

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Université Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département Biologie et Ecologie végétale

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة
قسم بيولوجيا وعلم البيئة

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : *Biotechnologie et génomique végétale*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

Entreprenariat

Essai de production d'un gel anti-inflammatoire à base de l'extrait de fruits de piment

Présenté par : BENTRADE Feriel
HAMZAOUI Youssef

Le 19/06/2022

Jury d'évaluation :

Encadreur : HAMMOUDA Dounia (Prof. Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examinateur 1 : YEKHLEF Nadia (Prof. Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examinateur 2 : MOURI Fouzia (MCA Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année 2021 - 2022

Remerciement



Nous tenons tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous a permis d'être ce que nous sommes aujourd'hui. Car l'homme propose mais ALLAH dispose. Seigneur, veuillez toujours diriger nos pas. Très chanceuses d'avoir eu comme encadreur Pr. HAMMOUDA- BOUSBIA

Dounia

On la remercie tout particulièrement pour son acceptation de nous encadrer, pour le temps qu'elle nous a consacré, pour la confiance qu'elle nous a accordée, pour sa compréhension, sa patience, ses relectures et ses conseils précieux, le chemin aurait été beaucoup plus ardu sans sa présence. Merci chère madame.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les membres du jury de nous avoir accordé l'honneur d'évaluer notre travail, et de l'enrichir

Pr. YEKHLEF Nadia et Dr.MOURI Fouzia

Je tiens à remercier avec plus grande gratitude Pr.Mahdjoub BOUZITOUNA Le Doyen de la Faculté de Médecine de Constantine.

Je remercie également Pr.KHELIFI Douadi directeur Ecole Nationale Supérieure de Biotechnologie.

Je tiens également à présenter mes remerciements à Dr.Ammar AZIOUNE directeur de Centre de recherche en biotechnologie de Constantine.

Nous remercions toute l'équipe de Centre de recherche en biotechnologie de Constantine (CRBT), et spécialement :

le chef de laboratoire biochimie Dr. BENSOUICI. CH

l'ingénieur de laboratoire monsieur Mehdi
madame Ibtissem.

Je remercie vivement Madame Sihem ingénieur de laboratoire au sein Ecole Nationale Supérieure de Biotechnologie.

Je remercie aussi Monsieur Nabil BOUDERSA ingénieur de laboratoire au sein Université des Frères Mentouri.

Mes sincères remerciements a Zineb EL BAR Pour son grand aide et soutien durant toute cette année.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes et nos amies qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, et espérons que ce travail donnera satisfaction au jury et fera honneur à notre département de Biothéchnologie et Génomique Végétale.

Dédicace

Je commence ma dédicace au nom de Dieu et le salut sur Mohamed le messager de Dieu

Je voudrais dédier ce modeste travail :

À **mon cher père** Aucune dédicace ne saurait exprimer l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation, ma formation et mon bien être.

À **ma chère mère** L'exemple de la force et mon grand secours qui n'a jamais cessé de m'encourager et de me soutenir en permanence durant toutes les années de mes études. Sans toi, je n'ai pas pu être ce que je suis et je ne saurais pu progresser et achever ce travail.

Puisse Dieux, le tout puissant vous préserver et vous accorder une longue heureuse vie.

A mes chers frères **ALAA** et **SIRADJ** et ma chère sœur **HIBA** pour leurs encouragement

A la mémoire de **ma Grand-mère. Mayma** j'aurais tellement aimé que tu sois auprès de moi aujourd'hui. Puisse Dieu, le tout puissant, l'avoir en sa sainte miséricorde.

A mes grands-pères **djedou dahmane** et **djadou keroum** ainsi ma grande mère warda Que Dieu vous garde et vous accorde santé, bonheur et longue vie

A toutes mes cousines que Je vous souhaite un avenir radieux

A ma famille maternelle et paternelle

A **ma copine zineb** celle qui a partagé avec moi les bons et les mauvais moments : les rires et les pleurs, la joie et la tristesse, les différentes pressions, ainsi **ma doris** à toi ma belle pour ton encouragement, ton soutien

A ma chère encadrante **Pr. HAMMOUDA .D** pour son soutien, encouragement, et l'aide précieuse qu'elle m'a apportée tout le long de ce parcours en vue de la concrétisation de ce mémoire

A mon binôme

A toutes **mes amies**, et toutes personnes qui m'ont aidé d'un mot, d'une idée ou d'un encouragement. Je dis « Merci »

A **mon âme courageuse**, qui a pu arriver ici malgré tous les obstacles et les ennemis du succès, à moi-même à qui je dois tout...

FLORANDA





Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Ma mère qui m'a entouré d'amour , d'affection et qui fait tout pour ma réussite ,

que dieu la garde

Mon père qui m'a aidé à devenir ce que je suis aujourd'hui ,

que dieu le garde et le protège

Ma meilleur sour : Maissa

Ma famille

Tout mes amis

Mon binôme

Tout ceux qui m'aiment et que j'aime

HAMZAOUI Yousef



Sommaire

Introduction :.....	16
Chapitre I Synthèse bibliographique	18
Partie I Généralités	18
I.1 Historique.....	18
I.2 Distribution et production de piment	18
I.3 Taxonomie	20
I.3.1 Classification	20
I.4 Description botanique	21
I.5 Description chimique	22
I.5.1 Les Capsaïcinoïdes	23
I.5.2 Les caroténoïdes	25
I.5.3 Les polyphénols.....	26
I.6 Utilisation de <i>Capsicum</i>	29
I.7 Intérêt thérapeutique	29
I.7.1 Traitement de la douleur.....	29
I.7.2 Propriétés antioxydants.....	30
I.7.3 Propriétés anti-inflammatoires	30
I.7.4 Propriétés antimicrobiennes	30
Partie II Les activités biologiques de <i>C.annuum</i>	33
II.1 Méthodes d'extraction	33
II.1.1 Définition.....	33
II.2 Eude Phytochimique Et Evaluation Des Activités Biologique.....	35
II.2.1 Stress oxydant.....	36
II.2.2 Radicaux libres	36
II.2.3 Inflammation et les anti-inflammatoires.....	40

II.3	Generalite sur les semi-solides.....	44
II.3.1	Les formes pharmaceutiques	44
II.3.2	Semi-solide	45
Chapitre II Matériel et méthodes		47
II.1	Matériel végétal.....	48
II.1.1	Matériel.....	48
II.1.2	Appareillage :	48
II.2	Méthodes d'analyse	49
II.2.1	Séchage du matériel végétal	49
II.2.2	Extraction.....	50
II.2.3	Extrait éthanolique.....	50
II.3	Analyse quantitative des composés phénoliques	51
II.3.1	Quantification des polyphénols totaux (TPC)	51
II.4	Quantification des flavonoïdes totaux (TFC).....	52
II.5	Les activités antioxydants in –vitro	53
II.5.1	Activité anti radicalaire au DPPH	53
II.5.2	Activité pouvoir réducteur (FRAP)	54
II.5.3	Activité du piégeage du cation radical ABTS	55
II.5.4	Activité de Phénantroline	57
II.5.5	Activité Silver nanoparticle (SNP) assay	57
II.5.6	Activités enzymatiques.....	58
II.5.7	Activité anti-inflammatoire in-vitro	60
Chapitre III Résultats et discussion		62
I.1	Rendement d'extraction	62
I.2	L'analyse quantitive des composes phénoliques.....	62
I.2.1	Quantification des polyphénols totaux	62
I.2.2	Quantification des flavonoïdes totaux (TFC).....	63

I.3	Les activités antioxydants in –vitro	64
I.3.1	Activité du pouvoir réducteur (FRAP)	64
I.3.2	Activité –Phenanthroline	65
I.3.3	Activité du piégeage du cation radical ABTS•+	66
I.3.4	Activité antiradicalaire du DPPH	68
I.3.5	Activité Silver nanoparticle (SNP) assay	70
I.4	Activité enzymatique	71
I.4.1	Evaluation de l'activité anticholinestérase	71
I.5	Activité Anti-inflammatoire.....	71
	<i>Conclusion Generale Et Perspectives</i>	74
	<i>Références bibliographiques</i>	77
	<i>Annexe</i>	87

Liste des figureures

Figure.1 : distribution de piment dans le monde (source CABL.org)	19
Figure.2 : Production de piment frais par pays en 2020 (source FAO 2020).....	19
Figure.3 : Production de piment séché par pays en 2020 (source FAO 2020).....	20
Figure 4 : anatomie de fruit de C.annuum	21
Figure.5 : C.annuum plant	21
Figure.6 : fruit de C.annuum	21
Figure.7 : La structure mère des capsaïcinoïdes (John Kailemia Muchena., 2009)	23
Figure.8 : Structure moléculaire générale des capsaïcinoïdes (John Kailemia Muchena., 2009).....	24
Figure.9 : structure chimique de capsicine (NCBI) (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Capsaicin)	24
Figure.10 : Structure chimique de quelques caroténoïdes (Fernandes, Andrêssa & Nascimento, 2018).....	26
Figure.11 : Classification des polyphénols (Rambaran, T.F ; 2020)	27
Figure.12 : Structure du squelette de base des flavonoïdes et de leurs classes	28
Figure.13 : Polyphénols à effets santé. Quercétine : anti-inflammatoire ; procyanidine : vasculoprotectrice ; hespérétine : neuroprotectrice et vasculo-protectrice ; entérolactone : vasculo-protecteur et protecteur osseux ; resvératrol : anticancéreux ; génistéine : anti-bouffées de chaleur et protectrice osseuse ; curcumine : anticancéreuse (Bennetau-Pelissero, 2014).....	31
Figure.14 :Classes des polyphénols ayant une activité antimicrobienne (Daglia, 2012).....	32
Figure.15 :extracteur de Soxhlet	34
Figure.16 :(A) System de sonde (B) System de bain	35
Figure.17 : Origine des radicaux libres (https://www.royalqueenseeds.fr/blog-les-proprietes-antioxydantes-du-cbd-n1061)	37
Figure.18 : source d'espèces réactives de l'oxygène. Description détaillée des étapes de la réduction de l'oxygène et de la formation d'intermédiaires partiellement réduits (Camille Migdal, Mireille Serres, 2011).....	38
Figure.19 : La reponse inflammatoire	40
Figure.20 : Arthrose	42
Figure.21 : La polyarthrite rhumatoïde	43

Figure.22: les différents Protocoles adoptés.....	47
Figure.23: Apport du fruit de piment	48
Figure.24: préparation de la poudre.....	49
Figure.25: Etapes de l'extraction du Capsicum annum.....	50
Figure.26: Mécanisme réactionnel du teste polyphénols totaux (Muller et al. ,2010).	51
Figure.27: Mécanisme de l'interaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes (Ribéreau-Gayon ,1968).....	52
Figure.28: Transformation du radical DPPH• en DPPH, H	53
Figure.29: Mécanisme réactionnel du test Pouvoir réducteur (Gülçin, 2012).....	55
Figure.30: Formation et piégeage du radical ABTS•+ par un antioxydant donneur de H• (Gülçin, 2012).....	56
Figure.31: Formation du complexe Fe ⁺² -phénantroline (Apak et al., 2007).	57
Figure.32: La Réduction de l'Ag ⁺ en nanoparticules d'argent sphériques Ag ⁰ (Ozyurek et al. 2012).....	58
Figure.33: Principe de la réaction d'Ellman et al. (1961).....	59
Figure 34: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	63
Figure 35: Courbe d'étalonnage de la quercétine.....	63
Figure 36 : Courbes d'absorbance en fonction de la concentration de l'extraits (FRAP)	64
Figure 37: Courbes d'absorbance en fonction de la concentration des standards (FRAP).....	65
Figure 38: Courbe d'absorbance en fonction de la concentration de l'extrait phenoltranline	65
Figure 39: Courbe d'absorbance en fonction de la concentration des standards	66
Figure 40: Histogramme représentant les valeurs des A _{0.5} de l'extrait et standards	66
Figure 41: Courbe des pourcentages d'inhibition du radical ABTS en fonction de la	67
Figure 42: Courbe des pourcentages d'inhibition du radical ABTS en fonction de la	67
Figure 43: Histogramme représentant les valeurs des CI ₅₀ de l' extrait et standards	68
Figure 44: Courbe des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de la	68
Figure 45: Courbe des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de la	69
Figure 46: Histogramme représentant les valeurs des CI ₅₀ des extraits et standards	70
Figure 47: Courbes d'absorbance en fonction de la concentration de l'extrait (SNP).....	70
Figure 48: Courbes d'absorbance en fonction de la concentration des standards (SNP).....	71
Figure 49: Histogramm d'inhibition de la dénaturation de BSA par l'extrait	72
Figure 50: courbe représentant les valeurs des CI ₅₀ de l'extrait	72
Figure 51: Gel anti-inflammatoire Bio Cap®	75

Liste des Tableaux

Tableau 1: Composition nutritionnelle du piment rouge (Charles, 2013)	22
Tableau 2: Résultats du dosage des polyphénols totaux	62
Tableau 3 : Résultats du dosage des flavonoïdes totaux	63
Tableau 4: Ic50 de standard	72

Liste d'abréviation

%INH : pourcentage d'inhibition

ABTS : Acide 2,2'-azinobis(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

BHT: Butylated hydroxytoluene

BSA: Bovin Serum Albumin

DPPH: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

DTNB: Acide 5,5'-dithio-bis (2-nitrobenzoïque)

ERO: Espèces Réactives de l'Oxygène

EtOH: Ethanol

FeCl₃: Ferric Chloride

Fe⁺² : Fer ferreux

Fe⁺³ : Fer ferrique

FRAP: Ferric Ion Reducing Antioxidant Power

g: Gramme

h : Heure

HCl: Chlorure d'hydrogène

MeOH : Méthanol

Mg : Milligramme

Min : Minute

ml : Millilitre

mm : Millimètre

mM : Millimole

Na₂HPO₄ : Disodium Hydrogen Phosphate

Pa : Principe Actif

Ppm : Particules Par Million.

ROS : espèces réactives oxygénées

SNP : Silver nanoparticle

Spp : plusieurs espèces

μL: Microlitre

UAE: Ultrasonic-assisted extraction

A_{0.5} : Concentration indiquant 0,50 d'absorbance

Résumé

Le piment piquant (*Capsicum annum L.*) et fort est originaire d'Amérique (centrale et Sud), de nombreuses variétés issues de plusieurs espèces se sont répandus dans le monde entier. Nous avons réalisé des travaux menés au sein de l'école nationale de biotechnologie (ENSB) pour l'extraction du piment (*Capsicum annum L.*) d'une part, d'autre part au centre de recherche de biotechnologie (CRBT) pour les activités biologiques et la formulation.

Notre travail consiste à étudier les activités phytochimiques, antioxydantes et anti-inflammatoires des piments séchés (rouges) cultivés dans la région de Guelma dévoilées par ,

les méthodes de dosage de Folin-Ciocalteu pour quantifier les polyphénols totaux , les dosages de flavonoïdes ; les tests ABTS, FRAP, SNP, DPPH et Phénanthroline pour mesurer l'activité antioxydante et l'inhibition de la dénaturation de la BSA par la méthode Kandikattu K pour l'activité anti-inflammatoire.

Nous avons pu déterminer la composition chimique des piments et 'évaluer leurs propriétés biologiques, suivis par la conception de la formulation et la fabrication de gel anti-inflammatoire », donc, on essaie de plus en plus de privilégier la médecine naturelle.

Mots clés Activités biologiques, (*Capsicum annum L.*), flavonoides, gel anti-inflammatoire , huiles essentielles,.

الملخص

يعود أصل الفلفل الحار (*Capsicum annum L.*) إلى أمريكا الوسطى والجنوبية، وانتشرت العديد من الأصناف من عدة أنواع في جميع أنحاء العالم. قمنا بعمل داخل المدرسة الوطنية للتكنولوجيا الحيوية (ENSB) لاستخراج الفلفل الحار (*Capsicum annum L.*) من ناحية، وفي مركز أبحاث التكنولوجيا الحيوية (CRBT) للأنشطة البيولوجية والصياغة من ناحية أخرى.

يتمثل عملنا في دراسة الأنشطة الكيميائية النباتية ومضادات الأكسدة ومضادة الالتهابات للفلفل المجفف (الأحمر) المزروع في منطقة قالمة والتي كشفت عنها،

طرق فحص Folin-Ciocalteu لتحديد إجمالي البوليفينول، ومقاييسات الفلافونويد ؛ ABTS و FRAP و SNP و DPPH و Phenanthroline لقياس النشاط المضاد للأكسدة وتثبيط تطهير BSA بطريقة Kandikattu K للنشاط المضاد للالتهابات.

تمكنا من تحديد التركيب الكيميائي للفلفل و «تقييم خصائصها البيولوجية، يليها تصميم التركيب وتصنيع الجل المضاد للالتهابات»، لذلك نحاول بشكل متزايد تفضيل الطب الطبيعي.

الكلمات الرئيسية : الأنشطة البيولوجية، الفليفلة ، الفلافونويد، الهلام المضاد للالتهابات، الزيوت الأساسية.

ABSTRACT

The hot pepper (*Capsicum annum L.*) and spicy is native to America (Central and South), many varieties from several species have spread throughout the world. We have carried out work at the National School of Biotechnology (ENSB) for the extraction of pepper (*Capsicum annum L.*) on the one hand, and on the other hand at the Biotechnology Research Center (CRBT) for the biological activities and formulation.

Our work consists in studying the phytochemical, antioxidant and anti-inflammatory activities of dried chillies (red) grown in the region of Guelma revealed by ,

Folin-Ciocalteu assay methods to quantify total polyphenols, flavonoids assays; ABTS, FRAP, SNP, DPPH and Phenanthroline tests to measure antioxidant activity and inhibition of BSA denaturation by Kandikattu K method for anti-inflammatory activity.

We were able to determine the chemical composition of chillies and evaluate their biological properties, followed by the design of the formulation and manufacture of anti-inflammatory gel", therefore, we are trying more and more to focus on natural medicine.

Keywords : Biological activities, *Capsicum annum*, flavonoids, anti-inflammatory gel, essential oils,.

Introduction

Générale

Introduction :

La phytothérapie est l'utilisation de plantes ou de médicaments à base de plantes pour traiter naturellement divers maux du corps humain. C'est sans aucun doute le meilleur moyen de prévenir et de soigner la plupart de nos maux du quotidien. Les plantes sont une option qui fournit naturellement à l'organisme les substances dont il a besoin pour maintenir son équilibre de vie.

Pendant des siècles, et à travers les continents, les gens ont pu acquérir des connaissances sur les plantes et leurs propriétés thérapeutiques. Il y a un intérêt croissant pour la médecine traditionnelle de la part des universités et de l'industrie.

Aujourd'hui, l'efficacité de médecine traditionnelle est reconnue et scientifiquement prouvée. Ses bienfaits indéniables sur notre santé et sa dimension naturelle font entrer la phytothérapie dans notre quotidien.

Le Piment (*Capsicum annum L.*) est une espèce végétale appartenant à la famille des Solanacées Très utilisé en médecine traditionnelle car il est riche en capsaïcine, son principe actif principal, en vitamines et en antioxydants, et est recommandé pour le traitement d'un certain nombre d'affections telles que la grippe, la rhinopharyngite et les rhumatismes. Syndrome. En raison de son effet sur la formation du mauvais cholestérol, il facilite la digestion et prévient les maladies cardiovasculaires.

Face à la nécessité d'une consommation saine et plus particulièrement au niveau du secteur de la sante, résulter par une problématique liée à l'utilisation des composants chimiques dans les médicaments qui provoquant souvent des effets secondaires plus au moins grave sur la santé humaine , pour cela pour cela nous avons constaté de réaliser notre travail qui a pour but la réduction de l'impact des produits chimiques dangereux sur la santé publique et exploitation des sources naturelles à base de plantes

L'objectif principal de notre travail est « la conception, formulation et fabrication

D'un gel anti-inflammatoire ». Nous essayons de privilégier

De plus en plus les médicaments d'origine naturelle. De ce fait, nous avons réalisé des travaux menés au sein de l'école nationale de biotechnologie (ENSB) pour l'extraction du piment (*Capsicum annum L.*) d'une part, d'autre part au centre de recherche de biotechnologie (CRBT) pour les activités biologiques afin de la valoriser en gel anti inflammatoire pour soulage les douleurs musculaires et articulaires

Chapitre I

Synthèse

bibliographique

Figure 1 : anatomie de fruit de C.annuum

Chapitre I Synthèse bibliographique

Partie I Généralités

I.1 Historique

Le piment fort est originaire d'Amérique (centrale et Sud). Après la découverte de l'Amérique par les Européens, de nombreuses variétés issues de plusieurs espèces se sont répandus dans le monde entier. Peu après les voyages des Européens, les commerçants portugais ont introduit les piments le long de leurs routes commerciales en Afrique et en Asie (**Gruben, 2004 ; Doré et Varoquaux, 2006**)

Le piment (*Capsicum*) appartient à la famille des solanacées, qui comprend de nombreuses plantes économiquement importantes (**Walsh and Hoot 2001**) Environ 25 espèces, dont cinq sont domestiquées, à savoir *Capsicum annuum L.* (piments forts et doux), *Capsicum frutescens L.*, *Capsicum chinense Jacq.*, *Capsicum baccatum L.*, et *Capsicum pubescens*. Les trois premières espèces sont les plus cultivées. *C. annuum* forme souvent un complexe avec *C. frutescens* et *C. chinense*. En Afrique, ils sont généralement considérés ensemble comme *C. annuum L.* (**Grubben et El Tahir, 2004**)

Le nom de genre *Capsicum* serait dérivé du grec capsicon via le latin kaptein, qui signifie piquûre, apparemment en référence à la piquante des fruits. La plus ancienne référence connue à *C. annuum* remonte à la culture préagricole Ocampo dans les grottes près de Tamaulipas, datant de 7000 avant J.-C. et ailleurs au Mexique. Depuis 7000 avant J.-C., les piments font partie de l'alimentation des Mayas et des Aztèques du centre du Mexique et du Yucatan. (**D.J. Charles, 2013**)

La capsaïcine, isolée par Tresh en 1876, est le composant "actif" de nombreux piments. Il appartient à une famille de stimulants naturels appelés vanilloïdes, dont les plus connus à son instar, sont des épices. La capsaïcine et les vanilloïdes en général ont des propriétés analgésiques et anti-inflammatoires qui sont à l'origine de leur utilisation dans les médecines traditionnelles et populaires (**Dallel et Raboisson, 1999**).

I.2 Distribution et production de piment

En 1492, lorsque Christophe Colomb a atterri à Haïti, le *Capsicum* était cultivé partout dans les Caraïbes, au Mexique, en Amérique centrale et au nord de l'Amérique du Sud (**Figure. 1**).

Christophe Colomb ramena des capsicums en Europe et, peu de temps après, en Inde et en Asie du Sud-Est lors de voyages portugais. À la fin du XVIIe siècle, *C.annuum* et *C. frutescens* étaient cultivés dans la plupart des régions chaudes du monde (**Figure.2 et 3**). (Charles, 2013)

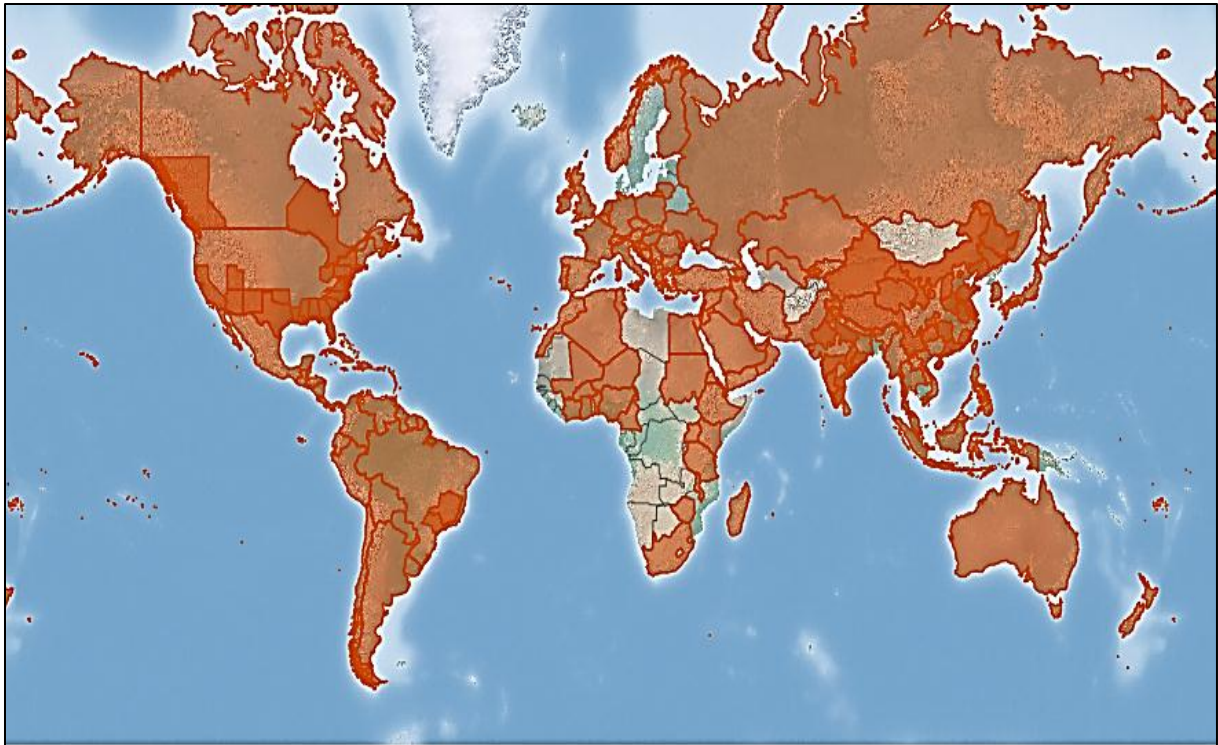


Figure.2 : distribution de piment dans le monde (source CABI.org)

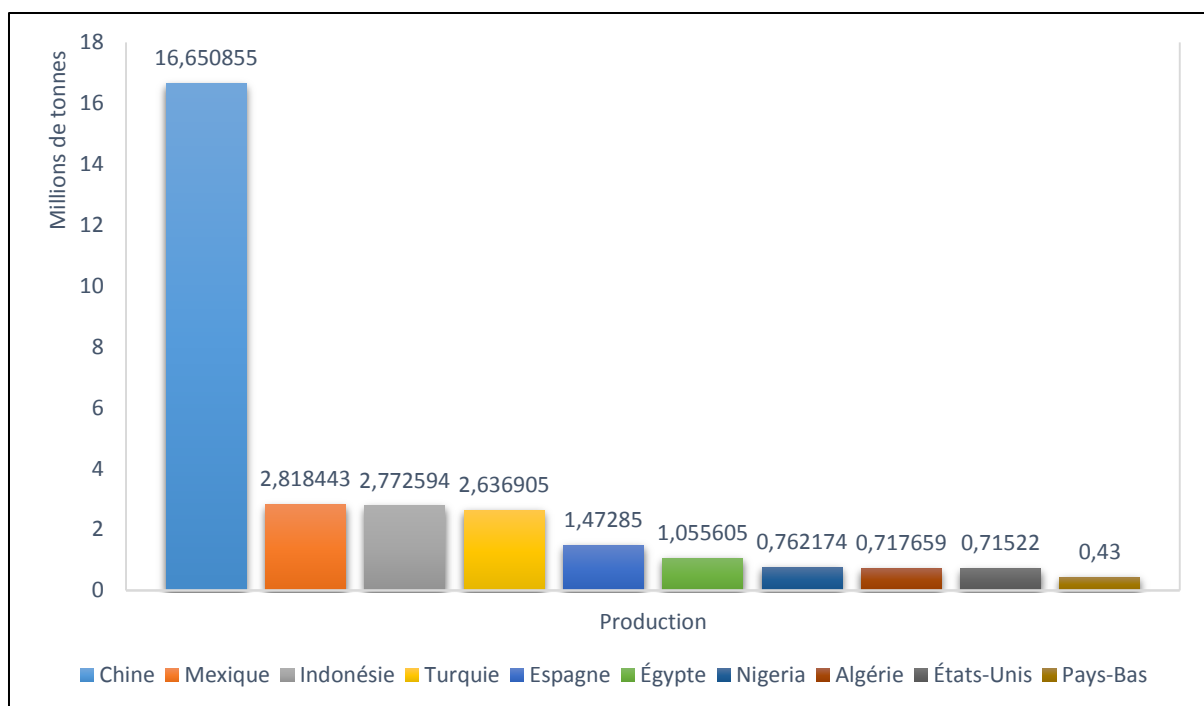


Figure.3 : Production de piment frais par pays en 2020 (source FAO 2020)

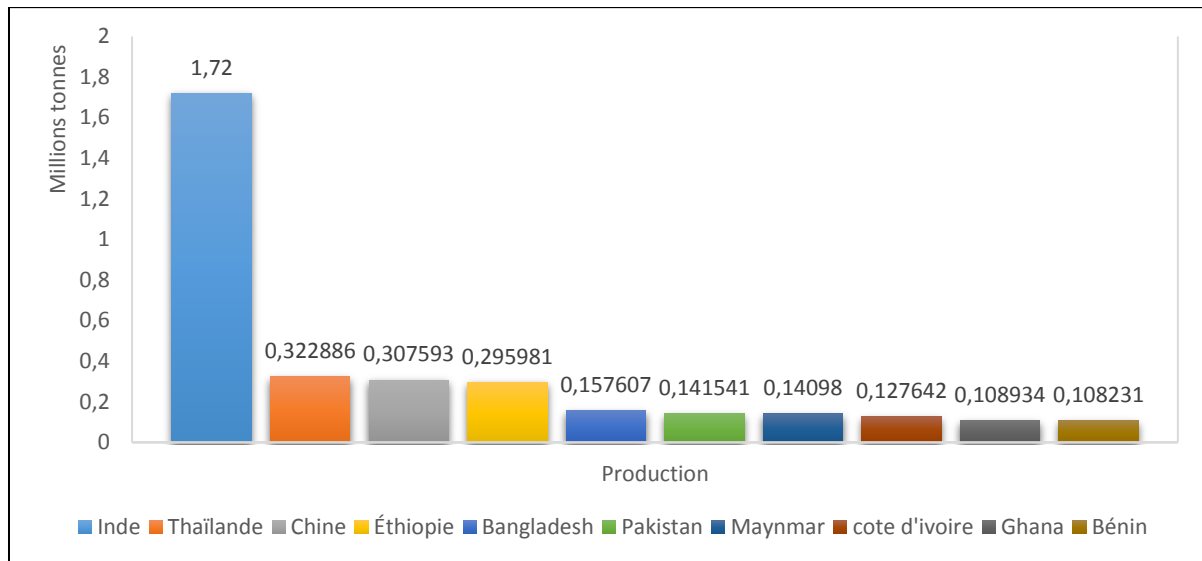


Figure.4 : Production de piment séché par pays en 2020 (source FAO 2020)

I.3 Taxonomie

La famille des solanacées est une importante famille de plantes à fleurs (angiospermes), comprenant plus de 100 genres et plus de 3000 espèces. Les quatre principales cultures maraîchères de la famille des solanacées sont la pomme de terre (*Solanum tuberosum*), la tomate (*Solanum lycopersicum*), l'aubergine (*Solanum melongena*) et le piment (*Capsicum ssp.*). *Capsicum annum* comprend à la fois les piments piquant et non-piquant. Quatre autres poivrons (*Capsicum frutescens*, *Capsicum chinense*, *Capsicum pubescens* et *Capsicum baccatum*) sont également cultivés pour la production de piment. (W.L. Morris, M.A. Taylor, 2017)

I.3.1 Classification

D'après l'APG 2009.

Règne : Plantae

Division : Magnoliophyta

Classe : Magnoliopsida

Sous-classe : Asteridae

Ordre : Solanales

Famille : Solanaceae

Genre : *Capsicum*

Espèce : *Capsicum annum* (MacBryde, Bruce.2006)

I.4 Description botanique

C'est une plante annuelle cultivée dans les régions tempérées et vivace dans les régions tropicales. Tiges de 50 à 2 m de hauteur, herbacées, ramifiées vertes. Le système racinaire atteint une profondeur de 0,70 à 1,20 m, mais la plupart des racines se trouvent à une profondeur de 10 à 40 cm. Ses feuilles sont ovales, lancéolées et divisées en trois parties. Ses fleurs sont blanches, à 5 à 7 fleurs, disposées par paires ou solitaires, et le fruit est composé de baies polymorphes pas trop charnues de couleur variable, vertes avant maturité et jaunes, rouges ou violettes au plus tard, contenant de nombreuses graines jaunâtres. Graines de 2,5 à 5 mm de long, jaune pâle, aplaties, principalement réniformes, finement réticulées, avec des marges nettement épaissies autour du micropyle. Floraison à partir de mi-juin. Fructification de la seconde quinzaine de juillet à novembre (Bussmann R.W. et al. 2019).



Figure.6 : *C.annuum* plant



Figure.7 : fruit de *C.annuum*

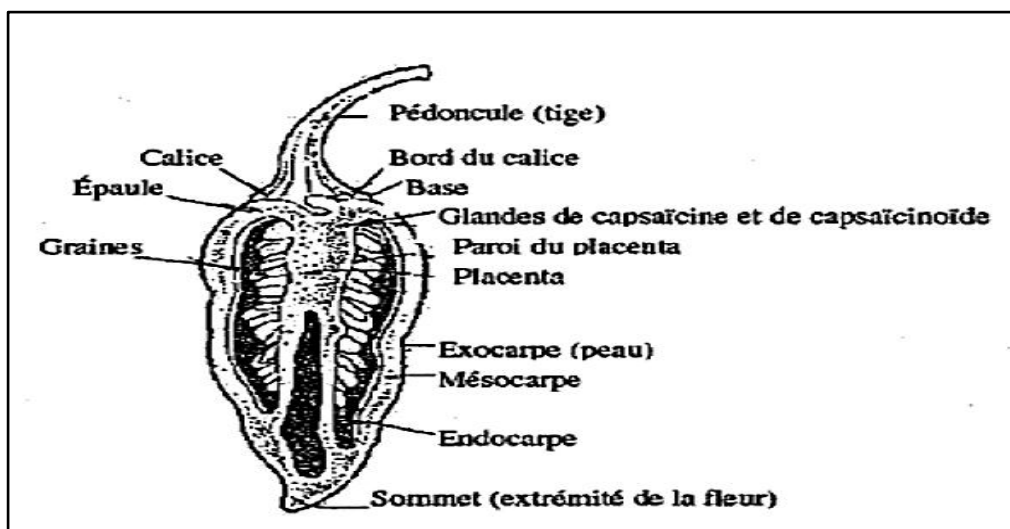


Figure 5 : anatomie de fruit de *C.annuum*

I.5 Description chimique

Comme la plupart des plantes, le piment contiennent des milliers de produits chimiques, y compris l'eau, les huiles fixes (gras), les huiles essentiels, les caroténoïdes, la résine, les protéines, les fibres, les éléments minéraux et beaucoup d'autres produits chimiques. Lorsqu'ils sont frais, les fruits de la plupart des espèces de piments contiennent des quantités élevées de vitamines B, C, E et de provitamine A (carotène). **(tableau.1) (Bosland PW, Votava EJ (1999), De, Amit Krishna, 2003).**

Les nombreux produits chimiques ont une importance pour la valeur nutritionnelle, le goût, la couleur et l'arôme. Les deux groupes de produits chimiques les plus importants présents dans les piments sont les caroténoïdes et les capsïcinoïdes. Les caroténoïdes contribuent à la couleur du piment et à sa valeur nutritive, tandis que les capsïcinoïdes sont les alcaloïdes qui donnent aux piments leur chaleur caractéristique. **(Bosland PW, Votava EJ (1999).**

Tableau 1: Composition nutritionnelle du piment rouge **(Charles, 2013)**

Nutriments	Unité	Valeur pour 100g
Eau		8,5
Energie	Kcal	318
Protéines	g	12,01
Lipides totaux	g	17,27
Carbohydrates	g	56,63
Fibres	g	27,2
Sucres totaux	mg	10,34
Calcium, Ca	mg	148
Vitamine C	mg	76,4
Vitamine B ₆	µg	2450
Vitamine B ₁₂	UI	0,00
Vitamine A	UI	41,610
Vitamine D	mg	0,00
Vitamine E (alpha tocopherol)	g	29,83
Acides gras saturés	g	3260
Acides gras monoinsaturés	g	2750
Acides gras polyinsaturés	g	8370

I.5.1 Les Capsaïcinoïdes

Le Capsicum contient principalement des principes actifs piquants ; un groupe chimique de composés alcaloïdes non volatils appelés collectivement capsaïcinoïdes. Tous les capsaïcinoïdes sont des amides d'acides avec du vanillylamide et des acides gras à chaîne ramifiée en C9-C11 à chaîne ramifiée (Wesolowska et al. 2011).

I.5.1.1 Origine

Les piments sont la principale source de capsaïcinoïdes (Xiu-Ju Luo et al, 2011)

Le péricarpe de tous les fruits de Capsicum comprend des vésicules remplies d'oléorésines, composées principalement d'alcaloïdes connus sous le nom de capsaïcinoïdes. (María Yolanda Rios, Horacio F, 2014)

Capsaïcinoïd est une famille de produits naturels extraits de fruits de piment fort. Les capsaïcinoïdes sont utilisés dans le monde entier dans les produits de consommation, les préparations médicinales et les produits pharmaceutiques.. (John Kailemia Muchena., 2009).

I.5.1.2 Structure chimique

Les capsaïcinoïdes se distinguent seulement dans le groupe carbonyle associé à la structure parente. La figure 4 illustre la structure mère des capsaïcinoïdes, tandis que la figure 5 présente les chaînes de carbone attachées à la structure mère pour produire les différents capsaïcinoïdes

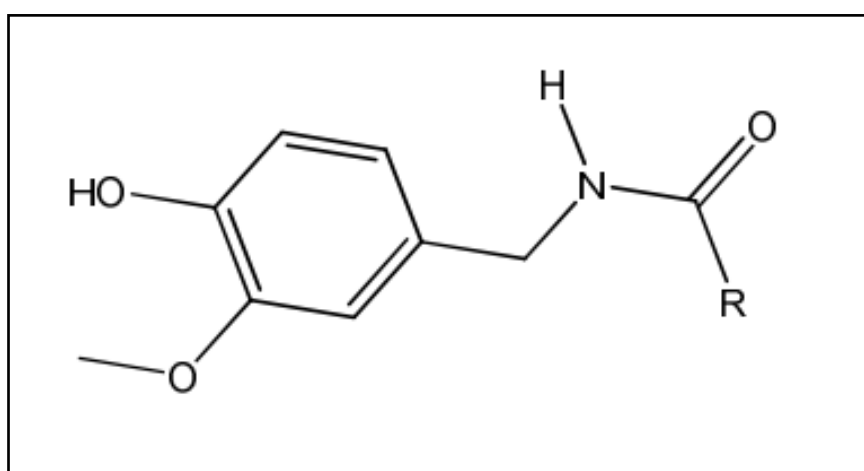


Figure.8 : La structure mère des capsaïcinoïdes (John Kailemia Muchena., 2009)

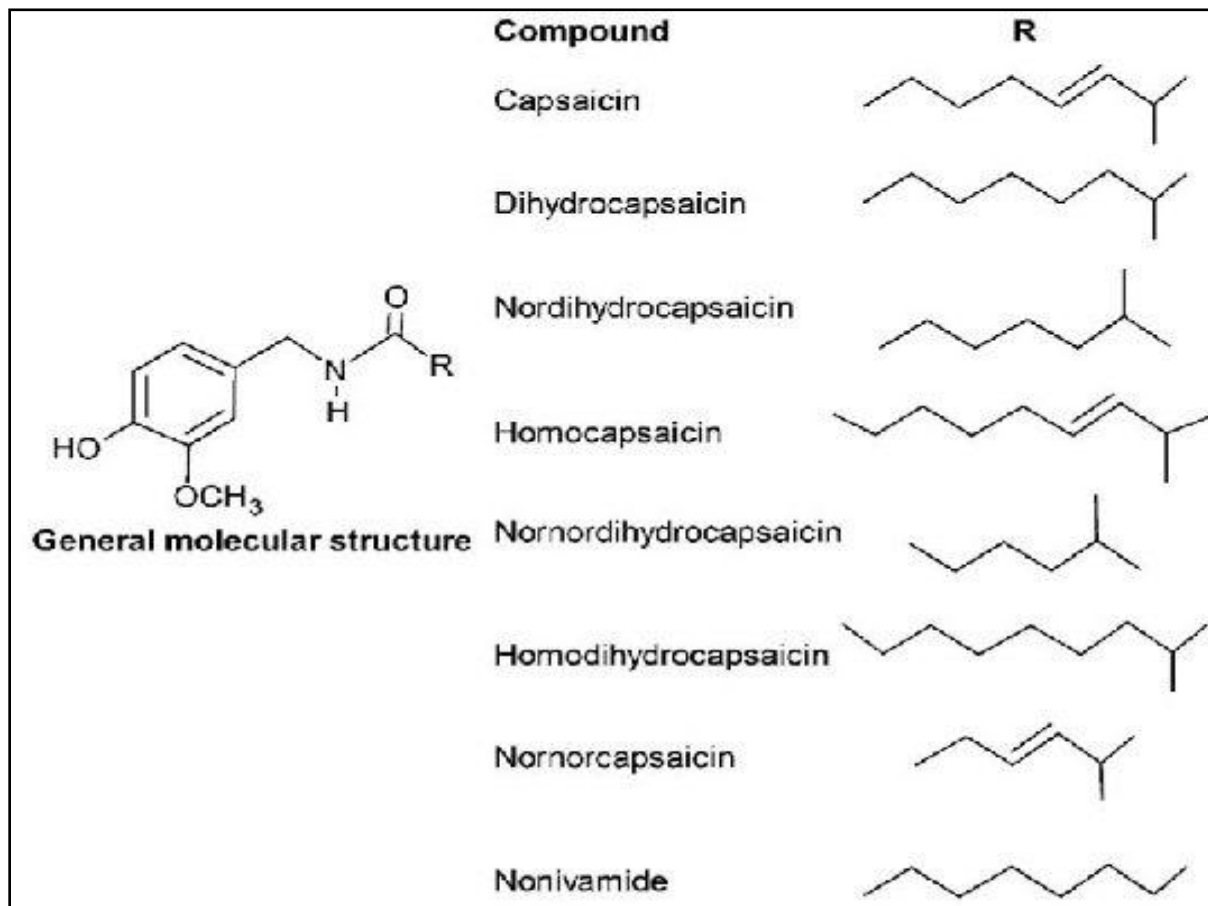


Figure.9 : Structure moléculaire générale des capsaïcinoïdes (John Kailemia Muchena., 2009)

	Capsaïcine
Structure	
Nom IUPAC	8-Methyl-N-vanillyl-trans-6-nonenamide
Formule brute	$C_{18}H_{27}NO_3$
Masse molaire	305,412613 g/mol
Température de fusion	62 - 65 °C
Température de vaporisation	210 - 220 °C
Solubilité	Faiblement soluble dans l'eau. Soluble dans l'alcool, l'éther, le benzène et le chloroforme.

Figure.10 : structure chimique de capsaïcine (NCBI)
(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Capsaicin>)

La capsaïcine est le composant principal du goût piquant du piment et est un alcaloïde (capsaïcinoïde) présent dans les piments. La capsaïcine est un alcaloïde naturel extrait du fruit de la famille des plantes Capsicum **(M. Hayman et P. C. Kam, 2008)**.

I.5.2 Les caroténoïdes

Les caroténoïdes sont un groupe de micronutriments présents dans de nombreux fruits et légumes. Ils sont responsables de leur propre coloration, qui varie du jaune au rouge. **(Maiani, G et al, 2009)**

Dans les tissus verts, la couleur des caroténoïdes est masquée par la chlorophylle. Lorsque la chlorophylle disparaît en automne, elle devient visible. **(Sy, C. (2011).**

Les caroténoïdes sont des pigments que l'on trouve dans presque tous les fruits colorés et les légumes à feuilles vertes, dont il existe plus de 650 types différents dans la nature. **(Mohd Hassan, N et al., 2019 ; H.E. Khoo et al, 2011)**

Le fruit de l'espèce Capsicum est reconnu comme étant riche en caroténoïdes. Les caroténoïdes se développent et s'accumulent rapidement lorsque le fruit est mûr. Les piments sont de bonnes sources de composés bioactifs, comme les caroténoïdes (lutéine, β -carotène, β -cryptoxanthine, zéaxanthine, violaxanthine, capsanthine et capsorubine) **(Villa-Rivera et al, 2020)**

Les caroténoïdes jouent un rôle important en tant qu'antioxydants. Les caroténoïdes ont été testés pour leurs effets analgésiques et anti-inflammatoires. Les chercheurs ont découvert que l'alpha et le bêta-carotène augmentaient l'activité analgésique de la morphine, le lycopène réduisait l'hyperalgésie thermique chez les souris diabétiques, et le lycopène et l'astaxanthine réduisaient les niveaux de molécules impliquées dans les processus inflammatoires. **(Hernández-Ortega, M et al, 2012).**

I.5.2.1 Structure chimique des caroténoïdes

Les caroténoïdes sont des pigments tétraterpénoïdes qui apparaissent en jaune, orange, rouge et violet. Les caroténoïdes sont les pigments les plus courants trouvés dans la nature. La plupart des caroténoïdes sont composés de huit unités d'isoprène avec un squelette de 40 atomes de carbone. Leur structure générale consiste généralement en une chaîne polyène avec neuf doubles liaisons conjuguées et des groupes terminaux aux deux extrémités de la chaîne polyène. Les caroténoïdes sont divisés en deux catégories : le carotène et la lutéine. Carotène, tel que l'alpha-carotène, le bêta-carotène, le bêta, ψ -carotène (gamma-carotène) et le lycopène.

D'autre part, les xanthophylles telles que la bêta-cryptoxanthine, la lutéine, la zéaxanthine, l'astaxanthine, la fucoxanthine et la périidine. (Maoka, Takashi, 2020)

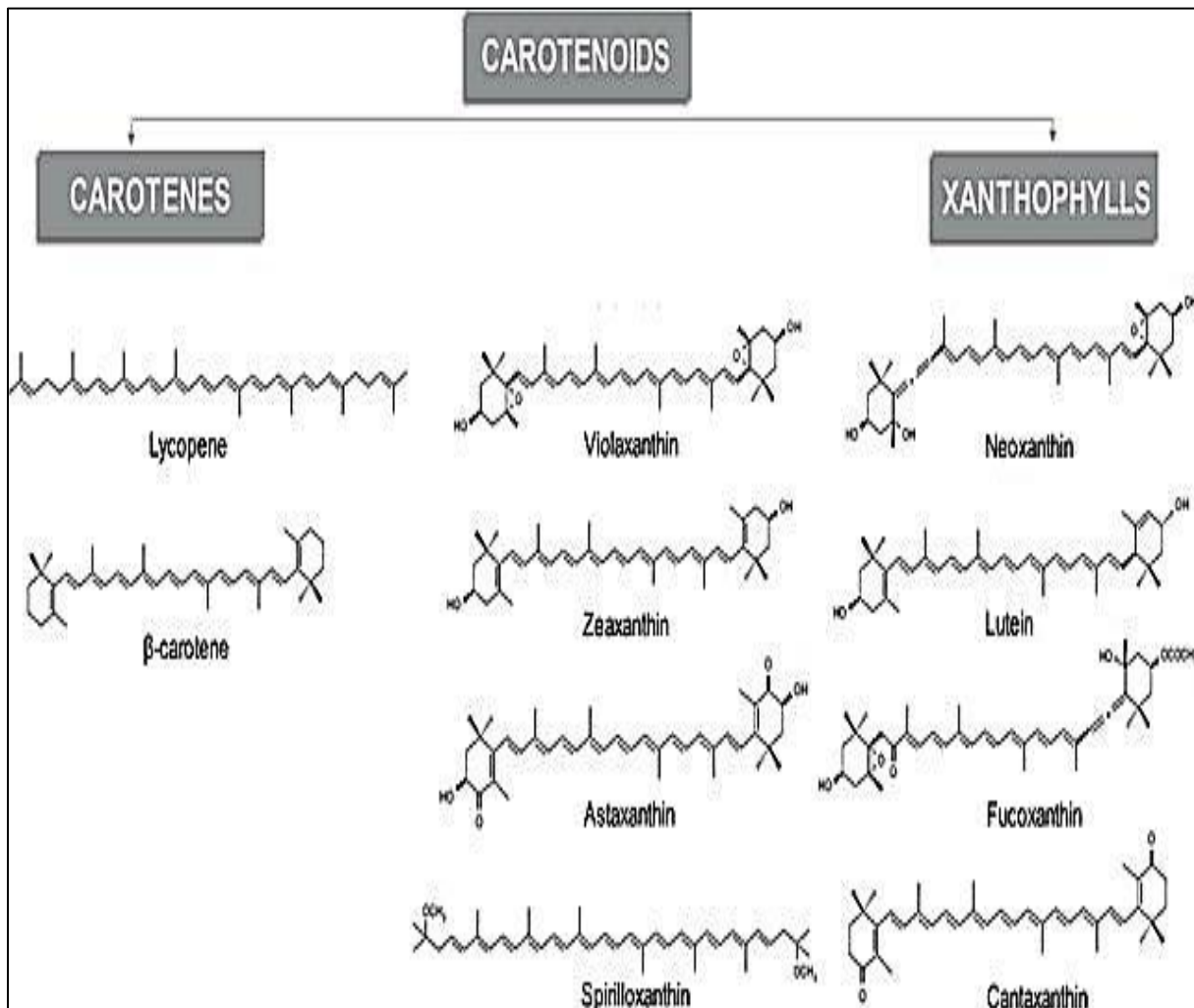


Figure.11 : Structure chimique de quelques caroténoïdes (Fernandes, Andrêssa & Nascimento, 2018).

I.5.3 Les polyphénols

Les polyphénols sont des molécules à groupements phénoliques multiples, c'est-à-dire des noyaux aromatiques sur lesquels un ou plusieurs groupements hydroxyle (-OH) sont présents (Harborne, J. B. ,1984),

Ce dernier sont des composés naturels synthétisés exclusivement par les plantes, ces composés ont une large gamme de structures complexes (Lima, G.P.P et al 2014).

Les composés phénoliques constituent un groupe hétérogène de molécules, se distinguant par leurs structures chimiques (Manach et al. 2004).

Les espèces piquantes de capsicum sont riches en polyphénols (Marin et al, 2004 ; Materska et Perucka, 2005).

La quercétine et la lutéoline sont les principaux flavonoïdes polyphénoliques présents dans le C. annuum (Batiha, Gaber E.-S., Ali Alqahtani, and all. 2020)

Pour sa complexité, la description comprend un grand nombre de composés hétérogènes. Les principales classes de polyphénols comprennent les acides phénoliques, les flavonoïdes et les non-flavonoïdes avec des sous-classes en fonction du nombre d'unités phénoliques dans leur structure moléculaire, des substituants et/ou du type de liaisons entre les unités phénoliques. (Rambaran, T.F; 2020).

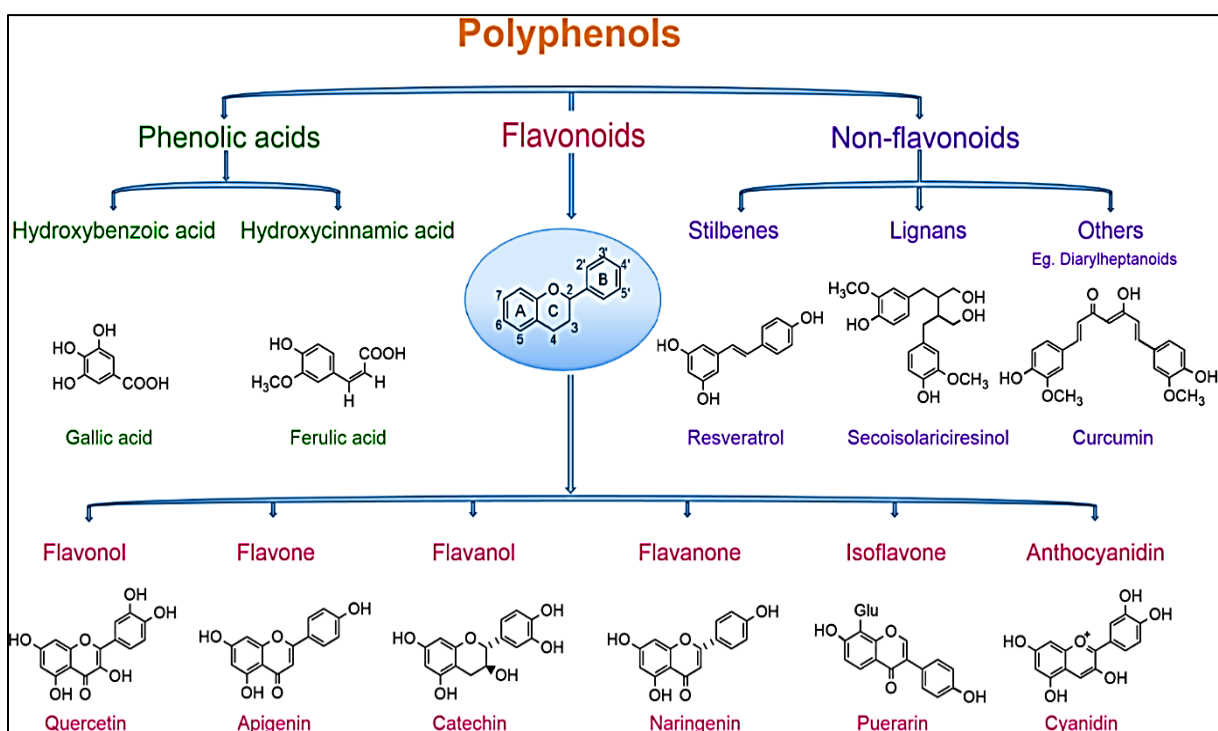


Figure.12 : Classification des polyphénols (Rambaran, T.F ; 2020)

Des nombreux composés phénoliques ont été rapportés ayant une puissante activité antioxydant et des activités anticarcinogènes/antimutagènes, antiathérosclérotiques, antibactériennes, antivirales et anti-inflammatoires. (Veeriah et al. 2006; Baidez et al. 2007; Han et al. 2007).

I.5.3.1 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent une classe importante de produits naturels, ils appartiennent en particulier à une classe de métabolites secondaires végétaux à structure polyphénolique, largement présents dans les fruits, les légumes et les plantes. (Panche AN et al, 2016).

Dans la nature, les composés flavonoïdes sont des produits extraits des plantes et on les trouve dans plusieurs parties de la plante. Les flavonoïdes sont utilisés par les légumes pour leur croissance et leur défense. (Havsteen B, 2002).

Ils ont plusieurs fonctions importantes dans les plantes, comme la protection contre les rayons UV nocifs ou la pigmentation des plantes. En outre, ils ont des propriétés antioxydantes, antivirales et antibactériennes. Ils régulent également l'expression des gènes et modulent l'action enzymatique. (Pollastri S, 2011).

I.5.3.2 Structure chimique des flavonoïdes

Les flavonoïdes peuvent être subdivisés en différents sous-groupes en fonction du carbone du cycle C sur lequel est fixé le cycle B et du degré d'insaturation et d'oxydation du cycle C. Les flavonoïdes dans lesquels le cycle B est lié en position 3 du cycle C sont appelés isoflavones. Les flavonoïdes dont le cycle B est lié en position 4 sont appelés néoflavonoïdes, tandis que ceux dont le cycle B est lié en position 2 peuvent être subdivisés en plusieurs sous-groupes sur la base des caractéristiques structurales du cycle C. Ces sous-groupes sont les suivants : les flavones, les flavonols, les flavanones, les flavanonols, les flavanols ou catéchines, anthocyanines et chalcones. (Bruneton, J, 1999).

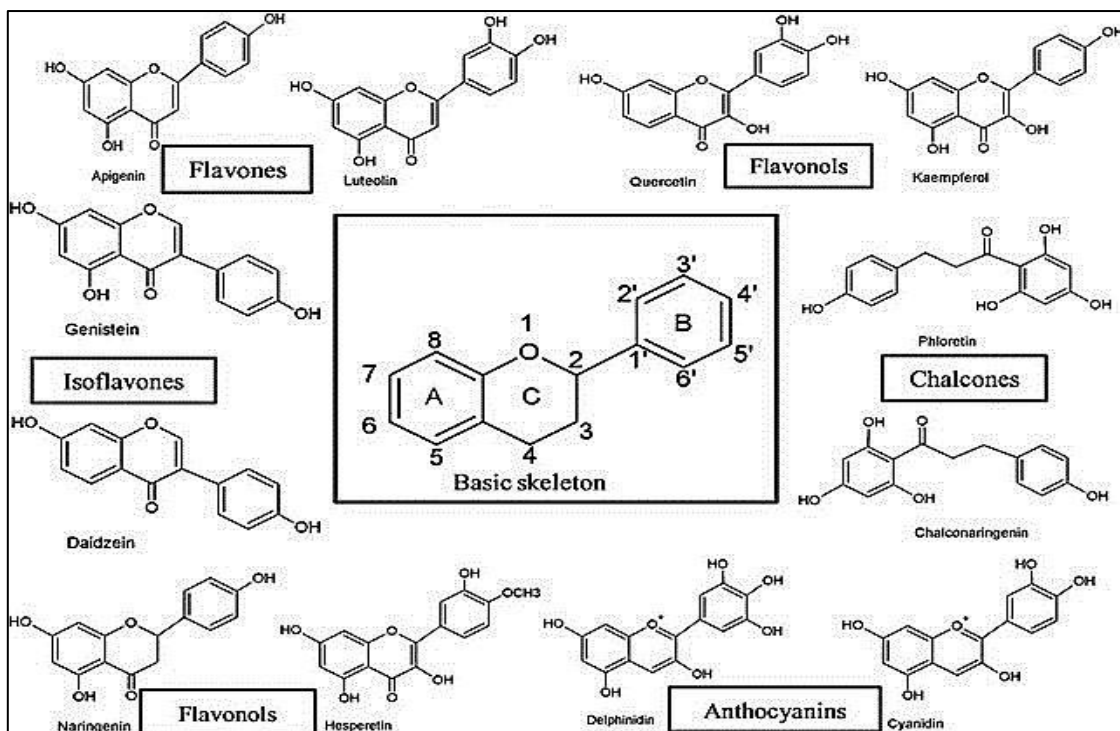


Figure.13 : Structure du squelette de base des flavonoïdes et de leurs classes

I.6 Utilisation de *Capsicum*

Originaire du Mexique et d'Amérique centrale, genre *Capsicum*. A été utilisé dans la pratique médicale traditionnelle. Les piments ont environ 32 utilisations différentes liées à la santé, y compris le traitement de l'arthrite, des rhumatismes, des douleurs à l'estomac, des irritations cutanées. (Salehi, Bahare et al,2018).

Le piment est l'un des légumes les plus consommés dans le monde. Son importance tient des différents usages dont il est l'objet. L'occupé une place importante dans la culture humaine depuis la préhistoire dans de nombreux pays. Il est à l'origine d'un condiment important de haute valeur commerciale et médicinale qui présente des propriétés antioxydantes, anti-cancéreuses et de nombreuses autres propriétés. (ZAKI N. et al 2018).

Le piment peut être consommé à l'état frais de manière directe, frit, en sauce ou en conserve. Il est souvent associé en mélange avec divers autres légumes. A l'état déshydraté, le piment est utilisé sous forme de poudre et sert dans les assaisonnements des plats, des viandes braisées etc. (Tano et al., 2008.;C. KOUASSI KOUASSI et al. 2012). La couleur et l'apparence donnent la première impression et ont une influence considérable sur l'acceptabilité des aliments.Par conséquent, le développement d'aliments ayant une couleur et une apparence attrayantes est un objectif important de l'industrie alimentaire. (Arimboor et al., 2014).

I.7 Intérêt thérapeutique

Les plantes médicinales ont prouvé leur importance pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement à travers l'utilisation directe de leurs constituants comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs. (Koudoro Yaya Alain et al.,2009).

I.7.1 Traitement de la douleur

capsaïcine, est actuellement utilisé pour le soulagement de la douleur, et est le traitement topique le plus recommandé pour l'arthrite. (Bosland PW, Votava EJ (1999).

Les sensations de piquant, de brûlure et de démangeaison sont causées chez les humains parce que les capsaïcinoïdes interagissent et stimulent les récepteurs TRP (nocicepteurs) dans la bouche, la peau et les muqueuses responsables des sensations de douleur, de chaleur et

d'acidité. Ces nocicepteurs sont également responsables des effets analgésiques, du soulagement de la douleur et de l'anesthésie, en raison de leur capacité à désensibiliser les neurones sensoriels (**Patapoutian, A et al ; 2009**).

La capsaïcine est actuellement utilisée sous forme de pommades, gels et crèmes topiques pour soulager la douleur. La capsaïcine surcharge les nerfs et provoque une incapacité à transmettre un signal douloureux pendant une période prolongée. (**Jonathan M.,et Joel E. Mortensen 2009**).

I.7.2 Propriétés antioxydants

Les piments sont riches en vitamines C et E, ainsi qu'en provitamine A et en caroténoïdes. Les piments contiennent également des phénoliques et des flavonoïdes en quantités variables. Ces substances chimiques sont des antioxydants qui peuvent contribuer à minimiser les effets néfastes de l'oxydation. (**Materska, M., & Perucka, I. (2005)**).

Les antioxydants jouent un rôle important dans la protection contre de nombreuses maladies de civilisation comme les cardiopathies, les maladies cancéreuses, etc (**Howard et al. 2000; Perucka, 2004**).

Les composés phénoliques ont de nombreuses propriétés biologiques et sont utilisés dans de nombreux domaines thérapeutiques et pharmaceutiques (**figure.10**).

I.7.3 Propriétés anti-inflammatoires

Les extraits de piment sont un traitement anti-arthritique très populaire tant au niveau de la population locale que des spécialistes pratiquant la médecine traditionnelle. Les principales substances anti-inflammatoires des fruits du piment sont la capsaïcine. Les fruits et les espèces apparentées sont des médicaments antirhumatismaux, antipyrétiques et anti-inflammatoires dans les pratiques traditionnelles de différents pays, la médecine classique considère la capsaïcine principalement comme un agent analgésique. (**Spiller F et al ;2008**)

I.7.4 Propriétés antimicrobiennes

Les propriétés antimicrobiennes de différentes classes de polyphénols ont été proposées soit pour le développement de nouveaux conservateurs alimentaires naturels, soit pour le développement de thérapies innovantes pour le traitement de diverses infections microbiennes. (**Rodriguez Vaquero et al., 2010**). Soit pour le développement de thérapies innovantes pour le traitement de diverses infections microbiennes. La **figure.11** représente les

différentes classes de polyphénols présentant une activité antimicrobienne (**Daglia, 2012 ; Kortei et al. 2014**)

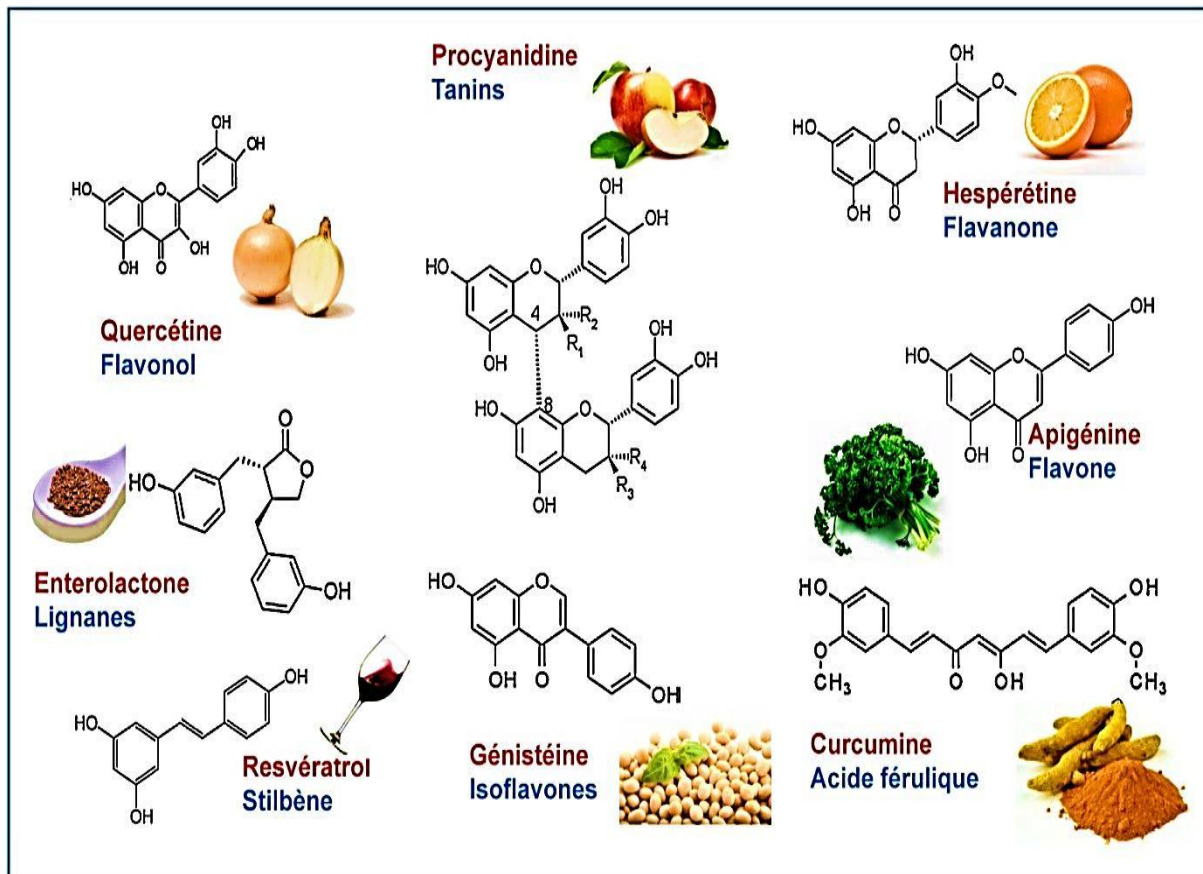


Figure.14: Polyphénols à effets santé. Quercétine : anti-inflammatoire ; procyanidine : vasculoprotectrice ; hespérétine : neuroprotectrice et vasculo-protectrice ; entérolactone : vasculo-protecteur et protecteur osseux ; resvératrol : anticancéreux ; génistéine : anti-bouffées de chaleur et protectrice osseuse ; curcumine : anticancéreuse (**Bennetau-Pelissero, 2014**)

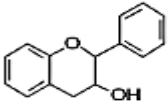
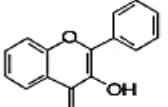
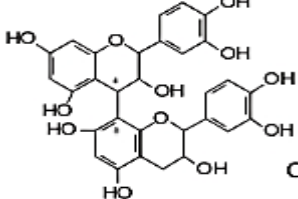
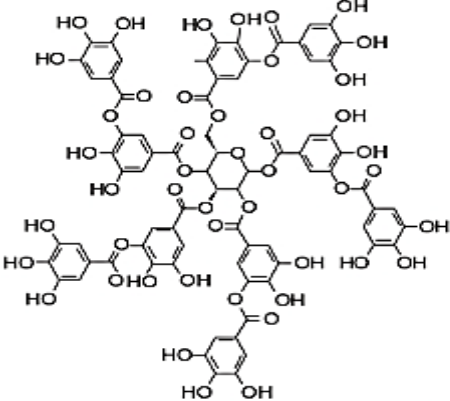
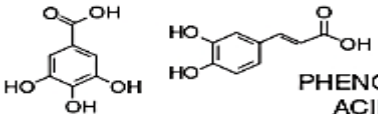
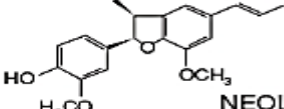
 <p>FLAVAN-3-OL</p>	<p>ANTIBACTERIAL</p> <p>ANTIVIRAL</p>	<p><i>V.cholerae</i> - <i>S.mutans</i> - <i>C.jejuni</i> <i>C.perfringes</i> - <i>E.coli</i> - <i>B.Cereus</i> <i>H.pylori</i> - <i>S.aureus</i> - <i>L.acidophilus</i> <i>A.naelslundii</i> - <i>P.oralis</i> - <i>P.gingivalis</i> <i>P.melaninogenica</i> - <i>F.nucleatum</i> - <i>C.pneumonia</i></p> <p>Adenovirus- Enterovirus -Flu virus</p>
 <p>FLAVONOL</p>	<p>ANTIFUNGAL</p>	<p><i>Candida albicans</i> <i>Microsporium gypseum</i> <i>Trichophyton mentagrophytes</i> <i>Trichophyton rubrum</i></p>
 <p>CONDENSED TANNIN</p>	<p>ANTIBACTERIAL</p> <p>ANTIVIRAL</p>	<p><i>S.mutans</i> <i>E.coli</i> <i>S.aureus</i></p> <p>influenza A virus type -1 herpes simplex virus (HSV)</p>
 <p>HYDROLYSABLE TANNIS</p>	<p>ANTIBACTERIAL</p> <p>ANTIVIRAL</p> <p>ANTIFUNGAL</p>	<p>Different strains of : <i>Salmonella</i> - <i>Staphylococcus</i> <i>Helicobacter</i> - <i>E.coli</i> - <i>Bacillus</i> <i>Clostridium</i> - <i>Campylobacter</i> <i>Listeria</i></p> <p>Epstein-Barr virus Herpes virus HSV -1 and HSV -2,</p> <p><i>Candida parapsilosis</i></p>
 <p>PHENOLIC ACID</p>	<p>ANTIBACTERIAL</p>	<p><i>S.aureus</i> - <i>L.monocytogenes</i> <i>E.coli</i> - <i>P.aeruginosa</i></p>
 <p>NEOLIGNAN</p>	<p>ANTIBACTERIAL</p>	<p>Different strains of : <i>Mycobacterium tuberculosis</i></p>

Figure.15:Classes des polyphénols ayant une activité antimicrobienne (Daglia, 2012)

Partie II Les activites biologiques de *C.annuum*

II.1 Méthodes d'extraction

II.1.1 Définition

En chimie, l'extraction est un processus de séparation qui implique la séparation de substances d'une matrice. Certains composants du soluté sont extraits directement dans le solvant (Zubrick et al, 2014)

Au sens pharmaceutique, l'extraction implique la séparation des parties médicinales actives des tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs dans des procédures d'extraction standard.((Handa et al., 2008)

II.1.1.1 Macération

Dans ce procédé, le médicament brut entier ou en poudre grossière est placée dans un récipient bouché avec le solvant et laissé à température ambiante pendant une période d'au moins 3 jours avec une agitation fréquente jusqu'à ce que la matière soluble soit dissoute. .((Handa et al., 2008).

II.1.1.2 Soxhlet

L'extraction Soxhlet est un outil très utile qui est utilisé depuis longtemps pour extraire et récupérer des analytes précieux à partir de différentes matrices solides. Aujourd'hui, il reste la référence technique pour l'extraction à partir d'échantillons solides, comparant les performances des autres techniques .Un extracteur Soxhlet est un équipement en verre utilisé pour extraire des échantillons à l'aide d'un solvant. Pendant l'extraction Soxhlet, l'échantillon est placé à l'intérieur d'une petite cartouche en matériau poreux chimiquement inerte puis transféré dans le corps principal en verre de l'extracteur Le solvant est placé dans le flacon et monté sous le corps principal et sur le manteau chauffant. Au-dessus de l'extracteur se trouve un refroidisseur pour faciliter la condensation des vapeurs de solvant et leur récupération. Ainsi, la période d'extraction est répétée **figure.7 (Handa et al., 2008).**

II.1.1.3 Ultrasonique extraction

L'extraction par ultrasons (souvent appelée sonication) utilise un son à haute fréquence pour libérer les composés photochimiques du matériel végétal. Ce processus d'extraction est plus rapide que les méthodes de laboratoire traditionnelles telles que la macération ou l'extraction Soxhlet en raison de la destruction des particules du matériel végétal (Cseke et al., 2004).

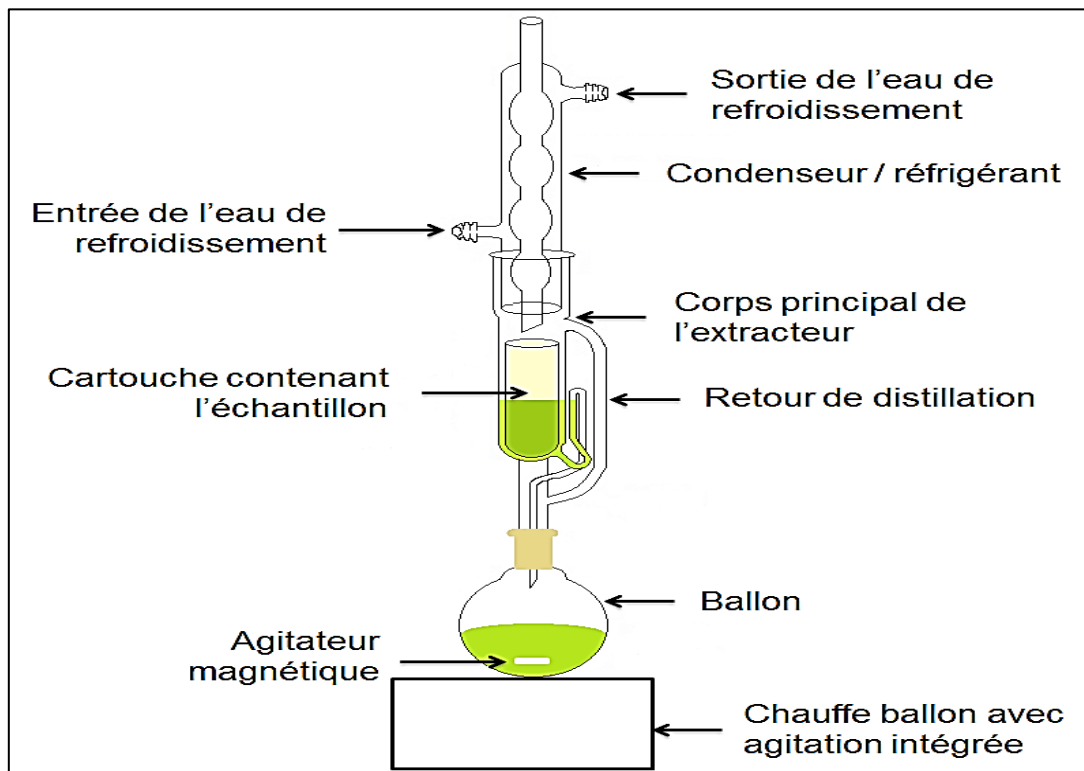


Figure.16:extracteur de Soxhlet

II.1.1.4 L'extraction assistée par ultrasons (EAU)

Est l'une des modifications, où le processus d'extraction est assisté par l'utilisation d'ondes ultrasonores (Zahari et al,2020).

En général, les systèmes à ultrasons utilisés en laboratoire sont couramment des bains et des sondes (Isela Lavilla et al, 2017).

Les avantages des UAE incluent une faible consommation de solvant et d'énergie, ainsi que des températures et des temps d'extraction plus faibles. Les ultrasons à haute puissance peuvent être appliqués à l'aide de deux types d'appareils, un bain à ultrasons ou un sonde. Les deux systèmes sont basés sur un transducteur comme source de puissance ultrasonore (Zhang et al ,2018).

✚ Systèmes de bain

L'équipement de base d'un bain à ultrasons se compose d'un réservoir, d'un générateur électronique (qui alimente le transducteur) et du transducteur. Généralement, plusieurs

transducteurs sont époxydes ou soudés. Les baignoires peuvent être équipées de radiateurs thermostatiques (Isela Lavilla 2017).

✚ Systèmes de sonde

Le système de sonde se compose d'un générateur (c'est-à-dire une source de fréquence électrique alternative, généralement 20 kHz) (Figure 16), un transducteur et un tube (il peut s'agir d'un tube supérieur ou d'un booster, d'un tube détachable avec un embout remplaçable, ou d'une pièce massive usinée en une seule fois). Le système amplifie et concentre l'énergie des ultrasons, augmentant l'efficacité de la sonication (jusqu'à 100+ fois) par rapport aux systèmes de baignoire. (Isela Lavilla et al,2017).

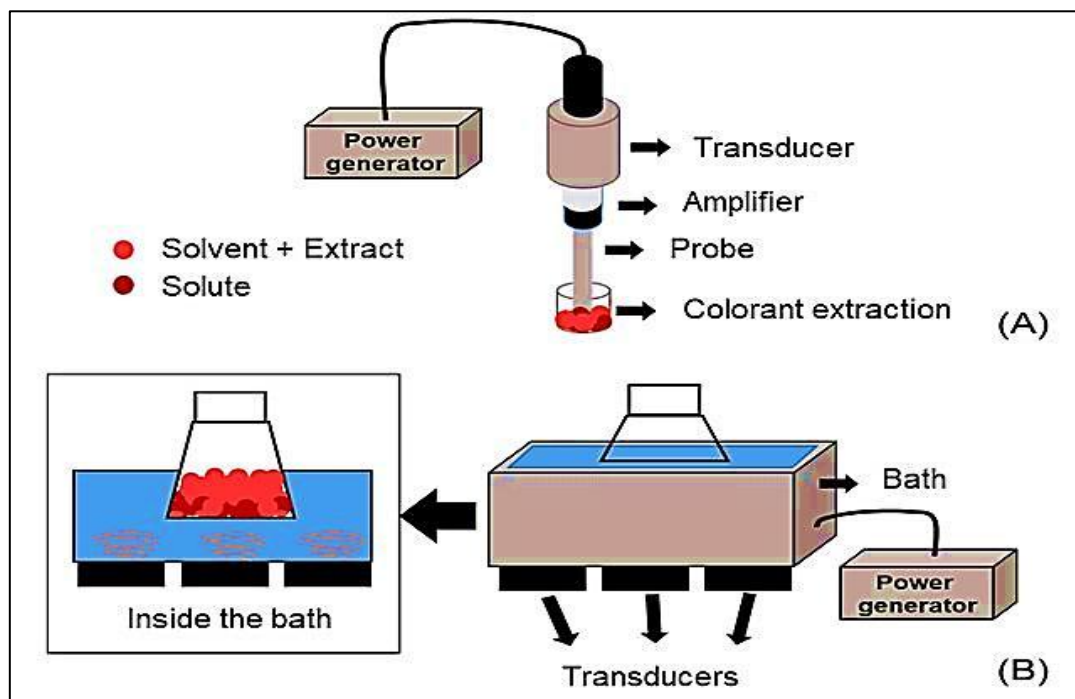


Figure.17:(A) System de sonde (B) System de bain

II.2 Eude Phytochimique Et Evaluation Des Activités Biologique

Pour identifier un constituant végétal, il faut d'abord déterminer la classe de composés, puis déterminer quelle substance particulière appartient à cette classe. La classe de composés est généralement claire à partir de sa réponse aux tests de couleur, de sa solubilité, de ses propriétés RF et de ses caractéristiques spectrales UV. (Harborne, J. B,1984).

Cette technique est également connue sous le nom de criblage photochimique. Dans cette méthode, des extraits aqueux et organiques sont préparés à partir d'échantillons végétaux qui sont des réservoirs de métabolites secondaires, tels que des feuilles, des tiges, des racines ou

des écorces. Les extraits de plantes ont ensuite été analysés pour la présence de métabolites secondaires tels que les alcaloïdes, les terpènes et les flavonoïdes. Des tests standards sont fournis dans la littérature pour chaque classe de composés à analyser (**Priyanka Srivastava et al,2014**).

II.2.1 Stress oxydant

II.2.1.1 Définition

Le stress oxydatif est causé par un déséquilibre de la balance oxydant-antioxydant en faveur des oxydants. Se développe quand les radicaux libres, molécules d'oxydation sont produites plus vite qu'ils peuvent être neutralisés par le corps. (**Betteridge D. J. 2000**).

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydatif est le résultat d'un déséquilibre entre la production de radicaux libres et la perturbation des systèmes de défense antioxydants, il s'agit donc d'un déséquilibre de la balance antioxydant/pro-oxydant (**Aliouat et Boulkelia, 2012**).

II.2.2 Radicaux libres

Une espèce chimique (atome ou molécule) ayant un ou plusieurs électrons non appariés dans ses orbitaux est connue sous le nom de radical libre. Ce déséquilibre n'est que temporaire, et il est résolu en acceptant un autre électron ou en transférant l'électron libre à une autre molécule. Ces espèces radicalaires sont très instables, très réactives, et elles sont constamment créées dans une variété d'événements biologiques. (**Tremellen K. 2008**).

Les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont produits par les processus métaboliques réguliers du corps humain ou par des sources externes telles que les rayons X, l'ozone, la cigarette, la pollution atmosphérique et les déchets industriels. En raison de processus enzymatiques et non enzymatiques, la production de radicaux libres se produit continuellement dans les cellules. (**Bagchi, K. & Puri, S.1998**).

Les radicaux libres les plus importants sont le radical Superoxide ($O\cdot^-$), le radical hydroxyle ($OH\cdot$), l'oxygène singulet (1O_2), le peroxyde d'hydrogène non radicalaire (H_2O_2) et le peroxy-nitrite ($ONOO^-$), appelés "espèces réactives de l'oxygène (ERO)". (**Atasoy, N., & Yücel, U. M. 2021**).

II.2.2.1 Origine des radicaux libres

Sources exogènes : Les sources exogènes peuvent être des facteurs environnementaux, divers polluants, des produits chimiques, une pollution par les métaux lourds ou certaines carences en nutriments. (**Haioun et Hamoudi, 2015**).

Sources endogènes : Les enzymes prooxydantes, y compris la NADPH oxydase, la NO synthase ou les chaînes du cytochrome P450 peuvent générer de l'OLR, et 1 % à 2 % d'oxygène moléculaire entraîne une réduction incomplète de l'O₂ pendant le transport des électrons dans la chaîne respiratoire des cellules aérobies. Formation, en particulier des anions O₂^{•-} (Chaabi, 2008) (Figure. 17).

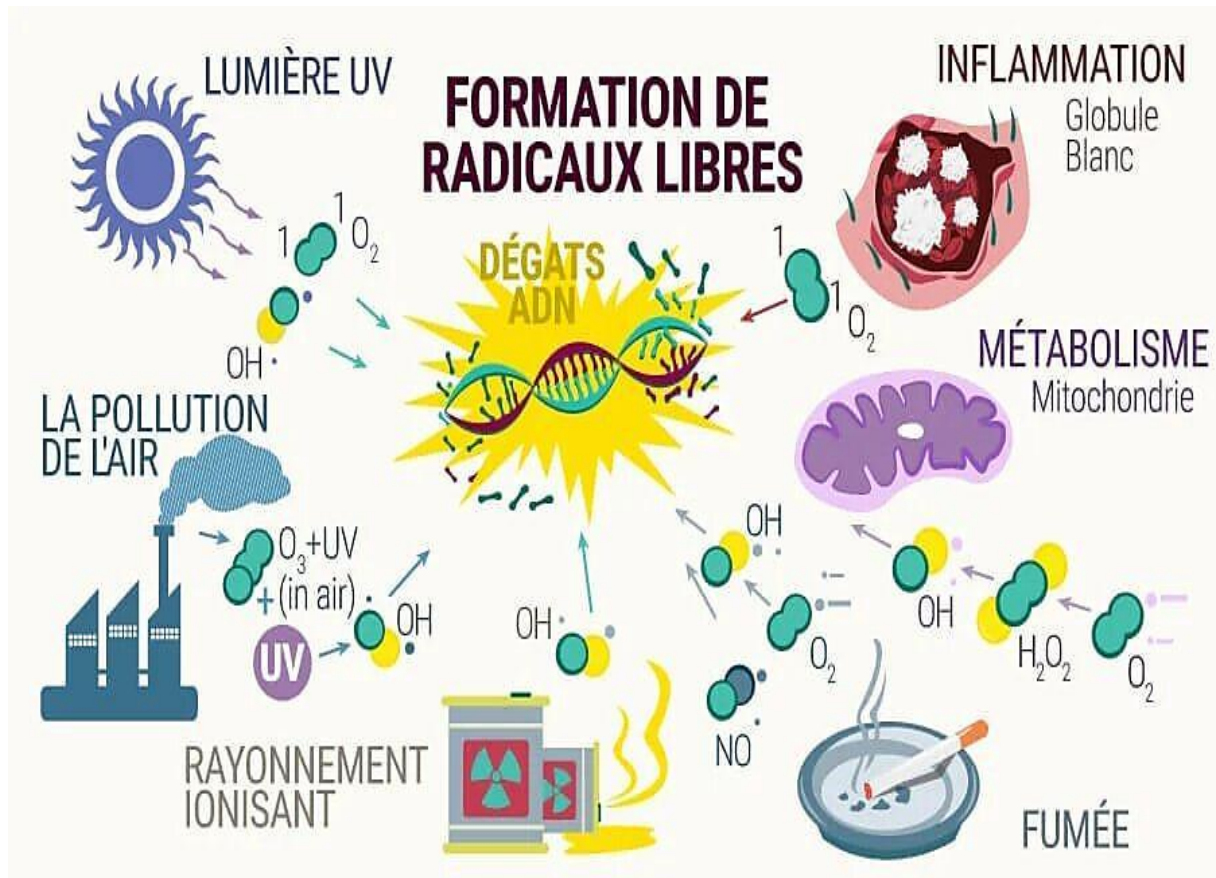


Figure.18: Origine des radicaux libres (<https://www.royalqueenseeds.fr/blog-les-proprietes-antioxydantes-du-cbd-n1061>)

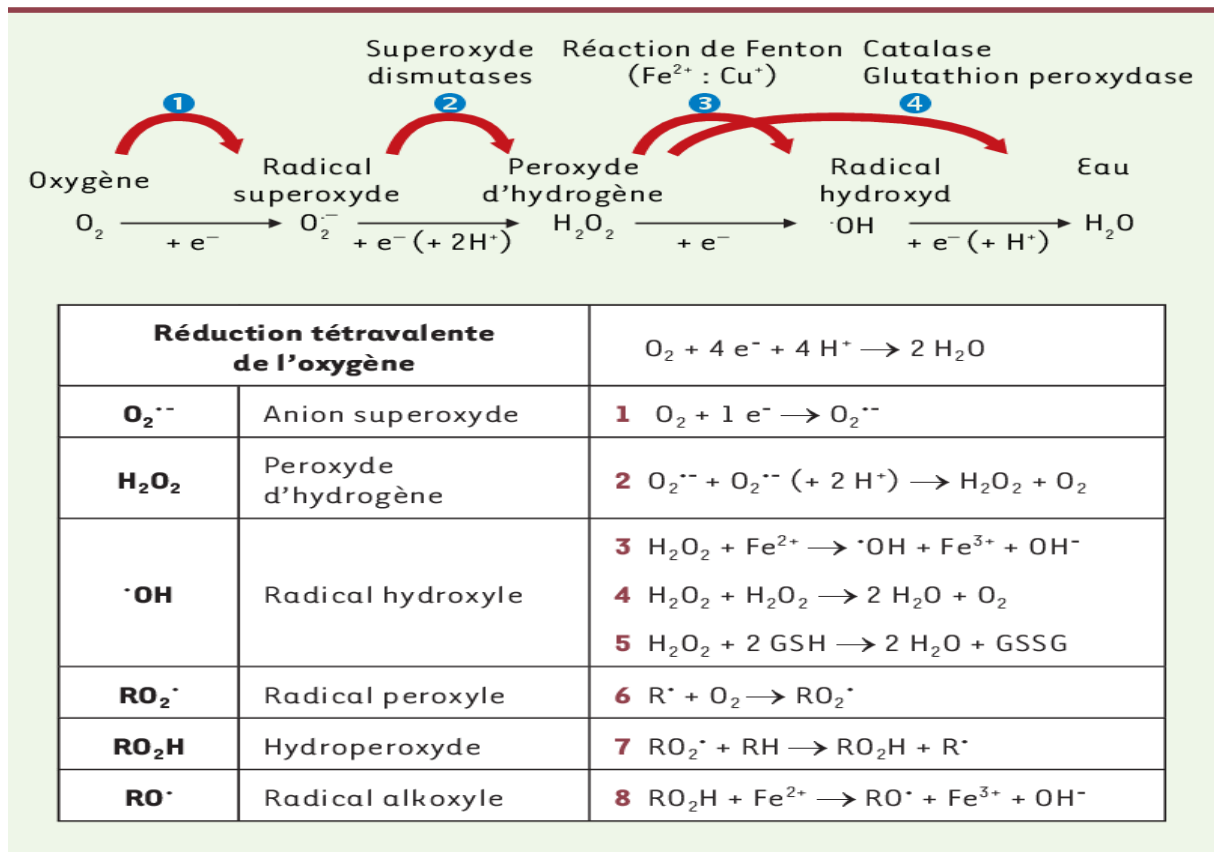


Figure.19 : source d'espèces réactives de l'oxygène. Description détaillée des étapes de la réduction de l'oxygène et de la formation d'intermédiaires partiellement réduits (**Camille Migdal, Mireille Serres, 2011**).

II.2.2.2 Activité anti-oxydante

L'intérêt pour les antioxydants naturels, liés à leurs propriétés thérapeutiques, s'est considérablement accru ces dernières années. Diverses études scientifiques spécialisées ont été menées pour extraire, identifier et quantifier ces composés de plusieurs substances naturelles, à savoir les plantes médicinales et les aliments agricoles. (**Sanchez-Moreno C, 2002 ; Marc Fr et al, 2004 ; Huang, D et al, 2005**).

L'activité antioxydant d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation. Les antioxydants les plus connus sont provitamine A, vitamine C, vitamine E ainsi que les composés phénoliques. Les groupes hydroxyphénoliques sont présents dans la majorité des antioxydants synthétiques et naturels, et leurs effets antioxydants sont dus en partie à leur capacité à fixer les radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles (OH^-) et les superoxydes (O_2^-). (**Rice-Evans, C. A et al, 1995; Grzegorz Bartosz, 2003**).

Pour évaluer l'activité antioxydant in vitro et in vivo par piégeage de radicaux différents Plusieurs méthodes sont utilisées comme les méthodes les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) (Oyaizu, 1986) ou phénanthroline (Szydłowska-Czerniaka, 2008). Les radicaux ABTS (L'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique)) (Re et al.1999) ainsi que la méthode utilisant le radical libre DPPH° (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). (Blois, 1958) .

➤ **Pouvoir réducteur du fer (Frap)**

Le test FRAP diffère des autres tests en ce qu'il n'implique pas de radicaux libres, mais surveille la réduction du ferrique (Fe³⁺) en ferreux (Fe²⁺). La mesure de la capacité réductrice dans le plasma a ensuite été adaptée et modifiée par de nombreux chercheurs pour mesurer la capacité antioxydante d'extraits végétaux lorsque le complexe Fe³⁺-TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) a été traité avec un Les antioxydants forment une forte couleur bleue dans des conditions acides, avec une longueur d'onde d'absorption maximale de 593 nm. L'effet antioxydant peut donc être suivi à l'aide d'un spectrophotomètre.

➤ **La méthode du phénanthroline (1,10-phénanthroline)**

La 1,10-phénanthroline (C₁₂H₈N₂, ortho-phénanthroline ou o-Phen) est un composé hétérocyclique azoté tricyclique qui réagit avec le fer, pour former des complexes colorés (NCBI, D. A. Skoog et al).

Le complexe rouge Fe(II)-phénanthroline est largement appliqué dans la méthode spectrophotométrique classique pour la détermination du fer. (Berker et al ,2007) ont utilisé la méthode de la 1,10-phénanthroline pour déterminer les capacités antioxydantes de différents antioxydants et de leurs mélanges. (Szydłowska-Czerniaka ,2008).

➤ **2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (Dpph)**

Le radical DPPH a été découvert par Goldschmidt et Renn dans les années 1920. Il a été développé pour la première fois par Blois en 1958. Le DPPH est l'une des techniques les plus anciennes et les plus populaires pour mesurer l'activité antioxydante des composés. Cette méthode mesure le pouvoir réducteur des antioxydants en DPPH•. (Blois 1958)

Lorsque des échantillons d'antioxydants sont mélangés à une solution de réactif DPPH, la couleur passe du violet au jaune avec le temps. Le changement de couleur est déterminé en mesurant l'absorbance avec un spectrophotomètre à 517 nm (Molyneux, P. 2004).

➤ **L'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique) (Abts)**

Le test ABTS est une méthode spectrophotométrique qui mesure la capacité des antioxydants à capturer les cations radicaux ABTS^{•+}. Le dosage est basé sur la décoloration de l'ABTS^{•+} lors de son oxydation par des composés antioxydants, reflétant la quantité de radicaux libres ABTS piégés sur une période de temps fixe (généralement 6 minutes). Comparez l'absorbance du mélange réactionnel entre les radicaux libres et les antioxydants à celle de l'acide 6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthylchroman-2-carboxylique (Trolox).

II.2.3 Inflammation et les anti-inflammatoires

II.2.3.1 Définition

L'inflammation est la réponse du système immunitaire de l'organisme à un agent pathogène. Les cellules du système immunitaire se déplacent immédiatement vers le site de la blessure ou de l'irritation et provoquent une inflammation. Cette réponse comprend l'élargissement des vaisseaux sanguins à proximité, ce qui provoque une fuite de liquide et de cellules immunitaires dans les tissus environnants. Ce processus provoque souvent une gêne temporaire et conduit à ce que les médecins appellent quatre principaux signes d'inflammation : Chaud, Rougeur, Gonflement, La douleur. L'inflammation peut être aiguë ou chronique (Figure. 19).

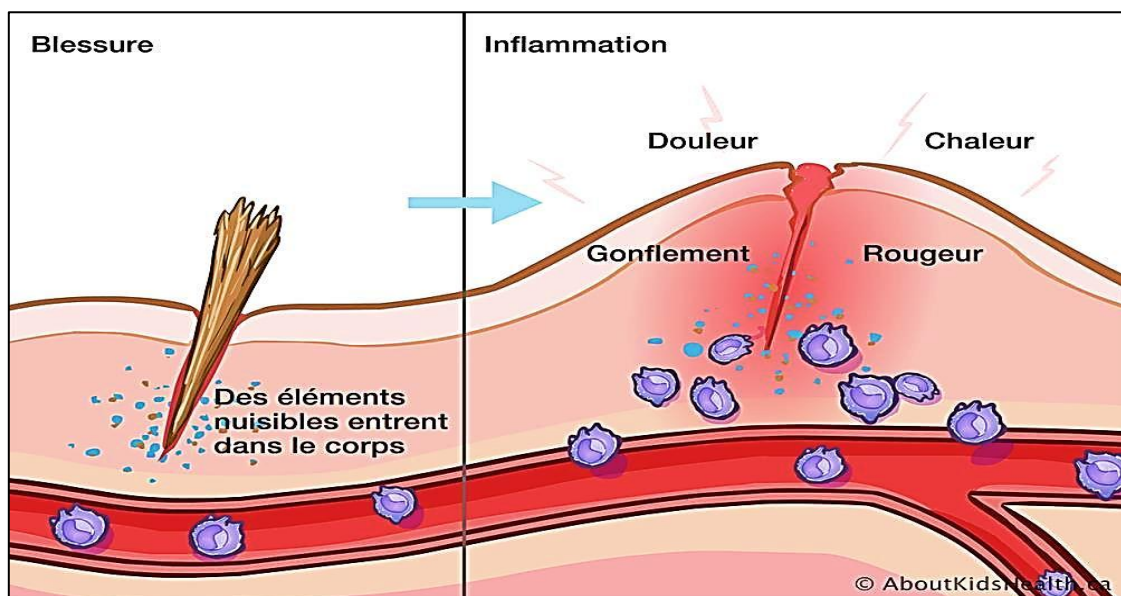


Figure.20: La reponse inflammatoire

L'inflammation aiguë peut résulter d'un traumatisme, d'une invasion microbienne ou de lésions tissulaires causées par des produits chimiques toxiques. Elle commence rapidement et progresse rapidement, et des symptômes tels qu'une cellulite ou une pneumonie aiguë peuvent persister pendant plusieurs jours. L'inflammation subaiguë dure de 15 à 40 jours et est intermédiaire entre l'inflammation aiguë et chronique.

L'inflammation chronique, également connue sous le nom d'inflammation lente à long terme, dure de quelques mois à plusieurs années. En général, la gravité et la durée de l'inflammation chronique dépendent de l'origine de la blessure et de la capacité du corps à la réparer et à la surmonter. Cet article traite de l'inflammation chronique. **(Pahwa, R et al.2021).**

II.2.3.2 *L'arthrite*

L'arthrite est définie comme "une inflammation douloureuse et une raideur des articulations". L'arthrite peut être classée en deux grandes catégories : l'arthrite inflammatoire et l'arthrite non inflammatoire. **(Senthelal S et al.2022).**

Types de arthrites

Il y a plusieurs types, les deux plus connus sont :

➤ **L'arthrose**

L'arthrose est le type le plus courant de la maladie, touchant plus de 70 % des personnes âgées de 55 à 78 ans, les femmes constituant la majorité **(Figure. 20)**. Les médecins considèrent souvent l'arthrose comme un processus dégénératif "naturel" associé au vieillissement, ou comme un trouble qui survient généralement après une infection ou une blessure, ou chez les personnes en surpoids. L'arthrose est une maladie qui endommage le cartilage articulaire, provoquant son aggravation. Le travail de ce tissu épais et élastique est de protéger les os qui se rencontrent à chaque articulation, minimisant ainsi la friction lorsqu'ils se frottent les uns contre les autres. Le cartilage devient rugueux et rugueux à mesure qu'il se décompose et la zone de protection entre les os se rétrécit. Les os de l'articulation se frottent les uns contre les autres pendant le mouvement, provoquant une gêne. Le cartilage peut se dessécher avec le temps et se casser et se bosseler, entravant le mouvement fluide de l'articulation. Lorsque le cartilage des articulations portantes, telles que la hanche ou le genou, s'use, il peut provoquer un inconfort grave, une déformation et une perte de mobilité. **(McTaggart, L., 2016).**

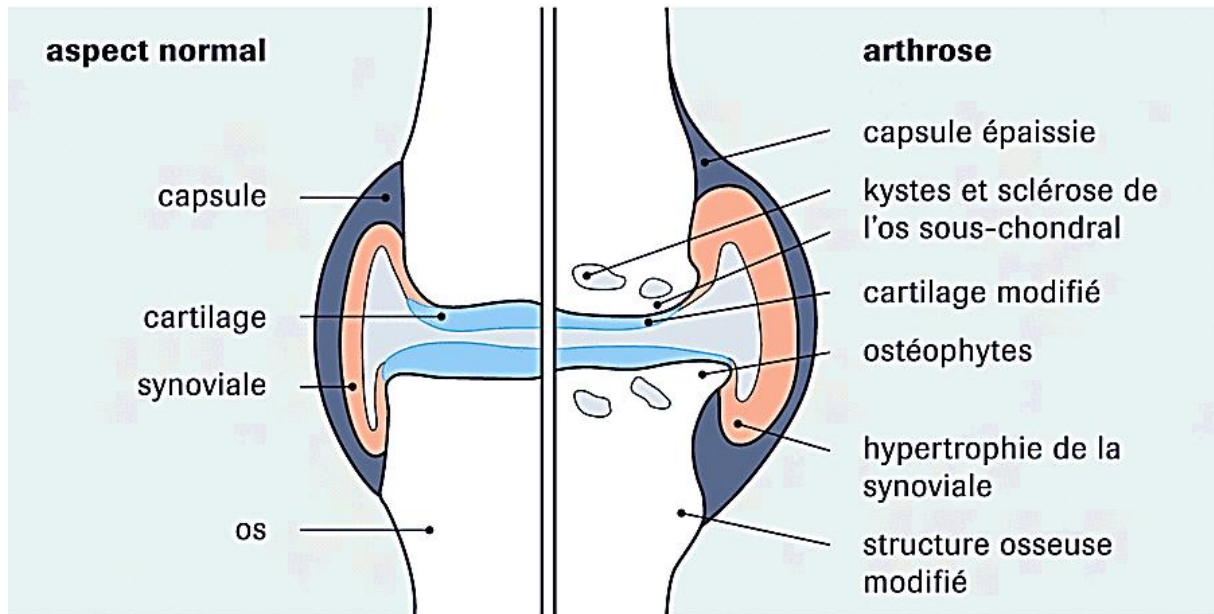


Figure.21: Arthrose

➤ La polyarthrite rhumatoïde (PR)

C'est une maladie inflammatoire chronique qui affecte généralement la muqueuse synoviale des articulations, le plus souvent les mains et les pieds, mais peut également affecter de nombreuses articulations du corps, en particulier les coudes, les poignets, la cheville et le genou. Il attaque également les épaules et les articulations des hanches. Contrairement à l'arthrose, qui s'aggrave dans l'articulation elle-même, la polyarthrite rhumatoïde provoque une inflammation de la synoviale, ou de la membrane qui recouvre l'articulation, qui absorbe plus de liquide articulaire pour le soulagement. Les articulations finissent par devenir enflées, raides et chaudes en raison de l'augmentation du flux sanguin. Classée comme maladie auto-immune, la polyarthrite rhumatoïde survient lorsque les globules blancs produisent des anticorps qui attaquent et détruisent les tissus sains au lieu de s'attaquer à l'infection et à la maladie. (McTaggart, L., 2016) (Figure.21).

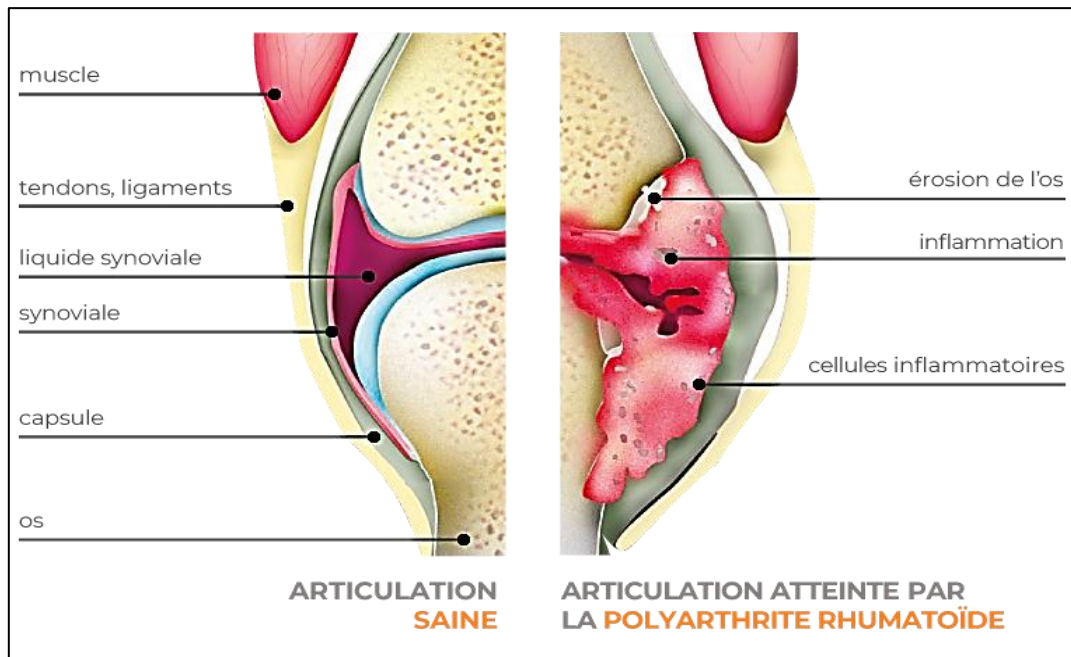


Figure.22: La polyarthrite rhumatoïde

Signes et symptômes de la polyarthrite rhumatoïde, qui peuvent être les suivants :

- ✓ articulations douloureuses et enflées, très chaudes au toucher
- ✓ Raideur matinale
- ✓ des nodules rhumatoïdes - des bosses fermes de tissu sur les bras
- ✓ Fièvre légère, fatigue et perte de poids (<https://www.cdc.gov>).

Anti-inflammatoire

médicament destiné au traitement local de l'inflammation ou au traitement général des maladies inflammatoires.ils se répartissent en deux classes :

➤ **Anti - inflammatoires stéroïdiens**

Anti-inflammatoires stéroïdiens appelés , aussi, les corticostéroïdes,ces produits sont dérivés des corticostéroïdes naturels,hormones sécrétées par des glandes surrénales . Ils sont très puissants et permettent de contrôler l'inflammation quand elle devient sévère ou qu'elle se déclenche sans raison apparente,comme dans les maladies dites inflammatoires (polyarthrite rhumatoïde,allergies sévères,etc. (**Wainster, J., 2009**).

➤ **Anti - inflammatoires non stéroïdiens (ains)**

appartiennent à diverses catégories mais sont toutes capables de bloquer la formation de certaines substances comme les prostaglandines, médiateurs chimiques nécessaires au développement de l'inflammation . Ils sont surtout efficaces dans les phases aiguës de l'inflammation et sont utilisés en rhumatologie (arthrite ,poussée inflammatoire d'une arthrose,tendinite),en traumatologie, en urologie (coliques néphrétiques), en gynécologie (règles douloureuses).(**Wainster, J., 2009**).

II.3 Generalite sur les semi-solides

II.3.1 Les formes pharmaceutiques

Une forme pharmaceutique, désigne la forme individuelle sous laquelle sont mis les principes actifs et les excipients pour constituer un médicament.

II.3.1.1 Principe actif et médicament

Médicament = P.A(s) + Excipient

- ❖ P.A : Substances aux propriétés thérapeutiques qui soutiennent les activités pharmacologie.
- ❖ Il faut trouver, pour chaque P.A la présentation médicamenteuse la mieux adaptée au traitement de la maladie ; celle qui libère émis le plus, le plus rapidement, le plus longtemps de principe actif.

II.3.1.2 Préparation du médicament

L'association du principe actif et des excipients se fait grâce à une mise en forme qui relève du domaine de la pharmacie galénique. Les opérations de mise en forme font appel généralement à plusieurs étapes :

✚ La pré-formulation

C'est l'étude des caractéristiques physico-chimiques, technologiques et biologiques du principe actif nécessaire pour le formuler et développer une forme pharmaceutique stable ayant la biodisponibilité maximale, tout en étant compatible avec une production industrielle.

✚ La formulation

Elle permet de fixer la composition qualitative et quantitative, ainsi que de définir le mode de fabrication et de choisir le conditionnement.

✚ La fabrication

Elle est réalisée par un certain nombre d'opération physique : Refroidissement, chauffage, séchage, fusion, mélange, compression, dissolution, filtration, stérilisation, etc. N.B: elle doit être rigoureusement reproductible

✚ Le conditionnement

Il assure la protection et la conservation du médicament Il permet la division du médicament Il facilite l'utilisation par le malade Il augmente la sécurité d'administration (dose) Il réduit les risques de confusion.

II.3.2 Semi-solide

II.3.2.1 Définition

Il s'agit de formulation de consistance semi-solide, destinées à être appliquées sur la peau ou certaines muqueuses pour une action topique ou transdermique sur des principes médicamenteux.

II.3.2.2 Pommade

Les pommades homogènes sont principalement constituées de une masse grasse dans laquelle les principes actifs sont dispersés et/ou dissous. Ils empêchent la perte d'eau des couches externes de la peau et de la surface épidermique, ce qui entraîne une hydratation accrue de la peau et augmente considérablement la pénétration des principes actifs

II.3.2.3 Creme

Les crèmes ou émulsions épaissies sont des formulations multiphasés, elles sont généralement constituées d'une phase oléophile (huile) et d'une phase hydrophile (aqueuse)

II.3.2.4 Gel

Ce sont des liquides gélifiants utilisant des gélifiants appropriés. Nous distinguons:

- **Les gels hydrophobes (oléogels)** : leurs excipients peuvent être de la paraffine liquide ou des huiles grasses gélifiées avec de la silice, du polyéthylène ou des savons colloïdaux d'aluminium ou de zinc
- **Gels hydrophiles (hydrogels)** : composés principalement d'eau, de glycérol polyéthylène glycol éliifiés par la gomme adragante, amidon, dérivés de cellulose, silicates de Mg-A

Chapitre II

Matériel et

méthodes

Chapitre II *Matériel et méthodes*

Nous avons réalisé des travaux menés au sein de l'école nationale de biotechnologie (ENSB) pour l'extraction du piment (*Capsicum annuum*) d'une part, d'autre part au centre de recherche de biotechnologie (CRBT) pour les activités biologiques et la formulation.

Le Protocole expérimental adopté au cours de cette étude est schématisé dans **figure.19**

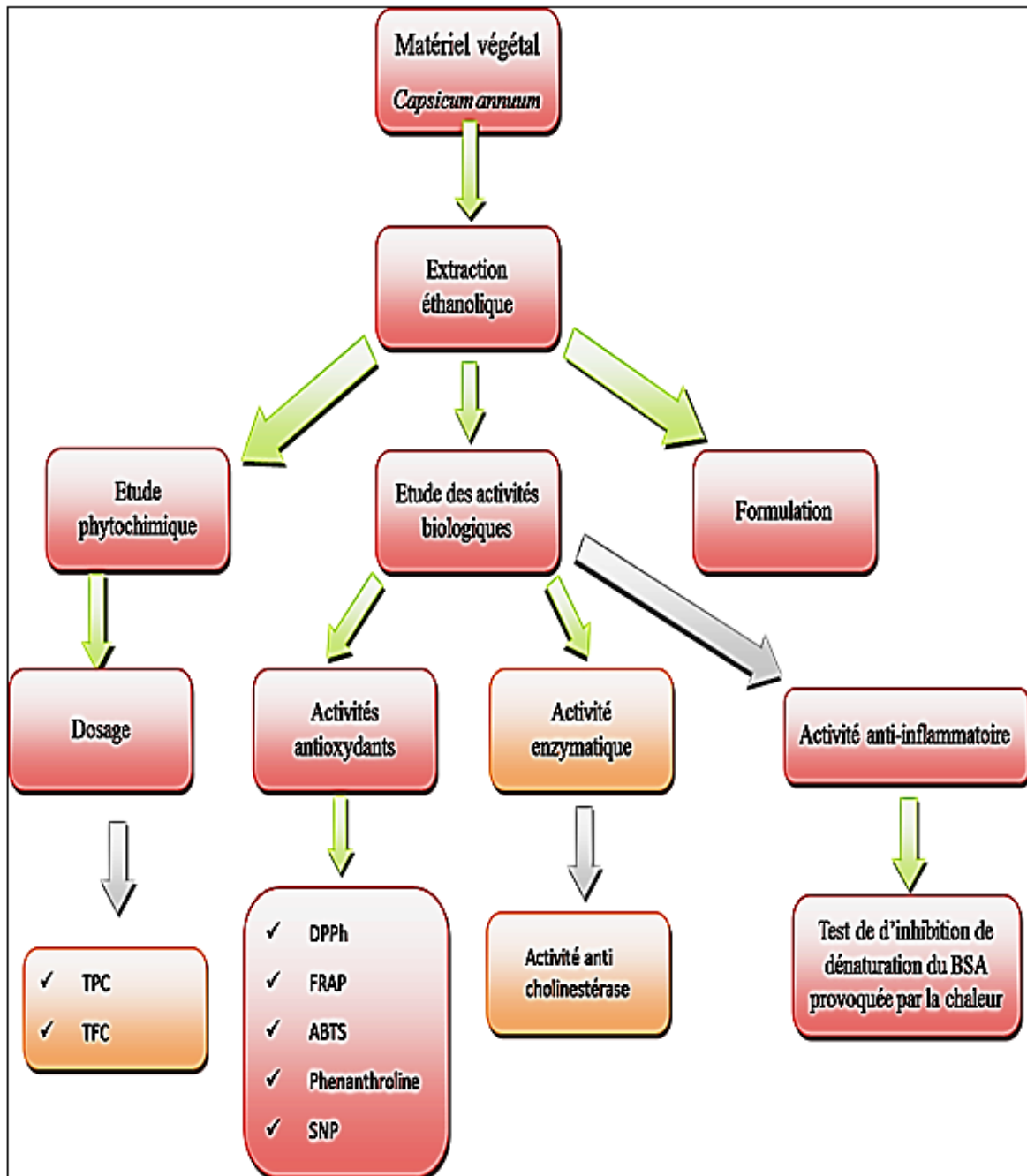


Figure.23: les différents Protocoles adoptés.

II.1 Matériel végétal

II.1.1 Matériel

Le matériel d'étude est constitué de piment rouge piquant (*Capsicum annum L*) d'origine de Tunisie, récolté et sélectionné en Algérie. Nous avons ramené notre espèce sous forme de fruit de la région de Guelma.

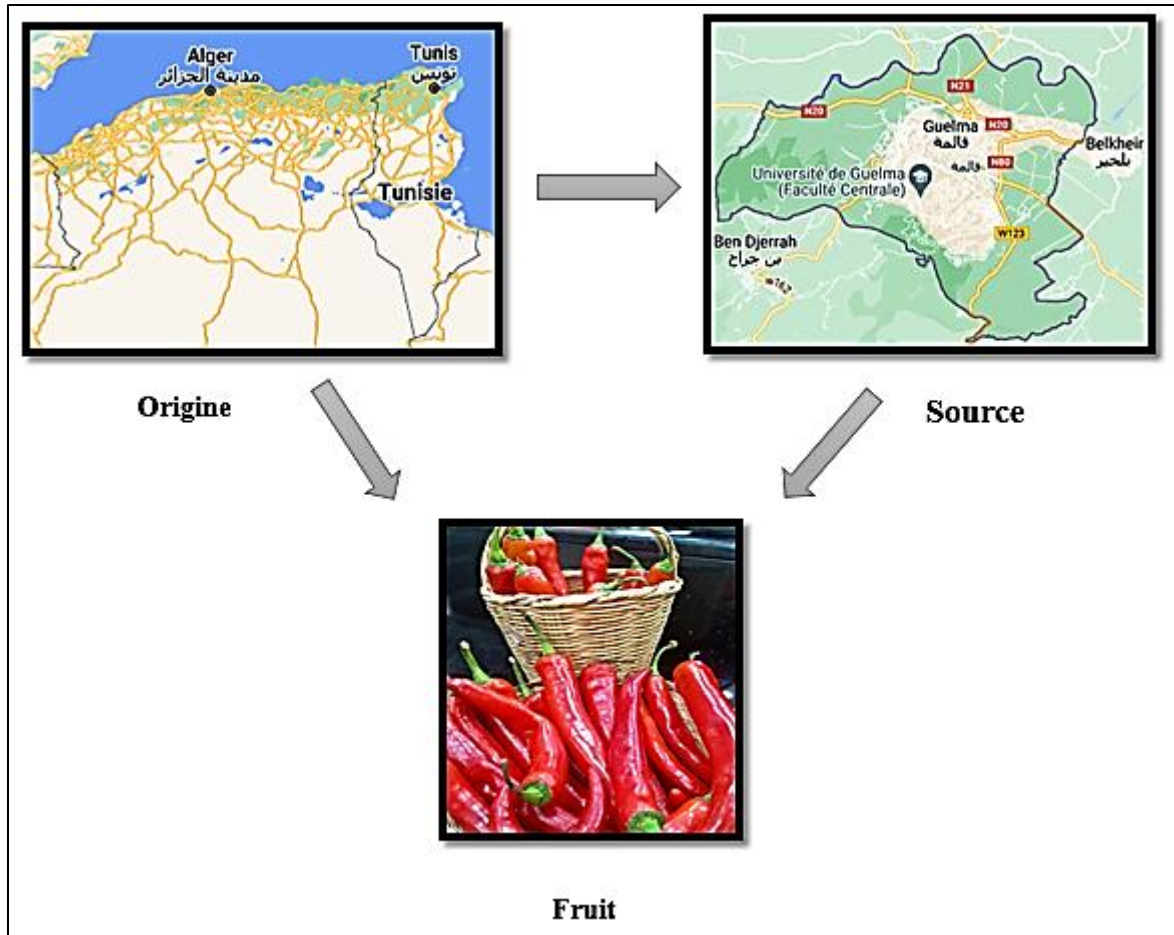


Figure.24: Apport du fruit de piment

II.1.2 Appareillage :

Mise à part le matériel usuel couramment utilisé (Spectrophotomètre UV- Visible, bain marie, micro-onde), on a utilisé du rota vapeur Heidolph, bain Ultrasons, lecteur de microplaque à 96 puits de volume 200 µl pour chaque puits , clevenger (annexe).

II.2 Méthodes d'analyse

II.2.1 Séchage du matériel végétal

Après la récolte, (piment rouge) est nettoyé, puis séché aux micro-ondes dans une température 60°C. Après séchage les fruits du *Capsicum annum* sont broyés à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre obtenue conservée dans des flacons en verre et à l'abri de l'humidité jusqu'à utilisation. **figure.20.**

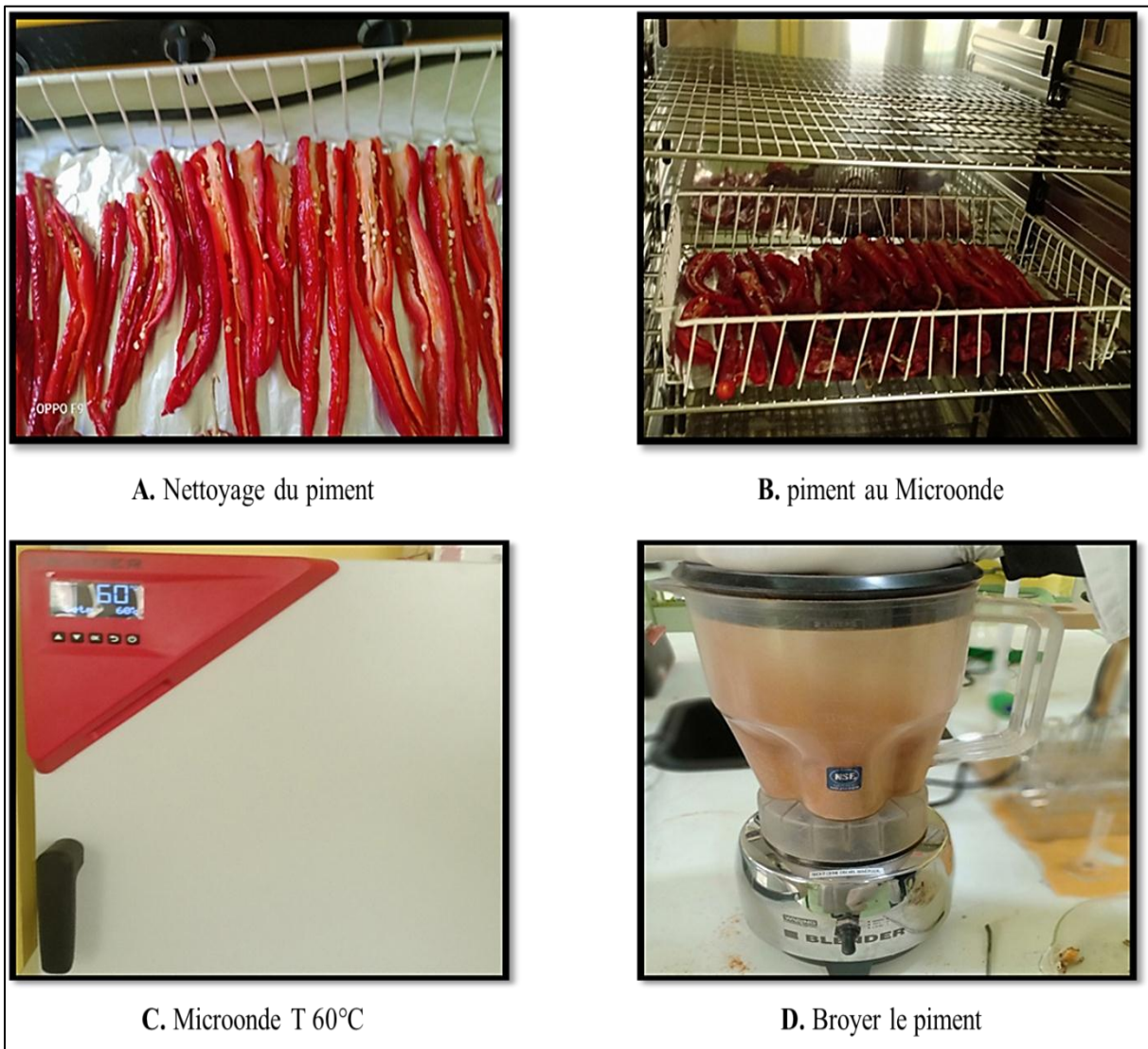


Figure.25: préparation de la poudre.

II.2.2 Extraction

L'extraction est effectuée au bain Ultrasons, qui consiste à laisser la poudre végétal en contact pendant 3h avec le solvant éthanolique pour en extraire les composés biologiquement actifs. Cette extraction est réalisée à une température ambiante.

II.2.3 Extrait éthanolique

50g de la poudre issue de *Capsicum annum* sont mise à 400 ml d'éthanol dans un bain ultrasons pendant 3h à température 45°C. Notre solution obtenue est filtré successivement à l'aide d'un entonnoir et un papier filtre. L'éthanol est ensuite éliminé du filtrat par évaporation sous pression réduite dans un rota-vapeur, permettant ainsi d'obtenir un extrait caractérisé par une couleur rouge (**Figure.25**).

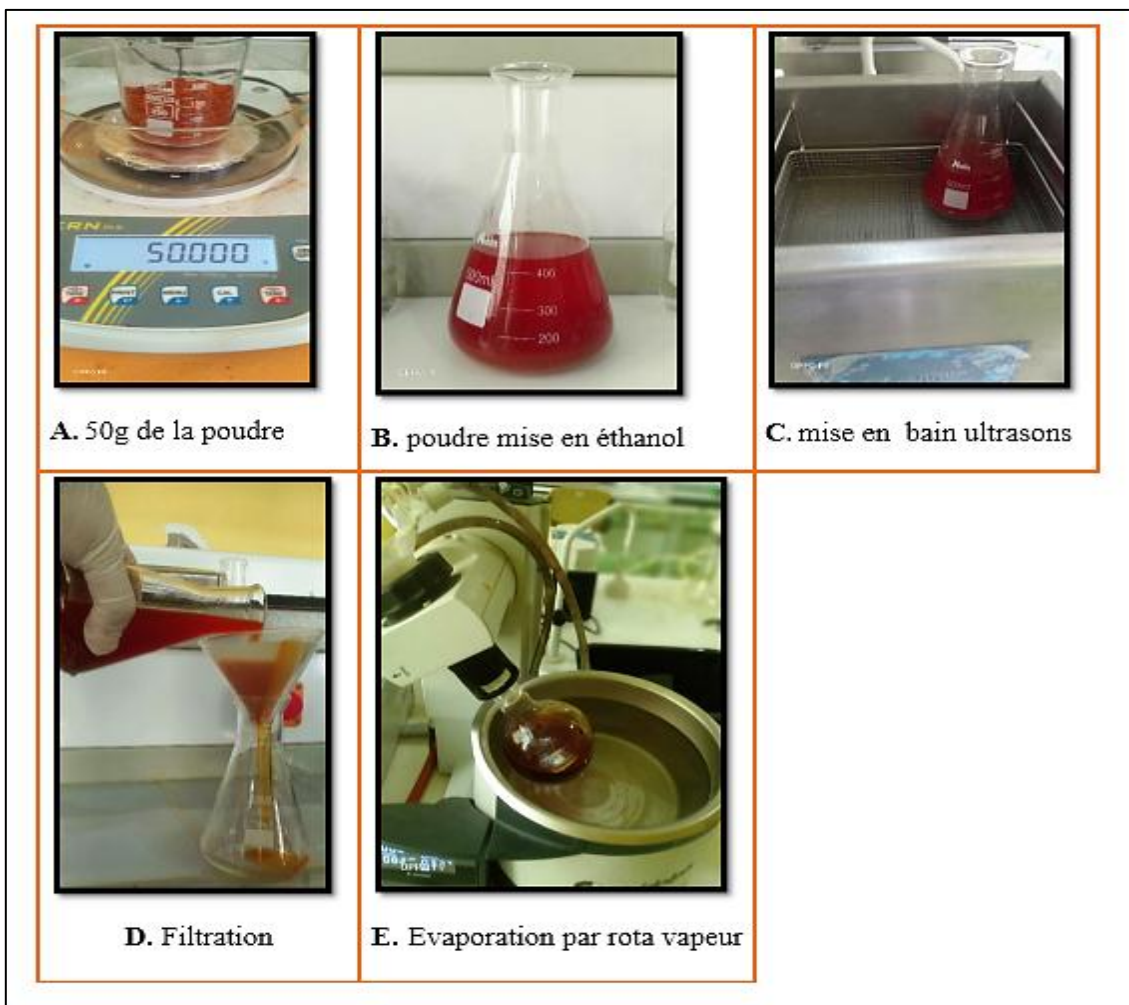


Figure.26: Etapes de l'extraction du *Capsicum annum*

II.3 Analyse quantitative des composés phénoliques

II.3.1 Quantification des polyphénols totaux (TPC)

❖ Principe

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (FCR) (Singleton et Rossi, 1965) selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par Muller et al. (2010).

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) de couleur jaune. Le principe de la méthode est basé sur la réduction de Folin-Cobalteux par les composés Phénoliques qui entraîne la formation d'un nouveau complexe d'oxydes métalliques de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}) de couleur bleue. La coloration bleue Produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption Maximum aux environs de 750 -765 nm. (**Figure.26**).

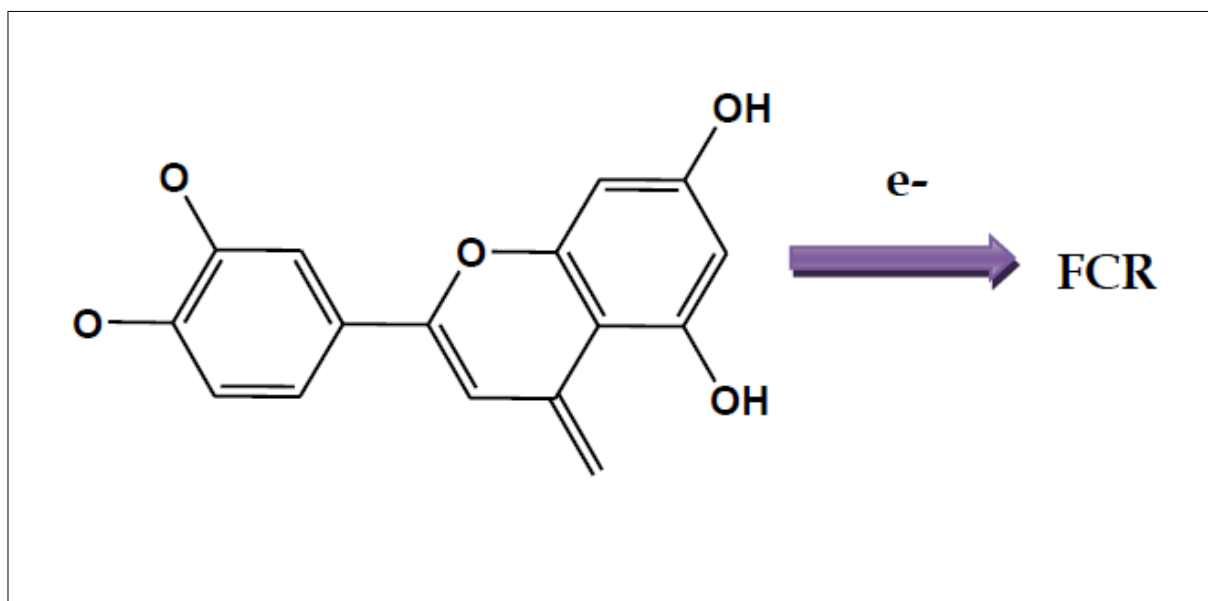


Figure27: Mécanisme réactionnel du teste polyphénols totaux (Muller et al. ,2010).

❖ Procédure

Selon le protocole de Muller et al. (2010), 20 μ l de chaque extrait dissous dans l'éthanol sont ajoutés à 100 μ l du réactif de Folin Ciocalteu (1 :10). Puis, 75 μ l de Na_2CO_3 (7,5%) sont additionnés au mélange, le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à Température ambiante pendant 2 heures. Pour chaque concentration, le test est répété trois fois. Parallèlement, le blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (éthanol). L'absorbance est mesurée à 765 nm par un lecteur microplaque. L'acide

gallique est utilisé comme standard pour la courbe d'étalonnage des polyphénols à une concentration de 0,2 mg/ml.

❖ Expression des résultats

La détermination de la concentration des composés phénoliques totaux pour chaque extrait est faite à partir de l'équation de régression d'une courbe d'étalonnage standard (l'acide gallique) dont une gamme d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) est déjà réalisée dans les mêmes conditions expérimentales et le même protocole que les extraits. La teneur des composés phénoliques totaux des extraits est alors exprimée en milligramme équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg GAE/g MS).

II.4 Quantification des flavonoïdes totaux (TFC)

❖ Principe

Le dosage des flavonoïdes dans les extraits est basé sur la formation d'un complexe jaune entre trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) et les flavonoïdes. La méthode de Topçu et al. (2007) est utilisée avec quelques modifications pour une détermination sur microplaque 96 puits. (Figure.27)

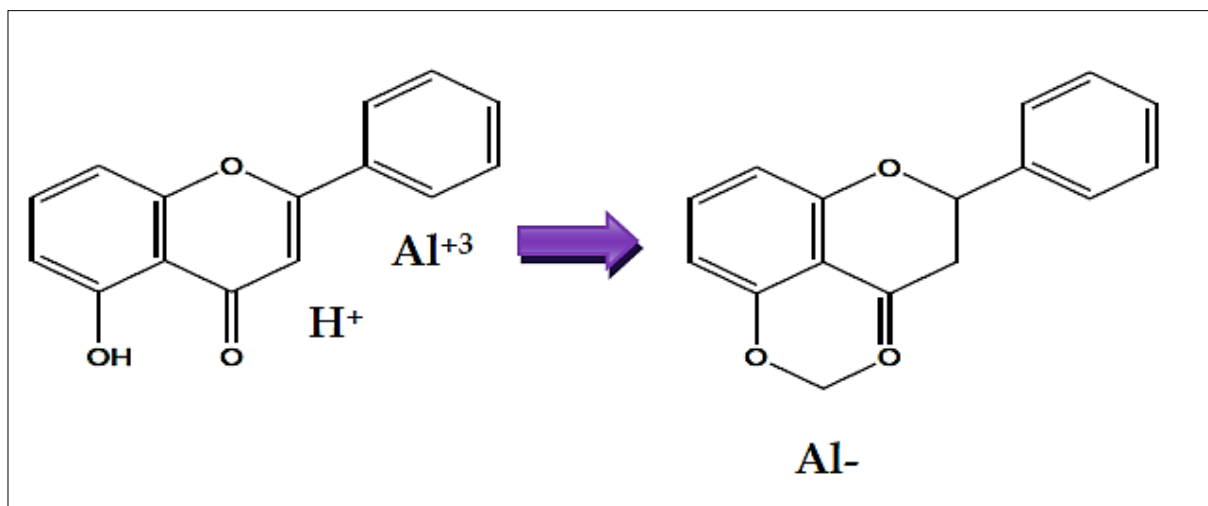


Figure.28: Mécanisme de l'interaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes (Ribéreau-Gayon, 1968).

❖ Procédure

Selon le protocole de Kumaran et al. (2007), une plaque à 96 puits a été rempli avec 50 μ l de chaque dilution des différents extraits de plante, puis 130 μ l d'éthanol ont été ajoutés. Ensuite 10 μ l de la solution de potassium acétate (CH_3COOK) (S1) et 10 μ l de la solution de nitrate

d'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) (S2) ont été ajoutés. Le test est répété dans trois puits pour chaque extrait.

Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par l'éthanol ($50\mu\text{l}$ extrait + $150\mu\text{l}$ éthanol). L'absorbance est mesurée à une longueur d'onde de 415 nm

La quercitrine a été utilisée comme standard pour la courbe d'étalonnage des flavonoïdes à une concentration de 0,2 mg/ml.

❖ Expression des résultats

Les taux des flavonoïdes totaux pour chaque extrait est faite à partir de l'équation de régression d'une courbe d'étalonnage standard (quercitrine) dont une gamme d'étalonnage linéaire ($y=ax+b$) est déjà réalisée dans les mêmes conditions expérimentales et le même protocole que les extraits. La teneur en flavonoïdes a été exprimée en milligramme équivalent de quercétines par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

II.5 Les activités antioxydants in –vitro

II.5.1 Activité anti radicalaire au DPPH

❖ Principe

L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par le dosage du DPPH (Blois ,1958). Le principe de cette méthode est la réduction du DPPH (2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl) de couleur violette en 2,2 diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune. Le DPPH absorbe à 517 nm, mais lors de la réduction par un antioxydant son absorption diminue (**Bensouici, 2015**). Le BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants. (Figure.28).

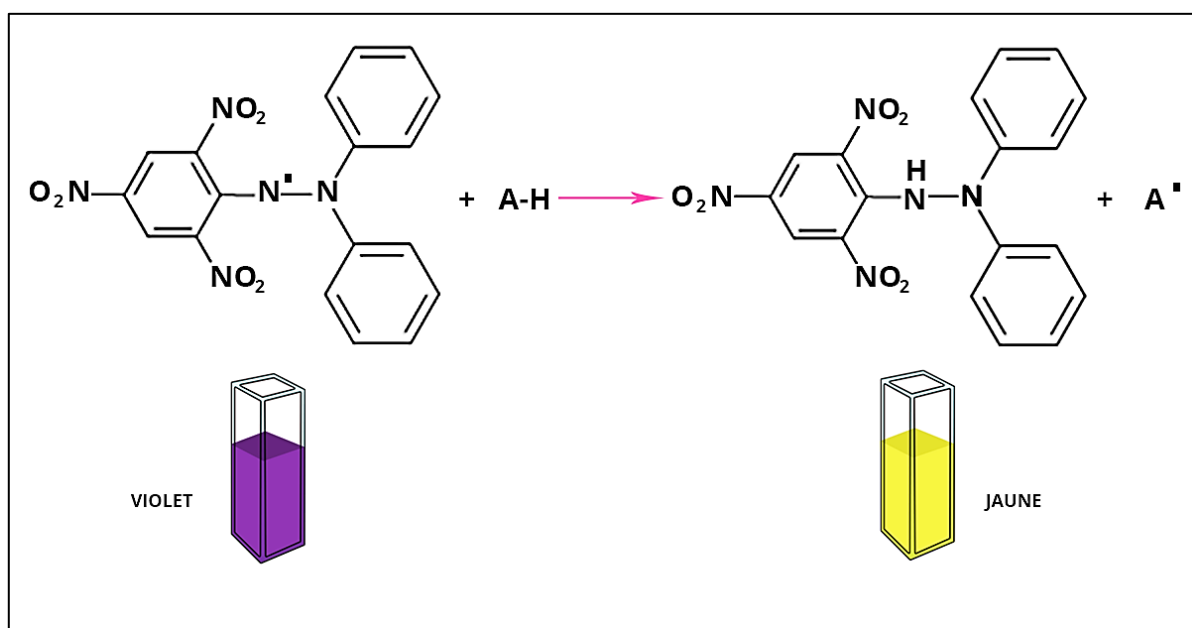


Figure.29: Transformation du radical DPPH• en DPPH, H

❖ Mode opératoire

Préparation de la DPPH

Dissoudre 6 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre.

❖ Procédure

Selon le protocole décrit par Blois. (1958), un volume de 40 µl de chaque extrait avec un volume de 160 µl de DPPH ont été ajoutés dans chaque puits de la microplaque. Après le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante. Trois essais ont été effectués pour chaque concentration de produits testés, Parallèlement un contrôle négatif (blanc) a été préparé en remplaçant l'extrait par l'éthanol. La lecture des absorbances a été mesurée à 517 nm.

❖ Expression des résultats

Le pourcentage d'inhibition de différents extraits a été calculé à partir de la formule suivante :

$$\% \text{ Inhibition} = [(A C - A E) / A C] * 100$$

AC : Absorbance du contrôle.

AE : Absorbance de l'extrait.

Nous avons déterminé le paramètre CI50 (valeur de concentration inhibitrice), c'est la concentration de l'extrait qui provoque une inhibition de 50% de l'activité du DPPH (changement de la couleur). Elle est calculée graphiquement par la régression linéaire des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions utilisées. Donc IC 50 de chaque extrait est calculé :

$$CI50 = (Y - b) / a$$

II.5.2 Activité pouvoir réducteur (FRAP)

❖ Principe

L'activité Reducing power est déterminée par la méthode d'Oyaizu. (1986) avec une légère modification. Le pouvoir réducteur est un indicateur significatif du potentiel antioxydant d'une substance (Wang et al. 2008). Le principe de cette méthode consiste à évaluer l'aptitude d'un antioxydant donné à réduire le

Fer ferrique (Fe^{3+}) présent dans le complexe ferrocyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) en fer ferreux (Fe^{2+}) (Philips et al. 2010).

La réaction est révélée par le virement de la couleur jaune du fer ferrique à la couleur bleu-vert du fer ferreux. L'intensité de cette coloration est mesurée par spectrophotomètre à 700 nm (Karagözler et al. 2008). L'acide ascorbique et l' α tocophérol sont utilisés comme standards antioxydants (Figure.29).

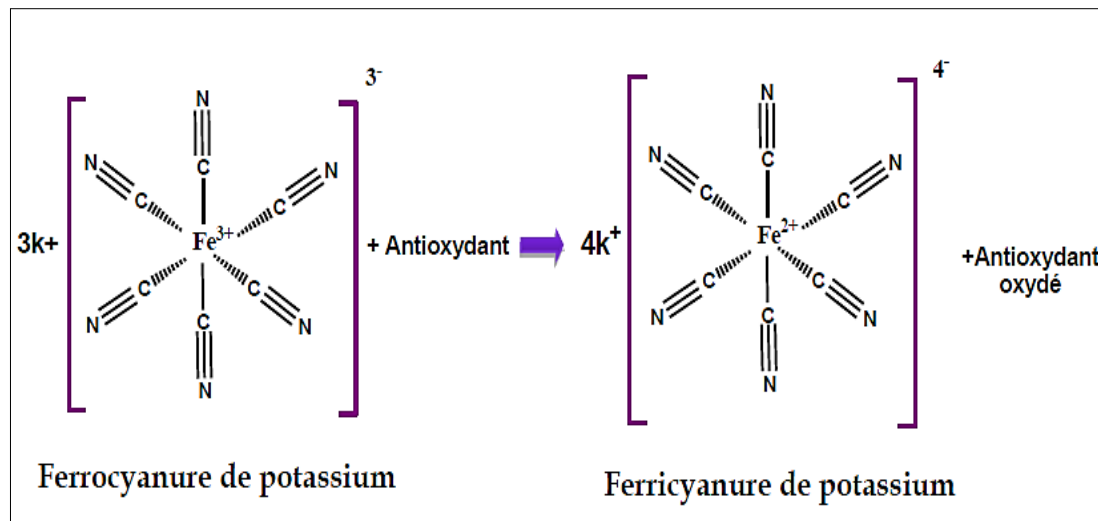


Figure.30: Mécanisme réactionnel du test Pouvoir réducteur (Gülçin, 2012).

❖ Procédure

Selon le protocole décrit par Oyaizu. (1986), un volume de 40 μl du phosphate buffer (pH=6,6) et 50 μl de potassium ferricyanide 1% sont ajoutés à 10 μl des différentes concentrations des extraits. Après 20 min d'incubation à température ambiante de 50°C, 50 μl du tri-chloro acétique acide (TCA) (10%) (1 g de TCA dans 10 ml H₂O) plus 40 μl d'H₂O et 10 μl de ferric chloride FeCl₃ (0.1%) (0,1 g de FeCl₃ dans 100 ml H₂O) sont ajoutés au milieu réactionnel. Le blanc est préparé en parallèle suivant le même protocole en remplaçant l'échantillon par l'éthanol. Puis l'absorbance est déterminée à 700nm.

II.5.3 Activité du piégeage du cation radical ABTS

❖ Principe

Le radical ABTS (l'acide 2,2'-azinobis-3 éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) de couleur bleu-vert est généré par l'oxydation de la molécule stable d'ABTS avec persulfate de potassium (Re et al. 1999). Lorsque le radical est piégé par les substances antioxydants présentes dans l'extrait qui va réduire ce radical, en provoquant une décoloration du mélange, l'intensité de

la décoloration dépend de l'activité antioxydant du composé testé mais souvent aussi du temps et de la concentration. Le BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants.(Figure.30).

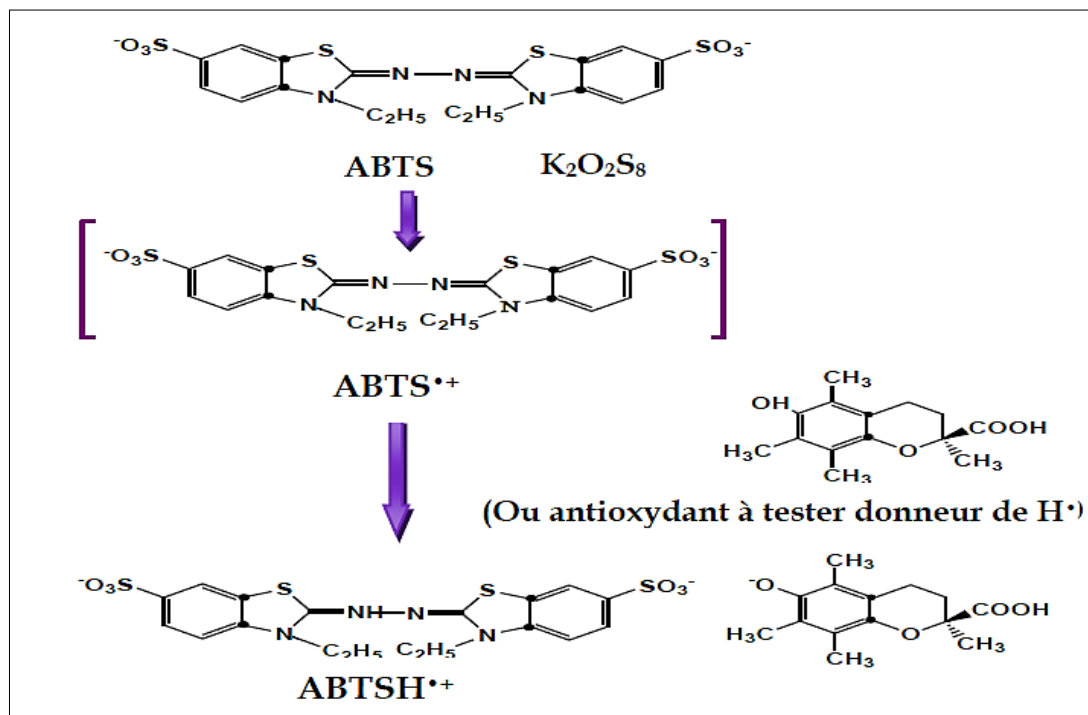


Figure.31: Formation et piégeage du radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ par un antioxydant donneur de H^{\bullet} (Gülçin, 2012).

❖ Procédure

Selon le protocole de Re et al. (1999), un volume 40 μl de chaque extrait à différentes concentrations ont été mélangé avec 160 μl de l' $\text{ABTS}^{\bullet+}$. Le mélange est laissé à l'abri de la lumière à température ambiante pendant 10 min. Trois essais ont été effectués pour chaque concentration de produits testés. Un blanc est parallèlement préparé suivant le même protocole tout en remplaçant l'échantillon testé par l'éthanol. La lecture est réalisée à l'aide d'un lecteur microplaque à 734 nm.

- Le pourcentage de réduction du radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Activité ABTS (\%)} = \frac{[(\text{Abs contrôle} - \text{Abs extrait}) / \text{Abs contrôle}] \times 100}{1}$$

II.5.4 Activité de Phénantroline

❖ Principe

L'activité de phénantroline est déterminée par la méthode de Szydłowska-Czerniaka. (2008). Elle est basée sur la réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} ion en présence d'un antioxydant. L'ion Fe^{2+} formé réagit avec l'ortho-phénantroline pour donner un complexe rouge orange. L'absorbance est enregistrée à 510 nm. Le BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants.

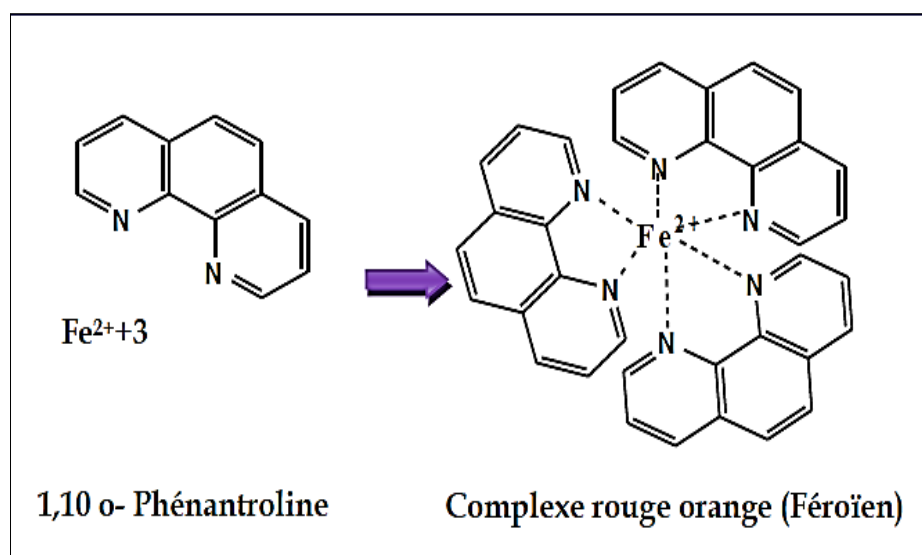


Figure.32: Formation du complexe Fe^{2+} -phénantroline (Apak et al., 2007).

❖ Procédure

Selon le protocole de Szydłowska-Czerniaka et al. (2008), un volume 10 μ l extrait a été ajouté à 50 μ l Chlorure ferrique $FeCl_3$ (0.2%) et 30 μ l Phenanthroline (0.5%) puis 110 μ l MeOH. Le mélange est laissé à l'abri de la lumière à température ambiante Pendant 20 min à 30°C. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le l'éthanol. L'absorbance a été mesurée à 510 nm.

II.5.5 Activité Silver nanoparticle (SNP) assay

❖ Principe

L'activité Métal Chélate est déterminée selon la méthode de Mustafa Özyürek, (2012). Elle est basée sur la réduction de l' Ag^+ en nanoparticules d'argent sphériques Ag^0 (Figure.32).

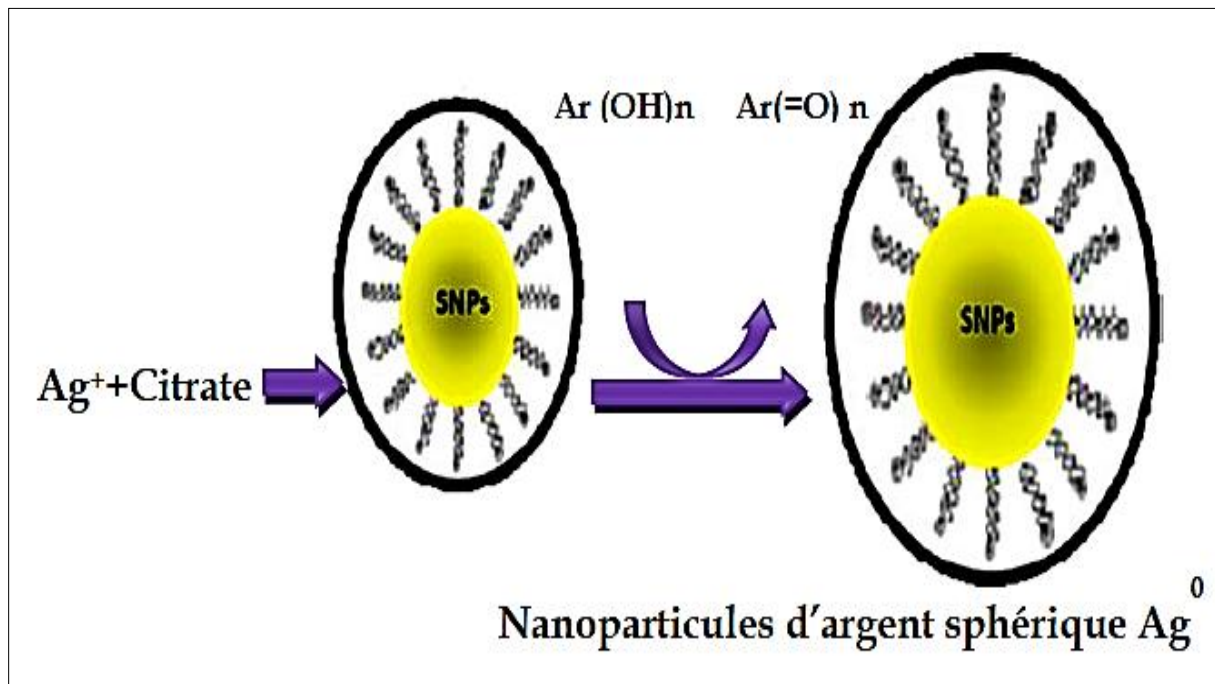


Figure.33: La Réduction de l'Ag⁺ en nanoparticules d'argent sphériques Ag⁰ (Ozyurek et al. 2012).

❖ Procédure

Selon le protocole décrit par Mustafa ozyurek. (2012), un volume de 20 µl de chaque extrait avec un volume de 130 µl solution SNP, et de 50µl de H₂O ont été induits dans chaque puits. Ensuite le mélange est incubé à l'obscurité pendant 30min à 25°C. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (éthanol). La lecture des absorbances a été mesurée à 423 nm. Le Trolox est utilisé comme standard.

II.5.6 Activités enzymatiques

II.5.6.1 Evaluation l'activité anti cholinestérase (anti Alzheimer in-vitro)

❖ Principe

L'activité est déterminée par la méthode d'Ellmanetal. (1961). L'acétylcholinestérase (AChE) est l'enzyme responsable d'hydrolyse le substrat d'acétylcholine (ATCI) en acide acétique et thiocholine qui réagit avec DTNB pour donner des produits de réaction coloré en jaune, les inhibiteurs de cette enzyme sont utilisés pour diminuer la métabolisation d'ATCI et diminuer les symptômes de la maladie d'Alzheimer. L'intensité de la couleur du produit est mesurée à 412 nm, elle est proportionnelle à l'activité enzymatique. La galantamine a été utilisé comme composé de référence (**Figure.33**).

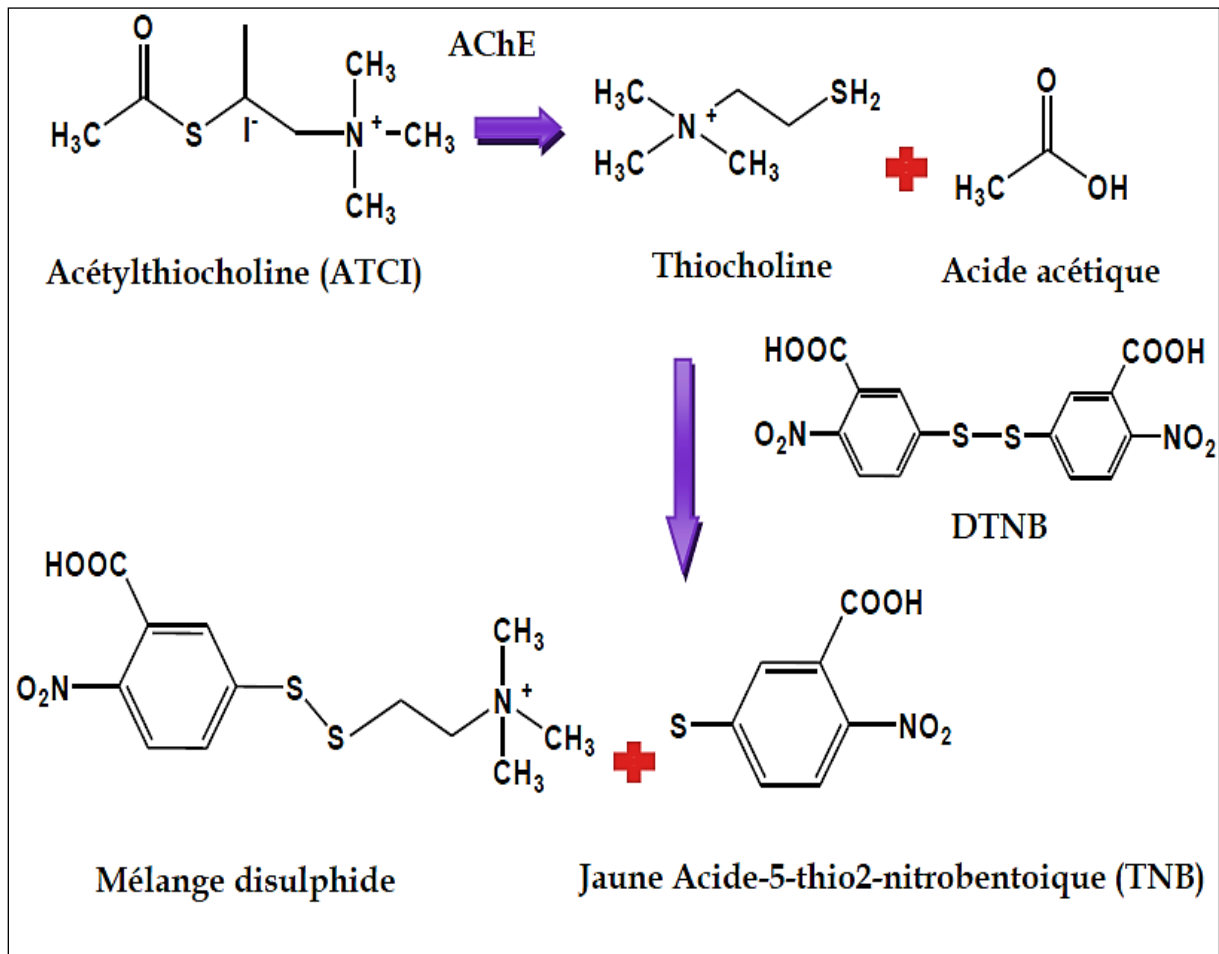


Figure.34: Principe de la réaction d'Ellman et al. (1961).

❖ Procédure

Selon le protocole décrit par Ellman et al. (1961), 150 µl de tampon phosphate de sodium (pH=8), 10 µl de solution mère d'extrait avec les différentes concentrations convenables et 20 µl de la solution enzymatique AChE ont été induits dans chaque puits. Après une période d'incubation de 15 min à température ambiante 25°C. La réaction est ensuite initiée par l'addition de 10 µl de DTNB et 10 µl de substrat ATCI (l'iodure d'acétylthiocholine). La lecture se fait à t=0 et t=15 min à 412 nm.

•Le pourcentage d'inhibition de l'enzyme d'AChE est déterminé par rapport au blanc (éthanol avec le phosphate buffer pH 8) par la formule suivante :

$$\%INH = (abs E - abs S) / abs E$$

E : L'activité de l'enzyme sans extrait.

S : L'activité de l'enzyme avec l'extrait.

II.5.7 Activité anti-inflammatoire in-vitro

❖ Principe

La détermination de l'activité anti-inflammatoire in vitro se fait selon la Méthode d'inhibition de dénaturation du BSA provoquée par la chaleur (72°C) par l'extrait décrite par Kandikattu K, (2013) avec de légères modifications .

❖ Procédure

Une solution BSA de 0,2% (p/v) a été préparée dans une solution saline tampon Tris et le pH a été ajusté à 6,6 en utilisant l'HCl.

À partir des solutions mères, on a préparé cinq concentrations différentes utilisant de l'eau comme solvant. 1ml de chaque extrait ont été transférés dans des tubes. 1ml de BSA à 0,2 % ont été ajoutés à la totalité des tubes. Parallèlement, pour chaque concentration d'extrait un blanc est préparé dans lequel 1 ml d'extrait est ajouté à 1 de Tris-HCl ainsi, un contrôle positif est préparé contient 1 ml de BSA et 1 ml du tampon. Ensuite une double incubation, la première à 37 C° pendant 15 min suivie par une deuxième dans le bain marie à 72 C° pendant 5 min. Après refroidissement la turbidité est mesurée à 660 nm. Les résultats sont comparés par **rapport à un standard qui est le Diclofènac** .

❖ Expression des résultats

Le taux d'inhibition de la dénaturation thermique de BSA à 72°C est exprimé par la formule suivante :

$$\%INH = [(Ac - Ae) / Ac]. 100$$

Ac: absorbance du contrôle négatif.

Ae: absorbance de l'échantillon ou standard.

CHAPITRE III
RESULTATS ET
DISCUSSION

Chapitre III Résultats et discussion

I.1 Rendement d'extraction

Dans cette étude, le rendement a été déterminé sur la base de la masse de 100 grammes de farine végétale (M0). Le rendement obtenu, ainsi que l'aspect et la couleur de l'extrait. Nous avons obtenu 10.05% d'extrait brut de *C. annuum*

La formule suivante nous a permis de calculer les rendements d'extraction :

$$R(\%) = P_e / P_t \times 100$$

Avec :

R= rendement

Pe= poids de l'extrait brut obtenu

Pt= poids total du végétal

Type d'extraction	Extraits	Masse (g)	Couleur	Aspect	Rendement
Solide –liquide	EtOH	100	Rouge foncé	Pâteux	10.05%

I.2 L'analyse quantitative des composés phénoliques

I.2.1 Quantification des polyphénols totaux

La quantification des polyphénols totaux a été déterminée par spectrophotométrie Folin-Ciocalteu (FCR). L'acide gallique a été utilisé comme standard et les résultats sont présentés dans la courbe d'étalonnage avec l'équation : $Y = 0,0034 X + 0,1044$, $R^2 = 0,9972$.

Teneur en polyphénols totaux exprimée en mg équivalent acide gallique g extrait (mg EAG / g extrait)

Tableau 2: Résultats du dosage des polyphénols totaux

	Polyphénols (mg EAG /d'extrait)
extrait	65,17 ± 3,31

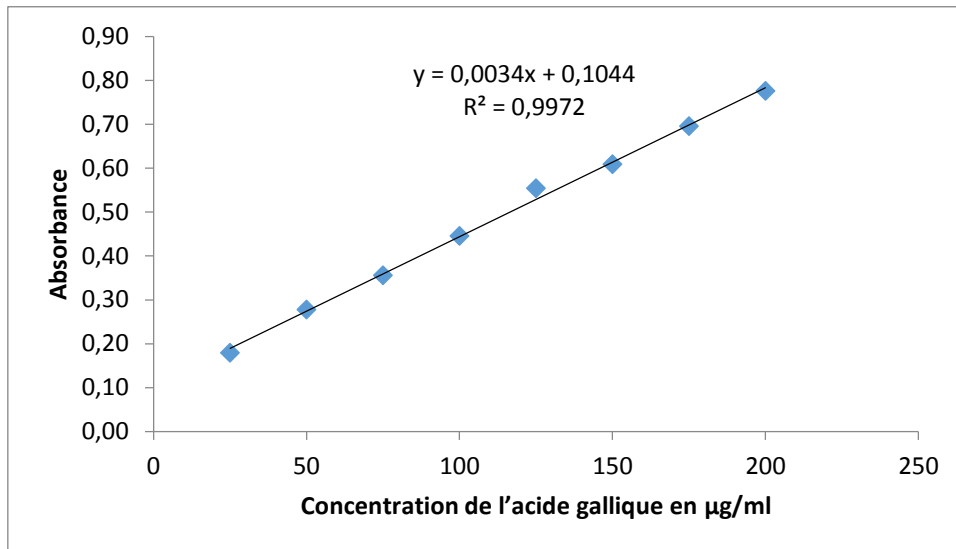


Figure 35: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

I.2.2 Quantification des flavonoïdes totaux (TFC)

La quantification des flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode de Topçu et al. (2007). La quercétine a été utilisée comme un standard, les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage ayant l'équation : $Y = 0,0048x$ avec $R^2 = 0,997$.

Dont la teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent d'acide quercétine par g d'extrait (mg EQ / g)

Tableau 3 : Résultats du dosage des flavonoïdes totaux

	Flavonoïdes (mg EQ /d'extrait)
extrait	57,29 ±13,51

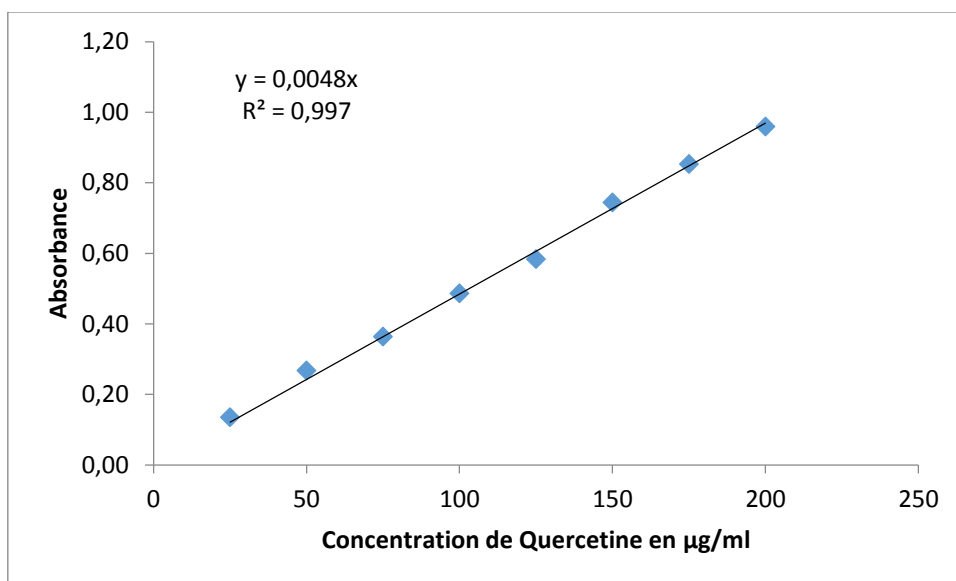


Figure 36: Courbe d'étalonnage de la quercétine

I.3 Les activités antioxydants in –vitro

Compte tenu de la complexité du processus d'oxydation, il est clair qu'une seule méthode ne suffit pas pour caractériser le potentiel d'oxydation d'un échantillon, il est donc nécessaire de combiner plusieurs tests complémentaires pour fournir des résultats cohérents et exhaustifs. Nous devons donc combiner sept méthodes complémentaires pour l'évaluation de l'activité antioxydante des extraits éthanoliques basée sur les mécanismes d'action suivants :

- Radical scavenging (piégeage des radicaux) , un test qui mesure le transfert d'hydrogène vers des radicaux colorés stables facilement détectables (DPPH•, ABTS•+)
- Activité de réduction du fer (pouvoir réducteur, activité phénanthroline) et chélate métallique Ag⁺ (SNP)

I.3.1 Activité du pouvoir réducteur (FRAP)

Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe d'absorbance en fonction des concentrations d'extraits et des standards

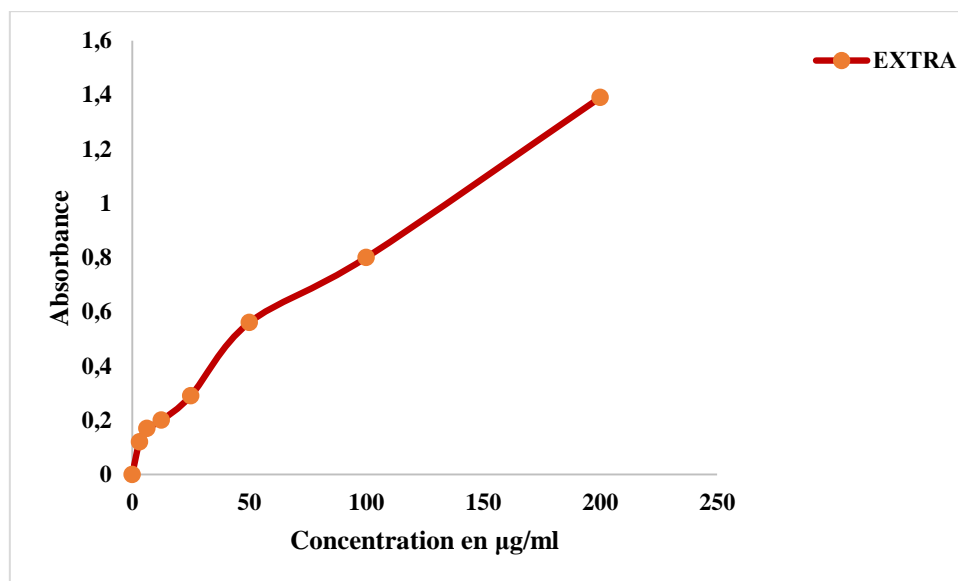


Figure 37 : Courbes d'absorbance en fonction de la concentration de l'extrait (FRAP)

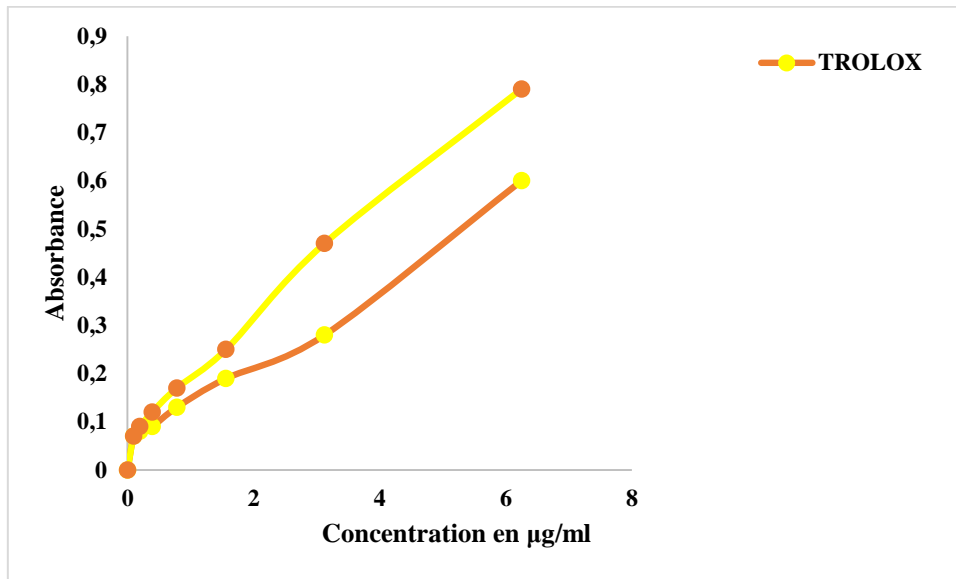


Figure 38: Courbes d'absorbance en fonction de la concentration des standards (FRAP)

Les résultats de l'analyse statistique montrent un lien proportionnel entre les absorbances et les concentrations plus l'absorbance est élevée, plus le pouvoir réducteur est important.

L'extrait a un pouvoir réducteur très élevé, avec une absorbance maximale de $1,39 \pm 0,23$ à une concentration finale de $200 \mu\text{g/ml}$. La comparaison entre les standards (acide ascorbique et trolox) et l'extrait indique que l'extrait exhibe une bonne activité réductrice mais il est faible par rapport à l'acide ascorbique et Trolox ($A_{0.5} = 3,62 \pm 0,29$ et $5,25 \pm 0,20 \mu\text{g/ml}$ respectivement).

I.3.2 Activité –Phenanthroline

Les résultats obtenus ont permis de tracer la courbe des absorbances en fonction des concentrations des extraits et des standards :

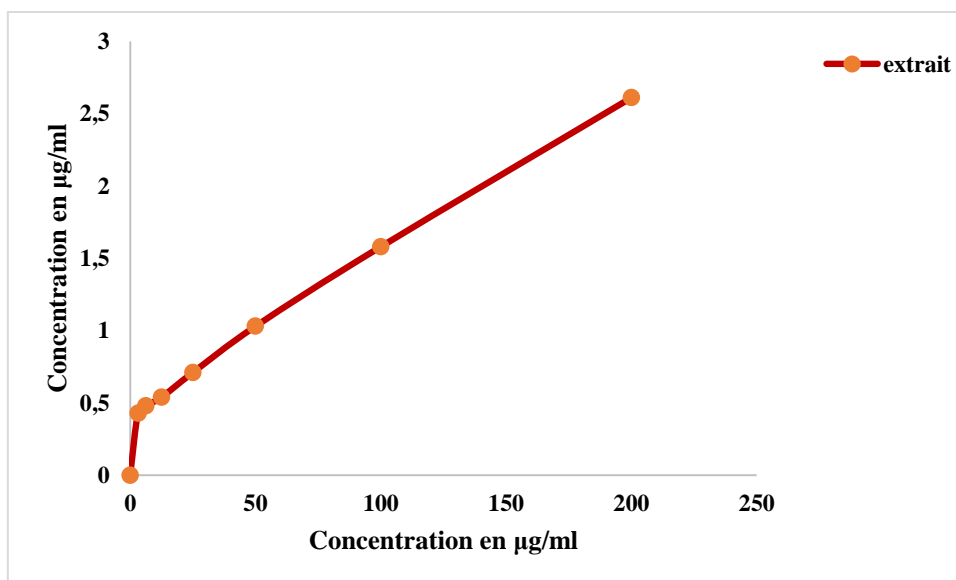


Figure 39: Courbe d'absorbance en fonction de la concentration de l'extrait phenoltranline

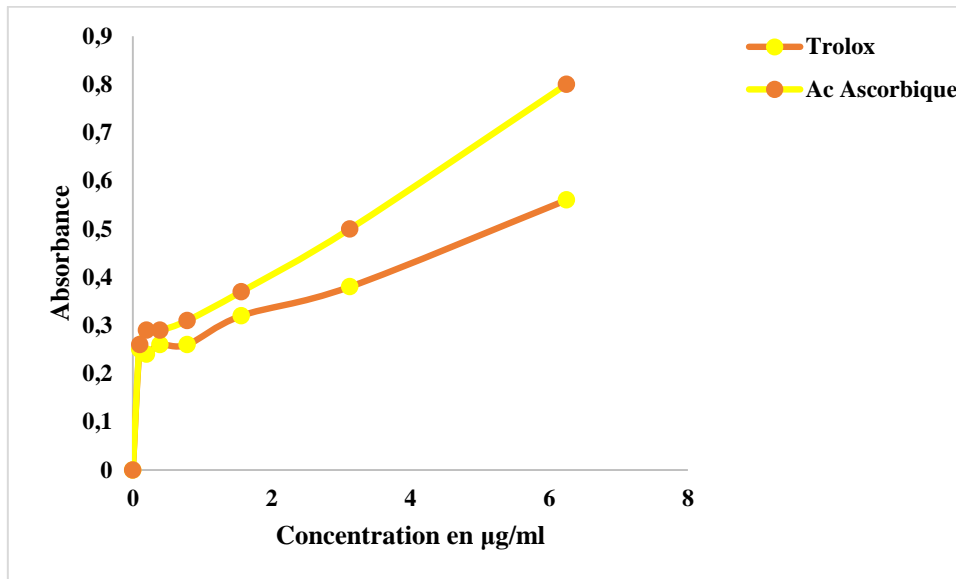


Figure 40: Courbe d'absorbance en fonction de la concentration des standards phenoltranline

De l'analyse statistique des résultats, il a été constaté que l'extrait avait une capacité de réduction dose-dépendante du fer ferrique (Fe³⁺). À une concentration de 200 mg/ml, l'extrait a une excellente activité réductrice du fer ferrique (Fe³⁺) avec une absorbance maximale de 2,61±0,12 L'extrait a montré une faible activité réductrice de (Fe³⁺) par rapport aux témoins positifs (acide ascorbique et Trolox). Cela est dû à la pureté des étalons utilisés, mais cela n'empêche pas nos extrait d'être actifs.

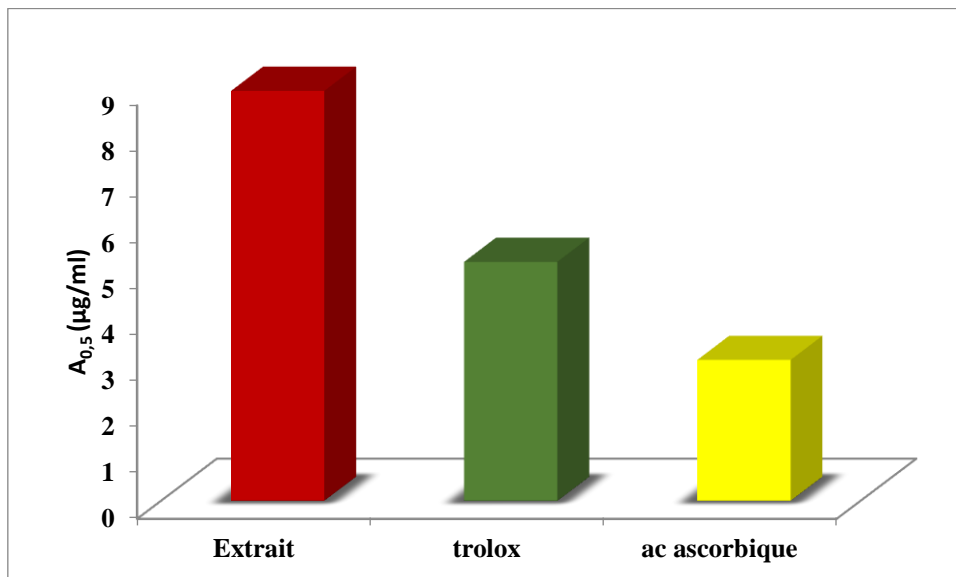


Figure 41: Histogramme représentant les valeurs des A0.5 de l'extrait et standards

I.3.3 Activité du piégeage du cation radical ABTS•+

Les résultats obtenus de ce test, nous ont permis de tracer le graphe de variation du pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration

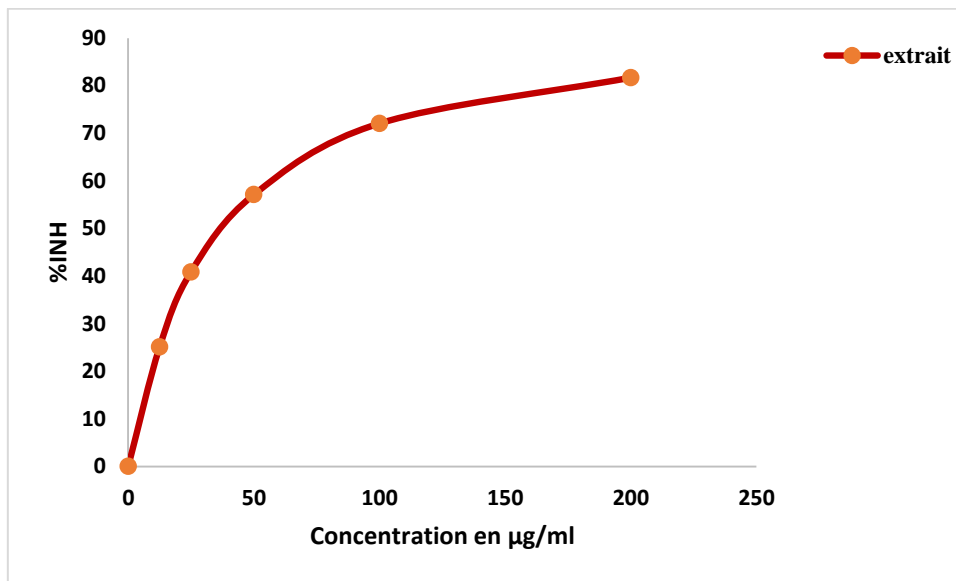


Figure 42: Courbe des pourcentages d'inhibition du radical ABTS en fonction de la concentration de l'extrait

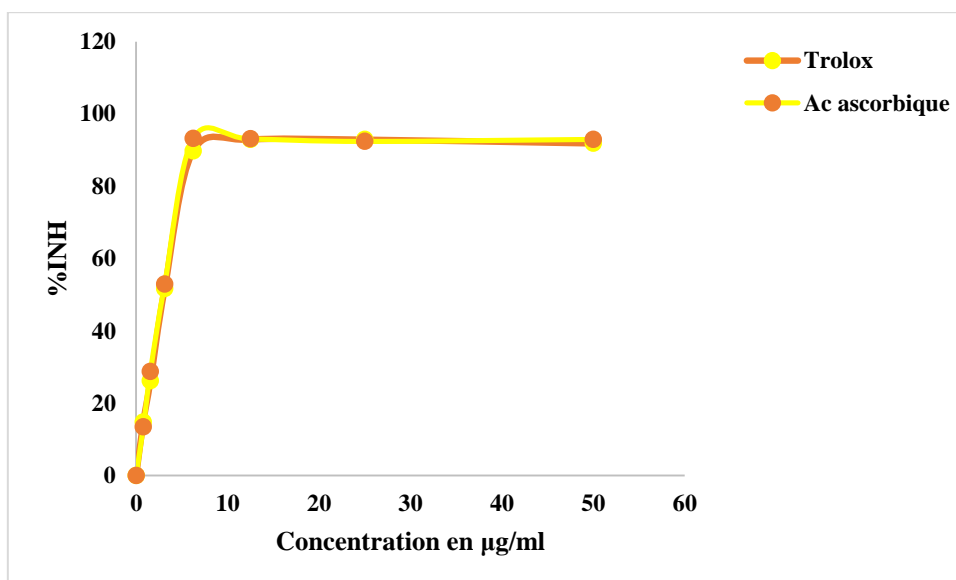


Figure 43: Courbe des pourcentages d'inhibition du radical ABTS en fonction de la concentration des standards

pourcentages d'inhibitions, nous observons que le taux d'inhibition augmente en fonction de l'augmentation de la concentration utilisée. A une concentration maximale (200 µg/ml), on constate que tous nos extraits représentent une activité antiradicalaire avec des pourcentages d'inhibition élevés mais il reste plus faible que l'activité antioxydante de l'acide ascorbique et Trolox (3.21 ± 0.06 et 3.04 ± 0.05)

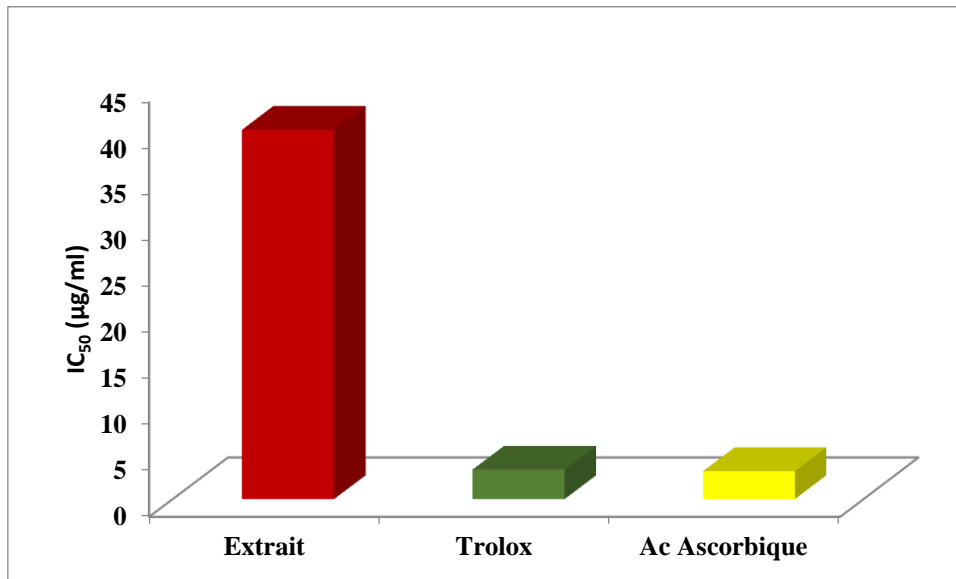


Figure 44: Histogramme représentant les valeurs des CI50 de l' extrait et standards

I.3.4 Activité antiradicalaire du DPPH

Nos résultats obtenus on permet de tracer la courbe de pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de l'extraits et des standards

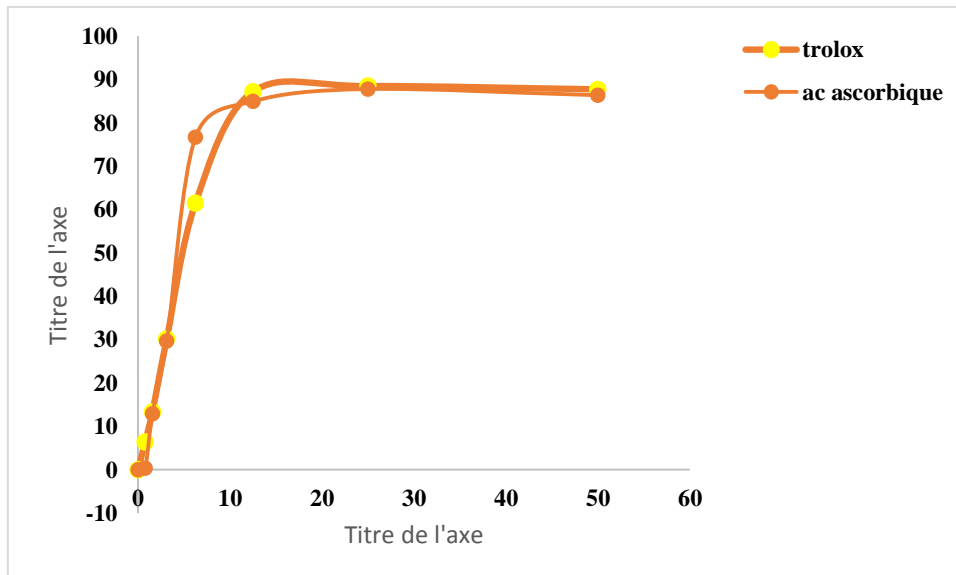


Figure 45: Courbe des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration de l'extrait

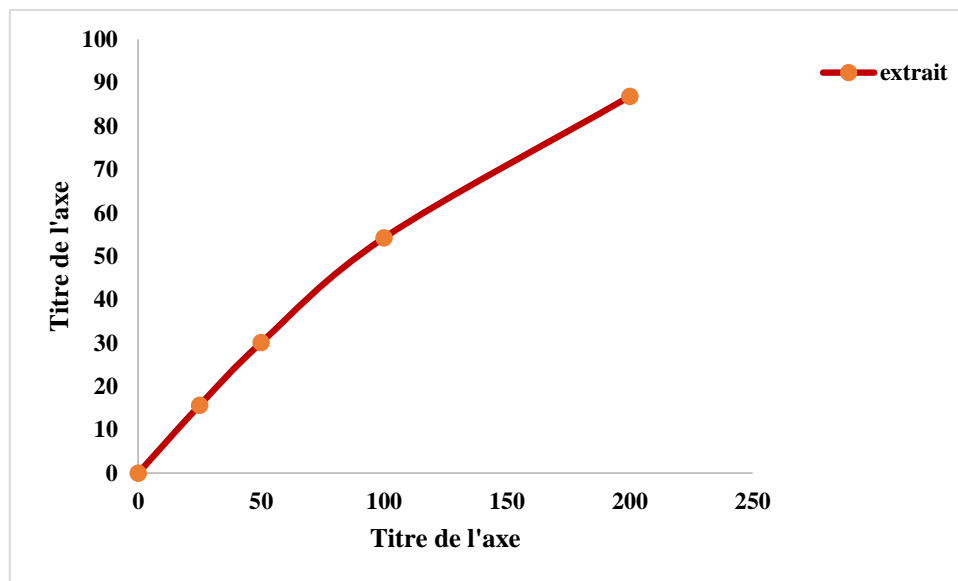


Figure 46: Courbe des pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration des standards

La comparaison de l'activité antiradicalaire DPPH de l'extrait avec le standard (acide ascorbique et Trolox) a montré une activité antiradicalaire dose-dépendante contre les radicaux libres DPPH. c'est-à-dire que le piégeage des radicaux libres DPPH augmente avec l'augmentation de la concentration d'extrait et donc l'activité de piégeage augmente. Les extraits ont montré des niveaux variables d'activité de piégeage des radicaux libres DPPH• dans la plage de concentration de 25 à 200 µg/ml, où à 200 µg/ml l'extrait a montré un pourcentage élevé d'inhibition.

➤ Détermination des CI50

Pour mieux comprendre la capacité antioxydante de nos extraits, nous avons déterminé la valeur d'IC50 µg/ml, qui est définie comme la concentration d'extraits antioxydants nécessaires pour inhiber et réduire de 50% les radicaux libres DPPH•. Le calcul de sa valeur IC50 nous permet d'évaluer et de comparer l'efficacité des extraits, plus la valeur est petite, plus la valeur est petite, plus l'activité antioxydante à piéger les radicaux libres est élevée.

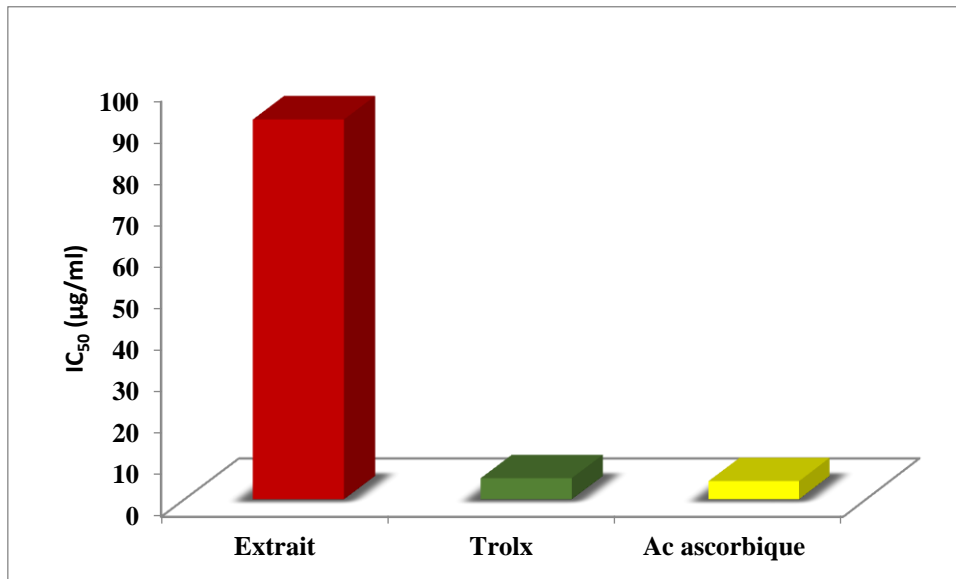


Figure 47: Histogramme représentant les valeurs des CI50 des extraits et standards obtenus par le test DPPH

D’après les résultats obtenus, on constate que nos extrait testées, présentent une bonne capacité à piéger le radical DPPH avec des valeurs CI50 (91,49±1,84)mais cette activité antiradicalaire elle reste inférieure à celle du standards (acide ascorbique et trolox) (5.12±0.21 4.39±0.01)

I.3.5 Activité Silver nanoparticle (SNP) assay

Nos résultats obtenus on permit de tracer la courbe des absorbances en fonction des concentrations des extraits et des standards, et l’histogramme des concentrations réductrices (A_{0.5})

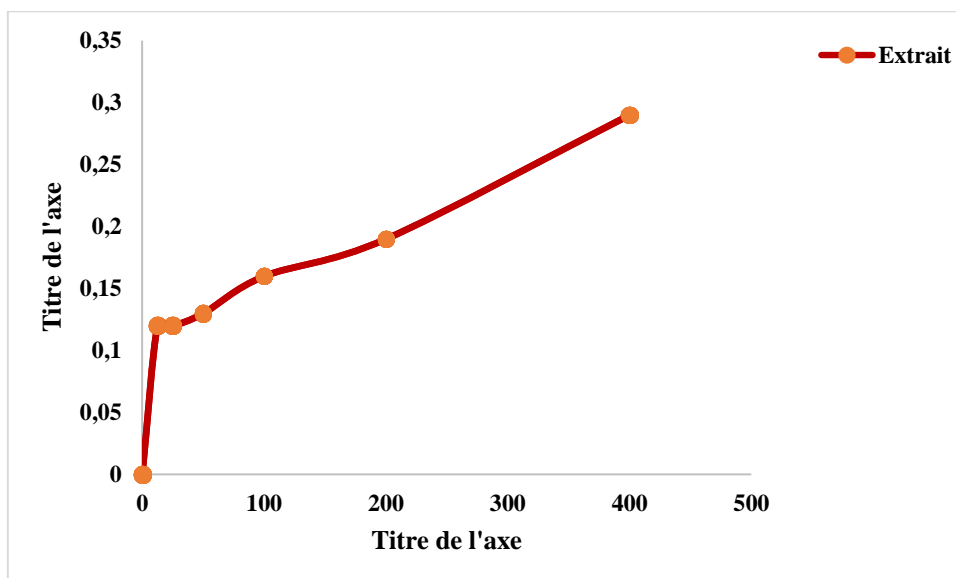


Figure 48: Courbes d’absorbance en fonction de la concentration de l’extrait (SNP)

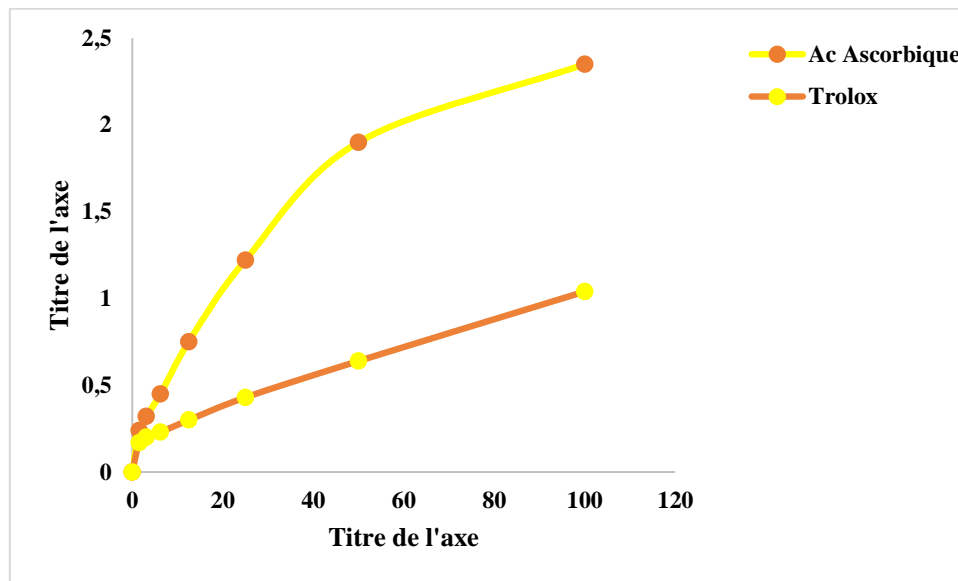


Figure 49: Courbes d'absorbance en fonction de la concentration des standards (SNP)

A partir de l'analyse statistique de ces résultats, on a révélé une proportionnalité entre les absorbances des extraits et leur concentration, plus l'absorbance est élevée, plus la capacité réductrice est importante.

En effet, à une concentration 100 $\mu\text{g/ml}$ on remarque que l'Acide ascorbique exprime une meilleure capacité réductrice des ions Ag^+ avec une densité optique plus élevée (2.35 ± 0.01) suivi par le Trolox qui montre une efficacité réductrice à une absorbance maximale de l'ordre de (1.04 ± 0.01). À la concentration (400 $\mu\text{g/ml}$) nos extraits possèdent une capacité réductrice des ions Ag^+ la plus faible avec des absorbances $0,29 \pm 0,03$

I.4 Activité enzymatique

I.4.1 Evaluation de l'activité anticholinestérase

D'après les valeurs de l'absorbance obtenues on trouve que l'activité anticholinestérase est faible dans notre extrait donc les résultats enzymatiques ne sont pas fiables.

I.5 Activité Anti-inflammatoire

Les résultats enregistrés ont permis de calculer le pourcentage d'inhibition de l'extrait selon la même formule utilisée pour les autres activités. L'effet anti-inflammatoire de l'extrait a été évalué *in vitro* par rapport à la dénaturation de BSA. Les résultats actuels ont montré une inhibition concentration-dépendante de la dénaturation des protéines par l'extrait. À la même concentration. Tandis que, les standards possèdent une capacité réductrice des ions Ag^+ la plus faible avec des absorbances $0,82 \pm 0,06$ nm.

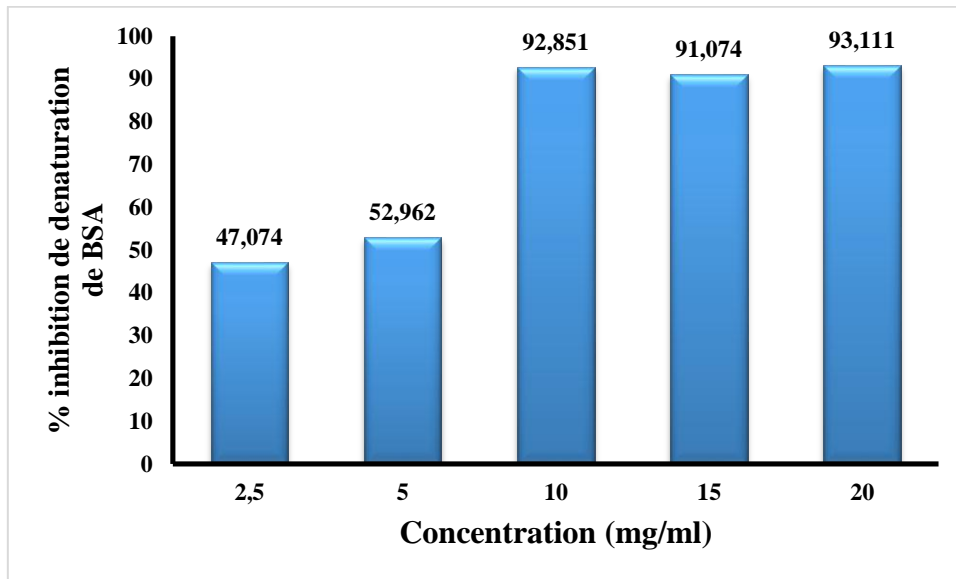


Figure 50: Histogramm d’inhibition de la dénaturation de BSA par l’extrait

le test a montré que l’extrait, possèdent le pouvoir le plus élevé pour inhiber la dénaturation de BSA, ce pouvoir est confirmé par un pourcentage d’inhibition important (93,11%)

A partir des valeurs d’ IC50, on constate que l’extrait a un bon potentiel avec une IC50 de $IC_{50} \approx 3,78$ mg/ml comparable à celle de standard (Voltarène $IC_{50} 127,57 \pm 1,45$ µg/ml)

Tableau 4: Ic50 de standard

	equation	IC50 µg/m
Voltarène	0,2246 x+21,355	127,57 ±1,45

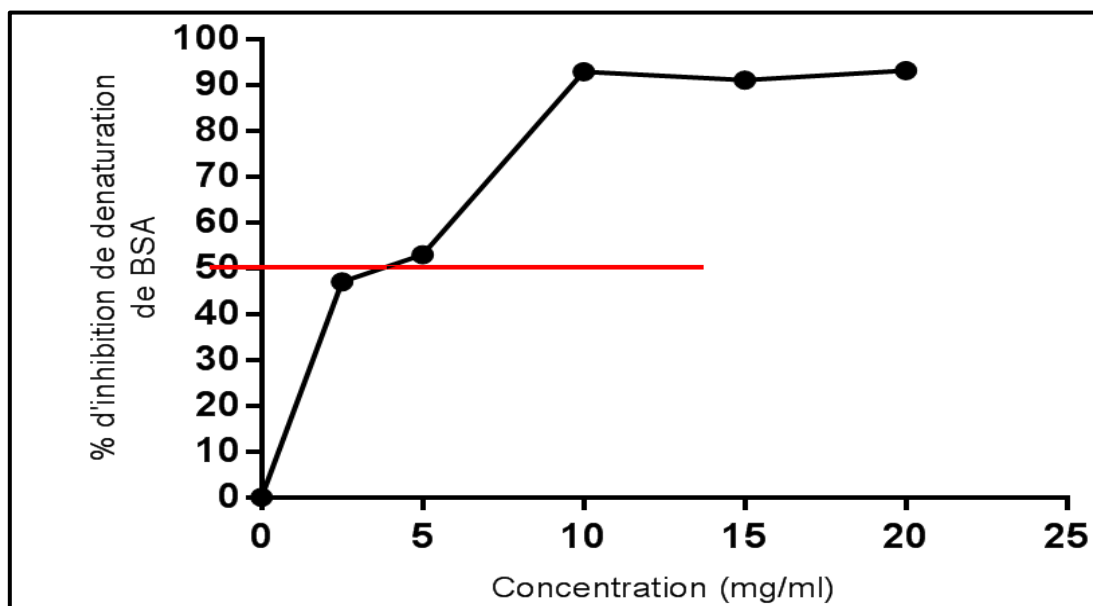


Figure 51: courbe représentant les valeurs des CI50 de l'extrait

Conclusion et Perspectives

Conclusion et Perspectives

Les plantes médicinales restent le premier dépositaire de nouveaux médicaments. Ils sont considérés comme une source de matières premières essentielles nécessaires à la découverte de nouvelles molécules d'origine naturelle, indispensables au développement de futurs médicaments qui apporteront une contribution majeure à la prévention de diverses maladies.

Dans le présent travail, nous nous sommes intéressées de réaliser un gel anti-inflammatoire à base des constituants naturel 100% bio, extraits de piment piquant (*Capsicum annum L.*) , à travers les études suivantes :

- Dosage des métabolites secondaires de types polyphénols et flavonoïdes
- des activités biologiques (anti-oxydante, enzymatique et anti-inflammatoire).
- conception de la formulation
- production de gel anti-inflammatoire

Concernant l'analyse quantitative des polyphénols et des flavonoïdes totaux dans l'extrait de notre plante, les résultats obtenus, indiquent que notre extrait il contient des faibles dose en ces composés

La capacité antioxydante d'extraits de plantes a été évaluée in vitro par cinq méthodes complémentaires : Dpph ; phénantroline ; ABTS ; SNP ; FRAP après discuter les résultats de Ces tests montrent donc que l'extrait possède une faible activité antioxydante

Pour l'activité anti-inflammatoire, nos résultats montrent que l'extrait testé a généralement une très bonne activité anti -inflammatoire.

Notre travail est finaliser par la formulation et la production de notre gel anti inflammatoire "**Bio Cap®**"

Concernant les tests de toxicité, et les effets indésirables et le contrôle de qualité sont en cours de réalisation, vu que nous sommes très limités par le temps.

En perspectives, nous envisageons d'utiliser ces résultats pour développer mieux notre produit et de le commercialiser dans différents domaines :

- **Bio-industrie**
- **Pharmaceutique**

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

En perspective, nous souhaitons à travers notre travail scientifique et les évaluations faites par des experts, de créer notre propre entreprise basée sur des produits naturels et leurs matières premières 100 % bio et d'origine algérienne.



Figure 52: Gel anti-inflammatoire Bio Cap®

Références bibliographiques

Références bibliographiques**-A-**

1. Aliouat, A., Boukkelia, N. (2012). Activité antioxydant des extraits des graines de la plante *Nigelle sativa* L, Diplôme de Master en Biochimie Moléculaire et Santé : 26
2. Atasoy, N., & Yücel, U. M. (2021). Antioxidants from Plant Sources and Free Radicals. In (Ed.), *Reactive Oxygen Species*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.100350>
3. Aude, F.(2006) Des formes topiques classiques aux formes transdermiques : formulation et procédés. Sciences pharmaceutiques.
4. Arimboor, R., Natarajan, R.B., Menon, K.R. et al. (2015).Red pepper (*Capsicum annum*) carotenoids as a source of natural food colors: analysis and stability—a review. *J Food Sci Technol* 52, 1258–1271. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1260-7>
5. Aza-González, C., Núñez-Palenius, H.G. & Ochoa-Alejo,N. (2011). Molecular biology of capsaicinoid biosynthesis in chili pepper (*Capsicum* spp.). *Plant Cell Rep* 30, 695–706. <https://doi.org/10.1007/s00299-010-0968-8>

-B-

6. Bagchi, K. & Puri, S. (1998). Free radicals and antioxidants in health and disease: a review. *EMHJ - Eastern Mediterranean Health Journal*, 4 (2), 350-360, 1998 <https://apps.who.int/iris/handle/10665/118217>
7. Báidez, A. G., Gómez, P., Del Río, J. A., & Ortuño, A. (2007). Dysfunctionality of the xylem in *Olea europaea* L. Plants associated with the infection process by *Verticillium dahliae* Kleb. Role of phenolic compounds in plant defense mechanism. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(9), 3373–3377. <https://doi.org/10.1021/jf063166d>
8. Batiha, Gaber E.-S., Ali Alqahtani. (2020). "Biological Properties, Bioactive Constituents, and Pharmacokinetics of Some *Capsicum* spp. and Capsaicinoids" *International Journal of Molecular Sciences* 21, no. 15: 5179. <https://doi.org/10.3390/ijms21155179>
9. Betteridge D. J. (2000). What is oxidative stress?. *Metabolism: clinical and experimental*, 49(2 Suppl 1), 3–8. [https://doi.org/10.1016/s0026-0495\(00\)80077-3](https://doi.org/10.1016/s0026-0495(00)80077-3)
10. Boiko Yu A, Shandra AA, Boiko IA, Kravchenko IA.(2019) Experimental study of the effectiveness the *Capsicum annum* L. extracts for treatment of the rheumatoid arthritis. *J Phytopharmacol*; 8(2):46-51.

11. Bosland PW, Votava EJ (1999) Peppers. Vegetable and spice capsicums. CABI publishing, Pp 11-204
12. Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, 3ème Ed. Ed. médicales internationales and Tec & Doc Lavoisier, Paris
13. Bussmann R.W. et al. (2019) *Capsicum annum* L. Solanaceae. In: Batsatsashvili K., Kikvidze Z., Bussmann R. (eds) *Ethnobotany of the Mountain Regions of Far Eastern Europe. Ethnobotany of Mountain Regions.* Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-77088-8_35-2

-C-

14. Camille Migdal and Mireille Serres, (2011) Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant, *Med Sci* (Paris), 27 4 405-412 DOI: <https://doi.org/10.1051/medsci/2011274017>
15. C. KOUASSI KOUASSI et al. (2012) / *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6(1): 175-185,
16. Chaabi, M. (2008). Etude phytochimique et biologique d'espèces végétales

-D-

17. Daglia M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, 23(2), 174–181. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.007>
18. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, and S. R. Crouch, *Analytical Chemistry: An Introduction*, 7th ed., Chapters 19, pp. 504.
19. D.J. Charles, (2013) *Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources*, DOI 10.1007/978-1-4614-4310-0_13, © Springer Science+Business Media New York Pp190-193
20. De, Amit Krishna. (2003) *Capsicum: The Genus Capsicum*. Taylor & Francis., pp25
21. DORE C. et VAROQUAUX F., (2006). Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées. Collection Savoir-faire. Editions Quae. pp 543.
22. Dr. HAMICI A. (2019) Les préparations semi-solides pour application cutanée, Université Mostefa Ben Boulaid Batna -2- Faculté de médecine Département de pharmacie Service de pharmacie galénique

-F-

23. Fernandes, Andrêssa & Nascimento, Tatiele Casagrande & Jacob-Lopes, Eduardo & De Rosso, Veridiana & Zepka, Leila. (2018). Introductory Chapter: Carotenoids - A Brief Overview on Its Structure, Biosynthesis, Synthesis, and Applications. [10.5772/intechopen.79542](https://doi.org/10.5772/intechopen.79542).

-G-

24. Grzegorz Bartosz (2003) Generation of Reactive Oxygen Species in Biological Systems, *Comments on Toxicology*, **9:1**, 5-21, DOI: 10.1080/08865140302420
25. GRUBEN G. T. H. et DENTON O.A., 2004. Légumes. Volume 2 de Ressources végétales de l'Afrique tropicale. PROTA. Pays-bas. Pp 173-174

-H-

26. Han, X., Shen, T., & Lou, H. (2007). Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International Journal of Molecular Sciences*, *8*(9), 950–988.
27. Handa SS, Khanuja SPS, Longo G, and Rakesh DD. 2008. Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. Trieste: ICS UNIDO
28. Haioun, A., Hamoudi, F. Z. (2015). Activité antioxydante et anti-inflammatoire de la plante médicinale Algérienne *Anethium graveolens* et leur effet cardioprotectrice contre la toxicité, Diplôme de Master en Toxicologie et Santé. p 16
29. Harborne, J. B. (1984). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis*. Chapman & Hall. Pp 16,37 <https://doi.org/10.1007/978-94-009-5570-7>
30. Havsteen B (2002) The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Ther* 96, 67–202
31. H.E. Khoo, K.N. Prasad, K.W. Kong, Y. Jiang, A. Ismail,(2011) .Carotenoids and their isomers: color pigments in fruits and vegetables, *Molecules* 16
32. Hernández-Ortega, M., Ortiz-Moreno, A., Hernández-Navarro, M. D., Chamorro-Cevallos, G., Dorantes-Alvarez, L., & Necoechea-Mondragón, H. (2012). Antioxidant, antinociceptive, and anti-inflammatory effects of carotenoids extracted from dried pepper (*Capsicum annum* L.). *Journal of biomedicine & biotechnology*, 2012, 524019. <https://doi.org/10.1155/2012/524019>
33. Howard, L.R., Talcott, S.T., Brenes, C.H. and Villalon, B. (2000). Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* Species) as influenced by maturity. *J. Agric. Food. Chem.* 48:1713–1720
34. Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of agricultural and food chemistry*, *53*(6), 1841–1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>

-I-

35. Isela Lavilla, Carlos Bendicho, (2017). Fundamentals of Ultrasound-Assisted Extraction, Chapter 11. Water Extraction of Bioactive Compounds, Elsevier, Pages 291-316, ISBN 9780128093801, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809380-1.00011-5>

-J-

36. Jonathan M., and Joel E. Mortensen. (2009) "The power of capsaicin." Journal of Continuing Education Topics & Issues, vol. 11, no. 1, Jan., Pp 8

-K-

37. Khalil, A., Tazeddinova, D., Aljoumaa, K., Kazhmukhanbetkyzy, Z. A., Orazov, A., & Toshev, A. D. (2021). Carotenoids: Therapeutic Strategy in the Battle against Viral Emerging Diseases, COVID-19: An Overview. *Preventive nutrition and food science*, 26(3), 241–261. <https://doi.org/10.3746/pnf.2021.26.3.241>
38. Koudoro Yaya Alain , Bogninou G et al ., Laboratoire d'Etude et de Recherche en Chimie Appliquée (LERCA), Ecole Polytechnique d'Abomey-Calavi (EPAC), Université d'Abomey-Calavi (UAC), 01 BP 2009 Cotonou République du Bénin

-L-

39. Lim, T.K. (2013). Capsicum annum. In: Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants Pp 163
40. Lima, G.P.P., Vianello, F., Corrêa, C.R., da Silva Campos, R.A. and Borguini, M.G. (2014) Polyphenols in Fruits and Vegetables and Its Effect on Human Health. *Food and Nutrition Sciences*, 5, 1065-1082. <http://dx.doi.org/10.4236/fns.2014.511117>

-M-

41. MacBryde, Bruce. (2006). Consensus Document on the Biology of the Capsicum annum Complex (Chili peppers, Hot peppers and Sweet peppers).
42. Maiani, G., Castón, M. J., Catasta, G., Toti, E., Cambrodón, I. G., Bysted, A., Granado-Lorenzo, F., Olmedilla-Alonso, B., Knuthsen, P., Valoti, M., Böhm, V., Mayer-Miebach, E., Behsnilian, D., & Schlemmer, U. (2009). Carotenoids: actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans. *Molecular nutrition & food research*, 53 Suppl 2, S194–S218. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200800053>
43. María Yolanda Rios, Horacio F. Olivo, (2014). Natural and Synthetic Alkamides: Applications in Pain Therapy, Chapter 3, Studies in Natural Products

- Chemistry, Elsevier, Volume 43, Pages 79-121, ISSN 1572-5995, ISBN 9780444634306, <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63430-6.00003-5>
- 44.** Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., Jimenez, L., (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* 79, 727–747.
- 45.** Marín, L., Miguélez, E.L., Villar, C.J., Lombó, F., (2015). Bioavailability of dietary polyphenols and gut microbiota metabolism: antimicrobial properties. *BioMed Research International*
- 46.** Maoka, Takashi. (2020). “Carotenoids as natural functional pigments.” *Journal of natural medicines* vol. 74,1 .1-16. doi:10.1007/s11418-019-01364-x
- 47.** Marc, Françoise ; Davin, André ; Deglene-Benbrahim, Laurence ; Ferrand, Carine ; Baccaunaud, Michel ; Fritsch, Pierre. 2004, ; Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments, *Med Sci (Paris)*, Vol. 20, N° 4; p. 458-463 ; DOI : 10.1051/medsci/2004204458
- 48.** Materska, M., & Perucka, I. (2005). Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L). *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(5), 1750–1756. <https://doi.org/10.1021/jf035331k>
- 49.** McTaggart, L., 2016. Arthritis. London: Hay House Publishing.
- 50.** Mohd Hassan, N., Yusof, N. A., Yahaya, A. F., Mohd Rozali, N. N., & Othman, R. (2019). Carotenoids of Capsicum Fruits: Pigment Profile and Health-Promoting Functional Attributes. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 8(10), 469. <https://doi.org/10.3390/antiox8100469>
- 51.** Molyneux, P. (2004) The Use of Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26, 211-219
- 52.** Muchena, John Kailemia, (2009). "Studies of Capsaicinoids Contents of Locally Grown and Commercial Chilies Using Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography. *Electronic Theses and Dissertations. Paper 1800.* <https://dc.etsu.edu/etd/1800>
- N-**
- 53.** NCBI. "PubChem Compound Summary for CID 1548943, Capsaicin" PubChem, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Capsaicin>. Accessed 4 June, 2022.

54. NCBI. "PubChem Compound Summary for CID 1318, 1,10-Phenanthroline" PubChem, https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1_10-Phenanthroline. Accessed 4 June, 2022.

-O-

55. Om P. Sharma, Tej K. Bhat, (2009). DPPH antioxidant assay revisited, Food Chemistry, Volume 113, Issue 4, ,Pages 1202-1205,ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.008>

-P-

56. Pahwa, R., Goyal, A., & Jialal, I. (2021). Chronic Inflammation. In StatPearls. StatPearls Publishing.
57. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR.(2016). Flavonoids: an overview. *J Nutr Sci.* 2016;5:e47. Published Dec 29. doi:10.1017/jns.2016.41
58. Patapoutian, A., Tate, S. & Woolf, C. (2009). Transient receptor potential channels: targeting pain at the source. *Nat Rev Drug Discov* 8, 55–68 .<https://doi.org/10.1038/nrd2757>
59. Perucka, I. (2004). Zmiany zawartości karotenoidów w owocach papryki odmiany 'Bronowicka Ostra' zachodzące podczas dojrzewania i zastosowania etafonu. *Acta.Sci. Pol., Technol. Aliment.* 3(1):85–92
60. Pollastri S., Tattini M. (2011): Flavonols: old compounds for old roles. *Ann Bot;* 108:1225-1233
61. Priyanka, S. Mithilesh, S. Gautami, D . Rakhi, Ch ,(2014). Herbal Medicine and Biotechnology for the Benefit of Human Health, Chapter 30. *Animal Biotechnology*, Academic Press ,Pages 563-575,ISBN 9780124160026, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416002-6.00030-4>

-R-

62. Rambaran, T.F. (2020). Nanopolyphenols: a review of their encapsulation and anti-diabetic effects. *SN Appl. Sci.* 2, 1335. <https://doi.org/10.1007/s42452-020-3110-8>
63. Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., & Pridham, J. B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free radical research*, 22(4), 375–383. <https://doi.org/10.3109/10715769509145649>

-S-

64. Salehi, Bahare & Hernandez Alvarez, Alan Javier & Contreras, María del Mar & Martorell, Miquel & Ramírez-Alarcón, Karina & Melgar-Lalanne, Guiomar & Matthews, Karl & Sharifi-Rad, Mehdi & Setzer, William & Nadeem, Muhammad & Yousaf, Zubaida & Sharifi-Rad, Javad. (2018). Potential Phytopharmacy and Food Applications of Capsicum spp.: A Comprehensive Review. *Natural product communications*. 13. 1543 - 1556. [10.1177/1934578X1801301133](https://doi.org/10.1177/1934578X1801301133).
65. Sánchez-Moreno C. (2002). Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Science and Technology International*.8(3):121-137. doi:10.1106/108201302026770
66. Senthelal S, Li J, Goyal A, et al. Arthritis.(2022). In: StatPearls Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK518992/?report=classic>
67. Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., Jiménez, L., (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 454, 287–306.
68. Spiller F, Alves MK, Vieira SM, Carvalho TA, Leite CE, Lunardelli A, Poloni JA, Cunha FQ, de Oliveira JR..(2008) Anti-inflammatory effects of red pepper (*Capsicum baccatum*) on carrageenan- and antigen-induced inflammation. *J Pharm Pharmacol.*;60(4):473-8. doi: 10.1211/jpp.60.4.0010. PMID: 18380920
69. Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G., & Szłyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899–905. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.04.055>
70. Sy, C. (2011). Nouveaux caroténoïdes issus de bactéries marines : étude de leur stabilité, de leur pouvoir antioxydant et de leur biodisponibilité à l'aide de modèles chimiques et biologiques. Comparaison avec les propriétés fonctionnelles de caroténoïdes de référence. Thèse de l'Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse

-T-

71. Tremellen K. (2008). Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. *Human reproduction update*, 14(3), 243–258. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmn004>
72. Veeriah, S., Kautenburger, T., Habermann, N., Sauer, J., Dietrich, H., Will, F., & Pool-Zobel, B. L. (2006). Apple flavonoids inhibit growth of HT29 human colon cancer cells and modulate expression of genes involved in the biotransformation of

xenobiotics. *Molecular carcinogenesis*, 45(3), 164–174.
<https://doi.org/10.1002/mc.20158>

-V-

73. Villa-Rivera, M. G., & Ochoa-Alejo, N. (2020). Chili Pepper Carotenoids: Nutraceutical Properties and Mechanisms of Action. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(23), 5573. <https://doi.org/10.3390/molecules25235573>

-W-

74. W.L. Morris, M.A. Taylor,(2017).The Solanaceous Vegetable Crops: Potato, Tomato, Pepper, and Eggplant,Editor(s): Brian Thomas, Brian G Murray, Denis J Murphy,Encyclopedia of Applied Plant Sciences (Second Edition),Academic Press, Pages 55-58,ISBN 9780123948083, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394807-6.00129-5>

75. Walsh BM, Hoot SB (2001) Phylogenetic relationships of Capsicum (Solanaceae) using DNA sequences from Two noncoding regions: the chloroplast atpB- rbcL spacer region and nuclear waxy introns.*Int J Plant Sci* 162:1409–1418

76. Wainster, J., (2009). Le larousse médical. 5th ed. Paris: Larousse.

-X-

77. Xiu-Ju Luo, Jun Peng, Yuan-Jian Li,(2011).Recent advances in the study on capsaicinoids and capsinoids,European Journal of Pharmacology,Volume 650, Issue 1 ,Pages 1-7,ISSN 0014-2999, <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.09.074>

-Z-

78. ZAKI N. et al.(2018) Caractéristiques physicochimiques, nutritionnelles et antioxydantes du paprika produit par procédé semi-industriel à partir de la Niora (*Capsicum annum* L.) cultivée dans trois régions Marocaines, *Nature & Technology Journal*. Vol. B : Agronomic & Biological Sciences,19 . 01-12

79. Zahari, N.A.A.R.; Chong, G.H.; Abdullah, L.C.; Chua, B.L.(2020). Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE) Process on Thymol Concentration from *Plectranthus Amboinicus* Leaves: Kinetic Modeling and Optimization. *Processes*, 8, 322. <https://doi.org/10.3390/pr8030322>

80. Zhang, QW., Lin, LG. & Ye, WC.(2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chin Med* 13, 20. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>

81. Zubrick, James W. (2014). *The organic chem lab survival manual : a student's guide to techniques* (Ninth ed.). Hoboken: John Wiley & Sons. Pp 112

Site web

<https://www.cdc.gov/arthritis/basics/rheumatoid-arthritis.html>

<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL/visualize>

Annexe

Annexe

I. Préparation des solutions

1. Quantification des polyphénols totaux (TPC)

➤ Préparation de Carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5% :

Une quantité de 7,5 g de Na_2CO_3 est dissoute dans 100 mL d'eau distillée sous agitation à l'aide d'un agitateur magnétique chauffant.

➤ Préparation de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois

1 mL de la solution FCR concentrée (2M) est complété à 10 mL avec l'eau distillée (9 mL).

➤ Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique

Une masse de 0,5 mg de l'étalon l'acide gallique a été dissoute dans 5 ml de méthanol pour obtenir une solution mère de concentration égale à 200 ppm (Sm), une gamme de dilutions a été faite à partir cette dernière

2. Quantification des flavonoïdes totaux (TFC)

➤ Préparation des solutions

Pour 1 M Potassium acétate (CH_3COOK) on dissout 9.80 grammes dans 100 ml d'eau distillé pour obtenir la solution S1

Pour 10% nitrate d'aluminium ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) on pèse 10g de ce produit dans 100ml d'eau distillée.

➤ Préparation de la gamme d'étalon de la quercétine

On prend 1 mg de la quercétine et on le dissout dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution 0,2 mg/ml (SM). Les dilutions sont faites à partir cette dernière.

3. Activité antiradicalaire au DPPH

➤ Préparation de la DPPH

La solution de DPPH a été préparé par la solubilisation de 6 mg de DPPH dans 100 ml de méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre.

4. Activité du piégeage du cation radical ABTS⁺

➤ Préparation de la solution d'ABTS

Une quantité de 19,2 mg de l'ABTS (7 mM) et 3,3 mg du persulfate de potassium ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 2.45 mM) et 10 ml H_2O sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16H, l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (Ethanol ou H_2O) à 0.700 ± 0.020 à 734 nm avant l'usage.

5. Activité Phenanthroline

➤ Préparation des solutions

Préparation de la solution Phenanthroline (0.5%) par la solubilisation de 0.05g de 1,10-Phenanthroline dans 10ml de MeOH, et la dissolution sous agitation de 0.02g de FeCl₃ dans 10 ml de H₂O pour la solution Ferricchloride FeCl₃ (0.2%).

6. Activité Pouvoir réducteur (FRAP)

➤ Préparation des solutions

La dissolution sous agitation de 1 g d'acide tri-chloroacétique (TCA) dans 10 mL H₂O ,1 g de potassium ferricyanide (K₃Fe (CN)₆) dans 100 mL H₂O, et 0,1 g de chlorure ferrique FeCl₃ dans 100 mL.μ

7. Activité Silver nanoparticle (SNP) assay

➤ Préparation des solutions

La dissolution sous agitation de 0.170 g de Silver nitrate (10Mm) dans 100 mL H₂O , et 1g de Trisodium citrate (1%) dans 100 mLH₂O.

➤ Préparation de la solution SNP

50 ml de (AgNO₃) est chauffé pendant 10 min puis 5ml de Trisodium citrate est ajouté goutte à goutte jusqu'à le changement de la couleur vers le jaune pâle après la solution est laisser à température ambiante.

8. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in-vitro

➤ Préparation du Tris-HCl 0.05 M PH : 6,6

1,2144g est dissous dans 200 ml de l'eau bi distillée. Le PH est par la suite ajusté à 6,6 avec l'HCl.

➤ Préparation du standard

Différente concentration de Diclofénac sodique (forme injectable) sont préparée dans l'eau distillée à partir d'une solution mère de 500 ppm.

➤ Préparation des blancs

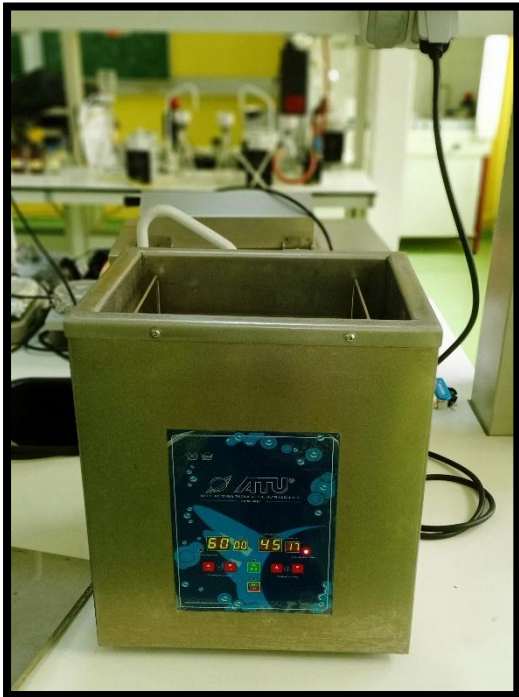
A- Pour chaque concentration d'extrait de plante un blanc extrait est préparé dans le quel 01ml d'extrait est ajouté à 1 ml de Tris-Hcl (Ce blanc a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait des résultats obtenus).

B- un blanc BSA contenant 1 ml de la solution de BSA ajouté à 1 ml du solvant utilisé pour les extraits (le résultat obtenu correspond à la dénaturation totale du BSA en absence de substance inhibitrice)

➤ **Réparation de la solution BSA 0,2%**

0,2 g de BSA est dissoute dans 100 ml de tampon Tris-Hcl.

Tableau 1. Materieles utiltliser



Bain ultra sons

(Bentrad.F,hamzaoui.y ,2022)



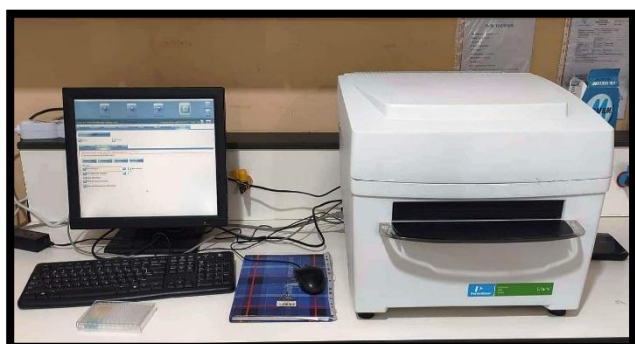
rotavapeur

(Bentrad.F,hamzaoui.y ,2022)



SPECTROPHOTOMETRE UV

(Bentrad.F,hamzaoui.y ,2022)



Lecteur Microplaque

(Bentrad.F,hamzaoui.y ,2022)



**Clevenger (Extraction huilles essentiels)
(Bentrad.F,hamzaoui.y ,2022)**

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : BENTRAD Feriel
HAMZAOUI Youssef

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie et génomique végétale

Intitulé : Entreprenariat Essai de fabrication d'une pommade antiinflammatoire à base de capsicum annum

RESUME

Le but de cette étude était de déterminer la composition chimique des piments et d'évaluer leurs propriétés biologiques.

Notre travail a consisté à étudier les activités phytochimiques et antioxydantes et anti-inflammatoires des piments séchés (rouges) cultivés dans la région de Guelm.

Les méthodes utilisées étaient le dosage de Folin-Ciocalteu pour quantifier les polyphénols totaux et les dosages de flavonoïdes ; et les tests ABTS, FRAP, SNP, DPPH et Phénanthroline pour mesurer l'activité antioxydant et l'inhibition de la dénaturation de la BSA par la méthode Kandikattu K pour l'activité anti-inflammatoire

L'objectif principal de nos travaux est « la conception, la formulation et la fabrication de gels anti-inflammatoires ». On essaie de plus en plus de privilégier la médecine naturelle.

Mots-clefs : phytochimique, antioxydants, anti-inflammatoire, polyphénols, flavonoïdes

Laboratoires de recherche :
Laboratoire de Génétique, Biochimie et Biotechnologies végétales (UMC 1).

Encadreur : HAMMOUDA Dounia (Prof. Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : YEKHLEF Nadia (Prof. Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : MOURI Fouzia (MCA Université Frères Mentouri, Constantine 1).