

**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**  
**Mémoire**  
**EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE**  
**Master**

**Domaine : Science et Technologie Filière : Génie des Procédés**  
**Spécialité : Génie Pharmaceutique**

Présenté par

**Abderrahmani Maliza et Hamed Leila**

*Thème*

**Etude de l'impact des cyclodextrines sur la solubilité et dissolution de l'extrait d' *Olea*  
*Europeae***

**Soutenue le 29/06/2022**

**Devant le jury composé de :**

| <b>Nom et Prénom</b>       | <b>Grade</b>      |                      |               |
|----------------------------|-------------------|----------------------|---------------|
| M <sup>me</sup> N. CHIBANI | <b>MCA</b>        | Université de Bejaia | Président     |
| M <sup>f</sup> M. AZZOUG   | <b>MCA</b>        | Université de Bejaia | Examinateur   |
| M <sup>f</sup> S. FATMI    | <b>MCA</b>        | Université de Bejaia | Encadrant     |
| M <sup>me</sup> I. HARRATE | <b>Doctorante</b> | Université de Bejaia | Co- Encadrant |

**Année Universitaire : 2021/2022**

## **Remerciement**

*On remercie Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et terminer ce mémoire*

*On tient à remercier notre encadreur **Dr Fatmi Sofiane**, qui a su, à sa façon, nous conseiller et orienter tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Et aussi remercier très chaleureusement **M<sup>elle</sup> Harrate Imene**, pour sa patience, sa rigueur son aide et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire.*

*Nos remerciements vont aux membres de jury **M<sup>me</sup> N. Chibani** et **M<sup>r</sup> M. Azzoug**, pour avoir accepté de juger notre présent travail.*

*On remercie tout le personnel du département de **Génie des procédés** du pôle universitaire de **Bejaia**.*

*En fin toute personne qui a participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire, soit sincèrement remerciée et les enseignants qui ont participé à nos formation soient sincèrement remerciées.*

**Abderrahmani Maliza**

**Hamed Leila**

***Dédicace***

*Je dédie ce travail*

***A ma chère maman,***

***A mon cher père,***

*Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler  
pour que je puisse atteindre mes objectifs.*

***A mes sœurs, Kahina, Tinhinane, Dahbia, Dila, Karima et Sarah***

***A mes chers frères, Hacem, Billal et Mohammed, et leurs enfants (Anas, Ishak, Enzo, Abdou,  
Juba et Léa),***

*Pour le soutien moral et leurs conseils précieux.ils m'ont chaleureusement supporté et  
encouragé tout au long de mon parcours.*

***A mes chers grands-parents,***

*Qui je souhaite une bonne santé.*

***A ma chère binôme, Leila,***

*Pour sa entente et sympathie.*

***A mes chers amis, kiki, Billal, Hillal, Hmidouch, Himou, Melly, Mouma, Loula,***

*Pour leurs aides et supports dans les moments difficiles.*

***A toute ma famille, mes proches et à ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité***

***A tous ceux que j'aime.***

## ***Dédicace***

*Je dédie ce mémoire à :*

***Ma mère et mon père*** qui m'ont indiqué la bonne voie en me

*Rappelant que le secret de la réussite est la présence et que la volonté*

*Fait les grands hommes et femmes.*

*Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma*

*Considération, et mes profonds sentiments en vers eux pour leur*

*Patience illimitée, leur encouragement continu, leur aide, tous les*

*Sacrifices consentis et leurs précieux conseils et pour tous leurs*

*Assistance et leur présence dans ma vie.*

*Mes cher sœurs **Sabrina, Saliha, Karima et Rabia***

*Sans oublier mes cher frère **Madjid, Lahlou et Adel***

*A mes chères amies **Sabrina, Hanane, Chafia, Djouhra, Yasmin et Leticia***

*A ma chère binôme **Maliza***

*A tout ma famille et mes proches*

*A tous ceux que j'aime*

## Table de matière

### Liste d'abréviation

### Liste des tableaux

### Liste des figures

### Introduction générale

## Chapitre I : Les feuilles d'olivier

|   |          |
|---|----------|
| <b>1.L'introduction.....</b>                                    | <b>4</b> |
| 2.Historique.....   | 4        |
| 3.Répartition géographique.....                                 | 5        |
| Dans le monde.....  | 5        |
| En Algérie.....   | 6        |
| 4.Les variétés algériennes.....                                 | 7        |
| 5. Les feuilles d'olivier.....                                  | 8        |
| Définition.....   | 8        |
| Biomasse.....   | 8        |
| Composition des feuilles d'olivier.....                         | 8        |
| Profil phénolique.....  | 10       |
| Généralité sur les composés phénoliques.....                    | 10       |
| a. Définition et localisation des composés phénoliques.....     | 10       |
| b. Classification des polyphénols.....                          | 11       |
| Composition des feuilles d'olivier en composés phénoliques..... | 12       |
| L'oleuropéine.....  | 15       |
| 6. Activités biologiques des feuilles d'olivier.....            | 16       |
| Activité antioxydante.....                                      | 16       |
| Activité antimicrobienne.....                                   | 16       |
| Activité antiallergique.....                                    | 17       |
| Activité anti-inflammatoire.....                                | 17       |
| Effet anticancéreux.....  | 17       |
| 7. Domaines d'utilisations des feuilles d'oliviers.....         | 18       |
| Domaine de l'alimentation animale.....                          | 18       |
| Domaine thérapeutique.....                                      | 18       |
| Domaine pharmaceutique.....                                     | 18       |

|  |           |
|--|-----------|
| Domaine cosmétologique .....                               | 18        |
| Industries alimentaires.....                               | 18        |
| 8. Utilisation traditionnelle des feuilles d'olivier ..... | 18        |
| <b>9. Conclusion.....</b>                                  | <b>19</b> |

## **Chapitre II : Les cyclodextrines**

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Introduction .....</b>                                | <b>21</b> |
| Historique.....  | 21        |
| Définition .....   | 21        |
| Structure.....   | 22        |
| Caractéristique physicochimique des cyclodextrines ..... | 23        |
| Toxicité des cyclodextrines.....                         | 24        |
| Types de modifications chimiques.....                    | 24        |
| Dérivés méthyles.....                                    | 25        |
| Dérivés hydroxypropylés .....                            | 25        |
| Dérivés sulfobutylés .....                               | 25        |
| Application des cyclodextrines .....                     | 26        |
| Complexe d'inclusion .....                               | 28        |
| Caractérisation de complexe d'inclusion .....            | 29        |
| Diagramme de solubilité (diagramme d'Higuchi) .....      | 29        |
| Test de dissolution .....                                | 31        |
| <b>conclusion.....</b>                                   | <b>31</b> |

## **Chapitre III : Matériels et Méthodes**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Introduction .....</b>   | <b>33</b> |
| Préparation de l'extrait éthanolique des feuilles d'olivier ..... | 33        |
| Préparation de la matière végétale .....                          | 33        |
| Extraction de l'extrait des feuilles d'olivier.....               | 33        |
| Matériels .....   | 33        |
| Appareillages .....   | 33        |
| Produits chimiques.....   | 33        |
| Méthode 34  |           |
| Dosage des polyphénols totaux.....                                | 35        |
| Principe .....  | 35        |

|   |    |
|---|----|
| Matériels .....   | 35 |
| Appareillage .....  | 35 |
| Produits chimiques.....                                   | 35 |
| Méthode .....   | 35 |
| Dosage des flavonoïdes.....                               | 36 |
| Principe .....  | 36 |
| Matériels .....   | 36 |
| Appareillage .....  | 36 |
| Produits chimiques.....                                   | 36 |
| Méthode .....   | 36 |
| Dosage des tannins condensés .....                        | 37 |
| Principe .....  | 37 |
| Matériels .....   | 37 |
| Appareillages .....                                       | 37 |
| Produits chimiques.....                                   | 37 |
| Méthode .....   | 38 |
| L'activité antioxydant .....                              | 38 |
| Principe .....  | 38 |
| Matériels .....   | 38 |
| Appareillage .....  | 38 |
| Produits chimiques.....                                   | 39 |
| Méthode .....   | 39 |
| Diagramme de solubilité d'Higuchi et Connors .....        | 39 |
| Matériels .....   | 39 |
| Appareillages .....                                       | 39 |
| Produits chimiques.....                                   | 39 |
| Méthode .....   | 40 |
| Dosage des polyphénols totaux des solutions filtrées..... | 41 |
| Principe .....  | 41 |
| Matériels .....   | 41 |
| Appareillage .....  | 41 |
| Produits chimique .....                                   | 42 |

|  |    |
|--|----|
| Méthode .....  | 42 |
| Analyse par spectroscopie infrarouge IR .....                            | 43 |
| Principe .....   | 43 |
| Matériels .....  | 43 |
| Appareillages .....  | 43 |
| Produits chimiques.....  | 44 |
| Méthode .....  | 44 |
| Préparation de complexe d'inclusion.....                                 | 44 |
| Principe44   |    |
| Matériels .....  | 44 |
| Appareillages .....  | 44 |
| Produits chimiques.....  | 44 |
| Méthode .....  | 45 |
| Préparation des mélanges physiques.....                                  | 45 |
| Caractérisation des complexes d'inclusion par teste de dissolution ..... | 45 |
| III.11.1 Principe.....   | 45 |
| Matériels .....  | 46 |
| Appareillages .....  | 46 |
| Produits chimiques.....  | 46 |
| Analyse par spectroscopie IR.....  | 46 |
| Préparation de solution tampon .....                                     | 46 |
| Teste de dissolution.....  | 47 |
| <b>Chapitre IV : Résultats et Discussion</b>                             |    |
| Dosage des polyphénols totaux (Acide gallique).....                      | 49 |
| Résultats.....   | 49 |
| Observation.....   | 49 |
| Interprétation.....  | 49 |
| Dosage des flavonoïdes (la quercitrine).....                             | 50 |
| Résultats.....   | 50 |
| Observation.....   | 50 |
| Interprétation.....  | 50 |
| Dosage des tannins condensés (la catéchine).....                         | 51 |

|  |           |
|--|-----------|
| Résultats.....   | 51        |
| Observations .....   | 51        |
| Interprétations .....  | 51        |
| L'activité antioxydante .....  | 51        |
| Diagramme de solubilité (Higuchi et Connors) .....                     | 52        |
| Résultats.....   | 53        |
| Observation.....   | 53        |
| Interprétation.....  | 53        |
| Observation.....   | 54        |
| IV.5.5 Interprétation.....   | 54        |
| Observation.....   | 55        |
| Interprétation.....  | 55        |
| Analyse par spectroscopie IR.....                                      | 56        |
| Résultat .....   | 56        |
| Discussion.....  | 56        |
| Caractérisation de complexes d'inclusion par teste de dissolution..... | 58        |
| Résultats.....   | 58        |
| Observations .....   | 58        |
| V.7.3. Interprétations.....  | 58        |
| <b>Conclusion Générale .....</b>                                       | <b>59</b> |
| <b>Références bibliographique</b>                                      |           |
| <b>Annexes</b>   |           |

## Liste des abréviations

**CD(s)** : Cyclodextrine (s).

**$\alpha$ -CD** : Alpha-cyclodextrine.

**$\beta$ -CD** : Beta-cyclodextrine.

**$\gamma$ -CD** : Gamma-cyclodextrine.

**MB-CD** : méthyle beta-cyclodextrine.

**CP(s)** : Composés phénolique (s).

**CI(s)** : Complexe(s) d'inclusion.

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

**EFO** : Extrait des feuilles d'olivier.

**ERO** : Espèces réactives d'oxygène.

**G** : Gramme.

**HO** : Radical hydroxyle.

**IR** : Spectroscopie infrarouge.

**KBr** : Bromure de potassium.

**Kd** : Constante de dissociation.

**Ks** : Constante de stabilité.

**L** : litre.

**Mg** : milligramme.

**Min** : minutes.

**ml** : millilitre.

**M** : molaire.

**mM** : milimolaire.

**UV-visible** : Spectroscopie ultra violet.

## Liste des tableaux

**Tableau 1 :** Composition chimique globale des feuilles d'olivier

**Tableau 2 :** Composition en acides aminées des feuilles d'olivier fraîche

**Tableau 3 :** Composition en minéraux des feuilles d'olivier

**Tableau 4 :** Classification des composés phénoliques

**Tableau 5 :** Exemples des composés phénoliques présents dans les feuilles d'olivier

**Tableau 6 :** Caractéristique physicochimiques  $\alpha$ -,  $\beta$ -, et  $\gamma$ -cyclodextrines

**Tableau 7 :** Applications potentielles des cyclodextrines

**Tableau 8 :** Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrines dans des applications alimentaires

**Tableau 9 :** Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrines dans des applications pharmaceutiques

**Tableau 10 :** Exemple de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrines dans des applications cosmétologiques

**Tableau 11 :** Les masses de différentes CDs utilisées.

**Tableau 12 :** Les masses des complexes (Extrait/ $\alpha$ -CD) utilisés.

## Liste des figures

**Figure 1 :** Schéma de la taxonomie du genre *Olea* (*Oleaceae*) et répartition géographique des taxons

**Figure 2 :** Distribution naturel du complexe *Olea europea* dans le monde

**Figure 3 :** Carte d'oléiculture en Algérie.

**Figure 4 :** Les feuilles d'oliviers coproduits de l'oléiculture engendrée en grande quantité lors de la récolte et la tailles des oliviers

**Figure 5 :** Structure chimique d'une fonction phénol

**Figure 6 :** Structure chimique de quelques composés phénoliques identifiés dans les feuilles d'olivier.

**Figure 7 :** Structure chimique de l'oleuropéine.

**Figure 8 :** Représentation de la structure de  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD et  $\gamma$ -CD.

**Figure 9 :** a) Représentation général de la dégradation enzymatique de l'amidon, b) structure chimique et c) structure tridimensionnelle des cyclodextrines.

**Figure 10 :** Représentation de la formation d'un complexe d'inclusion entre une CD et une molécule invitée.

**Figure 11 :** Représentation de différents types de complexes «hôte/invité»

**Figure 12 :** Type de diagrammes selon la classification d'Higuchi et Connors.

**Figure 13 :** Présentation du protocole d'obtention d'extrait éthanolique des feuilles d'olivier

**Figure 14 :** Présentation de test de solubilité (CDs et les feuilles d'olivier).

**Figure 15 :** Organigramme représentant le dosage des polyphénols totaux.

**Figure 16 :** Présentation des complexes d'inclusion formés

**Figure 17 :** Présentation de teste de dissolution des CIs.

**Figure 18:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

**Figure 19:** Courbe d'étalonnage de la quercitrine

**Figure 20:** Courbe d'étalonnage de la catéchine

**Figure 21:** Histogramme de DPPH de l'extrait des feuilles d'olivier.

**Figure 22 :** Diagramme d'Higuchi (extrait- $\alpha$ CD)

**Figure 23 :** Diagramme d'Higuchi (extrait- $\beta$ -CD).

**Figure 24 :** Diagramme d'Higuchi (extrait-M $\beta$ CD).

**Figure 25 :** Spectres Infrarouge de l'extrait des feuilles et la poudre.

**Figure 26 :** Spectres infrarouge de l' $\alpha$ CD, la  $\beta$ CD et M $\beta$ -CD.

**Figure 27 :** Spectres infrarouges des complexes (EFO/CDs).

**Figure 28 :** Histogramme de vitesse de dissolution des CIs.

# **Introduction générale**

L'olivier est considéré comme étant une plante aromatique et médicinale, réservoir de composés naturels aux effets bénéfiques, parmi les composés identifiés dans les extraits de feuilles : les composés phénoliques [1].

D'après les revues bibliographique effectuées, il a été démontré que l'extrait des feuilles d'olivier a une faible solubilité dans les milieux aqueux, pour remédier à ce problème il est intéressant d'utiliser des vecteurs tels que les cyclodextrines.

Les cyclodextrines qui sont des oligosaccharides cycliques pouvaient être utilisés comme vecteurs de choix par formation des complexes d'inclusion avec les molécules hydrophobes et permettre ainsi la solubilisation de ces molécules dans des milieux aqueux [2].

En plus de sa géométrie et de sa réactivité chimique, la cyclodextrine est considérée comme un produit semi naturel pouvant être synthétisé par une technologie écologique par simple conversion enzymatique de l'amidon. D'autre part, n'étant pas onéreuse et sans toxicité révélée, elles sont largement utilisées dans le domaine pharmaceutique vu leurs capacités à encapsuler des molécules lipophiles, d'augmenter leur biodisponibilité, et les protéger contre le milieu extérieur [2].

Les complexes d'inclusions formés à partir des cyclodextrines sont considérés parmi les structures les plus intéressantes en raison de la diversité des structures et le nombre important de leurs applications [3].

L'étude des complexes d'inclusion des molécules organiques avec les cyclodextrines a attiré l'attention de beaucoup des chimistes expérimentateurs et théoriciens pendant les années passées [3].

Le but de ce travail est d'étudier la composition de l'extrait des feuilles d'olivier puis améliorer sa solubilité en utilisant différents types de cyclodextrines par le test d'**Higuchi et Connors**, et enfin caractériser les résultats par infrarouge et UV visible.

Ce mémoire est composé de deux parties. La première partie est constituée d'une recherche bibliographique. Elle est répartie en trois chapitres. Le premier chapitre est consacré à parler sur les feuilles d'olivier, ses propriétés physico-chimiques et thérapeutiques. Le deuxième chapitre est consacré à l'histoire, la structure chimique, la caractérisation physicochimique des CDs et la formation d'un complexe d'inclusion entre une CD et une molécule invitée, Au final le troisième chapitre est consacré à une mise au point sur les radicaux libres, les antioxydants naturels et leur mécanisme d'actions.

Dans la seconde partie, nous avons décrit la méthode d'extraction de feuille d'olivier, par la suite nous avons effectué le dosage des tannins condensés, quantifié les polyphénols totaux, pour déterminer les profils de solubilité des CDs utilisés. Ensuite nous avons effectué un complexe d'inclusion dans la phase aqueuse et le mélange physique ; puis les caractériser par une analyse UV visible et infrarouge.

Les résultats obtenus sont ensuite suivis d'une discussion dans laquelle nous essayerons d'interpréter et de les comparer avec des études réalisées.

# **Chapitre I : Les feuilles d'olivier**

## 1.L'introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. Parmi ces plantes se trouve : l'olivier. C'est une plante dont on consomme principalement le fruit : l'olive. Mais ses feuilles aussi présentent un intérêt certain pour la santé. L'olivier, arbre de la famille des oléacées, cultivé surtout dans le bassin méditerranéen depuis au moins 3500 ans avant notre ère [4]. Cette plante est très valorisée grâce à ses produits riches en valeurs nutritionnelles et thérapeutiques, ce qui en a fait le centre d'intérêt des recherches scientifiques. [5]

## 2.Historique

L'olivier ou bien *Olea europea* est introduit pour la première fois dans "Species plantarum", par **Linné**, en 1753 en raison de son aire géographique [5]. Il était dans l'antiquité grecque et romaine, un emblème de fécondité et un symbole de paix et de gloire. Le nom scientifique de l'arbre "Olea" vient d'un mot qui signifiait "huile" chez les grecques de l'antiquité [4]. *Olea* est le genre appartenant à la famille des *Oleaceae* comprend 30 à 600 espèces [6]. La culture de l'olivier prend son origine de la frontière Irano-Syrienne [7].

L'olivier présente la classification suivante :

*Règne : Plantae*

*Sous-règne : Tracheobionta*

*Embranchement : Agniophyta*

*Sous-embranchement : Angiospermes*

*Classe : Magnoliopsida)*

*Sous-classe : Astéridées*

*Ordre : Scrophulariale*

*Famille : Oléacées*

*Genre : Olea*

*Espèces : Olea europaeae[9]*



**Figure 1** : Schéma de la taxonomie du genre *Olea* (*Oleaceae*) et répartition géographique des taxons [9].

En Algérie, l'oléastre véritable aurait existé depuis des millénaires avant notre ère, mais aucune indication ne permet d'en comprendre l'évolution [10]. Son importance dans l'alimentation des anciens habitants de Djerba, en Tunisie, qui, en pressant ses fruits, obtenaient de l'huile a été déjà citée [11]. Le type sauvage, un complexe de formes non cultivées et chétif, classé conventionnellement comme *Olea europaea* var. *oleaster* ou *sylvestris*, est un composant de la végétation méditerranéenne [12].

### 3. Répartition géographique

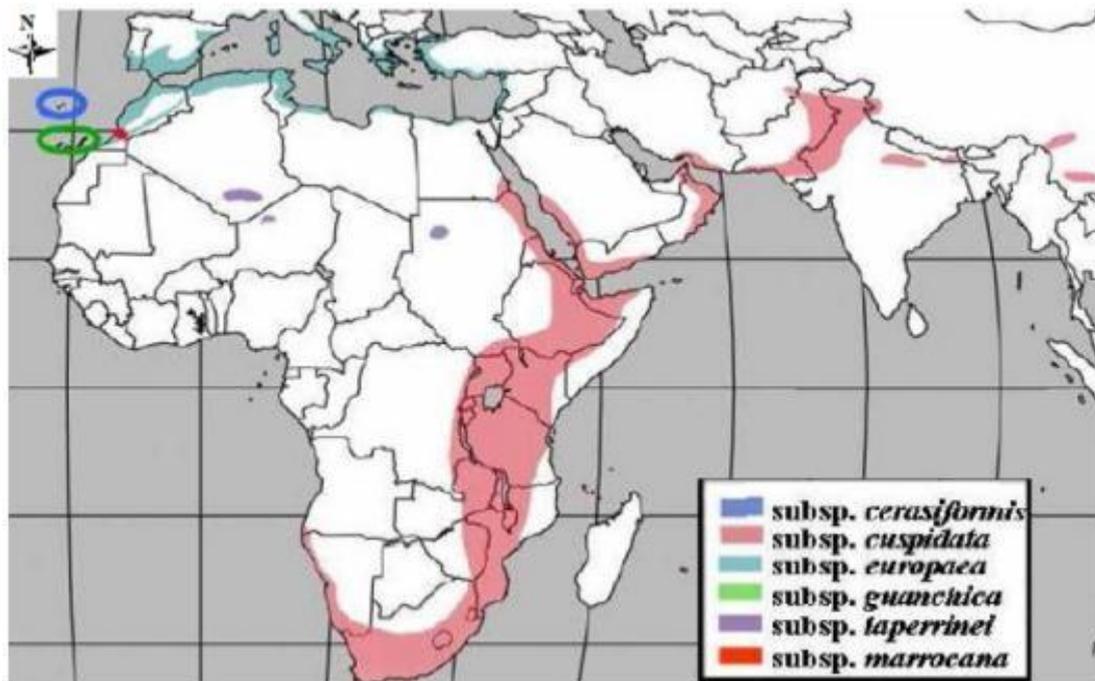
#### Dans le monde

La zone naturelle de répartition géographique de l'olivier dans le monde se situe principalement entre le 26 ° et le 45° degré de latitude nord et sud [5]. La culture d'olivier est l'une des plupart activités agricoles importantes dans les pays méditerranéens, elle couvre 8 million d'hectares, presque 98% de la récolte mondiale [13].

En Afrique, l'olivier est cultivé par ordre d'importance en Tunisie (56 millions), Maroc (50 millions), Algérie, Libye, Egypte, Afrique du Sud et Angola. Les pays d'Europe qui cultivent l'olivier sont par ordre d'importance : L'Espagne (309 millions d'oliviers), l'Italie (238 millions), la Grèce (170 millions), le Portugal (72 millions) et la France (7 millions). Au Moyen Orient et en Asie, les pays cultivateurs d'olivier sont par ordre d'importance Turquie, Syrie, Palestine, Liban, Jordanie, Irak, Iran et Chine. En Amérique,

l'olivier est cultivé par ordre d'importance en Argentine, Mexique, Chili, Pérou, Uruguay, Brésil et Etats Unis (Californie). L'Australie fait partie des nouveaux producteurs.

Le bassin méditerranéen reste une zone privilégiée par rapport au reste du monde pour la culture de l'olivier grâce à son climat adéquat tant au niveau de la température mais aussi au niveau de l'hydrométrie [14].



**Figure 2 :** Distribution naturel du complexe *Olea europaea* dans le monde [15].

### En Algérie

L'Algérie possède un patrimoine oléicole très riche avec environ 32 millions d'oliviers, répartis sur une superficie de 328,884 hectares, soit 34,09% du verger arboricole national [16] et 4,26% du patrimoine mondiale [5]. L'olivier avec ses nombreuses vertus telles que sa résistance à la sécheresse, sa capacité d'adaptation, sa culture maintient la biodiversité sur des terres pauvres et contribue à freiner la désertification et l'érosion des sols, ses fonctions ont aidé sa diffusion sur le territoire national. Il se concentre notamment dans certaines wilayas : comme Bejaia, Tizi-Ouzou et Bouira qui ont produit à elle seules en 2008 ,179180 hectolitres d'huile sur une superficie de 108893 ha, soit 51% de la production nationale et environ 44% du verger national oléicole. Ces trois wilayas sont spécialisées beaucoup plus sur la production d'huile [17].

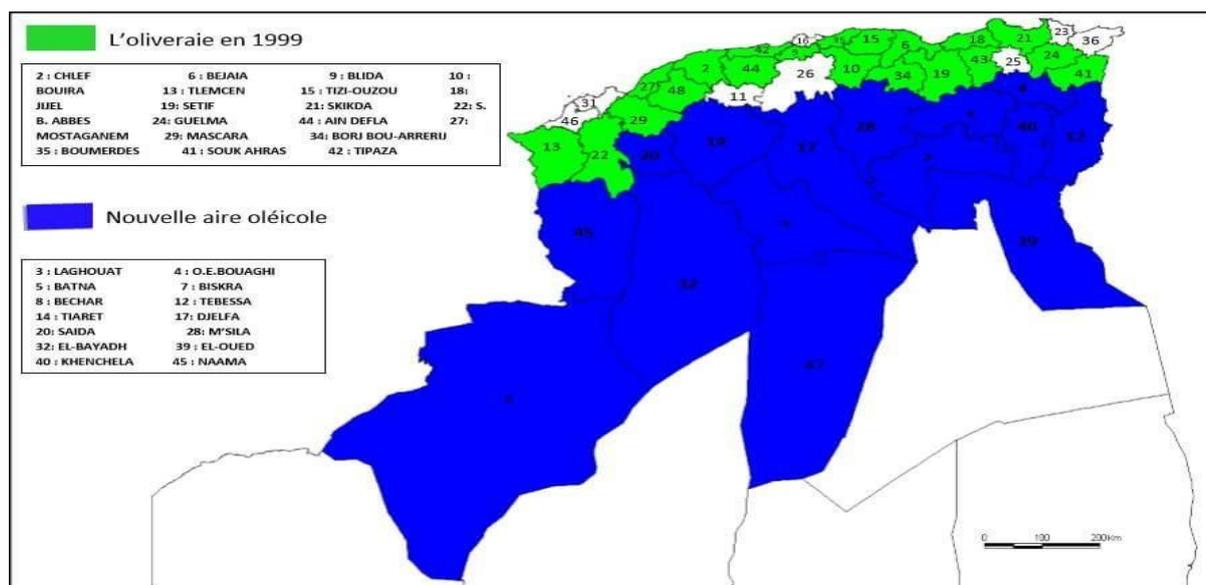


Figure 3 : Carte d'oléiculture en Algérie. [15]

#### 4. Les variétés algériennes

La caractéristique de la culture d'olivier en Algérie, aussi ancienne que traditionnelle, est l'utilisation actuelle d'un matériel végétal sélectionné naturellement au fil des siècles.

Le patrimoine variétal algérien est constitué de plusieurs variétés de cultivars [18].

- **Chemlal** : C'est la variété la plus dominante en Algérie, elle représente près de 45% du patrimoine oléicole nationale.
- **Ségoise** : C'est une variété auto-fertile, elle représente 20% de la verge oléicole nationale. Généralement, elle se localise à l'ouest du pays allant d'Oued Rhiau jusqu'à Tlemcen. C'est une variété à deux fins.
- **Azeradj et Bouchouk** : Elles accompagnent généralement le peuplement de Chemlal dont Azeradj améliore la pollinisation. Elles présentent un gros fruit destiné à la conserverie et même à la production d'huile.
- **Limli** : Représente 8% de la verge oléicole nationale, elle se rencontre dans la région d'Oued Soummam.
- **Rougette de Mitidja** : C'est une variété à huile installée dans la plaine de Mitidja et sur le piémont de l'Atlas, à faible altitude.
- **Rougette de Guelma et blanquette de Guelma** : Elles se trouvent en association dans la région Est du pays.[9]

## 5. Les feuilles d'olivier

### Définition

Les feuilles d'olivier sont persistantes, lancéolées, d'une couleur vert-grisâtre puis au-dessus, et blanc-argenté au-dessous, pour avoir un meilleur intérêt thérapeutique, les feuilles sont récoltées aux mois de Mars et Avril, avant la formation de leurs boutons floraux, et lorsqu'elles sont en pleine croissance, puis séchées pour préparer des tisanes, des gélules et des teintures-mère. Très souvent, elles contiennent des matières grasses, des cires, des chlorophylles, les acide (gallique et malique), des gommes, des fibres végétales [19].

### Biomasse

L'industrie oléicole engendre, à côté de produit principal (huile d'olive), des coproduits de type liquide (margines) et solide (grignons, feuilles et brindilles). Ces dernières sont collectées par différentes façon : soit lors de la taille des oliviers, où la quantité produite lors de cette opération, est estimées à environ 25kg de feuilles et brindilles par an et par arbre [20]; ou bien durant la récolte d'olive, après la séparation des fruits, où les feuilles forment 10% du poids d'olive récoltés [21].



**Figure 4 :** Les feuilles d'oliviers coproduits de l'oléiculture engendrée en grande quantité lors de la récolte et la tailles des oliviers [5].

### Composition des feuilles d'olivier

Les feuilles d'oliviers sont caractérisées par une matière sèche d'environ 50%. La composition chimique des feuilles varie en fonction de nombreux facteurs : variété, conditions climatiques, époque de prélèvement, âge des plantations [20]. Elles sont riches en carbohydrates, la matière organique est constituée par des protéines, des lipides, des

monomères et polymères phénoliques (tel que les tannins) et principalement par des polysaccharides (tel que cellulose, hémicelluloses) [5].

La composition en acides aminés et en minéraux des feuilles d'olivier, est démontrée dans les Tableaux 2 et 3 respectivement.

**Tableau 1 :** Composition chimique globale des feuilles d'olivier (exprimé en g par 100g) [5]

| Composition (en %) | Boudhrioua et al., 2009 | Erbay et Icier, 2009 | Martin-Garcia et al., 2006 | Garcia-Gomez et al., 2003 | Fegeros et al., 1995 |
|--------------------|-------------------------|----------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------|
| Eau                | 46,2-49,7 a             | 49,8 a               | 41,4 a                     | nd                        | 44,0 a               |
| Protéines          | 5,0-7,6 a               | 5,4 a                | 7,0 b                      | nd                        | nd                   |
| Lipides            | 1,0-1,3 a               | 6,5 a                | 3,2 b                      | 6,2 b                     | nd                   |
| Minéraux           | 2,8-4,4 a               | 3,6 a                | 16,2 b                     | 26,6 b                    | 9,2 b                |
| Carbohydrates      | 37,1-42,5 a             | 27,5 a               | nd                         | nd                        | nd                   |
| Fibres brutes      | nd                      | 7,0 a                | nd                         | nd                        | 18,0 b               |
| Cellulose          | nd                      | nd                   | nd                         | 19,3 b                    | 11,4 b               |
| Hémicellulose      | nd                      | nd                   | nd                         | 25,4 b                    | 13,3 b               |
| Lignin             | nd                      | nd                   | nd                         | 30,4 b                    | 14,2 b               |
| Polyphénols totaux | 1,3-2,3 b               | nd                   | 2,5 b                      | nd                        | nd                   |
| Tannins solubles   | nd                      | nd                   | nd                         | nd                        | 0,3 b                |
| Tannins condensés  | nd                      | nd                   | 0,8 b                      | nd                        | 1,0 b                |

a correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse fraîche des feuilles d'olivier.

b correspond aux valeurs exprimées par rapport à la masse sèche des feuilles d'olivier.

nd : valeur non déterminée

**Tableau 2 :** Composition en acides aminées des feuilles d'olivier fraîche (exprimé en g par Kg d'azote total) [4].

| Acides aminés                           | Concentration |
|---|---------------|
| Acide aspartique                        | 27,5          |
| Acide glutamique                        | 35,1          |
| Serine                                  | 44,5          |
| Glycine                                 | 79,6          |
| Histidine                               | 25,4          |
| Arginine                                | 162,0         |
| Threonine                               | 46,8          |
| Alanine                                 | 73,8          |
| Proline                                 | 84,2          |
| Tyrosine                                | 32,3          |
| Valine                                  | 74,8          |
| Méthionine                              | 5,3           |
| Cystéine                                | 1,6           |
| Isoleucine                              | 58,8          |
| Leucine                                 | 104           |
| Phénylalanine                           | 51,8          |
| Lysine                                  | 19,1          |
| Acides aminés essentiels                | 547           |
| Acides aminés non essentiels            | 379           |
| Acides aminés totaux (sans tryptophane) | 926           |

**Tableau 3 :** Composition en minéraux des feuilles d'olivier (exprimé en g par Kg de matière sèche) [22].

| Minéraux       | Concentration |
|----------------|---------------|
| Calcium (Ca)   | 12,7          |
| Phosphore (P)  | 2,1           |
| Manganèse (Mg) | 1,9           |
| Potassium (K)  | 6,3           |
| Fer (Fe)       | 273,0         |
| Cuivre (Cu)    | 10,7          |
| Zinc (Zn)      | 21,3          |
| Magnésium (Mn) | 50,0          |

### Profil phénolique

#### Généralité sur les composés phénoliques

##### a. Définition et localisation des composés phénoliques

Les composés phénoliques, des métabolites secondaires (molécules nécessaires à la défense de la plante contre les agressions extérieures), sont un ensemble des substances organiques phytochimiques, avec plus de 8000 structures phénolique connues, présents dans tous les organes de la plante [23]. La structure de base est caractérisée par un noyau benzoïque, auquel est directement lié un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une fonction éther, ester, ou hétéroside [24].



**Figure 5 :** Structure chimique d'une fonction phénol. [5]

D'autre terme les composés phénoliques sont des substances dérivées de la voie métabolique de l'acide shikimique [25], synthétisés par l'ensemble des végétaux et participent aux réactions de défense face à différents stress biotique (agents pathogènes, blessures, symbiose) ou abiotique (lumière, rayonnement UV, changement de température et carences). Les polyphénols contribuent à la qualité organoleptique des aliments issus des végétaux (couleur, astringence, arôme, amertume) [4].

Dans la cellule, les composés phénoliques sont essentiellement localisés sous forme soluble dans les vacuoles. Ils peuvent également s'accumuler dans les parois végétales : c'est le cas de la lignine (hétéropolymère d'alcools coniférylique, p-coumarylique et sinapylique) ou de certains flavonoïdes [26].

### b. Classification des polyphénols

Aucune classification universelle de composés phénoliques n'existe [27], donc de nombreux auteurs ont les réparties avec leurs propres classifications. Certains ont classifiés les polyphénols en groupes en se basant sur le nombre de carbone dans la molécule ; d'autres les ont séparés en deux catégories : les non flavonoïdes et les flavonoïdes.

La classification est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. [10]

**Tableau 4 :** Classification des composés phénoliques [28]

| Nombre d'atome de carbone | Structure | Classe                                | Exemples  |
|---------------------------|-----------|---------------------------------------|---|
| 6                         | C6        | Phénols simples                       | Catéchol, hydroquinones                           |
| 7                         | C6-C1     | Acides phénoliques                    | Acide gallique, Vanilline                         |
| 8                         | C6-C2     | Acétophénones, Acides phénylacétiques | 3-acétyl6-Méthoxybenzaldehyde<br>Gallacetophénone |
| 9                         | C6-C3     | Acide cinnamique, coumarins,          | Acide caféique, Esculétine                        |

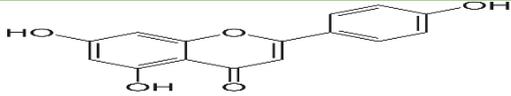
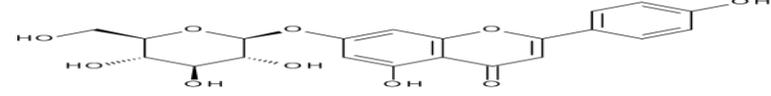
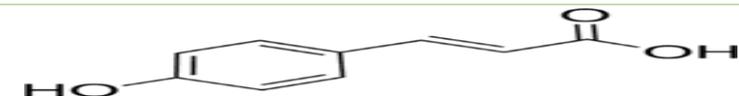
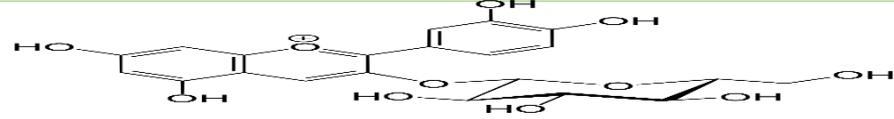
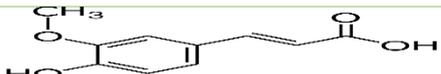
|    |                         |   |                                 |
|----|-------------------------|---|---------------------------------|
|    |                         | chromones                               |                                 |
| 10 | C6-C4                   | Naphtoquinones                          | Shikonine                       |
| 13 | C6-C1-C6                | Xanthonés                               | Bellidifoline, Mangocétine      |
| 14 | C6-C2-C6                | Stilbènes                               | Hydrangénol, pinosylvine        |
| 15 | C6-C3-C6                | Flavonoïdes, isoflavonoïdes             | Quercétine, Roténoïde           |
| 18 | (C6-C3) <sub>2</sub>    | Lignanes                                | Matairésinol                    |
| 30 | (C6-C3-C6) <sub>2</sub> | Bi flavonoïdes                          | Amentoflavone,<br>Hinokiflavone |
| N  | (C6-C3-C6) <sub>n</sub> | Tannins condensés,<br>Proanthocyanidols | Aesculitanins                   |

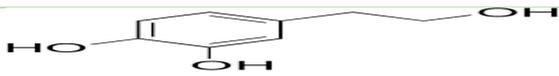
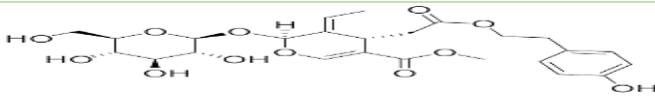
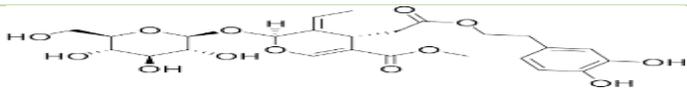
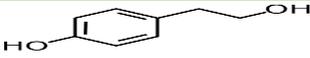
### Composition des feuilles d'olivier en composés phénoliques

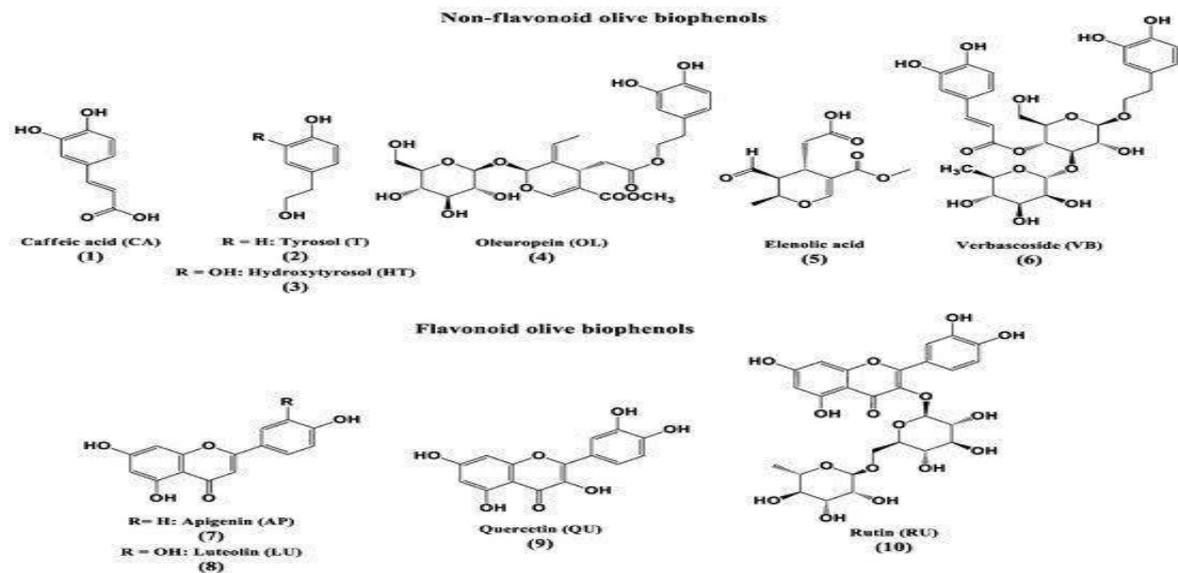
Les composés phénoliques ont été l'intérêt de plusieurs recherches scientifiques grâce à leurs propriétés thérapeutiques et bienfaits sur la santé humaine. Les feuilles d'olivier sont considérées comme une source significative de composés phénoliques bioactifs équivalentes aux produits principales (huile et fruits d'olivier) [29]. La teneur en composés phénoliques des feuilles d'olivier varie entre 2,8 mg/g de matière sèche et 44,3 mg/g de matière sèche, elle peut même dépasser les 250 mg/g de matière sèche [5]. Cette variation de composés bioactifs dépend de plusieurs facteurs tels que l'âge des feuilles, l'origine, les conditions climatiques, le mode de séchage, la période de récolte et le type de solvant d'extraction [13].

Les feuilles d'olivier sont très riches en composés phénoliques monomères et polymères de différentes structures, elles se composent de triterpènes (l'acide olenolique), flavonoïdes (l'acide olenolique), sécoiridoïdes (oleuropéine et l'oleuropeoside), acide phénolique (l'acide vanillique), alcools phénoliques (tyrosol et hydrotyrosol) [30], l'oleuropéine est le composé phénolique majoritaire dans les feuilles d'olivier [31].

Tableau 5 : Exemples des composés phénoliques présents dans les feuilles d'olivier [5].

| Composé phénolique    | Structure chimique   |
|-----------------------|--|
| Apigenin              |    |
| Apigenin-7-glucoside  |    |
| Caffeic acid          |    |
| Catechin              |    |
| p-Coumaric acid       |   |
| Cyanidin-3-glycosides |  |
| Demethyloleuropein    |  |
| Diosmetin             |  |
| Elenolic acid         |  |
| Ferulic acid          |   |
| Gallic acid           |   |
| Gentisic acid         |   |

|                                       |  |
|---------------------------------------|--|
| <b>Hydroxytyrosol</b>                 |    |
| <b>Luteolin</b>                       |    |
| <b>Ligstroside</b>                    |    |
| <b>Oleoside</b>                       | /  |
| <b>Oleuropein</b>                     |    |
| <b>Protocatechuic acid</b>            |     |
| <b>Quercetin</b>                      |    |
| <b>Rutin (quercetin-3-rutinoside)</b> | /  |
| <b>Sinapic acid</b>                   |  |
| <b>Tyrosol</b>                        |   |
| <b>Vanillic acid</b>                  |   |
| <b>Verbascoside</b>                   | /  |



**Figure 6 :** Structure chimique de quelques composés phénoliques identifiés dans les feuilles d'olivier.

### L'oleuropéine

L'oleuropéine un sécoiridoïdes, présent dans tous les produits d'olivier (fruits, huile d'olive, feuilles, etc.). C'est le composé bioactif majoritaire dans les feuilles d'olivier, il est responsable du goût amer des feuilles d'olivier, de l'huile d'olivier et les olives non fermentés. Plusieurs recherches ont démontré que l'oleuropéine possède des activités biologiques importantes tels que : l'activité antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire, hypoglycémique, hypotensive, aussi un effet cardio-protecteur et neuro-protecteur. Il améliore aussi le métabolisme des lipides pour se protéger contre l'obésité. L'oleuropéine agit dans le processus de l'auto-défense d'olivier contre l'attaque des agents pathogènes et des insectes [5].

La teneur en oleuropéine dans les feuilles d'olivier est de 6,8 g/100g de feuilles fraîche [32], ceci fait que les feuilles d'olivier sont une source naturelle renouvelable pour l'extraction d'oleuropéine [4].



empêche ou retarde le taux de croissance d'une gamme de bactéries et de microchampignons. L'*Olea europaea* peut être considéré comme une source potentielle d'agents antimicrobiens prometteurs pour le traitement des infections des systèmes gastro intestinal ou respiratoire de l'homme. La feuille d'olivier elle-même est un fongicide et contient un antibactérien l'oleuropéine, qui protège l'arbre des champignons et moisissures [34].

### **Activité antiallergique**

L'activité antiallergique est attribuée à l'influence des polyphénols sur la production de l'histamine. En effet, les flavonoïdes inhibent les enzymes, tels que l'AMP cyclique phosphodiesterase et ATPase, responsables de la libération de l'histamine à partir des mastocytes et des basophile [35].

### **Activité anti-inflammatoire**

Plusieurs études ont montrés que certains flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes. Ils ont même reporté que les effets de la quercitrine et la myricétine sont dose-dépendant. A des fortes concentrations, ils inhibent la cyclooxygénase et lipooxygénase. Cependant, à des faibles concentrations, seule la lipooxygénase est affectée. En outre, d'autres flavonoïdes tels que l'apigénine et la chryisine agissent principalement sur l'activité de la cyclooxygénase [36].

### **Effet anticancéreux**

Cette effet est présent généralement dans tous les types de thé, particulièrement dans le thé vert, la catéchine a montré une activité anti-tumorale [37]. Cette activité est attribuée à la capacité d'un flavonoïde d'inactiver le t-PA (tissue type plasminogen activator) en greffant à celui-ci la laminine, une molécule de la matrice extracellulaire qui joue un rôle important durant la morte cellulaire. La quercitrine inhibe les croissances cellulaires en empêchant certaines phases du cycle cellulaire en bloquant les sites récepteurs d'hormones [38].

## **7. Domaines d'utilisations des feuilles d'oliviers**

### **Domaine de l'alimentation animale**

Les feuilles sont utilisées dans l'alimentation des moutons et chèvres [39]. Elles sont également utilisées dans l'alimentation des dindes pour améliorer la qualité de leurs viandes [40].

### **Domaine thérapeutique**

La consommation humaine d'infusion des feuilles d'olivier est bénéfique pour la santé [41]. Les feuilles d'olivier ont un pouvoir anti-inflammatoire, antifongique et antimicrobien[42].

### **Domaine pharmaceutique**

La valorisation concerne l'extraction des tocophérols et de l'oleuropéine, ainsi que la production de l'hydroxytyrosol [43]. D'autres substances extraites des feuilles d'olivier sont également aussi valorisées, tels que les flavonoïdes [44], les stérols et les alcools gras [45].

### **Domaine cosmétologique**

Les feuilles sont utilisées dans la formulation des produits cosmétiques, tels que les savons, les crèmes,...etc [46].

### **Industries alimentaires**

Les feuilles d'olivier peuvent être utilisées comme des ingrédients dans la formulation d'aliments pour les hyper-glycémiques [47], stabilisant de l'huile de tournesol [48] et de l'huile d'olive [24].

## **8. Utilisation traditionnelle des feuilles d'olivier**

Historiquement les feuilles d'olivier sont totalement orientées vers l'alimentation animale ; parfois elles sont utilisées en médecine traditionnelle [4]. A l'époque grecque, les feuilles sont utilisées pour désinfecter les blessures cutanées, les anciens leur accordaient des vertus antiseptiques et la propriété de combattre toute sortes d'infections. Les anciens Egyptiens s'en servaient des feuilles d'olivier pour momifier les pharaons ; de même elles sont appréciées comme un remède populaire célèbre pour traiter la fièvre. Au XIX<sup>ème</sup> siècle,

on les employées pour combattre la malaria (paludisme) et l'hypertension. Ces emplois ont été abandonnés par l'apparition des antibiotiques. Cependant, les professionnels modernes de la santé ont commencé à utiliser l'extrait de feuille d'olivier, en 1995, les premiers résultats furent très positifs. Depuis, il a été démontré que la feuille d'olivier possède de nombreux avantages thérapeutiques contre de nombreuses maladies et des vertus dans le maintien de la santé globale. [4]

L'olivier et ses dérivés sont parmi les plantes médicinales les plus étudiés, grâce à leurs bienfaits et pouvoirs thérapeutiques. Par leurs pouvoir antimicrobien et antiviral, les feuilles d'olivier peuvent être bénéfique dans le traitement des affections causées par ou associés à un virus, un rétrovirus, une bactérie ou un protozoaire. Parmi ces pathologies traitables il y a : la grippe, le rhume, les infections dues aux candidats, la méningite, l'encéphalite, le VIH / ARC / SIDA, la fatigue chronique, l'hépatite B, la pneumonie, la tuberculose, la malaria, la diarrhée sévère, les infections des voies urinaires et les soins dentaires. [11]

L'activité antioxydante de l'extrait des feuilles d'olivier s'agit de protéger les vaisseaux sanguins et améliorer la circulation sanguine, son efficacité à la protection du cœur lors d'une occlusion coronaire a été démontrée. Les feuilles d'olivier sont considérées comme des anticancéreux, hypotenseurs, radio-protectives, elles possèdent aussi des propriétés anti-lipidimique (diminuer le mauvais cholestérol "LDL" en augmentant le bon cholestérol "HDL"), ce qui en fait un inestimable complément du traitement du diabète non insulino-dépendant.

Les études réalisées sur les effets thérapeutiques des feuilles d'olivier pour la santé sont généralement des études in vitro. Quelques études in vivo ont été réalisées [5].

## **9. Conclusion**

Ce chapitre a traité plusieurs paramètres qui nous rendent compte que les feuilles d'olivier jouent un rôle important dans différents domaines, particulièrement dans le domaine pharmaceutique grâce à leurs propriétés physico-chimique et thérapeutique bénéfique pour la santé humaine.

## **Chapitre II : Les cyclodextrines**

## Introduction

Les cyclodextrines sont largement utilisées comme « cages moléculaires » dans le domaine pharmaceutique, qui sont aussi une famille d'oligosaccharides cyclique a surface externe hydrophile et une cavité centrale lipophile [49].

Ils sont appliqués comme agents complexant pour améliorer la solubilité aqueuse de médicaments peu solubles, pour augmenter leur biodisponibilité et leur stabilité [50].

## Historique

Les cyclodextrine a été découverte en 1891, par un scientifique français A.villiers, après les avoir découvertes et isolées à partir de produits de dégradation de l'amidon, elles étaient appelées cellulose car leurs propriétés se rapprochent de celles de la cellulose [51].

Après des années ,Schardinger isole la souche bactérienne responsable de la production de la CD ,une enzyme qui a la capacité de transformer l'amidon en CD .Shardinger a distingué le mode d'obtention de l' $\alpha$ -et  $\beta$ -dextrine .il les différencie par leur capacité à former des complexes de couleurs différentes avec l'iode ,gris –vert et rouge – pourpre ,respectivement [52].

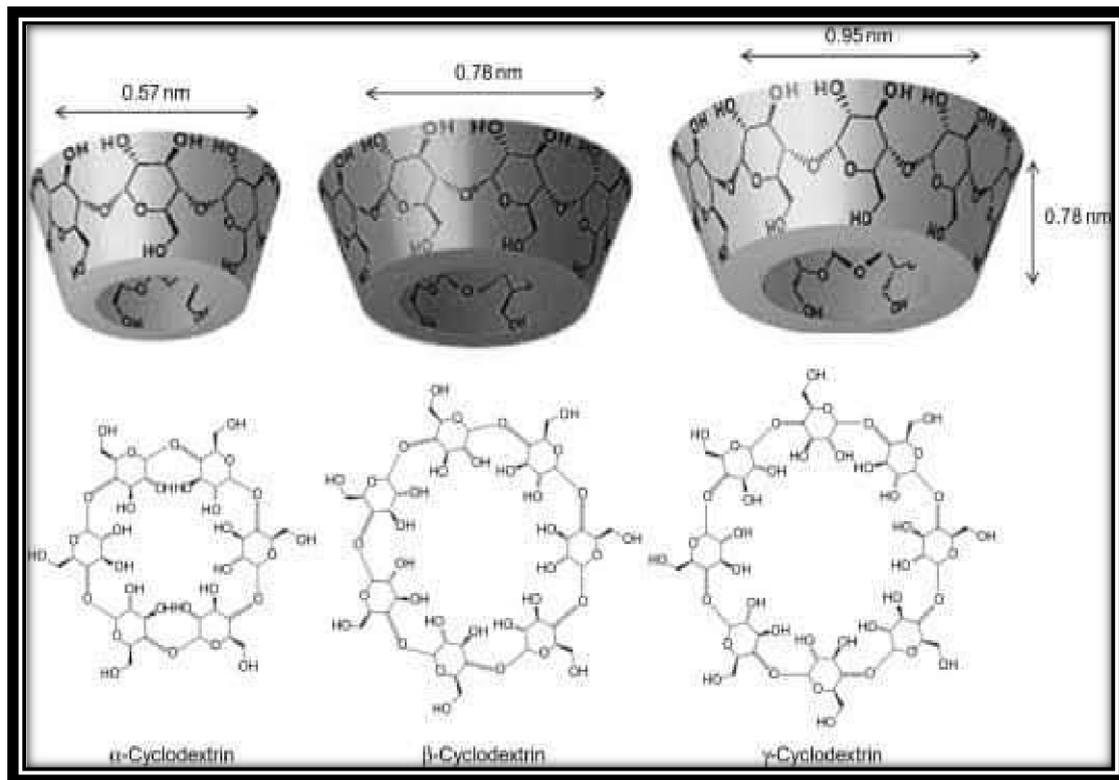
En 1930, freudenberg et son équipe révèlent la structure de l' $\alpha$ -et  $\beta$  dextrine, et que les CD ont une construction cyclique composée d'unités maltose reliées par des liaisons glycosidriques  $\alpha - (1-4)$ . [53]

À la fin d'années 1930, il évoque le caractère hydrophobe de la cavité des dextrines et leur capacité à former des complexes [54].

Entre 1948et 1950 freudenberg et carmer découvrent la taille et la structure de la  $\gamma$ -dextrine [55], et french décrit des protocoles pour préparer les dextrines [56].

## Définition

Les cyclodextrines (CD) sont des oligosaccharides cyclique non réducteurs liés par des liaisons  $\alpha$ -1,4 glycosidiques.il existe trois types des CD  $\alpha$ -, $\beta$ - et  $\gamma$ - qui contiennent six ,sept et huit unités de glucose ,respectivement .la CD a une forme conique qui est hydrophile à l'extérieur avec une cavité hydrophobe à l'intérieur (figure 2.1) [57].

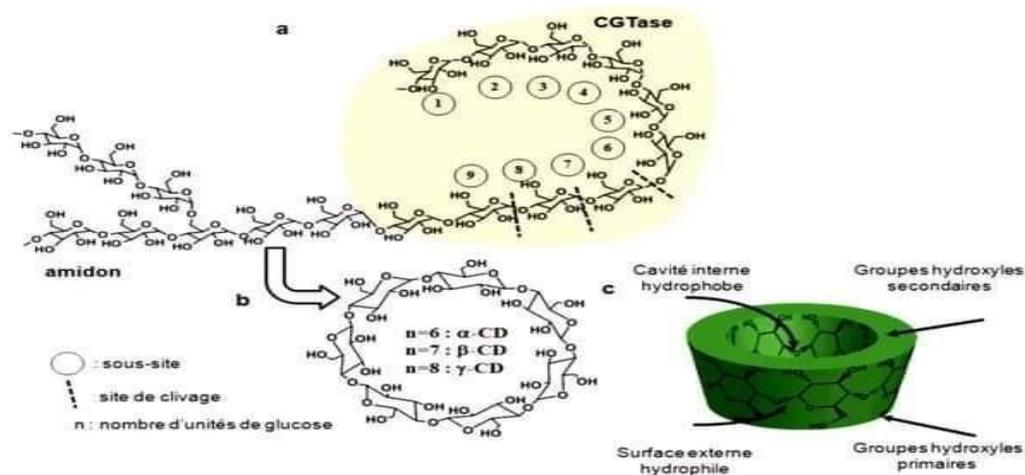


**Figure 8 :** Représentation de la structure de  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD et  $\gamma$ -CD. [8]

### Structure

Les CDs à l'intérieur ont une paroi hydrophobe qui est créée, tandis qu'à l'extérieur la surface est hydrophile. Ces caractéristique structurale sont à l'origine des propriétés très particulières des CDs [58]. ces polysaccharides sont composés d'unités glucopyranose, et reliés par des liaisons glycosidiques  $\alpha$ -1,4 formant une structure tronconique, et qui possèdent une cavité centrale dont les ouvertures sont bordées de groupes hydroxyle [59].

Les groupe hydroxyles primaire, portés par les carbones C6, et les groupes hydroxyles secondaire des unités glucopyranose, portés par les carbones C2 et C3, sont localisés autour de l'autre ouverture, rendue plus étroite par leurs libre rotation. ces nombreux groupes hydroxyles procurent à l'extérieur des CDs un caractère hydrophile [60].



**Figure 9 :** a)Représentation générale de la dégradation enzymatique de l’amidon, b) structure chimique et c)structure tridimensionnelle des cyclodextrines.

### Caractéristique physicochimique des cyclodextrines

Les principales caractéristiques physicochimiques sont rassemblées dans le tableau suivant tableau :

**Tableau 6 :** Caractéristique physicochimiques α-,β-, et γ-cyclodextrines [61]

| Propriétés                 | A CD  | B CD  | γCD   |
|----------------------------|---|---|---|
| Nombre d'unité glucose     | 6   | 7   | 8   |
| Formule brute              | C <sub>30</sub> H <sub>60</sub> O <sub>30</sub> | C <sub>42</sub> H <sub>72</sub> O <sub>35</sub> | C <sub>48</sub> H <sub>80</sub> O <sub>40</sub> |
| Masse molaire (g/mol)      | 972   | 1135  | 1297  |
| Hauteur (nm)               | 0.79±0.01                                       | 0.79±0.01                                       | 0.79±0.01                                       |
| Diamètre de la cavité (nm) | 0.47-0.53                                       | 0.60-0.65                                       | 0.75-0.83                                       |
| Diamètre extérieur (nm)    | 1.46±0.04                                       | 1.54±0.04                                       | 1.75±0.04                                       |

|   |       |       |       |
|---|-------|-------|-------|
| <b>Solubilité dans l'eau<br/>(g/l à 25 °C)</b>  | 145   | 18.5  | 232   |
| <b>Volume de la cavité<br/>(nm)<sup>3</sup></b> | 0.174 | 0.262 | 0.427 |
| <b>pka à 25°C</b>                               | 12.3  | 12.2  | 12.1  |

### Toxicité des cyclodextrines

En générale, les cyclodextrine naturelle et leurs dérivées plus hydrophile sont capable de passer à travers les membranes biologique lipophile, telles que la corné,les muqueuses et la peau , mais avec de grandes difficultés [62].,ceci est dû dans la plupart du temps à leur structure chimique et au poids moléculaire qui limite ce passage .ceci a été vite écarté car les étude de toxicité qui on suivit , ont démontré que l'administration orale de cyclodextrines est non –toxique [63-64].

### Types de modifications chimiques

Les propriétés physico-chimiques des dérivés des CD y compris leurs capacités de solubiliser et de complexer avec des molécules dans les milieux, dépendent du nombre, de type et de la localisation du substituant ajouté dans la molécule de cyclodextrine [65].

Les modifications chimique les plus courantes et leurs principe :

- Substitution d'un ou de plusieurs groupements hydroxyles par des halogènes ou des amines ;
- substitution d'un ou de plusieurs atomes d'hydrogène (hydroxyles primaires ou secondaires) pour former des éthers ou des esters ;
- Augmenter la solubilité aqueuse des CDs ;
- Augmenter leur capacité de complexation ;

Les CD plus importantes sont les dérivés ayant une grand solubilité dans l'eau, en particulier :les  $\beta$ -CD méthyles , les  $\beta$ -et  $\gamma$ -CD hydrox propylées , les  $\beta$ -CD sulfobutylées [66].

### Dérivés méthyles :

Le greffage de groupements méthyles améliore considérablement la solubilité des CD.

Les dérivés méthyles de la  $\beta$ -cyclodextrine dans l'eau froide 10 à 20 fois mieux que la  $\beta$ -CD elle-même [64]. ces dérivés présentent une meilleure solubilité que la CD native et une bonne capacité d'inclusion pour les produits faiblement solubles dans l'eau.

Néanmoins, la RAMEB reste plus attractive pour le domaine pharmaceutique car elle présente une capacité de complexation importante [67].

Les formes sont :

- la RAMEB ( $\beta$ -CD méthylée, R2 et /ou R3 et /ou R6=H ou -CH<sub>3</sub>) ;
- la CRYSMEB (R2=-CH<sub>3</sub> ou H et R3=R6=H)

### Dérivés hydroxypropylés

Ces derniers sont élaborés par l'association de la  $\beta$ -CD avec l'oxyde de propylène en milieu alcalin. Le HP- $\beta$ -CD possède une taille de cavité identique à celle de son homologue de  $\beta$ -CD, mais une meilleure solubilité aqueuse (dans l'eau >600 mg) à cause de son puissant caractère hydrophile. Le HP- $\beta$ -CD est le plus fascinant dans le domaine pharmaceutique en raison de sa solubilité aqueuse élevée et sa faible toxicité [68].

La forme est :

- L'HP- $\beta$ -CD (R2 et / ou R3 et /ou R6=-[CH<sub>2</sub>-CH(CH<sub>3</sub>)-O]<sub>n</sub>-H)

### Dérivés sulfobutylés

Ces dérivés sulfobutylés ont une propriété de solubilité aqueuse élevée. la sulfobutylé est connue à l'échelle industrielle sous le nom de CAPTISOL, cette dernière présente un gamma de six à sept groupe d'éthers par molécule de CD, et porte une charge négative dans les conditions physiologique. cela est dû aux groupements d'acide sulfonique qui lui attribuent un pKa très faible.

La SBE- $\beta$ CD est adoptée comme un excipient dans le domaine pharmaceutique, qui attire une attention croissante dans l'administration de médicaments [69] ;

La forme est :

Les sulfobutyléther- $\beta$ -CDs (SBE- $\beta$ -CD) (R2 et/ou R3 et/ou R6=-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OSO<sub>3</sub>Na)

### Application des cyclodextrines

De nombreuses études ont montré l'application des CD dans différents domaines tel que pharmaceutique, le cosmétique, l'agroalimentaire [70].

Le tableau suivant les regroupe

**Tableau 7 :** Applications potentielles des cyclodextrines [70].

| Industrie              | Exemple d'application                         |
|------------------------|---|
| Domaine alimentaire    | Huiles, arômes, vitamines, colorants          |
| Domaine pharmaceutique | Stéroïdes, barbituriques, anti-inflammatoires |
| Domaine cosmétologie   | Parfums, shampooings, crèmes, lotions         |

Parmi les rôles des CDs, l'amélioration des propriétés de certaines substances, les tableaux suivants montrent ces dernières.

**Tableau 8 :** Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrines dans des applications alimentaires [70].

| Exemples de propriétés         | Substances concernées          |
|--------------------------------|--------------------------------|
| Stabilité de produits volatils | Menthol, moutarde, confiseries |
| Résistance à l'oxydation       | Framboise, miel                |
| Résistance à la chaleur        | Produits diététiques           |
| Résistance à l'hydrolyse       | Aspartames                     |

|  |                                 |
|--|---------------------------------|
| <b>Masquage d'odeurs indésirable</b>         | Café, thé, limonène             |
| <b>Extraction de composants indésirables</b> | Cholestérol (beurre, lait œufs) |
| <b>Prolongation des arômes</b>               | Bonbons, chewing-gum, épices    |

**Tableau 9 :** Exemples de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrines dans des applications pharmaceutiques [70].

| <b>Exemples de propriétés</b>               | <b>Produits concernés</b>             |
|---|---------------------------------------|
| <b>Amélioration de la biodisponibilité</b>  | Indométacine                          |
| <b>Diminution des effets secondaires</b>    | Phénylbutazone                        |
| <b>Augmentation de la solubilité</b>        | Prostaglandines, vitamines A, D, E, K |
| <b>Stabilité de molécules volatiles</b>     | Menthol, camphre                      |
| <b>Stabilité de molécules oxydables</b>     | Vitamines A, E                        |
| <b>Stabilité de molécules hydrolysables</b> | Acide acétylsalicylique               |

**Tableau 10 :** Exemple de propriétés améliorées par l'utilisation de cyclodextrines dans des applications cosmétologiques [70]

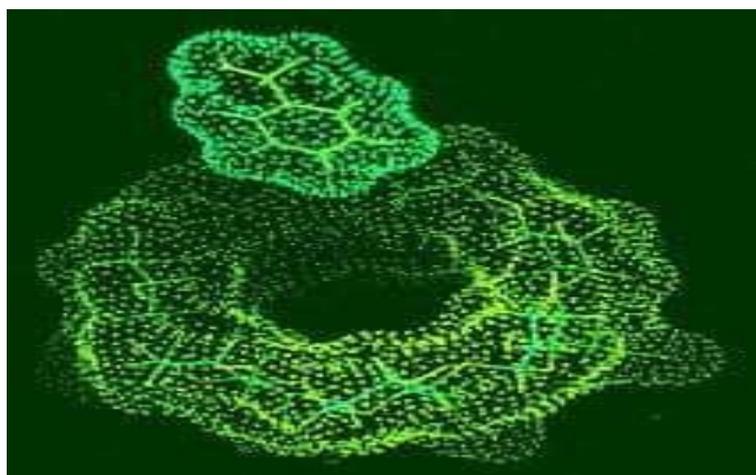
| <b>Exemples de propriétés</b>                     | <b>Substances concernées</b> |
|---|------------------------------|
| <b>Diminution de l'effet irritant</b>             | Acide rétinoïque             |
| <b>Masquage d'odeurs désagréables</b>             | Mercaptans                   |
| <b>Amélioration du pouvoir moussant</b>           | Savons, mousses              |
| <b>Désodorisation dans les produits d'hygiène</b> | Menthol                      |

|                                      |                   |
|--------------------------------------|-------------------|
| <b>Augmentation de la solubilité</b> | Vitamines A, E    |
| <b>Stabilité des parfums</b>         | Essence de citron |

### Complexe d'inclusion

En milieu aqueux, les cyclodextrines peuvent former des complexes d'inclusion avec de différentes molécules. Ce qui permet de créer une association moléculaire entre une ou plusieurs composés dont l'une est l'hôte (le récepteur) et l'autre l'invitée (le substrat). La molécule « invitée » est alors encapsulée de façon totale ou partielle, le récepteur joue le rôle de la molécule « hôte ». Les liens entre la molécule hôte et la molécule invitée sont des interactions faibles [71-72] ;

L'invité est maintenu à l'intérieur de la cavité par des forces non covalentes de type interactions hydrophobes, électrostatiques de van der Waals, et de liaisons hydrogène [73] ;



**Figure 10 :** Représentation de la formation d'un complexe d'inclusion entre une CD et une molécule invitée.

D'un point de vue géométrique, l'inclusion va dépendre de la taille relative de la cavité de la CD par rapport à la taille de la molécule invitée, si l'invité est de taille importante, il ne pourra pas pénétrer à l'intérieur de la cavité de la CD, par contre si sa taille est trop petite, il aura peu d'interactions avec la CD. L'effet stérique joue donc un rôle primordial dans le phénomène de complexation. Le plus fréquemment, la stœchiométrie du complexe (CD/invité) dans le cas le plus simple est de 1 : 1, mais dans d'autres cas cette règle n'est pas

respectée car on trouve aussi des stœchiométries plus élevées telle que 2:1 ou même 3 :1 ou inversement 1 :2 et 2 :2 qui sont des associations plus compliquées et plus rares.



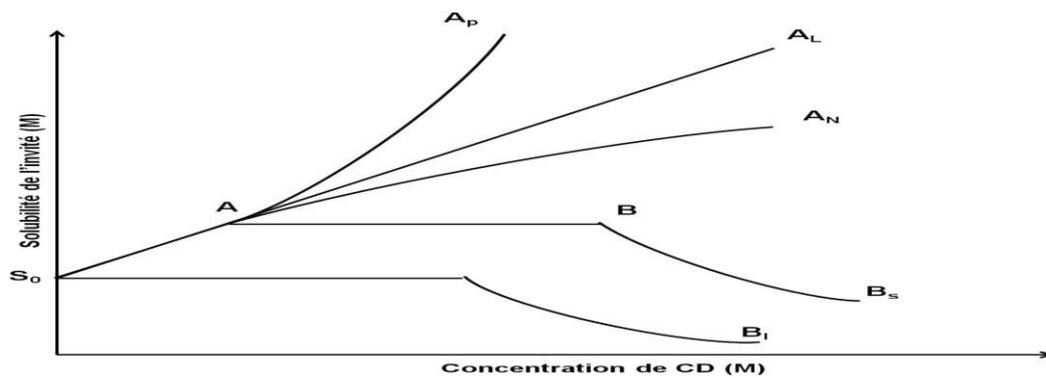
**Figure11** : Représentation de différents types de complexes «hôte/invité»

### Caractérisation de complexe d'inclusion

#### Diagramme de solubilité (diagramme d'Higuchi)

Cette technique de solubilité de phase a d'abord été développée par Higuchi et Connors et rapporté par Riley. Les diagrammes de solubilité ou isothermes de solubilité sont réalisés en plaçant un excès de substance en présence de solutions aqueuses de cyclodextrines de concentrations croissantes à une température donnée .Après un temps d'agitation nécessaire pour atteindre l'équilibre de la complexation (de plusieurs heures à plusieurs jours), on détermine la quantité de substance solubilisée par une méthode de dosage appropriée.

Un diagramme de solubilité est alors réalisé en rapportant sur un graphique la concentration molaire du soluté sur l'axe vertical et la concentration molaire en agent complexant sur l'axe horizontal Higuchi et Connors [74]ont classé les différents types de diagrammes en caractérisant les interactions substrat-ligand ,auxquelles peuvent être assimilées les interactions cyclodextrine-molécule invitée.



**Figure 12 :** Type de diagrammes selon la classification d'Higuchi et Connors.

### Point A

Ce profil est obtenu lorsque la solubilité est proportionnelle à la concentration de CD, il contient trois variantes :

**Profil A<sub>L</sub>** : une augmentation linéaire de solubilité en fonction de la concentration de CD, ce profil est attribué à la formation de complexe à stœchiométrie égale.

**Profil A<sub>P</sub>** : indication d'une déviation positive de la linéarité de l'isotherme, d'où la solubilité est proportionnelle à des hautes concentrations de CD. Ce profil est obtenu par formation de complexe à stœchiométrie différentes.

**Profil A<sub>N</sub>** : une déviation négative par rapport à la linéarité la CD est moins efficace à des hautes concentrations de la solubilité diminue.

### Profil B

Ce profil indique la formation d'un complexe à une solubilité limitée. On distingue 2 variations :

**Profil B<sub>s</sub>** : ce profil à une départ pareil au celui de profil A<sub>L</sub> mais à certain point, l'ajout de CD entraîne une précipitation de complexe formé.

**Profil B<sub>I</sub>** : dans ce profil, le complexé formé est moins soluble que l'invité de CD n'entraîne aucune augmentation de solubilité [75].

**Test de dissolution**

Le test de dissolution est un test pharmaco-technique qui fait partie des tests de stabilité destiné à déterminer la plus ou moins grande aptitude de forme galénique à laisser passer en solution, dans un milieu déterminé, le ou les principes actifs qu'elles contiennent. Ce test dépend de différents facteurs tels que le pH du milieu de dissolution, le type de matériau à étudier... Le principe de dissolution est de déterminer le temps que met une forme galénique pour passer de sa forme à l'état en solution.

**conclusion**

Dans ce chapitre nous avons regroupé les informations sur les cyclodextrines. Les propriétés physico-chimiques de ces dernières montrant leur rôle dans la complexation. Nous avons également vu l'importance de ses dérivés dans l'amélioration de la stabilité et de la biodisponibilité des molécules peu soluble.

## **Chapitre III : Matériels et Méthodes**

### **Introduction**

Dans cette partie de travail, nous allons étudier la composition de notre extrait en composés phénoliques et l'activité antioxydant, puis sa la solubilité par le test d'Higuchi, et caractérisé les complexes d'inclusion (Extrait/CD).

### **Préparation de l'extrait éthanolique des feuilles d'olivier**

#### **Préparation de la matière végétale**

Les feuilles d'olivier ont été récoltées le mois de mars 2022, nos échantillons ont été obtenus de la région de Sidi-Aïch. Après la récolte, les feuilles sont nettoyées à l'eau pour enlever la poussière puis étalées et séchées sur un filet à l'air libre (à l'abri du soleil) et à température ambiante dans un endroit sec, après trois heures, les feuilles sont mises dans une étuve à 40°C pendant 48heures. Les feuilles séchées sont broyées à l'aide d'un broyeur électrique.

#### **Extraction de l'extrait des feuilles d'olivier**

#### **Matériels**

- Ballon fond rond de 100 ml ;
- Spatule ;
- Verre de montre ;
- Béchers ;
- Eprouvette 100 ml.

#### **Appareillages**

- Balance analytique de précision
- Plaque d'agitation
- Rota-vapeur.

#### **Produits chimiques**

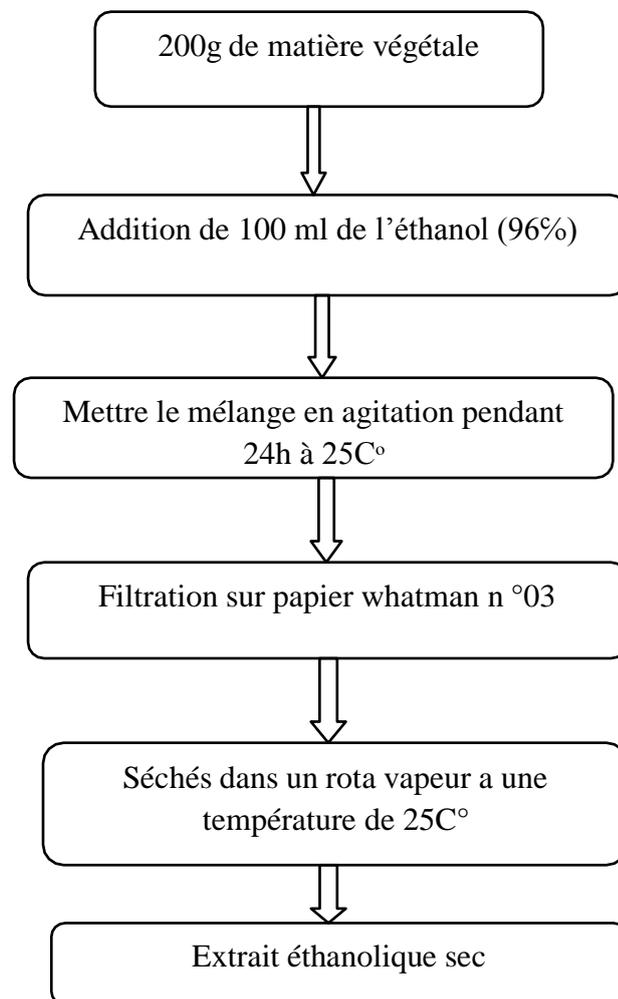
- L'eau distillée ;
- Les feuilles d'olivier ;

- Ethanol.

### Méthode

L'extraction a été effectuée par agitation selon la méthode suivante :

On met 200 g de matière végétale dans 100 ml de solution d'éthanol (96%). L'échantillon est mis en agitation à température ambiante (25°C), pendant 24h. Après filtration sur un papier filtre Wattman n°03, le solvant d'extraction a été éliminé dans un rota-vapeur et on obtient l'extrait de feuilles d'olivier.



**Figure 13 :** Présentation du protocole d'obtention d'extrait éthanolique des feuilles d'olivier

## Dosage des polyphénols totaux

### Principe

Nous avons adopté la méthode décrite par Singleton pour le dosage des polyphénols totaux de notre extrait. Dont le principe repose sur la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu (acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique) en un mélange d'oxydes bleus.

### Matériels

- Tubes à essais.
- Micropipette 50 µl
- Pipette de 1 ml, 5 ml et 10 ml
- Barreau magnétique
- Porte tubes
- Pipette pasteur
- Fioles.

### Appareillage

- Spectrophotomètre UV/visible.

### Produits chimiques

- Acide gallique (sigma-Aldrich)
- Méthanol (biochem cham pharma)
- L'eau distillée
- L'extrait des feuilles d'olivier
- Folin-Ciocalteu (sigma –Aldrich)
- Carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

### Méthode

- Prélever un volume de 200 µl de solution d'extrait dans des tubes à essai.
- Ajouter 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué.
- Ajouter 800 µl d'une solution de carbonate de sodium préparée à 7.5%
- Agiter et conserver à l'abri de la lumière pendant 30 min.

- Lire l'absorbance à 765 nm à l'aide d'UV-visible.

### **Dosage des flavonoïdes**

#### **Principe**

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable, entre le chlorure d'aluminium, et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes.

#### **Matériels**

- Tubes à essais.
- Micropipette 50 µl
- Pipette de 1 ml, 5 ml et 10 ml
- Barreau magnétique
- Porte tubes
- Pipette pasteur
- Fioles.

#### **Appareillage**

- Spectrophotomètre UV/visible.

#### **Produits chimiques**

- Quercitrine (sigma-Aldrich)
- Méthanol (biochem cham pharma)
- L'eau distillée
- L'extrait des feuilles d'olivier
- Nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ )
- Trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ )
- Hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ )

#### **Méthode**

- 500 µl de l'extrait éthanolique des feuilles d'olivier
- Ajouter de 150 µl de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) à 5%.

- Après 5 min, ajouter 150 µl de trichlorure d'aluminium (AlCl<sub>3</sub>) à 10%.
- Incuber à la température ambiante pendant 6 min.
- Additionner 500 µl d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 4%.
- Agité immédiatement le mélange pour homogénéiser le contenu.
- lire l'absorbance à 510 nm à l'aide d'UV-visible.

### **Dosage des tannins condensés**

#### **III.5.1.Principe**

La méthode de la vanilline avec HCl dépend de la réaction de la vanilline avec le groupement flavonoïde terminale des tannins condensés et la formation d'un complexe rouge, cela s'explique par la propriété des tanins à se transformer en anthocyanidols de couleur rouge par réaction avec la vanilline.

#### **Matériels**

- Tubes à essais.
- Micropipette 50 µl
- Pipette de 1 ml, 5 ml et 10 ml
- Barreau magnétique
- Porte tubes
- Pipette pasteur
- Fioles

#### **Appareillages**

- Spectrophotomètre UV/visible (évolution 201)
- Balance analytique de précision (Denver instrument)
- Plaque agitatrice multiple

#### **Produits chimiques**

- Catéchine (sigma-Aldrich)
- Méthanol (biochem cham pharma)
- L'eau distillée

- L'extrait des feuilles d'olivier
- Vanilline (sigma –Aldrich)
- L'acide chlorhydrique (HCl)(biochem chemopharma)

**Méthode**

- Prélever un volume de (50µl) de l'extrait.
- Ajouter 1500µl de la solution de vanilline/méthanol (4%).
- Mélanger et ajouter 750µl (HCl) concentré.
- Agiter et conservé à l'abri de la lumière pendant 20 min
- Lire l'absorbance a 550 nm.

Une courbe d'étalonnage de la catéchine est préparée avec différentes concentrations (0-1000 µg/ml) dans les mêmes conditions.

**L'activité antioxydant****Principe**

De nos jours, il existe un intérêt croissant vis –à –vis de la biologie des radicaux libres stable par vertu de la délocalisation de l'électron disponible qui provoque la couleur violette profonde, caractérisée par une absorption .ce dosage est réalisé par l'utilisation de réactif 1, 1,-diphenyl-2-picrylhydrazy l (DPPH).

**Matériels**

- Tube à essais ;
- Pipette de 1 ml ,2 ml ,5 ml et 10 ml ;
- Porte tubes,
- Pipette pasteur ;
- Fiole de 25 ml et 100 ml.

**Appareillage**

- Spectrophotomètre UV-visible ;

### Produits chimiques

- Méthanol ;
- L'EFO ;
- L'eau distillée ;
- 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl(DPPH) ;

### Méthode

La solution de DPPH est préparée par solubilisation de 2,4 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol ( $6 \times 10^{-5}$  M). 25  $\mu$ l des solutions d'extraits ou standard (acide ascorbique) sont ajoutés à 975  $\mu$ l de solution méthanolique de DPPH, le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30 min et la décoloration par rapport au contrôle contenant la solution de DPPH et d'éthanol est mesurée à 517 nm.

### Diagramme de solubilité d'Higuchi et Connors

### Matériels

- Flacons en verre
- Barreau magnétique
- Spatule
- Verre de montre
- Filtres seringues
- Seringues.

### Appareillages

- Balance analytique de précision.
- Plaque agitatrice multiple
- Barreaux magnétiques.

### Produits chimiques

- Cyclodextrines :  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD et M $\beta$ -CD
- L'EFO (extrait de feuilles d'olivier) ;

- L'eau distillée.

### Méthode

Pour réaliser le diagramme de solubilité selon Higuchi et Connors; nous avons mis en excès une quantité de l'extrait avec de différentes masses de trois types de CDs ( $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD et PM- $\beta$  CD) dans l'eau distillée (voir tableau IV.1), puis les placer sous agitation à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 7 jours.



**Figure 14 :** Présentation de test de solubilité (CDs et les feuilles d'olivier).

Après sept jours, les solutions sont filtrées à l'aide de filtre seringues de porosité de 0.45  $\mu\text{m}$

- **Méthode de calcul**

On a :  $C = 145 \text{ g/l}$  et  $M_{\alpha\text{-CD}} = 972 \text{ g/mol}$

Aussi :  $C = C_M / M$  ;  $m = n * M$

D'où :  $145 \text{ g} \rightarrow 1000 \text{ ml}$

$x \rightarrow 5 \text{ ml}$

$$\rightarrow x = 145 \times 5 / 1000 \Rightarrow x = \mathbf{0.725 \text{ g}}$$

**Tableau 11** : Les masses de différentes CDs utilisées.

|                   |   |       |       |        |       |       |        |
|-------------------|---|-------|-------|--------|-------|-------|--------|
| $\alpha$ -CD      | 0 | 0.182 | 0.29  | 0.363  | 0.435 | 0.58  | 0.725  |
| B-CD              | 0 | 0.023 | 0.037 | 0.0463 | 0.056 | 0.074 | 0.0925 |
| PM- $\beta$<br>CD | 0 | 0.491 | 0.786 | 0.983  | 1.179 | 1.572 | 1.965  |

### Dosage des polyphénols totaux des solutions filtrées

#### Principe

Nous avons adopté la méthode décrite par singleton pour le dosage des polyphénols totaux des solutions obtenus d'après le teste d'Higuchi. Dont le principe repose sur la réduction du réactif de folin-ciocalteu (acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique) en un mélange d'oxydes bleus.

#### Matériels

- Tubes à essais
- Pipette de 1 ml ; 2ml, 5 ml et 10 ml
- Barreau magnétique
- Porte tubes
- Pipette pasteur
- Fioles de 25 ml
- Eprouvette.

#### Appareillage

- Spectrophotomètre UV-visible.

**Produits chimique**

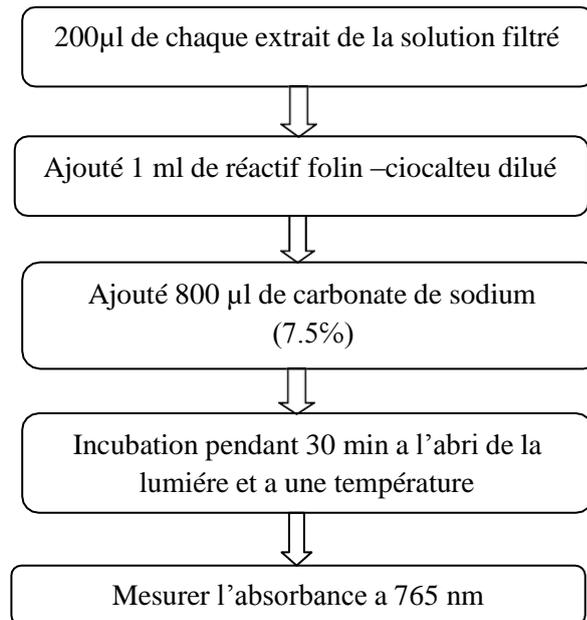
- Méthanol
- L'eau distillée
- Carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$
- Le réactif folin –ciocalteu
- Acide gallique.

**Méthode**

- Prélever un volume de 200 $\mu\text{l}$  de chaque solution filtré dans des a essai.
- Ajouter 1ml de réactif Folin-Ciocalteau dilué.
- Ajouter 800  $\mu\text{l}$  d'une solution de carbonate de sodium préparée à 7.5%
- Puis agité et conservé à l'abri de la lumière pendent 30 min.
- Lire l'absorbance à 765 min à l'aide d'UV-visible.



Une courbe d'étalonnage d'acide gallique est préparée dans les mêmes conditions que le dosage des polyphénols totaux différentes concentrations (0-1000  $\mu\text{g/ml}$ ).



**Figure 15 :** Organigramme représentant le dosage des polyphénols totaux.

### Analyse par spectroscopie infrarouge IR

#### Principe

C'est une méthode d'analyse basée sur les vibrations des molécules excitée par un rayonnement infrarouge, les longueurs d'onde vibrationnelles étant spécifiques pour des classes de molécules. La spectroscopie infrarouge permet de donner des informations sur la matière à partir de son interaction avec le rayonnement selon la fréquence du rayonnement incident (c'est-à-dire son énergie).

#### Matériels

- Spatule ;
- Verre de montre.

#### Appareillages

- Balance analytique de précision
- Spectroscopie infrarouge
- Presse hydraulique

### Produits chimiques

- Cyclodextrines ;  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD et PM- $\beta$  CD
- L'eau distillée
- L'EFO
- Cristaux de KBr
- Poudre de KBr.

### Méthode

Les échantillons à analyser sont préparés par un mélange physique, sous forme de pastilles KBr (80 mg et 2 mg d'échantillon), et pour les solutions nous avons mis une goutte sur la plaque de KBr (cristaux), puis nous l'avons analysé.

### Préparation de complexe d'inclusion

#### Principe

Le complexe d'inclusion est une association d'au moins deux molécules dont l'une, la molécule invitée est encapsulé de façon total ou partielle par l'autre ; sans formation de liaison covalente. Le principe est de solubiliser l'extrait encapsulé dans la cyclodextrine.

#### Matériels

- Bêchers ;
- Spatule ;
- Verre de montre ;
- Eprouvette de 25 ml ;
- Boite de pétri ;
- Barreaux magnétiques.

#### Appareillages

- Balance analytique ;
- Plaque agitatrice multiple ;
- Rota vapeur.

#### Produits chimiques

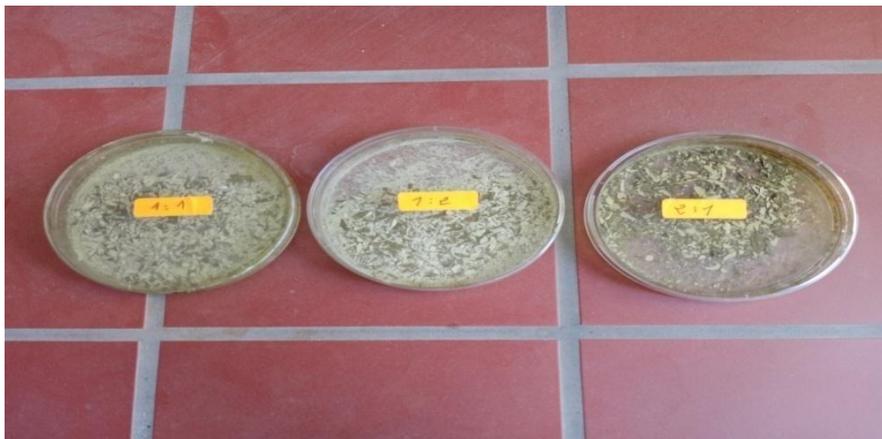
- EFO ;
- $\alpha$ -cyclodextrine ;

- Ethanol ;

### Méthode

Dans ce travail trois concentrations ont été préparés à savoir : le ratio (1 :1), (1 :2) et (2 :1) (Extrait/ $\alpha$ CD).

- Peser une masse de 1g d'extrait dans trois béchers.
- Ajouter les masses de CD correspondantes, calculées à base des ratios ; 1g de  $\alpha$ -CD pour (1 :1), 2g de CD pour (1 :2) et 500mg pour le ratio (2 :1).
- Verser 50 ml d'éthanol,
- Mettre les échantillons sous agitation jusqu'à la dissolution complète (en moyenne 24 heures).
- Mettre les solutions dans le rotvapeur jusqu'à l'évaporation complète de l'éthanol et obtention d'une poudre sèche.
- Récupérer et conserver les complexes dans des boites de pétri.



**Figure 16 :** Présentation des complexes d'inclusion formés

### Préparation des mélanges physiques

Pour le mélange physique, des quantités équimolaire de l'EFO et l' $\alpha$ CD ont été préparés. Ces dernières sont ensuite convenablement mélangés à l'aide d'un mortier et pilon jusqu'à l'homogénéisation et l'obtention d'un mélange pâteux.

### Caractérisation des complexes d'inclusion par teste de dissolution

#### III.11.1 Principe

Les complexes d'inclusion préparés lors de l'étape précédente, sont caractérisés par le teste de dissolution et visualisés par spectroscopie UV-visible et infrarouge. Cela a pour but de prouver l'encapsulation de l'EFO dans la CD.

**Matériels**

- Fiole de 1000 ml ;
- Verre de montre ;
- Spatule ;
- Béchers ;
- Barreaux magnétiques ;
- Tubes à essais ;
- Eprouvettes.

**Appareillages**

- Balance analytique
- plaque agitatrice multiple ;
- Spectrophotomètre UV-visible ;
- Spectrophotomètre IR.

**Produits chimiques**

- Phosphate monopotassique  $\text{KHPO}_4$ ;
- Hydroxyde de sodium  $\text{NaOH}$  ;
- Eau distillé ;
- Ethanol ;
- Complexes (Extrait/ $\alpha$ CD) ;
- Chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) ;
- Nitrite de sodium  $\text{NaNO}_2$ .

**Analyse par spectroscopie IR**

On prépare des pastilles à base de  $\text{KBr}$  et le mélange physique déjà préparé. L'échantillon est ensuite analysé par l'IR sous fréquence allant de  $4000 \text{ cm}^{-1}$  à  $400 \text{ cm}^{-1}$ .

**Préparation de solution tampon**

Pour la préparation de solution tampon pH 7.4 selon la pharmacopée européenne, des solutions de 0.2 M de phosphate monopotassique  $\text{KHPO}_4$  et d'hydroxyde de sodium  $\text{NaOH}$  ont été préparées. Puis, nous avons prélevés un volume de 250 ml de  $\text{KHPO}_4$  et 175 ml de  $\text{NaOH}$  ajusté jusqu'à 1000 ml avec l'eau distillé. Agité le mélange en mesurant le pH final et l'ajuster s'il le faut.

**Teste de dissolution**

Dans cette étape, on analyse le comportement des complexes d'inclusion aqueux dans la solution tampon déjà préparée.

- Peser des masses des complexes déjà préparés dans des béchers (**Tableau 12**).
- Ajouté un volume de 180 ml de la solution tampon au béchers.
- Mettre les mélanges sous agitation pendant 2 heures, et prélever 2 ml de chaque solution dans un intervalle de temps (5- 10- 15- 30- 45-75 et 100 min).
- Ajouté 1.2 ml de solution  $\text{AlCl}_3$  à 10%, et 1.2 ml de solution  $\text{NaNO}_2$  à 5%.
- Ajouté 8 ml de solution  $\text{NaOH}$  0.1M.
- Incuber pendant 6 minutes, puis mesurer l'absorbance à 510 nm.

**Tableau 12** : Les masses des complexes (Extrait/ $\alpha$ -CD) utilisés.

| Ratio de complexe | (1 :1) | (1 :2) | (2 :1) |
|-------------------|--------|--------|--------|
| Masse en (mg)     | 80     | 120    | 60     |



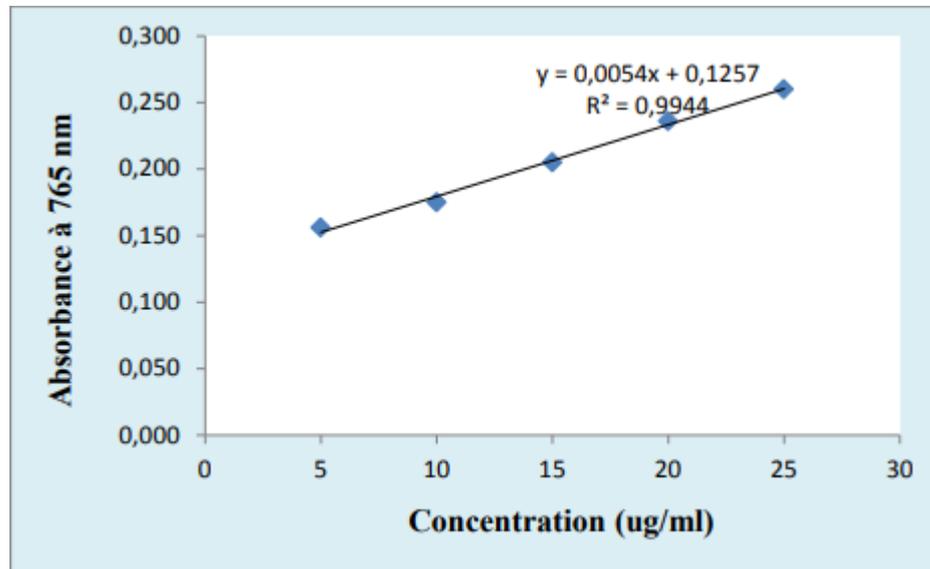
**Figure 17** : Présentation de teste de dissolution des CIs.

## **Chapitre IV : Résultats et Discussion**

### Dosage des polyphénols totaux (Acide gallique)

#### Résultats

La courbe d'étalonnage obtenu est présentée dans la figure suivant :



**Figure 18:** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

#### Observation

Nous remarquons que la courbe passe par la majorité des point, celle-ci nous a fourni une droite dont l'équation est de forme :  $y = a.x + b$  ; avec  $y$  = absorbance,  $a$  = la pente,  $x$  = la concentration de l'acide gallique,  $b$  = constante. D'où :  $y = 0,0054x + 0,1257$ .

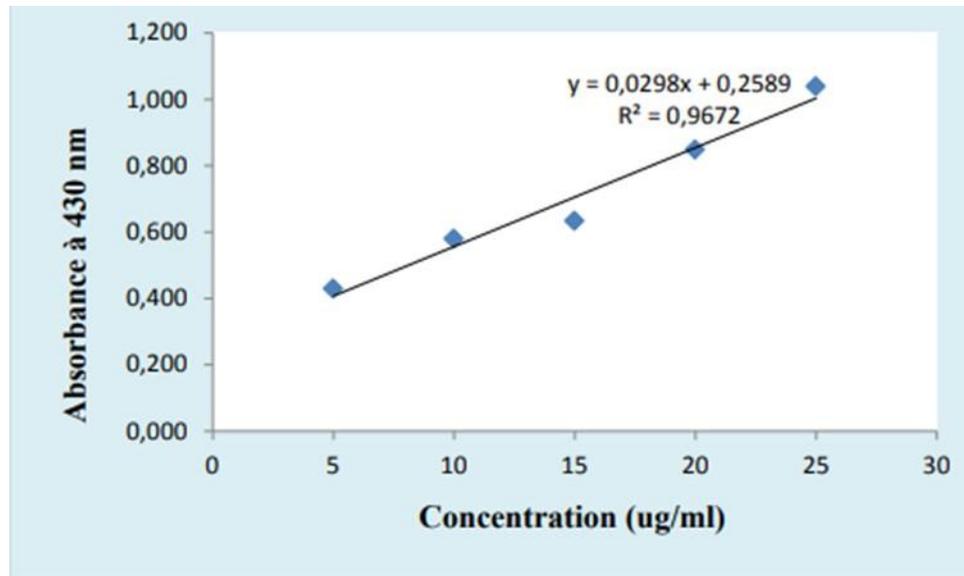
#### Interprétation

Cette droite a permis de calculer la quantité des polyphénols, exprimé en  $\mu\text{g}$  équivalent de l'acide gallique /mg de la matière végétale sèche ( $\mu\text{gEAG/mg}$  d'extrait). Nous avons obtenu une concentration de  $565,47 \mu\text{gEAG/mg}$  d'extrait. Cette valeur indique la richesse de notre extrait en polyphénols, le taux de ces composés dépend de plusieurs facteurs tels que : la région, le temps de récolte, le solvant et les techniques d'extraction.

### Dosage des flavonoïdes (la quercitrine)

#### Résultats

La courbe d'étalonnage obtenu est représentée dans la figure 19



**Figure 19:** Courbe d'étalonnage de la quercitrine.

#### Observation

On remarque que la droite d'étalonnage passe par la majorité des points, cette dernière est sous forme  $y = a \cdot x + b$ , ou  $y = 0,0298x + 0,2589$

#### Interprétation

D'après la droite d'étalonnage, on a calculé la quantité des flavonoïdes qui est exprimé en  $\mu\text{g}$  équivalent de la quercitrine /mg de la matière végétale sèche ( $\mu\text{gEQ/mg}$  d'extrait), estimée à  $135,32 \mu\text{gEQ/mg}$  d'extrait. Cette valeur indique la richesse de notre extrait en flavonoïdes, le taux de ces composés dépend de plusieurs facteurs tels que : la région, le temps de récolte, le solvant et les techniques d'extraction.

### Dosage des tannins condensés (la catéchine)

#### Résultats

La courbe d'étalonnage obtenue est présentée dans la figure 20.

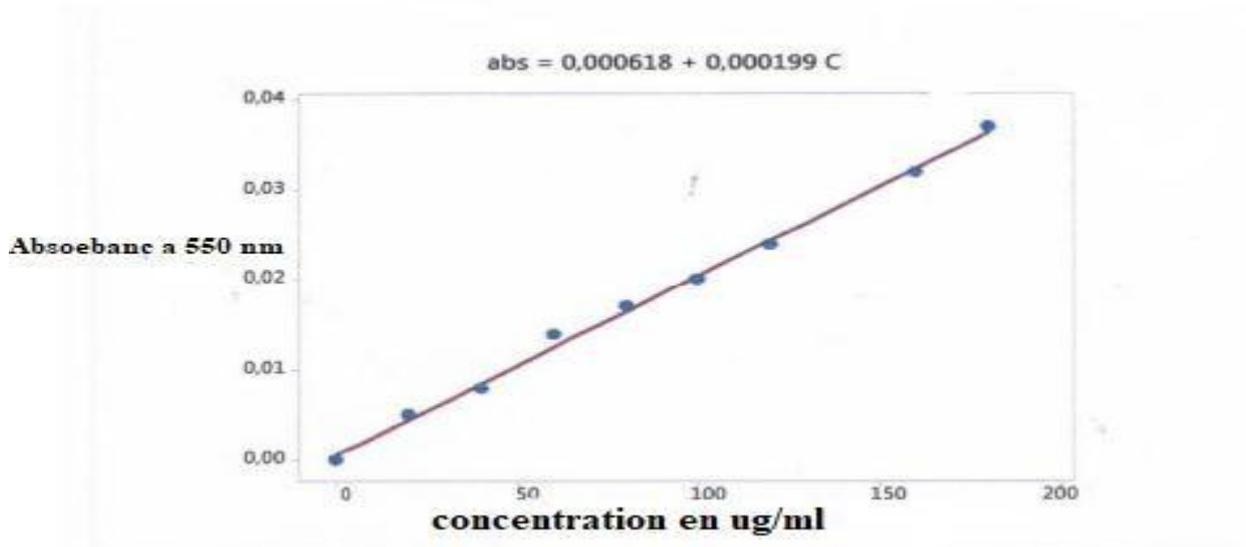


Figure 20: Courbe d'étalonnage de la catéchine.

#### Observations

On remarque que la droite d'étalonnage passe par la majorité des points, cette dernière nous a fourni d'une équation sous-forme :  $y = a.x$  ; avec  $y =$  absorbance,  $a =$  la pente,  $x =$  la concentration de la catéchine,  $b =$  constante. D'où :  $y = 0.000618.x + 0.00199$ .

#### Interprétations

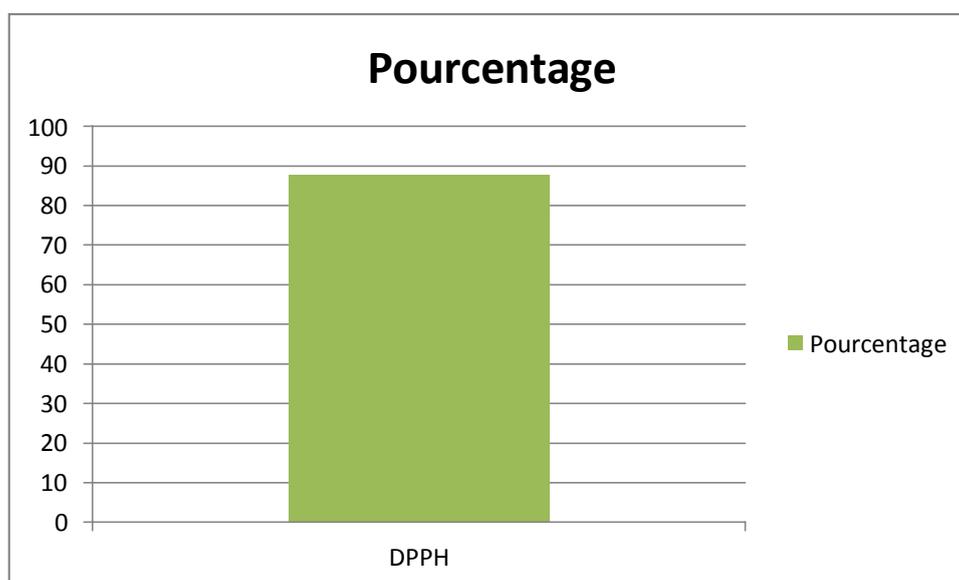
Cette courbe d'étalonnage nous a permis de calculer la quantité des tannins condensés qui est exprimé en  $\mu\text{g}$  équivalent de la catéchine /mg d'extrait ( $\mu\text{gEC}/\text{mg}$  d'extrait), estimée à  $322,331 \mu\text{gEC}/\text{mg}$  d'extrait. Cette valeur indique la richesse de notre extrait en tannins condensés, le taux de ces composés dépend de plusieurs facteurs tels que : la région, le temps de récolte, le solvant et les techniques d'extraction.

#### L'activité antioxydante

Pour évaluer l'activité antioxydante de l'EFO, on a utilisé la méthode de piégeage du radical libre DPPH, elle est reconnue comme une activité simple, rapide et efficace en raison de la grande stabilité du radical. Le DPPH est caractérisé par sa sensibilité à détecter des substances actives à des basses concentrations [1].

L'activité antiradicalaire de l'EFO vis-à-vis du radical DPPH, a été évaluée par spectroscopie UV à 517 nm. En suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage, de la couleur violet à la couleur jaune.

Le résultat est exprimé en pourcentage d'inhibition, la valeur est estimée à 87,67 %. Ce pourcentage nous permet d'exclure la présence d'une bonne activité antioxydante pour notre extrait. Cela est dû à la richesse en polyphénols qui sont capables de réduire un nombre de molécule DPPH égale à celui des groupements hydroxyles de l'antioxydant. Donc on peut dire que l'EFO est considéré comme un antioxydant naturel important.



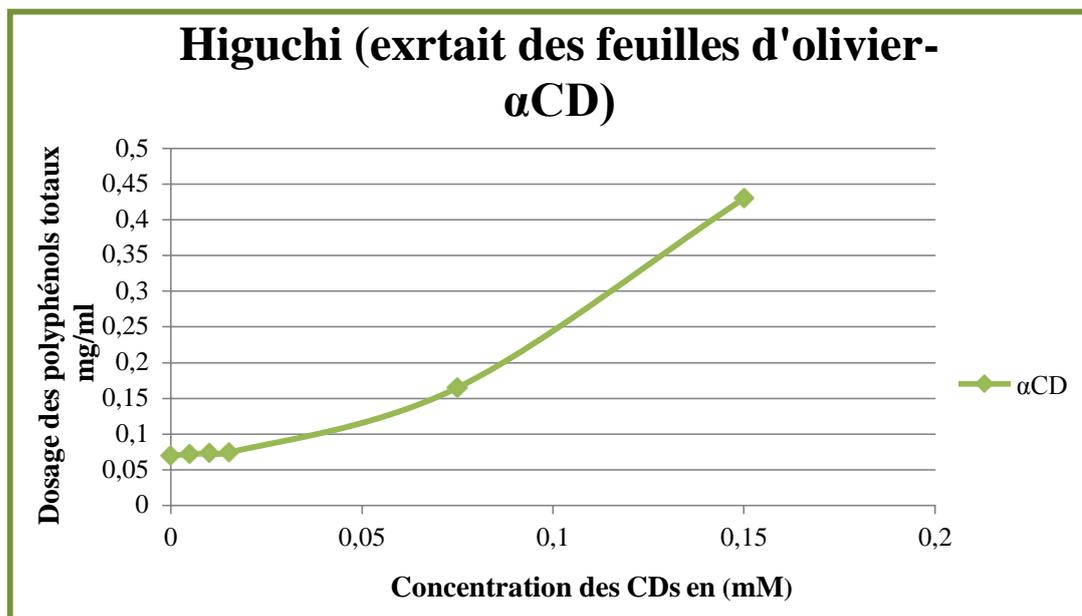
**Figure 21:** Histogramme de DPPH de l'extrait des feuilles d'olivier.

#### **Diagramme de solubilité (Higuchi et Connors)**

Les profils de phase de solubilité ont été établis à l'aide de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique déjà effectuée ; en traçant les concentrations des polyphénols totaux apparents en fonction de la concentration en CDs : [polyphénols] : f ([ $\alpha$ -CD]) ou f ([ $\beta$ -CD]) ou f ([M $\beta$ -CD]). Les profils obtenus sont respectivement montrés sur les figures **22, 23,24**.

## Résultats

## ❖ Alpha-CD

Figure 22 : Diagramme d'Higuchi (extrait- $\alpha$ CD).

## Observation

A la vue de profil obtenu, nous pouvons remarquer qu'au début il y a une augmentation linéaire des concentrations des polyphénols en fonction de concentration de l' $\alpha$ -CD, ce qui présente par la suite une déviation positive de la concentration (extrait- $\alpha$ CD) par rapport à la linéarité.

## Interprétation

D'après Higuchi et Connors, la courbe obtenue pour (polyphénols- $\alpha$ -CD), qui est présentée par une déviation positive de la linéarité, constate la présence de profil **AL**, où l' $\alpha$ -CD est proportionnellement plus effective à des hautes concentrations. Ce profil est attribué à la formation simultanée de complexes d'inclusion solubles de stœchiométries différentes, ce qui indique une faible interaction entre les polyphénols (acide gallique) et cyclodextrine.

## ❖ Beta-CD

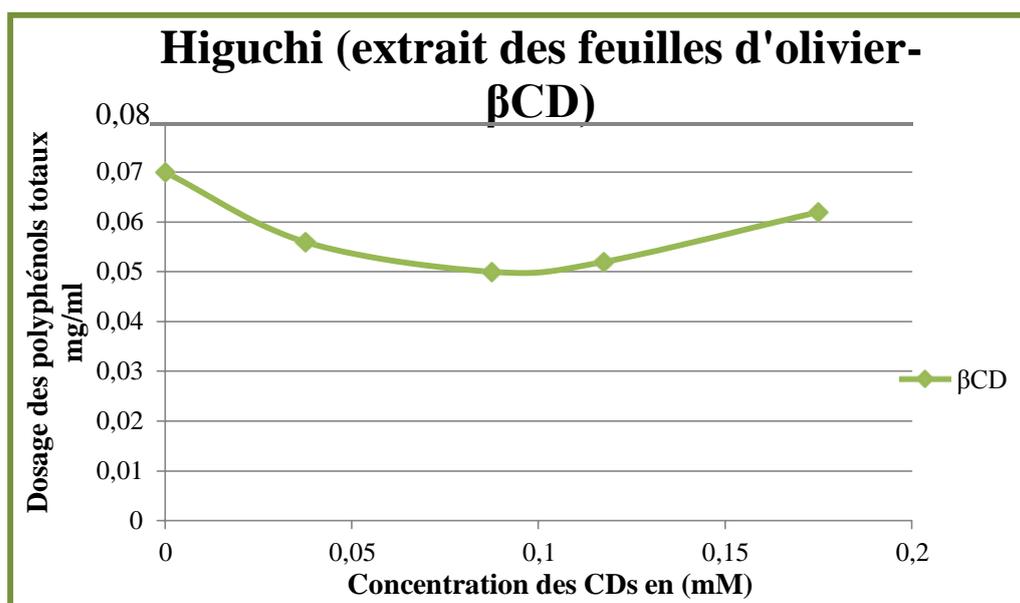


Figure 23 : Diagramme d'Higuchi (extrait-β-CD).

**Observation**

D'après la courbe, on remarque qu'il y a une diminution de la concentration des polyphénols, qui est suivie par une petite augmentation à une certaine concentration en βCD.

**Interprétation**

Pour (quantité des polyphénols-βCD), le profil obtenu est de type **Bi**. Cela peut s'expliquer par la faible solubilité aqueuse de la βCD et celle de l'extrait. D'après la littérature, la βCD forme généralement des complexes ayant une solubilité limitée, surtout avec les invités très peu solubles dans l'eau [69]. Dans ce cas, le complexe est tellement insoluble que l'augmentation initiale ne peut pas être détectée. La solubilité est complètement nulle, cela montre que la βCD a une faible efficacité pour la complexation de ce type de composé ce qui restreint son utilisation.

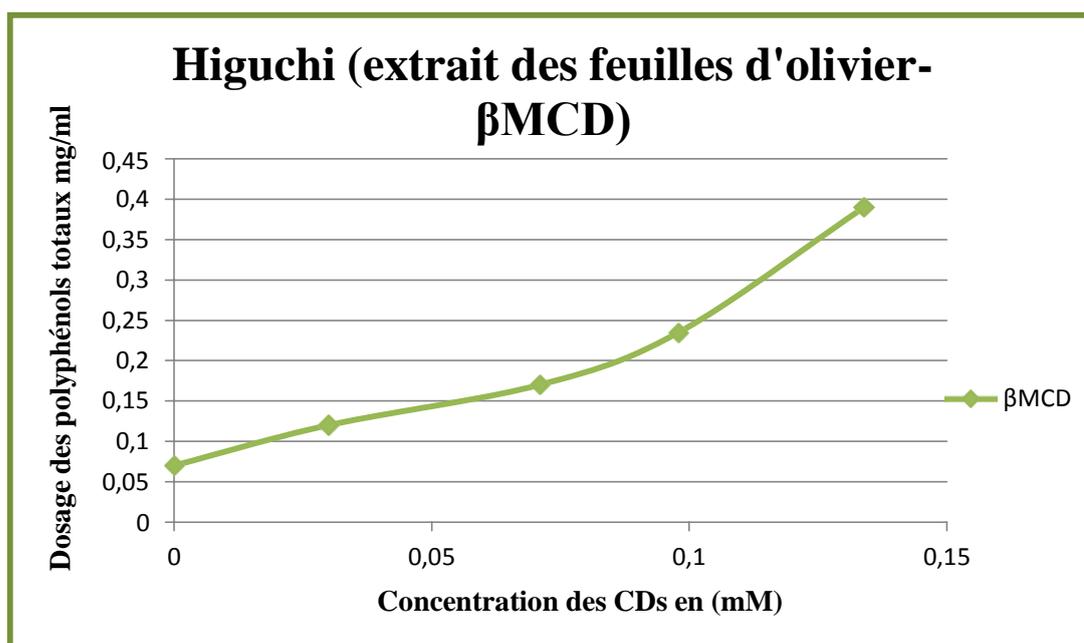
❖ M $\beta$ -CD

Figure 24 : Diagramme d'Higuchi (extrait-M $\beta$ CD).

**Observation**

D'après le profil de solubilité obtenu, nous remarquons qu'au début il y a une augmentation linéaire des polyphénols en fonction de concentration de la M $\beta$ CD, ce qui présente par la suite une déviation positive de la concentration (extrait- M $\beta$ CD) par rapport à la linéarité.

**Interprétation**

Selon Higuchi et Connors, la courbe obtenue pour (concentration des polyphénols-M $\beta$ CD), qui est présenté par une déviation positive de la linéarité, constate la présence de profil A<sub>L</sub>, où la M $\beta$ CD est proportionnellement plus effectif à des hautes concentrations. Ce profil est attribué à la formation simultanée de complexes d'inclusion solubles de stœchiométries différentes, ce qui indique une très faible interaction entre les polyphénols de l'extrait et la cyclodextrine.

On constate donc que la  $\alpha$ -CD est le meilleur agent de solubilisation de l'EFO, par conséquent il a été sélectionné pour la suite de nos travaux.

## Analyse par spectroscopie IR

## Résultat

Les spectres de nos échantillons sont présentés dans les figures 25, 26 et 27.

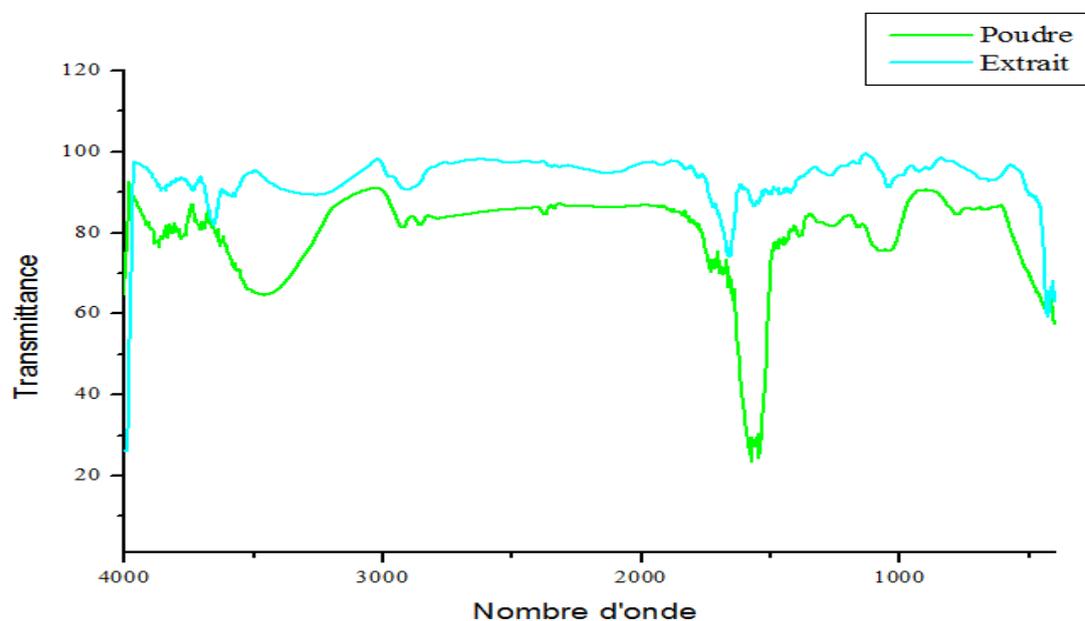


Figure 25 : Spectres Infrarouge de l'extrait des feuilles et la poudre.

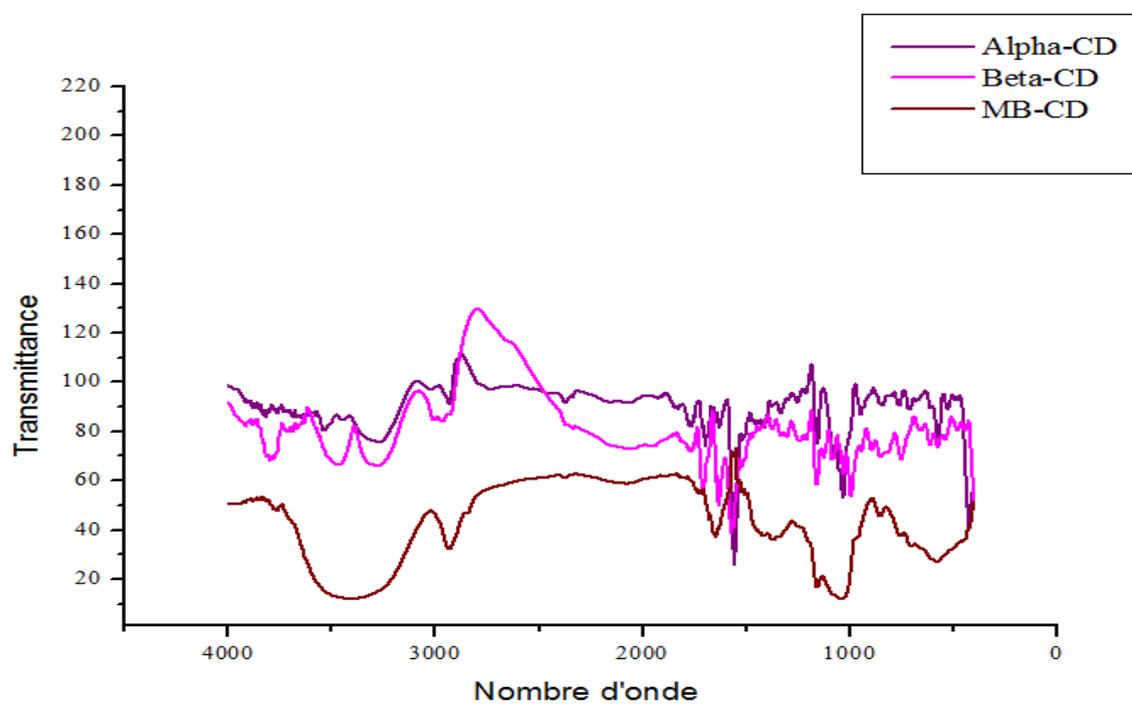


Figure 26 : Spectres infrarouge de l' $\alpha$ CD, la  $\beta$ CD et M $\beta$ -CD.

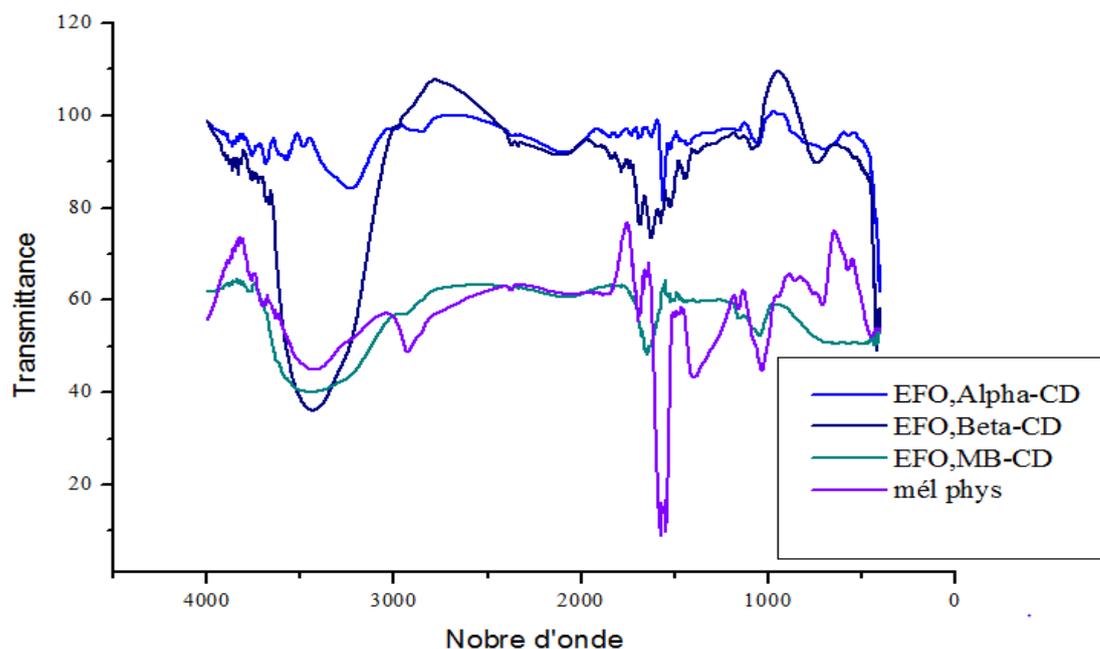


Figure 27 : Spectres infrarouges des complexes (EFO/CDs).

## Discussion

D'après la littérature les résultats obtenus indiquent :

- Pour le spectre de l'EFO sec et la poudre, on remarque une bande d'absorption détectée dans le domaine de  $3650\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à la vibration d'étirement de liaison hydrogène (O-H), qui est due à la présence des phénols ; une large bande de pics est observée aux alentours de  $1700$  à  $1600\text{ cm}^{-1}$  attribué à l'étirement de groupement C=O due à la présence des acides carboxyliques et des cétones. Des bandes de pics sont observées dans le domaine  $1000$ - $1200\text{ cm}^{-1}$ , qui correspondent aux vibrations d'élongation P=O de l'hydrogène lié par les phosphates ; des vibrations d'élongation C-O (correspondent aux groupements phosphates, anhydrides et carboxyliques). Une bande d'absorption est aussi remarquée dans le domaine  $450$  à  $600\text{ cm}^{-1}$  correspondante aux vibrations de déformation de C-H.

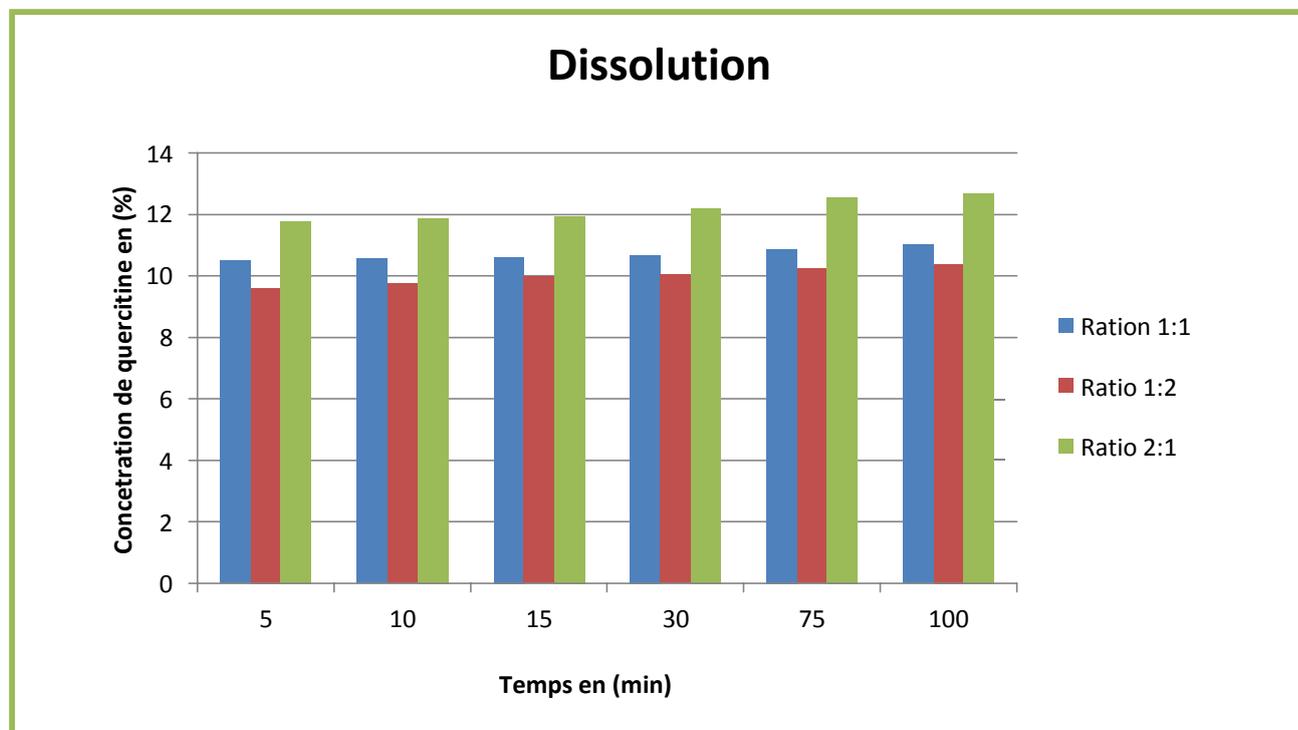
- Pour les spectres de l'extrait et CDs ( $\alpha$ ,  $\beta$  et  $M\beta$ ), on remarque une bande possédante des pics d'absorption dans le domaine  $3600-3800\text{ cm}^{-1}$  correspondante à la liaison (OH) des polyphénols, dans le domaine  $1500-1750\text{ cm}^{-1}$  on observe trois pics à  $1509\text{ cm}^{-1}$ ,  $1683\text{ cm}^{-1}$  et  $1730\text{ cm}^{-1}$  en raison de vibration de l'étirement de liaison C=O qui indique la présence des flavonoïdes. Des faibles pics sont observés dans le domaine  $1100-1200\text{ cm}^{-1}$  (correspond aux groupements phosphate et carboxylique), aussi une bande de pics aux alentours de  $600\text{ cm}^{-1}$  des faibles pics correspondantes à la déformation de liaison C-H. L'intensité des bandes indique l'existence d'une interaction "molécule invitée-CD" (Extrait-CD).
- Pour les spectres de mélange physique (EFO/ $\alpha$ CD), on remarque une bande de pics dans le domaine  $3600-3700\text{ cm}^{-1}$  (vibration d'étirement O-H), et une large bande d'absorption dans  $1450-1750\text{ cm}^{-1}$  caractérisée par trois pics intense  $1557,49\text{ cm}^{-1}$ ,  $1654,95\text{ cm}^{-1}$ , et  $1683,49\text{ cm}^{-1}$  correspondantes au étirement de groupement C=O (acides carboxyliques et cétones). Dans l'alentour de  $600\text{ cm}^{-1}$ , une bande de pics est toujours observés (correspond à la déformation de liaison C-H). L'intensité des pics indique l'interaction entre l'extrait et l' $\alpha$ CD.

Ces résultats ont démontrées la richesse de l'EFO en composés phénolique, qui augmentent son pouvoir thérapeutique. Aussi, elles montrent l'augmentation de l'intensité de quelques pics, qui est expliqué par les interactions de l'extrait avec les cavités internes ; correspondantes aux groupements hydroxyles de nature hydrophobe des CDs.

## Caractérisation de complexes d'inclusion par teste de dissolution

### Résultats

Les résultats obtenus sont résumés dans la figure 26.



**Figure 28 :** Histogramme de vitesse de dissolution des CIs.

### Observations

D'après le graphe, on remarque qu'il existe une augmentation de la concentration de la quercitrine contenue dans le complexe (Extrait/ $\alpha$ CD) en fonction de temps de dissolution, qui varie d'un ratio à l'autre.

### Interprétations

Nos résultats montrent que le complexe d'inclusion avec l' $\alpha$ CD peut considérablement augmenter la concentration de l'EFO dans la solution tampon et améliorer sa solubilité. Ce qui permet d'optimiser la performance des composés bioactives de l'extrait encapsulé dans la CD. Cela peut s'expliquer, car plusieurs études ont montré que l'encapsulation des molécules dans des CIs, augmente leurs solubilité aqueuse ; et de se fait augmente son efficacité [76]. Les résultats indiquent qu'il y a une variation de concentration entre les ratios ; en effet **le ratio (2 :1) est le plus efficace en termes d'amélioration de solubilité**. Ceci peut être attribué à la structure de la cavité interne de l' $\alpha$ CD, qui est convenable à ce type d'encapsulation.

## **Conclusion Générale**

Les feuilles d'olivier sont considérées comme un antioxydant naturel très précieux. Dans notre travail, on a pour but d'améliorer la solubilité de l'EFO et évaluer son activité antioxydante ainsi que sa composition phénolique.

Pour atteindre ces objectifs, on a opté pour les cyclodextrines en mettant à profit leurs structure et propriétés de complexation. Cette étude a été réalisée par le test d'**Higuchi** qui nous permet de déterminer le type de CD adéquat pour notre extrait.

En effet, nous avons effectué l'extraction des composés bioactives des feuilles d'olivier. Ensuite nous avons dosé l'extrait pour quantifier les composés phénoliques de ce dernier. Pour les polyphénols la valeur estimée est de **565,47 µgEAG/mg d'extrait**. Pour les flavonoïdes le résultat est de **135,32 µgEQ/mg d'extrait**. Dans le cas des tannins condensés le résultat estimé est de **332,331 µgEQ/mg d'extrait**. Ces valeurs indiquent la richesse de l'EFO en composés phénoliques, ce qui résulte une forte action thérapeutique. La détermination de l'activité antioxydant de l'extrait de feuille d'olivier a été évalué par la de méthode de piégeage du radical libre DDPH ; le résultat est estimé à **87,67%** cela indique une très forte activité antioxydante pour l'EFO. .

Un test de solubilité par la méthode d'**Higuchi** est réalisé en utilisant différentes cyclodextrines ( $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD, M $\beta$ -CD), le dosage des polyphénols et quantifiés par la spectrophotométrie UV-visible, à la fin les solutions filtrées sont caractérisées par la spectrophotométrie infrarouge.

D'après les résultats du test de solubilité nous avons obtenus les profils suivants :

- Pour  **$\alpha$ -CD** on a obtenu un profil **A<sub>P</sub>**.
- Pour  **$\beta$ -CD** on a obtenu in profile **B<sub>P</sub>**.
- Pour la **M $\beta$ -CD** on a obtenu un profil **A<sub>P</sub>**.

Ces résultats nous ont permis de sélectionné l'  **$\alpha$ CD** comme le meilleur agent de solubilisation pour le reste de travail expérimental.

Pour la prochaine étape, nous avons formé un complexe d'inclusion (l'EFO/ $\alpha$ -CD) à différents ratios ([1 :1], [1 :2] et [2 :1]) et étudié leurs comportements par le test de dissolution dans une solution tampon phosphate ayant un pH de 7,4. Les résultats ont été visualisés par spectroscopie UV-visible, nous avons aussi déterminé que le **ratio 2 :1** est le meilleur par apport aux ratios (1 :1) et (1 :2). Cela est dû à la structure de la cavité interne de l' $\alpha$ -CD.

D'après ce travail on conclue que les feuilles d'olivier sont très riches en composés bioactifs, c'est les éléments les plus précieux qui ont un large aspect thérapeutique pour la santé humaine grâce leurs activité antioxydante, antibactérienne, antifongique...

Ce travail représente un résultat préliminaire qui donne une idée très importante sur la possibilité d'amélioration de la solubilité de quelques substances hydrophobes par l'encapsulation dans les CDs, et les procédés d'inclusion dans la  $\alpha$ -CD.

### Perspectives

Ce travail pourrait être consolidé par:

- ❖ L'utilisation d'outil mathématique tel que les plans d'expérience, qui nous permettront d'optimiser le temps ainsi que la dissolution maximale de nos molécules actives.
- ❖ Essayer d'autres techniques de caractérisation (RMN, GC/MS, MEB...).

## **Références bibliographique**

- [1] **Bisignano G, Tomaino A, Lo Cascio R, Crisafi G, Uccella N, Saija A.** 1999. On the in-  
Vol.51.(1999).pp.971-4.
- [2] **Ghouarif A, and al.** Etude de la formation des complexes d'inclusion des sulfonamides  
par la cyclodextrine. mémoire .Genie chimique .2017.pp1
- [3] **Fateh D.** Etude théorique des complexe d'inclusion edaravone / $\beta$ -cyclodextrine par la  
mécanique quantique basée sur les méthode pm3 et oniom. mémoire. génie matériaux  
Université 08 mai 1945 Guelma 2012. pp.1
- [4] **Ahlem, B, Bouchra M.** Activité antioxydant et antibactérienne des extraits des feuilles  
d'olivier sauvages et cultivés. (2019).
- [5] **Fathia, A.** Etude et valorisation des feuilles d'olivier *Olea Europaea* dans l'industrie Agro-  
Alimentaire. Thèse de doctorat génie biologique. INSAT-Tunis. (2012).
- [6] **Khadidja Ch, Lamia H.** Etude de l'activité antioxydant et antibactérienne de quelques  
produits oléicoles d'olivier, p :2. (2018).
- [7] **Loussert R, Brousse G.** L'olivier, techniques agricoles et production méditerranéenne.  
*G.p. Maisonneuve et Lotose, Paris.* 1-3, 58, 62-77, 128-136. (1978).
- [8] **Cronquist, A.** An integrated system of classification of flowering plants. Columbia  
Univesity Press. (1981).
- [9] **Breton C, and al.** A De l'olivier à l'oléastre : origine et domestication de l'*Olea  
europaea* L. dans le Bassin méditerranéen. Cahiers Agricultures, 15 (4) : 329-336, (2006).
- [10] **Mendil M, Sebai A.** Catalogue des variétés Algérienne de l'olivier : l'olivier en  
Algerie, N°1840. (2006).
- [11] **Boudribila M.** Les anciens amazighs avant les phéniciens, mode de vie et organisation  
sociale. AWAL n° 29 page 21. (2004).
- [12] **Bronzini de Caraffa V, and al.** Genetic relationships between cultivated and wild olives  
of Corsica and Sardinia using RAPD markers. Euphytica 123:263–271. (2002).
- [13] **Boudhrioua N, and al.** Comparison on the total phenol contents and the color of fresh  
and infrared dried olive leaves, 9, 412–419. (2008).

- [14] **Bardoulat M.** L'olivier, trésor de santé: un arbre, un fruit, une huile aux vertus millénaires. Alpen Editions sam. (2004).
- [15] **Rubio de casas R, and al.** Extensive gene flow blurs phylogeographic but not phylogenetic signal in *Olea europaea L.* Theoretical and Applied Genetics 113 :575-583.(2006).
- [16] **Nedjima I-D.** Activité anticoccidienne des extraits de feuilles et grignons d'olive (*Olea europaea L. var.chemlal*) chez le poulet de chair. Thèse de doctorat en génie biologique, (2021).
- [17] **Lazzeri Y.** Les défis de la mondialisation pour l'oléiculture méditerranéenne, L'olivier en Méditerranée . In Conférence Centre Culturel Français de Tlemcen-Algérie. 1–24. (2009).
- [18] **Boukhari R.** Contribution à l'analyse génétique et caractérisation de quelques variétés d'olivier et l'influence de l'environnement sur leurs rendements au niveau de la wilaya de Tizi-Ouzou ; université Tlemcen. Ingénieur en Agronomie. p9. (2014).
- [19] **Amouritti M, Comet G.** Le livre de l'olivier. Ed. Edisud. Anderson, O.M., Markham, K.R. FLAVONOIDS: Chemistry, Biochemistry and Applications, Edited by Taylor & Francis Group, LLC, CRC Press, 2006; 01-32-397-425. (1985)
- [20] **Nefzaoui A.** Feeding value of Mediterranean ruminant feed resources. Advanced course. Syria 12-23 March 1995.
- [21] **Bouaziz, and al.** Effect of storage on refined and husk olive oils composition : Stabilization by addition of natural antioxidants from Chemlali olive leaves. Food Chemistry, 108, 253-262. (2008).
- [22] **Fegeros K, and al.** Nutritive evaluation of ammonia treated olive tree leaves for lactating sheep. Small Ruminant Research, 17, 9-15. (1995).
- [23] **Williamson G, et Manach C.** Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. II. Review of 93 intervention studies. Am. J. Clin. Nutr., 81, 24S-255S. (2005).
- [24] **Handique J, et Baruah B.** Polyphenolic compounds : an overview. *React.Funct. Polym.*, 52,193-188. (2002).

- [25] **Robards K, and al.** (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66, 401-436.
- [26] **Macheix J, and al.** Composés phénoliques dans la plante -Structure, biosynthèse, répartition et rôles. Dans *Les polyphénols en agroalimentaire*; Sarni-Manchado P. et Cheynier V., Eds.; Lavoisier: Paris; pp 1-28. (2003).
- [27] **Motilva M-J, and al.** Analysis of food polyphenols by ultra-high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry: An Overview. *Journal of Chromatography A, State of the art of (UHP) LC-MS (-MS). Techniques and their Practical Application*. 1292: 62-82. (2013).
- [28] **Harborne J.B, Simmonds N. W.** *Biochemistry of Phenolic Compounds*, Academic Press, London, pp. 101. (1964).
- [29] **Brahmi F, and al.** The efficacy of phenolics compounds with different polarities as antioxidants from olive leaves depending on seasonal variations. *Industrial Crops and Products*, 38(1), 146–152. (2012).
- [30] **Guignard and Dupont .** *Botanique : systématique moléculaire*. 13<sup>ème</sup>Eds, Masson France,P 164-179. (2004).
- [31] **Fegeros K, and al.** Nutritive evaluation of ammonia treated olive tree leaves for lactating sheep. *Small Ruminant Research*, 17, 9-15 (1995).
- [32] **Bouaziz M, Sayadi S.** Isolation and evaluation of antioxidants from leaves of a Tunisian cultivar olive tree. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 107, 497-504. (2005).
- [33] **Papadopoulos G, et Boskou D.** Antioxidant effect of natural phenols on olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society* 68, 669-671.1991.
- [34] **Bisignano G, and al,** Activité antimicrobienne in vitro de l'oleuropéine et de l'hydroxytyrosol, *J Pharm Pharmacol* 1999, 51(8):971-4.
- [35] **Di Carlo G, and al.** Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs, Review. *Life Sci*. 1999, 65: 337-53.
- [36] Landolfi R, and al. Modification of platelet function and arachidonic acid metabolism by bioflavonoids. Structure-activity relations, *Biochem*

- [37] Bracke M., Vyncke B., Opdenakker G., Foidart J.M., De Pestel G., Mareel M, Effect of catechins and citrus flavonoids on invasion in vitro, *Clin Exp Metastasis* 1991, 9:13-25.
- [38] Larocca L.M., Giustacchini M., Maggiano N., Ranelletti F.O., Piantelli M., Alcini E., Capelli A, Growth-inhibitory effect of quercetin and presence of type II estrogen binding sites in primary human transitional cell carcinomas, *J Urol.* 1994, 152: 1029-1033.
- [39] **Delgado-Pertinez M, and al.** Predicting the nutritive value of the olive leaf (*Olea europaea*): digestibility and chemical composition and in vitro studies. *Animal Feed Science and Technology* 87,187-201. (2000).
- [40] **Botsoglou E, and al.** Effect of dietary olive leaves and/or a-tocopheryl acetate supplementation on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast fillets during refrigerated storage. *Food Chemistry* 121, 17-22. (2010).
- [41] **Giao M.S, and al.** Infusions of Portuguese medicinal plants: Dependence of final antioxidant capacity and phenol content on extraction features. *Journal of Science Food & Agriculture* 87,2638-2647. (2007).
- [42] **Talhaoui N, and al.** Phenolic compound in olive leaves: Analytical determination, biotic and abiotic influence, and health benefits. *Food Research International* 77, 92–108. (2015).
- [43] **-De Lucas A, and al.** Supercritical fluid extraction of tocopherol concentrates from olive tree leaves. *The Journal of Supercritical Fluids* 3, 221-228. (2002).
- [44] **-Yuhong L, and al.** Study on using microwave to extract flavonoid antioxidants from olive leaves. *Journal written in Chinese* 8, 111-114. (2006).
- [45] **Orozco-Solano, and al.** Ultrasound-assisted extraction and derivatization of sterols and fatty alcohols from olive leaves and drupes prior to determination by gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1217, 1227-1235. (2010).
- [46] **-Tadashi U.** Antiaging food compositions containing collagen, and their manufacture. Patent written in Japanese, 7. (2006).
- [47] **Komaki E, and al.** Identification of Anti-Amylase Components from Olive Leaf Extracts. *Food Science. Technology. Research* 1, 35-39. (2003).

- [48] **Farag R.S, and al.** Use crude olive leaf juice as a natural antioxidant for the stability of sunflower oil during heating. *International Journal of Food Science & Technology* 42,107-115. (2007).
- [49] **Roux M, and al.** Self-assemblies of amphiphilic cyclodextrins. *Eur Biophys J.* (36), p : 861-867, (2007).
- [50] **Loftsson T, and al.** Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *Int J of pharm,* (2007).
- [51] **Villiers A.** Sur la fermentation de la fécule par l'action du ferment butyrique. *Compt. Rend. Acad . Sci .*112 ; p : 536-538, (1891).
- [52] **Schardinger F.**Uber Thermophile Bakterienausverhiedenen Speisen and Milch ,sowiebereinige Umsetzungsproduktederseiben in kohlenhydrathdrathaltigen Nahrlosungen ,darunterkrystallisierte polysaccharide (dextrine )ausStarke ,p :865-880 , (1903).
- [53] **Schardinger,F.**Building kristallisierter polysaccharide (dextrine) ausStrakekleisterdurchMikroben.zentralbl.Bakteriol.parasitenk .Abt .II 29, p : 188-197, (1911).
- [54] **freudenberg k, and al.** Neue ansichtenuber die starke. *Naturwiss,* p : 850-853, (1939).
- [55] **freudenberg k, and al** .Die konstitution der schardinger-dextrine  $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$ .*Z.Naturforsch* , p : 464, (1948).
- [56] **french D.** The Schardinger dextrine. *Adv .carbohydr. Chem,* p : 189-260, (1957).
- [57] **Ogawa N, and al.**phsicochemical eharacterization of cyclodextrine-drug interactions in the solid state and the effect of water on these interactions.*journal of pharmaceutical Sciences,* p : 942-954, (2015).
- [58] **Szejtli J.** *pure Appl.chem,* p : 1825-1845, (2004).
- [59] **Crini G, and al. N.** L'actualitéchimique, p : 18-25, (2001).
- [60] **Schmid G.** cyclodextrin glycosyltransferase production :yield enhancement by overexpression of cloned genes . *Trends biotechnol,* p : 244-248, (1989).

- [61] **Szejtli J.** Chem. Rev, p : 1743-1753,(1998).
- [62] **Loftsson T, and al.** Int .J. pharm, p 115-121, (1998).
- [63] **Loftsson T.** Pharm . Technol . Europe, p : 40-50, (1999).
- [64] **Loftsson T.** Cyclodextrin News, p : 23-24,(2001).
- [65] **Loftsson T, and al .** pharmaceutical applications of cyclodextrins : basic science and product development . journal of pharmacy and pharmacology, p : 1607-1621, (2010).
- [66] **Szente L and al.** Highly soluble cyclodextrin derivatives : chemistry, properties, and trends in development . Advanced drug delivery reviews , p : 17-28, (1999).
- [67] **Davis M. and al.** Cyclodextrin-based pharmaceutice : past, present and future. Nature reviews drug discovery, p : 1023-1035, (2004).
- [68] **Sebaaly C.** Préparation a petite et grande échelle des liposomes encapsulant l'huile essentielle de clou de girofle libre et sous forme de complexe d'inclusion dans l'hydroxypropyl –  $\beta$ - cycodextrine : caractérisation des nanostructures et évaluation de leurs effet antioxydant. Thèse de doctorat. Université de Lyon, (2016).
- [69] **Kfoury M.** Préparation, caractérisation physicochimique et évaluation des propriétés biologiques de complexes d'inclusion a base de cyclodextrines a des principes actifs de type phénylpropanoïdes , (2015).
- [70] **Huet S.** Science et avenir, p : 76 , (1993).
- [71] **J-M Lehn.** La Recherche, p : 12-13, (1981).
- [72] **Fastrez J.** Chimie Nouvelle, p : 5, (1983).
- [73] **Chilla B, and al.** Etude De Stabilité d'un principe actif par Encapsulation par la  $\beta$ -Cyclodextrine /Extrait de plante de thé. Université de Bejaia, (2016-2017).
- [74] **Higuchi T, and al.** Phase-solubility techniques. Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation, p : 117-212, (1965).
- [75] **Brewster M, and al.** Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers,,p : 645-666, (2007).
- [76] **Boudraa S, Lalam A.** Etude de l'effet antifongique de l'huile essentielle encapsulé avec les cyclodextrines. Université de Bejaia, (2021).

# **Annexes**

**Annexe : Equipements et appareils utilisés durant cette étude**

**a) Rota vapeur**



**b) Plaque agitatrice multiple**



**c) UV-Visible**



**d) Presse hydraulique**



**e) Spectroscopie infrarouge**



### **Résumé**

Parmi les plantes médicinales qui constituent le règne végétal, se trouve l'olivier. Ce travail a porté le choix sur les feuilles d'olivier provenant de la région de Sidi-Aïch. Le but principal de ce travail, est d'améliorer la solubilité de l'extrait des feuilles d'olivier par la cyclodextrine. La composition de l'EFO a été quantifiée par différentes dosages, qui nous a fourni de taux de composés phénolique dans l'EFO ou les résultats sont estimés à : **565,47 µgEAG/mg d'extrait** pour les polyphénols, **35,32 µgEQ/mg d'extrait** pour les flavonoïdes et **332,331 µgEC/mg d'extrait** pour les tannins condensés. L'étude de l'activité antioxydante par le piégeage de radical libre DPPH, a indiqué un très bon pourcentage d'inhibition de **87,67%**. Le diagramme d'**Higuchi** et **Connors** est effectuée pour l'étude de solubilité de l'extrait dans différentes types de cyclodextrine comme la **α-CD**, **β-CD** et **Mβ-CD**. Les résultats sont analysés par spectroscopie UV-visible et infrarouge, on a obtenu les résultats suivants :

- Pour la **α-CD** et **Mβ-CD**, on a obtenu un profil **A<sub>P</sub>**.
- Pour la **β-CD** on a obtenu un profil **B<sub>I</sub>**.

Cela nous a permis de sélectionner la CD adéquate pour l'étape suivante, ou on a préparé des complexes d'inclusion (Extrait/αCD) à divers ratio (1 :1), (1 :2) et (2 :1), et caractériser ces CIs par le teste de dissolution. Ce dernier, a démontré que le ratio (2 :1) est le meilleur pour ce type d'encapsulation. D'après cette étude, on peut conclure que les feuilles d'olivier sont un sous produit très précieux qui doit être valorisé.

**Mots clés :** Extraction, encapsulation, *Olea europaea*, cyclodextrine, Higuchi et Connors, complexe d'inclusion.

### **Abstract**

Among the medicinal plants that make up the plant kingdom is the olive tree. This work focused on the choice of olive leaves from the Sidi-Aïch region. The main goal of this work is to improve the solubility of olive leaf extract by cyclodextrin. The composition of EFO was quantified by different assays, which provided us with the rate of phenolic compounds in EFO where the results are estimated at: **565.47 µgEAG/mg of extract** for polyphenols, **35.32 µgEQ/mg of extract** for the flavonoids and **332.331 µgEC/mg of extract** for the condensed tannins. The study of antioxidant activity by DPPH free radical scavenging indicated a very good percentage inhibition of **87.67%**. The Higuchi and Connors diagram is performed for the study of extract solubility in different types of cyclodextrin such as **α-CD**, **β-CD** and **Mβ-CD**. The results are analyzed by UV-visible and infrared spectroscopy, the following results were obtained:

- For **α-CD** and **Mβ-CD**, an **A<sub>P</sub>** profile was obtained.
- For **β-CD**, a **B<sub>I</sub>** profile was obtained.

This allowed us to select the appropriate CD for the next step, where we prepare inclusion complexes (Extract/αCD) at various ratios (1:1), (1:2) and (2:1), and characterize these ICs by the dissolution test. The latter demonstrated that the ratio (2:1) is the best for this type of encapsulation. According to this study, it can be concluded that olive leaves are a very valuable by-product that must be valued.

**Keywords:** Extraction, encapsulation, *Olea europaea*, cyclodextrin, Higuchi and Connors, inclusion complex.