

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

**HAMROUNE Sabrina**

**HALFAOUI Hanane**

*Thème*

« Extraction et étude des propriétés anti-oxydantes des graines de la plante *Lepidium sativum L*

(Hab arched) et application a la formulation d'une solution buvable»

Soutenue le 03/07/2022

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade		
Mr K.BELHAMEL	Pr	Université de Bejaia	Président
M <sup>me</sup> N.BELHADJ	MC	Université de Bejaia	Examineur
M <sup>me</sup> H.BELKACEMI	Pr	Université de Bejaia	Encadrant

Année Universitaire : 2021/2022

# Remerciement

*Nous tenons à remercier en première lieu ALLAH le tout puissant de nous donner courage, santé et patience pour achever ce travail.*

*A notre promotrice de mémoire fin d'étude Madame H.BELKACEMI pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigoureuse scientifique, sa disponibilité, ses précieux conseils, la confiance qu'elle nous a accordé et pour son suivi régulier à l'élaboration de ce travail.*

*Aux membres de jury pour avoir accepté d'examiner notre mémoire.*

*chef de laboratoire, département d'ingénierie des procédés, faculté de Technologie qui nous a fait l'honneur d'accepter de diriger ce mémoire.*

*Hommage respectueux. Nous remercions nos très chers parents qui ont toujours été là pour nous, nos amies leur soutien inconditionnelle et leur encouragement.*

*Finalement, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude a tout ce qui ont participent à la réalisation de ce travail.*

**HANANE ET SABRINA**

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail à :*

*Très cher père et ma très chère mère qui sont toujours  
soutenu et encouragé dans les moments difficiles  
je leurs témoigne ici affection et gratitude.*

*A mes chers frères BILAL et BOUALEM*

*A mes chères sœurs :TAOUES,NASSIMA , HANANE*

*A ma grande mère A mes tantes et mes oncles.*

*A mon binôme HANANE*

*A ma copine LEILA*

*A toute ma famille et mes amies et tous ceux qui tiennent  
une Place dans mon cœur*

***SABRINA***

# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes chers parents, source de vie, d'amour et d'affection*

*A mes chers sœurs Samira, Fadhila , Linda et leurs enfants*

*A mes frères Amar, Sofiane, Azzedine et Massi*

*A tous mes amies tout particulièrement Leïla*

*A mon binôme de ce trail Sabrina*

*Merci d'être là pour moi*

*Hanane*

## Liste des abréviations

% : pourcentage

$\lambda$  : longueur d'onde

AlCl<sub>3</sub> : Trichlorure d'aluminium

Abs : absorbance

AG : acide gallique

DPPH : 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> : Carbonate de sodium

UV : Ultraviolet

MeOH : Méthanol

OMS : Organisation mondiale de santé

EtOH : Ethanol

## Unité

C° : degré Celsius

g : Gramme

h : heure

L : litre

Mg : milligramme

Min : minutes

ml : millilitre

Nm : nanomètre

µg : microgramme

## Liste des tableaux

Numéro du tableau	Titres	page
Tableau I.1	Noms communs de <i>lepiduim sativum</i>	4
Tableau I.2	Les principales structures chimiques des flavonoïdes	10
Tableau II.1	préparation des étalons de la Vit C	26
Tableau II.2	Préparation des étalons de vit E	27
Tableau II.3	préparation de la première formulation	31
Tableau II.4	préparation de la deuxième formulation	31
Tableau II.5	protocole de dosage des solutions buvables	34
Tableau III.1	Rendement massique et aspect de l'extrait des graines de cresson	35
Tableau III.2	Analyse qualitative visuelle	36
Tableau III.3	Composition et activité phytochimique de l'extrait des graines de cresson.	42

## Listes des figures

Numéro du figure	Titre	page
I.1	image représentant la plante de <i>lepidium sativum</i>	4
I.2	les graines de la plante lepidium sativum	5
I.3	répartition géographique de <i>lepidium sativum</i>	5
I.4	<b>structure chimique d'acide nicotinique</b>	7
I.5	structures chimiques de quelques terpènes.	8
I.6	Organigramme des différentes familles de polyphénols.	9
I.7	squelette moléculaire de base des flavonoïdes avec la numérotation classique.	10
I.8	structure chimique de lignanes.	11
I.9	structure chimique de stilbènes.	11
I.10	structure chimique de la vitamine E.	12
I.11	la structure chimique de la vitamine C.	13
I.12	schéma descriptif de l'appareil de soxhlet.	15
II.1	graines de <i>Lepidium sativum</i> .	18
II.2	Photos qui montrent : a) l'étape de broyage des graines de cresson dans un mortier en verre, b) la poudre obtenue après broyage.	19
II.3	Photo montrant le montage de l'extracteur de soxhlet.	20
II.4	dispositif de distillation.	21

<b>II.5</b>	filtration de l'extrait	22
<b>II.7</b>	appareil UV-visible	23
<b>II.8</b>	schéma réactionnel de réduction du DPPH° avec une substance anti-oxydante.	28
<b>II.9</b>	schéma des étapes de formulation de la solution buvable antianémique à base de l'extrait des graines de cresson	32
<b>II.10</b>	Photos qui montrent les deux formulations de solutions buvables(1 et 2).	32
<b>II.11</b>	Photos représentant les deux formulations des solutions buvables antianémique à base d'extrait de graines de cresson.	33
<b>III.1</b>	courbe d'étalonnage d'acide gallique	36
<b>III.2</b>	courbe d'étalonnage de la quercétine.	37
<b>III.3</b>	courbe d'étalonnage de L'acide ascorbique (Vit C).	38
<b>III.4</b>	courbe d'étalonnage des Tocophérols (vitamine E).	39
<b>III.5</b>	Pourcentage d'inhibition de DPPH° en fonction de la quantité d'extrait.	40
<b>III.6</b>	Histogramme représentant la variation de la teneur en polyphénols pendant la durée de l'étude de stabilité des formulations S1 et S2 de la solution buvable antianémique.	43

<b>III.7</b>	Histogramme représentant la variation de la teneur en flavonoïdes pendant la durée de l'étude de stabilité des formulations S1 et S2 de la solution buvable antianémique.	44
<b>III.8</b>	Histogramme représentant la variation de l'activité antioxydante pendant la durée de l'étude de stabilité des formulations S1 et S2 de la solution buvable antianémique.	45
<b>III.9</b>	Histogramme représentant la variation de la teneur en vitamine E pendant la durée de l'étude de stabilité des formulations S1 et S2 de la solution buvable antianémique.	46
<b>III.10</b>	Histogramme représentant la variation de la teneur en Vit C pendant la durée de l'étude de stabilité des formulations S1 et S2 de la solution buvable antianémique.	47

## SOMMAIRE

Remerciement	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	1
<b>CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES PLANTES MEDICINALES ET LES MEDICAMENTS FORME LIQUIDE</b>	<b>3</b>
<b>I INTRODUCTION</b>	<b>3</b>
<b>I.1 Généralités sur la plante <i>lepidium sativum</i></b>	<b>3</b>
I.1.1 Description de la plante	3
I.1.2 Description des graines de cresson :	4
I.1.3 Origine et répartition géographique du <i>L. sativum</i>	5
I.1.4 Classification taxonomique du <i>lepidium sativum</i> (raval,2016).[18]	6
I.1.5 Composants chimiques de <i>lepidium sativum</i>	6
<b>I.2 Les métabolites</b>	<b>7</b>
I.2.1 Les différentes classes des métabolites secondaires	7
I.2.2 Les alcaloïdes	7
I.2.3 Les terpenoïdes	8
I.2.4 Les composés phénoliques	8
I.2.5 Acides phénoliques :	9
I.2.6 Les flavonoïdes	9
I.2.7 Les lignanes	11
I.2.8 Les stilbènes	11
<b>I.3 Les antioxydants naturels</b>	<b>12</b>
I.3.1 Vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol)	12
I.3.2 Vitamine C	13
<b>I.4 Utilisation thérapeutique de <i>Lepidium sativum</i></b>	<b>13</b>
<b>I.5 Maladies traitées par <i>lepidium sativum</i></b>	<b>14</b>
I.5.1 Traitement de l'anémie	14
I.5.1.1 L'anémie	14
I.5.1.2 Les symptômes de l'anémie	14
I.5.2 Prévenir le cancer	14
I.5.3 Traitement du Diabète	15
<b>I.6 L'extraction botanique</b>	<b>15</b>
I.6.1 Extraction par le soxhlet	15
I.6.2 Extraction par macération	17

I.6.3	Extraction assistée par micro-onde	17
<b>I.7</b>	<b>Les médicaments</b>	<b>17</b>
I.7.1	Les formes liquides	17
I.7.1.1	Le sirop	17
I.7.1.2	Les suspensions buvables	18
I.7.1.3	Emulsions	18
I.7.1.4	Les solutions buvables	18
<b>I.8</b>	<b>Etude de stabilité des médicaments</b>	<b>18</b>

## **Chapitre II Matériels et méthodes**

<b>II</b>	<b>INTRODUCTION</b>	<b>19</b>
<b>II.1</b>	<b>Présentation du matériel végétal:</b>	<b>19</b>
<b>II.2</b>	<b>Préparation de l'échantillon</b>	<b>19</b>
<b>II.3</b>	<b>Extraction des composés phénoliques</b>	<b>20</b>
II.3.1	Extraction par le soxhlet	20
II.3.1.1	Principe	20
<b>II.4</b>	<b>Protocole d'extraction</b>	<b>21</b>
II.4.1	Distillation	21
II.4.2	Filtration	22
<b>II.5</b>	<b>Détermination du rendement massique</b>	<b>24</b>
<b>II.6</b>	<b>Analyse par spectroscopie UV-visible</b>	<b>24</b>
II.6.1	Dosage des polyphénols totaux	25
II.6.2	Dosage des flavonoïdes totaux	25
II.6.3	Dosage de l'acide ascorbique (Vitamine C)	26
II.6.4	Dosage de la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol)	27
II.6.5	Activité antioxydante par DPPH	28
<b>II.7</b>	<b>Formulation de solution buvable à base de vitamine E</b>	<b>30</b>
II.7.1	Préparation des matières premières	30
II.7.1.1	Préparation des excipients	30
II.7.2	Formulation de la solution buvable	31
<b>II.8</b>	<b>Etude de la stabilité de deux formulations (solution buvable)</b>	<b>34</b>
II.8.1	Mode opératoire	34

## **Chapitre III Résultats et discussion**

<b>III</b>	<b>INTRODUCTION</b>	<b>36</b>
<b>III.1</b>	<b>Rendement massique et aspect de l'extrait</b>	<b>36</b>

<b>III.2</b>	<b>Caractérisation qualitative des polyphénols et flavonoïdes dans les graines de lepidium sativum</b>	<b>36</b>
<b>III.3</b>	<b>Analyse quantitative par la spectrophotométrie UV visible</b>	<b>37</b>
III.3.1	Teneur en polyphénols totaux	37
III.3.2	Teneur en flavonoïdes	38
III.3.3	Teneur en acide ascorbique (vitamine C)	39
III.3.4	Teneur en tocophérol ( vitamine E)	40
III.3.5	Activité antioxydante	41
<b>III.4</b>	<b>L'étude de stabilité de la solution buvable antianémique</b>	<b>43</b>
III.4.1	Pour les polyphénols	43
III.4.2	Pour les flavonoïdes	44
III.4.3	Pour l'activité antioxydante	45
III.4.4	Pour la vitamine E	45
III.4.5	Pour la vitamine C	46
Conclusion		48

### Introduction

La phytothérapie est l'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques, exploitée en médecine traditionnelle depuis des siècles. Son efficacité et sa sécurité sont encore controversées [1]. Elle représente une alternative intéressante au traitement et à la guérison, sans créer de nouvelles maladies. Malgré le développement très important de l'industrie pharmaceutique et chimique, l'intérêt pour les plantes médicinales n'a cessé de progresser dans le monde [2].

Les plantes constituent le dépositaire de la pharmacopée mondiale. Plusieurs médicaments importants sont fabriqués à partir de substances actives d'origine végétale. De nombreux médicaments modernes sont également fabriqués à partir de ces matières premières. Les plantes médicinales sont utilisées directement sous forme fraîche, séchée ou transformée, stabilisée, extraite ou formulée avec d'autres excipients botaniques ou synthétiques [3].

Le règne végétal est une énorme source de molécules chimiques complexes qui sont utilisées par l'être humain dans diverses industries telles que l'industrie cosmétique, l'industrie alimentaire et l'industrie pharmaceutique[4].

les plantes sont extrêmement riches, elles contiennent des structures chimiques complexes. Leur métabolisme contient des milliers de composés différents et leur effet thérapeutique sont apparemment indépendant de tous les composés, ni de leur effets nocifs ou toxiques.

La plante, sur laquelle est porté notre choix fait partie d'une espèce *Lepidium sativum*, elle est utilisée traditionnellement dans les régions paysannes dans le traitement de différentes maladies et dans de nombreuses régions du monde, comme anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Ses jeunes feuilles sont consommées crues ou cuites, tandis que ses graines sont utilisées fraîches ou séchées [5].

Le but de notre étude est consacré à l'extraction et à l'étude des propriétés anti-oxydantes des graines de la plante *lepiduim sativum* (Hab. arched) et formulation d'une solution buvable.

Ce travail est constitué de deux parties, une partie théorique et une partie expérimentale.

La partie expérimentale a été réalisée au laboratoire de génie pharmaceutique à l'université de Bejaia.

### **La partie théorique**

Elle consiste à réaliser une revue bibliographique organisée comme suit:

- Description de la plante et des graines de cresson, de leurs compositions et propriétés pharmacologiques.
- Les propriétés phytochimique et anti-oxydante.
- Les formes liquides.
- L'étude de stabilité.

### **La partie expérimentale**

- Décrit le matériel, les méthodes et le protocole expérimental utilisé pour l'extraction et les analyses qualitative et quantitative.
- Formulation d'une solution buvable à base de l'extrait des grains de lepidium sativum.
- Exposition et discussions des résultats obtenus.
- Nous terminerons notre travail par une conclusion générale.

### Chapitre I : Généralités sur les plantes médicinales et les médicaments forme liquide

#### I Introduction

De nombreuses formules à base de plantes sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour le traitement de certaines maladies [6]. l'Organisation mondiale de la santé (OMS), a signalé que les plantes médicinales seraient la meilleure source pour obtenir une variété de médicaments efficaces et moins nocifs [7]. Parmi ces plantes médicinales, on trouve la plante *lepidium sativum* qui est connue de longue date pour ses effets thérapeutiques et bienfaits. Elle est considérée comme une plante médicinale importante depuis des années dans de nombreuses régions du monde [8].

#### I.1 Généralités sur la plante *lepidium sativum*

La famille des Brassicaceae, anciennement nommées « Crucifères », est une importante famille de plantes dicotylédones. Elle comprend 3709 espèces, appartenant à 338 genres [9]. *Lepidium sativum* (L. sativum) est l'un des genres les plus représentés dans cette famille, communément appelée cresson égyptien, mais elle est maintenant cultivée dans le monde entier [10].

#### I.1.1 Description de la plante

C'est une herbe annuelle à croissance rapide, érigée, glabre et annuelle. Elle atteint une hauteur de 15 à 45 cm, lorsqu'elle fleurit [11]. Les inflorescences sont apicales : quelques groupes de petites fleurs blanches à 4 pétales (figure I.1). Les graines sont produites par 2 dans de petites siliques dressées, largement ailées longue de 2 à 3 cm. Les graines sont allongées, brun rouge [12].



**Figure I.1:** image représentant la plante de *lepidium sativum* [13, 14].

Dans le tableau I.1, nous avons cité la dénomination de cette plante selon les régions du monde.

**Tableau I.1: Noms communs de *lepiduim sativum* (Friedel,1904)**

Longue	Noms
Kabyle	Elharf
Arabe	حب الرشاد
Français	Cresson alénois
Français	Passeragecultivée
Italie	Crescioneinglese
Anglais	Garden pepperwort
Anglais	Garden cress
Anglais	Uplandcress
Allemand	Gartenkresse
Latin	Lepiduimsativum
Nom scientifique	Lepiduimsativumlin

### I.1.2 Description des graines de cresson :

Les graines de cresson sont petites, de forme ovale, pointues et triangulaires à une extrémité, lisses, d'environ 3-4 mm de long, 1-2 mm de large, de couleur brun rougeâtre (figure I.2).

Un sillon présent sur les deux surfaces s'étendant jusqu'aux deux tiers vers le bas, une légère extension en forme d'aile présente sur les deux bords de la graine. En trempant dans l'eau, le tégument se gonfle et se recouvre d'un mucilage transparent, incolore et mucilagineux [15].



Figure I.2 : les graines de la plante *lepidium sativum*

### I.1.3 Origine et répartition géographique du *L. sativum*

L'origine exacte de *L. sativum* est inconnue, mais on pense qu'elle provient de principalement des hautes terres d'Éthiopie et de l'Érythrée, tandis que l'Asie du sud-ouest et de l'Europe occidentale sont considérées comme des centres secondaires d'origine. La culture de *Lepidium sativum* est connue depuis l'antiquité en Grèce, en Italie et en Égypte. Il a été consommé en Perse avant même que le pain ait été bien connu. Actuellement, *L. sativum* ou le cresson est cultivé dans le monde entier, y compris la plupart des pays africains, l'Amérique du Nord et certaines parties de l'Europe (figure I.3). En Inde, il pousse dans différentes zones agro-climatiques [16].



Figure I.3 : répartition géographique de *lepidium sativum* [17]

### I.1.4 Classification taxonomique du *lepidium sativum* (raval,2016).[18]

**Règne :** plantae-plante

**Sous règne :** Tracheobionta-plante vasculaires

**Super division :** Spermatophyta-plantes a graines

**Division :** Magnoliophyta-plante a fleurs

**Classe :** Magnoliopsida-Dicotylédones

**Sous classe :** Dilleniidae

**Ordre :** Capparales

**Famille :** Brassicaceae-famille de la moutarde

**Genre :** *Lepidium* – herbes poivrée

**Espèce :** *Lepidium sativum* lin

### I.1.5 Composants chimiques de *lepidium sativum*

#### **La feuille :**

contient des protéines, des lipides, des glucides, des minéraux - calcium et phosphore, des oligo-éléments tels que le fer, le nickel, le cobalt et l'iode, contient également diverses vitamines telles que la vitamine A, la thiamine, la riboflavine, la niacine et l'acide ascorbique. [19]

#### **Les graines :**

Des études sur les graines de *L. sativum* indiquent qu'elles contiennent des glucides, des protéines, des AG essentiels, du phosphore, du magnésium, du fer et du calcium nécessaires à la croissance et au développement. Des composés phénoliques, des alcaloïdes, des glycosides cardiotoniques, des flavonoïdes, des glucosinolates, des triterpènes, des tanins, des phytostérols, des caroténoïdes et des tocophérols sont également présents dans les graines[20]

D'après[21] *Lepidium sativum* est très riche en vit C, E, A, B1, B2, des sels minéraux, des glucosides.

### I.2 Les métabolites

Les métabolites secondaires végétaux sont des molécules essentielles à la vie des plantes et leur interaction avec l'environnement, ils sont également des sources importantes pour les produits pharmaceutiques[22], On peut classer les métabolites secondaires en trois grands groupes : les composés phénoliques, les terpènes et les alcaloïdes. Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine [23]

#### I.2.1 Les différentes classes des métabolites secondaires

#### I.2.2 Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances naturelles et organiques provenant essentiellement des plantes et qui contiennent au moins un atome d'azote dans leur structure chimique, avec un degré variable de caractère basique. Depuis l'identification du premier alcaloïde en 1806, plus de dix mille alcaloïdes ont isolés des plantes [24]. Leurs propriétés biologiques, aussi variées que leurs structures (figure I.4), continuent à être bénéfiques dans les traitements de différentes maladies ou des dysfonctionnements de l'organisme humain[25]

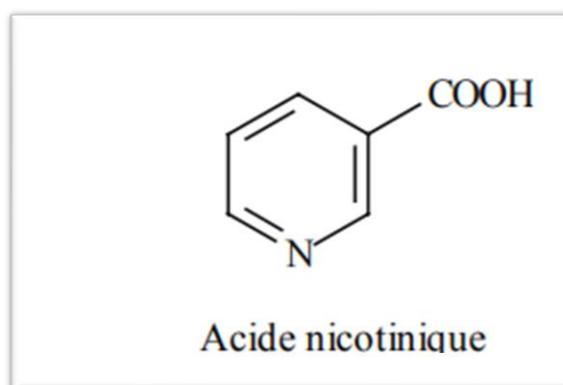


Figure I.4: structure chimique d'acide nicotinique

### I.2.3 Les terpenoïdes

Le terme de terpenoïdes est attribué à tous les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène, ces composés sont majoritairement d'origine végétale [26]. Les terpenoïdes jouent un rôle clé dans la croissance et le développement des plantes, leurs réponses à l'environnement et leurs processus physiologiques. En tant que matières premières, les terpenoïdes sont également largement utilisés dans la médecine, l'alimentation, les cosmétiques et d'autres industries. Les terpenoïdes ont des effets anti tumoraux, anti-inflammatoires, antibactériens, antiviraux, antipaludéens, favorisent l'absorption transdermique, préviennent et traitent les maladies cardiovasculaires et ont des effets hypoglycémiant. Les terpenoïdes sont une classe de produits naturels dérivés de l'acide mévalonique (MVA) composé de plusieurs éléments constitutifs de l'isoprène[27]

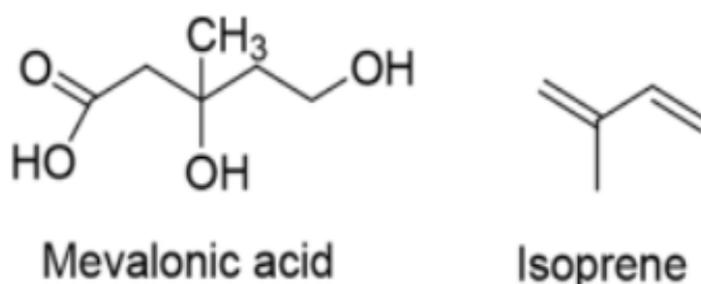
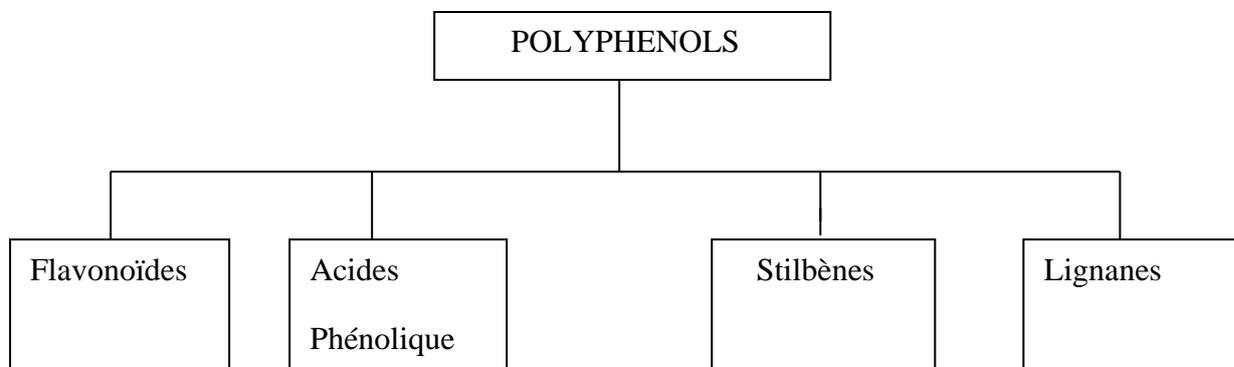


Figure I.5:structures chimiques de quelques terpènes.

### I.2.4 Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols représentent un groupe de métabolites secondaires complexes, exclusivement synthétisés dans le règne végétal [28] La structure chimique des polyphénols est caractérisée par un ou plusieurs noyaux aromatiques hydroxylés. Les polyphénols sont classés en différents groupes (figure I.6) en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les composent et des substitutions qui les relient. On distingue les phénols simples (parmi eux les acides phénoliques), les flavonoïdes, les lignanes les stilbènes [29] Ces composés sont également à l'origine d'activités humaines traditionnelles, comme la recherche de molécules à activité pharmacologique. De plus, ce sont des paramètres importants pour la qualité des produits végétaux destinés à la consommation humaine directement ou après transformation, et ils jouent un rôle important dans le processus technologique [30]les composés phénoliques montrent des activités anti-carcinogènes, anti-

inflammatoires, antiathérogènes, antithrombotiques, analgésiques, antibactériens, antiviraux, anticancéreux, anti-allergènes et vasodilatateurs [31]



**Figure I.6:** Organigramme des différentes familles de polyphénols.

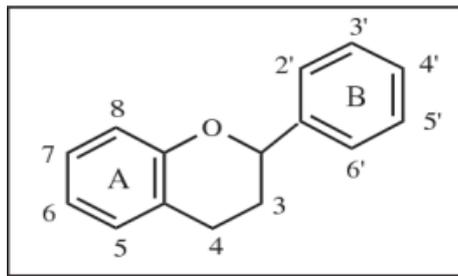
### I.2.5 Acides phénoliques :

Sont des composés phénoliques qui ont au moins un groupe carboxyle et un groupe hydroxyle Phénol, dérivé de l'acide benzoïque (C6-C1) ou de l'acide cinnamique (C6-C3). Celui-ci aussi un ingrédient presque constant dans les plantes. Ils agissent comme des laxatifs doux. Les acides phénoliques, tels que l'acide rosmarinique, sont de puissants antioxydants et agents anti-inflammatoires qui peuvent avoir des propriétés antivirales[32]

### I.2.6 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, distribués de manière omniprésente dans le règne végétal et de nombreuses études ont montré que les flavonoïdes ont des activités, notamment des activités antiallergique, antivirales, anti-inflammatoires, hépatoprotectrices, antioxydants, antithrombotiques, vasodilatatrices, antivirales et anticancéreuses[33]

l'ensemble des flavonoïdes (figure I.7), de structure générale en C15 (C6-C3-C6), comprend à lui seul plusieurs milliers de molécules regroupées en plus de dix classes, dont certaines ont une très grande importance biologique et technologique : les anthocyanes, pigments rouges ou bleus, les flavones, et les flavonols, de couleur crème ou jaune clair, les flavanes dont les produits de condensation sont à l'origine d'un groupe important de tannins et les isoflavons qui jouent un rôle dans la santé humaine[34]



**Figure I.7:** squelette moléculaire de base des flavonoïdes avec la numérotation classique.

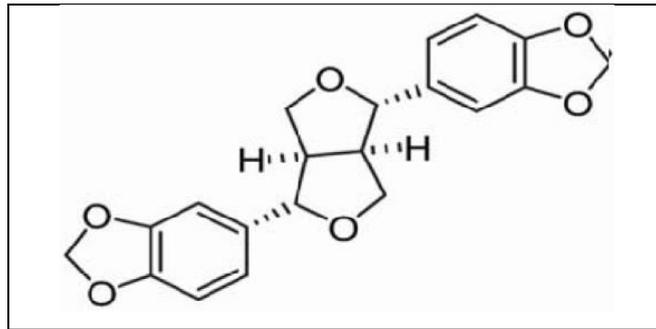
Dans le tableau I.2, nous avons présenté les trois principales sous-familles des flavonoïdes.

**Tableau I.2:** Les principales structures chimiques des flavonoïdes [35].

Flavonoïde	Structure
Flavones	
Flavonol	
Isoflavons	

### I.2.7 Les lignanes

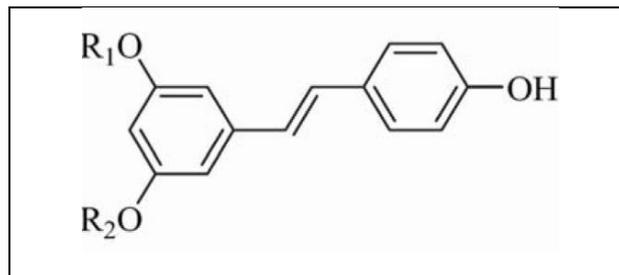
Les lignanes (figure I.8) sont des polyphénols qui s'accumulent dans les tissus ligneux, les graines et les racines de nombreuses plantes. Ces molécules, vraisemblablement impliquées dans les mécanismes de défense chez la plante, mais sont également intéressantes pour la santé humaine[36]



**Figure I.8:** structure chimique de lignanes.

### I.2.8 Les stilbènes

Les stilbènes (figure I.9) sont une petite famille de métabolites secondaires végétaux dérivés de la voie des phénylpropanoïdes et produits dans un certain nombre d'espèces végétales non apparentées. Ces composés ont de nombreux effets sur la résistance aux maladies des plantes et la santé humaine [37]



**Figure I.9 :** structure chimique de stilbènes.

*Lepidium sativum* est une source de métabolites secondaires. Il contient des composés actifs et des métabolites secondaires, dont des polyphénols, des anthocyanes et des flavonoïdes, qui présentent un intérêt pharmaceutique et économique en particulier[38]

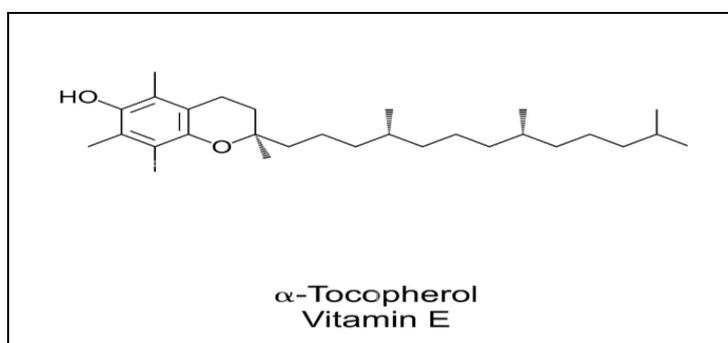
### I.3 Les antioxydants naturels

Dans la nature, chaque organisme est capable de mettre en place un ou plusieurs systèmes naturels de défense et de protection pour lutter contre les effets nocifs des radicaux libres, molécules contenant un électron non partagé. Ceux-ci incluent les antioxydants tels que définis et mis en évidence par (Halliwell en 1990) [39]. Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance capable d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables à des concentrations relativement faibles et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats [40].

Les graines de cresson contiennent des antioxydants qui aident à empêcher les radicaux libres d'endommager les cellules du corps. Parmi les antioxydants puissants trouvés dans les graines de cresson on cite la vitamine A et la vitamine E [41] et d'après la composition de ces grains on trouve qu'il contient autre antioxydants tel que flavonoïdes, les acide phénolique et les tanins.

#### I.3.1 Vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol)

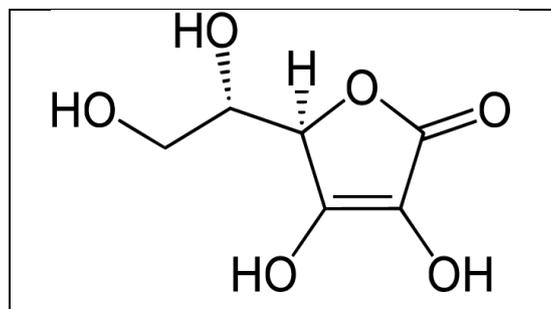
La vitamine E (figure I.10) est le nom commun utilisé pour toutes les molécules possédant des activités biologiques identiques à celles de la famille des tocophérols. L' $\alpha$ -tocophérol est la forme la plus active de la classe des tocophérols. Chez l'homme, elle développe des activités antioxydantes distinctives, et elle est la seule forme reconnue pour satisfaire les besoins humains. De plus, cette forme est l'antioxydant liposoluble le plus important et protège les membranes de l'oxydation, en réagissant avec les radicaux lipidiques créés lors de la réaction en chaîne de la peroxydation lipidique [42].



**Figure I.10:** structure chimique de la vitamine E.

### I.3.2 Vitamine C

La vitamine C (l'acide ascorbique) est un composé organique hydrosoluble (figure I.11), très répandue dans le monde vivant. Il représente un réducteur très puissant et possède de ce fait un pouvoir antioxydant, qui est au centre de son activité biochimique [43].



**Figure I.11:** la structure chimique de la vitamine C.

### I.4 Utilisation thérapeutique de *Lepidium sativum*

Chaque partie de *Lepidium sativum* (graines et feuilles) est utilisée pour divers traitements des maladies: Les graines sont appliquées dans une large gamme de fonctions biologiques et de maladies telles que la lèpre, les maladies de la peau et comme diurétique. Les racines sont utilisées dans le traitement de la syphilis secondaire et du ténésme. Les feuilles constituent un remède antibactérien et un traitement du scorbut et de l'hépatopathie[44]

Une étude récente dans différentes parties de l'Arabie saoudite a montré que les graines de *L. sativum* sont couramment utilisées comme antipyrétique, antirhumatismal, diurétique et pour soulager les douleurs menstruelles et abdominales. Ils sont également utilisés dans le traitement des fractures et la guérison rapide[45]

En Asie du Sud, les graines de *L. sativum* sont utilisées comme remède traditionnel contre la bronchite, l'asthme et la toux. Elles sont considérées comme des abortifs, des diurétiques, des expectorants, des antibactériens, des stimulants gastro-intestinaux, des gastro protecteurs, des laxatifs et des médicaments pour l'estomac. Ils sont également utilisés pour soulager la douleur et l'enflure des articulations rhumatismales, ainsi que le hoquet, la dysenterie, la diarrhée et les maladies de la peau causées par les impuretés du sang [46]

### I.5 Maladies traitées par *lepidium sativum*

#### I.5.1 Traitement de l'anémie

L'anémie est l'un des principaux problèmes de santé publique qui touchent particulièrement les adolescentes. Les graines de *Lepidium Sativum* sont utilisées pour traiter les patients souffrant d'anémie par insuffisance de fer. La consommation de ces graines permet d'améliorer le taux d'hémoglobine au fil du temps [47]

##### I.5.1.1 L'anémie

L'anémie est une baisse anormale du taux d'hémoglobine dans le sang. Sa valeur seuil en dessous de laquelle on parle d'anémie est variable selon l'âge et le sexe. Les causes d'anémie sont multiples mais la carence en fer est la plus fréquente.

la carence en fer sont souvent associées à d'autres déficiences nutritionnelles, vitaminiques et minérales[48] ainsi la carence en vitamine E peut être l'origine de l'anémie hémolytique chez l'enfant en bas âge [49]

d'autre part la carence en vitamine E provoque la fragilité de globules rouges et une dégénérescence des neurones, en particulier des axones périphériques et des neurones de la colonne postérieure.[50]

##### I.5.1.2 Les symptômes de l'anémie

Les premiers signes d'une anémie sont une sensation de fatigue chronique, une pâleur (en particulier au niveau des paupières inférieures), des vertiges, un essoufflement à l'effort, des troubles de la concentration et de la mémoire, une accélération du rythme cardiaque et des maux de tête.

Dès l'apparition de ces symptômes, parlez-en à l'équipe médicale. Il ne faut pas laisser s'installer l'anémie, d'autant plus que son diagnostic est aisé : votre médecin vous prescrira une analyse de sang afin de vérifier votre taux d'hémoglobine dans le sang. [51]

#### I.5.2 Prévenir le cancer

*Lepidium sativum* a un effet anticancéreux due à la présence des isothiocyanates qui aident à limiter le développement de cette maladie. Ils sont particulièrement efficaces pour

prévenir le cancer du poumon chez les fumeurs en inhibant les effets des cancérigènes présents dans la fumée de cigarette [52]

### **I.5.3 Traitement du Diabète**

*Lepidium sativum* peut être utilisée comme un traitement efficace du diabète, car il réduit considérablement la glycémie dans le corps mais avec une consommation régulières sans exagération car une trop grande quantité peut aussi causer des problèmes[53]

## **I.6 L'extraction botanique**

L'extraction botanique est un procédé visant à extraire certains composants présents dans les plantes. Il s'agit d'une opération de séparation solide/liquide : un solide (végétal) est en contact avec un fluide (solvant). Le composé végétal d'intérêt est ensuite dissous et contenu dans le solvant. La solution ainsi obtenue est l'extrait désiré[54]il existe plusieurs méthodes d'extraction des composés végétaux tel que (extraction par le soxhlet, extraction assistée par microonde, la macération ...etc)

### **I.6.1 Extraction par le soxhlet**

L'extraction de Soxhlet est une méthode d'extraction très simple qui nécessite peu de formation, qui peut extraire un plus grand volume d'échantillons que la plupart des dernières alternatives comme l'extraction assistée par micro-ondes,

Le principe de l'extraction au Soxhlet nécessite que l'échantillon soit placé dans un niveau de débordement, un siphon aspire le soluté du porte-cartouche et le décharge dans le ballon de distillation (figure I.12). Cette opération est répétée jusqu'à ce que l'extraction soit terminée [55]

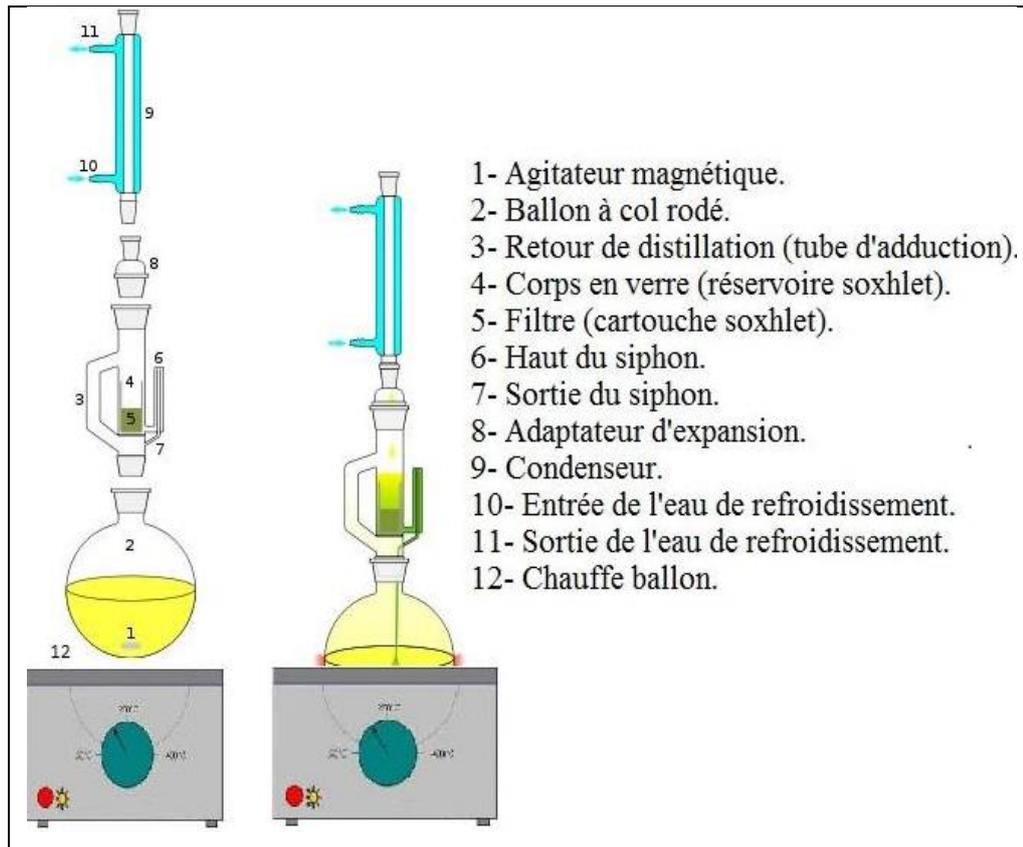


Figure I.12 : schéma descriptif de l'appareil de soxhlet.

### ✚ Les avantages

- cette méthode est que l'échantillon est en contact de manière répétée avec du solvant frais (déchargé des solutés déjà extraits).
- L'extraction est effectuée avec du solvant chaud favorisant la dissolution des composés recherchés[56]
- L'extraction de Soxhlet est une technique généralement bien établie

### • Les inconvénients

- Les inconvénients les plus importants de l'extraction Soxhlet, par rapport aux autres techniques conventionnelles de préparation d'échantillons solides, sont le long temps requis pour l'extraction et la grande quantité gaspillée, qui est non seulement coûteuse à éliminer mais qui peut lui-même causer des pertes supplémentaires.
- Les échantillons sont généralement extraits au point d'ébullition du solvant pendant une longue période de temps et la possibilité d'une décomposition thermique des composés cibles.

- Le dispositif Soxhlet classique est incapable de fournir une agitation, ce qui accélérerait le processus. En raison de la grande quantité de solvant utilisé.

### **I.6.2 Extraction par macération**

La macération est une méthode d'extraction liquide-solide à température ambiante pendant une durée de 30 min à 48 h.. Dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voire plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser[57]La macération peut se faire dans une solution alcoolique (macération alcoolique), de l'eau, une saumure...

### **I.6.3 Extraction assistée par micro-onde**

L'extraction assistée par microondes est un processus par lequel l'énergie microonde accélère l'extraction. Ce traitement accélère la rupture des cellules en provoquant une augmentation rapide de la température et de la pression interne dans les parois des cellules végétales [58]

## **I.7 Les médicaments**

Un médicament est une substance ou composition possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard de maladies humaines ou animales [59]

Il existe plusieurs formes de médicament tel que les formes liquides.

### **I.7.1 Les formes liquides**

Ce sont les formes les plus adaptées aux enfants car elles sont plus faciles à avaler et la posologie peut être adaptée en fonction du poids. Ils peuvent être assaisonnés pour une meilleure acceptation [60]

#### **I.7.1.1 Le sirop**

Est une préparation liquide à forte teneur en sucre. Il existe également des sirops sans sucre, édulcorés avec des substituts de sucre comme l'aspartame, qui peuvent être pris par les personnes atteintes de diabète

### **I.7.1.2 Les suspensions buvables**

La suspension est une préparation pharmaceutique contiennent un principe actif solide dispersée en fines particules insolubles dans un liquide (phase dispersante)

### **I.7.1.3 Emulsions**

Préparation stable de deux liquides non miscibles (eau et huile), il y a deux types d'émulsions :

- Huile/eau (H/E)= les + courantes, dispersion de très fines gouttelettes d'huile dans l'eau
- Eau/huile (E/H).

### **I.7.1.4 Les solutions buvables**

Le PA est dissout dans un solvant à base d'eau ou un mélange hydro alcoolique. Les solutions buvables sont présentées, soit en ampoule (forme unitaire), soit en flacon de contenance plus ou moins importante (forme multidose). Dans ce cas-là, peut être joint un système de mesure : compte-gouttes, seringue-doseuse, cuillère mesure [61].

## **I.8 Etude de stabilité des médicaments**

Les études de stabilité font partie intégrante du dossier que les firmes pharmaceutiques doivent introduire pour obtenir l'autorisation de mise d'un médicament sur le marché. Ces études recouvrent deux domaines[62]

- ♦ La stabilité du principe actif.
- ♦ La stabilité du médicament dans lequel ce principe actif est incorporé.

## II Introduction

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Génie Pharmaceutique de l'université A-Mira de Bejaia.

Dans cette partie nous avons fait :

- Extraction de substances à actions pharmacologiques, des graines de *Lepidium sativum* avec la méthode de soxhlet.
- Détermination des teneurs des polyphénols, des flavonoïdes, de l'acide ascorbique (Vitamine C) et du tocophérol (Vitamine E) par spectroscopie UV-visible.
- Etude de l'activité antioxydante de l'extrait puis la formulation d'une solution buvable à base de l'extrait des grains de *lepidium sativum*.

### II.1 Présentation du matériel végétal:

Notre étude est basée sur les graines de l'espèce *lepidium sativum L.* Les graines fraîches ont été fournies par un herboriste au mois d'avril de l'année 2022 à Bejaia (Figure II.1).



**FigureII.1** :graines de *Lepidium sativum*.

### II.2 Préparation de l'échantillon

A l'aide d'un mortier (Figure II.2), nous avons broyé finement 20g de graines de *lepidium sativum*, qui est une étape essentielle avant de procéder l'extraction des principes actifs.



-a-



-b-



**Figure II.2:**Photos qui montrent : a) l'étape de broyage des graines de cresson dans un mortier en verre, b) la poudre obtenue après broyage.

## II.3 Extraction des composés phénoliques

### II.3.1 Extraction par le soxhlet

#### II.3.1.1 Principe

L'extraction de Soxhlet est une méthode de séparation solide-liquide, qui peut dissoudre des substances retenues par les particules solides, par des solvants de différentes polarités à chaud. Le corps de l'extracteur (Soxhlet), constitué d'un réservoir en verre munit d'une tubulure permettant le retour du solvant, dans lequel est placée une cartouche de cellulose remplie de matière solide, est disposé au-dessus d'un ballon en verre contenant un solvant approprié et placé dans un chauffe-ballon (Figure II.3). L'ensemble du dispositif est surmonté d'un condenseur (réfrigérant) permettant la circulation de l'eau de refroidissement. Le solvant est chauffé à la température d'ébullition, puis il s'évapore et se condense à l'intérieur de l'extracteur ainsi que dans la cartouche, en entraînant avec lui les substances les plus solubles contenues dans la poudre végétale[63].



**Figure II.3:**Photo montrant le montage de l'extracteur de soxhlet.

## II.4 Protocole d'extraction

Après le remplissage de la cartouche avec une quantité de 15g de la poudre des graines de *lepidium sativum*, on verse un volume de 800ml d'éthanol à 96% dans le ballon de 1 litre, on chauffe jusqu'à ébullition. Nous devons contrôler l'évaporation du solvant qui doit être en équilibre avec sa condensation dans le réfrigérant et son retour dans l'extracteur. Il faut veiller à ce qu'il ne manque pas de solvant dans le ballon et rajouter une quantité si nécessaire. L'extraction est répétée pendant deux jours et 2 cycles, pour augmenter le rendement en extrait dans l'éthanol. Pour avoir l'extrait final, nous avons réalisé deux procédés de séparation qui sont la distillation suivie par la filtration.

### II.4.1 Distillation

La distillation est un procédé de séparation de deux liquides de différentes températures d'ébullition. Nous avons réalisé cette opération (Figure II.4) pour concentrer les substances qui existent dans l'extrait de soxhlet, par évaporation de l'éthanol jusqu'à quelques ml de solution seulement qui subsiste à la fin de la distillation. Après refroidissement, on

mesure le volume et on pèse la masse de l'extrait concentré. Ce dernier est transvasé dans un flacon ambré de 60 ml sec et stérilisé, et conservé hermétiquement à l'abri de la chaleur et de la lumière.



**Figure II.4:** dispositif de distillation.

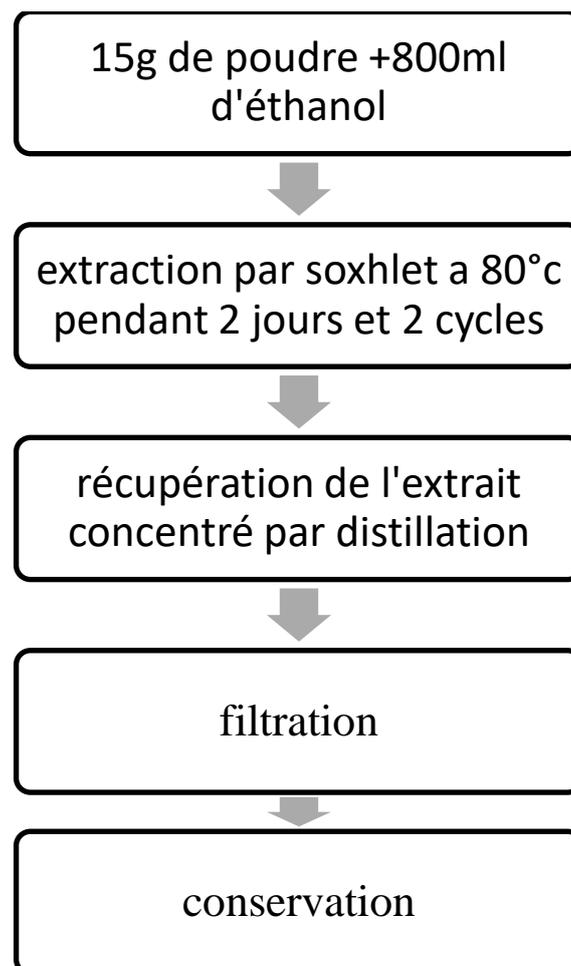
#### II.4.2 Filtration

La filtration est une opération de séparation solide-liquide qui consiste à éliminer des particules fines présentes dans l'extrait. Pour cela, nous utilisons un papier filtre Whatman de porosité 1, placé au-dessus d'un entonnoir et disposé dans un erlenmeyer de 250 ml propre et sec (figure II.5). A la fin de la filtration, nous avons récupéré 56ml de l'extrait de couleur jaune, que nous avons conservé à l'abri de la lumière dans un flacon ambré sec et hermétiquement fermé.



**Figure II.5:** filtration de l'extrait

Le schéma suivant résume toutes les étapes que nous avons expliquées précédemment (Figure II.6):



**Figure II.6:** Organigramme des étapes du protocole de l'extraction des graines de cresson.

## II.5 Détermination du rendement massique

Le rendement est calculé selon cette formule

$$R\% = (Mech/Mext) * 100$$

- ♦ R : rendement massique (%)
- ♦ Mext : la masse de l'extrait sec
- ♦ Mech : la masse de la poudre

Par la suite, nous devons procéder aux différentes analyses et dosages de l'extrait.

## II.6 Analyse par spectroscopie UV-visible

Le spectre UV-visible d'une molécule est un spectre de bande qui détermine l'absorbance  $A$  en fonction de la longueur d'onde  $\lambda$ . Cette bande présente généralement un maximum d'absorption correspondant à la longueur d'onde maximale  $\lambda_{max}$  (longueur d'onde de la radiation qui provoque la transition électronique spécifique à chaque groupement ou liaison chimique) et d'intensité proportionnelle au coefficient d'extinction molaire  $\epsilon_{max}$  propre à la molécule et qui dépend des conditions physico-chimiques du milieu. L'absorption est due à certains groupements de la molécule appelés chromophores, qui sont des groupements fonctionnels de la molécule [64].



Figure II 7 : appareil UV-visible

### II.6.1 Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux par la méthode utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu a été décrit en 1966 par [65]. Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et d'acide phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleu de tungstène et de molybdène [66].

La coloration produite, dont l'absorption maximum à 760nm est proportionnelle selon le principe de la loi de Beer-Lambert à la quantité de polyphénols présents dans l'extrait [67].

#### -Mode opératoire

- \* 0.4ml de l'extrait dilué 100 fois dans l'eau distillée est ajoutée à 1.6ml de solution de carbonate de sodium  $Na_2CO_3$ .
- \* Après agitation on rajoute 0.2 ml de Folin- Ciocalteu dilué 10 fois (coloration bleue).
- \* On laisse la préparation 2 heures à la température du laboratoire.
- \* A la longueur d'onde de 765nm, l'absorbance de l'échantillon est mesurée par rapport au blanc (eau distillée, carbonate de sodium et le folin).

### II.6.2 Dosage des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes des extraits des plantes sont quantifiés par la méthode du trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$ .

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des carbones 4 et 5 des flavonoïdes par ce réactif. Elle entraîne la formation d'un complexe jaune qui absorbe à une longueur d'onde de 430 nm [68].

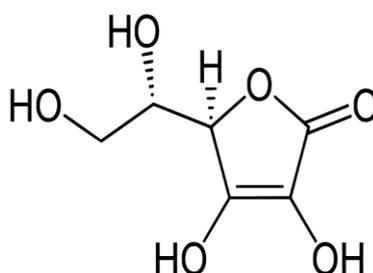
#### -Mode opératoire

- \* A 4ml de l'extrait dilué 100 fois dans le méthanol, on ajoute à 2ml de trichlorure d'aluminium  $AlCl_3$  0.02 g/ml
- \* On laisse agir pendant 15 minutes.
- \* On effectue par la suite la mesure de l'absorbance de la solution de l'extrait à la longueur d'onde de 430nm, par rapport au blanc (4ml de méthanol et 2 ml de  $AlCl_3$ ).

L'absorbance de l'extrait est comparée à celles des étalons de quercétine (flavonoïde de référence) préparés au préalable à différentes concentrations, et leurs absorbances mesurées sous les mêmes conditions à 430 nm. Celles-ci nous ont permis de tracer une courbe d'étalonnage dont l'équation nous a permis de déterminer la concentration en flavonoïdes dans l'extrait.

### II.6.3 Dosage de l'acide ascorbique (Vitamine C)

La vitamine C, acide L'ascorbique, est un composé organique hydrosoluble, très répandue dans le monde vivant. De formule chimique générale  $C_6H_8O_6$ , la vitamine C appartient aux groupes des sucres à 6 atomes de carbone et est un dérivé du D-Glucose[69].



Structure chimique de la vitamine C

#### - Mode opératoire

- \* Préparation de la solution mère (SM) standard à 100mg/l. On a pesé 5mg de l'acide ascorbique solide et fait dissoudre avec l'éthanol dans une fiole de 50ml.
- \* Préparation de quatre étalons de l'acide ascorbique 5mg/l, 10mg/l, 15mg/l, 20mg/l de volume 5 ml dans l'éthanol.

**Tableau II.1** : préparation des étalons de la Vit C

Étalons	1	2	3	4
C(mg/l)	5	10	15	20
V (SM) ml	0.25	0.5	0.75	1
V (éthanol) ml	4.75	4.5	4.25	4

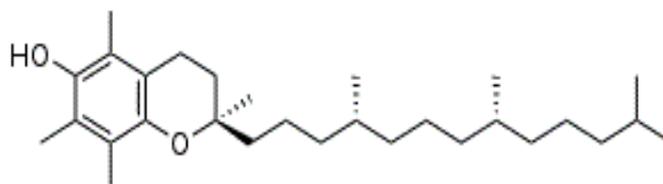
- \* On mesure l'absorbance de la quatrième préparation (20mg/l) par balayage de la longueur d'onde  $\lambda$  dans le domaine [190nm-500nm] pour déterminer la  $\lambda_{\max}$  de la Vit C.
- \* On fixe par la suite la longueur d'onde à 296 nm, correspondant à  $\lambda_{\max}$ , et on mesure les absorbances des étalons par rapport au blanc (éthanol).
- \* On trace la courbe d'étalonnage  $A = f(C)$  et on détermine son équation de type :  

$$A = K_1 C + K_0.$$
- \* On mesure ensuite l'absorbance de l'extrait dilué: on prélève 1ml d'extrait dilué, et on ajoute 4ml d'éthanol. La valeur trouvée est comparée à celles des étalons, et en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage, on déduit la concentration en Vit C dans l'extrait dilué.

#### II.6.4 Dosage de la vitamine E ( $\alpha$ -tocophérol)

La vitamine E couvre un groupe de huit composés liposolubles distincts. D'une manière générale, la vitamine E se trouve surtout dans les noix, les graines et les huiles végétales[70]. Elle est insoluble dans l'eau, mais soluble dans l'éthanol, l'acétone et les huiles végétales.

L'apport nutritionnel recommandée en vitamine E est fixé à 12 mg par jour, réglé par une alimentation équilibrée contenant des fruits et des légumes . La structure chimique du tocophérol (Vit E) est représentée ci-dessous.



Structure chimique de l' $\alpha$ -Tocophérol (Vit E)

#### -Mode opératoire

- \* Préparation de la solution standard de Vit E :  
 -Solution commerciale de Vit E pure de masse volumique  $\rho = 0,947-0,951 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$  et de masse molaire 430.706 g/mole.  
 On prélève 500 $\mu\text{l}$  de la vitamine E commerciale qu'on dilue avec 4.5ml d'ETOH.
- \* On prépare par la suite les étalons de Vit E selon le tableau II.2.

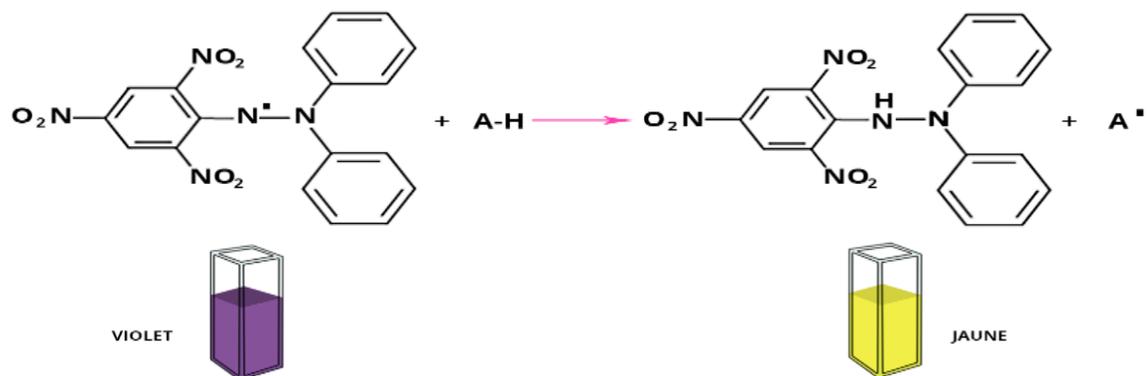
**Tableau II.2 : Préparation des étalons de vit E**

V sol/stand (ml)	0.1	0.3	0.5
V éthanol	4.7	4.7	4.5
C (mg/ml)	1.52	5.68	9.47

- On effectue ensuite le balayage en longueurs d'onde dans l'UV de 190 nm à 400 nm, pour tracer le spectre d'absorption de l'étalon le plus concentré de la Vit E, par rapport au blanc (éthanol). On trouve une bande d'absorption maximale de la Vit E correspondant à la longueur d'onde maximale de 294 nm.
- On trace par la suite la courbe d'étalonnage  $A = f(C)$  de la Vit E, et on détermine son l'équation de la forme  $A = K_1 C + K_0$ .
- \* Préparation de l'échantillon de l'extrait: 0.2ml d'extrait dilué 500 fois est mélangé avec 4.8ml d'éthanol. Puis, on mesure l'absorbance de l'extrait ainsi dilué à la longueur d'onde maximale de 294 nm de d'absorption de la Vit E par rapport au blanc (éthanol). La valeur trouvée est comparée à celles des étalons, puis la concentration de la Vit E dans l'extrait est calculée en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage.

### II.6.5 Activité antioxydante par DPPH

Le test DPPH° permet de mesurer le pouvoir antiradicalaire de molécules pures ou d'extraits végétaux dans un système modèle (solvant organique, température ambiante). Il mesure la capacité d'un antioxydant (AH, composés phénoliques généralement) à réduire le radical chimique DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl) par transfert d'un hydrogène. Le DPPH°, initialement violet, se transforme en DPPH-H (Figure II.8), jaune pâle. Le DPPH est un radical libre qui absorbe à 517nm, les absorbances mesurées servent à calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir antiradicalaire de l'échantillon [71].



**Figure II.8:** schéma réactionnel de réduction du DPPH° avec une substance anti-oxydante.

### -Mode opératoire

- \* **Solution 1 :** on mélange 50µl de l'extrait dilué 100 fois par le méthanol avec 2 ml de DPPH à  $6.10^{-5}$  mol/L et 1ml de MeOH.
- \* **Solution 2 :** on mélange 10µl de l'extrait dilué 100 fois par le méthanol avec 2ml de DPPH et 1ml de MeOH.
- \* Pour la préparation du témoin, on a mélangé 50µl de méthanol avec 2ml de DPPH.
- \* Après 30 minutes à température ambiante, les absorbances de deux solutions sont mesurées à une longueur d'onde de 517nm, par rapport au blanc (méthanol).
- \* Le pourcentage de l'activité anti-oxydante est exprimé par l'équation de l'inhibition de radical DPPH° :

$$Inhibition(\%) = \frac{(Abs\ témoin - Abs\ échantillon)}{(Abs\ témoin)} * 100$$

- ♦ Abs témoin : absorbance de témoin
- ♦ Abs échantillon : absorbance de l'échantillon

## II.7 Formulation de solution buvable à base de vitamine E

### II.7.1 Préparation des matières premières

#### II.7.1.1 Préparation des excipients

Les excipients nécessaires à préparer la solution buvable sont : le glycérol, eau purifiée, acide citrique, sorbate de potassium, chlorure de sodium et huile de cataire.

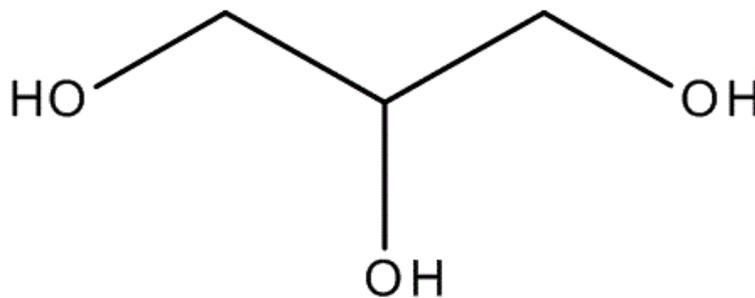
##### ➤ Préparation de l'eau purifiée (solvant)

La préparation de l'eau stérile est réalisée selon le protocole suivant :

On chauffe 500ml d'eau distillée à ébullition et on maintient le chauffage pendant 20 minutes sur une plaque chauffante. Après refroidissement, on stérilise avec 1 goutte de l'eau javel à 13°. A la fin, l'eau purifiée est filtrée sur papier filtre de porosité 1 puis conservée hermétiquement dans une fiole.

##### ➤ Glycérol (agent de texture)

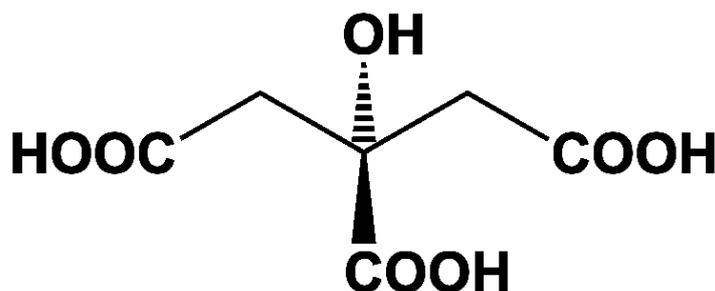
Le glycérol, molécule purifiée de la glycérine est couramment employé dans de nombreuses industries, avec des applications classiques dans les secteurs alimentaires, cosmétiques ou encore pharmaceutiques[72].



Structure chimique de glycérol[73].

##### ➤ Acide citrique(acidifiant)

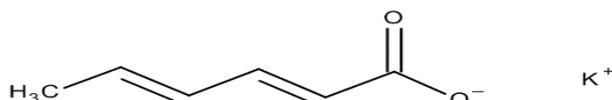
L'acide citrique (acide faible anhydre ou monohydraté) est largement utilisé dans l'industrie pharmaceutique et l'industrie agroalimentaire. Son utilisation principale est liée à sa capacité à ajuster le pH des solutions)[74].



Structure chimique de l'acide citrique[75].

➤ **Sorbate de potassium(conservateur)**

Le sorbate de potassium(hexa-2,4-dièneoate)  $C_6H_7O_2K$  est un agent conservateur, il libère 74 % d'acide sorbique dont les propriétés antifongiques inhibent le développement des levures. Son emploi est limité. L'acide sorbique n'est pas bactéricide, il est métabolisé par certaines bactéries et donne des goûts de "géranium" caractéristiques[76].



Structure du sorbate de potassium

➤ **Chlorure de sodium(solubilisant)**

Le sel, ou chlorure de sodium ( $NaCl$ ), est un minéral d'origine marine. Présent dans l'eau lorsque les océans recouvraient la Terre, il s'est déposé en couches de sédiments à chaque retrait de la mer[77]

➤ **Huile de cataire(conservateur)**

Nous avons utilisé l'huile de cataire pour conserver notre formulation, en raison de sa propriété remarquable de préservation des aliments et aussi pour masquer le goût.

## II.7.2 Formulation de la solution buvable

Nous avons préparé deux formulations (Figure II. 10 et 11) de différentes quantités selon la pharmacopée européenne :

✓ **La première formulation à 60mg de vitamine E et 60 ml de solution**

La préparation est faite selon les compositions de la pharmacopée présentées dans le tableau II.3.

**Tableau II.3: préparation de la première formulation**

Excipient	Eau	Glycérol	Acide citrique	Sorbate de potassium	Chlorure de sodium	Extrait
quantité	25ml	14g	0.25g	7.5mg	0.1g	22.38ml

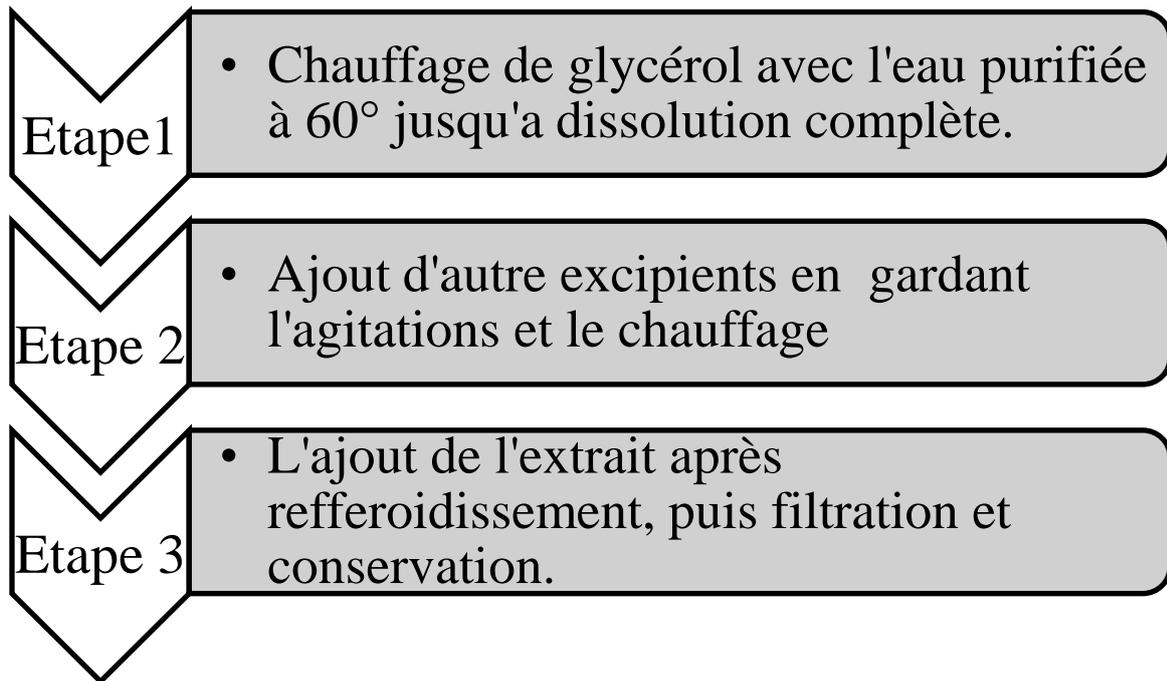
✓ **La deuxième formulation à 66mg de vitamine E et 65 ml de solution**

La préparation est faite selon les compositions de la pharmacopée avec un excès de 10% de la dose et présentées dans le tableau II.4.

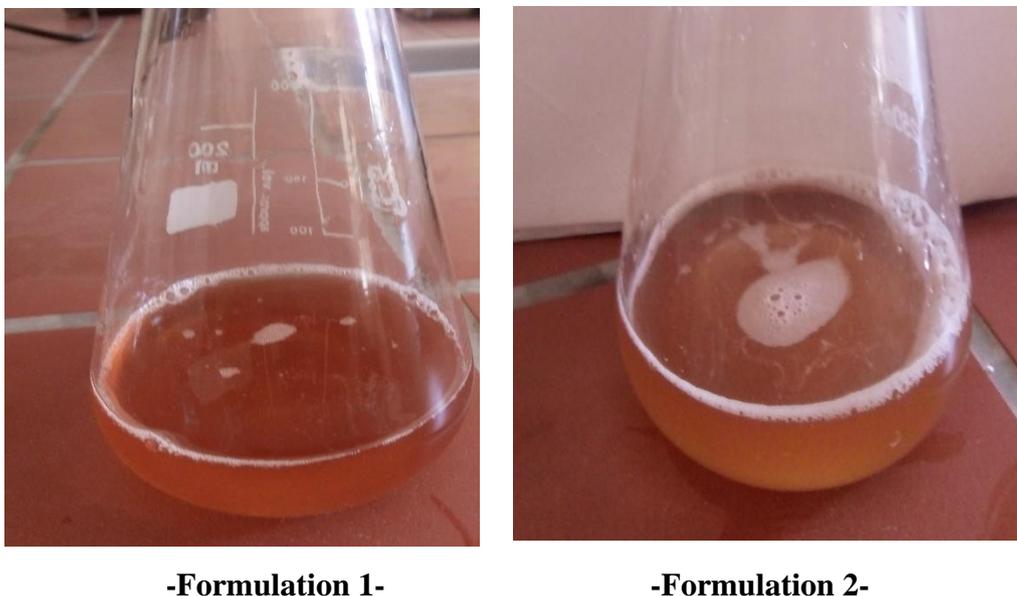
**Tableau II.4 : préparation de la deuxième formulation**

Excipient	Eau	Glycérol	Acide citrique	Sorbate de potassium	Chlorure de sodium	Extrait
quantité	27.5ml	15.4g	0.27g	8.25mg	0.11g	24.61ml

Les étapes de formulation sont résumées dans le schéma suivant :



**Figure II.9** : schéma des étapes de formulation de la solution buvable à base de l'extrait des graines de cresson



**Figure II.10**: Photos qui montrent les deux formulations de solutions buvables (1 et 2).

Les deux solutions ont été conservées dans deux flacons ambreés et stériles de 100 ml de capacité (Figure II.11), avant de procéder à l'étude de la stabilité.



**Figure II.11 :** Photos représentant les deux formulations des solutions buvables

## **II.8 Etude de la stabilité de deux formulations (solution buvable)**

Afin de suivre la stabilité de deux formulations, nous avons répété toutes les analyses par UV-visible, que nous avons faites auparavant (dosage de polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, dosage des vitamines E et C).

Selon la pharmacopée européenne, l'étude de stabilité des solutions buvables se fait pendant un mois à 29°C. Pour nous, nous avons fait cette étude juste pendant 18 jours, en conservant les formulations dans l'environnement du laboratoire.

### **II.8.1 Mode opératoire**

Nous avons suivi les mêmes protocoles que précédemment pour le dosage des différents principes actifs et activité antioxydante des deux formulations, résumés dans le tableau II.5.

Tableau II.5 : protocole de dosage des solutions buvables

<b>Dosage</b>	<b>Protocole</b>	<b>Longueur d'onde</b>
<b>Polyphénols</b>	0.4ml de formulation diluée 100 fois avec l'eau distillée +1.6ml de NaCO <sub>3</sub> +0.2ml de folin dilué 10 fois (2 heures).	760 nm
<b>Flavonoïdes</b>	4ml de formulation diluée 100 fois avec MeOH +2ml de AlCl <sub>3</sub> ( 15 minutes).	430 nm
<b>Activité anti oxydante</b>	50µl de formulation diluée 100 fois avec MeOH + 2ml de DPPH + 1ml de méthanol (30 minutes)	516 nm
<b>Tocophérol (Vit E )</b>	0.5 ml de formulation dilué 500 fois avec éthanol + 4.5 ml d'éthanol.	295 nm
<b>Acide ascorbique (Vit C)</b>	0.5 ml de formulation dilué 10000 fois avec éthanol + 4.5 ml d'éthanol.	294 nm

### III Introduction

Dans ce chapitre, nous allons présenter et discuter les résultats obtenus au cours de notre étude sur l'extrait des graines de la plante *lepidium sativum* et la solution buvable formulée, et sur leurs propriétés phytochimiques.

#### III.1 Rendement massique et aspect de l'extrait

L'extraction des graines de *lepidium sativum* a été réalisée dans l'éthanol 96%, et le calcul du rendement, par rapport à la masse initiale de la poudre végétale abouti au résultat du tableau III.1 :

**Tableau III.1:** Rendement massique et aspect de l'extrait des graines de cresson

Poids d'Extrait (gramme)	Rendement	Couleur
48	31.25%	Marron

#### Discussion :

- La technique du Soxhlet est une méthode d'extraction simple qui permet d'avoir un bon rendement.
- La couleur marronne de l'extrait éthanolique indique qu'il est riche en polyphénols.

#### III.2 Caractérisation qualitative des polyphénols et flavonoïdes dans les graines de *lepidium sativum*

Dans le tableau III.2, nous avons résumé les caractéristiques qualitatives par rapport à la composition de l'extrait.

**Discussion :**

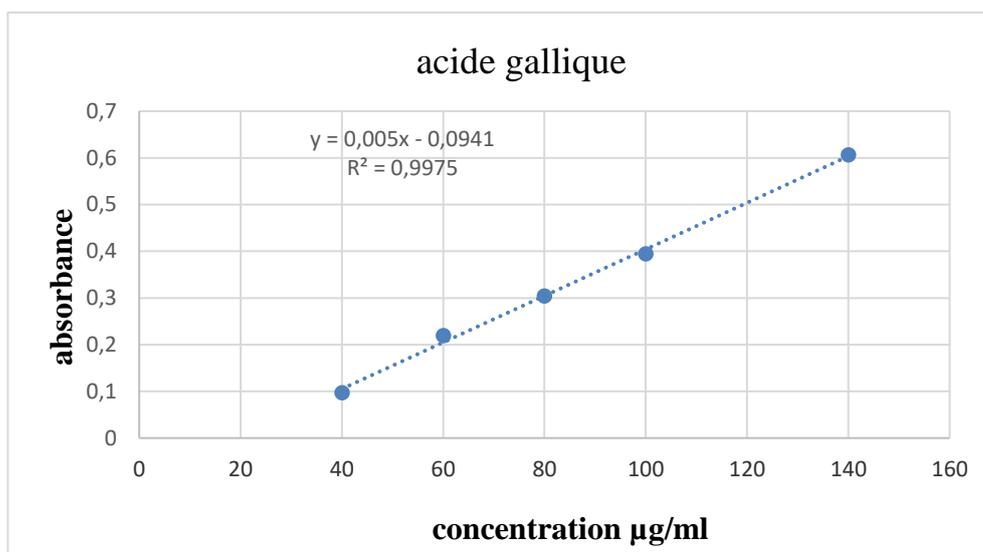
- Les colorations bleue ou jaune, des solutions diluées de l'extrait après ajout des réactifs spécifiques, indiquent la présence des polyphénols et des flavonoïdes.

**Tableau III.2: Analyse qualitative visuelle**

Métabolite	Réactifs d'identification	Résultats positifs
Polyphénols	Folin-Ciocalteu et carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )	
Flavonoïdes	Chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ )	

**III.3 Analyse quantitative par la spectrophotométrie UV visible****III.3.1 Teneur en polyphénols totaux**

La quantification des polyphénols a été faite par le calcul en utilisant la courbe d'étalonnage linéaire  $Y=0.005X-0.094$  et  $R^2=0.997$  (Figure III.1), réalisé avec une série de solutions étalons d'acide gallique à différentes concentrations, représentant la référence pour les composés polyphénols.



**Figure III.1** : courbe d'étalonnage d'acide gallique

### ❖ Discussion

La concentration déterminée à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage est de **7.842mgEAG/ml EX**. Les résultats obtenus montrent que notre extrait de lepidium sativum est très riche en polyphénols.

### III.3.2 Teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est déterminée à partir de l'équation linéaire de la courbe d'étalonnage de la quercétine  $Y=0.009X+0.041$  et  $R^2=0.993$  (Figure III.2).

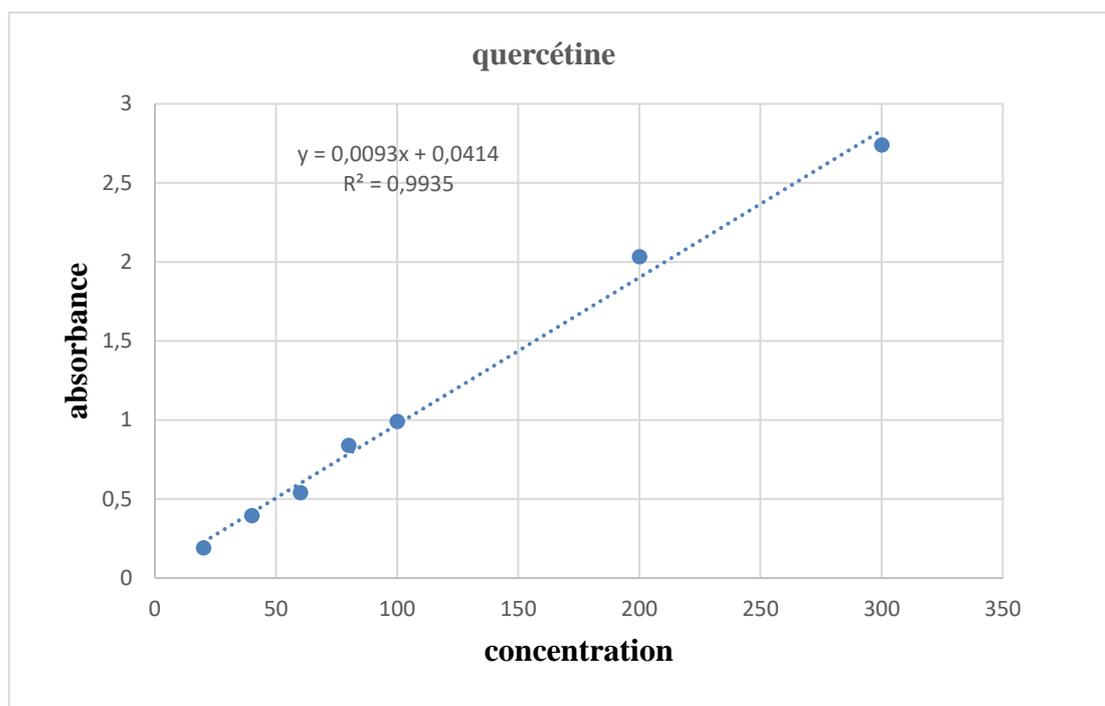


Figure III.2: courbe d'étalonnage de la quercétine.

#### ❖ Discussion

La quantité des flavonoïdes calculé est **1.060mgEAG/ml EX**. Ce résultat nous indique qu'il existe une quantité non négligeable de flavonoïdes dans l'extrait.

### III.3.3 Teneur en acide ascorbique (vitamine C)

Le dosage de l'acide ascorbique de l'extrait dilué avec éthanol est fait en fonction d'une courbe d'étalonnage des solutions d'étalons (vitamine C) préparées à différentes concentrations. L'équation de cette courbe est  $Y=0.0021X+0.0609$  et  $R^2=0.9932$ (Figure III.3).

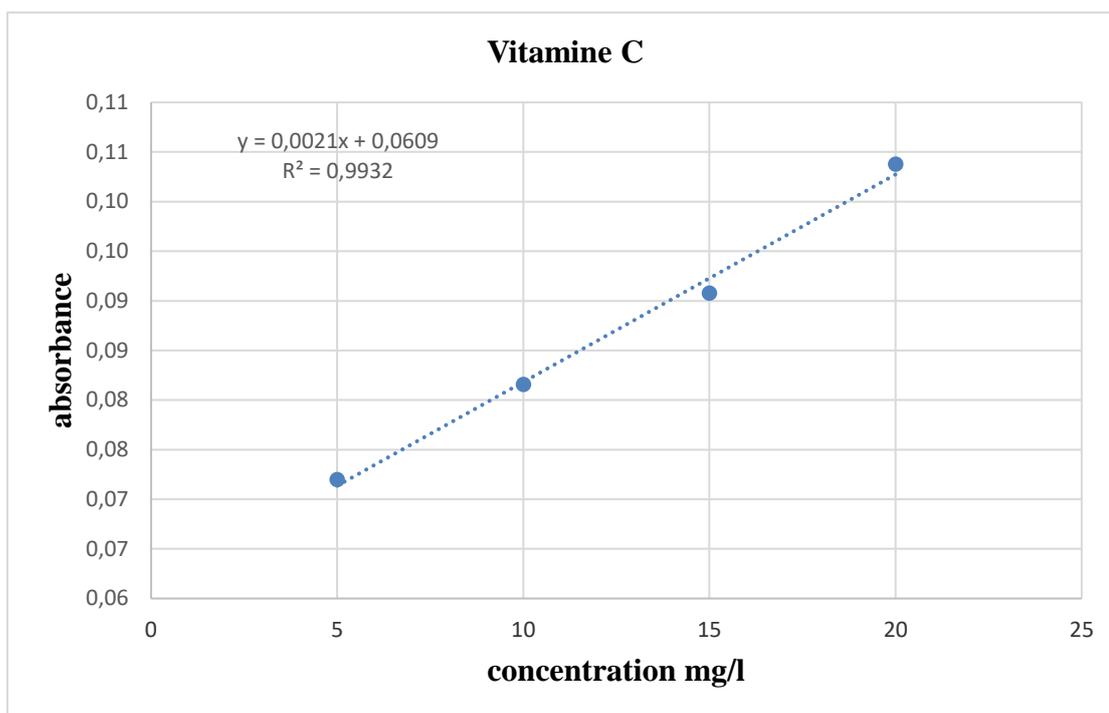


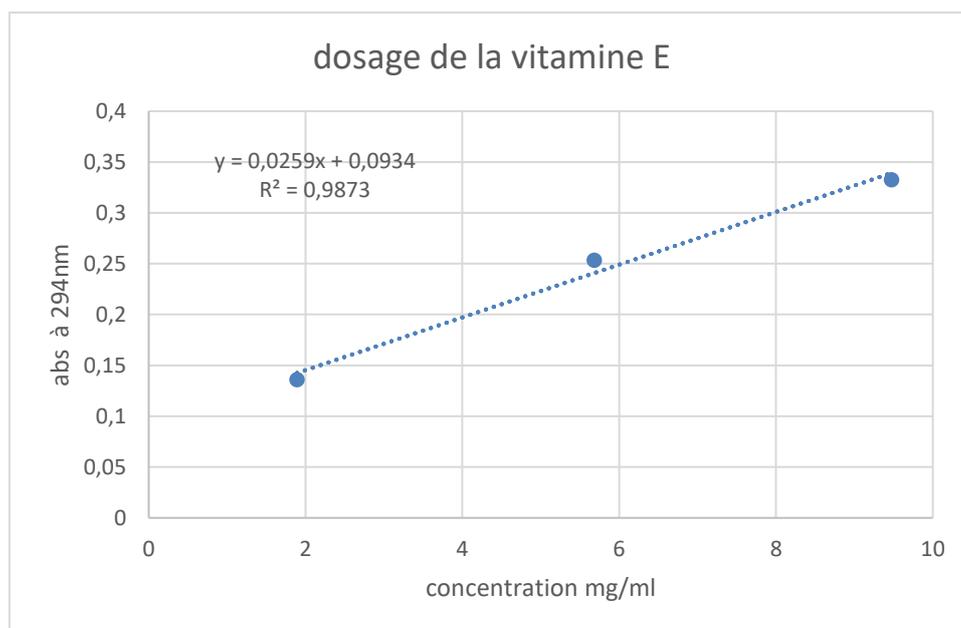
Figure III.3 : courbe d'étalonnage de L'acide ascorbique (Vit C).

#### ❖ Discussion

D'après la valeur de l'absorbance de notre échantillon, on remarque que l'acide ascorbique est présent en forte concentration dans l'extrait avec une teneur de **3.303mgEG/ml EX**.

#### III.3.4 Teneur en tocophérol ( vitamine E)

Le dosage des tocophérols de l'extrait dilué avec éthanol est fait en fonction d'une courbe d'étalonnage des solutions d'étalons (vitamine E) préparés à différentes concentrations. L'équation linière de cette courbe est  **$Y=0.0259X+0.0934$**  et  **$R^2=0.9873$** (Figure III.4).



**Figure III.4 :** courbe d'étalonnage des Tocophérols (vitamine E).

#### ❖ Discussion

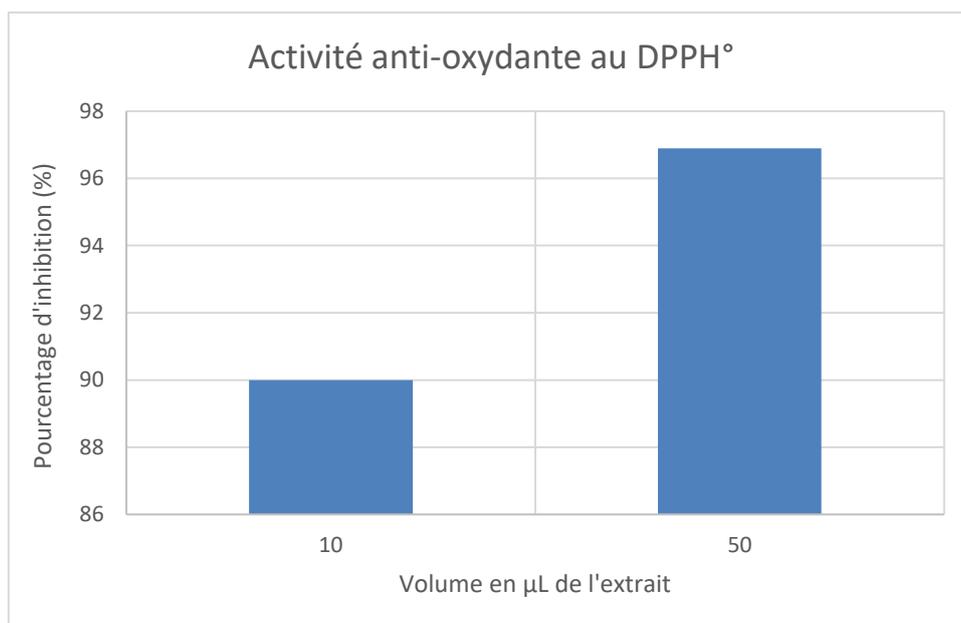
Nous avons obtenu une valeur de **2.753mg EG/ml EX**, en vitamine E de l'extrait. On remarque que notre extrait renferme une quantité estimables Tocophérols (Vit E). C qui nous permet de conclure que les graines de *lepidium sativum* pourraient avoir un effet antianémique. ( la vitamine E aide les globules rouges de fixer le fer ).

### III.3.5 Activité antioxydante

Le pourcentage d'activité antioxydante de l'extrait des graines de *lepidium sativum*, déterminée par l'équation d'inhibition du radical DPPH° est de **96.89% pour 50 µL et de 90% pour 10µL d'extrait**( Figure III.5).

#### ❖ Discussion

D'après le résultat obtenu, on constate que l'extrait éthanolique possède une activité antioxydante très élevée, celle-ci est due à la présence d'un excès de composés phénoliques, ainsi que des quantités importantes en vitamine C et en vitamine E.



**Figure III.5 :** Pourcentage d'inhibition de DPPH° en fonction de la quantité d'extrait.

Dans le tableau III.3, nous avons rassemblé l'essentiel de nos résultats quantitatifs et de l'activité phytochimique obtenus pour l'extrait de graines de cresson.

**Tableau III.3 :**Composition et activité phytochimique de l'extrait des graines de cresson.

<b>Rendement massique (%)</b>	<b>Polyphénols totaux</b>	<b>Flavonoïdes totaux</b>	<b>Acide ascorbique (Vit C)</b>	<b>Tocophérols (Vit E)</b>	<b>Activité anti-oxydante au DPPH°</b>
<b>31.25</b>	<b>7.842</b>	<b>1.060</b>	<b>3.303</b>	<b>2.753</b>	<b>96.89% pour 50 µL et de 90% pour 10µL d'extrait</b>

### III.4 L'étude de stabilité de la solution buvable antianémique

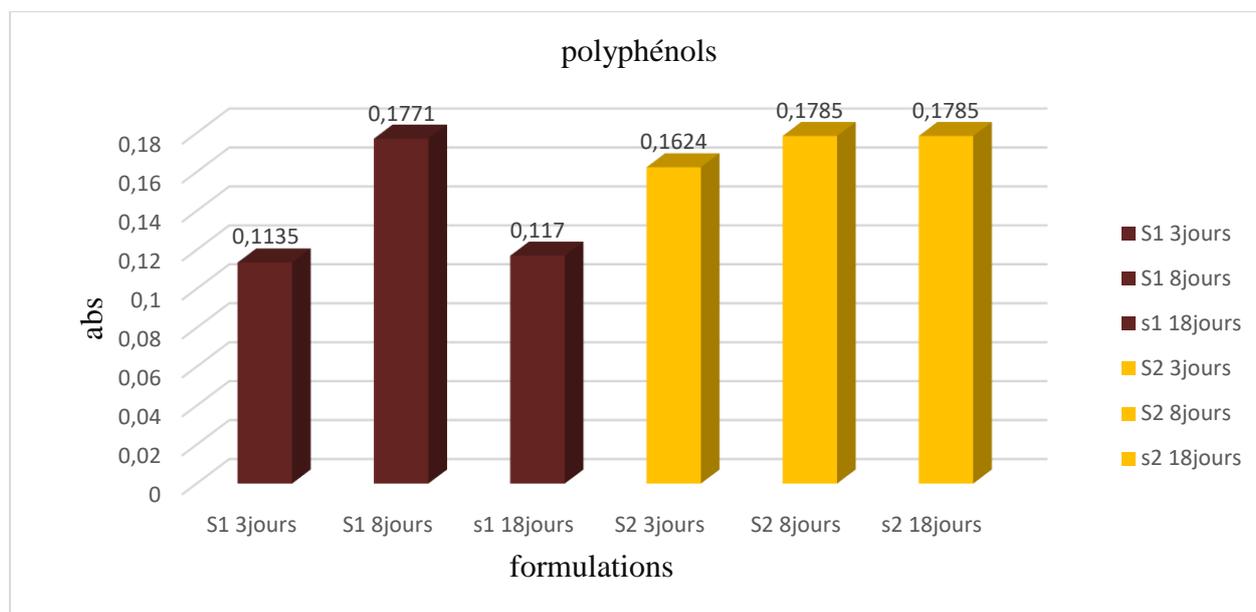
Nous avons suivi la stabilité des deux formulations de solution buvable, par analyse UV-visible. Les résultats obtenus sont comme suit :

#### III.4.1 Pour les polyphénols

##### ❖ Discussion

D'après les résultats représentés par l'histogramme de la Figure III.6, on observe que la deuxième formulation est plus stable que la première formulation, parce que le taux en polyphénols diminue dans cette dernière au bout de 18 jours sous les conditions atmosphériques.

On conclut que la formulation qui contient un excès de 10 % en vitamine E, et aussi en extrait est la plus stable en polyphénols.



**Figure III.6 :** Histogramme représentant la variation de la teneur en polyphénols pendant la durée de l'étude de stabilité des formulations S1 et S2 de la solution buvable antianémique.

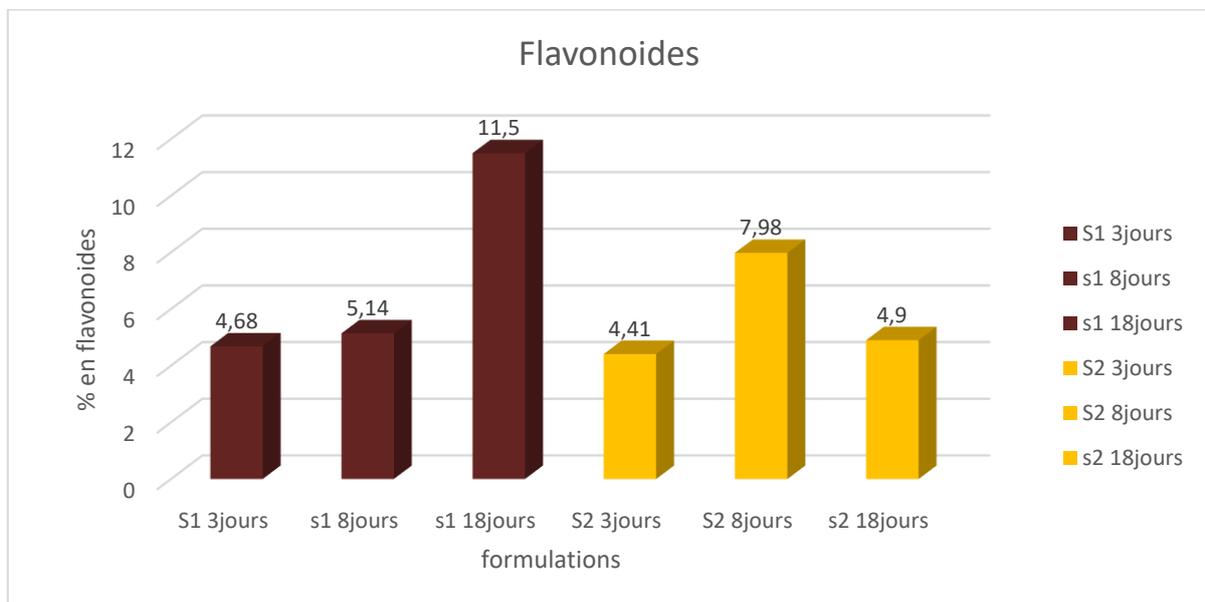
### III.4.2 Pour les flavonoïdes

#### ❖ Discussion :

L'examen des résultats (Figure III.7) de l'étude de stabilité par rapport aux flavonoïdes, montre que la formulation 1 est plus stable que la formulation 2, puisque la teneur en flavonoïdes est plus importante au bout de 18 jours de conservation de la solution buvable. Tandis que la teneur diminue dans la formulation 2.

Ceci est expliqué par le fait qu'il existe plusieurs facteurs qui peuvent influencer la stabilité des différents composants dans les formulations, et que ceux-ci agissent différemment sur les composants.

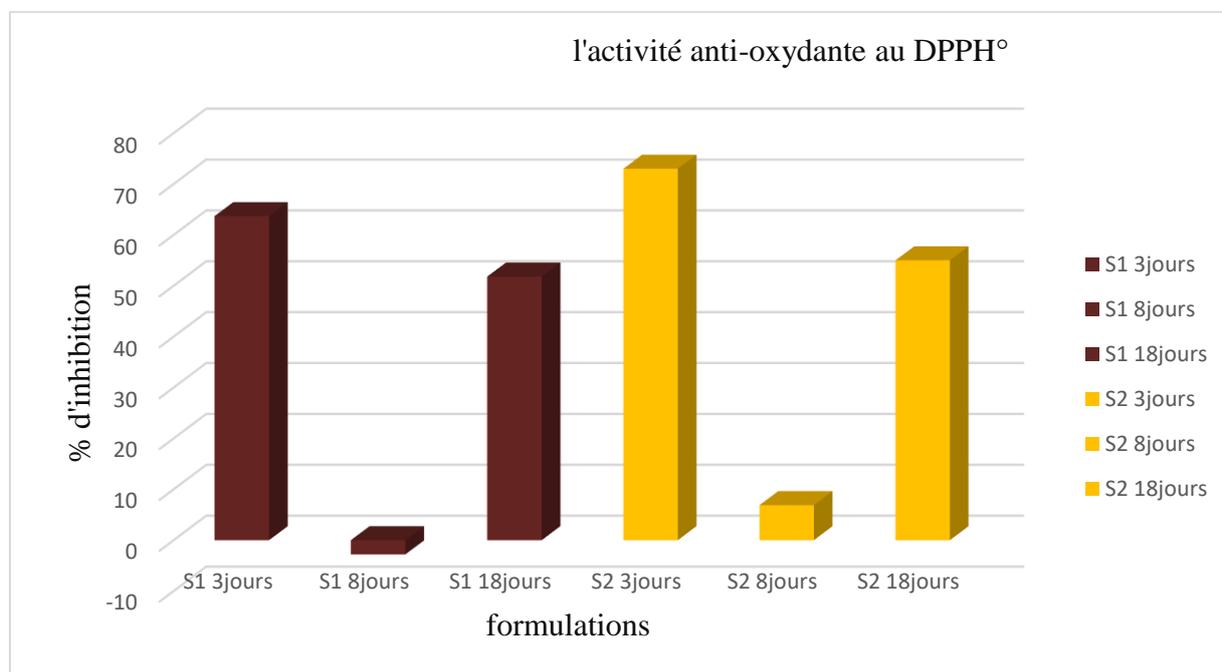
Par ailleurs, les conditions de conservation ne sont pas strictement identiques pour les deux formulations, elles fluctuent d'un point à un autre du laboratoire. Ajoutant à ceci, le matériel de stockage (flacons en verre) qui n'est pas le même pour les deux formulations.



**Figure III.7 :** Histogramme représentant la variation de la teneur en flavonoïdes pendant la durée de l'étude de stabilité des formulations S1 et S2 de la solution buvable antianémique.

### III.4.3 Pour l'activité antioxydante

Les résultats sont illustrés par les variations de la figure III.8



**Figure III.8 :** Histogramme représentant la variation de l'activité antioxydante pendant la durée de l'étude de stabilité des formulations S1 et S2 de la solution buvable antianémique.

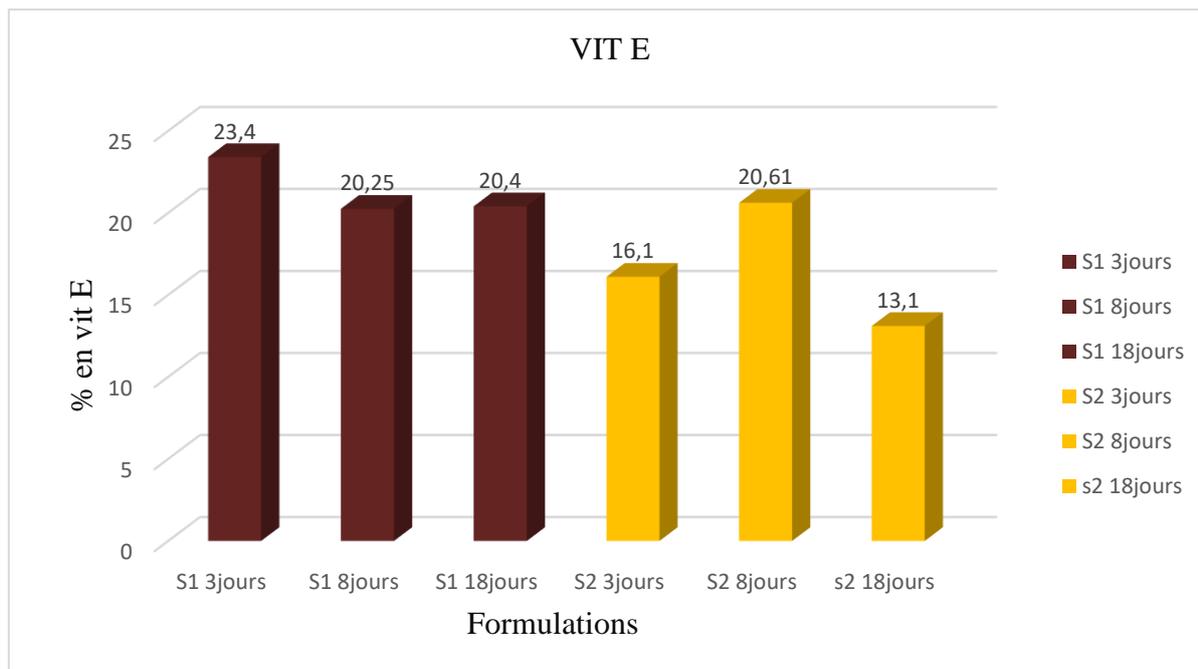
#### ❖ Discussion :

Nous remarquons que le pourcentage d'inhibition varie pratiquement de la même manière dans les deux formulations, et que les valeurs décroissent relativement du 3<sup>e</sup> jour au 18<sup>e</sup> jour. Les valeurs minimales ont été obtenues au 8<sup>e</sup> jour seulement. Cela est dû aux conditions atmosphériques qui ne sont pas stables et non favorables ( excès d'humidité, de chaleur, de lumière...) qui font diminuer nettement cette activité.

La valeur maximale obtenue de l'ordre de 70% correspond à la formulation S2 renfermant un excès de 10 % en vitamine E et en extrait de graines de cresson.

### III.4.4 Pour la vitamine E

La figure III. 9 représente la variation des quantités en vitamine E au cours de l'étude de stabilité de la solution buvable des deux formulations.



**Figure III.9:** Histogramme représentant la variation de la teneur en vitamine E pendant la durée de l'étude de stabilité des formulations S1 et S2 de la solution buvable antianémique.

#### ❖ Discussion

D'après les valeurs de l'histogramme de la figure III.9, nous observons une diminution des quantités de Vit E au bout de 18 jours de conservation. Les valeurs sont inférieures dans la formulation S2, relativement à celles de la formulation S1. Ce qui montre que la formulation S1 est mieux conservée. Ceci est dû à la qualité du verre du flacon de la première formulation, qui permet une meilleure conservation vis-à-vis de la lumière et de la chaleur.

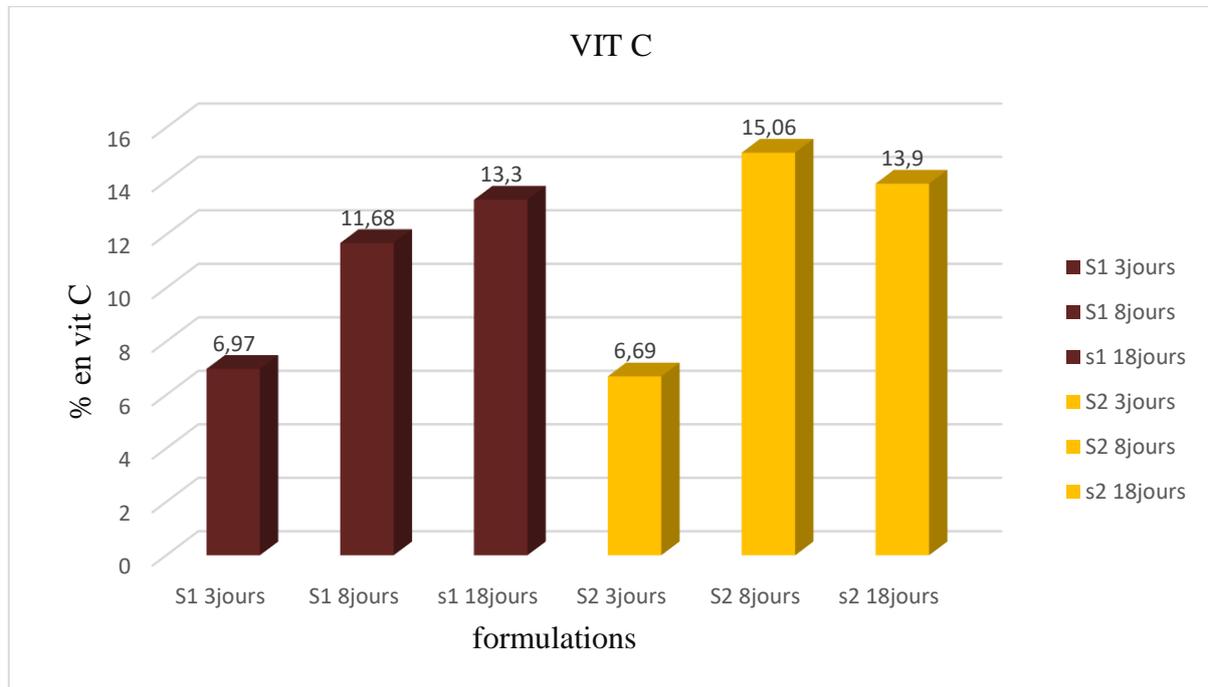
### III.4.5 Pour la vitamine C

Les résultats de l'étude de la stabilité par rapport à la vitamine C sont représentés par l'histogramme de la figure III.10.

#### ❖ Discussion

Nous remarquons que les quantités en Vit C sont presque les mêmes au bout du 3<sup>e</sup> et du 18<sup>e</sup> jour pour les deux formulations, mais au bout de 8 jours la quantité d'acide ascorbique est supérieure dans la formulation 2. On peut conclure que l'acide ascorbique n'est pas dégradé pendant la période de l'étude de stabilité. Ceci est en

accord avec des études antérieures qui montre que l'acide ascorbique possède une excellente propriété d'inhibition anti-oxydante et anti-radicalaire. De ce fait il résiste mieux aux effets de dégradation chimique.



**Figure III.10:** Histogramme représentant la variation de la teneur en Vit C pendant la durée de l'étude de stabilité des formulations S1 et S2 de la solution buvable antianémique.

### Conclusion

Les plantes médicinales constituent un vrai patrimoine de l'être humain. L'utilisation de ces plantes en phytothérapie a suscité un grand intérêt dans la recherche biomédicale, une telle thérapie prévient l'apparition des effets secondaires observés lors de l'utilisation des médicaments de synthèse chimique.

Notre travail avait pour but de réaliser l'extraction et l'étude des propriétés antioxydantes des graines de *lepidium sativum* et l'étude de la stabilité de la solution buvable préparée à partir de l'extrait contenant les principes actifs comme les polyphénols, les flavonoïdes, la vitamine C et la vitamine E .

L'extraction dans l'éthanol des graines effectuée par la méthode de soxhlet a abouti à un rendement de 31.25%. Cette méthode est plus sélective vis-à-vis de certains principes actifs comme les tocophérols.

- La quantification des composés existant dans l'extrait est faite par spectrophotométrie UV-visible. Les résultats obtenus montrent la présence des métabolites (polyphénols et flavonoïdes)
  - La teneur en polyphénols est égale à **7.842mg** EG d'acide gallique/ml d'extrait
  - La teneur en flavonoïdes est égale à **1.060mg** EG de quercétine/ml d'extrait.

Ainsi l'estimation quantitative de l'extrait éthanolique analysé montre qu'il est riche en tocophérol et en acide ascorbique.

- La teneur en tocophérol est de l'ordre de **2.753mg** EG de vitamine E/ml EX.
- La teneur en acide ascorbique est égale **3.303mg** EG de vitamine C/ml EX.

La présence de forte quantité de tocophérols dans notre extrait nous a permis de suggérer la formulation d'une solution buvable .

- L'activité antioxydante est étudiée avec la méthode de réduction du radical libre 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH°). Le pourcentage d'activité antioxydante de l'extrait des graines de *lepidium sativum* est de 96%. Ce qui implique que l'extrait éthanolique possède une activité antioxydante très élevée, celle-ci est due à la présence d'un excès de composés phénoliques, ainsi que des quantités importantes en vitamine C et en vitamine E.

- L'étude de stabilité des formulations (solution buvable) durant 18 jours indique que plusieurs facteurs peuvent influencer sur la stabilité de ces différents composants tels que les conditions de conservation et les conditions atmosphériques. Néanmoins, les résultats ont montré que les polyphénols et l'acide ascorbique subissent moins de dégradation que les autres composants.

D'après ce travail, On conclue que les graines de *Lepidium sativum* Linn (cresson alénois) est une source importante en substances actives qui peuvent avoir diverses applications dans le domaine pharmaceutique.

➤ **Perspectives :**

- Refaire cette étude en utilisant d'autres méthodes d'analyse plus spécifique et avec moins d'interférences pour mieux préciser les résultats quantitatifs des métabolites et des vitamines.
- Appliquer d'autres méthodes d'extraction comme l'hydrodistillation ou la macération pour augmenter les rendements et cibler certains métabolites seulement.
- Prolonger la durée de l'étude de stabilité à 1 mois ou bien sous des conditions de stress à des températures de 40°C ou de 70°C.
- Rajouter d'autres principes actifs à action antianémique comme de fer ou la vitamine B12.

## Références bibliographiques

- [1] **Sophia Jorite(2015)**. La phytothérapie, une discipline entre passé et futur : de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel. Sciences pharmaceutiques.dumas-01188820 p 21
- [2] **BELKACEM S., 2009** - Investigation phytochimique de la phase *n*-butanol de l'extrait hydroalcoolique des parties aériennes de *Centaure aparviflora* (Compositae). Mémoire de magister, Univ. Mentouri, Constantine,
- [3] **Salfo OUEDRAOGO1 , Jules YODA1,4, Tata Kadiatou TRAORE, Mathieu NITIEMA1 , Bavouma C. SOMBIE, Hermine Zime DIAWARA, Josias B.G. YAMEOGO , Abdoulaye DJANDE, Lazare BELEMNABA1 , Félix B. KINI1 , Sylvin OUEDRAOGO1 Et Rasmané SEMDE (2021)** ,Production de matières premières et fabrication des médicaments à base de plantes médicinales,15(2): 750-772
- [4] **Tarek Benabelkader.(2012)** Biodiversité, bioactivité et biosynthèse des composés terpéniques volatils des lavandes ailées, *Lavandulastoechas* sensu lato, un complexe d'espèces méditerranéennes d'intérêt pharmacologique. Biologie végétale. Université Jean Monnet - Saint-Etienne; Ecole normale supérieure de Kouba (Alger), Français.
- [5] **H.Falana, W.Nofal, H.Nakhleh(2014)**.A Review Article *Lepidium Sativum* (Garden cress) Pharm-D Program, College Of Nursing, Pharmacy And Health Professions .Birzeit University
- [6] **Tounkara Hassana , Denou Adama , Keïta Jean Noël , Traore Nah , AnogoRokia, Diallo Drissa, Doucoure Amidou(2019)** . etude phytochimique de 4 plantes utilisees dans le traitement traditionnel de la dysfonction erectile au mali - Revue Malienne de Science et de Technologie ,Vol. 0 No 22
- [7] **Tawfeeq J.D., Akrayi H.F. (2012)** Antibacterial activity of *Lepidium sativum* and *Allium porrum* extracts and juices against some gram positive and gram negative bacteria. *Medical Journal of Islamic World Academy of Sciences*, 20(1): 10-16.
- [8] **S. Wadhwa, M. S. Panwar, A. Agrawal, N. Saini and L. N. Patidar,(2012)** a review on pharmacognostical study of *lepidium sativum*, ; vol 2 (iv)
- [9] **Al-Shehbaz, M. A. Beilstein, and E. A. Kellogg (2006)**, Systematics and phylogeny of the Brassicaceae
- [10] **Assad Ahmad,, Rabia Nabi , Anurâdha Mishra , Iffat Zareen Ahmad ,(2020)**Une revue panoramique sur *Lepidium sativum* L. Bioactifscomméthérapeutique prospective 71(5):233-242
- .
- [11] **Saxena PK, Gupta DK , Sharma RD , Gupta Ritu1 , Sharma KK (2015)**,prospects of phytocological activity of *lepidium sativum*: a review, *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences* ,vol 5 (2) p 145-151

[12] **SEDDIKI Imene et ZAOUI Amira (2019)**, Etude ethnobotanique de quelques plantes médicinales de la région de Bordj Bou Arreridj, mémoire master

[13] <https://www.funet.fi/pub/sci/bio/life/plants/magnoliophyta/magnoliophytina/magnoliopsida/brassicaceae/lepidium/sativum-1.jpg>.

[14] <https://www.funet.fi/pub/sci/bio/life/plants/magnoliophyta/magnoliophytina/magnoliopsida/brassicaceae/lepidium/sativum-1x.jp>

[15] **Bigoniya P, CS Singh and A Shukla (2011)**. Indian Journal of Natural Products and Resources 2(4), 464-471.

[16] **Prasad V.K., Kavita N.Y., Rakesh S.S., Nupura S.N., Ashish S.P., Manohar J.P.** (2012) *Lepidium sativum*: an ethnobotany and phytopharmacological. *International Journal of Drug Formulation and Research*

[17] <https://123dok.net/document/y96gkmwy-etude-de-l-effet-antifongique-des-extraits-de-cupressus-sempervirens-et-lepidium-sativum-sur-colletotrichum-sp-agent-de-l-anthraxose-de-la-tomate-lycopersicum-esculentum-mill.html>

[18] **Raval, N.** (2016) A comprehensive review of *lepidium sativum* linn, a Traditional medicinal plant. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5 (5): 1593-1601.

[19] **Divanji, M., Viswanatha, G. L., Nagesh, S., Jain, V., Shivaprasad, H., Divanji, M., . . . Shivaprasad, H. (2012)**. Ethnopharmacology of *Lepidium sativum* Linn (Brassicaceae): a review. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHYTOTHEAPY RESEARCH*, 1-7.

[20] **Tokuma Getahun Vinit Sharma Neeraj Gupta (2020)**, composition chimique, activités antibactériennes et antioxydantes des huiles obtenues par différentes méthodes d'extraction à partir de graines de *Lepidium sativum* L. Cultures et produits industriels 165,

[21] **Aouadhi S.**, 2010: mémoire Atlas des risques de la phytothérapie

[22] **Ramakrishna A and Ravishankar G A. (2011)** Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling & Behavior*. **6(11), 1-12**.

[23] **Krief, S., 2003**. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal, thèse doctorat, muséum national d'histoire naturelle. 17p.

[24] **Boutaghane, N., 2013**. Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina* Spach (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (Asteraceae). Thèse Présentée pour obtenir le diplôme de Doctorat en sciences. Université de Constantine 1. Page 22.

[25] **MAURO NEVES MUNIZ (2006)**, Synthèse d'alcaloïdes biologiquement actifs : la (+)-anatoxine-a et la (±)-camptothécine, thèse de doctorat, P 16

[26] **Malecky, M., 2005**. Métabolisme des terpenoïdes chez les caprins, thèse Pour obtenir le grade de docteur de l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Agro Paris Tech. p 9,

- [27]Wenqiang Yang<sup>1</sup> , Xu Chen<sup>1</sup> , Yanli Li<sup>1</sup> , Shaofen Guo<sup>1</sup> , Zhen Wang<sup>1</sup> , and Xiuling Yu,(2020),Advances in Pharmacological Activities of Terpenoids,Natural Product Communications,Volume 15(3): 1–13
- [28]Sonia Collin et Jean Crouzet, polyphénols et procédés ,transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire , LAVOISIER 2011
- [29] Boros,B ; Jakabova.S ; Dornyei.A ; Horvath.G ; Pluhar.Z ; Kilar.F ; Felinger.A, 2010: Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–massspectrometry in Thymus species. Journal of Chromatography A, 1217 : 7972–7980
- [30] Jean-Jacques Macheix (1996), Les composés phénoliques des végétaux: quelles perspectives à la fin du XXème siècle?, Acta Botanica Gallica, 143:6, 473-479
- [31]Hanen Falleh , Riadh Ksouri, Kamel Chaieb, NajouaKarray-Bouraoui, Najla Trabelsi, Mondher Boulaaba, ChedlyAbdelly (2008). Phenolic composition of Cynara cardunculus L. organs, and their biological activities .C. R. Biologies. Vol. 331 ; pp 372-379.
- [32]M. BERREGHIOUA Abdelaziz(2016),investigation photochimique sur des extraits bioactifs de deux brassicaceae médicinales du sud Algerien : Moricandiaarvensis et Zillamacroptera,thèse doctorat p 17
- [33] SEYOUM A., ASRES K. and EL-FIKY F.K., 2006 – Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. Phytochemistry, 67 : 2058–2070.
- [34]Jean-Jacques Macheix Annie Fleuriet Christian Jay-Allemand(2005), les composés phénoliques des végétaux, un exemple de métabolites secondaires d'importance économique, presses polytechniques et universitaire romandes
- [35] DAI J. and MUMPER R J., 2010 - Plant Phenolics : Extraction, Analysis and Their Antioxydant and Anticancer Propreties. Molecules, 15(10) : 7313-52
- [36] Lamblin Frédéric, Hano Christophe ,Fliniaux Ophélie, Mesnard François , Marc-André Fliniaux etEric Lainé(2008), Intérêt des lignanes dans la prévention et le traitement des cancers, 24 (5), p 511-520
- [37] Julie Chong Et Anne Poutaraud(2009), Métabolisme et rôles des stilbènes chez les plantes,sciences végétales,177 (3) p 143-155
- [38] Hakimeh Oloumi H, Nasibi F, Mozaffari H. (2018) Enquête sur le taux de croissance et la teneur en métabolites secondaires de Lepidium sativum sous traitement exogène à la mélatonine. (2) p 144-154.
- [39] Neïla BEN RAHAL(2012), extraction, identification et caracterisation des molecules bioactives de la graine et de l'huile de *silybummarianum*. etude de leurs activites antioxydante et antitumorale.these en cotutelle pour obtenir le grade de docteur de l'université de lorraine.
- [40] Tessier F., Marconnet P (1995).Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & Sports*.10,1-13

[41][https://www.alwosta.tn/fr/blog/163\\_graines-de-cresson-16-vertus-et-bienfaits-3-mefaits-3-precautions-proprietes.html](https://www.alwosta.tn/fr/blog/163_graines-de-cresson-16-vertus-et-bienfaits-3-mefaits-3-precautions-proprietes.html)

[42] **Mohammed Saber Guiga. Vitamine E (2019):** métabolisme, rôle physiologique : intérêt et risques d'une supplémentation. Sciences pharmaceutiques

[43] **Estelle Schwartz (2016),** La Vitamine C, Desse De Cosmetologie ,Universite De Québec a Chicoutimi

[44] **karazhiyan H., Razavi S.M.A., phillips G.O.2011** extraction optimization of a hydrocolloid extract from cress seed (*lepidium sativum*) using response surface methodology. *food hydrocolloids* 25(5):915-920

[45] **M. A. AL-YAHYA, J. S. MOSSA, A. M. AGEEL and S. RAFATULLAH(1994)** Pharmacological and Safety Evaluation Studies on *Lepidium sativum* L, Seeds. *Phytomedicine*, 1(2): 155-159. Medicinal, Aromatic and Poisonous Plants Research Center, College of Pharmacy, Kind Saud University, Riyadh, Saudi Arabia

[46] **SnehalDoke and ManishaGuha J. Nat. Prod. Plant Resour, (2014).** Garden cress (*Lepidium sativum* L.) Seed - An Important Medicinal Source: A Review, 4 (1):69-80

[47] **Baregama and Goyal( 2019).** PHYTOCONSTITUENTS, PHARMACOLOGICAL ACTIVITY, AND MEDICINAL USE OF *LEPIDIUM SATIVUM* LINN.: A REVIEW *Asian J Pharm Clin Res*, Vol 12, Issue 4, p45-50

[48] **S. Diouf M. Folquet K. Mbofung O. Ndiaye K. Brou C. Dupont 'D. N'dri M. Vuillerod V. Azaï s-Braesco E. Tetanye( 2015) .** Archives de Pédiatrie . Prévalence et déterminants de l'anémie chez le jeune enfant en Afrique francophone – Implication de la carence en fer Prévalence et déterminants de l'anémie chez le jeune enfant en Afrique francophone. Rôle de la carence en fer. Volume 22, Numéro 11 , , Pages 1188-1197

[49] [https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/PalmaresNutriments/Fiche.aspx?doc=vitamine\\_e\\_nu](https://www.passeportsante.net/fr/Nutrition/PalmaresNutriments/Fiche.aspx?doc=vitamine_e_nu)

[50] **Larry E. Johnson (2020) Carence en vitamine E ,** MD, PhD, University of Arkansas for Medical Sciences

[51] <https://www.roche.fr/fr/patients/info-patients-cancer/vivre-avec-un-cancer/fatigue-cancer/anemie-et-cancer.html>

[52] **Hocine RECHRECHE Aicha KRIBECHE e tArbia ABBE (2012) .** Effet antioxydant de l'extrait brut méthanolique des graines de *Lepidium Sativum* au cours d'une toxicité

hépatopulmonaire induite par le chlorpyrifos chez le rat Séminaire international : Cancer, stress cellulaire et substances bioactives. Jijel,

[53] **Ouafae Benkhneut, 2014.** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète dans la région d'Al Haouz-Rhamna (Maroc), *Journal of Animal & Plant Sciences*, . Vol.23, Issue 1.

[54] site internet : <https://www.berkem.com/fr/expertise/extraction-vegetale#une-pratique-ancestrale>.

[55] **M.D.Luque Castro et F.Priego-Capote(2010),** Soxhlet extraction: Past and present panacea, *Journal of Chromatography A*, Volume 1217, Issue 16, , Pages 2383-2389

[56] **M.D.Luque de Castro et Le Garcia –Ayuso (1998),** L'extraction Soxhlet des matériaux solides : une technique dépassée à l'avenir innovant prometteur, *Analytica Chimica Acta*, Volume 369, Issues 1–2, pages 1-10

[57] **Kraft K et Hobbs C. (2004).** Pocket Guide to Herbal Medicine. Thieme, Stuttgart, New York. p16

[58] **Inoue, T., Tsubaki, S., Ogawa, B., Onishi, K., Azuma, J.I., 2010.** Isolation of hesperidin from peels of thinned Citrus unshiu fruits by microwave-assisted extraction. *Food chemistry*.123,542-547

[59] **Haddadi Nabil 2015.** Récupération de la molécule du Diclofénac de sodium à partir de son effluent pharmaceutique suite à un traitement membranaire Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou

[60] **Institut de Formation en Soins Infirmiers Les formes pharmaceutiques** Claire CHAPUIS Pharmacien CHU de Grenoble .Année universitaire 2014 –. 2015

[61] Jean, claud, Alain, L. H., & Denis Brossard. (2009). Abrégé de pharmacie galénique. ELSEVIER SAS ALL.

[62] La conservation des médicaments Patrick Herné Chargé de cours Université de Liège 2013

[63] Site internet extraction soxhlet lveem laboratoire LVEEM - IUT, Département Chimie 8 rue Jean-Baptiste Fabre

[64] Développement et validation d'une méthode de dosage du diclofenac sodique par uv-visible 2013

[65] j. A. Rossi, Jr. and V. L. Singleton, *Am. J. Enol. Vitic.* 17, 231 (1966). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of folin-Ciocalteu Reagent pages (14-153)

[66] Ribéreau gayon, p 1968. Les composés phénoliques des végétaux page 272-273

[67] boziot N 2006 méthodes rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un forestier. 78-83

[68] **Bouhamed R. et Zaidane O.** Contribution à l'étude phytochimique de l'extrait brut de *Lepidium sativum* (haberchad) et leur effet sur certaines maladies 2019( 34).

[69] **Estelle Schwartz.** Université de québec à chicoutimi 8/11/2016.

[70] <http://dSPACE.univ-tlemcen.dz/bitstream/112/10199/1/GHIZLENE%20MEHADJI.pdf>

[71]Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z. and Boucherit, K. (2014) Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredoliaaretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Journal Pharmacognosie*, 12, 364-371.

[72]Recommandations nutritionnelles. Conseil Supérieur de la Santé. 2009.

[73]Le glycérol, « building blocks » majeur de la bioraffinerie oléagineuse janvier-février 2012

[74]Dr.Besbes. Lipides simples et lipides complexes. Université Ahmed Benbella. Oran Faculté de médecine.

[75]ANSM. République française. analyse Tox,acide citrique et mannitol. 2017.

[76]**Jackson Brown** Production d'acide itaconique par des souches d'*Aspergilli* par fermentation en milieu solide 2012

[77]**Marina DUPAS-LANGLET**De la déliquescence au mottage des poudres cristallines : cas du chlorure de sodium Université de Technologie de Compiègne. 2013.

## Résumé

Les plantes médicinales ont récemment acquis une grande importance en raison de leurs nombreux avantages dans la lutte contre les maladies. Parmi ces plantes, on trouve le *Lepidium Sativum*, connue dans le domaine pharmaceutique pour ses innombrables propriétés thérapeutiques. Pour notre étude, nous nous sommes intéressées à l'extraction des gaines de *L. Sativum* avec la méthode de soxhlet, qui a donné un bon rendement en composés phénoliques, en flavonoïdes, en vitamines C et E. Les résultats obtenus montrent que l'extrait possède une activité antioxydante très importante, due à la richesse en composés phénoliques et vitamines E et C. Ces résultats nous incitent pour la préparation d'une solution buvable, et étudier sa stabilité sous les conditions atmosphériques.

Mots clés : *Lepidium Sativum*, forme liquide, soxhlet, composés phénoliques, vitamine E, vitamine C, activité antioxydante, stabilité.

## Abstract

Medicinal plants have recently gained great importance due to their many benefits in fighting diseases. Among these plants, we find *Lepidium Sativum*, known in the pharmaceutical field for its innumerable therapeutic properties. For our study, we were interested in the extraction of the sheaths of *L. Sativum* with the soxhlet method, which gave a good yield in phenolic compounds, in flavonoids, in vitamins C and E. The results obtained show that the extract has a very important antioxidant activity, due to the richness in phenolic compounds and vitamins E and C. These results prompted us to prepare the oral anti-anemic solution, and to study its stability under atmospheric conditions.

Key words: *Lepidium Sativum*, liquid form, soxhlet, phenolic compounds, vitamin E, vitamin C, antioxidant activity, anti-anemic, stability.