

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



Faculté de Technologie
Département de Génie des procédés
Laboratoire de Génie des procédés

Mémoire
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
Master

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

Présenté par

Boucheffa Dalia

Zerguini Ismahane

Thème

Extraction des métabolites du *Juniperus Phoenicea* L. formulation par microencapsulation des extraits dans Dextrine/CMC/PEG et étude in vitro de la cinétique de libération.

Soutenue le 29/06/2025

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade	Affiliation	Qualité
M ^{me} Belhadj Nadra	Professeur	Université de Béjaia	Présidente
M ^{me} Idres Nacéra	MCB	Université de Béjaia	Examinatrice
M ^{me} Belkacemi Hayet	Professeur	Université de Béjaia	Encadrante
M ^{lle} Benchallal Fadia	Dr	Université de Béjaia	Co-Encadrante

Année Universitaire : 2024/2025

Populaire et Démocratique Algérienne République
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Déclaration sur l'honneur
Engagement pour respecter les règles d'authenticité scientifique dans
l'élaboration d'un travail de recherche

Arrêté ministériel n° 1082 du 27 décembre 2020 (*)
fixant les règles relatives à la prévention et la lutte contre le plagiat

Je soussigné,

Nom : Boucheffa
Prénom : Dalia
Matricule : 09 18 33 000 622
Spécialité et/ou Option : Genie pharmaceutique
Département : Genie des procédés
Faculté : Technologie
Année universitaire : 2024/2025

et chargé de préparer un mémoire de (Licence, Master, Autres à préciser) : Master

Intitulé : Extraction des métabolites de Juniperus phoenicea L.
Formulation par microencapsulation des extraits dans
Dextane /CMC/ PEG et étude in vitro de la cinétique de libération
déclare sur l'honneur, m'engager à respecter les règles scientifiques, méthodologiques,
et les normes de déontologie professionnelle et de l'authenticité académique requises dans
l'élaboration du projet de fin de cycle cité ci-dessus.

Fait à Béjaïa le
09/07/2025

Signature de l'intéressé

(*) Lu et approuvé
A. Boucheffa

(*) Arrêté ministériel disponible sur le site www.univ-bejaia.dz/formation (rubrique textes réglementaires)

Populaire et Démocratique Algérienne République
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Déclaration sur l'honneur
Engagement pour respecter les règles d'authenticité scientifique dans
l'élaboration d'un travail de recherche

Arrêté ministériel n° 1082 du 27 décembre 2020 (*)
fixant les règles relatives à la prévention et la lutte contre le plagiat

Je soussigné,

Nom : ...Zerguini.....
Prénom : ...Ismahane.....
Matricule : ...2020 33 00 65 73.....
Spécialité et/ou Option :Génie pharmaceutique.....
Département :Génie des procédés.....
Faculté :Technologie.....
Année universitaire : 2024/...2025

et chargé de préparer un mémoire de (Licence, Master, Autres à préciser) :Masler.....

Intitulé: ...Extraction des métabolites du Juniperus phoenicea L.
Formulation par microencapsulation des extraits dans
Dextrine / CMC / PEG et étude in vitro de la cinétique de libération.

déclare sur l'honneur, m'engager à respecter les règles scientifiques, méthodologiques,
et les normes de déontologie professionnelle et de l'authenticité académique requises dans
l'élaboration du projet de fin de cycle cité ci-dessus.

Fait à Béjaïa le
09/07/2025

Signature de l'intéressé

(*) Lu et approuvé

.....Jergin.....

(*) Arrêté ministériel disponible sur le site www.univ-bejaia.dz/formation (rubrique textes règlementaires)

Remerciements

*Avant toute chose, nous rendons grâce à **Allah**, Le Très-Haut, pour nous avoir accordé la force, la santé, la patience et la persévérance qui ont guidé chacune des étapes de ce travail. Sans Sa volonté, rien n'aurait été possible.*

*Nous tenons à exprimer notre **profonde gratitude** à **Madame H. Belkacemi**, notre encadrante, pour son accompagnement exemplaire, sa disponibilité constante, ses conseils avisés et sa rigueur scientifique. Sa patience, son soutien moral et intellectuel tout au long de ce projet ont été déterminants pour la réussite de ce mémoire. Nous avons eu la chance inestimable d'être guidés par une personne aussi compétente qu'inspirante.*

Nos remerciements les plus sincères s'adressent également aux membres du jury, pour l'honneur qu'ils nous font en acceptant d'évaluer ce travail, ainsi que pour l'intérêt et l'attention qu'ils lui ont accordés.

*Nous remercions très chaleureusement **Madame Y. Amrani**, ingénieur au laboratoire pharmaceutique n°9 (bloc 11, Université de Béjaïa), pour son aide précieuse, sa bienveillance et sa disponibilité tout au long de nos expérimentations.*

*Nos vifs remerciements vont également à **Madame M. Adrar**, **Madame Bradai**, ainsi qu'à l'ensemble du personnel des **laboratoires de Génie des procédés** (bloc 11), pour leur appui technique, leur accueil et leur contribution à la réussite de notre travail expérimental.*

Nous n'oublions pas l'ensemble de nos enseignants, qui ont su éveiller en nous la passion du savoir, la rigueur scientifique et le sens critique tout au long de notre parcours universitaire.

*Enfin, nous exprimons notre **profonde reconnaissance à nos familles**, pour leur soutien constant, leur patience, leurs prières et leur amour inconditionnel. Leur présence à nos côtés a été une source de force et d'équilibre, dans les moments difficiles comme dans ceux de réussite.*

Dédicace

Avant toute chose, Je remercie Dieu de m'avoir donné la force, la patience et la chance de réaliser ce travail, que je dédie avec tout mon cœur:

*À ma très chère mère pour son sacrifice, son aide, ses conseils et sa patience.
Mon très cher père pour tous ce qu'il a fait pour moi durant toutes mes années d'étude. Mes cher parents que Dieu vous garde.*

*À mon frère ma famille et mes proches,
Merci d'avoir toujours cru en moi, même dans les moments de doute.*

*À ma chère cousine: Louiza
Qui est bien plus qu'une cousine, une véritable sœur de cœur.
Merci pour ton soutien indéfectible, ta présence rassurante et tes paroles réconfortantes, que tu sois près de moi ou à distance ton encouragement m'a profondément portée tout au long de ce parcours*

*À mes ami(e)s fidèles: Delicia et Aniece,
Pour les instants de réconfort, les conseils partagés, les sourires échangés et votre précieuse compagnie durant ce chemin parfois semé d'embûches.*

*À ma binôme: Zerguini Ismahane:
Ton sens du partage et ta détermination ont grandement contribué à la qualité de ce travail.*

Dalia

Dédicace

*« Si Allah vous aide, nul ne peut vous vaincre. »
(Sourate Âl 'Imrân, verset 160)*

*Toute ma gratitude va à Allah, le Très-Haut, qui m'a accordé la force de persévérer,
la patience face aux épreuves, et la lumière pour mener à bien ce travail.*

Je dédie ce mémoire, avec tout mon amour et ma reconnaissance :

*À ma mère, source inépuisable de douceur, de prières et de sacrifices,
et à mon père, pour son soutien discret, sa sagesse et sa confiance.*

*À cette personne dont la présence silencieuse, la patience et l'écoute m'ont
profondément soutenue et encouragée tout au long de ce parcours.*

*À mes frères, pour leur appui, leurs conseils et leur affection,
à leurs épouses, pour leur gentillesse et leurs encouragements,
et à leurs enfants, qui apportent tant de lumière à nos vies.*

*À mes cousines Mounia et Maïssa, pour leur tendresse, leurs mots réconfortants et
leur énergie.*

*À ma binôme Boucheffa Dalia, pour sa collaboration précieuse, son esprit d'équipe,
sa persévérance et les efforts partagés tout au long de cette aventure.*

*Et enfin, à toutes les personnes qui, de près ou de loin, m'ont offert leur aide, leur
prière ou leur présence : Merci du fond du cœur.*

Ismahane

Liste des abréviations

Abs : Absorbance

Acf : Acide caféique

Acin : Acide cinnamique

AG : Acide gallique

ANOVA : Analyse de la variance

BBD : Box-Behnken Design

Cat : Catéchol

CMC : Carboxyméthylcellulose

Dex : Dextrine

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle

EEP% : Efficacité d'encapsulation des polyphénols

EEF% : Efficacité d'encapsulation des flavonoïdes

Ex : Extrait

Ex 2f : Extrait dilué deux fois

F1 : Fraction 1

F2 : Fraction 2

Flav : flavonoïde

FTIR : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

GC-MC : Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Gly : Glycérol

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

IR : Infrarouge

MeOH : Méthanol

Mg Eq AG/ g Ex Sec : Milligramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait sec

Mg Eq Qr / g Ex Sec : Milligramme quercétine par gramme d'extrait sec

PA : Principe actif

PEG : Le polyéthylène glycol

pH : Potentiel hydrogène

PP : polyphénol

Qr : Quercétine

Rp1 : Rapport massique Dextrine/CMC

Rp2 : Rapport massique Dextrine/PEG

Tr : Temps de rétention

TPPNa : Tripolyphosphate de sodium

UV-Vis : Spectroscopie ultraviolette-visible

Liste des figures

***Chapitre I : Le Juniperus phoenicea L, ses
métabolites et ses applications thérapeutiques.***

Numéro de la figure	Titre de la figure	Page
Figure I.1	structure chimique du polyphénol	05
Figure I.2	structure chimique de l'acide caféique	05
Figure I.3	structure chimique de l'acide gallique	05
Figure I.4	structure chimique du catéchol	06
Figure I.5	structure chimique de l'acide cinnamique	06
Figure I.6	structure de base des flavonoïdes	06
Figure I.7	structure de la quercétine	07
Figure I.8	structure de la catéchine	07
Figure I.9	structure d'un tanin	07
Figure I.10	structure chimique du dibenzylbutane, un lignane	07
Figure I.11	Structure chimique typique d'une saponine (molécule glycosidique)	08
Figure I.12	Juniperus phoenicea L	10
Figure I.13	Juniperus phoenicea L. (Genévrier de Phénicie) dans son habitat naturel	11
Figure I.14	Carte chronologique pour la distribution de juniperus phoenicea	12

***Chapitre II : La microencapsulation : procédés, vecteurs
et cinétique de libération***

Numéro de la figure	Titre de la figure	Page
Figure II.1	Schéma comparatif de la structure d'une microcapsule et d'une microsphère	14

Liste des figures

Figure II.2	Schéma représentatif des types de nanoparticules. a : nanosphères(NS), b : nanosphères + principe actif adsorbé, c, d : nanocapsules principe actif dissous (c)ou dispersé(d)	15
Figure II.3	Structure d'un liposome	16
Figure II.4	Morphologie des microparticules	16

Chapitre III : Plans d'expériences et méthodes d'extraction

Numéro de la figure	Titre de la figure	Page
Figure III.1	Schéma illustrant un plan de Box- Behnken à trois facteurs	22
Figure III.2	Schéma de l'appareillage d'extraction au soxhlet	23

Chapitre IV : Matériels et Méthodes

Numéro de la figure	Titre de la figure	Page
Figure IV.1	plante de Juniperus phoenicea L., collectée pour l'étude	26
Figure IV.2	Aspect des rameaux de Juniperus phoenicea L.	27
Figure IV.3	Broyage des rameaux secs avec un mortier en porcelaine	27
Figure IV.4	Extraction par l'appareil de Soxhlet	28
Figure IV.5	Extrait concentré (Fraction F2) récupéré après évaporation sous rotavapeur	28

Liste des figures

Figure IV.6	Schéma du protocole de dosage des polyphénols dans les extraits du <i>Juniperus Phoenicea</i> L	31
Figure IV.7	Représentation schématique de la réaction entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium	31
Figure IV.8	Schéma du protocole de dosage des flavonoïdes dans les extraits du <i>Juniperus Phoenicea</i> L.	32
Figure IV.9	la réaction chimique entre le radical DPPH et l'antioxydant, et ses formes oxydée (violet) et réduite (jaune)	33
Figure IV.10	étapes de dilution de l'extrait et mesure de l'activité antioxydante par le DPPH	34
Figure IV.11	photo montrant les vials des différents échantillons	36
Figure IV.12	Structure chimique de polyéthylène glycol	36
Figure IV.13	formule chimique de la dextrine	36
Figure IV.14	Structure chimique de la cellulose, composée d'unités β -D-glucose reliées par des liaisons β (1 $\rightarrow$ 4) glycosidiques	37
Figure IV.15	Structure moléculaire du tripolyphosphate de sodium ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$)	37
Figure IV.16	Structure chimique du glycérol	38
Figure IV.17	l'ajout du glycérol et de l'éthanol à l'extrait sec.	42
Figure IV.18	la phase continue sous agitation magnétique dans un bécher	43
Figure IV.19	la phase dispersée sous agitation magnétique	44

Liste des figures

Figure IV.20	la poudre des microparticules d'extrait après séchage	44
Figure IV.21	Gélule remplie de microsphères de l'extrait	45
Figure IV.22	Appareil de dissolution (Dissolutest) pour l'étude de la cinétique de libération.	46
Figure IV.23	Microscope optique	47

Chapitre V : Résultats et discussion

Numéro de la figure	Titre de la figure	Page
Figure V.1	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux	49
Figure V.2	Histogramme de variation des teneurs en polyphénols totaux (mg EAG/g extrait sec) dans les fractions F1 et F2 de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	50
Figure V.3	Courbe d'étalonnage des flavonoïdes	50
Figure V.4	Histogramme de variation des teneurs en flavonoïdes totaux (mg EAG/g extrait sec) dans les fractions F1 et F2 de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	51
Figure V.5	Histogramme de l'activité antioxydante et pouvoir d'inhibition du radical DPPH° de l'extrait F2 du <i>Juniperus phoenicea</i> L.	52
Figure V.6	Chromatogramme par HPLC du filtrat de l'essai 3	54
Figure V.7	Chromatogramme par HPLC du filtrat de l'essai 4	54
Figure V.8	Chromatogramme par HPLC du filtrat de l'essai 5.	55
Figure V.9	Chromatogramme par HPLC du filtrat de l'essai 6.	55
Figure V.10	Chromatogramme par HPLC du filtrat de l'essai 7	56
Figure V.11	Chromatogramme par HPLC du filtrat de l'essai 8.	56
Figure V.12	Chromatogramme par HPLC du filtrat de l'essai 9	57
Figure V.13	Chromatogramme par HPLC du filtrat de l'essai 10.	57
Figure V.14	Droite de prédiction.	64

Liste des figures

Figure V.15	Diagramme de Pareto des effets des termes sur EEP%	64
Figure V.16	Diagramme des effets des facteurs sur la réponse EEP%.	65
Figure V.17	Diagramme d'optimisation et de prédiction de la réponse pour EEP %.	66
Figure V.18	Les graphes des résidus.	67
Figure V.19	Diagrammes Surfaces –Réponses ou contours pour EEP%	68
Figure V. 20	Droite de prédiction pour la réponse EFF%	71
Figure V.21	Diagramme de Pareto des effets des termes sur EEF%	72
Figure V.22	Diagramme des effets des facteurs sur la réponse EEF%	73
Figure V.23	Diagramme d'optimisation de la réponse pour EEF %	74
Figure V.24	Les graphes des résidus.	75
Figure V.25	Diagrammes Surfaces –Réponses ou contours pour EEF%.	77
Figure V.26	Cinétique de la libération des polyphénols des formulations	81
Figure V.27	Spectres IRFT de l'extrait <i>Juniperus Phoenicea</i> L, de la quercétine et de l'acide gallique.	83
Figure V.28	Spectres IRFT de l'extrait <i>Juniperus Phoenicea</i> L, de l'acide cinamique, l'acide caféique et le catéchol.	83
Figure V.29	Spectres IRFT de l'extrait <i>Juniperus Phoenicea</i> L et des microsphères de l'essai 1, 3, et 10.	84
Figure V.30	Images des microsphères E1, E3 et E10 avec un grossissement x4	88
Figure V.31	Images des microsphères E1, E3 et E10 avec un grossissement x10	88
Figure V.32	Images des microsphères E1, E3 et E10 avec un grossissement x40	88
Figure V.33	Images des microsphères E1, E3 et E10 avec un grossissement x100	88
Figure V.34	Images de l'extrait avec un grossissement x4 x10 x40 x100	89

Liste des tableaux

Chapitre I : Le Juniperus phoenicea L., ses métabolites et ses applications thérapeutiques

Numéro du tableau	Titre du tableau	Page
Tableau I.1	Biosystématique du genévrier (Juniperus phoenicea L.)	10

Chapitre III : Plans d'expériences et méthodes d'extraction

Numéro du tableau	Titre du tableau	Page
Tableau III.1	Matrice d'un plan factoriel fractionné 2^{4-1} avec 4 facteurs à deux niveaux.	21

Chapitre IV : Matériels et Méthodes

Numéro du tableau	Titre du tableau	Page
Tableau IV.1	Gamme de dilution de l'acide gallique	30
Tableau IV.2	préparation des étalons de quercétine	32
Tableau IV.3	Dilutions de l'extrait F2	33
Tableau IV.4	Les différentes masses de PEG, de dextrine, de CMC et volumes d'extrait Juniperus phoenicea L. utilisés pour les essais du plan d'expérience factoriel fractionné.	40
Tableau IV.5	Variables codées et réelles des facteurs	40
Tableau IV.6	Matrice du plan factoriel fractionné à 4 facteurs : dose de polyphénols, rapport dextrine/PEG, rapport dextrine/CMC et pH, et valeurs codées pour chaque essai.	41
Tableau IV.7	Variables codées et réelles des facteurs.	41
Tableau IV.8	Matrice du plan factoriel fractionné à 4 facteurs : dose de Flavonoïdes, rapport	42

Liste des tableaux

	dextrine/PEG, rapport dextrine/CMC et pH, avec les valeurs codées et les quantités utilisées pour chaque essai.	
Tableau IV.9	Temps et le volume de la cinétique de libération.	46

Chapitre V : Résultats et discussion

Numéro du tableau	Titre du tableau	Page
Tableau V.1	Rendement massique des fractions F1 et F2 issues de l'extraction de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	48
Tableau V.2	pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH° par l'extrait F2 de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	52
Tableau V.3	Les temps de rétention et aires des pics chromatographiques des standards par HPLC.	58
Tableau V.4	Temps de rétention et les aires des pics des métabolites secondaires identifiés dans l'extrait par HPLC.	58
Tableau V.5	Détection qualitative des polyphénols dans l'extrait et les filtrats post-microencapsulation de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	59
Tableau V.6	Détection qualitative des flavonoïdes dans l'extrait et les filtrats post-microencapsulation de <i>Juniperus phoenicea</i> L.	60
Tableau V.7	Plan factoriel à 2 niveaux, 4 facteurs -2 réponses et taux d'encapsulation en polyphénols et en flavonoïdes des microparticules	62
Tableau V.8	Analyse statistique de la variance pour la réponse EEP%	63
Tableau V.9	Analyse statistique de la variance pour la réponse EEf%	70
Tableau V.10	Taux de libération (%) des polyphénols à partir des microcapsules des essais 1, 3, 10 et de la gélule (formulée à partir des microsphères de l'essai 3) dans un milieu à pH = 6.8.	80
Tableau V.11	Bandes d'absorption IR des liaisons chimiques caractéristiques de composés	85

Liste des tableaux

	identifiés dans l'extrait du Genévrier Phoenicea L et dans les standards.	
Tableau V.12	Bandes d'absorption IR des liaisons chimiques caractéristiques de composés identifiés dans l'extrait du Genévrier Phoenicea L, dans les excipients de la microencapsulation et des standard	86
Tableau V.13	Bandes d'absorption IR des liaisons chimiques caractéristiques de composés identifiés dans l'extrait du Genévrier Phoenicea L et dans les microspheres (E1, E3 et E10)	87

Sommaire

Sommaire

Remerciements

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction01

Chapitre I : Le *Juniperus phoenicea* L., ses métabolites et ses applications thérapeutiques

I.1. Généralités sur les plantes médicinales03

I.2. Généralités sur les métabolites03

I.2.1. Métabolites primaires04

I.2.2. Métabolites secondaires04

I.2.2.1. Classification des métabolites secondaires04

I.2.3. Les composés phénoliques04

I.2.3.1. Classification des composés phénoliques05

a) Phénols simples05

b) Flavonoïdes06

c) Autres polyphénols complexes07

I.2.4. Autres métabolites secondaires d'intérêt08

I.3. Contexte pathologique08

I.3.1. Diabète : définition et enjeux08

I.3.2. Maladies inflammatoires : bases physiopathologiques08

I.3.3. Infections bactériennes09

I.4. Présentation botanique de *Juniperus phoenicea* L09

I.4.1. La famille des Cupressacée09

Sommaire

I.4.2. Le genre <i>Juniperus</i>	09
I.4.3. L'espèce <i>Juniperus phoenicea</i> L	09
I.4.4. Taxonomie, nomenclature et description botanique de <i>Juniperus phoenicea</i> L	10
I.4.4.1. Taxonomie	10
I.4.4.2. Nomenclature de la plante	10
I.4.4.3. Description botanique	11
I.4.5. Répartition géographique	11
I.4.6. Usages traditionnels	12
I.4.7. Composition chimique de <i>Juniperus phoenicea</i> L	12
I.5. Activités pharmacologiques de <i>Juniperus phoenicea</i> L	13
I.6. Produits de santé et compléments à base de <i>Juniperus phoenicea</i> (et espèces proches)	13

Chapitre II : La microencapsulation : procédés, vecteurs et cinétique de libération

II.1. Définition de la microencapsulation	14
II.2. Classification des systèmes de microencapsulation	14
II.3. Intérêt de la microencapsulation	14
II.4. Vecteurs utilisés pour la microencapsulation	15
II.4.1. Les nanoparticules	15
II.4.2. Les liposomes	15
II.4.3. Les microparticules	16
II.5. Techniques de microencapsulation	16
II.5.1. Méthodes chimiques	16
II.5.2. Méthodes mécaniques	16
II.5.3. Méthodes physico-chimiques	16

Sommaire

II.6. Solvants pour la microencapsulation (ex : glycérol, eau)	17
II.7. Cinétique de libération du principe actif encapsulé	18
a) Systèmes à libération prolongé	18
b) Systèmes à libération accélérée	19
c) Systèmes à libération déclenchée	19

Chapitre III : Plans d'expériences et méthodes d'extraction

III.1. Introduction aux plans d'expériences	20
III.1.1. Définition des plans d'expériences	20
III.1.2. Intérêt dans l'optimisation des procédés d'extraction et d'encapsulation	20
III.1.3. Les types de plan d'expérience	20
a) Plan factoriel fractionné	20
b) Plan centré composés	21
c) Plan Box-Behnken	22
III.2. Méthodes d'extraction des métabolites végétaux	22
III.2.1. Définition de l'extraction	22
III.2.2. Techniques traditionnelles	22
III.2.3. Techniques plus avancées	23
III.2.3.1. Extraction par Soxhlet	23
III.2.3.2. Extraction assistée par micro-ondes (Microwave-Assisted Extraction, MAE)	25
III.2.3.3. Extraction assistée par ultrasons (Ultrasound-Assisted Extraction, UAE)	25

Chapitre IV : Matériels et méthodes

IV.1. Matériel végétal	26
IV.1.2. Prétraitement de l'échantillon	27
a. Lavage et conservation.....	27
b. Séchage et broyage	27
IV.2. Méthodes d'extraction	27

Sommaire

IV.2.1. Rendement massique des extraits	28
IV.3. Analyse quantitative par spectroscopie UV-visible	29
IV.3.1. Dosage des polyphénols totaux	29
IV.3.2. Dosage des flavonoïdes	31
IV.4. Activité antioxydante par la méthode de DPPH	33
IV.5. Analyse qualitative par chromatographie liquide à haute performance HPLC	34
IV.5.1. Principe et méthode	34
IV.5.2. Protocole expérimental	35
IV.6. Microencapsulation	36
IV.6.1. Présentation des matières premières	36
IV.6.2. Préparation des tampons de différents pH=4 ; 6 ; 8 de la phase continue	38
IV.6.3. Optimisation des paramètres de préparation des microparticules par plan d'expérience factoriel fractionné à 4 facteurs-2 niveaux et 2 points centraux	39
IV.6.3.1. Microencapsulation des polyphénols de l'extrait de <i>Juniperus phoenicea</i> L	39
IV.6.3.2. Microencapsulation des flavonoïdes	41
IV.6.4. Protocole de la microencapsulation	42
IV.7. Etude de la cinétique de libération des microparticules et de la gélule de <i>Juniperus phoenicea</i> L.....	45
IV.7.1. Préparation du milieu de dissolution intestinal (pH 6.8)	45
IV.7.2. Protocole de l'essai de dissolution des microsphères et de la gélule	45
IV.8. Caractérisation physicochimique	46
IV.8.1. Par infrarouge IRFT	46
IV.8.2. Observation par microscopie optique	47

Chapitre V : Résultats et discussion

V.1. Extraction	48
V.1.1. Rendement massique des extraits	48
V.2. Etude phytochimique	49
V.2.1. Par spectrophotométrie UV-Visible	49
V.2.1.1. Polyphénols totaux	49
V.2.1.2. Dosage des flavonoïdes	50
V.2.2. Activité antioxydante par la méthode de DPPH°	51
V.3. Caractérisation par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)	53
V.4. Modélisation, prévision et optimisation des résultats de microencapsulation	61
V.4.1. Analyse statistique et ANOVA	61
V.4.1.1. Taux d'encapsulation en polyphénols EEP%	63
1. Analyse de la variance et équation du modèle pour EEP%	63
2. Diagramme de Pareto pour EPP%	64
3. Diagrammes des effets des facteurs sur la réponse EEP%	65
4. Optimisation de la réponse EEP%	66
5. Optimisation de résidus de la réponse EEP%	66
6. Les diagrammes surface-réponse ou contours pour EEP%	68
V.4.1.2. Taux d'encapsulation en flavonoïdes EEF%	69
1. Analyse de la variance et équation du modèle pour EEF%	69
2. Diagramme de Pareto pour EEF%	71
3. Diagrammes des effets des facteurs sur la réponse EEF%	72
4. Optimisation de la réponse EEF%	73

Sommaire

5. Optimisation de résidus de la réponse EEf%	74
6. Les diagrammes surface-réponse ou contours pour EEf%	76
V.5. Etude de la libération in vitro des métabolites secondaires encapsulés dans les microsphères et dans la gélule	79
V.5.1. Profil de libération dans le milieu intestinal	79
V.6. Caractérisation des extraits et des microsphères du <i>Juniperus phoenicea</i> L	82
V.6.1. IRFT	82
V.7. Observations microscopiques	88
Conclusion et perspectives	90
Références bibliographiques	
Annexe	
Résumé	

Introduction

Introduction

Depuis des millénaires, les plantes médicinales jouent un rôle fondamental dans les traditions thérapeutiques à travers le monde. Leur richesse en composés secondaires bioactifs leur confère une large gamme d'effets pharmacologiques, utiles pour le traitement ou le soulagement de diverses maladies. Aujourd'hui, face aux limites et aux effets secondaires des médicaments de synthèse, l'intérêt pour les produits naturels se renforce, considérés comme des alternatives plus sûres et durables en matière de soins.

Longtemps perçu comme une maladie des pays industrialisés, le diabète sucré devient aujourd'hui une préoccupation croissante dans les pays en développement, en particulier en Afrique subsaharienne. Sa prévalence y augmente rapidement, dans un contexte de transition épidémiologique où les maladies non transmissibles remplacent progressivement les maladies infectieuses. Cette évolution, soutenue par le vieillissement de la population, la sédentarité, l'obésité et l'hypertension artérielle, représente une véritable menace de santé publique. L'Organisation mondiale de la santé prévoit que le nombre de diabétiques atteindra 300 millions d'ici 2025, avec une hausse plus marquée dans les régions à faible ressources [1]. Si les traitements antidiabétiques actuels permettent un certain contrôle de la maladie, ils sont souvent associés à des effets indésirables, limitant leur accessibilité. Dans ce contexte, le recours à des alternatives naturelles, plus sûres et mieux tolérées, apparaît comme une voie prometteuse à explorer pour améliorer la prise en charge du diabète [2].

Depuis longtemps, *Juniperus phoenicea* L. est reconnue pour ses vertus médicinales, principalement grâce à la richesse de ses métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les tanins, et les huiles essentielles. Ces composés confèrent à cette plante des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antidiabétiques, ce qui en fait un candidat prometteur pour le développement de traitements naturels contre diverses maladies, notamment le diabète. L'étude approfondie de ses extraits et la formulation de nouvelles formes galéniques, telles que la microencapsulation, peuvent améliorer l'efficacité et la biodisponibilité de ses principes actifs, ouvrant la voie à des alternatives thérapeutiques innovantes [3].

Dans ce cadre, les techniques modernes telles que l'extraction optimisée, la microencapsulation et l'étude de la libération contrôlée des principes actifs suscitent un intérêt croissant. Appliquées aux extraits végétaux, elles offrent des perspectives prometteuses pour renforcer l'efficacité, la stabilité et la biodisponibilité des composés bioactifs issus du *Juniperus phoenicea* L., tout en favorisant une approche plus rationnelle dans le développement de produits thérapeutiques d'origine naturelle.

Ce travail vise à valoriser les extraits de *Juniperus phoenicea* L. en développant une formulation microencapsulée à base de polymères naturels, afin d'améliorer la stabilité et la libération contrôlée de ses principes actifs. L'étude inclut également une évaluation in vitro de la cinétique de libération, dans le but de proposer une alternative naturelle pour la prise en charge du diabète.

Le mémoire est structuré en deux parties complémentaires. La première partie, consacrée à l'état de l'art, présente successivement : les propriétés pharmacologiques de *Juniperus phoenicea* L. et ses métabolites, les principes et applications de la microencapsulation avec un focus sur les polymères naturels, puis Plans les d'expériences et méthodes d'extraction. La seconde partie, expérimentale, décrit les protocoles mis en œuvre pour l'extraction, la formulation et l'évaluation des extraits, suivie d'une présentation et discussion des résultats obtenus.

***Chapitre I : Le Juniperus phoenicea L., ses
métabolites et ses applications thérapeutiques***

Partie I : l'état d'art et revue bibliographique

Chapitre I : Le *Juniperus phoenicea* L., ses métabolites et ses applications thérapeutiques

I.1. Généralités sur les plantes médicinales

Les plantes médicinales regroupent l'ensemble des espèces végétales possédant des propriétés thérapeutiques, utilisées dans le cadre de traitements naturels dits phytothérapeutiques. Dans de nombreux cas, ces remèdes d'origine végétale peuvent s'avérer plus économiques, parfois plus efficaces et mieux tolérés que certains médicaments de synthèse, notamment en raison de leurs effets secondaires généralement moindres. Une plante médicinale peut provenir de différentes parties d'un organisme végétal : arbre, buisson, champignon, légume, racine ou encore algue [4].

Face à l'augmentation mondiale des maladies chroniques telles que le diabète de type 2, l'hypertension et les pathologies inflammatoires ou dégénératives, l'intérêt pour les plantes médicinales comme alternatives ou compléments thérapeutiques s'est nettement accru. Ces plantes, riches en composés bioactifs, présentent des effets multiples qui contribuent à la régulation du métabolisme, tout en bénéficiant d'un profil de tolérance généralement favorable. Dans le cas du diabète, de nombreuses espèces végétales ont démontré un potentiel hypoglycémiant, antioxydant, ainsi qu'une capacité à protéger les cellules β -pancréatiques, favorisant ainsi un meilleur contrôle glycémique [5].

Les effets thérapeutiques des plantes médicinales sont principalement attribués à leurs métabolites secondaires, composés organiques produits par les plantes en réponse à des facteurs environnementaux ou biologiques, sans être directement impliqués dans leur croissance ou développement. Ces métabolites jouent un rôle essentiel dans la défense de la plante contre les agents pathogènes, les herbivores ou le stress oxydatif. Ils regroupent plusieurs classes chimiques, parmi lesquelles les alcaloïdes, flavonoïdes, terpènes, tanins, saponines, et glycosides. Ces composés bioactifs possèdent de nombreuses propriétés pharmacologiques, telles que des effets anti-inflammatoires, antioxydants, antimicrobiens, ou encore hypoglycémiants, ce qui explique leur importance dans la phytothérapie et la recherche de nouveaux agents thérapeutiques [6].

I.2. Généralités sur les métabolites

Depuis l'aube des temps, l'homme a su tirer profit des ressources naturelles pour répondre à ses besoins essentiels : se nourrir, se vêtir, se loger et se soigner. Les organismes vivants – plantes, micro-organismes et espèces marines – renferment une incroyable diversité de métabolites, dont les structures variées et les fonctions biologiques restent parfois mystérieuses. Ces molécules jouent des rôles multiples : production d'énergie, renforcement structural, communication cellulaire, modulation enzymatique (activation ou inhibition), etc. Ce sont les maillons indispensables du métabolisme [7]. Les plantes produisent deux types de métabolites : primaires et secondaires.

I.2.1. Métabolites primaires

Les métabolites primaires sont des petites molécules communes à toutes les cellules vivantes comme les sucres, les acides aminés, les acides tricarboxyliques, les intermédiaires du cycle de Krebs, les protéines, les acides nucléiques et les polysaccharides [8].

I.2.2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont des composés produits naturellement par les plantes, mais qui ne jouent pas un rôle direct dans leur métabolisme principal. Contrairement aux métabolites primaires, ces molécules sont souvent spécifiques à certains organismes comme les végétaux, les bactéries et les champignons, bien que certaines productions uniques aient également été identifiées chez certains animaux [9].

I.2.2.1. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont classés selon différents critères : leur structure chimique, leur composition, leur solubilité ou leur voie de biosynthèse. On distingue principalement trois grandes classes :

- Les composés phénoliques
- Les alcaloïdes
- Les terpènes

Chacune de ces classes comprend ensuite diverses sous-classes présentant des structures moléculaires plus complexes [10].

I.2.3. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont une vaste famille de métabolites secondaires présents dans de nombreuses plantes agricoles et médicinales [11,12]. Leur structure de base est constituée d'un noyau aromatique (benzénique) substitué par un ou plusieurs groupes hydroxyles [13]. Ces groupes peuvent être libres ou engagés dans des fonctions telles que les éthers, esters ou hétérosides.

On recense plus de 8000 composés phénoliques naturels différents [14]. Ils sont regroupés en deux grandes catégories : les phénols simples (comme l'acide caféique, l'acide gallique ou le catéchol) et les polyphénols complexes, incluant principalement les flavonoïdes, les tanins, les lignanes et les stilbènes. Les polyphénols jouent un rôle important dans la prévention de nombreuses maladies chroniques telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, l'athérosclérose et l'hypertension. Ces effets sont en grande partie dus à leur capacité à moduler l'activité de plusieurs enzymes et protéines cellulaires (protéines kinases, COX, NOS, cytochrome P450, etc.) [15].

La **figure I.1** présente une structure chimique représentative d'un polyphénol.

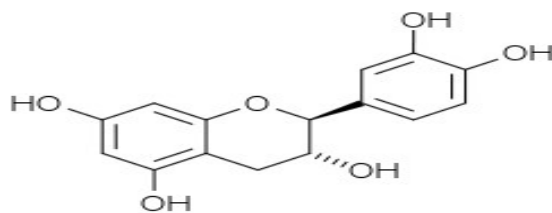


Figure I.1 : structure chimique du polyphénol [16].

I.2.3.1. Classification des composés phénoliques

a) Phénols simples

- **Acide caféique** : L'acide caféique (3,4-dihydroxycinnamique) est un acide phénolique naturellement présent dans de nombreuses plantes, notamment le café, certains fruits et le raisin. Il est reconnu pour ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et anticancéreuses, démontrées par plusieurs études in vitro et in vivo [17]. La **figure I.2** illustre sa structure chimique caractéristique, incluant un noyau aromatique hydroxylé et une chaîne latérale insaturée.

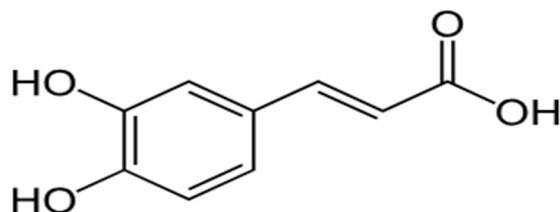


Figure I.2 : structure chimique de l'acide caféique [18].

- **Acide gallique** : (3, 4,5-trihydroxybenzoïque) est un acide phénolique répandu dans de nombreux végétaux (noix, thé, plantes médicinales) et réputé pour ses effets antioxydants, anti-inflammatoires et anticancéreux, démontrés par des études in vitro et in vivo [19]. Sa structure, illustrée à la **figure I.3**, présente un noyau aromatique portant trois groupes hydroxyles.

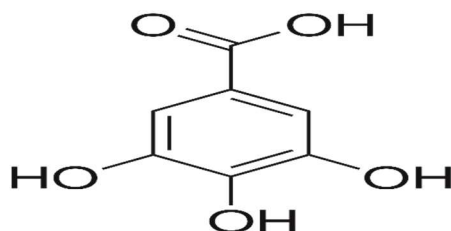


Figure I.3 : structure chimique de l'acide gallique [20].

- **Catéchol** : Le catéchol (1,2-dihydroxybenzène) est un phénol simple reconnu pour sa puissante activité antioxydante. Justino et al. (2006) ont démontré qu'un dérivé du catéchol issu de l'acide abiétique possède une capacité élevée à piéger les radicaux libres [21]. Sa structure est illustrée à la **figure I.4**.

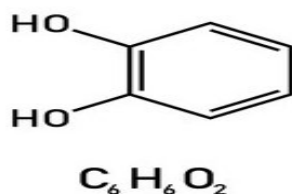


Figure I.4 : structure chimique du catéchol [22].

- **Acide cinnamique :** L'acide cinnamique est un acide phénolique naturel aux propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et cardioprotectrices. il joue un rôle prometteur dans la prévention des maladies cardiovasculaires [23]. Sa structure est illustrée à la **figure I.5**.

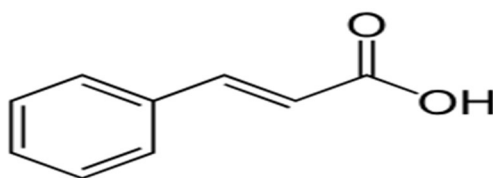


Figure I.5 : structure chimique de l'acide cinnamique [24].

b) Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques naturels abondamment présents dans les fruits, légumes, thés, vins et plantes médicinales. Ils appartiennent à la grande famille des métabolites secondaires végétaux. Ces molécules possèdent d'importantes propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimutagènes et anticancéreuses, ce qui leur confère un rôle essentiel dans la prévention de maladies chroniques comme les cancers, les maladies cardiovasculaires ou neurodégénératives. Leur mode d'action implique la modulation de nombreuses enzymes et voies cellulaires. Aujourd'hui, les flavonoïdes sont largement utilisés dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et nutritionnel, et font l'objet de recherches approfondies pour comprendre leurs mécanismes d'action et évaluer leur potentiel thérapeutique [25].

La **figure I.6** illustre la structure de base commune aux flavonoïdes, caractérisée par deux noyaux aromatiques reliés par un cycle central à six chaînons [X].

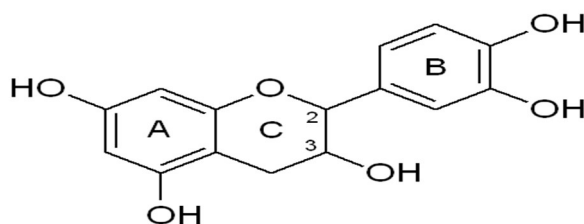


Figure I.6 : structure de base des flavonoïdes [26].

Parmi les flavonoïdes les plus étudiés figurent la quercétine, la catéchine, la lutéoline, la kaempférol et les anthocyanines [25]. Les structures chimiques de la quercétine et de la catéchine sont représentées dans les **figures I.7** et **I.8**.

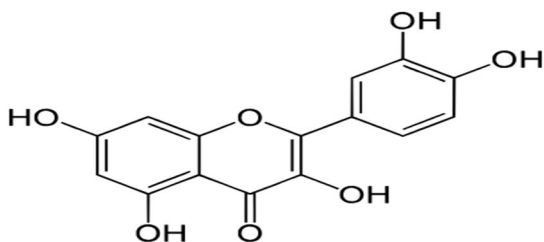


Figure I.7 : structure de la quercétine [27].

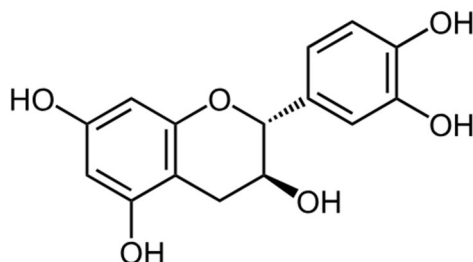


Figure I.8 : structure de la catéchine [28].

D'autres sous-classes de flavonoïdes existent, telles que les flavones, flavanones, isoflavones et anthocyanines, présentant chacune des propriétés biologiques spécifiques [29].

c) Autres polyphénols complexes

- **Tanins** : Les tanins sont des polyphénols hydrosolubles de masse moyenne, connus pour leur capacité à précipiter les protéines telles que la gélatine et les alcaloïdes. Ils sont principalement localisés dans les vacuoles des cellules périphériques des tiges, feuilles, fruits et graines [30]. La **figure I.9** illustre la structure chimique d'un tanin représentatif.

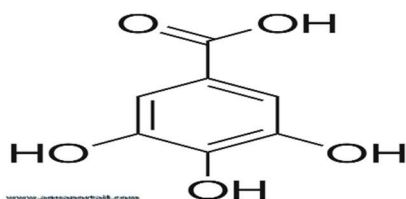


Figure I.9 : structure d'un tanin [31].

- **Lignanes** : sont des polyphénols présents dans les graines de lin, les céréales et certains fruits, connus pour leurs effets antioxydants et œstrogéniques [32]. La **figure I.10** représente la structure chimique du dibenzylbutane, un lignane.

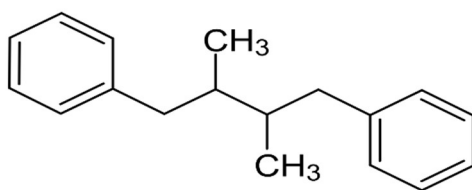


Figure I.10 : structure chimique du dibenzylbutane, un lignane [33].

I.2.4. Autres métabolites secondaires d'intérêt

- **Saponines** : Les saponines, glycosides amphiphiles de structure triterpénoïde ou stéroïdique, sont largement distribuées dans le règne végétal. Elles présentent des effets anti-inflammatoires, antimicrobiens et antidiabétiques, souvent étudiés pour moduler l'insulinorésistance ou comme adjuvants immunostimulants [34]. La **figure I.11** illustre la structure chimique typique d'une saponine.

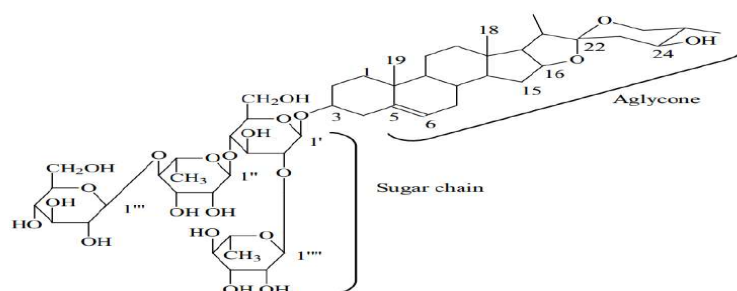


Figure I.11 : Structure chimique typique d'une saponine (molécule glycosidique) [35].

- **Huiles essentielles** : Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés volatils, principalement des monoterpènes et des sesquiterpènes, produits par les plantes pour leur défense ou afin d'attirer les pollinisateurs [36]. Elles présentent une palette d'activités pharmacologiques, notamment antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et antitumorales, grâce à leur capacité à interagir avec diverses structures cellulaires et voies moléculaires [37].

I.3. contexte pathologique

I.3.1. Diabète : définition et enjeux

Le diabète de type 2 est une maladie métabolique chronique et progressive, caractérisée par une hyperglycémie due à une résistance à l'insuline ou à une sécrétion insuffisante. Malgré la disponibilité de nombreux traitements, les effets secondaires associés incitent à rechercher des alternatives thérapeutiques. Les plantes médicinales constituent une piste prometteuse, notamment *Salacia reticulata*, originaire d'Inde. Cette espèce renferme des composés volatils bioactifs identifiés par GC-MS, qui présentent un bon profil pharmacologique. Certains d'entre eux ont montré une affinité marquée pour les enzymes impliquées dans la régulation du glucose, suggérant leur potentiel antidiabétique [38].

I.3.2. Maladies inflammatoires : bases physiopathologiques

Les maladies inflammatoires chroniques résultent d'une activation prolongée du système immunitaire, entraînant la libération excessive de médiateurs pro-inflammatoires. Ce déséquilibre cause des lésions tissulaires progressives, impliquant des voies comme NF-κB et le stress oxydatif [39].

I.3.3. Infections bactériennes

Les infections bactériennes sont à l'origine de nombreuses pathologies humaines fréquentes, telles que les infections respiratoires, urinaires et cutanées. Elles peuvent être bénignes ou graves selon la souche bactérienne impliquée. Ces infections représentent un problème majeur de santé publique. L'émergence croissante de bactéries multirésistantes aux antibiotiques complique leur prise en charge. D'où l'intérêt de développer de nouvelles alternatives thérapeutiques, notamment d'origine naturelle [40].

I.4. Présentation botanique de *Juniperus phoenicea* L

I.4.1 La famille des Cupressacée

Les Cupressaceae, ou Cupressacées, constituent une famille de plantes gymnospermes très anciennes, dont les premières traces fossiles remontent à l'ère du Jurassique. Historiquement, cette famille a été subdivisée en deux groupes : les Cupressacées sensu stricto, caractérisées par des feuilles opposées disposées en quatre rangs, et les Taxodiaceae, présentant des feuilles alternes. Il s'agit aujourd'hui de l'une des familles les plus vastes et les plus représentatives parmi les conifères, regroupant environ 142 espèces réparties en 30 genres, dont 17 sont monotypiques. Parmi les genres les plus emblématiques figurent *Cupressus* (cyprès), *Juniperus* (genévrier) et *Thuja* (thuya), reconnus tant pour leur valeur écologique qu'économique [41].

I.4.2 Le genre *Juniperus*

Le genre *Juniperus* comprend environ 67 espèces et 28 variétés. Il est généralement divisé en trois sections principales. La première, *Caryocedrus*, ne contient qu'une seule espèce. La deuxième, appelée *Juniperus* ou *Oxycedrus*, regroupe 11 espèces. Enfin, la section *Sabina* est la plus importante en termes de diversité, puisqu'elle compte à elle seule 55 espèces [42].

I.4.3 L'espèce *Juniperus phoenicea* L

Juniperus phoenicea, communément appelé genévrier de Phénicie, est un arbuste ou petit arbre typique des climats méditerranéens arides. Il appartient à la famille des Cupressacées, qui constitue le deuxième genre le plus diversifié parmi les conifères, avec environ 67 espèces et 34 variétés, toutes limitées à l'hémisphère Nord. Cette espèce se développe principalement dans des populations irrégulières, souvent isolées, réparties sur l'ensemble de la région méditerranéenne jusqu'à une altitude de 1200 mètres, et parfois jusqu'à 2400 mètres en milieu montagnard. Le genévrier de Phénicie est un arbrisseau dense pouvant mesurer entre 1 et 3 mètres de hauteur, mais certains individus atteignent parfois 8 à 10 mètres. Chez les jeunes plants, les feuilles sont à la fois en aiguilles et en petites écailles imbriquées et opposées, formant progressivement un feuillage persistant vert foncé. Les fruits, de forme globuleuse, deviennent rouges et brillants à maturité [43] (voire **figure I.12**).

En Algérie, *Juniperus phoenicea* contribue significativement à la stabilisation des sols dans les zones méditerranéennes arides et semi-arides, et ses extraits – notamment les huiles essentielles et

composés phénoliques – ont démontré des activités antimicrobiennes, antioxydantes et antifongiques *in vitro* [44].



Figure I.12 : *Juniperus phoenicea* L [45].

I.4.4. Taxonomie, nomenclature et description botanique de *Juniperus phoenicea* L

I.4.4.1. Taxonomie

La classification taxonomique globale de cette plante est présentée dans le **tableau I.1**.

Tableau I.1 : Biosystématique du genévrier (*Juniperus phoenicea* L.) [46].

Catégorie	Classement
Règne	plante
Embranchement	Spermatophytes
Sous embranchement	Gymnospermes
Classe	Pinopsida
Ordre	Pinales
Famille	Cupressaceae
Genre	<i>Juniperus</i>
Espèce	<i>Juniperus phoenicea</i>

I.4.4.2. Nomenclature de la plante

Juniperus phoenicea est une espèce connue sous divers noms vernaculaires selon les régions et les langues. En arabe, il est couramment appelé "Araâr", tandis qu'en français, on le désigne par "Genévrier rouge" ou "Genévrier de Lycie". Dans les régions hispanophones, notamment au Mexique, il est connu sous les noms de "Junipero", "Sabino", "Enebro" ou "Tascate". En Provence, on le retrouve sous les appellations "Morven" ou "Genévrier à fruits rouges", et parfois également sous le nom de "Cade endormi" [47].

I.4.4.3. Description botanique

Juniperus phoenicea (Genévrier de Phénicie, appelé localement « Araâr ») est un arbuste pouvant atteindre jusqu'à 8 mètres de hauteur (**figure I.13**), caractérisé par des rameaux écailleux de couleur brun rougeâtre [48], ramules cylindriques, bourgeons nus [49].



Figure I.13 : *Juniperus phoenicea* L. (Genévrier de Phénicie) dans son habitat naturel [50].

- **Feuilles :** Les feuilles, persistantes et aromatiques, sont de couleur gris-vert à glauque. Elles sont principalement squamiformes, petites, à bords denticulés, appliquées contre les rameaux et disposées de façon imbriquée en 4 à 6 rangs. Deux bandes stomatiques plus foncées marquent leur face inférieure [51].
- **Floraison :** *Juniperus phoenicea* fleurit de février à avril [52]. Espèce dioïque, elle présente des fleurs mâles en chatons porteurs de sacs polliniques et des fleurs femelles réunies en cônes contenant les ovules [51].
- **Fruits :** Les fruits de *Juniperus phoenicea*, globuleux et charnus, mûrissent en deux ans, passant du vert au brun-rouge brillant. Mesurant 7 à 10 mm, ils contiennent 4 à 9 graines dures et ovales. La fructification s'étale de septembre à décembre [53].
- **Morphologie :** Ces petits arbres se caractérisent par leur port tortueux, souvent accompagné de nombreuses branches mortes. Ils présentent parfois une morphologie atypique, avec un tronc orienté vers le bas et des racines dirigées vers le haut [54].
- **Âge :** Certains individus peuvent vivre extrêmement longtemps, atteignant des âges compris entre 1000 et 1500 ans [54].

I.4.5. Répartition géographique

Juniperus phoenicea est une espèce largement répandue dans la région méditerranéenne et au-delà, poussant principalement dans les zones rocailleuses d'Afrique du Nord, d'Europe méridionale, du Moyen-Orient et de la Macaronésie [46] (**figure I.14**).

En Algérie, *Juniperus phoenicea* colonise les dunes littorales de la région oranaise ainsi que les zones montagneuses arides, notamment dans les Aurès et l'Atlas saharien, où il forme des matorrals. Selon Boudy (1955), la superficie occupée par *J. phoenicea* et *J. Oxycedrus* s'élevait à environ 290

000 hectares. Toutefois, un inventaire plus récent l'estime à seulement 17 504 hectares, ce qui corrobore l'hypothèse de certains auteurs selon laquelle ces espèces sont aujourd'hui dans un état avancé de dégradation [55].

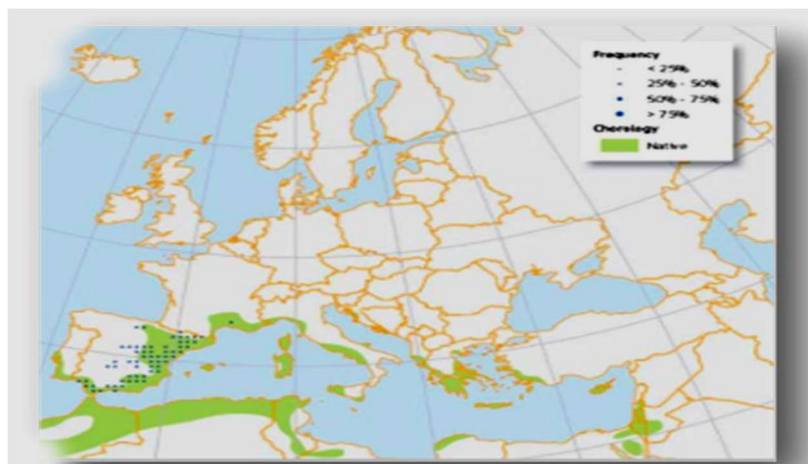


Figure I.14 : Carte chronologique pour la distribution de *juniperus phoenicea* [42].

1.4.6 Usages traditionnels

Cette espèce est largement utilisée en médecine traditionnelle. Les feuilles, préparées en décoction, sont employées pour traiter le diabète, la diarrhée et les rhumatismes. Les fruits, quant à eux, une fois séchés et réduits en poudre, sont utilisés pour soigner les ulcérations cutanées et les abcès. Par ailleurs, l'infusion et l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* présentent des propriétés diurétiques. Des études ont également mis en évidence, pour un extrait sec en suspension aqueuse, des effets anti-inflammatoires et anti-œdémateux [56].

L'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* est traditionnellement utilisée en cosmétique pour soulager divers troubles cutanés et améliorer l'aspect de la peau. Elle est réputée pour son efficacité contre la rétention d'eau, la cellulite, l'acné, les peaux grasses, l'eczéma, l'herpès et la séborrhée du cuir chevelu. Elle entre également dans la composition de parfums, notamment ceux à caractère masculin [57].

1.4.7. Composition chimique de *juniperus phoenicea*

Les feuilles et les cônes (fruits) de *Juniperus phoenicea* contiennent principalement des huiles volatiles [58]. Les études phytochimiques menées sur cette espèce ont mis en évidence une forte concentration en terpénoïdes, notamment des monoterpènes, des sesquiterpènes et des diterpènes. En revanche, les composés phénoliques comme les bisflavones et les lignanes sont moins abondants. Kezzouna (2015) a également identifié dans cette plante des glycosides phénylpropanoïdes, des junipérosides, de la rosarine, de la skimmine, ainsi que deux dérivés de furanones glucosides, des stérols et des hydrocarbures. *Juniperus phoenicea* se distingue particulièrement par sa richesse en polyphénols, en huiles essentielles (comme le β -phellandrène, l'acétate d' α -terpinyle et le myrcène) et en diterpènes [58].

1.5. Activités pharmacologiques de *Juniperus phoenicea* L

- **Activité antidiabétique**

Juniperus phoenicea L. a démontré une activation antihyperglycémique significative dans des modèles expérimentaux de diabète. Chez des rats diabétiques induits à l'alloxane, des extraits hydro-éthanoliques de feuilles et de fruits ont réduit la glycémie de 82–84 % en 8 semaines, une efficacité proche de celle du metformine [59]. Par ailleurs, des tests in vitro ont révélé que ces extraits inhibent les enzymes digestives α -amylase et α -glucosidase, suggérant une diminution de l'absorption intestinale de glucose [3]. Ces effets sont attribués à la présence de diterpènes abietane et de flavonoïdes, corroborant l'usage traditionnel du *juniperus* dans la gestion du diabète.

- **Activité antioxydante**

Des études ont démontré que l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* L. présente une forte activité antioxydante, se traduisant par un pouvoir antiradicalaire supérieur à celui du témoin positif BHT. Elle a également montré une capacité remarquable de réduction des ions ferriques, dépassant celle de la vitamine C utilisée comme référence [60].

- **L'activité antimicrobienne**

Des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* L. s'explique en grande partie par leur richesse en hydrocarbures terpéniques, notamment le δ -3-carène et l' α -pinène [61]. De plus, la complexité de leur composition chimique suggère que l'effet antimicrobien observé pourrait résulter d'interactions synergiques entre les différents constituants [62].

- **Autres bioactivités**

Juniperus phoenicea L. présente une large gamme d'activités biologiques, notamment des propriétés anti-inflammatoires, antivirales, expectorantes, sédatives, mais aussi des effets herbicides, insectifuges et aromatisants [61].

1.6. Produits de santé et compléments à base de *Juniperus phoenicea* (et espèces proches)

Bien que *Juniperus phoenicea* ne soit pas encore utilisé dans des médicaments conventionnels homologués, plusieurs produits de santé à base de *Juniperus communis* — espèce proche — sont commercialisés. Par exemple, le macérat glyciné **HerbalGem G56** est reconnu par Santé Canada pour ses propriétés drainantes hépato-rénales [63]. Le complexe homéopathique **Lehning N°6**, quant à lui, est indiqué dans les affections urinaires bénignes [64]. Ces formulations illustrent l'intérêt pharmacologique du genre *Juniperus*, dont *J. phoenicea* a également démontré des effets antidiabétiques, antioxydants et antimicrobiens prometteurs. Cela soutient l'idée d'un élargissement de ses applications thérapeutiques futures.

Chapitre II : La microencapsulation : procédés, vecteurs et cinétique de libération

Chapitre II : La microencapsulation : procédés, vecteurs et cinétique de libération

II.1. Définition de la microencapsulation

La microencapsulation est une technique visant à préserver la stabilité des substances sensibles et à conférer aux matériaux des propriétés fonctionnelles spécifiques. Elle consiste à entourer un principe actif par un matériau d'enrobage à l'échelle micrométrique. Ce procédé permet d'isoler la substance encapsulée de l'environnement extérieur, limitant ainsi son altération. Le produit obtenu, appelé microparticule, se caractérise par une structure et une morphologie particulières selon la méthode d'encapsulation employée [65].

II.2. Classification des systèmes de microencapsulation

Il existe deux principaux types de microparticules, distingués par leur microstructure (**Figure II.1**) :

- **Les microcapsules** sont des particules sphériques de type « cœur-membrane », où le noyau renferme la substance active, entourée d'une enveloppe solide formée par l'agent encapsulant.
- **Les microsphères**, en revanche, présentent une structure dite matricielle, dans laquelle le principe actif est uniformément dispersé, soit à l'état moléculaire, soit sous forme particulaire, au sein d'un réseau polymérique [66].

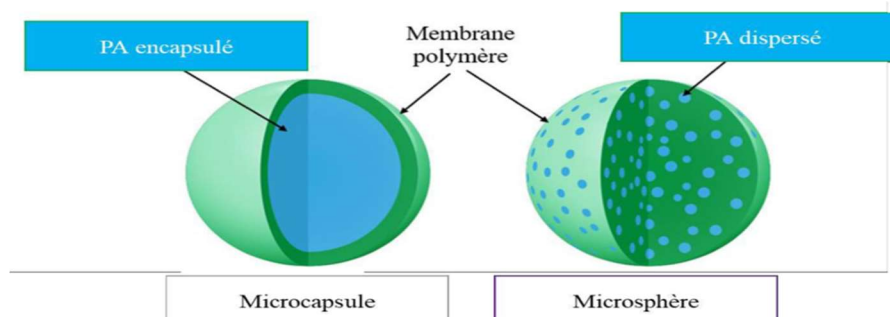


Figure II.1 : Schéma comparatif de la structure d'une microcapsule et d'une microsphère [67].

Les microcapsules et les microsphères se distinguent par plusieurs caractéristiques physico-chimiques telles que la porosité, la charge de surface et le degré de gonflement. Le taux d'encapsulation est généralement plus élevé dans les microcapsules (85–90 %) que dans les microsphères (20–35 %). Ces différences influencent leur performance en libération contrôlée [66].

II.3. Intérêt de la microencapsulation

La microencapsulation répond à de nombreuses finalités en pharmacie. Elle permet notamment d'isoler une substance active de son environnement afin d'assurer diverses fonctions thérapeutiques et technologiques [68,69] :

- Contrôler la libération du principe actif et le transporter jusqu'à son site d'action ciblé.
- Réduire la toxicité et l'irritation gastro-intestinale des substances actives.

- Stabiliser et protéger les composés sensibles aux conditions environnementales comme l'oxygène, l'humidité ou la lumière ; par exemple, l'encapsulation du palmitate de vitamine A améliore nettement sa stabilité.
- Limiter la volatilité de certains médicaments.
- Modifier le site d'absorption pour éviter la toxicité dans des conditions acides (pH bas).
- Masquer les propriétés organoleptiques désagréables (goût, odeur, couleur), améliorant ainsi l'acceptabilité du traitement par le patient.
- Prévenir les incompatibilités entre substances actives en les séparant physiquement.
- Transformer des principes actifs liquides en formes solides ou pseudo-solides, facilitant leur manipulation, leur formulation et leur stockage, comme dans le cas de l'Eprazinone.

II.4. Vecteurs utilisés pour la microencapsulation

Le choix des vecteurs utilisés pour la microencapsulation dépend principalement de la nature de la substance à encapsuler ainsi que de l'application visée.

II.4.1. Les nanoparticules

Les nanoparticules sont des systèmes colloïdaux de taille variant entre 10 et 1000 nm, constitués principalement de polymères biodégradables ou de lipides. Elles peuvent encapsuler une ou plusieurs substances actives par séquestration ou adsorption. Selon leur structure, les nanoparticules peuvent être : de type matriciel — appelées nanosphères — où la substance active est dissoute ou dispersée dans une matrice polymérique ou lipidique, ou de type réservoir — appelées nanocapsules — formées d'un cœur liquide entouré d'une membrane polymérique d'épaisseur nanométrique (**Figure II.2**) [70].

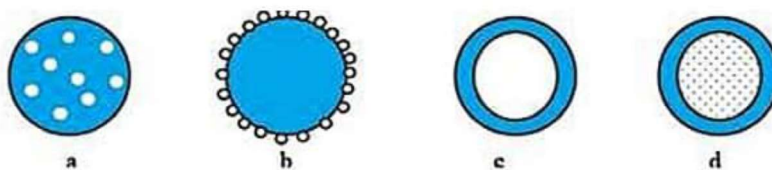


Figure II.2 : Schéma représentatif des types de nanoparticules. a : nanosphères(NS), b : nanosphères + principe actif adsorbé, c, d : nanocapsules principe actif dissous (c) ou dispersé(d) [70].

II.4.2. Les liposomes

Les liposomes sont des vésicules formées de bicouches de molécules amphiphiles, renfermant un compartiment aqueux interne et étant suspendues dans un milieu aqueux externe. Selon la méthode de préparation utilisée, ils peuvent varier en taille, structure et capacité d'encapsulation (**figure II.3**) [70].

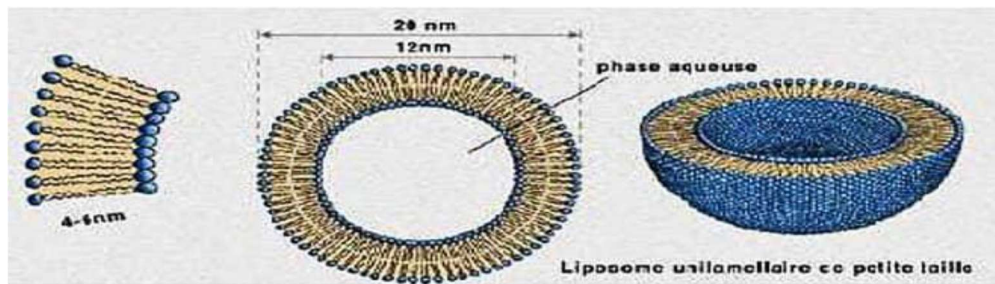


Figure II.3 : Structure d'un liposome [70].

II.4.3. Les microparticules

Les microparticules, de taille comprise entre 1 μm et 1 mm, peuvent contenir jusqu'à 90 % de matière active d'origine variée (pharmaceutique, cosmétique, alimentaire, etc.). Elles sont enrobées de polymères ou de lipides, et présentent généralement deux types de morphologie (**figure II.4**) [70].

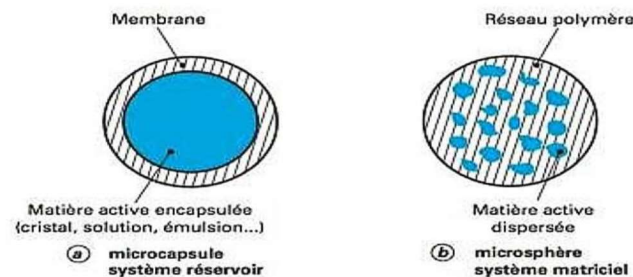


Figure II.4 : Morphologie des microparticules [70].

II.5. Techniques de microencapsulation

Il existe de nombreuses méthodes de microencapsulation, chacune présentant des variations spécifiques selon les caractéristiques souhaitées des particules (taille, forme, profil de libération, échelle de production). Ces techniques se répartissent principalement en trois grandes catégories : les méthodes chimiques et les méthodes mécaniques et les méthodes physico chimiques [71].

II.5.1. Méthodes chimiques

Les procédés chimiques de microencapsulation regroupent plusieurs techniques telles que la cocrystallisation, la coacervation, l'inclusion moléculaire et la polymérisation interfaciale. Parmi celles-ci, la coacervation et l'inclusion moléculaire sont les plus couramment utilisées en raison de leur efficacité et de leur polyvalence [69].

II.5.2. Méthodes mécaniques

Les procédés mécaniques incluent des techniques telles que le séchage par atomisation, le séchage ou refroidissement par pulvérisation, l'extrusion ainsi que l'enrobage en lit fluidisé [69].

II.5.3. Méthodes physico-chimiques

Les méthodes physico-chimiques de microencapsulation combinent des processus physiques et des interactions chimiques ou ioniques. Elles offrent un bon contrôle sur la structure et la libération des principes actifs. Les techniques courantes incluent la gélification ionique, l'émulsification-réticulation ionique, l'inclusion moléculaire et l'encapsulation par fluide supercritique [72].

- **Gélification ionique** : La gélification ionique est une méthode physico-chimique de microencapsulation très utilisée, reposant sur la réticulation d'un polymère anionique (comme l'alginate) en présence d'ions multivalents, généralement Ca^{2+} . Ce procédé mène à la formation rapide et douce d'un réseau gélifié tridimensionnel, souvent décrit par le modèle de l'« egg-box ». Les propriétés finales du gel (porosité, résistance mécanique, stabilité) dépendent de la composition du polymère et de la concentration en ions [73].
- **Émulsification-réticulation ionique** : La technique d'émulsification-réticulation ionique combine la formation d'une émulsion (dispersant des gouttelettes de polymère chargées contenant le principe actif dans un liquide immiscible) avec la réticulation ionique interne pour solidifier ces gouttelettes. Ce procédé empreinte à la fois à la physique (émulsification) et à la chimie douce (cross-linking par ions multivalents), permettant de produire des microcapsules sans solvants organiques ni conditions agressives. Utilisé couramment avec l'alginate, il génère des particules uniformes à haute efficacité d'encapsulation et à libération contrôlée du principe actif [74].
- **Coacervation** : La coacervation est une méthode de microencapsulation fondée sur la séparation de phases dans une solution polymérique. Elle repose sur la désolvatation contrôlée d'un polymère initialement dissous, induite par une modification des conditions du milieu telles que la température, le pH, ou par l'ajout d'un électrolyte, d'un agent non-solvant ou d'un second polymère (coacervant). Ce processus entraîne la formation de deux phases liquides : une phase riche en polymère, appelée coacervat, et une phase pauvre en polymère. Lorsqu'il implique deux polymères de charges opposées, on parle de coacervation complexe [75].
- **Encapsulation par fluide supercritique** : L'encapsulation à l'aide de fluides supercritiques, en particulier le dioxyde de carbone supercritique (CO_2 SC), constitue une méthode innovante et écologique pour l'encapsulation de substances actives. Le CO_2 supercritique, utilisé comme solvant ou anti solvant, permet la précipitation contrôlée du polymère autour du principe actif, sans recours à des solvants organiques toxiques. Cette technique est particulièrement prisée pour l'encapsulation de composés thermosensibles, car elle se déroule à basse température et offre une excellente reproductibilité. Elle permet d'obtenir des microparticules ou nanoparticules à structure contrôlée, avec une bonne efficacité d'encapsulation et une libération modifiée du principe actif [76].

II.6 Solvants pour la microencapsulation (ex : glycérol, eau)

Le choix du solvant dans un procédé de microencapsulation est crucial, car il influence non seulement la formation des particules, mais aussi la taille, la stabilité, la biodégradabilité et le profil de libération du principe actif encapsulé [77,78]. Les solvants organiques traditionnels tels que le chloroforme ou l'acétone, bien que souvent efficaces, présentent des risques toxiques ou environnementaux. Pour cette raison, l'attention se porte de plus en plus vers des solvants dits "verts", comme l'eau ou le glycérol, qui sont non toxiques, biodégradables et largement acceptés en formulation pharmaceutique et alimentaire [78,79].

L'eau est le solvant universel par excellence, utilisée dans la phase continue pour de nombreuses techniques de microencapsulation aqueuses [77]. Elle permet notamment de réduire le recours aux solvants organiques et limite les interactions indésirables avec les substances actives sensibles. De son côté, le glycérol, un alcool trihydroxylé, est utilisé non seulement comme solvant, mais aussi comme plastifiant. Il permet d'ajuster la viscosité des solutions polymériques, d'augmenter la flexibilité des matrices formées, et de stabiliser certains polymères pendant la formation des microparticules ou des gels [80].

L'utilisation de ces solvants s'inscrit dans une démarche de formulation plus respectueuse de l'environnement et mieux tolérée par l'organisme, tout en maintenant des performances technologiques élevées [79].

II.7 Cinétique de libération du principe actif encapsulé

Selon la nature des interactions entre le principe actif et le milieu extérieur, deux grands types de microparticules peuvent être distingués. Certaines sont conçues pour ne pas libérer leur contenu, comme celles encapsulant des enzymes ou des micro-organismes, afin de les protéger ou de les maintenir actifs. D'autres, en revanche, sont formulées pour permettre la libération contrôlée du principe actif. Parmi celles-ci, on distingue les systèmes à libération déclenchée, activés par un stimulus spécifique (pH, température, enzyme...), et les systèmes à libération prolongée, qui assurent une diffusion progressive du principe actif dans le temps [81].

a) Systèmes à libération prolongé

La libération prolongée d'un principe actif correspond à une forme galénique dans laquelle la dose totale est retenue au sein d'un système permettant de contrôler la vitesse de libération. Cette rétention peut être assurée par l'inclusion du principe actif dans un excipient insoluble dans les liquides physiologiques, formant ainsi une matrice à partir de laquelle le principe actif est diffusé lentement [82].

Ce type de libération repose sur deux principes fondamentaux :

- La vitesse de libération du principe actif à partir de la forme galénique est volontairement ralentie par rapport à une forme conventionnelle. Cette étape précède la dissolution et l'absorption, et constitue ainsi le facteur limitant de ces processus [82].

- La libération du principe actif est maintenue sur une durée prolongée, permettant une action thérapeutique étalée dans le temps [82].

b) Systèmes à libération accélérée

Les formes pharmaceutiques à libération accélérée sont conçues pour libérer le principe actif plus rapidement que les formes conventionnelles administrées par la même voie. Cette libération précoce est généralement obtenue en augmentant la vitesse de désaggrégation de la forme galénique, ce qui permet une absorption immédiate du principe actif et une action pharmacologique rapide. Ce type de préparation est particulièrement indiqué pour les principes actifs nécessitant une réponse thérapeutique rapide, comme les antalgiques. Parmi ces formes, on retrouve notamment les comprimés effervescents, orodispersibles, solubles, dispersibles ainsi que les lyophilisats oraux [83].

c) Systèmes à libération déclenchée

Dans certaines situations, la libération du principe actif doit être différée dans le temps ou ciblée à un site précis de l'organisme par rapport aux formes conventionnelles ; on parle alors de formes à libération retardée ou différée. Les comprimés et gélules gastro-résistants en sont des exemples courants : grâce à des agents d'enrobage spécifiques, ils résistent au pH acide de l'estomac, permettant au médicament d'atteindre l'intestin sans se désagréger. Ce type de libération permet de protéger le principe actif contre la dégradation acide ou enzymatique, notamment au niveau gastrique. Il est également adapté aux substances comme les protéines ou les polypeptides, qui sont mieux absorbées au niveau du côlon, car elles sont généralement dégradées dans l'intestin proximal. Par ailleurs, ces formes galéniques peuvent protéger certaines régions sensibles de l'organisme, comme la muqueuse gastro-intestinale, d'un principe actif potentiellement irritant. En retardant la libération, le principe actif peut ainsi être délivré au niveau de l'iléon ou du côlon, ce qui est particulièrement avantageux dans le traitement de pathologies inflammatoires chroniques de l'intestin, telles que la maladie de Crohn [84].

Chapitre III : Plans d'expériences et méthodes d'extraction

Chapitre III : Plans d'expériences et méthodes d'extraction

III.1. Introduction aux plans d'expériences

III.1.1. Définition des plans d'expériences

Un plan d'expériences (DoE) est une stratégie méthodique visant à organiser les essais de manière à obtenir des résultats fiables, interprétables et statistiquement valides, tout en optimisant les ressources disponibles. Cette approche repose sur le principe qu'une expérimentation soigneusement structurée permet une analyse et une interprétation des données plus simples, efficaces et pertinentes sur le plan scientifique [85].

III.1.2. Intérêt dans l'optimisation des procédés d'extraction et d'encapsulation

L'application des plans d'expériences (DoE) dans les procédés d'extraction et d'encapsulation s'avère indispensable pour améliorer l'efficacité des essais expérimentaux et optimiser les paramètres critiques. En microencapsulation, l'approche DoE permet non seulement de réduire le nombre d'expériences nécessaires, mais aussi d'analyser l'effet de plusieurs facteurs simultanément, tout en identifiant leurs interactions [86]. Cette stratégie est particulièrement utile pour ajuster les conditions de formulation afin d'obtenir des microparticules homogènes, avec un bon rendement et une cinétique de libération contrôlée [87].

Dans le domaine de l'extraction végétale, les plans factoriels, qu'ils soient complets ou fractionnés, permettent de déterminer rapidement les variables les plus influentes (type de solvant, température, temps d'extraction, ratio solvant/matière végétale) tout en conservant une approche économique [88]. Combinés à la méthodologie de surface de réponse (RSM), ces plans permettent une modélisation précise du procédé et la prédiction des conditions optimales [89]. Par ailleurs, l'analyse statistique (ANOVA, valeur de p , coefficient R^2) permet de valider les modèles proposés et d'assurer leur reproductibilité [86,89].

En résumé, l'utilisation des plans d'expériences permet une optimisation rationnelle des procédés, améliore la qualité des extraits ou des microparticules, et facilite le transfert des résultats à l'échelle industrielle.

III.1.3. Les types de plan d'expérience

a. Plan factoriel fractionné

Le plan factoriel fractionné est une version simplifiée du plan factoriel complet. Il permet d'étudier plusieurs facteurs en réduisant le nombre total d'expériences, tout en conservant une bonne capacité à détecter les effets principaux. Ce type de plan est particulièrement utile en phase de screening, lorsque l'objectif est d'identifier rapidement les facteurs influents parmi plusieurs.

Par exemple, dans un plan factoriel fractionné à 4 facteurs – 2 niveaux (2^{4-1}), seuls 8 essais sont nécessaires au lieu des 16 d'un plan complet. Chaque facteur (ex. : température, temps, concentration de gélifiant, ratio solvant/solide) est testé à deux niveaux (haut/bas), et les interactions sont partiellement confondues. On choisit un générateur (souvent $D = ABC$), pour définir la fraction utilisée, ce qui permet de construire le plan à partir de 3 facteurs principaux et de calculer le quatrième en fonction des autres [86,89].

Ce type de plan est dit de résolution IV, ce qui signifie que les effets principaux ne sont pas confondus avec les interactions à deux facteurs, bien que certaines interactions puissent l'être entre elles. Cela garantit une bonne fiabilité dans l'analyse des effets individuels des facteurs. En phytopharmacie et en formulation, le plan factoriel fractionné est couramment utilisé pour optimiser les procédés d'extraction ou d'encapsulation tout en réduisant le coût expérimental [90].

- Matrice d'essais :

La matrice suivante (**tableau III.1**), illustre un exemple de plan factoriel fractionné à 4 facteurs – 2 niveaux (2^{4-1}), dans lequel le quatrième facteur (D) est généré en fonction des trois premiers (A, B, C) selon la relation $D = A \times B \times C$. Ce plan permet de réduire le nombre d'expériences de 16 à 8 tout en conservant l'étude des effets principaux.

Tableau III.1 : Matrice d'un plan factoriel fractionné 2^{4-1} avec 4 facteurs à deux niveaux.

Essai	A	B	C	$D=A \times B \times C$
1	-1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1	+1
3	-1	+1	-1	+1
4	+1	+1	-1	-1
5	-1	-1	+1	+1
6	+1	-1	+1	-1
7	-1	+1	+1	-1
8	+1	+1	+1	+1

b. Plans centrés composés

Les plans composites centrés permettent l'ajustement d'un modèle quadratique complet. Ils sont fréquemment utilisés dans les expérimentations séquentielles, car ils peuvent intégrer les données issues d'un plan factoriel bien structuré. Ce type de plan est l'un des plus employés en analyse de surface de réponse. Il comprend un plan factoriel ou factoriel fractionné, des points centraux, ainsi qu'un ensemble de points axiaux (ou étoiles) permettant d'estimer la courbure [91].

c. Plans Box-Behnken

Box et Behnken (1960) ont développé un type particulier de plan d'expériences adapté aux modèles du second ordre, permettant l'estimation de certaines interactions. Comparés aux plans composites centrés, les plans de Box-Behnken nécessitent un nombre réduit d'expériences, ce qui les rend plus économiques à nombre de facteurs égal. Contrairement aux plans composites, ils ne contiennent ni plan factoriel complet ni plan factoriel fractionné. Pour trois facteurs, le plan Box-Behnken est constitué de trois blocs où, dans chacun, deux facteurs varient selon un plan factoriel tandis que le troisième est maintenu à un niveau central (0). Ce plan comprend 15 essais : 12 sur les arêtes du cube expérimental et 3 points centraux [92] (**Figure III.1**).

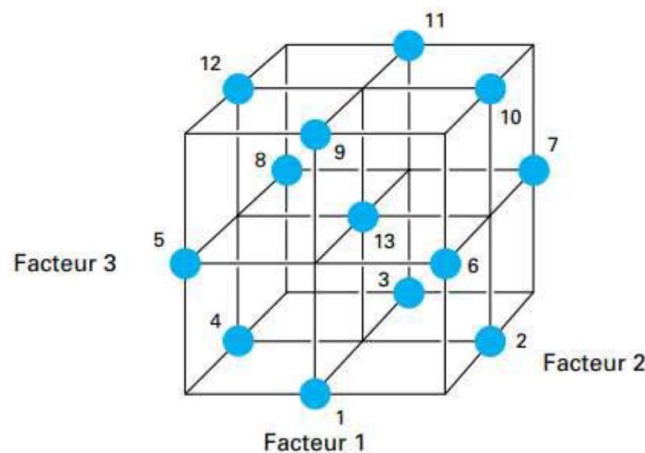


Figure III.1 : Schéma illustrant un plan de Box-Behnken à trois facteurs [92].

III.2. Méthodes d'extraction des métabolites végétaux

III.2.1. Définition de l'extraction

L'extraction est un procédé permettant de séparer les métabolites bioactifs d'un matériau végétal à l'aide d'un solvant approprié, en vue d'une analyse ou d'une valorisation thérapeutique [93].

III.2.2. Techniques traditionnelles

- **Macération** : La macération consiste à immerger des parties végétales — généralement broyées ou en poudre fine — dans un solvant à température ambiante pendant au moins 72 heures, souvent avec agitation régulière. Ce procédé favorise la rupture des parois cellulaires et permet l'extraction progressive des métabolites solubles, tout en préservant les composés sensibles à la chaleur [94].
- **Infusion** : L'infusion consiste à verser de l'eau bouillante sur une plante, généralement les parties tendres comme les feuilles ou les fleurs, et à laisser reposer quelques minutes avant filtration. Elle est couramment utilisée pour la préparation des tisanes [95].

- **Décoction** : La décoction consiste à faire bouillir la plante (généralement les parties dures comme les racines ou les écorces) dans l'eau pendant une durée déterminée. Cette méthode permet d'extraire des métabolites peu solubles à température ambiante [96].

III.2.3. Techniques plus avancées

III.2.3.1 Extraction par Soxhlet

L'extracteur Soxhlet a été inventé par Franz Von Soxhlet en 1879, puis amélioré au fil du temps par de nombreux chercheurs à travers le monde [97].

L'extracteur par soxhlet est une méthode de préparation d'échantillons dans laquelle ceux-ci sont extraits de façon répétée à l'aide d'un solvant régénéré en continu par distillation, grâce à un processus de siphonnage périodique [98].

- **Principe de fonctionnement** : L'extracteur de Soxhlet est une pièce de verrerie qui s'insère dans le montage représenté sur la **figure III.2**.

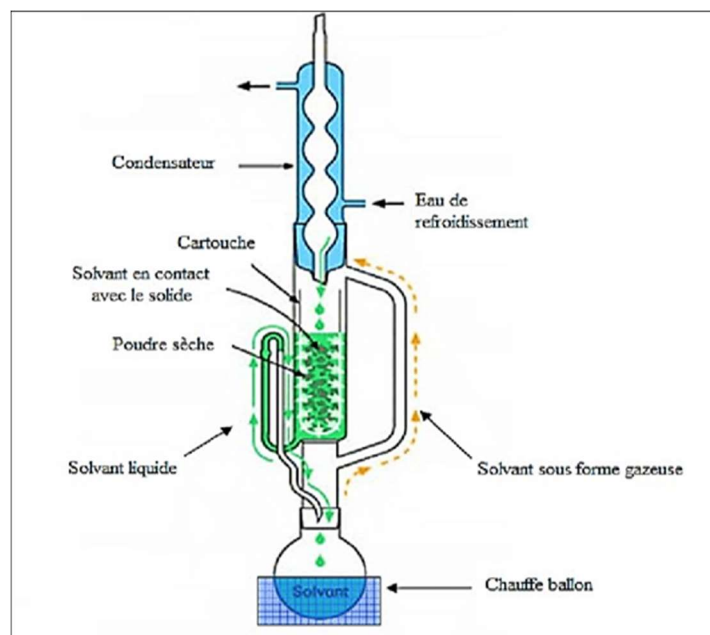


Figure III.2 : Schéma de l'appareillage d'extraction au soxhlet [99].

Le Soxhlet utilise un solvant chauffé pour extraire les composés d'intérêt à partir d'un matériau solide. Le solvant s'évapore, se condense dans la chambre contenant l'échantillon, puis dissout progressivement les substances recherchées. Une fois le niveau atteint, le solvant retourne dans le ballon de chauffage par siphonnage, permettant une extraction continue et efficace [100].

- **Avantages de la méthode d'extraction par Soxhlet**

L'extraction par Soxhlet présente plusieurs avantages notables :

- Extraction continue avec solvant frais à chaque cycle : Grâce au reflux constant, le solvant condensé entre en contact régulier avec la matrice végétale, ce qui maintient un gradient de concentration optimal et favorise un transfert de masse efficace [101].
- Réduction de la consommation de solvant : Le même volume de solvant est recyclé en continu pendant toute la durée de l'extraction, ce qui permet de limiter les pertes et de réduire les coûts liés aux solvants organiques [102].
- Efficacité élevée et quasi-exhaustive : La méthode est reconnue pour sa capacité à extraire de manière complète même les composés faiblement solubles à température ambiante, sans avoir besoin de filtrations répétées [103].
- Simplicité opératoire et automatisation : L'appareillage est facile à assembler (ballon, condenseur, corps Soxhlet) et ne requiert pas d'intervention humaine continue, ce qui permet une extraction stable et reproductible [104].

➤ Inconvénients de la méthode d'extraction par Soxhlet

L'extraction par Soxhlet présente plusieurs limitations importantes :

- Consommation importante de solvant : Bien que le solvant soit recyclé, des volumes relativement élevés (100 à 500 ml) sont nécessaires, ce qui augmente les coûts et génère une quantité importante de déchets à gérer [101,105].
- Risque de dégradation des composés thermolabiles : L'exposition prolongée à des températures proches du point d'ébullition du solvant peut altérer certains composés sensibles comme les flavonoïdes, les caroténoïdes ou les huiles essentielles [105–106].
- Utilisation de solvants toxiques ou polluants : Cette méthode repose souvent sur des solvants organiques comme l'hexane, le benzène ou le chloroforme, dont la toxicité pose des problèmes pour la sécurité du personnel et l'environnement [105].
- Étape supplémentaire d'évaporation nécessaire : Après extraction, le solvant doit être évaporé (souvent à l'aide d'un évaporateur rotatif), ce qui demande du temps, de l'énergie et augmente les manipulations [101].

➤ Applications de la méthode de soxhlet

La méthode Soxhlet est largement utilisée dans plusieurs domaines de recherche et d'analyse, notamment pour l'extraction de composés bioactifs à partir de matrices solides. Voici ses principales applications :

- Extraction des métabolites végétaux : La méthode est fréquemment utilisée pour isoler des composés phytochimiques comme les alcaloïdes, flavonoïdes, tanins, huiles essentielles, lipides ou composés phénoliques à partir de plantes médicinales [107,103].
- Analyse des graisses et huiles : En agroalimentaire, Soxhlet est une technique de référence pour la détermination de la teneur en matières grasses dans les produits comme les graines oléagineuses, les produits laitiers, ou les aliments transformés [107,108].

- Extraction de contaminants environnementaux : Dans le domaine de l'environnement, Soxhlet est utilisée pour extraire des polluants organiques persistants (ex : HAP, PCB) présents dans les sols, les boues ou les tissus biologiques [109].
- Contrôle qualité pharmaceutique : Certains laboratoires utilisent cette méthode pour l'analyse des substances actives naturelles ou pour valider l'efficacité d'autres techniques d'extraction par comparaison [103].

III.2.3.2. Extraction assistée par micro-ondes (Microwave-Assisted Extraction, MAE)

La MAE utilise l'énergie des micro-ondes pour chauffer rapidement la matrice végétale et le solvant, ce qui améliore la perméabilité cellulaire et accélère le transfert de masse. Elle permet une extraction plus rapide, avec moins de solvant, et préserve mieux les composés thermosensibles grâce à un contrôle précis de la température [110].

III.2.3.3. Extraction assistée par ultrasons (Ultrasound-Assisted Extraction, UAE)

L'UAE utilise des ondes ultrasonores pour provoquer la cavitation dans le solvant, ce qui rompt les parois cellulaires et facilite la libération des composés. C'est une technique simple, économe en énergie, compatible avec les solvants verts, et très efficace pour extraire les polyphénols, flavonoïdes et huiles essentielles [111].

Chapitre IV: Matériels et méthodes

Partie 2 : Mise en œuvre expérimentale

Chapitre IV : Matériels et Méthodes

Introduction

L'ensemble des manipulations a été effectué au sein du laboratoire 9 de Génie Pharmaceutique du département de Génie des procédés de «L'Université A-Mira-Béjaïa ».

Le travail expérimental réalisé dans le cadre de cette étude s'est articulé autour des étapes suivantes :

- Extraction des métabolites de *Juniperus phoenicea* L. par extraction continue à l'aide d'un appareil de soxhlet, en utilisant le méthanol comme solvant.
- Détermination du rendement d'extraction et analyse spectrophotométrique de l'extrait par UV-Visible et par HPLC.
- Dosage des composés phénoliques et des flavonoïdes totaux présents dans l'extrait.
- Evaluation de l'activité antioxydante de l'extrait par la méthode de DPPH.
- Formulation de l'extrait par microencapsulation dans une matrice polymérique biodégradable, suivi de l'étude in vitro de la cinétique de libération et de la préparation galénique sous forme de gélules pour une application dans le traitement du diabète de type 2.

IV .1. Matériel végétal :

Le matériel utilisé (**figure IV.1**) comme substrat d'étude au cours de ce travail est constitué des rameaux (**figure IV.2**) de *Juniperus phoenicea* L. Ces derniers ont été récoltés au mois de janvier, sur les hauteurs de la montagne située à Kherrata (W. Béjaïa). L'identification botanique de la plante a été réalisée en collaboration avec un herboriste local et confirmée à l'aide d'un logiciel spécialisé.

Figure IV.1 : plante de *Juniperus phoenicea* L., collectée pour l'étude.





Figure IV.2 : Aspect des rameaux de *Juniperus phoenicea* L.

IV.1.2. Prétraitement de l'échantillon

a. Lavage et conservation

Les rameaux fraîchement récoltés ont été soigneusement lavés, puis séchés à l'air libre à température ambiante pendant quelques jours. Par la suite, la matière végétale sèche a été conservée dans des sachets stériles hermétiques, à l'abri de la lumière et de l'humidité, jusqu'à l'étape de séchage à l'étuve.

b. Séchage et broyage

Le séchage a été effectué dans une étuve à 40°C pendant 4 heures. Après séchage Les rameaux ont été broyés manuellement à l'aide d'un mortier et d'un pilon en porcelaine jusqu'à obtention d'une poudre fine et homogène de moins de 100 μm (**figure IV.3**).



Figure IV.3 : Broyage des rameaux secs avec un mortier en porcelaine.

IV.2. Méthodes d'extraction :

L'extraction des métabolites de *Juniperus phoenicea* L. a été effectuée au moyen d'un appareil de Soxhlet, selon le protocole expérimental décrit ci-après et conformément à la méthode utilisée dans la littérature [100].

Une masse de 15 g de poudre sèche de rameaux a été pesée et placée dans la cartouche de l'extracteur Soxhlet. 150 ml de méthanol ont été ajoutés dans un ballon à 2 cols d'une capacité de 250

ml placé dans un chauffe –ballon et disposé au-dessous de de l'extracteur. Un réfrigérant, connecté à l'extracteur, est placé au-dessus de ce dernier pour permettre la condensation du solvant avec les substances les plus volatils tels que les huiles essentielles. Le chauffe-ballon a été réglé sur une température moyenne, soit 65°C, mesurée à l'aide d'un thermomètre placé à une des deux ouvertures du ballon. L'extraction a été réalisée en continu durant 4 heures. La première fraction (extrait F1), d'un volume de 10 ml, a été récupérée après 1 heure d'extraction, par un robinet se trouvant à l'extrémité inférieure de l'extracteur (**figure IV.4**). Tout au long du processus, le solvant a été ajouté de manière continue pour maintenir un volume constant dans le ballon.



Figure IV.4 : Extraction par l'appareil de Soxhlet.

À la fin de l'extraction, le volume total extrait a été collecté, puis soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un rotavapeur. Ce procédé a permis d'éliminer le solvant, récupérant ainsi 34 ml (**figure IV.5**) d'extrait concentré (fraction F2).



Figure IV.5 : Extrait concentré (Fraction F2) récupéré après évaporation sous rotavapeur.

IV.2.1. Rendement massique des extraits

Pour déterminer le rendement massique des deux extraits F1 et F2, deux prises d'essai de 5 ml chacune (notées F1 et F2) ont été prélevées. Chaque prise a été placée dans une boîte de Pétri propre, tarée, sèche et recouverte de papier aluminium perforé d'une série d'ouvertures pour permettre l'évaporation du solvant.

Les échantillons ont d'abord été laissés à sécher à l'air libre pendant trois jours, puis le séchage a été poursuivi dans une étuve à 40 °C pendant 3 heures, afin d'évaporer complètement la solution.

Après séchage, chaque boîte de Pétri a été pesée à l'aide d'une balance de précision. La masse du résidu de l'extrait sec a été déterminée selon la relation suivante :

$$Me \text{ (extrait sec)} = Pf - Pi$$

Où :

- **Pf** : est la masse finale de la boîte contenant l'extrait sec,
- **Pi** : est la masse initiale de la boîte vide (tare).

Le rendement d'extraction (R%) a été calculé selon la formule suivante [112] :

$$R\% = (Me / Mp) \times 100$$

- **R** : rendement massique (%).
- **Me** : est la masse de l'extrait sec obtenu après évaporation du solvant (g).
- **Mp** : est la masse initiale de la poudre de l'échantillon de la plante de *Juniperus phoenicea* L. (g).

IV.3. Analyse quantitative par spectroscopie UV-visible

IV .3.1. Dosage des polyphénols totaux

- **Principe :**

Pour déterminer la teneur en polyphénols totaux, la méthode de Velioglu et al. (1998) a été utilisée, reposant sur une analyse spectrophotométrique avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce réactif contient un mélange d'acides qui change de couleur en présence de composés phénoliques : il passe du jaune au bleu en formant un complexe stable sélectivement avec ces substances. L'intensité de cette coloration, mesurée à 750 nm, reflète la quantité de polyphénols présents dans l'extrait [113].

- **Mode opératoire :**

- **Préparation des solutions :**

- **Une solution standard d'acide gallique (2 mg/ml)** : 20 mg d'AG ont été dissous dans 10 ml d'eau distillée dans un tube à essai.

- **Solution de Folin-Ciocalteu à 10 % en volume** : 10 ml de Folin concentré dilués avec 90 ml de méthanol dans une fiole de 100 cc.

- Solution de carbonate de sodium (0,075 g/ml) : 18,75 g de Na_2CO_3 ont été dissous dans 250 ml d'eau distillée dans une fiole de 250 cc.

• **Préparation des étalons de l'acide gallique et courbe d'étalonnage:**

Une gamme d'étalons a été préparée par dilution de la solution standard d'acide gallique (2 mg/ml), conformément aux concentrations indiquées dans le **tableau IV.1** suivant :

Tableau IV.1 : Gamme de dilution de l'acide gallique.

Etalons	E0 (blanc)	E1	E2	E3	E4	E5	E6
Solutions de mère d'AG (ml) à 2mg/ml	0	0.1	0.2	0.3	0.5	0.6	0.7
Eau distillée	0	9.9	9.8	9.7	9.5	9.4	9.3
Ce (ug/ml)	0	2	4	6	10	12	14
Ve (ml)	0.4						
Folin (ml)	2						
Na_2CO_3 (ml)	1.6						
Ce' (ug/ml)	0	0.2	0.4	0.6	1	1.2	1.4
A (765 nm)	0	0.220	0.457	0.711	1.179	1.337	1.644

Selon le **tableau IV.1**, un volume de 0,4 ml de chaque solution étalon (E1 à E6) est mélangé avec 2 ml de réactif de Folin-Ciocalteu et 1,6 ml de solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3). Après agitation, les mélanges sont laissés au repos pendant 2 heures afin de permettre le développement de la coloration bleue du complexe stable. Chaque solution est ensuite filtrée avec un filtre micro seringue de 0.45 μm et d'une seringue de 5 ml stérile, puis son absorbance est mesurée à 765 nm dans une UV-cuvette placée dans un spectrophotomètre UV-visible de marque Thermoscientific de modèle évolution 200, par rapport à un blanc constitué d'un mélange de 0,4 ml d'eau distillée, de 2 ml de réactif de Folin-Ciocalteu et de 1,6 ml de solution de carbonate de sodium, préparé dans les mêmes conditions que les solutions étalons.

La courbe d'étalonnage des polyphénols totaux, a été tracé en portant les absorbances en ordonnée et les concentrations de l'acide gallique en abscisse, ce qui a permis de trouver une équation linéaire de la forme $\text{Abs} = f(C) = K_1C + K_0$. Où K_1 est la pente de la droite et K_0 l'ordonnée à l'origine.

• **Dosage de l'extrait :**

L'extrait F1 a été utilisé sans dilution préalable, mais introduit dans un rapport de 1/10 par rapport au volume total des réactifs. L'extrait F2, quant à lui, a d'abord été dilué 200 fois pour ajuster sa concentration, puis utilisé également dans un rapport de 1/10 vis-à-vis des réactifs. Chaque extrait a ensuite été dosé selon les étapes indiquées dans le schéma de la figure IV.6 ci-après :

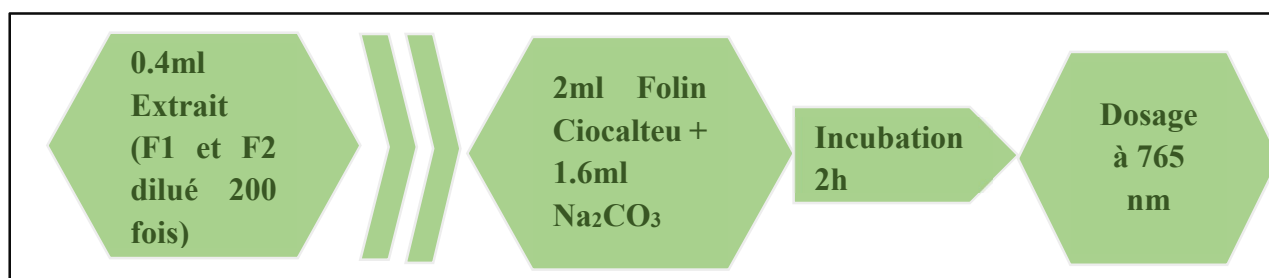


Figure IV.6 : Schéma du protocole de dosage des polyphénols dans les extraits du *Juniperus Phoenicea L.*

La lecture des absorbances a été effectuée sur 0.4 ml des échantillons dilués des deux extraits F1 et F2, en suivant les mêmes étapes et conditions d'analyse des précédentes solutions étalons. Les concentrations en polyphénols ont été déterminées en comparant les valeurs des absorbances des extraits à celles des étalons et en utilisant l'équation de la courbe d'étalonnage des polyphénols.

IV.3.2. Dosage des flavonoïdes

- **Principe :**

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé par complexation de la quercétine ($C_{15}H_{10}O_7$) avec le chlorure de l'aluminium ($AlCl_3$) dans un milieu méthanolique (**figure IV.7**). Le complexe jaune ainsi formé présente une absorption maximale à 430 nm, ce qui permet sa quantification par spectrophotométrie UV-Visible [113].

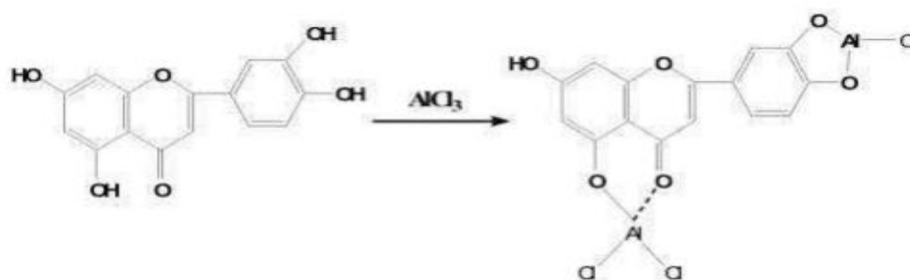


Figure IV.7: Représentation schématique de la réaction entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium [114].

- **Mode opératoire :**

- **Préparation des solutions :**

- **Solution de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) à 2 % :** Dissoudre 2 g de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) avec 100 ml de méthanol (MeOH) dans une fiole de 100 cc.

- **Solution standard de quercétine à 2mg/ml** : Dissoudre 15 mg de quercétine avec 7,5 ml de méthanol dans un tube à essai sec et propre.

- **Préparation des étalons de quercétine et courbe d'étalonnage :**

À partir de la solution standard à 2mg/ml, une série de dilutions est réalisée selon le **tableau IV.2** afin d'obtenir des solutions étalons nécessaires aux analyses des flavonoïdes.

Tableau IV.2 : préparation des étalons de quercétine.

Etalons	E0 (blanc)	E1	E2	E3	E4	E5	E6
Solution mère de Qr (ml) à 2mg/ml	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	1
MeOH (ml)	0	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9
Ce (mg/ml)	0	0.02	0.04	0.06	0.08	0.1	0.2
Ve (ml)	0.4						
AlCl₃ (ml)	2						
Ce' (ug/ml)	0	3.33	6.66	9.99	13.32	16.65	33.3
A (430 nm)	0	0.151	0.321	0.545	0.660	0.962	1.903

Un volume de 0,4 ml de chaque solution étalon (E1 à E6) est prélevé et mélangé avec 2 ml de solution d'AlCl₃ dans des tubes à essai, selon un facteur de dilution de 6. Après agitation, les mélanges sont laissés au repos pendant 15 minutes, afin de permettre le développement de la coloration jaune caractéristique du complexe formé. Les absorbances des solutions étalons sont ensuite mesurées à 430 nm par rapport à un blanc composé de 0,4 ml de méthanol et 2 ml de solution d'AlCl₃. Une courbe d'étalonnage des flavonoïdes totaux a été établie, des absorbances en fonction de la concentration de quercétine, son équation est de la forme $Abs = K_1C + K_0$.

- **Dosage de l'extrait :**

Pour le dosage des extraits, 0.4 ml de chaque extrait (Facteur de dilution:10×6 fois) est mélangé avec 2 ml de solution de AlCl₃ dans des tubes à essai distincts. Après agitation, les mélanges sont laissés au repos pendant 15 minutes afin de permettre le développement de la coloration. Les absorbances sont ensuite mesurées à 430 nm contre un blanc constitué de 0,4 ml de méthanol et 2 ml d'AlCl₃ (**figure IV.8**).

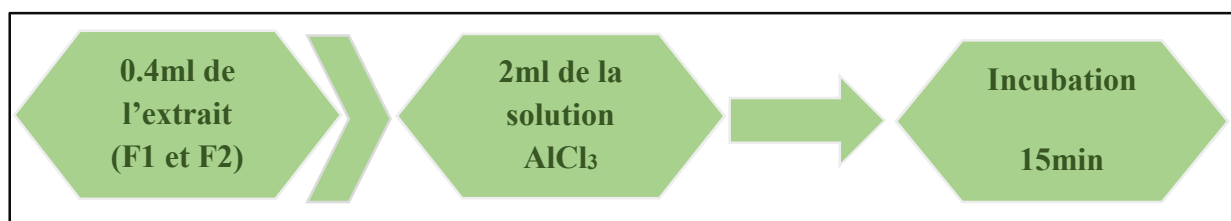


Figure IV.8 : Schéma du protocole de dosage des flavonoïdes dans les extraits du *Juniperus Phoenicea L.*

IV.4. Activité antioxydante par la méthode de DPPH :

Le test de DPPH repose sur la capacité de l'extrait à réduire le radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle), initialement de couleur violette foncée. Lorsqu'il est réduit, ce radical vire au jaune (**Figure IV.9**). Cette décoloration, mesurable par spectrophotométrie, reflète l'activité antioxydante de l'échantillon [115].

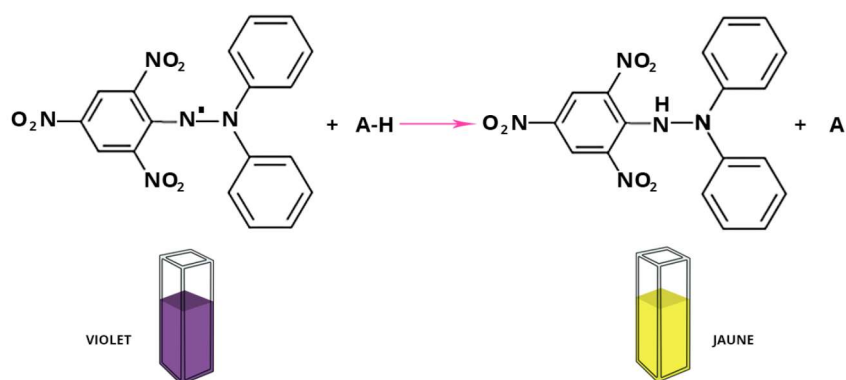


Figure IV.9 : la réaction chimique entre le radical DPPH et l'antioxydant, et ses formes oxydée (violette) et réduite (jaune) [116].

- **Mode opératoire :**

- **Préparation de la solution de DPPH à 0,036 mg/ml :**

Une masse de 2 mg de DPPH pure est dissoute avec du méthanol, la solution est complétée avec le même solvant dans une fiole jaugée de 50 ml jusqu'au trait. La fiole est hermétiquement rebouchée et enveloppée dans du papier aluminium puis conservée à l'abri de la lumière.

- **Préparation de la solution diluée :**

Afin d'évaluer l'activité anti radicalaire à différentes concentrations, deux dilutions de l'extrait F2 ont été préparées selon le **tableau IV.3**, présenté ci-dessous.

Tableau IV.3 : Dilutions de l'extrait F2.

Volume d'extrait F2 prélevé (μL)	Volume de méthanol ajouté (ml)
100	1
200	1

Le pouvoir antioxydant de l'extrait F2 a été évalué par comparaison avec un témoin, constitué de 1 ml de méthanol et 2 ml de solution de DPPH, préparé sans ajout d'extrait. Ce témoin permet de mesurer l'absorbance maximale du radical libre DPPH en l'absence d'antioxydant.

Pour chaque dilution de l'extrait (**Figure IV.10**), 1 ml de la solution a été mélangé avec 2 ml de DPPH. Tous les mélanges, y compris le témoin, ont été incubés à l'abri de la lumière, pendant 30 minutes. L'absorbance a ensuite été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, avec le méthanol pur utilisé comme blanc.

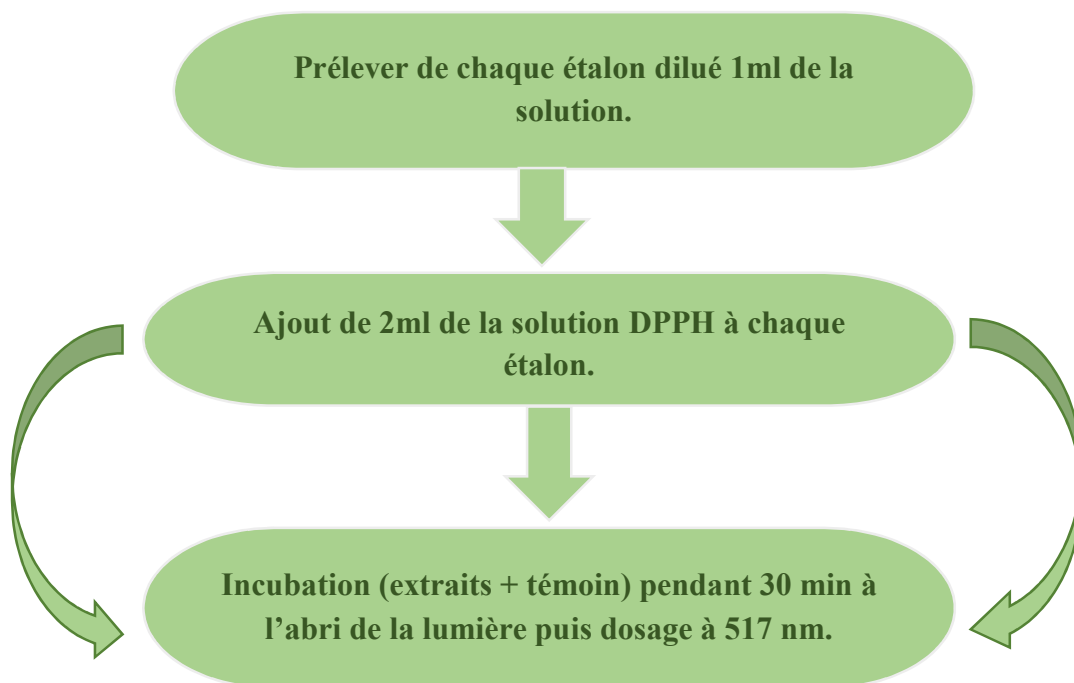


Figure IV.10 : étapes de dilution de l'extrait et mesure de l'activité antioxydante par le DPPH.

L'activité antioxydante est déterminée en mesurant le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, calculé à l'aide de l'équation suivante :

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

Inhibition %: pourcentage d'inhibition des radicaux libres.

Abs_{Témoin} : absorbance du Témoin.

Abs_{échantillon} : absorbance de la solution contenant l'extrait.

IV.5. Analyse qualitative par chromatographie liquide à haute performance HPLC :

IV.5.1 Principe et méthode :

L'analyse a été effectuée à l'aide de la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), en utilisant un système UHPLC+ Focused, Ultimate 3000 équipé d'un compartiment pour colonne et d'un échantillonneur automatique.

La nécessité de déterminer les profils chromatographiques et d'identifier sélectivement les composés individuels présents dans les échantillons de l'extrait et des filtrats des essais de microencapsulation, justifie le recours à des techniques séparatives avancées en remplacement des méthodes traditionnelles. Parmi ces techniques, la HPLC s'impose comme l'une des plus performantes pour la caractérisation des composés polyphénoliques [114].

IV.5.2 Protocole expérimental :

➤ Préparation de la phase mobile :

La phase mobile utilisée est un mélange de trois solvants polaires : l'eau distillée, le méthanol et l'acide acétique, dans une proportion volumique de 500 ml : 470 ml : 25 ml respectivement.

- **Préparation des standards ($V_t=1.5$ ml) :** toutes les solutions des standards, des filtrats de microencapsulation et de l'extrait ont été dilués dans des vials de 1.5ml (Figure IV.11).
- **Acide gallique (0.27mg/ml)**
Un volume de 0.2ml d'AG à 2mg/ml est mélangé à un volume de 1.3ml de phase mobile.
- **Acide caféique (0.27mg/ml)**
Un volume de 0.2ml d'acide caféique est mélangé à un volume 1.3ml de la solution phase mobile.
- **Acide cinnamique (0.27mg/ml)**
Un volume de 0.2ml d'acide cinnamique est mélangé à un volume 1.3ml de la solution phase mobile.
- **Catéchol (0.27mg/ml)**
Un volume de 0.2ml de catéchol est mélangé à un volume 1.3ml de la solution phase mobile.
- **Quercétine (0.27/ml)**
Un volume de 0.2ml de quercétine est mélangé à un volume 1.3ml de la solution phase mobile.
- **Préparation de l'extrait**
0.75ml de l'extrait est ajouté à 0.75ml de la solution phase mobile (Facteur de dilution = 2).

Les conditions opératoires sont les suivantes :

- Débit : 1 ml/min.
- Pression de travail : 100-150 bars.
- Volume d'injection : 20 μ l.
- Longueur d'onde : 250 nm.
- Temps d'analyse : 25 min.
- Colonne C18.
- Mode : isocratique.



Figure IV.11 : photo montrant les viales des différents échantillons.

IV.6. Micro encapsulation

IV.6.1. Présentation des matières premières :

➤ Les polymères :

- Le polyéthylène glycol (PEG 6000) :

Les polyéthylènes glycols (PEG) sont des polymères issus de la polymérisation de monomères tels que l'éthylène glycol (C_2H_4O) ou l'oxyde d'éthylène. Ils sont disponibles dans le commerce sous forme de mélanges d'oligomères présentant des poids moléculaires variés. Grâce à cette diversité, les PEG trouvent de nombreuses applications, notamment en pharmacie où ils sont utilisés comme excipients dans diverses formes galéniques, aussi bien humaines que vétérinaires [117]. La structure chimique du polyéthylène glycol (PEG) est représentée dans la **figure IV.12**.

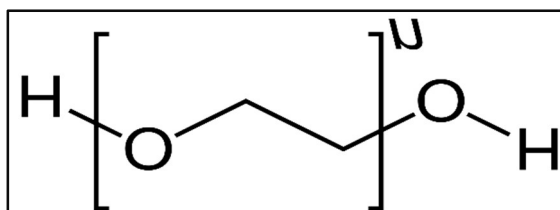


Figure IV.12 : Structure chimique de polyéthylène glycol [118].

- **Dextrine** : C'est un polymère naturel de la famille des polysaccharides, très utilisé en tant qu'excipient pour la fabrication des comprimés et des gélules. Plus récemment, de nombreux travaux ont montré qu'il peut être aussi un vecteur pour la microencapsulation. Il est biodégradable, biocompatible, biorésorbable et sans toxicité. Sa structure chimique est représentée par la figure IV.13.

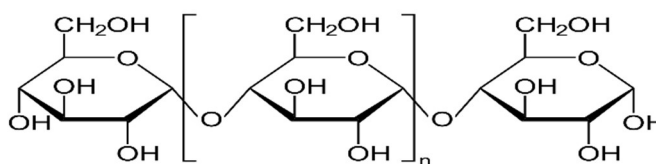


Figure IV.13 : formule chimique de la dextrine [119].

- **Cellulose :**

La cellulose est un homopolymère composé exclusivement d'unités de glucose, sans inclusion d'autres sucres [120].

La cellulose, constituant principal de la lignocellulose, est une matière première durable utilisée pour la production d'énergie et de composés chimiques à haute valeur ajoutée. Elle est formée de chaînes de β -D-glucanes liés par des liaisons β -1,4-glycosidiques (**Figure IV.14**), avec pour formule générale $(C_6H_{10}O_5)_n$. Sa structure est stabilisée par un réseau de liaisons hydrogène et présente une organisation semi-cristalline, alternant régions cristallines et amorphes [121].

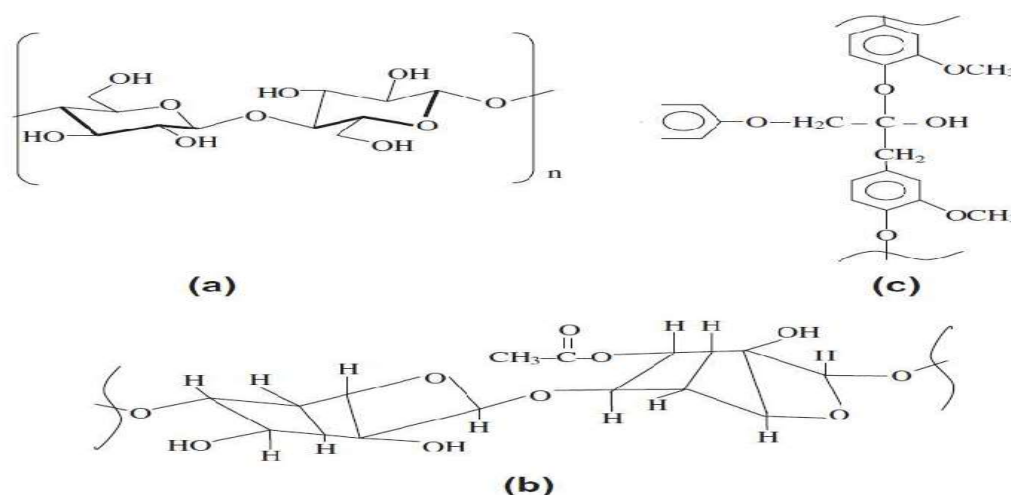


Figure IV.14 : Structure chimique de la cellulose, composée d'unités β -D-glucose reliées par des liaisons β (1 $\rightarrow$ 4) glycosidiques [122].

➤ **Tensioactif (Tripolyphosphate de sodium ou TPPNa) :**

Le composé inorganique de formule $Na_5P_3O_{10}$ est le sel de sodium du penta-anion polyphosphate (**Figure IV.15**), correspondant à la base conjuguée de l'acide triphosphorique. Il est largement produit à l'échelle industrielle et entre dans la composition de nombreux produits domestiques et industriels, notamment les détergents. Toutefois, son usage massif est associé à des problèmes environnementaux, notamment l'eutrophisation [113].

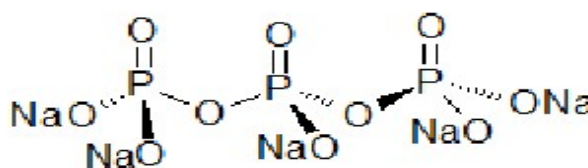


Figure IV.15 : Structure moléculaire du tripolyphosphate de sodium ($Na_5P_3O_{10}$) [123].

➤ **Principes actifs : les polyphénols et les flavonoïdes de l'extrait.**

Pour la microencapsulation, un volume précis de l'extrait a été utilisé comme dose de principes actifs, sélectionné sur la base des résultats de l'analyse quantitative par UV-visible, qui ont révélé une teneur nettement plus élevée en polyphénols qu'en flavonoïdes.

➤ **Solvant : glycérol.**

Le glycérol (également appelé 1, 2,3-propanetriol) est utilisé dans des préparations pharmaceutiques sirops, pour améliorer la texture et la conservation en complément de l'eau. C'est un liquide visqueux, transparent et soluble dans l'eau, dont la formule chimique brute est $C_3H_8O_3$ et sa formule explicite est représentée dans la figure IV.16 [124].

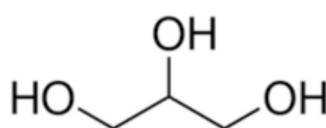


Figure IV.16 : Structure chimique du glycérol [124].

IV.6.2. Préparation des tampons de différents pH=4 ; 6 ; 8 de la phase continue :

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

Pour préparer un volume de 100 ml de solution, un volume précis d'HCl concentré a été prélevé, calculé selon la relation suivante :

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

$M = 36.46g/mol$, **Masse volumique (ρ)** = $1.18g/cm^3$, **Pureté** = 37%, **Densité** = 1.18.

$$36g \text{ de HCl} \longrightarrow 100g \text{ de solution concentrée}$$

$$0.365g \text{ de HCl} \longrightarrow m_{HCl} \text{ concentré}$$

Donc $m_{HCl} = 1.014g$ et $\rho = \frac{m_{HCl}}{V}$, on a : $V = 0.86ml$

Ainsi, un volume de 0,86 ml d'acide chlorhydrique concentré à 37 % a été prélevé et introduit dans une fiole jaugée de 100 ml, puis complété avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

○ **Solution de NaOH 0.1 N**

Pour préparer un volume de 50 ml de solution, une masse précise de NaOH a été prélevée, tel que : pour $M = 40g/mol$ et **Pureté** = 98%, on a :

$$m_{\text{NaOH}} = C \cdot V \cdot M \cdot (100/98) \quad \longrightarrow \quad m_{\text{NaOH}} = 0.2041 \text{ g}$$

Pour cela, une masse de 0.2041 g de NaOH à 98% a été pesée puis dissoute dans une fiole jaugée de 50 ml avec l'eau distillée. Le volume a ensuite été complété jusqu'au trait de jauge et homogénéisé par agitation.

➤ **Préparation du tampon pH= 4 :**

Le pH d'un volume de 250 ml d'eau distillée a été réajusté à une valeur de 4, en utilisant un pH-mètre préalablement étalonné avec une solution tampon de pH 4. Afin d'abaisser ce pH à une valeur de 4, quelques gouttes d'une solution de HCl 0.1 N ont été ajoutées progressivement, sous agitation douce, jusqu'à atteindre le pH souhaité.

➤ **Préparation du tampon pH= 8 :**

Après avoir calibré le pH-mètre avec une solution tampon de pH 7, le pH d'un volume de 250 ml d'eau distillée a été ajusté à 8,00 en ajoutant quelques gouttes de NaOH 0.1 N, sous agitation modérée,.

➤ **Préparation du tampon pH= 6 :**

Le pH d'un volume de 250 ml d'eau distillée a été ajusté à 6.00 en ajoutant des gouttes de NaOH 0.1 N, sous faible agitation. Le pH-mètre avait été préalablement étalonné avec une solution tampon de pH 7.00.

IV.6.3. Optimisation des paramètres de préparation des microparticules par plan d'expérience factoriel fractionné à 4 facteurs-2 niveaux et 2 points centraux.

IV.6.3.1. Microencapsulation des polyphénols de l'extrait de *Juniperus phoenicea* L. :

La microencapsulation des polyphénols des extraits de *Juniperus phoenicea* L. a été optimisée à l'aide d'un plan d'expériences factoriel fractionné. Quatre variables ont été étudiées : la dose en polyphénols (X_1), le rapport massique $Rp1 = \text{dextrine/PEG}$ (X_2), le rapport massique $Rp2 = \text{dextrine/CMC}$ (X_3) et le pH de la phase continue (X_4). L'objectif était d'évaluer leur influence sur le taux d'encapsulation et la qualité des microparticules obtenues.

Ces résultats permettront de déterminer les conditions optimales de formulation d'une préparation pharmaceutique solide. Le nombre d'expériences a été déterminé selon la formule du plan factoriel fractionné : $N = 2^{n-p}$, où n représente le nombre de facteurs étudiés ($n = 4$) et p le degré de fractionnement. Ainsi, un plan 2^{4-1} a été utilisé, soit 8 essais, auxquels ont été ajoutés 2 essais centraux pour affiner l'estimation de l'erreur expérimentale, portant le total à 10 essais.

Les quantités d'extrait ainsi que les masses des polymères utilisées, pour chaque essai de la matrice du plan d'expérience sont présentées dans le **tableau IV.4**.

Tableau IV.4 : Les différentes masses de PEG, de dextrine, de CMC et volumes d'extrait *Juniperus phoenicea* L. utilisés pour les essais du plan d'expérience factoriel fractionné.

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

Dans notre étude, quatre facteurs ont été sélectionnés pour l'optimisation de la formulation : la dose de principe actif en polyphénols, le rapport massique dextrine/PEG, le rapport massique dextrine/CMC, ainsi que le pH de la phase continue. Les valeurs codées de ces variables sont regroupées dans le tableau IV.5, tandis que la matrice du plan factoriel fractionné, comprenant les dix essais réalisés, est présentée dans le **tableau IV.6**.

Tableau IV.5 : Variables codées et réelles des facteurs.

Facteur indépendant	Niveau		
	-1	0	1
Dose de PP en mg (X1)	2.053	4.106	6.159
Rapport de polymère Rp1 (X2)	4	8	12
Rapport de polymère Rp2 (X3)	4	8	12
pH (X4)	4	6	8

La matrice du plan d'expérience est représentée dans le **tableau IV.6**.

Tableau IV.6 : Matrice du plan factoriel fractionné à 4 facteurs : dose de polyphénols, rapport dextrine/PEG, rapport dextrine/CMC et pH, et valeurs codées pour chaque essai.

Essai N°	X1	X2	X3	X4	Dose (mg)	Rp1	Rp2	pH
1	-1	-1	-1	-1	2.053	4	4	4
2	+1	-1	-1	+1	6.159	4	4	8
3	-1	+1	-1	+1	2.053	12	4	8
4	+1	+1	-1	-1	6.159	12	4	4
5	-1	-1	+1	+1	2.053	4	12	8
6	+1	-1	+1	-1	6.159	4	12	4
7	-1	+1	+1	-1	2.053	12	12	4
8	+1	+1	+1	+1	6.159	12	12	8
9	0	0	0	0	4.106	8	8	6
10	0	0	0	0	4.106	8	8	6

IV.6.3.2. Microencapsulation des Flavonoïdes :

Comme pour les polyphénols, la microencapsulation des flavonoïdes a été optimisée à l'aide d'un plan factoriel fractionné basé sur les mêmes quatre variables. Les masses utilisées pour les flavonoïdes sont identiques à celles présentées dans le **tableau IV.4**. On cible dans cette étape la dose en flavonoïdes qui représente le facteur X1, les autres facteurs X2, X3 et X4 sont les mêmes que dans la précédente matrice IV.6.

Le **tableau IV.7** représente les variables codées et réelles pour la matrice des flavonoïdes.

Tableau IV.7 : Variables codées et réelles des facteurs.

Facteur indépendant	Niveau		
	-1	0	1
Dose de flavonoïdes en mg (X1)	0.7008	1.4016	2.1024
Rapport de polymère Rp1 (X2)	4	8	12
Rapport de polymère Rp2 (X3)	4	8	12
pH (X4)	4	6	8

Le **tableau IV.8** représente la matrice du plan factoriel de l'ensemble des dix essais, pour la microencapsulation des flavonoïdes de l'extrait.

Tableau IV.8 : Matrice du plan factoriel fractionné à 4 facteurs : dose de Flavonoïdes, rapport dextrine/PEG, rapport dextrine/CMC et pH, avec les valeurs codées et les quantités utilisées pour chaque essai.

Essai N°	X1	X2	X3	X4	Dose (mg)	Rp1	Rp2	pH
1	-1	-1	-1	-1	0.7008	4	4	4
2	+1	-1	-1	+1	2.1024	4	4	8
3	-1	+1	-1	+1	0.7008	12	4	8
4	+1	+1	-1	-1	2.1024	12	4	4
5	-1	-1	+1	+1	0.7008	4	12	8
6	+1	-1	+1	-1	2.1024	4	12	4
7	-1	+1	+1	-1	0.7008	12	12	4
8	+1	+1	+1	+1	2.1024	12	12	8
9	0	0	0	0	1.4016	8	8	6
10	0	0	0	0	1.4016	8	8	6

IV.6.4. Protocole de la microencapsulation

Avant d'entamer les essais de microencapsulation, une étape préliminaire et nécessaire a été réalisée au préalable, qui consiste à éliminer toute trace de méthanol de l'extrait et éviter ainsi sa toxicité dans les formulations. Pour ce faire, des volumes de l'extrait correspondant aux doses respectivement en polyphénols et en flavonoïdes de chaque essai, ont été déversés dans des boîtes à pétri sèches et propres, puis laissés à l'air libre pendant au moins deux jours pour évaporer tout le méthanol.

Par la suite, selon le plan expérimental, les extraits séchés sous forme de poudre ont été étendus par des mélanges (**figure IV.17**) de glycérol – éthanol (50/50, V/V).



Figure IV.17 : l'ajout du glycérol et de l'éthanol à l'extrait sec.

Soit 1.5 ml de glycérol et 1.5 ml d'éthanol ont été ajoutés à la poudre après séchage de 1.5 ml d'extrait (niveau maximal), tandis que 1 ml de chaque solvant a été ajouté à la poudre obtenue après séchage de 1 ml d'extrait (niveau central), et enfin 0.5 ml de chaque solvant a été additionné à 0.5 ml d'extrait après séchage (niveau minimal), dans les différentes boîtes de pétri. Cette étape permet de dissoudre les principes actifs contenus dans la masse de l'extrait séché pendant plusieurs jours.

Le procédé de microencapsulation suivi dans notre étude est la méthode d'émulsification (émulsion simple) et de réticulation ionique. Il consiste à préparer deux phases, l'une dispersée contenant les polymères plus ou moins dissous dans un solvant non aqueux, et la seconde est la phase continue essentiellement aqueuse contenant l'agent réticulant (TPPNa) à différents pH.

a) Préparation de la phase continue

Dans un bécher ou erlen de 100 à 150 ml, 20 ml de tampon à une valeur de pH précise correspondant à chacun des essais (4, 6 ou 8) ont été introduits. Ensuite, 0,2 g de tripolyphosphate de sodium (TPP) ont été ajoutés. Un petit barreau magnétique a été placé dans le bécher, puis le mélange a été agité à l'aide d'un agitateur magnétique réglé à 400 tr/min jusqu'à dissolution complète du TPP (**Figure IV.18**).

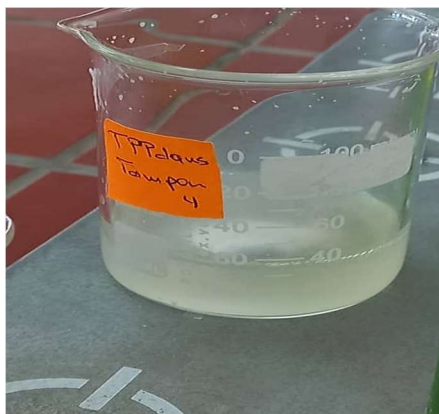


Figure IV.18 : la phase continue sous agitation magnétique dans un bécher.

b) Préparation de la phase dispersée

Dans un deuxième bécher de même capacité, 10 ml de glycérol ont été ajoutés à l'aide d'une éprouvette de 25 ml, on introduit un barreau magnétique puis on règle la vitesse de l'agitateur magnétique à 400 tours par minute (tr/min). La masse de dextrine a été d'abord incorporée au glycérol pendant une minute, par la suite la masse de PEG pendant une minute, suivie de la masse de CMC après une minute d'agitation (**Figure IV.19**).

À l'aide d'une seringue de 5 ml, on prélève les volumes d'extrait dissous au préalable dans le mélange glycérol-éthanol correspondant à chaque essai, puis on introduit goutte à goutte ces différents volumes dans la phase dispersée, sous une agitation magnétique continue pendant cinq minutes à une vitesse de 400 trs/min.

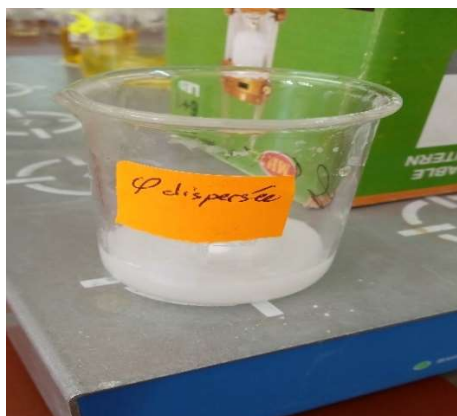


Figure IV.19 : la phase dispersée sous agitation magnétique.

c) Emulsification et réticulation ionique

Pour l'émulsification, on arrête l'agitation magnétique puis la totalité de la phase dispersée est prélevée à l'aide d'une seringue de 10 ml. Celle-ci a été ajoutée goutte à goutte pendant quelques minutes à la phase continue contenant le TPP, sous agitation magnétique à 400 tr/min. A la fin de l'ajout, on recouvre le bécher d'un parafilm puis on augmente la vitesse de l'agitation à 600 trs/min maintenue pendant 01h 30 à température ambiante.

Ensuite, l'émulsion est filtrée sur papier Wattman et le filtrat recueilli dans un tube fermé pour un dosage par UV-visible des polyphénols et des flavonoïdes totaux résiduels. Ce qui permet de déterminer les taux d'encapsulation en principes actifs pour chaque essai. Les microsphères ont été séchées à l'air libre pendant au moins trois jours, dans des boîtes de pétri recouvertes d'aluminium perforé pour favoriser l'évaporation des solvants (**Figure IV.20**).

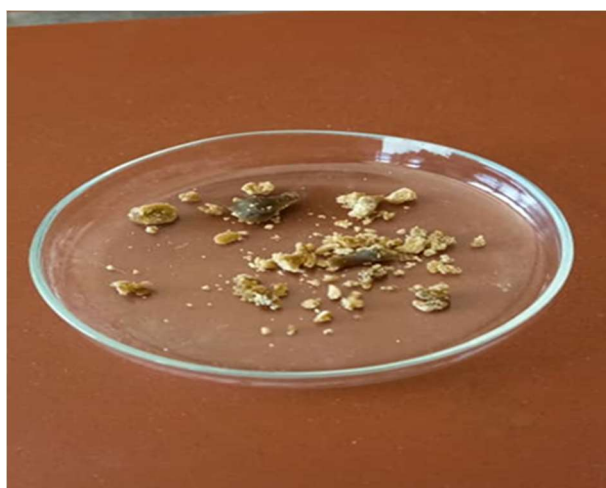


Figure IV.20 : la poudre des microparticules d'extrait après séchage.

IV.7. Etude de la cinétique de libération des microparticules et de la gélule de *Juniperus phoenicea* L.

IV.7.1. Préparation du milieu de dissolution intestinal (pH 6.8)

Le milieu physiologique intestinal simulé (pH 6.8) a été préparé en deux étapes. Dans un premier récipient, 6.8 g de phosphate monopotassique (KH_2PO_4) ont été dissous dans 250 ml d'eau distillée, puis 77 ml de solution de NaOH 0.2 M ont été ajoutés. Le volume a été ajusté à 1 litre avec de l'eau distillée. Dans un second récipient, 13.6 g de KH_2PO_4 ont été dissous dans 500 ml d'eau distillée, suivis de 154 ml de solution de NaOH 0.2 M. Ce volume a été complété à 2 litres avec de l'eau distillée. Les deux solutions ont ensuite été mélangées pour obtenir un volume total de 3 litres.

Le pH final a été ajusté à 6.8 à l'aide d'une solution de NaOH 0.2N, sous contrôle avec un pH-mètre étalonné à 7 (type Hanna Instruments).

IV.7.2. Protocole de l'essai de dissolution des microsphères et de la gélule

Après l'analyse HPLC et UV-visible, les microsphères obtenues des 3 essais optimaux pour les différents pH (4, 6, 8) ont été sélectionnées pour réaliser le test de dissolution soit directement en introduisant une dose bien choisie dans l'appareil de dissolutest, soit sous conditionnement final d'une gélule pour l'essai 3. De ce fait, une quantité de 200 mg de microsphères contenant une dose de l'extrait a été introduite manuellement dans une gélule (**Figure IV.21**) à l'aide d'une spatule, sous hotte et dans des conditions d'hygiène conformes aux bonnes pratiques de laboratoire. Cette étape vise à simuler une forme galénique orale, en vue d'une évaluation ultérieure de la stabilité ou de la libération in vitro. Les deux formes, microsphères avec une dose de l'extrait, et la même quantité de microsphères pour une même dose d'extrait conditionnée dans une gélule seront soumises au même test de dissolution, simultanément et sous les mêmes conditions strictes.



Figure IV.21 : Gélule remplie de microsphères de l'extrait.

L'essai de dissolution a été réalisé à l'aide d'un appareil de type Dissolutest à godets hémisphériques d'un volume de 900 ml, équipé d'un système d'agitation à palettes (Figure IV.). Chaque godet a été rempli avec le milieu physiologique intestinal simulé, maintenu à une température constante de 37 ± 1 °C et à une vitesse d'agitation de 50 tr/min. Une masse de 200 mg de microsphères (issus des essais 1, 3 et 10), ainsi que la gélule contenant les microsphères de l'essai 3, ont été introduites dans les différents godets. Des prélèvements de 2 ml ont été effectués à l'aide d'une seringue de 5 ml selon des intervalles de temps prédéfinis (voir **tableau IV.9**). Chaque prélèvement a été filtré à l'aide

d'un filtre-seringue de 0.45 μm , et dilué 2 fois en ajoutant 2 ml du milieu physiologique dans chacun des tubes à essai, puis analysé par spectrophotométrie UV-visible afin de déterminer la quantité de substances libérées, en polyphénols ou bien en flavonoïdes.

Tableau IV.9 : Temps et le volume de la cinétique de libération.

T (min)	10	20	30	40	50	60	80	100	120	140	160	180
Vp (ml)	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2



Figure IV.22 : Appareil de dissolution (Dissolutest) pour l'étude de la cinétique de libération.

IV.8. Caractérisation physicochimique

IV.8.1 Par infrarouge IRFT

La spectroscopie infrarouge est une technique d'analyse qualitative, et dans certains cas quantitative, permettant l'identification des groupements fonctionnels présents dans une molécule, sur la base de leurs bandes d'absorption caractéristiques. Cette méthode repose sur l'interaction des molécules avec un rayonnement infrarouge, entraînant des vibrations spécifiques à des fréquences et des énergies propres aux liaisons chimiques.

Dans le cadre de cette étude, l'ensemble des spectres IR ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre infrarouge de marque Nicolet de Thermoscientific de modèle iS5, piloté par un ordinateur équipé d'un logiciel d'acquisition et de traitement des données.

• Protocole

Les échantillons analysés comprenaient : les microsphères issues de l'essai 1, 3 et 10, le tripolyphosphate de sodium (TPP), l'extrait sec de *Juniperus phoenicea* L., le glycérol, les polymères

utilisés (dextrine, PEG, CMC), ainsi que les standards de référence suivants : acide caféique, acide cinnamique, catéchol, acide gallique et quercétine.

Pour la préparation des pastilles, 80 mg de bromure de potassium (KBr) ont été soigneusement mélangés avec 2 mg de l'échantillon (microsphères, TPP, dextrine ou PEG) afin d'assurer une répartition homogène de la poudre. Pour l'extrait sec, 100 mg de KBr ont été mélangés avec 2 mg de l'échantillon.

Le mélange obtenu pour chaque pastille a été placé dans un moule de pressage, puis soumis à une pression de 70 kN à l'aide d'une presse hydraulique connectée à une pompe, pendant 2 minutes, afin d'éliminer l'air et l'humidité (dégazage). Les pastilles formées sont ensuite analysées par spectroscopie infrarouge.

IV.8. 2 Observation par microscopie optique

Le microscope optique est un instrument composé de lentilles, de miroirs, d'un diaphragme et d'un système d'éclairage. Il permet d'obtenir une image agrandie d'un échantillon observé.

Quel que soit le type de microscopie optique utilisé, le principe reste le même : une lumière blanche est dirigée et focalisée sur la préparation. L'interaction de cette lumière avec les structures de l'échantillon produit une onde qui est captée par l'objectif. Celui-ci forme une image agrandie et inversée, projetée sur un plan intermédiaire. Cette image est ensuite redressée par une lentille supplémentaire, puis transmise vers un détecteur, un oculaire, ou directement vers la rétine de l'observateur [125].

L'analyse morphologique a été réalisée sur les microsphères de l'essai 1 (pH 4), essai 10 (pH 6) et essai 3 (pH 8), ainsi que sur l'extrait sec. Les observations ont été effectuées au microscope optique (**Figure IV.23**) avec des grossissements $\times 100$, $\times 400$ et $\times 1000$ au CRAPC de l'université de Béjaïa, afin d'évaluer la taille, la morphologie et l'homogénéité de la distribution des particules.



Figure IV.23 : Microscope optique.

Chapitre V : Résultats et discussion

Chapitre V : Résultats et discussion

Nous présentons dans ce chapitre l'essentiel de nos résultats obtenus qui sont interprétés, concernant l'extraction des métabolites secondaires de *Juniperus phoenicea* L., leur encapsulation à l'aide d'un mélange polymérique composé de dextrine, de carboxyméthylcellulose (CMC) et de polyéthylène glycol (PEG), ainsi que l'étude in vitro de la cinétique de libération à partir des microsphères et de la gélule, dans un milieu physiologique. L'analyse des données expérimentales issues des différentes étapes — extraction, dosage des composés phénoliques et flavonoïdes, microencapsulation et chromatographie HPLC, permet d'évaluer les rendements d'extraction, l'efficacité d'encapsulation et le profil de libération des métabolites.

Ce travail s'inscrit dans une démarche de valorisation des extraits naturels de *Juniperus phoenicea* L. à travers une formulation simple et accessible, dans le but d'explorer son potentiel pour une libération prolongée et contrôlée des composés bioactifs, en vue de son application pour le traitement contre le diabète de type 2.

V.1. Extraction

V.1.1. Rendement massique des extraits

Afin d'évaluer le rendement massique des extraits issus de *Juniperus phoenicea* L., de deux fractions, notées F1 et F2, qui ont été récupérées par extraction de soxhlet, une formule de calcul du rendement a été appliquée, et un exemple pour l'extrait F2 est donné par la relation qui suit :

$$R\% = \left(\frac{M_{ext}}{M_{éch}} \right) \times 100 = \frac{3.9730}{15} \times 100 = 26.49\%$$

Les valeurs de la masse et les rendements massiques des extraits sont représentées dans le **tableau V.1**.

Tableau V.1 : Rendement massique des fractions F1 et F2 issues de l'extraction de *Juniperus phoenicea* L.

Extrait	Masse (g)	Rendement (%)
F1	0.0086	0.057
F2	3.9730	26.49

Les résultats montrent que les rendements varient fortement entre les deux fractions obtenues. La fraction F2 présente un rendement élevé de 26.49 %, tandis que la fraction F1 affiche une valeur très faible de 0.057 %. Cette différence s'explique par le faible volume prélevé pour F1 et qui a été séparée au bout de 30 minutes seulement, contrairement à F2 qui reflète une extraction plus complète et qui a été prolongée jusqu'à 4 heures. Ces données confirment l'efficacité de l'extraction par Soxhlet

et la richesse de *Juniperus phoenicea* L. en composés solubles, comme mentionné dans la partie bibliographique.

V.2. Etude phytochimique

V.2.1. Par spectrophotométrie UV-Visible

V.2.1.1. Polyphénols totaux

La quantification des polyphénols totaux présents dans les extraits a été réalisée selon la méthode de Folin-Ciocalteu. La figure V.1 illustre la courbe d'étalonnage obtenue à partir de solutions standard d'acide gallique, mesurées par spectrophotométrie UV-visible à une longueur d'onde de 765 nm. La courbe présente un coefficient de régression $R^2 = 0.9973$, et une équation de droite donnée par : $Y = 1.1607X - 0.0039$.

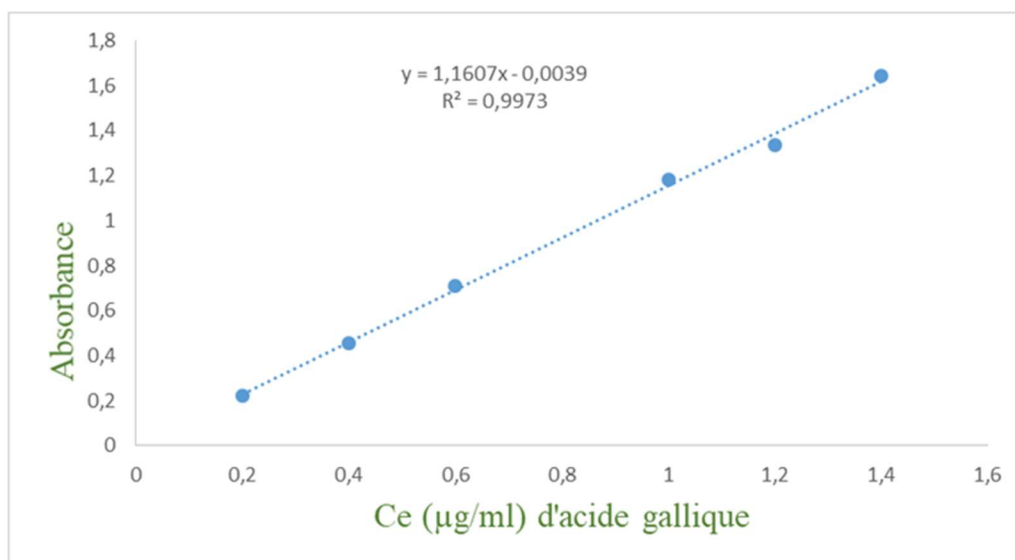


Figure V.1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des polyphénols totaux.

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique présente une bonne linéarité ($R^2 = 0.9973$), ce qui confirme la fiabilité de la méthode de Folin-Ciocalteu pour la quantification des polyphénols. L'équation obtenue a permis de calculer la teneur en polyphénols totaux dans les extraits. Les résultats montrent une teneur relativement élevée, ce qui indique que les extraits sont riches en composés phénoliques.

L'analyse des teneurs en polyphénols totaux (Figure V.2) montre une nette différence entre les deux fractions issues de la même extraction. La fraction F2 affiche une concentration plus élevée (**35.1 mg EAG/g**) que F1 (**14.337 mg EAG/g**). Cette variation pourrait s'expliquer par une extraction progressive des composés phénoliques, avec une meilleure diffusion dans les volumes recueillis plus tard. Ainsi, bien que les deux fractions proviennent du même extrait, leur richesse en composés phénoliques n'est pas équivalente.

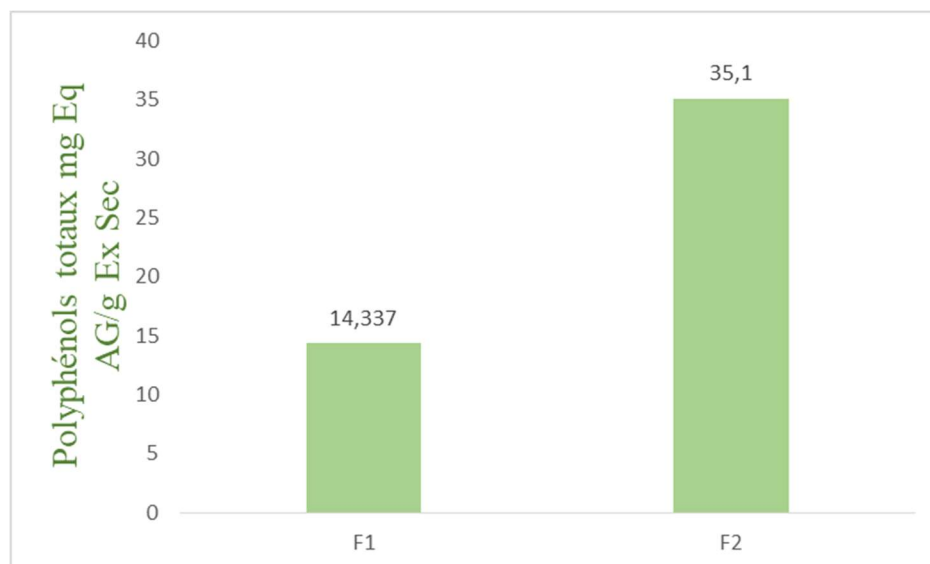


Figure V.2 : Histogramme de variation des teneurs en polyphénols totaux (mg EAG/g extrait sec) dans les fractions F1 et F2 de *Juniperus phoenicea* L.

✓ Conclusion

Ces résultats suggèrent que la fraction F2 constitue la partie la plus riche en polyphénols, ce qui pourrait lui conférer un meilleur potentiel antioxydant et biologique. Il est donc important de considérer le temps d'extraction plus prolongé comme un facteur influençant la composition finale.

V.2.1.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes totaux ont été quantifiés par la méthode de complexation avec le chlorure d'aluminium (AlCl_3). La courbe d'étalonnage obtenue est présentée dans la Figure V.3, avec une équation de régression linéaire de la forme $Y = 0.059X + 0.0613$ et un coefficient de corrélation de $R^2 = 0.9967$.

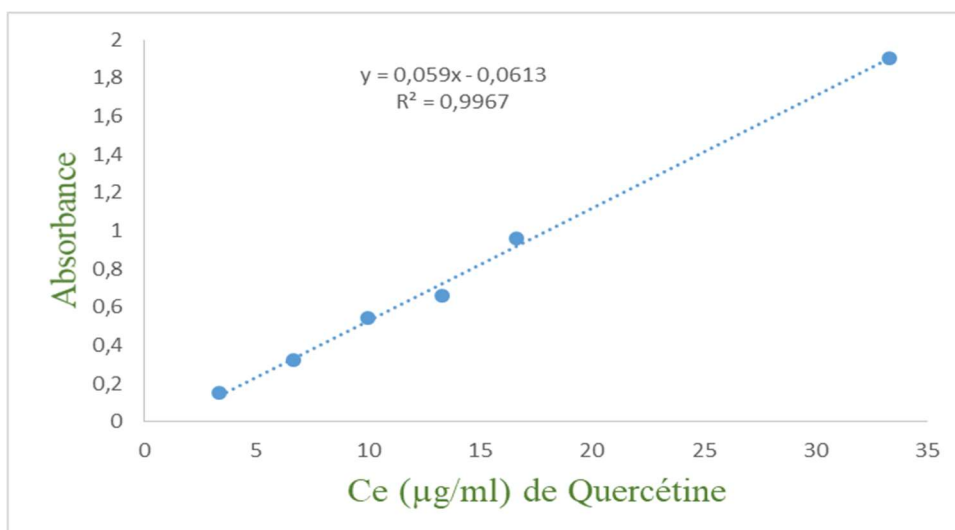


Figure V.3 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

L'histogramme (Figure V.4) montre une différence nette entre les deux fractions extraites de *Juniperus phoenicea* L. : F1 présente une teneur en flavonoïdes de **20.26 mg EQ/g**, contre **11.99 mg EQ/g** pour F2, La fraction F1 se distingue par sa richesse en flavonoïdes totaux. Cette variation peut être attribuée à une répartition inégale des flavonoïdes lors du processus de fractionnement.

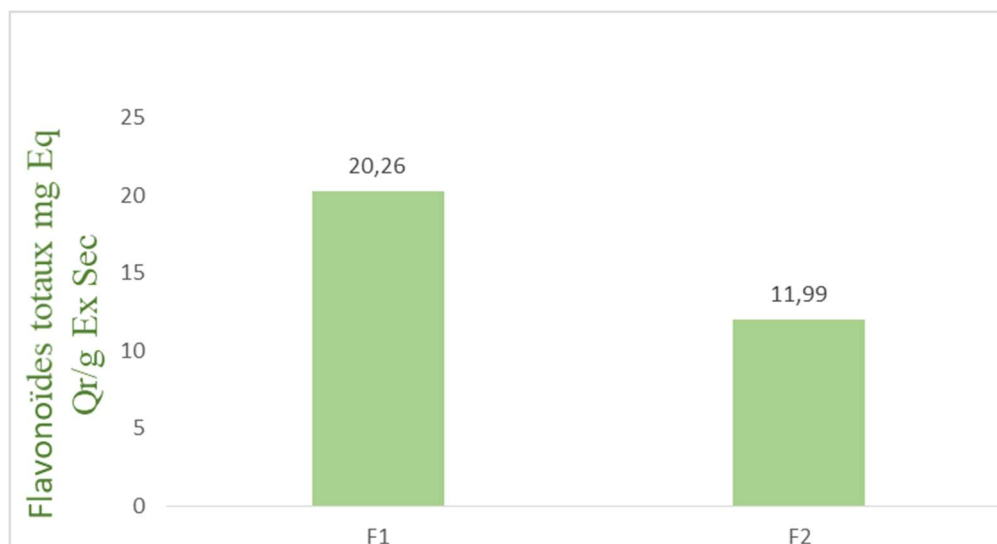


Figure V.4 : Histogramme de variation des teneurs en flavonoïdes totaux (mg EQr/g extrait sec) dans les fractions F1 et F2 de *Juniperus phoenicea* L.

✓ Conclusion :

En conclusion, le taux de flavonoïdes est lié à de nombreux facteurs tels que le type de végétal, l'espèce, les conditions de croissance, la méthode d'extraction et les solvants utilisés. Ces paramètres influencent directement la composition finale des extraits et expliquent les différences observées entre les fractions. Une bonne maîtrise de ces facteurs est donc essentielle pour optimiser l'extraction des composés bioactifs.

V.2.2. Activité antioxydante par la méthode de DPPH°

L'activité antioxydante des fractions a été évaluée par la méthode DPPH°, qui mesure la capacité de piégeage des radicaux libres. Les résultats permettent d'estimer l'efficacité antioxydante à travers le pourcentage d'inhibition, calculé selon l'équation suivante :

Le **tableau V.2** présente les pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH° obtenus à deux concentrations différentes, pour deux volumes d'extrait F2 (100µl et 200µl). Ces résultats permettent d'évaluer l'activité antioxydante de l'extrait de *Juniperus phoenicea* L. Celle-ci est proportionnelle au taux d'inhibition : plus ce dernier est élevé, plus l'activité antioxydante est importante.

Les résultats du test d'inhibition du radical **DPPH°** par l'extrait F2 de *Juniperus phoenicea* L. ont révélé une activité antioxydante élevée, avec un pourcentage d'inhibition de **72.28 %** pour un volume de **100 µl**, contre **47.60 %** pour **200 µl**. Cette diminution du pouvoir antioxydant avec

l'augmentation du volume appliqué est due à l'effet de l'excès du solvant ajouté, qui inhibe l'action antioxydante des polyphénols sur la DPPH°.

Tableau V.2 : pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH° par l'extrait F2 de *Juniperus phoenicea* L.

Volume d'extrait (µl)	% d'inhibition
100µl	72.28
200µl	47.60

Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour expliquer cette observation. Il est possible que l'augmentation du volume ait provoqué une saturation du milieu réactionnel, réduisant ainsi l'efficacité des interactions entre les composés antioxydants et les radicaux DPPH°. Une autre explication pourrait être liée à des phénomènes d'interférence optique, voire à une légère précipitation de certains composants à plus grand volume, altérant la précision de la mesure.

La **figure V.5** montre l'inhibition du radical DPPH° à différents volumes de l'extrait F2.

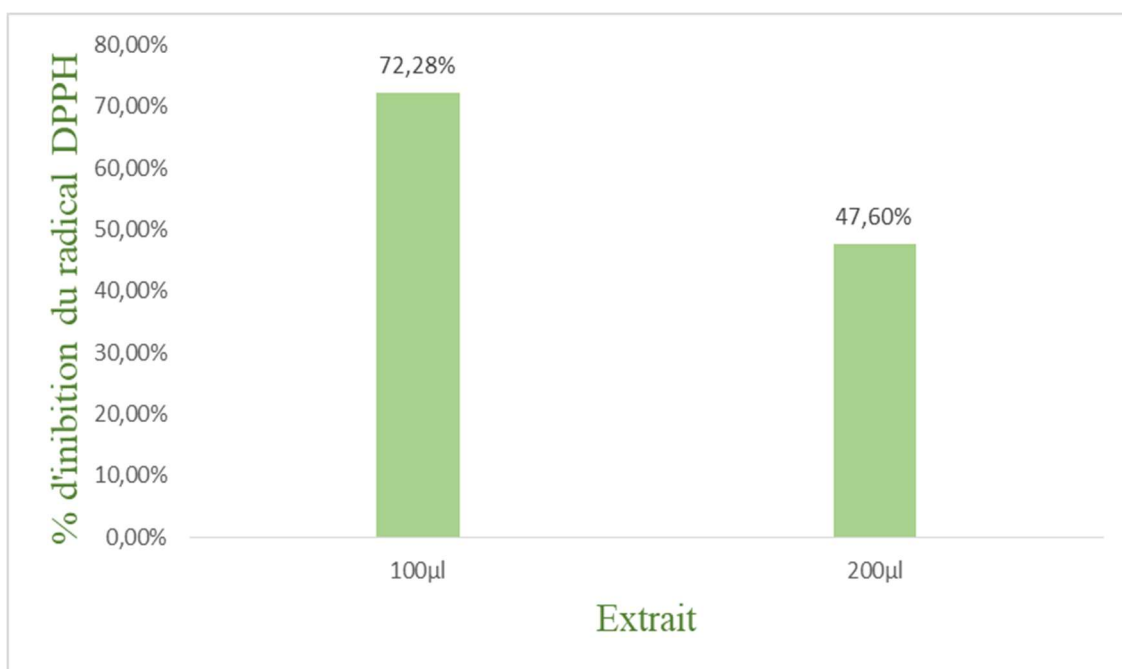


Figure V.5 : Histogramme de l'activité antioxydante et pouvoir d'inhibition du radical DPPH° de l'extrait F2 du *Juniperus phoenicea* L.

Ces résultats suggèrent que l'efficacité antioxydante de l'extrait n'est pas strictement proportionnelle à la quantité utilisée. Il existerait donc une dose optimale à ne pas dépasser pour maintenir une activité maximale. Des investigations complémentaires, incluant des volumes intermédiaires et une caractérisation plus poussée des constituants actifs, permettraient de mieux comprendre cette variation d'activité.

V.3. Caractérisation par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Les chromatogrammes des filtrats (figures V.6, V.7, V.8, V.9, V.10, V.11, V.12 et V.13) sont présentés ci-après, et ceux des standards de référence sont regroupés en annexe.

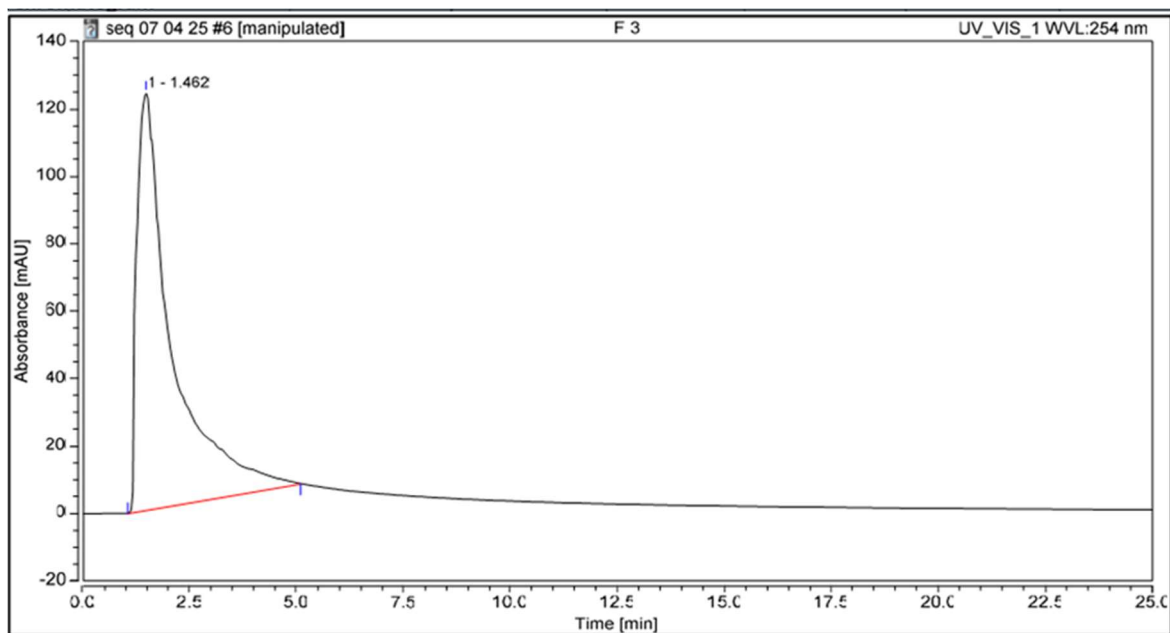


Figure V.6 : Chromatogramme par HPLC du filtrat de l'essai 3.

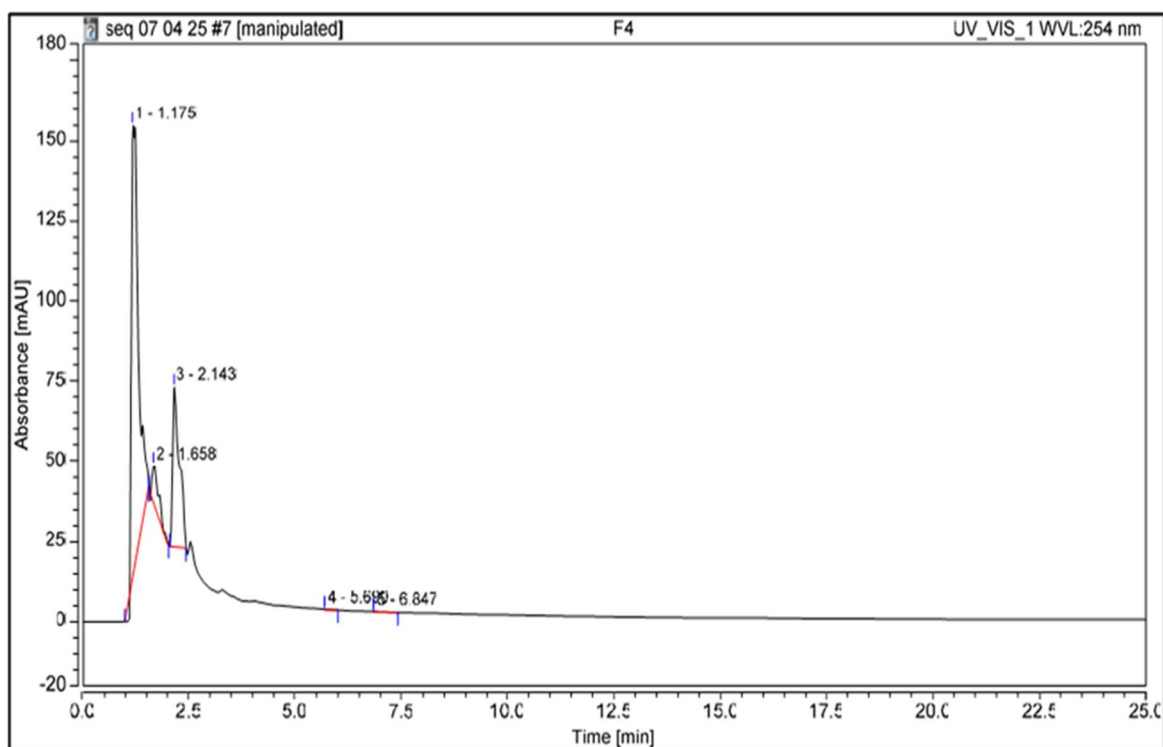


Figure V.7 : Chromatogramme par HPLC du filtrat de l'essai 4.

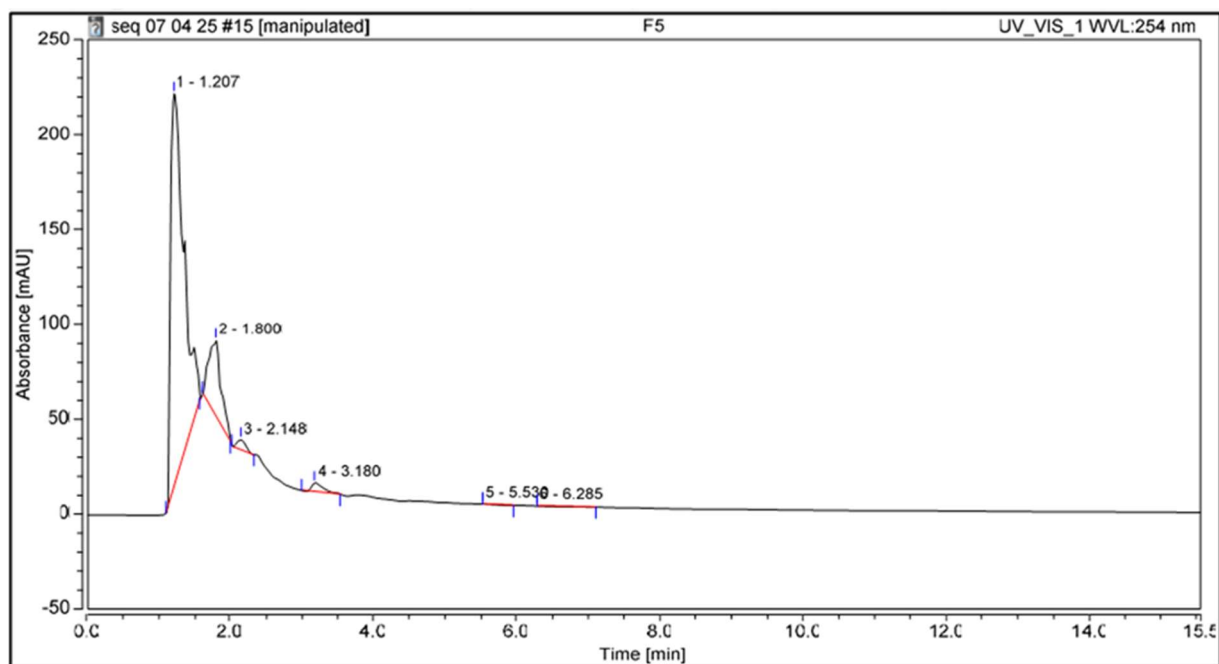


Figure V.8 : Chromatogramme pat HPLC du filtrat de l'essai 5.

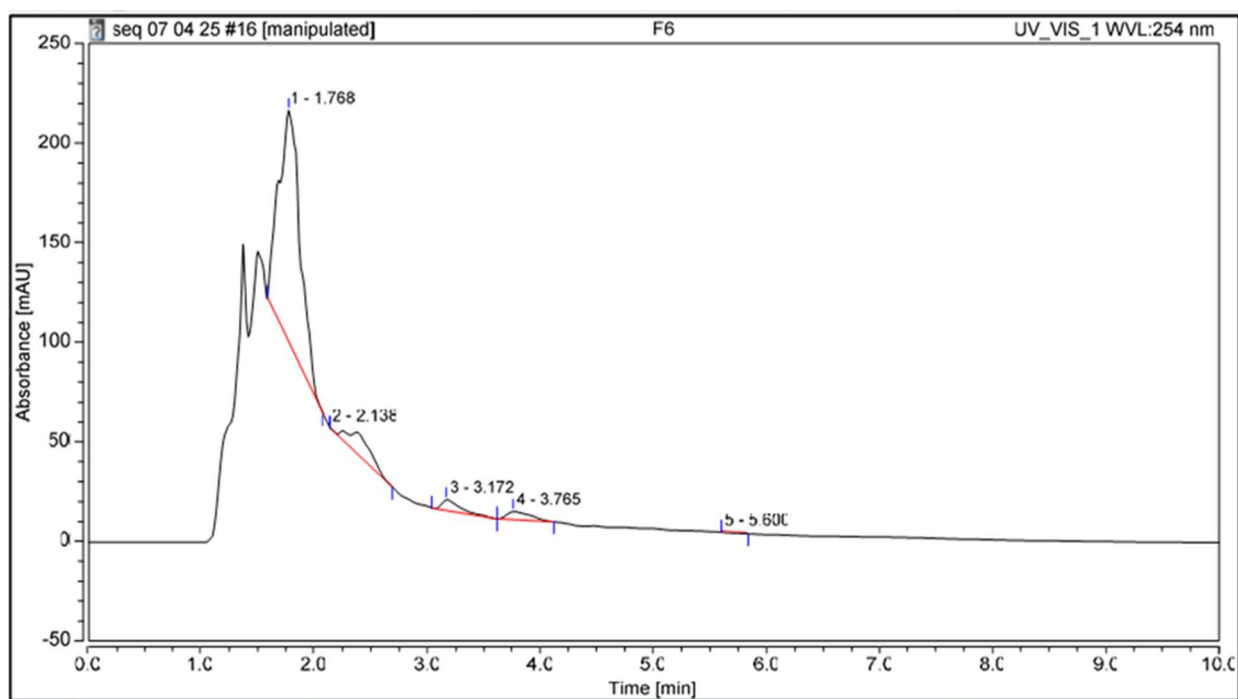


Figure V.9 : Chromatogramme par HPLC du filtrat de l'essai 6.

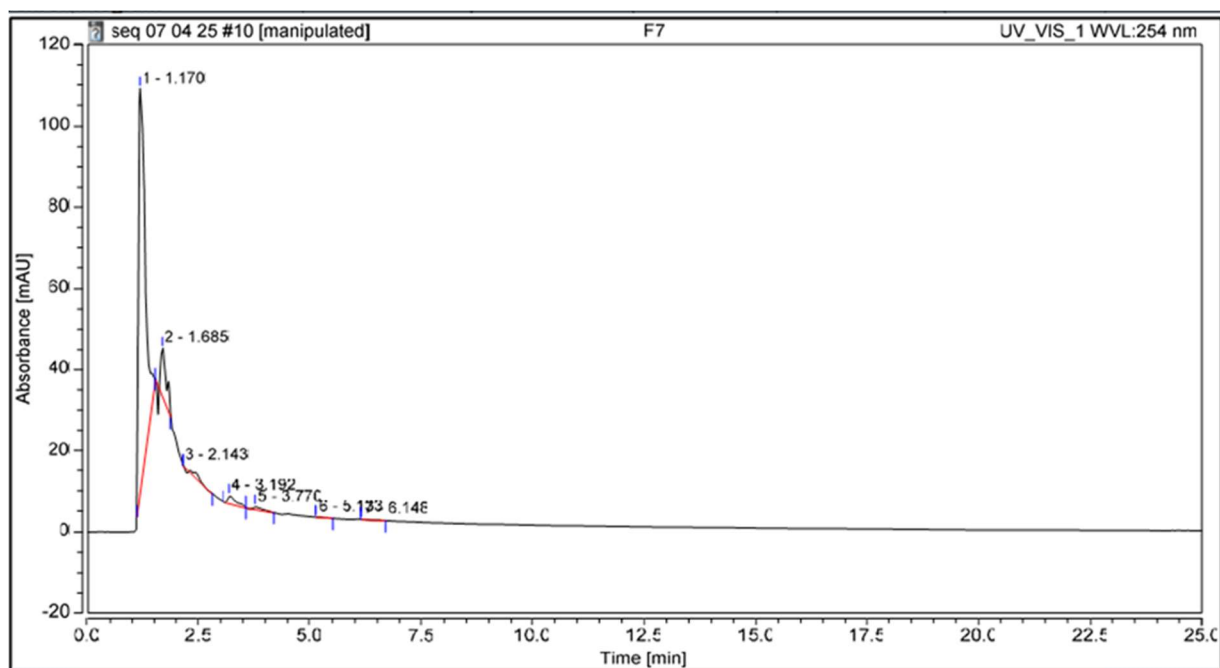


Figure V.10 : Chromatogramme par HPLC du filtrat de l'essai 7.

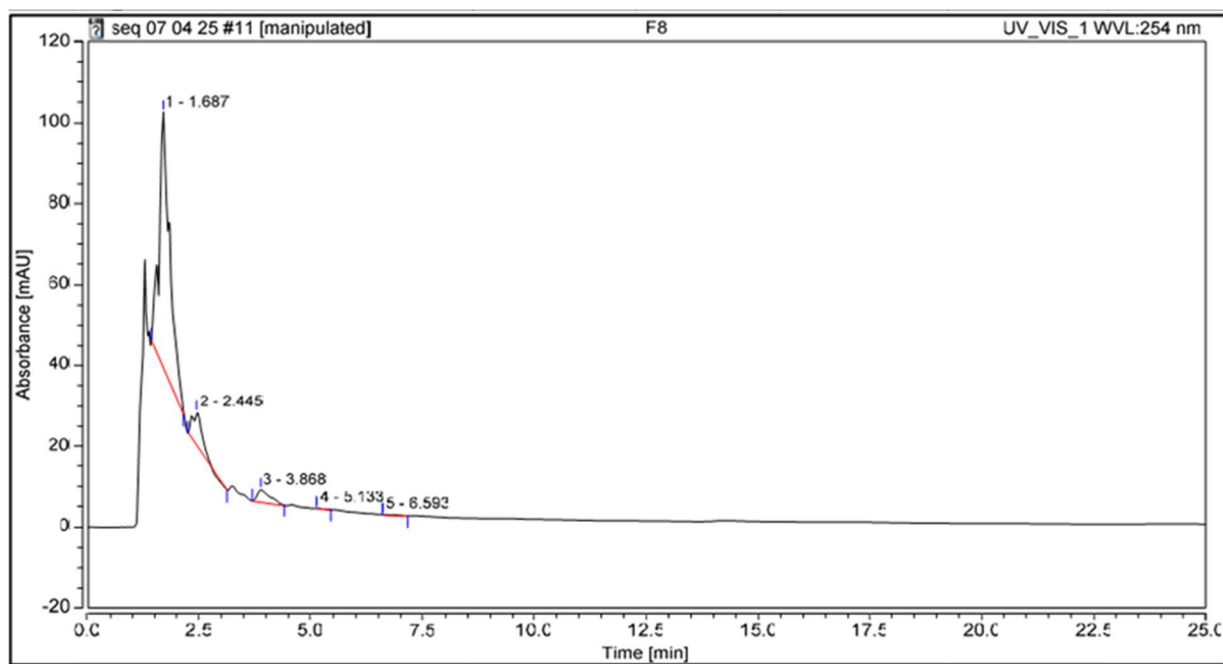


Figure V.11 : Chromatogramme par HPLC du filtrat de l'essai 8.

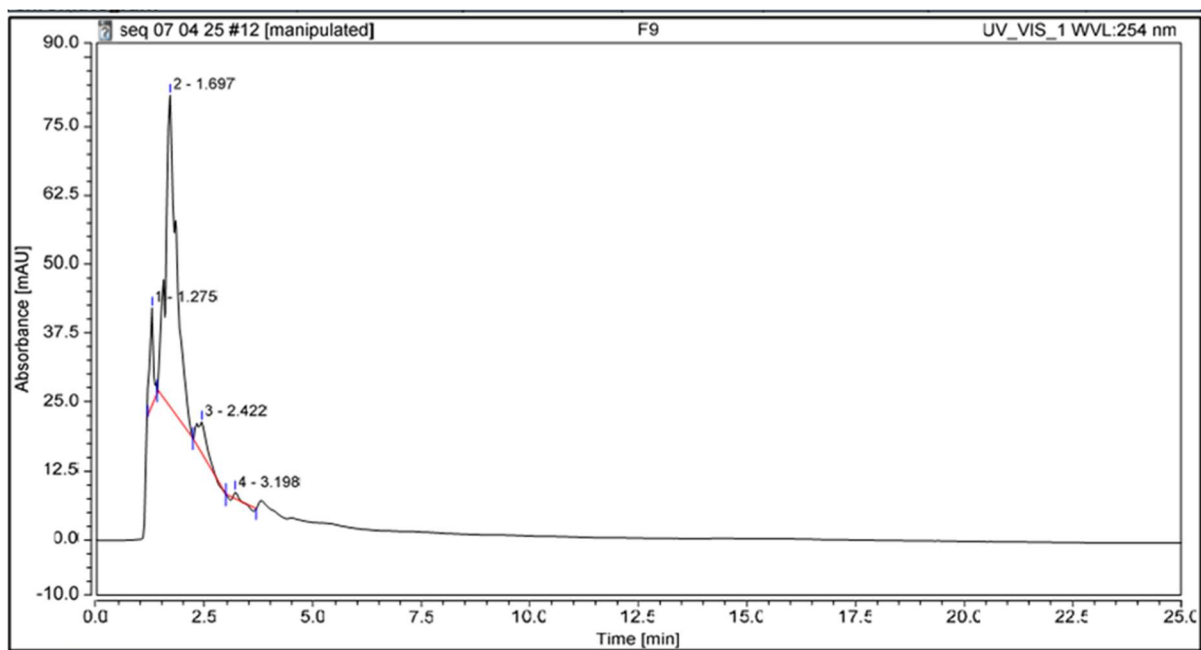


Figure V.12 : Chromatogramme par HPLC du filtrat de l'essai 9.

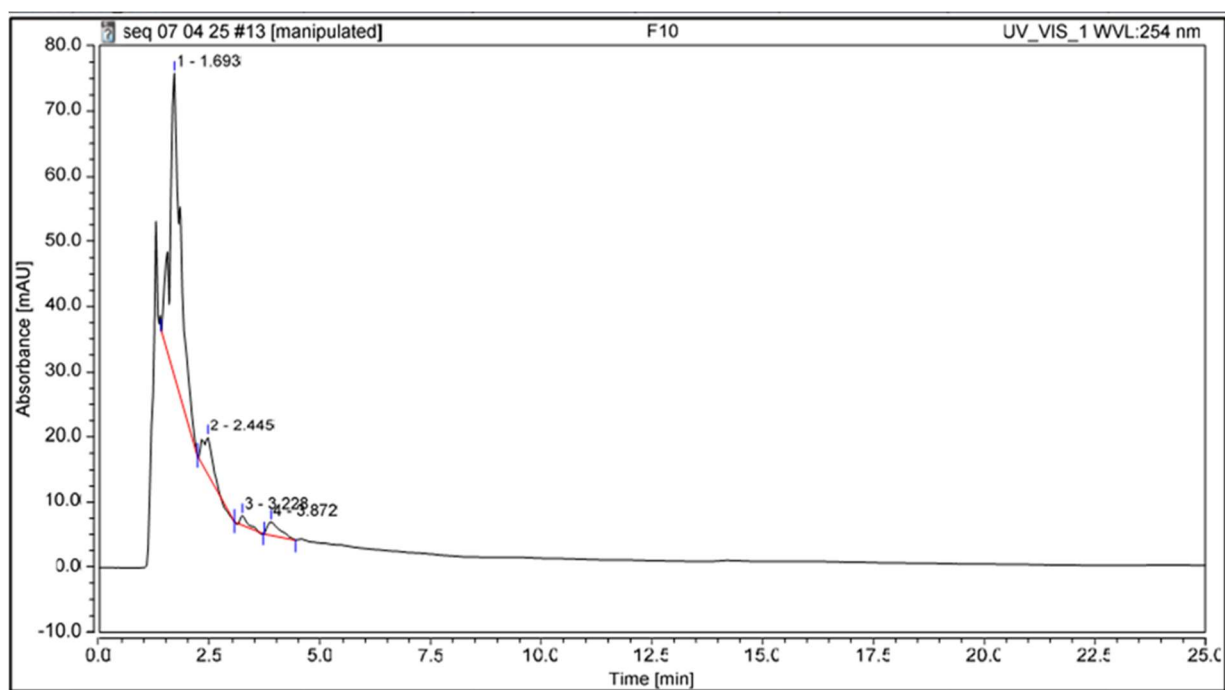


Figure V.13 : Chromatogramme par HPLC du filtrat de l'essai 10.

Afin d'identifier les composés présents dans les extraits et les filtrats de *Juniperus phoenicea* L., cinq composés standards ont été analysés par chromatographie liquide à haute performance (HPLC). Il s'agit de l'acide gallique, du catéchol, de l'acide caféique, de l'acide cinnamique et de la quercétine. Leurs temps de rétention ainsi que les aires des pics correspondants, déterminés dans les mêmes conditions analytiques que les échantillons, sont présentés dans le **tableau V.3**. Ces données ont servi de référence pour l'interprétation des chromatogrammes obtenus.

Tableau V.3 : Les temps de rétention et aires des pics chromatographiques des standards par HPLC.

Standards	Temps de rétention (min)	Aire (mAU*min)
Acide gallique	1.655	13.832
Quercétine	6.787	232.868
Acide cinnamique	5.258	258.601
Catéchol	2.065	12.104
Acide caféique	2.097	146.736

Tableau V.4 : Temps de rétention et les aires des pics des métabolites secondaires identifiés dans l'extrait par HPLC.

Métabolites secondaires	Ex		F	Ex 2f		F
	Tr (min)	Aire (mAU*min)		Tr (min)	Aire (mAU*min)	
Acide gallique (PP1)	-	-	1	-	-	2
Catéchol (PP2)	-	-	1	2.103	0.231	2
Acide caféique (PP3)	-	-	1	2.103	0.231	2
PP4	2.55	0.004	1	-	-	2
PP5	-	-	1	3.678	0.004	2
Acide cinnamique (PP6)	5.217	0.002	1	5.763	0.000	2
Flav 1 (Qr)	6.597	0.026	1	-	-	2
Flav 2	-	-	1	8.510	0.007	2
Flav 3	9.262	0.002	1	-	-	2
Flav 4 (genistine)	-	-	1	10.037	0.004	2
Flav 5	11.927	0.008	1	-	-	2
Flav 6 (genistéine)	-	-	1	17.217	0.019	2
Flav 7 (Biochanin)	-	-	1	23.682	0.073	2

En vue d'évaluer la répartition qualitative des composés phénoliques et flavonoïdes après microencapsulation, nous avons regroupé les données analytiques dans les **tableaux V.5** et **V.6**, qui montrent la présence relative de ces métabolites dans l'extrait ainsi que dans les différents filtrats. Les concentrations sont exprimées de manière semi-quantitative par un codage (+ / -), en raison de la nature qualitative de l'analyse réalisée.

Bien que l'analyse réalisée soit de nature qualitative, la relation théorique permettant d'estimer la concentration d'un composé en fonction de l'aire du pic chromatographique est la suivante :

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

Aire extrait : aire du pic sur le chromatogramme de l'extrait (mAU*min).

Aire standard : aire du pic du standard sur le chromatogramme du standard (mAU*min).

C_e : concentration du standard.

F : facteur dilution.

Cette équation est mentionnée à titre indicatif, pour illustrer la méthode généralement employée en vue d'une estimation semi-quantitative par HPLC.

Dans cette étude, une phase stationnaire apolaire de type C18 a été utilisée. La phase mobile est constituée d'un mélange de solvants polaires et protiques, à savoir l'eau, le méthanol et l'acide acétique, dans des proportions volumiques respectives de 500 ml, 470 ml et 25 ml. Les résultats des différentes fractions sont dans le **tableau V.5**.

Tableau V.5 : Détection qualitative des polyphénols dans l'extrait et les filtrats post-microencapsulation de *Juniperus phoenicea* L.

Echantillons	Concentration en polyphénols (mg/ml)							EEP%
Composants	AG	Cat	Acf	PP4	PP5	Acin	PP tot	
Extrait	-	+	+	+	+	+	+	
F3	-	-	-	-	-	-	-	98.50
F4	+	+	+	-	-	+	+	94.17
F5	-	+	+	+	+	+	+	85.53
F6	+	+	+	-	+	+	+	83.26
F7	+	+	+	-	+	+	+	65.79
F8	+	-	-	+	+	+	+	83.68
F9	+	-	-	+	-	-	+	81.00
F10	+	-	-	+	+	-	+	85.47

L'analyse chromatographique par HPLC a permis de caractériser la composition chimique des extraits de *Juniperus phoenicea* L. avant et après microencapsulation. Les profils obtenus révèlent la présence d'une diversité de métabolites phénoliques et flavonoïdes, mettant en lumière sur la richesse biochimique de cette espèce médicinale. La comparaison avec les standards de référence a permis d'attribuer certains pics à des composés connus, tels que l'acide gallique, le catéchol, l'acide caféique,

l'acide cinnamique et la quercétine, largement décrits pour leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires et antidiabétiques.

Tableau V.6 : Détection qualitative des flavonoïdes dans l'extrait et les filtrats post-microencapsulation de *Juniperus phoenicea* L.

Echantillons	Concentration en flavonoïdes (mg/ml)								EEF%
Composants	Qr	Flav 2	Flav 3	Flav 4	Flav 5	Flav 6	Flav 7	Flav tot	
Extrait	+	+	+	+	+	+	+	+	
F3	-	-	-	-	-	-	-	-	44.61
F4	-	-	-	-	-	-	-	-	76.01
F5	-	-	-	-	-	-	-	-	38.87
F6	-	-	-	-	-	-	-	-	66.47
F7	-	-	-	-	-	-	-	-	34
F8	+	-	-	-	-	-	-	+	53.22
F9	-	-	-	-	-	-	-	-	44.86
F10	-	-	-	-	-	-	-	-	46.83

Dans l'extrait brut, plusieurs pics caractéristiques de composés flavonoïdes et acides phénoliques ont été observés, témoignant d'un mélange complexe. La dilution de l'extrait (F2) a favorisé une meilleure séparation, facilitant l'identification des composés, notamment certains acides phénoliques hydrophiles. Un pic attribuable au glycérol, utilisé comme co-solvant non toxique, a également été détecté, confirmant sa persistance dans le filtrat à la fin de la microencapsulation et sa compatibilité avec le système analytique.

Par ailleurs, l'analyse comparative des tableaux des résultats par HPLC suggère une prédominance des polyphénols par rapport aux flavonoïdes. Ces derniers étant faiblement détectés dans l'ensemble des extraits et filtrats. Cette observation confirme la richesse particulière de *J. phoenicea* en composés phénoliques hydrosolubles, au détriment des flavonoïdes, dont la présence apparaît plus limitée dans les conditions expérimentales appliquées.

L'évaluation des filtrats obtenus après microencapsulation (F3 à F10) a mis en évidence l'effet de la matrice polymérique (dextrine/CMC/PEG) sur la libération des métabolites. Le filtrat F3 a présenté un profil indiquant une encapsulation efficace, avec une rétention marquée des composés hydrophiles, suggérant que ces derniers restent piégés dans la matrice. Ce qui est favorable à une libération prolongée. Cette observation est en corrélation avec l'efficacité de la méthode de microencapsulation par émulsion et réticulation ionique.

Les filtrats suivants (F4 à F10) ont montré une libération graduelle de métabolites, soulignant une cinétique influencée par la polarité des composés. Les plus hydrophiles ont été libérés rapidement,

tandis que des composés plus lipophiles, tels que certains flavonoïdes, ont été détectés plus tardivement. Parmi ceux-ci, des pics non référencés dans les standards initiaux pourraient correspondre à des isoflavonoïdes tels que la genistine, la genistéine ou encore la Biochanin A, un flavonoïde méthoxylé bien connu pour ses effets antioxydants, antiprolifératifs et antidiabétiques [126].

Ces résultats renforcent l'intérêt pharmacologique de *J. phoenicea*, espèce déjà reconnue pour sa richesse en flavonoïdes et autres composés phénoliques à potentiel neuroprotecteur, anti-inflammatoire et antidiabétique [127]. Le profil chromatographique des filtrats indique que la microencapsulation permet de moduler la libération des principes actifs en fonction de leur nature chimique, ce qui est une stratégie prometteuse pour le développement de formulations à libération contrôlée.

Ainsi, cette étude suggère que *J. phoenicea* peut être exploitée non seulement comme source de composés bioactifs, mais aussi comme candidat potentiel pour le développement de formulations antidiabétiques innovantes. La comparaison future de son efficacité biologique avec celle du Glucophage pourrait confirmer son rôle comme alternative thérapeutique naturelle à visée métabolique.

✓ Conclusion

L'étude chromatographique des extraits et filtrats de *Juniperus phoenicea* L. a mis en évidence une composition riche, dominée par les polyphénols. La microencapsulation a montré une efficacité dans la modulation de la libération des métabolites selon leur polarité. La détection probable d'isoflavonoïdes bioactifs renforce l'intérêt de cette plante comme source potentielle de composés à visée antioxydante et antidiabétique.

V.4. Modélisation, prévision et optimisation des résultats de la microencapsulation

Dans cette étude, la microencapsulation des extraits polyphénoliques de *Juniperus phoenicea* L. a été réalisée dans le but d'améliorer leur stabilité, leur protection et de maîtriser leur libération. Des polymères biocompatibles tels que la dextrine, la CMC et le PEG ont été utilisés pour la formulation. L'optimisation du procédé a été effectuée à l'aide d'un plan factoriel fractionné, afin de déterminer les conditions les plus favorables au rendement d'encapsulation et à la qualité des microparticules.

V.4.1. Analyse statistique et ANOVA

La microencapsulation a été optimisée à l'aide d'un plan d'expériences factoriel fractionné, dont la matrice est représentée par le **tableau V.7**. Ce plan étudie l'effet de quatre facteurs (X_1 =dose, le rapport massique Rp_1 = dextrine/PEG (X_2), le rapport massique Rp_2 = dextrine/CMC (X_3) et le pH de la phase (X_4)) à deux niveaux. Huit essais ont été réalisés selon la formule $N=2^{n-p}$ avec $n=4$ et $p=1$, auxquels se sont ajoutés deux essais centraux, portant le total à 10 essais. Deux réponses ont été analysées : Y_1 = EEP% (efficacité d'encapsulation des polyphénols) et Y_2 = EEF% (efficacité d'encapsulation des flavonoïdes). L'évaluation statistique des données ainsi que la représentation graphique des résultats ont été réalisées à l'aide du logiciel MINITAB.

Tableau V.7 : Plan factoriel à 2 niveaux, 4 facteurs -2 réponses et taux d'encapsulation en polyphénols et en flavonoïdes des microparticules.

N° Essais	X1	X2	X3	X4	Dose		RP1	RP2	pH	EEP%	EEF%
					PP	Flav					
1	-1	-1	-1	-1	2.053	0.7008	4	4	4	98,37	40.17
2	1	-1	-1	1	6.159	2.1024	4	4	8	81,58	45.11
3	-1	1	-1	1	2.053	0.7008	12	4	8	98,5	44.61
4	1	1	-1	-1	6.159	2.1024	12	4	4	94,17	76.01
5	-1	-1	1	1	2.053	0.7008	4	12	8	85,53	38.87
6	1	-1	1	-1	6.159	2.1024	4	12	4	83,26	66.47
7	-1	1	1	-1	2.053	0.7008	12	12	4	65,79	34
8	1	1	1	1	6.159	2.1024	12	12	8	83,68	53.22
9	0	0	0	0	4.106	1.4016	8	8	6	81	44.86
10	0	0	0	0	4.106	1.4016	8	8	6	85,47	46.83

Les logiciels de planification d'expériences disposent de bibliothèques intégrées de plans standards, tout en offrant la possibilité de concevoir des plans expérimentaux spécifiques adaptés à chaque étude. Le logiciel Minitab a été utilisé. Ce dernier permet de modéliser les réponses dans les différents domaines d'étude, de réaliser les analyses de variance (ANOVA), de tracer les courbes d'iso-réponses, de générer les surfaces de réponse, et d'identifier les zones optimales d'intérêt.

La relation entre les quatre facteurs étudiés et la réponse (EEP% ou EEF%) a été modélisée par une équation de régression linéaire incluant les effets principaux et certaines interactions à deux facteurs, comme suit :

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{14} X_1 X_4 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{24} X_2 X_4 + \beta_{34} X_3 X_4 + \beta_{123} X_1 X_2 X_3 + \beta_{124} X_1 X_2 X_4 + \beta_{134} X_1 X_3 X_4 + \beta_{234} X_2 X_3 X_4 + \beta_{1234} X_1 X_2 X_3 X_4 + \varepsilon$$

Avec :

Y : la réponse.

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

$\beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4$: les effets principaux de chaque facteur (X1 à X4).

$\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{14}, \beta_{23}, \beta_{24}, \beta_{34}$: les effets d'interaction à deux facteurs.

$\beta_{123}, \beta_{124}, \beta_{134}, \beta_{234}$: les effets d'interaction à trois facteurs.

β₁₂₃₄ : l'effet d'interaction entre les quatre facteurs simultanément.

ε : l'erreur expérimentale.

Dans ce cas, les réponses Y_i , correspondant respectivement à l'efficacité d'encapsulation des polyphénols (EEP%) et à celle des flavonoïdes (EEF%), en fonction des facteurs étudiés, sont exprimées par les équations suivantes : (1) et (2).

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

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

L'analyse statistique, basée sur les tests de Student et de Fisher, permet d'évaluer la significativité des facteurs et la qualité d'ajustement du modèle ($p < 0.05$). Les résultats sont présentés dans le **tableau V.8**. L'équation codée prédictive de l'EEP% est la suivante :

- Equation de régression en variable codée

EEP% = 86,36 - 0,69 A - 0,82 B - 6,79 C + 0,96 D + 4,08 A*B + 4,59 A*C - 4,00 A*D - 3,13 Pt ctr..... (1).

L'analyse révèle que le rapport massique dextrine/CMC (X_3) diminue significativement l'EEP%, tandis que les interactions entre la dose en polyphénols et les rapports massiques dextrine/PEG (X_1X_2) et dextrine/CMC (X_1X_3) favorisent son augmentation. Le point central montre une légère non-linéarité.

Tableau V.8 : Analyse statistique de la variance pour la réponse EEP%.

Source	DL	SomCar ajust	CM ajust	Valeur F	Valeur de p
Modèle	8	831.695	103.962	10.41	0.236
Linéaires	4	386.014	96.503	9.66	0.236
X1=dose	1	3.781	3.781	0.38	0.649
X2=Rp1	1	5.445	5.445	0.55	0.595
X3=Rp2	1	369.376	369.376	36.97	0.104
X4=pH	1	7.411	7.411	0.74	0.547
Interactions à 2facteurs	3	430.057	143.352	14.35	0.191
X1*X2=dose*Rp1	1	133.008	133.008	13.31	0.170
X1*X3=dose*Rp2	1	168.728	168.728	16.89	0.152
X1*X4=dose*pH	1	128.320	128.320	12.84	0.173
Courbure	1	15.625	15.625	1.56	0.429
Erreur	1	9.990	9.990		
Total	9	841.686			
Validation du modèle	R² (%) = 98.81%			R²_{ajusté} (%) = 89.32%	

Le modèle statistique montre une forte capacité explicative ($R^2 = 98.81\%$), mais aucun facteur ou interaction n'est statistiquement significatif ($p > 0,05$). Toutefois, les effets de X_3 (dextrine/CMC), X_1X_2 et X_1X_3 montrent des valeurs F élevées, suggérant une influence potentielle à confirmer. Le

manque de significativité peut être lié au faible nombre de degrés de liberté. La courbure est non significative et l'erreur expérimentale reste faible.

Une droite de prédiction (**Figure V.14**) a été ajustée aux données expérimentales à l'aide d'une régression linéaire :

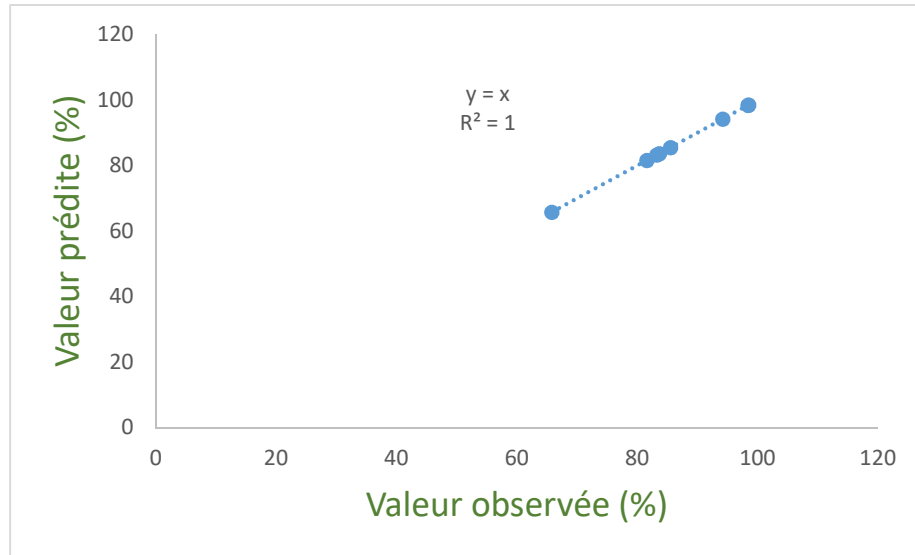


Figure V.14 : Droite de prédiction.

Le modèle présente un excellent ajustement avec un R^2 de 98,81 % et un R^2 ajusté de 89,32 %, selon Minitab. La courbe de prédiction montre une corrélation quasi parfaite, bien que le $R^2 = 1$ obtenu sous Excel reflète une surévaluation liée à l'utilisation des mêmes données pour l'ajustement.

2. Diagramme de Pareto pour EEP%

Le diagramme de Pareto pour la réponse EEP% (**figure V.15**) met en évidence les facteurs et interactions les plus influents, facilitant ainsi leur classement par ordre d'importance.

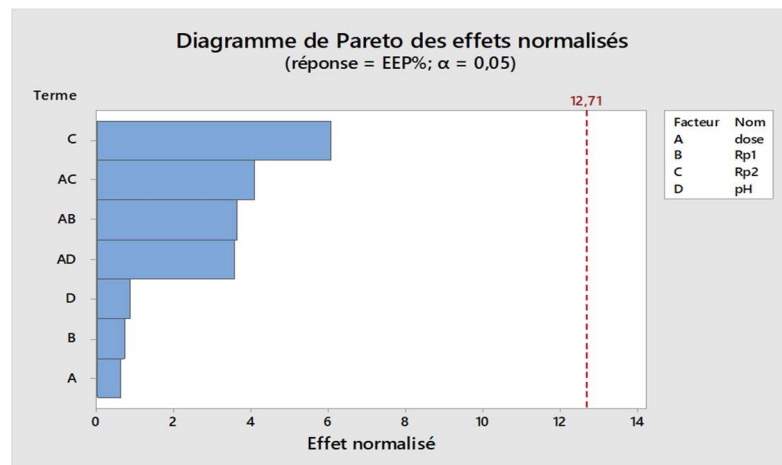


Figure V.15 : Diagramme de Pareto des effets des termes sur EEP%.

Le diagramme de Pareto montre que le facteur **C (Rp2)** a l'influence la plus importante sur l'efficacité d'encapsulation (EEP%), avec un effet négatif marqué et une valeur normalisée égale à 6. Les interactions les plus significatives sont celles entre **A (dose)** et **C (Rp2)**, suivies de celles entre **A (dose)** et **B (Rp1)**, puis entre **A (dose)** et **D (pH)**. Ces interactions surpassent certains effets simples tels que ceux de **D (pH)**, **B (Rp1)** ou **A (dose)** seuls. Bien qu'aucun effet ne dépasse le seuil critique statistique de 12,71, cette tendance souligne que **C (Rp2)** et ses interactions avec la dose sont des facteurs clés pour optimiser l'EEP%.

3. Diagrammes des effets des facteurs sur la réponse EEP%

Le diagramme des effets principaux (**Figure V.16**) met en évidence l'influence individuelle de chaque facteur étudié sur le taux d'encapsulation des polyphénols (EEP%).

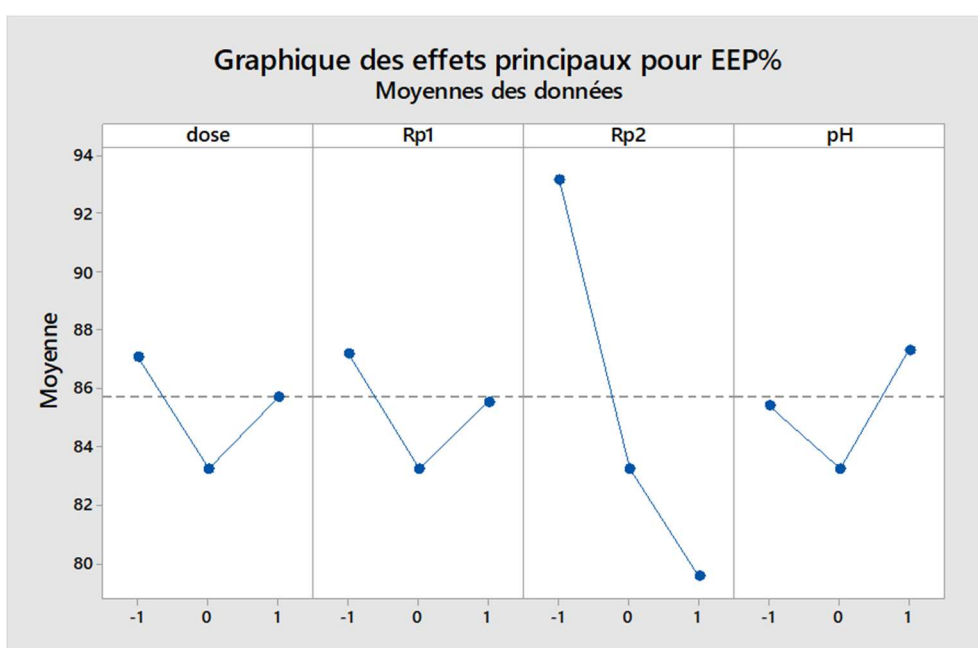


Figure V.16 : Diagramme des effets des facteurs sur la réponse EEP%.

- L'influence de X1 (dose) : Le taux de polyphénols encapsulés dépasse la moyenne au niveau **-1** qui correspond à la dose minimale de **2.053 mg**, ensuite minimal au niveau **0**, correspondant à la dose moyenne de **4.106 mg** et il diminue de manière significative à la valeur moyenne au niveau **+1** avec une dose maximale de **6.159 mg**.
- L'influence de X2 (Rp1) : Le taux de polyphénols encapsulés dépasse la moyenne au niveau **-1**, correspondant à un rapport Rp1 de **4**. Il devient minimal au niveau **0**, soit pour un Rp1 moyen de **8**, puis il augmente légèrement au niveau **+1**, correspondant à un Rp1 maximal de **12**.
- Le facteur X3 (Rp2) a l'influence la plus significative. Le taux de polyphénols encapsulés diminue avec l'augmentation de Rp2, atteignant un maximum à **RP2 = 4** et un minimum à **RP2 = 12**. Cette tendance indique une influence négative de Rp2, où plus la quantité de CMC est élevée (donc Rp2 faible), plus l'encapsulation est favorisée.
- L'influence de X4 (pH) : Le taux de polyphénols encapsulés est proche de la valeur moyenne au niveau minimal, correspondant à un pH de **4**. Il diminue ensuite pour devenir inférieur à la moyenne

au niveau moyen, avec un pH de 6. Enfin, il augmente et dépasse la valeur moyenne au niveau maximal, correspondant à un pH de 8.

Par ailleurs, des interactions avec d'autres facteurs peuvent également renforcer ou moduler cette influence

4. Optimisation de la réponse EEP%

Cette section vise à déterminer analytiquement les valeurs optimales des paramètres opératoires influençant le taux d'encapsulation des polyphénols (EEP%). Le graphique d'optimisation correspondant est présenté à la **Figure V.17**.

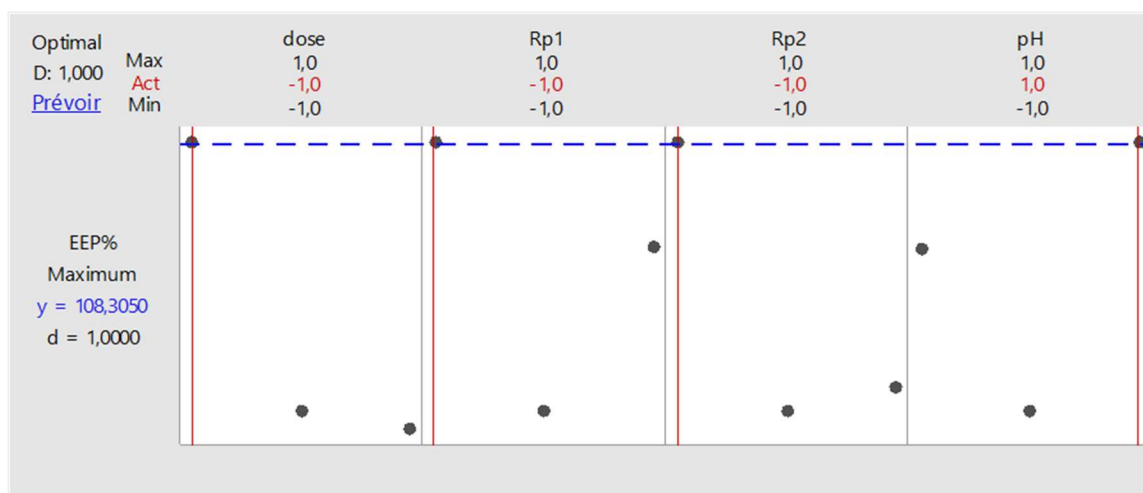


Figure V.17 : Diagramme d'optimisation et de prédiction de la réponse pour EEP %.

Ce test permet d'identifier les niveaux des facteurs permettant d'optimiser la réponse EEP%. Ainsi, pour atteindre un taux d'encapsulation en polyphénols optimal de 108.3050 %, les conditions suivantes doivent être appliquées :

- La dose au niveau -1 : dose = 2,053mg (dose minimale).
- Le rapport RP1 au niveau -1 : RP1= 4 (m_{Dex} =600mg, m_{PEG} =150mg).
- Le rapport RP2 au niveau -1 : RP2= 4 (m_{Dex} =600mg, m_{CMC} =150mg).
- Le pH au niveau +1 : pH= 8.

5. Optimisation de résidus de la réponse EEP%

L'analyse des résidus constitue une étape cruciale pour évaluer la validité des hypothèses du modèle de régression linéaire utilisé. Les quatre graphiques présentés dans la Figure IV.18 permettent d'examiner la distribution, l'homoscédasticité, l'indépendance et la normalité des résidus.

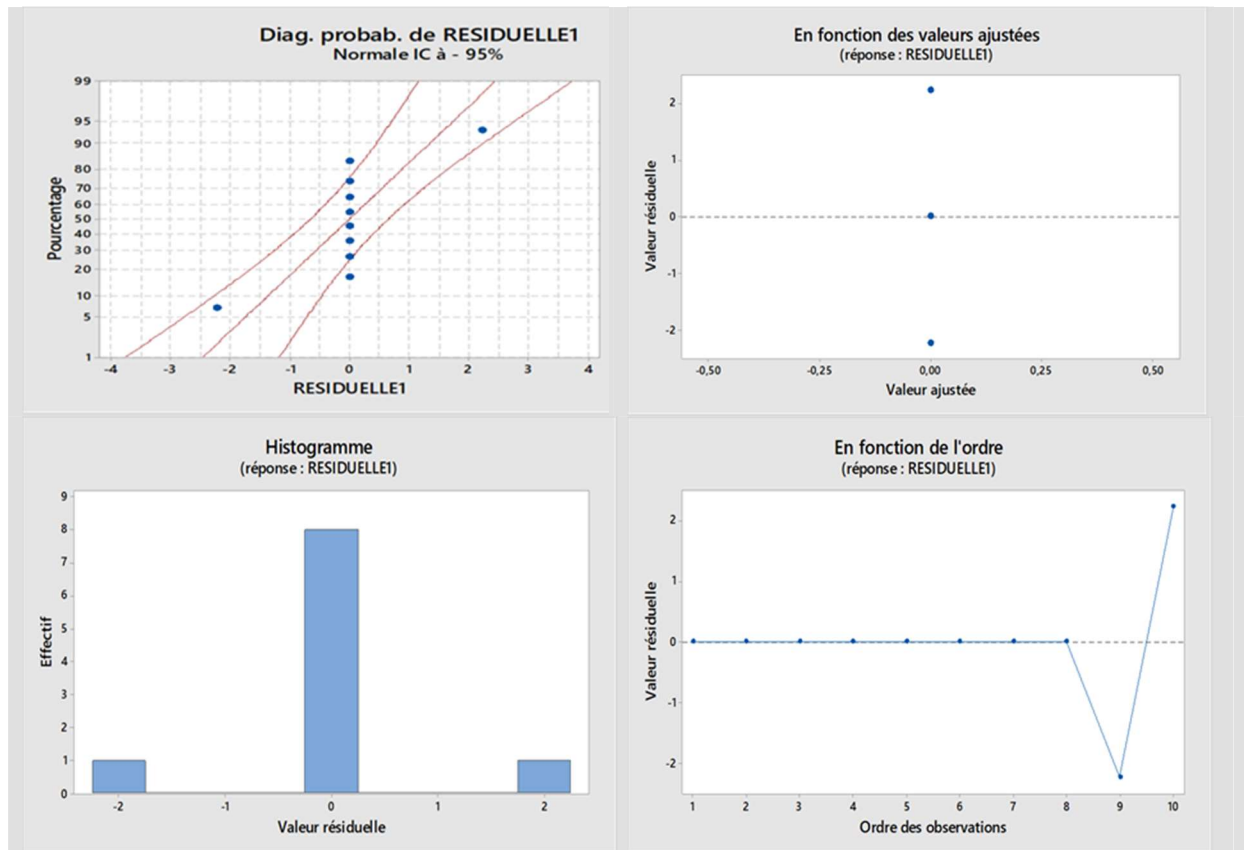


Figure V.18 : Les graphes des résidus.

- **Le diagramme de probabilité normale** : montre que les résidus suivent approximativement une ligne droite, ce qui suggère une distribution normale. Les quelques écarts observés en queue de distribution restent contenus à l'intérieur des intervalles de confiance à 95 %, indiquant que l'hypothèse de normalité des résidus est raisonnablement respectée. Cette condition est essentielle pour garantir la validité des tests statistiques appliqués dans l'analyse de variance (ANOVA) et pour la fiabilité des intervalles de confiance associés aux coefficients.
- **Le graphique des résidus en fonction des valeurs ajustées** : indique que les points sont dispersés de manière aléatoire autour de la ligne horizontale à zéro. Cette disposition confirme l'absence d'hétéroscédasticité apparente (variance non constante), ce qui soutient l'hypothèse d'homoscédasticité. Il n'y a pas de structure ou de motif clair, ce qui est un bon indicateur de l'adéquation du modèle.
- **L'histogramme des résidus** : présente une distribution centrée autour de zéro, avec une légère asymétrie. La majorité des résidus sont regroupés autour de cette valeur centrale, traduisant une bonne concentration des erreurs. Bien que la distribution ne soit pas parfaitement symétrique, elle reste proche d'une distribution normale, ce qui corrobore les résultats du diagramme de probabilité.
- **le graphique des résidus en fonction de l'ordre des observations** : ne révèle aucune tendance systématique ni effet de série temporelle. Les valeurs résiduelles fluctuent de manière aléatoire autour de zéro, ce qui confirme l'indépendance des erreurs entre les observations successives. Aucun regroupement ni tendance progressive n'est observé, ce qui indique que les résidus ne sont pas influencés par l'ordre d'exécution des expériences.

✓ Conclusion

Les différents diagnostics résiduels confirment la validité des hypothèses du modèle linéaire. Les résidus sont normalement distribués, homogènes, indépendants et centrés sur zéro. Il n'y a pas de points aberrants majeurs ni de biais systématique, ce qui renforce la robustesse du modèle statistique appliqué à l'analyse de l'EEP%.

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

Les diagrammes de surfaces-réponses (figure VI.19) permettent d'analyser l'influence croisée de deux facteurs expérimentaux à la fois sur l'efficacité d'encapsulation des extraits phénoliques de *Juniperus phoenicea* (EEP%). Ces représentations graphiques offrent une visualisation précieuse des interactions entre variables, et contribuent à l'optimisation rationnelle des conditions de formulation.

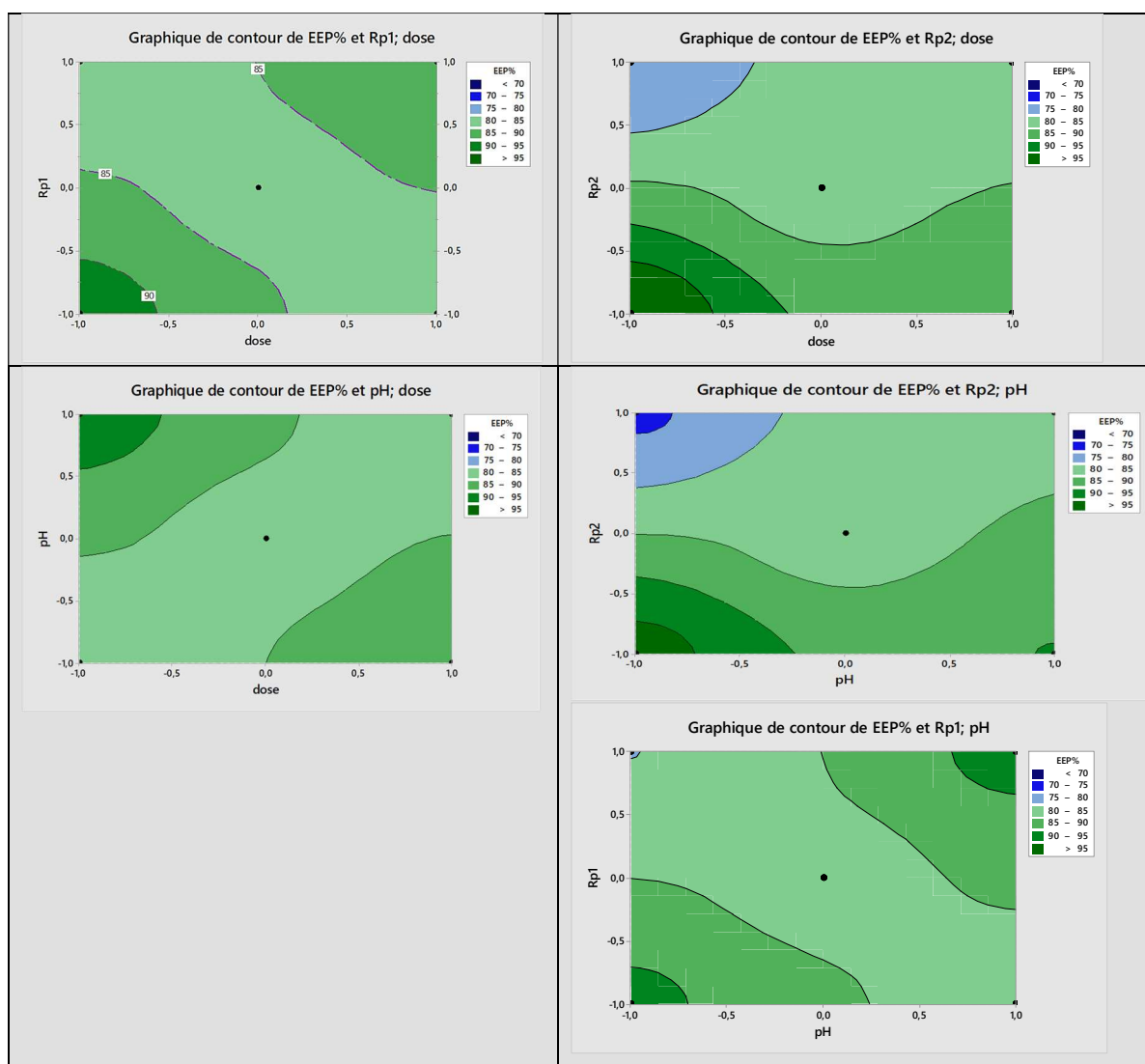


Figure V.19 : Diagrammes Surfaces –Réponses ou contours pour EEP%.

- L'analyse du graphe représentant l'évolution de l'EEP% en fonction de la **dose d'extrait** et de **Rp1** (rapport CMC/PEG) révèle une interaction modérée. Les taux d'encapsulation les plus élevés sont atteints lorsque les deux facteurs sont à des niveaux faibles. Cette observation suggère qu'une faible concentration en extrait, combinée à un rapport CMC/PEG modéré, favorise une meilleure structuration du réseau polymérique, permettant une rétention optimale des composés actifs.
- Le diagramme croisant la **dose** et **Rp2** (rapport dextrine/CMC) met en évidence une interaction beaucoup plus marquée. L'EEP% décroît significativement avec l'augmentation de Rp2, indépendamment de la dose utilisée. Ce comportement indique que des proportions excessives de dextrine par rapport à la CMC pourraient compromettre la stabilité de la matrice et réduire la capacité d'encapsulation, probablement en raison d'une diminution de la cohésion du système. Rp2 apparaît ainsi comme un facteur critique dans le contrôle de l'EEP%.
- Concernant l'effet combiné de la **dose** et du **pH**, les surfaces de réponse indiquent une interaction plus modérée. Une légère amélioration de l'EEP% est observée à pH élevé et à dose faible. Cela peut être attribué à une meilleure solubilité ou stabilité des composés phénoliques à pH alcalin, facilitant leur incorporation dans la matrice polymérique.
- Le graphe analysant l'interaction entre **Rp1** et le **pH** montre une faible influence croisée sur l'EEP%, avec une tendance favorable à des faibles valeurs de Rp1 et des pH légèrement basiques. Ce résultat pourrait s'expliquer par une structuration plus régulière du réseau en présence de proportions modérées de PEG et un environnement moins acide, réduisant les pertes par diffusion.
- Le graphe croisant **Rp2** et le **pH** confirme l'effet inhibiteur de Rp2 sur l'EEP%, mais suggère également que cet effet peut être partiellement atténué à pH plus élevé. Cette observation pourrait être liée à la modulation de la viscosité du milieu ou à des interactions chimiques plus favorables à pH alcalin, permettant une encapsulation plus efficace malgré des rapports de dextrine élevés.

Dans l'ensemble, ces diagrammes confirment que Rp2 constitue le paramètre le plus déterminant dans la variation de l'efficacité d'encapsulation, suivi de la dose et du pH. La visualisation des interactions met en lumière l'importance d'un équilibre précis entre les constituants du mélange polymérique, justifiant pleinement l'approche multifactorielle adoptée pour l'optimisation de la formulation.

V.4.1.2. Taux d'encapsulation en flavonoïdes EEFF%

1. Analyse de la variance et équation du modèle pour EEFF %

Les paramètres issus de l'analyse statistique, ainsi que leurs valeurs correspondantes, sont récapitulés dans le tableau V.9. L'équation du modèle linéarisé, exprimée en variables codées et offrant la meilleure prédiction de la réponse EEFF %, est donnée ci-après :

- Equation de régression en variable codée

$$\text{EEFF \%} = 45,845 + 10,395 A + 2,153 B - 1,668 C - 4,355 D + 2,260 A*B + 1,310 A*C - 6,683 A*D + 3,96 \text{ pt ctr}$$

Tableau V.9 : Analyse statistique de la variance pour la réponse EEf%.

Source	DF	Adj(SS)	Adj(MS)	F-Value	P-Value
Modèle	8	1512,45	189,056	97,43	0,078
Linéaires	4	1075,49	268,872	138,56	0,064
X1=dose	1	864,45	864,448	445,49	0,030
X2=Rp1	1	37,07	37,066	19,10	0,143
X3=Rp2	1	22,24	22,244	11,46	0,183
X4=pH	1	151,73	151,728	78,19	0,072
Interaction à 2 facteurs	3	411,84	137,279	70,75	0,087
X1*X2 = dose*Rp1	1	40,86	40,861	21,06	0,137
X1*X3 = dose*Rp2	1	13,73	13,729	7,08	0,229
X1*X4 = dose*pH	1	357,25	357,246	184,10	0,047
Interaction à 4 facteurs	1	25,12	25,122	12,95	0,173
X1*X2*X3*X4 = dose*Rp1*Rp2*pH	1	25,12	25,122	12,95	0,173
Erreur	1	1,94	1,940		
Total	9	1514,39			
Validation du modèle	R² (%) = 99,87%			R²_{ajusté} (%) = 98,85%	

● **Interprétation des résultats:**

L'analyse révèle que le modèle global est hautement performant, avec un coefficient de détermination R² de 99,87 % et un R² ajusté de 98,85 %, traduisant une excellente capacité prédictive et une bonne adéquation aux données expérimentales. Parmi les effets linéaires, la dose d'extrait (X1) s'est distinguée comme le facteur le plus influent, avec une valeur de F très élevée (445,49) et une p-value significative (0,030), indiquant un impact majeur sur le rendement en flavonoïdes. En revanche, les facteurs X2 (rapport dextrine/PEG) et X3 (rapport dextrine/CMC) n'ont pas présenté d'effet significatif pris isolément, bien qu'ils puissent jouer un rôle indirect via des interactions. Le pH (X4) a montré une influence modérée, avec une valeur de F de 78,19 et une p-value proche du seuil de signification (0,072), suggérant qu'il mérite une attention particulière dans les conditions d'optimisation. Concernant les interactions, celle entre la dose et le pH (X1X4) a présenté une contribution significative (F = 184,10 ; p = 0,047), soulignant l'importance de l'ajustement simultané de ces deux paramètres pour maximiser l'efficacité d'extraction. Les autres interactions, bien que non significatives statistiquement (p > 0,1), contribuent à la complexité du système et méritent d'être prises en compte dans une approche multifactorielle. Enfin, l'interaction à quatre facteurs (X1X2X3X4) n'a pas été significative (p = 0,173), mais indique une certaine synergie entre les paramètres étudiés. L'erreur résiduelle faible et la forte variance expliquée par le modèle renforcent la fiabilité des résultats obtenus.

Une droite de prédiction (**Figure V. 20**) a été ajustée aux données expérimentales à l'aide d'une régression linéaire :

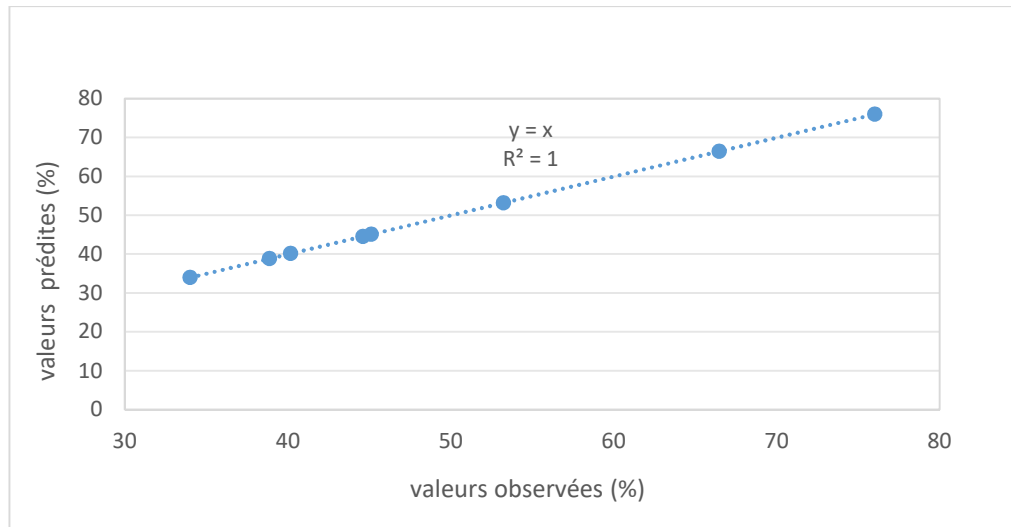


Figure V. 20: Droite de prédiction pour la réponse EFF.

Le modèle présente une très bonne qualité d'ajustement, avec un coefficient de détermination R^2 de 99,87 % et un R^2 ajusté de 98,85 %, selon les résultats obtenus via Minitab. Bien que la courbe de prédiction affiche une corrélation parfaite, le $R^2=1$ obtenu sous Excel traduit probablement une surévaluation due à l'ajustement du modèle sur les mêmes données ayant servi à son élaboration.

2. Diagramme de Pareto pour EFF%

Le diagramme de Pareto de la réponse EFF % (**Figure V.21**) permet d'identifier et de visualiser les facteurs les plus influents, facilitant ainsi l'évaluation des effets principaux et des interactions entre les paramètres étudiés. Il offre également une hiérarchisation claire de ces effets selon leur importance relative dans l'ensemble des données analysées.

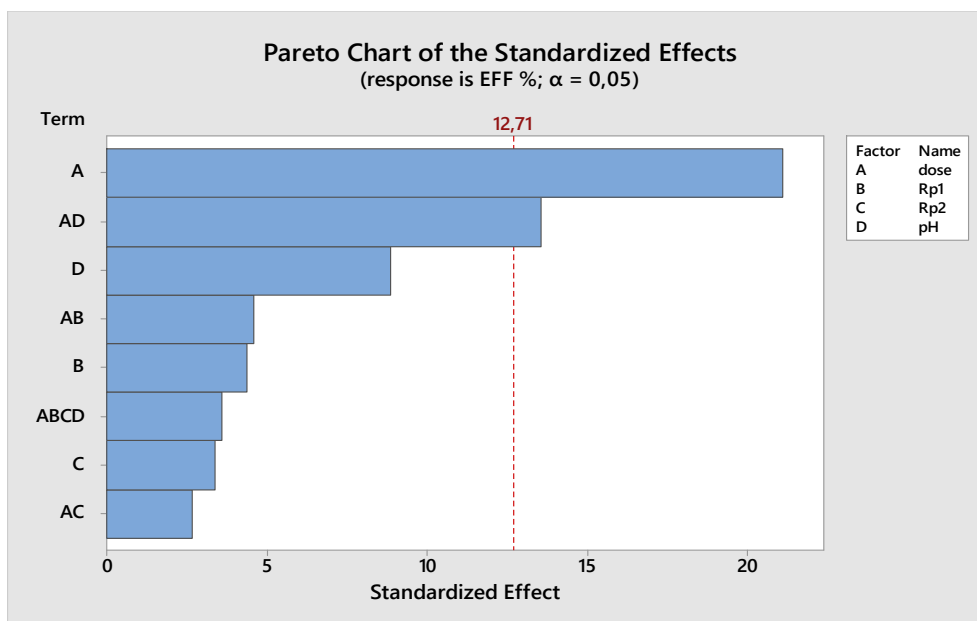


Figure V.21: Diagramme de Pareto des effets des termes sur EEF%.

- Interprétation des résultats :**

Le diagramme de Pareto relatif à la réponse EEF % met en évidence les effets significatifs des différents facteurs étudiés. La ligne de référence, fixée à 12,71, représente le seuil de signification statistique pour un niveau de confiance $\alpha = 0,05$. Ainsi, seules les barres dépassant cette limite indiquent des effets statistiquement significatifs. Parmi ceux-ci, la dose (facteur A) se distingue nettement comme le paramètre ayant l'impact le plus important sur l'efficacité d'extraction des flavonoïdes, sa barre dépassant largement le seuil critique. Cela démontre que toute variation de la dose influe de manière significative sur le rendement en flavonoïdes. L'interaction entre la dose et le pH (AD) est également significative, ce qui suggère que l'effet de la dose dépend du niveau de pH et vice versa. L'optimisation simultanée de ces deux facteurs pourrait donc améliorer considérablement l'extraction. Le pH seul (D) exerce aussi un effet notable, bien que moins prononcé que celui de la dose ou de l'interaction AD, ce qui est cohérent avec son rôle dans la solubilité et la stabilité des flavonoïdes au cours de l'extraction. En revanche, les autres effets et interactions (tels que AB, B, ABCD, C et AC) ne dépassent pas le seuil de signification, indiquant qu'ils n'ont pas d'influence majeure dans les conditions expérimentales appliquées. En conclusion, pour optimiser l'extraction des flavonoïdes, il convient de prioriser l'ajustement de la dose et du pH, ainsi que leur interaction, les autres facteurs, bien qu'ils puissent avoir un effet, sont secondaires dans ce système expérimental.

3. Diagrammes des effets des facteurs sur la réponse EEF% :

Le diagramme des effets principaux (Figure V.22) met en évidence l'influence individuelle de chaque facteur étudié sur le taux d'encapsulation des flavonoïdes (EEF%).

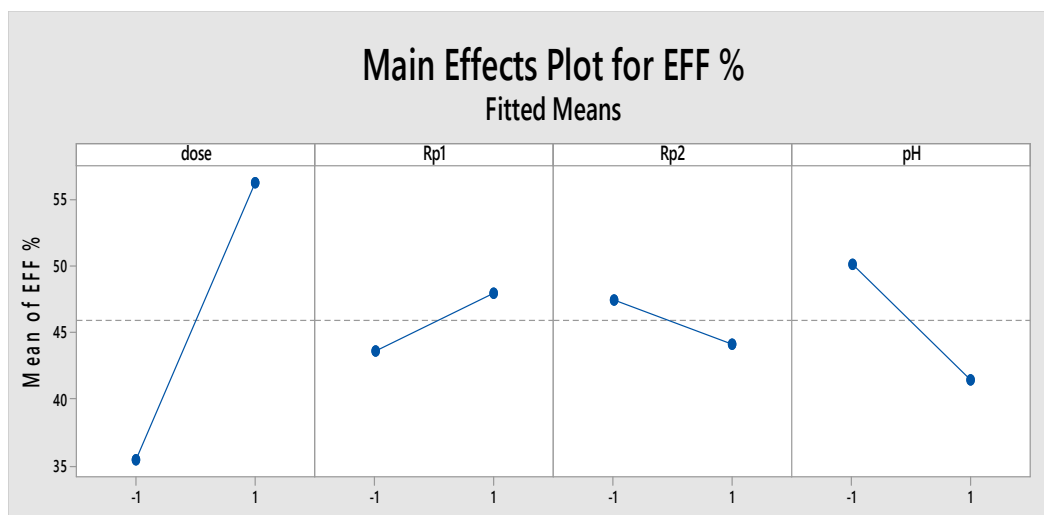


Figure V.22: Diagramme des effets des facteurs sur la réponse EEf%.

● **Interprétation des résultats :**

- L'influence de X1 (dose) a l'influence la plus significative le taux de flavonoïdes encapsulés dépasse la moyenne au niveau +1 qui correspond à la dose maximale de 2,1024 mg, ensuite il diminue de manière significative au niveau -1 avec une dose minimale de 0,7008 mg. Cette tendance indique une influence positive de la dose, où plus la dose d'extrait est élevée plus l'encapsulation est favorisée
- L'influence de X2 (RP1) : Le taux de flavonoïdes encapsulés dépasse la moyenne au niveau +1, correspondant à un rapport RP1 de 12, puis il diminue légèrement au niveau -1, correspondant à un RP1 maximal de 4.
- L'influence de X3 (RP2) : Le taux de flavonoïdes encapsulés diminue avec l'augmentation de RP2, avec un maximum observé à RP2 = 4 (niveau -1) et un minimum à RP2 = 12 (niveau +1). Cela indique que moins la proportion de CMC est élevée (RP2 faible), plus l'encapsulation est efficace, renforçant l'idée que la CMC peut nuire à la performance d'encapsulation à forte concentration.
- L'influence de X4 (pH) : L'encapsulation des flavonoïdes est plus élevée à pH bas (niveau -1, pH = 4), puis diminue progressivement aux niveaux moyens et élevés. Contrairement aux polyphénols, les flavonoïdes semblent mieux encapsulés en conditions acides, ce qui peut être lié à leur stabilité ou leur interaction avec la matrice à bas pH
- Des interactions potentielles entre les facteurs (dose, rapports, pH) peuvent également moduler ces effets de manière synergique ou antagoniste.

4. Optimisation de la réponse EEf%

Cette partie a pour objectif d'identifier, de manière analytique, les conditions opératoires idéales ayant un impact sur le pourcentage d'encapsulation des flavonoïdes (EEf %). Le graphique illustrant cette optimisation est présenté à la **Figure V.23**.

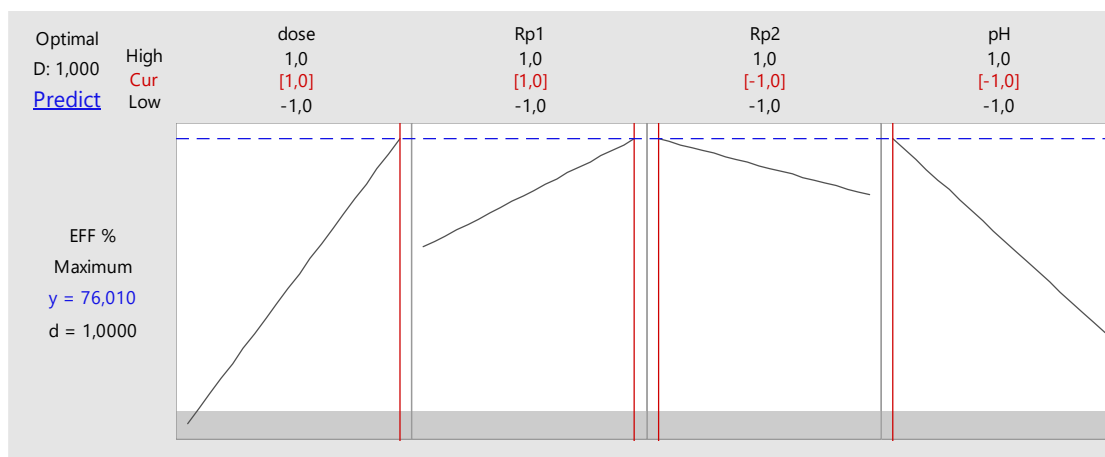


Figure V.23: Diagramme d'optimisation de la réponse pour EEF %.

● Interprétation des résultats:

Ce diagramme d'optimisation permet de déterminer les combinaisons optimales des facteurs étudiés pour maximiser l'efficacité d'encapsulation des flavonoïdes (EEF%). En se basant sur les courbes de tendance et la prédiction issue du modèle de régression, il est possible d'identifier les niveaux les plus favorables de chaque paramètre afin d'atteindre une efficacité maximale, ici estimée à 76,010 % avec un indice de désirabilité de 1, ce qui témoigne d'une très bonne adéquation entre les facteurs choisis et la réponse souhaitée.

Pour atteindre cette valeur optimale d'encapsulation, les conditions expérimentales suivantes doivent être appliquées :

- La dose au niveau +1 : soit la dose maximale, ce qui confirme l'influence positive de l'augmentation de la quantité d'extrait sur l'efficacité d'encapsulation.
- Le rapport RP1 (dextrine/PEG) au niveau +1 : ce qui correspond à un ratio favorable de polymère hydrophile améliorant l'encapsulation.
- Le rapport RP2 (dextrine/CMC) au niveau -1 : indiquant que dans ces conditions, une proportion plus faible de CMC favorise l'efficacité d'encapsulation.
- Le pH au niveau -1 : soit pH = 4, ce qui suggère que des conditions légèrement acides favorisent la stabilité et l'intégration des flavonoïdes en encapsulation.
- Ces résultats mettent en évidence l'importance de l'ajustement précis des paramètres opératoires pour optimiser le rendement d'encapsulation. La combinaison d'une dose élevée, d'un rapport élevé de dextrine/PEG, d'un rapport faible de dextrine/CMC et d'un pH acide constitue donc la condition idéale pour maximiser l'EEF%.

5. Optimisation des résidus de la réponse EEF%

Les graphiques des résidus permettent d'évaluer la pertinence et la fiabilité d'un modèle de régression en vérifiant plusieurs hypothèses fondamentales, telles que la constance de la variance (homoscédasticité), la normalité, l'indépendance et la linéarité des résidus. La Figure V.24 présente

quatre types de représentations graphiques appliquées à la réponse Y2 (EEF%).

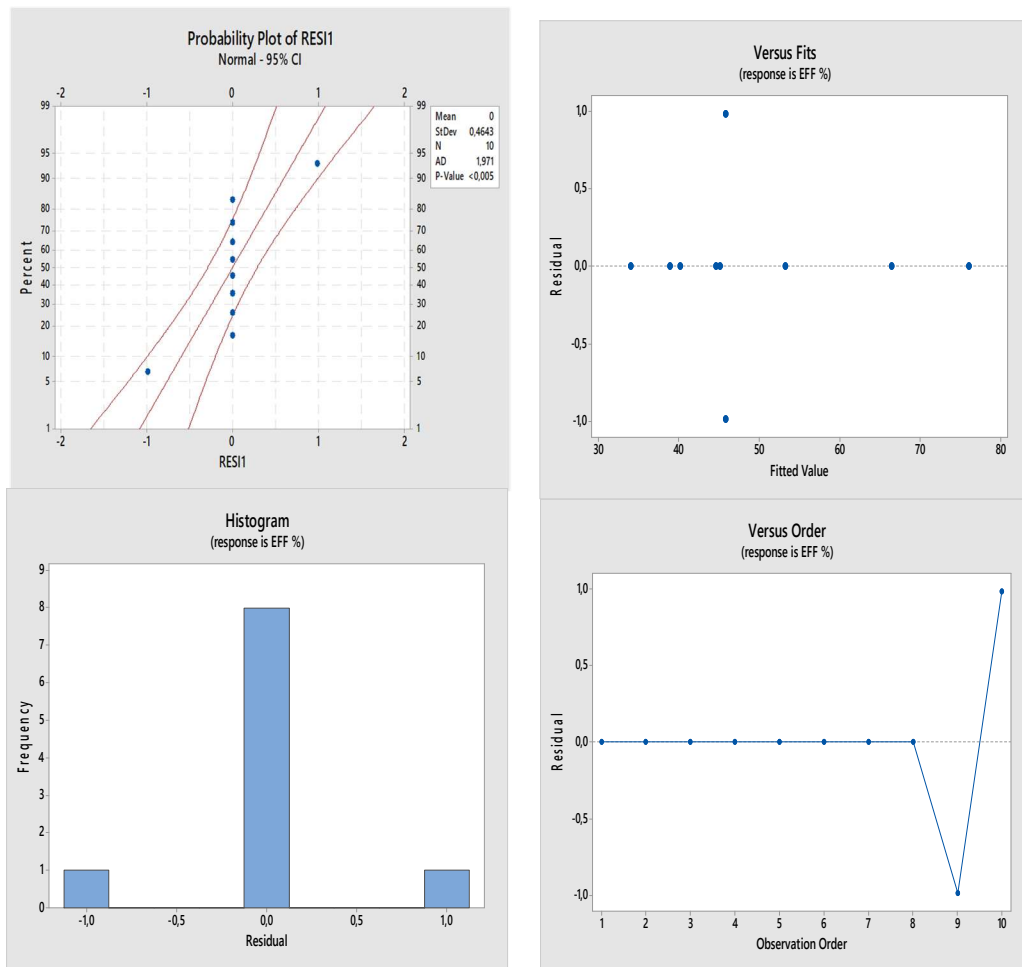


Figure V.24: Les graphes des résidus.

- Interprétation des résultats:**

- Le diagramme de probabilité normale :**

D'après le graphique, la plupart des points de données semblent relativement proches de la droite, ce qui suggère que l'hypothèse de normalité des résidus est largement vérifiée. La valeur $p < 0,005$ suggère toutefois un rejet de l'hypothèse nulle de normalité. Il s'agit d'un point crucial. Si l'inspection visuelle peut suggérer une normalité, le test statistique indique un écart.

- Le graphique des résidus en fonction des valeurs ajustées :**

Ce graphique montre une distribution dispersée des résidus autour de la ligne zéro. Il ne semble pas y avoir de tendance évidente, telle qu'un éventail ou une courbe. Cela suggère que l'hypothèse de variance constante (homoscédasticité) est raisonnablement vérifiée, et qu'il n'y a pas d'indications fortes d'erreurs systématiques ou de relations non modélisées en fonction des valeurs prédites.

- L'histogramme des résidus :**

L'histogramme montre que la majorité des résidus sont regroupés autour de zéro. Bien qu'il ne forme pas une courbe en cloche parfaite (il apparaît légèrement asymétrique ou avec quelques valeurs

aberrantes aux extrémités), il confirme généralement l'idée que le modèle fonctionne bien, la plupart des erreurs étant faibles et centrées autour de zéro. La présence de barres à -1,0 et 1,0 (ou proches de ces valeurs) pourrait correspondre aux résidus plus importants observés dans le graphique de probabilité.

- le graphique des résidus en fonction de l'ordre des observations :

Dans la plupart des cas, les résidus sont dispersés autour de zéro pour les premiers ordres d'observation. Cependant, on observe une nette baisse de la valeur résiduelle autour des ordres d'observation 8-9, puis une forte augmentation à l'ordre d'observation 10. Cela indique un problème potentiel d'indépendance ou un effet temporel non modélisé

- Conclusion:

En conclusion, malgré une homoscedasticité globalement respectée, les écarts à la normalité et les tendances observées dans le graphique des résidus en fonction de l'ordre des observations soulèvent des questions sur la robustesse du modèle statistique. Ces éléments invitent à une analyse critique de ses hypothèses sous-jacentes.

6. Les diagrammes surface-réponse ou contours pour EEF%

Les diagrammes de surface de réponse présentés à la **Figure V.25** permettent d'élucider les effets synergiques et antagonistes de deux facteurs expérimentaux sur l'efficacité d'encapsulation des flavonoïdes de *Juniperus phoenicea* (EEF%).

Ces représentations graphiques sont essentielles pour identifier les interactions variables complexes et éclairer l'optimisation systématique des paramètres de formulation.

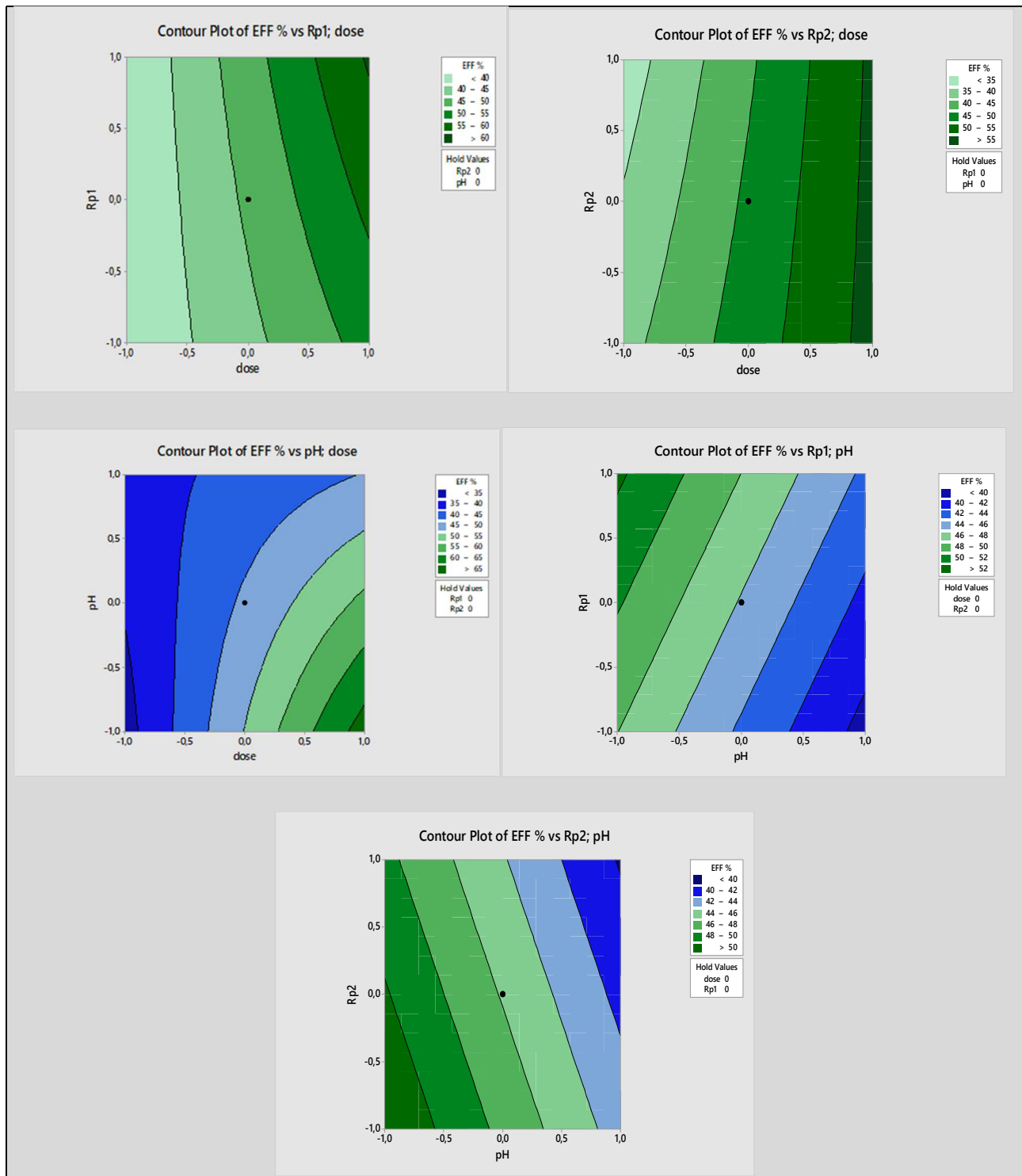


Figure V.25 : Diagrammes Surfaces –Réponses ou contours pour EFF%.

- Interprétation des résultats :**

Ces diagrammes permettent d'identifier les conditions optimales pour maximiser l'efficacité d'encapsulation en visualisant les interactions entre le rapport dextrine/PEG (Rp1), le rapport dextrine/CMC (Rp2), la dose d'extrait et le pH.

- **Graphique de contour de l'EFF % par rapport à Rp1 ; dose:** L'efficacité d'encapsulation la plus élevée (vert le plus foncé, > 60%) est obtenue lorsque Rp1 est élevé (approchant 1,0) et que la dose

d'extrait est également élevée (approchant 1,0).

À mesure que Rp1 diminue, le pourcentage d'EEF tend à diminuer, surtout à faibles doses. De même, des doses plus faibles entraînent généralement une diminution du pourcentage d'EEF.

Les lignes de contour sont relativement droites et parallèles, ce qui suggère un effet combiné assez linéaire plutôt qu'une forte courbure ou une interaction complexe, mais l'efficacité la plus élevée se situe clairement dans le coin supérieur droit.

Pour maximiser l'efficacité de l'encapsulation des flavonoïdes en variant le Rp1 et la dose, il est conseillé d'utiliser un ratio dextrine/PEG plus élevé et une dose d'extrait plus élevée. Cela indique qu'une plus grande quantité de RP1 (dextrine par rapport au PEG) et une plus grande quantité d'extrait sont bénéfiques.

- Graphique de contour de l'EFF % par rapport à Rp2 ; dose: L'efficacité la plus élevée (> 60%) est à nouveau observée dans la région où Rp2 est élevé (approchant 1,0) et la dose d'extrait est élevée (approchant 1,0). Semblable au graphique précédent, une diminution de Rp2 ou de dose entraîne généralement une réduction de l'EEF%.

Les contours apparaissent également relativement droits, indiquant une influence positive constante des deux facteurs lorsqu'ils sont augmentés ensemble.

L'efficacité d'encapsulation optimale concernant Rp2 et la dose est obtenue avec un rapport dextrine/CMC plus élevé et une dose d'extrait plus importante. Ceci suggère que la dextrine, combinée à la CMC, agit comme agent d'encapsulation primaire, et qu'une proportion plus élevée de dextrine associée à une plus grande quantité de l'extrait améliore l'encapsulation.

-Graphique de contour du % EEF en fonction du pH ; dose: L'efficacité la plus élevée (> 50%) se situe dans la région de pH plus élevé (approchant 1,0) et de dose d'extrait plus élevée (approchant 1,0). Le déplacement vers des valeurs de pH plus faibles (vers -1,0) réduit généralement le pourcentage EEF, même à des doses plus élevées, indiquant un fort effet négatif d'un pH bas. Les contours sont courbés, suggérant une interaction plus complexe. La pente des contours à des valeurs de pH plus faibles indique que le pH a une très forte influence sur le pourcentage d'EEF dans cette plage.

Un pH élevé et une dose d'extrait élevée favorisent l'encapsulation des flavonoïdes. La baisse significative d'efficacité à des pH plus faibles suggère que les conditions acides nuisent au processus d'encapsulation, affectant probablement la stabilité du matériau pariétal ou des flavonoïdes eux-mêmes.

-Graphique de contour de l'EFF % par rapport à Rp1 ; pH: L'efficacité la plus élevée (> 52%) est obtenue à des valeurs Rp1 plus élevées (approchant 1,0) combinées à des valeurs de pH plus élevées (approchant 1,0).

Il existe un gradient clair montrant que la diminution de Rp1 ou du pH conduit à une réduction significative de l'EEF%. Les contours sont quelque peu diagonaux, ce qui renforce l'idée que les deux facteurs contribuent positivement lorsqu'ils sont augmentés simultanément.

Pour une encapsulation optimale des flavonoïdes, un rapport dextrine/PEG plus élevé et un pH plus élevé sont préférables. Cela renforce l'idée qu'une proportion adéquate de dextrine et un environnement plus alcalin sont essentiels à la stabilité et à la formation des microcapsules.

- **Graphique de contour de l'EFF % par rapport au Rp2 ; pH :** L'efficacité la plus élevée (> 50%) est observée à des valeurs Rp2 plus élevées (approchant 1,0) et à des valeurs de pH plus élevées (approchant 1,0).

Similairement au graphique Rp1 vs pH, une réduction de Rp2 ou du pH entraîne une diminution de l'efficacité de l'encapsulation. Les contours sont généralement diagonaux, indiquant un effet synergique positif entre ces deux facteurs.

Un rapport dextrine/CMC plus élevé et un pH plus élevé favorisent une meilleure encapsulation des flavonoïdes. Ceci confirme l'importance de la composition de la dextrine et du pH pour une encapsulation réussie.

Conclusion :

Ainsi, l'augmentation de la dextrine, la concentration en flavonoïdes et un pH alcalin apparaissent comme des facteurs clés pour optimiser l'efficacité d'encapsulation de l'extrait.

V.5. Etude de la libération in vitro des métabolites secondaires encapsulés dans les microsphères et dans la gélule.

La cinétique de libération des principes actifs, en particulier les polyphénols et les flavonoïdes, a été étudiée in vitro à partir des microcapsules d'extrait brut de *Juniperus phoenicea* L. formulées à base de matrices Dextrine/PEG/CMC. L'évaluation a été réalisée dans un milieu simulant les conditions intestinales (pH = 6.8). Trois formulations optimales, pour différentes valeurs de pH, ont été sélectionnées pour l'étude de libération : les essais 1, 3 et 10. Par ailleurs, une gélule a été préparée à partir des microsphères de l'essai 3, cette formulation ayant présenté le meilleur taux d'encapsulation.

V.5.1. Profil de libération dans le milieu intestinal

Le **tableau V.10** présente les taux de libération des polyphénols à partir des microcapsules des essais 1, 3 et 10, ainsi que de la gélule formulée à partir des microsphères de l'essai 3. L'étude, réalisée à pH 6.8 (milieu intestinal simulé).

L'étude révèle des différences marquées entre les formulations. Les essais 1 et 10 montrent une libération quasi nulle des polyphénols durant toute la période d'observation, sauf un faible pic tardif à **160 min** pour l'essai 1 (**10.62 %**). L'essai 3 présente une libération précoce entre **10** et **40 min**, atteignant un maximum de **38.95 %** à **30 min**, puis chute à **0 %**, ce qui suggère une libération brève et partielle.

Tableau V.10 : Taux de libération (%) des polyphénols à partir des microcapsules des essais 1, 3, 10 et de la gélule (formulée à partir des microsphères de l'essai 3) dans un milieu à pH = 6.8.

Temps (min)	Essai 1		Essai 3		Essai 10		Gélule de l'essai 3	
	Cpp (µg/ml)	Taux de libération des PP (%)	Cpp (µg/ml)	Taux de libération des PP (%)	Cpp (µg/ml)	Taux de libération des PP (%)	Cpp (µg/ml)	Taux de libération des PP (%)
10	0	0	0.13	16.33	0	0	0.41	51.54
20	0	0	0.085	10.7	0	0	0.50	62.85
30	0	0	0.31	38.95	0	0	0.34	42.74
40	0	0	0.077	9.67	0	0	0.41	51.54
50	0	0	0	0	0	0	0.19	13.83
60	0	0	0	0	0	0	0	0
80	0	0	0	0	0	0	0.10	12.57
100	0	0	0	0	0	0	0.24	30.17
120							0.23	28.91
140							0.23	28.91
160	0.068	10.62	0	0	0	0	0.38	47.77
180	0	0	0	0	0	0	0.43	54.05

La **figure V.26** illustre l'évolution du pourcentage de libération des polyphénols en fonction du temps, dans un milieu tampon simulant le pH intestinal (pH = 6,8).

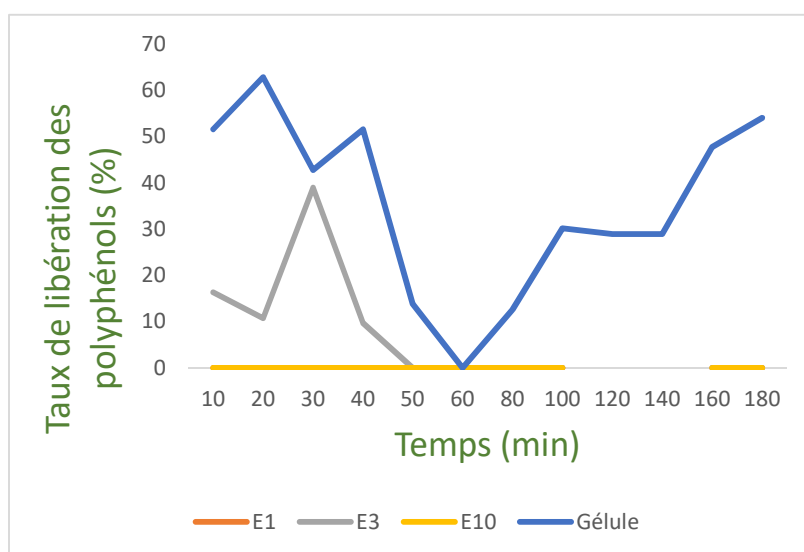


Figure V.26 : Cinétique de la libération des polyphénols des formulations.

En revanche, la gélule montre une libération rapide, importante et prolongée, avec un taux maximal de **62.85 %** à **20 min**, suivi d'une libération modérée mais soutenue jusqu'à **180 min (54.05 %)**, témoignant d'un profil plus contrôlé et plus efficace. Les microparticules sont de type matriciel et réservoir, ce qui peut expliquer cette libération soutenue et efficace. Les profils de cinétique de libération sont de type polynomial qui suit un modèle de Korsmeyer-Peppas. Ce qui suggère un mécanisme de libération limité par un phénomène de transport et de relaxation, qui dépend de la flexibilité et de la tortuosité des chaînes des polymères réticulées par TPP.

En ce qui concerne les flavonoïdes, aucune libération n'a été détectée dans aucune des formulations testées, ce qui peut s'expliquer soit par leur faible solubilité ou stabilité à pH 6.8, soit par une concentration en dessous de la limite de détection de la méthode analytique utilisée. Cela souligne une limitation potentielle de la méthode employée ou une nécessité de modification des conditions expérimentales (pH, temps, méthode d'extraction, etc.) pour mieux caractériser la libération des flavonoïdes.

➤ **Commentaire**

Ces résultats mettent en évidence l'intérêt de l'encapsulation dans une forme gélule, qui semble optimiser la libération des polyphénols dans un milieu intestinal simulé. La faible libération observée dans les essais 1, 3 et 10 suggère une influence significative des paramètres de formulation sur la biodisponibilité des composés actifs. Par ailleurs, l'absence de détection des flavonoïdes dans toutes les conditions testées souligne la nécessité d'approfondir les méthodes analytiques ou d'explorer d'autres conditions de libération pour une meilleure caractérisation de ces composés.

V.6. Caractérisation des extraits et des microsphères de *Juniperus Phoenicea* L:

V.6.1: IRFT:

Les spectres IRTF des microsphères des essais 1, 3 et 10, ainsi que ceux de l'extrait brut du *Juniperus Phoenicea* L, ont été acquis dans la plage 4 000-500 cm^{-1} . Afin d'identifier les différents composants de l'extrait et des microparticules, ces spectres ont été comparés aux spectres IR de référence d'étalons, notamment l'acide gallique, l'acide caféique, l'acide cinamique, catéchol, la quercétine, le TPP, la dextrine et le PEG6000, la CMC et le glycerole. Les figures ci-dessous présentent les spectres de l'extrait et des microsphères, tandis que les spectres des étalons sont fournis à l'annexe. .

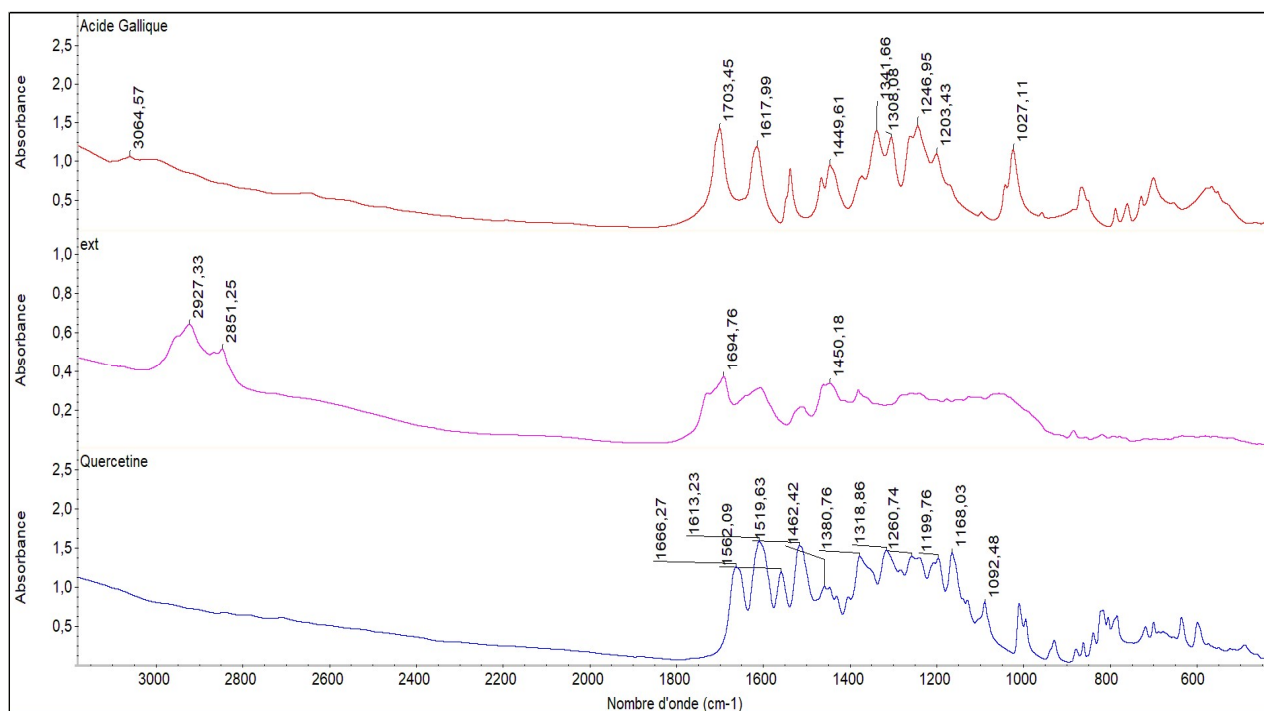


Figure V.27 : Spectres IRFT de l'extrait de *Juniperus Phoenicea* L, de la quercétine et de l'acide gallique.

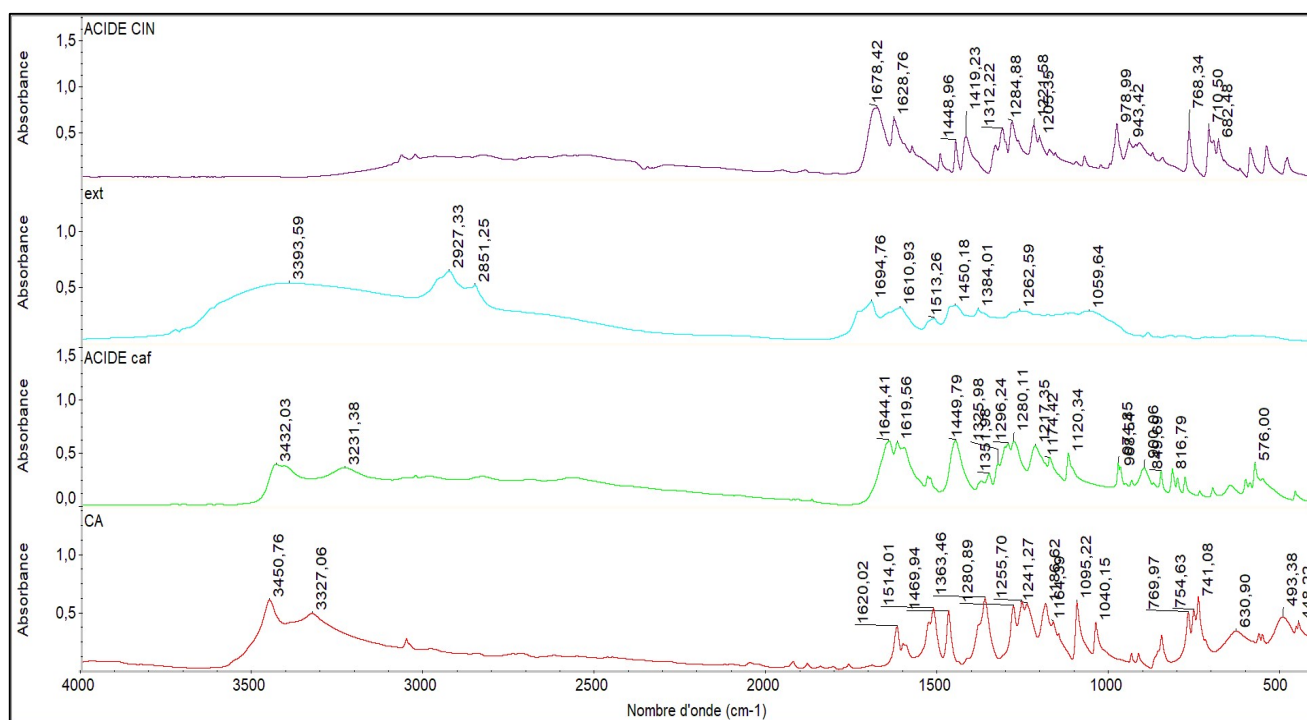


Figure V.28: Spectres IRFT de l'extrait de *Juniperus Phoenicea* L, de l'acide cinamique, l'acide caféique et le catéchol.

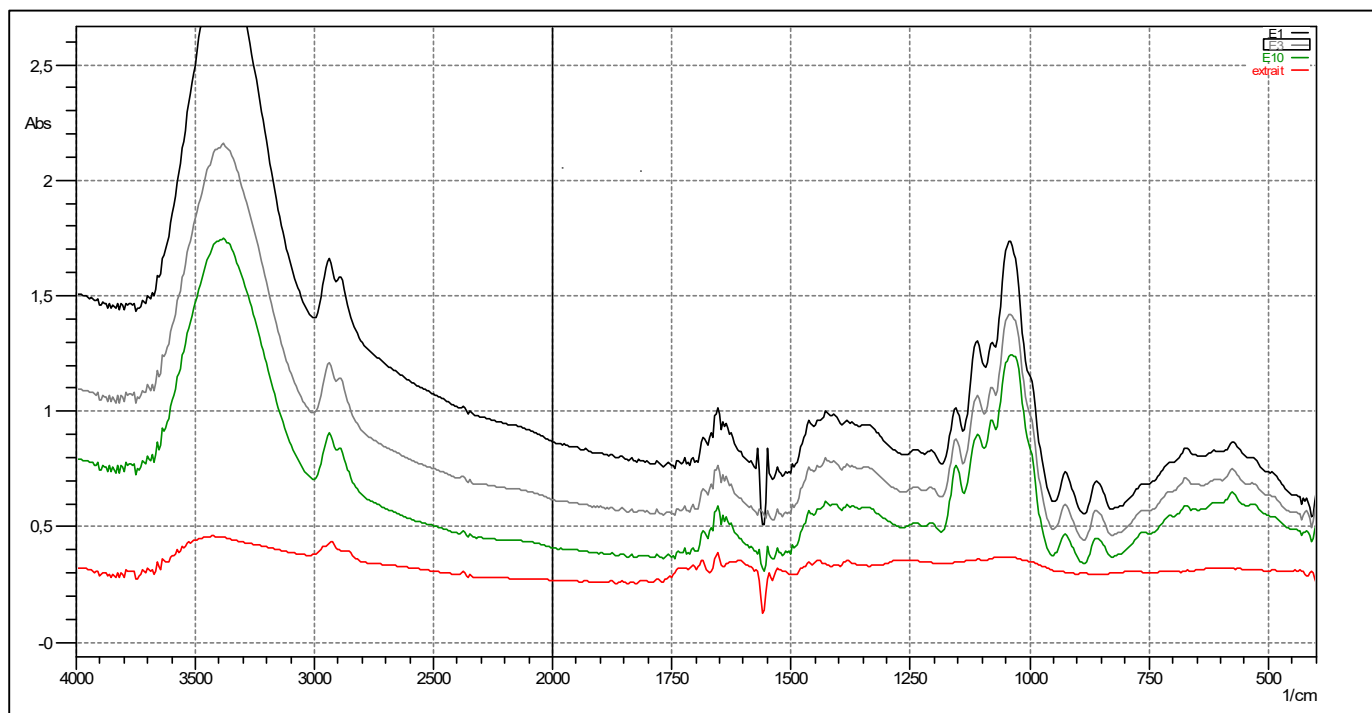


Figure V.29: Spectres IRFT de l'extrait de *Juniperus Phoenicea* L et des microsphères de l'essai 1, 3, et 10.

Les tableaux (V.11, V.12, V.13) présente un récapitulatif des principales bandes d'absorption infrarouge (IR) caractéristiques des liaisons chimiques des composés détectés dans l'extrait brut de *Juniperus Phoenicea* L ainsi que dans les trois essais de microencapsulation ayant affiché les meilleurs taux d'encapsulation aux pH 4, 6 et 8. Ces résultats sont comparés à ceux obtenus pour les standards (Acide gallique, quercétine, acide caféique, l'acide cinamique et le catéchol) ainsi que pour les excipients utilisés lors de la microencapsulation (TPPNa, PEG, dextrine, CMC et le glycérol).

L'analyse IRTF a identifié les composants clés et vérifié l'encapsulation. L'extrait de genévrier a montré une large bande O-H vers 3393 cm^{-1} et des C-H aliphatiques à 2927 et 2851 cm^{-1} . Ces signatures sont cohérentes avec les standards phénoliques : l'acide gallique (O-H à 3364 cm^{-1} , C=O à 1703 cm^{-1}), la quercétine (O-H à 3394 cm^{-1} , C=O à 1666 cm^{-1}), et les acides caféique/cinnamique (O-H vers 3432 cm^{-1} , C=O vers $1644\text{-}1678\text{ cm}^{-1}$). Le catéchol (CA) révèle son O-H vers $3450\text{-}3327\text{ cm}^{-1}$ et C=C aromatique vers $1620/1514\text{ cm}^{-1}$. Les polymères, comme la Dextrine (O-H à 3381 cm^{-1} , C-H à 2932 cm^{-1}) et le PEG (O-H à 3440 cm^{-1} , C-O-C à 1108 cm^{-1}), ainsi que la CMC, ont montré leurs bandes caractéristiques. Les spectres des microsphères E1, E3 et E10 ont confirmé l'encapsulation par la présence persistante des bandes O-H et C-H de l'extrait ($\sim 3300\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$, $\sim 2900\text{ cm}^{-1}$), superposées aux signaux des polymères, attestant d'une intégration réussie. Des indices d'interactions intermoléculaires sont également observés.

Tableau V.11: Bandes d'absorption IR des liaisons chimiques caractéristiques de composés identifiés dans l'extrait du Genévrier *Phoenicea L* et dans les standards.

Nombre d'onde (cm⁻¹)	Type de Liaison / Groupement Chimique	Échantillon	Composés
3364,67 1449.61, 1308.01	Étirement O-H (phénoliques) Flexion C-H / étirement C-O	Acide Gallique	standard
3394,90 1462,42-1380,76	Étirement O-H (phénoliques) Flexion C-H / étirement C-O	Quercétine	standard
3432.03-3231.38 1449,56-1325,98	Étirement O-H (carboxylique, phénoliques) Flexion C-H / étirement C-O	Acide Caféique	standard
~1700-1660	C=O (acide carboxylique)	Acide Gallique (1703.45), Acide Caféique (1694.76), Quercétine (1666.27), Acide Cinnamique (1678.42)	Standard
~1610-1500	Étirement C=C (aromatique)	Acide Gallique (1617.99), Quercétine (1613.23, 1562.09, 1519.63), Acide Caféique (1619.56), Acide Cinnamique (1628.76), Catéchol (1620, 1514).	Standard
~1280-1000	C-O étirement (alcools, éthers)	Acide Gallique (1203.43, 1027.11), Quercétine (1260.74, 1199.76, 1092.48), Acide Caféique (1280.11,	Standard

		1120.34), Catéchol (~1250, ~1170).	
~1000-700	C-H flexion hors plan (aromatique)	Acide Gallique, Quercétine, Acide Caféique, Acide Cinnamique, catéchol	Standard
~750-680	flexion hors plan CH	Acide Cinnamique (768.34, 682.48)	Standard
~3450-3327	Étirement OH (phénoliques)	Catéchol	Standard
~1470-1340	C-H flexion (aliphatique/aromatique)		
~3393,59	Étirement O-H (phénoliques, eau)	Extrait	Extrait
~1450-1400	Courbure C-H (CH ₂ , CH ₃)		

Tableau V.12: Bandes d'absorption IR des liaisons chimiques caractéristiques de composés identifiés dans l'extrait du Genévrier *Phoenixea* L, dans les excipients de la microencapsulation et des standard.

Nombre d'onde (cm⁻¹)	Type de Liaison / Groupement Chimique	Échantillon	Composés
3381 2932	O-H étirements Étirement C-H	Dextrine	Polymère
3440 2883 1108	O-H étirements Étirement C-H C-O-C étirement (éther)	PEG	Polymère
3341,93	O-H étirements	Glycérol	Polymère
~1200-1000	Étirement CO (polysaccharides)	Dextrine, CMC	Polymère
~3600-3000	Étirement O-H (alcools, phénols, eau)	Extrait de Genévrier, Acide Gallique (Standard), Quercétine , Acide Caféique , Acide Cinnamique , Catéchol , Dextrine,	Extrait, standard, polymère

		PEG, CMC , Glycérol, Microsphères (E1, E3, E10)	
~2950-2850	Étirement C-H (aliphatique)	Extrait, Acide Gallique, Quercétine, Acide Caféique, Acide Cinnamique, Dextrine, PEG, CMC, Glycérol, Microsphères (E1, E3, E10)	Extrait, standard, polymère

Tableau V.13: Bandes d'absorption IR des liaisons chimiques caractéristiques de composés identifiés dans l'extrait du Genévrier *Phoenicea* L et dans les microsphères (E1, E3 et E10).

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Type de Liaison / Groupement Chimique	Échantillon	Composés
~3300-3400	O-H	Microsphères (E1, E2, E3)	Extrait, Microsphère
~2920-2850	C-H	Microsphères (E1, E2, E3)	Extrait, Microsphère
~1600-1400	C=C aromatique, C-H flexion	Microsphères (E1, E2, E3)	Extrait, Microsphère
~1200-1000	C-O étirement	Microsphères (E1, E2, E3)	Extrait, Microsphère

● **Conclusion:**

En somme, l'analyse par spectroscopie infrarouge a constitué un pilier fondamental de cette étude, permettant non seulement l'identification des caractéristiques chimiques distinctives de l'extrait de *Juniperus phoenicea* L et des essais d'encapsulation, mais surtout, de fournir une preuve tangible de l'efficacité de l'incorporation des métabolites phénoliques dans les microsphères. Les résultats IRTF valident chimiquement le processus de microencapsulation, démontrant la formation réussie de composites polymère-extrait, essentiels pour la suite des investigations sur leur libération contrôlée.

V.7. Observations microscopiques :

Les caractéristiques structurales des microsphères des lots 1, 3, 10 et de l'extrait ont été élucidées dans cette partie de l'étude, en utilisant un microscope optique polarisant à divers agrandissements (voir les figures V.30, 31, 32, 33 et 34).

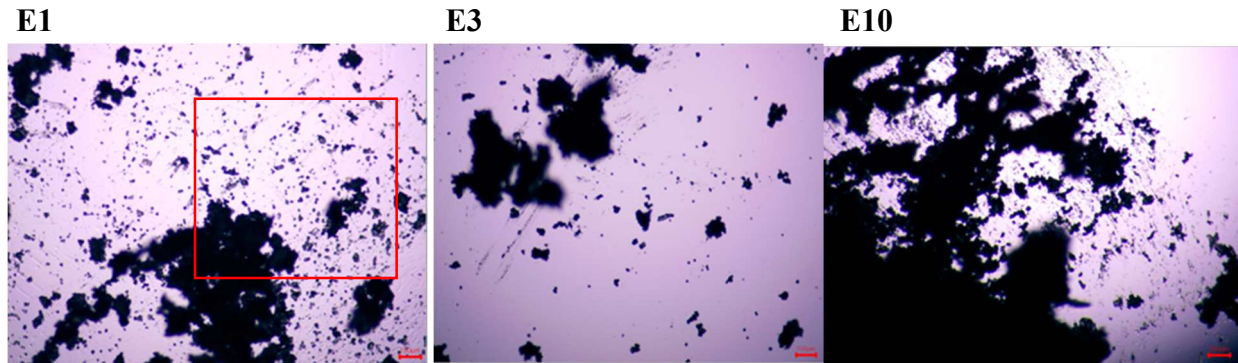


Figure V. 30 : Images des microsphères E1, E3 et E10 avec un grossissement x4

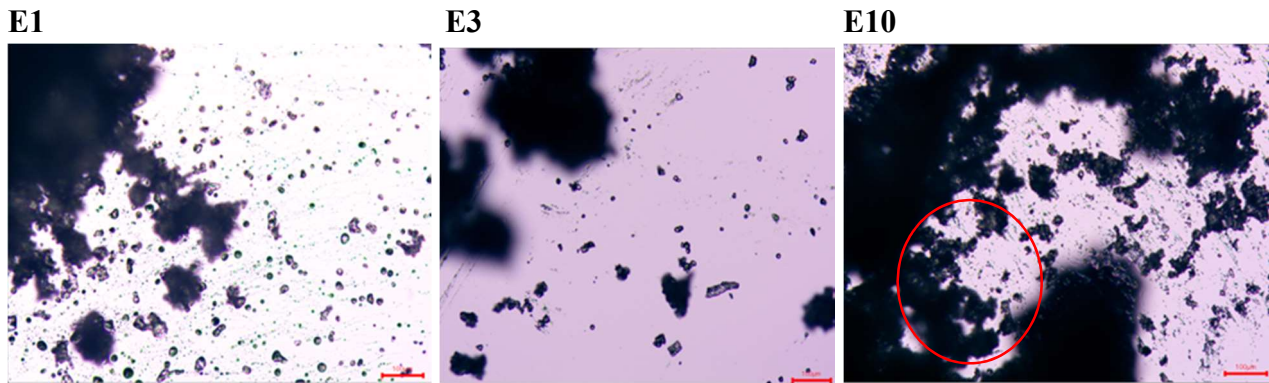


Figure V.31 : Images des microsphères E1, E3 et E10 avec un grossissement x10.

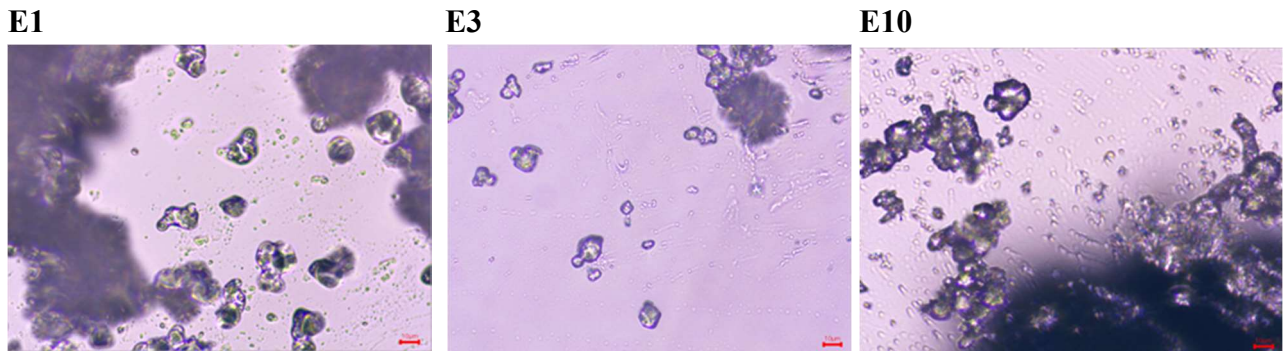
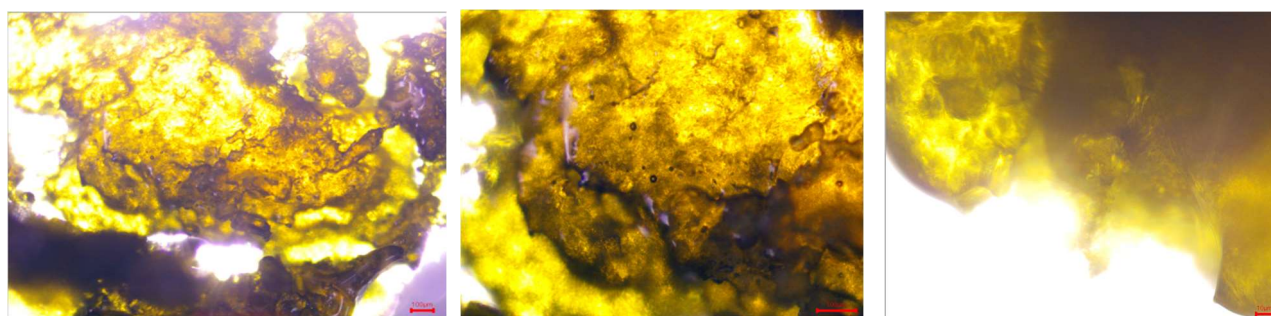


Figure V. 32 : Images des microsphères E1, E3 et E10 avec un grossissement x40.



Figure V.33 : Images des microsphères E1, E3 et E10 avec un grossissement x100



-x4-

-x10-

-x40-

Figure V.34 : Images de l'extrait avec un grossissement x4 x10 x40 x100

● Interprétation des résultats :

L'analyse morphologique a révélé des différences marquées entre l'extrait brut et les microsphères. L'extrait brut était composé de particules irrégulières et agrégées. En revanche, les microsphères présentaient des morphologies variables selon le pH de la formulation.

- **pH 6 (essai 10)** : produit des microparticules relativement homogènes et sphériques, principalement petites, et mesurant moins de 10 microns.
- **pH 4 (essai 1)** : Produit également des microparticules sphériques et petites, mais avec une tendance à former des agglomérats.
- **pH 8 (essai 3)** : a donné lieu à des microparticules plus grosses, moins homogènes et non sphériques.

Globalement, l'augmentation du pH a conduit à des microsphères plus grosses, et les valeurs extrêmes de pH (notamment pH 8) ont eu un impact négatif sur l'homogénéité de la forme. Pour l'administration orale, les tailles de particules observées, en particulier les plus grosses à pH élevé, suggèrent qu'une optimisation supplémentaire est nécessaire pour rester systématiquement en dessous du seuil recommandé de 10 μm .

Conclusion et perspectives

Conclusion

Les plantes médicinales constituent une source inestimable de biomolécules actives, susceptibles d'être exploitées en tant qu'alternatives ou compléments aux traitements conventionnels. *Juniperus phoenicea* L., appartenant à la famille des Cupressaceae, est traditionnellement reconnue pour ses propriétés antidiabétiques, antioxydantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires. Ce travail a été consacré à l'étude de cette plante à travers l'extraction de ses métabolites, leur quantification, leur encapsulation dans une matrice polymérique biocompatible, ainsi qu'à l'évaluation de leur libération in vitro.

L'extraction des rameaux de *Juniperus phoenicea* a été réalisée par la méthode de Soxhlet, en utilisant le méthanol comme solvant, connu pour son efficacité à extraire une large gamme de composés polaires et semi-polaires. Deux fractions ont été obtenues : F1, avec un rendement de 0,057 %, et F2, avec un rendement significativement plus élevé de 26,49 %. Ces résultats témoignent d'une extraction efficace des métabolites dans la seconde phase.

L'analyse phytochimique a permis d'identifier la présence de polyphénols et de flavonoïdes. La fraction F2 s'est révélée plus riche en polyphénols (35,1 mg EAG/g), tandis que F1 contenait davantage de flavonoïdes (20,26 mg EQ/g). Ces métabolites sont reconnus pour leurs effets bénéfiques sur la santé, notamment leur pouvoir antioxydant, évalué ici par la méthode DPPH°. L'extrait F2 a présenté une activité antioxydante notable, avec un taux d'inhibition de 72,28 % à 100 µl, ce qui confirme l'intérêt thérapeutique de cette fraction.

Dans une perspective d'amélioration de la stabilité et de la biodisponibilité des principes actifs, une microencapsulation a été effectuée en utilisant un mélange de polymères naturels et semi-synthétiques (dextrine, CMC, PEG), en présence de TPP comme agent de réticulation. Le procédé a été optimisé à l'aide d'un plan d'expériences basé sur le logiciel Minitab, où quatre facteurs ont été étudiés : la dose d'extrait, les rapports massiques Dex/CMC (RP1) et Dex/PEG (RP2), ainsi que le pH. Les conditions optimales ont été déterminées pour une dose minimale (2,053 mg), des rapports RP1 et RP2 de 4, et un pH de 8.

L'encapsulation des polyphénols a atteint un taux maximal de 98,5 % (essai 3), démontrant une efficacité remarquable du système d'encapsulation. En ce qui concerne les flavonoïdes, le taux d'encapsulation le plus élevé a été de 76,01 %. Ces résultats traduisent l'adéquation des polymères choisis pour retenir les métabolites extraits de *Juniperus phoenicea*.

L'étude de la libération in vitro a été réalisée à trois pH différents (4, 6 et 8) sur une durée de 180 minutes. Les profils de libération ont mis en évidence une variabilité importante selon les formulations. La plupart des essais ont montré une libération faible ou nulle des polyphénols, à l'exception de l'essai 3 qui a présenté une libération précoce mais brève (38,95 % à 30 min). La formulation sous forme de gélule a affiché le meilleur profil : une libération rapide (62,85 % à 20 min) suivie d'une libération prolongée (54,05 % à 180 min). En revanche, aucune libération des flavonoïdes

n'a été observée, ce qui pourrait être dû à une rétention trop forte ou à une instabilité dans le système polymérique.

La spectroscopie infrarouge a confirmé la présence des groupements caractéristiques des métabolites encapsulés, bien que masqués par la matrice polymérique. L'observation microscopique a révélé une augmentation de la taille des microparticules avec l'élévation du pH, suggérant un impact du milieu sur la morphologie finale des sphères encapsulées.

En conclusion, cette étude met en lumière le potentiel thérapeutique de *Juniperus phoenicea* L. et l'intérêt des techniques de microencapsulation pour améliorer la stabilité, la protection et la libération contrôlée de ses métabolites bioactifs. Le recours à des polymères biocompatibles et à une stratégie de formulation douce s'inscrit dans une perspective de développement durable, respectueuse des exigences pharmaceutiques actuelles. Les résultats obtenus ouvrent des perspectives intéressantes pour la mise au point de nouvelles formes galéniques à visée antioxydante ou antidiabétique. Toutefois, des études complémentaires sont nécessaires, notamment des tests *in vivo* et une meilleure caractérisation des microparticules, afin de valider l'efficacité et la reproductibilité du système formulé.

Perspectives

Ce travail ouvre plusieurs perspectives de recherche qui mériteraient d'être explorées dans le cadre de futurs projets :

- Optimisation des techniques d'extraction : L'emploi d'autres solvants verts ou de méthodes d'extraction plus douces (comme l'extraction assistée par ultrasons ou micro-ondes) pourrait améliorer le rendement et préserver davantage les métabolites sensibles.
- Caractérisation approfondie des extraits : Une analyse plus détaillée par HPLC, GC-MS ou LC-MS permettrait d'identifier précisément les composés responsables des effets observés.
- Études de stabilité : Évaluer la stabilité des extraits encapsulés dans le temps, à différentes températures et conditions d'humidité, renforcerait la validité du système développé.
- Amélioration de la libération des flavonoïdes : Des modifications dans la composition polymérique ou dans les conditions de réticulation pourraient favoriser une libération contrôlée des flavonoïdes.
- Validation biologique *in vivo* : Des études pharmacologiques et toxicologiques sur modèle animal permettraient de confirmer les activités antidiabétiques *in vivo*, et d'évaluer la biodisponibilité réelle des extraits formulés.
- Développement de formes galéniques finales : La formulation en gélules gastro-résistantes, pommades, ou dispositifs à libération prolongée pourrait faire l'objet de travaux complémentaires à visée pharmaceutique ou nutraceutique.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1] : Gning SB, Thiam M, Fall F, Ba-Fall K, Mbaye PS, Fourcade L. Le diabète sucré en Afrique subsaharienne : aspects épidémiologiques, difficultés de prise en charge. *Med Trop*. 2007;67(6):607-11.
- [2] : American Diabetes Association. Pharmacologic approaches to glycemic treatment: Standards of Medical Care in Diabetes—2024. *Diabetes Care*. 2024;47(Suppl 1):S125–S143.
- [3] : Keskes H, Mnafigui K, Hamden K, Damak M, Feki AE, Allouche N. In vitro anti-diabetic, anti-obesity and antioxidant proprieties of *Juniperus phoenicea* L. leaves from Tunisia. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2014 Jul 1;4(Suppl):S649-55. Disponible sur : <https://doi.org/10.12980/apjtb.4.201414b114>
- [4] : Benzaoui D, Zahaf D. Étude floristique et ethnobotanique de la flore médicinale dans la wilaya d'Oum Bouaghi [mémoire de fin d'études]. Oum El Bouaghi: Université El Arbi Ben Mhidi; 2021. Option : biotechnologie végétale, biologie et écologie végétale.
- [5] : Salleh NH, Zulkipli IN, Yasin HM, Ja'afar F, Ahmad N, Ahmad WANW, et al. Systematic review of medicinal plants used for treatment of diabetes in human clinical trials: an ASEAN perspective. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2021;2021:1-10. Disponible sur : <https://doi.org/10.1155/2021/5570939>
- [6] : Li Y, Kong D, Fu Y, Sussman MR, Wu H. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiol Biochem*. 2020 Mar;148:80-89. Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2020.01.006>
- [7] : Macheix, J. J. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes.
- [8] : Righi H, et al. Phytochimie et activité antioxydante du genre *Thymus* (synthèse théorique) [master's thesis]. Msila: Université de Msila; 2021.
- [9] : Vidal A, Fallarero A, Peña BR, Medina ME, Gra B, Rivera F, Gutierrez Y, Vuorela PM. Studies on the toxicity of *Punica granatum* L. (Punicaceae) whole fruit extracts. *J Ethnopharmacol*. 2003;89:295-300.
- [10] : Edmond JN, Ally S, RM, Xin H. Plant secondary metabolites: biosynthesis, classification, function and pharmacological properties. *J Pharm Pharmacol*. 2014;2:377-92.
- [11] : Haslam E. Polyphenol complexation. In: Scalbert A, editor. Polyphenolic phenomena. Paris: INRA Editions; 1993. P
- [12] : Psotova J, Kolar M, Sousek J, Švagera Z, Vicar J, Ulrichova J. Biological activities of *Prunella vulgaris* extract. *Phytother Res*. 2003;17:1082-7.
- [13] : Bruneton J. Pharmacognosie: phytochimie, plantes médicinales. 4th ed. Paris: Lavoisier Tec & Doc; 2009. p.261,308,571.

Références bibliographiques

- [14] : Bamforth PB. The derivation of input data for modelling chloride ingress from eight-year UK coastal exposure trials. *Mag Concr Res*. 1999;51:87-96.
- [15] : Martin S, Andriantsitohaina R. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Ann Cardiol*. 2002;51:304-15.
- [16] : Futura Sciences. Polyphénol : qu'est-ce que c'est ? Définition. Futura - Santé. 2024.
- [17] : Espíndola KMM, Ferreira RG, Narvaez LEM, Rosario ACRS, Da Silva AHM, Silva AGB, et al. Chemical and pharmacological aspects of caffeic acid and its activity in hepatocarcinoma. *Front Oncol*. 2019 Jun 21;9:541. Disponible sur : <https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00541>
- [18] : Wikipédia. Acide caféique [image]. Wikipédia, l'encyclopédie libre. [Consulté le 10 juin 2025]. Disponible sur : https://fr.wikipedia.org/wiki/Acide_caf%C3%A9ique
- [19] : Kahkeshani N, Farzaei F, Fotouhi M, Alavi SS, Bahramsoltani R, Naseri R, et al. Pharmacological effects of gallic acid in health and diseases: a mechanistic review. *Phytother Res*. 2019 Mar;33(3):225–37. Disponible sur : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31156781>
- [20] : Wikipédia. Acide gallique [image]. Wikipédia, l'encyclopédie libre. [consulté le 10 juin 2025]. Disponible sur : https://fr.wikipedia.org/wiki/Acide_gallique
- [21] : Justino GC, Correia CF, Mira L, Borges dos Santos RM, Martinho Simões JA, Silva AM, et al. Antioxidant activity of a catechol derived from abietic acid. *J Agric Food Chem*. 2006;54(2):342–8.
- [22] : Shutterstock. Chemical structure of catechol (C₆H₆O₂) [image]. Shutterstock; ©2023 [consulté le 10 juin 2025]. Disponible sur : <https://www.shutterstock.com/fr/image-vector/chemical-structure-catechol-c6h6o2-resources-teachers-2311586489>
- [23] : Safaeian L, Asghari-Varzaneh M, Alavi SS, Halvaei-Varnousfaderani M, Laher I. Cardiovascular protective effects of cinnamic acid as a natural phenolic acid: A review. *Arch Physiol Biochem*. 2025;131(1):52–62.
- [24] : Wikipédia. Acide cinnamique [image]. Wikipédia, l'encyclopédie libre. © [consulté le 10 juin 2025]. Disponible sur : https://fr.wikipedia.org/wiki/Acide_cinnamique
- [25] : Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci*. 2016 Jan 1;5:e47. Disponible sur : <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- [26] : Lakhanpal P, Rai DK. Role of polyphenols in health and disease. *Int J Pharm Sci Drug Res*. 2007;3:229–38. Figure adaptée depuis : https://www.researchgate.net/figure/structure-de-base-des-flavonoides_fig5_314242871
- [27] : Wikipédia. Quercétine — Structure chimique [Internet]. Wikipédia, l'encyclopédie libre ; [cité le 10 juin 2025]. Disponible sur : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Quercétine>
- [28] : Wikipédia. Catéchine — Structure chimique [Internet]. Wikipédia, l'encyclopédie libre ; [cité le 10 juin 2025]. Disponible sur : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Catéchine>

Références bibliographiques

- [29] : Kumar S, Pandey AK. Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. Scientific World Journal. 2013;2013:162750.
- [30] : Zimmer N, Cordesse R. Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments des ruminants. Prod Anim. 1996;9(3):167-79.
- [31] : Aquaportail. Structure d'un tanin. [Internet]. Disponible sur : <https://www.aquaportail.com/dictionnaire/definition/5295/tanin> (consulté le 10 juin 2025).
- [32] : Adlercreutz H. Lignans and human health. Crit Rev Clin Lab Sci. 2007;44(4):277-93.
- [33] : Wikimedia Commons. Structure du dibenzylbutane, squelette de base des lignanes [image en ligne]. (consulté le 10 juin 2025).
- [34] : Afzal M, Al-Abbasi FA, Tewari D, Gupta GK, Siddiqui SM, et al. Saponins as potential therapeutic agents: a review. Pharmacogn Rev. 2019;13(26):77–92.
- [35] : Moghimipour E, Handali S. *Structure of saponin* [image en ligne]. Dans : Moghimipour E, Handali S, éditeurs. *Saponin: Properties, Methods of Evaluation and Applications*. 2015. Disponible sur : https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-saponin-21_fig1_266738219 (consulté le 10 juin 2025).
- [36] : de Martino L, De Feo V. Essential Oils: Chemistry and Pharmacological Activities. Biomol. Ther. 2022;13(7):1144.
- [37] : Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – A review. Food Chem Toxicol. 2008;46(2):446–75.
- [38] : Chakravarty A, Ramasamy G. Profiling of volatiles in tissues of *Salacia reticulata* Wight. with anti-diabetic potential using GC-MS and molecular docking. Tamil Nadu Agricultural University; 2024.
- [39] : Medzhitov R. Origin and physiological roles of inflammation. Nature. 2008;454(7203):428–435.
- [40] : Prestinaci F, Pezzotti P, Pantosti A. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon. Pathog Glob Health. 2015;109(7):309-318.
- [41] : Singh VP. Gymnosperm (naked seeds plant): structure and development. New Delhi: Sarup and Sons; 2006. 649 p.
- [42] : Bouaoune C, Ghoul A. Effet de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea* sur la croissance d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata* [mémoire de Master]. Tébessa (Algérie) : Université Larbi Tébessi ; 2023.
- [43] : Alhassane Ilatou I, Goundiam B. Composition chimique et activités biologiques de l'huile essentielle du *Juniperus phoenicea* L. Mémoire de fin d'étude, Master en Génie des procédés Pharmaceutique. 2019/2020.

Références bibliographiques

- [44] : Zerrouki K, Riazi A. Antimicrobial Activity of Phenolic Extracts of *Juniperus phoenicea* and *Glycyrrhiza glabra* from Western Algeria. *Int J Pharm Phytopharmacol Res.* 2021;11(5):18–24.
- [45] : Wikipédia. Imådje: *Juniperus phoenicea* foliage cones.jpg [Internet]. Disponible à : https://wa.m.wikipedia.org/wiki/Im%C3%A5dje:Juniperus_phoenicea_foliage_cones.jpg [Consulté le 9 juin 2025].
- [46] : Beddiar H. Étude de *Juniperus phoenicea* de la région de Tébessa : composition chimique, activités antioxydantes et activités microbiologiques [mémoire de Master]. Tébessa (Algérie) : Université Larbi Tébessi-Tébessa ; 2016.
- [47] : Ayad I, Aymen A. Étude bibliographique sur l'utilisation de genévrier dans la conservation des aliments [mémoire de Master]. Tébessa (Algérie) : Université Larbi Tébessi-Tébessa ; 2021. 42 p.
- [48] : Baba Aïssa F. Encyclopédie des plantes utiles : flore méditerranéenne (Maghreb, Europe méridionale), substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. 1re éd. Alger (Algérie) : Éditions El Maarifa ; 2011. p. 158–167, 316.
- [49] : Jammaledine N. Extraction et caractérisation de la composition des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et *Juniperus oxycedrus* du Moyen Atlas [mémoire de Master]. Fès (Maroc) : Université Sidi Mohammed Ben Abdellah ; 2010.
- [50] : Photos-alsace-lorraine.com. Photos de *Juniperus phoenicea*, Genévrier de Phénicie [image en ligne]. [Consulté le 9 juin 2025].
- [51] : Belkacem H. Contribution à l'étude du cortège floristique de l'espèce *Juniperus oxycedrus* (Cupressacées) dans la région de Tlemcen [mémoire de Master]. Tlemcen (Algérie) : Université Abou Bekr Belkaid ; 2015. 32 p.
- [52] : Louis P, Boulevard P, Raffelstrasse S. Plantes médicinales. Paris (France) : Alpen, Tilier ; 2010. 118 p.
- [53] : Benattia Z, Hellali A. Évaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des différents extraits de la plante *Juniperus phoenicea* L [mémoire de Master académique]. M'sila (Algérie) : Université Mohamed Boudiaf ; 2019.
- [54] : Mandin JP. Morphologie de très vieux genévriers de Phénicie (*Juniperus phoenicea* L.) en parois rocheuses (Gorges de l'Ardèche, France). 2006. 8 p.
- [55] : Harfouche A. Les ressources génétiques forestières nord-africaines et leur conservation. *Rev For Fr.* 2005;57(1):15-32.
- [56] : Menaceur F. Contribution à l'étude phytochimique et biologique de l'érigeron, du fenouil commun, de la lavande et du genévrier [thèse de doctorat]. Alger : École Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach ; 2015.
- [57] : Bitsas A. Aromathérapie corps et âme. France: Éditions Amyris; 2009.

Références bibliographiques

- [58] : Kezzouna R. Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* L. [mémoire]. Biskra: Université Mohamed Khider; 2015. 96 p.
- [59] : El-Sawi SA, Motawae HM, Sleem MA, Abdel-Naby MA. Antihyperglycemic effect of *Juniperus phoenicea* L. on alloxan-induced diabetic rats and diterpenoids isolated from the fruits. *J Coast Life Med.* 2015;3(11):906-909.
- [60] : Aouadi M, Msaada K, Sebai E, Aidi Wannes W, Abbassi MS, Akkari H. Antioxidant, anthelmintic and antibacterial activities of Red Juniper (*Juniperus phoenicea* L.) essential oil. *J Essent Oil Res.* 2022;34(2):163–172.
- [61] : Duke JA. *Phytochemical Database*. Beltsville (MD): Beltsville Agricultural Research Center; 1998.
- [62] : Ghanmi M. Composition chimique et activité antimicrobienne de l'essence de térébenthine du pin maritime (*Pinus pinaster*) et du pin d'Alep (*Pinus halepensis*) du Maroc. *Acta Bot Gallica.* 2007;154(2):293–300.
- [63] : Santé Canada. HerbalGem G56 – *Juniperus communis*. NPN : 80011214 [Internet]. Ottawa : Gouvernement du Canada; 2024 [cité 2025 juin 11].
- [64] : Laboratoires Lehning. Complexe N°6 – *Juniperus*. Fiche produit [Internet]. 2024 [cité 2025 juin 11].
- [65] : Richard J, Benoit JP. Microencapsulation. *Techniques de l'ingénieur*. 2000;J2210:1–20.
- [66] : Benhenni F, Drici A. Encapsulation d'un matériau organique et l'étude cinétique de la libération en vue de son utilisation dans le domaine pharmaceutique [mémoire de fin d'études]. Tiaret (Algérie) : Université Ibn Khaldoun ; 2019.
- [67] : Lengyel M, Kállai-Szabó N, Antal V, Laki AJ, Antal I. Microparticles, microspheres, and microcapsules for advanced drug delivery. *Sci Pharm.* 2019;87(3):20.
- [68] : Rabeau S. Étude d'un procédé continu de microencapsulation [thèse de doctorat]. Lorraine (FR) : Institut National Polytechnique de Lorraine ; 2009. Disponible sur : <https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01748744>
- [69] : Dubey R, Shami TC, Bhasker Rao KU. Microencapsulation technology and applications. *Defence Sci J.* 2009 Jan;59(1):82–95.
- [70] : Zahaf M. Formulation des microcapsules à libération prolongée à base de principe actif très peu soluble ou insoluble et caractérisation biopharmaceutique [mémoire de fin d'études]. Blida (DZ) : Université Blida 1 ; 2014.

Références bibliographiques

- [71] : Jehan E. Microencapsulation methods. [internet presentation]. 2012 Apr 02 [cited 2025 Jun 12]. Available from: Microencapsulation methods sections on physico-chemical and physical methods
- [72] : Jain D, Bar-Shalom D, Kozak D, Shpigelman A. J Microencapsul. 2016;33(6):497–514.
- [73] : Alginate gel-based carriers for encapsulation of carotenoids: on challenges and applications. Pharmaceutics. 2023;15(10):2534.
- [74] : Reis CP, Neufeld RJ, Vilela S, Ribeiro AJ, Veiga F. Review and current status of emulsion/dispersion technology using an internal gelation process for the design of alginate particles. J Microencapsul. 2006;23(3):245–257.
- [75] : Agnihotri N, Mishra R, Goda C, Arora M. Microencapsulation – A novel approach in drug delivery: A review. Indo Glob J Pharm Sci. 2012;2(1):1–20.
- [76] : Santos DT, Meireles MAA. Micronization processes with supercritical fluids: Fundamentals and applications for the preparation of drug and nanoparticle delivery systems. Brazilian Journal of Chemical Engineering. 2010;27(2):243–258.
- [77] : Freitas S, Merkle HP, Gander B. Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art. J Control Release. 2005;102(2):313–32.
- [78] : Bilati U, Allémann E, Doelker E. Strategic approaches for overcoming peptide and protein instability within biodegradable nano- and microparticles. Eur J Pharm Biopharm. 2005;59(3):375–88.
- [79] : Koshani R, Madadlou A. Advances toward green techniques for the production of encapsulated bioactives. Food Hydrocoll. 2020;103:105664.
- [80] : Schoubben A, Blasi P, Giovagnoli S, Rossi C. Polyelectrolyte complexes for the delivery of bioactive molecules: state of the art. Expert Opin Drug Deliv. 2013;10(9):1241–53.
- [81] : Joly N. Synthèses et caractérisation de nouveaux films plastiques obtenus par acylation et réticulation de la cellulose [thèse de doctorat]. Limoges (France) : Université de Limoges; 2003.
- [82] : GRERIFA S et BOURKAIB C, (2015/2016). Formulation d’une suspension médicamenteuse à libération prolongée. Mémoire de fin de cycle en Génie des procédés, Option : Génie chimique. Université de Blida1.
- [83] : BENSOUIKI S, (2021/2022). Développement des systèmes de délivrance des médicaments en vue de l’application à la libération prolongée d’un principe actif. Thèses de doctorat Faculté de Génie des Procédés, Option : Génie pharmaceutique. Université de Constantine 3 Salah Boubnider.
- [84] : GASTINEAU O, (2022). Impression 3D de médicaments : développement de nouvelles formes pharmaceutique et personnalisation des traitements. Thèse de doctorat, Université Clermont Auvergne.

Références bibliographiques

- [85] : Belkadi T, Makked L. Traitement des margines d'olives par co-précipitation en utilisant les plans d'expériences [mémoire de master]. Tizi-Ouzou: Université de Tizi-Ouzou, Faculté des sciences; 2016. p. 13.
- [86] : Goupy J, Creighton L. Introduction aux plans d'expériences. 2e éd. Paris: Dunod; 2006.
- [87] : Nurhadi B, Roos YH, Ferry A. Microencapsulation of food ingredients using maltodextrin: optimization of formulation and process conditions using DoE. *J Food Eng.* 2012;111(1):65-75.
- [88] : Azwanida NN. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med Aromat Plants.* 2015;4(3):196.
- [89] : Bezerra MA, Santelli RE, Oliveira EP, Villar LS, Escaleira LA. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta.* 2008;76(5):965–77.
- [90] : Montgomery DC. Design and Analysis of Experiments. 9th ed. Hoboken, NJ: Wiley; 2017.
- [91] : Chibane H, Serra R, Leroy R. Mise en œuvre d'une optimisation multi-objectif en tournage d'un acier 100C6 : compromis entre qualité de surface et productivité. In: 20ème Congrès Français de Mécanique; 2011 août 28 – sept 2; Besançon, France. 2011.
- [92] : Firdaws R, Kaoutar B. Utilisation du plan d'expérience de Box-Behnken pour optimiser les différents facteurs influençant le séchage de la pomme de terre [mémoire de master]. Ouargla (DZ) : Université Kasdi-Merbah Ouargla ; 2021.
- [93] : Sasidharan S, Chen Y, Saravanan D, Sundram KM, Latha LY. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2011;8(1):1–10.
- [94] : Senapati MR, Behera PC. Maceration for medicinal plant extraction. In: *Recent Frontiers of Phytochemicals.* Elsevier; 2023. Section 3.4.2.2.1.
- [95] : Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction: A review. *Int Pharm Sci.* 2011;1(1):98–106.
- [96] : Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, Rakesh DD. Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. *UNIDO and ICS-UNIDO.* 2008;22–25.
- [97] : Hao Y. Origin and development of Soxhlet extractor. Tianjin Chemical Industry. 2011.
- [98] : Sander L. Soxhlet Extractions. *J Res Natl Inst Stand Technol.* 2017;122(1):1. Disponible sur: <https://doi.org/10.6028/jres.122.004>
- [99] : Poirot R. Schéma du Soxhlet [Internet]. ResearchGate; [consulté le 25 avril 2025]. Disponible sur : <https://www.researchgate.net/profile/Rachel->

[Poirot/publication/37243918/figure/fig11/AS:341247945396240@1458371258986/Schema-du-Soxhlet-source-Tech-de-lIng-n-o-J2782.png](https://www.researchgate.net/publication/37243918/figure/fig11/AS:341247945396240@1458371258986/Schema-du-Soxhlet-source-Tech-de-lIng-n-o-J2782.png)

[100] : Wikipedia contributors. Extracteur de Soxhlet [Internet]. Wikipedia; [consulté le 25 avril 2025]. Disponible sur : https://fr.wikipedia.org/wiki/Extracteur_de_Soxhlet

[101] : Drawell Analytical. A comparison of advantages and disadvantages of Soxhlet extractor [Internet]. 2023 [cité 2025 juin 13]. Disponible sur: <https://www.drawellanalytical.com/advantages-and-disadvantages-of-soxhlet-extractor/>

[102] : Ingle P. Review of extraction techniques [Internet]. Academia.edu. [cité 2025 juin 13]. Disponible sur: <https://www.academia.edu/48432476/>

[103] : Kaufmann B, Christen P. Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochem Anal.* 2002;13(2):105–13.

[104] : ScienceDirect Topics. Extraction Method – an overview [Internet]. [cité 2025 juin 13]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/extraction-method>

[105] : Soxhlet Extraction – an overview. ScienceDirect Topics [Internet]. [cité 2025 juin 13]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/soxhlet-extraction>

[106] : Cardenas-Toro FP, Osorio-Tobón JF, Vélez-Gallego MC. Extraction of carotenoids from natural sources: A review of recent developments. *Food Chem.* 2018;245:1292–1309.

[107] : Luque de Castro MD, García-Ayuso LE. Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Anal Chim Acta.* 1998;369(1–2):1–10.

[108] : AOAC. Official Methods of Analysis. 18th ed. Association of Official Analytical Chemists; 2005.

[109] : Dean JR, Xiong G. Extraction of organic pollutants from environmental matrices: selection of extraction technique. *TrAC Trends Anal Chem.* 2000;19(9):553–64.

[110] : Letellier M, Budzinski H. Microwave assisted extraction of organic compounds. *Analisis.* 1999;27(3):259–70.

[111] : Vinatoru M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrason Sonochem.* 2001;8(3):303–13.

[112] : Kouamé TK, Siaka S, Kassi ABB, Soro Y. Détermination des teneurs en polyphénols totaux, flavonoïdes totaux et tanins de jeunes feuilles non encore ouvertes de *Piliostigma thonningii*

(Caesalpiniaceae). *Int J Biol Chem Sci.* 2021;15(1):123–134. Disponible sur : <https://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v15i1.9>.

[113] : Zenadi F, Achour R. Extraction des métabolites du *Ficus microcarpa* L. : formulation par microencapsulation des extraits dans des polymères biodégradables et étude de l'effet antibactérien [mémoire de Master]. Béjaïa : Université Abderrahmane Mira ; 2024.

[114] : KERBOUS N, SEDDIK C. Études des propriétés antioxydantes des extraits d'écorce de grenade (*Punica granatum* L) : préparation d'une forme pharmaceutique par microencapsulation par double émulsion E/H/E [mémoire de Master]. Bejaia (DZ) : Université Abderrahmane Mira Bejaia ; 2023.

[115] : Merouane A, Noui A, Medjahed H, Ali KNB, Saadi A. Activité antioxydante des composés phénoliques d'huile d'olive extraite par méthode traditionnelle. *Int J Biol Chem Sci.* 16 janv 2015;8(4):1865. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v8i4.45>

[116] : Azoug T, Drahamani S. Propriétés anti-oxydantes et anti-bactériennes des extraits d'écorces du *Punica granatum* L. Préparation d'une forme pharmaceutique par microencapsulation par le procédé de simple émulsion H/E [mémoire de master]. Béjaïa (Algérie) : Université Abderrahmane Mira de Béjaïa, Faculté de Technologie, Département de Génie des Procédés ; 2024.

[117] : Jang HJ, Shin CY, Kim KB. Safety evaluation of polyethylene glycol (PEG) compounds for cosmetic use. *Toxicol Res* [Internet]. 30 juin 2015;31(2):105-36. Disponible sur : <http://dx.doi.org/10.5487/TR.2015.31.2.105>

[118] : Wikipedia contributors. Polyethylene glycol [Internet]. Wikipedia, The Free Encyclopedia; [cité le 10 mai 2025]. Disponible sur : https://en.wikipedia.org/wiki/Polyethylene_glycol

[119] : Wikipédia. Dextrine [Internet]. Wikipédia, The Free Encyclopedia; [cité le 10 mai 2025]. Disponible sur : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Dextrine>

[120] : French AD, Pérez S, Bulone V, Rosenau T, Gray D. Cellulose. *Encyclopedia of Polymer Science and Technology* [Internet]. 14 nov 2018; 1-69. Disponible sur : <https://hal.science/hal-04670722v1>

[121] : Ma HL, Xu FX, Zhang YC, Huang MJ, Li MF, Wang GH, et al. Non-unified effects of cellulose allomorphs on fast pyrolysis and enzymatic hydrolysis. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2025 mai 8;230:121153. Disponible sur : <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2025.121153>

[122] : Baaliouamer A. Structure chimique de la cellulose [Image]. In : Étude de la pyrolyse de la cellulose pour la production de biocarburants [Internet]. ResearchGate; 2017 [cité le 10 mai 2025]. Disponible sur : https://www.researchgate.net/figure/Structure-chimique-de-la-cellulose_fig1_319143619

Références bibliographiques

- [123] : Structure moléculaire du tripolyphosphate de sodium ($\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$) [Internet]. ResearchGate. [cité 13 mai 2025]. Disponible sur : <https://www.researchgate.net/publication/255682429/figure/fig1/AS:297703901810688@1447989549050/Molecular-structure-of-sodium-tripolyphosphate-STPP.png>
- [124] : BELALEM W, BEN NADIR K. Synthèse et caractérisation d'un film de poly (éthylène succinate) biodégradable [thèse]. Université de Ghardaïa; 2020.
- [125] : Dusch E. Modélisation de la réponse impulsionnelle pour la détection de particules en microscopie par fluorescence [thèse de doctorat]. Paris : Université Paris Descartes; 2008.
- [126] : Zhang Y, Wang Z, He J, Liu X, Zhang H. Biochanin A: A natural isoflavone with promising biological activities. *Phytother Res.* 2020;34(3):573–83.
- [127] : Tavares L, McDougall GJ, Fortalezas S, Stewart D, Ferreira RB, Santos CN. The neuroprotective potential of phenolic-enriched fractions from four *Juniperus* species found in Portugal. *Food Chem.* 2012;135(2):562–70.

Annexe

Annexe

1. Matériels utilisés :

- Eprouvette graduée, pipete graduée, poires d'aspiration.
- Bécher, fiole jaugée, erlenmeyer.
- Entonnoirs, verres de montre, filtres seringues, spatules, barreaux magnétiques, tubes à essais, pissette, boîte pétries, cuve UV-cuvette ou pour l'UV, micropipette.
- Papier absorbant, papier aluminium, papier wattman, para film.
- Mortier.

2. Appareillages et réactifs utilisés :

Tableau 1 : Appareillages et réactifs utilisée.

Appareillages	Réactifs
- Spectrophotomètre UV-visible. - Balance analytique. - HPLC. - Spectrophotomètre Infrarouge IRFT - Etuve. - pH-mètre. - Appareil de dissolution - Agitateur magnétique	- Eau distillée, eau physiologique. - Méthanol. - Ethanol. - Acide caféique, quercétine, Acide gallique, Acide cinnamique, catéchol, glycérol. - Folin Ciocalteu, Carbonate de sodium. - Chlorure d'aluminium. - DPPH (2,2-déphenyl-1-picrylhydrazyle). - PEG6000, Dextrine, CMC, TPP. - HCl, NaOH.

3. Caractérisation par spectrophotométrie UV-visible

- **Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes :**

Tableau 2: Les absorbances (μm) de dosage des extraits (polyphénols et flavonoïde).

Extraits	F1	F2
ABS polyphénols (765nm)	1.428	2.379
ABS flavonoïdes (430 nm)	0.110	1.317

4. Activité antioxydante par la méthode de DPPH :

Tableau 3 : Les absorbances de l'activité antioxydant des extraits à 517nm.

Extrait	F2
ABS pour 100µl de l'extrait	0.173
ABS pour 200µl de l'extrait	0.327

5. La microencapsulation :

Tableau 4 : Les absorbances (µm) des 10 essais de la microencapsulation (polyphénols et flavonoïde)

N° d'essai	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
ABS polyphenols (765nm)	0.185	0.435	0.008	0.135	0.111	0.395	0.268	0.385	0.298	0.227
ABS flavonoïdes (430nm)	0.074	0.317	0.064	0.104	0.077	0.170	0.088	0.261	0.192	0.183

6. Les chromatogrammes de HPLC des standards (Acide gallique, quercétine, Acide cinnamique, Catéchol, Acide caféique) :

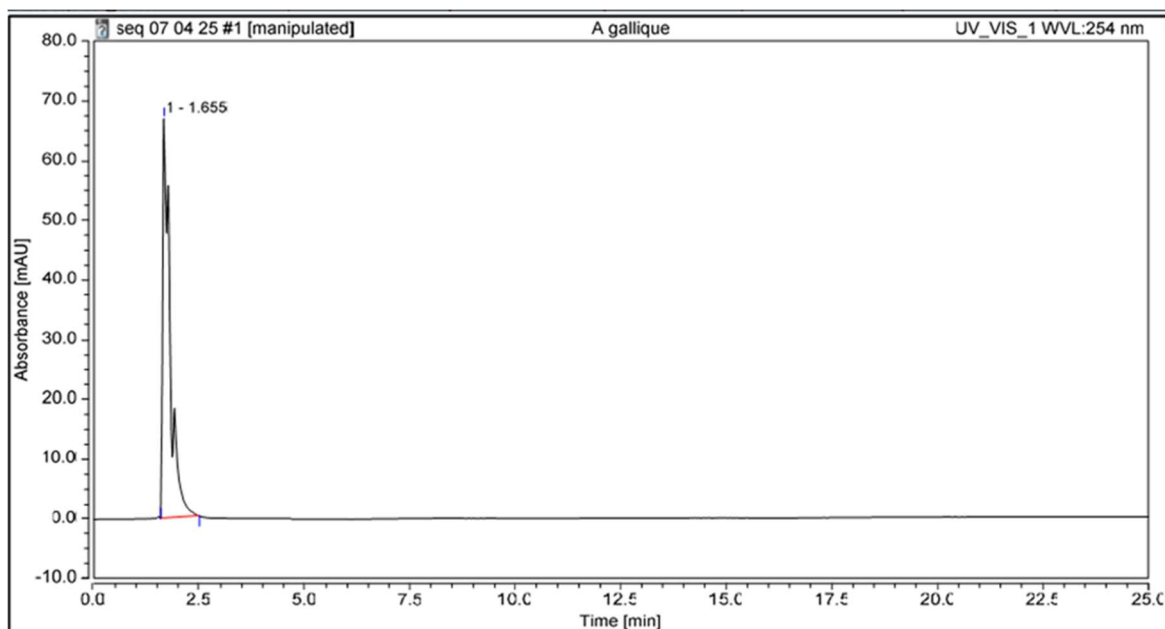


Figure 1 : Chromatogramme de l'acide gallique.

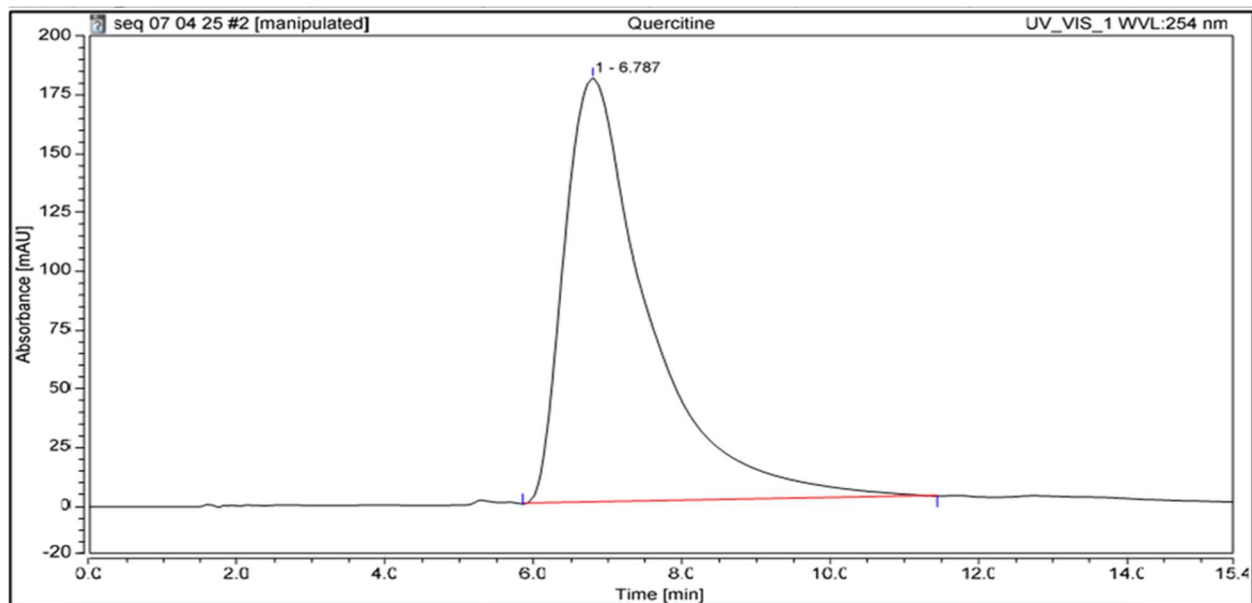


Figure 2 : Chromatogramme de la quercétine.

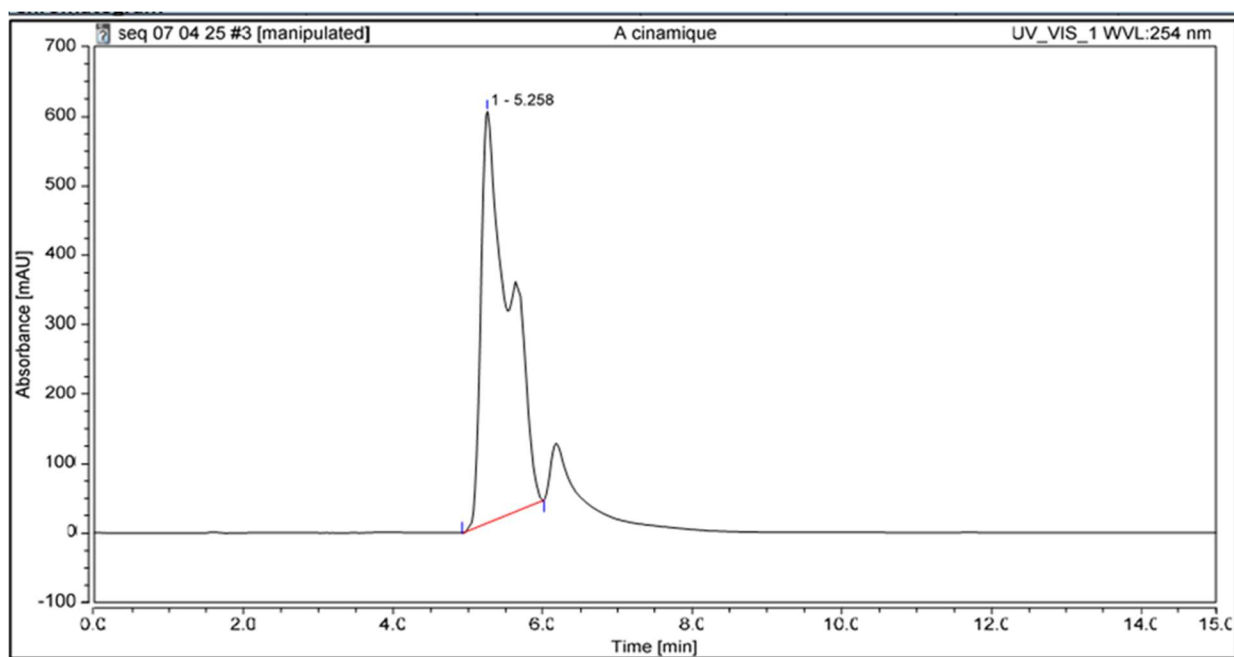


Figure 3 : Chromatogramme de l'acide cinnamique.

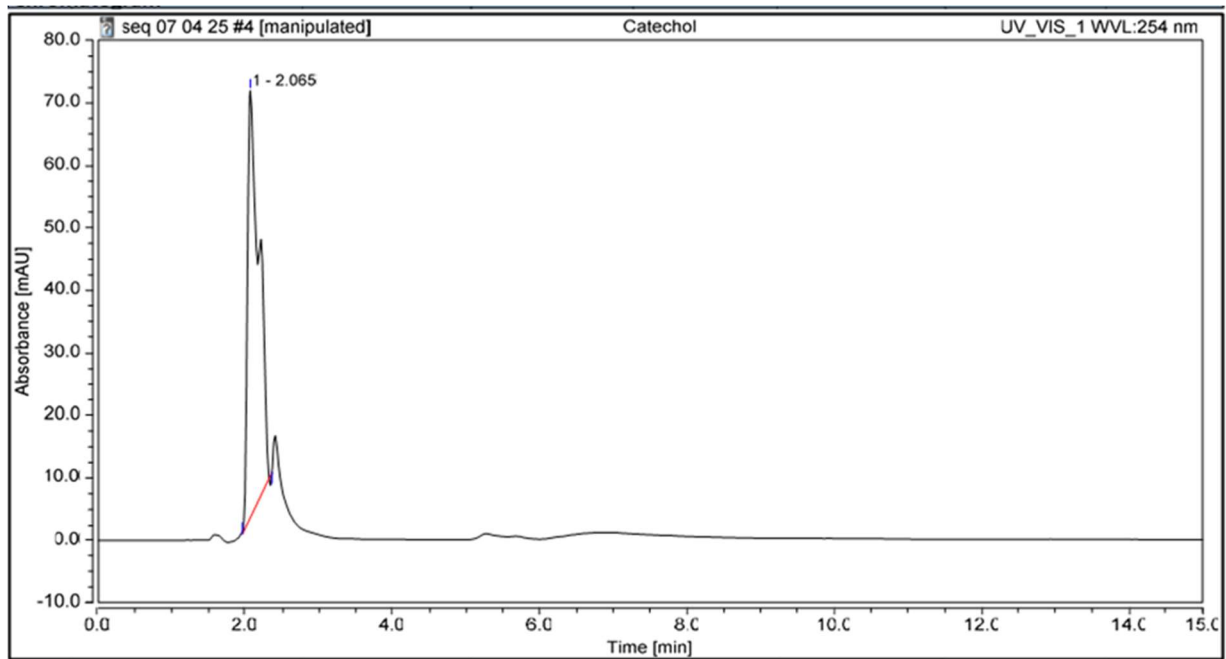


Figure 4 : Chromatogramme du catéchol.

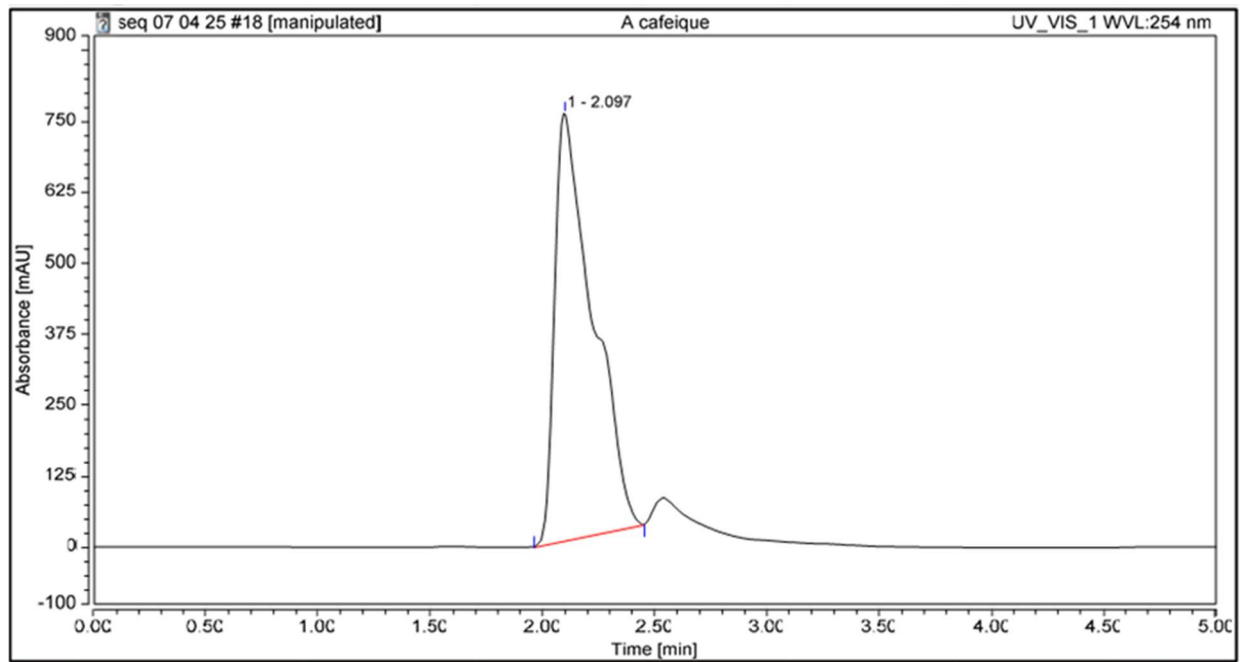


Figure 5 : Chromatogramme de l'acide caféique.

7. La cinétique de libération :

Tableau 5 : Absorbance (nm) des polyphénols et flavonoïdes de la cinétique

Temps (min)	E1		E3		E10		Gélule (essai 3)	
	ABS polyphénol	ABS flavonoïde	ABS polyphénol	ABS flavonoïde	ABS polyphénol	ABS flavonoïde	ABS polyphénol	ABS flavonoïde
10	-0.009	-0.023	0.011	-0.046	-0.018	-0.031	0.044	0
20	-0.0015	-0.043	0.006	-0.05	-0.016	-0.03	0.055	0.002
30	-0.019	-0.049	0.032	-0.048	-0.018	-0.026	0.036	0.001
40	-0.019	-0.033	0.005	0.311	-0.020	-0.024	0.044	-0.001
50	-0.014	-0.047	0	-0.048	-0.018	-0.026	0.009	0
60	-0.009	-0.045	-0.002	0.046	-0.020	-0.025	0	-0.002
80	-0.011	-0.047	-0.008	-0.021	-0.017	-0.027	0.008	0.001
100	-0.001	-0.039	-0.016	-0.021	-0.022	-0.030	0.024	-0.003
120							0.023	-0.001
140							0.023	-0.001
160	0.004	-0.049	-0.019	-0.010	-0.017	-0.028	0.041	-0.002
180	0	0.019	-0.019	-0.025	-0.022	-0.028	0.047	-0.002

8. Les spectres de IR (Dextrine, PEG, glycérol, TPPNa, Acide gallique, quercétine, acide caféique, acide cinnamique et CMC) :

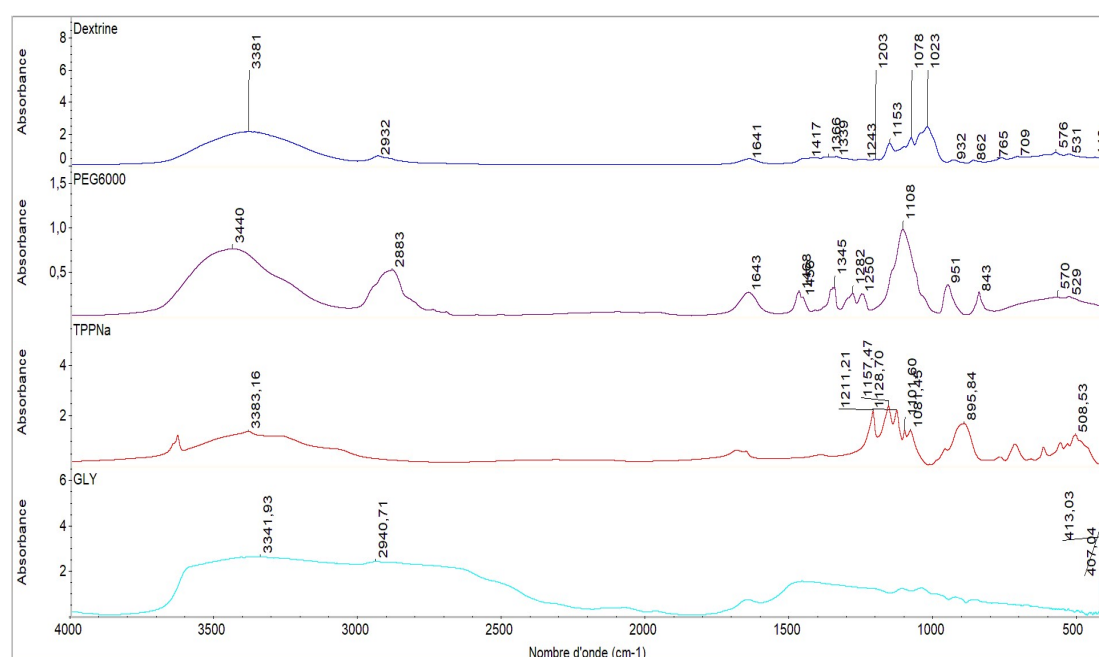


Figure 6 : Spectres IRFT du PEG6000, TPPNA, glycérol et de la dextrine

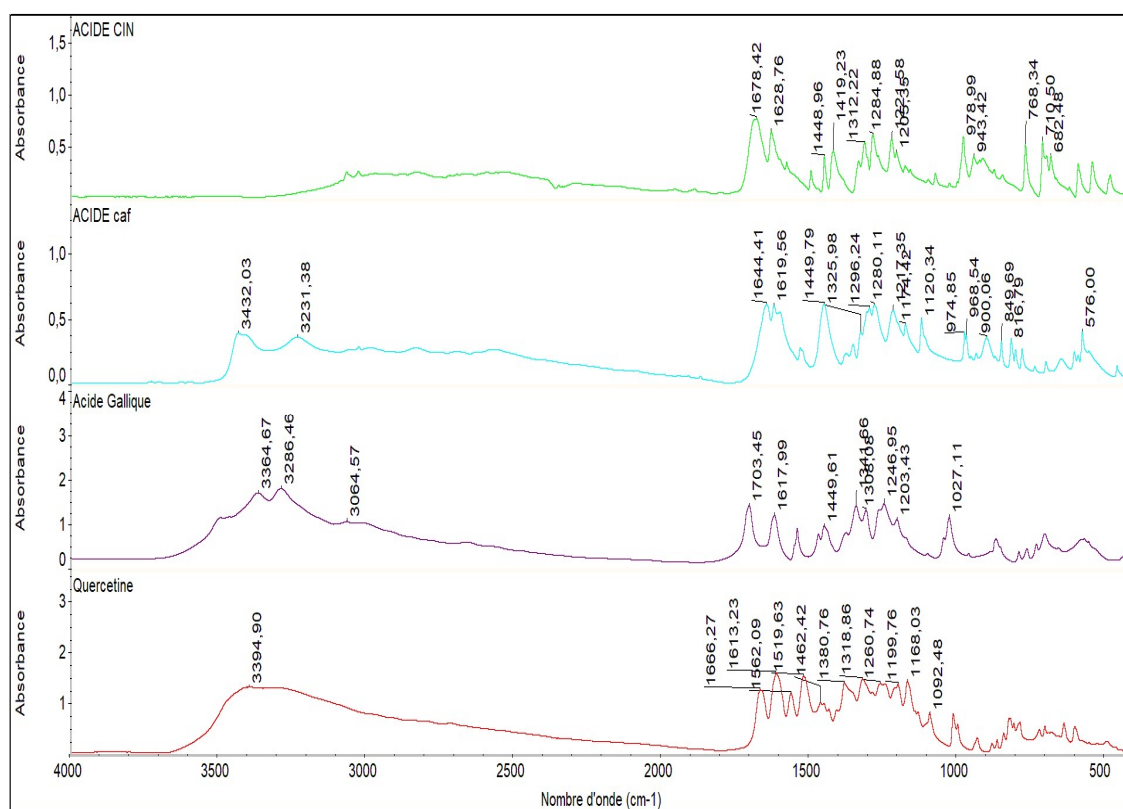


Figure 7 : Spectres IRFT des standards (acide caféique, Acide gallique, Acide cinnamique et de la quercétine).

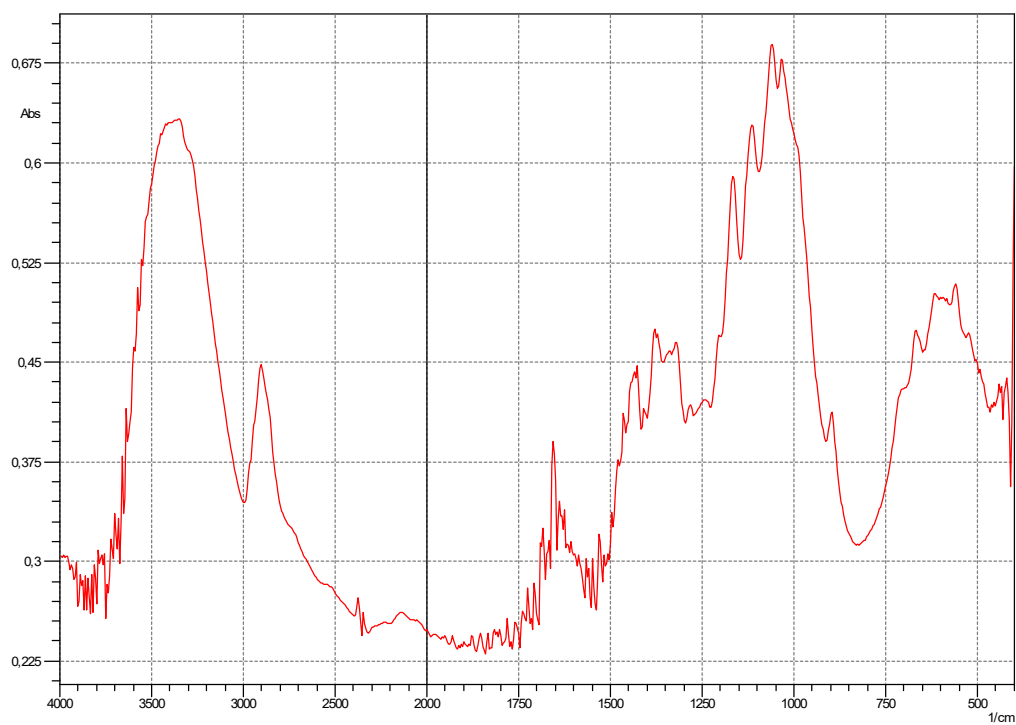


Figure 8 : Spectre IRFT de CMC.

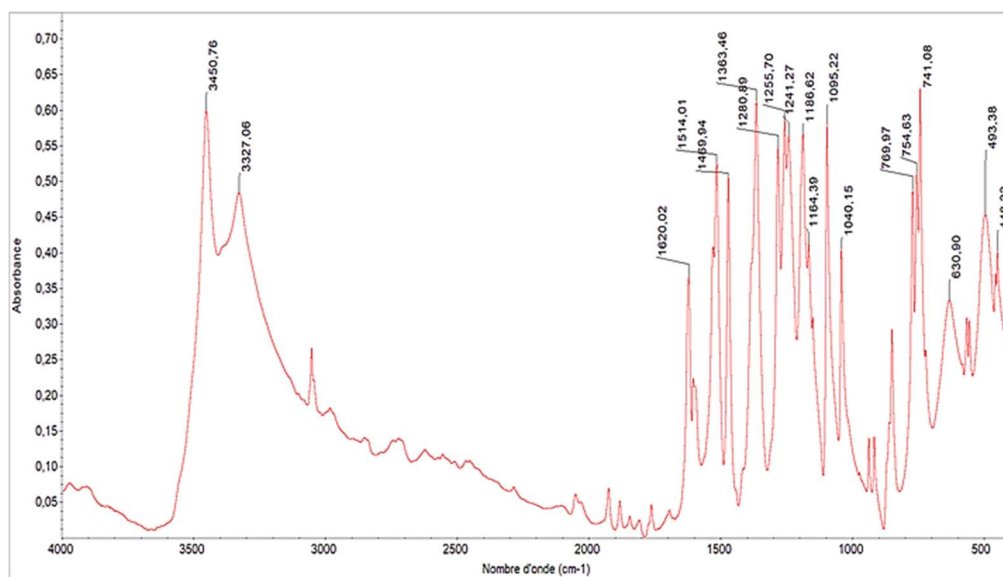


Figure 9 : Spectre IRFT de catéchol.

Résumé

Résumé

Le *Juniperus phoenicea* L. est une plante médicinale connue pour sa richesse en composés antioxydants. Ce travail a consisté à extraire ses métabolites actifs, notamment les polyphénols et flavonoïdes, par la méthode de Soxhlet. Les extraits ont été analysés pour évaluer leur composition et leur activité antioxydante. Une microencapsulation a ensuite été réalisée par émulsification suivie de réticulation ionique, en utilisant des polymères naturels comme vecteurs. Un plan d'expérience a permis d'optimiser les paramètres de formulation. L'étude a révélé une encapsulation efficace des polyphénols et une libération contrôlée selon le pH et la formulation. Aucun relargage significatif n'a été observé pour les flavonoïdes. L'analyse infrarouge a confirmé l'incorporation des métabolites. Ce travail met en avant l'intérêt des extraits végétaux encapsulés pour des applications potentielles en santé.

Mots-clés : *Juniperus phoenicea* L, polyphénols, flavonoïdes, activité antioxydante, microencapsulation, émulsification, réticulation ionique, plan d'expérience.

Abstract

Juniperus phoenicea L. is a medicinal plant known for its richness in antioxidant compounds. This study aimed to extract its active metabolites, particularly polyphenols and flavonoids, using the Soxhlet method. The extracts were analyzed to assess their composition and antioxidant activity. Microencapsulation was performed through emulsification followed by ionic cross-linking, using natural polymers as carriers. An experimental design was applied to optimize the formulation parameters. The study showed efficient polyphenol encapsulation and controlled release depending on pH and formulation. No significant release was observed for flavonoids. Infrared analysis confirmed the incorporation of bioactive compounds. This work highlights the potential of encapsulated plant extracts for health-related applications.

Keywords: *Juniperus phoenicea* L, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, microencapsulation, emulsification, ionic cross-linking, experimental design.

المخلص

يعتبر *Jsurepinu aecineohp* L من النباتات الطبية المعروفة بغناها بالمركبات المضادة للأكسدة. يهدف هذا العمل إلى استخراج المركبات النشطة، خصوصاً البوليفينولات والفلافونويدات، باستخدام طريقة سوكسليت. تم تحليل المستخلصات لتقييم تركيبها ونشاطها المضاد للأكسدة. تمت عملية التغليف الدقيق عن طريق الاستحلاب متبوعاً بالتشابك الأيوني، باستخدام بوليمرات طبيعية كحوامل. وقد تم تطبيق خطة تجريبية من أجل تحسين ظروف التحضير. أظهرت الدراسة فعالية عالية في تغليف البوليفينولات وتحرراً متحكماً فيه حسب التركيبة. بينما لم تلاحظ أي عملية تحرر واضحة للفلافونويدات. كما أكدت التحاليل بالأشعة تحت الحمراء وجود المركبات النشطة داخل الجسيمات. يبرز هذا العمل أهمية استخدام المستخلصات النباتية المغلفة في التطبيقات الصحية المحتملة.

الكلمات المفتاحية: العرعر الفينيقي (*Jsurepinu aecineohp* L)، البوليفينولات، الفلافونويدات، النشاط المضاد للأكسدة، التغليف الدقيق، الاستحلاب، التشابك الأيوني، خطة تجريبية.