

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE Salah BOUBNIDER CONSTANTINE 3



FACULTE DE GENIE DES PROCEDES

DEPARTEMENT DE GENIE PHARMACEUTIQUE

N° d'ordre :

Série :

Mémoire de Master

Filière : Génie des procédés

Spécialité : Génie pharmaceutique

**EXTRACTION DES COMPOSES BIOACTIFS
D'*INULA VISCOSA* ET ETUDE DE LEURS EFFETS
ANTIOXYDANTS ET ANTIMICROBIENS**

Dirigé par :

Pr. BENAÏSSA-KACEM CHAOUCHE Akila

Présenté par :

BOUCHERIT Nassima

ARROUSSI Radhia

BOUCHERIT Selsabil

Année Universitaire 2022/2023.

Session : (juin)

Table des matières

Remerciement.....	I
Dédicaces.....	II
Liste des tableaux.....	V
Liste des figures.....	VI
Liste des abréviations.....	VIII
Introduction Générale.....	01

Partie 1 : Aperçu Bibliographique

1. Généralités sur les plantes médicinales.....	06
1.1. Introduction.....	06
1.2. Définition des plantes médicinales	06
1.3. Effets thérapeutiques	06
1.4. Constituants des plantes médicinales	07
1.4.1. Métabolites primaires.....	07
1.4.2. Métabolites secondaires	07
1.4.2.1. Polyphénols.....	07
1.4.2.1.1. Généralité.....	07
1.4.2.1.2. Principales classes des polyphénols.....	08
1.4.2.2. Huiles Essentielles.....	11
1.4.2.2.1. Définition.....	11
1.4.2.2.2. Composition chimique des huiles essentielles.....	11
1.4.2.2.3. Utilisation des huiles essentielles.....	12
2. Généralités sur la plante <i>Inula viscosa</i> (L).....	13
2.1. Introduction	13
2.2. Définition	13
2.3. Nomenclature	13
2.4. Taxonomie	14
2.5. Etude botanique.....	14
2.6. Répartition géographique	15

2.7.	Utilisation traditionnelle et médicinale d' <i>Inula viscosa(L)</i>	16
2.8.	Composition chimique d' <i>Inula viscosa(L)</i>	17
2.9.	Activités biologiques	17
2.9.1.	Activité antioxydante.....	17
2.9.2.	Activité antibactérienne.....	17
2.10.	Travaux antérieurs effectués sur l' <i>Inula viscosa</i>	18
3.	Méthodes d'extraction et d'analyse	26
3.1.	Méthodes d'extraction conventionnelles	26
3.1.1.	Infusion	26
3.1.2.	Macération	26
3.1.3.	Décoction	26
3.1.4.	Hydrodistillation	27
3.1.5.	Extraction par solvant organique	28
3.1.6.	Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	28
3.1.7.	Extraction à chaud ou extraction au Soxhlet	29
3.2.	Méthodes d'extraction vertes	31
3.2.1.	Extraction assistée par micro-ondes.....	31
3.2.2.	Extraction assistée par Ultrasons (EAU)	31
3.2.3.	Extraction par fluide à l'état supercritique	32
3.2.4.	Extraction par un solvant eutectique	33
3.3.	Histoire et définition de la chromatographie.....	34
3.3.1.	Chromatographie liquide à haute performance.....	34
3.3.1.1.	Histoire et généralités.....	34
3.3.1.2.	Appareillage.....	34
3.3.1.2.1.	Réservoir de la phase mobile.....	35
3.3.1.2.2.	Pompe.....	35
3.3.1.2.3.	Injecteur.....	35
3.3.1.2.4.	Colonne.....	36
3.3.1.2.5.	Détecteurs.....	36
3.3.1.2.6.	Enregistreur.....	36
3.3.2.	Spectrophotométrie UV-Visible.....	37
3.3.2.1.	Définition.....	37
3.3.2.2.	Principe de la technique	37

3.3.2.3.	Loi de Beer-Lambert.....	38
3.3.2.4.	Appareillage	38

Partie 2 : Matériel et Méthodes

4.	Matériel et méthodes	40
4.1.	Appareillages.....	40
4.2.	Verrerie.....	41
4.3.	Réactifs et produits chimiques.....	41
4.4.	Matière végétale.....	42
4.5.	Préparation d'extraits hydro-éthanoliques de l' <i>Inula viscosa</i> par macération.....	42
4.5.1.	Principe.....	42
4.5.2.	Procédé de macération.....	42
4.5.3.	Evaporation de l'extrait.....	44
4.5.4.	Rendement d'extraction de chaque macération	45
4.6.	Détermination des polyphénols totaux par le réactif de Folin-Ciocalteu.....	45
4.6.1.	But	45
4.6.2.	Principe	45
4.6.3.	Mode opératoire	46
4.6.3.1.	Détermination de la courbe d'étalonnage.....	46
4.6.3.2.	Détermination de la teneur en polyphénols totaux dans les deux extraits.....	48
4.7.	Détermination des flavonoïdes totaux.....	48
4.7.1.	But.....	48
4.7.2.	Principe.....	48
4.7.3.	Mode opératoire.....	49
4.8.	Hydrodistillation.....3.....	50
4.8.1.	But.....	50
4.8.2.	Principe	50
4.8.3.	Rendement en huile essentielle.....	51
4.8.4.	Mode opératoire.....	51
4.9.	Détection et identification de quelques métabolites secondaires.....	52
4.9.1.	Identification des composés phénoliques.....	52

4.9.2. Identification des alcaloïdes.....	52
4.10. Mesure de l'activité antioxydante (DPPH).....	53
4.10.1. But.....	53
4.10.2. Principe.....	53
4.10.3. Procédure expérimentale.....	53
4.10.4. Expression des résultats.....	54
4.10.5. Calcul de la concentration inhibitrice IC50.....	54
4.11. Mesure de l'activité antimicrobienne.....	54
4.11.1. Mode opératoire.....	55
4.12. Chromatographie en phase liquide à haute performance.....	56
4.12.1. Principe de la HPLC.....	56
4.12.2. Protocole d'analyse par HPLC.....	56

Partie 3 : Résultats et discussion

5. Résultats et discussions.....	60
5.1. Rendement d'extraction.....	60
5.2. Détection et identification de quelques métabolites secondaires.....	62
5.2.1. Détection des composés phénoliques	62
5.2.2. Détection des alcaloïdes	62
5.3. Rendement de l'hydrodistillation.....	63
5.4. Estimation de la teneur en polyphenols totaux dans les 2 extraits.....	64
5.5. Estimation de la teneur en flavonoïdes totaux dans les 2 extraits.....	66
5.6. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits	69
5.6.1. Résultats	69
5.6.2. Discussion	70
5.7. Activité antimicrobienne des extraits bruts et de l'huile essentielle des feuilles d' <i>Inula viscosa</i>	70
5.8. Analyse chromatographique des extraits.....	74
Conclusion générale et perspectives.....	77
Références bibliographiques.....	81
Annexe.....	89

Résumé

Dans le cadre de notre travail, effectué sur la plante *Inula viscosa*, nous avons déterminé le taux de polyphénols et de flavonoïdes totaux des extraits de feuilles de la plante obtenus par macération hydro-éthanolique. Un rendement d'extraction de (20.69%) a été obtenu pour l'extrait 2 qui est légèrement meilleur que celui de l'extrait 1 (19.45%). Un TPC égale à (149.83 mg EAG/g M.S) a été obtenu pour l'extrait 2. Un résultat égal à (130.88 mg EAG/g M.S) pour l'extrait 1.

Pour le TFC nous avons obtenus les résultats suivants : pour l'extrait 1 (11.75mg EQ/ g M.S) et pour le 2eme extrait le résultat est de (12.65mg EQ/ g M.S).

La détermination de l'activité antioxydante a été effectuée par la méthode de DPPH qui a montré que les 2 extraits ont un pouvoir antioxydant. L'extrait 2 (IC50 = 0.0559 mg/ml), l'extrait 1 (IC50 = 0.0505 mg/ml).

L'activité antimicrobienne sur 6 souches bactériennes et une levure a montré une sensibilité de certaines souches à l'encontre des 2 extraits et de l'huile essentielle de *Inula viscosa*, cette dernière a été obtenue par hydrodistillation avec un rendement de (0.091%). L'extrait 1 a un effet antibactérien plus élevé que les 2 autres.

Une analyse chromatographique par HPLC des deux extraits obtenus par macération à partir des feuilles d'*Inula viscosa* a permis d'identifier deux composés chimiques bioactifs, à savoir l'acide gallique et la quercétine.

Mots clé : *Inula viscosa*, macération, TPC, TFC, DPPH, antimicrobien, hydrodistillation, HPLC.

Abstract

As part of our work on the *Inula viscosa* plant, we determined the level of polyphenols and total flavonoids of plant leaf extracts obtained by hydro-ethanolic maceration. An extraction yield of (20.69%) was obtained for the 2nd extract which is a better yield than for the first extract (19.45%). A TPC equal to (149.83 mg EGA/g DM) was obtained for extract 1. A result equal to (130.88 mg EGA/g D.M.) for the extract 2.

For the TFC we obtained the following results: for the first extract (11.75 mg EQ/ g M.S) and for the 2nd extract, the result is (12.65 mg EQ/ g M.S).

The determination of the antioxidant activity was carried out by the DPPH method which showed that the 2 extracts have an antioxidant power. The 2nd extract (IC50 = 0.0559 mg/ml) compared to extract 1 (IC50 = 0.0505 mg/ml). activity of the 2nd extract (IC50 = 0.0559 mg/ml) compared to the first extract (IC50 = 0.0505 mg/ml).

The antimicrobial activity on 6 bacterial strains and yeast showed a sensitivity of certain strains against the 2 extracts and the essential oil of *Inula viscosa*, the latter was obtained by hydrodistillation. The first extract has a higher antibacterial effect than the other 2.

A chromatographic analysis by HPLC of the two extracts obtained by maceration from the leaves of *Inula viscosa* made it possible to identify two bioactive chemical compounds, namely gallic acid and quercetin.

Key words: *Inula viscosa*. maceration. TPC. TFC. DPPH. antimicrobial. hydrodistillation. HPLC.

ملخص

في إطار عملنا على نبات الإينولافيسكوزا، قمنا بتحديد معدلات البوليفينولو الفلافونويد الكلية في مستخلصات أوراق النبات التي تم الحصول عليها بواسطة الاستخلاص المائي-الكحولي. تم الحصول على نسبة استخلاص تبلغ 20.69% لمستخلص 125 ميكرومتر، وهو نسبة استخلاص أفضل من مستخلص 250 ميكرومتر (19.45%). تم الحصول على تركيز بوليفينول إجمالي (TPC) يبلغ 149.83 ملغ/غ من الكتلة الجافة لمستخلص 250 ميكرومتر. وتم الحصول على تركيز بوليفينول إجمالي يبلغ 130.88 ملغ/غ من الكتلة الجافة لمستخلص 125 ميكرومتر.

أما بالنسبة للتركيز الكلي للفلافونويد (TFC)، فقد حصلنا على النتائج التالية: 11.75 ملغ معادل كويرسيتين/غ من الكتلة الجافة لمستخلص 1. وللمستخلص الثاني، كانت النتيجة 12.65 ملغ معادل كويرسيتين/غ من الكتلة الجافة.

تم تحديد نشاط مضادات الأكسدة بواسطة طريقة DPPH التي أظهرت أن المستخلصين لهما قوة مضادة للأكسدة. المستخلص 2 (IC50 = 0.0559 مجم / مل)، المستخلص 1 (IC50 = 0.0505 مجم / مل).

تمت دراسة النشاط المضاد للميكروبات على 6 سلالات بكتيرية وسلالة خميرة، وأظهرت بعض السلالات حساسية تجاه المستخلصين الاثنيتين وزيت إينولافيسكوزا الأساسي الذي تم الحصول عليه بواسطة عملية التقطير بالماء. كان للمستخلص تأثير مضاد للبكتيريا أقوى من الاثنيتين الآخرين.

أتاح التحليل الكروماتوغرافي بواسطة HPLC للمستخلصين اللذين تم الحصول عليهما عن طريق النقع من أوراق نولافيسكوزا، تحديد مركبين كيميائيين نشطين بيولوجيًا، وهما حمض الغاليك وكيرسيتين.

الكلمات الرئيسية: إينولافيسكوزا، طريقة الاستخلاص بالغمر، TPC، TFC، DPPH، مضاد للميكروبات، التقطير بالماء، HPLC.