République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

Université Yahia Fares De Médéa

Faculté de technologie

Département de Génie des Précédés et l'environnement

Filière : Génie des Procédés Pharmaceutiques

Mémoire

Présenté par :

AOUNI Imane & **KOURDALI** Samah

Pour l'obtention du diplôme de **Master** en **Génie des Procédés Pharmaceutiques**

Elaboration et caractérisation d'une crème cicatrisante

Proposé et dirigé par :

Promoteur : Dr BELAISSA.Y

Co-promoteur : Dr CHABANE.A

Année universitaire : 2023/2024

REMERCIMENT

Nous remercions tout d'abord ALLAH le tout puissant de nous avoir données la santé, la patience, la puissance et la volonté pour réaliser ce mémoire.

Nous adressons notre sincère sentiment de gratitude à notre promoteur ***Dr Belaissa Yahia*** *pour tout l'aide qu'il nous a apporté, pour ses fructueux conseils, pour sa disponibilité et pour ses encouragements.*

Nous exprimons également notre gratitude à notre Co-promoteur ***Dr CHABANE Ahmed*** *pour toutes ses orientations pertinentes, pour sa disponibilité et pour sa patience.*

Un grand remerciement à la Directrice de l'usine Antibiotical du groupe Saidal à Médéa qui nous a permis d'effectuer notre stage pratique.

Nos remerciements vont également à toute l'équipe du laboratoire de contrôle Physico-chimique particulièrement à ***Mme Karima, Raouf, Fouad, Omar, HENTABLI Mohamed*** *et tous ceux qui nous ont aidé durant notre stage.*

Nous présentons aussi nos sincères remerciements à tous les enseignants du département du génie des procédés qui ont contribué à notre formation, particulièrement à ***Mme YOUCEF ETTOUMI Khadidja****.*

Nous remercions ensuite l'ensemble des membres du jury, qui nous ont fait l'honneur de bien vouloir étudier avec attention notre travail.

Enfin nos remerciements s'adressent plus particulièrement à nos familles, amis et toutes personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce Travail.

Dédicaces

Avant tout, je remercie Allah, le Tout-Puissant, de m'avoir donné la force et les moyens de réaliser ce travail.

Du profond de mon cœur, je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents. Leur amour et leur soutien inébranlable m'ont été d'un grand secours. Les mots ne suffisent pas à exprimer la profondeur de mes sentiments et la reconnaissance que je leur porte. Aucune dédicace ne saurait rendre justice à l'immensité de mon amour pour vous**. « Que Dieu vous protège et vous accorde une longue vie ».**

À mon cher frère Abdelhak et mes chères sœurs Djazia et Linda qui m'ont toujours encouragé et soutenu. Leur présence constante à mes côtés m'a permis de ne manquer de rien. Qu'Allah vous aide et vous bénisse dans votre vie.

À mes princes Amir et Abdenour que j'aime beaucoup

À mes âmes sœurs Khadidja, Nesrine et Rania votre amour et votre soutien ont été essentiels pour moi.

À mon binôme Samah, merci pour ta précieuse collaboration et ton soutien constant. Ta présence et ton engagement ont été essentiels pour mener à bien ce travail.

À tout la famille AOUNI et HALILALI

IMANE

Dédicaces

Avant tout, je remercie Allah, le Tout-Puissant, de m'avoir donné la force et les moyens de réaliser ce travail.

Du profond de mon cœur, je dédie ce modeste travail :

À la source de mon bonheur et mon modèle dans la vie, **mes chers parents Samir et Zakia**, aucune dédicace ne saurait exprimer mes respects et mon grand amour pour vous. **« Que Dieu vous garde et vous accorde longue vie pleine de bonheur et de bonne santé ».**

À mes frères Abdelillah, Youcef et Mohamed billel, dont le soutien, l'amour et l'encouragement ont été essentiels à la réalisation de ce mémoire avec toute ma gratitude et mon affection. Je souhaite une vie pleine de bonheur, de joie et de réussite

À mon mari Mahdi, Merci pour ton aide, tes précieux conseils et tes encouragements.

À mon binome Imane, À toutes les réussites que nous avons accomplies ensemble, à tous les rires partagés, Merci pour ta présence constante, pour ta confiance inébranlable et pour ton soutien indéfectible.

À tout la famille KOURDALI et OULDROUIS.

À tous mes amis, pour leur conseil et les souvenirs des bons moments passés ensembles.

SAMAH

الملخص:

يستخدم هذا البحث النباتات ومنتجات النحل لأغراض علاجية كبدائل طبيعية وفعالة للمنتجات الصناعية. في هذا السياق، قمنا باستكشاف أهمية العلاج بالنباتات ومنتجات الخلية مثل العكبر(propolis) والعسل في التئام الجروح. يهدف هذا العمل إلى صياغة كريم للشفاء من العكبر وزيت شجرة الشاي العطري والقرنفل وزيت السمسم النباتي.

أظهرت دراستنا أن استخدام طريقة الموجات فوق الصوتية لاستخراج العكبر هو الأمثل، حيث تصل نسبة الاستخلاص إلى 75٪ في وقت قصير. قمنا أيضًا بتقييم النشاط المضاد للأكسدة للعكبر بالإضافة إلى وجود مواد نشطة بيولوجيًا مثل الفلافونويد. كشف تحليل هذه المواد في مستخلص العكبر عن تركيز كبير بلغ 5.438 ميكروغرام/ ملغم EQ. بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص العكبر والزيوت المختلفة باستخدام طريقة .DPPH تظهر نتائجنا أن قيم IC50 لزيت شجرة الشاي، وزيت القرنفل، ومستخلص العكبر, وزيت السمسم هي 2.418 ملغم/مل, و 4.527 ملغم/مل, و 5.961 ملغم/مل, و 719.11 ملغم/مل على التوالي.

تم إجراء سلسلة من الاختبارات باستخدام تركيبات مختلفة لاختيار الأنسب منها. ثم خضعت الكريمات التي تم الحصول عليها لمراقبة صارمة للجودة الفيزيائية والكيميائية واختبارات الاستقرار.

الكلمات المفتاحية: العكبر، العسل، مضادات الاكسدة، الفلافونويدات، الزيوت الأساسية، الزيوت النباتية، كريم شفاء.

Résumé :

L'utilisation des plantes à des fins thérapeutiques et l'intégration de produits apicoles offrent des alternatives naturelles et efficaces aux produits synthétiques. Dans ce cadre, nous avons exploré l'importance de la phytothérapie et des produits de la ruche, tels que la propolis et le miel, dans la cicatrisation. Ce travail vise à formuler une crème cicatrisante à partir de propolis, d'huile essentielle de tea tree, de clou de girofle et d'huile végétale de sésame.

Notre étude montre que l'utilisation de la méthode des ultrasons pour extraire la propolis est optimale, avec un rendement d'extraction atteignant 75% en un temps court. Nous avons également évalué l'activité antioxydante de la propolis ainsi que la présence de substances bioactives comme les flavonoïdes. Le dosage de ces derniers dans l'extrait de propolis a révélé une concentration significative de 5,438 µg EQ/mg. De plus, l'activité antioxydante de l'extrait de propolis et de différentes huiles a été évaluée par la méthode du DPPH. Nos résultats montrent que les valeurs d'IC50 pour l'huile de tea tree, l'huile de clou de girofle, l'extrait de propolis et l'huile de sésame sont respectivement de 2,418 mg/ml, 4,527 mg/ml, 5,961 mg/ml et 719,11 mg/ml.

Une série de tests a été réalisée avec différentes formulations pour sélectionner les plus adaptées. Les crèmes obtenues ont ensuite été soumises à un contrôle de qualité physico-chimique rigoureux et des tests de stabilité.

Mots clés : Propolis, miel, Activité antioxydante, Flavonoïdes, huiles essentielles, huiles végétales, crème cicatrisante.

Abstract:

Bee products, such as propolis and honey, are renowned for their anti-inflammatory, antiseptic, and healing properties. They offer numerous medicinal benefits, particularly for skin issues such as wounds and burns. This research was conducted at the Antibiotical factory of the SAIDAL group in Médéa, Algeria.

The study focuses on two main areas. The first area involves evaluating antioxidant activities using the DPPH assay, phytochemical screening of the ethanolic extract of propolis, and characterizing essential oils through various tests, including refractive index, density, and antioxidant activity. The second area is centered on preparing galenic formulations using propolis extract, honey, and essential oils.

For extraction, we employed the ultrasound method. Phytochemical analysis of the extract revealed the presence of secondary metabolites such as flavonoids. The richness of propolis in phenolic compounds was confirmed through quantitative analyses of flavonoids using aluminum chloride.

As part of our work, we integrated propolis extract, honey, and essential oils into healing cream formulations. A series of tests was conducted with different formulations to select the most suitable ones. The semi-solid formulations obtained were then subjected to rigorous physicochemical quality control.

Key words: propolis, honey, antioxidant activities, flavonoids, essential oils, vegetable oils, healing cream

Sommaire :

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale……...1

Chapitre : Synthèse bibliographique

1Généralité sur la peau.....3

1.1Définition.....3

1.2La structure de la peau.....3

1.2.1L'épiderme.....3

1.2.2Le derme.....3

1.2.3L'hypoderme.....3

2Physiopathologie des plaies.....4

2.1Définition.....4

2.2La classification des plaies.....4

3Les brulures.....6

3.1Définition.....6

3.2Etiologie.....6

3.3Critères de gravité des brûlures.....6

4Physiologie de la cicatrisation 7
4.1Définition 7
4.2Mécanisme de cicatrisation cutanée 7
4.2.1La Phase inflammatoire 7
4.2.1.1Étape vasculaire 7
4.2.1.2Étape inflammatoire 7
4.2.2La phase proliférative 8
4.2.2.1La formation d'un tissu de granulation 8
4.2.2.2La ré-épithélialisation 8
4.2.3La phase de remodelage 9
4.3Les différents types de cicatrisation 9
4.3.1La cicatrisation par première intention 9
4.3.2La cicatrisation par seconde intention 10
5La phytothérapie dans le traitement des brûlures 10
5.1La phytothérapie 10
5.2Les plantes médicinales 11
5.2.1Les métabolites secondaires 11
5.2.1.1Les polyphénols 11
5.2.1.2Les flavonoïdes 11
6Les dérivées de la ruche 12
6.1Le miel 12
6.1.1Composition du miel 12
6.1.2Propriétés thérapeutiques du miel 13
6.1.3Rôle du miel dans la cicatrisation 13
6.2La propolis 14
6.2.1Composition de la propolis 14
6.2.2Propriétés thérapeutiques de la propolis 15

6.2.3Rôle de la propolis dans la cicatrisation.....15
7Les émulsions et les crèmes.....16
7.1Définition des émulsions.....16
7.1.1Les différents types d'émulsions.....16
7.1.2Composition des émulsions.....18
7.2Les crèmes.....19

Chapitre □ : Matériels et méthodes

1Matériels.....20
1.1Matières premières.....20
1.1.1Présentation de la propolis.....20
1.1.2Présentation des huiles essentielles.....20
1.1.2.1L'huile essentielle de Tea tree.....20
1.1.2.2L'huile essentielle de Caryophylata (clou de girofle).....21
1.1.3Présentation de l'huile végétale de sésame.....22
1.2Excipients.....23
1.3Réactifs chimiques et matériel instrumental.....30
2Méthodes.....31
2.1Extraction et caractérisation de la propolis.....31
2.1.1Extraction par solvant.....31
2.1.1.1Calcul du rendement.....32
2.1.2Caractérisation de propolis.....33
2.1.2.1Dosage des flavonoïdes de propolis.....33
2.1.2.2Evaluation de l'activité antioxydante de propolis par DPPH.....33
2.2Caractérisation des huiles essentielles.....35
2.2.1Indice de réfraction.....35
2.2.2La densité.....35
2.2.3Evaluation de l'activité antioxydante des huiles utilisées par DPPH.....36

2.3Partie formulation 36
2.3.1Elaboration des crèmes 36
2.3.2Préparation de la formulation A 37
2.3.3Préparation de la formulation B 38
2.4Control physico-chimique des crèmes 41
2.4.1Caractères macroscopiques 41
2.4.2Homogénéité 41
2.4.3Mesure du pH 41
2.4.4Type d'émulsion 41
2.4.5Etat microscopique 41
2.4.6Viscosité 41
Chapitre □ : Résultats et discussion
1Rendement d'extraction 42
2Dosage des flavonoïdes 43
3Résultats d'activité antioxydante par les tests au DPPH 44
4Caractérisation des huiles 46
5Résultats des contrôles des crèmes préparées 46
5.1Caractères macroscopiques et l'homogénéité 46
5.2Détermination de pH 48
5.3Type d'émulsion 49
5.4Etat microscopique 49
5.5La viscosité 51
Conclusion générale 53
Références bibliographiques

Liste des abréviations

$AlCl_3$: Chlorure d'aluminium

DPPH : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

E/H : Emulsion eau dans huile

E/H/E : Emulsion eau dans huile dans eau

Etc : Et cetera

F : formulation

g : Gramme

g/mol : Gramme par mole

h : Heur

H/E : Huile dans eau

H/E/H : Huile dans eau dans huile

HC : Huile de caryophylata (clou de girofle)

HS : Huile de Sésame

HTT : Huile de Tea Tree (arbre a thé)

IC50 : Concentration d'inhibition 50

IL-1 : L’interleukine-1

mg/ml : Milligramme par millilitre

min : Minute

ml : Millilitre

mPa.s : Mégapascal-seconde

N° : Numéro

nm : Nanomètre

pH : Potentiel hydrogène

TNF-α : Facteur de Nécrose Tumorale alpha

UV-visible : Ultraviolet-visible

% : Pourcentages

° : Degré

°C : Degré Celsius

µg EQ/mg : microgramme équivalent de quercétine par milligramme d’extrait

µg/g : Microgramme par gramme

µg/ml : Microgramme par millilitre

µm : Micromètre

NB : notabilité

Liste des figures

Chapitre □ : Synthèse bibliographique

Figure I. 1 : Représentation schématique de la peau. 4
Figure I. 2 : Classification des plaies cutanées selon la profondeur. 5
Figure I. 3 : Anatomie de la peau après brûlure de différents degrés 7
Figure I. 4 : Représentation schématique de la phase inflammatoire. 8
Figure I. 5 : Représentation schématique de la phase de ré-épithélialisation. 9
Figure I. 6 : cicatrisation primaire. 10
Figure I. 7 : cicatrisation secondaire. 10
Figure I. 8 : Structure et classification des polyphénols. 11
Figure I. 9 : Structure de base des flavonoïdes. 12
Figure I. 10 : Composition du miel. 12
Figure I. 11 : la propolis 14
Figure I. 12 : composition de la propolis. 15
Figure I. 13 : Émulsion : phase dispersée et phase dispersante. 16
Figure I. 14 : les 2 types d'émulsions simples. 17
Figure I. 15 : Les 2 types d'émulsions multiples. 17
Figure I. 16 : Schéma de tensioactif. 18
Figure I. 17 : Représentation d'une émulsion avec émulsifiant. 19

Chapitre □ : Matériels et méthodes

Figure II. 1 : la propolis 20

Figure II. 2 : Espèces de Melaleuca et Parties Utilisées pour l'Extraction de l'Huile Essentielle d'Arbre à Thé. 21
Figure II. 3 : le clou de girofle 22
Figure II. 4 : les grains mûrs de sesamum indicum utilisé pour l'extraction de l'huile de sésame 23
Figure II. 5 : Extraction de la propolis par ultrason. 31
Figure II. 6 : Processus de filtration des extraits obtenus à travers papier wattman n°01. 32
Figure II. 7 : Etuve sous vide employé au niveau de SAIDAL 32
Figure II. 8 : Spectrophotométrie UV-Visible (marque : PERKINELMER PRECISELY, logiciel : LAMBDA 25). 33
Figure II. 9 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant 34
Figure II. 10 : préparation de la solution méthanolique de DPPH 34
Figure II. 11 : le refractomètre utilisé dans la mesure. 35
Figure II. 12 : le densimètre METTLER TOLEDO. 36
Figure II. 13 : Représentation schématique des étapes de Préparation de la Crème 40
Figure II. 14 : Viscosimètre de Brookfield synchro-lectrice visiomètre 41
Figure II. 15 : Protocole suivis lors de l'évaluation de l'effet cicatrisant……42

Chapitre □ : Résultats et discussion

Figure III. 1 : Courbe d'étalonnage de la quercétine. 43
Figure III. 2 : représente le passage de couleur violet vers le jaune 44
Figure III. 3 : Pourcentage d'inhibition en fonction de concentrations de différents extraits. 45
Figure III. 4 : les résultats obtenus du test de type d'émulsion. 49
Figure III. 5 : vues microscopiques des crèmes préparées 50
Figure III. 6 : test de viscosité des formulations A et B 51
Figure III. 7 : résultats du test in vivo……..52

Liste des tableaux

Chapitre □ : Matériels et méthodes

Tableau II. 1 : propriétés physico-chimiques de l'huile de tea tree 21
Tableau II. 2 : Propriétés physico-chimiques de l'huile de clou de girofle.....22
Tableau II. 3 : Propriétés physico-chimiques de l'huile de sésame. 23
Tableau II. 4 : Propriétés physico-chimiques de l'alcool stéarylique. 24
Tableau II. 5 : Propriétés physico-chimiques de l'alcool cétylique. 24
Tableau II. 6 : Propriétés physicochimiques de polysorbate 60 (tween 60) 25
Tableau II. 7 : Propriétés physicochimiques de monostearate de sorbitane. 26
Tableau II. 8 : Propriétés physico-chimiques de méthyl parabène. 27
Tableau II. 9 : Propriétés physicochimiques de propyle parabène 28
Tableau II. 10 : Propriétés physico-chimiques de Propyléne glycol. 28
Tableau II. 11 : Propriétés physico-chimiques de l'huile de vaseline.....29
Tableau II. 12 : Propriétés physico-chimiques de la vaseline 30
Tableau II. 13 : Réactifs chimiques et matériel instrumental 30
Tableau II. 14 : Composition de différentes formulations de crème cicatrisante - Formulation A 37
Tableau II. 15 : Composition de la formulation de crème cicatrisante - Formulation B 38

Chapitre □ : Résultats et discussion

Tableau III. 1 : Aspects, couleurs et rendements des extraits.....42
Tableau III. 2 : les valeurs IC50 des différents échantillons 45

Tableau III. 3 : les caractéristiques des huiles……..46

Tableau III. 4 : les caractères macroscopiques et l'homogénéité des crèmes préparées. 47

Introduction Générale

Introduction générale

La peau est un organe à part entière, c'est d'ailleurs le plus grand et le plus lourd du corps humain, c'est une véritable barrière entre le milieu extérieur et l'intérieur du corps. [1]

En raison de son rôle crucial, il est essentiel de la maintenir en bonne santé. En effet, il existe différents types de prise en charge dont la phytothérapie, qui est l'utilisation de plantes médicinales pour traiter naturellement diverses affections du corps humain, y compris celles de la peau. Les plantes sont un choix naturel pour fournir à l'organisme les éléments nécessaires à son bon fonctionnement et pour maintenir un équilibre vital. Pendant des siècles, et à travers les continents, les gens ont pu acquérir des connaissances sur les plantes et leurs propriétés curatives. Cela se traduit par un intérêt croissant pour la médecine traditionnelle dans les milieux universitaires et industriels.

Plusieurs huiles des plantes médicinales ont été utilisées avec succès, comme cicatrisants dans la prise en charge des plaies et des brûlures. Parmi ces derniers ayant un grand potentiel thérapeutique dans ce domaine, figure l'huile de clou de girofle (caryophylata), arbre à thé (Tea tree) et l'huile végétale de sésame. Chacune d'entre elles apporte des bienfaits spécifiques pour la santé de la peau. D'autre part, Les produits de la ruche sont depuis des millénaires exploités par l'homme, parmi ces produits, la propolis, qui est utilisé par les abeilles pour garantir l'asepsie de leur ruche. Elle est fabriquée à partir de leurs sécrétions et de substances, d'origines résineuse, balsamique et gommeuse, prélevées sur les arbres et les plantes [2]. On note aussi le miel qui est utilisé par de nombreux praticiens traditionnels pour cicatriser les différentes plaies. Il a été jugé comme un traitement efficace de la cicatrisation des brûlures induites expérimentalement. C'est dans cette optique qu'une combinaison des huiles Caryophylata, Tea tree et Sésame avec le miel et l'extrait de propolis a été choisie pour confectionner une crème à propriété cicatrisante.

Pour cela, l'objectif principal de notre travail est la conception, la formulation et la fabrication d'une crème cicatrisante à base des huiles essentielles, du miel et d'extrait de propolis.

Cette étude est divisée en deux parties. La première partie est une synthèse bibliographique qui concerne une généralité sur la peau, la cicatrisation cutanée, la phytothérapie dans les brûlures, ainsi que le rôle du miel et de la propolis dans la cicatrisation et leurs propriétés thérapeutiques.

La deuxième partie de ce travail est consacrée à l'étude expérimentale, organisée en deux chapitres distincts, le premier chapitre expose les protocoles utilisés dans l'aspect phytochimique notamment l'extraction et dosage des flavonoïdes, l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait de propolis et la caractérisation des huiles afin de prouver leur conformité. De plus, ce

chapitre décrit les modes d'élaboration des crèmes et les contrôles effectués sur ces derniers. Le deuxième chapitre présente les résultats obtenus et leurs discussions.

Chapitre □ :
Synthèse Bibliographique

1 Généralité sur la peau

1.1 Définition

La peau est définie comme l'organe externe qui recouvre le corps humain et des animaux. Elle pèse environ 15 % du poids corporel d'un adulte et est connue comme l'organe le plus grand et le plus important du corps humain [3]. Elle est considérée comme la première ligne de défense contre les infections, les produits chimiques, et les rayonnements.

1.2 La structure de la peau

Sur le plan structural, la peau est constituée de trois tissus superposés : le tissu le plus externe est l'épiderme, le tissu intermédiaire est le derme et le tissu le plus profond est l'hypoderme [4]

1.2.1 L'épiderme

Représente la couche superficielle de la peau, elle est constituée d'un épithélium pavimenteux, stratifié et kératinisé et mesure en moyenne 0,1mm d'épaisseur, L'épiderme est constitué de quatre différentes populations cellulaires [1] :

- Les kératinocytes : Ils constituent la majorité des cellules de l'épiderme, représentant environ 80 %. Leur rôle dépasse celui de simple barrière cutanée, car ils possèdent également une activité immunologique.
- Les mélanocytes : leur rôle est d'assuré la synthèse des mélanines qui donnent à la peau sa couleur.
- Les cellules de Langerhans : appartiennent au groupe des cellules dendritiques présentatrices des antigènes au lymphocyte T.
- Les cellules de Merkel : agissent comme mécanorécepteurs, elles jouent un rôle Important dans le maintien de la fonction de la peau.

1.2.2 Le derme

Est la couche sous-jacente à l'épiderme, elle est innervée et très vascularisée. Le derme est composé principalement de tissu conjonctif qui le rend compressible et élastique, les fibroblastes, les cellules sanguines et les fibres de collagène [1]

1.2.3 L'hypoderme

C'est la couche profonde de la peau. Elle est constituée d'un tissu adipeux riche en vaisseaux sanguins et en graisse, il joue aussi un rôle de thermorégulation et de protection contre les agressions mécaniques [1]

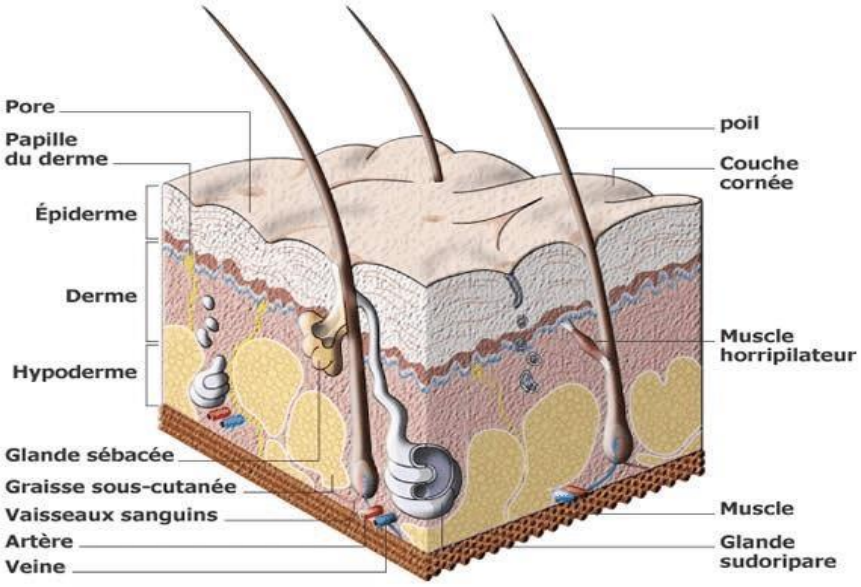


Figure I. 1 : Représentation schématique de la peau.

2 Physiopathologie des plaies

2.1 Définition

Une plaie se définit par une rupture de la continuité des tissus de l'enveloppe corporelle, qui est généralement associée à une perte de substance. Ces lésions peuvent être à l'origine mécanique ou bien non mécanique comme les plaies de brûlures. Elle peut entraîner la pénétration de germes pathogènes dans un organisme et provoquer une infection. [5]

2.2 La classification des plaies

Les plaies cutanées sont classées en fonction de trois paramètres (la profondeur, l'étendue et la nature de l'agression) :

a) Profondeur de la plaie

1. Premier degré

Elles touchent seulement l'épiderme. Elles résultent généralement de légères brûlures, coups de soleil ou abrasions mineures, et restent douloureuses pendant quelques jours. Les kératinocytes morts de l'épiderme se détachent et sont remplacés par la prolifération des cellules basales, sans formation de cicatrice. [5]

2. Deuxième degré

Les plaies du deuxième degré sont profondes et douloureuses, touchant les terminaisons nerveuses du derme. Elles résultent souvent de brûlures graves, d'abrasions ou de coupures. Ces plaies détruisent l'épiderme, la membrane basale et une partie du derme. Dans ce cas la réparation tissulaire sera plus compliquée et une cicatrice permanente subsistera. [5]

3. **Troisième degré**

Ce sont les plus graves, se caractérisent par la destruction complète du derme et de l'épiderme. Ces lésions proviennent d'une brûlure très importante, une coupure ou une abrasion profonde détruisent les terminaisons nerveuses et rendent ces plaies indolores. [6]

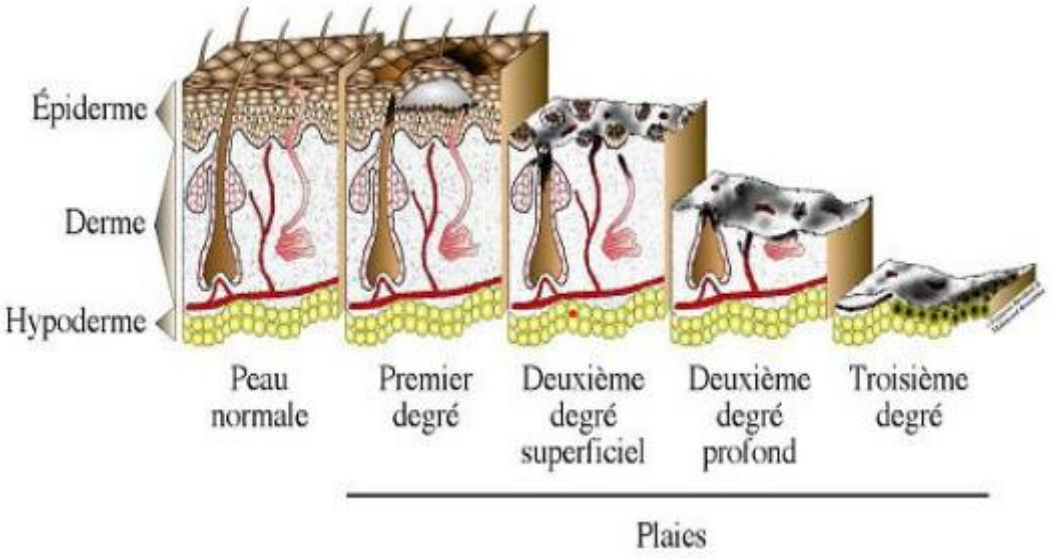


Figure I. 2 : Classification des plaies cutanées selon la profondeur.[5]

b) Étendue de la plaie

L'étendue d'une plaie constitue un paramètre majeur lors du traitement d'un blessé. Ainsi, les procédures thérapeutiques de même que la prévention des infections différeront s'il s'agit d'une blessure locale ou d'une lésion qui affecte une proportion importante de la surface corporelle. [5]

c) Nature de la plaie

La nature de l'agression produit une plaie dont les caractéristiques influencent sa présentation, sa guérison naturelle et thérapeutique. À la suite d'une brûlure, la ré-épithélialisation débute plus tardivement de sorte que la plaie demeure ouverte plus longtemps. Ainsi, seront traitées différemment : une brûlure chaude, froide ou chimique, une incision, une éraflure. [5]

3 Les brulures

3.1 Définition

C'est une destruction de revêtement cutanée voir des tissus sous-jacents consécutive à l'action d'agents thermiques, électriques, chimiques ou de radiation. Leur gravité repose sur plusieurs critères : l'étendue, la profondeur, la localisation, l'âge du patient et les lésions associées. [7]

3.2 Etiologie

On distingue plusieurs agents responsables de brûlures [8] :

a) Les brûlures thermiques (92%) :

- Contacte avec un solide (fer chaud. etc.) : sont de taille limitée mais souvent profondes (tout dépend la température de l'objet et le temps de contact).
- Contacte avec un liquide (eau bouillante. etc.) : sont généralement plus spacieuses et moins profondes que les précédentes.

b) Les brûlures électriques (4%) :

- Par arc électrique : ressemblent aux brûlures thermiques.
- Par contact direct avec le conducteur : généralement sont associées à des complications cardiaques, rénales, vasculaires et neurologiques.

c) Les brûlures chimiques (3%) : Tout dépend l'action d'un acide ou une base forte.

d) Les brûlures par radiations (1%) : Peuvent être nucléaires, par rayons X ou par rayonnements ultraviolets

3.3 Critères de gravité des brûlures

Ces paramètres sont nécessaires afin de démontrer la gravité des brûlures

a) La surface de la brûlure

C'est le paramètre le plus important, il dépend de la surface de contact entre l'agent vulnérant et la peau. [9]

b) La profondeur de la brûlure

Les trois couches de la peau qui détermine les trois degrés de profondeurs, et une division en brûlures superficielle (moins graves) et profondes (graves). [9]

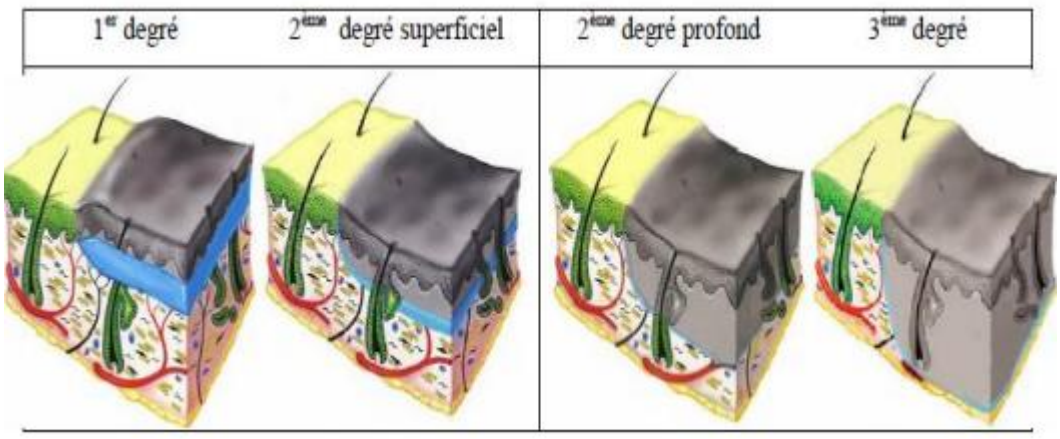


Figure I. 3 : Anatomie de la peau après brûlure de différents degrés. [8]

4 Physiologie de la cicatrisation

4.1 Définition

La cicatrisation est un processus physiologique naturel qui vise à réparer les dommages causés à la structure cutanée suite à une lésion. Ce processus implique une série complexe de réactions et d'interactions entre les cellules et les médiateurs biologiques.

4.2 Mécanisme de cicatrisation cutanée

La cicatrisation d'une plaie se déroule en trois phases principales qui se recoupent, chacune étant caractérisée par des activités cellulaires spécifiques [10]

Les principales phases de la cicatrisation d'une plaie sont les suivantes :

4.2.1 La Phase inflammatoire

C'est la première étape de cicatrisation, elle vise à limiter les perturbations physiologiques provoquées par les lisions et empêche la propagation des bactéries, Elle est divisée en deux étapes [5]:

4.2.1.1 Étape vasculaire

S'accompagne de rupture des vaisseaux sanguins ce qui engendre la sortie des plaquettes et des facteurs de coagulation pour permettre au processus initial de stopper l'hémorragie, tout d'abord une vasoconstriction des vaisseaux lésés aura lieux suivis par :

- L'hémostase primaire : qui engendre l'adhésion des plaquettes au collagène.
- L'hémostase secondaire aussi nommé coagulation : c'est la formation de caillot de fibrine qui servira comme une matrice ou un support à la migration des cellules.

4.2.1.2 Étape inflammatoire

Une fois que le caillot est formé, la vasodilatation aura lieux grâce à la présence des neutrophiles et des monocytes, ce phénomène est modulé par plusieurs facteurs, ces deux dernières

sont attirées dans la plaie non seulement par des facteurs libérés par les plaquettes mais aussi par les peptides bactériens ainsi que d'autres facteurs de complément [11]

Les neutrophiles interviennent au site de lésion en premier et permettent la sécrétion des cytokines pro inflammatoires qui sont obligatoire pour l'activation des fibroblastes et des kératinocytes. Les macrophages en deuxième lieu permettent l'élimination des débris grâce à leurs capacités de phagocytose et de sécrétion des cytokines pro inflammatoires qui stimulent la prolifération des fibroblastes et les cellules endothéliales ainsi que leurs migrations [12]

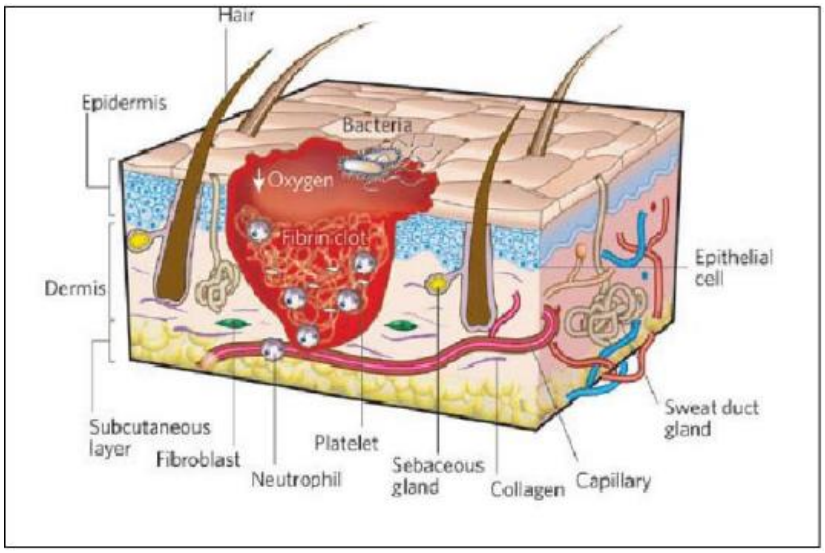


Figure I. 4 : Représentation schématique de la phase inflammatoire. [5]

4.2.2 La phase proliférative

4.2.2.1 La formation d'un tissu de granulation

Les macrophages, les cellules endothéliales, et les fibroblastes migrent dans la plaie, au cours de cette phase, les macrophages jouent un rôle clé, elles libèrent des médiateurs comme TNF-α et l'IL-1 qui activent la néo angiogenèse et l'activité fibroblastique [13]

La multiplication et la migration des fibroblastes suite à ces stimulations aboutissent à la synthèse d'une nouvelle matrice [10]

4.2.2.2 La ré-épithélialisation

C'est la formation d'un nouveau tissu au sein de la plaie, grâce aux kératinocytes ces dernières prolifèrent pour former un néo-épiderme puis se différencient pour reformer un épiderme fonctionnel, les trois processus de ré-épithélialisation sont :

- La migration
- La prolifération
- La maturation

Cette étape est modulée par différentes stimulateurs et facteurs de croissance, cependant, la cicatrisation n'a pas été complète car cette cicatrice serait reconfigurée au cours de la phase finale de maturité. [14]

Un événement clé dans cette phase est la formation des nouveaux vaisseaux sanguins, c'est l'angiogenèse qui assure le renforcement de derme.

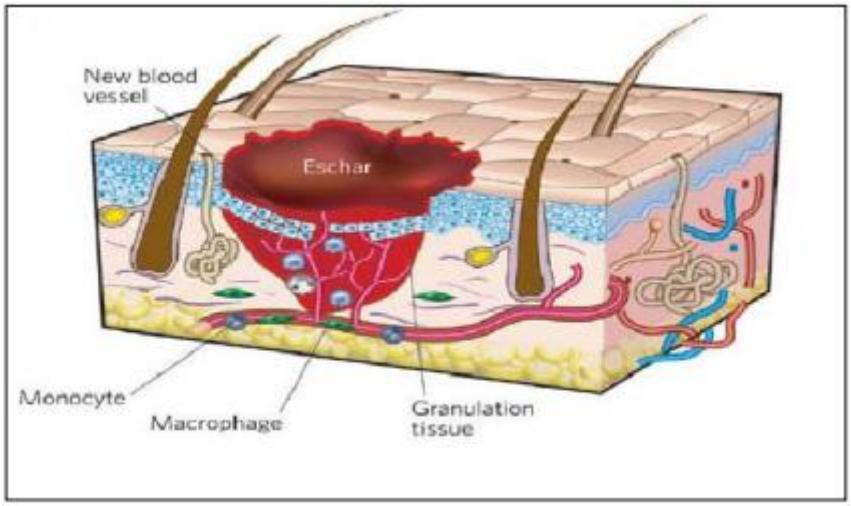


Figure I. 5 : Représentation schématique de la phase de ré-épithélialisation. [5]

4.2.3 La phase de remodelage

C'est la dernière phase cicatricielle, le collagène est reformulé pour provoquer la maturation de la cicatrice, et assuré un équilibre entre la dégradation et la synthèse d'une nouvelle matrice extracellulaire pour qu'elle soit plus résistante, l'augmentation de diamètre de collagène est modulé par plusieurs enzymes ainsi que leur organisation reste distinguable par rapport à celle de collagène qui existe dans la peau saine, ce qui explique que la peau ne se retrouve jamais ni à sa fonction ni à sa résistance initiale, ainsi que cette phase s'accompagne par deux phénomènes, la régression de la vascularisation et la réduction de la densité cellulaire. Enfin, la résistance mécanique de la plaie peut augmenter de manière considérable jusqu'à 70%, à 80% grâce au remodelage. [4, 1, 7]

4.3 Les différents types de cicatrisation

Il existe deux types de cicatrise :

4.3.1 La cicatrisation par première intention

Elle est le résultat de la suture chirurgicale, elle concerne les berges de la plaie qui sont rapprochés l'un de l'autre, la cicatrisation est rapide en absence d'une infection [15]

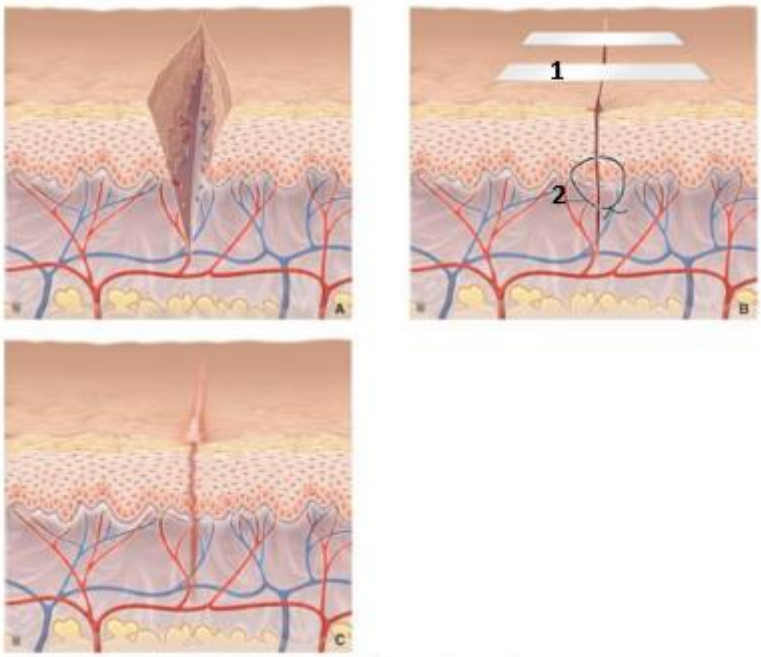


Figure I. 6 : cicatrisation primaire. [5]

1 : Bandelette adhésive cutanée, 2 : Point dermique profond inversé

4.3.2 La cicatrisation par seconde intention

Elle s'intéresse aux plaies dont les bordes sont éloignées l'un de l'autre, elle s'agit d'une plaie non suturée ou bien suturée avec des mauvaises conditions. [15]

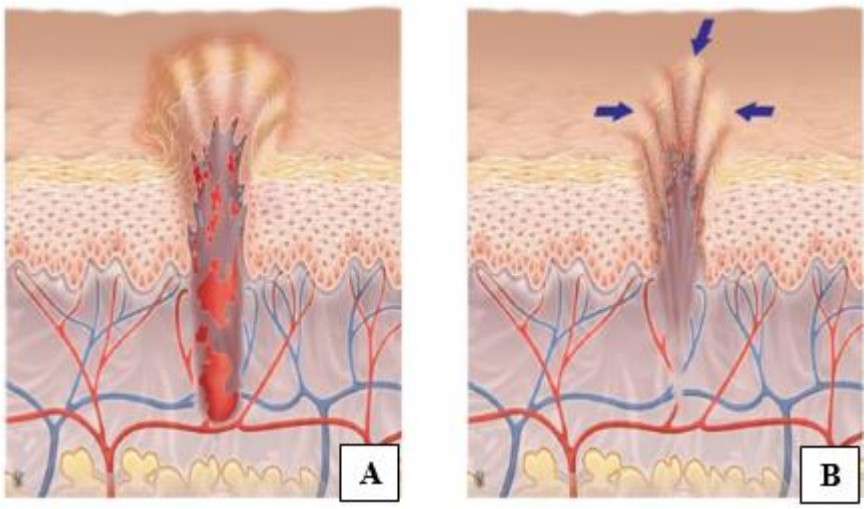


Figure I. 7 : cicatrisation secondaire. [5]

5 La phytothérapie dans le traitement des brûlures

5.1 La phytothérapie

La phytothérapie est une pratique médicale traditionnelle qui utilise des extraits de plantes médicinales pour prévenir, traiter ou guérir des maladies. La phytothérapie est considérée comme une médecine douce et alternative aux traitements médicaux conventionnels. [16]

5.2 Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont des végétaux employés pour traiter, prévenir ou soulager diverses affections. Leur utilisation repose généralement sur des connaissances transmises de façon traditionnelle au fil des générations. Cependant, la science a identifié de nombreux composés actifs présents dans ces plantes, ainsi que leurs modes d'action et leurs effets pharmacologiques.

5.2.1 Les métabolites secondaires

5.2.1.1 Les polyphénols

Les composés phénoliques constituent un ensemble de molécules très largement répandues dans le règne végétal. Ce sont des métabolites secondaires des plantes. Ils possèdent dans leur squelette, un ou plusieurs cycles aromatiques portant un ou plusieurs groupes hydroxyles ainsi que des groupes fonctionnels (ester, méthyle ester. etc.) [17]

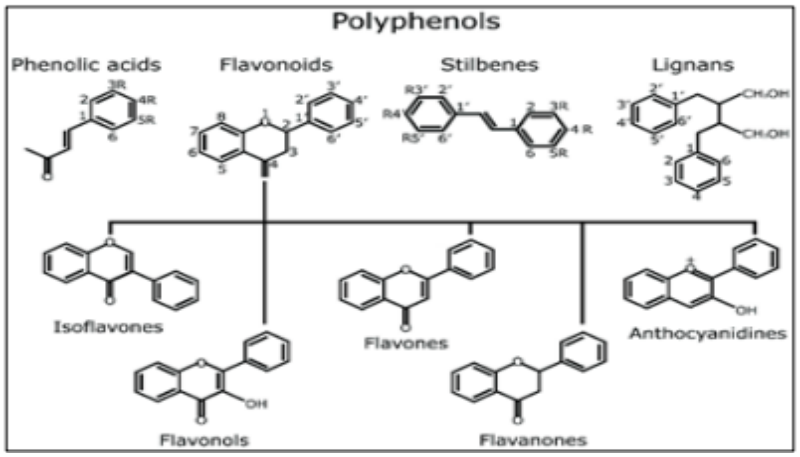


Figure I. 8 : Structure et classification des polyphénols. [18]

Ils contribuent à la protection des plantes contre les agressions et les attaques microbiennes. Ces dernières années, les recherches sur les composés phénoliques se sont accentuées en raison de leurs activités anti-inflammatoires, antibactériennes, antifongiques, ainsi antioxydantes et même anticancéreuses [19]

5.2.1.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des produits largement distribués dans le règne végétal et sont couramment consommés quotidiennement dans l'alimentation. Ils sont retrouvés également dans les plantes médicinales. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. [20]

Les principales actions des flavonoïdes sont des effets antioxydants avec un effet sur la circulation sanguine, des effets anti-inflammatoires et antiviraux, ou encore des effets protecteurs sur le foie. [21]

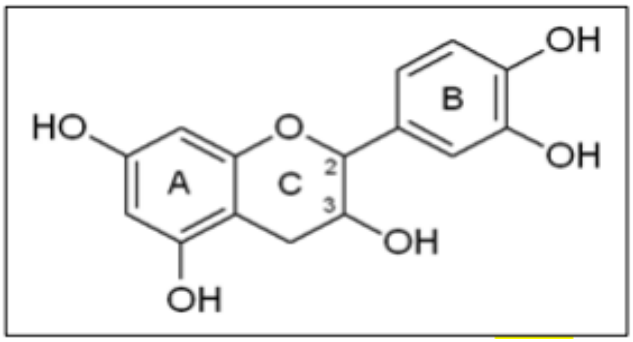


Figure I. 9 : Structure de base des flavonoïdes. [21]

6 Les dérivées de la ruche

6.1 Le miel

Le miel est la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce Apis mellifera à partir du nectar de plantes, ou des sécrétions provenant de parties vivantes des plantes, ou des excrétions laissées sur celles-ci par des insectes suceurs, qu'elles butinent, transforment, en les combinant avec des matières spécifiques propres, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. [22]

6.1.1 Composition du miel

Le miel est un produit très complexe, dont les étapes de fabrication influent sur sa composition finale. Généralement, il est constitué d'hydrates de carbone (sous formes de sucres ou poly-saccharides divers) pour 79 % environ, d'eau pour 17% environ et de divers éléments (acides organiques, acides aminés, protéines, lipides, sels minéraux, enzymes, pigments et vitamines). La matrice sucrée du miel est susceptible d'influer sur la biodisponibilité des molécules qu'elle contient. [23]

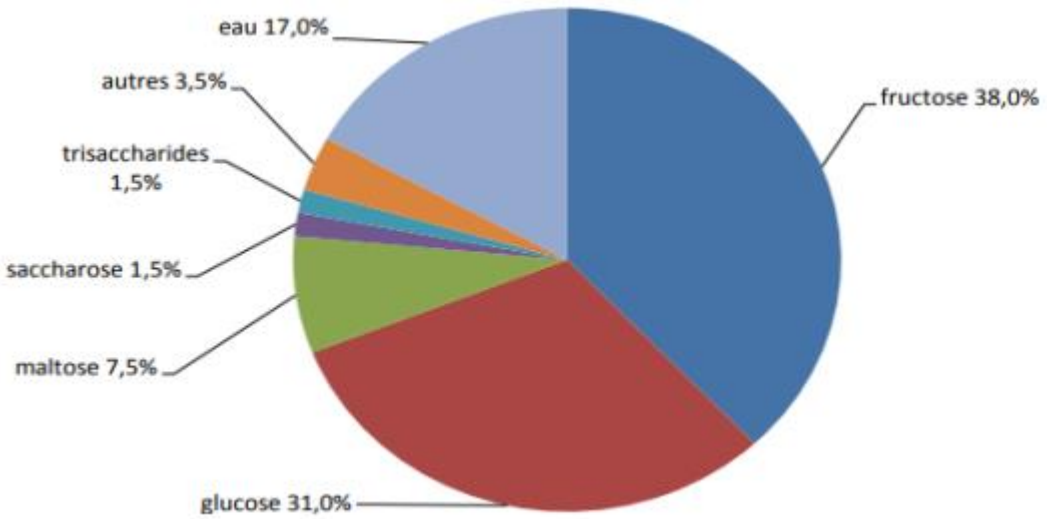


Figure I. 10 : Composition du miel.[24]

6.1.2 Propriétés thérapeutiques du miel

Le miel offre plusieurs propriétés thérapeutiques bénéfiques pour la santé. Il possède une propriété antioxydante grâce à ses enzymes, acides organiques, peptides et composés phénoliques. Ses propriétés anti-inflammatoires découlent de sa capacité à neutraliser les radicaux libres, tandis que sa propriété antibiotique est due à son pH acide, à la présence de glucose oxydase et à ses composés phénoliques. [24] De plus, le miel est un excellent cicatrisant en favorisant l'angiogenèse, la migration cellulaire et la production de collagène. [25] Son effet antibactérien est attribuable à son effet osmotique, son pH faible, le peroxyde d'hydrogène qu'il produit, ainsi qu'à d'autres facteurs non peroxydiques. En résumé, le miel est un traitement polyvalent qui peut être utilisé pour ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antibiotiques, cicatrisantes et antibactériennes. [24]

6.1.3 Rôle du miel dans la cicatrisation

Par la combinaison de ses propriétés physiques: très forte concentration en glucose et lévulose (effet osmotique), un pH d'acide faible, une faible teneur en eau et la présence de 4 ingrédients actifs majeurs (les sucres, les acides organique, les enzymes et les composées phénoliques), le miel possède trois propriétés, conduisant à des indications thérapeutiques aujourd'hui objectivées par de nombreuses études cliniques à travers le monde dans la cicatrisation quel que soit l'origine: plaies post opératoires, brûlures.

- Il maintient un environnement humide et acide propice à la cicatrisation (18% d'eau). Par son effet osmotique dû à sa concentration en sucres simples (80%), il aide à éliminer les débris nécrotiques du lit de la plaie. Il empêche l'adhérence des pansements, et protège le liseré de granulation favorisant ainsi le bourgeonnement cellulaire.
- Par cette forte concentration en glucose-fructose (80%) le miel dévie le substrat préférentiel des bactéries. Celles-ci délaissent les acides aminés, les débris cellulaires dont les produits de dégradation aminés et sulfurés sont responsables des odeurs putrides. Elles se tournent vers la fermentation lactique et l'acidification du milieu, par ce mécanisme le miel empêche le développement des bactéries pathogènes responsables des surinfections.
- La présence d'une enzyme « glucoxydase » (GOX) conduit à la formation d'eau oxygénée dans le miel selon la réaction chimique suivante :

$$C_6H_{12}O_6 + O_2 + H_2O \longleftrightarrow C_6H_{12}O_7 + H_2O_2$$

Appelée "voie peroxydique" à laquelle s'ajoute la particularité d'une libération progressive à la concentration de 4 à 5 µg/g de miel à partir de la 12^e heure jusqu'à 25 µg/g à partir de

la 24e heure, concentration suffisante pour la désinfection des plaies, établir un débridement autolytique et aider à la granulation de la plaie, en évitant les effets toxiques des radicaux hydroxyles à trop forte concentration. [26]

6.2 La propolis

La propolis (ou colle d'abeille) est une matière collante que les abeilles collectent à partir de résines végétales et qu'elles utilisent comme matériau de construction dans leurs ruches : pour boucher les fissures de la ruche, recouvrir la surface interne de la ruche, etc. Elle joue également un rôle crucial dans "l'immunité sociale" de la colonie, car elle est utilisée pour lutter contre les bactéries, les champignons et les virus. De plus, les abeilles l'utilisent pour recouvrir les carcasses des intrus qui ont été tués à l'intérieur de la ruche, ce qui empêche leur décomposition. [27]



Figure I. 11 : la propolis [28]

6.2.1 Composition de la propolis

La composition de la propolis est variable selon la source végétale visitée par les abeilles. Actuellement plus de 300 composants différents de la propolis qui ont été identifiés par les méthodes d'analyse modernes : chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse. [29]

D'une manière générale la propolis est contiendrait 50 % de résines et de baumes, 20 à 35% de cires végétales ou de cire d'abeille, 5 à 10% d'huiles essentielles (anéthol et eugénol notamment), 5% de pollen et 5% d'autres substances diverses d'origine organique ou minérale. [30]

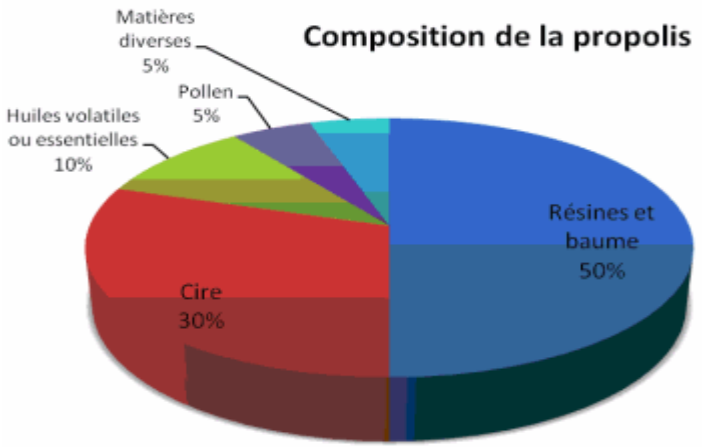


Figure I. 12 : composition de la propolis.[31]

6.2.2 Propriétés thérapeutiques de la propolis

La propolis offre de nombreuses propriétés thérapeutiques bénéfiques, avec des activités antimicrobiennes, antioxydantes, anti-inflammatoires, anesthésiques, cicatrisantes et régénératrices. En tant qu'agent antimicrobien, elle agit efficacement contre un large éventail de micro-organismes, y compris les bactéries, les virus, les levures et les parasites. Ses composés actifs, tels que l'acide cinnamique, les molécules aromatiques, les acides terpéniques et les flavonoïdes, lui confèrent une puissante action antibactérienne et antivirale [29]. De plus, elle présente une activité antifongique significative contre diverses souches de champignons, grâce à des composés tels que la galangine, le kaempférol et l'acide caféique [32]. La propolis démontre également une efficacité contre certains parasites courants, tels que Trichomonas et Trypanosoma [29]. Sur le plan thérapeutique, ses propriétés antioxydantes sont attribuées à des composés phénoliques et des flavonoïdes [25], tandis que son effet anti-inflammatoire est lié à l'inhibition de la synthèse de substances inflammatoires (la synthèse d'oxyde nitrique et les prostaglandines) [32]. De plus, elle exerce une action anesthésique grâce à ses huiles volatiles, sans effets secondaires graves [33]. Enfin, elle favorise la cicatrisation en stimulant le métabolisme cellulaire, la circulation sanguine et la formation du collagène, accélérant ainsi la régénération de l'épiderme endommagé [34].

6.2.3 Rôle de la propolis dans la cicatrisation

La propolis joue un rôle crucial dans la cicatrisation grâce à ses nombreuses propriétés bénéfiques **:**

Elle possède des propriétés antimicrobiennes, ce qui signifie qu'elle peut inhiber la croissance des bactéries et d'autres microorganismes qui pourraient provoquer des infections. Cela permet de prévenir les infections lors de la cicatrisation des plaies. [35]

La propolis peut réduire l'inflammation, ce qui peut accélérer la cicatrisation des plaies. Elle contient des composés tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, les polysaccharides et la cire d'abeille … qui stimulent la croissance cellulaire et la réparation des tissus, favorisant ainsi la régénération des cellules et accélérer la cicatrisation. [36, 37]

Elle contient des antioxydants qui protègent les cellules des dommages oxydatifs, contribuant ainsi à un environnement favorable à la cicatrisation. [27]

7 Les émulsions et les crèmes

7.1 Définition des émulsions

Une émulsion est un système biphasique préparé en combinant deux liquides non miscibles, dans lesquels de petits globules d'un liquide sont dispersés uniformément dans l'autre liquide. Le liquide dispersé en petites gouttelettes est appelé la phase dispersée, interne ou discontinue. L'autre liquide est le milieu de dispersion, la phase externe ou la phase continue.

Lorsque l'huile est la phase dispersée et une solution aqueuse est la phase continue, le système est désigné comme une émulsion H/E.

Inversement, lorsque l'eau ou une solution aqueuse est la phase dispersée et que l'huile ou la matière grasse est la phase continue, le système est désigné comme une émulsion E/H.

Les émulsions peuvent être utilisées par voie orale, topique ou parentérale, en fonction des ingrédients de la formulation et de l'application prévue. [38]

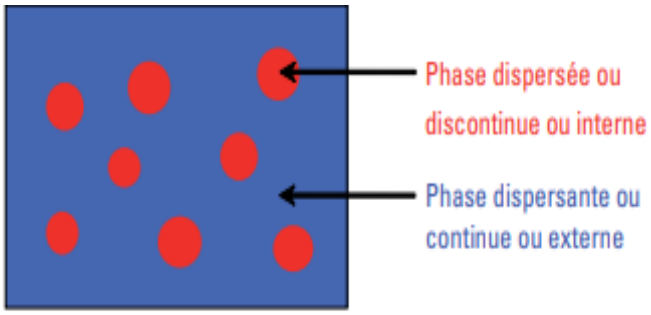


Figure I. 13 : Émulsion : phase dispersée et phase dispersante. [39]

7.1.1 Les différents types d'émulsions

Il existe plusieurs types d'émulsions

- Émulsions simples : est une émulsion composée d'une phase hydrophile, d'une phase lipophile et d'un émulsifiant [39]

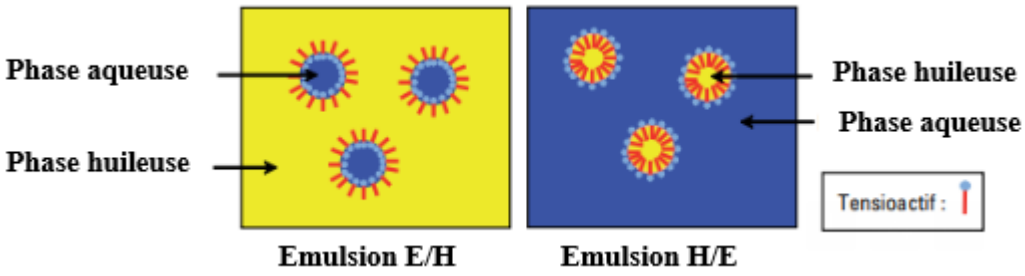


Figure I. 14 : les 2 types d'émulsions simples.[39]

- Émulsion multiple : Les émulsions multiples sont des systèmes multiphasiques comprenant au moins deux liquides non miscibles, à savoir, deux émulsions H/L et L/H siègent des tensio-actifs hydrophiles et lipophiles qui sont utilisés pour stabiliser ces deux émulsions, respectivement et dont l'un est dispersé sous forme de fines gouttelettes uniforme dans l'autre, ainsi sont appelées « émulsions d'émulsions ». Le diamètre des gouttelettes dans les émulsions multiples peut varier de 0,1 à 100 µm. [40]

  Les gouttelettes de l'émulsion double E/H/E devraient être d'une taille comprise entre 10-60µm, de façon à optimiser sa stabilité. Le diamètre des globules d'huile devrait atteindre préférentiellement au moins 6 fois celui du diamètre des gouttelettes aqueuses internes. Ces valeurs sont les paramètres optimaux pour obtenir une émulsion multiple stable. De façon plus générale, les gouttelettes aqueuses internes devraient être inférieures à 10 microns et les gouttelettes externes, de taille inférieure à 100 microns. [41]

  Ce sont des systèmes thermodynamiquement instables, leur formulation constitue un paramètre critique à leur préparation. [42]

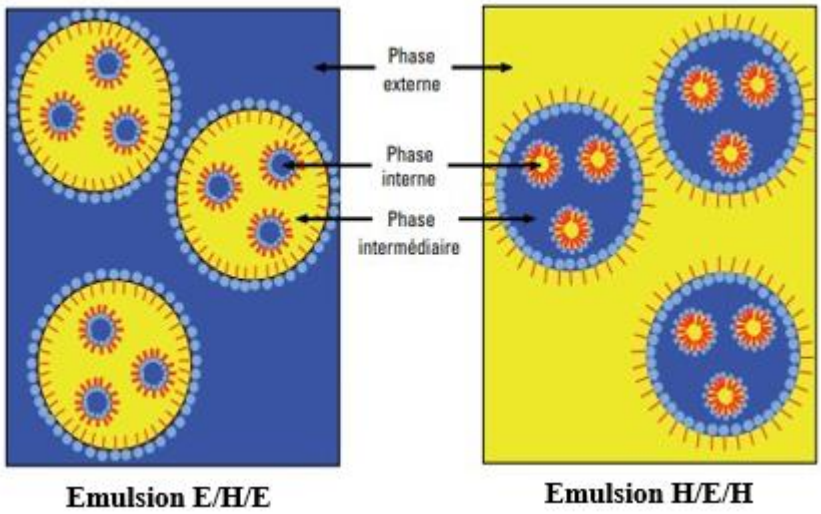


Figure I. 15 : Les 2 types d'émulsions multiples.[39]

7.1.2 Composition des émulsions

- Phases lipophile et hydrophile :

La phase huileuse, appelée également phase grasse, phase lipophile ou phase organique, comporte des huiles, des cires et des graisses (respectivement liquides, solides ou semi-solides à température ambiante) d'origine végétale, animale ou minérale. Des substances synthétiques dérivées ou non de substances naturelles sont aussi utilisées. La phase huileuse d'une émulsion est généralement composée d'un mélange d'ingrédients.

La phase aqueuse ou phase hydrophile contient l'eau et divers composants hydrosolubles. Les solutés de la phase aqueuse sont de nature diverse : ions minéraux, acides, bases, vitamines, glucides, protéines, etc.

- Émulsifiants :

Les émulsions conventionnelles sont des systèmes thermodynamiquement instables qui se séparent, plus ou moins rapidement, en deux phases. On parle de systèmes hors équilibre. En raison de cette instabilité, les émulsions industrielles comportent toujours des émulsifiants, ou émulsionnants, formant un film interfacial, ou film mince, ou membrane interfaciale, autour des globules de phase dispersée. Il s'agit le plus souvent de petites molécules amphiphiles appelées tensioactifs, suractifs, surfactants ou agents de surface. La schématisation classique des tensioactifs met en évidence un pôle hydrophile et un pôle hydrophobe.

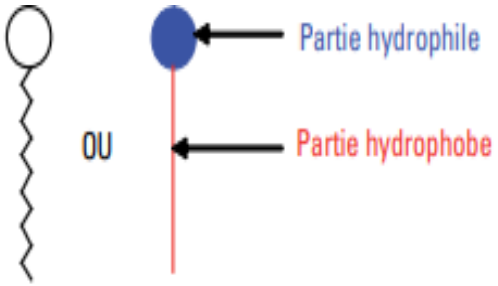


Figure I. 16 : Schéma de tensioactif.

Les parties hydrophile et hydrophobe ont de l'affinité respectivement pour la phase hydrophile et hydrophobe de l'émulsion. C'est cette polarisation fonctionnelle qui détermine l'organisation des tensioactifs dans l'émulsion. Même si elles sont thermodynamiquement instables, les émulsions industrielles peuvent donc présenter une stabilité dans le temps (stabilité cinétique) très importante.

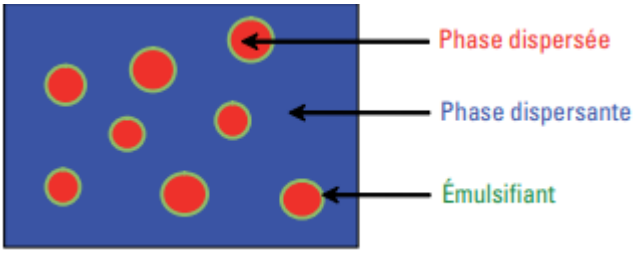


Figure I. 17 : Représentation d'une émulsion avec émulsifiant.

7.2 Les crèmes

Les crèmes, du fait de leurs propriétés rhéologiques, sont souvent considérées comme "semi-solides". Les micelles présentes à haute concentration sont immobilisées dans une très faible quantité de liquide ; ainsi le fluide visqueux obtenu ne peut que difficilement s'écouler sous l'action de la pesanteur. En revanche, les crèmes se déforment de façon irréversible sous l'action de forces suffisantes, ce qui permet leur étalement sous forme de films adhérents à la surface de la peau. Les crèmes sont fabriquées en agitant plus ou moins violemment les phases aqueuse et huileuse et les molécules amphiphiles, puis en laissant le système revenir au repos. Dans l'industrie, ce mélange est réalisé sous contrainte de cisaillement. [43]

Chapitre □ :
Matériels Et Méthodes

1 Matériels

1.1 Matières premières

1.1.1 Présentation de la propolis

L'échantillon de propolis a été récolté au mois de septembre 2023, elle a été fournie par un apiculteur de la commune de Bouaichoun (Wilaya de Médéa). La conservation de l'échantillon a été faite à froid et à sec. La récolte a été effectuée par le raclage des cadres, une méthode qui peut entraîner une propolis de qualité inférieure en raison de la présence excessive d'impuretés, contrairement à la récolte utilisant des grilles de propolis.



Figure II. 1 : la propolis

A : propolis sous forme de poudre, B : propolis sous forme de pate

1.1.2 Présentation des huiles essentielles

1.1.2.1 L'huile essentielle de Tea tree

Les Melaleuca, principalement originaires d'Australie, se trouvent également en Indonésie, en Nouvelle-Calédonie et en Papouasie-Nouvelle-Guinée. L'huile essentielle d'arbre à thé est extraite des feuilles et des tiges terminales de diverses espèces de Melaleuca, qui appartiennent à la famille des Myrtacées. [44]



Figure II. 2 : Espèces de Melaleuca et Parties Utilisées pour l'Extraction de l'Huile Essentielle d'Arbre à Thé.

Les propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle de tea tree sont reportées dans le tableau suivant :

Tableau II. 1 : propriétés physico-chimiques de l'huile de tea tree [44, 45]

Nom :	Huile de Tea Tree
Concentration (%)	1-5%
Densité :	0,894 à 20 °C
Indice de réfraction :	1,475°-1,482°.
Effet thérapeutique :	Antibactériennes, cicatrisante, antifongiques et anti-inflammatoires
L'aspect :	Liquide limpide, incolore à jaune pâle

1.1.2.2 L'huile essentielle de Caryophylata (clou de girofle)

Huile essentielle de clou de girofle est obtenue par entrainement à la vapeur à partir des boutons floraux séchés de Syzygium aromaticum. [46]



Figure II. 3 : le clou de girofle [47]

Les propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle de clou de girofle sont reportées dans le tableau suivant :

Tableau II. 2 : Propriétés physico-chimiques de l'huile de clou de girofle. [46, 47]

Nom :	Huile de clou de girofle (caryophyllata)
Concentration (%)	1 à 2 %
Densité :	1.030 à 1.063
Indice de réfraction :	1.528°-1.537°
Effet thérapeutique :	Antibactérienne et antifongique, anesthésique.
L'aspect :	Liquide limpide, jaune, virant au brun lorsqu'il est exposé à l'air.

1.1.3 Présentation de l'huile végétale de sésame

L'huile de sésame raffinée est l'huile grasse obtenue à partir de grains mûrs de sesamum indicum, par pression ou extraction, suivies d'un raffinage. La couleur et l'odeur de l'huile de sésame peuvent être améliorées par raffinage plus poussé.



Figure II. 4 : les grains mûrs de sesamum indicum utilisé pour l'extraction de l'huile de sésame

Les propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle de sésame sont reportées dans le tableau suivant :

Tableau II. 3 : Propriétés physico-chimiques de l'huile de sésame. [48]

Nom :	Huile de Sésame
Concentration (%)	1-10%
Densité :	0.919 à 20°C
Indice de réfraction :	1.470°-1.476°
Effet thérapeutique :	Anti oxydant, cicatrisante, Hydratation de la Peau.
L'aspect :	Liquide limpide, jaune claire, presque incolore.

1.2 Excipients

Les propriétés physico-chimiques des différents excipients utilisés sont données ci-dessous :

- **Alcool stéarylique :**

L'alcool stéarylique se présente sous forme de morceaux, flocons ou granules durs, blancs et cireux, avec une légère odeur caractéristique et un goût neutre. [49]

Les propriétés physico-chimiques de l'alcool stéarylique sont reportées dans le tableau suivant :

Tableau II. 4 : Propriétés physico-chimiques de l'alcool stéarylique. [49]

Nom :	Alcool Stéarylique
Formule chimique :	1-Octadecanol
Formule brute :	$C_{18}H_{38}O$
Formule développée :	
Poids moléculaire :	270.48 g/mol
Rôle :	Co-émulsifiant
Point de fusion :	57 °C à 60 °C
L'aspect :	Paillettes blanches ou sensiblement blanches, onctueuses, granules ou masses.
Solubilité :	Pratiquement insoluble dans l'eau, soluble dans l'éthanol à 96%. L'alcool stéarylique fondu est miscible aux huiles grasses, à la paraffine liquide et à la graisse de laine fondue.

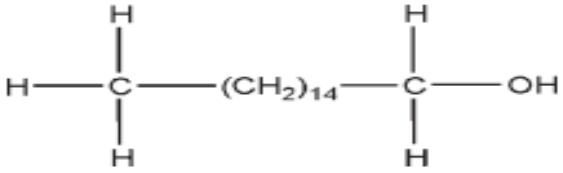
- **Alcool cétylique :**

L'alcool cétylique est couramment employé dans les produits cosmétiques et pharmaceutiques, notamment dans les suppositoires, les émulsions, les lotions, les crèmes et les pommades. Sous forme de flocons cireux, blancs, de granules, ou de cubes, cet alcool gras est connu pour son odeur légère et son goût neutre. [49]

Les propriétés physico-chimiques de l'alcool cétylique sont reportées dans le tableau suivant :

Tableau II. 5 : Propriétés physico-chimiques de l'alcool cétylique. [49]

Nom :	Alcool cétylique
Formule chimique :	Hexadecan-1-ol
Formule brute :	$C_{16}H_{34}O$

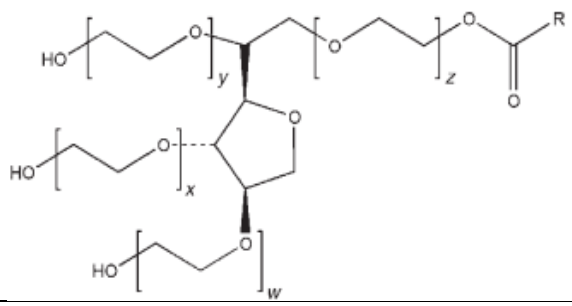
Formule développée :	
Poids moléculaire :	242.44g/mol
Rôle :	Co-émulsifiant.
Point de fusion :	46 °C à 52 °C.
L'aspect :	Poudre, masse, paillettes ou granules blancs ou sensiblement blancs, onctueux.
Solubilité :	Pratiquement insoluble dans l'eau, facilement soluble ou assez soluble dans l'éthanol à 96 %. L'alcool cétylique fondu est miscible aux huiles végétales et animales, à la paraffine liquide et à la graisse de laine fondue.

- **Polysorbate 60 :**

Le Polysorbate 60 (Tween 60) est fréquemment employé comme émulsifiant, dispersant et stabilisant dans de nombreux produits cosmétiques et pharmaceutiques. C'est un type de tensioactif non ionique composé de polyoxyéthylène. [50]

Les propriétés physico-chimiques de polysorbate 60 sont reportées dans le tableau suivant :

Tableau II. 6 : Propriétés physicochimiques de polysorbate 60 (tween 60) [51, 49]

Nom :	Polysorbate 60 (tween 60)
Formule chimique :	Polyoxyethylene 20 sorbitan monostéarate
Formule brute :	$C_{64}H_{126}O_{26}$
Formule développée :	
Poids moléculaire :	1312g/mol

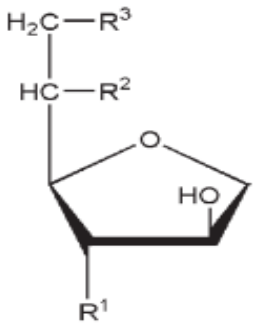
Rôle :	Emulsifiant, solubilisant
Viscosité :	400 mPa.s à 30 °C
Aspect :	Masse gélatineuse brun-jaune devenant un liquide limpide à une température supérieure à 25 °C
Solubilité :	Soluble dans l'eau, dans l'éthanol anhydre, dans l'acétate d'éthyle et dans le méthanol, pratiquement insoluble dans les huiles grasses et dans la paraffine liquide

- **Monostearate de sorbitane :**

Le monostéarate de sorbitane, un ester résultant de la réaction entre le sorbitane et l'acide stéarique, est parfois classé comme une cire synthétique. Il agit en tant que tensioactif non ionique et est couramment ajouté en tant qu'additif dans la production de produits alimentaires et pharmaceutiques.

Les propriétés physico-chimiques de monostéarate de sorbitane sont reportées dans le tableau suivant :

Tableau II. 7 : Propriétés physicochimiques de monostearate de sorbitane. [51]

Nom :	Monostearate de sorbitane
Formule chimique :	Mono-octadecanoate de sorbitane
Formule brute :	$C_{24}H_{46}O_6$
Formule développée :	
Poids moléculaire :	431g/mol
Rôle :	Emulsifiant, solubilisant
Point de fusion :	50 °C à 60 °C.

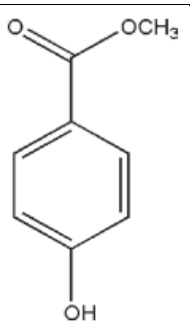
Aspect :	Solide jaune pâle, cireux.
Solubilité :	Pratiquement insoluble mais dispersible dans l'eau, peu soluble dans l'alcool.

- **Para-hydroxy benzoate de méthyl (Méthyl parabène) :**

Un ester de l'acide parahydroxybenzoïque utilisé comme conservateur dans les produits cosmétiques et pharmaceutiques pour empêcher la croissance des bactéries, des levures et des moisissures. [13]

Les propriétés physico-chimiques de méthyl paraben sont reportées dans le tableau suivant :

Tableau II. 8 : Propriétés physico-chimiques de méthyl parabène. [49]

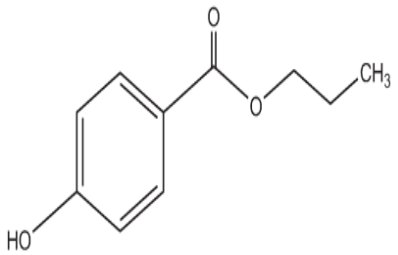
Nom :	Para-hydroxy benzoate de méthyl (Méthyl parabène)
Formule chimique :	Methyl-4-hydroxybenzoate
Formule brute :	$C_8H_8O_3$
Formule développée :	
Poids moléculaire :	152.15 g/mol
Rôle :	Conservateur antimicrobien
Point de fusion :	125° C à 128° C
L'aspect :	Poudre cristalline blanche ou sensiblement blanche ou cristaux incolores.
Solubilité :	Très peu soluble dans l'eau, facilement soluble dans l'éthanol 96 % et dans le méthanol

- **Para-hydroxybenzoate de propyl (propyl paraben) :**

Un dérivé de l'acide parahydroxybenzoïque utilisé comme conservateur dans les produits cosmétiques pour prévenir la croissance des micro-organismes et prolonger la durée de conservation du produit. [54]

Les propriétés physico-chimiques de propyl parabène sont reportées dans le tableau suivant :

Tableau II. 9 : Propriétés physicochimiques de propyle parabène [46, 49]

Nom :	Para-hydroxybenzoate de propyle parabène
Formule chimique :	4-Hydroxybenzoate de propyle
Formule brute :	$C_{10}H_{12}O_3$
Formule développée :	
Poids moléculaire :	180.20g/mol
Rôle :	Conservateur antimicrobien
Point de fusion :	96 °C à 99 °C
Aspect :	Poudre cristalline, blanche ou sensiblement blanche.
Solubilité :	Très peu soluble dans l'eau, facilement soluble dans l'éthanol 96 % et dans le méthanol.

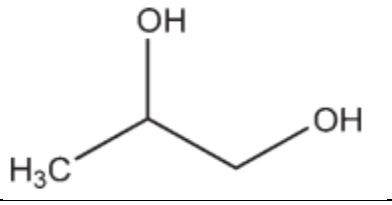
- **Propylène glycol :**

Le propylène glycol, issu généralement du pétrole, est un diol non renouvelable. Il est employé pour hydrater la peau, grâce à son fort pouvoir d'attraction pour l'eau qui lui permet de retenir l'humidité à l'intérieur de l'épiderme. Cette substance contribue également à adoucir la peau. [52]

Les propriétés physico-chimiques de propylène glycol sont reportées dans le tableau 7 suivant :

Tableau II. 10 : Propriétés physico-chimiques de Propyléne glycol. [49]

Nom :	Propyléne glycol
Formule chimique :	Propane-1,2-diol

Formule brute :	$C_3H_8O_2$
Formule développée :	
Poids moléculaire :	76.09
Rôle :	Hydratant
Viscosité :	58.1 mPa s à 20°C
L'aspect :	Est un liquide clair, incolore, visqueux.
Solubilité :	Miscible avec l'acétone, le chloroforme, l'éthanol (95%), de la glycérine et de l'eau. Non miscible avec de l'huile minérale légère

- **L'huile de la vaseline :**

L'huile de vaseline, également connue sous le nom de vaseline liquide ou huile minérale légère, est une huile claire, incolore et inodore dérivée du pétrole. Elle est principalement composée d'alcanes et de cycloalcanes. Utilisée dans divers domaines, elle sert principalement d'agent lubrifiant, d'hydratant pour la peau et d'ingrédient dans des produits cosmétiques et pharmaceutiques. [53]

Les propriétés physico-chimiques de l'huile de vaseline sont reportées dans le tableau 7 suivant :

Tableau II. 11 : Propriétés physico-chimiques de l'huile de vaseline. [51]

Nom :	L'huile de vaseline
Rôle :	Emollient
Viscosité :	110 mPa.s à 230 mPa.s
L'aspect :	Liquide huileux, incolore, transparent, ne présentant pas de fluorescence à la lumière du jour.
Solubilité :	Pratiquement insoluble dans l'eau, peu soluble dans l'éthanol à 96 %, miscible aux hydrocarbures.

- **La vaseline :**

La vaseline est un mélange d'huiles lourdes et de paraffine de pétrole, C'est un hydrocarbure saturé solide, qui devient fluide entre 45 et 65° [54]

Les propriétés physico-chimiques de l'huile de vaseline sont reportées dans le tableau 7 suivant :

Tableau II. 12 : Propriétés physico-chimiques de la vaseline [48]

Nom :	La vaseline
Rôle :	Hydratant
Viscosité :	58.1 mPa s à 20°C
L'aspect :	Masse onctueuse de couleur blanche ou légèrement jaunâtre, elle se présente en couche mince transparente même après refroidissement à 0° C.
Solubilité :	Facilement soluble dans le benzène et dans le chloroforme, soluble dans l'éther, peu soluble dans l'alcool (froid ou chaud) et dans l'alcool déshydraté froid, insoluble dans l'eau

1.3 Réactifs chimiques et matériel instrumental

Tableau II. 13 : Réactifs chimiques et matériel instrumental

Matériels	**Verrerie**	**Réactif et produits chimique**
Plaque chauffante agitateur, Etuve, pH-mètre, Spectrophotomètre UV-visible, Balance analytique, Densimètre, Refractomètre, Ultrason, Homogénéisateur, Viscosimètre, microscope optique	Becher, Spatula, Erlenmeyer, Papier aluminium, Entonnoir, Papier filtre, Papier Wattman, Pipette, Tube sec, Fiole jaugé, Seringue,	Ethanol 70%, Méthanol, DPPH, Quercétine, Acide ascorbique, Hydroxyde de sodium, Solution $AlCl_3$, L'eau distillée

2 Méthodes

2.1 Extraction et caractérisation de la propolis

2.1.1 Extraction par solvant

L'extraction a été effectué par l'ultrason, deux mélanges différents ont été préparés comme suit : 10 g de propolis brute sec en poudre ont été pesés et dissous dans 100 ml d'une solution éthanolique a 70%, tandis que 10 g de propolis brute frais dans 100 ml d'une solution éthanolique a 70%. Ensuite, les échantillons ont été soumis à une extraction par ultrasons, avec des durées d'ultrasonication de 30 minutes, 1 heure et 4 heures. Afin de prévenir toute surchauffe, les échantillons ont été immédiatement plongés dans des bains de glace et d'eau. Par la suite, les échantillons ont été conservés à 4°C. [55]



Figure II. 5 : Extraction de la propolis par ultrason.

Les extraits obtenus ont été filtrés à travers un filtre Wattman n°01, les extraits sont séchés dans une étuve sous vide à une température de 40°C jusqu'à l'obtention d'un extrait sec.



Figure II. 6 : Processus de filtration des extraits obtenus à travers papier wattman n°01.



Figure II. 7 : Etuve sous vide employé au niveau de SAIDAL

2.1.1.1 Calcul du rendement

Le rendement désigne la masse de l'extrait récupérer après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage par rapport à la masse initiale de la propolis brute soumise à l'extraction selon la relation suivante :

$$\% \text{ Rendement} : \frac{M_f}{M_i} \times 100$$

Tel que : $\mathbf{M_f}$: la masse finale de l'extrait obtenu.

$\mathbf{M_i}$: la masse initiale de la propolis brute.

2.1.2 Caractérisation de propolis

La caractérisation de la propolis est cruciale pour comprendre ses propriétés thérapeutiques et son efficacité dans diverses applications médicales. La composition de la propolis peut varier en fonction de l'origine géographique, des plantes sources et des conditions environnementales. Pour garantir la qualité et l'efficacité de la propolis utilisée dans les traitements, il est essentiel de réaliser des tests de caractérisation. Ces tests déterminent la composition chimique, les concentrations des principaux composés bioactifs et les propriétés physico-chimiques de la propolis.

2.1.2.1 Dosage des flavonoïdes de propolis

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par une méthode basée sur la formation d'un complexe très stable jaune qui absorbe à 430 nm, entre le chlorure d'aluminium et les atomes d'oxygène présent sur les carbones 4 et 5 des flavonoïdes. [56]

Cette méthode consiste à ajouter 1 mL d'une solution d'AlCl3 (2 % dans du méthanol absolu) à 1 mL de l'extrait convenablement dilué. Après 10 minutes d'incubation à température ambiante, l'absorbance est mesurée à 430 nm. Une courbe d'étalonnage, réalisée avec la quercétine à différentes concentrations (1-40 µg/mL) dans les mêmes conditions expérimentales, a été utilisée pour la quantification des flavonoïdes. La teneur est exprimée en microgrammes équivalents de quercétine par milligrammes d'extrait (µg EQ / mg d'extrait). [57]



Figure II. 8 : Spectrophotométrie UV-Visible (marque : PERKINELMER PRECISELY, logiciel : LAMBDA 25).

2.1.2.2 Evaluation de l'activité antioxydante de propolis par DPPH :

Le composé chimique 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) est l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure/activité antioxydant des composés

phénoliques. La réduction du radical DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie visible, en mesurant la diminution de l'absorbance provoquée par la présence des extraits à 517 nm. Le DPPH de couleur violette se réduit en 2.2 diphenyl 1 picryl hydrazine de couleur jaune.

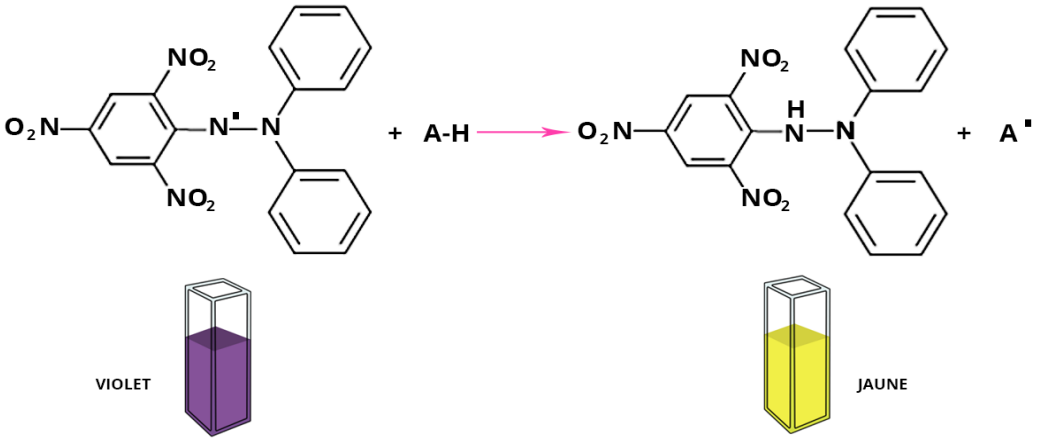


Figure II. 9 : Mécanisme de réduction du radical libre DPPH par un antioxydant

La méthode de mesure de l'activité antioxydante des extraits utilise le radical DPPH. Initialement, une solution de DPPH est préparée en dissolvant 4 mg de poudre dans 100 mL de méthanol, puis la solution est conservée dans l'obscurité pendant 12 heures. Ensuite, des extraits aqueux et méthanoliques sont préparés à diverses concentrations. Chaque échantillon est mélangé avec une solution méthanolique de DPPH [58]. Après agitation, les mélanges sont laissés à température ambiante dans l'obscurité pendant 30 minutes. La lecture de l'absorbance a été faite au bout de 30 minutes au spectrophotomètre à 517 nm en utilisant le méthanol comme blanc pour évaluer l'activité antioxydante des échantillons.



Figure II. 10 : préparation de la solution méthanolique de DPPH

L'acide ascorbique a été utilisé comme un test positif. Le pourcentage d'inhibition de DPPH a été calculé en utilisant l'équation suivante :

$$\% \text{ d'inhibition de DPPH} = \{(AB - AA) / AB\} \times 100$$

Tel que : **AB :** Absorbance de solution du DPPH sans extrait.

AA : Absorbance en présence d'extrait ou standard.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition de DPPH et les IC50 (concentration correspondant à 50% d'inhibition de DPPH) sont déterminées à partir d'une courbe de l'absorbance de DPPH en fonction de la concentration de différents échantillons . [59]

2.2 Caractérisation des huiles essentielles et l'huile végétale

Les analyses sont effectuées dans le but de vérifier la conformité des huiles essentielles et végétales :

2.2.1 Indice de réfraction

Les indices de réfraction des huiles utilisées sont mesurés avec un réfractomètre. Leur fonctionnement est basé sur le principe de la déviation angulaire provoquée par la réfraction de la lumière. [60]



Figure II. 11 : le refractomètre utilisé dans la mesure.

2.2.2 La densité

La mesure de la densité des huiles utilisées se fait avec un densimètre à affichage numérique de marque METTLER TOLEDO.

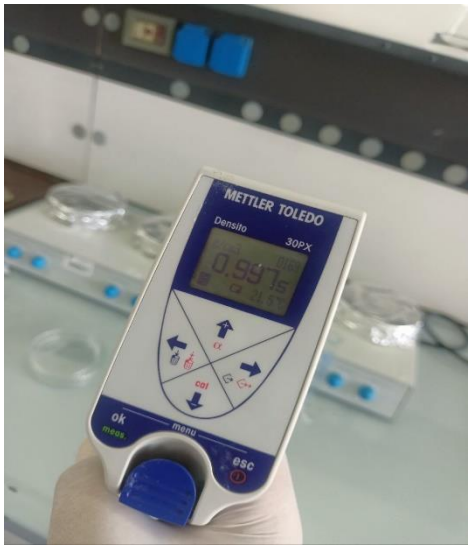


Figure II. 12 : le densimètre METTLER TOLEDO.

2.2.3 Evaluation de l'activité antioxydante des huiles utilisées par DPPH

La méthode utilisée pour l'analyse antioxydante des huiles utilisées est identique à celle précédemment décrite dans la partie de caractérisation de la propolis.

2.3 Partie formulation

2.3.1 Elaboration des crèmes

Nous visons à élaborer une formulation synergique de crème cicatrisante qui offre une protection contre les infections, réduit l'inflammation, soulage la douleur et favorise la régénération des tissus, le tout dans le but d'accélérer le processus de cicatrisation cutanée.

Nous avons formulé plusieurs crèmes, en utilisant du miel, d'extrait de la propolis et de déférentes huiles essentielles, notamment tea tree, du caryophylata et l'huile végétale de sésame.

En tant qu'adjuvants, nous avons utilisé du polysorbate 60, de l'alcool stéarylique, de l'alcool cétylique, du méthyle parabène, du propyle parabène, du monostéarate de sorbitane, du propylène glycol, de la vaseline et de l'huile de vaseline. Ces excipients sont couramment utilisés dans diverses crèmes telles que Lamidaz, indiquée pour le traitement des infections causées par des champignons ou des levures parasites, Acifudal, recommandée pour les infections cutanées causées par des bactéries staphylococciques, et Ketoskine, utilisée pour traiter les infections fongiques cutanées.

Notre objectif est d'améliorer chaque aspect de nos formulations afin de développer un produit pharmaceutique qui non seulement respectent les normes de qualité les plus strictes, mais possèdent également des propriétés spécifiques adaptées à leur utilisation thérapeutique. Pour cela,

nous avons réalisé de nombreux essais préliminaires en ajustant à la fois la quantité et la qualité des huiles essentielles et des dérivés de la ruche, afin de trouver la formulation idéale avec les propriétés recherchées. Pour cela nous avons effectué deux séries expérience (A et B) qui sont résumés dans les deux tableaux suivants :

2.3.2 Préparation de la formulation A

Tableau II. 14 : Composition de différentes formulations de crème cicatrisante - Formulation A

Formulation A					
Matières	**F1 (%)**	**F2 (%)**	**F3 (%)**	**F4 (%)**	**F5 (%)**
Extrait de propolis	5	5	-	-	-
Extrait de Tea tree	2.5	-	2.5	-	2.5
Extrait de Caryophylata	-	1	-	1	1
Extrait de Sésame	-	-	5	5	5
Miel	5	5	5	5	5
Propyle parabène	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
Méthyle parabène	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
Polysorbate 60	5	5	5	5	5
Monostéarate de sorbitane	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Alcool stéarylique	4	4	4	4	4
Alcool cétylique	4	4	4	4	4
Eau	QSP	QSP	QSP	QSP	QSP

- **Protocole de préparation de la phase huileuse :**

Un bain-marie est graduellement chauffé à l'aide d'une plaque chauffante jusqu'à ce que sa température atteigne 40°C. Un bécher est ensuite placé dans le bain-marie, où du polysorbate 60 est vigoureusement agité jusqu'à ce qu'il se fonde complètement. La température est alors augmentée à 60°C, sous une agitation l'alcool cétylique et de l'alcool stéarylique sont ajoutés. Le monostéarate de sorbitane est incorporé au mélange après l'élévation de la température 70°C, sous une 'agitation pendant 10 minutes. Par la suite, le mélange est refroidi à 50°C avant d'ajouter les huiles (de tea tree et/ou de clou de girofle et/ou de sésame).

- **Protocole de préparation de la phase aqueuse :**

L'eau distillée est chauffée jusqu'à atteindre 80°C. Sous agitation avec un barreau magnétique, le propyle parabène et le méthyle parabène sont ajoutés jusqu'à ce qu'ils se dissout

complètement. Ensuite, du miel est introduit dans le mélange toujours en agitation, et le mélange est refroidi à 50°C.

- **Homogénéisation :**

Une fois que les deux phases atteint une température de 50 °C, nous avons procédé au versant progressive de la phase huileuse dans la phase aqueuse tout en maintenant une agitation à une grande vitesse à l'aide d'un homogénéisateur. Par la suite nous vérifiant l'aspect de la crème pour déterminer son homogénéité et sa consistante. En revanche, si la crème n'était pas homogène, nous avons poursuivi l'homogénéisation, jusqu'à ce que la crème soit uniformément mélangée et homogène.

NB : Les matières ont été ajoutées en quantités telles qu'elles sont spécifiées dans le tableau N°14.

2.3.3 Préparation de la formulation B

Tableau II. 15 : Composition de la formulation de crème cicatrisante - Formulation B

Formulation B	
Matières	**F6(%)**
Extrait de Tea tree	2.5
Extrait de Caryophylata	-
Extrait de Sésame	5
Miel	5
Propyle parabène	0.03
Méthyle parabène	0.1
Polysorbate 60	6
Propylène glycol	11.5
Huile de vaseline	6.44
Vaseline blanche	8.46
Alcool stéarylique	14.1
Eau distillée	*QSP*

- **Protocole de préparation de la phase huileuse :**

Un bain-marie est graduellement chauffé jusqu'à ce que sa température atteigne 90°C avec la plaque chauffante. Ensuite, un bécher est plongé dans le bain-marie, où la vaseline et l'huile de vaseline sont fondues sous agitation. La température est ensuite réduite à 80°C, et de l'alcool

stéarylique est ajouté sous agitation, le mélange étant maintenu ainsi pendant 30 minutes jusqu'à dissolution complète. Par la suite, le mélange est refroidi à 50°C avant d'incorporer les extraits

- **Protocole de préparation de la phase aqueuse :**

L'eau distillée est chauffée jusqu'à atteindre 80°C, sous agitation avec un barreau magnétique, puis le propyle parabène et le méthyle parabène sont ajoutés jusqu'à dissolution complète. Ensuite, la température est abaissée à 55°C et du polysorbate 60 est ajouté avec une agitation pendant 10 minutes. Puis, du propylène glycol est ajouté et l'agitation est maintenue pendant 5 minutes. Enfin, du miel est introduit dans le mélange toujours en agitation, et le mélange est refroidi jusqu'à atteindre 50°C.

- **Homogénéisation :**

Une fois que les deux phases ont atteint une température de 50 °C, nous versons progressivement la phase huileuse dans la phase aqueuse sous une agitation à grande vitesse à l'aide d'un homogénéisateur. Ensuite, nous avons analysé l'aspect de la crème pour vérifier si elle était homogène et consistante.

Les formules de la préparation sont représentées dans le schéma suivant :

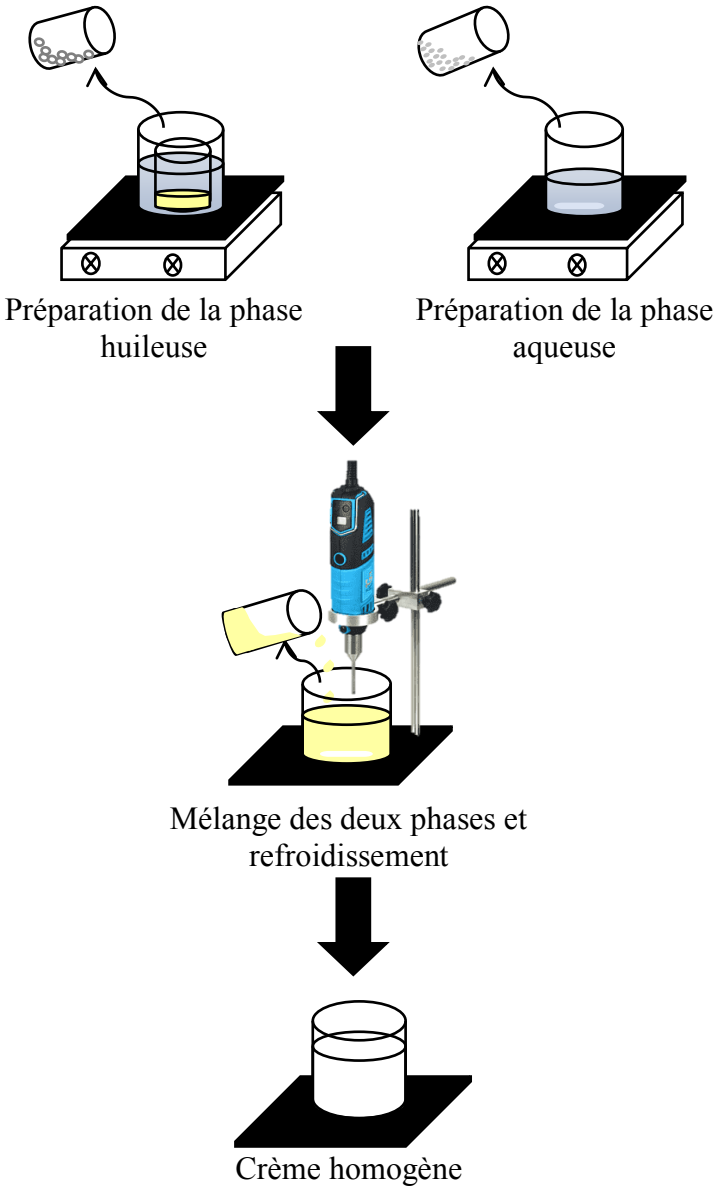


Figure II. 13 : Représentation schématique des étapes de Préparation de la Crème

Nous avons opté pour la formulation A pour plusieurs raisons, notamment en raison de son aspect plus homogène et de sa texture plus légère par rapport à la formulation B. La présence de vaseline dans la formulation B a contribué à rendre celle-ci légèrement plus huileuse que la formulation A. Nous avons préparé plusieurs formulations afin de comparer leurs aspects et de déterminer celle qui correspond le mieux à nos critères de qualité.

2.4 Control physico-chimique des crèmes

2.4.1 Caractères macroscopiques

Une analyse macroscopique, effectuée à l'œil nu, et également une caractérisation des paramètres organoleptique a été réalisée. Cette démarche implique l'observation de la couleur, de la consistance et de l'odeur de chaque crème.

2.4.2 Homogénéité

Nous avons vérifié l'homogénéité des formulations, en les étalant en couche mince sur une surface plane à l'aide d'une spatule.

2.4.3 Mesure du pH

Pour la mesure du pH des crèmes, une solution de 10% a été préparée, à froid, le pH a été déterminé.

2.4.4 Type d'émulsion

Nous ajoutons à une goutte de l'émulsion un colorant hydrosoluble « bleu de méthylène », si l'émulsion est de type H/L (la phase hydrophile est dispersée dans la phase lipophile) la coloration se propage dans l'émulsion.

2.4.5 Etat microscopique

L'examen microscopique des crèmes préparés a été faite après 2 mois à l'aide d'un microscope optique avec un grandissement de 10 fois.

2.4.6 Viscosité

Pour l'analyse viscosimetrique, on a utilisé un viscosimètre de type Brookfield synchro-lectrice visiomètre et de modèle E1504 qui permet de mesurer la viscosité des fluides newtonien et non newtoniens.



Figure II. 14 : Viscosimètre de Brookfield synchro-lectrice visiomètre

Chapitre □ :
Résultats Et Discussion

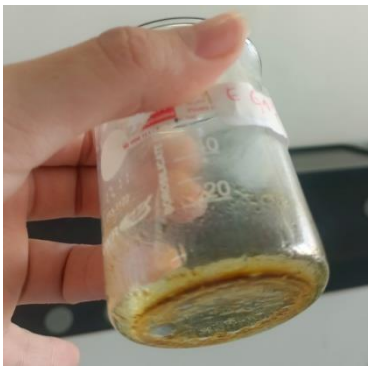
1 Rendement d'extraction

Dans le cadre de notre étude, nous avons utilisé l'ultrasons pour extraire la propolis, ce qui nous a permis d'obtenir six extraits distincts, et le rendement d'extraction exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$\% \text{ Rendement} : \frac{M_{extrait}}{M_{intiale}} \times 100$$

Chaque extrait a été caractérisé par sa couleur et son rendement par rapport à la forme de propolis utilisé, Ces éléments sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau III. 1 : Aspects, couleurs et rendements des extraits

Extrait	**Propolis brute fraiche**			**Propolis brute seche**		
Temps	30min	1 h	4h	30 min	1h	4h
Masse initiale (g)	3			5		
Masse d'extrait (g)	0.2249	0.2827	0.3429	2.0998	2.6455	3.7615
Rendement %	7.496	9.423	11.43	41.996	52.91	75.23
Couleur	Marron clair 			Marron foncé 		
Aspect	Cire			Pâte		

Ce tableau nous a révélé que la propolis en poudre a donné les rendements les plus élevés, variant de 41% à 75,5%. Par contre, les rendements de la propolis fraîche ont été nettement inférieurs, entre 7 % et 11,5 %, selon la durée d'ultrasonication (30 minutes, 1 heure et 4 heures). Ainsi, il a été conclu également que la propolis en poudre, soumise à une ultrasonication prolongée, offre un meilleur rendement.

Selon les constatations des travaux ultérieurs notamment la référence [61], l'utilisation de la méthode de macération a abouti à un faible rendement d'extraction de propolis sur une période de 3 jours, en comparaison avec notre méthode d'ultrason, qui a démontré une efficacité supérieure en termes de rendement en seulement 4 heures. Les ondes sonores à haute fréquence

de l'ultrason favorisent une rupture plus efficace des agrégats, permettant ainsi une libération plus complète des composés actifs. De plus, cette méthode réduit considérablement le temps d'extraction, préservant ainsi la qualité des extraits. Ces résultats mettent en lumière l'importance cette techniques dans l'extraction de composés naturels, ouvrant ainsi la voie à des applications prometteuses dans la recherche et l'industrie.

En résumé, de nombreuses méthodes d'extraction classiques et modernes ont été appliquées et étudiées pour la propolis. En ce qui concerne les procédés d'extraction, l'extraction assistée par ultrasons semble être la méthode optimale, prenant en compte le temps d'extraction, le rendement et la rentabilité [62]. Concernant les solvants, les mélanges eau-éthanol restent parmi les plus efficaces.

2 Dosage des flavonoïdes

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), et à partir de la courbe d'étalonnage de la quercétine. L'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 430 nm. Les résultats obtenus sont exprimés en µg EQ/mg d'extrait. La courbe d'étalonnage est représentée ci-dessous :

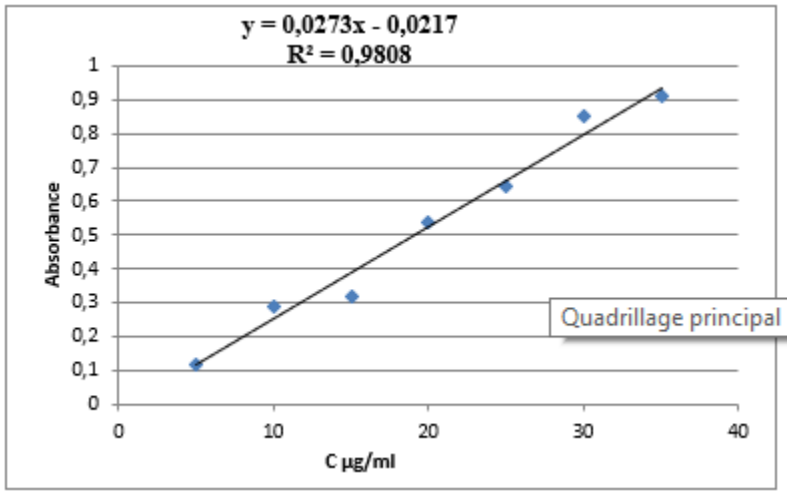


Figure III. 1 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Le taux des flavonoïdes de l'extrait de propolis a été obtenu par la courbe d'étalonnage qui suit une équation de type :

$$Y=0,027x-0,021 \text{ sachant que } R^2=0.996$$

L'analyse des résultats du dosage des flavonoïdes montre que l'extrait de propolis est riche en flavonoïdes avec une teneur de 5,438 µg EQ/mg d'extrait de propolis.

3 Résultats d'activité antioxydante par les tests au DPPH

L'activité antioxydante de l'extrait de propolis ainsi que des différentes huiles (sésame, tea tree, caryophylata) a été évaluée à l'aide du test de DPPH. Ce test implique de suivre la réduction du radical libre DPPH avec différentes doses des extraits, ce qui se traduit par un changement de couleur observable passant du violet au jaune. Ce changement est mesurable par spectrophotométrie UV/visible à une longueur d'onde de 517 nm.

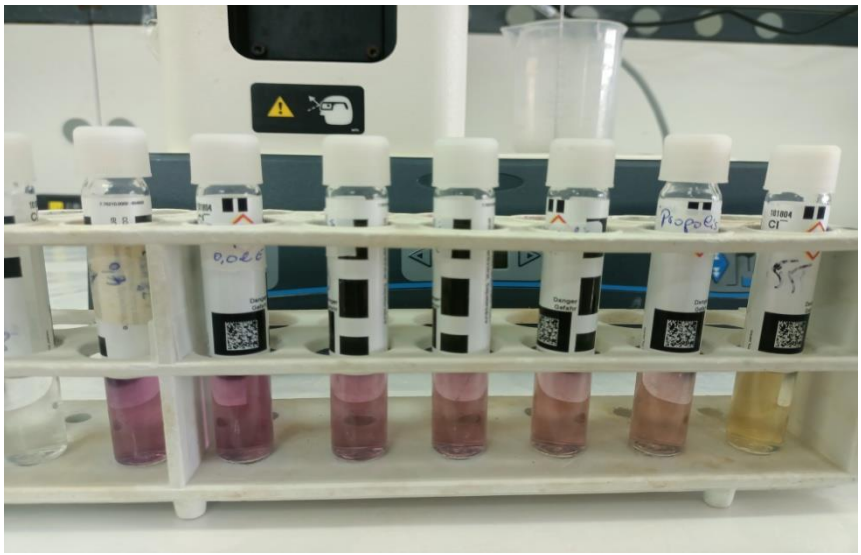


Figure III. 2 : représente le passage de couleur violet vers le jaune

Les résultats de l'activité inhibitrice du radical DPPH par les différents extraits sont représentés dans la figure ci-dessous :

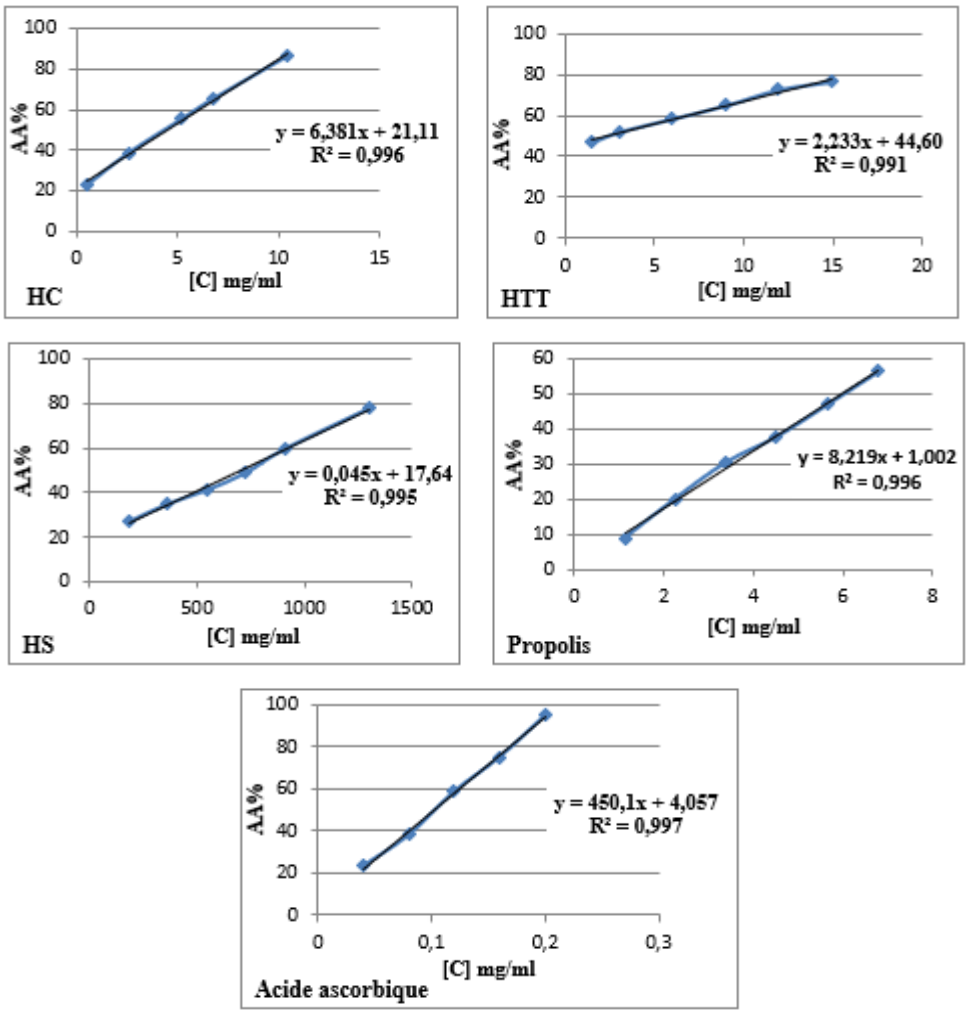


Figure III. 3 : Pourcentage d'inhibition en fonction de concentrations de différents extraits.

A partir des profils d'activité anti oxydante obtenus en fonction des concentrations de quercétine utilisées, nous avons déterminé les valeurs d'IC50. Ce paramètre représente la concentration d'extrait nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH. Plus la valeur d'IC50 est petite, plus l'activité antioxydante de l'extrait testé est grande

Les valeurs d'IC50 sont calculées en mg/ml :

Tableau III. 2 : les valeurs IC50 des différents échantillons

L'échantillon	**Ci50 (mg/ml)**
Huile de Caryophyllata	**4,527**
Huile de Tea tree	**2,418**
Huile de Sésame	**719,111**
L'extrait de Propolis	**5,961**
L'acide ascorbique	**0.102**

NB : l'acide ascorbique est utilisé comme un standard de référence

Nos résultats montrent que l'huile de Tea tree, l'huile de Caryophyllata et l'extrait de propolis sont les plus actifs, leurs IC50 sont respectivement de 2.418 mg/ml, 4.527mg/ml et 5.961mg/ml. Alors que pour l'huile de sésame, la valeur d'IC50 est de 719.11 mg/ml.

La forte activité antiradicalaire des huiles Tea tree, caryophyllata et l'extrait de propolis pourrait s'expliquer par la présence d'une grande quantité des polyphénols et spécifiquement des flavonoïdes dans ces extraits.

4 Caractérisation des huiles

Les analyses sont effectuées dans le but de vérifier la conformité des huiles :

Tableau III. 3 : les caractéristiques des huiles

	Indice de réfraction :	**La densité :**
Huile de Sésame :	1.473°	0.9087
Huile de Caryophylata :	1.534°	1.0397
Huile de Tea tree	1.479°	0.8962

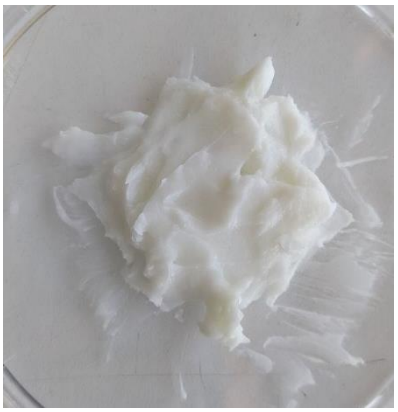
Les résultats montrent que les huiles utilisées sont conformes aux normes de la pharmacopée européenne.

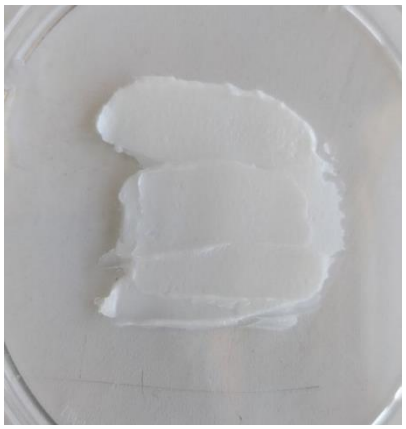
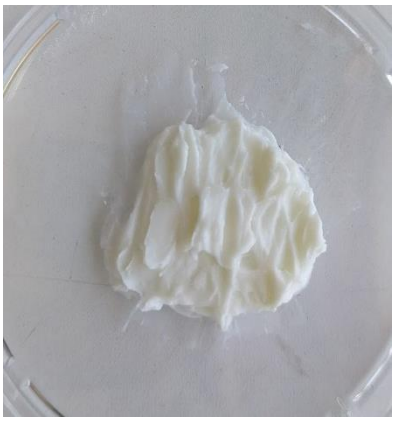
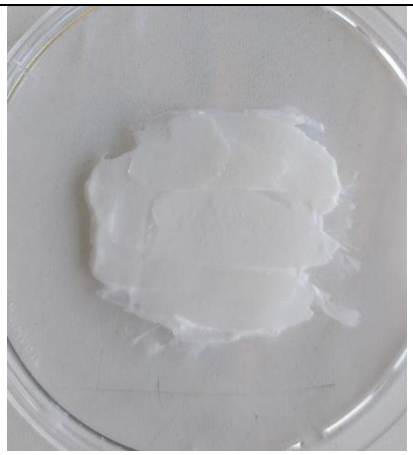
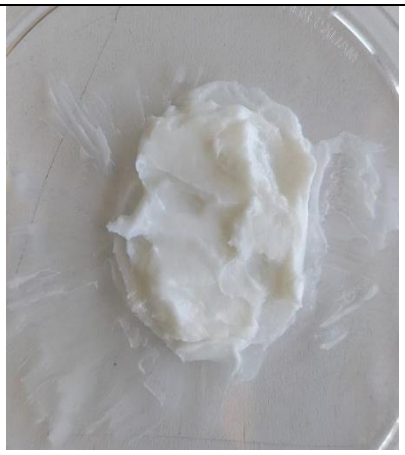
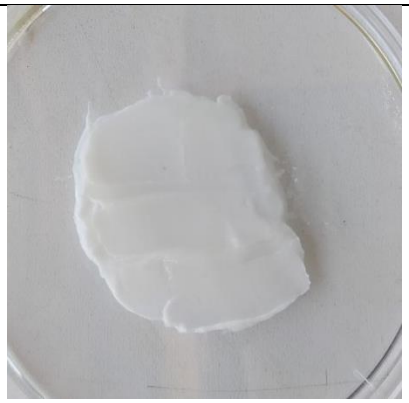
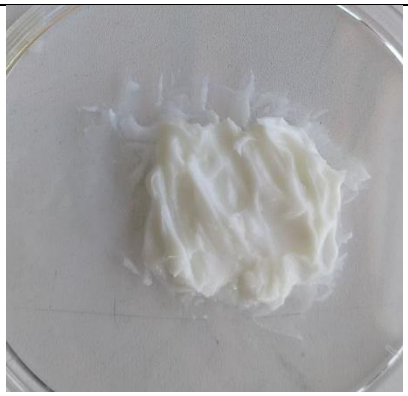
5 Résultats des contrôles des crèmes préparées

5.1 Caractères macroscopiques et l'homogénéité

Les formulations F2, F3, F4 et F5 montrent une consistance molle et une excellente homogénéité, tandis que la formulation F6 présente une consistance semi-solide mais conserve une bonne homogénéité. Sauf, la formulation F1 a une mauvaise homogénéité.

Tableau III. 4 : les caractères macroscopiques et l'homogénéité des crèmes préparées.

Les formulations :		Résultats des tests : Couleur et odeur :	Homogénéité :	Consistance :
Formulation A :	**F1**	-Jaune moutarde -L'odeur de de HTT et l'extrait de propolis		
	F2	**-** Jaune moutarde - L'odeur de HC		
	F3	-Blanche -l'odeur de HTT et HS		

	F4	-Blanche -L'odeur de l'arôme du fraise et HC		
	F5	**-**Blanche **-**L'odeur de l'essence de lavande		
Formulation B :	**F6**	-Blanche -L'odeur de l'essence de lavande.		

5.2 Détermination de pH

Les formulations obtenues présentent des pH compris entre 5 et 6,5, ce qui se rapproche du pH naturel de la peau. Ces valeurs de pH suggèrent une meilleure tolérance cutanée et réduit le risque d'irritations ou de réactions indésirables. Donc sont susceptibles d'être bien tolérées lors de leur utilisation cosmétique.

5.3 Type d'émulsion

Les résultats de ce test, réalisé avec du bleu de méthylène (voir figure), montrent que les crèmes préparées sont de nature hydrophile. En raison de cette hydrophilie, la phase externe des crèmes est la phase aqueuse.

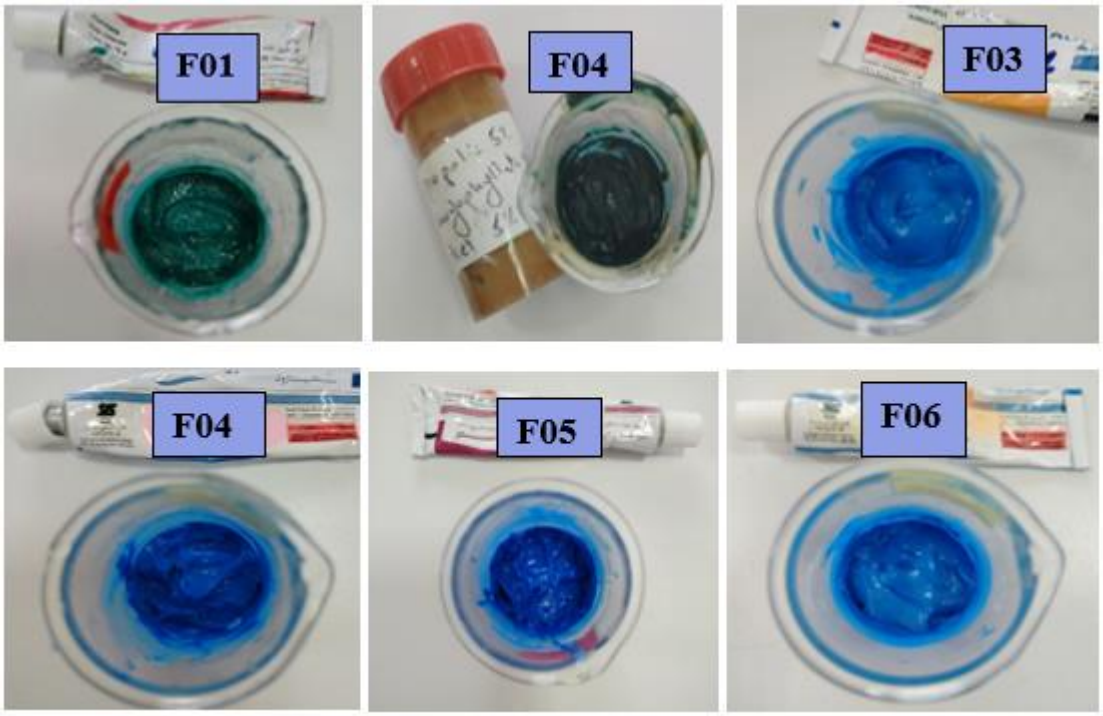


Figure III. 4 : les résultats obtenus du test de type d'émulsion.

Les crèmes hydrophiles constituent généralement la préparation de choix pour le traitement des dermatoses aiguës et subaiguës. Elles peuvent être appliquées sur une peau humide et dans les espaces interdigitaux. Sur le plan cosmétique ces crèmes sont plus agréables que les pommades hydrophobes. Ces crèmes nécessitent l'addition d'agents conservateurs qui peuvent être sensibilisants.

5.4 Etat microscopique

L'examen microscopique des crèmes que on a préparées a été réalisée après 2 mois à l'aide d'un microscope optique avec un grandissement de 10 fois afin de voir la stabilité des crèmes La figure suivante représente les images microscopiques des crèmes préparées par déférent principe actif :

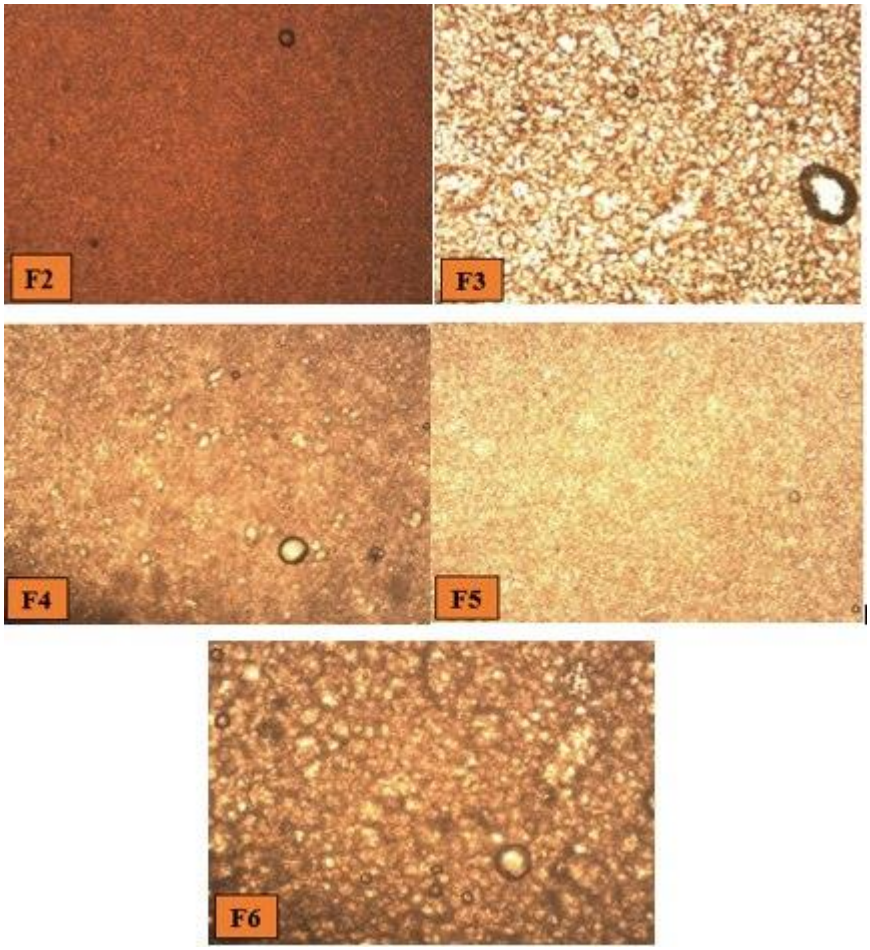


Figure III. 5 : vues microscopiques des crèmes préparées

Lors de l'examen microscopique des différentes formulations préparées, nous avons évalué leur état microscopique et leur stabilité. Nos observations ont révélé que F2 et F5 sont particulièrement stables. Cette stabilité s'explique par la taille petite des gouttelettes d'huile qu'elles contiennent, assurant ainsi une dispersion homogène et une meilleure intégrité structurale de la formulation.

En revanche, la formulation F4 a montré des résultats moins satisfaisants. Les gouttelettes d'huile y apparaissent de tailles et de formes irrégulières, ce qui peut indiquer le phénomène de coalescence et potentiellement affecter la stabilité à long terme de cette formulation.

Quant aux formulations F3 et F6, nous avons observé que les gouttelettes d'huile sont de très grande taille. Cette caractéristique est préoccupante car elle suggère une mauvaise émulsification initiale, ce qui pourrait conduire à un phénomène de déphasage dans le futur. Un tel déphasage résulterait en une séparation des phases huileuses et aqueuses, compromettant ainsi l'efficacité et l'homogénéité de la formulation. Ces observations mettent en évidence

l'importance de contrôler la taille des gouttelettes d'huile pour assurer la stabilité et la qualité des formulations. Les résultats obtenus indiquent clairement que des tailles de gouttelettes plus petites et uniformes, comme observées dans les F2 et F5, sont essentielles pour maintenir la stabilité et prévenir le déphasage.

5.5 La viscosité

Ce test vise à examiner la variation de la viscosité en fonction de différentes vitesses de rotation. Les mesures ont été effectuées à température ambiante à l'aide d'un viscosimètre.

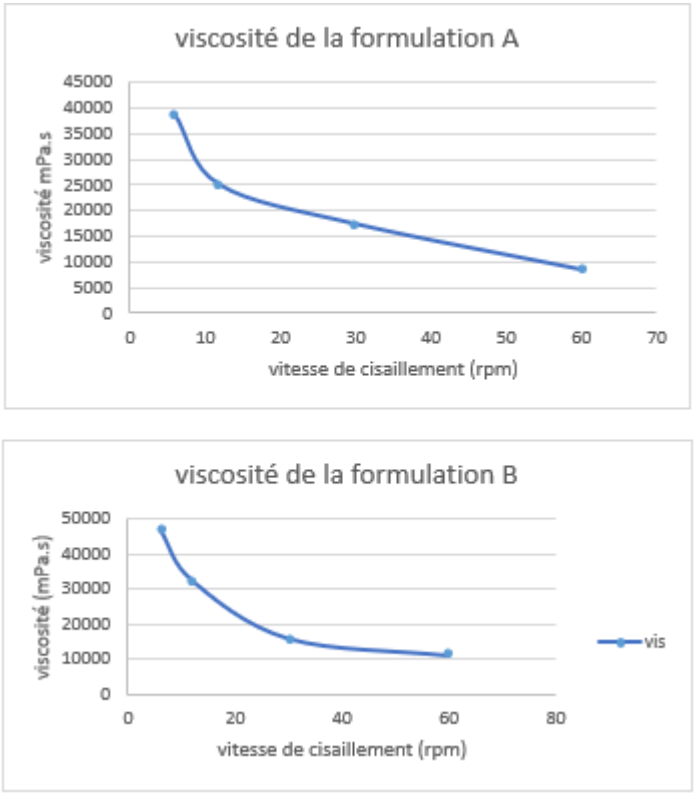


Figure III. 6 : test de viscosité des formulations A et B

Ces résultats indiquent que la viscosité apparente des formulations A et B diminue au fur et à mesure que la vitesse de cisaillement augmente. En conséquence, nous pouvons conclure que les émulsions obtenues présentent un comportement de fluide non newtonien, avec un comportement rhéofluidifiant. Cela facilite l'étalement de la crème lors de son application.

Conclusion Générale

L'utilisation combinée de la propolis, du miel, des huiles essentielles de clou de girofle et de Tea tree, et de l'huile végétale de sésame dans la formulation d'une crème cicatrisante offre une approche naturelle et efficace pour la guérison des plaies. Chacun de ces ingrédients apporte des propriétés uniques et complémentaires, créant une synergie bénéfique pour le processus de cicatrisation.

La propolis est reconnue pour ses puissantes propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires et antioxydantes, favorisant la réduction des infections et la régénération des tissus. Le miel, riche en enzymes, vitamines et minéraux, agit comme un agent hydratant et antibactérien, maintenant un environnement humide favorable à la cicatrisation et empêchant la colonisation bactérienne.

Les huiles essentielles de clou de girofle et de Tea tree sont connues pour leurs propriétés antiseptiques et anti-inflammatoires. Ces huiles essentielles contribuent à prévenir les infections et à réduire l'inflammation au site de la plaie.

L'huile végétale de sésame nourrit et hydrate la peau, améliore l'élasticité cutanée et favorise la réparation des tissus endommagés. Son action émolliente aide également à maintenir une barrière cutanée saine et à prévenir la dessiccation de la plaie.

Des analyses ont été menées pour vérifier la conformité de l'huile essentielle de Tea tree, de clou de girofle et huile végétale de sésame, notamment leur indice de réfraction et leur densité. Les résultats obtenus démontrent que les huiles utilisées respectent les normes de la pharmacopée européenne.

Notre étude démontre que l'utilisation de la méthode des ultrasons pour extraire la propolis est une méthode optimale, qui permet d'obtenir un rendement élevé dans un court temps.

L’analyse du dosage des flavonoïdes dans l'extrait de la propolis, réalisée selon la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) et en se référant à la courbe d'étalonnage de la quercétine, On a obtenu une concentration significative de 5,438 µg EQ/mg d'extrait de la propolis. Cette découverte confirme la richesse de la propolis en composés flavonoïdes, qui sont reconnus pour leurs multiples bienfaits pour la santé.

L’étude de l’activité antioxydante de l'extrait de propolis et de différentes huiles étudie, a été évaluée par la méthode du DPPH, Nos résultats montrent que l'huile de Tea tree, l'huile de Caryophyllata et l'extrait de propolis présentent des activités élevées. Leurs valeurs respectives

d’IC50 sont de 2,418 mg/ml, 4,527 mg/ml et 5,961 mg/ml. Par contre, l'huile de sésame a montré une activité antioxydante moindre, avec une valeur d’IC50 de 719,11 mg/ml.

Des contrôles physico-chimiques ont été réalisés sur les crèmes, comprenant l'évaluation des caractères macroscopiques, de l'homogénéité, la mesure du pH, la détermination du type d'émulsion, ainsi que l'examen microscopique effectué après 2 mois, et la mesure de la viscosité.

En conclusion, la combinaison de la propolis, du miel, des huiles essentielles de clou de girofle et de tea tree, et de l'huile végétale de sésame représente une approche innovante et prometteuse pour la cicatrisation des plaies. Les résultats obtenus suggèrent que cette formulation naturelle pourrait constituer une alternative efficace aux traitements cicatrisants conventionnels. Des études supplémentaires à plus grande échelle permettront de confirmer ces résultats et d'établir cette crème comme une option viable et sûre dans le domaine médical et dermatologique.

Références bibliographiques

[1] DRENO, B. (2009). Anatomie et physiologie de la peau et de ses annexes. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie, S247–S251.

[2] RUSSO, A., CARDILE, V., SANCHEZ, F., TRONCOSO, N., VANELLA, A., & GARBARINO, J. A. (2004). Chilean propolis: antioxidant activity and antiproliferative action in human tumor cell lines. Life Sciences 545–558.

[3] KANITAKIS, J. (2002). Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. European Journal of Dermatology 390–401.

[4] MÉLISSOPOULOS, Alexandre et LEVACHER, Christine. (2012). La peau : structure et physiologie. Éditions Tec & doc. 1,2.

[5] OUMMD, adil. (2013). Cicatrisation des plaies chez l'enfant. Thèse de doctorat en médecine, université mohammed y souissi. 219.

[6] LAPLANTE, A., (2002). Mécanismes de réépithélialisation des plaies cutanées : expression des protéines de stress chez la souris et analyse à l'aide d'un nouveau modèle tridimensionnel humain développé par génie tissulaire. Thèse du garde de philosophiaedo.

[7] BARITAUD, S., DESMOULIERE, A., DURAND-FONTANIER, S., Martin, C., PESTEIL, F., & SPARSA, A. (2013). Les principales plaies susceptibles d'être traitées par le miel. Actualités Pharmaceutiques, 52(531), 32–35.

[8] CLAEYSSEN, R., (2009). Zinc et brûlure : Etude du statut en zinc et de l'influence de la supplémentation sur un modèle animal de brûlure sévère. Approche métabolique et moléculaire. (PhDThesis), 309.

[9] WASSERMANN, D. (2002). Critères de gravité des brûlures. Épidémiologie, prévention, organisation de la prise en charge. Pathologie Biologie, 50(2), 65–73.

[10] SINGER, A. J., & CLARK, R. A. F. (1999). Cutaneous Wound Healing. New England Journal of Medicine, 738–746.

[11] MARTIN, P. (1997). Wound Healing--Aiming for Perfect Skin Regeneration. Science, 75–81.

[12] SENET, P., & RAYNAUD-SIMON, A. (2007). Cicatrisation. Traité de Nutrition Artificielle de L'adulte, 473–480.

[13] WITTE, M. B., & BARBUL, A. (1997). GENERAL PRINCIPLES OF WOUND HEALING. Surgical Clinics of North America 509–528.

[14] STRODTBECK, F. (2001). Physiology of wound healing. Newborn and Infant Nursing Reviews 43–52.

[15] CANIZARES, F., CHAVOIN, J.-P., SOUBIRAC, L., FOUCRAS, L., FOSSAT, S., MOJALLAL, A., GROLLEAU, J.-L. (2004). Cicatrices cutáneasdefectuosas. EMC-CirugíaPlásticaReparadora y Estética 12, 1–10.

[16] WILLIAMSON, E. (2001). Synergy and other interactions in phytomedicines. Phytomedicine, 401–409.

[17] BRUNETON, J. (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Techniques etDocumentation. (3ème Ed). Lavoisier.

[18] LOSADA ECHEBERRIA, M., HERRANZ LOPEZ, M., MICOL, V., & BARRAJÓN-CATALÁN, E. (2017). Polyphenols as Promising Drugs against Main Breast Cancer Signatures. Antioxidants, 6, 88.

[19] MONTORO, P., BRACA, A., PIZZA, C., & DE TOMMASI, N. (2005). Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species. Food Chemistry, 349 355.

[20] TOUAFEK, O. (2010). Etude phytochimique de plantes médicinales du nord et du sud algériens. [Doctorat en chimie organique]. Universite Mentouri..

[21] COSTE, E., FONS, F., RAPIOR, S., & J., J. (2015). Trente-sept plantes chinoises (Magnoliidae, Ranunculidae, Asteridae). Caractères botaniques, étude pharmacologique et intérêt thérapeutique / Thirty-seven Chinese herbs (Magnoliidae, Ranunculidae, Asterida.

[22] La Norme européenne (Décret n°2003-587 du 30 juin 2003).

[23] BONTE, F., & DESMOULIERE, A. (2013). Le miel : origine et composition. Actualités Pharmaceutiques, 18–21.

[24] GHARBI Mehdi. (2011) Les produits de la ruche : origines-fonctions naturelles-composition propriétés thérapeutiques apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Campus Vétérinaire de Lyon.

[25] NICOLAŸ Jean. (2015). Perspectives d'avenir en apithérapie à l'officine. Thèse pour le diplôme d'Etat de docteur en pharmacie. Université Angers ; UFR sciences pharmaceutiques et ingénierie de la sante.

[26] LECHAUX David. Chirurgien de l'appareil digestif - Hôpital Yves Le Foll 22000 ST BRIEUC. Ancien interne des Hôpitaux de Rennes. Président du comité de liaison Alimentation et Nutrition.

[27] BANKOVA, V., TRUSHEVA, B., & POPOVA, M. (2021). Propolis extraction methods: a review. Journal of Apicultural Research, 1–10.

[28] KUJUMGIEV, A.et al. (1999), "Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin", Journal of Ethnopharmacology.

[29] EL HOUSSEINI Nader. (2013). Intérêt et applications cliniques de la propolis en médecine bucco-dentaire. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire. Université de Nantes ; Unité de formation et de recherche d'odontologie.

[30] MONTI, M., Bertt, E., CARMINATI, G., CUSINI, M. (1983). Occupational and cosmetic dermatitis from propolis 163–163.

[31] CHANTAL. (03 novembre 2014). «LA PROPOLIS ET SES BIENFAITS ». BIEN-ÊTRE AU NATUREL. [La propolis et ses bienfaits. - Bien-être au naturel (bien-etre-au-naturel.fr)], (15/05/2024).

[32] DEBUYSER Eric. (1984). La propolis. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université De Nante, Faculté de pharmacie.

[33] BLANC Mickaël. (2010). Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Limoges ; Faculté de médecine et de pharmacie.

[34] SEGUENI Narimane. Contribution à l'étude de la composition chimique et des propriétés biologiques de la propolis. Thèse présentée pour obtenir le diplôme de doctorat en science en pharmacochimie. Université Mentouri de Constantine ; Faculté des sciences e.

[35] KUJUMGIEV A., et al. (1999), "Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin", Journal of Ethnopharmacology.

[36] BURDOCK G.A. (1998), "Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis)", Food and Chemical Toxicology.

[37] SILVA-CARVALHO,R., et al. (2015), "Propolis : A complex natural product with a plethora of biological activities that can be explored for drug development", Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.

[38] FELTON, L. (2013) Remington. Essentials of pharmaceutics.Philadelphia. Pharmaceutical press. p.448- 449.

[39] DOUMEIX, O. (2001). Les émulsions. Opérations unitaires en génie biologique Scéren CNDPCRDP.

[40] BHANDARI, B.R., DUMOULIN, E. et H. RICHARD. (1992). Techniques de préparation d'arômes élaborés (chapitre 7) dans Les arômes alimentaires, Éd. Lavoisier, Paris. 438.

[41] GUIMBERTEAU, F., DAGLEISH, D. et J.M.J. BIBETTE. (2001). Emulsion multiple alimentaire composée d'une emulsion primaire inverse dispersée au sein d'une phase continue aqueuse. Brevet FR. 22.

[42] AGRAWAL Anisha, KULKARNI Sunisha, SHYAM Bihari Sharma. (2015). Recent advancements and appli-cations of multiple emulsions. School of Studies in Pharmaceutical Sciences, Jiwaji University, Gwalior, Madhya Pradesh, India. International Journal of Advances in, «Pharmaceutics. ».

[43] BARUS Carole. (2008). Etude électrochimique de molécules antioxydantes et de leur association en milieux homogène et biphasique, « Application aux produits dermocosmétiques. Thèse En vue de l'obtention du Doctorat de L'université de TOULOUSE. Paul Sabatier.».

[44] LAURAIN-MATTAR, D., & COUIC-MARINIER, F. (2019). Huile essentielle d'Arbre à thé ou de Tea tree. Actualités Pharmaceutiques, 59–61.

[45] CARSON, C.F., HAMMER, K.A., & RILEY, T.V. (2006). Melaleuca alternifolia (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. Clinical Microbiology Reviews, 50–62.

[46] Pharmacopée Européenne, (2001). 1, 2.

[47] OUEST FRANCE. (31 Janvier, 2023). « Cinq choses à savoir sur le clou de girofle et ses nombreuses utilisations », [site Web], [Cinq choses à savoir sur le clou de girofle et ses nombreuses utilisations (ouest-france.fr)], (12 mai 2024), [En ligne].

[48] Pharmacopée européenne 5.0, [En ligne].

[49] RAYMOND C Rowe, PAUL J SHESKEY and MARIAN E Quinn. (2009). Handbook of pharmaceutical excipients. (6 eme edition), [En ligne].

[50] DANG, H. V., GRAY, A. I., WATSON, D., BATES, C. D., SCHOLES, P., & ECCLESTON, G. M. (2006). Composition analysis of two batches of polysorbate 60 using MS and NMR techniques. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 1155-1165., [En ligne].

[51] Pharmacopée Européenne (2017). (9ème Edition).

[52] SHARMA Tanu, PANDEY Krishna Kumar, TRIPATHI Manoj, Arun Upmanyu, (2024). Ultrasonic attenuation study of liquid mixtures of Propylene Glycol and DD water at various temperatures, Materials Today: Proceedings.

[53] PHILIPPOT Olivier. (2018). Fiche de données de sécurité de l'huile de vaseline 15 :26.

[54] GLICENSTEIN, J. (2007). Les premiers « fillers », vaseline et paraffine. Du miracle à la catastrophe. , 52(2), 157–161.

[55] POBIEGA Katarzyna. (2019). Comparison of the antimicrobial activity of propolis extracts.

[56] LAGNIKA, L. (2005). Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises (Doctoral dissertation, Strasbourg 1).

[57] BAGHIANI, A. et al. (2012). Studies of antioxidants and xanthine oxidase inhibitory potentials of rootand aerial parts of medicinal plant Capparis spinosa L. American journal of medicine andmedical sciences.

[58] SARR, SERIGNE Omar, FALL, ALIOUNE Dior, GUEYE, ROKHAYA, et al. (2015). Etude de l'activité antioxydante des extraits des feuilles de Vitex doniana (Verbenacea). International Journal of Biological and Chemical Sciences, vol. 9, no 3, p. 1263-1269.

[59] CHEURFA, M., & ALLEM, R. (2015). Évaluation de l'activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles d'Aloysia triphylla (L'Hérit.) d'Algérie in vitro.

[60]] KANKO, C., SAWALIHO, B. E.-H., KONE, S., KOUKOUA, G., & N'GUESSAN, Y. T. (2004), « Étude des propriétés physico-chimiques des huiles essentielles de Lippia multiflora, Cymbopogon citratus, Cymbopogon nardus, Cymbopogon giganteus. Comptes Rendus Chimie, 1039–1042. ».

[61] ABBAD, H., OULDAMER, S. (2016). Contribution à l'étude des effets antioxydants d'extrait éthanolique de propolis de la Wilaya de Sétif.51.

[62] BANKOVA, V., TRUSHEVA, B., & POPOVA, M. (2021). Propolis extraction methods: a review. Journal of Apicultural Research, 1–10.