure IV.2 | Histogramme de variation des teneurs en polyphénols totaux dans les extraits des fruits du ficus microcarpa | 68 |
| Figure IV.3 | Histogramme de variation des teneurs en polyphénols totaux dans les extraits des feuilles du ficus microcarpa | 69 |



Listes des Figures



| | | |
|----------------------|---|-----------|
| Figure IV.4 | Courbe de dosage des flavonoïdes | 70 |
| Figure IV.5 | Histogramme de variation des teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits des feuilles du ficus microcarpa | 71 |
| Figure IV.6 | Histogramme de l'activité anti-oxydante et pouvoir d'inhibition du radical DPPH° des extraits de fruit du ficus microcarpa | 73 |
| Figure IV.7 | Histogramme de l'activité anti-oxydante et pouvoir d'inhibition du radical DPPH° des extraits des feuilles du ficus microcarpa | 74 |
| Figure IV.8 | Chromatogrammes de HPLC des différents extraits des fruits FM | 76 |
| Figure IV.9 | Chromatogrammes de HPLC des différents extraits des feuilles FM | 77 |
| Figure IV.10 | Diagramme de Pareto des effets des termes sur EEP (%) | 84 |
| Figure IV.11 | Diagramme résiduel pour EEP% | 85 |
| Figure IV.12 | Diagramme des effets des principaux facteurs sur la réponse EEP% | 86 |
| Figure IV.13 | Diagramme de prédiction de la réponse EEP% | 87 |
| Figure IV.14 | Diagrammes Surfaces –Réponses ou contours pour EEP% | 88 |
| Figure IV.15 | Cinétique de la libération des polyphénols (Microsphère, PEBFMF et PMFMF) | 90 |
| Figure IV. 16 | Spectres IRFT de l'extrait, des microsphères des fruits et des feuilles de l'essai6 | 92 |
| Figure IV.17 | Mesure du diamètre d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse | 95 |
| Figure IV.18 | Zone d'inhibition de EB de feuilles testée sur les deux souches par la méthode des puits | 95 |
| Figure IV.19 | Zone d'inhibition de EB de feuilles testée sur les deux souches par la méthode des disques | 96 |
| Figure IV.20 | Zone d'inhibition des microsphère de l'essai 6 de l'extrait des feuilles testé sur les deux souches par la méthode des puits | 96 |
| Figure IV.21 | Zone d'inhibition des microsphère de l'essai 6 des feuilles testé sur les deux souches par la méthode des disques | 97 |
| Figure IV.22 | Zone d'inhibition de la pommade de l'extrait des feuilles PEBFMF testé sur les deux souches par la méthode des puits | 97 |
| Figure IV.23 | Zone d'inhibition de la pommade de l'extrait des feuilles de PEBFMF testé sur les deux souches par la méthode des disques | 97 |
| Figure IV.24 | Zone d'inhibition de la pommade des microsphères de l'essai 6 de l'extrait des feuilles PMFMF testé sur les deux souches par la méthode des puits | 98 |
| Figure IV.25 | Zone d'inhibition de la pommade des microsphères de l'essai 6 de l'extrait des feuilles PMFMF testé sur les deux souches par la méthode des disques | 98 |
| Figure IV.26 | Image microscopique des microsphères (essai 2) fruit du FM avec un grossissement x 100 | 99 |



Listes des Figures



| | | |
|---------------------|--|------------|
| Figure IV.27 | Image microscopique des microsphères (essais 6) fruit du FM avec un grossissement X 400 | 100 |
| Figure IV.28 | Image microscopique des microsphères (essais 9) fruit du FM avec un grossissement X 400 | 100 |
| Figure IV.29 | Image microscopique des microsphères (essais 6) feuilles du FM avec un grossissement X 400 | 101 |



Listes des tableaux

Chapitre I : Etude bibliographique sur la plante ficus microcarpa

| Numéro | Titre du tableau | Page |
|--------------------|---|-------------|
| Tableau I.1 | Fiche descriptive du <i>Ficus microcarpa</i> | 05 |
| Tableau I.2 | Fiche culture du <i>Ficus microcarpa</i> | 05 |
| Tableau I.3 | Classification systématique du Ficus microcarpa | 08 |

Chapitre II : La micro-encapsulations et la cinétique de la libération du principe actif

| Numéro | Titre du tableau | Page |
|---------------------|--|-------------|
| Tableau II.1 | Matrice d'expérience d'un plan factoriel à deux facteurs 2^2 | 30 |
| Tableau II.2 | Matrice d'expérience d'un plan 2^3 | 30 |

Chapitre III : Matériels et Méthodes

| Numéro | Titre du tableau | Page |
|----------------------|---|-------------|
| Tableau III.1 | préparation des étalons d'acide gallique | 39 |
| Tableau III.2 | préparation des étalons de quercétine | 41 |
| Tableau III.3 | Les dilution des extraits | 43 |
| Tableau III.4 | Les différentes masses de PEG, de Dextrine et Volumes d'extrait Hydro alcoolique du fruit ou brut du Ficus microcarpa utilisés pour les essais du plan d'expérience factoriel | 52 |
| Tableau III.5 | Variable codées et réelles des facteurs | 52 |
| Tableau III.6 | Matrice du plan d'expérience factoriel pour les essais de micro-encapsulation de l'extrait HA du FM dans les polymères Dex/PEG | 53 |
| Tableau III.7 | Code des différentes souches microbiennes étudiées | 58 |



| | | |
|----------------------|--|-----------|
| Tableau III.8 | Temps et le volume de la cinétique de libération de principe actif | 64 |
|----------------------|--|-----------|

Chapitre IV : Résultats et discussions

| Numéro | Titre du tableau | Page |
|----------------------|--|-------------|
| Tableau IV.1 | rendement des extraits de fruit du ficus microcarpa | 66 |
| Tableau IV.2 | rendement des extraits des feuilles du ficus microcarpa | 67 |
| Tableau IV.3 | Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH° dans les extraits des fruits du ficus microcarpa | 72 |
| Tableau IV.4 | Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH° dans les extraits des feuilles du ficus microcarpa | 73 |
| Tableau IV.5 | Les pics chromatographiques des standards par HPLC, temps de rétention et aires | 78 |
| Tableau IV.6 | Temps de rétention et les aires des pics des métabolites secondaires décelés dans les extraits de fruits FM par HPLC | 78 |
| Tableau IV.7 | Temps de rétention et les aires des pics des métabolites secondaires identifiés dans les extraits des feuilles FM par HPLC | 78 |
| Tableau IV.8 | concentration en polyphénols des extraits de fruit du FM par HPLC | 79 |
| Tableau IV.9 | concentration en flavonoïdes des extraits de fruit du FM par HPLC | 79 |
| Tableau IV.10 | concentration en polyphénols des extraits des feuilles du FM par HPLC | 80 |
| Tableau IV.11 | concentration en flavonoïdes des extraits des feuilles du FM par HPLC | 80 |
| Tableau IV.12 | les résultats d'un plan factoriel complet 2 ³ pour étudier l'effet de trois facteurs sur le taux d'encapsulation de polyphénols et de flavonoïdes dans les microsphères Dex/PEG | 82 |
| Tableau IV.13 | Analyse statistique de la variance pour la réponse EEP%. | 83 |



Listes des tableaux



| | | |
|----------------------|---|-----------|
| Tableau IV.14 | Taux de libération des polyphénols en fonction du temps des microsphères dextrine/ PEG /EB des feuilles FM, des pommades PEBFMF et PMFMF dans le milieu pH=5.8 | 89 |
| Tableau IV.15 | Les principales bandes d'absorption infrarouge identifiée sur les spectres IR de l'extrait brut, des microsphères et des standards | 93 |
| Tableau IV.16 | Diamètre des zone d'inhibitions (mm) des extraits EB, Microsphères, PEBFMF et PMFMF pour les feuilles FM, et EB pour les fruits du Ficus Microcarpa. | 94 |



Sommaire





Sommaire

Introduction01

Chapitre I : Etude bibliographique sur la plante de ficus microcarpa

I.1: Généralités sur les plantes médicinales

I.1.1 : Les plantes médicinales03

I.1.2 : Effets thérapeutiques des plantes médicinales 03

I.1.3 : Ficus Microcarpa04

I.1.3.1 Historique04

I.1.3.2 Présentation du Ficus Microcarpa05

I.1.3.3 Origine, distribution et répartition géographique du Ficus05

I.1.3.4 Différentes appellations07

I.1.3.5 Classification systématique07

I.1.3.6 Description botanique de la plante08

I.1.3.7 Composition chimique du Ficus09

I.2 Les métabolismes09

I.2.2 Classification des métabolites10

I.2.2.1 Métabolites primaires10

I.2.2.2. Métabolites secondaires10

I.2.3 Les composés phénoliques11

I.2.4 Les flavonoïdes12

I.2.5 Tannins14

I.2.6 Saponines14

I.2.7 Alcaloïdes15

I.2.8 Terpénoides15

I.2.9 Coumarines15

I.2.10 Les huiles essentielles16

I.3 Formes galéniques d'un médicament19

I.3.1 définition d'un médicament19

I.3.2 Généralités sur les préparation pharmaceutiques pommades20



Chapitre II : La micro-encapsulations et la cinétique de la libération du principe actif

II.1. La micro-encapsulation

| | |
|--|----|
| II.1.1 Définition | 22 |
| II.1.2 Classifications | 22 |
| II.1.3 Intérêt de la microencapsulation | 23 |
| II.1.4 Les vecteurs pour la microencapsulation | 24 |
| II.1.4.1 Les nanoparticules | 24 |
| II.1.4.2 Les liposomes | 25 |
| II.1.4.3 Les microparticules | 25 |
| II.1.5 Techniques d'encapsulation | 26 |
| II.1.5.1 Techniques chimiques | 26 |
| II.1.5.2 Techniques mécaniques | 26 |
| II.1.6 Cinétique de libération du principe actif encapsulé | 26 |

II.2 Méthodologie des plans d'expérience

| | |
|---|----|
| II.2.1 Définition | 28 |
| II.2.2 Types de plans d'expérience | 29 |
| a) Plans factoriels à 2 niveaux (2^K) | 29 |
| b) Plans centrés composés | 31 |
| c) Plans Box-Behnken | 32 |

Chapitre III : Matériels et Méthodes

Partie 01 : Fruit du ficus microcarpa

| | |
|---|----|
| III.1. Matériel végétale | 33 |
| III.2. Méthodes d'extraction | 34 |
| III.2.1 Extraction solide-liquide..... | 34 |
| III.2.2 Extraction par les solvants organiques (Extraction liquide-liquide) | 36 |
| III.3 Analyse et quantification par spectroscopie UV-Visible | 39 |



III.4 Activité antioxydante par la méthode du radical DPPH° des extraits du Ficus Microcarpa.....42

III.5 Analyse qualitative et quantitative par chromatographie liquide à haute performance HPLC des extraits du Ficus Microcarpa44

Partie 02 : Feuilles du Ficus Microcarpa

III.2.1. Matériel végétale45

III.2.2. Méthodes d'extraction46

III.2.2.1 Extraction par les solvants organiques (Extraction liquide-liquide)47

III.2.3 Analyse et quantification par spectroscopie UV-Visible48

III.2.4 Activité antioxydant par la méthode du radical DPPH° des extraits du Ficus Microcarpa.....48

III.2.5 Analyse qualitative et quantitative par chromatographie liquide à haute performance HPLC des extraits du Ficus Microcarpa48

Partie 03 : Micro-encapsulation Fruit & Feuilles Microcarpa

III.3 Microencapsulation par émulsion simple H/E des extraits49

III.3.1 Présentation des matières premières49

III.3.2 Préparation des tampons de différents PH=4 ;6 ;8 de la phase continue..... 50

III.3.3 Essais de microencapsulation des extraits..... 51

III.3.3.1 Optimisation des paramètres de préparation des microparticules par plan d'expérience factoriel à 3 facteurs-2 niveaux51

III.3.3.2 Protocol de la préparation des microparticules..... 53

III.3.3.3 Taux d'encapsulation55

III.4 Formulation des pommades de l'extrait brut des feuilles du *Ficus microcarpa* (FMF)55

III.5 Activité anti-bactérienne des extraits et des microparticules du *Ficus Microcarpa*57

III.6 Etude de la cinétique de libération des microparticules de Ficus Microcarpa et des pommades dans le milieu physiologique dermique à pH=5.8..... 62

III.3.7 Les techniques de caractérisation64

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV.1 Extraction66

IV.1.1 Calcul du rendement massique66



| | |
|--|-----|
| IV.2. Etude phytochimique | 67 |
| IV.2.1. Caractérisation et quantification par spectrophotométrie UV-visible | 67 |
| IV.2.2. Activité antioxydante par la méthode du radical DPPH° | 71 |
| IV.3. Analyse par HPLC | 74 |
| IV.4. La micro-encapsulation | 82 |
| IV.4.1. Réalisation des essais et analyse statistique | 82 |
| IV.5. Etude de la libération in vitro des métabolites secondaires encapsulés dans les microsphères et la pommade | 89 |
| IV.6. Caractérisation des extraits et des microsphères de Ficus Microcarpa | 92 |
| IV.6.1 IRFT | 92 |
| IV.7 Activité antibactérienne | 94 |
| IV.8 Observations microscopiques | 99 |
| Conclusion | 102 |
| Perspective | |
| Références bibliographiques | |
| Annexe | |
| Résumé | |



Introduction





Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires, qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structures chimiques et elles possèdent un très large éventail d'activités biologiques. L'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études [1].

Dans le cadre de la valorisation de la médecine traditionnelle, il y a eu un intérêt croissant ces dernières décennies dans l'étude des plantes médicinales et leurs utilisations traditionnelles dans différentes régions du monde. Aujourd'hui, selon l'organisation mondiale de la santé (OMS), près de 80% des populations dépendent de la médecine traditionnelle pour des soins de santé primaire. Des avantages économiques considérables dans le développement de la médecine traditionnelle et dans l'utilisation des plantes médicinales, pour le traitement des diverses maladies, ont été mis en évidence d'où la nécessité d'une valorisation de la médecine traditionnelle [2].

L'Algérie, compte parmi les pays du bassin méditerranéen les plus riches en ressources phyto-génétiques à intérêt aromatique et médicinal. Vu la diversité de ses étages bioclimatiques, on dénombre plus de 300 espèces à usage thérapeutique ou aromatique, existant parmi les 3150 espèces végétales que compte notre pays [3].

Au cours de ces dernières années, la recherche de nouveaux procédés basés principalement sur l'utilisation de molécules extraites naturellement, a connu un regain d'intérêt dans la plupart des recherches scientifiques. De ce fait, nous nous sommes intéressées à étudier une plante exotique *Ficus Microcarpa* originaire d'Asie tropicale, possédant des propriétés biologiques, médicinales, anti-inflammatoires et cicatrisantes, qui trouve des applications dans le domaine de la médecine traditionnelle.

L'objectif de notre étude vise à démontrer la richesse des fruits et des feuilles de *Ficus Microcarpa* en principes actifs, et l'évaluation de certaines propriétés physico-chimiques, microbiologiques, et biopharmaceutiques afin de formuler une pommade de propriété antibactérienne.

Notre travail se divise en quatre chapitres :



- Le premier chapitre concerne l'étude bibliographique qui comporte les Généralités sur les plantes médicinales et une représentation générale sur la plante étudiée, le *Ficus Microcarpa*.
- Le deuxième chapitre comporte une étude bibliographique sur la micro-encapsulation et la cinétique de la libération du principe actif.
- Le troisième chapitre rassemble les matériels et les méthodes adoptés pour la réalisation de cette étude à savoir : l'extraction des principes actifs par différents solvants, l'analyse par spectroscopie UV-Visible, et infrarouge, l'activité antioxydante par la méthode du radical DPPH°, l'analyse par HPLC, la micro-encapsulation en utilisant des plans d'expérience et la formulation de pommades, l'évaluation de l'activité antibactérienne ainsi que la cinétique de libération de principe actif dans un milieu physiologique dermique.
- Le dernier chapitre regroupe les résultats expérimentaux essentiels et leurs discussions.
- Le mémoire se termine par une conclusion et des perspectives.



*Chapitre I : Etude bibliographique sur la plante de ficus
microcarpa*





Chapitre I : Etude bibliographique sur la plante de ficus microcarpa

I.1: Généralités sur les plantes médicinales

I.1.1 : Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont l'ensemble des espèces végétales possédant des propriétés thérapeutiques. Ces traitements naturels phytothérapeutiques peuvent s'avérer dans de nombreux cas plus économiques, plus efficaces, plus sûrs que bien des médicaments (moins d'effets secondaires), les plantes médicinales peuvent être une partie d'un arbre, d'un buisson, d'un champignon, d'un légume, d'une racine ou d'une algue [4].

Les médicaments à base de plantes sont précisément définis par un nom scientifique selon le système binominal (genre, espèce variété et auteur. L'approche scientifique des plantes médicinales, avec les études pharmacologiques et toxicologiques, a permis de décrypter leur composition chimique, de mettre en évidence les effets thérapeutiques ou encore de déterminer les doses thérapeutiques ou toxiques de certaines plantes [5].

Les plantes médicinales sont utilisées en raison de leurs propriétés spécifiques qui sont bénéfiques pour la santé humaine ou animale. En fait, elles sont utilisées de différentes manières, décoction, infusion et macération. Une ou plusieurs parties d'entre elles, racines, feuilles, fleurs peuvent être utilisées [6].

I.1.2 : Effets thérapeutiques des plantes médicinales

Les plantes médicinales favorisent un mode de vie sain, elles nous fournissent des médicaments naturels. En éliminant la plupart des effets secondaires, La phytothérapie assure un traitement plus holistique et moins agressif [7].

- **Plante à propriété antidépressive** : certaines plantes possèdent des principes actifs bénéfiques pour le traitement des troubles de l'humeur transitoires et des dépressions légères par un effet qui stimule le système nerveux.
- **Plantes stimulantes et apéritives** : certaines plantes sont riches en vitamine C, considérées comme stimulantes, comme y'a d'autres qui contiennent des composants amers qui stimulent l'appétit et favorisent ainsi la prise de poids.
- **Les plantes à propriété hormonale** : certaines espèces sont utiles pour soulager les règles douloureuses.



- **Les plantes qui soulagent la constipation** : utilisées dans le traitement de la constipation sont repartis en deux groupes : les plantes laxatives, les plantes laxatives stimulantes.
- **Les plantes utilisées dans le cas d'une inflammation** : Certaines plantes possèdent des principes actifs qui leur confèrent des propriétés anti-inflammatoires, qui s'accompagnent souvent d'effets analgésiques. Ce sont des plantes utiles pour le traitement des inflammations aiguës comme l'entérite, et des douleurs inflammatoires chroniques comme l'arthrose.

I.1.3 : *Ficus Microcarpa*

Ficus microcarpa (syn : *Ficus retusa*) (moraceae) est une plante médicinale traditionnelle bien connue sous le nom de laurier indien, distribuée dans les régions les plus chaudes de l'Inde [8]. C'est l'un des plus grands et les plus divers types de plantes à fleurs. Les espèces de *Ficus* se situent principalement dans les régions subtropicales et tropicales du monde. Ce premier est classé en six sous-genres, basés principalement sur leurs différences dans les morphologies d'habitude et d'inflorescence [9].

Les *Ficus* poussent sous l'aspect d'un arbuste et d'arbre de plusieurs mètres (figure I.1) sont parfois sensibles aux changements de l'environnement, il n'est pas rare d'observer une chute de feuille suite à un déplacement [10].



Figure I.1 : Arbre de *Ficus Microcarpa* (Bejaia, 2024).

I.1.3.1 Historique :

Ficus microcarpa a été décrit en 1782 par Carl Linnaeus le Jeune. L'espèce possède nombre considérable de synonymes. La dite espèce a été implanté dans le bassin méditerranéen du Sud-est asiatique, pour sa beauté et pour son bois utilisé pour construire des remises, petits cabanons. Par la suite, cet arbre a été planté dans les longues avenues ainsi que dans des zones peuplées [11].



I.1.3.2 Présentation du *Ficus Microcarpa* :

Dans le tableau I.1, nous avons présenté la fiche descriptive de la plante, et dans le tableau I.2 celle de culture.

Tableau I.1 : Fiche descriptive du *Ficus microcarpa* [Anonyme 1].

| Fiche descriptive | |
|-------------------------|---|
| Nom scientifique | <i>Ficus microcarpa</i> 'Ginsenh' |
| Famille | Bonsai, Moraceae |
| Autre nom | <i>Ficus retusa</i> , syn. <i>Ficus microcarpa</i> , <i>Ficus bonsai</i> |
| Origine | Inde, Chine |
| Dimensions | De 30 cm à 1m selon la hauteur désirée |
| Couleur(s) des feuilles |  |
| Type de plant | Plante d'intérieur, bonsai |
| Végétation | Arbustive |
| Feuillage en hiver | Persistant |

Tableau I.2 : Fiche culture du *Ficus microcarpa* [Anonyme 1].

| Fiche culture | |
|---------------------------|---|
| Exposition | Protégé des courants d'air, Lumière vive |
| Sol | Drainé, Terreau, Tourbe, sableux |
| Humidité | Modérée |
| Utilisation | Pot, Intérieur |
| Multiplication | Bouture |
| Maladie(s) et nuisible(s) | Pucerons, Cochenilles, Araignée rouge |

I.1.3.3 Origine, distribution et répartition géographique du *Ficus* :

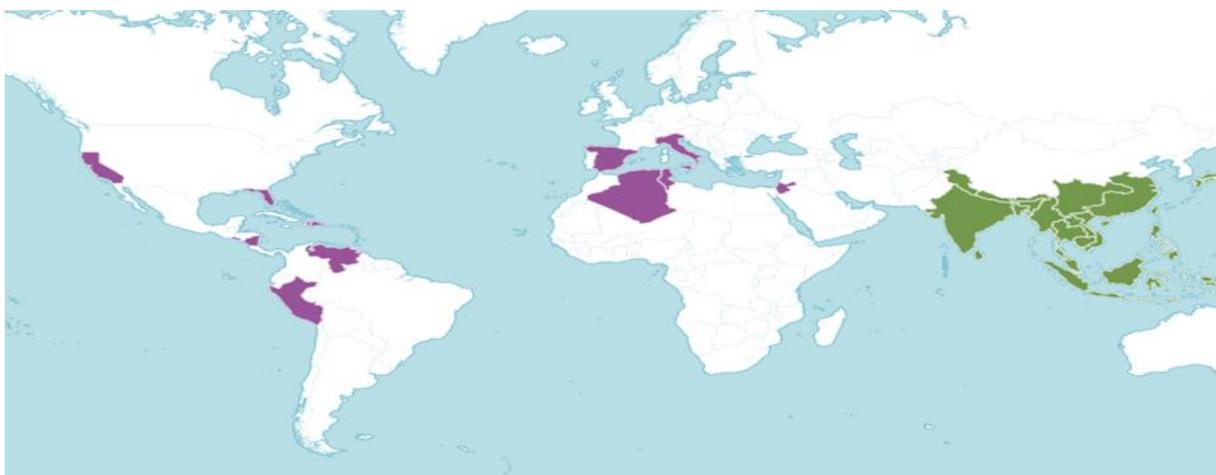
Originaire d'Asie tropicale, le *Ficus microcarpa* est un arbre largement cultivé pour l'ornement dans les régions tropicales, cette espèce se prête particulièrement bien à la culture en bonsai [Anonyme 2].

C'est est une espèce tropicale et subtropicale, qui requiert un climat chaud et une atmosphère humide. Elle peut néanmoins supporter des températures proches de 0°C. L'espèce est présente surtout à basse altitude, et ses habitats naturels incluent les forêts tropicales humides, les bords de rivières, les côtes, les marécages. Dans les endroits urbanisés, les arbres peuvent pousser dans des fissures, sur les



murs, les bâtiments et. L'espèce semble faire preuve d'une bonne tolérance à une large gamme de conditions d'humidité du sol, ainsi qu'à divers polluants des milieux urbains, dont le dioxyde de soufre, le plomb et le cadmium.

Cette plante est communément cultivé dans son aire de répartition actuelle comme arbre d'ornement. En Asie du Sud-Est, il est cultivé comme arbre d'ombrage en raison de son feuillage dense. Sa capacité à produire des rejets permet également de le conduire en haie ou en buisson aisément. Dans les régions tempérées (Figure I.2), où le climat ne permet pas sa culture en pleine terre, la plante possède aussi une importance économique comme plante d'intérieur en pot, et notamment comme bonsaï [Anonyme 3].



● Originaire ● Introduit

Figure I.2 : Origine et implantation du *Ficus Microcarpa* dans le monde [Anonyme 4].

I.1.3.3.1 Origine :

Il a été retrouvé dans plusieurs villes et régions de l'Asie et de l'Amérique, comme : Andaman, Assam, Bangladesh, Archipel de Bismarck, Bornéo, Cambodge, Caroline, Chine Sud-Centrale, Chine Sud-Est, Christmas I., Cocos (Keeling), Himalaya oriental, Hainan, Inde, Japon, Jawa, Laccadive, Laos, Petite île de la Sonde, Malaisie, Maluku, Mariannes, Marshall, Myanmar, Nansei-shoto, Népal, Nouvelle-Calédonie, Nouvelle-Guinée, Nicobar, Philippines, Malaya, Maluku, Mariannes, Îles Marshall, Myanmar, Nansei-shoto, Népal, Nouvelle-Calédonie, Nouvelle-Guinée, Îles Nicobar, Philippines, Queensland, Îles Salomon, Mer de Chine méridionale, Sri Lanka, Sulawesi, Sumatera, Taïwan, Thaïlande, Vanuatu, Viêt Nam, Himalaya occidentale [Anonyme 4].

I.1.3.3.2 Implantation dans le monde :

Cet arbre a subi une transplantation dans plusieurs pays tels que l'Algérie, Ascension, Bermudes, Californie, Canaries, El Salvador, Espagne, Floride, Haïti, Hawaï, Italie, îles Sous-le-Vent, Maurice,



Nicaragua, Ogasawara-shoto, Palestine, Pérou, Porto Rico, Réunion, Sicile, îles de la Société, République dominicaine, Trinité-Tobago, Tunisie, Venezuela [**Anonyme 4**].

I.1.3.4 Différentes appellations :

Les désignations suivantes ont été associées à l'espèce *Ficus microcarpa* L.f :

- ✓ *Ficus aggregata* Vahl
- ✓ *Ficus amblyphylla* (Miq.) Miq.
- ✓ *Ficus cairnsii* Warb.
- ✓ *Ficus condoravia* Buch.-Ham.
- ✓ *Ficus dahlia* K. Schum.
- ✓ *Ficus dictyophleba* F. Müll. ex Miq.
- ✓ *Ficus dilatata* Miq.
- ✓ *Ficus littoralis* Bl.
- ✓ *Ficus microcarpa* var. *crassifolia* (Shieh) Liao
- ✓ *Ficus microcarpa* var. *fuyuensis* J.C. Liao
- ✓ *Ficus microcarpa* var. *latifolia* (Miq.) Corner
- ✓ *Ficus microcarpa* var. *naumannii* (Engl.) Corner
- ✓ *Ficus microcarpa* var. *nitida* (King) F.C. Ho
- ✓ *Ficus microcarpa* var. *oluangpiensis* J.C. Liao
- ✓ *Ficus microcarpa* var. *pusillifolia* J.C. Liao
- ✓ *Ficus naumannii* Engl.
- ✓ *Ficus regnans* Diels
- ✓ *Ficus retusa* var. *pisifera* (Miq.) Miq.
- ✓ *Ficus retusifolius* Lév.
- ✓ *Ficus rubra* Roth
- ✓ *Ficus thynneana* F. M. Bailey
- ✓ *Ficus thynneana* var. *minor* Domin
- ✓ *Urostigma accedens* var. *latifolia* Miq.
- ✓ *Urostigma amblyphyllum* Miq.
- ✓ *Urostigma littorale* (Bl.) Miq.
- ✓ *Urostigma pisiferum* Miq [**Anonyme 5**].

I.1.3.5 Classification systématique :

La Classification systématique de cette plante est résumée dans le tableau **I.3** suivant :



Tableau I.3 : Classification systématique du Ficus microcarpa

| Classification de Cronquist (1981) | | Classification APG IV (2016) | |
|------------------------------------|---------------|------------------------------|----------------------|
| Régne | Plantae | Clade | Angiospermes |
| Sous-régne | Tracheobionta | Clade | Dicotylédones vraies |
| Division | Magnoliophyta | Clade | Rosidées |
| Classe | Magnoliopsida | Clade | Fabidées |
| Sous-classe | Hamamelidae | Ordre | Rosales |
| Ordre | Urticales | Famille | Moraceae |
| Famille | Moraceae | Genre | Ficus |
| Genre | Ficus | | |

I.1.3.5.1 Classification systématique :

Est une classification classique des angiospermes. Elle est peut-être la dernière version des classifications majeures basées essentiellement sur des critères morphologiques, anatomiques et chimiques, et qui ignore donc les critères de la classification phylogénétique.

I.1.3.5.2 La classification APG IV (2016) :

Ou classification phylogénétique, est la quatrième version de classification botanique des angiospermes (figure I.3) établie par l'Angiosperm Phylogeny Group [Anonyme 3].



Figure I.3 : Photo d'arbre du Ficus microcarpa.

I.1.3.6 Description botanique de la plante :

Ficus microcarpa est un arbre pouvant atteindre 40 m de hauteur dans son milieu naturel. Son port est dressé, sa couronne étalée. Les branches de cet arbre, comme celles de quelques autres espèces de ce genre, fournissent des racines aériennes piliers.



Les feuilles simples, alternes sont courtement pétiolée, pétiole d'environ 1 cm de longueur. Le limbe est elliptique à oblong ou obovale, aigu ou courtement et faiblement acuminé au sommet, cunéifore à la base, coriace atteignant 10 cm de longueur, à 4 à 10 paires de nervures secondaires ascendantes.

Les inflorescences appelées sycones, les figes sont petites, sessiles, globuleuse de 5 à 10 mm de diamètre. À maturité, les petites figes, deviennent pourpre noir.

Les fruits sont des akènes contenant une seule graine. Ils sont minuscules et ellipsoïdes, nombreux et regroupés à l'intérieur des figes fertiles [Anonyme 2].

I.1.3.7 Composition chimique du Ficus :

La phytochimie de la plante est bien étudiée et la littérature soutient la présence de triterpénoïdes, d'alcool gras, de stéroïdes, de coumarine, de flavane, de 4-hydroxybenzoates et d'un composé de type caroténoïde dans l'écorce de *Ficus microcarpa* (FMB) [8]. L'antioxydant et des composés phénoliques végétaux à potentiel antibactérien tels que l'acide protocatéchique, le catéchol, le p -vinylguaiacol, le syringol, le p -propylphénol, la vanilline et le syringaldéhyde ont été identifiés dans le FMB [12]. Il a été rapporté que le latex de la plante contient de la chitinase, donnant lieu à propriétés antifongiques [13].

a- Principes actifs du ficus :

- ✓ Acide ascorbique
- ✓ Les polyphénols
- ✓ Les flavonoïdes

b-Domains d'utilisation, activité anti-bactérienne et pouvoir cicatrisant :

Les différentes espèces de *Ficus* sont largement utilisées dans les systèmes médicaux traditionnels indiens. Parmi ces espèces, *F. microcarpa* a des références dans le traitement du diabète, des ulcères, des sensations de brûlure, des hémorragies, de la lèpre, des démangeaisons, des maladies du foie et des maux de dents. Les FMB sont considérés comme équivalents à d'autres espèces telles que *Ficus virens*, *Ficus infectoria*, *Ficus arnottiana*, *Ficus lacor* et *Ficus talboti* [14, 15]. Par conséquent, il est toujours difficile d'identifier la bonne espèce sans ensemble de normes.

I.2 Les métabolismes :

I.2.1 Définition :

L'ensemble des réactions chimiques qui se déroulent dans un organisme est appelé métabolisme. Au contraire de la plupart des autres êtres vivants, les plantes vertes, en présence de lumière, peuvent



synthétiser elles-mêmes les substrats organiques nécessaires, à leurs métabolismes : elles utilisent du gaz carbonique, de l'eau, des sels minéraux et parallèlement, elles libèrent de l'oxygène [16].

I.2.2 Classification des métabolites :

Les réactions chimiques qui ont lieu dans le protoplasme des cellules végétales donnent naissance à deux types de produits : les métabolites primaires et les métabolites secondaires[17].

I.2.2.1. Métabolites primaires :

Les métabolites primaires sont des composés associés ou liés à la synthèse des cellules microbiennes, donc de type associé à la croissance. Ils sont synthétisés pendant la phase exponentielle (trophophase). Les voies de biosynthèse sont, en général, simples. Parmi ces métabolites on trouve : les acides aminés, les acides organiques, les enzymes, l'alcool, les vitamines, les polysaccharides, les solvants, les carburants, les lipides [18].

I.2.2.2. Métabolites secondaires :

Les métabolites secondaires sont des produits à structure chimique souvent complexe, on recense plusieurs milliers de métabolites (au moins 30000 structures caractérisées) et sont classés selon leur appartenance chimique.

Donc les métabolites secondaires (Figure I.4) sont des molécules qui ne participent pas directement au développement des plantes mais plutôt interviennent dans des relations avec les stress biotique et abiotique ou améliorent l'efficacité de la reproduction. On trouve des métabolites secondaires dans toutes les parties de plantes, mais ils sont distribués différemment selon leurs rôles. Cette distribution varie d'une plante à l'autre.

Les métabolites secondaires sont divisés principalement en trois grandes familles :

- ✓ Les polyphénols
- ✓ Les terpènes
- ✓ Les alcaloïdes [19].

•Un schéma explicatif est représenté ci-dessous :

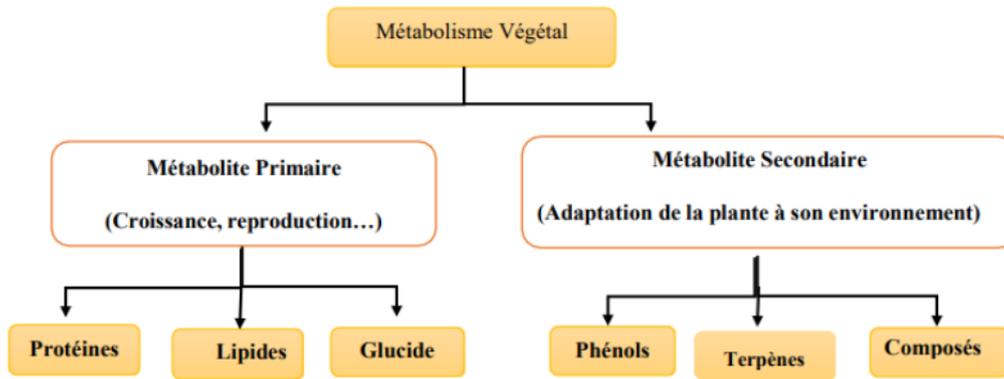


Figure I.4 : Schéma global qui résume le métabolisme végétal [20].

I.2.3 Les composés phénoliques :

a) Définition des polyphénols :

Les polyphénols ou composés phénoliques forment une grande classe de produits chimiques qui on trouve dans les plantes au niveau des tissus superficiels, ils sont des composés phytochimiques polyhydroxylés et comprenant au moins un noyau aromatique à 6 carbones. Ils subdivisent en sous classe principales ; les acides phénols, les flavonoïdes, les lignines, les tanins [21].

➤ **Activité antioxydante :**

Les polyphénols sont reconnus et pourrait expliquer leur rôle potentiel dans la prévention de plusieurs maladies associées au stress oxydatif, telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives [22].

➤ **Activité antibactérienne :**

Les polyphénols sont doués d'activité antibactériennes importantes et diverses, probablement dû à leurs diversités structurales. Les sites et le nombre des groupes hydroxyles sur les groupes phénoliques sont supposés être reliés à leur relative toxicité envers les microorganismes, avec l'évidence que le taux d'hydroxylation est directement proportionnel à la toxicité. Il a été aussi rapporté que plus les composés phénoliques sont oxydés plus ils sont inhibiteurs des microorganismes. Les flavane-3-ols, les flavonols et les tanins ont reçu plus d'attention dû à leur large spectre et forte activité antimicrobienne par rapport aux autres polyphénols.

Ces composés jouent un rôle inhibiteur, ils n'agissent pas sur la paroi bactérienne mais plutôt sur un mécanisme interne. Ces composés sont supposés agir sur l'ADN, l'ARN et la synthèse protéique. Ils possèdent une capacité de supprimer un nombre de facteurs de virulence microbienne telle que l'inhibition de la formation de biofilms, la réduction de l'adhésion aux ligands de l'hôte et la neutralisation des toxines bactériennes ainsi qu'à leur capacité d'établir une synergie avec certains antibiotiques [23].



b) Propriétés biologique et intérêt des polyphénols :

Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs propriétés et ces effets bénéfiques sur la santé des êtres humains ou chez les végétaux.

➤ Chez les végétaux :

Les composés phénoliques sont des pigments responsables des teintes automnales des feuilles et des couleurs des fleurs et fruits (jaune, orange, rouge) [24].

Ils jouent un rôle important dans l'interaction de la plante avec son environnement, en particulier contre les radiation UV, le stress oxydatif, les attaques microbiennes [25]. Ils sont impliqués aussi dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits [26].

➤ Chez l'être humain :

La consommation d'aliments riches en polyphénols réduit le développement de nombreuses pathologies, telles que le cancer, l'ischémie cardiaque, l'athérosclérose et l'hypertension Cela peut être expliqué par le fait que ces composés ont la capacité de modifier de nombreux facteurs impliqués dans la genèse de ces maladies.

Leurs propriétés sont liées au fait qu'ils peuvent moduler l'activité de nombreuses protéines intracellulaires (les protéines kinases, les phospholipases, l'adénylate cyclase, les ATPases, les cyclo-oxygénases (COX), les NOS ou le cytochrome P450) et agir sur différents types cellulaires [27].

C) Structure chimique du polyphénol :

La structure des composés phénoliques naturels (figure I.5) varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tanins condensés) [28].

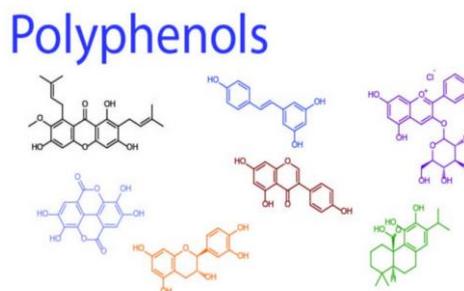


Figure I.5 : Structure chimique du polyphénol.

I.2.4 Les flavonoïdes :

a) Définition des flavonoïdes :



Les flavonoïdes sont des molécules d'origine végétale. Il s'agit de pigments donnant la coloration aux fleurs, fruits et dans certains cas aux feuilles. Les principales propriétés des flavonoïdes sont veinotoniques, anti-inflammatoires, protectrices (des vaisseaux) et anti-oxydantes [29].

Les flavonoïdes présentent un squelette de base à 15 atomes de carbone (figure I.6), fait de deux cycles en C6 reliés par une chaîne en C3. Le pont à 3 carbones entre les deux phényles forme généralement un troisième cycle pyrone. Tous les flavonoïdes environ 300 ont une origine biosynthétique commune, à savoir les flavones, les flavonols et les flavanones. Ils peuvent être regroupés en une dizaine de classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central [30].

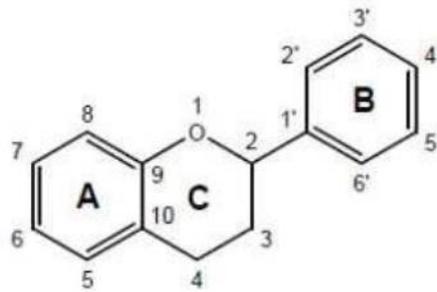
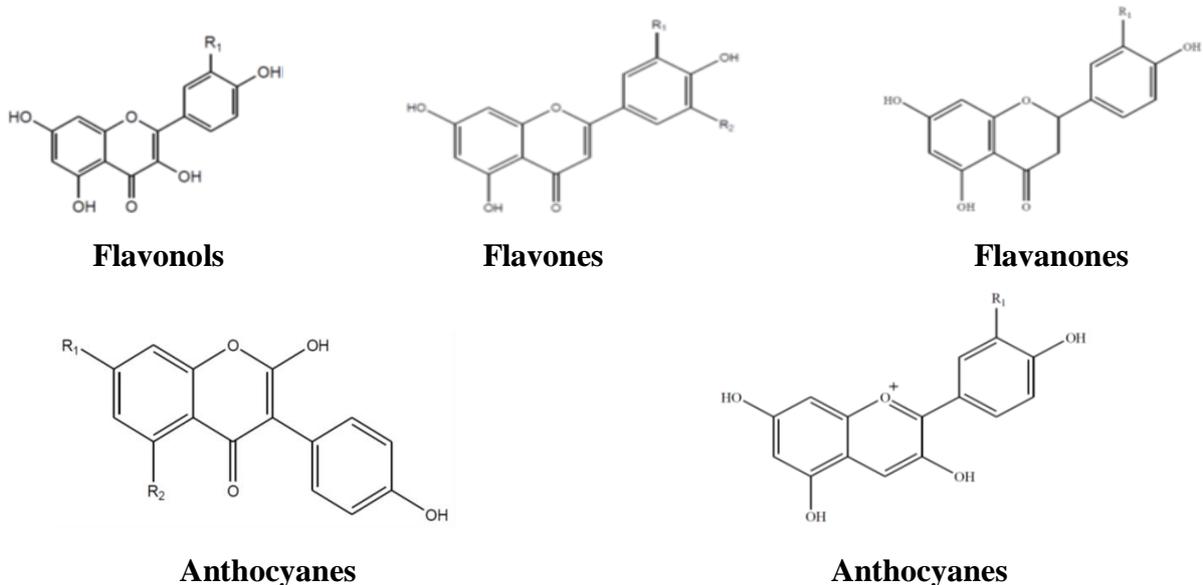
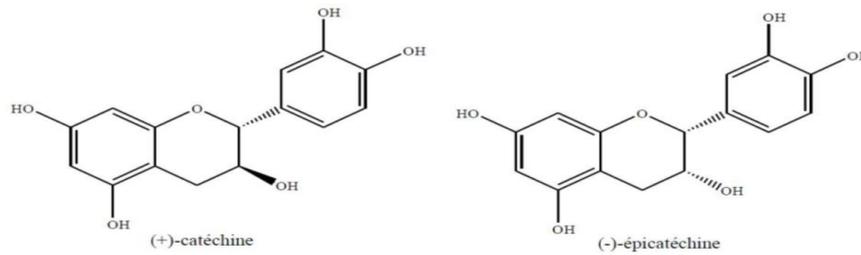


Figure I.6 : Structure chimique des flavonoïdes [30].

C) Classification :

Les flavonoïdes (figure I.7) peuvent être subdivisés en plusieurs classes dont les plus importantes sont : Flavones, flavonols, flavanones, Isoflavones, Anthocyanes, Flavan-3-ols ou flavanols [31].





Flavan-3-ols ou flavanols

Figure I.7 : Principales classes de flavonoïdes et structure [31].

d) Rôle des flavonoïdes dans la plante :

Les flavonoïdes jouent un rôle dans : la protection contre les rayonnements UV (270 et 290 nm) et contre les stress oxydants, la défense contre les pathogènes, la régulation endogène du transport des auxines, messagers secondaire dans l'interaction plante-microorganismes et l'attraction des insectes pollinisateurs par l'accumulation des anthocyanes et des flavonols [32].

I.2.5 Tannins :

Les tanins, ou acides tanniques, sont des composés organiques complexes présents dans pratiquement toutes les plantes à des concentrations diverses. Ils sont souvent contenus dans l'écorce ou dans les feuilles, ce qui leur donne un goût piquant désagréable et les rend immangeables pour le bétail. Les tanins sont des composants polyphénolique qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant d'où leur emploi pour « tanner » les peaux, ils stoppent les hémorragies et luttent contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples et drainer les sécrétions excessives comme dans les diarrhées pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure.

- On utilise le tanin comme réactif chimique et, en médecine, comme astringent et comme contre poison. Il existe deux types de tanins :
 - Les tanins hydrolysables
 - Les tanins condensés ou pro-anthocyaniques [33].

I.2.6 Saponines :

Les saponosides ou saponines sont un groupe de métabolites secondaires, abondamment trouvés dans certaines familles du règne végétal. Ils sont principalement produits par les plantes supérieures, mais aussi par des animaux marins inférieurs et quelques bactéries. Leur nom provient du latin *sapo* signifiant "savon" en raison de leurs propriétés à former des solutions moussantes en présence d'eau. Ce sont des hétérosides de poids moléculaire élevé qui se composent d'une partie lipophile, l'aglycone



(ou génine) et d'une partie hydro-phile osidique. Cette combinaison d'éléments structuraux polaires et non polaires en leurs molécules explique leur comportement moussant en solution aqueuse [34].

Les saponines irritent les muqueuses, produisent un relâchement intestinal, accroissent les sécrétions muqueuses bronchiques (elles sont expectorantes) : fleur de molène, racine de réglisse et de saipoaire. Elles sont employées comme diurétiques et désinfectantes des voies urinaires (pédoncule foliaire de l'herniaire, feuille du boulot, racine de la bugrane). La célèbre racine de ginseng (*Panax ginseng*), originaire de chine, de Corée et des régions les plus orientales de l'ancienne Union soviétique, est également riche en saponines [35].

I.2.7 Alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des substances azotées (figure I.8), plus ou moins basiques, d'origine naturelle et de distribution restreinte. Ils sont issus au moins pour une partie du métabolisme des acides aminés et possèdent des propriétés pharmacologiques marquées [36].



Figure I.8: Structures de Nicotine et arécoline [36].

Ils présentent diverses activités biologiques, ainsi, ils ont un rôle essentiel dans la protection des végétaux contre les agressions extérieures. De plus, diverses activités associées aux alcaloïdes ont des rôles bénéfiques pour l'Homme, certaines incluent des vertus thérapeutiques (morphine). Aussi, certaines molécules présentent des activités antimicrobiennes (antibactérienne, antifongique et antivirale). D'autre part, d'autres molécules sont connues comme des drogues (cocaïne) [37].

I.2.8 Terpénoïdes :

Les terpènes sont des substances généralement lipophiles qui dérivent d'une entité simple à cinq atomes de carbone (figure I.9). Leur grande diversité trouve son origine dans le nombre d'unités de base qui composent la chaîne ainsi que dans les divers modes d'assemblage. La formation de structures cyclique, l'addition de fonctions comprenant de l'oxygène et la conjugaison avec des sucres ou d'autres molécules peuvent rendre leurs structures complexes [38].

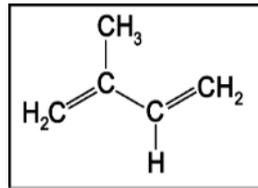


Figure I.9: Structure de la molécule d'isoprène [39].

I.2.9 Coumarines :

Présentes dans de nombreux végétaux, les coumarines sont des 2H-1-benzopyran-2-ones (figure I.10). Elles sont produites en grande quantité en réponse à une attaque biotique ou abiotique. Ces composés sont connus pour leurs propriétés anticoagulantes, antivirales, immunostimulantes, tranquillisantes, vasodilatatrices, anticoagulantes (au niveau du cœur), hypotensives ; elles sont également bénéfiques en cas d'affections cutanées [40].

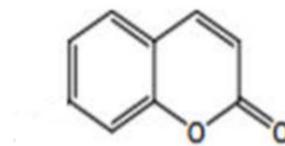


Figure I.10 : Structure des coumarines [41].

I.2.10 Les huiles essentielles :

a. Définition :

Ce sont des molécules à noyau aromatique et caractère volatil affront à la plante une odeur caractéristique et on les trouve dans les organes sécréteurs. Elles Jouent un rôle de protection des plantes contre excès de la lumière et attirer des insectes pollinisateurs.

Elles sont utilisées pour soigner les maladies inflammatoire telle que les allergies, eczéma, favorise l'expulsion des gaze intestinale comme les fleur frais au séchées des plante «camomille» [42].

b. Méthodes d'extraction des huiles essentielles :

Parmi de nombreuses techniques d'extraction des huiles essentielles, la distillation est la méthode la plus ancienne et également la plus utilisée. D'autres techniques plus récentes ont été développées afin d'améliorer le rendement ou la qualité des huiles essentielles extraites, diminuer le temps d'extraction, réduire la quantité du solvant utilisé et accélérer la cinétique d'extraction. [43]

Les huiles essentielles sont extraites principalement par des méthodes parmi lesquelles :

b.1 : Entraînement à la vapeur d'eau :

L'entraînement à la vapeur d'eau est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. A la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et



la matière végétale à traiter. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille (figure I.11). Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile [44].

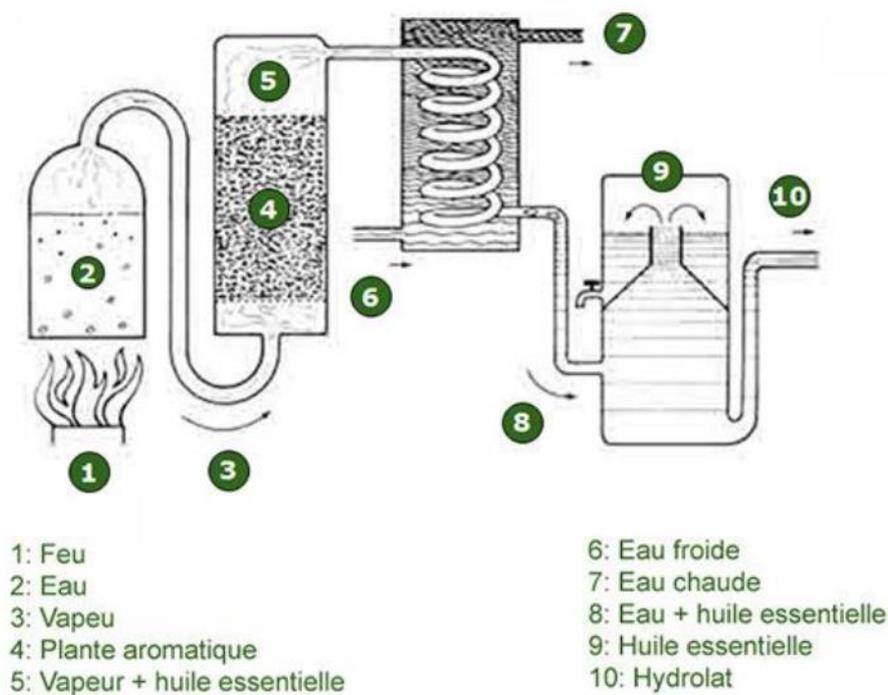


Figure I.11 : Schéma du montage de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau. [Anonyme 6]

b.2 : Par hydrodistillation :

L'hydrodistillation proprement dite, est la méthode normée pour l'extraction d'une huile essentielle, ainsi que pour le contrôle de qualité [45].

Le principe de l'hydrodistillation correspond à une distillation hétérogène. Le procédé consiste à immerger la matière première végétale dans un bain d'eau (figure I.12). L'ensemble est ensuite porté à ébullition généralement à pression atmosphérique [46].

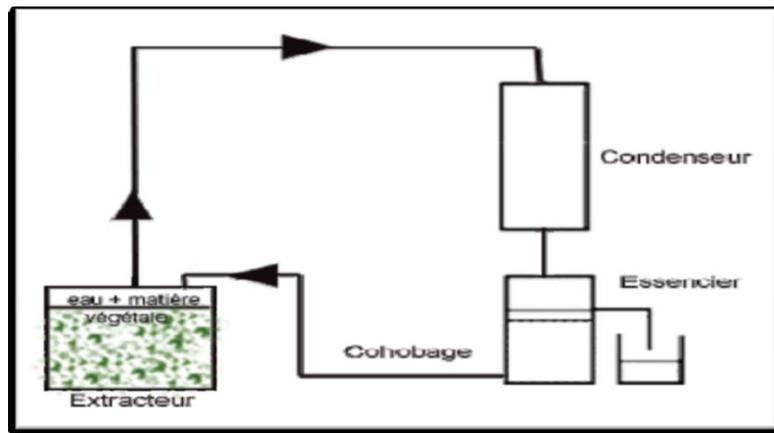


Figure I-12 : Schéma du principe de l'hydrodistillation. [47]

b.3 : L'hydrodiffusion :

L'hydrodiffusion est une variante de l'entraînement à la vapeur. Le principe de l'extraction est basé sur l'action descendante d'un flux de vapeur qui traverse le végétal (figure I-13). L'hydrodiffusion présente l'avantage de ne pas mettre en contact le matériel végétal et l'eau. De plus, l'hydrodiffusion permet la réduction de la durée de la distillation et par conséquent, une économie d'énergie par rapport à la technique précédente où le courant de vapeur est ascendant [47].

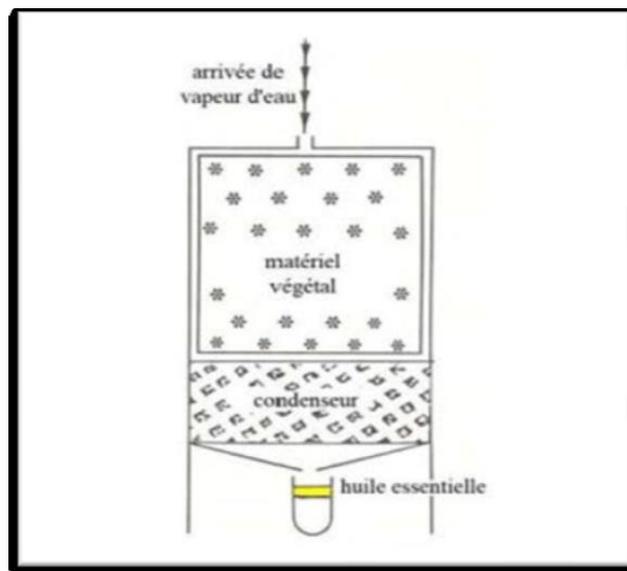


Figure I-13 : Schéma du principe de l'hydrodiffusion. [47]

b.4 : Extraction assistée par micro-onde :

La technique d'extraction par micro-onde a été développée au cours des dernières décennies à des fins analytiques. Le procédé d'extraction est basé sur l'absorption de l'énergie de la micro-onde par les composantes du matériel végétal et qui sont mesurées par une constante diélectrique, cette absorption dépend aussi de la fréquence de l'onde et de la température du matériel végétal [48].



• **Autre Procédés** : D'autres procédés sont utilisés le plus souvent pour les plantes délicates qui ne supportent pas la chaleur :

- **Enfleurage**
- **Extraction par solvant volatils**
- **Extraction aux CO₂ supercritique [49].**

d. Propriétés conservation des huiles essentielles :

Les huiles essentielles possédant en commun un certain nombre de propriétés physique :

- Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles fixes, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, et peu solubles dans l'eau à laquelle, toutefois, elles communiquent leur odeur.
- Leur point d'ébullition varie 160°C à 240°C.
- Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, elle varie de 0.75 à 0.99 (les huiles essentielles de saffran, de girofle ou de cannelle constituent des exceptions).
- Elles ont un indice de réfraction élevé.
- Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, phosphore et réduisent certains sels
- Ce sont des parfums, et sont de conservation limitée.
- Sont très altérables et sensibles à l'oxydation (mais ne rancissent pas).
- Ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, voire résineuses, très odorants et volatiles.
- A température ambiante, elles sont généralement liquides, incolores ou jaunes pâles, il existe, cependant, quelques exceptions, exemple : huiles essentielles à azulène de coloration [50].

❖ Conservation des huiles essentielles :

- Les huiles essentielles de bonne qualité peuvent se conserver plusieurs années sous certaines conditions, jusque cinq ans pour les H.E.C.T par exemple. Seules les essences de Citrus se gardent un peu moins longtemps (trois ans).
- Elles sont volatiles, il ne faut donc pas oublier de bien fermer les flacons.
- Il est préférable de les conserver dans un flacon en aluminium ou en verre teinté (brun, vert, ou bleu) et de les garder à l'abri de la lumière à une température ambiante jusque 20°C.
 - Il existe des normes spécifiques sur l'emballage, le conditionnement et le stockage des huiles essentielles (norme AFNOR NF T 75-001, 1996) ainsi que sur le marquage des récipients contenant des HEs (norme NF 75-002, 1996) [51].

I.3 Formes galéniques d'un médicament :

I.3.1. Définition d'un médicament :



Un médicament c'est toute substance utilisée pour prévenir, atténuer, soigner ou guérir une maladie ou ses symptômes de l'être humain [52].

« Toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives Ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal, ou pouvant leur être administrée en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique » [53].

I.3.1.1 Composition :

Tout médicament se compose de deux types de substances :

➤ **Principe actif :**

Un Principe actif est une substance possédant une certaine activité biologique utilisée comme moyen thérapeutique dans des préparations médicinales. Généralement, le principe actif est en faible proportion par rapport aux excipients. Généralement les principes actifs sont classés selon plusieurs aspects tels que : classe chimique, classe thérapeutique, cible moléculaire ou spécificité.

➤ **Excipients :**

Les excipients sont : les espèces chimiques qui n'ont pas d'effet thérapeutique propre, ce sont des substances destinées à apporter une consistance, un gout une couleur a un médicament. Ils jouent plusieurs rôles :

- Conservateurs.
- Modifier la couleur, gout, l'odeur.
- Améliorer l'efficacité du principe actif et du médicament.
- Accélérer la vitesse de libération du principe actif vers l'organisme [54].

I.3.2. Généralités sur les préparation pharmaceutiques Pommades :

I.3.2.1 Définition :

Les pommades sont des préparations de consistance semi solide ou pâteuses, destinées à être appliquée sur la peau ou sur certaines muqueuses, afin d'exercer une action locale ou de réaliser la pénétration percutanée des principes médicamenteux. Elles sont également utilisées en vue de leur action émolliente ou protectrice. Les pommades présentent un aspect homogène. La pommade se compose d'une base monophasique, constituée de corps gras, dans laquelle peuvent être dispersées des substances liquides ou solides. Il n'y a souvent pas d'adjonction d'eau. La consistance de la pommade est fermée. Son effet émollient est dû à l'action occlusive qu'elle a sur la peau. Les pommades sont particulièrement recommandées pour le soin des peaux sèches, squameuses et déshydratées. Cependant, elles sont à éviter sur les plis et les lésions suintantes, en raison du risque de macération.



Il existe des pommades pour application cutanée, ophtalmique, rectale ou nasale. Les pommades contenant une grande quantité de cires sont appelées : cérats [55].

I.3.2.2 Intérêt thérapeutique des pommades :

Les pommades en plus de leur action émollientes et protectrices sur la peau, règlent le potentiel d'hydrogène (PH) cutané à la normale. Elles ont une action générale par voie cutanée sans passer par le foie. En plus de leur application dermique, elles peuvent être appliquées sur les muqueuses rectale, vaginale, conjonctivales [56].

➤ **Utilisation :**

Les pommades à base de plantes médicinales s'utilisent uniquement par voie externe.

Elles sont à appliquer en massage léger sur une peau propre. L'action recherchée va ainsi rester locale.

➤ **Conservation :**

Les récipients doivent, comme toujours, rester bien fermés. Ceux destinés aux préparations contenant de l'eau ou d'autres composants volatils doivent être étanches. Il conviendra donc de les garder dans leur emballage d'origine et de respecter la date limite d'utilisation indiquée sur celui-ci.

I.3.2.3 Avantages et inconvénients :

➤ **Avantages :**

L'avantage lié à ce type de forme est de permettre une action locale. Elles peuvent donc être appliquées directement sur la peau au niveau de l'endroit à traiter.

Le fait que leur action soit externe évite tout risque de surdosage et de toxicité des principes actifs utilisés.

➤ **Inconvénients :**

La durée de conservation des pommades n'est pas très importante. De plus le temps nécessaire à la pénétration complète de la pommade est parfois long. Cette forme n'est donc pas facile à utiliser n'importe où. Il est plus simple de l'appliquer chez soi au calme, surtout si l'endroit à traiter est difficile d'accès [57].



Chapitre II : La micro-encapsulations et la cinétique de la libération du peincipe actif





Chapitre II : La microencapsulation et la cinétique de la libération du principe actif

II.1. La microencapsulation :

II.1.1 Définition :

La microencapsulation se définit comme le procédé par lequel on enferme des matières solides, liquides ou gazeuses dans des microcapsules qui libèrent leur contenu de façon contrôlée sur une période de temps prolongé. Elle est utilisée pour masquer le goût désagréable de certains ingrédients ou tout simplement transformer des substances liquides et solides. [58]

Les particules obtenues se divisent en 3 groupes. Microparticules, nanoparticules et liposomes.

II.1.2 Classifications :

Il existe deux types de microparticules qui diffèrent par leur microstructure (**Figure II.1**): la microcapsule, particule sphérique de type « cœur -membrane » ; le cœur est constitué de la substance active et la membrane de l'agent encapsulant qui forme l'enveloppe solide, et la microsphère, constituée d'un réseau polymère dans lequel la substance active est dispersée à l'état moléculaire ou particulaire (structure dite de type matriciel).[59]

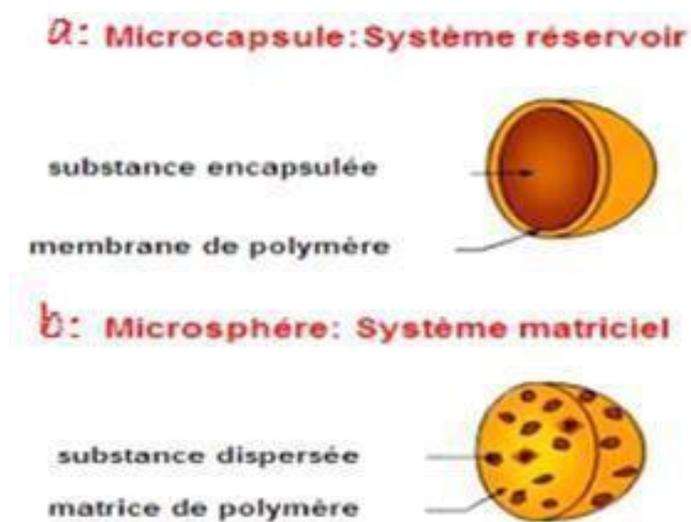


Figure II.1 : Représentation schématique d'une microcapsule et d'une microsphère [60].



Un certain nombre de facteurs physico-chimiques, permettent de caractériser la membrane d'une microcapsule ou la matrice d'une microsphère :

- Charge électrique de surface ;
- Mouillabilité ;
- Porosité ;
- Tortuosité des pores ;
- Degré de gonflement ;

Le taux d'encapsulation (ou la teneur en matière active) peut être très élevée dans les microcapsules, de l'ordre de 85 à 90 % (rapport massique). Comparés à ceux rencontrés dans les microsphères qui sont plus faibles, de l'ordre de 20 à 35 %. [59]

II.1.3 Intérêts de la microencapsulation :

Les microparticules peuvent avoir différents rôles selon l'application pour laquelle elles sont conçues (Figure II.2):

- Préserver un principe actif ou une substance du milieu extérieur lors de la fabrication d'un produit. La substance encapsulée peut alors sans dégradation subir divers procédés de fabrication comme des cuissons, des extrusions, des stérilisations
- Transformer un liquide en solide. En effet, lors de l'encapsulation d'un produit liquide, celui-ci est transformé en poudre de granulométrie plus ou moins fine ; on obtient alors un pseudo solide.
- Faire varier la masse volumique d'un liquide en l'encapsulant. Ce faisant, on peut obtenir qu'un produit dense flotte ou bien qu'un produit léger coule.
- Diminuer la volatilité d'un produit possédant une forte tension de vapeur. Ceci est valable par exemple pour les arômes dans les préparations culinaires.
- Obtenir une diffusion contrôlée d'un produit actif. Ceci est surtout valable dans les formes pharmaceutiques, afin d'obtenir des médicaments à effet retard.
- Séparer deux produits incompatibles devant se trouver dans un même mélange. De cette façon, on peut faire coexister deux produits réactifs [61].



Figure II.2: Intérêts de la microencapsulation. [62]

II.1.4 Les vecteurs pour la microencapsulation :

Les vecteurs utilisés pour la microencapsulation peuvent varier en fonction de la substance à encapsuler et de l'application final :

II.1.4.1 Les nanoparticules :

Les nanoparticules sont des systèmes colloïdaux dont la taille est comprise entre 10 et 1000 nm, à base de polymères généralement biodégradables, ou de lipides capables de retenir une ou des molécules actives par séquestration et/ou adsorption.

Les nanoparticules peuvent être de type matriciel, le principe actif est dispersé ou dissous dans la matrice de polymère, ou de lipides, on parle alors de nanosphères. Les nanoparticules peuvent aussi être de type réservoir, il s'agit alors de nanocapsules, constituées d'un cœur généralement liquide entouré d'une fine membrane de polymère généralement dont l'épaisseur ne dépasse pas quelques nanomètres (Figure II.3). [63]

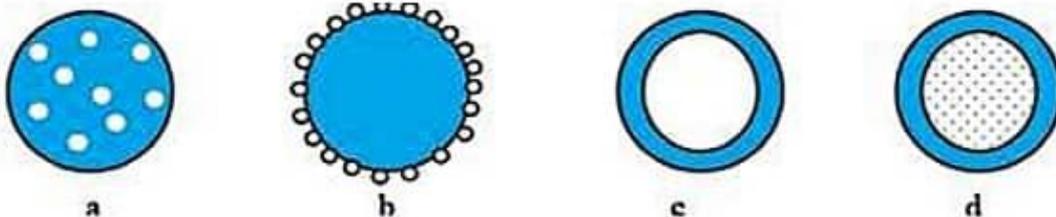


Figure II.3 : Représentation schématique de nanoparticules. a : nanosphères(NS), b :nanosphères + principe actif adsorbé, c, d :nanocapsules principe actif dissous (c)ou dispersé(d). [63]



II.1.4.2 Les liposomes :

Sont des vésicules constituées de bicouches de molécules amphiphiles qui délimitent deux compartiments aqueux : un compartiment aqueux interne ou cavité aqueuse et un compartiment aqueux externe dans lequel les vésicules se trouvent en suspension. Les méthodes de préparation des liposomes sont nombreuses et peuvent aboutir à la formation de plusieurs types de vésicules différentes par leur taille, leur structure et leur capacité d'encapsulation. (Figure II.4).[63]

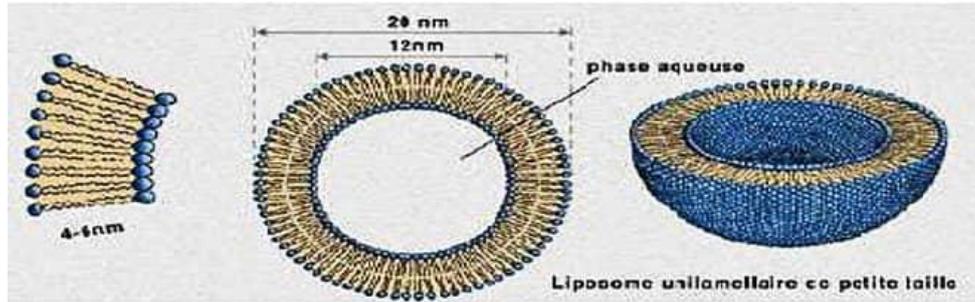


Figure. II 4 : Structure d'un liposome. [63]

II.1.4.3 Les microparticules :

Les microparticules présentent une taille comprise entre environ 1 μm et 1 mm et contiennent typiquement entre 5 et 90 % (en masse) de matière active.

Les matières actives sont d'origines très variées : principes actifs pharmaceutiques, actifs cosmétiques, additifs alimentaires, produits phytosanitaires, essences parfumées, microorganismes, cellules, ou encore catalyseurs de réaction chimique. Les matériaux enrobant sont des polymères d'origine naturelle ou synthétique, ou des lipides. Les microparticules obtenues présentent deux types de morphologies (Figure II.5). [63]

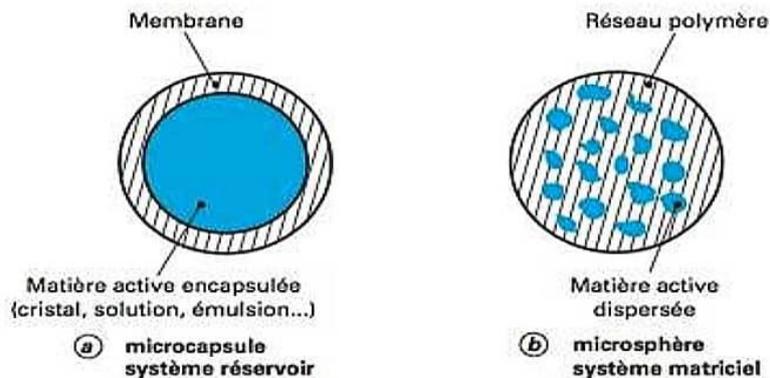


Figure II.5 : Morphologie des microparticules. [63]



II.1.5 Techniques d'encapsulation :

Il existe plusieurs méthodes d'encapsulation avec différentes variations et spécificités, compte tenu du type de particules prétendu (taille, forme, propriétés de libération et échelle de production).

Les méthodes de microencapsulation, peuvent être divisées en deux types principaux : les procédés chimiques et les procédés mécaniques.

II.1.5.1 Techniques chimiques :

Les processus chimiques comprennent les méthodes de Cocrystallisation, de coacervation, d'inclusion moléculaire et de polymérisation interfaciale. Cependant, les deux plus pertinentes sont la coacervation et l'inclusion moléculaire.

II.1.5.2 Techniques mécaniques :

Les procédés mécaniques comprennent des procédés tels que le séchage par pulvérisation, le séchage par pulvérisation/ refroidissement par pulvérisation, l'extrusion et le lit fluidisé. [64]

II.1.6 Cinétique de libération du principe actif encapsulé :

Les interactions entre le principe actif et le milieu extérieur, deux types de microparticules. Selon peuvent être formés celles qui ne doivent pas libérer leur contenu telles que les microparticules qui contiennent des enzymes ou des bactéries et celles qui sont formulées de façon à libérer le principe actif. Nous distinguons les systèmes à libération déclenchée et les systèmes à libération prolongée. [65]

a) Système à libération accélérée :

Les préparations à libération accélérée sont des systèmes dont la vitesse de libération de la molécule active est plus précoce que celle de la forme à libération conventionnelle destinée à la même voie d'administration. Cette accélération peut être obtenue en augmentant la vitesse de désagrégation, ce qui offre une absorption sans délai du PA conduisant à une action pharmacologique rapide, ces préparations s'adressent notamment à certains PA, tels que les antalgiques, pour lesquels il est souhaitable une action aussi rapide que possible. Les comprimés effervescents, orodispersibles, solubles, dispersibles ou les lyophilisats oraux en sont de bons exemples [66].

b) Système à libération prolongée :

La libération prolongée d'un principe actif est celle pour laquelle la dose unitaire totale est retenue au sein d'un système contrôlant la vitesse de libération. La rétention du principe actif peut être faite par



son inclusion dans un excipient insoluble dans les liquides de l'organisme qui forme ainsi une espèce de matrice à partir de laquelle le principe actif sera libéré lentement.

La libération prolongée est basée sur deux principes :

- La vitesse de libération du principe actif à partir de la forme galénique est plus lente que dans le cas de libération conventionnelle. Cette étape est préalable aux étapes de dissolution et d'absorption. Elle correspond donc au facteur limitant qui contrôle la dissolution et l'absorption,
- La durée de cette libération avec le temps.

Ces formes sont essentiellement représentées par les matrices. **La figure II.6** représente le profil de libération prolongée d'un principe actif en comparaison avec celui de la libération immédiate. [67]

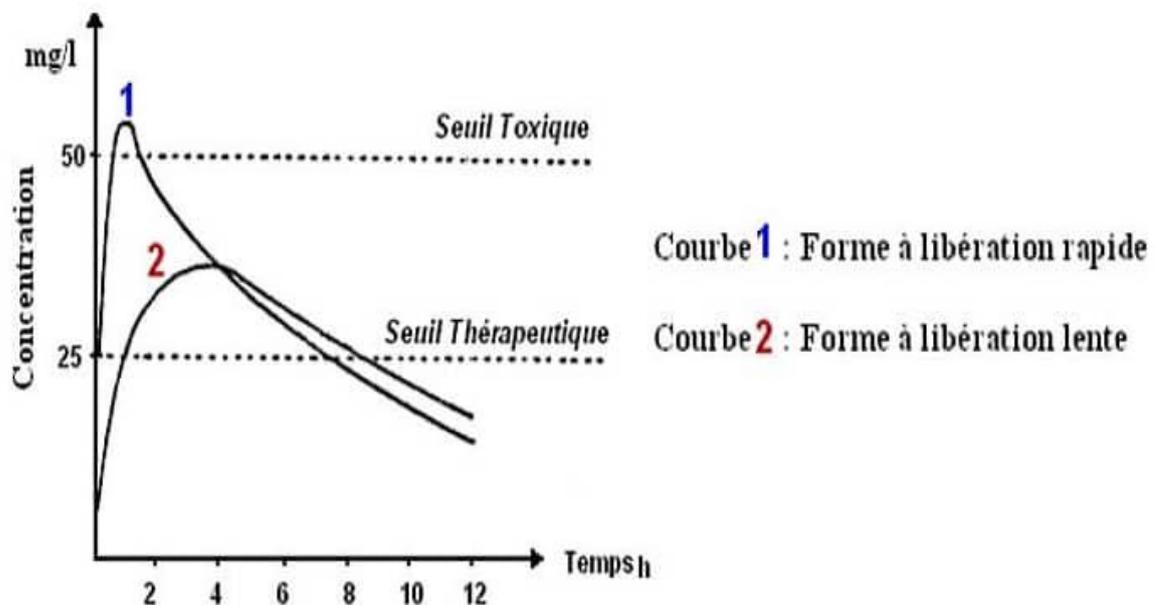


Figure II.6: présentation des profils de libération prolongé et immédiat. [67]

c) Système à libération déclenchée :

Parfois, un PA doit être libéré de sa forme galénique de manière retardée dans le temps ou dans l'espace par rapport aux formes conventionnelles. Elles sont définies comme des formes retards ou à libération différée.

Les comprimés ou gélules gastro-résistantes sont un exemple de forme à libération retardée. Différents agents d'enrobages permettent aux médicaments de traverser l'estomac sans y être désagrégés. Ces formes pharmaceutiques peuvent permettre de protéger un PA contre une dégradation à pH acide ou contre leur métabolisation par des enzymes présentes dans certaines parties de l'organisme comme



l'estomac. Les protéines ou polypeptides sont par exemple mieux absorbés au niveau du colon que dans la partie proximale de l'intestin où ils sont généralement dégradés. À l'inverse, ces formes peuvent aussi protéger certaines parties de l'organisme, comme les muqueuses gastro-intestinales, d'un PA irritant. En différant la libération du PA dans le temps, celui-ci peut être libéré dans la seconde partie du tube digestif au niveau de l'iléon ou du colon. Cela peut également présenter des avantages considérables dans le traitement de maladies inflammatoires intestinales comme la maladie de Crohn par exemple.[68]

II.2 Méthodologie des plans d'expérience :

Les plans d'expériences constituent essentiellement une stratégie de planification d'expériences afin d'obtenir des conclusions solides et adéquates de manière efficace et, économique. La méthodologie des plans d'expériences se base sur le fait qu'une expérience convenablement organisée, conduira fréquemment à une analyse et à une interprétation statistique relativement simple des résultats. De nombreuses études consistent à trouver, s'il existe, un optimum dans un domaine d'étude appelé domaine expérimental. Les étapes d'une étude par plan d'expériences sont rappelées ici :

- Définition des objectifs et des réponses,
- Choix d'une stratégie expérimentale,
- Définition des facteurs,
- Définition du domaine expérimental,
- Définition du modèle empirique,
- Construction du plan d'expériences,
- Expérimentation,
- Analyse globale des résultats d'essais,
- Analyse mathématique des résultats d'essais,
- Analyse statistique du modèle,
- Analyse graphique du modèle,
- Validation du modèle et des informations obtenues. [69]

II.2.1 Définition :

Un plan d'expérience consiste en la mise en œuvre organisée d'un ensemble d'unités expérimentales de manière à révéler les effets de différents traitements, tel que la comparaison des effets de quatre antibiotiques sur une souche bactérienne. [70]



La méthode d'expérimentation choisie doit faciliter l'interprétation des résultats, et minimiser le nombre des essais sans toutefois sacrifier la qualité. La théorie des plans d'expériences assure les conditions pour lesquelles la meilleure précision possible avec le minimum d'essais sont obtenus, afin d'avoir le maximum d'efficacité avec le minimum d'expériences et par conséquent un coût minimum. [71]

II.2.2 Types de plans d'expérience :

a) Plans factoriels à 2 niveaux (2^k) :

Les plans factoriels complets à deux niveaux sont les plus simples, ils sont aussi les plus utiles car ils forment la base de tous les débuts d'étude. Les premiers résultats obtenus grâce à ces plans peuvent toujours être complétés par de nouvelles expériences permettant d'atteindre le degré de précision et d'information recherché.

Les plans factoriels à deux niveaux sont d'une importance particulière parce que :

1. Ils nécessitent relativement peu d'exécutions par facteur étudié.
 2. L'interprétation des observations produites par les conceptions peut se faire en grande partie en utilisant des graphiques sensoriels, arithmétiques élémentaires et informatiques.
 3. Lorsque les facteurs sont quantitatifs, bien qu'ils ne permettent pas d'explorer pleinement une vaste région de l'espace des facteurs, ils déterminent souvent une direction prometteuse pour une expérimentation plus poussée. [72]
- ✓ Pour deux facteurs, le domaine d'étude est un carré. Le modèle mathématique postulé est un modèle du premier degré par rapport à chaque facteur :

$$y = \alpha_0 + \alpha_1 X_1 + \alpha_2 X_2 + \alpha_{12} X_1 X_2 + e$$

- y est la réponse.
- xi représente le niveau attribué au facteur i.
- α_0 est la valeur de la réponse au centre du domaine d'étude.
- α_1 est l'effet (ou effet principal) facteur 1.
- α_2 est l'effet (ou effet principal) du facteur 2.
- α_{12} est l'interaction entre les facteurs 1 et 2.
- e est l'écart. [73]

Matrice d'essais :

Pour l'étudier deux facteur 1 et 2, à raison de deux niveaux pour chaque facteur, il faut réaliser $2^2=4$ essais (Figure II.7). Les conditions opération de chaque essai sont décrites dans le tableau II.1 suivant :



Tableau II.1 : Matrice d'expérience d'un plan factoriel à deux facteurs 2^2

| Essai N° | Facteur 1 | Facteur 2 |
|----------|-----------|-----------|
| 1 | -1 | -1 |
| 2 | 1 | -1 |
| 3 | -1 | 1 |
| 4 | 1 | 1 |

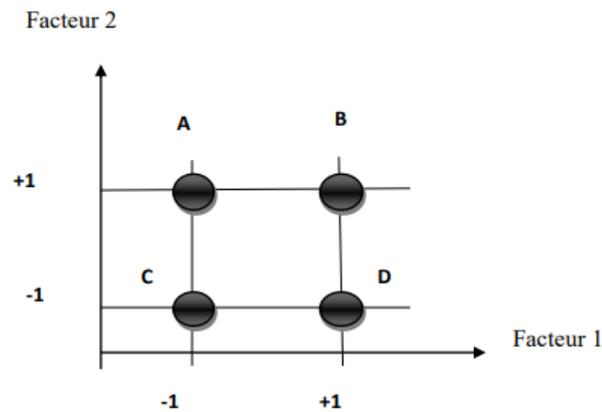


Figure II.7 : Représentation du domaine expérimental pour un plan 2^2 . [75]

Plan 2^2 : facteurs A et B 4 expériences.

Pour trois facteurs le nombre des essais à réaliser est 8 essais. La matrice des essais ou d'expérience est donnée par le tableau II.3 suivant et correspond au Plan 2^3 : facteurs A, B et C ; 8 expériences :

Tableau II.2: Matrice d'expérience d'un plan 2^3

| Essai N° | Facteur 1 | Facteur 2 | Facteur 3 |
|----------|-----------|-----------|-----------|
| 1 | -1 | -1 | -1 |
| 2 | 1 | -1 | -1 |
| 3 | -1 | 1 | -1 |
| 4 | 1 | 1 | -1 |
| 5 | -1 | -1 | 1 |
| 6 | 1 | -1 | 1 |
| 7 | -1 | 1 | 1 |
| 8 | 1 | 1 | 1 |



Pour k facteurs, le nombre d'essais est de 2^k d'où le nom de plan 2^k donné à cette famille de plans. La matrice des essais comporte k colonnes et 2^k lignes. Elle se construit simplement comme suit :

- Colonne du 1^{er} facteur : alternance de -1 et + 1
- Colonne du 2^{ième} facteur : alternance de -1 et +1 de 2 en 2
- Colonne du 3^{ième} facteur : alternance de -1 et +1 de 4 en 4
- Colonne du 4^{ième} facteur : alternance de -1 et +1 de 8 en 8,etc.[74]

b) Plans centrés composés :

Les plans composites centrés peuvent ajuster un modèle quadratique complet. Ils sont souvent utilisés lorsque le plan demande une expérimentation séquentielle, car ces plans peuvent intégrer des informations provenant d'une expérience factorielle correctement planifiée.

Le plan composite centré est le plan de surface de réponse le plus utilisé. Les plans composites centrés comprennent un plan factoriel ou un plan factoriel fractionnaire avec des points centraux, auxquels s'ajoute un groupe de points axiaux (ou étoiles) qui permettent d'estimer la courbure. [76]

b.1 Propriétés des plans composites :

b.1.1 Modèle mathématique postulé :

Le modèle mathématique construit (figure II.8) à l'aide des plans composites est un polynôme du second degré avec interactions. On ne conserve, en général, que les interactions d'ordre deux. Ainsi pour deux facteurs ($k = 2$), l'équation de régression s'écrit [77] :

$$Y = b_0 + b_1 x_1 + b_2 x_2 + b_{12} x_1 x_2 + b_{11} x_1^2 + b_{22} x_2^2 + \varepsilon$$

Avec :

- Y : est la réponse
- b_0 : est la valeur de la réponse au centre du domaine d'étude
- $x_1, 2$: représente le niveau attribué au facteur 1, 2
- b_1 : est l'effet (ou effet principal) du facteur 1.
- b_2 : est l'effet (ou effet principal) du facteur 2.
- b_{11} : est l'effet entre les facteurs 1 et 1.
- b_{22} : est l'effet entre les facteurs 2 et 2.
- ε : est l'écart.



Le nombre total n d'essais à réaliser est la somme des essais du plan factoriel (n_f), des essais du plan en étoile (n_α) et des essais au centre (n_0). Le nombre n des essais d'un plan composite est donné par la relation [78] :

$$n = n_f + n_\alpha + n_0$$

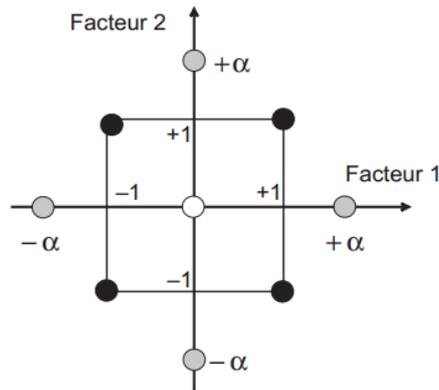


Figure II. 8 : plan composite centré. [78]

c) Plans Box-Behnken :

Box et Behnken (1960) ont introduit un type différent de plans d'expériences pour les modèles du deuxième ordre qui permettent l'estimation de certaines interactions [79]. Les plans de Box-Behnken sont faciles de mise en œuvre car tous les facteurs ne prennent que trois niveaux : -1, 0 et +1, en variables codées [80]. Ce type de plans pour 3 facteurs impliquent trois blocs, dans chacun, un plan factoriel 2^2 qui est représenté par chaque paire de traitement pendant que le troisième facteur reste fixé à 0. Donc le plan de Box-Behnken de 3 facteurs possède 15 essais (12 arêtes et 3 points au centre (figure II.9) [79].

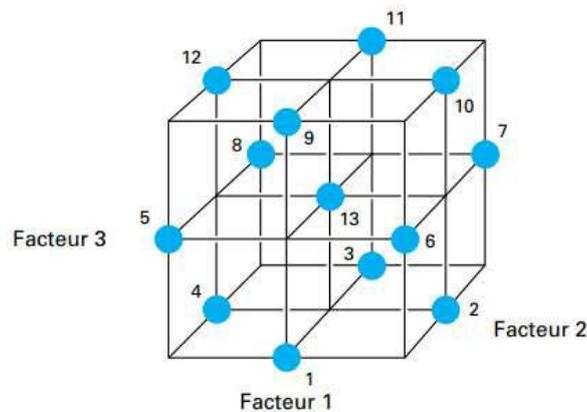


Figure II. 9 : Plan de Box-Behnken pour trois facteurs [79].



Chapitre III : Matériels et Méthodes





Chapitre III : Matériels et Méthodes

Introduction

Ce travail a été effectué au laboratoire 2 de Génie des procédés et de microbiologie de « L'université A-Mira. Bejaia ».

- L'utilisation de solvants organiques pour extraire la plante étudiée, détermination du rendement, analyse par UV-Visible, évaluation des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux.
- Etude de l'activité antioxydante par DPPH, analyse par HPLC.
- Elaboration des formulations de pommades antibactérienne à base des feuilles de la plante médicinale du *Ficus Microcarpa*.
- Détermination de l'activité antibactérienne des extraits des feuilles et fruit du *Ficus Microcarpa*.
- Étude de la cinétique de libération des polyphénols par microencapsulation dans des polymères biodégradables et de la préparation pharmaceutique.

❖ *Partie 01 : Fruit du ficus microcarpa*

III.1. Matériel végétal :

Le fruit de *Ficus Microcarpa* a été utilisé comme substrat durant cette étude. La récolte a été faite dans la wilaya de Bejaia à l'université A. Mira (**Figure III.1**). Elles ont été récupérées dans un sac propre et sec à l'abri de la lumière pour servir ultérieurement à l'extraction.



Figure III.1 : Photos montrant à gauche les graines et à droite une section du Fruit de *Ficus Microcarpa*.



III.1.1. Prétraitement de la plante

III.1.1.1. Broyage, Tamissage et concervation :

Les fruits séchés ont été broyées à l'aide d'un mortier d'abord, puis poursuivi avec une broyeur à couteaux. A la fin, la poudre pulvérisée a été tamisée avec un tamis de 100 μ m, puis conservée dans un sachet, entouré avec du papier aluminium à l'abri de la lumière et de l'humidité (**Figures III.2, III.3**).



Figure III 2 : Broyage de fruit du Ficus Micrparca

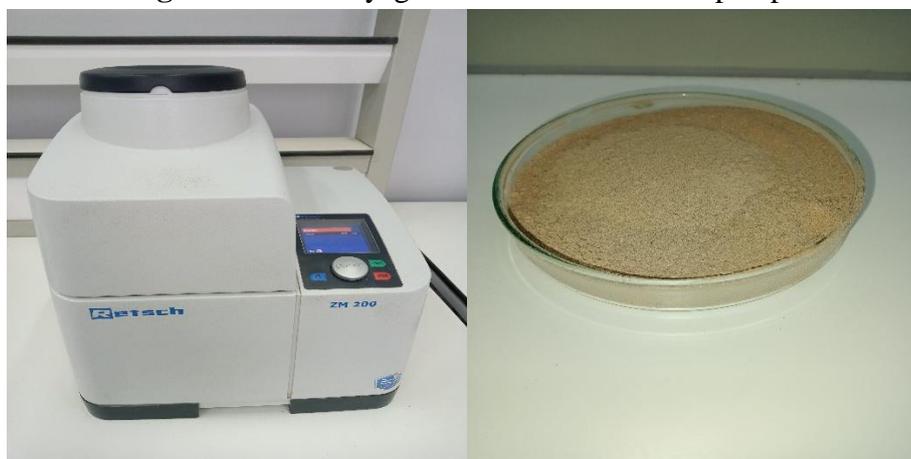


Figure III.3 : Broyage à l'aide d'un broyeur à couteaux.

III.2. Méthodes d'extraction :

L'extraction consiste à transférer un composé d'une phase à une autre:

- D'une phase solide à une phase liquide, c'est l'extraction solide-liquide.
- D'une phase liquide à une autre phase liquide, c'est l'extraction liquide-liquide.

C'est une opération qui consiste à séparer certains composés d'un organisme (animal ou végétal) selon diverses techniques [81].

III.2.1 Extraction solide-liquide :



III.2.1.1 Macération

La macération (extraction solide/liquide) est une opération qui consiste à laisser la poudre du matériel végétal en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à température ambiante [82].

Le protocole de la macération de cette plante est le suivant (**Figure III.4**) :

- Peser 50gramme de la matière végétale (poudre).
- Mélanger la poudre avec 40 ml d'eau distillée et 160 ml de méthanol dans un erlen de 500ml.
- Laisser le mélange macérer pendant 24h sous agitation et à température ambiante.
- Après 24h, le mélange est filtré sur un papier filtre. (**Figure III.5**)
- Récupérer le filtrat dans un récipient, et conserver à l'abri de la lumière et à température ambiante. Le résidu de filtration est récupéré dans une boîte de pétri et pesé. (**Figure III.6**).



Figure III.4 : Procédés de macération.



Figure III.5 : Filtration.



Figure III.6 : séchage du résidu.

III.2.1.2 Rendement massique :

Une prise d'essai de 5 ml de filtrat a été prélevée et placée dans une boîte à pétri, tarée et propre et sèche, à l'air libre pendant 5 jours. A la fin, on poursuit le séchage dans une étuve réglée à 60 °C



pendant 1h, pour permettre à la solution de s'évaporer complètement. A la fin, la boîte à pétri est pesée, et la masse du résidu sec de macération est déterminé en utilisant la relation suivante :

$$M (\text{résidu sec}) = P_f - P_0$$

P_f : poids final après séchage (tare + résidu sec)

P₀ : poids initial de la boîte à pétri vide.

D'où on calcule la masse de l'extrait M (extrait sec) pour le volume total V de la solution de macération, qui nous permet de déterminer le rendement de l'extraction.

$$M (\text{extrait sec}) = M (\text{résidu sec}) \cdot (V / 50)$$

Le rendement massique est calculé par l'équation suivante [83] :

$$R \% = \frac{M_{extsec}}{M_{éch}} \times 100$$

- **R** : Rendement massique (%)
- **M_{ext}** : la masse de l'extrait sec après l'évaporation du solvant (g) et séchage à 60°C.
- **M_{éch}** : la masse de la poudre de l'échantillon de plante de *Ficus Microcarpa* (g)

III.2.2 Extraction par les solvants organiques (Extraction liquide-liquide) :

L'extraction liquide-liquide est une opération qui permet la séparation d'un ou plusieurs constituants par l'utilisation de leur distribution inégale dans deux liquides pratiquement non-miscibles (figure III.7).

L'extraction liquide-liquide implique la transition d'une substance d'un solvant difficilement séparable vers un autre dont elle sera isolable et plus soluble, selon le principe de l'affinité polaire et de la solubilité.

-Conditions d'extraction :

- Les deux solvants doivent être non miscibles.
- La substance à extraire doit être beaucoup plus soluble dans le solvant d'extraction que dans le solvant original [84] .

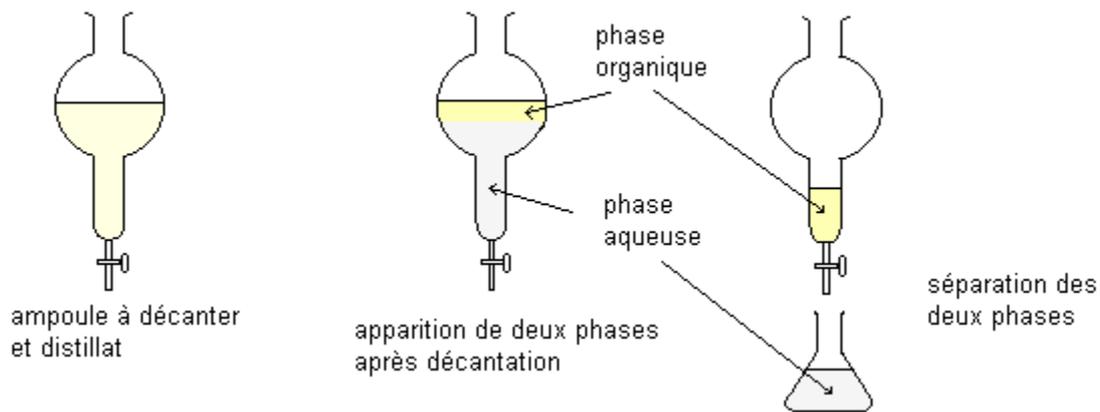


Figure III.7..Extraction liquide-liquide.[84]

• **Méthode de séparation :**

a. **Extraction par l'éther de pétrole (EP) : (figure III.8)**

- Dans une ampoule à décantation, on ajoute 25 ml de filtrat à 50 ml d'éther de pétrole (EP).
- On agite et on laisse reposer le mélange au moins 20 minutes jusqu'à l'obtention de deux phases, une phase organique ou l'éther de pétrole (supérieure) et une phase aqueuse (inférieure).
- La phase supérieure organique ou EP de couleur claire est transvasée dans un erlen de 100 ml.
- La phase inférieure aqueuse et méthanolique de couleur jaune est transférée dans un second erlenmeyer de 100 ml et hermétiquement conservée.

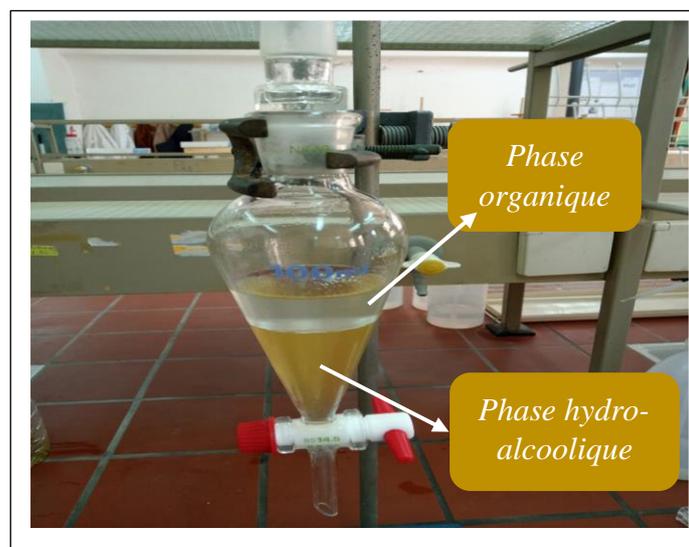


Figure III.8: Extraction par l'éther de pétrole.



b.Extraction par le Dichlorométhane : (figure III.9)

- Dans une ampoule à décanter, on ajoute 25ml de la phase aqueuse récupérés dans la précédente extraction, à 25 ml de dichlorométhane.
- On agite énergiquement et on retourne l'ampoule, on ouvre le robinet doucement et on extrait les gaz. Puis on referme et on laisse reposer le mélange au moins 20 minutes, jusqu'à l'obtention de deux phases, une phase organique ou Dichlorométhane (inférieure plus dense) qui est incolore et une phase aqueuse (supérieure) d'une couleur jaune.
- On récupère la phase organique dans un erlen de 100 ml (Extrait DCM).

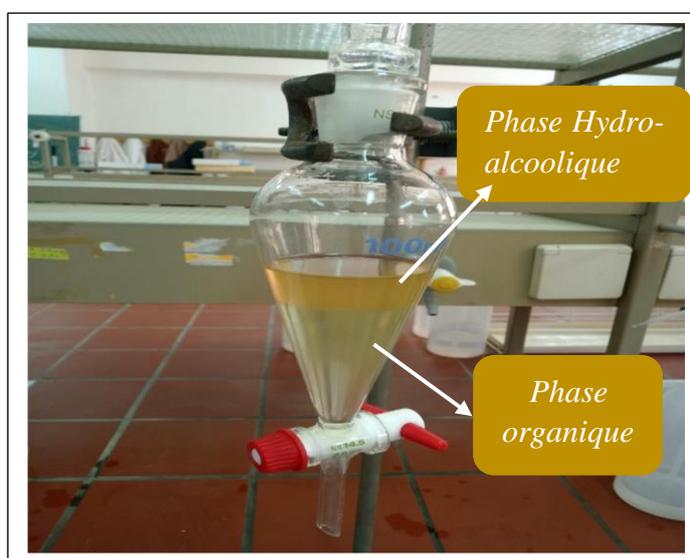


Figure III.9: Extraction par le dichlorométhane.

- Les résultats de l'extraction liquide/liquide sont résumés dans la **figure III.10**.



Figure III.10: Résultat de l'extraction liquide-liquide.



III.3 Analyse et quantification par spectroscopie UV-Visible

III.3.1 Dosages des polyphénols totaux

- **Principe :**

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode spectrophotométrique UV-visible, décrite par Velioglu et al. (1998), en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est un acide de couleur jaune constitué d'un mélange de deux acides : acide phosphotungstique et acide phosphomolybdique. Il est réduit lors de l'oxydation des phénols pour former un complexe bleu stable d'oxydes de tungstène et de molybdène. La coloration produite, dont l'absorption maximum à 750nm, est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques présents dans les extraits végétaux [85].

- **Mode opératoire :**

- **Préparation des solutions :**

- Solution mère d'acide gallique d'une concentration de 2mg /ml : 20mg d'AG ont été dissous dans 10ml d'eau distillée dans un tube à essai.
- Solution de Folin-Ciocalteu diluée dix fois : un volume de 10 ml de Folin concentré est dilué avec 90ml de méthanol dans une fiole de 100 ml.
- Solution de carbonate de sodium d'une concentration de 0.075 g/ml : 18.75g de Na_2CO_3 dissouts dans 250ml d'eau distillée.

- **Préparation des étalons de l'Acide Gallique :**

On prépare une série d'étalons par dilutions de la solution mère d'AG de concentration 2mg /ml, selon le tableau III.1 suivant :

Tableau III.1 : préparation des étalons d'acide gallique.

| Etalons | E0 | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 | E6 |
|-------------------------------------|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Solution de mère d'AG (ml) à 2mg/ml | 0 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.5 | 0.6 | 0.7 |
| Eau distillée | 10 | 9.9 | 9.8 | 9.7 | 9.5 | 9.4 | 9.3 |
| Ce (ug/ml) | 0 | 2 | 4 | 6 | 10 | 12 | 14 |
| Ve(ml) | 0.4 | | | | | | |
| Folin (ml) | 2 | | | | | | |
| Na_2CO_3 (ml) | 1.6 | | | | | | |
| A (765nm) | 0 | 0.2205 | 0.3416 | 0.5470 | 0.8743 | 1.0339 | 1.3049 |

D'après le tableau III.1, on mélange 0,4 ml de chaque solution étalon (de E1 à E6) avec 2 ml de réactif de folin-Ciocalteu et 1,6 ml de solution de Na_2CO_3 . Chaque solution étalon est agitée, puis laissée déposer pendant 2 heures afin de développer la coloration bleue du complexe stable. Puis on mesure



les absorbances des solutions à 765 nm par rapport au blanc contenant 0,4 ml d'eau distillée + 2 ml de Folin-Ciocalteu et 1,6 ml de carbonate de sodium, préparé dans les mêmes conditions que les étalons.

○ Dosage de l'extrait :

Il est nécessaire de préparer la solution pour le dosage des polyphénols, en diluant la solution d'extrait concentré 10 fois pour EB, DCM et HA sauf pour l'extrait EP qui est dosé sans dilution, selon les étapes indiquées dans le schéma de la figure III.11 ci-dessous :

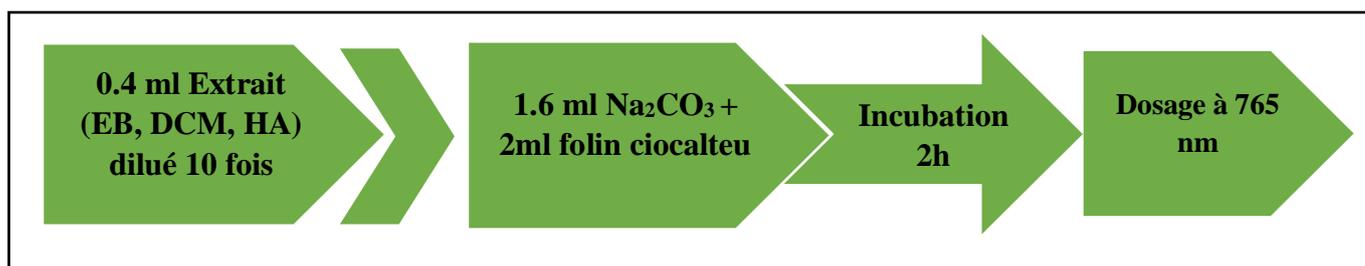


Figure III.11 : Schéma des étapes de dosage des polyphénols dans les extraits du fruit du *figus microcarpa*.

La lecture des résultats au spectrophotomètre UV-Visible à une longueur d'onde de 765nm est faite par rapport à un blanc constitué de 2 ml de réactif de Folin-Ciocalteu et 1.6ml de la solution Na_2CO_3 , plus 0.4 ml d'eau distillée.

III.3.2 Dosage des flavonoïdes :

• Principe :

On effectue le dosage des flavonoïdes en utilisant la complexation de la quercétine ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$) par le chlorure d'aluminium (AlCl_3) dans le méthanol (figure III.12). Le complexe formé est jaune susceptible d'un dosage par UV-Visible à 430 nm.

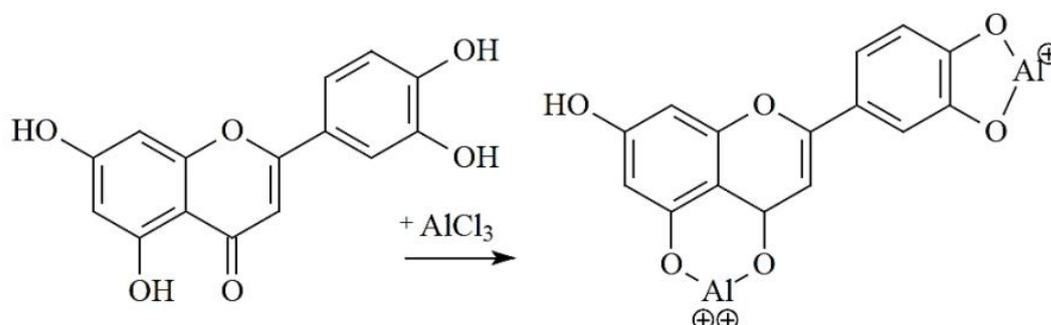


Figure III.12 : schéma de réaction des flavonoïdes avec AlCl_3 .



- **Mode opératoire :**
- **Préparation des solutions :**
 - La solution de trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ à 2%.
On dissout 2g de sel $AlCl_3$ dans 100ml de MeOH.
 - Solution mère de quercétine.
15 mg de Quercétine sont dissous dans 7.5ml de MeOH.
- Préparation des étalons de Quercétine : Il faut procéder à plusieurs dilutions de la solution mère de Quercétine à une concentration de 2mg/ml. Selon le **tableau III.2**.

Tableau III.2 : préparation des étalons de quercétine.

| Etalons | E0 | E1 | E2 | E3 | E4 | E5 | E6 |
|-------------------------------------|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Solution mère de Qr(ml) à 2mg/ml | 0 | 0.1 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.5 | 1 |
| MeOH (ml) | 0 | 9.9 | 9.8 | 9.7 | 9.6 | 9.5 | 9 |
| Ce (mg/ml) | 0 | 0.02 | 0.04 | 0.06 | 0.08 | 0.1 | 0.2 |
| Ve(ml) | 0.4 | | | | | | |
| $AlCl_3$ (ml) | 2 | | | | | | |
| Ce' (ug/ml) | 0 | 3.33 | 6.66 | 9.99 | 13.32 | 16.65 | 33.3 |
| A (430nm) | 0 | 0.2986 | 0.4585 | 0.6519 | 0.8672 | 0.9858 | 1.5630 |

Par la suite, nous devons mélanger les prélèvements de 0,4 ml de chaque étalon (de E1 à E6) avec 2 ml de solution d' $AlCl_3$ (facteur de dilution = 6 fois) dans divers tubes à essai.

Avant de mesurer les absorbances des étalons à 430 nm par rapport au blanc (0.4ml de MeOH + 2 ml de $AlCl_3$), on agite puis on laisse reposer pendant 15 minutes afin de développer la couleur jaune du complexe stable.

- Préparation de l'échantillon de l'extrait :
Pour le dosage des solutions des extraits, on doit mélanger 0.4ml de chaque extrait avec 2 ml de $AlCl_3$ dans différents tubes à essai. On agite les solutions et on laisse au repos 15 mn, puis on mesure leurs absorbances à 430 nm par rapport au blanc (Figure III.13).



Figure III.13 : Schéma des étapes pour le dosage des flavonoïdes dans les extraits du *ficus de microcarpa*

III.4 Activité antioxydante par la méthode du radical DPPH° des extraits du *Ficus Microcarpa* :

Le test avec le DPPH (diphénylpicrylhydrazyl) est une méthode largement utilisée dans l'analyse de l'activité antioxydante.

En effet, le radical DPPH° se caractérise par sa capacité à produire des radicaux libres stables. Cette stabilité est due à la délocalisation des électrons libres au sein de la molécule (**figure III.14**). La présence de ces radicaux DPPH• donne lieu à une coloration violette foncée de la solution. La réduction des radicaux DPPH• par un agent antioxydant entraîne une décoloration de la solution. Le changement de couleur peut être suivie par spectrophotométrie à 517nm et de cette façon le potentiel antioxydant d'une substance ou d'un extrait de plante peut être déterminé [86].

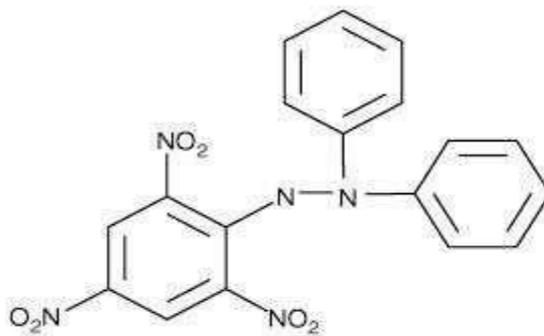


Figure III. 14 : formule globale du DPPH [86].

➤ Mode opératoire :

- Préparation de la solution de DPPH de concentration 0.036 mg/ml.
Une prise d'essai de 2 mg de DPPH pur est dissoute avec du MeOH dans une fiole de 50ml, puis le solvant est ajusté au trait de jauge.
- Préparation de la solution diluée. (**Tableau III.3**)
On réalise deux dilutions de chaque extrait concentré dans le MeOH.



Tableau III.3 : Les dilutions des extraits.

| Solutions diluées de EB, EEP, DCM, HA, | E1 | E2 |
|--|-----|-----|
| Extrait (µl) | 100 | 800 |
| MeOH (ml) | 1 | 1 |

Dans cette étape, le pouvoir d'inhibition et antioxydant des extraits a été associé à celui d'un témoin constitué d'un mélange de (1ml de MeOH + 2ml de la solution DPPH).

Ensuite, on mélange 1ml de chacune des solutions diluées des extraits avec 2 ml de DPPH, et on laisse agir pendant 30mn. On mesure ensuite les absorbances par rapport au blanc (MeOH) à 517nm. L'absorbance de la solution témoin doit être effectuée de la même manière que les extraits dilués. Les étapes pour le dosage du pouvoir d'inhibition de DPPH sont schématisées dans la **figure III.15**.

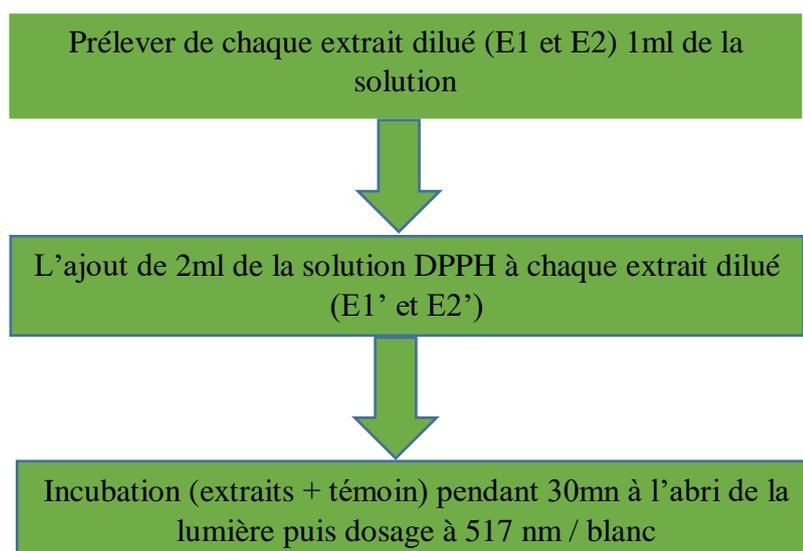


Figure III.15 : schéma des étapes de dilution des extraits de ficus microcarpa et mesure de l'activité anti-oxydante par le DPPH.

L'équation suivante est utilisée pour calculer l'activité anti-oxydante en pourcentage d'inhibition du radical DPPH° :

$$\text{Inhibition (\%)} = \frac{(\text{Abs Témoin} - \text{Abs échantillon})}{(\text{Abs Témoin})} \times 100$$

Inhibition (%) : pourcentage d'inhibition des radicaux libre.

Abs Témoin : Absorbance du Témoin.

Abs échantillon : Absorbance de la solution contenant l'extrait.



III.5 Analyse qualitative et quantitative par chromatographie liquide à haute performance HPLC des extraits du *Ficus Microcarpa* :

➤ Principe et méthode :

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution d'abord, puis seront introduits dans la phase mobile liquide (éluant). Grâce à la répartition sélective des solutés entre la phase mobile et la phase stationnaire, chaque soluté est donc soumis à une force de rétention exercée par la phase stationnaire, et une force de mobilité due à la phase mobile. Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans une colonne chromatographique.

La phase mobile, poussée par une pompe sous forte pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté à travers le système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne, grâce à un détecteur approprié, les différents solutés sont représentés par des pics. Ceux-ci sont enregistrés et constituent le chromatogramme [87].

Le mécanisme de la séparation chromatographique s'explique par les différences de répartition des molécules des composés d'un mélange entre deux phases non-miscibles : l'une mobile et l'autre stationnaire. Ce principe est traduit par le schéma suivant (figure III.16):

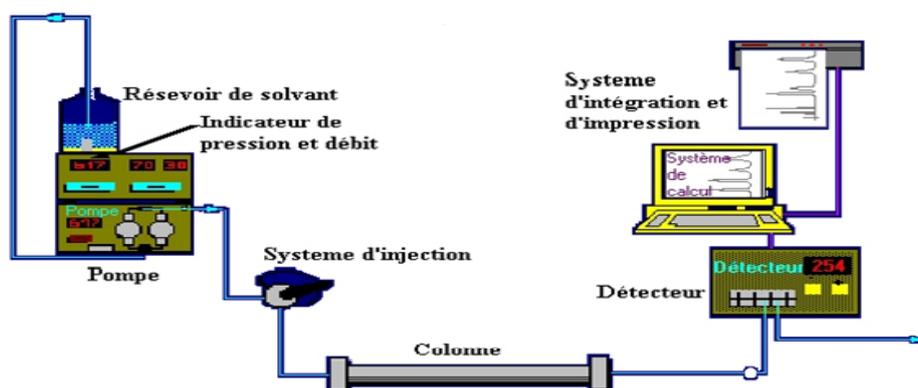


Figure III. 16 : Principe de fonctionnement d'une chaîne HPLC.

➤ Mode opératoire :

- Préparation de la phase mobile :



Trois solvants polaires composent la phase mobile : l'eau distillée, le méthanol et l'acide acétique (500 ml, 470 ml et 25 ml) respectivement.

Toutes les solutions des standards et des extraits ont été diluées dans des vials de 2ml.

- **Préparation des standards ($V_t=2\text{ml}$) :**

➤ **Acide ascorbique (0.2mg/ml)**

On mélange 0.2ml d'acide ascorbique à 2mg/ml à un volume de 1.8 ml de la solution phase mobile.

➤ **Acide gallique(0.2mg/ml)**

On mélange 0.2ml d'acide gallique à 2mg/ml à un volume 1.8 ml de la solution phase mobile.

➤ **Quercétine (0.2mg/ml)**

On mélange 0.2ml de quercétine à un volume 1.8 ml de la solution phase mobile.

- **Préparation des extraits :**

0.2ml de chaque extrait (DCM, HA, EBFM) est ajouté 1.8ml de la solution phase mobile.

- **Les conditions d'analyse sont les suivantes :**

- **Débit :** 1ml/min.

- **Pression de travail :** 100-150 bar.

- **Volume d'injection :** 20 μl .

- **Longueur d'onde :** 250nm. fixe

- **Temps d'analyse :** 25min.

- **Colonne :** C18.

- **Mode :** isocratique.

❖ *Partie 02 : Feuilles du Ficus Microcarpa*

III.2.1. Matériel végétale :

Une autre étude a été menée en récoltant les feuilles la même plante (ficus microcarpa). Les feuilles ont subi les mêmes étapes préliminaires que précédemment, elles ont été séchées et broyées à l'aide d'un mortier puis les poudres ont été tamisées à l'aide d'un tamis de 100 microns.



Figure III.17 : Feuilles du Ficus Microcarpa.



Figure III 18 : Broyage des feuilles du Ficus Microcarpa

III.2.2. Méthodes d'extraction :

La méthode et étapes de préparation que précédemment pour l'extraction par macération des feuilles ont été suivies sauf qu'ici on a utilisé 20 g de poudre de feuilles (Figure III.19).



Figure III.19: Procédés de macération.



Figure III.20 : Filtration.

III.2.2.1 Extraction par les solvants organiques (Extraction liquide-liquide) :

- **Méthode de séparation :**

On a suivi les mêmes étapes de séparation liquide-liquide que précédemment dans une ampoule à décanter de 100 ml, pour obtenir à la fin trois extraits de feuilles : EBF, EPF et HAF (Figure III.21). Dans cette partie, la phase de DCM n'a pas été isolée et séparée de la phase HA. Pour cela, on a suivi les étapes suivantes pour tenter de les séparer :

-On laisse s'équilibrer les deux phases dans l'ampoule à décanter pendant un jour. On n'observe aucune séparation. On ajoute 100 ml d'éthyle acétate pour améliorer la séparation des deux phases (DCM et HA).

- Après cela, toutes les phases ont été récupérées dans un erlen de 250ml, par la suite on a utilisé le rotavapeur (figure III.22) pour réduire le volume des solvants en chassant les plus volatils (DCM-Acétate d'éthyle) à 40°C sous pression atmosphérique et récupérer à la fin la phase hydro-alcoolique (HA).

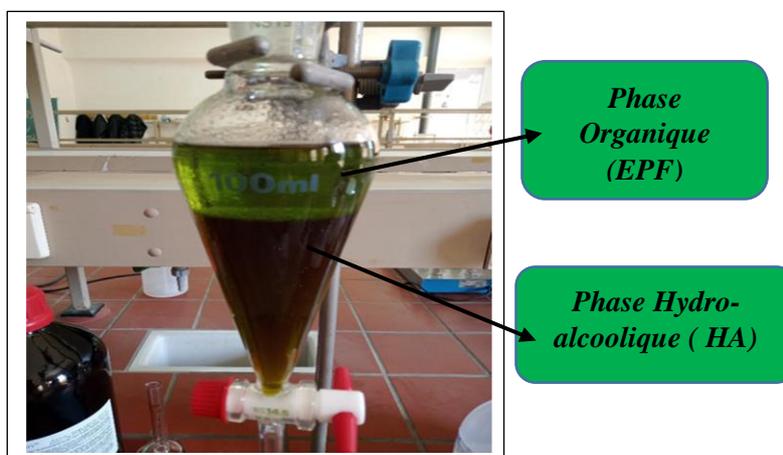


Figure III.21: Extraction par l'éther de pétrole.



Figure III.22: Extraction par le dichlorométhane et évaporation par le rotavapeur.

III.2.3 : Analyse et quantification par spectroscopie UV-Visible :

III.2.3.1 : Dosages des polyphénols totaux :

Nous avons suivi les mêmes étapes que précédemment pour le dosage des polyphénols. Le facteur final de dilution est 100 fois pour l'extrait brut EBF et l'extrait hydroalcoolique HAF. Tandis que l'extrait dans l'éther de pétrole n'a pas été dilué.

III. 2.3.2 : Dosage des flavonoïdes :

• Mode opératoire :

Nous avons adopté les mêmes étapes pour doser les flavonoïdes dans les extraits sans dilution EBF, EPF et HAF des feuilles.

III.2.4 : Activité antioxydante par la méthode du radical DPPH° des extraits des feuilles du *Ficus Microcarpa* :

Les mêmes étapes que précédemment de la mesure du pouvoir d'inhibition du radical DPPH° ont été suivies pour les extraits des feuilles EBF, EPF et HAF.

III.2.5 : Analyse qualitative et quantitative par chromatographie liquide à haute performance HPLC des extraits des feuilles du *Ficus Microcarpa* :

➤ Mode opératoire :

Les mêmes étapes, conditions et appareillage que précédemment ont été utilisées pour doser les métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes, acide ascorbique) dans les extraits EBF, EPF et HAF des feuilles de *ficus microcarpa*.



❖ *Partie 03 : Micro-encapsulation Fruit & Feuilles de Ficus Microcarpa*

III.3 : Microencapsulation par émulsion simple H/E des extraits :

III.3.1 : Présentation des matières premières :

a. Les polymères :

• **Le polyéthylène glycol (PEG6000) :**

On appelle polyéthylène glycol ou PEG6000 des polyéthers linéaires de masse molaire inférieure à 20 000 g·mol⁻¹ fabriqués à partir de monomères d'éthylène glycol (C₂H₄O) de masse molaire M=44,0526 ± 0,0022 g/mol. Leurs propriétés hydrosolubles et liposolubles en font des produits utilisés dans un grand nombre d'industries (Médical, cosmétique, etc.) [88]. On les appelle également macrogol (Figure III.23) utilisé surtout dans le domaine médical [Anonyme 7].

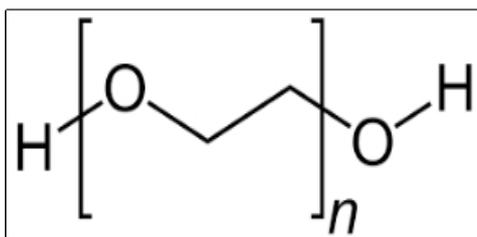


Figure III.23: Structure chimique de Polyéthylène glycol [88].

• **Dextrine :**

Famille de glucides amorphes, de formule brute (C₆H₁₀O₅)_n, solubles dans l'eau et de type dextrogyre, qui sont issus d'une transformation de l'amidon. On peut citer les maltodextrines (hydrolysats d'amidon sous forme de mélange de divers sucres, dont le dextrose équivalent varie entre 0 et 20) et les cyclodextrines (structure cyclique intégrant 6, 7 ou 8 unités glucose) [Anonyme 8].

Elle se présente sous forme de poudre blanche. Elle peut se dissoudre plus ou moins dans l'eau et produire des solutions incolores.

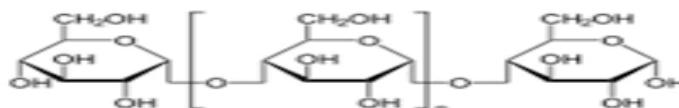


Figure III.24 : Formule chimique de la dextrine.

b. Tensionactif (Triphosphosphate de sodium ou TPPNa) :

Est un composé inorganique de formule $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$. C'est le sel de sodium du polyphosphate pentanion, qui est la base conjuguée de l'acide triphosphorique (Figure III.25). Il est produit à grande échelle comme composant de nombreux produits domestiques et industriels, en particulier les détergents. Des problèmes environnementaux associés à l'eutrophisation sont attribués à son utilisation répandue [Anonyme9].

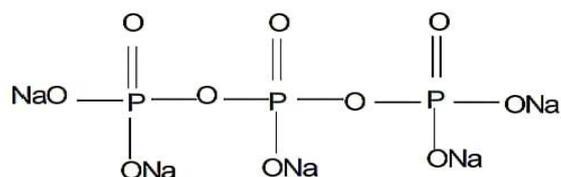


Figure III.25 : Formule chimique de TPPNa [89].

c. Principes actifs : les polyphénols et flavonoïdes des extraits des fruits et des feuilles

D'après les précédentes analyses par UV-visibles et par HPLC, on a opté pour l'encapsulation d'un volume précis d'extrait HA pour les fruits et d'extrait EB pour les feuilles, parce qu'ils sont plus riches en polyphénols, qui représentent les principaux métabolites ayant une action antibactérienne.

III.3.2. Préparation des tampons de différents pH= 4 ; 6 ; 8 de la phase continue :

✓ **Solution d'acide chlorhydrique 0.1N :**

Pour un volume de 100ml de solution, on doit prélever un volume de HCl concentré selon le calcul suivant :

$$m_{\text{HCl}} = C.V.M \quad \longrightarrow \quad m_{\text{HCl}} = 0.365\text{g de HCl pur}$$

$M = 36.5\text{g/mol}$, **Pureté = 37%** , **Densité = 1.18** . **Masse volumique (ρ) = 1.18g/cm³**



Pour $m_{\text{HCl}}=0.98\text{g}$ et $\rho = \frac{m_{\text{HCl}}}{V}$, on a : $V=0.83\text{ml}$

Ainsi, 0.83ml de la solution concentrée de HCl à 37% est prélevé dans une fiole de 100ml, puis on ajoute de l'eau distillée au trait de jauge.

✓ Solution de NaOH 0.1 N

Pour un volume de 100ml de solution, on doit peser une masse précise de NaOH, tel que :

$M=40 \text{ g/mole}$, Pureté= 98%

$$m_{\text{NaOH}} = C.V.M \longrightarrow m_{\text{NaOH}} = 0.4082\text{g}$$

Donc, il faut dissoudre la prise d'essai de 0.4082g de NaOH, pesée avec une balance analytique à $\pm 0.1\text{mg}$, dans une fiole de 100ml, puis nous complétons avec de l'eau distillée au trait de jauge.

✓ **Préparation de Tampon pH=4 :**

Le pH de l'eau distillée est d'abord mesuré et il est de 6.28 à une température de 25°C.

La valeur du pH est ajustée en ajoutant 0.22ml de solution HCl à 0.1 N afin d'obtenir un pH de 4. La valeur du pH est contrôlée au préalable par un pH-mètre étalonné avec une solution Tampon 4.

✓ **Préparation du Tampon pH=8 :**

On ajoute à l'eau distillée (pH eau distillée= 6.20) quelques gouttes de NaOH à 0.1N pour réajuster sa valeur à pH=8, en utilisant un pH-mètre munit d'une sonde pH-métrique et étalonné au préalable avec une solution Tampon 9 ou 7.

✓ **Préparation du Tampon pH=6 :**

On ajoute à l'eau distillée (pH eau distillée= 6.20) quelques gouttes de NaOH à 0.1N jusqu'à pH=6. Le pH-mètre est étalonné avec une solution tampon 7.

III.3.3 Essais de microencapsulation des extraits.

III.3.3.1 Optimisation des paramètres de préparation des microparticules par plan d'expérience factoriel à 3 facteurs-2 niveaux :

L'objectif de cette étude consiste à identifier les conditions idéales pour préparer les microparticules en utilisant la méthode des plans d'expérience de type factoriel. Les principaux facteurs ciblés sont la dose en polyphénols=X1, le rapport massique en polymère $R_p = \text{masse Dex}/\text{masse PEG} = X2$ et le pH



=X3 de la phase continue. Le nombre d'essai est estimé par la formule $2^n + 2$, où $n=3$ est le nombre de facteurs, et 2 correspond au nombre d'essais centraux, qui donne au total 10 essais à réaliser pour la matrice.

Dans le **Tableau III.4**, on peut observer les quantités d'extraits Hydroalcoolique du ficus microcarpa ainsi que les masses des polymères qui ont été ajoutées à chaque essai de la matrice du plan d'expérience.

Tableau III.4 : Les différentes masses de PEG, de Dextrine et Volumes d'extrait Hydro alcoolique du fruit ou brut du Ficus microcarpa utilisés pour les essais du plan d'expérience factoriel.

| Essai | Volume d'extrait du fruit FM(ml) | Masse de dextrine (mg) | Masse de PEG (mg) |
|-------|----------------------------------|------------------------|-------------------|
| 1 | 0.5 | 600 | 150 |
| 2 | 1.5 | 600 | 150 |
| 3 | 0.5 | 600 | 50 |
| 4 | 1.5 | 600 | 50 |
| 5 | 0.5 | 600 | 150 |
| 6 | 1.5 | 600 | 150 |
| 7 | 0.5 | 600 | 50 |
| 8 | 1.5 | 600 | 50 |
| 9 | 1 | 600 | 75 |
| 10 | 1 | 600 | 75 |

- ✓ Trois facteurs ont été étudiés, à savoir la quantité de PP (polyphénols), le rapport de polymère et le pH. Le **Tableau III.5** présente les variables codées, tandis que le **Tableau II.9** présente la matrice du plan factoriel de l'ensemble des dix essais.

Tableau III.5 : Variable codées et réelles des facteurs.

| Facteur indépendant | Niveau | | |
|-----------------------------|--------|-------|-------|
| | -1 | 0 | 1 |
| Dose de PP en mg (X1) | 0.703 | 1.406 | 2.109 |
| Rapport de polymère Rp (X2) | 4 | 8 | 12 |
| pH (X3) | 4 | 6 | 8 |



La matrice du plan d'expérience est représentée dans le **Tableau III.6**.

Tableau III.6 : Matrice du plan d'expérience factoriel pour les essais de micro-encapsulation de l'extrait HA du FM dans les polymères Dex/PEG.

| Essai N° | X1 | X2 | X3 | Dose(mg) | RP | pH |
|----------|----|----|----|----------|----|----|
| 1 | -1 | -1 | -1 | 0.703 | 4 | 4 |
| 2 | 1 | -1 | -1 | 2.109 | 4 | 4 |
| 3 | -1 | 1 | -1 | 0.703 | 12 | 4 |
| 4 | 1 | 1 | -1 | 2.109 | 12 | 4 |
| 5 | -1 | -1 | 1 | 0.703 | 4 | 8 |
| 6 | 1 | -1 | 1 | 2.109 | 4 | 8 |
| 7 | -1 | 1 | 1 | 0.703 | 12 | 8 |
| 8 | 1 | 1 | 1 | 2.109 | 12 | 8 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 1.406 | 8 | 6 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 1.406 | 8 | 6 |

Pour l'encapsulation de l'extrait EB des feuilles, nous n'avons réalisé qu'un seul essai qui correspond aux conditions de l'essai 6, conformément aux valeurs du précédent tableau III.6 :

➤ **Essai N°6 pour les feuilles:**

| Facteurs | X1 | X2 | X3 | Dose(mg) | RP | pH |
|----------|----|----|----|----------|----|----|
| Valeurs | 1 | -1 | 1 | 2.109 | 4 | 8 |

III.3.3.2 Protocole de la préparation des microparticules :

➤ **La phase dispersée :**

Dans un erlenmeyer de 150 ml, on dissout 600mg de dextrine puis on ajoute 10 ml de DCM à l'aide d'une éprouvette graduée de 25ml. On laisse le mélange sous agitation magnétique (500tour/min) pendant quelques minutes, pour bien homogénéiser jusqu'à dissolution de la dextrine. Puis on ajoute avec une seringue de 5 ml, un volume précis de l'extrait (HA ou EB) relatif à chaque essai de la matrice du plan (Figure III.26) pendant 2 mn. On laisse se poursuivre l'agitation pendant 10 mn pour bien disperser les PAs dans la suspension.



Figure III.26 : La phase dispersée.

On doit préparer parallèlement la phase continue en suivant les étapes qui suivent :

➤ **La phase continue :**

0.2g de tension actif tripolyphosphate de sodium (TPPNa) sont dissous dans 20ml de tampon à différents pH (voir plan d'expérience) dans un erlenmeyer de 150 ml propre (Figure III.27). On le laisse agiter pendant 5min, puis on ajoute les différentes masses de polymère PEG (suivi plan expérience). On poursuit l'agitation pendant quelques minutes pour bien homogénéiser (10mn).



Figure III.27 : La phase continue.

On passe par la suite à l'étape de l'émulsification suivante :

➤ **Emulsifications :**

On introduit rapidement et goutte à goutte avec une seringue de 10 ml toute la phase dispersée dans la phase continue, sous agitation énergique (500 trs/mn). A la fin de l'ajout, on maintient une agitation modérée (400 trs/mn) pendant 1h30 à température ambiante, afin de créer une émulsion.



Ensuite, on filtre les microsphères à l'aide de papier Wattman puis on récupère le filtrat (**Figure III.28**) dans un tube bien fermée, qui sera dosé par UV-Visible (Dosage polyphénols Totaux) pour déterminer le taux d'encapsulation, et on obtient les microsphères dans le résidu de filtration (**Figure III.29**) qui seront séchées à l'air libre pendant trois jours au minimum. Le séchage sera complété à l'étuve à 60°C pendant 2h.



Figure III.28 : Filtration.



Figure III.29 : Microsphère.

III.3.3.3 Taux d'encapsulation :

On détermine les concentrations en polyphénols restant dans les filtrats, en appliquant la précédente méthode de dosage par UV-visible et en présence du Folin-Ciocalteu, sous les mêmes conditions que précédemment.

Les flavonoïdes n'ont pas été dosés du fait que leurs teneurs sont très faibles dans les extraits.

Afin de vérifier si réellement il y'a eu encapsulation des polyphénols, nous avons procédé à l'analyse par HPLC des filtrats des essais d'encapsulation, sous les mêmes conditions chromatographiques que précédemment.

III.4 Formulation des pommades de l'extrait brut des feuilles du *Ficus microcarpa* (FMF) :

III.4.1 Composition de la pommade antibactérienne :

a. Excipients :

- Vaseline :

Grâce à son inertie chimique et physiologique, il est parfait pour préserver les ingrédients actifs sensibles, afin de fabriquer des pommades dermiques. Elle est utilisée comme diluant (**Figure III.30**).



- Huile de sésame :

L'huile de sésame a une texture fluide et pénétrante, une couleur jaune dorée à jaune pâle, une odeur et un goût typique de la graine de sésame. Les particularités botaniques et organoleptiques de cette huile sont susceptibles d'évoluer en fonction des conditions de production (pays, ensoleillement, production biologique etc.). Elle contient près de 85% acides gras insaturés (acides oléique et linoléique) et moins de 20% d'acides gras saturés, principalement l'acide palmitique (7,9-12%), l'acide stéarique (4,8-6,1%), l'acide oléique, (35–50%) et l'acide linoléique (35–50%). [90]. Elle est utilisée comme agent pénétrant dans la peau.

- **Oxyde de zinc** : contribue à sécher la pommade afin d'améliorer sa capacité à cicatriser, ainsi qu'à agir comme un agent cicatrisant externe.

b. Principes actifs :

- **Extrait brut et les microsphères** : sont utilisés à des doses précises comme principes actifs.



Figure III.30: les compositions de la pommade .

III.4.2 Protocole de la préparation des pommades des extraits des feuilles du ficus microcarpa:

➤ (PEBFMF) :

Dans un mortier, on verse une quantité (en grammes) de vaseline naturelle pure et quelques gouttes d'huile de sésame. Puis on mélange tous les ingrédients avec une spatule en plastique, jusqu'à obtenir une pommade onctueuse. Ensuite, on ajoute une masse précise d'oxyde de zinc, on mélange très bien avec la cuillère en plastique, puis on ajoute un volume de l'extrait des feuilles EBFMF correspondant à une dose précise en PAs, jusqu'à obtenir une texture homogène (figure III.31).



Figure III.31 : Pommade de l'extrait brut des feuilles PEBFMF.

➤ **Pommade des microsphères de l'extrait des feuilles du ficus microcarpa (PMFMF6) :**

- **Mode opératoire :**

Le même protocole de préparation a été suivi sauf que pour ce cas, on ajoute une masse précise de microsphères de l'essai 6 correspondant à la même dose en extrait de feuilles (Figure III.32).



Figure III.32 : Pommade microsphères de l'essai 6 des feuilles PMFMF6.

➤ **Pommade témoin :**

Le même protocole de préparation a été suivi sauf que pour ce cas (base de la pommade), sauf que pour ce cas on ne doit pas ajouter l'extrait ni les microsphères (Figure III.33).



Figure III.33: Formulation des 3 pommades, témoin, PEBFMF et PMFMF6.

III.5 Activité anti-bactérienne des extraits et des microparticules du *Ficus Microcarpa* :



La première mise en évidence de l'action des métabolites secondaires contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix. Depuis, de nombreux principes actifs naturels ont été investies pour leur activité antibactérienne. Cette activité est par ailleurs variable d'une substance à une autre et d'une souche bactérienne à une autre [91].

➤ **Définition :**

La substance antibactérienne de source végétale est définie comme étant des molécules utilisées pour détruire les microorganismes ou empêcher leur croissance ; la sensibilité d'une bactérie à un antibactérien varie selon la nature de la substance antibactérienne. [92]

✓ **Evaluation de l'activité antibactérienne :**

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits du ficus microcarpa (extrait hydro-alcoolique fruit et extrait brut feuilles) a été appréciée selon la méthode de diffusion sur milieu gélosé (méthode disque et puits). Les tests ont été effectués au niveau du Bloc 9 (Laboratoire de Monsieur TOUATI. A) de l'Université de Béjaia.

III.5.1 Les souches bactériennes :

Les souches microbiennes testées (tableau III.7) ont été choisies pour leurs fréquences élevées : deux souches bactériennes ont été testées. Le tableau suivant représente le code des différentes souches microbiennes utilisées dans cette étude.

Tableau III.7 : Code des différentes souches microbiennes étudiées.

| Nature de souches | Souches utilisées | Code de la souche |
|----------------------|------------------------------|-------------------|
| Souches bactériennes | <i>Staphylococcus aureus</i> | ATCC 6538 |
| | <i>Escherichia coli</i> | ATCC 8739 |

III.5.1.1 préparation du milieu de culture :

La poudre (38g) de milieu de Muller Hinton il est introduit dans un flacon de 3000ml puis addition de 1000ml d'eau distillée (Figure III.34).

Le mélange est chauffé en agitant, porté à ébullition pendant 30 min et autoclavé à 121°C pendant 15min en évitant un surchauffement. Les boites de pétri de 90 mm sont remplies de gélose Muller Hinton fondue, d'une épaisseur de 4 mm sous la haute stérile (figure III.35).



Figure III.34 : Milieu de culture Muller Hinton Agar.



Figure III.35 : Les boîtes de pétri sous la haute stérile.

III.5.1.2 Méthodes de l'ensemencement :

➤ Méthode de puits :

C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet anti microbien, elle est aussi appelée : la technique de dilution en gélose pour la détermination des extraits actifs (figure III.36).

On ensemence aseptiquement des boîtes de pétri contenant du milieu Muller Hinton agar (pour les bactéries) à l'aide d'une suspension. L'ensemencement se fait par écouvillonnage.

Une fois que les boîtes ont séché, on perfore la gélose à l'aide d'un l'embout. La solution aqueuse de différents extraits pour chaque expérience est ajoutée aux cavités (on prélève 40ul par puits)

- L'extrait hydro-alcoolique de fruit ficus microcarpa (HAFM).
- L'extrait brut des feuilles ficus microcarpa (EBFMF).
- La solution des microsphères (50mg poudre de microsphère mélanger dans 1ml d'eau distillée stérilisée).



- La pommade extrait brut des feuilles ficus microcarpa (PEBFMF) mélanger avec 1ml eau distillée stérile.
- La pommade microsphère des feuilles ficus microcarpa (PMFMF) mélanger avec 1ml eau distillée stérile.

On incube les boîtes dans une étuve à une température de 37°C pendant 24 heures.

L'effet inhibiteur se traduit par l'apparition d'une auréole autour des puits. Les résultats sont analysés en mesurant les diamètres des zones d'inhibition. Un produit est qualifié d'actif lorsque le diamètre de la zone d'inhibition supérieur à 7mm.

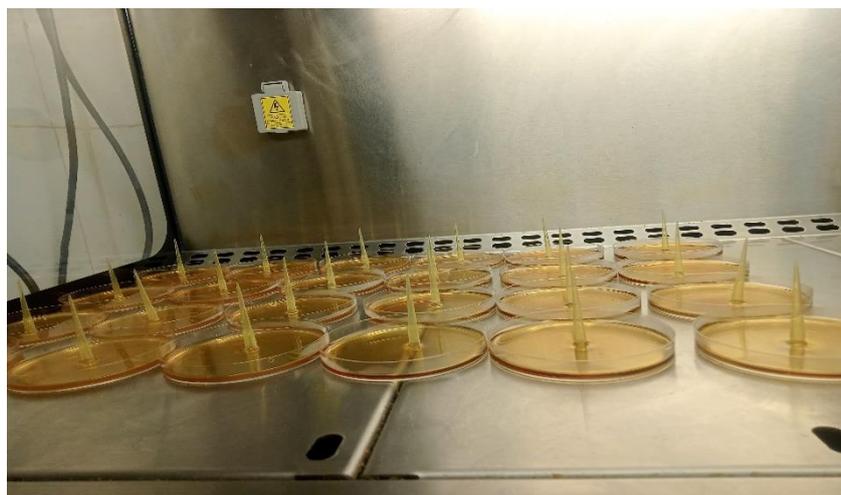


Figure III.36 : Méthode de puits.

➤ Méthodes de disque :

Les aromatoigrammes impliquent de placer un disque stérile en cellulose (dans notre cas, un disque de 6 mm de diamètre) avec une quantité précise de HAFM, EBFMF, PMFMF, PEBFMF à tester et quantité de la solution des microsphères (Figure III.37), à la surface d'une gélose préalablement coulée dans une boîte de Pétri etensemencée avec le micro-organisme préalablement testé. Une fois incubée, on peut évaluer les résultats en mesurant le diamètre (en mm) de la zone claire autour du disque, connue sous le nom de zone d'inhibition, qui dépasse 8 mm.



Figure III.37 : Dépôt de disque.



III.5.1.3 L'incubation :

L'incubation a duré entre 24 heure dans une étuve préalablement chauffée à une température de 37°C.

- **Mode Opérateur :**

Le milieu a été coulé sur des boîtes de pétri. On a obtenu une quantité adéquate de souches bactériennes pures en utilisant une anse de platine. Les souches sont réactivées dans des tubes à vis remplis de 5 ml d'eau physiologique stérile, puis homogénéisées grâce à une agitation manuelle légère. Par la suite, on a effectué un ensemencement d'une suspension bactérienne sur des boîtes pétris en utilisant des écouvillons. On a ensuite incubé les boîtes pendant 24 heures dans une étuve à une température de 37 °C pour *E. coli* et *Staphylococcus aureus*.

Chaque boîte de pétri contient un disque stérile de papier wattman de 06 mm de diamètre, placés à l'aide d'une pince. Ensuite, on a placé 20µl de HAFM, EBFMF, PMFMF, PEBFMF aussi la solution des microsphères sur chaque disque et 40 µl sur chaque puit. L'incubation a duré entre 24 heure dans une étuve préalablement chauffée à une température de 37°C. Les expériences ont été réalisées en trois exemplaires.

III.5.1.4 Le dénombrement des colonies et la mesure du diamètre d'inhibition :

La lecture des résultats est faite 24 heures après l'incubation, par la mesure des diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque (figure III.38) à l'aide d'une règle en (mm). Le diamètre détermine l'efficacité de la matière active.

Après mesure de la zone d'inhibition, les souches sont classées en :

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre moins de 8 mm.
- Sensible (+) : diamètre entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre plus de 20 mm [93].

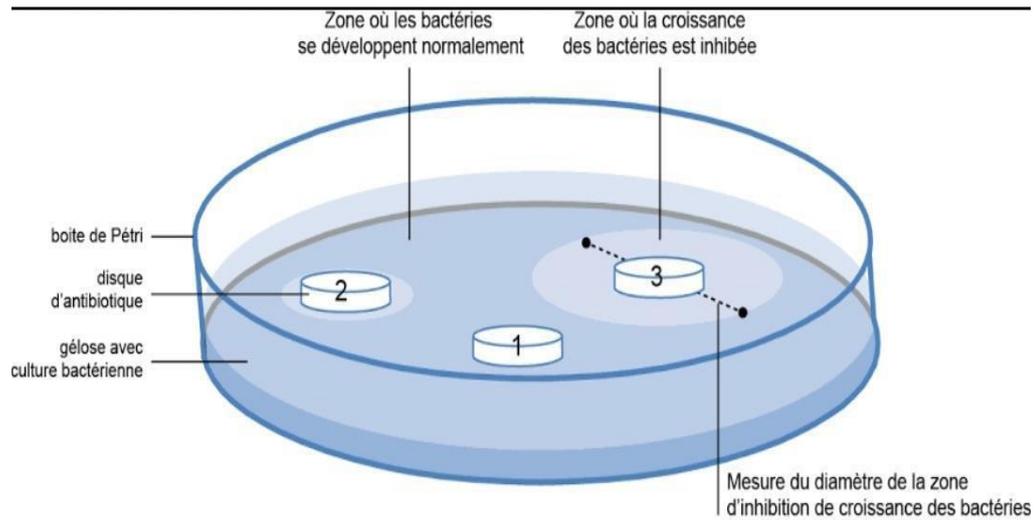


Figure III.38 : Détermination de la zone d'inhibition par la méthode de diffusion des disques [93].

III.6 Etude de la cinétique de libération des microparticules de Ficus Microcarpa et des pommades dans le milieu physiologique dermique à pH=5.8 :

III.6.1 Préparation du milieu physiologique tampon pH=5.8 :

On a préparé le milieu physiologique dermique (pH=5.8) dans une fiole de 2000ml, en utilisant une solution tampon de phosphate (on dissout 54.436g de phosphate mono potassique dans une fiole de 500ml, puis on ajoute de l'eau distillée). Ensuite, on mélange 36ml de solution NaOH (0.2M) et on réajuste à 2 litres avec l'eau distillée.

Le pH de la solution est ajusté à 5,8 en utilisant de la solution de NaOH (2N), avec un pH-mètre étalonné avec un tampon 4 (figure III.39).



Figure III.39 : ajustement le milieu physiologique avec un pH-mètre.



III.6.2 Appareillage de dissolution ou dissolutest :

On a effectué des tests de dissolution dans un dissolu-test de la marque ERWEKA (**figure III.40**). Le dispositif comprend 06 récipients cylindriques à fond hémisphérique, d'une capacité normale de 1000 ml en verre borosilicaté, ainsi qu'un agitateur composé d'une tige verticale dont la partie inférieure est fixée à une palette.

Chaque récipient de dissolution est équipé de plusieurs trous pour introduire un thermomètre. On place l'ensemble dans un bain d'eau thermostaté afin de maintenir la température du milieu de dissolution.



Figure III.40 : dissolutest pour l'étude de la cinétique de Libération.

III.6.3 Contrôle et suivi de la cinétique de libération :

On effectue l'essai de dissolution dans un dissolu-test dans des volumes de 500 ml de milieu à pH =5.8 équipé d'un système d'agitation. La solution du milieu physiologique est introduite dans le système et maintenue à une température de $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, avec une agitation de 50 tr/min, dans des godets.

✓ Les microsphères :MFMF6

On dissout une quantité de 50mg de microparticules (essai 6). Ensuite, on prélève 1ml à l'aide d'une seringue de 5ml selon des intervalles de temps sélectionnés, puis on ajout 1ml du milieu physiologique, comme indiqué dans le tableau ci-dessous. Ils sont filtrés à l'aide d'une filtre-seringue, puis dosés à



l'aide d'une spectrophotométrie UV-visible pour déterminer les concentrations en polyphénols et en flavonoïdes libérés en fonction du temps.

✓ **La pommade de l'extrait brut des feuilles du ficus microcarpa :**

1g de pommade PEBFMF est versé dans le godet, puis on procède aux mêmes étapes que pour les microsphères.

✓ **La pommade microsphères de l'essai 6 des feuilles du ficus microcarpa :**

1g de pommade PMFMF est versé dans le godet, puis on procède aux mêmes étapes que précédemment.

Dans le tableau III.8, nous avons représenté les prélèvements des solutions effectués au cours du temps durant le test de dissolution, pour les trois formulations.

Tableau III.8 : Temps et le volume de la cinétique de libération de principe actif.

| N° Tube | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 |
|------------------------|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| t(min) | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 80 | 100 | 120 | 150 | 180 | 210 | 240 |
| Vp (ml) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |
| Tampon pH= 5.8 (ml) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

III.7. Les techniques de caractérisation

III.7.1 Caractérisation par infrarouge IRFT :

La spectroscopie infrarouge (IR) est une technique très puissante qui utilise le rayonnement électromagnétique dans la région infrarouge pour la détermination et l'identification de la structure moléculaire, ainsi que pour diverses applications quantitatives en chimie analytique.

Au cours de notre recherche, nous avons enregistré tous les spectres infrarouges à l'aide d'un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier de type Nicolet is5 de thermoscientific, piloté par un ordinateur équipé d'un logiciel OMNIC.

- **Protocole :**

On effectue l'analyse sur des échantillons sous forme de pastilles préparées à une pression de 70 kN pendant 2 minutes, en utilisant un mélange de 100 mg de KBr sec et 2 mg d'échantillon pulvérisé dans un mortier en agate sec. Pour les standards (acide Ascorbique, acide gallique, quercétine), les polymères (Dextrine, PEG6000), TPPNa, l'extrait brut des feuilles, et les microsphères des essais 6, 4 et 9. Pour ces dernières on a utilisé 5mg pour chaque échantillon de microsphères.



III.7.2 Caractérisation par microscope optique :

Le microscope optique est un système optique composé de lentilles, de miroirs, d'un diaphragme et d'un système d'éclairage permettant d'obtenir une image agrandie de l'objet visualisé. Il existe plusieurs techniques de microscopie optique, toutes basées sur le même principe. Une source de lumière blanche est dirigée et focalisée vers la préparation. L'onde résultant de l'interaction entre la lumière et les molécules de la préparation, est captée par un objectif. Celui-ci projette, sur le plan image intermédiaire, une image inversée et agrandie de la préparation. Elle est ensuite inversée par une lentille et captée par un détecteur ou envoyée vers la rétine [94].

- Nous avons effectué des analyses à l'aide de microscope optique (figure III.41) sur les microsphères des fruits (essais 2, 6 et 9) et l'essais 6 pour les feuilles.



Figure III.41 : Photo d'un microscope optique.



Chapitre IV : Résultats et discussion





Chapitre IV : Résultats et discussions

Le but de ce chapitre est de présenter les résultats des travaux expérimentaux réalisés et donner des interprétations objectives. Nous allons discuter les résultats de l'extraction des principes actifs, de l'évaluation phytochimique, des propriétés antioxydantes antibactériennes des extraits du *Ficus Microcarpa* et des formulations par microencapsulation et pommades, nous terminerons notre évaluation par l'étude biopharmaceutique de la cinétique de libération dans un milieu physiologique dermique comportant les étapes suivantes :

- L'interprétation des résultats de l'encapsulation de l'extrait le plus enrichi en métabolites secondaires (les polyphénols et les flavonoïdes), et l'étude de la cinétique de libération du principe actif suivie de l'analyse Infrarouge et l'activité antibactérien.
- Examen microscopique des microsphères du Ficus Microcarpa pour caractériser leur morphologie et donner une estimation globale de leurs tailles.

IV.1 Extraction

IV.1.1 Calcul du rendement massique :

✓ Fruit du ficus microcarpa :

On obtient l'extrait de la plante *FICUS MICROCARPA* en la macérant. La quantité d'extrait sec, obtenu par évaporation complète des solvants pendant plusieurs jours à température ambiante suivie d'un séchage à l'étuve pendant 4h à 60°C, par rapport à la masse initiale de la poudre végétale est exprimée en pourcentage, selon la relation suivante :

$$R \% = \frac{M_{ext}}{M_{éch}} \times 100$$

Les valeurs des volumes, masse et le rendement obtenu sont représentées selon le tableau IV.1 suivant :

Tableau IV.1 : rendement des extraits de fruit du *ficus microcarpa*.

| Extrait | Masse(g) | Volume (ml) | Rendement (%) |
|---------|----------|-------------|---------------|
| EB | 0.41062 | 50 | 0.82 |
| DCM | 0.01946 | 50 | 0.04 |
| EEP | 0.00925 | 50 | 0.02 |
| HA | 0.1504 | 25 | 0.60 |

Après avoir calculé le rendement global des extraits de fruit du ficus microcarpa, on trouve que le rendement massique des extraits sont très faibles.



En résumé, l'extrait brut (EB fruits, 0.82%) présente le meilleur rendement massique en métabolites secondaires, suivi du rendement de l'extrait hydro-alcoolique (HA fruits, 0.60%), tandis que l'extrait de dichlorométhane (DCM fruits, 0.04%) ainsi que celui de l'éther de pétrole (EEP fruits, 0.02%), ils présentent tous les deux des rendements très inférieurs et faibles. Le solvant testé le moins efficace est l'éther de pétrole vis-à-vis de l'extraction et de l'enrichissement en métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes).

✓ **Feuilles du *ficus microcarpa* :**

Les résultats des rendements massiques de l'extraction des métabolites actifs à partir des feuilles du *ficus microcarpa* sont illustrés dans le tableau IV.2.

Tableau IV.2 : rendement des extraits des feuilles du *ficus microcarpa*.

| Extrait | Masse (g) | Volume (ml) | Rendement (%) |
|---------|-----------|-------------|---------------|
| EB | 4.34644 | 20 | 21.73 |
| EEP | 0.1089 | 20 | 3.48 |
| HA | 0.0224 | 20 | 0.112 |

En résumé, l'extrait brut et en particulier celui des feuilles (EB feuilles, 21.73%) est le plus efficace en termes de rendement massique en métabolites actifs, suivi de celui avec l'éther de pétrole (EEP feuilles, 3.48%) et enfin de l'extrait hydro-alcoolique pour les feuilles (HA feuilles, 0.112%). Mais, les rendements des extraits des feuilles sont relativement beaucoup plus élevés que ceux des fruits de *Ficus Microcarpa*.

IV.2. Etude phytochimique

IV.2.1. Caractérisation et quantification par spectrophotométrie UV-visible :

a) Dosage des polyphénols totaux :

On évalue la quantité totale de polyphénols extraits en utilisant la méthode de Folin- Ciocalteu. On utilise l'acide gallique comme étalon représentatif, et on mesure les absorbances des solutions étalons de différentes concentrations à une longueur d'onde de **765 nm**. On établit une courbe d'étalonnage qui présente une relation linéaire avec un coefficient de régression linéaire **R²=0.9925** (**Figure IV.1**) d'équation suivante :

$$Y=0.0887X+0.0111$$

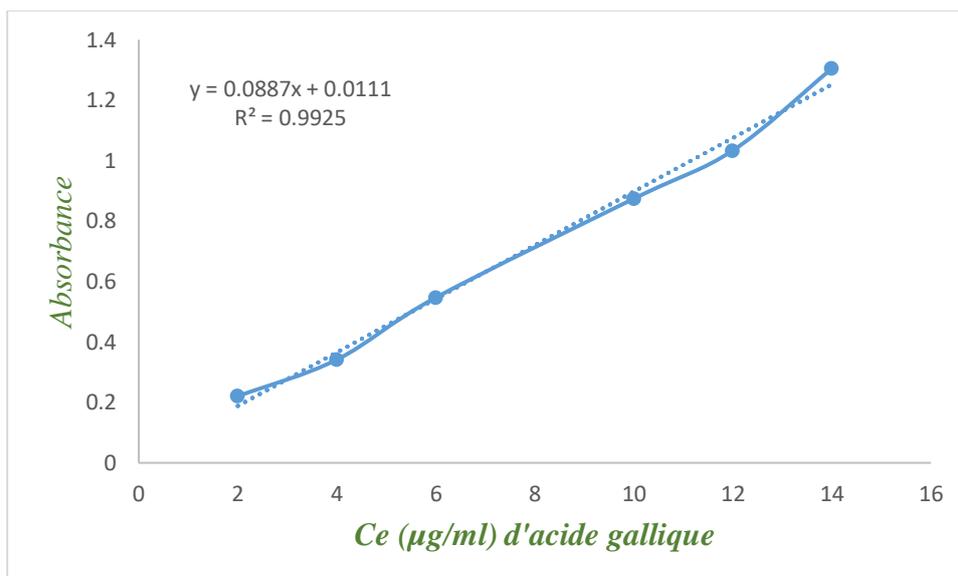


Figure IV.1 : Courbe de dosage des polyphénols totaux.

Les résultats ont été mesurés en milligrammes d'acide gallique équivalents par gramme d'extrait sec. Les extraits de la plante ont montré une forte teneur en polyphénols totaux, mais les quantités différentes d'un extrait à l'autre, après une extraction liquide-liquide dans les divers solvants à polarité croissante.

✓ *Fruit du Ficus Microcarpa :*

Selon la (Figure IV.2), on peut observer que l'extrait de dichlorométhane contient la plus grande quantité de polyphénols (**DCM, 468.05 mg Eq AG/ g Ex Sec**), suivi de l'extrait brut (**EB, 437.18 mg Eq AG/Gex Sec**), puis de la phase hydro-alcoolique (**HA, 62.04 mg Eq AG/ g Ex Sec**) dû à l'épuisement des extraits dans l'étape finale de l'extraction, et enfin de l'extrait d'éther de pétrole (**EEP**) (**3.297 mg Eq AG/ g Ex Sec**) dans un solvant apolaire.

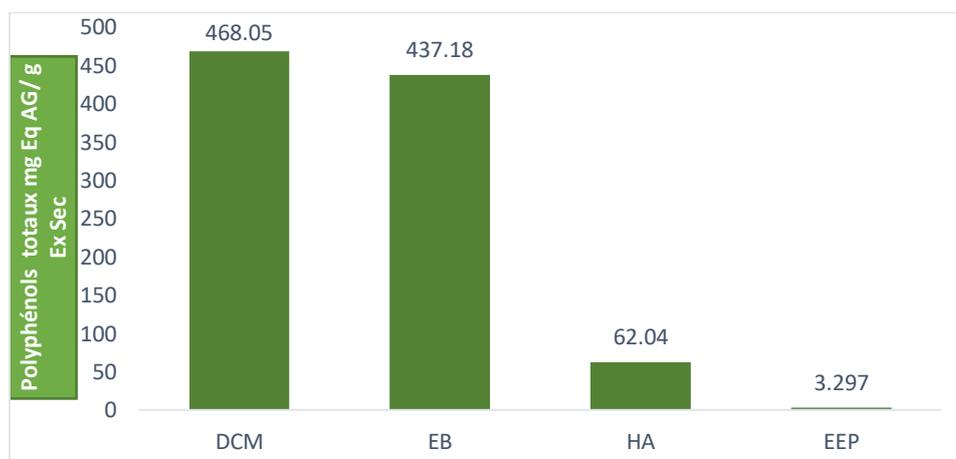


Figure IV.2 : Histogramme de variation des teneurs en polyphénols totaux dans les extraits des fruits du ficus microcarpa.



La forte concentration de polyphénols dans l'extrait de **DCM** suggère que ces composés sont d'une famille de polyphénols qui se distinguent de celles des galliques (acide gallique, tanins galliques,) par leur plus grande solubilité dans des solvants légèrement polaires.

La faible concentration de polyphénols dans **I'EEP** indique que ces polyphénols ne sont pas solubles dans les solvants apolaires.

Après avoir examiné les résultats, il est établi que le dichlorométhane est le solvant le plus performant pour extraire les polyphénols dans les fruits de Ficus, suivi de l'extrait brut dans la phase Méthanol-Eau. Le moins efficace est l'éther de pétrole, ce qui souligne l'importance de sélectionner le solvant approprié en fonction des caractéristiques chimiques des composés à extraire.

✓ **Les feuilles du *Ficus Microcarpa* :**

Selon la (**Figure IV.3**) on peut observer que l'extrait brut des feuilles contient la plus grande quantité en polyphénols (**EBFMF, 342.83mg Eq AG/Gex Sec**), suivie de la phase hydro-alcoolique (**HAFMF, 161.29mg Eq AG/ g Ex Sec**), enfin de l'extrait d'éther de pétrole (**EEPFMF, 2.23mg Eq AG/ g Ex Sec**).

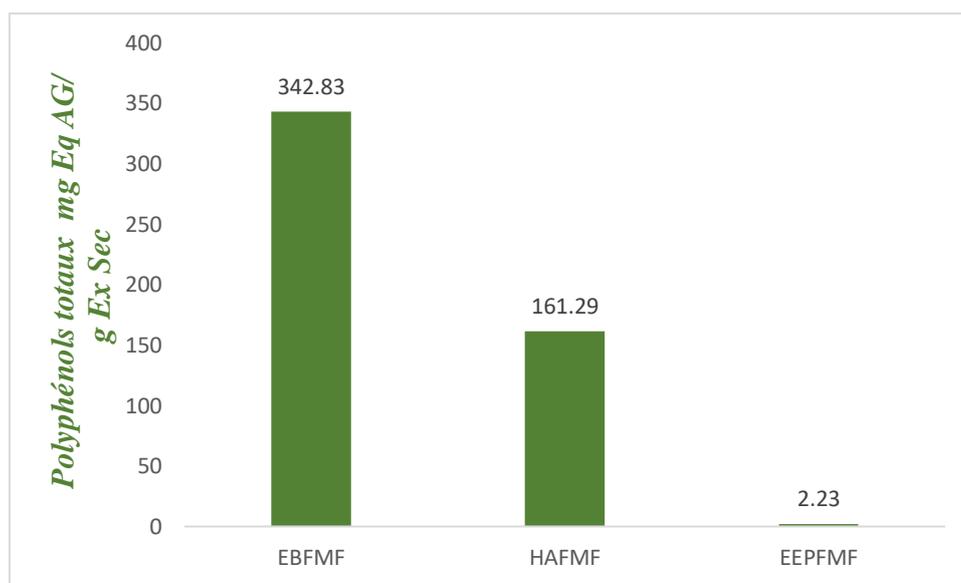


Figure IV.3 : Histogramme de variation des teneurs en polyphénols totaux dans les extraits des feuilles du *ficus microcarpa*.

Les résultats montrent que l'extraction des polyphénols des feuilles de *Ficus microcarpa* est très influencée par la polarité du solvant employé. Pour extraire les polyphénols, les solvants polaires tels que l'eau et l'éthanol sont bien plus efficaces que les solvants non-polaires tels que l'éther de pétrole. La plus grande quantité de polyphénols est présente dans l'extrait brut en raison de sa capacité à extraire une variété de composés dans un mélange Méthanol-Eau.

✓ **Comparaison :**



- **Phase Hydro-Alcoolique (HA/HAF)** : Très efficace pour les feuilles, mais pas pour les fruits. Cela pourrait être dû à la différence de composition en polyphénols entre les feuilles et les fruits, ou à la différence de polarité et types de polyphénols présents.
- **Extrait Brut (EB/EBF)** : Efficace pour les deux matrices, mais avec une concentration plus élevée pour les fruits que pour les feuilles.
- **Dichlorométhane (DCM)** : Très efficace pour les fruits.
- **Éther de Pétrole (EEP)** : Faible efficacité pour les fruits et les feuilles.

En conclusion, les résultats indiquent que les solvants utilisés pour extraire les polyphénols des fruits et des feuilles de *Ficus microcarpa* présentent une variation importante. Pour les feuilles, l'extrait brut est très efficace, tandis que pour les fruits, c'est le dichlorométhane qui est le meilleur solvant d'extraction. Cela met en évidence la nécessité de sélectionner le solvant adéquat en fonction de la matrice spécifique et des composés cibles, afin d'optimiser l'extraction des polyphénols.

b) Dosage des flavonoïdes :

On a quantifié les flavonoïdes en utilisant la technique de complexation avec du chlorure d'aluminium ($AlCl_3$). Une courbe d'étalonnage a été construite en utilisant des solutions étalons de quercétine à différentes concentrations. On a évalué les absorbances des étalons à une longueur d'onde de **430 nm**. Une courbe d'étalonnage a été établie et présente une relation linéaire avec un coefficient de régression **$R^2=0.9882$** (Figure IV.4), d'équation : **$Y=0.042X+0.2039$** .

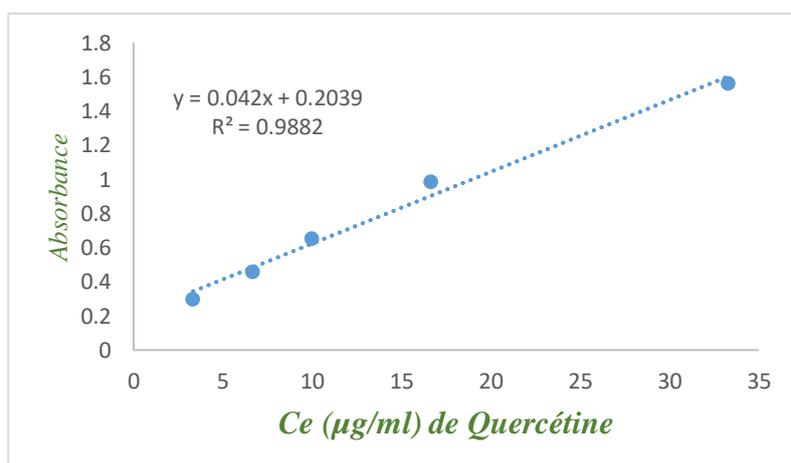


Figure IV.4 : Courbe de dosage des flavonoïdes.

✓ Fruit du *Ficus Microcarpa* :

Concernant les fruits, il a été constaté qu'ils renferment peu ou pas de flavonoïdes détectables. Cela suggère que les techniques employées n'ont pas permis d'extraire ou de détecter des quantités



significatives de flavonoïdes à partir des fruits de *Ficus microcarpa*, ou que les fruits en contiennent effectivement de faibles quantités mais qui peuvent être très spécifiques à la plante.

✓ **Les feuilles du *Ficus Microcarpa* :**

Les résultats obtenus sont présentés dans la (**Figure IV.5**), et montrent que la phase hydro-alcoolique (HAF) est la plus riche en flavonoïdes parmi les divers extraits (**212.7694mg Eq Qr/ g Ex Sec**), suivie de l'extrait brut des feuilles (EBF) (**4.1504mg Eq Qr/Gex Sec**) et enfin de l'extrait d'éther de pétrole (EEP) (**3.9839mg Eq Qr/ g Ex Sec**).

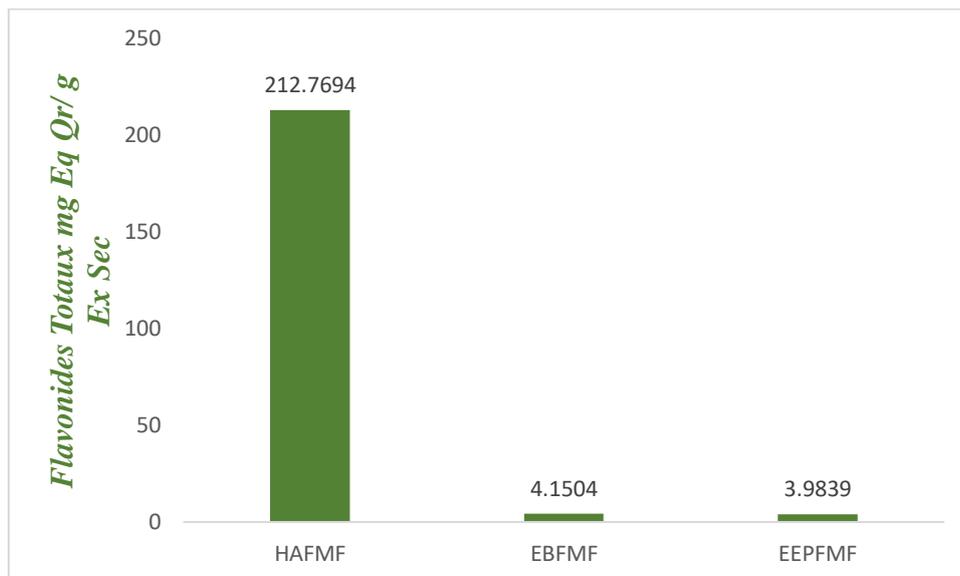


Figure IV.5 : Histogramme de variation des teneurs en flavonoïdes totaux dans les extraits des feuilles du *ficus microcarpa*.

- ✓ La différence de teneurs en flavonoïdes entre les extraits de feuilles montre l'importance du choix du solvant pour l'extraction des substance actives. Les solvants polaires comme la phase hydro-alcoolique sont plus adaptés pour extraire ces derniers.
- ✓ L'absence de flavonoïdes détectables dans les fruits suggère des différences significatives dans la composition phytochimique entre les parties du *Ficus microcarpa*, en particulier pour les feuilles qui contiennent plus de flavonoïdes tandis que les fruits n'en contiennent pas ou en quantités très faibles.

IV.2.2. Activité antioxydante par la méthode du radical DPPH° :

La mesure du potentiel antioxydant est réalisée en déterminant les produits résultants de l'oxydation ou en évaluant l'aptitude à piéger les radicaux libres du milieu réactionnel.

Le pourcentage d'inhibition du radical **DPPH°** permet d'évaluer l'activité antioxydante d'un échantillon contenant des métabolites secondaires, par le calcul selon la formule suivante :



$$\%PI = \frac{\text{Densité optique du témoin} - \text{Densité optique de l'échantillon}}{\text{Densité optique du témoin}} \times 100$$

✓ **Fruit du Ficus Microcarpa :**

Les résultats de l'étude de l'activité anti-oxydante des extraits des fruits sont rassemblés dans le tableau IV.3.

Tableau IV.3 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH° dans les extraits des fruits du *ficus microcarpa*.

| EXTRAITS | EB | HA | DCM | EEP |
|--|-------|-------|-------|------|
| Pourcentage d'inhibition du radical libre %DPPH° (100µl) | 93.22 | 89.48 | 60.02 | 8.58 |
| Pourcentage d'inhibition du radical libre %DPPH° (800µl) | 75.79 | 70.67 | 89.07 | 4.56 |

- ✓ **EB & HA :** Les deux extraits démontrent une activité antioxydante très élevées avec une quantité de DPPH moins importante (**100 µL**). Par contre, on remarque une diminution avec une quantité plus élevée en solution de DPPH (**800 µL**). On observe une décroissance de l'activité anti-oxydante de l'extrait brut le plus polaire vers l'extrait EEP le moins polaire. La meilleure activité anti-oxydante à **100µL** a été obtenue pour l'extrait brut (**EB**) à **100µL (Figure. IV.3)**, avec un taux d'inhibition maximal de **93.22%**. Il est possible que cela soit dû à la richesse de ce dernier en métabolites secondaires spécifiques à un type de polyphénols.
- ✓ **DCM :** Contrairement pour cet extrait, le pourcentage d'inhibition du radical libre **DPPH°** augmente avec la quantité de DPPH, il passe de **60.02%** pour **100 µl** à **89.07%** pour **800 µl**.
- ✓ **EEP :** Il est nettement le moins efficace, ce qui peut être causé par de faibles teneurs en métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes), qui sont très efficaces vis-à-vis du piégeage des radicaux libres.

Les différents résultats sont représentés par la figure IV.6.

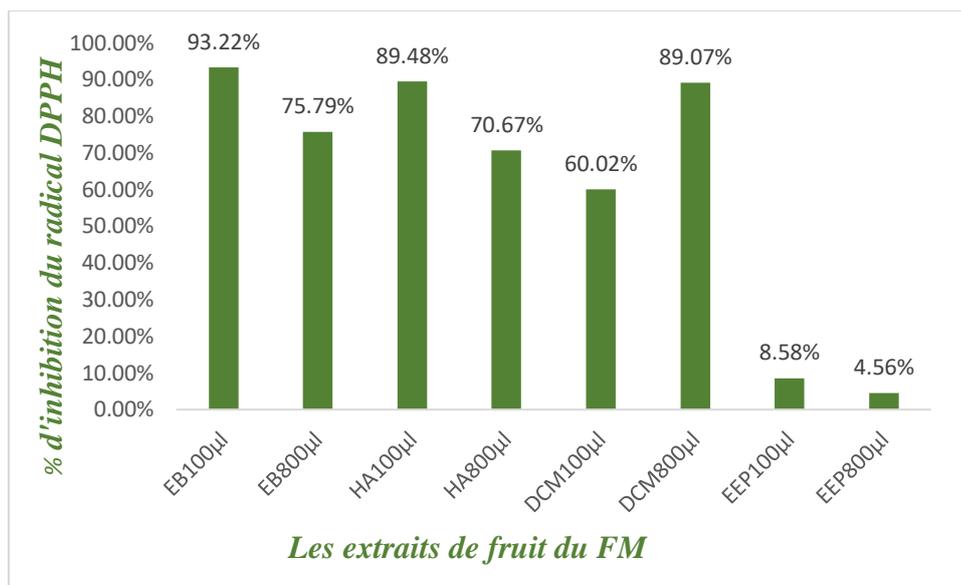


Figure IV.6: Histogramme de l'activité anti-oxydante et pouvoir d'inhibition du radical DPPH° des extraits de fruit du ficus microcarpa.

✓ **Feuilles du Ficus Microcarpa :**

Les résultats de l'étude de l'activité anti-oxydante des extraits des feuilles sont rassemblés dans le tableau IV.4.

Tableau IV.4: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH° dans les extraits des feuilles du *ficus microcarpa*.

| EXTRAITS | EB | HA | EEP |
|---|-------|-------|-------|
| Pourcentage d'inhibition du radical libre %DPPH° (100µl) | 75.38 | 77.31 | 81.60 |
| Pourcentage d'inhibition du radical libre %DPPH° (800µl) | 33.47 | 48.82 | 71.78 |

- ✓ **EB & HA :** Ces deux extraits de feuilles présentent des activités antioxydantes comparables pour une quantité plus faible en DPPH (100 µL), avec des valeurs respectives de **75,38%** et **77,31%**. Cependant, ces pourcentages diminuent considérablement à **800 µL**, suggérant également une saturation ou une interférence avec l'action de certains solvants en excès comme le méthanol à des volumes en DPPH plus élevés. Mais, on remarque que les taux d'inhibition de HA sont relativement plus élevés que ceux de EB. Ce qui est dû probablement



à la présence d'une teneur appréciable en acide ascorbique conformément à certains travaux antérieurs réalisés avec cette plante, et qui a été décelée par l'analyse HPLC.

- ✓ **EEP :** À la différence des fruits, l'extrait d'éther de pétrole des feuilles présente une activité antioxydante significativement élevée à **100 μ L (81,60%)** et conserve une efficacité relativement élevée même à **800 μ L (71,78%)**. Cela peut suggérer que les feuilles renferment une grande quantité de composés antioxydants solubles dans l'éther de pétrole, en particulier l'acide ascorbique.

La figure IV.7 illustre les variations de l'activité anti-oxydante des feuilles de *ficus microcarpa*.

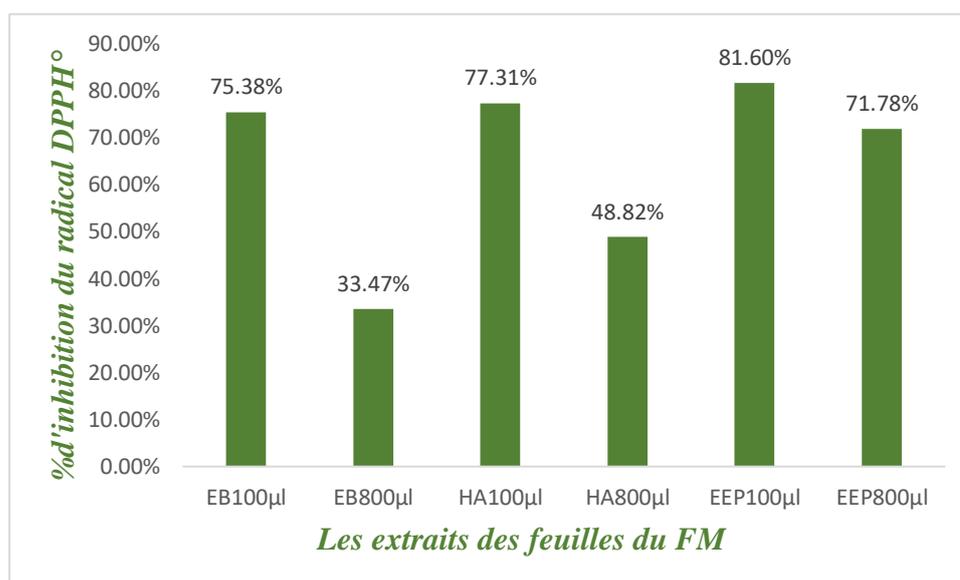


Figure IV.7: Histogramme de l'activité anti-oxydante et pouvoir d'inhibition du radical DPPH° des extraits des feuilles du *ficus microcarpa*.

❖ Conclusion :

Il existe diverses raisons qui peuvent expliquer ces variations, comme la composition chimique des extraits, les interactions entre les composés actifs ou des effets propres aux solvants de chaque extrait. Il convient de souligner que l'activité antioxydante peut être stimulée par divers facteurs, et une seule mesure ne permet pas d'avoir une vision complète. Il faudrait une analyse plus approfondie et des expériences supplémentaires afin de mieux interpréter des résultats contradictoires.

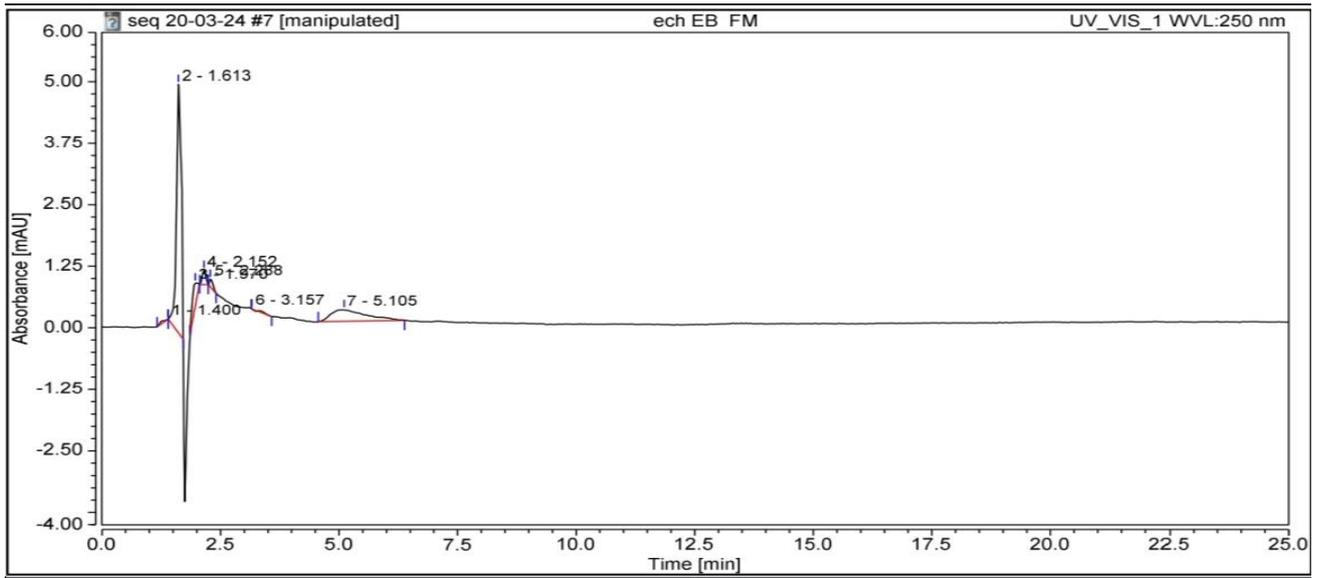
IV.3. Analyse par HPLC :

Les chromatogrammes des analyses effectuées sur les différents échantillons sont représentés par les figures IV.8 et IV.9 respectivement pour les fruits et les feuilles de FM.

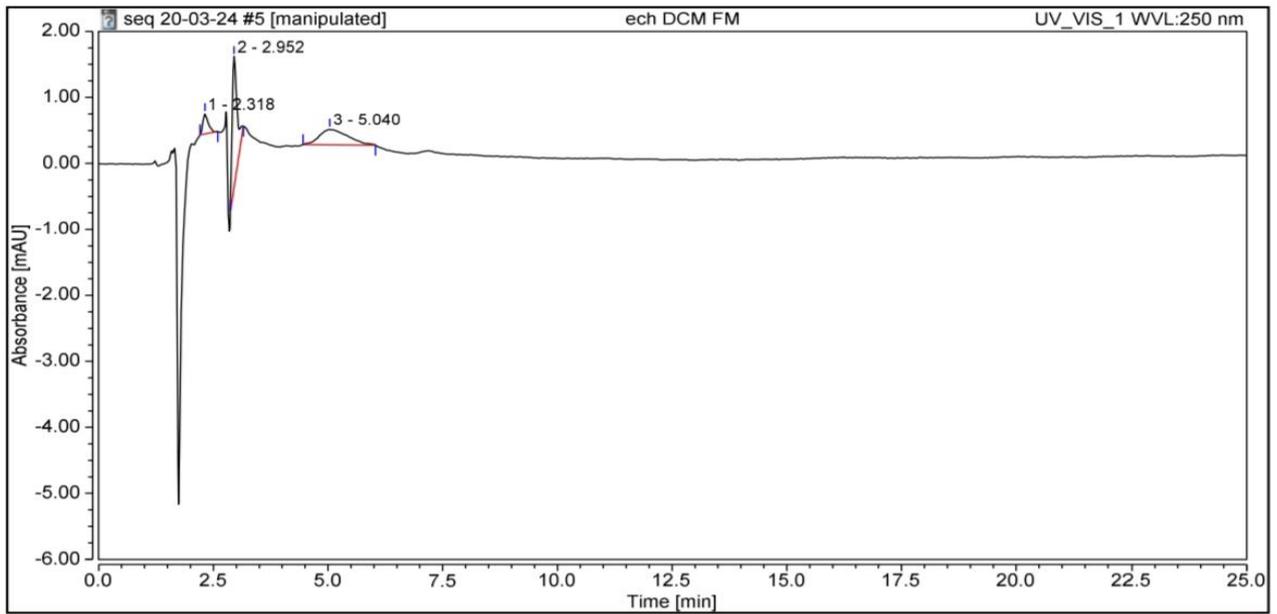
➤ Fruits



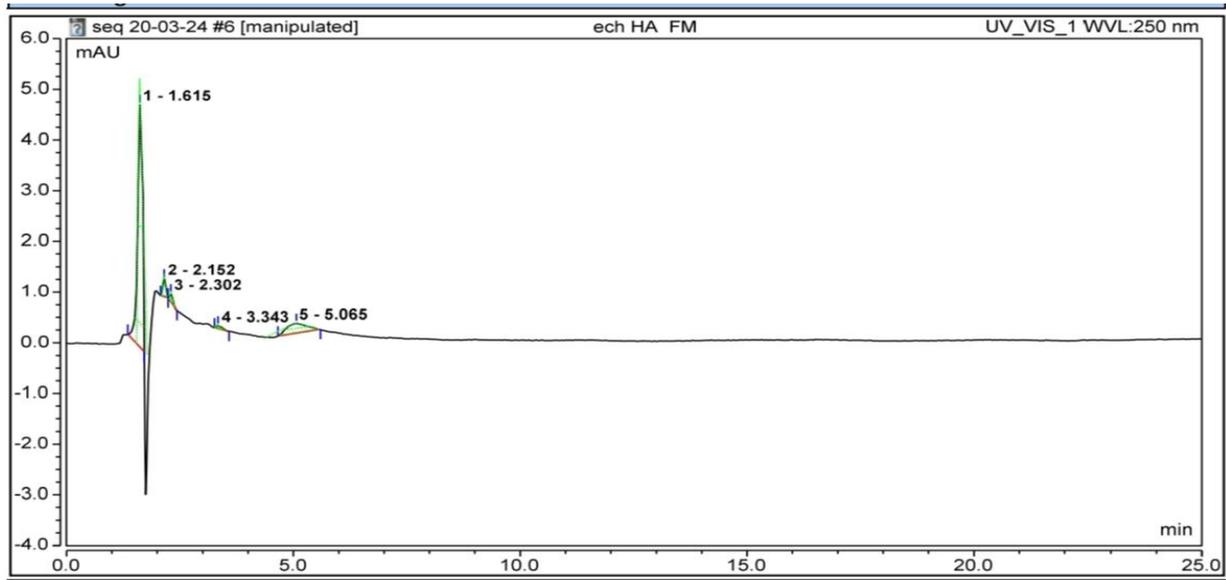
Chapitre IV : Résultats et discussion



Extrait Brut



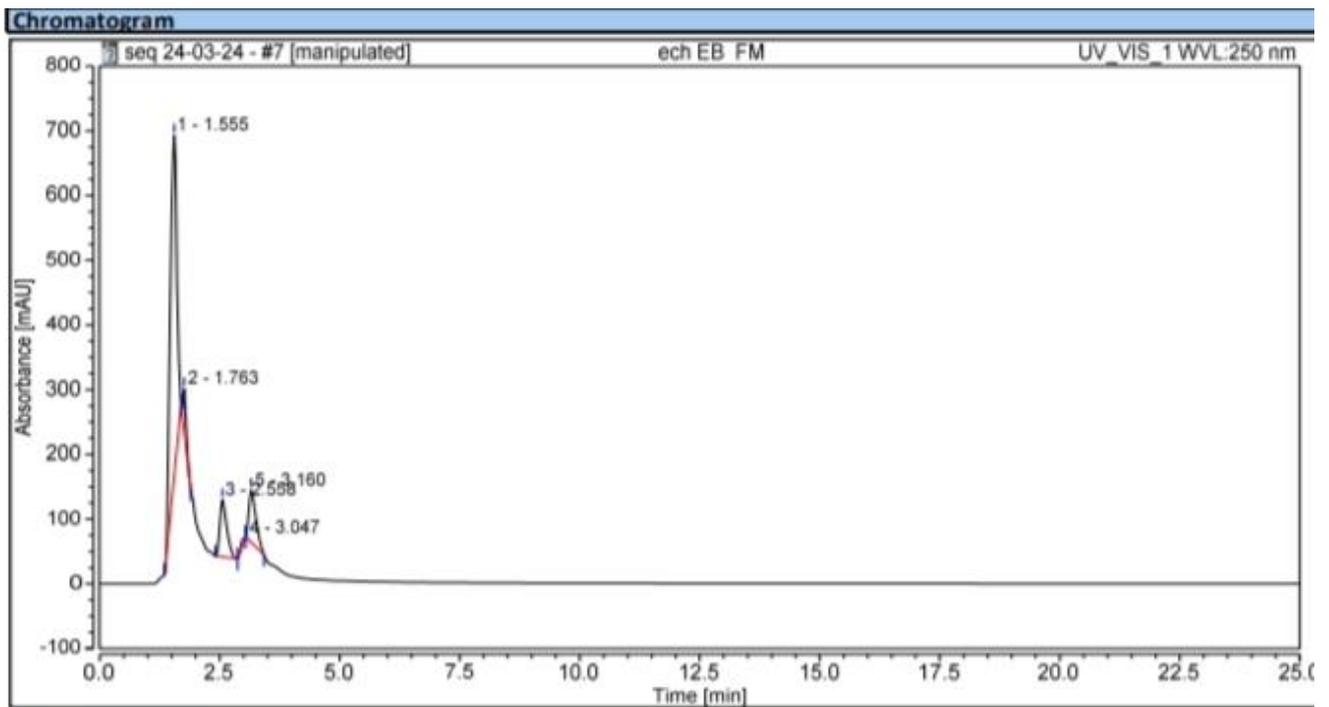
Extrait Dichlorométhane



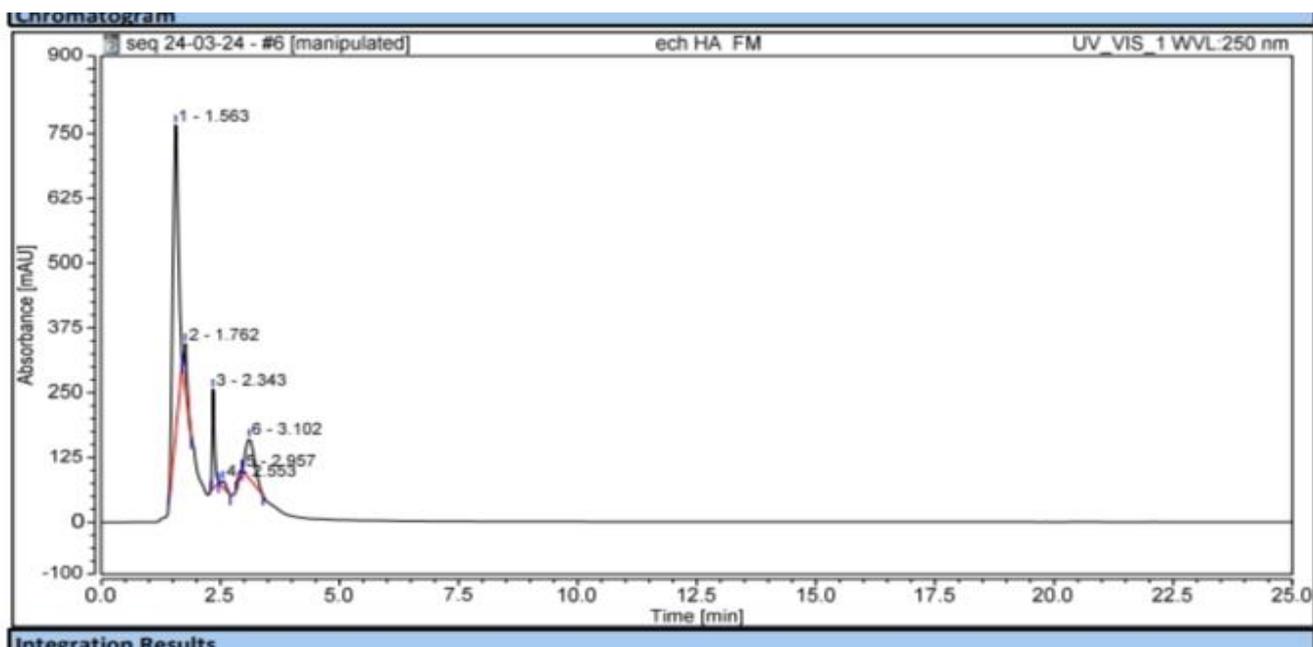
Extrait hydro-alcoolique

Figure IV.8: Chromatogramme par HPLC des différents extraits des fruits FM.

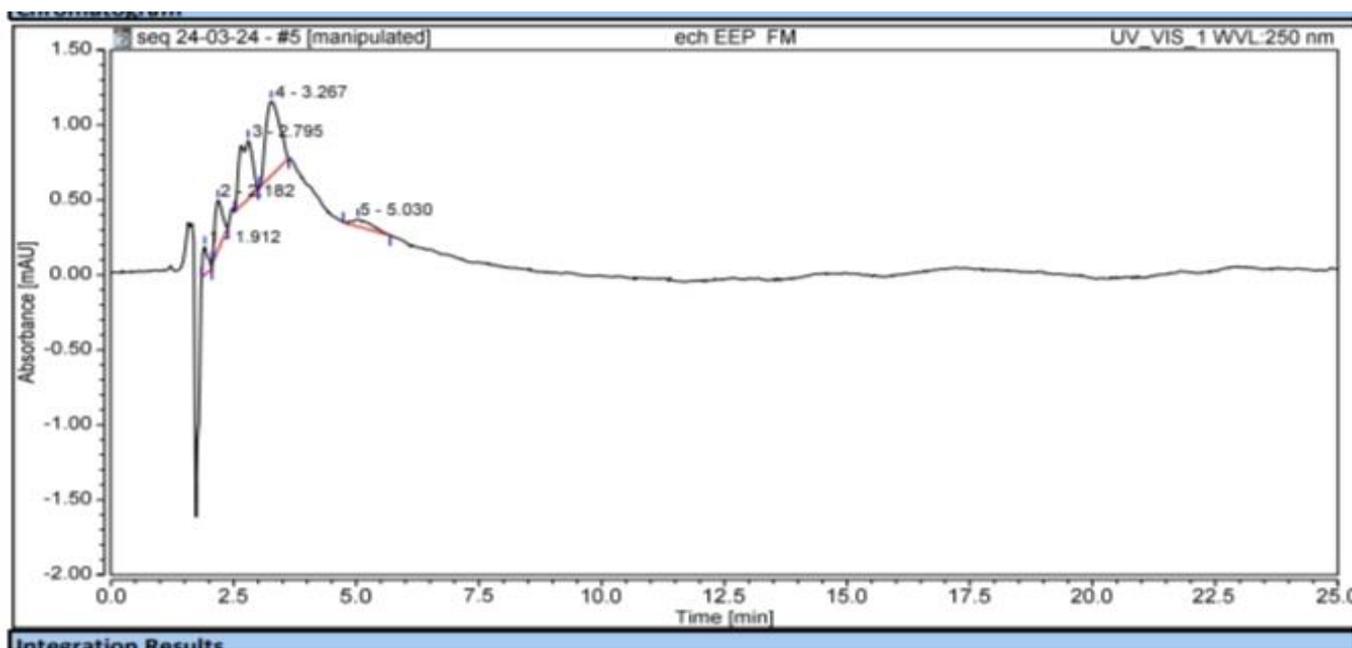
➤ *Feuilles*



Extrait Brut



Extrait hydro-alcoolique



Extrait EEP

Figure IV.9: Chromatogrammes de HPLC des différents extraits des feuilles de FM.

Dans l'analyse HPLC, trois composés phénoliques purs (acide gallique, acide ascorbique et quercétine) ont été utilisés en tant que standards. Leurs temps de rétention sont indiqués dans le **tableau IV.5**. On a pu détecter plusieurs substances dans nos extraits, en comparant les chromatogrammes des échantillons avec ceux des substances pures des solutions standards.



Tableau IV.5 : Les pics chromatographiques des standards par HPLC, temps de rétention et aires.

| standard | Temps de rétentions (min) | Aire relative % |
|------------------|---------------------------|-----------------|
| Acide gallique | 1.673 | 27.976 |
| quercétine | 4.937 | 119.041 |
| Acide ascorbique | 4.960 | 3.808 |

✓ *Fruit du Ficus Microcarpa :*

La quantification par HPLC des métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes, acide ascorbique) à action pharmacologique notoire, a abouti aux résultats qui sont consignés dans le tableau IV.6.

Tableau IV.6 : Temps de rétention et les aires des pics des métabolites secondaires décelés dans les extraits de fruits FM par HPLC.

| Métabolites secondaire | EB | | HA | | DCM | |
|---------------------------------------|----------|----------------|----------|----------------|----------|----------------|
| | Tr (min) | Aire (mAU.min) | Tr (min) | Aire (mAU.min) | Tr (min) | Aire (mAU.min) |
| PP 1 | 1.400 | 0.006 | - | - | - | - |
| Acide Gallique (PP2) | 1.613 | 0.592 | 1.615 | 0.604 | - | - |
| PP 3 | 1.970 | 0.067 | - | - | - | - |
| Flav 1 | 2.152 | 0.023 | 2.152 | 0.029 | - | - |
| Flav 2 | 2.288 | 0.013 | 2.302 | 0.012 | 2.318 | 0.041 |
| Flav 3 | - | - | - | - | 2.952 | 0.238 |
| Flav 4 | 3.157 | 0.002 | - | - | - | - |
| Flav 5 | - | - | 3.343 | 0.009 | - | - |
| Acide Ascorbique + Quercétine (Flav6) | 5.105 | 0.200 | 5.065 | 0.100 | 5.040 | 0.171 |

✓ *Les feuilles du Ficus Microcarpa :*

La quantification par HPLC des métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes, acide ascorbique) dans les feuilles a abouti aux résultats qui sont consignés dans le tableau IV.7.

Tableau IV.7 : Temps de rétention et les aires des pics des métabolites secondaires identifiés dans les extraits des feuilles FM par HPLC.

| Métabolites secondaire | EB | | HA | | EEP | |
|------------------------|----------|----------------|----------|----------------|----------|----------------|
| | Tr (min) | Aire (mAU.min) | Tr (min) | Aire (mAU.min) | Tr (min) | Aire (mAU.min) |
| PP 1 | 1.555 | 84.457 | 1.563 | 80.580 | - | - |
| Acide gallique (PP2) | 1.763 | 5.050 | 1.762 | 5.835 | - | - |
| PP 3 | - | - | - | - | 1.912 | 0.024 |



| | | | | | | |
|--------------------------------------|-------|--------|-------|--------|-------|-------|
| Flav 1 | - | -- | - | - | 2.182 | 0.056 |
| Flav 2 | - | - | 2.343 | 11.068 | - | - |
| Flav 3 | 2.558 | 14.860 | 2.553 | 1.647 | - | - |
| Flav 4 | - | - | - | - | 2.795 | 0.121 |
| Flav 5 | - | - | 2.957 | 1.100 | - | - |
| Flav 6 | 3.047 | 0.758 | - | - | - | - |
| Flav 7(Catéchine) | - | - | 3.102 | 17.224 | - | - |
| Flav 8 | 3.160 | 14.194 | - | - | - | - |
| Flav 9 | - | - | - | - | 3.267 | 0.161 |
| Acide ascorbique + quercétine | - | - | - | - | 5.030 | 0.023 |

Les résultats de l'analyse HPLC de divers extraits fruit FM, tels que l'extrait brut, HA et DCM sont présentés dans le **tableau IV.8** et le **tableau IV.9** et les extraits des feuilles, tel que EB, HA et EEP sont présentés dans le **tableau IV.10** et le **tableau IV.11**. Les extraits ont été analysés en fonction de la teneur en polyphénols (par rapport à l'acide gallique) et en flavonoïdes (par rapport à la quercétine) et en acide ascorbique. Ce dernier présente un temps de rétention très proche de celui de la quercétine, ce qui donne une estimation de la somme des teneurs des deux métabolites à la fois. En mg/ ml.

On a calculé les concentrations des extraits par rapport à chaque substance quantifiée d'après l'équation suivante :

$$C = \frac{\text{Aire (extrait)}}{\text{Aire (standard)}} \times C_e \times F$$

A extrait : aire du pic (AG ou Qr ou AA ou inconnues) sur le chromatogramme de l'extrait (mAU*min).

A standard : aire du pic du standard (AG, Qr, AA) sur le chromatogramme du standard (mAU*min).

C_e : concentration du standard (Quercétine : **0.2** mg/ml, Acide gallique : **0.2** mg/ml, Acide Ascorbique : **0.2**mg/ml).

F : facteur dilution (**200** fois pour les extraits des fruits et **10** fois pour les extraits des feuilles).

Tableau IV.8 : concentration en polyphénols des extraits de fruit du FM par HPLC.

| Les extraits | Concentration en polyphénols (mg/ml) | | | |
|--------------|--------------------------------------|----------------|-------|-------|
| | PP1 | Acide Gallique | PP3 | PPtot |
| EB | 0.009 | 0.85 | 0.096 | 0.955 |
| HA | - | 0.86 | - | 0.860 |
| DCM | - | - | - | - |

Tableau IV.9 : concentration en flavonoïdes des extraits de fruit du FM par HPLC.



| Les extraits | Concentration en flavonoïdes (mg/ml) | | | | | | |
|--------------|--------------------------------------|--------|-------|--------|-------|----------|-----------------------------|
| | Flav1 | Flav2 | Flav3 | Flav4 | Flav5 | Flav tot | Acide Ascorbique+Quercétine |
| EB | 0.0077 | 0.0044 | - | 0.0007 | - | 0.0128 | 0.065 |
| HA | 0.0097 | 0.004 | - | - | 0.003 | 0.0167 | 0.030 |
| DCM | - | 0.014 | 0.08 | - | - | 0.094 | 0.056 |

Tableau IV.10 : concentration en polyphénols des extraits des feuilles du FM par HPLC.

| Les extraits | Concentration en polyphénols (mg/ml) | | | |
|--------------|--------------------------------------|----------------|--------|---------|
| | PP1 | Acide Gallique | PP3 | P total |
| EB | 6.038 | 0.3610 | - | 6.399 |
| HA | 5.76 | 0.42 | - | 6.180 |
| EEP | - | - | 0.0017 | 0.0017 |

Tableau IV.11 : concentration en flavonoïdes des extraits des feuilles du FM par HPLC.

| Les extraits | Flav1 | Flav2 | Flav3 | Flav4 | Flav5 | Flav6 | Flav7 | Flav8 | Flav9 | Flav tot | Acide Ascorbique+Quercétine |
|--------------|---------|-------|--------|-------|---------|-------|-------|-------|--------|----------|-----------------------------|
| EB | - | - | 0.25 | - | - | 0.013 | - | 0.24 | - | 0.503 | - |
| HA | - | 0.186 | 0.0287 | - | 0.01848 | - | 0.289 | - | - | 0.520 | - |
| EEP | 0.00094 | - | - | 0.002 | - | - | - | - | 0.0027 | 0.0056 | 0.00037 |

Dans notre étude, nous avons employé une phase stationnaire (colonne C18) apolaire, ainsi qu'une phase mobile composée de solvants polaires et protiques (eau/ méthanol/ acide acétique) dans des proportions en volume (500ml : 470ml : 25ml).

❖ Polyphénols et Acide Gallique :

- **Fruit :** Les concentrations en polyphénols sont élevées dans les extraits EB et HA des fruits, tandis que l'extrait DCM et EEP n'en renferment aucun car se sont des solvants peu polaires ou apolaires. Cela suggère que les polyphénols sont présents en grandes quantités dans les fruits et que les solvants hydro-alcooliques (eau-méthanol-éthanol) sont efficaces pour les extraire car ce sont des solvants très polaires, ayant plus d'affinité et un meilleur pouvoir de solubilité pour ces composés.
- **Feuilles :** Les résultats des extraits de feuilles de FM montrent des concentrations très élevées de polyphénols dans l'extrait brut (EB), ce qui suggère une meilleure affinité et un plus grand pouvoir de solubilisation des solvants très polaires (méthanol-eau) pour ces composés. L'extrait hydro-alcoolique (HA) est également très efficace, bien que légèrement moins performant que pour EB. En revanche, l'extrait éther de pétrole (EEP) montre une très faible concentration en polyphénols,



ce qui indique une moindre efficacité d'extraction due à une faible affinité et solubilité de ces composés vis-à-vis de ce solvant.

Conclusion : Les extraits de feuilles de FM, en particulier ceux obtenus avec des solvants polaires comme l'extrait brut et hydro-alcoolique, montrent des concentrations en polyphénols nettement supérieures à celles des extraits de fruits. Cela suggère que les feuilles sont une source plus riche en composés bioactifs et en particulier en polyphénols par rapport aux fruits.

❖ **Flavonoïdes, Quercétine et Acide Ascorbique :**

Les résultats de la concentration en flavonoïdes des fruits montrent que l'extrait DCM présente la concentration totale de flavonoïdes la plus élevée, suivis par HA et EB.

- **Feuilles :**

Les résultats de la concentration en flavonoïdes des feuilles montrent que l'extrait brut et l'extrait HA présentent des concentrations relativement élevées de quercétine, tandis que l'extrait EEP a une concentration beaucoup plus faible. La présence d'acide ascorbique et de quercétine est décelée uniquement dans l'extrait EEP, bien que la concentration soit très faible. Cela pourrait indiquer une faible extraction de ces composés ou une présence naturellement plus faible dans les feuilles.

- Les flavonoïdes sont des bioactifs et connus pour leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, ils sont présents en concentrations appréciables dans les extraits bruts et HA des feuilles de *Ficus microcarpa*. Les concentrations plus élevées laissent supposer un potentiel d'utilisation de ces extraits dans le domaine pharmacologique, en tirant parti des avantages de la quercétine. Mais l'absence ou la faible concentration d'acide ascorbique et de quercétine dans ces extraits, en particulier dans l'extrait HA, peut être due à différents éléments tels que la diversité naturelle des plantes ou les conditions d'extraction spécifiques utilisées. Il est essentiel de tenir compte des processus d'extraction qui s'épuisent dans l'étape finale et pourrait être la cause des faibles teneurs en ces biomolécules, et des variations naturelles des composés présents dans les plantes afin d'utiliser ces extraits de manière efficace dans des applications biomédicales et nutritionnelles.

En résumé, l'analyse HPLC de ces extraits révèle que l'extrait brut des feuilles est la source la plus concentrée en polyphénols, ce qui le prédestine aux préparations pharmaceutiques envisagées par la suite dans ce travail, comme la microencapsulation et la pommade antibactérienne. Et ce qui concerne les flavonoïdes on trouve que dans les feuilles aussi la plus haute concentration observée dans l'extrait hydro-alcoolique, indique que ce solvant est le plus efficace pour extraire les flavonoïdes des feuilles de FM.



IV.4. La microencapsulation :

Nous avons utilisé un plan d'expérience de type factoriel de trois facteurs à deux niveaux (+1, -1). La matrice est composée de dix essais (8 essais factoriels et 2 essais centrés), qui ont été suivis pour préparer les microcapsules de Dex/PEG/EBFM feuilles.

IV.4.1. Réalisation des essais et analyse statistique :

D'après le mode opératoire décrit précédemment, les microsphères de fruits du *figus microcarpa* ont été préparées à la température ambiante. Donc, il s'agit de dix expériences dans un plan factoriel dont la matrice est représentée par le **tableau IV. 12**, comprenant **3 facteurs, X1= Dose, X2=RP, X3=pH** et deux réponses expérimental taux d'encapsulation en polyphénols et en flavonoïdes (**Y1=EPP% et Y2=EEF%**).

Tableau IV.12 : les résultats d'un plan factoriel complet 2^3 pour étudier l'effet de trois facteurs sur le taux d'encapsulation de polyphénols et de flavonoïdes dans les microsphères Dex/PEG.

| N° Essais | X1 | X2 | X3 | EEF% |
|-----------|----|----|----|-------|
| 1 | -1 | -1 | -1 | 79.98 |
| 2 | 1 | -1 | -1 | 90.59 |
| 3 | -1 | 1 | -1 | 84.32 |
| 4 | 1 | 1 | -1 | 88.88 |
| 5 | -1 | -1 | 1 | 83.16 |
| 6 | 1 | -1 | 1 | 90.39 |
| 7 | -1 | 1 | 1 | 83.81 |
| 8 | 1 | 1 | 1 | 89.80 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 86.70 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 85.58 |

Les logiciels des plans des expériences possèdent des bibliothèques de plans classiques et ils permettent aussi de construire les plans particuliers. La modélisation de cette étude a été effectuée par le logiciel Minitab, pour calculer les réponses dans tous les domaines d'étude, effectuer les analyses de variance, tracer des courbe d'isoréponse, construire les surfaces de réponses et pour déterminer les zones d'intérêt. On arrive ainsi à extraire toute l'information présente dans les résultats d'un plan d'expériences.

- L'équation du modèle mathématique proposé représente un modèle de premier degré et de degrés 3 d'interactions entre chaque facteur.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{123} x_1 x_2 x_3 + e$$

Avec :

Y : est la réponse.



β_0 : est la valeur de la réponse au centre du domaine.

$\beta_1, \beta_2, \beta_3$: est l'effet (ou effet principal) du facteur 1, 2 et 3 respectivement .

$\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}$: est l'interaction entre les facteurs 1 et 2, entre 1 et 3 et entre 2 et 3.

β_{123} : est l'interaction entre les facteurs 1, 2 et 3.

X_i : représente le niveau attribué au facteur i .

e : est l'écart du modèle par rapport à la valeur expérimentale.

IV.4.1.1. Taux d'encapsulation en polyphénols EEP%

1) Analyse de la variance et équation du modèle pour EEP %

L'utilisation de l'analyse statistique permet d'évaluer les différences entre les valeurs de réponse prédites par le modèle et les valeurs expérimentales pour chaque terme de l'équation du modèle, ainsi que son ajustement global.

- Equation de régression en variable codée

$$\text{EEP (\%)} = 86,366 + 3,549 X_1 + 0,336 X_2 + 0,424 X_3 - 0,911 X_1X_2 - 0,244 X_1X_3 - 0,321 X_2X_3 + 0,601 X_1X_2X_3 - 0,226 \text{ ct pt}$$

On remarque que les termes X_1, X_2, X_3 et $X_1X_2X_3$ influencent positivement (synergiquement) la réponse, tandis que les termes d'interaction au degré 2, X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3 ainsi que le terme d'écart ct pt influencent négativement sur la valeur de EEP%.

Dans le tableau IV.13 qui suit, nous avons rassemblé l'ensemble des traitements statistiques effectués par le logiciel sur la réponse $Y = \text{EEP\%}$, permettant la validation du modèle mathématique.

Tableau IV.13 : Analyse statistique de la variance pour la réponse EEP%.

| Source | DF | Adj SS | Adj MS | F-Value | P-value |
|----------------------------|----|---------|---------|---------|---------|
| Modèle | 8 | 114,008 | 14,251 | 22,72 | 0,161 |
| Linéarité | 3 | 103,090 | 34,363 | 54,79 | 0,099 |
| X1 | 1 | 100,749 | 100,749 | 160,63 | 0,050 |
| X2 | 1 | 0,905 | 0,905 | 1,44 | 0,442 |
| X3 | 1 | 1,437 | 1,437 | 2,29 | 0,372 |
| Terme d'interaction | 3 | 7,944 | 2,648 | 4,22 | 0,340 |
| X1*X2 | 1 | 6,643 | 6,643 | 10,59 | 0,190 |
| X1*X3 | 1 | 0,475 | 0,475 | 0,76 | 0,544 |
| X2*X3 | 1 | 0,826 | 0,826 | 1,32 | 0,456 |
| Terme d'interaction | 1 | 2,892 | 2,892 | 4,61 | 0,277 |
| X1*X2*X3 | 1 | 2,892 | 2,892 | 4,61 | 0,277 |
| Curvature | 1 | 0,082 | 0,082 | 0,13 | 0,779 |
| Erreur | 1 | 0,627 | 0,627 | | |



| | | | | | |
|-----------------------------|-------------------------------|---------|--|--------------------------------------|--|
| Total | 9 | 114,635 | | | |
| Validation du modèle | R² (%)=99.5 | | | R² ajusté (%)=99.4 | |

Le modèle global est valide mais la majorité des termes individuels et d'interaction ne sont pas significatifs, car leurs p-value sont supérieures à la probabilité à $\alpha = 0.05$, qui présente le risque que la valeur ajustée s'écarte de la valeur réelle. Seule la valeur de **X1** (dose) est significative au niveau de **0.05**. Les valeurs **R² (99.5%)** et **R² ajusté (99.4%)** indiquent un bon ajustement global du modèle, mais les p-values élevées pour la plupart des termes suggèrent que certains de ces termes peuvent ne pas être nécessaires pour expliquer la variance dans **EEP%**.

2) Diagramme de Pareto pour EEP% :

Le graphe de Pareto correspondant à la Figure IV.10 montre les facteurs qui sont les plus significatifs et ont les effets les plus importants sur la réponse (EEP%).

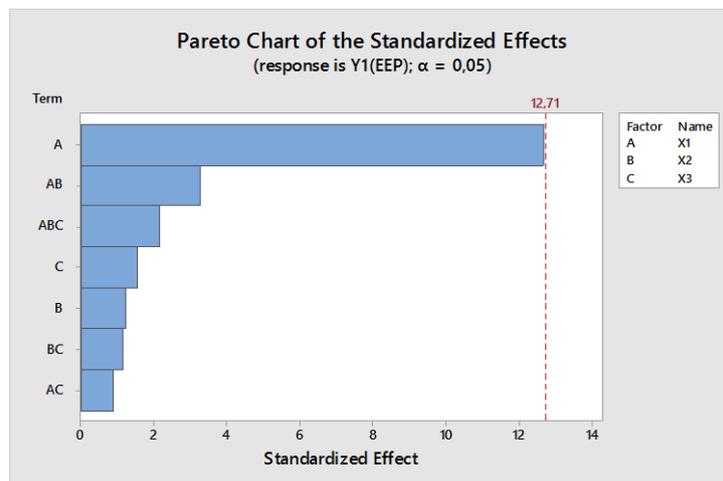


Figure IV.10 : Diagramme de Pareto des effets des termes sur EEP (%)

D'après le graphe de Pareto on trouve que le facteur **A (X= Dose en PP)** est le plus influant sur la réponse EEP (%), comme l'indique son effet standardisé élevé et significatif. Cela signifie que les variations de X1 entraîneront des modifications significatives dans la réponse. Les effets modérés des interactions entre **AB (Dose, RP)**, ainsi que l'interaction triple entre **ABC (X1=Dose, X2=RP et X3=pH)**, montrent des effets modérés mais ne sont pas statistiquement significatifs. Bien qu'ils ne soient pas significatifs, les autres termes (**B, C, AC, BC**) ont des effets très faibles. Ce qui suggère qu'ils ont peu d'influence sur la réponse EEP (%).

3) Diagramme résiduel pour EEP%

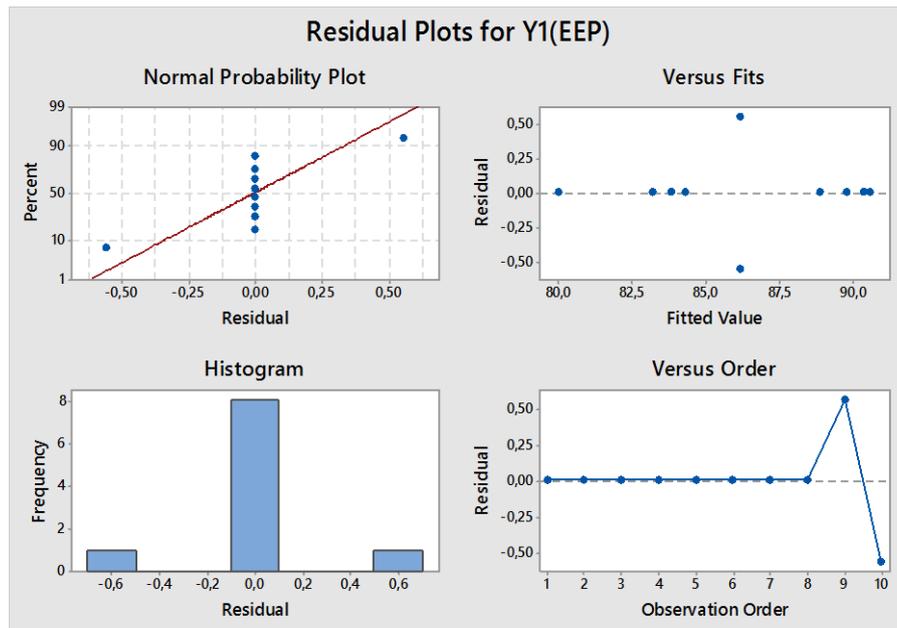


Figure IV.11 : Diagramme résiduel pour EEP%.

- **Graphe de probabilité normale :**

Selon le graphique de probabilité normale, la majorité des résidus sont proches de la ligne qui indique une distribution normale, cependant des écarts aux extrémités indiquent la présence d'anomalies ou d'irrégularités.

- **Résidus et valeurs ajustées :**

La répartition des résidus par rapport aux valeurs ajustées est généralement proche de zéro, ce qui suggère que le modèle est bien adapté aux données dans leur ensemble. Cependant, l'existence d'un point très éloigné de zéro laisse entendre la possibilité d'un outlier, ce qui demande une étude approfondie afin d'évaluer son influence sur la validité du modèle et d'envisager des ajustements si besoin.

- **L'histogramme :**

Des résidus permettent de vérifier visuellement leur normalité. Dans ce graphique, l'histogramme montre une forte concentration de résidus autour de zéro et moins fréquents aux extrémités. Cela suggère une distribution des résidus légèrement plus concentrée au centre.

- **Résidus et ordre d'observation :**

Ce graphique montre les résidus en fonction de l'ordre des observations, Il aide à détecter des tendances ou des corrélations séquentielles dans les résidus. On remarque que la majorité des résidus sont constants jusqu'à la dernière observation, où il y a une grande fluctuation. Cela pourrait indiquer un problème avec cette observation particulière ou une variabilité temporelle non prise en compte par le modèle.

4) **Diagramme des effets des principaux facteurs sur la réponse EEP%**



Selon le diagramme des effets des principaux facteurs (**Figure IV.12**), nous pouvons observer l'impact simultané de tous les facteurs sur le taux d'encapsulation en polyphénols (**EEP%**).

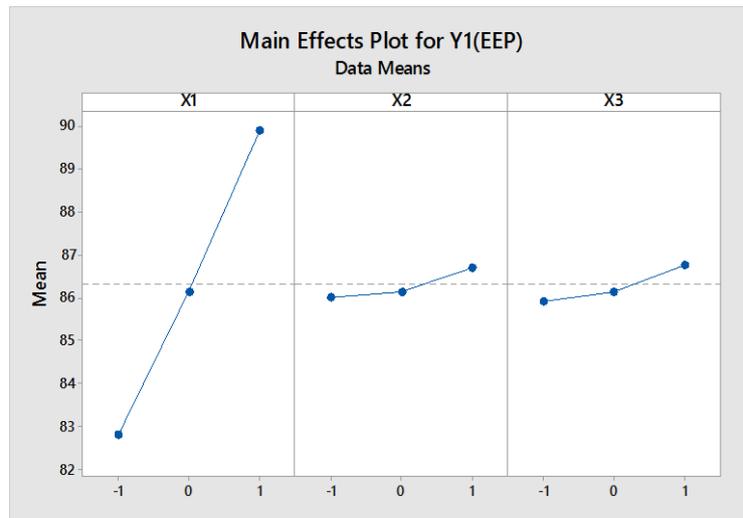


Figure IV.12 : Diagramme des effets des principaux facteurs sur la réponse EEP%.

- L'influence de **X1 (Dose)** : le taux en polyphénols encapsulés est minimal au niveau **-1** correspondant à la dose minimale de **0.703mg**. Plus la dose s'approche de la valeur moyenne de **1.406** au niveau **0** et maximale de **2.109** au niveau **+1** plus le taux d'encapsulation augmente.
- L'influence de **X2 (RP)** est moins importante, le taux d'encapsulation en polyphénols augmente avec **RP** en partant de **4** au niveau **-1** jusqu'à **12** au niveau **+1**.
- L'influence de **X3 (pH)** est moins importante, le taux d'encapsulation en polyphénols augmente avec **pH** en partant de **4** au niveau **-1** jusqu'à **8** au niveau **+1**.

5) Diagramme de prédiction de EEP%

La droite de la figure IV.13 décrit la variation de la valeur prédite Y_{PRED} par le modèle en fonction de la valeur réelle Y_1 (EEP%).

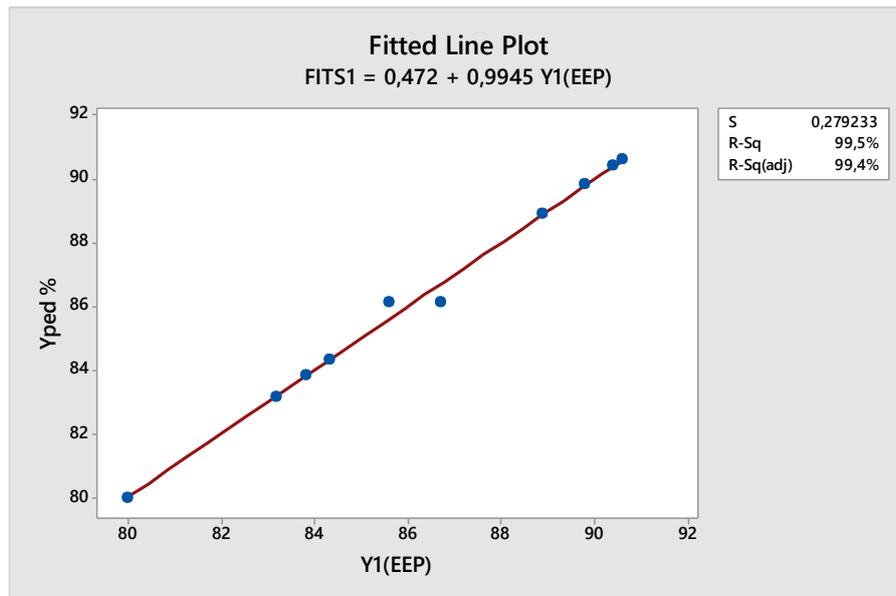
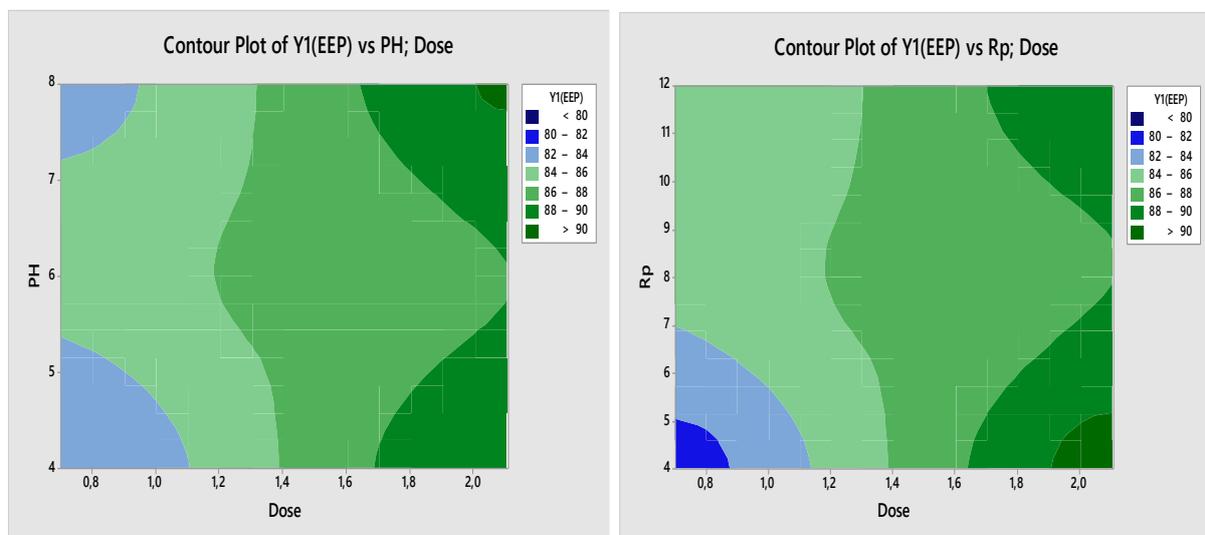


Figure IV.13: Diagramme de prédiction de la réponse EEP%.

- Le modèle présente un léger biais, suggéré par la distribution des points de données sur la droite. Le coefficient de régression est supérieur à **98%** et tend vers **99.5%**, ce qui est un indicateur de qualité exceptionnelle. Cela signifie qu'il existe une très forte corrélation entre les valeurs prédites (**Y_{PRED}%**) et les valeurs expérimentales **Y1 (EEP%)**. En d'autres termes, les valeurs prédites sont très proches des valeurs observées, ce qui confirme que le modèle choisi est valide et qu'il prédit correctement la réponse attendue.

6) Les diagrammes surface-réponse ou contours pour EEP%

Les graphiques de contours présentés dans la **figure IV.14** montrent comment la réponse (**EEP%**) évolue en fonction de deux facteurs simultanément et de leurs interactions.



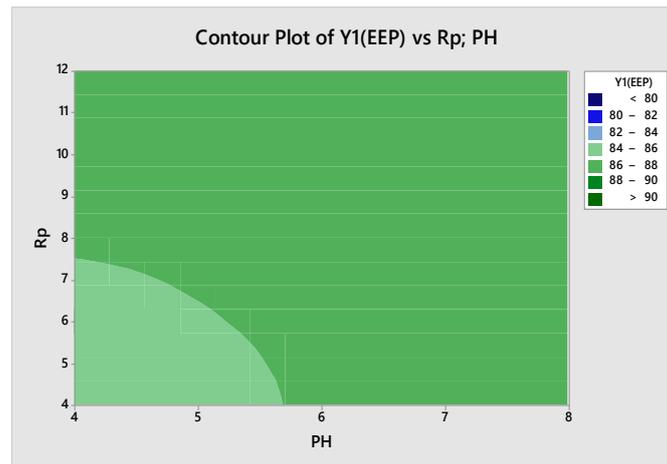


Figure IV.14: Diagrammes Surfaces –Réponses ou contours pour EEP%.

- ✓ Le premier contour représente les domaines de la réponse **EEP%**, par rapport aux deux facteurs la **dose** et **pH**. On observe que le domaine correspondant aux taux les plus élevés (supérieur à 90%) et optimales pour la réponse EEP%, lorsque la **Dose = 2.109 mg/ml** et **pH=8** (basique) sont **maximales**, et pour une dose inférieure on observe deux domaines pour **pH = 8** (basique) et **pH=4** (acide). Mais pour pH neutre, on atteint des valeurs du taux d'encapsulation plus élevées comprises dans le domaine **[84%– 86%]**, tandis qu'elles s'étalent sur tout le domaine de **pH [4 – 8]** pour les doses **[1.1 – 1.4]**. Un autre domaine des valeurs du taux d'encapsulation en Polyphénols **[86% – 88%]**, correspond à des doses relativement élevées **[1.4- 1.7]** quelques soit le pH.

En conclusion, plus en augmente la dose en PP plus le taux d'encapsulation augmente et indépendamment de la valeur du pH, sauf pour la dose maximale ou on atteint la valeur optimale de EEP% pour le pH =8.

- ✓ Le deuxième contour représente les domaines de la réponse **EEP%**, par rapport aux deux facteurs, RP et la dose. On observe que le taux d'encapsulation maximum et supérieur à 90% est atteint pour la dose maximale supérieure à 2 mg/ml et RP minimal = **4 (correspondant à la masse de PEG maximale =150 mg)**. Contrairement, si la dose décroît aux valeurs minimales, on atteint les valeurs des taux d'encapsulation les moins élevés (80-82 %) pour Rp minimal. On remarque des domaines intermédiaires de la dose (**[1.2-1.4]** ; **[1.4-1.6]**), où les taux d'encapsulation sont élevés (**[84-86%]** ; **[86-88%]**) et qui ne dépendent pas de la variation de Rp. On distingue aussi deux grandes zones de variation de EEP% pour le domaine de la dose **[1.6-2]**, interrompus par la valeur de Rp comprise dans le domaine proche de la moyenne (**[8-9]**). Ce qui signifie pour des masses moyennes de PEG (**[75mg-66.67mg]**) qui tendent vers la moyenne, les valeurs du taux d'encapsulation sont dans le domaine **[80-90%]**.

En conclusion, pour améliorer et augmenter le taux d'encapsulation il faut augmenter la masse de PEG.



- ✓ Le troisième contour représente les domaines de la réponse EEP%, sous l'influence des deux facteurs RP et pH. On observe deux domaines [86%-88%], la valeur de pH doit être basique pour le meilleur taux d'encapsulation, correspondant à des valeurs de RP situées dans le domaine [8-12], relatif aux masses de PEG minimale à moyenne ([50-75 mg]) pour la valeur maximale pH=8 (basique). Et pour les valeurs de RP entre [7.7-4], les taux EEP% diminuent [84%-86%] pour une masse de PEG plus élevée comprise dans le domaine (77.92-150 mg).

On conclut, que pour les trois cas de représentation le pH basique est le meilleur pour un taux d'encapsulation le plus élevé et optimal (> 90%).

IV.5. Etude de la libération in vitro des métabolites secondaires encapsulés dans les microsphères et dans la pommade :

L'étude de la cinétique de libération des principes actifs (Polyphénols) de l'extrait brut des feuilles du *ficus microcarpa* à partir des microcapsules de Dextrine/PEG a été réalisée dans un milieu pH=5.8, en utilisant les microcapsules de l'essai 6 optimisé par plan d'expérience.

IV.5.1 Profil de libération dans le milieu dermique :

Dans le milieu tampon à pH=5.8, le tableau IV.14 rassemble les résultats du taux de libération des polyphénols en fonction du temps des microsphères de EB des feuilles, et des pommades PEBFM et PMFM préparées.

Tableau IV.14 : Taux de libération des polyphénols en fonction du temps des microsphères dextrine/ PEG /EB des feuilles FM, des pommades PEBFMF et PMFMF dans le milieu pH=5.8.

| Temps (min) | Microsphères | | PEBFMF | | PMFMF | |
|-------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------|-----------------------------|
| | C _{PP} (µg/ml) | Taux de libération des PP % | C _{PP} (µg/ml) | Taux de libération des PP % | C _{PP} (µg/ml) | Taux de libération des PP % |
| 10 | 0.38 | 7.92 | 0 | 0 | 3.799 | 100 |
| 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 13.438 | 100 |
| 30 | 0 | 0 | 1.6337 | 11.39 | 0.789 | 32.88 |
| 40 | 0 | 0 | 0.3375 | 2.35 | 0.2818 | 11.74 |
| 50 | 0.155 | 3.22 | 0.9575 | 6.68 | 0 | 0 |
| 60 | 2 | 41.67 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 80 | 11.7237 | 100 | 4.7 | 32.78 | 0 | 0 |
| 100 | 8.7362 | 100 | 0.4787 | 3.34 | 0.439 | 18.29 |
| 120 | 0.4925 | 10.26 | 3.2412 | 22.60 | 0.248 | 10.33 |
| 150 | 0 | 0 | 2.6912 | 18.77 | 0.913 | 38.04 |
| 180 | 3.1 | 64.58 | 2.6962 | 16.01 | 6.087 | 100 |
| 210 | 1.8037 | 37.5 | 16.4587 | 100 | 0.022 | 0.92 |
| 240 | 3.325 | 69.27 | 1.845 | 12.87 | 0 | 0 |



- L'évolution du taux de libération des polyphénols des microsphères, des pommades PEBFM et PMFMF, en fonction du temps dans le tampon pH=5.8 est représenté dans la figure IV.15.

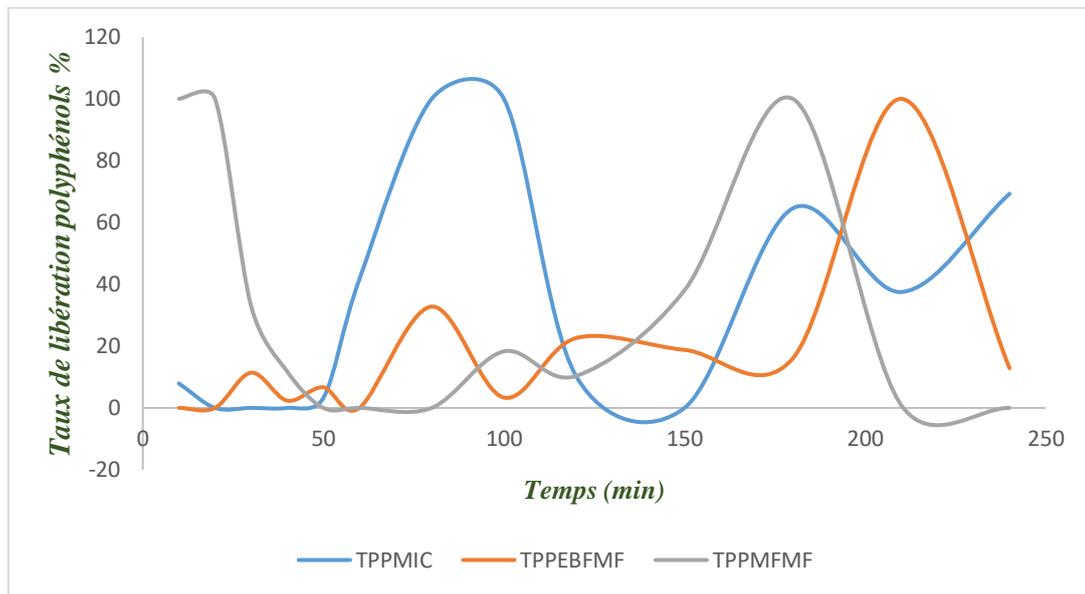


Figure IV.15 : cinétique de la libération des polyphénols (Microsphère, PEBFMF et PMFMF).

- **Cinétique des microsphères :**

Au bout de **10 min** la concentration initiale de polyphénols libérés est de **0.38 µg/ml**, pour un taux de libération de (**7,92%**). Aucune libération de polyphénols n'est constatée entre **20 et 40 minutes**. Une légère libération est observée à **50 minutes** avec une concentration de **0.155 µg/ml**, ce qui représente **3,22 %** de libération. La libération est significativement augmentée à **60 minutes**, avec une concentration de (**2 µg/ml**), soit (**41,67%**).

La libération atteint son maximum entre **80 et 100 minutes** avec une concentration de (**11.7237 µg/ml**), ce qui représente **100%** de libération, qui montre la libération de tous les polyphénols encapsulés. Cependant, à **120 minutes**, une baisse de la libération des métabolites est observée, la concentration étant de **0.4925 µg/ml (10.26%)**.

Celle-ci diminue jusqu'à s'annuler à **150 minutes**. À **180 minutes**, la libération réaugmente de nouveau à une concentration de **3,1 µg/ml**, soit **64,58%**. On observe des fluctuations dans la libération des polyphénols entre **210 et 240 minutes**, avec des concentrations de **1,8037 µg/ml (37,5%)** et **3,325 µg/ml (69,27%)** respectivement.

Ces résultats montrent une libération initiale modérée, suivie d'une augmentation rapide, puis des variations indiquant des mécanismes de libération complexes, qui rappelle un modèle cinétique de type polynomiale (selon les travaux de Peppas), relatif à une diffusion à travers une matrice de type gonflant



attribué à la dextrine. Cette dernière peut réabsorber une partie du milieu physiologique contenant les PP au cours du temps. Ce qui explique la présence de fluctuations dans l'évolution de la cinétique de libération.

➤ **Commentaire :**

Selon **la figure IV.15** il peut y avoir une faible libération des polyphénols initialement au niveau dermique, en raison de divers mécanismes de libération qui peuvent se produire pendant une période plus prolongée.

Selon les résultats, on observe une libération initiale modérée des polyphénols, puis une augmentation importante jusqu'à 80 minutes. Il est possible que cette phase représente une diffusion rapide des polyphénols du centre vers la surface des microsphères.

La réduction observée à 120 minutes est expliquée par le phénomène de réabsorption des polyphénols.

Après 120 minutes, les variations observées pourraient suggérer une libération contrôlée ou prolongée pouvant être utilisée dans des formulations à effet répété ou prolongé.

L'absence de libération des flavonoïdes pourrait être due à plusieurs facteurs :

- Une faible teneur en flavonoïdes dans les microsphères.
- La nature chimique des flavonoïdes qui les rend moins solubles dans le milieu utilisé, ne favorisant pas leur libération.
- Les flavonoïdes ont une forte interaction avec la matrice de dextrine/PEG, ce qui rend leur libération complexe.

➤ **La cinétique de libération PEBFMF :**

L'absence de libération des polyphénols, de la pommade contenant l'extrait brut des feuilles aux premiers temps, pourrait être due au temps nécessaire pour que la pommade s'hydrate et commence à libérer les composés actifs.

Les variations non linéaires du taux de libération des polyphénols entre **40 et 180 minutes** indiquent un profil de libération de type polynomiale croissant. Cela pourrait résulter des facteurs tels que la solubilité variable des polyphénols qui limite leur diffusion plus rapide de la pommade vers le milieu, des interactions avec les excipients de la pommade insoluble dans le milieu physiologique qui constitue une barrière, et dépend de la diffusion du milieu dans la pommade hydrophobe et qui est ralentie au début, puis tend à devenir plus rapide vers la fin de la libération et atteint un taux maximal de 100% au bout de 210mn. On remarque au-delà une décroissance nette du taux expliqué par une réabsorption des polyphénols par la pommade.



➤ La cinétique de libération PMFMF :

Les polyphénols se libèrent immédiatement et complètement aux **10 et 20 minutes**, ce qui suggère que les microsphères dans la pommade possèdent une surface riche en polyphénols qui se libèrent rapidement lorsqu'ils entrent en contact avec le milieu.

L'apparition d'un deuxième pic de libération à **180 minutes** est dû à une dégradation plus profonde des microsphères ou à une érosion accélérée des particules restantes.

La concentration diminue considérablement entre **210 et 240 minutes**, atteignant **0,022 µg/ml (0,92%)**, ce qui montre que le milieu diffuse au sein de la pommade qui entraîne la réabsorption des polyphénols.

Aucune libération des flavonoïdes n'est détectée durant toute la période de la cinétique pour les microsphères des feuilles, PEBFMF et PMFMF, confirmant qu'elles contiennent probablement peu de flavonoïdes en concentrations trop faibles pour être détectés.

IV.6. Caractérisation des extraits et des microsphères de *Ficus Microcarpa* :

IV.6.1 IRFT :

Les spectres IR de l'extrait des feuilles et microsphères (essais 6) du feuilles et des fruits de *Ficus Microcarpa*, ont été représentés sur la figure IV.16.

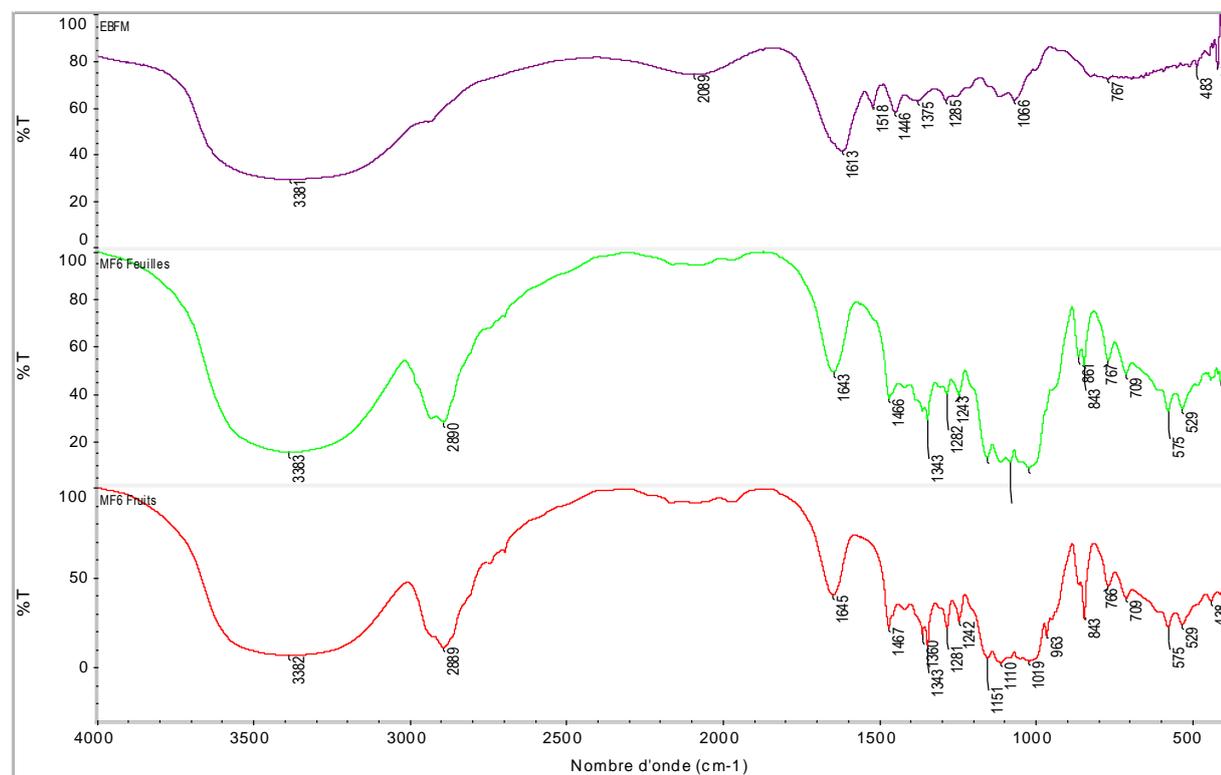


Figure IV. 16 : Spectres IRFT de l'extrait, des microsphères des fruits et des feuilles de l'essai6.

L'analyse des spectres **IR** est faite par comparaison avec les spectres IR de références des standards, qui sont l'acide ascorbique, l'acide gallique, la quercétine, la Dextrine, TPPNa et le PEG6000, pour



identifier les différents composants existants dans les extraits et dans les microsphères. Dans cette étude, les spectres IR ont été obtenus dans le domaine [4000-400] cm^{-1} , les bandes d'absorption IR caractéristiques des groupements fonctionnels des différents métabolites secondaires, des polymères et du tensioactif, dans les différents échantillons d'extrait et des microsphères sont consignées dans le tableau IV.15.

Tableau IV.15 : Les principales bandes d'absorption infrarouge identifiées sur les spectres IR de l'extrait brut, des microsphères et des standards.

| Nombre d'onde (cm^{-1}) | Type de liaisons ou groupement chimique | Echantillon | composés |
|---|---|--|--------------------------------|
| 3200-3700 2850-3100 1620-1680 1650-1730 | OH (Alcool) C-H C=C C=O | Acide Ascorbique | Standard |
| 3200-3400 1700-1740 1620-1450 1350-100 950-600 | OH (Alcool) C=O (Acide) C=C (Aromatique) C-O (Alcool) C-H (Aromatique) | Acide gallique | Standard |
| 3600-3250 1650-1730 1620-1450 1400-1100 1000 | OH (Alcool) C=O (cétone) C=C (Aromatique) C-O (des alcools) C-O-C (cycle) | Quercétine | standard |
| 3600-3250 1650-1730 1620-1450 700-900 | OH (Alcool) C=O (cétone) C=C (Aromatique) C-H (Déformation) | STPP | Standard |
| 3500-3250 2810-3000 1620-1450 1400-1100 950-600 | OH (Alcool) C-H (Alcane) C=C (Aromatique) C-O (des alcools) C-H (Aromatique) | PEG | Polymère |
| 3500-3250 2800-3000 1650-1700 1400-1100 1000 950-600 | OH (Alcool) C _{tét} -H C=C (Alcène) C-O (des alcools) C-O-C (cycle) C-H (Aromatique) | Dextrine | Polymère |
| 3200-3400 2850-2950 1620-1400 1400-1100 950-600 | OH (Alcool) CH ₃ , CH ₂ C=C (Aromatique) C-O (Des Alcools) C-H (Aromatique) | Acide Ascorbique et Acide gallique Dextrine Quercétine Acide gallique AG, Dextrine, PEG | EBFMF, Poudre FMF |
| 3200-3400 2850-2950 1625-1680 1000 | OH (Alcool) CH ₃ , CH ₂ C=C (Alcène) C-O-C (Cycle) | AA, AG Flavonoïdes Quercétine | EBFMF, MFMF6, MFMF6 |
| 3200-3400 2850-2950 1625-1680 500-600 | OH (Alcool) CH ₃ , CH ₂ C=C (Alcène) C-H (Aromatique) | Acide Ascorbique et Acide gallique Flavonoïdes | MFMF2, MFMF6, MFMF9 |
| 3200-3400 1625-1680 1000-1200 | OH (Alcool) C=C (Alcène) C-O (Alcool) | AA, AG Flavonoïdes | EBFMF, MFMF6, PEG, Dextrine |



➤ **Conclusion :**

D'après les résultats des analyses infrarouges, nous pouvons conclure que l'extrait brut est riche en polyphénols, tels que l'acide Ascorbique et faible en flavonoïdes comme la quercétine et que les décelés aussi dans les microsphères.

IV.7 Activité antibactérienne :

L'activité antibactérienne a été évaluée in vitro par la méthode de diffusion sur le milieu gélosé contre deux souches bactériennes ATCC (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) en mesurant les diamètres de la zone d'inhibition autour des disques et des puits à l'aide d'un pied à coulisse (Figure IV.17).

Les résultats obtenus sont récapitulés dans le tableau IV.16 suivant :

Tableau IV.16 : diamètre des zone d'inhibitions (mm) des extraits EB, Microsphères, PEBFMF et PMFMF pour les feuilles FM, et EB pour les fruits du *Ficus Microcarpa*.

| | Extraits | Méthode | N° essais | Diamètre de la zone d'inhibition (mm) | |
|-----------------|---------------------|---------|-----------|---------------------------------------|-----------------------|
| | | | | Escherichia coli | Staphylococcus aureus |
| <i>Feuilles</i> | <i>EB</i> | Puit | 1 | 18 | 12 |
| | | | 2 | - | 16 |
| | | | 3 | - | 12 |
| | | Disque | 1 | 10 | 8 |
| | | | 2 | 10 | 10 |
| | | | 3 | 9 | 9 |
| | <i>Microsphères</i> | Puit | 1 | - | 19 |
| | | | 2 | - | 17 |
| | | | 3 | - | 19 |
| | | Disque | 1 | - | 15 |
| | | | 2 | - | 14 |
| | | | 3 | - | 14 |
| | <i>PEBFMF</i> | Puit | 1 | - | - |
| | | | 2 | - | - |
| | | | 3 | - | - |
| | | Disque | 1 | - | - |
| | | | 2 | - | - |
| | | | 3 | - | - |
| <i>PMFMF</i> | Puit | 1 | - | 25 | |
| | | 2 | - | 23 | |
| | | 3 | - | 25 | |
| | Disque | 1 | - | 20 | |
| | | 2 | - | 21 | |
| | | 3 | - | 20 | |



| | | | | | |
|--------------|-----------|--------|---|---|---|
| Fruit | EB | Disque | 1 | 7 | - |
| | | | 2 | 7 | - |
| | | | 3 | 8 | - |



Figure IV.17 : Mesure du diamètre d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.

Les images des figures IV.18, IV.19, IV.20, IV.21, IV.22, IV.23, IV.24 et IV.25 montrent les différentes zones d'inhibition des extrait EB des feuilles, des microsphères de l'essai 6, des pommades de l'extrait EB et des microsphères et des témoins, réalisés sur les deux souches et selon deux méthodes (disques et puits).



Figure IV.18 : Zone d'inhibition de EB de feuilles testé sur les deux souches par la méthode des puits.



Figure IV.19 : Zone d'inhibition de EB de feuilles testé sur les deux souches par la méthode des disques.



Figure IV.20 : Zone d'inhibition des microsphères de l'essai 6 de l'extrait des feuilles testé sur les deux souches par la méthode des puits.



Figure IV.21 : Zone d'inhibition des microsphères de l'essai 6 de l'extrait des feuilles testé sur les deux souches par la méthode des disques.



Figure IV.22: Zone d'inhibition de la pommade de l'extrait des feuilles PEBFMF testé sur les deux souches par la méthode des puits.



Figure IV.23 : Zone d'inhibition de la pommade de l'extrait des feuilles de PEBFMF testé sur les deux souches par la méthode des disques.

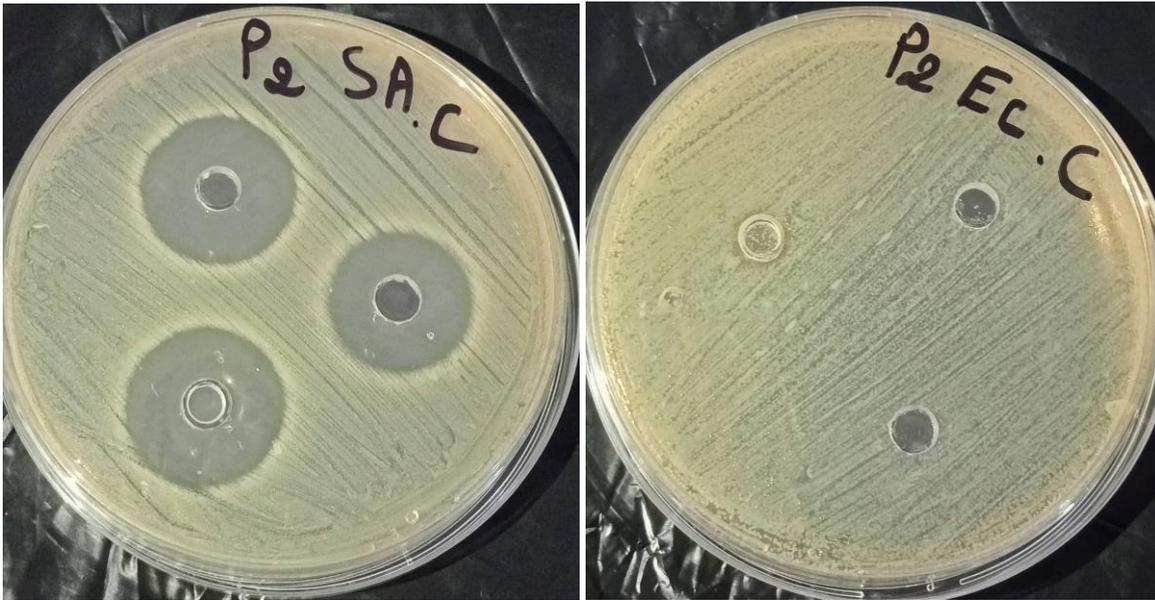


Figure IV.24 : Zone d'inhibition de la pommade des microsphères de l'essai 6 de l'extrait des feuilles PMFMF testé sur les deux souches par la méthode des puits.



Figure IV.25: Zone d'inhibition de la pommade des microsphères de l'essai 6 de l'extrait des feuilles PMFMF testé sur les deux souches par la méthode des disques.

✓ **Activité contre la souche *Escherichia coli* :**

- L'extrait EB des feuilles présente une activité antibactérienne plus importante contre *E. coli* dans les puits (**18 mm**) par rapport aux disques (**9-10 mm**), indiquant que la concentration et la diffusion jouent un rôle important dans l'activité.

✓ **Activité contre *Staphylococcus aureus* :**

- Les extraits des feuilles, en particulier les microsphères et pommade des microsphères PMFMF, démontrent une forte activité antibactérienne contre *S. aureus*. Les dimensions des microsphères



(17-19 mm) et des PMFMF (23-25 mm) dans les puits témoignent d'une présence significative de composés antibactériens efficaces.

- L'absence d'inhibition par la pommade de l'extrait EB des feuilles PEBFMF suggère que les composés actifs sont dégradés sous les conditions du test et présente une mauvaise stabilité comparé à la pommade des microsphères.

En résumé, les extraits de feuilles de *Ficus microcarpa*, en particulier les microsphères et la pommade PMFMF contenant les microsphères, montrent une forte activité antibactérienne contre la souche de *Staphylococcus aureus*, tandis que l'activité contre la souche d'*Escherichia coli* est moins prononcée. L'extrait EB des fruits a montré une faible activité contre *E. coli* et nul pour les et les *Staphylococcus aureus*, ainsi que l'absence d'une zone d'inhibition des microsphères du fruit contre les deux souches. Ces résultats mettent en évidence la variation de l'activité antibactérienne en fonction du type d'extrait et de la méthode d'application (puits versus disque).

IV.8 : Observations microscopiques :

Nous avons effectué des analyses à l'aide d'un microscope optique sur les microsphères des fruits (essais 2, 6 et 9) et l'essai 6 pour les feuilles à différents grossissement x100, x400 et x1000. Les figures IV.26, IV.27, IV.28 et IV.29 montrent l'aspect morphologique et tailles des microparticules obtenus dans les différents essais, et qui dépendent de la valeur du pH et de la masse de PEG ainsi que du type de l'extrait.

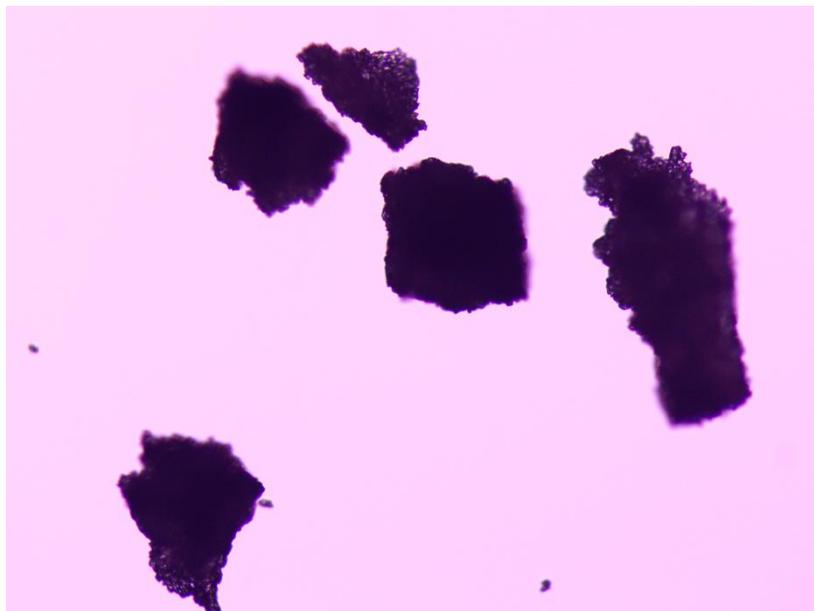


Figure IV.26 : Image microscopique des microsphères (essai 2) fruit du FM avec un grossissement x 100.

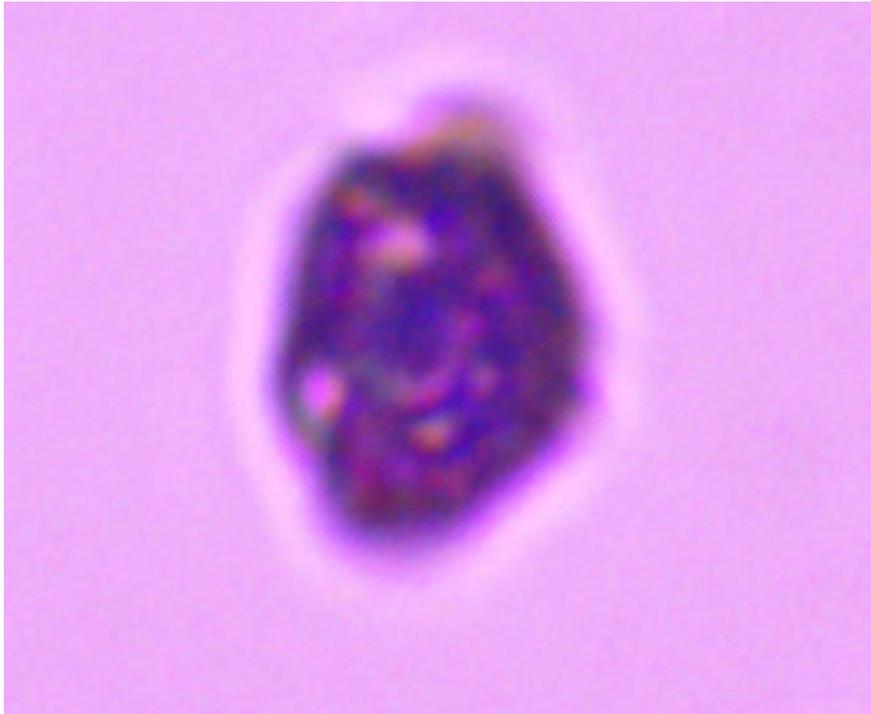


Figure IV.27 : Image microscopique des microsphères (essais 6) fruit du FM avec un grossissement X 400.

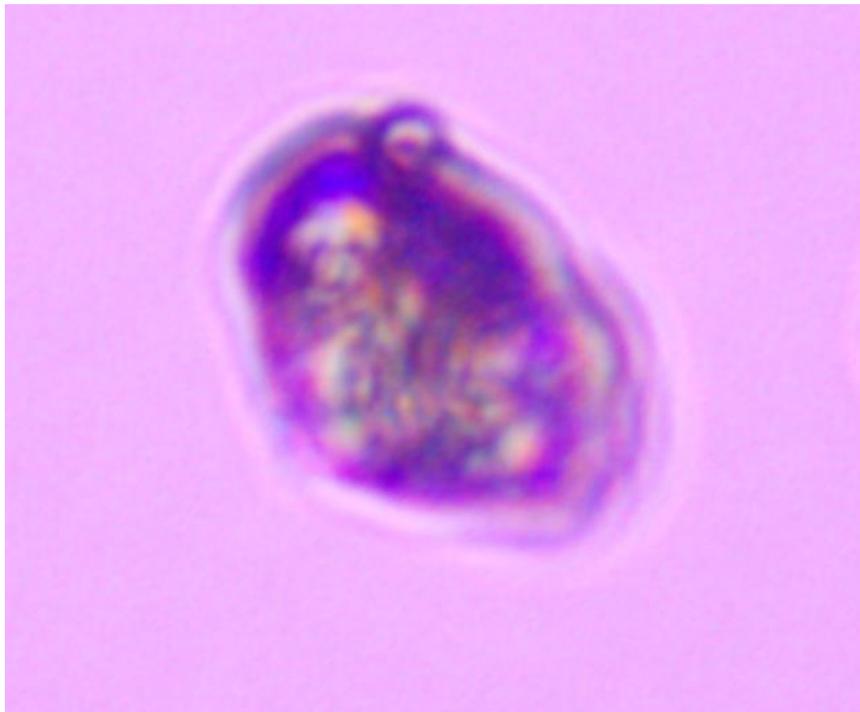


Figure IV.28 : Image microscopique des microsphères (essais 9) fruit du FM avec un grossissement X 400.

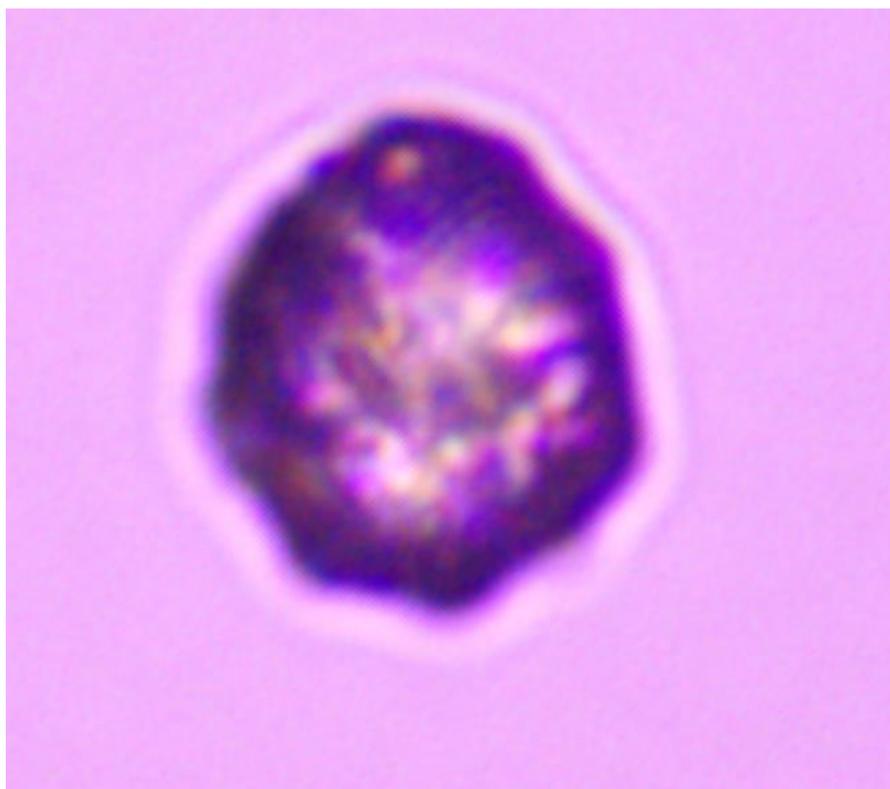


Figure IV.29 : Image microscopique des microsphères (essais 6) feuilles du FM avec un grossissement X 400.

En conclusion, on remarque que les microparticules sont de type réservoir et non matriciel sauf dans le cas de l'essai 2. Puisque on remarque pour l'essai 6 et 9, que l'intérieur des particules présente une couleur plus claire que celle de l'enveloppe externe des microsphères, qui est de couleur plus foncée et uniforme. Ceci suggère, que pour ces deux dernières formulations, la matrice polymérique constituée de chaînes de dextrine mêlées à des chaînes de PEG, piègent à l'intérieur des métabolites secondaires (polyphénols, flavonoïdes, acide ascorbique) de différentes couleurs (observées sur les micrographies) par encapsulation.

Dans le tableau IV.17, sont consignées les valeurs des diamètres moyens des microsphères et de l'épaisseur de l'enveloppe de la matrice polymérique qui entoure les microsphères de forme plus ou moins ovale, mesurés à partir des valeurs des grossissements et de l'estimation visuelle de la taille des objets.

➤ Mesure de diamètre et de l'épaisseur des microsphères de chaque essai :

| N° essai | Diamètre (μ) | Epaisseur (nm) |
|------------------------|--------------------|----------------|
| E6FMF (feuille) | 17 | 2500 |
| E6FM (fruit) | 15 | 1500 |
| E9FM (fruit) | 15 | 2000 |

- Pour l'essai 2 FM, il n'est pas possible de le mesurer car il s'agit d'agrégats.



Conclusion et perspectives





Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus pour leurs propriétés thérapeutiques.

Ce travail a porté sur l'étude de l'espèce *Ficus microcarpa*. Celle-ci appartient à la famille *Moraceae*, est l'une des plus importantes de la flore tropicale par le nombre d'espèces, utilisée en médecine traditionnelle.

Cette étude a permis de mettre en évidence à travers un criblage phytochimique la présence des polyphénols et des flavonoïdes.

- L'extraction par macération à froid des principes actifs des poudres de fruits et des feuilles de *ficus microcarpa*, dans divers solvants organiques tels que l'éther de pétrole, le dichlorométhane et l'éthanol, a montré que le rendement le plus élevé est observé dans l'extrait brut EB(0.82%), suivie de HA(0.60%) puis de DCM(0.04%) et enfin de l'extrait EEP(0.02%) pour les fruits. Pour les feuilles, les rendements d'extraction sont plus importants, et le plus élevé est aussi constaté dans l'extrait brut EB(21.73%) suivi par EEP(3.48%) puis HA(0.112%).
- L'analyse phytochimique des extraits du fruit et des feuilles, a montré la présence de certaines classes de métabolites secondaires, tels que les polyphénols en quantités importantes et des flavonoïdes en quantités plus faibles et de l'acide ascorbique.
- Les taux de polyphénols et de flavonoïdes ont été évalués par différentes techniques d'analyses comme l'UV-visible et la HPLC. Nous avons pu identifier trois composés spécifiques présents dans nos extraits du *ficus microcarpa* : l'acide ascorbique en teneur élevée, l'acide gallique et la quercétine.
- Les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux ont été évaluées par la méthode de Folin-Ciocalteu et la méthode de trichlorure d'aluminium $AlCl_3$. Cette analyse quantitative nous a montré la richesse des différents extraits des fruits et des feuilles de la plante étudiée. Cependant l'extrait DCM (468.05 mg Eq AG/ g Ex Sec), EBFMF (342.83mg Eq AG/ g Ex Sec) est le plus riche en polyphénols pour les fruits et les feuilles respectivement. La quantification des flavonoïdes a montré que l'extrait HAF (212.7694mg Eq Qr/ g Ex Sec) est le plus riche en flavonoïdes pour les feuilles, tandis qu'il y'a absence des flavonoïdes dans les fruits.
- L'activité antioxydante des extraits de fruits et des feuilles a été évaluée in vitro par le test de l'inhibition du radical DPPH°. Les résultats montrent que les extraits EB, HA et DCM des fruits ont présenté d'importants pourcentage d'inhibition, le plus élevé 93.22% à 100µl



correspond à l'extrait brut (ce qui explique la présence d'une corrélation entre la quantité des polyphénols et le pouvoir réducteur), ce qui se manifeste par une forte activité antioxydante. La plus faible activité anti-oxydante a été attribuée à l'extrait EEP. Contrairement, celle-ci est la plus élevée dans l'extrait EEP pour les feuilles, estimée à 81.60% à 100 μ l, tandis que les extraits HA et EB présentent tous les deux des pouvoirs d'inhibition moins élevés pour les feuilles.

Afin de développer la meilleure formulation de préparation des microparticules par la technique de simple émulsion, on applique la méthodologie du plan factoriel à 10 essais et 3 facteurs. L'extrait choisi est EB pour les feuilles et HA pour les fruits, en raison de leurs teneurs élevées en polyphénols et en activité anti-oxydante. Les polymères utilisés sont la dextrine et le PEG6000, qui sont biodégradables, biocompatibles et atoxiques, en présence de TPP comme tension actif et agent de réticulation.

- La réponse Y du plan d'expérience est le taux d'encapsulation en polyphénols des microsphères du fruits et des feuilles de *ficus microcarpa*, obtenues par variation de trois principaux paramètres : la dose en polyphénols, le rapport massique des polymères (masse Dex/PEG) et le pH de la phase continue. Les valeurs optimales sont comprises entre 79.98% et 90.59%, dont les meilleures 90.59%, 90.39% pour l'essai 2 et 6 respectivement sont obtenus avec la dose maximale d'extrait.
- L'équation de modèle est validée avec un $R^2=99.5\%$ pour EEP%.
- Les résultats de la modélisation pour les fruits ont montré l'existence des corrélations très fortes entre les valeurs prédites Y_{PRED} et les valeurs expérimentales EEP%.
- Les résultats de la cinétique de libération des polyphénols dans un tampon pH=5.8 pendant 4h, montrent un profil de type polynomial. Pour les microsphères des feuilles, le modèle répond à un type de libération répétée, tandis que pour la pommade de l'extrait (PEBFMF) la cinétique correspond à un modèle de libération prolongée et enfin pour la pommade des microsphères (PMFMF), la cinétique de libération est plus accélérée.
- La caractérisation par infrarouge montre la présence des polyphénols dans les extraits du fruit et feuille et dans les microsphères.
- Les observations microscopiques nous a permis d'observer la morphologie et la taille moyenne des microparticules obtenues, qui dépendent du pH et de la masse de PEG ajoutée. Pour les pH= 6 et 8, et la masse de PEG maximale de 150 mg, ces dernières sont sous forme de microcapsules (système réservoir) plus ou moins arrondies et de



dimensions du même ordre pratiquement (E6FMF : $17\mu\text{M}$; E6FM : $15\mu\text{M}$; E9FM : $15\mu\text{M}$), et pour un pH= 4 et la masse de PEG minimale, elles sont sous forme d'agrégats de tailles très élevées.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'extrait brut, des microsphères de EB et des pommades PEBFMF et PMFMF des feuilles vis-à-vis des souches de *Staphylococcus aureus* et d'*Escherichia coli*, en utilisant la méthode des disques et puits d'Agar, a conduit aux résultats essentiels suivants :

- L'extrait brut des feuilles est actifs vis-à-vis de la souche *Staphylococcus aureus*. Cela suggère que les extraits de la plante de *ficus microcarpa* possèdent une action antibactérienne très élevée contre ce germe. Cet effet est davantage plus important pour la pommade des microsphères PMFMF avec un diamètre d'inhibition de 25 mm.
- En revanche, aucune activité antibactérienne n'a été observée contre la souche *Escherichia coli* pour l'extrait des feuilles. Par contre, les résultats des extraits des fruits indiquent que l'extrait brut est assez actif vis-à-vis de la souche *Escherichia coli*, avec des zones d'inhibition comprises entre 7mm et 8mm.

Perspectives

- Tester d'autres méthodes d'extraction plus sélectives, comme l'extraction avec le soxhlet pour améliorer les rendements massiques dans les fruits, ainsi que dans les feuilles et extraire plus de flavonoïdes.
- Approfondir l'étude sur les feuilles et tester les autres extraits, HA et DCM.
- Utiliser d'autres solvants de microencapsulation comme les huiles végétales qui sont atoxiques et d'autres méthodes d'encapsulation comme l'évaporation de solvant ou la gélification ionique.
- Refaire l'étude cinétique de libération pour des temps prolongés à plus de 4h ou pour quelques jours, et dans d'autres milieux physiologiques, gastrique, intestinal et sanguin.
- Effectuer les tests in vivo pour voir la libération et l'efficacité des formulations préparées (microsphères et pommades, et suggérer des formulations (comprimés et gélules) pour l'administration orale.
- Approfondir l'étude de l'activité antibactérienne sur d'autres espèces bactériennes, et d'élargir cette étude sur d'autres aspects tels que l'activité antifongique, anti-inflammatoire et même anticancéreuse.



Références Bibliographiques





Références bibliographiques

- [1] : **Henniche I et Messaoudi S, (2012/2013)**. Pouvoir réducteur et scavenger des espèces radicalaires et non radicalaires des extraits de quelques plantes médicinales. Mémoire fin de cycle en Sciences Alimentaires, option : Contrôle de Qualité et Analyses. Université Abderrahmane MIRA de Bejaia.
- [2] : **Dia O, (2019)**. Optimisation de l'extraction des polyphénols des (*Phoenix dactylifera*) L par différents solvants et méthodes. Mémoire fin de cycle en génie des procédés, option : énergétique et procédés. Université Kasdi Merbah Ouargla.
- [3] : **Saaidani A et Khabatti O, (2023)**. Fabrication d'une crème apaisante et hydratante pour brûlures et coups de soleil à base des huiles essentielles de Camomille et de Lentisque. Mémoire fin de cycle en Génie des Procédés, option : Génie chimique. Université 8 mai 1945 Guelma.
- [4] : **Benzaoui D et Zahaf D, (2021)**. Etude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale dans la wilaya d'Oum Bouaghi. Mémoire fin de cycle en biologie et ecologie végétale, option : Biotechnologie végétale. Université El Arbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi.
- [5] : **Benouattas O et Benzina Z, (2021)**. Inventaire et valeurs thérapeutique des plantes médicinales existantes dans la région de Zemmoura Bordj Bou Arreridj. Mémoire fin de cycle en Sciences agronomiques, option : Amélioration des plantes. Université Mohamed El Bachir El Ibrahim B.B.A.
- [6] : **OULED CHEIKH Y et TRIKI B, (2021)**. Evaluation de la conformité des tisanes conditionnées produites en Algérie (évaluation qualitative et quantitative). Mémoire fin de cycle en Sciences Biologiques, option : Qualité des produits et Sécurité Alimentaire. Université 8mai 1945 Guelma.
- [7] : **Boumalek.F, (2004)**. Extraction et études de l'activité antibactérienne des huiles essentielles du thymus vulgaris, mémoire fin de cycle en biologi, option : biochimie.
- [8]: Kuo YH, Li YC. Constituents of the bark of *Ficus microcarpa* L. f. *J Chin Chem Soc.* 1997; 44:321–5. [Google Scholar].
- [9] : **Kolli C et Genaoui L, (2017)**. Production du chitosane par voie fongique. Mémoire fin de cycle en Biologie, option : Biotechnologie Microbienne. Université Mouloud Mammeri de Tizi- Ouzou.
- [10] : **Mimoune R et Marouf N, (2018)**. Adaptation de *Ficus retusa* à la variabilité thermique dans la région de Constantine. Mémoire fin de cycle en Ecologie et environnement, option : Protection des Ecosystèmes. Université des Frères Mentouri Constantine.



- [11] : **HaceneK et Hacene S, (2016 /2017)**. Evaluation des propriétés physico-chimiques, biologiques et pharmacologiques de fruit *Ficus microcarpa*: activité cicatrisante in vivo. Mémoire de fin de cycle en Biochimie et Microbiologie, Option : Microbiologie Appliquée. Université Mouloud Mammeri de Tizi- ouzou.
- [12] : **Ao C, Li A, Elzaawely AA, Xuan TD, Tawata S. Évaluation** des activités antioxydantes et antibactériennes de *Ficus microcarpa* L. fil. Extrait. *Contrôle alimentaire*. 2008 ; 19 : 940–8. [Google Scholar]
- [13] : **Taira T, Ohdomari A, Nakama N, Shimoji M, Ishihara M.** Caractérisation et activité antifongique des chitinases de latex gazyumaru (*Ficus microcarpa*) : les activités de liaison à la chitine et antifongiques de la chitinase de classe I sont renforcées avec l'augmentation de la force ionique. *Biosci Biotechnologie Biochem.* 2005 ; 69 : 811–8. [PubMed] [Google Scholar]
- [14] : **Nadkarni AK. Sharma PV.** Mumbai : Prakashan Pvt. Ltée ; 1954. *Materia Medica indienne*. Draviaguna Vijnana. Varanasi, Inde : Académie Chaukhambha Bharati ; 1983. [Google Scholar]
- [15] : **Kapoor SL, Mitra R.** Lucknow, Inde : Institut national de recherche botanique ; 1979. *Médicaments à base de plantes dans l'industrie pharmaceutique indienne*. [Google Scholar]
- [16] : **Bouzit A et Haddad M, (2013)**. Approche à l'étude de la structure sécrétrice et des interactions biochimique entre huiles essentielle de plantes aromatiques d'un Ecosystème Forestier. Mémoire fin de cycle en science de l'Environnement et des sciences agronomiques, option : Ecosystèmes forestiers. Université de Jijel.
- [17] : **Makhloufi Z et Mameri CH, (2022)**. Extraction et évaluation des propriétés antioxydantes et antibactériennes de la plante *Thymus vulgaris*. Application à la formulation d'une pommade. Mémoire fin de cycle en Génie des Procédés, option : Génie pharmaceutique. Université A.Mira de Bejaia.
- [18] : **BENYERBAH A et ALIGUECHI A, (2021)**. Extraction des métabolites secondaires bioactifs de la moisissure *Trichoderma longibrachiatum* cultivée sur son de blé. Mémoire fin de cycle en Microbiologie, option : Mycologie et Biotechnologie Fongique. Université des frères Mentouri Constantine.
- [19]: **Azroug Dj et Houna A, (2019)**. Effet Inhibiteur des extraits de trois plantes Saharienne *Cotula cinerea*, *Haloxylon scoparium* et *zygophyllum* sur les bactéries *S.aureus*, *E. coli* et *Pseudomonas sp.* Mémoire fin de cycle en Biologie, option : Pharmaco-Toxicologie. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.



Références Bibliographiques



- [20] : VIDAL A., FALLARERO A., PEÑA B. R., MEDINA M. E., GRA B., RIVERA F., GUTIERREZ Y. ET VUORELA P. M. (2003). Studies on the toxicity of *Punica granatum* L. (Punicaceae) whole fruit extracts. *Journal of Ethnopharmacology* 89 : 295–300.
- [21] : Chennouf L et Saadani KH, (2019/2020). Evaluation de l'effet du stockage sur l'activité biologique d'une plante médicinale saharienne. Mémoire fin de cycle en Biologie cellulaire et moléculaire, option : Biochimie Appliquée. Université Echahid Hamma Lakhdar- EL OUED.
- [22] : KHelouili A et Bouchentouf Z, (2018). Polyphénols et Activité antioxydante de l'aloë vera. Mémoire fin de cycle en Sciences Alimentaires, Option : Nutrition Et pathologies. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.
- [23] : Laraba M et Serrat A et Ouassaa Gh, (2015/2016). Etude in vitro de l'activité antioxydante des polyphénols isolés à partir d'une plante médicinale. Mémoire de fin de cycle en Sciences Biologiques, option : Toxicologie et Santé. Université des Frères Mentouri Constantine.
- [24] : Edeas, M. (2007). Les polyphenols et les polyphenols de thé. *Phytothérapie*, 5, 264 – 270.
- [25] : Moneb, A., Ibrahim, R. K., Roy, R., & Sarhan, F. (2011). Changes in wheat leaf phenolome in response to cold acclimation. *Phytochemistry*, 72, 2294 – 2307.
- [26] : Boizot, N., & Charpentier, J. P. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des orgnes d'un forestier. *Le cahier des techniques de l'Inra*, 79 – 82.
- [27] : Martin, S., & Andriantsitohaina, R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Annales de Cardiologie*, 51, 304 – 315.
- [28] : Abbassi L et Touil H, (2018/2019). Contribution à l'étude phytochimique de feuilles de *Pergularia tomentosa* L. dans la région d'El-Oued. Mémoire fin de cycle en Biologie Cellulaire et Moléculaire, Option : Biochimie Appliquée. Université Echahid Hamma Lakhdar EL-OUED.
- [29] : Rached F et Mokhtari W, (2013/2014). Contribution à l'étude des composés phénoliques des céréales et de leur pouvoir antioxydant. Mémoire fin de cycle en Biochimie et de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Option : Biochimie moléculaire et santé. Université Constantine 1.
- [30] : OBAME ENGONGA Louis Clément, (2009). Etude Phytochimique, Activités Antimicrobiennes et Antioxydantes de Quelques Plantes Aromatiques et Médicinales Africaines, Option : Biochimie Microbiologie. Thèse de doctorat Université de Ouagadougou.



Références Bibliographiques



- [31] : **Amani F, (2015 /2016)**. Extraction et dosage de trois classes de flavonoïdes de la lavande (*Lavandula stoechas* L.). Estimation de l'effet insecticide de la poudre des feuilles sur les adultes de *Tribolium castaneum* (Coleoptera : Tenebrionidae. Mémoire fin de cycle en biologie animale et végétale, Option : Génétique et Amélioration des Plantes. Université Mouloud Mammeri de TIZI-OUZOU.
- [32] : **Guettaf Temam H et Boucherit S, (2020/2021)**. Effet phytohormones sur l'accumulation des substances bioactives chez la plante médicinale (*Medicago Sativa* L.). Mémoire fin de cycle en sciences de la nature et de la vie, Option : Biotechnologie et valorisation des plantes. Université Mohamed Khider de Biskra.
- [33] : **ABDA S et BOUGHAZI M, (2013)**. Détermination de l'effet antibactérien des huiles essentielles de *Lavandula officinalis*. Mémoire de fin de cycle en Biologie moléculaire et cellulaire, Option : biologie moléculaire des procaryotes. Université 8 Mai 1945 Guelma.
- [34] : **BELLOUM N et NANI N, (2019/2020)**. Contribution à l'étude phytochimique de racine de *Pergularia tomentosa* L. dans la région d'ElOued. Mémoire de fin de cycle en Biologie Cellulaire et Moléculaire, Option : Toxicologie. Université Echahid Hamma Lakhdar ELOUED.
- [35] : **Blot, N. et Bernard, G.J. (2012)**. Atlas illustré des Plantes médicinales et curatives. De Borée, Asie, 19p.
- [36] : **BERROUA Y et BERROUA Z, (2015/2016)**. Détermination des propriétés antioxydantes de *Putoria calabrica* de la commune de Barbacha « Bejaia ». Mémoire de fin de cycle en sciences de la Nature et de la Vie Option : Sciences Alimentaires. Université Abderrahmane Mira Bejaia.
- [37] : **Louis P. (2004)**. The *rps16* intron and the phylogeny of the (Rubiaceae), *Plant Systematics*.P344.
- [38] : **Hopkins P, 2003**. Familial hypercholesterolemia—improving treatment and meeting guidelines."International journal of cardiology 89(1) ; 13-23p.
- [39] : **Amor L, 2020**. Métabolismes secondaires des plantes. Cour de l'usage des étudiants de M1 Biodiversité et physiologie végétale, Université Ferhat Abbas –SETIF 1, 3p.
- [40] : **Bruneton, J. (2009)**. Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. 4ème éd. Lavoisier.
- [41] : **BENYAHIA H, (22-06-2017)**. Etude phytochimique et dosage de quelques composés phénoliques des fruits d'*Elettaria cardamomum* et évaluation de son activité antioxydante. Mémoire de fin d'étude en Biologie, Option : Biochimie : Molécules bioactives. Université Abou-Bakr-Belkaïd Tlemcen.



Références Bibliographiques



- [42] : **Boudjema N, (26/06/2019)**. Etude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans la région de Biskre. Mémoire de fin d'étude en Sciences Agronomiques, Option : Production Végétale. Université Mohamed Khider de Biskra.
- [43] : **Besombes, C. (2008)**. Thèse de Doctorat : Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermomécanique d'herbes aromatiques, Applications généralisées. Université de La Rochelle. France.
- [44] : **Bouziane OM H et Khenfer I. (2021/2022)**. Valorisation de l'huiles essentielles de basilic comme bio insecticide. Mémoire de fin d'étude en Génie des Procédés, Option : Génie des procédés de l'environnement. Université KASDI-MERBAH Ouargla.
- [45] : **Marie Elisabeth LUCCHESI, (2005)**. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles. Université de La Réunion, thèse.
- [46] : **luicita. lagunez rivera, (2006)**. Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe. Thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse, France.
- [47] : **BENYOUSSEF E-H, (2014)**. Étude de transfert de matière lors de l'extraction des essences végétales. Mémoire de fin d'étude en Génie Chimique. Ecole Nationale Polytechnique – Alger.
- [48] : **Das H. C. Wang J. H et Lien E. J. (1994)**. Carcinogenicity and cancer preventing activities of flavonoids: A structure-system-activity relationship (SSAR) analysis, page 133-136. In : Jucker E ed. Progress in Drug Research. Basel : Birkhauser Verlag. H. C, et Weaver G. M. 1972. Cellulose thin-layer chromatography of phenolic substances. J. Chromatogr. 67, 105-111.
- [49] : **LASSAL F, (2019/2020)**. Etude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de l'ail (*Allium sativum*.L). Mémoire de fin d'étude en Biologie, Option : Biotechnologie et valorisation des plantes. Univerite Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem.
- [50] : **Bekhechi C, Abdelouahid D-E. (2010)**. Les huiles essentielles. Ed. I.S.B.N, Office des Publications Universitaires .54p.
- [51] : **Florence M. (2012)**. Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles : étude de cas en Maison de retraite. Thèse doctorat : Pharmacie : Lorraine .107p.
- [52] : **Gaignault G.A. (1982)**. Principe de la recherche du médicament, Edition Masson, Paris,pp : 75.
- [53] : **Gouraud A. (2012)**. Généralité sur la pharmacologie et les médicaments, pp : 8-42-43 48.



Références Bibliographiques



- [54] : LOUNICI S et SEFSAF M. (2017-2018). Processus de fabrication et de contrôle de qualité du DIPRIM. Mémoire de fin de cycle en Biologie Appliquée, Option : Bioindustrie, Analyse et Contrôle. Université Frères Mentouri Constantine 1.
- [55] : R. SONOGO, Formulation d'une pommade dermique à base d'extraits de *Mitracarpus Scaber* Département Médecine Traditionnelle, B.P. 1746 Bamako-Mali, 2006.
- [56] : Tiriki DJ et Abbas M. (2017/2018). Elaboration d'un antiseptique semi-solide à partir de furocoumarine (Xanthoxine) extraite de la famille. Mémoire de fin de cycle en génies des procédés, option : Pharmacie industriel. Université de BLIDA1.
- [57] : BELAID K et LETRECHE Y. (2021/2022). Préparation d'une pommade à base des plantes végétales à l'usage cosmétique et pharmaceutique. Mémoire de fin de cycle en Génie des Procédés, option : Génie pharmaceutique. Université a. Mira de Bejaia.
- [58] : CHAPAGNE., 2013. Probiotiques dans les produits laitiers : approches récentes en encapsulation. Centre de recherche et de développement sur les aliments Saint-Hyacinthe, Québec.
- [59] : BENHENNI F et DRICI A, (2018/2019). Encapsulation d'un matériau organique et l'étude cinétique de la libération en vue de son utilisation dans le domaine pharmaceutique. Mémoire de fin de cycle en Chimie, Option : Chimie Organique. Université Ibn Khaldoun – Tiaret.
- [60] : Nafti, Y. (2008). « Contribution à l'étude de la cinétique de libération d'un principe actif : oxacilline sodique encapsulé en vue de déterminer les conditions de conservation », Mémoire d'ingénieur d'état, université Ziane Achour de Djelfa.
- [61] : FERDENACHE H, (2010). Étude de la microencapsulation et caractérisation d'une peinture. Mémoire de fin de cycle en Génie des procédés, Option : Génie des Matériaux. Université 08 mai 1945 Guelma
- [62] : Richard. J, Benoit. J-P, (2000). « Microencapsulation, techniques de l'ingénieur », J-2210.1-20,
- [63] : ZAHAF M, (2013/2014). Formulation des microcapsules à libération prolongée à base de principe actif très peu soluble ou insoluble et caractérisation biopharmaceutique. Mémoire de fin de cycle en chimie industrielle, Option : pharmacie industrielle. Université Blida 1.
- [64] : Bey M, (2019/2020). Encapsulation des composés nutraceutiques dans des nanocapsules à basse se biopolymères. Mémoire de fin de cycle en Génie des procédés. Option : Génie des polymères. Universités de BLIDA1.
- [65] : Joly. N, (2003). « Synthèses et caractérisation de nouveaux films plastique obtenue par acylation et réticulation de la cellulose », thèse de doctorat, université de Limoges.



Références Bibliographiques



- [66] : **BENSOUIKI S, (2021/2022)**. Développement des systèmes de délivrance des médicaments en vue de l'application à la libération prolongée d'un principe actif. Thèses de doctorat Faculté de Génie des Procédés, Option : Génie pharmaceutique. Université de Constantine 3 Salah Boubnider.
- [67] : **GRERIFA S et BOURKAIB C, (2015/2016)**. Formulation d'une suspension médicamenteuse à libération prolongée. Mémoire de fin de cycle en Génie des procédés, Option : Génie chimique. Université de Blida1.
- [68] : **GASTINEAU O, (2022)**. Impression 3D de médicaments : développement de nouvelles formes pharmaceutique et personnalisation des traitements. Thèse de doctorat, Université Clermont Auvergne.
- [69] : **THAMEUR S, (2018/2019)**. Optimisation de la dépollution de la matière organique par la méthode de plan d'expériences. Mémoire de fin de cycle en Génie des Procèdes, Option : Génie du raffinage. Université Kasdi Merbah Ouargla.
- [70] : **Pierre J.S. (2009)**. Les plans d'expérience initiation à leur analyse et à leur construction. Edition Lavoisier- Paris, 345.
- [71] : **Goupy J. (2006)**. Introduction aux plans d'expériences.3ème édition. Dunod, Paris. 324p.
- [72] : **Belfegas H et Djendi A, (2019-2020)**. Protection de l'acier contre les effets de salinité Cl-. Mémoire de fin de cycle en Chimie, Option : Chimie Analytique. Université Mouhamed El Bachir El Ibrahimi de Bordj Bou Arréridj
- [73] : **Ladji A et Larbi H, (2020/2021)**. Sur les plans d'expériences et leur application à l'optimisation du procédé de séchage d'aliments. Mémoire de fin de cycle en Mathématiques, Option : Recherche Opérationnelle. Université Akli Mohand Oulhadj – Bouira.
- [74] : **BOIABIBSA kh, (2019)**. La méthode des plans d'expérience dans la conception des structures en béton cas des structures de forme irrégulière. Mémoire de magister en Génie civil, Option : Construction. Université SAAD DAHLEB DE BLIDA.
- [75] : **J. GOUPY, (2000)** ; Modélisation par les plans d'expériences. Techniques de l'ingénieur. Mesures et contrôle R275.
- [76] : **CHIBANE, H., R. SERRA, and R. LEROY**, Mise en uvre d'une optimisation multi objectif en tournage d'un acier 100C6 : compromis entre qualité de surface et productivité. 20ème Congrès Français de Mécanique, 28 août/2 sept. 2011-25044 Besançon, France (FR),2011.
- [77] : **Dr. YAHIAOUI Idris, (2014/2015)**. Les plans d'expériences Initiation à la construction et l'analyse des plans factoriels complets à deux niveaux et du plan composite centré.



Références Bibliographiques



- [78] : **BELGHARBI A et ABIB S, (2015/2016)**. Utilisation des plans expérience pour la formulation des pates cimentaires auto-plaçants. Mémoire de Master/ Licence en Génie Civil, Option : Ingénierie des Matériaux de Construction. Université de Bouira.
- [79] : **REZKA F et BOUKHALLAT K, (2020/2021)**. Utilisation le plan d'expérience de Box-Behnken pour optimiser les différents facteurs influençant sur le séchage de la pomme de terre. Mémoire de fin de cycle en Génie des procédés, Option : Génie Chimique. Université Kasdi-Merbah Ouargla.
- [80] : **DALI A et ALLOUT A, (2022)**. Modélisation numérique et optimisation par la méthode des surfaces de réponses des murs en terre armée. Mémoire de fin de cycle en Génie Civil, Option : Voies et Ouvrages d'art. Université 8mai 1945 de Guelma.
- [81] : **Hadj khouider A et Ben Hadid N. (2017/2018)**. Contribution à la purification et la caractérisation chimique de quelques principes actifs de l'extrait hydro alcoolique d'cotula cinerea de la région de Ghardaïa. Mémoire de fin de cycle en Sciences et Technologies, Option : Génie chimique. Université de Ghardaïa.
- [82] : **Lagnika L. (2005)**. Étude Phytochimique et Activité Antipaludique de Substances Naturelles is-sues de Plantes Béninoises. Thèse de Doctorat Université Louis Pasteur de Strasbourg/Université d'Abomey-calavi, Bénin.
- [83] : **Clemence Rosine. Dongmo Momo. (2009)**. Clinique et pharmacologie Evaluation de l'activité antidermatophytique des l'extraits au methanol et fraction d'acalyphamanniana (euphobiacees) et tristemma hirtum (melastomataceesà. Université de Dschang-Master en biochimie P34.
- [84] : **Afren A. (2018/2019)**. Etude expérimentale de l'effet de sel $MgCl_2$ sur l'équilibre liquide-liquide du système binaire Eau+Butanone. Mémoire de fin de cycle en Génie des procédés, Option : Génie chimique. Université Mohamed Khider Biskra.
- [85] : **Abdrrahim Ch et Achour D. (2016/2017)**. Extraction des huiles végétales et des polyphénols de deux variétés d'épis de blé. Mémoire de fin de cycle en Génies des procédés organiques, Option : Matériaux et produit organiques industriels. Université de Blida 1
- [86] : **Bendjeddou Y et Chetioui D. (2021/2022)**. Dosage des composés phénoliques et évaluation des propriétés biologiques des graines de la figue de barbarie. Mémoire de fin de cycle en Sciences Alimentaires, option : Qualité des produits et sécurité alimentaire. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.
- [87] : **Professeur Jean-Louis Cuq**. Cours chromatographie liquide, Université Montpellier (2001), p4



Références Bibliographiques



- [88] : **GUEMRAOUI M et LALOUI R. (2019/2020)**. Contrôle physico-chimique et microbiologique de L'ISOBUTALINE® 150 ml. Mémoire de fin de cycle en Biologie Appliquée, Option : Bio-industrie, Analyse et Contrôle. Université Frères Mentouri Constantine 1.
- [89] : **HANAFI Y. (19 octobre 2005)**. Caractérisation électrochimique de l'entartrage et inhibition par l'acide hydroxypropylenediphosphonique : cas de la pompe à vide de la papeterie de BABA-ALI. Mémoire de fin de cycle en chimie, Option : chimie appliquée. Université M'Hamed Bouguerra- Boumerdes.
- [90] : **BENMOUNA A. (10/09/2020)**. Etudes des activités antimicrobienne et antioxydant de deux huiles végétales. Mémoire de fine de cycle en biotechnologie, Option : biotechnologie et valorisation des plantes. Université SAAD DAHLEB BLIDA.
- [91] : **BOUAKKAZ S et GUESMI O. (17/06/2019)**. Etude de l'activité antioxydant et antibactérienne des huiles essentielles d'orange. Mémoire de fin de cycle en Sciences biologiques, Option : Biochimie Appliquée. Université Larbi Tébessi -Tébessa-.
- [92] : **YOUNSIOUI M et ZEMOURI D. (2018/2019)**. Etude de l'adsorption du nickel divalent sur le chitosane, optimisation par plan d'expérience. Mémoire de fin de cycle en Génie des Procédés, Option : Génie Chimique. Université Abderrahmane MIRA de Bejaia.
- [93] : **BENLAHRACHE R et BOUKERZAZA S. (30/06/2022)**. Evaluation de l'activité antibactérienne de deux extraits de la plante Centaurea dimorpha. Mémoire de fin de cycle en Sciences Biologiques, Option : Biochimie. Université Frères Mentouri Constantin I.
- [94] : **Elodie D, (10 janvier 2008)**. Thèse de Doctorat : Modélisation de la réponse impulsionnelle pour la détection de particules en microscopie par fluorescence. L'Université Paris Descartes.

Référence Site

Anonyme1 : <https://maison.20minutes.fr> › Jardin › Plantes d'intérieur Ficus Ginseng (microcarpa)

Anonyme2: http://www.mi-aime-a-ou.com/ficus_microcarpa.php

Anonyme3: https://fr.wikipedia.org/wiki/Ficus_microcarpa

Anonyme4: https://powo.science.kew.org/taxon/Thymus_vulgaris_L. (Traduit)

Anonyme5: [https://indiabiodiversity.org/show/Phyllanthus_acidus_\(L.\)](https://indiabiodiversity.org/show/Phyllanthus_acidus_(L.))

Anonyme6: <https://blog.bivea.fr/wp-content/uploads/2011/05/fabriquer-huile-essentielle-2.jpg>.



Références Bibliographiques

Anonyme7: [https://fr.wikipedia.org › wiki › Polyéthylène_glycol](https://fr.wikipedia.org/wiki/Poly%C3%A9thyl%C3%A8ne_glycol).

Anonyme8: [https://www.techniques-ingenieur.fr › glossaire › dextrine](https://www.techniques-ingenieur.fr/glossaire/dextrine).

Anonyme9: [https://fr.wikipedia.org › wiki › Triphosphate_de_sodium](https://fr.wikipedia.org/wiki/Triphosphate_de_sodium).



Annexe





1. Matériels utilisées :

- Eprouvette graduée, pipete graduée, poires d'aspiration.
- Bécher, fiole jaugée, erlenmeyer.
- Entonnoirs, verres de montre, spatules, barreau magnétique, tubes à essais, pissette, boîte pétries, cuve UV-cuvette ou pour l'UV.
- Papier absorbant, papier aluminium, papier wattman, para film.
- Mortier, tamis de 100 microns.
- Écouvillon.

2. Appareillages et réactifs utilisés :

| Appareillages | Réactifs |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none">- Spectrophotomètre UV-visible.- Balance analytique.- HPLC.- Spectrophotomètre Infrarouge IRFT- Etuve.- pH-mètre.- Autoclave.- Becs bunsen.- Broyeur à couteaux- Microscope Optique | <ul style="list-style-type: none">- Eau distillée, eau physiologique.- Ether de pétrole.- Dichlorométhane.- Méthanol.- Ethanol.- Acide Ascorbique, quercétine, Acide gallique.- Folin ciucalteu, Carbonate de sodium.- Chlorure d'aluminium.- DPPH (2.2-déphényl-1-picrylhrazyle).- Huile de sésame, vaseline.- PEG6000, Dextrine, TPP.- HCl, NaOH.- Muller Hinton.- Oxyde de zinc. |

➤ Fruit du Ficus Microcarpa :

| Extrait | Masse(g) | Volume (ml) |
|------------|----------|-------------|
| EB | 0.41062 | 50 |
| DCM | 0.01946 | 50 |
| EEP | 0.00925 | 50 |
| HA | 0.1504 | 25 |



➤ Feuilles du Ficus Microcarpa :

| Extrait | Masse (g) | Volume (ml) |
|---------|-----------|-------------|
| EB | 4.34644 | 20 |
| EEP | 0.1089 | 20 |
| HA | 0.0224 | 20 |

3. Dosage des polyphénols

➤ Fruit :

| Extraits | EB | HA | DCM | EEP |
|-----------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| Abs (765nm) | 0.3359 | 0.3322 | 0.2995 | 0.0165 |
| Concentration($\mu\text{g/ml}$) | 3663.6 | 3621.9 | 3253 | 6.1 |

➤ Feuilles :

| Extraits | EB | HA | EEP |
|-----------------------------------|---------|---------|--------|
| Abs (765nm) | 1.0044 | 0.9263 | 0.4423 |
| Concentration($\mu\text{g/ml}$) | 11203.7 | 10322.8 | 48.637 |

4. Dosage des flavonoïdes

➤ Feuilles :

| Extraits | EB | HA | EEP |
|-----------------------------------|----------|----------|---------|
| Abs (430nm) | 1.1681 | 1.1723 | 0.8184 |
| Concentration($\mu\text{g/ml}$) | 135.5862 | 136.1724 | 86.7714 |

5. Activité antioxydants (DPPH)

➤ Fruit :

| EXTRAITS | EB | HA | DCM | EEP | Témoin |
|------------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Absorbance (100 μl) | 0.0049 | 0.0076 | 0.0289 | 0.0661 | 0.0723 |
| Absorbance (800 μl) | 0.0175 | 0.0212 | 0.0079 | 0.0690 | |



➤ Feuilles :

| EXTRAITS | EB | HA | EEP |
|-------------------------------|-----------|-----------|------------|
| Absorbance (100µl) | 0.0178 | 0.0164 | 0.0133 |
| Absorbance (800µl) | 0.0481 | 0.0370 | 0.0204 |

6. Cinétique de libération

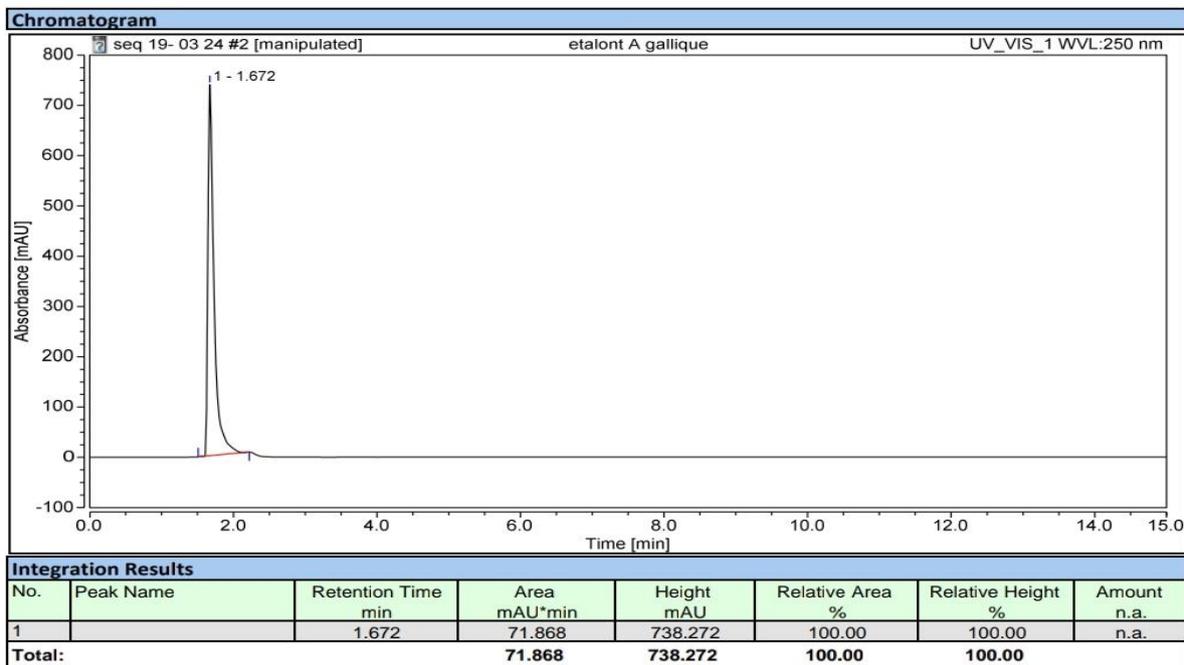
| T (min) | Abs (nm) Polyphénols Microsphères | Abs (nm) Polyphénols PEBFMF | Abs (nm) Polyphénols PMFMF |
|----------------|--|--|---|
| 10 | 0.0138 | 0 | 0.0448 |
| 20 | 0 | 0.0067 | 0.1303 |
| 30 | 0.0029 | 0.0227 | 0.0181 |
| 40 | 0.0012 | 0.0135 | 0.0136 |
| 50 | 0.0122 | 0.0179 | 0.0029 |
| 60 | 0.0253 | 0.0032 | 0.0093 |
| 80 | 0.0943 | 0.0446 | 0.003 |
| 100 | 0.0731 | 0.0145 | 0.015 |
| 120 | 0.0146 | 0.0341 | 0.0133 |
| 150 | 0.0084 | 0.0302 | 0.0192 |
| 180 | 0.0331 | 0.0274 | 0.0651 |
| 210 | 0.0239 | 0.1279 | 0.0113 |
| 240 | 0.0347 | 0.0242 | 0 |

7. Chromatogrammes de HPLC des standards, Acide gallique, quercétine et Acide ascorbique

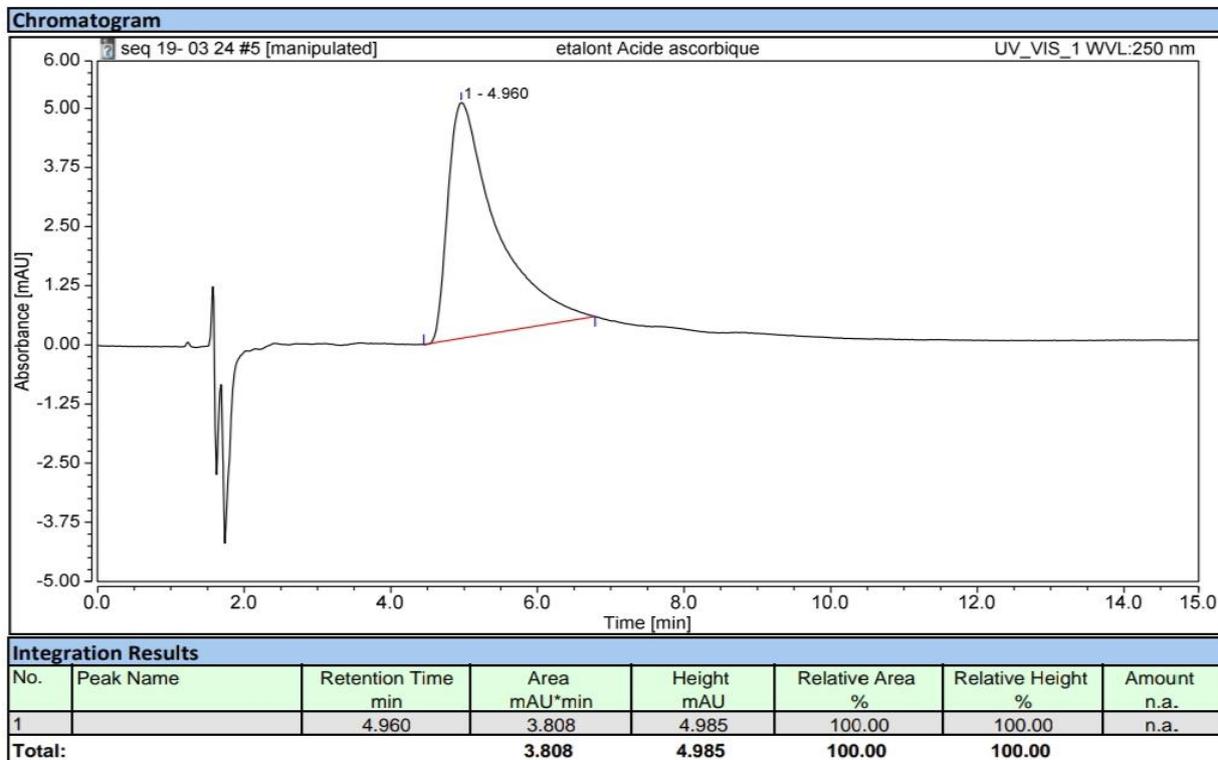


Annexe

Acide gallique



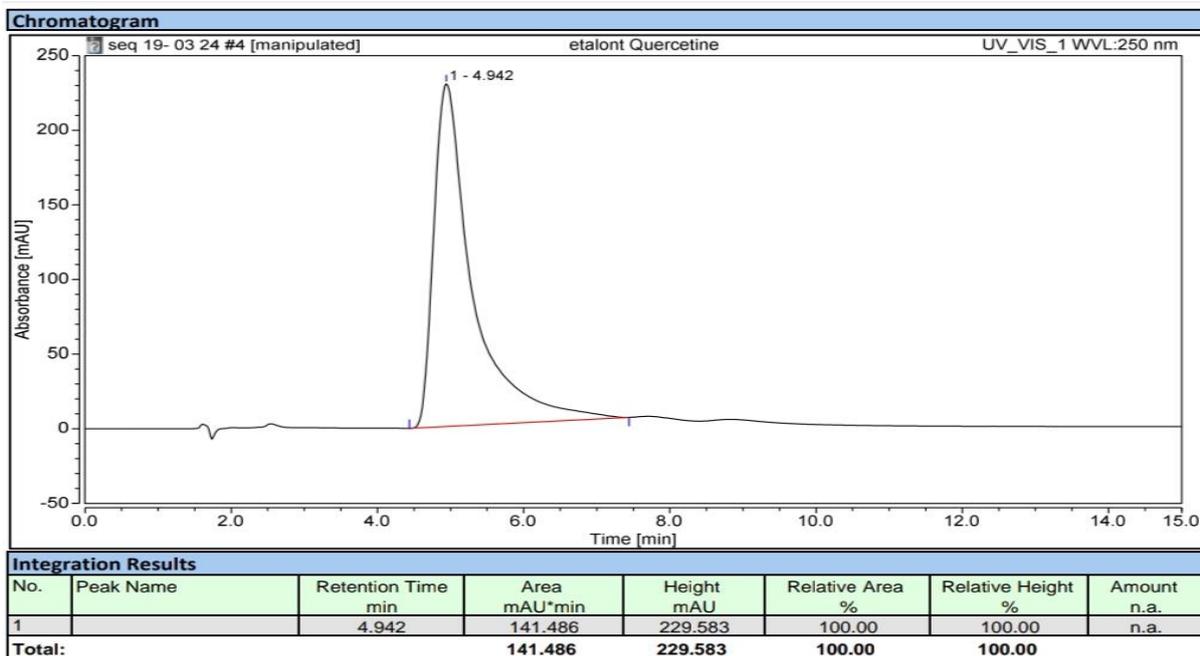
Acide Ascorbique



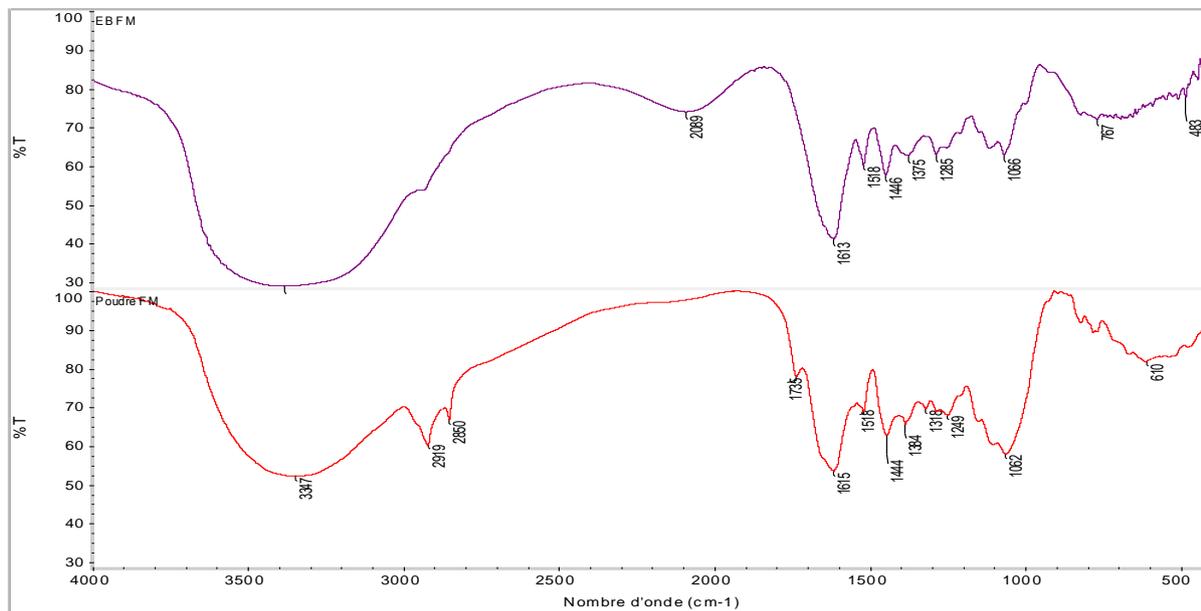


Annexe

Quercétine



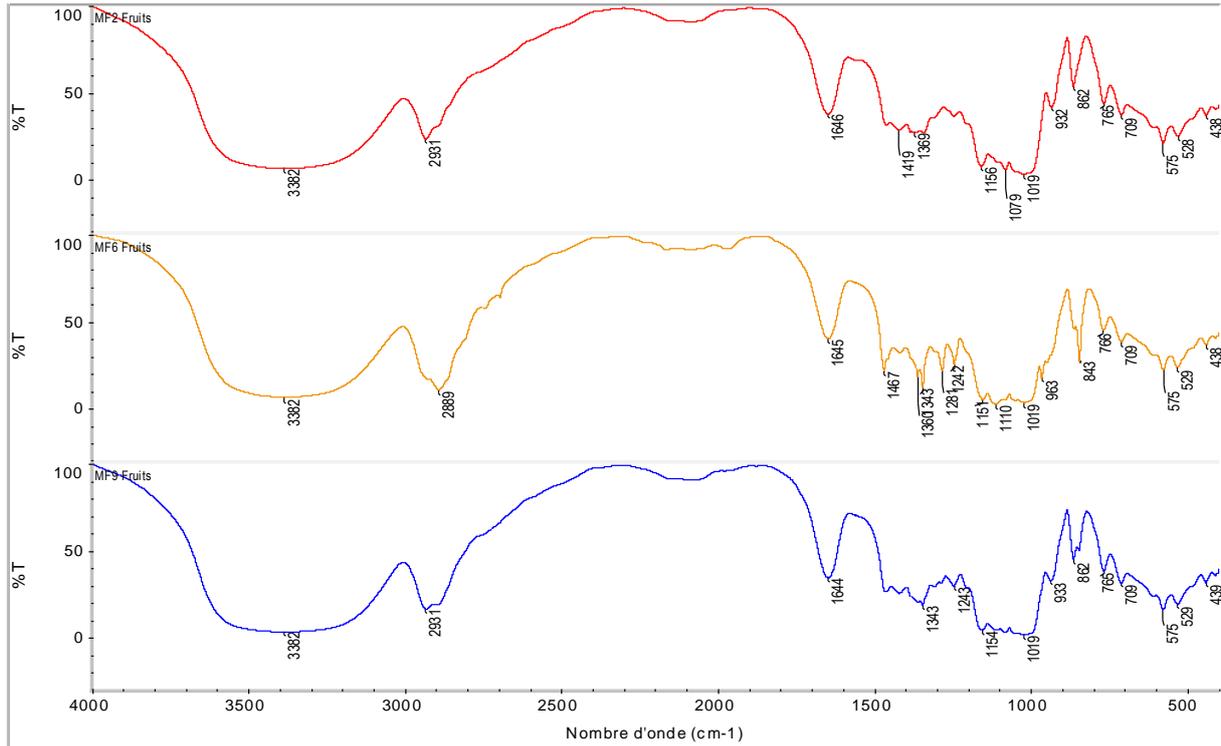
8. Spectres IR



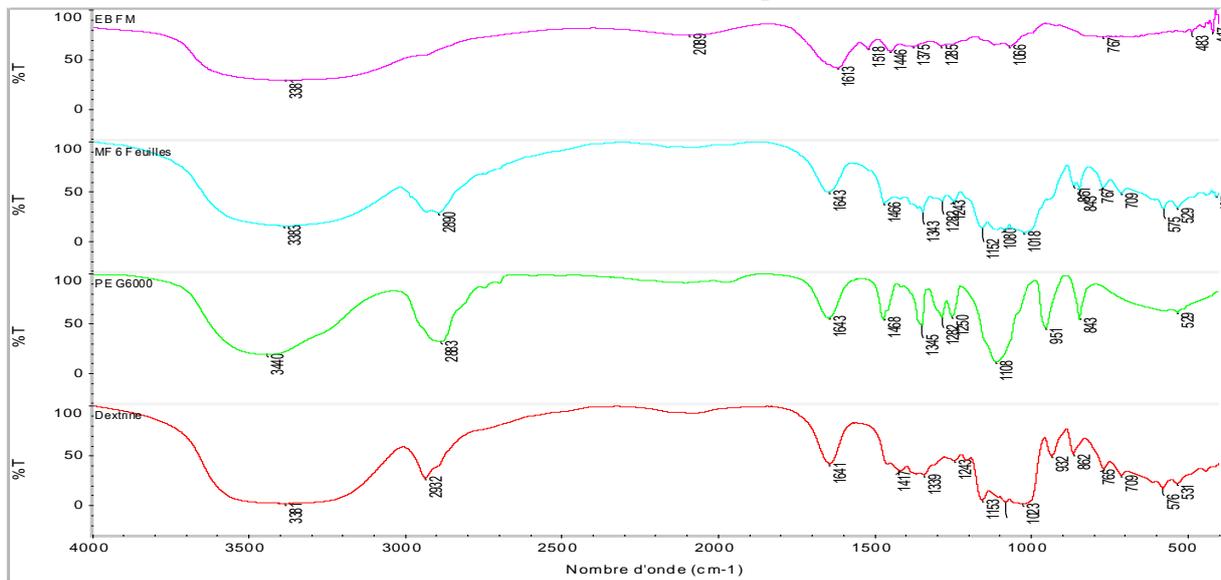
Spectre IRFT de la poudre et EB du Ficus Microcarpa



Annexe



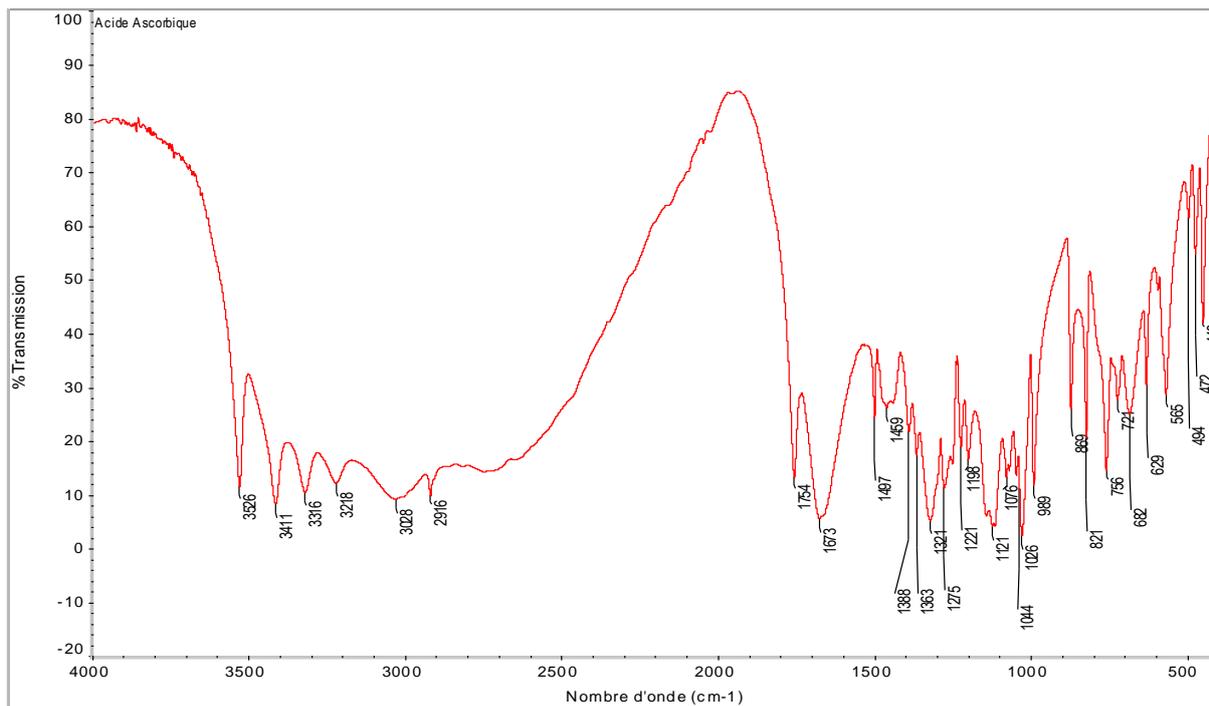
Spectres IRFT des microsphères de l'extrait des fruits des essais 2, 6 et 9 en fonction des différents pH



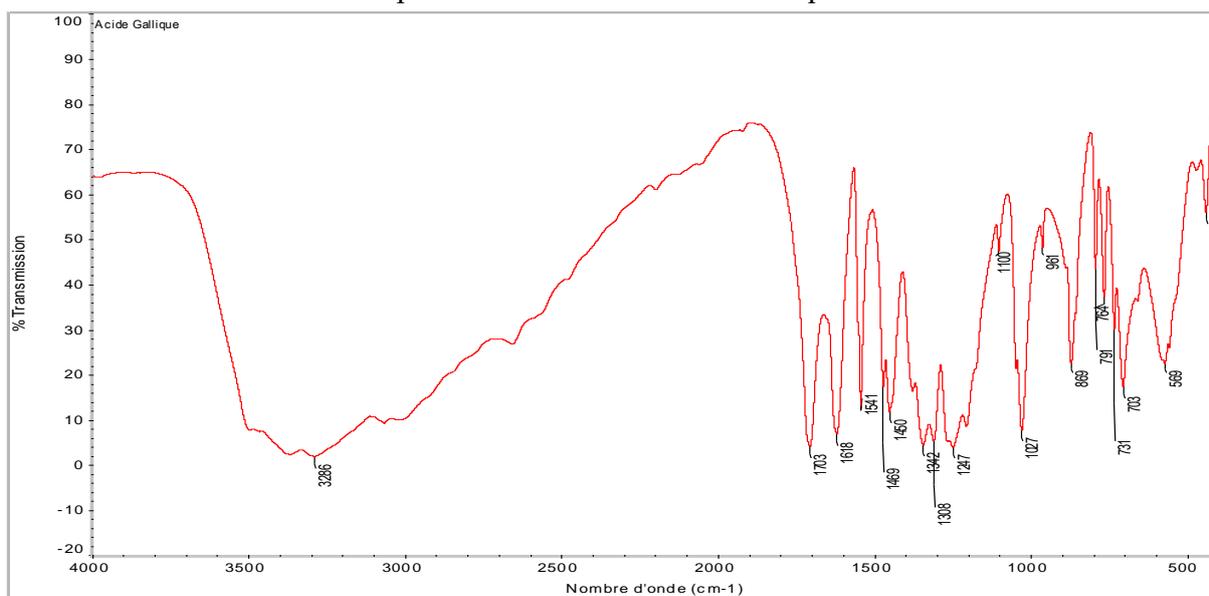
Spectres IRFT de l'extrait brut, des microsphères de l'essai 6 et des polymères, dextrine et PEG.



Annexe



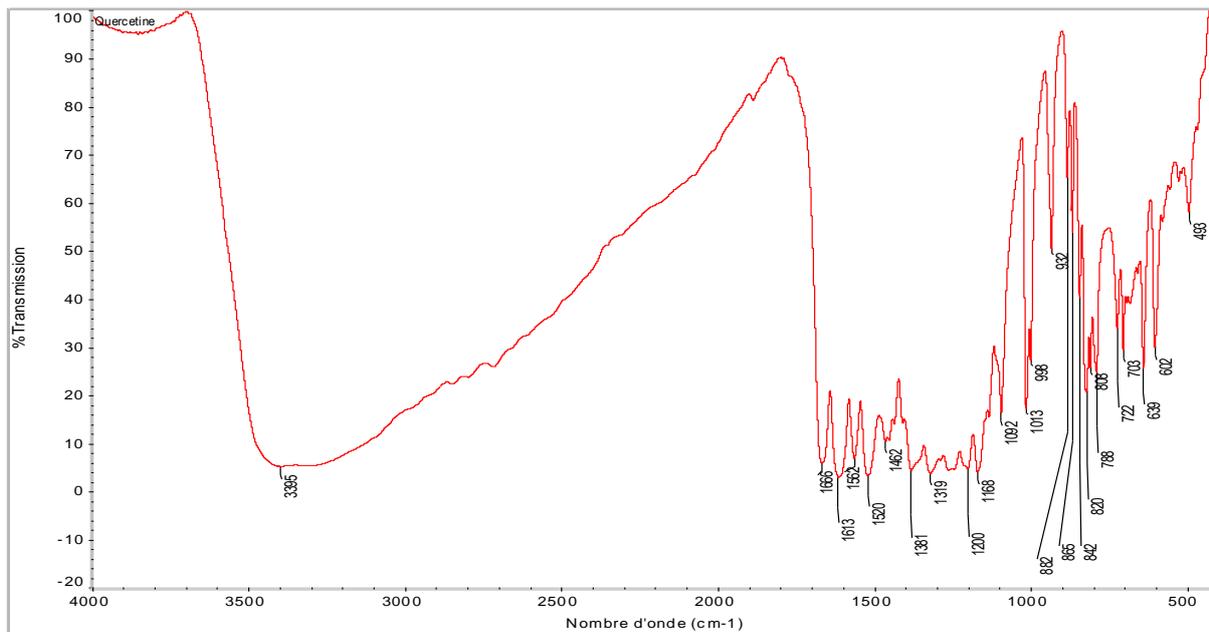
Spectres IRFT de l'acide ascorbique



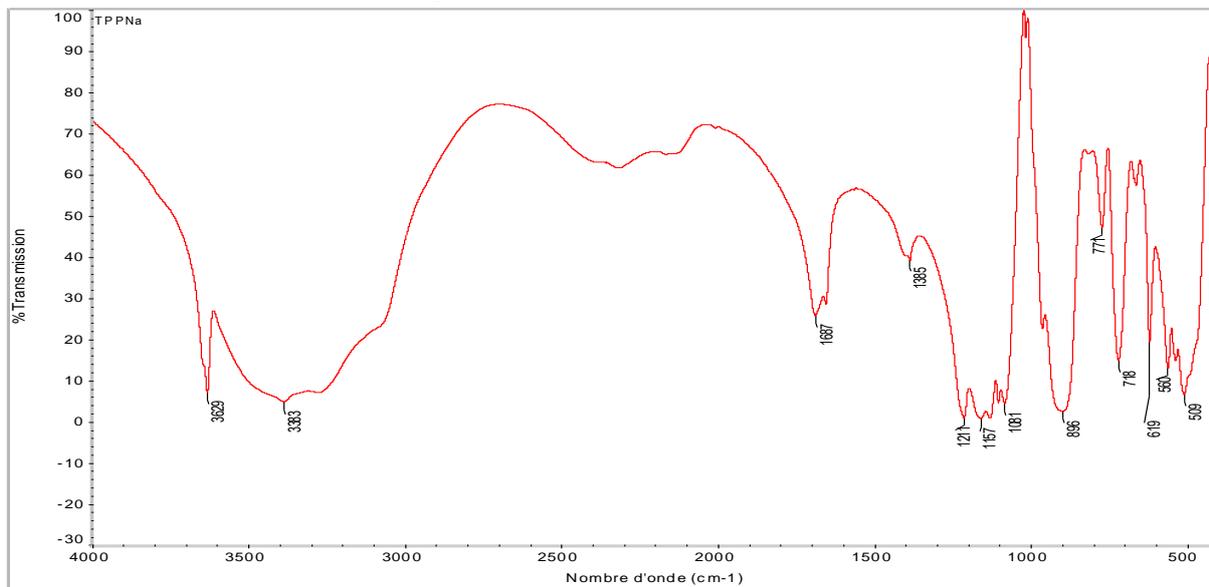
Spectre IRFT de l'acide gallique



Annexe



Spectre IRFT de la Quercétine



Spectre IRFT de TPPNa

9. Appareillages utilisés :



Broyeur à couteaux



UV-Visible



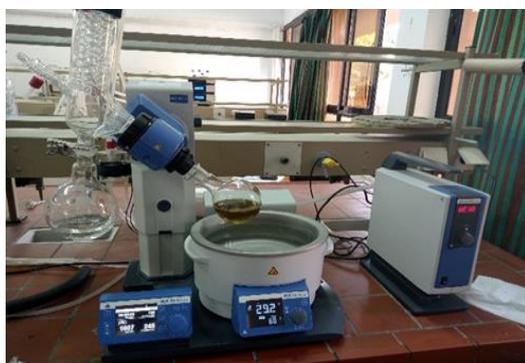
Annexe



Balance électronique



Plaque d'agitation



Rotavapeur



pH-mètre



Dissolu-test



Microscope optique



Résumé



Résumé

Dans ce travail, nous avons montré la richesse d'une plante médicinale, le *figus microcarpa*, en principes actifs, et l'évaluation de l'activité anti-oxydante et de la composition phytochimique d'une variété d'extraits obtenus à partir des feuilles et des fruits, afin de formuler une pommade naturelle antibactérienne. Les extraits EB des fruits et EP des feuilles ont montré une forte activité antioxydante, en utilisant la méthode de l'inhibition du radical DPPH°. La microencapsulation des polyphénols extraits, par simple émulsion dans des polymères biodégradables (DEX/PEG), a été optimisée par plan factoriel à 3 facteurs (Dose/RP/pH), avec un taux maximal d'encapsulation en polyphénols qui dépasse largement 90%.

La cinétique de libération in vitro dans le tampon pH=5.8, des polyphénols du *figus microcarpa*, du meilleur essai a abouti à un modèle de type polynomial qui est assez ralenti au départ, puis la vitesse augmente vers la fin en libérant 100% de PAs. Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits montrent que la pommade formulée est très active vis-à-vis de la souche *staphylococcus aureus* (25 mm). L'observation microscopique montre des microcapsules de type réservoir pour le pH=6 et 8 avec des diamètres moyen de 15 à 17µM.

Mots clés : *figus microcarpa*- Extraction- Métabolites- Microencapsulation- Plan d'expérience- Pommade antibactérienne- Ativité antioxydante- Cinétique de libération.

Abstract

In this work, our study focused on demonstrating the richness of the medicinal plant *Ficus microcarpa*, from the Moraceae family, in active principles, and evaluating the antioxidant activity and phytochemical composition of various extracts obtained from the leaves and fruits in order to formulate a natural antibacterial ointment.

The crude extract (EB) of the fruit and the leaf extract (EEP) showed strong antioxidant activity using the DPPH method. We performed encapsulation of the active principle (HA) from *Ficus microcarpa* fruit by a single emulsion process using biodegradable polymers (DEX/PEG), optimizing several factors (Dose/RP/pH) through factorial design modeling to achieve the maximum polyphenol encapsulation rate.

Through Minitab software, we conducted statistical analysis to identify significant factors and their influence on the polyphenol encapsulation rate.

We studied the influence of the dermal physiological medium on the in vitro release kinetics of the active principle from *Ficus microcarpa* leaves.

The results of the antimicrobial activity of our leaf extracts show that the formulated ointment is active against the *Staphylococcus aureus* strain, suggesting that the ointment has good antibacterial activity.

Keywords : Extraction, *Ficus microcarpa*, antibacterial ointment, antioxidant activity, release kinetics

المخلص

في هذا العمل، ركزت دراستنا على إظهار غنى النبات الطبي من عائلة التوت، وهو فيكس ميكروكاربا، بالمبادئ الفعالة، وتقييم النشاط المضاد للأكسدة والتكوين الكيميائي النباتي لمجموعة متنوعة من المستخلصات التي تم الحصول عليها من الأوراق والثمار من أجل صياغة مرهم طبيعي ذو خاصية مضادة للبكتيريا.

أظهر المستخلص الخام (EB) للثمار ومستخلص الأوراق (EEP) نشاطاً مضاداً للأكسدة قوياً باستخدام طريقة DPPH. قمنا بإجراء تغليف للمبدأ الفعال (HA) من ثمار فيكس ميكروكاربا بواسطة عملية الاستحلاب البسيطة باستخدام البوليمرات القابلة للتحلل الحيوي (DEX/PEG)، مع تحسين عدة عوامل (الجرعة/نسبة البولي إلى المستحلب/الرقم الهيدروجيني (من خلال نمذجة التصميم العاملية لتحقيق أعلى معدل تغليف للبوليفينولات).

من خلال برنامج Minitab، أجرينا التحليل الإحصائي لمعرفة العوامل المهمة وتأثيرها على معدل تغليف البوليفينولات. درسنا تأثير الوسط الفسيولوجي الجلدي على حركية الإطلاق في المختبر للمبدأ الفعال من أوراق فيكس ميكروكاربا. أظهرت نتائج النشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات أوراقنا أن المرهم المركب نشط ضد سلالة المكورات العنقودية الذهبية، مما يشير إلى أن المرهم يقدم نشاطاً مضاداً للبكتيريا بشكل جيد.

الكلمات الرئيسية: استخراج، فيكس ميكروكاربا، مرهم مضاد للبكتيريا، نشاط مضاد للأكسدة، حركية الإطلاق