

REPUBLIC ALGERIENNE DEMMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF -M'SILA

FACULTE DES SCIENCES DE MATIER

DEPARTEMENT DE CHIMIE

N°.....



Spécialité : chimie

Option : chimie des matériaux

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par :

- MAACHE Mohamed
- MILOUGA Manal

Intitulé

Evaluation de l'activité anti-inflammatoire et toxique
d'une plante médicinale par des méthodes

Soutenu devant le jury composé de :

BAHLOUL. Ahmed Université M'sila président.

MOKRANI.Cheikh Université M'sila Rapporteur.

BOULEGHLEM. Hocine Université M'sila Examineur.

Année universitaire : 2023 / 2024

Remerciements

*Tout d'abord, grâce au Dieu Tout-Puissant, qui
Il nous a donné la force, la Volonté et surtout le courage de pouvoir*

Terminez cette tâche.

*Je tiens à remercier sincèrement mon encadreur **Ahmed Bahloul** , pour
le soutien et l'aide qu'il n'a pas manqué de nous apporter, ainsi que
pour ses conseils et ses orientations lors de l'élaboration de ce travail .
Et tout d'abord, merci pour les qualités scientifiques et humaines qui
resteront à jamais un bon exemple pour nous.*

*Je tiens également à remercier **les membres du jury** qui ont aimablement
accepté d'évaluer cette thèse à sa juste valeur, et de partager avec nous
leurs retours certainement pertinents qui, avec un peu de recul,
contribueront sans aucun doute à l'amélioration de ce travail .*

*Nous remercions vivement tous **les membres du détective**, Les Soldats
secrets responsables du côté technique et technique .*

*Nous exprimons notre profond respect et notre sympathie à tous les
enseignants qui ont contribué à notre formation toutes ces années grâce à
tous ceux qui ont directement ou indirectement participé directement ou
indirectement à la réalisation de ce travail .*

Merci à tous .





Dédicace

*celui dont le front était trempé de sueur et qui m'a appris que le succès ne m'arrive pas avec la patience et les dégâts : à la lumière qui a éclairé mon chemin et à la lampe dont la lumière ne s'éteint jamais dans mon cœur à cause du sacrifice du précieux dont j'ai tiré ma force et mon estime de moi (**mon cher père**)*

À celle à qui Dieu a fait le paradis sous ses pieds et m'a facilité l'adversité par ses prières . À la grande personne que j'ai toujours aimée.

*(**Ma mère bien-aimée**).*

À mon côté ferme et à la sécurité de mes jours, à ceux avec qui j'ai renforcé mon soutien, et c'étaient des sources auxquelles je buvais, à la confusion et à la pureté de mes jours, à la prunelle de mes yeux

*(**mes chers frères et sœurs**).*

pour les amis fidèles, les compagnons d'années et les personnes d'adversité et de crise, pour ceux qui ont exprimé leurs sentiments et leurs conseils sincères à moi, à vous, à ma famille.



Mohamed





Dédicace

Me voici aujourd'hui, le point culminant des derniers moments de ce chemin sur lequel j'ai porté des pierres d'achoppement et des épines, et malgré eux mes pieds ont continué à marcher avec détermination et ambition, je dédie les fruits de ma réussite et de mon diplôme

À celui qui a planté dans mon cœur la graine de la foi en mes capacités, à celui qui m'a appris le sens du don et de la patience, à celui qui a laissé derrière lui l'odeur des souvenirs

À ma grand-mère "Dawiah " Que Dieu repose ton âme.

À ceux qui ont orné mon nom des plus beaux surnoms, à ceux qui m'ont soutenu sans limites et qui m'ont donné gratuitement, à ceux qui m'ont appris que le monde est une lutte et que son arme est la connaissance et la connaissance , et mon soutien, ma force et mon refuge après Dieu sont ma fierté et ma fierté

Mon Père, que Dieu te protège pour nous.

À celui à qui Dieu a mis le Paradis à ses pieds, à qui son cœur m'a pris dans ses mains et m'a facilité l'adversité par sa prière, à celui qui a sacrifié ce qui vous est le plus précieux. Afin de me sauver des griffes de la mort, vers mon premier soutien dans ma carrière et ma destination où je puise mes forces

Maman bien-aimée, que Dieu lui accorde santé et bien-être .

*De mon côté est une constante qui ne bascule pas... À ceux à qui j'ai reçu mon soutien, mon premier et dernier refuge, **mes frères** .*

*À ceux qui ont aidé et soutenu sur ce chemin, aux amis fidèles et camarades Pour ceux dont les lignes sont trop étroites pour être mentionnées, mais mon cœur peut les accueillir . À **mes amis**, ma deuxième famille, j'ai rendu ce voyage beau et fructueux .*



Manal



Liste des abréviations

OMS selon l'Organisation Mondiale de la Santé

HE Huiles essentielles

HD hydrodistillation

SFME Solvent Free Microwave Exatrcction

AINS Les anti-inflammatoires non stéroïdiens

AIS anti-inflammatoire stéroïdien

AMM L'autorisation de mise sur le marché

ATM l'articulation temporo-mandibulaire

IUPAC l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée

GFP la Green Fluorescent Protein

SPR résonance plasmonique de surface

SIE la spectroscopie d'impédance électrochimique

VC la voltammétrie cyclique

BSA Albumine sérum bovin

IRTF infrarouge à Transformée de Fourier

Ipc , **Ipa** courant de pic cathodique et anodique

Epc , **Epa** potentiel de pic cathodique etanodique

NO Nitric oxide

Liste des figures

- Figure I.1** : Photos de quelques plantes médicinales d'Algérie 5
- Figure I.2** : Localisation géographique de la zone de m'sila..... 9
- Figure I.3** : Planche botanique de Thapsiagarganica..... 10
- Figure I.4** :Photos de la plante Thapsiagarganica 11
- Figure I.5** : Structure du principe actif : Thapsigargine..... 13
- Figure I.6** : principe schématisé de l'extraction entraînement à la vapeur d'eau..... 16
- Figure I.7** :principe schématisé par de l'extraction par hydrodistillation.....16
- Figure I.8** :Représentation schématique du principe de fonctionnement d'un biocapteur..... 24
- Figure I.9** : Représentation schématique de la construction d'une électrode de carbone vitreux magnétique modifiée avec des images par microscope à transmittance électronique..... 28
- Figure I.10** : Structures chimiques de la curcumine (curcumine I), de la déméthoxycurcumine (curcumine II) et bisdemethoxycurcumin (curcumin III)..... 31
- Figure I.11** : Voltamperogrammes cyliques et linéaire dans une solution 100 μ M de curcumine à pH = 4,3..... 31
- Figure II.1** : Structure de l'albumine sérum bovin (BSA)..... 33

| | |
|--|----|
| Figure II.2 : Potentiostat/galvanostat Biologic (SP300) et Cellule électrochimique à trois électrodes..... | |
| | 34 |
| Figure II.3 :Allure générale d'un voltampérogramme cyclique..... | |
| | 35 |
| Figure II.4 :Voltammogrammes cycliques pour des systèmes réversible rapide (A), quasi réversible semi rapide (B) réversible lent (C) et (D) des systèmes irréversible..... | 37 |
| Figure II.5 :(a) Forme du potentiel en voltammétrie ondes carrées et (b) spectre SWV d'une réaction réversible..... | 38 |
| Figure II.6 : Spectromètre IRAFFINITY-1S Shimadzu..... | |
| | 40 |
| Figure II.7 : Microscopie optique type conventionnelle..... | |
| | 42 |
| Figure III. 1 : Voltampérogrammes cycliques de la BSA dans un électrolyte de Na ₂ SO ₄ 0.1M à différentes concentrations de BSA (0,1 ; 0,2 ; 0,8 et 1 g/L)..... | 44 |
| Figure III. 2 : (a) Voltampérogrammes à ondes carrées de la BSA dans un électrolyte de Na ₂ SO ₄ 0.1M à différentes concentrations de BSA (0,1 ; 0,2 ; 0,8 et 1 g/L) ((b) courbe de la variation de l'intensité du pic anodique à -0.053V Ag/AgCl en fonction de la concentration de la BSA..... | 46 |
| Figure III. 3 : Voltampérogrammes à ondes carrées de la BSA dans un électrolyte de Na ₂ SO ₄ 0.1M à différentes concentrations de BSA (0,8 g/L)..... | 48 |
| Figure III. 4 : Voltampérogrammes à ondes carrées de la BSA dans un électrolyte de Na ₂ SO ₄ 0.1M en absence et en présence de 25 mg de chaque composés étudiés (extraits méthanolique (2) et éthanolique (2) de la plante <i>Thapsia Garganica</i> , le diclofénac (3) et la triamcinolone acétonide(4)..... | 49 |

Figure III. 5 : Chronoampérogrammes de l'électrodéposition à un potentiel imposé de 1,1 V vs Ag/AgCl d'un film de polyaniline sur ITO en absence de BSA (1) et en présence de BSA (2) ; l'électrolyte contient de l'aniline 0,01 M dans Na₂SO₄ 0,1 M.....51

Figure III. 6 : Diagramme de Nyquist des films de polyaniline sur ITO (1) et BSA + polyaniline sur ITO (2).....52

Figure III. 7 : Spectres IRTF des couches (1) ITO, (2) ITO/PAni, (3) ITO/PAni +BSA, (4) ITO/PAni +BSA chauffée (60°C) pendant 3 minutes..... 54

Figure III.8 : Images obtenues par microscope optique des couches (a) ITO, (b) ITO/PAni, (c) ITO/PAni +BSA, (d) ITO/PAni +BSA chauffée pendant 3 minutes et (e) ITO/PAni +BSA chauffée pendant 5 minutes56

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau I.1 : Position systématique de <i>Thapsia garganica</i> | 11 |
| Tableau I.2 : Classification des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)..... | 20 |
| Tableau I.3 : AINS indiqué chez l'enfant dans une indication antalgique..... | 21 |
| Tableau I.4 : Classification des AIS..... | 22 |
| Tableau III.1 : Bandes de transmittance observées dans les spectres IRTF..... | 53 |

Sommaire

Remerciements

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Résumé

Introduction général.....

1

CHAPITRE I : Recherche Bibliographique

I.1-PLANTES MEDICINALES 4

1-1-Origine des plantes médicinales 5

1-1-1-Plantes sauvages 5

1-1-2-Plantes cultivées 6

1-2-Critères de sélection des plantes médicinales 6

1-3-Matières premières issues des plantes médicinales 6

1-4-Composition chimique des plantes 7

2- plante médicinale au niveau de la région de M'sila 7

2-1-Localisation et situation géographique 8

2-2- Climat 8

3- Description de la plante étudiée : Thapsia Garganica 9

| | |
|--|-------------|
| 3-1- Données botaniques | 9 |
| 3-1-1- Les Apiacées | 9 |
| 3.1.2. Taxonomie | 10 |
| 3.1.3. Présentation et description de la plante <i>Thapsia garganica</i> | 11 |
| 3.2. Ethnopharmacologie de <i>Thapsia garganica</i> | 12 |
| 3.2.1. Usages médicaux | 12 |
| 3.2.2. Utilisations pharmacologiques | 12 |
| 3.3 Etude phytochimique du genre <i>Thapsia</i>: | 13 |
| 4. Méthodes d'extraction des plantes médicinales | 13 |
| 4.1. Définition de principe actif | 13 |
| 4.1.1. Huiles essentielles | 15 |
| 5. Médicaments Anti-inflammatoires | : 19 |
| 5.1. Définition de l'inflammation | 19 |
| 5.2. les symptômes de l'inflammation | : 19 |
| 5.2.2. Biologiquement | : 20 |
| 5.3. Types Les anti-inflammatoires | : 20 |
| 5.3.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens | : 20 |
| 5.3.2 Anti-inflammatoires stéroïdiens | : 21 |
| 5. Biocapteurs | 23 |
| <p>Un biocapteur combine des technologies variées telles que la biologie moléculaire, la microélectronique, l'optique et l'informatique pour réaliser une analyse. Il est constitué d'un composant biologique, appelé « ligand » ou biorécepteur, qui est associé à un transducteur (optique ou plus généralement électromagnétique, électrochimique, piézoélectrique, calorimétrique ou acoustique) qui permet de convertir un signal biochimique en un signal physique capable d'être quantifié (figure 8). D'après l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (IUPAC) , un biocapteur est un dispositif qui détecte des composés chimiques en général en utilisant des réactions biochimiques spécifiques à travers des enzymes isolées, des immuno-systèmes, des tissus, des organites ou des cellules entières par des signaux électriques, thermiques ou optiques.</p> | |
| | 23 |
| 6.2. Différents types de biocapteurs | 24 |
| 6.2.1. Biocapteurs manométriques | 25 |
| 6.2.2. Biocapteurs piézoélectriques | 25 |
| 6.3.3. Biocapteurs thermiques | 25 |
| 6.3.4. Biocapteurs optiques | 26 |
| 6.3.5. Biocapteurs à ondes acoustiques | 27 |

| | |
|---|-----------------|
| 6.3.6. Biocapteurs électrochimiques | 27 |
| 7. Activités biologiques spécifiques | 29 |
| 7.1 Activités antioxydantes | 29 |
| 7.2 Activités antimicrobiennes | 29 |
| 7.3 Activités anti-inflammatoires | 30 |
| 7.4 Activités anticancéreuses | 30 |
| 8. Etude de l'activité anti-inflammatoire par les méthodes électrochimiques | 31 |
| II.1. Produits Chimiques | 34 |
| II.2. Techniques Experimentales | 34 |
| II.3. Techniques d'électrochimiques | 35 |
| II.3.1. Voltampérométrie cyclique | : 35 |
| II.3.2. Voltampérométrie à ondes carrées (SWV) | 39 |
| II.3.3. Spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE) | : 41 |
| II.4. Spectroscopie infra rouge à Transformée de Fourier (IRTF) | 42 |
| II.5. Microscopie optique | 43 |
| III.1 Etude par voltampérométrie cyclique de la BSA à différentes concentrations | 45 |
| III.2 Etude par voltampérométrie à ondes carrées de la BSA à différentes concentrations | 47 |
| III.3 Etude de la dénaturation de la BSA après un chauffage à 60 °C |47 |
| III.4 Détermination de l'activité antiinflammatoire par la technique de voltampérométrie à ondes carrées |48 |
| III.5 Préparation des films à base de polyaniline par chronoampérométrie | 50 |
| III.6 Caractérisation des films à base de polyaniline par spectroscopie d'impédance | ...52 |
| III.7 Caractérisation des films à base de polyaniline par spectroscopie infrarouge |53 |
| III.8. Caractérisation des films à base de polyaniline par microscopie optique |55 |
| Conclusion |58 |

Résumé

Dans cette étude, nous utilisons des techniques électrochimiques pour évaluer les propriétés anti-inflammatoires de la plante médicinale **Thapsia garganica** et de ses extraits. Les techniques électrochimiques, telles que la voltamétrie cyclique (VC) et la voltamétrie à ondes carrées (SWV), sont mises en avant pour leur importance et leurs avantages par rapport aux méthodes classiques. Ces techniques permettent d'évaluer la capacité de la plante médicinale à réduire ou à oxyder certaines espèces chimiques, ce qui peut être lié à ses propriétés anti-inflammatoires ou toxiques.

L'inflammation est une réponse naturelle de l'organisme à une agression, comme une infection, une blessure ou un stress tissulaire. Elle se manifeste par des symptômes tels que rougeur, chaleur, douleur et gonflement. Bien que l'inflammation soit nécessaire pour la guérison et la protection de l'organisme, une inflammation chronique peut entraîner des maladies graves telles que l'arthrite, les maladies cardiovasculaires et le cancer.

Afin de développer des traitements efficaces contre les maladies inflammatoires, il est crucial de mesurer l'activité anti-inflammatoire des médicaments potentiels. Cette mesure permet d'évaluer l'efficacité des traitements et de comprendre leurs mécanismes d'action.

Le mémoire est structuré en trois chapitres distincts :

1. **Recherche bibliographique** : Ce chapitre examine les différentes plantes médicinales utilisées traditionnellement pour leurs propriétés curatives et les recherches scientifiques récentes sur leurs applications.

2. **Techniques expérimentales électrochimiques** : Ce chapitre détaille les méthodes et les équipements utilisés pour analyser les propriétés des plantes médicinales, en expliquant les principes de base de l'électrochimie.
3. **Résultats et discussion** : Ce chapitre présente les résultats obtenus avec les techniques électrochimiques et les interprète en les comparant aux études précédentes.

En conclusion, cette étude met en évidence l'importance des techniques électrochimiques dans l'évaluation des propriétés anti-inflammatoires des plantes médicinales. Les résultats obtenus apportent une contribution précieuse au domaine de la phytothérapie et de l'électrochimie, et ouvrent la voie à des recherches futures pour développer de nouveaux traitements anti-inflammatoires efficaces et sûrs.

Abstract

In this study, we use electrochemical techniques to evaluate the anti-inflammatory properties of the medicinal plant **Thapsia garganica** and its extracts. Electrochemical techniques, such as cyclic voltammetry (CV) and square wave voltammetry (SWV), are highlighted for their importance and advantages over traditional methods. These techniques enable the evaluation of the plant's ability to reduce or oxidize certain chemical species, which may be related to its anti-inflammatory or toxic properties.

Inflammation is a natural response of the body to aggression, such as infection, injury, or tissue stress. It manifests as symptoms like redness, heat, pain, and swelling. While inflammation is necessary for healing and protection, chronic inflammation can lead to serious diseases like arthritis, cardiovascular diseases, and cancer.

To develop effective treatments for inflammatory diseases, it is crucial to measure the anti-inflammatory activity of potential drugs. This measurement allows for the evaluation of treatment efficacy and the understanding of their mechanisms of action.

The thesis is structured into three distinct chapters:

1. **Literature Review**: This chapter examines various medicinal plants traditionally used for their healing properties and recent scientific research on their applications.
2. **Experimental Electrochemical Techniques**: This chapter details the methods and equipment used to analyze the properties of medicinal plants, explaining the basic principles of electrochemistry.
3. **Results and Discussion**: This chapter presents the results obtained using electrochemical techniques and interprets them in comparison to previous studies.

In conclusion, this study highlights the importance of electrochemical techniques in evaluating the anti-inflammatory properties of medicinal plants. The results provide a valuable contribution to the fields of phytotherapy and electrochemistry, paving the way for future research to develop new, effective, and safe anti-inflammatory treatments.

ملخص

في هذه الدراسة ، نستخدم التقنيات الكهروكيميائية لتقييم الخصائص المضادة للالتهابات للنبات الطبي ثابسيا جارجانكا ومستخلصاته. يتم تسليط الضوء على التقنيات الكهروكيميائية ، مثل قياس الفولتمتر الدوري وقياس الفولتمتر الموجي المربع ، لأهميتها ومزاياها على الطرق التقليدية. تتيح هذه التقنيات تقييم قدرة النبات الطبي على تقليل أو أكسدة أنواع كيميائية معينة ، والتي قد تكون مرتبطة بخصائصه المضادة للالتهابات أو السامة .

الالتهاب هو استجابة طبيعية للجسم لعدوان ، مثل العدوى أو الإصابة أو إجهاد الأنسجة. يتجلى في أعراض مثل الاحمرار والحرارة والألم والتورم. على الرغم من أن الالتهاب ضروري لشفاء الجسم وحمايته ، إلا أن الالتهاب المزمن يمكن أن يؤدي إلى أمراض خطيرة مثل التهاب المفاصل وأمراض القلب والأوعية الدموية والسرطان.

من أجل تطوير علاجات فعالة للأمراض الالتهابية ، من الضروري قياس النشاط المضاد للالتهابات للأدوية المحتملة. هذا الإجراء يجعل من الممكن تقييم فعالية العلاجات وفهم آليات عملها

تم تنظيم الرسالة في ثلاثة فصول منفصلة :

1- البحث الجغرافي: يفحص هذا الفصل النباتات الطبية المختلفة المستخدمة تقليديا لخصائصها العلاجية والأبحاث العلمية الحديثة حول تطبيقاتها

2 -التقنيات التجريبية الكهروكيميائية: يفصل هذا الفصل الأساليب والمعدات المستخدمة لتحليل خصائص النباتات الطبية ، موضحا المبادئ الأساسية للكيمياء الكهربائية.

3 -النتائج والمناقشة: يعرض هذا الفصل النتائج التي تم الحصول عليها بالتقنيات الكهروكيميائية ويفسرها بمقارنتها بالدراسات السابقة.

في الختام ، تسلط هذه الدراسة الضوء على أهمية التقنيات الكهروكيميائية في تقييم الخصائص المضادة للالتهابات للنباتات الطبية. تقدم النتائج التي تم الحصول عليها مساهمة قيمة في مجال العلاج بالنباتات والكيمياء الكهربائية ، وتمهد الطريق للبحث المستقبلي لتطوير علاجات جديدة فعالة وآمنة مضادة للالتهابات

Introduction générale

Les plantes médicinales contiennent une ou plusieurs substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse des médicaments utiles[1] ont également été utilisées pour l'extraction de composés bioactifs importants. L'inflammation est considérée comme un facteur de risque majeur maladies chroniques des agents pathogènes[2].

De nombreux scientifiques et médecins sont intéressés à la recherche dans le domaine de la phytothérapie en raison de son efficacité et étant la source la plus importante pour la fabrication des médicaments. La relation entre l'homme et les plantes n'était pas limité aux seuls médicaments, mais aussi dans la satisfaction des besoins nutritionnels [3]. L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire d'une plante médicinale est une démarche essentielle pour déterminer ses effets potentiels sur la santé humaine. Cette évaluation comprend généralement l'utilisation de diverses techniques chimiques, électrochimiques et biologiques pour obtenir des informations complètes. Dans cette étude nous utiliserons les techniques électrochimiques, telles que la voltampérométrie, la voltampérométrie à ondes carrées qui peuvent être employées pour évaluer la capacité de la plante médicinale à réduire ou à oxyder certaines espèces chimiques, ce qui peut être lié à ses propriétés anti-inflammatoires ou toxiques.

Le mémoire sont structuré en trois chapitres distincts, chacun couvrant un aspect crucial de cette étude.

Le premier chapitre est consacré à une recherche bibliographique sur les plantes médicinales et de leurs activités. Ce chapitre examine les différentes plantes utilisées traditionnellement pour leurs propriétés médicinales, ainsi que les recherches scientifiques récentes qui ont validé ou découvert de nouvelles applications pour ces plantes. Il fournit un cadre théorique essentiel pour comprendre l'importance des plantes médicinales dans le contexte de la santé et de la recherche scientifique.

Le deuxième chapitre se concentre sur les techniques expérimentales électrochimiques utilisées dans cette étude. Il détaille les méthodes et les équipements électrochimiques employés pour analyser les propriétés des plantes médicinales. Ce

chapitre explique également les principes de base de l'électrochimie et comment ces techniques peuvent être appliquées pour étudier les composants actifs des plantes.

Enfin, le troisième chapitre présente les résultats obtenus et leurs discussion. Il analyse les données recueillies à l'aide des techniques électrochimiques et interprète les résultats en les comparant aux études précédentes.

En conclusion, ce travail vise à offrir une compréhension approfondie des plantes médicinales à travers une approche interdisciplinaire combinant une recherche bibliographique et des techniques expérimentales avancées. Les résultats obtenus apportent une contribution précieuse au domaine de la phytothérapie et de l'électrochimie.

CHAPITRE 1 : Recherche Bibliographique

I.1-PLANTES MEDICINALES

Sur le plan international, la définition des plantes médicinales selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) est largement acceptée. L'OMS décrit les plantes médicinales comme des plantes qui contiennent des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs de la synthèse chimique de médicaments pharmaceutiques. Les plantes médicinales incluent toutes les espèces végétales qui, en partie ou en totalité, sont utilisées pour leurs propriétés curatives, soit directement comme remèdes, soit comme sources de substances actives entrant dans la composition de médicaments [4].

En France, la pharmacopée nationale définit les plantes médicinales comme des plantes, ou des parties de plantes, qui sont utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques, curatives ou préventives. Elles comprennent les plantes utilisées dans la médecine traditionnelle algérienne, ainsi que celles reconnues par la pharmacopée officielle pour leur efficacité et leur innocuité dans le traitement des maladies. Cette définition inclut également les extraits et les préparations à base de plantes qui sont utilisées dans les formulations médicinales [5].

Leur action provient des composés phytochimiques (métabolites primaires ou secondaires) qui agissent seul ou de la synergie entre ces différentes composées). Ces substances actives végétales proviennent de plantes sauvages ou cultivées. En fonction de la provenance de la drogue, la teneur en principes actifs peut varier de manière plus ou moins importante, entraînant une activité à priori variable d'un lot à un autre. Il faut donc faire attention à l'origine géographique et aux conditions écologiques (altitude, degré de fertilisation du sol, caractère sauvage ou cultivé de la plante). La qualité finale des substances actives dépend des conditions de culture, de récolte, de séchage, de fragmentation et de stockage [6].



Figure I.1 : Photos de quelques plantes médicinales algériens [7]

1-1-Origine des plantes médicinales

Les plantes médicinales sont caractérisées par deux origines :

- les plantes spontanées dites sauvages (ou de cueillette) ;
- et les plantes cultivées.

1-1-1-Plantes sauvages

Cette catégorie constitue les plus anciennement utilisées et représentant encore aujourd'hui un pourcentage notable du marché mondial. Leur répartition et développement dépend de plusieurs facteurs tels que le type de sol et surtout du climat[8]. Ces plantes sont en effet influencées par la température, la latitude, l'altitude, la composition du sol, etc. Ces conditions édaphiques font de ces plantes des véritables réservoirs de spécificités génétiques.

1-1-2-Plantes cultivées

Ces plantes permettent, grâce aux techniques de culture standardisées d'obtenir des matières premières de bonne qualité en quantité suffisante et homogènes. En effet, la culture des plantes médicinales répond à des directives de l'OMS sur les bonnes pratiques agricoles et des bonnes pratiques de récolte relatives aux plantes médicinales[9].

1-2-Critères de sélection des plantes médicinales

Un des critères de choix les plus importants pour la sélection est la preuve de la sécurité d'emploi à travers des preuves d'innocuité et d'efficacité. En effet, à partir des enquêtes ethnobotaniques, des informations sur l'utilisation des plantes médicinales par des tradipraticiens et les populations sont rassemblées[10]. Sur la base de ces informations, des études ethno-pharmacologiques *in vitro*, *ex Vivo* et *in Vivo* (chimie, pharmacologie, toxicologie, microbiologie, etc.) sont entreprises afin de mieux étudier la matière végétale dans sa composition, ainsi que ses potentialités thérapeutiques. Au cours de ces études, les informations sur la disponibilité des individus de l'espèce des plantes médicinales ainsi que des méthodes de cultures, de récolte et de protection sont rassemblées. Le choix des sites de cultures et récoltes est réalisé à travers des études de standardisation. La variabilité des constituants des substances actives ou des préparations à base de plantes en raison de facteurs intrinsèques et extrinsèques sont prise en compte.

1-3-Matières premières issues des plantes médicinales

Ce sont des substances issues de plante entière ou partie de plantes (principes actifs, excipients, solvants, gaz...) utilisées sèches, stabilisées ou desséchées pour la fabrication du médicament. Leur qualité est définie soit par une monographie soit par une pharmacopée [11]. Ces matières végétales comprennent, outre les plantes entières, les parties de plantes telles que les sucs, gommés, huiles grasses, huiles essentielles, résines et poudres sèches issus de feuilles, fleurs, fruits, graines, tronc, bois, écorce, racines, rhizome et autres parties, entières, fragmentées ou en poudre. Un mode de culture biologique ou de l'agriculture raisonnée est préférable. Ensuite, le recours à un procédé

d'extraction complet est souhaité. En effet, il garantit le respect de l'intégralité et de l'intégrité des principes actifs contenus dans la plante d'origine de façon à restituer sa composition moléculaire. De plus, de nombreux contrôles sont réalisés selon les exigences de la réglementation en vigueur[12].

1-4-Composition chimique des plantes

La plante possède une composition chimique complexe, constituée de plusieurs substances. Cette composition complexe résulte de l'interaction de la plante avec son environnement. En effet, elle puise par ses racines dans le sol l'eau, les minéraux (oligo-éléments et macroéléments) nécessaires à sa croissance. Elle réalise la photosynthèse dans ses feuilles, elle élabore des molécules complexes appelées composés organiques[13].

Les substances élaborées par les plantes sont classées en deux groupes :

- ✓ *Métabolites primaires* qui sont nécessaires à la vie végétale et qui ne présentent qu'une activité pharmacologique de base (les glucides tels que la cellulose et l'amidon, les lipides, les enzymes...)
- ✓ *Métabolites secondaires* ou spécialisés qui sont de composition plus complexe et généralement regroupés dans les grandes familles chimiques telles que les polyphénols, les terpénoïdes et les alcaloïdes [14].

Ce dernier groupe de métabolites renferme les molécules les plus utilisées en thérapeutique. Elles sont également d'un grand intérêt pour la plante car elles la protègent des rayons du soleil, des oxydations et interviennent comme signaux d'échange avec son environnement (pour se protéger d'autres espèces ou pour attirer les insectes pollinisateurs). Malgré de nombreuses recherches sur les plantes médicinales, très peu de métabolites secondaires ont pu être isolés et identifiés.

2- plante médicinale au niveau de la région de M'sila

il est toujours important de consulter un professionnel de la santé avant de les utiliser, si vous prenez d'autres médicaments. Voici quelques exemples de plantes médicinales qui sont couramment utilisées dans cette région :

- ✓ **Thym** : Le thym est une plante aromatique aux propriétés antiseptiques et expectorantes. Il est utilisé pour traiter les affections respiratoires telles que la toux, le rhume et la bronchite.
- ✓ **Menth** : La menthe est appréciée pour son goût rafraîchissant et ses propriétés digestives. Elle est utilisée pour soulager les maux d'estomac, les nausées et les troubles gastro-intestinaux.
- ✓ **Romarin** : Le romarin est connu pour ses propriétés stimulantes et toniques. Il est utilisé pour améliorer la circulation sanguine, soulager les douleurs musculaires et articulaires, ainsi que pour stimuler la mémoire et la concentration
- ✓ **Camomille** : Utilisée pour ses propriétés anti-inflammatoires, antispasmodiques et sédatives. Elle est souvent consommée sous forme de thé pour soulager les maux d'estomac, l'insomnie et les douleurs menstruelles.
- ✓ **Ginseng** : Connu pour ses propriétés toniques et adaptogènes, le ginseng est utilisé pour augmenter l'énergie, améliorer la concentration mentale, renforcer le système immunitaire et réduire le stress.
- ✓ **Aloévera** : Cette plante est appréciée pour ses propriétés apaisantes et cicatrisantes. Le gel d'aloevera est utilisé pour soulager les brûlures, les coups de soleil, les irritations cutanées et favoriser la cicatrisation des plaies.

2-1-Localisation et situation géographique

La wilaya de M'Sila a une superficie de 18 175 km². Elle est limitée par les wilayas de Médéa, Bouira, Bordj-Bou-Arreridj et Sétif au nord, Batna à l'est, Djelfa à l'ouest et Biskra au sud. Sa population est de 1 029 447 habitants. Sa morphologie et sa position géographique confèrent à cette région un aspect écologique unifié représenté par la prédominance de la steppe qui couvre 1 200 000 ha (soit 63 % de la superficie totale) de la wilaya. La superficie affectée à l'agriculture représente 20 % de la surface totale, consacrées essentiellement à la céréaliculture, à l'arboriculture et au maraîchage.

2-2- Climat

Le climat wilaya de M'sila est semi-aride avec des hivers froids. La classification climatique de BSk.



la température est de 18,6°C et la pluviométrie annuelle moyenne ne dépasse pas 250 mm. Les massifs montagneux reçoivent de plus grandes quantités d'eau, de l'ordre de 400 à 500 mm dans l'Atlas saharien et quipeut atteindre plus de 600 mm dans les Monts du Hodna.



Figure I.2 : Localisation géographique de la zone de m'sila

3- Description de la plante étudiée : Thapsia Garganica

3-1- Données botaniques

3-1-1- Les Apiacées

La famille des Apiacées est une famille de plantes appartenant à la classe des Magnoliopsida (Dicotylédones). Elle est composée de 1400 espèces réparties en 300 genres environ, répandues sur presque tout le globe, mais surtout dans les régions tempérées de l'hémisphère boréal. C'est une famille relativement homogène, caractérisée notamment par son inflorescence typique, l'ombelle. Il s'agit de plantes herbacées, annuelles, bisannuelles ou vivaces, parfois arbustives. Les Apiacées contiennent des plantes alimentaires (la carotte, *Daucus carota*), des condiments (le cumin, *Cuminumcyminum*), des plantes médicinales (le khella, *Ammi visnaga* et *thapsia garganica*) ainsi que des plantes toxiques (la grande ciguë, *Coniummaculatum*) [15].



Figure I.3: Planche botanique de *Thapsiagarganica* .

3.1.2. Taxonomie

Selon les classifications classiques, les apiacées sont des dicotylédones appartenant à l'ordre des Apiales (Tableau 1).

Nom arabe : **Bonafâa, Derias** (بونافع – الدرياس) (figure 4)

Nom berbère : **Toufalt**

Nom français : **Thapsia**





Figure I.4 : Photos de la plante Thapsiagarganica

Tableau I.1 : Position systématique de Thapsia garganica [16].

| <i>Classification</i> | |
|-----------------------|----------------------|
| <i>Règne</i> | <i>Plantae</i> |
| <i>Embranchement</i> | <i>Tracheophyta</i> |
| <i>Classe</i> | <i>Magnoliopsida</i> |
| <i>Ordre</i> | <i>Apiales</i> |
| <i>Famille</i> | <i>Apiaceae</i> |
| <i>Genre</i> | <i>Thapsia</i> |

3.1.3. Présentation et description de la plante Thapsia garganica

Le mot Thapsia dérive du nom de l'île de Thapsus, voisine de la côte de Sicile (au sud de l'Italie), parce que c'est dans cette île qu'elle a été d'abord découverte. Garganica vient de Garganus, mont d'Apulie (actuellement les Pouilles) [17]. La plante Thapsia garganica est une plante poussant spontanément en algérie appartient à la famille des Apiacées appelées anciennement Ombellifères (Umbelliferae), Connue pour sa toxicité

elle est répandue dans le bassin méditerranéen. C'est une plante vivace, à tige florifère dressée, peu ramifiée, atteignant environ 1,50 m de haut. Elle possède de grandes feuilles en touffes, très découpées à division linéaires pourvues d'un pétiole en gaine à la base, les supérieurs sont réduits à la gaine épaisse, d'un vert grisâtre comme la tige. Les fleurs sont de petites tailles, jaunes, et disposées en grandes ombelles presque sphériques. Les fruits sont ovales, atteignent plus de 2 cm de longueur, largement ailés. Les racines sont en forme de rhizomes. La floraison a lieu entre avril et juillet[18]. Elle croit en abondance, spontanément et sans aucune culture dans les conditions suivantes :

- ✓ Exposition: Plein soleil;
- ✓ Humidité: Sol sec à moyen;
- ✓ Sol: Sol léger à moyen, riche en humus;
- ✓ pH: Sol acide ou calcaire.

3.2. Ethnopharmacologie de *Thapsia garganica*

3.2.1. Usages médicaux

Les vertus médicinales de cette plante sont connues depuis l'antiquité, en médecine populaire algérienne, l'usage de cette plante toxique est réservé aux traitements externes, généralement sous forme de décoction aqueuse ou de macération huileuse de racine des onguents sont ainsi préparés dans le but de soulager des rhumatismes ou certains maux pulmonaires. La plante est utilisée pour combattre les toux et bronchites rebelles, la rage et la stérilité féminine. On l'utilise aussi, mélangé à de la farine et à du son, en cataplasmes locaux, contre les morsures d'animaux veineux ou enragés.

3.2.2. Utilisations pharmacologiques

La seule préparation pharmaceutique à base de la plante *Thapsia garganica* est l'emplâtre de *Thapsia*. Que l'obtient en incorporant de la résine de *Thapsia* à un mélange de cire blanche colophane, poix blanche, térébenthine etc ... [19]. Cet emplâtre est utilisé par application sur la peau, cette dernière s'irrite, s'échauffe, rougit, devient le siège d'une démangeaison insupportable, puis apparaît une éruption de vésicules miliaires

nombreuses, très-rapprochées, remplies d'une sérosité purulente [20]. Il n'y a pas de douleur et il est convenable d'enlever cet emplâtre après 4 à 6 heures [21].

3.3 Etude phytochimique du genre *Thapsia*:

Une isolation bio guidée a donné une fraction avec des propriétés irritantes de la peau puissantes [22]. Les études spectroscopiques du principe actif (Figure 5) ont révélé que le composé était un guaianolidehexaoxygéné (ne trouvent que chez le genre *Thapsia*), qui était appelé thapsigargine[23].

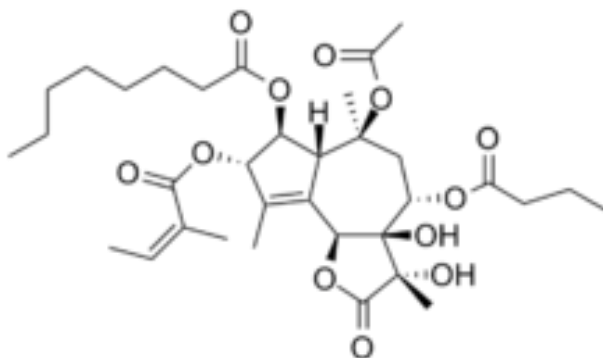


Figure I.5 : Structure du principe actif : Thapsigargine[24]

4. Méthodes d'extraction des plantes médicinales

4.1. Définition de principe actif

Les plantes de la médecine traditionnelle constituent un potentiel médical et économique des ressources naturelles qui fournissent les matières premières nécessaires à la fabrication des médicaments [25]. Les principes actifs des plantes médicinales appartiennent essentiellement à trois grands groupes chimiques : les polyphénols, les alcaloïdes et les huiles essentielles [26].

Les méthodes d'extraction sont :

Les méthodes d'extraction sont diverses et varient en fonction des propriétés des substances à extraire et des matériaux utilisés. Voici une explication générale de quelques méthodes couramment utilisées :

1. Extraction par macération :

- **Principe** : Comme mentionné précédemment, la macération implique le trempage du matériau végétal dans un solvant pour permettre la diffusion des composés actifs dans le solvant.

- **Application** : Adaptée aux matériaux végétaux non fragiles et nécessitant une extraction à température ambiante ou modérée.
2. **Extraction par percolation** :
 - **Principe** : Ce processus utilise un solvant qui passe à travers un matériau solide, extrayant ainsi les composés solubles au fur et à mesure que le solvant circule.
 - **Application** : Idéale pour des matériaux végétaux finement divisés ou des substances solides où une extraction complète et efficace est nécessaire.
 3. **Extraction par Soxhlet** :
 - **Principe** : Utilise un système fermé où un solvant est chauffé et s'évapore, puis se condense et retourne dans le matériau végétal. Cela permet une extraction continue et efficace.
 - **Application** : Convient pour les matériaux végétaux riches en composés volatils ou pour une extraction répétée jusqu'à l'obtention de rendements élevés.
 4. **Extraction par ultrasons** :
 - **Principe** : Les ultrasons sont utilisés pour créer des ondes mécaniques qui perturbent les cellules végétales, facilitant ainsi l'extraction des composés actifs dans le solvant.
 - **Application** : Idéale pour une extraction rapide et efficace de composés thermosensibles ou pour améliorer l'extraction par macération.
 5. **Extraction par CO2 supercritique** :
 - **Principe** : Le CO2 est utilisé à des températures et pressions spécifiques pour agir comme un solvant, permettant une extraction sélective des composés désirés.
 - **Application** : Adaptée pour l'extraction de composés délicats ou pour une séparation précise des constituants, couramment utilisée en industrie pharmaceutique et alimentaire.

La méthode essentielle de mon travail est :

La macération :

1. **Principe de base** : La macération est un processus d'extraction où le solvant (comme l'eau, l'alcool, ou un mélange de solvants) est mis en contact direct avec le matériau végétal à température ambiante ou parfois à chaud, pour permettre la diffusion des composés actifs dans le solvant.
2. **Étapes du processus** :
 - **Préparation du matériel végétal** : Les parties de la plante contenant les composés à extraire sont préparées, souvent coupées en morceaux ou écrasées pour augmenter la surface d'extraction et faciliter la libération des composés.
 - **Mise en contact avec le solvant** : Le matériel végétal préparé est placé dans un récipient adéquat (comme un flacon en verre ou un réacteur) et recouvert avec le solvant choisi.
 - **Temps de macération** : Le mélange est laissé à température ambiante ou parfois à une température contrôlée pendant une période spécifique,

généralement de quelques heures à plusieurs jours, selon la nature des composés à extraire et leur solubilité.

- **Filtration et récupération** : Une fois le temps de macération écoulé, la solution est filtrée pour séparer les matières solides (résidus végétaux) du liquide d'extraction contenant les composés désirés.
 - **Concentration ou purification** : La solution filtrée peut être concentrée par évaporation du solvant ou soumise à d'autres méthodes de purification pour isoler davantage les composés actifs.
2. **Avantages et limitations** :
- **Avantages** : Simple à mettre en œuvre, nécessite peu d'équipement spécialisé, adaptée à une large gamme de matériaux végétaux.
 - **Limitations** : Peut nécessiter des temps d'extraction relativement longs pour obtenir des rendements élevés, certains composés peuvent être instables à la chaleur ou solubles dans des solvants spécifiques.
3. **Applications** : La méthode de macération est largement utilisée en phytothérapie, en chimie des produits naturels et en pharmacologie pour extraire des principes actifs à partir de plantes médicinales, d'épices, et d'autres matières premières biologiques.

En résumé, l'extraction par macération est une technique simple et efficace pour extraire des composés actifs des plantes en utilisant des solvants appropriés, bien qu'elle puisse nécessiter des adaptations selon les propriétés spécifiques des composés cibles et des matériaux végétaux utilisés.

4.1.1. Huiles essentielles

a. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau conventionnel

C'est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des HE (Figure 6). Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est soumis à l'action d'un courant de vapeur sans macération préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis décantées dans l'essencier, avant d'être séparées en une phase aqueuse et une phase organique. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile. De plus, le parfum de l'HE obtenue est plus délicat et la distillation, régulière et plus rapide, fait que les notes de tête sont riches en esters.

Les conditions opératoires et, notamment, la durée de distillation ont une influence considérable sur le rendement et la composition de l'HE. C'est pourquoi sont développés, aujourd'hui, des modèles mathématiques qui permettent d'optimiser, au mieux, ces conditions afin de produire des HE de manière reproductible. Apparaissent en premier, le

plus souvent, une demi-heure permet de recueillir 95 % des molécules volatiles, ce qui suffit aux besoins de l'industrie et de la parfumerie, comme pour la lavande. L'emploi en aromathérapie impose de prolonger l'opération aussi longtemps qu'il est nécessaire afin de récupérer la totalité des composants aromatiques volatils.

b. Extraction par Hydrodistillation convontional

Elle consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau et l'ensemble est porté à ébullition (Figure 7). Elle est généralement conduite à pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans cohobage des eaux aromatiques obtenues lors de la décantation. Ce procédé présente des inconvénients dus principalement à l'action de la vapeur d'eau ou de l'eau à l'ébullition ; Certains organes végétaux, en particulier les fleurs, sont trop fragiles et ne supportent pas les traitements par entraînement à la vapeur d'eau et par hydrodistillation (HD). L'hydrodistillation possède des limites. Le chauffage prolongé et puissant engendre une détérioration de certains végétaux et la dégradation de certaines molécules aromatiques. L'eau, l'acidité et la température peuvent induire l'hydrolyse des esters.

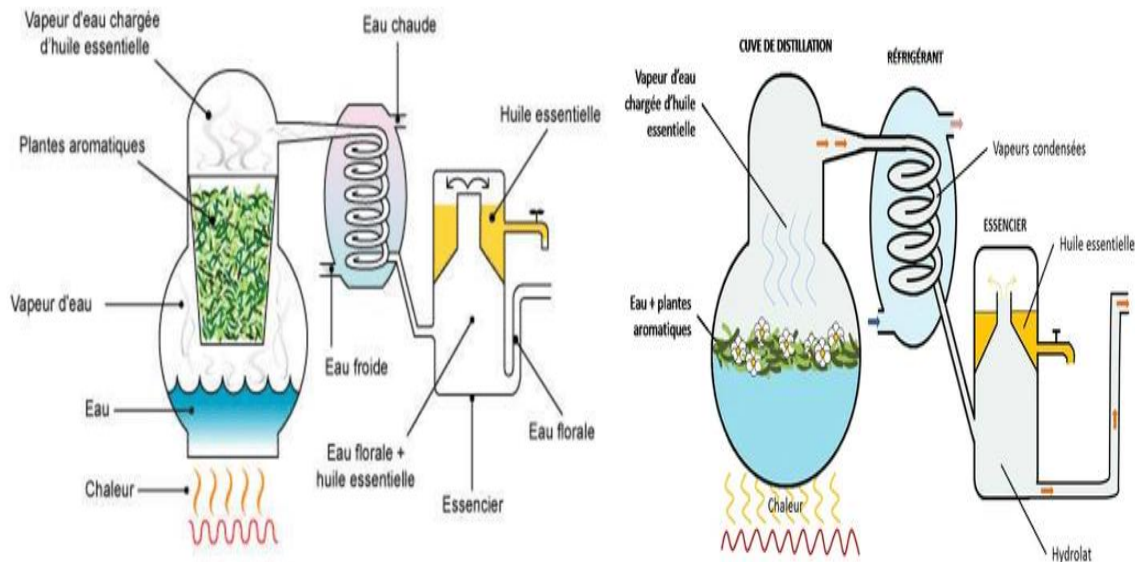


Figure I.6 : principe schématisé de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau **Figure I.7** : principe schématisé par hydrodistillation

c. Expression à froid (pressage à froid) conventionnel

La technique est réservée à l'extraction des essences volatiles contenues dans les péricarpes d'agrumes en déchirant ces dernières par un traitement mécanique. Elle consiste à rompre ou dilacérer les parois des sacs oléifères contenus dans le mésocarpe situé juste sous l'écorce du fruit, l'épicarpe, pour en recueillir le contenu qui n'a subi aucune modification.

L'expression à froid est la méthode de choix pour extraire ces essences, d'autant que la distillation n'est plus une technique très appropriée. En effet, la distillation produit des huiles aromatiques de moindre qualité principalement due à une présence importante d'aldéhydes, composés sensibles à l'oxydation et à la chaleur.

d. Extraction par solvant organique conventionnel

Les solvants les plus utilisés à l'heure actuelle sont l'hexane, cyclohexane, l'éthanol, moins fréquemment le dichlorométhane et l'acétone. Le solvant choisi, en plus d'être autorisé, devra posséder une certaine stabilité face à la chaleur, la lumière ou l'oxygène. Sa température d'ébullition sera de préférence basse afin de faciliter son élimination, et il ne devra pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction est réalisée avec un appareil de Soxhlet. Ces solvants ont un pouvoir d'extraction plus élevé que l'eau, si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils, mais également bon nombre de composés non volatils tels que des cires, des pigments, des acides gras et bien d'autres substances.

La technique d'extraction « classique » par solvant, consiste à placer, dans un extracteur, un solvant volatil et la matière végétale à traiter. Grâce à des lavages successifs, le solvant va se charger en molécules aromatiques, avant d'être envoyé au concentrateur pour y être distillé à pression atmosphérique.

L'emploi restrictif de l'extraction par solvants organiques volatils se justifie par son coût, les problèmes de sécurité et de toxicité, ainsi que la réglementation liée à la protection de l'environnement. Cependant, les rendements sont généralement plus importants par rapport à la distillation et cette technique évite l'action hydrolysante de la vapeur d'eau. Face à cette situation, deux nouvelles techniques ont été mises au point, ces dernières années, pour la distillation des substances d'arômes à partir des plantes : l'extraction assistée par micro-ondes et l'extraction par le CO₂ supercritique.

e. Extraction assistée par micro-ondes moderne

L'avantage de ce procédé est de réduire considérablement la durée de distillation et d'incrémenter le rendement. Toutefois, aucun développement industriel n'a été réalisé à ce jour. La distillation assistée par micro-ondes fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'études et ne cesse d'être améliorée parce qu'elle présente beaucoup d'avantages : économie d'énergie et de temps, investissement initial réduit et dégradations thermiques et hydrolytiques minimisées.

L'emploi des micro-ondes constitue, par ailleurs, une méthode d'extraction à part entière en plein développement. A titre d'exemple, La SFME (Solvent Free Microwave Exatrcction) est une combinaison originale des techniques de chauffage par micro-ondes et de distillation sèche. Elle consiste à placer le matériel végétal dans un réacteur au sein d'un four micro-ondes sans ajout d'eau ou de solvant. Le chauffage interne de l'eau contenue dans la plante permet d'en dilater ses cellules et conduit à la rupture des glandes et des réceptacles oléifères. L'HE ainsi libérée est évaporée avec l'eau de la plante . Comparée à l'hydrodistillation traditionnelle.

Le protocole expérimental de l'extraction sans solvant assistée par micro-ondes (SFME) s'articule autour de trois points importants :

- Déterminer la quantité de matière végétale.
- La puissance micro-ondes appliquée (300-450 Watts) .
- Le temps total de l'extraction est composé du temps de chauffage (première étape = 10 mn) et du temps d'extraction (seconde étape = 10 mn). La capacité de chauffage des micro-ondes étant nettement supérieure à un chauffage étant nettement supérieure à un chauffage traditionnel. La durée de l'extraction sous micro-ondes sera considérablement réduite par rapport à une hydrodistillation classique

f. Extraction par fluide à l'état supercritique moderne

L'originalité de la technique d'extraction par fluide supercritique, dite SFE, provient de l'utilisation de solvants dans leur état supercritique, c'est-à-dire dans des conditions de températures et de pressions où le solvant se trouve dans un état intermédiaire aux phases liquide et gazeuse et présente des propriétés physico-chimiques différentes, notamment un pouvoir de solvatation accru. Si, en pratique, de nombreux solvants peuvent être employés, 90% des fluides supercritiques sont réalisées avec le dioxyde de

carbone (CO₂), principalement pour des raisons pratiques. En plus de sa facilité d'obtention due à ses pression et température critiques relativement basses, le CO₂ est relativement non toxique, disponible à haute pureté et à faible prix, et il possède l'avantage d'être éliminé aisément de l'extrait.

5. Médicaments Anti-inflammatoires :

5.1. Définition de l'inflammation

C'est l'ensemble des modifications vasculaires, tissulaires, humorales produites chez un être pluricellulaire pour toute atteinte à son intégrité Les réactions fondamentales des tissus secondaires à une lésion et aboutissant à :

- ✓ L'élimination de l'agent causal
- ✓ La cicatrisation de la lésion
- ✓ L'édification des structures tissulaires nouvelles
- ✓ La protection de l'organisme vis-à-vis d'autres agressions ultérieures

Ainsi donc, nous pouvons définir l'inflammation comme étant une modalité naturelle de défense de l'organisme face à des agressions tissulaires de nature variées.

On peut distinguer 3 grands groupes d'agressions à l'origine d'une réaction inflammatoire :

- ✓ Agressions physiques : traumatisme, irradiation, chaleur, froid
- ✓ Agressions chimiques : acide, base
- ✓ Agressions immunologiques et infectieuses : virus, bactéries, parasites, allergiques

L'inflammation est un processus physiologique en réponse à une atteinte de l'intégrité tissulaire dont le but est de conduire le plus rapidement possible l'organisme vers la cicatrisation[27].

5.2. les symptôme de l'inflammation :

5.2.1. Cliniquement :

L'inflammation se traduit par un syndrome associant des 4 éléments cardinaux: rougeur, chaleur, tuméfaction et douleur, évoquant les effets d'un feu intérieur d'où le terme inflammation. Elle est éventuellement associée à des signes généraux dominés par la fièvre.

5.2.2. Biologiquement :

- ✓ Anémie le plus souvent modérée avec hyposidérémie
- ✓ Leucocytose avec polynucléose
- ✓ Hyperplaquetose

5.3. Types Les anti-inflammatoires :

5.3.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens :

Les Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) comprennent plusieurs familles chimiques qui ont pour caractéristique commune d'inhiber la synthèse des prostaglandines et d'agir en partie sur le système nerveux central. Les prostaglandines sont impliquées dans la régulation de la synthèse cellulaire dans la circulation régionale, dans le renouvellement rapide des tissus comme le tube digestif et dans l'hémostase primaire. Ces propriétés confèrent aux AINS leurs propriétés analgésiques, mais aussi leur toxicité. Les bénéfices périopératoires des AINS résident notamment dans leur effet d'épargne des opioïdes et leur bonne tolérance clinique. Les effets indésirables les plus préoccupants sont l'insuffisance rénale ischémique aiguë, les complications des ulcères gastro-intestinaux et le risque accru de saignement, en particulier dans le cadre d'une anesthésie régionale rachidienne. L'utilisation sûre des AINS nécessite le respect des contre-indications (hypovolémie, insuffisance cardiaque congestive, cirrhose, âge avancé, insuffisance rénale, ulcère gastro-intestinal actif ou récent, interactions médicamenteuses).

Tableau I.2 : Classification des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

| Groupe | Exemple |
|--------------------------|--|
| Dérivés Salicylés | Acide acetyl Salicylique (Aspirine) |
| Acides Arylcarboxiliques | Diclofenac , Voltarene / Ibuprofene , Ketoprofene |
| Dérivés Inodoliques | Indocid |

| | |
|-------------------|----------------------|
| Dérévés Oxicams | Feldene |
| Dérévés Fenamates | Nifluril |
| Pyrazolés | Butazolidine |
| Autres | Celecoxib : celebrex |

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) possèdent des propriétés analgésiques, antipyrétiques et antiagrégantes plaquettaires. Ils sont utilisés pour traiter diverses pathologies, notamment rhumatologiques, infectieuses comme l'ostéite et la sinusite, et traumatiques, incluant les subluxations, les luxations et les fractures. En cas d'intervention chirurgicale, les AINS sont souvent employés comme antioedémateux pour lutter contre l'œdème post-opératoire, tout en étant principalement utilisés pour leurs effets antalgiques.

Tableau I.3 : AINS indiqué chez l'enfant dans une indication antalgique

| Principe Active | Tmax | ½ vie | AMM Age | Posologie /prise/jour |
|------------------|-------|-------|---------|-----------------------|
| Ibuprofène | 1.5 | 2 | 3 mois | 7.5 mg/kg 30 mg/kg/j |
| Kétoprofène | 1-1.5 | 3.6 | 6 mois | 0.5 mg/kg 2 mg/kg/j |
| A. Tiaprofénique | 1.5 | 2 | 4 ans | 3 mg/kg 10 mg/kg/j |

Le temps (Tmax) indique le temps pour atteindre la concentration plasmatique maximale après administration (par exemple, 1 à 2 heures). La durée de demi-vie est le temps nécessaire pour que la concentration plasmatique du médicament diminue de moitié. L'autorisation de mise sur le marché (AMM) c'est l'âge minimal à partir duquel le médicament peut être prescrit. La posologie par prise par Jour est la dose recommandée et la fréquence de prise

5.3.2 Anti-inflammatoires stéroïdiens :

Un anti-inflammatoire stéroïdien (AIS) est connu sous d'autres appellations : corticoïdes, corticostéroïdes, glucocorticoïdes et cortisone. La cortisone est une hormone stéroïdienne naturelle. Elle est sécrétée par les glandes surrénales de l'organisme. Elle contribue à la régulation des fonctions essentielles du corps. Elle participe à la transformation et à l'exploitation du sucre. Elle booste les défenses immunitaires et permet de combattre les allergies, le stress physique et les troubles du système immunitaire. Mais encore, la cortisone possède des propriétés glucocorticoïdes lui permettant de soulager une inflammation. Elle dispose aussi de vertus minéralo-corticoïdes c'est-à-dire antidiurétique, kaliurétique et anti-natriurétique.

Un anti-inflammatoire stéroïdien est un glucocorticoïde de synthèse. C'est un produit pharmaceutique dérivant de la cortisone naturelle. Il a pour action de booster les propriétés glucocorticoïdes de cette même cortisone. Parallèlement, il minimise son action minéralocorticoïde. Ce médicament joue ainsi le rôle d'un immuno-modulateur et anti-inflammatoire. Un corticoïde peut aussi être un anti-inflammatoire naturel. Il vient de l'extrait du bourgeon de cassis et du pin sylvestre.

Tableau I.4 : Classification des AIS .

| prencipe active | ½ vie | DCI | Mode adminstrative |
|--------------------|---------|--------------------------|--------------------|
| Hydrocortisone | 8-12 h | Hydrocortisone | IV |
| Méthylprédnisolone | 12-36 h | - Médrol - Solumédrol | Per os IM , IV |
| Prédnisolone | 12-36 h | Solupred | Per os |
| Prédnisone | 12-36 h | Cortancyl | Per os |
| Bétaméthasone | 36-54 h | Celestène | IM , Cp |
| Dexaméthasone | 36-54 h | Soludécadron | IV , IM |

La demi-vie biologique d'un médicament est la durée nécessaire pour que la concentration du médicament dans le plasma diminue de moitié. Pour les corticostéroïdes, cette durée peut varier considérablement en fonction du médicament spécifique. Par exemple, la demi-vie biologique de la prednisone est d'environ 3 à 4 heures, tandis que celle de la dexaméthasone peut atteindre 36 à 54 heures. En pharmacologie, une spécialité désigne un médicament particulier fabriqué et commercialisé sous un nom de marque spécifique. Par exemple, la prednisone peut être vendue sous diverses marques comme Deltasone, Orasone, etc. La spécialité inclut les formulations spécifiques, dosages, et combinaisons avec d'autres substances actives. Le mode d'administration fait référence à la manière dont un médicament est administré au patient. Les corticostéroïdes peuvent être administrés de plusieurs façons, y compris par voie orale (comprimés, capsules), injectable (intramusculaire, intraveineuse), topique (crèmes, pommades), inhalée (aérosols, inhalateurs) ou intra-articulaire (injections dans les articulations). Le choix du mode d'administration dépend de la condition à traiter et de la formulation spécifique du médicament.

Les propriétés des anti-inflammatoires stéroïdiens incluent une activité anti-inflammatoire, immunodépressive et métabolique. Ils sont indiqués en chirurgie buccale et maxillo-faciale, notamment pour l'extraction de la troisième molaire incluse ou enclavée, ainsi que la germectomie. Ils sont également utilisés en implantologie, en cas de paralysie faciale, et en dermatologie buccale pour des affections telles que le lichen plan et l'aphtose récidivante. De plus, les AINS sont recommandés pour les pathologies de l'articulation temporo-mandibulaire (ATM) comme la polyarthrite rhumatoïde et la spondylarthrite ankylosante, ainsi que lors d'accidents allergiques graves.

4. Biocapteurs

Un biocapteur combine des technologies variées telles que la biologie moléculaire, la microélectronique, l'optique et l'informatique pour réaliser une analyse. Il est constitué d'un composant biologique, appelé « ligand » ou biorécepteur, qui est associé à un transducteur (optique ou plus généralement électromagnétique, électrochimique, piézoélectrique, calorimétrique ou acoustique) qui permet de convertir un signal biochimique en un signal physique capable d'être quantifié (figure 8). D'après l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (IUPAC), un biocapteur est un dispositif qui détecte des composés chimiques en général en utilisant des réactions biochimiques

spécifiques à travers des enzymes isolées, des immuno-systèmes, des tissus, des organites ou des cellules entières par des signaux électriques, thermiques ou optiques.

6.1. Définition

En 1950, Leland Clark a créé le premier biocapteur afin de mesurer la concentration d'oxygène dissous dans le sang [28]. Ce biocapteur est modifié en 1962 pour mesurer le taux (ou la concentration) de glucose dans le sang [29]. En 1967, les premières électrodes enzymatiques sont développées par Updike et Hicks [30]. Depuis les années 70, une grande contribution a été apportée à leur évolution en raison de leur utilisation dans différents domaines (médecine, agro-alimentaire ou contrôle environnemental). En effet, en raison de leur taille réduite, de leur facilité d'utilisation et de la possibilité de les utiliser sur place, ce sont des éléments d'analyse très bénéfiques et intéressants.

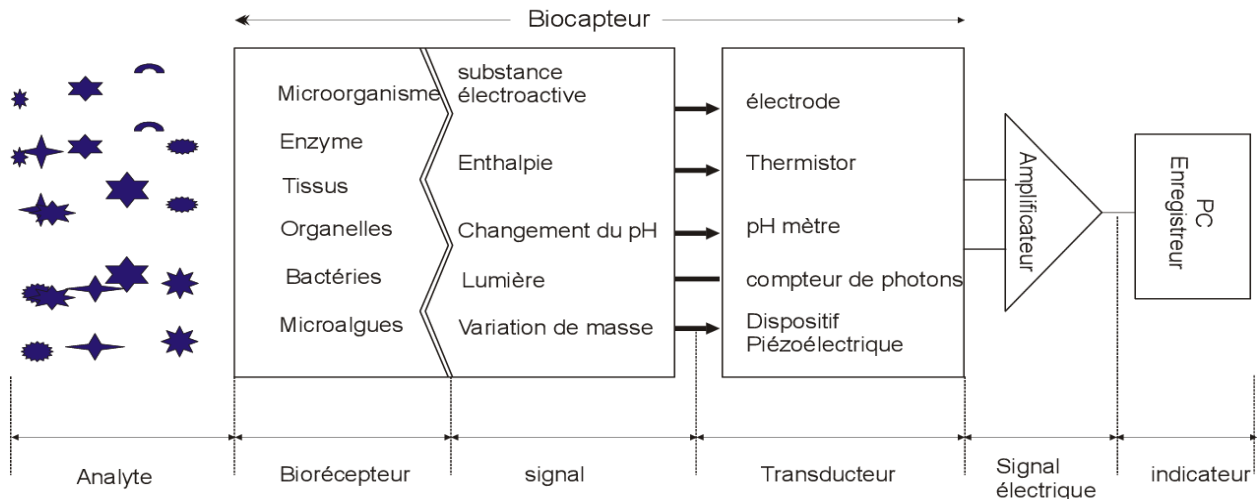


Figure I.8 : Représentation schématique du principe de fonctionnement d'un biocapteur

6.2. Différents types de biocapteurs

Il existe plusieurs types de biocapteurs, chacun conçu en fonction de ses applications spécifiques, telles que la détection de biomolécules, le suivi des paramètres physiologiques, le contrôle de la qualité alimentaire, la surveillance environnementale, et le diagnostic médical. Ces biocapteurs varient également en fonction de leur principe de

fonctionnement, incluant les biocapteurs électrochimiques, optiques, thermiques et acoustiques, chacun apportant des avantages distincts en termes de sensibilité, de spécificité et de rapidité de réponse.

6.2.1. Biocapteurs manométriques

Les biocapteurs manométriques détectent les variations de pression. Effectivement, une modification de la concentration d'un gaz dans une cavité close peut être interprétée comme une modification de la pression partielle du gaz. En règle générale, le ligand est une enzyme qui transforme l'espèce à détecter en gaz. Le principal avantage de ce type de capteur est de ne jamais être directement en contact avec l'échantillon à analyser.

6.2.2. Biocapteurs piézoélectriques

Le fonctionnement de ces biocapteurs repose sur la mesure de l'oscillation d'un cristal de quartz sur lequel le composé biologique est fixé. L'avantage d'un cristal de quartz est en effet qu'il peut osciller sous l'action d'un stimulus électrique lorsqu'il est plongé en partie ou entièrement dans un milieu liquide. Il est possible de mesurer toute variation de masse à la surface du cristal de quartz, à condition que les caractéristiques physico-chimiques du milieu soient connues. En effet, une altération de la masse provoquera une variation mesurable de la fréquence de résonance. Certains biocapteurs ont l'avantage de fournir des réponses rapides, mais leur sélectivité varie en fonction de la couche active et ils peuvent manquer de sensibilité en fonction du système oscillant associé.

6.3.3. Biocapteurs thermiques

Dans les années 1970, ces biocapteurs ont été créés pour convertir un signal biochimique en un signal thermique. On peut mesurer les changements d'enthalpie ou de température causés par une réaction entre le biorécepteur et l'espèce à détecter en utilisant un microcalorimètre ou une résistance thermique, connecté au composé biologique. Quand ces biocapteurs thermiques présentent une activité immunochimique, on les désigne sous le nom de « TELISA » (Assay Thermométrique Enzyme-Linked Immunosorbent). Ces biocapteurs ont principalement été employés pour détecter l'insuline. La rapidité de réponse, la reproductivité, l'absence d'interférence des produits dérivés et d'interférence électrochimique ou optique, ainsi que la stabilité des colonnes d'enzymes sont les principaux atouts de ce type de biocapteurs. Toutefois, leur prix est

plutôt élevé en raison de la complexité de l'instrumentation requise pour leur mise en place.

6.3.4. Biocapteurs optiques

De nombreuses techniques optiques ont été adaptées afin d'être utilisées pour l'élaboration de biocapteurs. Les principales méthodes sont : la mesure de l'absorbance, de la chemiluminescence, de la fluorescence, de la résonance plasmonique de surface ou encore de l'onde évanescente.

✓ **Biocapteurs mesurant l'absorbance**

Mesure de l'absorbance par des biocapteurs L'interaction entre le biorécepteur et l'espèce à détecter provoque l'apparition d'une coloration dans ce genre de biocapteurs. Par exemple, un anticorps secondaire, représenté par une enzyme (la phosphatase alcaline), va mettre en évidence la création d'un complexe immune (interaction entre un antigène et un anticorps). Effectivement, l'incorporation du substrat de cette enzyme entraîne une coloration visible à une certaine longueur d'onde, ce qui entraîne une altération de l'absorbance.

✓ **Biocapteurs mesurant la fluorescence**

Le principe est le même que celui exposé ci-dessus pour les biocapteurs à absorbance. Deux cas de figure se présentent : soit nous avons une détection du type light off (diminution de la fluorescence après contact avec la molécule cible) ; soit une détection de type light on (augmentation de la fluorescence après contact avec la molécule cible). La spécificité de ces biocapteurs est accrue par la modification génétique. Un promoteur de gène spécifique à un réactif ou un groupe de réactif donné est inséré dans une cellule. Ce promoteur est fusionné à un gène codant permettant l'expression d'une protéine facilement détectable. Un des gènes les plus couramment utilisés est le la Green Fluorescent Protein (GFP) responsable de la production protéine naturellement fluorescente.

✓ **Biocapteur utilisant le principe de l'onde évanescente**

Un faisceau de lumière polarisée, illuminant l'interface entre deux milieux, donne naissance à un faisceau réfléchi et à un faisceau réfracté. Cependant, selon l'angle d'incidence, la lumière peut être totalement réfléchie. Dans ce cas, une onde

électromagnétique pourra être générée, cette onde est aussi appelée onde évanescente et elle se propage perpendiculairement à la surface de l'interface . La zone balayée par l'onde est appelée « champ évanescent ». Cette onde évanescente de par son énergie va modifier l'indice de réfraction du milieu et donc une variation de l'angle de résonance sera observée. Cette variation pourra être mesurée par le capteur, ce phénomène est également appelé « miroir résonant ».

✓ **Biocapteurs à résonance plasmonique de surface (SPR)**

Les lois de la mécanique quantique définissent également le phénomène de résonance plasmonique de surface (SPR), qui repose également sur le principe d'onde évanescente. On peut mesurer le phénomène SPR de deux façons différentes.

Soit en mesurant la fluctuation de l'angle de résonance. Effectivement, les photons de l'onde évanescente réagissent avec les nuages électroniques d'une fine couche de métal sur l'interface, également connue sous le nom de plasmon, ce qui entraîne une diminution de l'intensité du faisceau réfléchi en fonction d'un angle spécifique (angle de résonance). Cet angle dépend de la quantité d'espèces à repérer qui se fixent sur les ligands identifiés à l'interface.

6.3.5. Biocapteurs à ondes acoustiques

Les biocapteurs à ondes acoustiques de surface reposent sur la possibilité de créer une onde acoustique à partir de matériaux piézoélectriques .Une onde acoustique de surface est une onde acoustique mécanique qui se propage à la surface d'un cristal piézoélectrique. L'amplitude de l'onde, ainsi que sa vitesse, sont modifiées par la nature du milieu en contact avec la surface du piézoélectrique. Pour l'instant, l'intérêt pour ce type de biocapteurs reste très limité en comparaison de celui porté aux biocapteurs à résonance plasmonique de surface .

6.3.6. Biocapteurs électrochimiques

Le principe des biocapteurs électrochimiques consiste à fixer le biorécepteur sur l'électrode. Lorsqu'un substrat est ajouté, une réponse biochimique se produit, qui se transforme en un signal électrique qui peut être amplifié et calculé. Les principaux atouts des biocapteurs électrochimiques sont donc leur simplicité, leur faible coût de revient et leur réponse rapide. Par contre, ils peuvent être peu sélectifs. Effectivement, lorsque le

potentiel utilisé est élevé, si l'échantillon à analyser contient des substances électroactives contaminantes ou des protéines, celles-ci risquent de se rassembler sur l'électrode. Il peut s'agir de biocapteurs à ampérométrie, potentiométrie ou conductrimétrie.

Dans le travail de Zhang [31] sur un capteur de glucose à haute sensibilité et sélectivité en utilisant une architecture basée sur des nanoparticules magnétiques cœur-coquille (core-shell) soutenues par une électrode de pâte de carbone. Les enzymes glucose oxydase (GOx) et horseradish peroxidase (HRP) ont été immobilisées sur ces nanoparticules pour permettre la détection électrochimique du glucose.

Les nanoparticules fonctionnalisées ont été mélangées avec une pâte de carbone pour former l'électrode. Cette électrode a été utilisée pour mesurer le courant électrique généré par les réactions enzymatiques, permettant ainsi la détection du glucose.

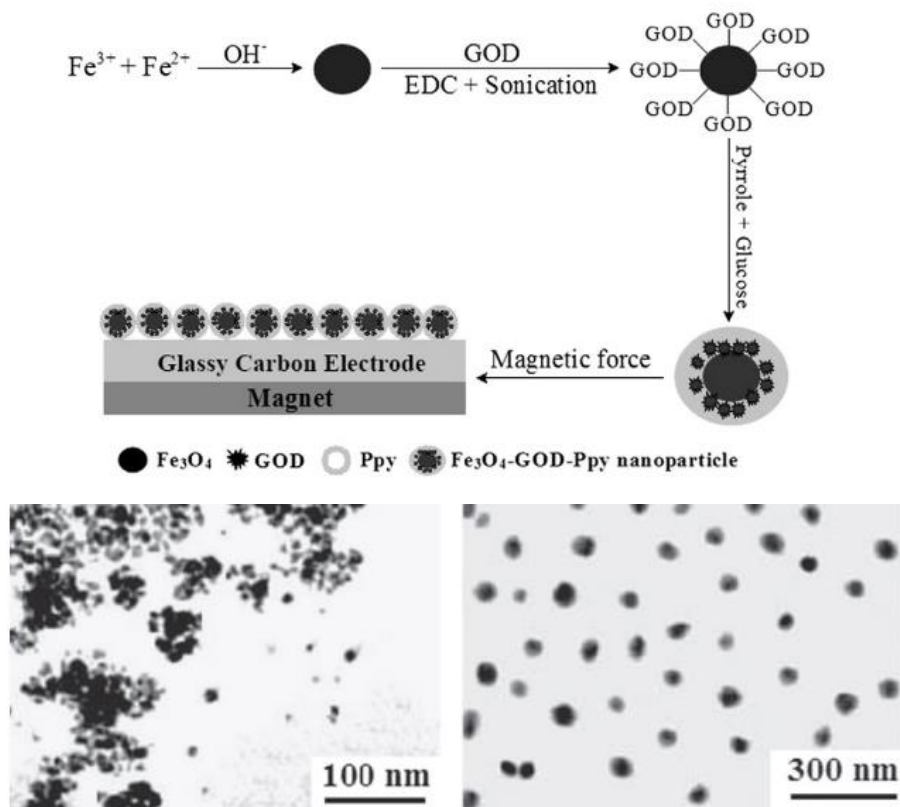


Figure I.9 : Représentation schématique de la construction d'une électrode de carbone vitreux magnétique modifiée avec des images par microscope à transmittance électronique.

Le capteur développé a démontré une réponse rapide et linéaire au glucose dans une gamme de concentrations, avec une limite de détection très basse, ce qui le rend approprié pour des applications cliniques. La réponse électrochimique était proportionnelle

à la concentration de glucose, confirmant la fonctionnalité des enzymes immobilisées et l'efficacité du transfert électronique entre les enzymes et l'électrode de pâte de carbone. L'utilisation de nanoparticules magnétiques cœur-coquille a permis une immobilisation stable et efficace des enzymes, augmentant ainsi la sensibilité et la robustesse du capteur. Les propriétés magnétiques des nanoparticules ont également facilité la récupération et le recyclage du capteur, ce qui est un avantage significatif pour des applications à long terme.

7. Activités biologiques spécifiques :

Les activités biologiques spécifiques, telles que les activités antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticancéreuses, jouent un rôle crucial dans la santé et le bien-être des organismes [32].

7.1 Activités antioxydantes

Les activités antioxydantes concernent la capacité des substances à neutraliser les radicaux libres, des molécules instables qui peuvent endommager les cellules et contribuer au vieillissement et à diverses maladies. Les antioxydants protègent les cellules en :

- ✓ **Piégeant les radicaux libres** : Prévenant ainsi les dommages oxydatifs aux composants cellulaires comme les lipides, les protéines et l'ADN.
- ✓ **Régénérant d'autres antioxydants** : Comme la vitamine C régénérant la vitamine E.

Les antioxydants se trouvent naturellement dans divers aliments, notamment les fruits, les légumes, les noix et les graines. Les vitamines C et E, le bêta-carotène, et les polyphénols sont des exemples courants.

7.2 Activités antimicrobiennes

Les activités antimicrobiennes font référence à la capacité des substances à inhiber la croissance ou à tuer les micro-organismes pathogènes tels que les bactéries, les virus, les champignons et les parasites. Les mécanismes incluent :

- ✓ **Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire** : Comme le font les antibiotiques bêta-lactamines.
- ✓ **Interférence avec la synthèse des protéines** : Par exemple, les aminoglycosides.

- ✓ **Dommmages à la membrane cellulaire** : Comme le font les agents antimicrobiens tels que les polymyxines.

Les antimicrobiens peuvent être naturels, comme les huiles essentielles et certains composés végétaux, ou synthétiques, comme les antibiotiques et les antiviraux.

7.3 Activités anti-inflammatoires

Les activités anti-inflammatoires impliquent la réduction de l'inflammation, une réponse immunitaire complexe à une infection ou une blessure, souvent accompagnée de douleur, de rougeur, de chaleur et de gonflement. Les substances anti-inflammatoires agissent par :

- ✓ **Inhibition de la production de médiateurs inflammatoires** : Comme les prostaglandines et les cytokines.
- ✓ **Réduction de l'infiltration des cellules inflammatoires** : Dans les tissus affectés.

Les anti-inflammatoires peuvent être des médicaments, tels que les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) comme l'ibuprofène, ou des composés naturels, comme les polyphénols présents dans le thé vert et le curcuma.

7.4 Activités anticancéreuses

Les activités anticancéreuses concernent la capacité des substances à prévenir, inhiber ou traiter le cancer. Les mécanismes incluent :

- ✓ **Induction de l'apoptose** : La mort cellulaire programmée des cellules cancéreuses.
- ✓ **Inhibition de la prolifération cellulaire** : En bloquant les voies de signalisation nécessaires à la croissance des cellules cancéreuses.
- ✓ **Interférence avec l'angiogénèse** : La formation de nouveaux vaisseaux sanguins nécessaires à la croissance tumorale.

Les agents anticancéreux peuvent être des médicaments chimiothérapeutiques, des thérapies ciblées, ou des composés naturels tels que certains flavonoïdes et alcaloïdes.

8. Etude de l'activité anti-inflammatoire par les méthodes électrochimiques :

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire et toxique d'une plante médicinale par des méthodes électrochimiques (Voltammétrie cyclique, spectroscopie d'impédance, chronoampérométrie,..) peut être une approche innovante et précise. Les méthodes électrochimiques exploitent les propriétés électrochimiques des composés chimiques pour caractériser leur activité biologique. De plus, en surveillant les effets toxiques potentiels, ces méthodes peuvent aider à garantir la sécurité de l'utilisation de la plante médicinale. Cependant, il est important de noter que ces techniques nécessitent une expertise technique et une validation appropriée pour assurer leur fiabilité et leur précision dans l'évaluation de l'activité biologique des plantes médicinales.

Dans une étude par [33] a démontré que les méthodes électrochimiques, telles que la voltamétrie cyclique et la chronoamperométrie, sont des outils puissants pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des composés bioactifs. La curcumine a montré une efficacité notable en réduisant la production de NO par les macrophages activés (les macrophages sont des cellules du système immunitaire, appartenant au groupe des globules blancs, qui jouent un rôle essentiel dans la défense de l'organisme contre les agents pathogènes et dans la régulation des réponses inflammatoires. Ils sont présents dans différents tissus et organes, où ils peuvent être libres ou fixés.), ce qui souligne son potentiel en tant qu'agent anti-inflammatoire. Dans cette étude la curcumine est un polyphénol naturel dérivé de la racine de curcuma (*Curcuma longa*) utilisé depuis des siècles comme épice, colorant et médicament. La curcumine présente des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, anticancérogènes, antimicrobiennes, antivirales, antipaludiques, hépatoprotectrices, thrombosuppressives, cardiovasculaires, hypoglycémiantes, antiarthritiques et antinéurodégénératives. Elle piège différentes formes de radicaux libres et agit sur les facteurs de transcription, les facteurs de croissance et leurs récepteurs, les cytokines, les enzymes et les gènes, régulant la prolifération cellulaire et l'apoptose.

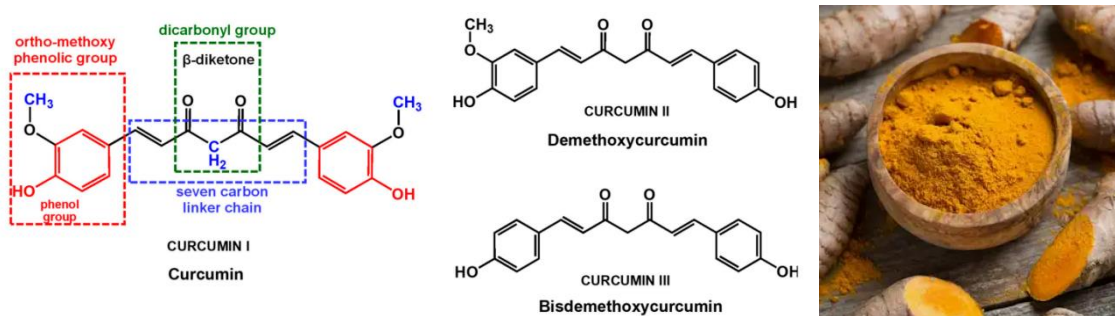


Figure I.10 : Structures chimiques de la curcumine (curcumine I), de la déméthoxycurcumine (curcumine II) et bisdeméthoxycurcumine (curcumine III).

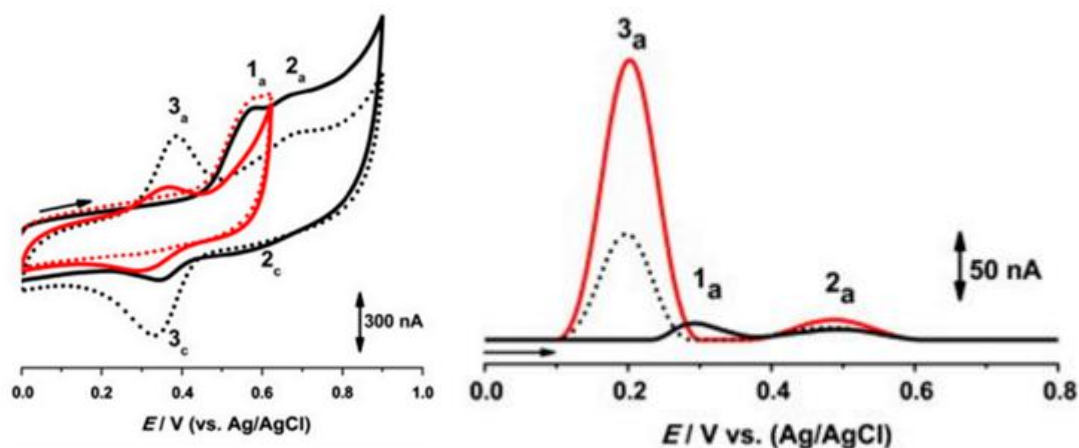


Figure I.11 : Voltampérogrammes cycliques et linéaire dans une solution 100 μM de curcumine à $\text{pH} = 4,3$

La curcumine est électroactive et une relation entre ses propriétés de transfert d'électrons et son activité de piégeage des radicaux a été mise en évidence. L'objectif de cette étude est de fournir un aperçu complet des réactions de transfert d'électrons de la curcumine, en mettant l'accent sur les aspects controversés liés à son mécanisme d'oxydation. Les sections finales se concentreront sur l'électroanalyse de la curcumine dans les produits naturels, en soulignant les stratégies de détection les plus importantes, basées sur des électrodes fonctionnelles et des matériaux nanostructurés, essentielles pour le développement de méthodes *in vitro* plus efficaces pour la détection et la quantification de la curcumine dans les échantillons alimentaires, les compléments et les nutraceutiques.

CHAPITRE II : les méthodes électrochimiques

Le deuxième chapitre porte sur la description de l'ensemble des dispositifs de caractérisation électrochimique, spectroscopique, structurale, thermique et morphologique. Les techniques de caractérisation électrochimique utilisées dans cette étude comprennent la voltammétrie cyclique (VC), la voltampérométrie à ondes carrées et la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE). La technique spectroscopique comprend la spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF), et la technique morphologique inclut la microscopie optique.

II.1. Produits Chimiques

Réactifs utilisés dans cette étude :

- Aniline ($C_6H_5NH_2$)
- Sulfate de sodium (Na_2SO_4)
- Albumine sérum bovin (BSA) (Figure II.1)

L'albumine sérum bovin (BSA), également appelée sérum albumine bovine, est une protéine monomérique composée d'une seule chaîne d'acides aminés d'un poids moléculaire de 66,5 kDa que l'on trouve dans le sang des vaches. Composant majeur du plasma sanguin, la BSA est produite par le foie.

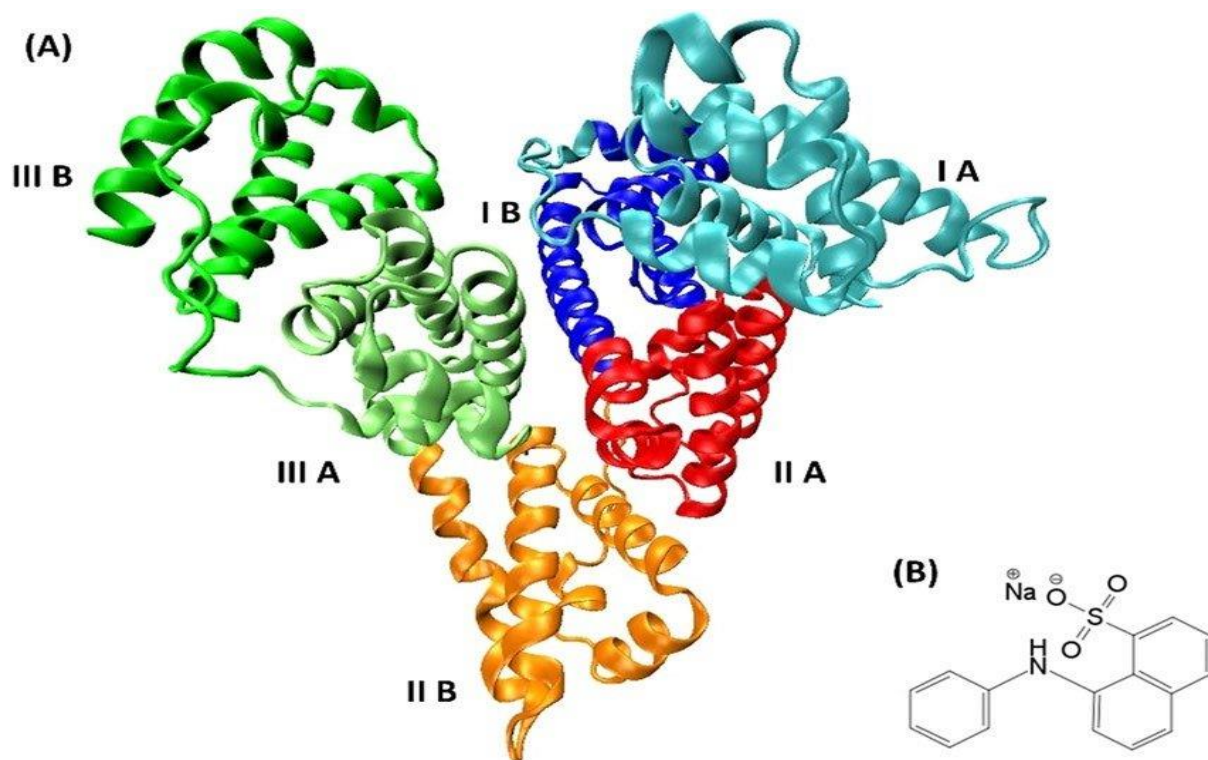


Figure II.1 : Structure de l'albumine sérum bovin (BSA)

II.2. Techniques Experimentales

Les techniques électrochimiques, analytiques et spectroscopiques employées dans cette étude comprennent la voltampérométrie cyclique (VC), la voltampérométrie à ondes carrées et la spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE). La technique spectroscopique comprend la spectroscopie infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF), et la technique morphologique inclut la microscopie optique.

II.3. Techniques d'électrochimiques

L'ensemble des mesures électrochimiques ont été effectuées dans une cellule en verre contenant la solution d'électrolyse dans laquelle sont plongées trois électrodes. Une électrode en fil de platine ou une plaque d'ITO ($R = 28 \Omega / \text{Sq}$) (SOLEMS) ont été utilisées comme électrode travail. L'électrode de référence est du modèle Ag/AgCl (KCl 3M) et l'électrode auxiliaire est un crayon de carbon. Le nettoyage de l'électrode est effectué avant chaque manipulation afin de garantir la fiabilité des résultats des tests. Pour ce qui est du dispositif utilisé pour les mesures électrochimiques, celui-ci comprend un potentiostat du type Biologic (SP300).

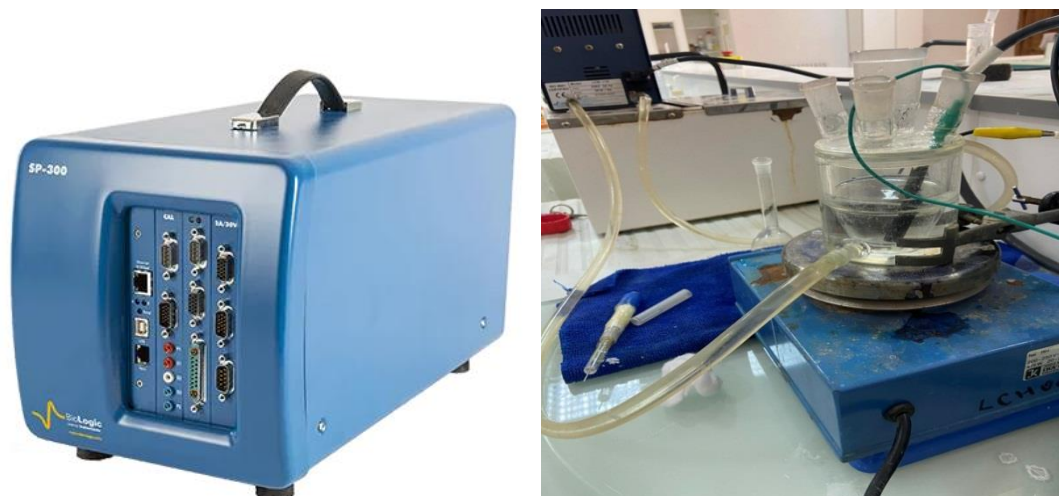


Figure II.2 : Potentiostat/galvanostat Biologic (SP300) et Cellule électrochimique à trois électrodes.

II.3.1. Voltampérométrie cyclique :

La voltampérométrie cyclique est une méthode d'électroanalyse basée sur la mesure du flux de courant résultant de réduction ou d'oxydation des espèces présentes en solution. Les différentes techniques voltammétriques découlent des innovations portant sur la façon dont le signal $E=f(t)$ est imposé et le signal $i = f(E)$ est mesuré qui ont été développées dans le but de maximiser le rapport i_t/i_c afin d'augmenter la sensibilité. i_f est le courant

faradique associé aux processus d'oxydoréduction, i_c est le courant capacitif lié à l'existence de la double couche électrique. Soit $i = i_f + i_c$ (contribution faradique et capacitive à l'interface électrode/solution).

Dans cette méthode, on applique une tension à l'électrode et on analyse l'évolution du courant qui la traverse au fil du temps. Elle est généralement utilisée pour réaliser deux balayages linéaires, le premier appelé « aller » et le second appelé « retour » en sens inverse, de manière à revenir au potentiel initial, après avoir réalisé un cycle [34]. Dans cette situation, la méthode est appelée voltampérométrie cyclique, qui est son nom habituel. La voltampérométrie cyclique, qui consiste à effectuer un balayage linéaire de potentiel à partir d'un potentiel initial E_i , est la pratique la plus efficace pour atteindre sa véritable puissance. tel que (1):

$$E = E_i \pm v.t \quad (1)$$

Où v est la vitesse de balayage, le signe $+$ correspond à un balayage vers les potentiels positifs, le signe $-$ à un balayage vers les potentiels négatifs.

L'évolution du densité de courant $i(t)$ qui traverse le système électrochimique au cours de la voltampérométrie, représentée sur un graphe en fonction de la valeur de $E(t)$, porte le nom de voltampérogramme ou aussi courbe de polarisation. Dans le cas de la voltamétrie cyclique, on indique par des flèches le sens du balayage. La figure II.3 représente l'allure générale d'un voltampérogramme $i=f(E)$.

Les grandeurs caractéristiques d'un voltampérogramme sont : i_{pc} , i_{pa} : courant de pic cathodique et anodique, E_{pc} , E_{pa} : potentiel de pic cathodique et anodique, $E_{pc/2}$, $E_{pa/2}$: potentiel à mi-hauteur des pics cathodique et anodique, ΔE_p ; différence de potentiel entre E_{pc} et E_{pa} .

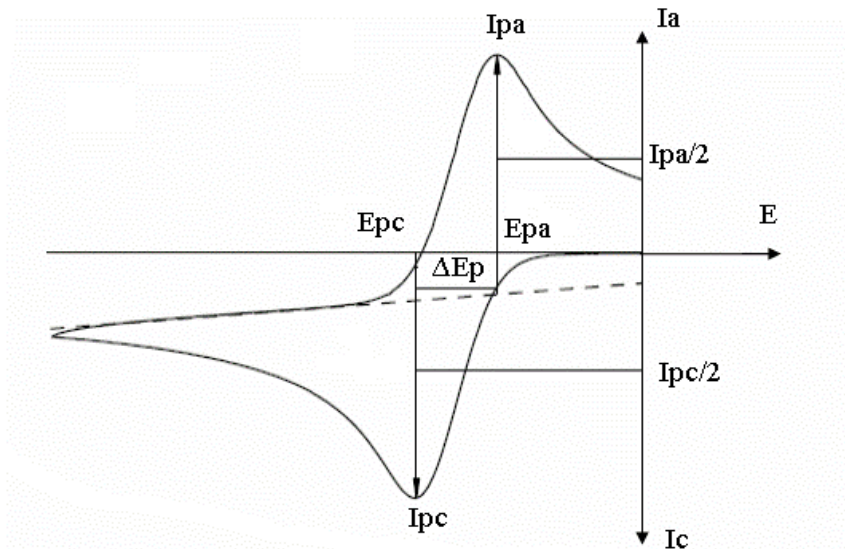
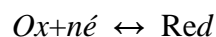


Figure II.3: Allure générale d'un voltampérogramme cyclique.

Les voltamogrammes cycliques sont caractérisés par plusieurs paramètres importants. Quatre d'entre eux sont observables, à savoir le potentiel d'oxydation (E_{pa}) et le potentiel de réduction (E_{pc}), ainsi que les intensités actuelles des pics i_{pc} et i_{pa} des espèces étudiées, qui constituent la base du test diagnostique développé par Nicholson et Shain. La réponse du cycle voltamétrique.

L'étude des courbes intensité-potential enregistrées (souvent appelées voltamogrammes cycliques) reflète les caractéristiques du système étudié. Trois situations doivent être considérées :

- ✓ Dans le cas d'un transfert de charge rapide :



$$I_{pa} = (2.69 \times 10^5) \cdot n^{3/2} \cdot D_{ox}^{1/2} \cdot C_{ox} \cdot V^{1/2} \text{ (mA)} \quad (2)$$

$$E_p = E_{p/2} + 0.029 / n \text{ (mV)} \quad (3)$$

$$E_{pa} - E_{pc} = 0.059 / n \text{ (V)} \quad (4)$$

$$I_{pa} / I_{pc} = 1 \quad (5)$$

- ✓ Dans le cas d'un transfert de charge semi-rapide :

$$I_p = (2.69 \times 10^5) \cdot S \cdot n^{3/2} \cdot D^{1/2} \cdot C \cdot K \cdot V^{1/2} \quad (6)$$

✓ Dans le cas d'un transfert de charge lent (irréversible) :

$$I_{pc} = (2.99 \times 10^5) \cdot \alpha^{1/2} \cdot D_R^{1/2} \cdot C_R \cdot V^{1/2} \quad (7)$$

K: Constante de vitesse

α : Coefficient de transfert

D_{Ox} : Coefficient de diffusion (cm²/s)

C: Concentration,

V: Vitesse de balayage (V/s)

A: Surface d'électrode (cm²) ;

n: Nombre d'électron.

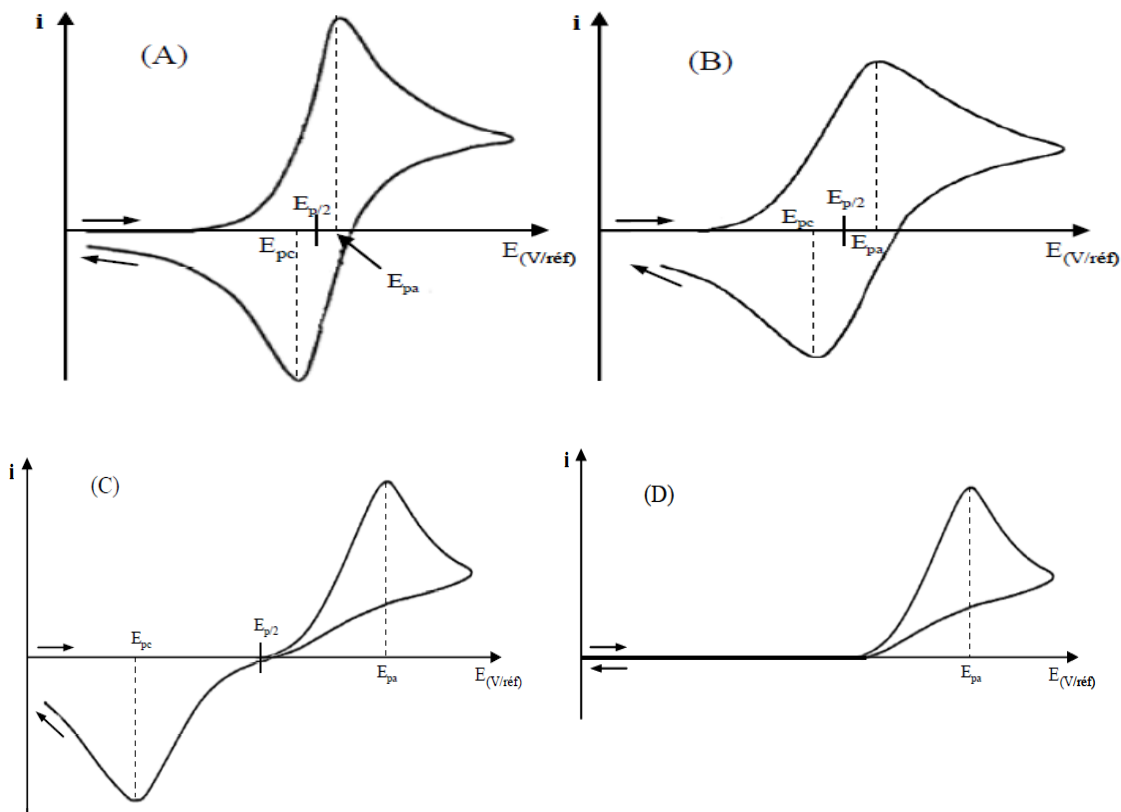
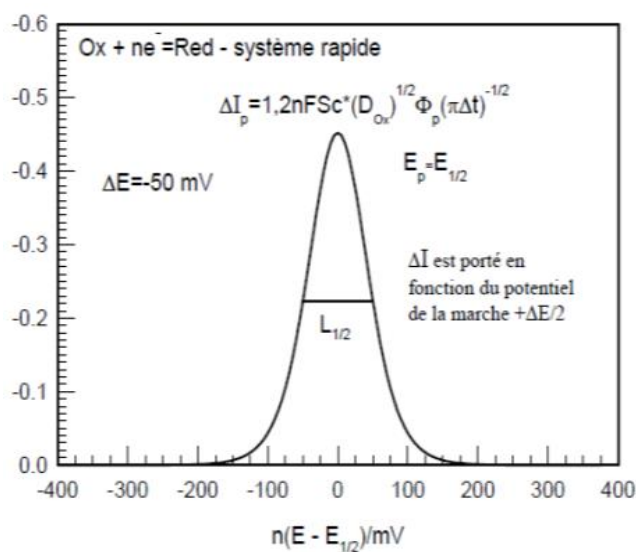


Figure II.4 : Voltammogrammes cycliques pour des systèmes réversible rapide (A), quasi réversible semi rapide (B) réversible lent (C) et (D) des systèmes irréversible

II.3.2. Voltampérométrie à ondes carrées (SWV)

La voltampérométrie à ondes carrées (SWV) est basée sur la combinaison de la modulation d'amplitude d'onde carrée et de la rampe-escaliers. Le modèle de potentiel appliqué à l'électrode de travail se compose d'étapes. Le potentiel électrique, de hauteur $|\Delta E_S|$ (de l'ordre de 5 mV), a une impulsion sur son pas un potentiel électrique de durée Δt (environ 20 ms) et d'amplitude constante $|\Delta E|$ (environ 50 mV), se superposent. Appliquer une impulsion de potentiel de durée $2\Delta t$ au début de chaque étape (environ 40 ms). Le signal de mesure est la différence entre les courants mesurés à la fin chaque impulsion montante et descendante de l'onde carrée. Les principaux avantages de SWV sont Cela permet de modifier le potentiel à un rythme plus élevé, augmentant ainsi la sensibilité est obtenue non seulement en augmentant le rapport courant faradique/courant capacitif le temps de mesure peut également être réduit. La réponse en courant est de type gaussien et le maximum du pic correspond au potentiel standard du couple rédox considéré (Figure II.5). L'intensité du pic est proportionnelle à la concentration de l'espèce électroactive et des limites de détection aussi faibles que 10^{-8} M peuvent être atteintes. Cette méthode peut également nous permettre de déterminer le nombre d'électrons échangés au cours de la réaction (largeur à mi-hauteur $L_{1/2} = 3.52RT/nF$).

La voltampérométrie à onde carrée est une technique à grande amplitude différentielle dans laquelle une forme d'onde constituée d'une onde carrée symétrique superposée à un potentiel avec une rampe étagée est appliquée à l'électrode de travail. Le courant est échantillonné deux fois au cours de chaque cycle d'onde carrée, une fois à la fin de chaque impulsion montante (à l'instant t_1) et une fois à la fin de l'impulsion inverse (à t_2). Le signal de mesure (la différence D_i entre les courants mesurés de deux impulsions consécutives) est enregistré comme réponse nette et tracé par rapport au potentiel correspondant de la forme d'onde échelonnée. La SWV peut améliorer la sensibilité non seulement en augmentant le rapport courant faradique/courant capacitif, mais également en réduisant le temps de mesure.



(a) (b)

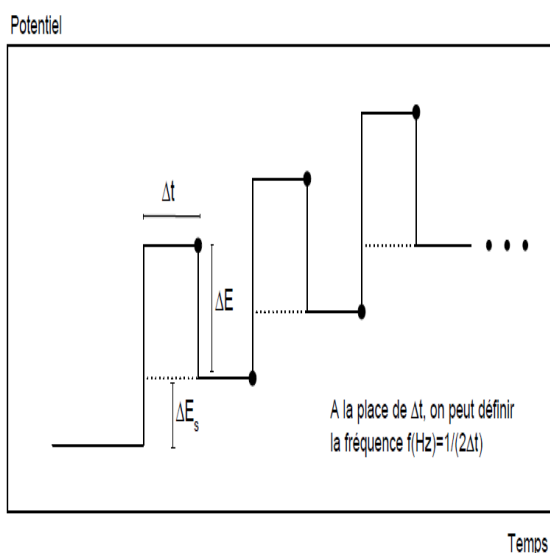


Figure II.5 :(a) Forme du potentiel en voltammétrie ondes carrées et (b) spectre SWV d'une réaction réversible.

- Le courant net de pic peut être calculé par la relation suivante :

$$\Delta i_p = nFSD_r^{1/2} \Delta \phi_p f^{1/2} C \quad (8)$$

n : le nombre d'électrons .

F : la constante de Faraday .

S : la surface de l'électrode .

C : la concentration de l'espèce Ox ou Red .

D : le coefficient de diffusion de l'espèce Ox ou Red .

f : la fréquence d'onde carrée .

E : le potentiel de demi-onde de la réaction.

La réponse nette adimensionnelle $\Delta \phi_p$ est fonction courant net sans dimension et sa valeur est proche de l'unité près du pic.

Les mesures à partir de la voltampérométrie à onde carrée ont été utilisées dans de nombreuses mesures électrochimiques et électroanalytiques. En plus d'étudier la cinétique

de transfert de charge des ions dissous et des espèces organiques adsorbées, le mécanisme de réaction redox des métaux adsorbés a également été analysé.

II.3.3. Spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE) :

L'impédance est une mesure de l'aptitude d'un système électrique à s'opposer au flux d'électrons. D'un point de vue électrique, un système électrochimique peut être considéré comme un circuit électrique équivalent comprenant des éléments capacitifs, résistif et inductifs prenant en compte les phénomènes physiques qui s'y déroulent. L'un des objectifs de la spectroscopie d'impédance électrochimique est d'aboutir à cette modélisation électrique du système. L'impédance électrochimique est mesurée en appliquant un potentiel d'excitation périodique à une électrode ou à la cellule, et en mesurant le courant induit. Dans le cas où le potentiel d'excitation est de forme sinusoïdale, de fréquence f et d'amplitude du signal E_0 , l'expression du potentiel au cours du temps ($E(t)$) s'écrit :

$$E(t) = E_0 \cdot \sin(2\pi f t) \quad (9)$$

avec :

E_0 : amplitude du signal (V)

f : fréquence du signal (s⁻¹)

t : temps (s)

Ce potentiel peut être considéré comme un vecteur tournant de longueur E_0 et de fréquence de rotation ω . Le courant sinusoïdal est lui aussi un vecteur tournant à la même fréquence que le potentiel. Ces deux vecteurs ne sont pas en phase et sont séparés par l'angle de phase ; Le courant est défini comme :

$$I(t) = I_0 \cdot \sin(2\pi f t + \Phi) \quad (10)$$

avec :

I_0 : amplitude du signal (A)

f : fréquence du signal (s⁻¹)

t : temps (s)

Φ : décalage de phase (rad)

Une expression analogue à la loi d'Ohm permet de calculer l'impédance du système, exprimée en terme d'impédance (Z_0) et de décalage de phase (Φ) :

$$Z = E_{(t)} / I_{(t)} = E_0 \cdot \sin(2\pi f \cdot t) / I_0 \cdot \sin(2\pi f \cdot t + \Phi) = Z_0 \cdot [\sin(2\pi f \cdot t) / \sin(2\pi f \cdot t + \Phi)] \quad (11)$$

Ou encore, exprimée sous sa forme complexe (avec $\omega = 2\pi f$, la pulsation du signal) :

$$Z_\omega = Z_0 \cdot (\cos(\Phi) + j \cdot \sin(\Phi)) \quad (12)$$

avec :

$$j : \text{imaginaire} : j = (-1)^{1/2}$$

L'expression de Z_ω est ainsi composée d'une partie réelle (couramment annotée Z') et d'une partie imaginaire (couramment annotée Z'').

Aux hautes fréquences, impliquant des phénomènes rapides (transferts électroniques, transferts charge) alors qu'aux basses fréquences ce sont des processus lents (phénomènes de diffusion, adsorption, cinétique de réaction). Les matériaux à changement de phase, la spectroscopie de l'impédance permet l'évaluation de plusieurs paramètres de fonctionnement électrique (contact électricité, double couche électrique,....etc.), en électrochimie (diffusion, transfert de charges, dynamique, courants d'échange,....etc.), la biologie (évolution temporelle, comportement des biofilms, catalyse, biofouling, etc.) ou physico-chimie (surfaces actives réelles, conductivité) électrolyte, conductivité membranaire, etc.).

II.4. Spectroscopie infra rouge à Transformée de Fourier (IRTF)

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF) permet, via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau. Elle est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Lorsque l'énergie associée à la longueur d'onde apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière absorbera le rayonnement pour marquer une diminution de l'intensité réfléchie ou transmise.

Le domaine infrarouge entre 4000 cm^{-1} et 400 cm^{-1} ($2.5 - 25\ \mu\text{ m}$) correspond au domaine d'énergie de vibration fondamentale des molécules.

Les spectres IR du graphène et composés synthétisés sont enregistrés à l'état solide à l'aide d'un Spectrophotomètre (IRAFFINITY-1S Shimadzu) (Figure II.6).



Figure II.6: Spectromètre IRAFFINITY-1S Shimadzu.

II.5. Microscopie optique

La microscopie optique est une technique d'imagerie qui utilise la lumière visible pour observer des échantillons à une échelle microscopique. Elle est largement utilisée dans de nombreux domaines scientifiques et industriels, y compris l'analyse des surfaces de matériaux tels que la polyaniline (PANI), en présence et en absence de protéines comme l'albumine sérique bovine (BSA). L'analyse de morphologie des surfaces est réalisée à partir des lentilles pour agrandir l'image d'un échantillon. La lumière est focalisée sur l'échantillon, qui est ensuite observé à travers une lentille objective et une lentille oculaire. Dans cette analyse nous avons utilisé une microscopie optique conventionnelle qui utilise la lumière blanche et convient pour des échantillons transparents ou colorés.

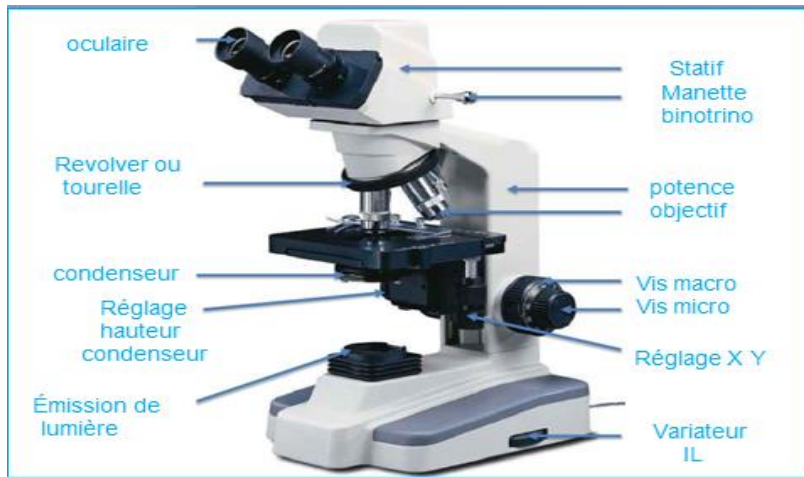


Figure II.7: Microscopie optique type conventionnelle

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1 Etude par voltampérométrie cyclique de la BSA à différentes concentrations

La voltampérométrie cyclique est utilisée pour étudier le comportement la BSA (sérum albumine bovine), pour fournir des informations sur leur comportement électrochimique. La figure III.1 montre l'enregistrement des courbes de voltampérométrie cyclique de la BSA dans un électrolyte de Na_2SO_4 0.1M à différentes concentrations de BSA (0,1 ; 0,2 ; 0,8

et 1 g/L). Lors du balayage vers les potentiels positifs nous avons observé un pic anodique à environ 0,113 V/Ag.AgCl, et ce pic anodique semble augmenter légèrement avec la concentration de BSA. Lors du balayage vers les potentiels négatifs, nous avons observé un large pic cathodique entre -0,25 à -0,19 V/Ag.AgCl, d'où l'intensité du courant du pic augmente en augmentant la concentration de la BSA avec un déplacement légère de potentiel vers les valeurs des potentiels positifs.

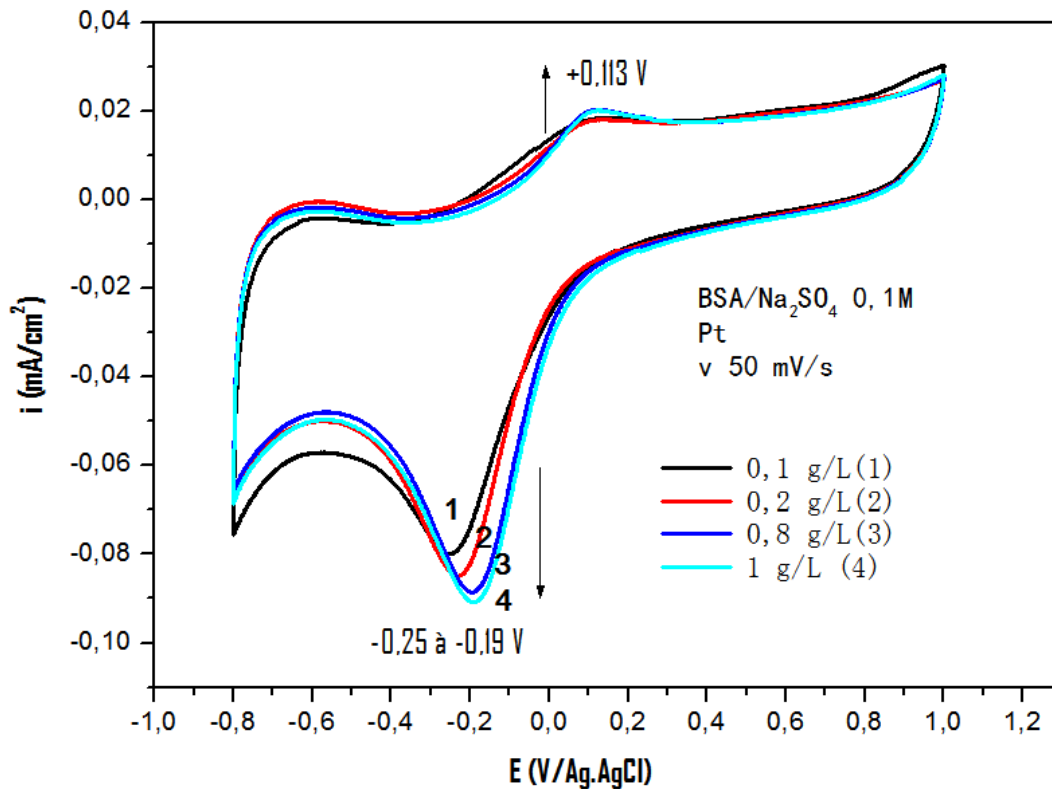


Figure III. 1 : Voltampérogrammes cycliques de la BSA dans un électrolyte de Na₂SO₄ 0,1M à différentes concentrations de BSA (0,1 ; 0,2 ; 0,8 et 1 g/L).

Le pic anodique observé indique une réaction d'oxydation qui se produit à l'électrode. Dans le cas des protéines, cela peut être dû à l'oxydation de certains résidus d'acides aminés ou de groupes fonctionnels présents dans la BSA. L'oxydation des résidus de cystéine, par exemple, est courante et peut entraîner la formation de ponts disulfure, ce qui peut être détecté électrochimiquement.

Le pic cathodique observé indique une réduction qui se produit à l'électrode. Dans le contexte des protéines telles que la BSA, cela pourrait correspondre à la réduction de certains groupes fonctionnels ou des liaisons disulfure qui ont été précédemment oxydés.

Le fait que le pic cathodique soit large et couvre une gamme de potentiels de -0,25 à -0,19 V/Ag/AgCl suggère que plusieurs processus de réduction peuvent se produire simultanément ou successivement. Cela pourrait indiquer la présence de plusieurs groupes réactifs dans la BSA pouvant subir des réductions électrochimiques.

Le déplacement du pic cathodique vers des valeurs de potentiels plus positifs avec l'augmentation de la concentration de BSA suggère une augmentation de l'intensité de la réponse cathodique. Cela peut être interprété comme une augmentation du nombre de sites réactifs disponibles à mesure que la concentration de BSA augmente, ce qui conduit à une augmentation de la réponse cathodique. Ce déplacement peut également un adsorption accrue de la BSA à l'électrode.

Dans les travaux de T. Marian t al. [35] on montrés que la réduction de l'albumine sérique bovine (BSA) en solution à pH 7,4 a été étudiée à l'électrode à goutte de mercure suspendue par voltampérométrie cyclique. Le mécanisme proposé implique la réduction d'une monocouche adsorbée de BSA avec la réduction de la fonction disulfure, le produit reste adsorbé et peut être réoxydé.

III.2 Etude par voltampérométrie à ondes carrées de la BSA à différentes concentrations

La figure III.2 a montre l'enregistrement des voltampérogrammes à ondes carrées de la BSA dans un électrolyte de Na_2SO_4 0.1M à différentes concentrations de BSA (0,1 ; 0,2 ; 0,8 et 1 g/L). L'analyse est effectuée dans une plage de potentiel de -0.5 à 0.2 V par rapport à Ag/AgCl. Lors du balayage des potentiels vers les valeurs positives, un pic est observé à +0.053 V/Ag, AgCl. Ce pic peut être associé à l'oxydation des fonctions de la BSA. On observe également que l'intensité du pic augmente avec la concentration de BSA, indiquant l'électroactivité de la molécule de BSA. Ce pic est caractéristique de la BSA.

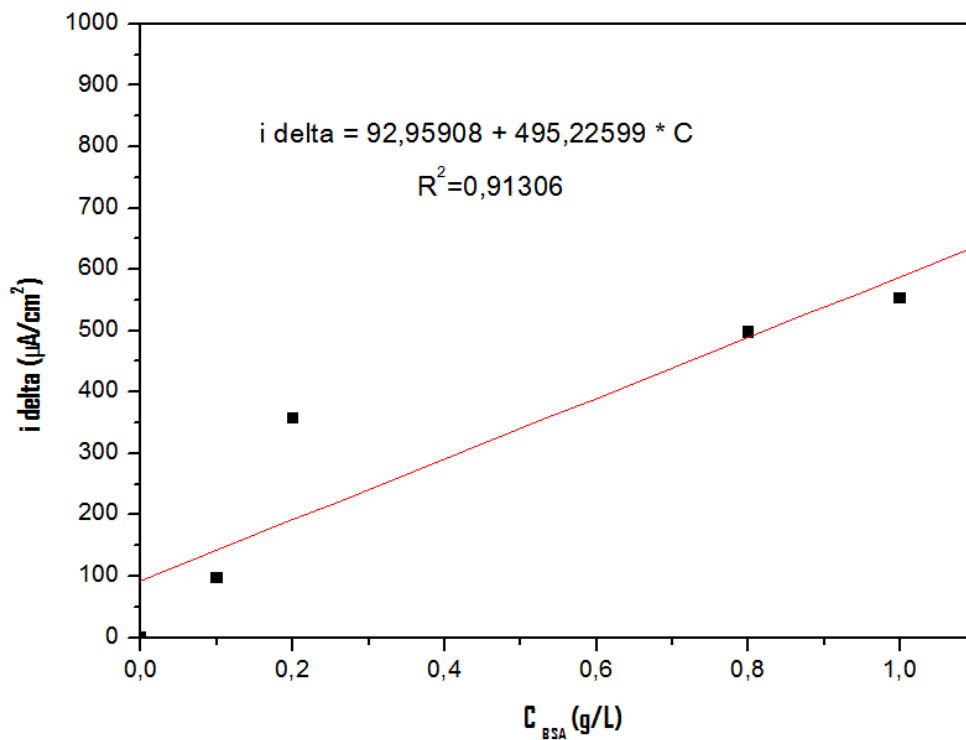
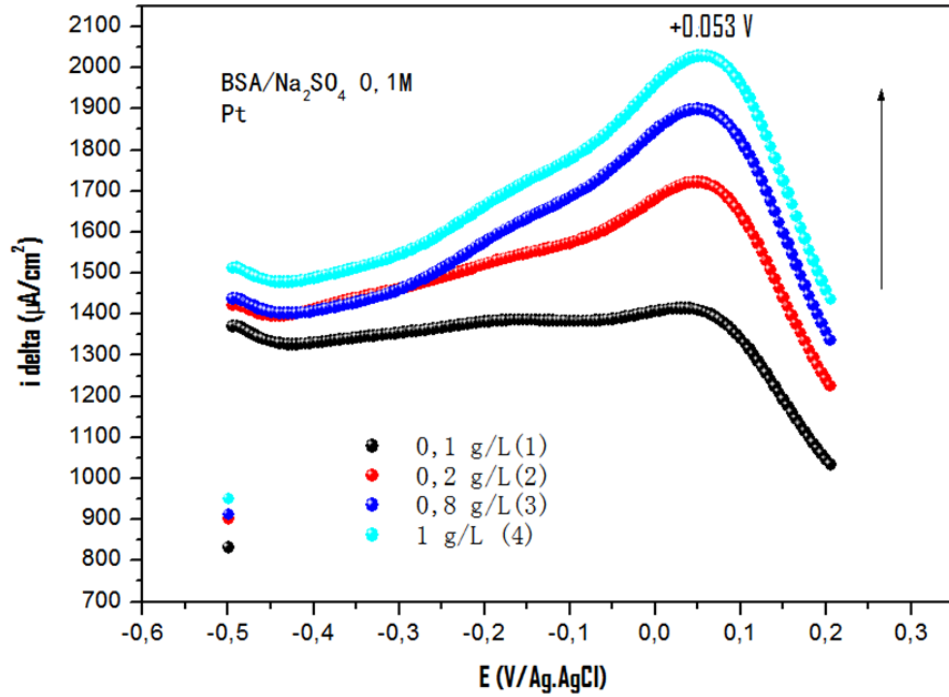


Figure III. 2 : (a) Voltampérommes à ondes carrées de la BSA dans un électrolyte de Na₂SO₄ 0.1M à différentes concentrations de BSA (0,1 ; 0,2 ; 0,8 et 1 g/L) ((b) courbe de la variation de l'intensité du pic anodique à -0.053V Ag/AgCl en fonction de la concentration de la BSA.

En traçant la courbe de la variation de l'intensité du pic anodique qui apparaisse à + 0.053 V/Ag, AgCl en fonction de la concentration de BSA (figure III.2 b), on obtient une droite linéaire du premier ordre décrite par l'équation $\Delta i = 92,95908 + 495,22599 C_{BSA}$, avec un coefficient de corrélation de $R^2=0,91$. Cette relation peut être utilisée pour déterminer la concentration de BSA dans des échantillons inconnus en mesurant l'intensité du pic anodique, la méthode est sensible pour des concentrations de BSA comprises dans la plage étudiée (0,1 à 1 g/L).

III.3 Etude de la dénaturation de la BSA après un chauffage à 60 °C :

La BSA est une protéine globulaire composée de 583 acides aminés, possédant une structure tertiaire complexe maintenue par des liaisons hydrogène, des interactions hydrophobes, des ponts disulfure et des liaisons ioniques. Lorsqu'une protéine est chauffée, l'énergie thermique peut perturber les interactions non covalentes (liaisons hydrogène, interactions hydrophobes) et parfois même les ponts disulfure, qui maintiennent la structure tridimensionnelle de la protéine. À 60°C, ces perturbations commencent à déplier la structure de la BSA, entraînant la perte de sa conformation native et de ses propriétés fonctionnelles. Le processus de dénaturation passe plusieurs étapes :

- ✓ **Dépliement partiel** : Les régions les moins stables de la protéine se déplient en premier, exposant les résidus hydrophobes normalement enfouis à l'intérieur de la protéine.
- ✓ **Exposition des résidus** : L'exposition des résidus hydrophobes à la surface peut entraîner des agrégations protéiques, car les segments hydrophobes tendent à se regrouper pour minimiser leur contact avec l'eau.
- ✓ **Perte de fonction** : La dénaturation entraîne souvent une perte de l'activité biologique de la protéine, car la structure tridimensionnelle est essentielle pour sa fonction.

La dénaturation de la BSA (albumine sérique bovine) après un chauffage à 60°C pendant quelques minutes correspond à un changement structurel irréversible de la protéine.

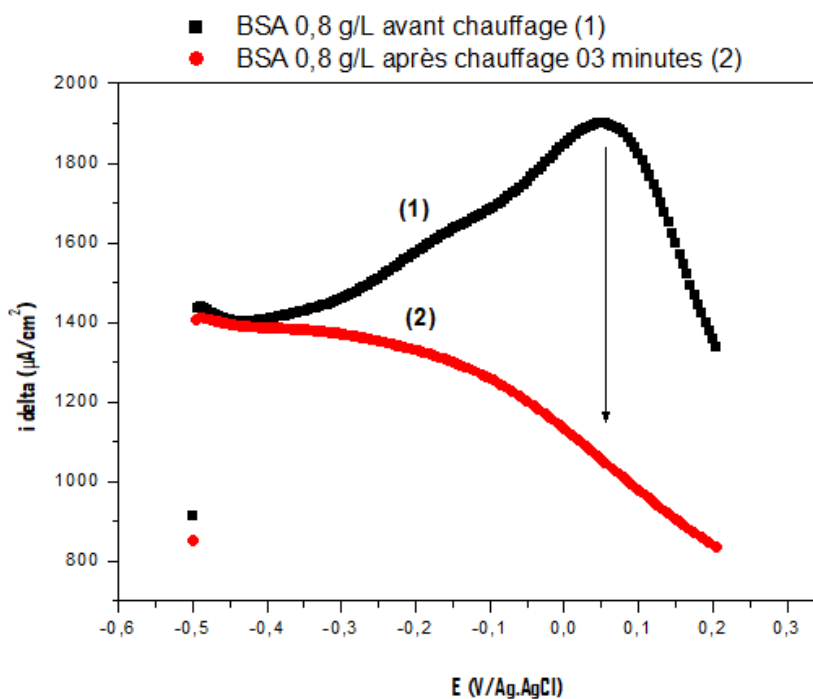


Figure III. 3 : Voltampérogrammes à ondes carrées de la BSA dans un électrolyte de Na_2SO_4 0.1M à différentes concentrations de BSA (0,8 g/L)

La figure III. 3 représente l'étude par voltampérométrie à ondes carrées dans un domaine de potentiel compris entre de -0.5 à 0.2 V/Ag, AgCl, dans laquelle une solution de 0,8 g de BSA est utilisée dans un électrolyte de Na_2SO_4 0,1 M a révélé un résultat intéressant lors du balayage des potentiels vers les valeurs positives. L'intensité du pic anodique à -0,053 V/Ag, AgCl, qui est une caractéristique électrochimique associée à la BSA, a été suivie en fonction du temps de chauffage à 60 °C pendant des durées variables (3, 5, 7 et 10 minutes). Les résultats ont montré que cette intensité du pic anodique disparaissait totalement après un temps de 3 minutes de chauffage, ce qui indique une dénaturation complète de la BSA. Ce résultat démontre la sensibilité de la voltampérométrie à ondes carrées pour détecter les changements structuraux et fonctionnels des protéines électroactives comme la BSA.

III.4 Détermination de l'activité antiinflammatoire par la technique de voltampérométrie à ondes carrées :

L'objectif de cette étude est de déterminer l'activité antiinflammatoire de divers extraits et composés en utilisant la technique de voltampérométrie à ondes carrées. Les composés étudiés incluent des extraits méthanoliques et éthanoliques de la plante *Thapsia Garganica*,

ainsi que deux antiinflammatoires connus : le diclofénac et la triamcinolone acétonide. La BSA (albumine sérique bovine) est utilisée comme modèle pour observer les modifications électrochimiques. La figure III .4 montre les courbes tracées dans un domaine de potentiel de -1 V à +1,2 V vs Ag/AgCl. Les mesures sont prises avant et après chauffage de la BSA à 60°C pendant 3 minutes, en présence ou absence des extraits et des composés étudiés :

- ✓ **BSA seule.**
- ✓ **BSA + diclofénac (25 mg).**
- ✓ **BSA + triamcinolone acétonide (25 mg).**
- ✓ **BSA + extrait méthanolique de *Thapsia Garganica* (25 mg).**
- ✓ **BSA + extrait éthanolique de *Thapsia Garganica* (25 mg).**

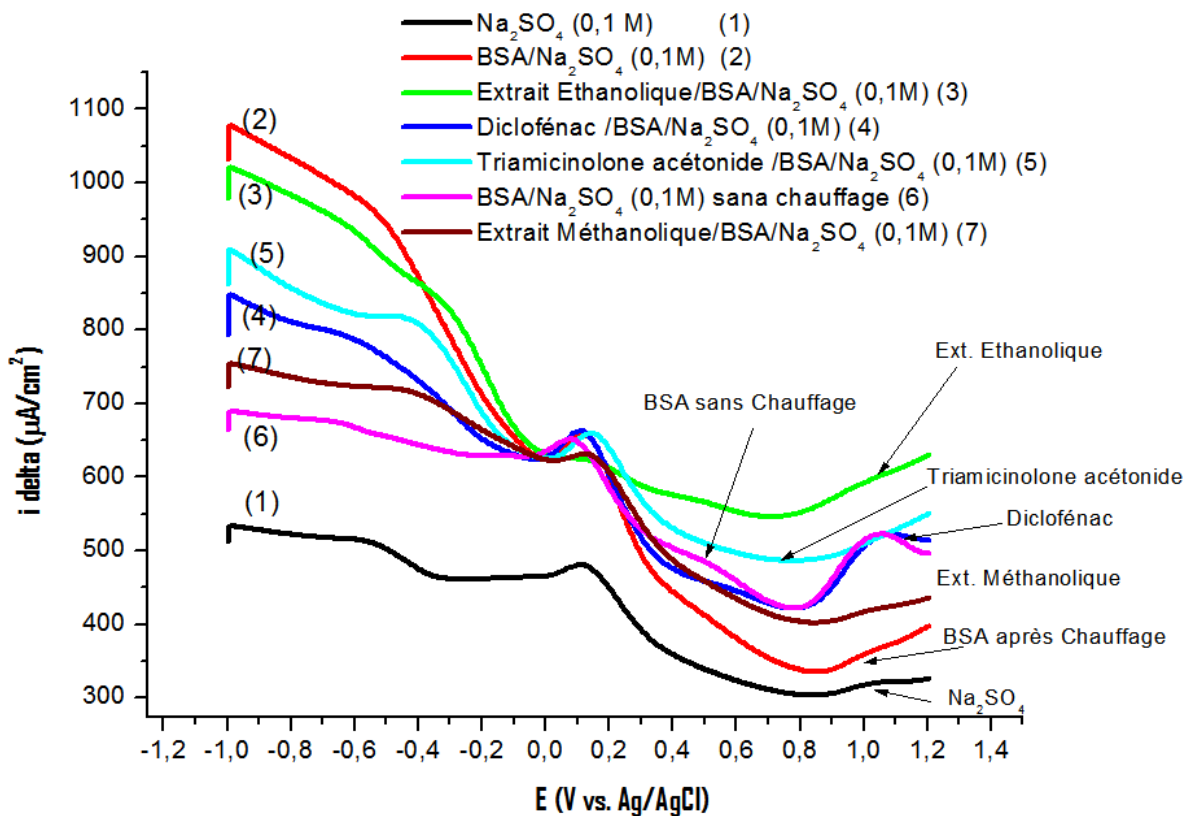


Figure III. 4 : Voltampérogrammes à ondes carrées de la BSA dans un électrolyte de Na_2SO_4 0.1M en absence et en présence de 25 mg de chaque composés étudiés (extraits méthanolique (2) et éthanolique (2) de la plante *Thapsia Garganica*, le diclofénac (3) et la triamcinolone acétonide (4) .

Avant le chauffage, lors e balayage vers les potentiels positifs deux pics anodiques caractéristiques de la BSA sont observés à -0,053 V et +1,1 V vs Ag/AgCl sont observées. **Après chauffage (BSA seule)** on observe une disparition totale du pic à +1,1 V vs Ag/AgCl, indiquant une dénaturation de la BSA due à la chaleur. Pour le courbe de **BSA + diclofénac** le pic à +1,1 V vs Ag/AgCl ne disparaît pas, suggérant une protection de la BSA par le diclofénac.

En ce qui concerne la courbe de **BSA + extrait méthanolique de *Thapsia Garganica***, on observe que cet extrait possèdent une activité antiinflammatoire inférieure à celle du diclofénac. Pour la courbe de **BSA + éthanolique de *Thapsia Garganica***, on observe que cet extrait possède une activité antiinflammatoire supérieur à celle de l'**extrait méthanolique et même à celle** du diclofénac.

Pour la **BSA + triamcinolone acétonide** une intensité du courant élevée à +1,1 V vs Ag/AgCl, indiquant une activité antiinflammatoire supérieure.

La capacité des composés à protéger la BSA de la dénaturation thermique est un indicateur de leur potentiel antiinflammatoire. Une meilleure protection de la BSA correspond à une plus grande capacité à prévenir ou à atténuer les dommages structurels, ce qui est crucial dans des conditions inflammatoires où les protéines peuvent être dénaturées par des agents oxydants ou thermiques. On put conclure que :

- ✓ Le Diclofénac montre une protection complète de la BSA, ce qui est cohérent avec son utilisation établie comme antiinflammatoire efficace. Sa capacité à interagir avec la BSA pour maintenir sa conformation structurelle est cruciale dans son mécanisme d'action.
- ✓ Bien que l'extrait méthanolique de *Thapsia Garganica* est moins efficace que le diclofénac, mais l'extrait méthanolique de *Thapsia Garganica* possède des propriétés protectrices, indiquant qu'ils contiennent des composés actifs ayant un potentiel antiinflammatoire. Des études supplémentaires pourraient identifier ces composés spécifiques et leurs mécanismes d'action.
- ✓ La protection de triamcinolone acétonide supérieure souligne son puissant effet antiinflammatoire. En stabilisant la BSA, il montre son efficacité potentielle dans des applications thérapeutiques où la prévention de la dénaturation des protéines est cruciale.

III.5 Préparation des films à base de polyaniline par chronoampérométrie :

La figure III-5 illustre le chronoampérogramme correspondant à l'électrodéposition de la polyaniline sur une plaque de verre d'ITO de surface de 1 cm^2 pendant 10 minutes à un potentiel imposé de 1,1 V/ECS.

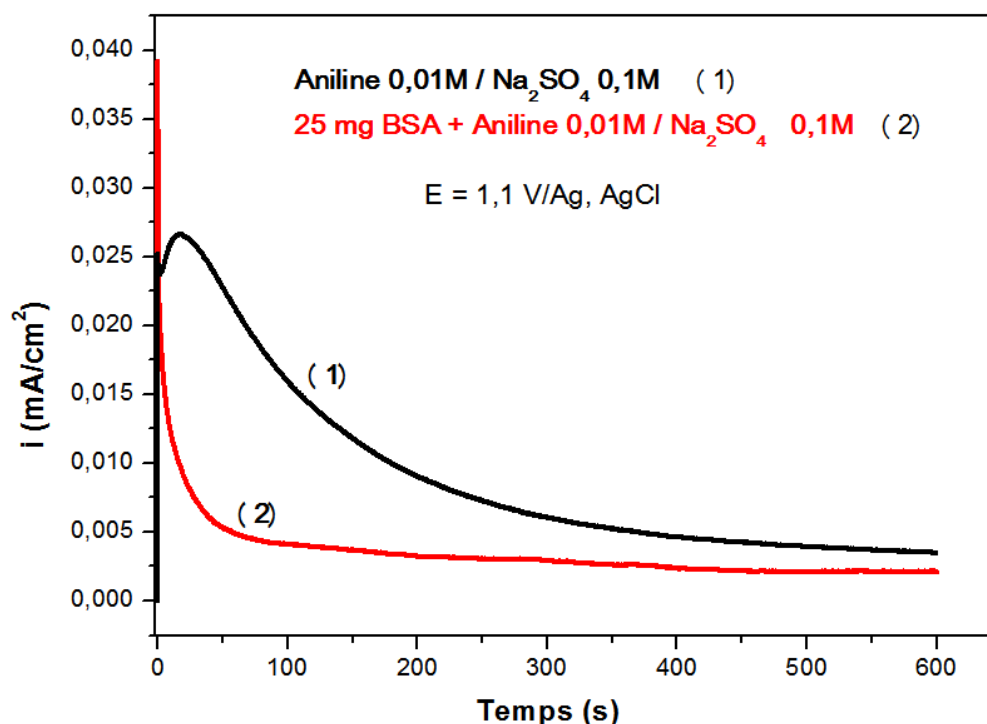


Figure III. 5 : Chronoampérogrammes de l'électrodéposition à un potentiel imposé de 1,1 V vs Ag/AgCl d'un film de polyaniline sur ITO en absence de BSA (1) et en présence de BSA (2) ; l'électrolyte contient de l'aniline 0,01 M dans Na_2SO_4 0,1 M.

On observe que les courbes de chronoampérométrie démontrent que la présence de BSA réduit la densité de courant pendant l'électrodéposition de la polyaniline sur ITO, suggérant une inhibition du processus de polymérisation. Cela pourrait être dû à l'adsorption de la BSA sur la surface de l'électrode, bloquant ainsi les sites actifs et interférant avec la formation du film de polyaniline. Cette observation est importante pour comprendre l'influence des protéines et autres biomolécules sur les processus de dépôt électrochimique, particulièrement dans des applications où des biomolécules peuvent être présentes. La BSA, étant une protéine relativement grande, peut physiquement bloquer les sites actifs sur l'ITO, inhibant l'accès de l'aniline à la surface de l'électrode. La BSA peut interagir avec les molécules d'aniline ou les radicaux de polymérisation, réduisant ainsi l'efficacité du

processus de polymérisation. La BSA adsorbée peut modifier la nature électrochimique de la surface de l'ITO, affectant les conditions locales de l'électrodéposition et la formation du film de polyaniline.

III.6 Caractérisation des films à base de polyaniline par spectroscopie d'impédance :

La figure III-6 présente les courbes de Nyquist correspondant au film de polyaniline sur une plaque de verre d'ITO et au film de polyaniline+BSA sur une plaque de verre d'ITO, à un potentiel à l'abondant.

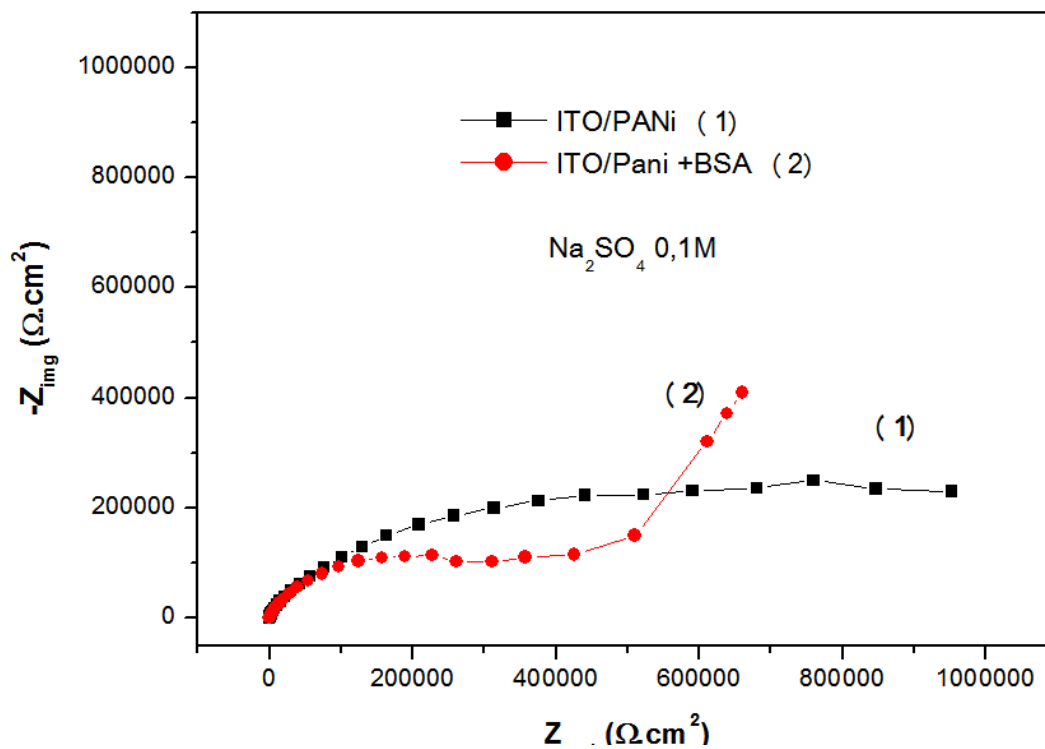


Figure III. 6 : Diagramme de Nyquist des films de polyaniline sur ITO (1) et BSA + polyaniline sur ITO (2)

La caractérisation des films à base d'ITO/polyaniline et ITO/polyaniline+BSA par spectroscopie d'impédance électrochimique (EIS) a révélé des différences notables entre les deux échantillons. Le diagramme de Nyquist pour l'échantillon ITO/polyaniline montre un

demi-cercle caractéristique des processus de transfert de charge, indiquant une résistance au transfert de charge (R_{ct}) relativement élevée. En revanche, l'échantillon ITO/polyaniline+BSA présente à la fois un demi-cercle et une ligne droite à basse fréquence. Le diamètre plus petit du demi-cercle pour cet échantillon suggère une résistance au transfert de charge inférieure par rapport à l'échantillon sans BSA. La présence de la ligne droite à basse fréquence est indicative d'un comportement diffusif de type Warburg, suggérant que des processus de diffusion de masse deviennent significatifs. La BSA semble modifier la structure et la conduction du film de polyaniline, probablement en facilitant la formation de chemins conducteurs ou en modifiant la microstructure, ce qui réduit les barrières pour le transfert de charge et introduit des éléments diffusifs dans le film. Ainsi, la BSA améliore la conductivité du film de polyaniline tout en influençant les mécanismes de transfert de charge et de diffusion.

III.7 Caractérisation des films à base de polyaniline par spectroscopie infrarouge

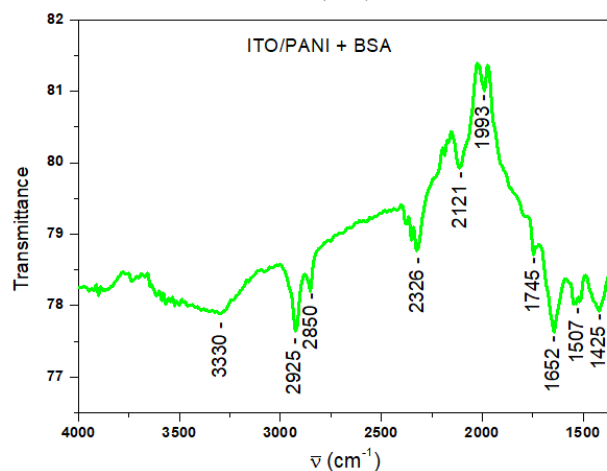
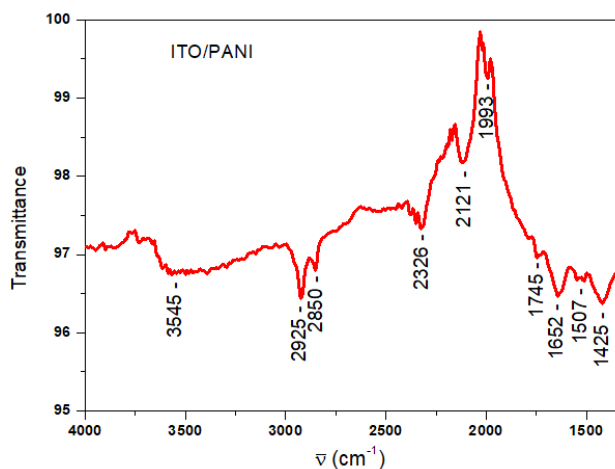
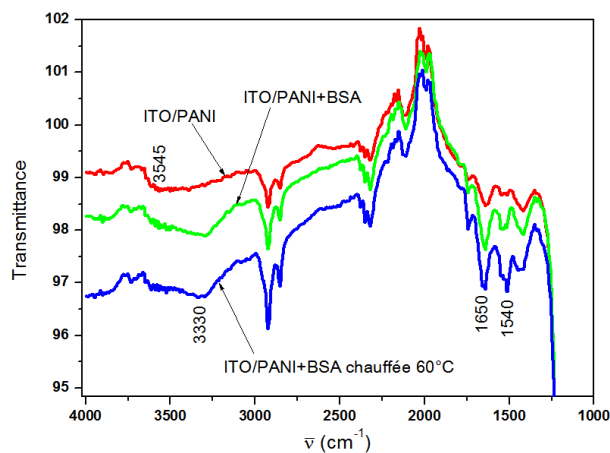
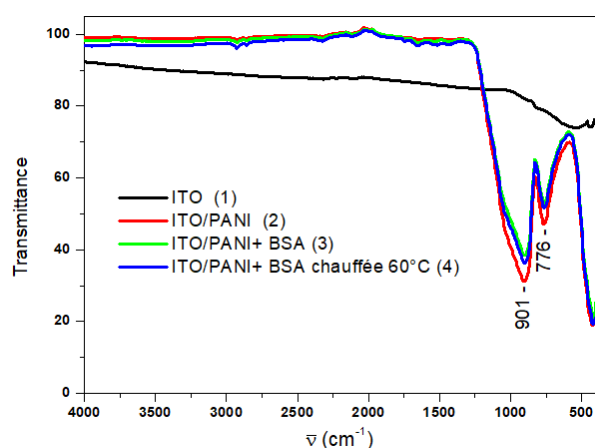
Dans tous les spectres IRTF des couches (1) ITO, (2) ITO/PAni, (3) ITO/PAni +BSA, (4) ITO/PAni +BSA chauffée (60°C) pendant 3 minutes, on observe des intenses pics à 901 cm^{-1} et 776 cm^{-1} caractéristiques des ions électrolytiques sulfate (SO_4^{2-}). Le spectre IRTF de la couche ITO seule ne présente généralement pas de bandes significatives dans la région analysée, ce qui confirme la nature principalement inorganique et l'absence de groupes fonctionnels organiques dans cette couche. Pour le film de polyaniline (PAni) déposé sur ITO, les bandes caractéristiques observées peuvent être vérifiées dans la littérature :

Tableau III.1 : Bandes de transmittance observées dans les spectres IRTF.

| Bande | interprétation |
|-------------------------------|---|
| 3545 cm^{-1} | Cette bande peut correspondre aux vibrations d'élongation N-H |
| 2925 et 2850 cm^{-1} | Correspondent aux vibrations d'élongation C-H des groupes alkyles |
| 1652 cm^{-1} | Bande associée aux vibrations d'élongation C=C des cycles aromatiques |
| 1507 cm^{-1} | Bande caractéristique des vibrations de déformation N-H dans cycles aromatiques |
| 1425 cm^{-1} | Correspond aux vibrations de déformation C-N dans les cycles aromatiques |

Les bandes à 1745 cm^{-1} , 2326 cm^{-1} , 2121 cm^{-1} , et 1993 cm^{-1} sont généralement moins caractéristiques de la polyaniline et pourraient être dues à des impuretés ou à des interactions spécifiques dans le film.

Avec l'incorporation de la BSA (Albumine Sérique Bovine), une augmentation de l'intensité des bandes des fonctions de l'amide I à 1650 cm^{-1} et l'amide II à 1540 cm^{-1} , ces bandes sont caractéristiques des protéines et correspondent principalement aux vibrations C=O et N-H. Ces bandes de transmittance sont semblables à celles observées dans la BSA seule, notamment les bandes caractéristiques de l'amide I à 1645 cm^{-1} et de l'amide II à 1541 cm^{-1} [37]. En plus des bandes mentionnées, ces travaux ont également identifié des bandes de transmittance à 3435 cm^{-1} et 2958 cm^{-1} .



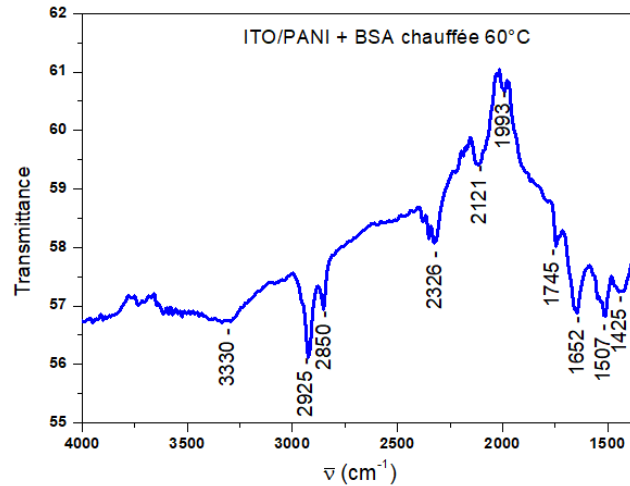


Figure III. 7 : Spectres IRTF des couches (1) ITO, (2) ITO/PAni, (3) ITO/PAni +BSA, (4) ITO/PAni +BSA chauffée (60°C) pendant 3 minutes.

Le déplacement de la bande N-H de cm^{-1} dans le film PANi seul à 3330 cm^{-1} dans le film PANi + BSA est principalement dû à des interactions entre la polyaniline et la BSA, telles que la formation de liaisons hydrogène et les modifications de l'environnement chimique local des groupes N-H. Ces interactions sont courantes dans les systèmes composites où des molécules organiques complexes comme les protéines interagissent avec des polymères conducteurs comme la polyaniline.

Après chauffage pendant 3 minutes, la disparition ou l'atténuation des bandes caractéristiques de la BSA (comme celles des Amides I et II) doit être observée, indiquant la dénaturation ou la dégradation des protéines.

III.8. Caractérisation des films à base de polyaniline par microscopie optique :

Les images obtenues par microscope optique des différentes couches montrent une évolution claire des caractéristiques morphologiques et structurales. La couche initiale d'ITO est lisse et exempte de particules, confirmant une surface propre. Lorsque la polyaniline (PANi) est déposée sur l'ITO, un film homogène de PANi est observé, indiquant une bonne adhérence. L'incorporation de la protéine BSA dans le film de PANi est visible, formant une couche composite ITO/PANi/BSA. Cependant, le chauffage de cette

couche composite pendant 3 minutes provoque la disparition des molécules de BSA, laissant des espaces vides, ce qui suggère la dénaturation thermique des protéines. Un chauffage prolongé de 5 minutes intensifie ce phénomène, confirmant la faible stabilité thermique du BSA. Les grains noirs observés sur toutes les plaques sont attribués aux résidus de l'électrolyte support Na_2SO_4 . Ce résultat indique que chaque modification du film ITO entraîne des changements distincts, avec une bonne intégration initiale de PANi et BSA, mais une dégradation thermique notable des protéines BSA.

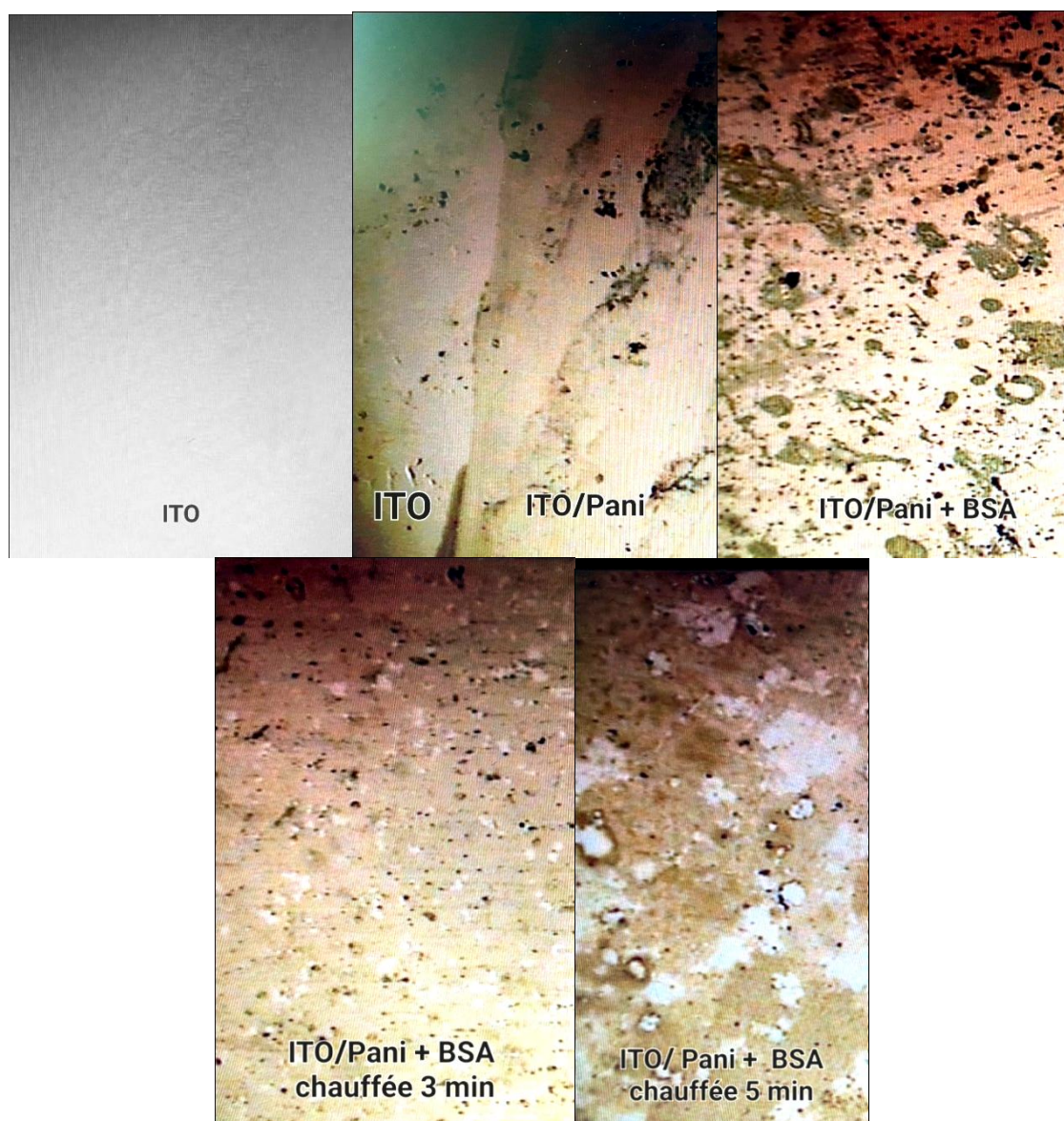


Figure III.8 : Images obtenues par microscope optique des couches (a) ITO, (b) ITO/PAni, (c) ITO/PAni +BSA, (d) ITO/PAni +BSA chauffée pendant 3 minutes et (e) ITO/PAni +BSA chauffée pendant 5 minutes

Les biocapteurs électrochimiques utilisant des films avec des empreintes de molécules (molecularly imprinted polymers, MIPs) sont des dispositifs analytiques très précis et sensibles, développés pour la détection spécifique de diverses substances biologiques et chimiques. Ces biocapteurs combinent la spécificité de reconnaissance moléculaire des MIPs avec les avantages des transducteurs électrochimiques, tels que la sensibilité élevée, la simplicité et la capacité de miniaturisation.

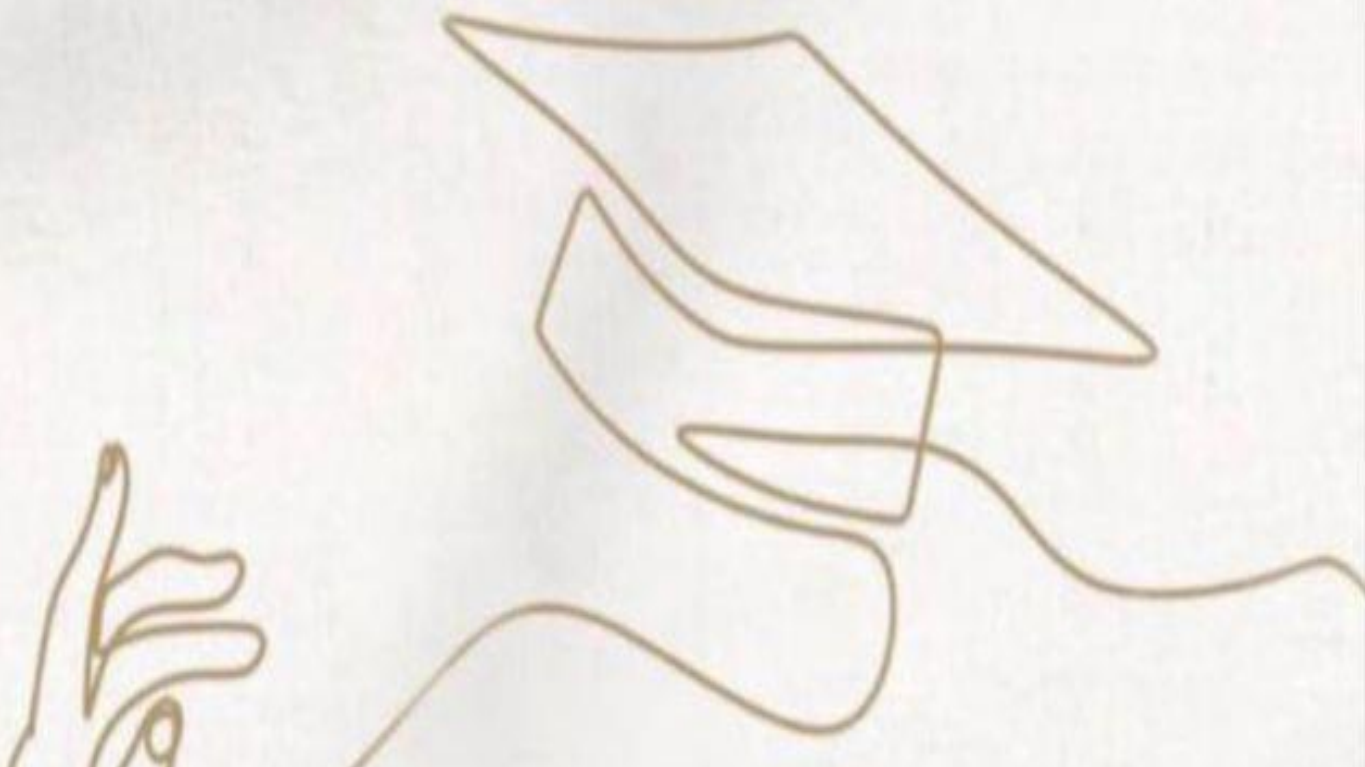
On doit savoir que les biocapteurs électrochimiques basés sur des films avec empreintes moléculaires représentent une avancée significative dans la détection analytique. Ils offrent une plate-forme versatile et fiable pour diverses applications, allant de la surveillance environnementale à la détection biomédicale, en passant par les contrôles de sécurité alimentaire et pharmaceutique. Ces biocapteurs électrochimiques utilisant des films à base d'ITO/PAni+BSA peuvent détecter des protéines spécifiques comme l'albumine.

CONCLUSION

Nous avons confirmé l'activité anti-inflammatoire en utilisant des techniques électrochimiques telles que la voltampérométrie cyclique et la voltampérométrie à ondes carrées, ces techniques se sont avérées prometteuses pour les analyses biologiques en offrant une méthode rapide, sensible et précise pour évaluer l'activité anti-inflammatoire des substances.

Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour confirmer ces résultats et évaluer l'efficacité des extraits de plantes médicinales dans le traitement de l'inflammation. Des études complémentaires utilisant d'autres méthodes électrochimiques ainsi que des tests *in vitro* et *in vivo* sont nécessaires pour valider l'efficacité et la sécurité de ces extraits.

En poursuivant ces recherches, nous pourrions mieux comprendre les mécanismes d'action des plantes médicinales et développer de nouveaux traitements anti-inflammatoires efficaces et sûrs.



Références Bibliographiques

- [1] Sofowora, A., Cepleanu, F., Hostettmann, K. (2010). Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique (ECONOMIE ET DEV) (KARTHALA éd.). France: KARTHALA .
- [2] Duc Dat L, Viet Duc N, Luyen B T T, Oanh H V, JaeJang H J, Huong T T, Kim Y H, Phuong Thao N. (2019). Megastigmane and abscisic acid glycosides from the leaves of *Laurusnobilis* L. *Phytochemistry Letters* .33. Doi : 10.1016/j.phytol.2019.06.011: 1-5.
- [3] Sostres C, Gargallo JG, Arroyo MT, Lanas A. (2010). Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 24(2): 121-132.
- [4] WHO, Monographson selected medicinal plants, volume 1, 1999 .
- [5] Bentabet Nesrine, Rahal Rajaa, Nassour Sakina, Enquête ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales utilisées dans le traitement des maladies dermatologiques dans la ville d'Ain Temouchent *Journal of Applied Biosciences* 170, 2022, 17704– 17719.
- [6] WHO. 2000b. Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation relatives à la médecine traditionnelle. Organisation mondiale de la Santé, Genève, Suisse.
- [7] <http://www.alyasmina.org/>.
- [8]] Chabrier JY. 2010. Plantes médicinales et formes d'utilisation en Phytothérapie. Thèse de Pharmacie, Sciences du Vivant [q-bio] / Sciences Pharmaceutiques, Université Henri Poincaré, Nancy 1, 184.
- [9]] WHO. 2003a. Directives OMS sur les bonnes pratiques agricoles et les bonnes pratiques de récolte (BPAR) relatives aux plantes médicinales. Organisation mondiale de la Santé, Genève, Suisse.
- [10] Chegaing SPF, Mefokou DY, Tangué BT, Sokoudjou JB, Menoudji ST, Kamsu TG, Gatsing D. 2020. Contribution to the ethnobotanical inventory of medicinal plants used for the treatment of typhoid fever in Adamaoua region, Cameroon. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 14(9): 3078-3096. DOI: 10.4314/ijbcs.v14i9.9.

- [11] Limonier A-S. 2018. La phytothérapie de demain: les plantes médicinales au coeur de la pharmacie. Thèse de Doctorat en Sciences Pharmaceutiques, Faculté de pharmacie, Aix-Marseille Université, Marseille, 99 p.
- [12] Wichtl M, Anton R, Bernard M, Czygan F-C. 2003. Plantes Thérapeutiques: Tradition, Pratique Officinale, Science et Thérapeutique. Ed. médicales internationales: Ouagadougou Burkina Faso.
- [13] Chabrier JY. 2010. Plantes médicinales et formes d'utilisation en Phytothérapie. Thèse de Pharmacie, Sciences du Vivant [q-bio] / Sciences Pharmaceutiques, Université Henri Poincare, Nancy 1, 184 p.
- [14] Fatiha S. 2019. Pharmacognosie. Mémoire de Master 1 en Génie Pharmaceutique, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran «Mohamed Boudiaf», Algerie, 62 p.
- [15] Alkhatib R. Etude phytochimique et activité cytotoxique des métabolites secondaires de *Ferulaelaechytris* Korovin et *Ferulalycia* Boiss (Apiacées). Mémoire de Doctorat Sciences du médicament. Chimie. Université du Droit et de la Santé - Lille II, 2010. Français.
- [16] Hammiche V., Merad R. & Azzouz M. Plantes toxiques à usage médicinal du pourtour méditerranéen. Springer-Verlag France, Paris (2013): 285-288.
- [17] Linné C. Mantissaplantarum. Generum édition VI. Et specierum édition II. Holmiae: Impensis Direct. Laurentii Salvii (1767): 742.
- [18] Benseddik, Hesna. Phytochemical & biological study of medicinal plant *Thapsiagarganica*. 2021. Thèse de doctorat. Université Mohamed Boudiaf-Mrsila.
- [19] Soubeiran E. Traité de pharmacie théorique et pratique, volume 2, édition Victor Masson & fils, Paris (1870): 861.
- [20] Reboulleau SD. Notice sur la résine de thapsia garganica et sur son emploi en médecine comme agent révulsif sous forme d'emplâtre. Edition Abadie Constantine (1856); (2): 15.
- [21] Ellingwood F. American Material Medical, therapeutics and pharmacognosy. Southwest School of Botanical Medicine (1919): 431.
- [22] Rasmussen U., Christensen S.B., Sandberg F., (1978). Thapsigargin and thapsigarginine, two new histamine liberators from *Thapsiagarganica*. Acta. Pharm. Suec., 15: 133-40.
- [23] Christensen SB, Rasmussen U, Christophersen C., (1980). Thapsigargin, constitution of a sesquiterpene lactone histamine liberator from *Thapsiagarganica*. Tetrahedron Lett., 21:3829-30.
- [24] Andrews S.P., Tait M.M., Ball M., Ley S.V., (2007). Design and total synthesis of unnatural analogues of the sub-nanomolar SERCA inhibitor thapsigargin. Org. Biomol. Chem., 5, 1427-1436.
- [25] Cherif H., Saidi F., Boutoumi H., Rouibi A., Chaouia C., (2007). Identification et caractérisation de quelques composés chimiques chez *Aristolochia longa*. Agricultura, Vol 3 : 76-82p.

- [26] EL ABED D., (2007). Principes actifs des apiaceae. *Phyto Chem et Bio Sub journal*, Vol. 1 : 1-6.
- [27] Université Constantine 3 , faculté de médecine ; department de médecine dentaire .
- [28] L. C. Clark, Monitoring and control of blood and tissue O₂ tensions. *Trans. Am. Soc. Artif. Intern. Organs*, 2 (1956), 41.
- [29] L.C. Jr. Clark; C. Lyons, Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 102, (196) 229-45.
- [30] S.J. Updike, G.P. Hicks, The enzyme electrode, *Nature*, 214, (1967) 986-988.
- [31] Zhengpeng Yang, Chunjing Zhang, Jianxin Zhang, Wanbei Bai, Potentiometric glucose biosensor based on core-shell Fe₃O₄-enzyme-polypyrrole nanoparticles, *Biosensors and Bioelectronics* 51, (2014) 268-273 .
- [32] Beaudeux Jean-Louis, Bonnefont-Rousselot Dominique, Radicaux libres et stress oxydant: Aspects biologiques et pathologiques, Ed. Lavoisier (2007) .
- [33] Archana Retnakumari, Sonali Setua, Deepthy Menon, Prasanth Ravindran, Habeeb Muhammed, Thalappil Pradeep, Shantikumar Nair, Manzoor Koyakut, Molecular receptor specific, non toxic, near infrared emitting Au cluster proteinnanoconjugates for targeted cancerimaging, *Nanotechnology* 21 (2010) 055103 (12pp)] .
- [34] Ana-Maria Chiorcea-Paquim, Electrochemical Sensing of Curcumin: A Review, *Antioxidants* 2023, 12, 2029.
- [35] Marian T. Stankovich And Allen J. Bard, The Electrochemistry of proteins and related substances Part II. Bovine Serum Albumin, *J. Electroanal. Chern.*, 86 (1978) 189-199.

