République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE YAHIA FARES de Médéa

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés et Environnement



MEMOIRE DE MASTER

En vue d'obtention du diplôme de master en génie des procédés pharmaceutiques

Thème

Formulation d'une pommade anti-inflammatoire à base d'une huile végétale

Proposé et dirigé par :

Dr. TERKMANE Naila

Présentées par :

TCHALABI Meriem

MOKEDDEM Amira

Année Universitaire 2020 - 2021

Remerciement :

Avant toute chose nous remercions Allah le tout puissant de nous avoir accordé la force et les moyens afin de pouvoir réaliser ce travail.

Au terme de ce travail nous adressons tout d'abord nos sincères remerciements à:

Notre promotrice Dr. TERKMANE N, pour avoir dirigé ce travail et accepté d'encadrer, Pour ses conseils et ses orientations.

Nos remerciements vont particulièrement au président et membres de jury qui nous font l'honneur de juger ce travail.

Nous sommes très reconnaissantes envers les ingénieurs de laboratoire du hall technologie de l'université YAHIA Farès – Médéa.

Ainsi Mr OTHMANINE Khaled pour son aide, sa disponibilité et ses précieux conseils.

A tous les enseignants de la faculté de technologie et surtout les enseignants du département de Génie des Procédés et Environnement.

En fin, nous remercions, de tout cœur, tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

MERIEM et AMIRA



Avec l'aide de Dieu, tout puissant, j'ai pu réaliser ce modeste travail que dédie :

A mes parents ma mère et mon père.

Pour leur patience, leur soutien et leur encouragement.

A mon frère : ***MOHAMED***

A mes sœurs : ***NESSRIN*** *et* ***INES***

A tous les membres de ma famille, grande et petite.

A ma belle famille

A mon fiancé : ***REDHA***

Et à mon binôme : ***MERIEM***

Sans oublier tous les professeurs du primaire, du moyen et du secondaire, et de l'enseignent supérieur.

A tous mes amies.

MOKEDDEM AMIRA



Je remercie tout d'abord mon dieu le tout puissant qui m'a donné la volonté, la force et le courage pour réaliser ce modeste travail.

Je dédie ce mémoire

À mes chers parents ma mère et mon père

Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs encouragements. Les mots sont faibles pour exprimer la force de mes sentiments et la reconnaissance que je leur porte.

Mes chers parents aucune dédicace ne saurait exprimer mon grand amour pour vous.

À mes frères : ***ABDELKADER*** *et* ***YAHIA***

À ma sœur : ***FATMA ZOHRA*** *et son fille* ***RYMA***

Ainsi mon binôme ***AMIRA****.*

À mes camarades

Sans oublier tous les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.

A tous mes cousins et cousines, voisins et voisines, amis et amies.

A toute ma promotion de l'année 2020/2021

TCHALABI MERIEM

ملخص

يهدف هذا العمل إلى صياغة مرهم مضاد للالتهابات يعتمد على زيت نباتي طازج من الحبة السوداء يتم الحصول عليه بالضغط البارد للحبة السوداء ، وقد أعطى التوصيف الفيزيائي والكيميائي للزيت النباتي كثافة 0.919 ، ومعامل انكسار 1.4721 ، وعدد حمضي من 9.45 مجم KOH / جم HV ومؤشر تصبن بقيمة تساوي 207.57 مجم KOH / جم HV.
أعطت دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لزيت الحبة السوداء نسبة مئوية من تثبيط .. ..مما يدل على نشاط معتدل مضاد للأكسدة.

يتكون الجزء الثاني من العمل في صياغة مراهم كارهة للماء على أساس الفازلين أو البارافين أو زبدة الشيا .تم تحضير ..... ودراسة 15 تركيبة ، والصيغة المثلى التي تعطينا أفضل تأثير مضاد للالتهابات هي التي تتكون من

الكلمات المفتاحية: زيت نباتي، حبة سوداء مزروعة، خلاصة، مرهم، نشاط مضاد للالتهابات.

Résumé :

Ce travail a pour objectif la formulation d'une pommade anti-inflammatoire à base de l'huile végétale de nigelle fraiche obtenue par pression à froid des graines de nigelle, la caractérisation physico-chimique de l'huile végétale a donné une densité de 0.919, un indice de réfraction de 1.4721, un indice d'acide de 9.45mg KOH/g HV et un indice de saponification de valeur égale à 207.57mgKOH/g HV. L'étude de l'activité anti-oxydante de l'huile végétale de nigelle a donné un pourcentage d'inhibition de ……..indiquant une activité anti-oxydante modérée.

La 2ème partie du travail consiste à la formulation des pommades hydrophobes à base de la vaseline, la paraffine ou bien le beurre de karité. 15 formules ont été préparées et étudiées.la formule optimale qui nous donne le meilleur effet anti-inflammatoire est celle qui est composée de ……

Mots clés : huile végétale, nigelle cultivée, activité anti-oxydant, pommade, effet anti-inflammatoire.

Abstract:

This work aims to formulate an anti-inflammatory ointment based on fresh black seed vegetable oil obtained by cold pressing of black seed, the physico-chemical characterization of the vegetable oil gave a density of 0.919 , a refractive index of 1.4721, an acid number of 9.45 mg KOH / g HV and a saponification index of a value equal to 207.57 mgKOH / g HV. The study of the antioxidant activity of black seed oil gave a percentage inhibition of …… ..indicating moderate antioxidant activity.

The 2nd part of the work consists in the formulation of hydrophobic ointments based on petroleum jelly, paraffin or shea butter. 15 formulas have been prepared and studied. The optimal formula which gives us the best anti-inflammatory effect is the one which is composed of ……

Keywords: vegetable oil, cultivated black seed, antioxidant activity, ointment, anti-inflammatory effect

Tables des matières

Remerciement

Dédicace

Résumé

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Abréviations

Introduction générale **1**

Chapitre I : Huiles végétales

I.1.Introduction 1

I.2.Définition 4

I.3. Composition des huiles végétales 4

I.3.1. Compositions en acides gras 5

I.3.2. Autres nutriments 7

I.4. Procédés d'obtention des huiles végétales 8

I.4.1. Trituration 8

I.4.2. Raffinage 10

I.5. Plante « la Nigelle Cultivée (Nigella Sativa L.) » 10

I.5.1. Historique 10

I.5.2. Description botanique 11

I.5.3. Distribution géographique de la nigelle cultivée 12

I.5.4. Culture du Nigella Sativa L. 12

I.5.5. Composition chimique de la Nigelle cultivée 12

I.5.5.1. Protéines 13

I.5.5.2. Vitamines et les sels minéraux 14

I.5.5.3. Composition de l'huile fixe 15

I.5.5.4. Composition en l'huile essentielle 16

I.5.5.5. Saponosides 18

I.5.5.6. Polyphénols et flavonoïdes 19

I.5.5.7. Alcaloïdes 20

I.5.6. Utilisation de la Nigelle cultivée 21
I.5.7. Propriétés thérapeutiques de la Nigelle cultivée 23
I.5.7.1. Activité antioxydante 24
I.5.7.2. Effet anti-inflammatoire 25
I.5.7.3. Effets antibactériens 25
I.5.7.4. Effet antifongique 25
I.5.7.5. Autres actions biologiques de la nigelle cultivée 25

Chapitre II : Pommades dermiques

II.1. Introduction 28
II.2. Formulation des médicaments 28
II.2.1. Définition des médicaments 28
II.2.2. Définition de la formulation 28
II.2.3. Forme galénique des médicaments 29
II.2.3.1. Définition 29
II.2.3.2. Caractéristique des principales formes galéniques 29
II.3. Pommades dermiques 30
II.3.1. Définition 30
II.3.2. Classification des pommades 30
II.3.3. Critères de choix des Excipients 31
II.3.3. Préparation des pommades 32
II.3.4. La peau 33
II.3.4.1. Structure de la peau 33
II.3.4.2. Enjeux de l'application topique 35
II.3.4.3. Perméation à travers la peau 36
II.3.5. Caractérisation des pommades 37
II.3.6. Activité anti-inflammatoire des pommades 38
II.3.6.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) 38
II.3.6.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) 39
II.4. Conclusion 41

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III.1. Objectif du travail 43

III.2. Matériel et méthodes 43
III.2.1. Matériels 43
III.2.2. Méthodes 45
III.2.2.1. Caractérisation physico-chimique de l'huile végétale de Nigelle 46
III.2.2.2. Caractérisation structurale par spectroscopie FTIR de l'HV 50
III.2.2.3. Evaluation de l'activité antioxydant par DPPH 50
III.2.2.4. Pouvoir réducteur 52
III.2.2.5. Formulation de la pommade anti-inflammatoire 53
III.2.2.6. Caractérisation des pommades formulées 54
III.2.2.7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo 55

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV.1. Caractérisation organoleptique de l'HV 59
IV.2. Caractérisation physico-chimique de l'HV 60
IV.3. Caractérisation par spectroscopie FTIR 62
IV.4. Evaluation de l'activité antioxydant par DPPH 63
IV.5.Pouvoir réducteur 64
IV.6. La formulation de la pommade 64
IV.7. Optimisation des paramètres de formulation 65
IV.8.Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo 68
Conclusion général 72
Annexe 82
Références bibliographiques 74

Liste des figures

Figure I.1	Composition panoramique des corps gras et importance relative des principales classes de composés	**5**
Figure I.2	Classement de quelques huiles végétales par catégorie d'acide gras (saturés,monoinsaturés, polyinsaturés, linoléique et α-linoléique) – familles et sous-familles.	**6**
Figure I.3	Procédés d'obtention des huiles végétales à partir des graines oléagineuses.	**9**
Figure I.4	Différentes parties de la Nigelle cultivée « Nigella sativa L. »	**11**
Figure I.5	Structure des saponosides à hédéragénine isolés à partir des graines de Nigella Sativa L	**19**
Figure I.6	Structure chimique des trois flavonoïdes isolés de Nigella sativa L	**20**
Figure I.7	Structure chimique des principaux alcaloïdes de N. sativa L	**21**
Figure I.8	Schéma représentant : **(a)** Panch phoron , **(b)** Ras el hanout	**22**
Figure II.1	Origine, présentation et mode d'administration des médicaments	**29**
Figure II.2	Broyeur à cylindres (lisseuse)	**33**
Figure II.3	Schéma représentant la structure de la peau humaine	**34**
Figure II.4	Les processus d'absorption à travers la peau en fonction de différents facteurs, ainsi que différents résultats possibles	**36**
Figure II.5	Mécanisme d'action des AINS	**39**
Figure II.6	Mécanisme d'action des glucocorticoïdes. S: substrat (glucocorticoïde) → traversée membrane plasmique, R: récepteur, CBG : cortisol binding globulin (transcortine)	**40**
Figure II.7	Mécanisme d'action des glucocorticoïdes	**41**
Figure III. 1	Centrifugation de l'huile de Nigelle achetée	**46**

Figure III.2	le pycnomètre	**47**
Figure III.3	Réfractomètre d'Abbe utilisé pour mesurer l'indice de réfraction.	**48**
Figure III.4	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	**51**
Figure III.5	Souris blanches utilisées dans notre étude, la race swisse	**57**
Figure III.6	Mesure des pattes des souris à l'aide d'un pied à coulisse numérique.	**57**
Figure IV.1	HN avant et après la centrifugation	**59**
Figure IV.2	Détermination d'indice d'acide. Apparition de la coloration rose	**61**
Figure IV.3	Détermination d'indice de saponification. La solution titrée	**61**
Figure IV.4	Spectre FTIR de l'huile végétale la Nigelle Cultivée	**62**
Figure IV.5	Réaction d'une molécule antioxydante avec le radical DPPH	**63**
Figure IV.6	Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de différentes concentrations de l'acide férulique	**63**
Figure IV.7	la densité optique du réactif de folin en fonction de différentes concentrations de l'acide férulique.	**64**
Figure IV.8	pommade formulée qui contient la vaseline	**66**
Figure IV.9	pommade formulée qui contient la paraffine	**66**
Figure IV.10	pommade formulée qui contient le beurre de karité	**67**
Figure IV.11	Graphe qui montre l'évolution des épaisseurs des pattes, pour les 4 lots.	**69**

Liste des Tableaux

Tableau I.1	Composition chimique des graines de Nigella sativa L	***13***
Tableau I.2	Répartition en acides aminés des protéines de graines de Nigella sativ	***14***
Tableau I.3	Composition en oligo-éléments des graines de Nigella sativa	***15***
Tableau I.4	Principaux phospholipides constituants l'huile fixe de Nigella sativa	***16***
Tableau I.5	Composition de l'huile essentielle de graine de Nigella sativa cultivé en Tunisie	***17***
Tableau I.6	Composition chimique de l'huile essentielle de Nigella sativa cultivée en Iran	***18***
Tableau II.1	Classification des excipients pour la préparation des pommades	***31***
Tableau III.1	Matériels utilisés	***44***
Tableau III.2	Produits chimiques utilisés	***44***
Tableau III.3	Différentes concentrations d'acide férulique (AF) utilisées	***51***
Tableau III.4	Différentes expériences réalisées avec l'HN	***52***
Tableau III.5	Différentes concentrations d'AF utilisées dans l'expérience	***52***
Tableau III.6	Différentes formulations préparées à base de la vaseline	***54***
Tableau III.7	Différentes formulations préparées à base de la paraffine	***54***
Tableau III.8	Différentes formulations à base du beurre de karité	***55***
Tableau IV. 1	Propriétés organoleptiques d'huile végétale de la Nigelle cultivée	***59***
Tableau IV. 2	Résultats de la caractérisation physico-chimique de l'HN	***61***
Tableau IV. 3	Les valeurs d'absorbance de (HV+DPPH)	***64***
Tableau IV. 4	lot (1) : mis en évidence de l'effet phlogogène de la carragéenine.	***68***
Tableau IV. 5	lot (2) : Témoin négatif de l'effet phlogogène de la carraghénine	***68***
Tableau IV. 6	Lot (3) : mis en évidence de l'effet anti inflammatoire de la pommade formulée	***68***
Tableau IV. 7	Lot (4) : mis en évidence de l'effet anti inflammatoire de la pommade commercial	***69***

Liste des symboles et des abréviations

AAE : *les acides aminés essentiels.*

AANE : *les acides aminés non essentiels.*

ACTH: *Adreno Cortico Trophic Hormone*

ADN: *Acide disoxyribonucléique*

AFNOR : *Association française de normalisation.*

AGMI : *les acides gras monoinsaturés.*

AGPI : *les acides gras polyinsaturés.*

AGS : *les acides gras saturés.*

AINS *: Anti-inflammatoires non stéroïdiens.*

AIS : *Anti-inflammatoires stéroïdiens.*

CCL4 : *tétrachlorométhane*

COX *: Cyclooxygénases*

CPG : *chromatographie en phase gazeuse.*

CPG-SM : *spectrométrie de masse.*

DO : *Densité optique*

DPPH : *2,2-diphényle 1-picrilhydrazyl*

FTIR : *Spectroscopie infrarouge à transformé de fourrier*

HECSI: *hand eczema seventy index.*

HPLC : *chromatographie en phase liquide à haute performance.*

HV : *Huile végétale.*

IL *: Interleukines.*

LDL (low density lipoprotein) : *les lipoprotéines de basse densité.*

M : *Molarité (mol/L)*

pH: *potentiel hydrogène.*

PGD2 *: Prostaglandine D 2.*

PGE2 *: Prostaglandine E 2.*

T : *Température (°C).*

Symboles

$\boldsymbol{A_C}$ ***:*** *Absorbance de contrôle.*

$\boldsymbol{A_E}$ ***:*** *Absorbance de l'échantillon*

$\boldsymbol{d_{20}}$ ***:*** *Densité relative*

$\boldsymbol{I_A}$ *Indice d'acide (mg KOH/g HV)*

$\boldsymbol{I_E}$ *Indice d'ester (mg KOH/g HV)*

$\boldsymbol{I_S}$ *Indice de saponification (mg KOH/g HV)*

$\boldsymbol{n_D^{20}}$ *Indice de réfraction*

Introduction Générale

Introduction générale

L'homme est toujours émerveillé par la beauté de la couleur des plantes et la forme de leurs fruits. Il les considère comme des compagnes fidèles vers lesquelles il se retourne en raison des bienfaits qu'elles procurent et pour leur grande utilité. Ce sont de vraies panacées et de véritables pharmacies naturelles.

Des remèdes traditionnels à base de plantes ont été longtemps employés, sans savoir à quoi étaient dues leurs actions bénéfiques ni connaitre les molécules responsables de l'action pharmacologique. **[1]**

La nigelle a occupé une place spéciale pour son grand spectre d'application médicale dans la civilisation islamique, jusqu'à l'arrivée des techniques modernes qui ont réussi à prouver les vertus thérapeutiques des graines de cette plante.**[2]**

L'huile de nigelle est douée de plusieurs propriétés. Elle est riche en acide gras insaturés et polyinsaturés, de vitamines et de minéraux. Ses propriétés semblent donc bien résumées par cette phrase de prophète **MOHAMMED** extrait des recueils de hadith : ‹‹ l'huile de cumin noir guérit toutes les maladies sauf la mort ››. **[3]**

Les grains de Nigella Sativa L., ou la nigelle cultivée est l'une des plantes médicinales qui occupent une place particulière dans la médecine traditionnelle à cause des utilisations thérapeutiques contre plusieurs pathologies notamment comme antidiabétique, antihypertenseur, anti-inflammatoire et antimicrobiennes. **[4]**

Dans ce présent travail, on s'intéresse à la caractérisation de l'huile végétale de la nigelle cultivée obtenue par pression à froid, ainsi que la formulation d'une pommade anti-inflammatoire à base de cette huile. Cette étude est divisée en deux parties :

- Dans la première partie, une analyse bibliographique concernant les travaux antérieures réalisées sur la Nigelle cultivée est présentée, elle est constituée deux chapitres : le premiers chapitre donne des généralités sur la Nigelle cultivée notamment la description de la plante, sa composition chimique ainsi que les applications de l'huile végétale de Nigelle. Le deuxième chapitre est consacré aux pommades notamment les pommades anti-inflammatoires.

- La Deuxième partie est une partie expérimentale qui est subdivisée en deux chapitres. Dans le chapitre trois, on présente l'ensemble du Matériels ainsi que les méthodes réalisées dans l'étude expérimentale notamment la caractérisation physico-chimique de l'huile, évaluation de l'activité antioxydant par DPPH, détermination du pouvoir réducteur, l'optimisation des paramètres de la formulation de pommade en présence de l'huile végétale et l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo de la pommade formulée. Le chapitre quatre est réservé aux résultats obtenus ainsi que leur interprétation.

Le travail est achevé par une conclusion générale qui regroupe tous les résultats trouvés et ouvre des perspectives qui peuvent être utiles dans le futur.

CHAPITRE I

Huiles végétales

I.1. Introduction

Les huiles végétales représentent un vaste ensemble très varié de corps gras d'origine, de composition, de qualité et de gouts différents. Celle-ci sont présentées selon leurs caractéristiques physico-chimiques, leur mode de fabrication, leur composition (en acides gras, en vitamines et en composés mineurs), ainsi que leur intérêt nutritionnel et leurs usages. **[5].**

I.2. Définition

L'huile végétale est comme n'importe quelle autre huile, un corps gras. Mais sa particularité tient dans le fait qu'elle est extraite d'une plante (origine végétale) et non issue d'une viande ou d'un poisson (origine animale) :

- Les plantes capables de fournir une huile végétale sont dites oléagineuses. C'est soit de leurs fruits, de leurs graines ou de leurs noix (tous riches en lipides) que l'on tire ce macérat huileux appelé aussi beurre végétal.
- Parmi les nombreux exemples d'huiles végétales, on trouve l'huile de noix, l'huile de macadamia, l'huile d'amande, l'huile de noisette, l'huile d'argan, l'huile de tournesol, l'huile de colza ou encore l'huile de palme.
- Les principales caractéristiques d'une huile végétale sont les suivantes : nutritive, lubrifiante, énergétique, riche en vitamine E, D, A, en acides gras insaturés essentiels, acides gras monoinsaturés, en oméga-3, 6 et 9 **[6]**.

I.3. Composition des huiles végétales

Un corps gras (huile ou graisse) est composé d'une grande variété de constituants que (la figure I.1) présente de façon panoramique ; les triglycérides sont les composants majoritaires (95-99 %), ils sont composés de glycérol (3-5 %) et d'acides gras (90-95 %). D'autres constituants sont naturellement présents en plus faible quantité : des lipides à caractère polaire tels que les phospholipides (0,1-0,2 %) et des composés dits insaponifiables appartenant à une fraction non glycéridique (0,1 à 3 %) principalement représentés par les stérols et les tocophérols et tocotriénols mais contenant également des caroténoïdes, des alcools terpéniques, du squalène, des composés phénoliques, etc. **[7]**

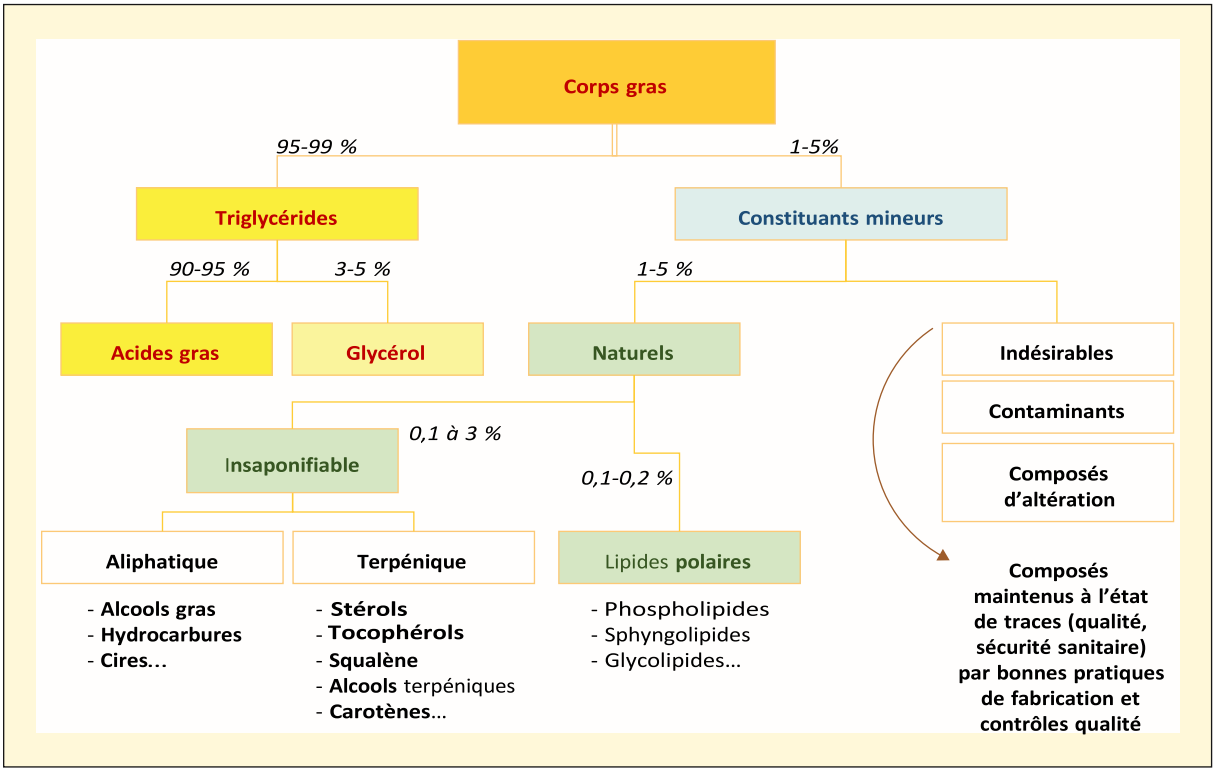
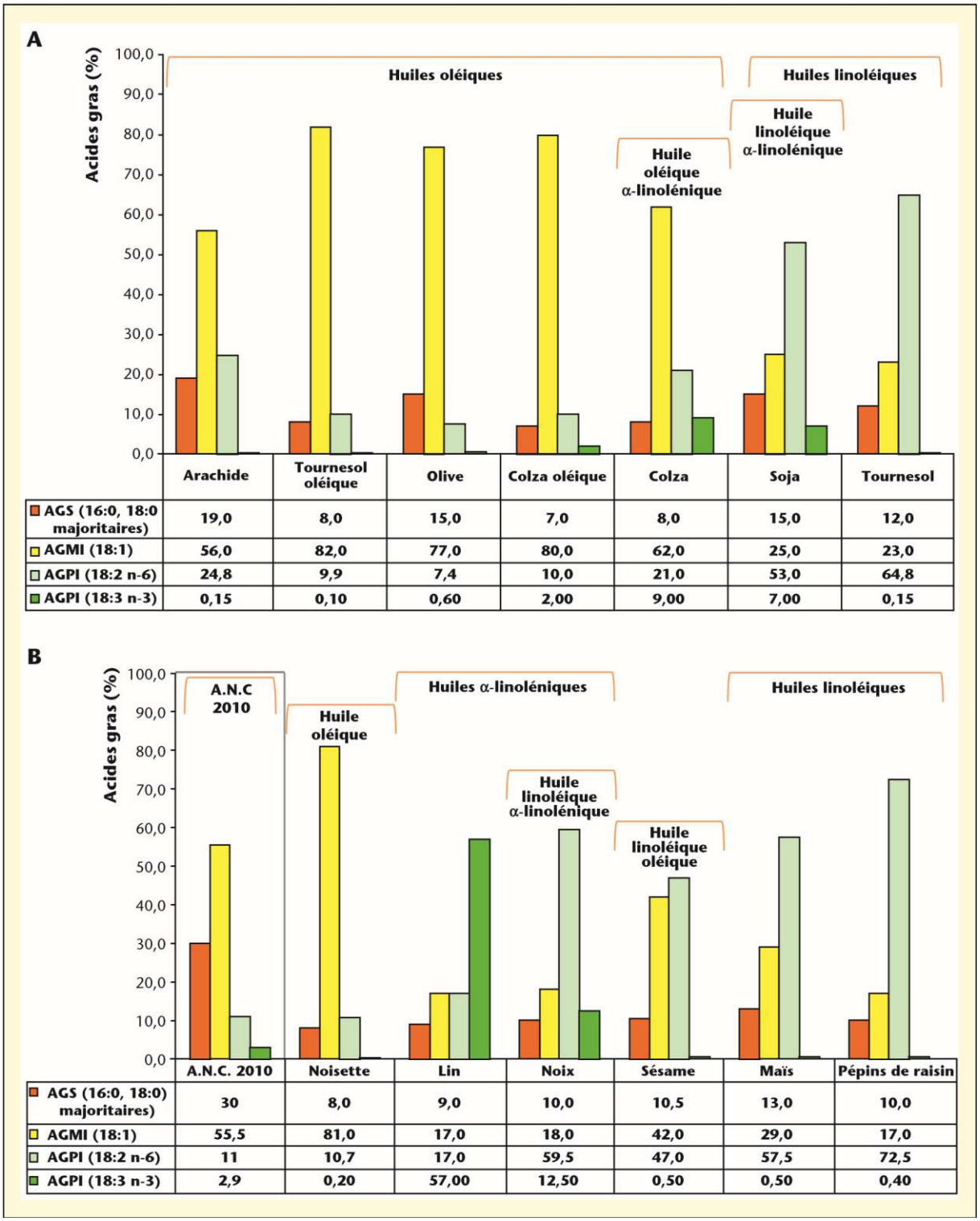


Figure I.1 : Composition panoramique des corps gras et importance relative des principales classes de composés **[7]**

I.3.1. Compositions en acides gras

Selon leurs compositions en acides gras, les corps gras d'origine végétale (huiles, graisses, beurres végétaux) se répartissent en quatre principales familles (figure I. 2-A et B) :

- Famille oléique où cet acide gras (représente les acides gras monoinsaturés (AGMI)) est majoritaire dans : l'huiles d'olive, l'huile d'arachide, l'huile de noisette, les variétés de tournesol et de colza riches en acide oléique et l'huile de colza elle-même ;
- Famille linoléique où cet acide gras (C18 :2 omega-6) (acide gras polyinsaturé (AGPI)), est majoritaire dans : l'huiles de soja, l'huile de tournesol, l'huile de germe de maïs et de pépins de raisin
- Famille α-linolénique où cet acide gras (C18:3 omega-3/AGPI) est présent en quantité significative dans: l'huiles de colza, l'huile de soja, ainsi que l'huile de noix et de lin où il représente le composé majoritaire ; **[7]**



	Arachide	Tournesol oléique	Olive	Colza oléique	Colza	Soja	Tournesol
AGS (16:0, 18:0 majoritaires)	19,0	8,0	15,0	7,0	8,0	15,0	12,0
AGMI (18:1)	56,0	82,0	77,0	80,0	62,0	25,0	23,0
AGPI (18:2 n-6)	24,8	9,9	7,4	10,0	21,0	53,0	64,8
AGPI (18:3 n-3)	0,15	0,10	0,60	2,00	9,00	7,00	0,15

	A.N.C. 2010	Noisette	Lin	Noix	Sésame	Maïs	Pépins de raisin
AGS (16:0, 18:0) majoritaires)	30	8,0	9,0	10,0	10,5	13,0	10,0
AGMI (18:1)	55,5	81,0	17,0	18,0	42,0	29,0	17,0
AGPI (18:2 n-6)	11	10,7	17,0	59,5	47,0	57,5	72,5
AGPI (18:3 n-3)	2,9	0,20	57,00	12,50	0,50	0,50	0,40

Figure I.2 : Classement de quelques huiles végétales par catégorie d'acide gras (saturés, monoinsaturés, polyinsaturés, linoléique et α-linoléique) – familles et sous-familles. **[7]**

Un corps gras est ainsi un ensemble complexe de constituants dont les fonctionnalités sont directement liées aux compositions et aux structures moléculaires. Les acides gras eux-mêmes se

distinguent par leur longueur de chaine, leur nombre de doubles liaisons, la position sur la chaine hydrocarbonée et la configuration spatiale de ces insaturations; les principales propriétés des acides gras sont liées à leur insaturation : plus elle élevée, plus le point de fusion diminue (augmentation de la fluidité), plus leur intérêt physiologique s'accroit tout comme leur réactivité chimique ce qui joue négativement sur la stabilité, notamment par une plus grande susceptibilité à l'oxydation. La géométrie des insaturations influence également le comportement à la fusion : à longueur de chaine équivalente, un isomère trans d'acide gras aura ainsi un point de fusion intermédiaire entre ceux de son isomère cis et de l'acide gras saturé correspondant (acide stéarique, acide oléique, acide élaïdique) **.**

La structure des triglycérides qui correspond à la nature et à la position des acides gras sur le glycérol constitue de fait la composition réelle du corps gras et conditionne ses propriétés physiques (fusion, solidification) et rhéologiques, chimiques et nutritionnelles **[7]**.

I.3.2. Autres nutriments

Il existe des autres nutriments qui sont :

- Les tocophérols et les tocotriénols (ou torcols) (regroupés sous le nom générique de vitamine E), sont deux grandes familles présentant chacune quatre formes différentes qui n'ont pas toutes la même activité biologique : pour les tocophérols la forme α est la plus active (100 %), les formes β et γ- tocophérols présentent des activités plus faibles (respectivement 50 % et 10 %) et la forme delta ne possède qu'un très faible pouvoir vitaminique E. Ils jouent un rôle d'anti-oxydant biologique, protecteur des acides gras polyinsaturés au niveau des membranes cellulaires et des lipoprotéines. Leur pouvoir antioxydant est reconnu et contribue à protéger de nombreux produits formulés (additifs E306 à E309) et les huiles végétales qui en contiennent naturellement.
- Les phytostérols : toutes les huiles végétales en contiennent (de 0,1 à 0,5 % en moyenne) et leur structure moléculaire présente de fortes analogies avec le cholestérol. Elles sont apportées en quantité suffisante par l'alimentation (de 2 à 3 g/j).
- Les caroténoïdes sont des pigments lipophiles sensibles à la lumière (rayonnement ultraviolet) et à la chaleur, précurseurs, tout particulièrement le Trans-β-carotène, de la vitamine A (rétinol). Leur structure moléculaire leur confère dans certaines conditions (oxydation par photosensibilisation) un pouvoir antioxydant par désactivation de l'oxygène active (forme singulet)

❖ Les ubiquinones ou coenzymes Q (CoQ6, 9, 10) possèdent des propriétés d'antioxydant biologique au sein des cellules soit en inhibant la peroxydation soit en régénérant d'autres antioxydants tels que les tocophérols ; ces molécules auraient ainsi un rôle protecteur vis-à-vis de la dégradation oxydative des LDL- lipoprotéines, contribuant à réduire le risque cardiovasculaire. **[8]**

I.4. Procédés d'obtention des huiles végétales

I.4.1. Trituration

L'extraction des huiles de graines ou de fruits oléagineux, ou trituration, regroupe les opérations mécaniques et/ou chimiques qui vont conduire au déshuilage en optimisant le rendement et la qualité de l'huile obtenue (figure I.3). Si le procédé n'emploie que des opérations mécaniques (pression), les huiles peuvent être qualifiées de vierges ; elles peuvent aussi être ultérieurement raffinées partiellement (par exemple, désodorisées) ou totalement (huiles de pression raffinées) **.**

La très grande majorité des huiles produites suit un process comportant en plus une étape d'extraction par solvant à partir du résidu de pression, appelé tourteau de pression. Pour certaines graines considérées comme peu riches en huile (< 25 %), telles que le soja ou le coton, l'étape de pré-pression mécanique n'est pas nécessaire ; l'huile produite ainsi par extraction au solvant doit systématiquement être raffinée **[7]**.

La qualité de la matière première (graine ou fruit) en entrée de process est essentielle pour pouvoir garantir la qualité de l'huile produite. Les oléagineux doivent donc être stockées le moins longtemps possible (surtout pour les fruits à cause de leur teneur en eau qui limite la conservation) dans de bonnes conditions (température, humidité faible, aération) pour éviter hydrolyse et oxydation **[9]**.

Le mode d'obtention, par pression avec ou sans conditionnement thermique des graines influence l'aspect (couleur) et les teneurs en phospholipides et en constituants mineurs : la pression à froid favorise l'extraction des triglycérides en limitant celle des phospholipides (PL) contrairement à une pression avec conditionnement thermique qui augmente les quantités extraites de PL **[7]**.

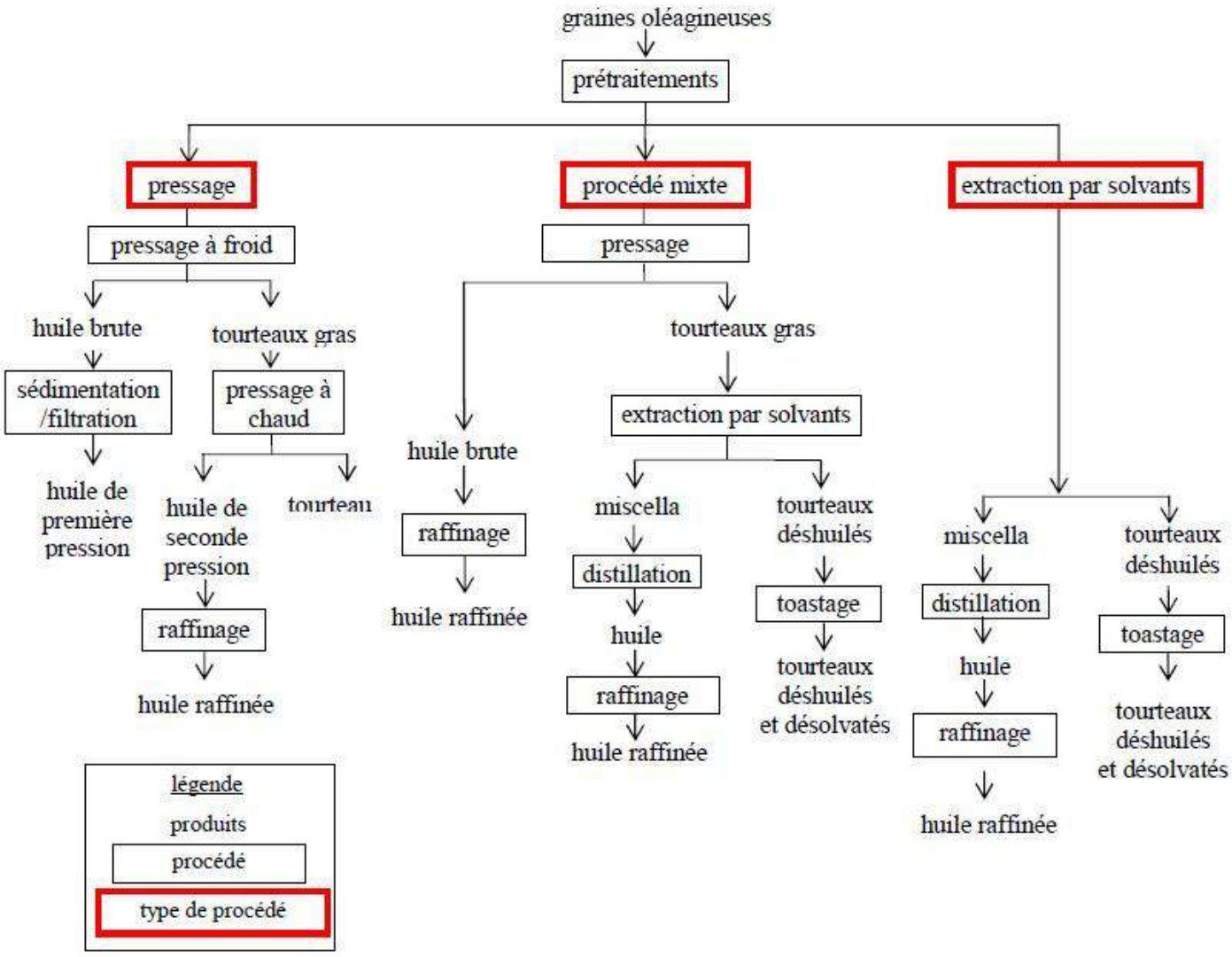


Figure I.3 : Procédés d'obtention des huiles végétales à partir des graines oléagineuses. **[10]**

I.4.2. Raffinage

Le raffinage a pour but de maintenir ou d'améliorer les caractères organoleptiques (gout et odeur neutres, limpidité, couleur jaune clair), nutritionnels et la stabilité des corps gras. Pour ce faire, il met en œuvre plusieurs étapes pour éliminer des composés indésirables (gommes, cires, acides gras libres, pigments, traces métalliques, composés odorants volatils) et les contaminants potentiellement étapes de décoloration et de désodorisation (ou DN) sont souvent importantes sinon décisives**. [11]**

I.5. Plante « la Nigelle Cultivée (Nigella Sativa L.) »

I.5.1. Historique

La nigelle cultivée (*Nigella Saiva L.*) est une plane connue depuis l'antiquité, ses graines ont été découvertes dans la tombe de « Tout Ankh Amon ». Le médecin grec Dioscorides la préconisait contre les céphalées, les douleurs dentaire et abdominales et pour combattre l'écoulement nasal **[12]**.

Les romains qui avaient connaissance de la nigelle, ou « coriandre grecque » la considéraient comme complément alimentaire **[13]**. Chez les grecs anciens (Hippocrate et Galien), la nigelle était considérée comme un remède précieux dans les traitements des affections hépatiques et digestives **[14]**.

Dans la bible, la nigelle cultivée est identifiée comme étant « le cumin noire curatif ». Par ailleurs, et pour l'école arabe de médecine, notamment pour Avicenne, auteur de canon de la médecine, la nigelle cultivée est un stimulant de l'énergie de l'organisme et aide à la récupération en cas de fatigue ou d'abattement.

Boukhari, auteur d'Al-tibb al-nabawi cite le prophète (QSSL) « soignez-vous en utilisant la graine de nigelle c'est un remède contre tous les maux à l'exception de la mort » **[13]**.

Né près de Boukhara en Perse (actuel Ouzbékistan), Abu Ali Al-Hussein Ibn Abdallah Ibn Sina, connu sous le nom d'Avicenne (980-1037), traite de la nigelle dans son ouvrage « le Livre de la guérison de l'âme » ou « Kitab Al-Chifâ ». Il conseillait de griller les graines et de les réduire en poudre, puis de placer cette préparation dans une bourse en tissu et d'inhaler quotidiennement pour désobstruer les voies nasales, selon le même principe qu'un vaporisateur. Avicenne préconisait aussi la nigelle dans la dyspnée et dans le traitement de l'asthme et des bronchites. Cette même préparation, prise avec de l'eau bouillie, possède des

actions diurétiques et dissolvantes des calculs rénaux. D'autre part, la prise de l'huile de nigelle avec de l'huile d'olive était très réputée comme aphrodisiaque.

Les graines de N. sativa, pulvérisées et utilisées en cataplasme avec du vinaigre, auraient une action résolutive dans les pustules et la gale surinfectée et auraient une action virucide, si on ajoute du miel. Enfin, les médecins arabes connaissaient la toxicité de N. sativa à forte dose. De ce fait, ils recommandaient de ne pas dépasser une dose unitaire d'un demi-Dirham (1,62 g) et une dose journalière de deux Dirhams (6,48 g) **[15]**.

I.5.2. Description botanique

Originaire d'Asie occidentale, Nigella sativa est une plante annuelle herbacée atteignant une soixantaine de centimètres de hauteur. La tige est dressée, rameuse, côtelée et anguleuse.

Les feuilles pennatiséquées, divisées en lobes étroits, sont lancéolées à linéaires et présentent des onglets nectarifères. Elles ressemblent à des pattes d'araignée ou bien s'apparentent au fenouil (Figure I.4), d'où son surnom « fleur de fenouil ». Les feuilles inférieures sont petites et pétaloïdes et les supérieures sont longues. Elles sont disposées en face à face.



Figure I.4 : Différentes parties de la Nigelle cultivée « Nigella sativa L. » **[16]**.

La plante est hermaphrodite, le fruit est une capsule globuleuse, formée de 3 à 6 carpelles soudés entre eux jusqu'à la base. Chaque capsule contient plusieurs graines triangulaires blanchâtres qui noircissent à maturité, après exposition à l'air **[17]**.

La Nigelle cultivée est surtout reconnue pour ses graines oléagineuses, dont la saveur est âcre et piquante. Ses graines sont ovoïdes, mesurant de 2 à 3,5 mm. Elles présentent 3 à 4 angles avec une face supérieure finement granuleuse et réticulée. Au broyage, elles dégagent une odeur fortement aromatique, tenant du poivre et de l'anis et aussi de la noix de muscade **[18]**.

I.5.3. Distribution géographique de la nigelle cultivée

La graine de nigelle est une plante qui pousse une fois par un et qui est considérée comme une plante indigène de la Méditerranée mais qui a été cultivée dans d'autres régions du monde comme en Arabie Saoudite, en Inde, en Syrie, en Afrique du Nord et dans certaines régions d'Asie.

La nigelle est cultivée un peu partout en Algérie. Les régions de la Mitidja et du Sahel en sec, ainsi que les régions d'Adrar, de Touggourt et l'Oranais en irrigué lui conviennent bien. **[19]**

I.5.4. Culture du Nigella Sativa L.

N. sativa est originaire d'Asie occidentale. Sa culture s'est propagée depuis l'Asie jusqu'en Afrique. Elle se trouve très répondue en Inde, en Iraq et dans certains pays de la méditerranée, notamment la Syrie, la Turquie et les pays d'Afrique du nord **[20].**

Les graines sont semées en général au printemps, elles commencent leur germination dans les trois à quatre semaines. Après environ six mois de croissance végétative, la floraison apparaît et les graines continuent leur maturation pendant un bon mois encore. Dès le jaunissement des feuilles, le brunissement des follicules, la récolte peut être faite à l'automne pour séchage à l'ombre **[21]**.

I.5.5. Composition chimique de la Nigelle cultivée

La composition générale des graines de N. sativa (Tableau I.1) montre la présence d'une diversité de substances naturelles regroupant des lipides, des dérivés terpéniques, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des saponines. N. sativa constitue également une importante source de protéines et de sels minéraux : phosphore, calcium, potassium, magnésium et sodium **[15]**. Les valeurs et proportions fournies par la littérature diffèrent

d'un auteur à l'autre ; la variété et l'origine des échantillons peuvent en être partiellement responsables. Une approximation de la composition est donnée dans le tableau I.1.

Tableau I.1 : Composition chimique des graines de Nigella sativa L., **[22]**

Constituant	***Quantité (%)***
Lipides	*31-35.5*
Protéines	*16-19.9*
Glucides	*33-34*
Fibres alimentaires	*4,5-6,5*
Sels minéraux	*3,7-7*
Saponines	*0,013*

I.5.5.1. Protéines

Les graines de Nigella sativa contiennent en moyenne 18% de protéines (Tableau I.1). La composition en acides aminés figure sur le Tableau I.2. Les protéines de la graine de Nigelle sont composées de 17 acides aminés dont 8 sont des acides aminés essentiels. L'acide aminé majeur est l'acide glutamique, suivi par l'arginine, l'acide aspartique, la leucine et la glycine. Ces constituants majeurs représentent plus de 54% des acides aminés totaux. La protéine la plus étudiée jusqu'à maintenant est la lipase qui catalyse des réactions de transestérification **[23]**.

Tableau I.2: Répartition en acides aminés des protéines de graines de Nigella sativa L. **[24]**

Acides Aminés	**% de contribution à l'apport protéique**
Acides aminés essentiels (AAE)	
Leucine	5,82
Valine	4,61
Lysine	4,04
Thréonine	3,65
Phénylalanine	3,61
Isoleucine	3,46
Histidine	3,35
Méthionine	1,65
total AAE	**30,19**
Acides aminés non essentiels (AANE)	
Acide glutamique	24,74
Arginine	9,19
Acide aspartique	8,94
Glycine	5,61
Proline	4,90
Sérine	4,31
Alanine	3 ,73
Tyrosine	3,59
Cystine	1,96
total AANE	**69,81**

I.5.5.2. Vitamines et les sels minéraux

Une étude menée en Egypte sur la composition de Nigella sativa L. révèle la présence de teneurs intéressantes en vitamines B1, B2, B6, PP et en acide folique **[25]**.

Dans une autre étude menée en 2002, les tocophérols totaux constituent 0,05% de l'huile, et sont constitués majoritairement de l'α-tocophérol (48%) et du γ-tocophérol (28%). D'autres vitamines ont pu également être identifiées : les vitamines liposolubles, la vitamine A (0,05%) et la vitamine K (0,1%) **[26].**

Dans une étude ultérieure, Al-Saleh et al. **[27].** Ont affirmé après analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) que les teneurs en α et γ-tocophérols sont relativement élevées : de 5,65 à 11,39 et de 2,26 à 6,95 mg/kg respectivement alors que celle de all-trans-rétinol (vitamine A) est très faible de 0 à 0,54 mg /kg de graines. La composition en minéraux figure sur le Tableau I.3 **[27]**.

Tableau I.3 : Composition en oligo-éléments des graines de Nigella sativa d'après **[28]**

Minéraux	**Valeur nutritive pour 100g**
Potassium	808 mg
Calcium	570 mg
Phosphore	543 mg
Magnésium	265 mg
Sodium	17,6 mg
Fer	9,70 mg

I.5.5.3. Composition de l'huile fixe

L'extraction de l'huile se fait après broyage des graines par pression à froid ou à l'aide d'un solvant organique. L'huile obtenue par pression à froid est de couleur jaune doré, alors que celle extraite par solvant est jaune brunâtre ; ceci serait dû à la capacité du solvant à extraire les pigments liposolubles et les oléorésines présentes dans les graines de Nigelle **[29]**.

L'huile végétale de Nigelle représente entre 37.9% - 39.2% du poids de la graine. Elle est constituée principalement de lipides neutres 96.1% - 97.2%, de lipides polaires 3% et de phospholipides 0.32%-1.05% [38]. Cette huile renferme également des phospholipides, des glycolipides et des stérols. L'analyse des phospholipides (PL) par HPLC a permis d'identifier principalement sept constituants qui sont regroupés dans le Tableau I.4.

Tableau I.4 : Principaux phospholipides constituants l'huile fixe de Nigella sativa **[26]**.

Phospholipide	**% des phospholipides dans l'huile fixe**
Phosphatidyl choline	46
Phosphatidyl éthanolamine	25
Phosphatidyl sérine	12
Phosphatidyl inositol	9.56
Lysophosphatidyl choline	4.23
Phosphatidyl glycérol	1.51
Lysophosphatidyl éthanolamine	1.2

I.5.5.4. Composition en l'huile essentielle

L'huile essentielle de Nigelle représente entre 1.4 -1.9% du poids de l'huile fixe et 0.18 à 0.50% du poids des grains **[30]**.

Selon l'étude réalisée par Benkacie et al. en 2006, L'huile essentielle de N. sativa cultivée au Sahara algérien (Timimoune et Adrar), extraite par deux méthodes différentes ; l'hydrodistillation et distillation par micro-onde a été analysée par CPG et CPG-SM (Chromatographie en phase gazeuse - Spectrométrie de Masse), 112 composés ont été identifiés et caractérisés, et le p-cymène représente le composé le plus abondant, suivi de la thymoquinone **[31]**.

Toma et al. Ont réalisé la séparation des différents constituants de l'huile essentielle de graines de Nigella sativa en provenance de Tunisie. La séparation est effectuée par CPG-SM. Les composants ont été identifiés par leur temps de rétention et par comparaison de leur spectre de masse par rapport à ceux des produits de référence. Une trentaine de composants ont ainsi été déterminés et sont répertoriés dans le Tableau I.5 **[32]**.

Tableau I.5: Composition de l'huile essentielle de graine de Nigella sativa cultivé en Tunisie **[32]**.

N° de pic	Temps de rétention (Min)	Composants	(%)
1	7.401	α-pinène	13.75
2	8.160	Camphène	Tr
3	8.746	β-pinène	3.00
4	8.924	Sabinène	1.66
5	9.452	β-Myrcène	0.94
6	9.992	α-terpinène	Tr
7	10.358	Limonène	2.55
8	11.179	Ethyl hexanoate	0.96
9	11.387	γ-terpinène	1.40
10	11.587	p-cymène	43.58
11	12.260	Terpinolène	9.08
12	15.644	Heptanal	Tr
13	15.917	Ethyl heptanoate	1.18
14	16.172	Ethyl ectanoate	Tr
15	16.646	Junipène	2.41
16	17.132	Bornyl acétate	Tr
17	17.381	Terpinène-4-ol	4.25
18	18.009	α-longipinène	0.95
19	18.969	Estragole	0.91
20	19.675	α-amorphène	0.62
21	20.368	Germacrène	1.06
22	20.610	α-bisabolène	Tr
23	20.983	L-carvénol	0.79
24	25.315	Ethyl tetradécanoate	2.12
25	25.870	Thymol	1.67
26	30.904	Carvacrol	2.53

27	31.992	Ethyl héxadécanoate	Tr
28	35.140	Thymoquinone	1.65
29	35.989	Ethyl octadécanoate	0.84
30	37.847	Ethyl oléate	0.64

Selon Kasemi et al., l'huile essentielle des grains de N. sativa (cultivée en Iran) obtenue par hydrodistillation a été isolée avec un rendement élevé (0,84%). Les résultats analysés par CPG-SM indiquent que l'huile essentielle est principalement constituée de monoterpènes (Tableau I.6) [**33]**.

Tableau I.6 : Composition chimique de l'huile essentielle de Nigella sativa cultivée en Iran **[33]**.

Composants	**%**	**Composants**	**%**
α-Thujène	6	γ-Terpinène	5.12
α-Pinène	1.11	Terpinolène	0.23
Camphène	11	Camphor	1
Sabinène	1	Borneol	0.43
β-pinène	7	Carvone	0.32
β-myrcène	0.21	Thymoquinone	20.32
α-phellandrène	0.45	Thymol	10.12
Limonène	0.13	Carvacrol	10
p-Cymène	22.05	Longicyclène	0.9

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à reproduire des substances naturelles très diversifiées. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides), ils accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente mais qui représente une source importante de molécules utilisables par l'Homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie ou l'agroalimentaire **[34].**

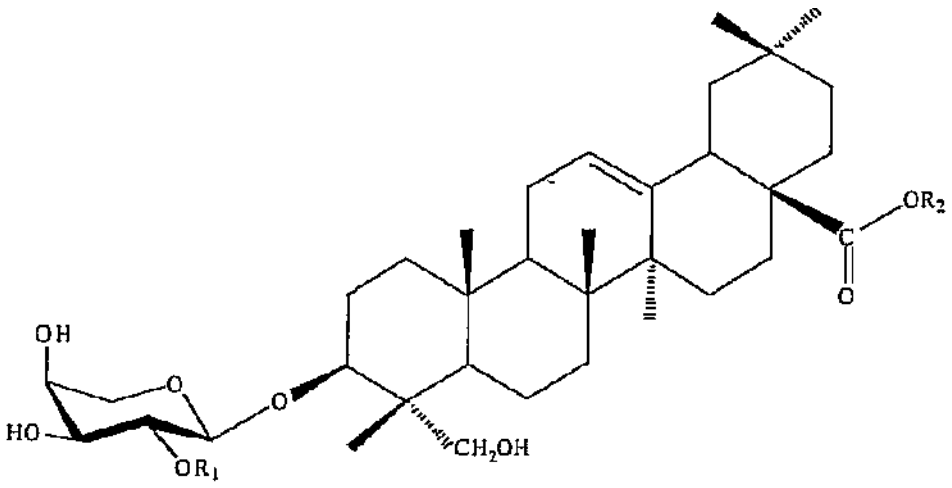
I.5.5.5. Saponosides

Les saponosides sont des hétérosides de stérols ou de triterpènes. Ce sont des composés très répandus dans le règne végétal. Solubles dans l'eau, ils libèrent par hydrolyse un ou plusieurs oses et une génine (sapogénine). La première saponine isolée par Greenisch en

1882 à partir des graines de N. sativa est la mélianthine, dont l'aglycone est l'hédéragénine **[34]**.

Récemment, d'autres saponosides ont pu être isolés à partir d'un extrait éthanolique des graines de N. sativa dont le 3-O-[beta-D-xylopyranosyl-(1-3) -alpha-L-rhamnopyranosyl-(1-2) alpha-L-arabinopyranosyl]-2 **[31]**, alors que de nombreux autres saponosides ont pu être déterminés à partir des huiles de N. sativa L.

Une autre étude menée par Taşkin et al. a permis d'isoler à partir de l'extrait méthanolique trois autres saponosides apparentés à l' α-hédérine, avec l'élucidation de leurs structures par des méthodes chimiques et spectrales (figure I.5) **[35].**



Compound	R_1	R_2
1	β-D-xyl(1→3)-α-L-rha	α-L-rha(1→4)–β-D-glu-(1→6)- β-D-glu
2	α-L-rha	α-L-rha(1→4)–β-D-glu(1→6)- β-D-glu
3	β-D-xyl(1→3)-α-L-rha	H

Figure I.5 : Structure des saponosides à hédéragénine isolés à partir des graines de NigellaSativa L. **[35]**

I.5.5.6. Polyphénols et flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés aromatiques dont la biosynthèse constitue l'un des processus fondamentaux de la phytochimie. Ils font partie de ce que l'on appelle les

composés phénoliques. Les flavonoïdes sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux. Les Renonculacées sont un groupe riche en flavonols et en flavones. En 1997, trois nouveaux flavonoïdes triglycosylées (figure I.6) ont été isolés à partir des graines de N. sativa et leurs structures ont été déterminées : **[36]**

quercétine 3-glycosyl (1→2) galactosyl (1→2) glucoside

1. kæmpférol 3-glycosyl (1→2) galactosyl (1→2) glucoside
2. quercétine 3-(6-feruloglucosyl) (1→2) galactosyl (1→2) glucoside.

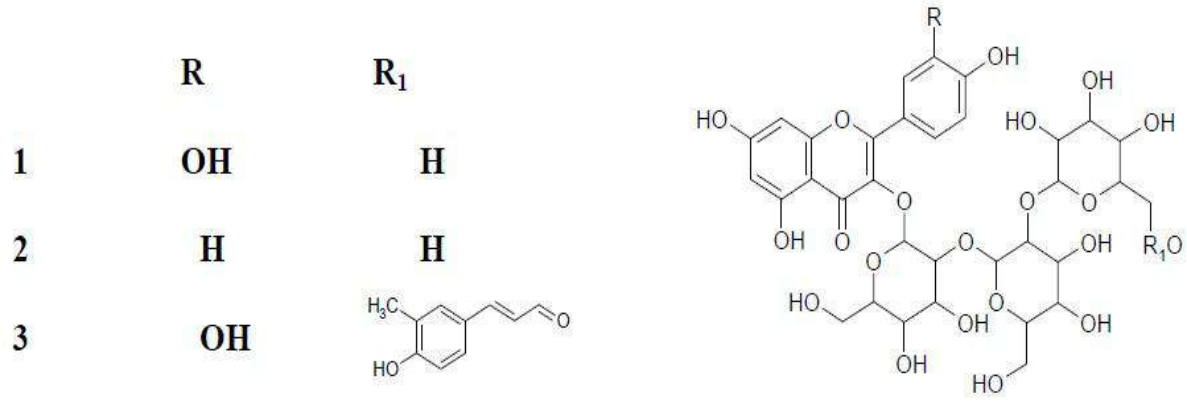


Figure 1.6 : Structure chimique des trois flavonoïdes isolés de Nigella sativa L., d'après **[36]**

I.5.5.7. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances présentant un caractère alcalin, contenant de l'azote, le plus souvent inclus dans un hétérocycle. Les alcaloïdes ont, pour la plupart, des actions physiologiques et thérapeutiques à faibles doses. Ils deviennent cependant très toxiques à fortes doses. Les plus importants alcaloïdes de N. sativa (figure1.7), ont été isolés à partir des graines entre 1985 et 1995 :

- ✓ Nigellicine, à noyau indazole.
- ✓ Nigellimine, une isoquinoléine .
- ✓ Nigellimine N-oxyde, dérivé N-oxyde de la nigellimine.

✓ Nigellidine, également un indazole. **[37]**

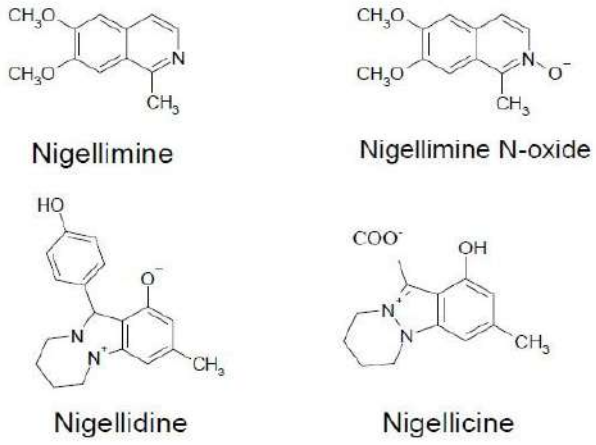


Figure 1.7 : Structure chimique des principaux alcaloïdes de N. sativa L., d'après [**37]**.

I.5.6. Utilisation de la Nigelle cultivée

Les graines de Nigelle sont présentes dans de nombreuses recettes de cuisine orientale et indienne. Elles peuvent entrer dans la préparation du pain, le Naan (pain de régions d'Asie centrale et du sud), des pâtisseries, des plats sucrés, des fromages, des sauces et des soupes pour les rendre plus appétissants. Elles sont aussi utilisées dans l'assaisonnement des salades et la préparation des vinaigrettes **[38]**.

De par ses teneurs en vitamines B, minéraux, lipides et par la qualité de ses protéines, la graine de Nigelle constitue une excellente source complémentaire de nutriments essentiels. Son incorporation dans les aliments pour améliorer leur valeur nutritionnelle est tout à fait intéressante **[39]**.

Les graines peuvent être mélangées avec d'autres herbes aromatiques ou substituer le poivre. Dans certaines régions de l'Inde et au Bangladesh, les graines de Nigelle rentrent dans la composition d'un mélange d'épices très populaire pour parfumer les plats de viandes (figure I.8). On le nomme le panch phoron (cinq épices) ; il associe graines de : Nigelle, Cumin, Fenugrec, Moutarde noire et Fenouil, en quantités égales **[39]**.

Au Maghreb c'est dans la composition du ras el hanout, une épice traditionnelle de 24 à 27 ingrédients, qu'on la retrouve.



Figure 1.8 : schéma représentant : **(a)** Panch phoron , **(b)** Ras el hanout

En médecine Unani (médecine traditionnelle indienne dont l'origine remonte à la médecine gréco-romaine), la graine de nigelle est considérée comme abortive et diurétique, elle est utilisée pour les ascites, la toux, la douleur oculaire, l'ictère, la paralysie, les hémorroïdes et la fièvre tierce. En Indonésie, les graines sont ajoutées à des médicaments astringents pour lutter contre les désordres intestinaux.

En Malaisie, des cataplasmes de graines sont utilisés pour les maux de tête, les abcès, les ulcères nasaux, l'orchite et le rhumatisme. Les femmes Arabes utilisent la graine de N. sativa comme galactogène **[40]**. En Égypte, elle est utilisée contre l'asthme **[41]**.

En usage externe sous forme de pommade, les graines sont utilisées dans le traitement d'abcès, d'hémorroïdes, d'inflammation des testicules et de pédiculose **[40]**. En Arabie Saoudite, l'huile est utilisée en usage externe en cas de raideur et de douleurs articulaires, ainsi qu'en cas d'asthme et d'eczéma **[42]**.

En Turquie, l'huile de graine est employée par voie orale pour ses vertus carminatives, bronchodilatatrices, expectorantes, antihypertensives, diurétiques, diaphorétiques, stomachiques et pour lutter contre l'indigestion ; en friction elle est préconisée contre les spasmes musculaires, la sciatique et les rhumatismes **[43]**.

Indications et mode d'emploi selon Avicenne

Les médecins Musulmans et Arabes se sont doublement préoccupés de la graine de nigelle après l'avoir connue dans la Tradition Prophétique. Avicenne a consacré un chapitre à la nigelle, « chounèse », dans son Canon de la médecine, « Kitab Al Qanûn fi Al-Tibb ». Voici quelques indications et utilisations de N. sativa à cette époque **[15]** :

- Vertus médicinales : la graine est âcre et élimine la lymphe, elle sert à éliminer les flatulences et à purifier le corps.
- Maladies superficielles : Elle traite les verrues et le vitiligo. Mélangée au vinaigre, la graine est appliquée sur la peau pour traiter les « pustules lactées », les « tumeurs pituitaires » et la gale ulcéreuse.
- La tête : En cas de fièvre grippale, la graine est broyée, cuite, puis mise dans un chiffon de lin et appliquée sur le front des malades. Trempées pendant une nuit dans du vinaigre puis concassées, les graines sont données sous forme d'électuaire, ancienne forme galénique pâteuse, à respirer par le malade, pour guérir les douleurs chroniques de la tête et les paralysies faciales. C'est également un remède qui permet de désobstruer les voies aériennes supérieures. Quand la graine est cuite dans du vinaigre, la solution peut être utilisée en gargarisme pour lutter contre les douleurs dentaires.
- L'œil : La drogue pulvérisée mélangée à de l'huile d'iris, utilisée sous forme d'électuaire guérit des écoulements oculaires.
- Organes respiratoires : Absorbée avec le carbonate de sodium cristallisé, la graine dégage les voies respiratoires.
- Organes sécrétoires : Elle est vermifuge, même utilisée sous forme liquide en massant l'abdomen. La graine ingérée pendant quelques jours est emménagogue. Mélangée au miel et à de l'eau chaude, la graine traite les calculs rénaux.
- Cas d'intoxication » : Sa fumée fait fuir les insectes, mais certaines personnes ont prétendu que son utilisation fréquente ou excessive est mortelle. En outre, la graine de nigelle guérit la piqûre de tarentule, une fois absorbée sous forme de boisson au poids d'un « drachme » (3,24 grammes). **[15]**

I.5.7. Propriétés thérapeutiques de la Nigelle cultivée

Durant les vingt dernières années, plusieurs travaux ont porté sur l'étude de Nigella sativa notamment sur les effets dus aux extraits de la graine de cette espèce ainsi qu'aux principaux constituants (notamment le thym quinone) sur divers systèmes in vivo et in vitro. Ces travaux ont ressorti plusieurs effets de grande importance pour la médecine moderne, parmi ces effets on souligne les plus importants **[44]**.

I.5.7.1. Activité antioxydante

Parmi les différents travaux qui ont été effectués pour évaluer les effets des graines de Nigella sativa, la majorité d'entre eux sont focalisés sur ses propriétés antioxydantes in vitro et in vivo :

In vitro, l'huile essentielle de Nigella sativa et ses composés (thymoquinone, carvacrol et trans-anéthol) ont un grand pouvoir de réduction du radical DPPH (1,1-diphényl-2picrylhydrazyl), et d'inhiber la peroxydation lipidique et la dégradation de déoxyribose par le radical hydroxyle **.**L'extrait méthanolique et ses fractions (hexane, acétate d'éthyle, et la fraction aqueuse) ont montré aussi un pouvoir antioxydant considérable vis-à-vis du DPPH, et dans le système de ß-carotène/acide linoléique **[45].**

In vivo, l'huile essentielle et la thymoquinone exercent des effets antioxydants protecteurs contre les lésions induites par l'ischémie/ reperfusion, la toxicité de l'éthanol sur l'estomac, et aussi la toxicité du tétrachlorométhane (CCL4) sur le foie et les globules rouges chez les rats **[46]**.

I.5.7.2. Effet anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire de la nigelle a été également étudiée. En effet l'administration de l'huile fixe est la thymoquinone par voie intra-péritonéale chez les rats et les souris respectivement avant le traitement par l'ovalbumine par voie nasale pour induire une allergie pulmonaire, inhibe de façon significative la réaction inflammatoire via l'inhibition de la production des cytokines et l'infiltration des cellules pro-inflammatoires vers le tissu pulmonaire. D'autre part, Mansour et al. ont établi que la thymoquinone est capable d'inhiber le lipoxygénase, le leucotriéne, C4 synthase, des polyphénols de la graine exercent un effet anti-inflammatoire via l'inhibition de l'œdème des pates induit par le carragénine chez les rats **[47,48].**

Une étude clinique en double aveugle a été menée chez des patients atteints de rhinite allergique. Un des deux groupes recevait de l'huile de Nigella sativa. Les auteurs se sont basés sur la fréquence de survenue des symptômes (congestion nasale, écoulement nasal, éternuements, prurit nasal) durant une période de 30 jours. Les patients qui avaient été exposés à Nigella sativa présentaient une fréquence moindre de tous ces symptômes, dès les quinze premiers jours **[49]**.

Dans une deuxième étude clinique, l'effet anti-inflammatoire de Nigella sativa a été étudié chez des patients atteints d'ostéoporose. Il a été montré que la Nigelle et plus précisément la

thymoquinone permettait d'inhiber la production de cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine 1 et 6, et d'inhiber également la transcription du facteur nucléaire **[50]**.
L'effet de Nigella sativa en formulation topique a été étudié sur l'eczéma sévère et a été comparé aux traitements standards par Eucérine et Bétaméthasone. Les 60 patients ont été répartis en trois groupes. Ils ont été évalués le premier jour (J0), puis à J14 et J28 par différents index DLQUI (Dermatology Life Quality Index) et HECSI (Hand Eczema Severity Index). Le traitement par Bétaméthasone ainsi que celui par Nigella sativa ont permis une diminution des lésions eczémateuses et une diminution des scores, sans différences significatives entre ces deux traitements contrairement au traitement par Eucérine **[51].**

I.5.7.3. Effets antibactériens

L'huile essentielle de N. sativa a inhibé la croissance des bactéries Gram positif et négatif dans une étude réalisée sur plusieurs bactéries, sauf certaines souches de pseudomonas aeruginosa. Les composés phénoliques présents dans l'huile seraient responsables de cet effet antibactérien. **[44]**

Une étude **in vitro** par la méthode de diffusion sur disque a mis en évidence la forte activité inhibitrice de l'huile essentielle diluée au centième contre plusieurs bactéries dont Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella typhiet Vibriocholerae, avec une plus forte action sur les bactéries Gram (+) **[44]**.

I.5.7.4. Effet antifongique

Les différents extraits étudiés sur les batteries ont également été utilisés pour déterminer l'activité antifongique. L'essai de l'huile essentielle diluée au centième par la méthode de diffusion sur disque, cité précédemment, a été réalisé sur les champignons de genre Aspergillus Microsporum, l'effet antifongique de l'huile essentielle de nigelle a été observé au même titre que l'effet antibactérien **[44]**.

I.5.7.5. Autres actions biologiques de la nigelle cultivée

Plusieurs autres activités biologiques de N.Sativa ont été rapportées dans la littérature, notamment :

- Activité antidiabétique.
- Activités respiratoire et immunologique.
- Activités anti carcinogène et antimutagène.

- Activité neuroleptique.
- Activité cardiovasculaire.

CHAPITRE II

Pommades dermiques

II.1. Introduction

Dans la thérapeutique, de nombreux médicaments sont utilisés destinés à être appliqués sur la peau. Ces médicaments existent sous une multitude de formes, les plus utilisés sont principalement : les pommades, les crèmes, les gels.

Elles ont l'avantage de permettre aux principes actifs d'atteindre la circulation générale sans subir les modifications hépatiques.

Ce chapitre est consacré à quelques notions de rappels sur les formulations des médicaments, les préparations des pommades dermiques et nous parlerons aussi sur les activités anti-inflammatoires.

II.2. Formulation des médicaments

II.2.1. Définition des médicaments

Toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique.

Le médicament contient :

- Un principe actif : est une substance d'origine chimique ou naturelle caractérisée par un mécanisme d'action curatif ou préventif précis dans l'organisme.
- Des excipients : ces des substances d'origine chimique ou naturelle qui facilitent l'utilisation du médicament mais ne présentent pas d'effet curatif ou préventif **[52]**.

II.2.2. Définition de la formulation

La formulation d'un médicament est le procédé de mise au point de la composition d'un médicament et son mode de fabrication. Il est élaboré pour permettre une meilleure assimilation de la substance active du médicament **[53]**.

La formulation est l'ensemble d'un ou plusieurs principe(s) actif(s) et d'excipients qui entrent dans la composition du médicament afin de le présenter sous la forme pharmaceutique la plus adaptée **[54]**.

Elle permet de fixer la composition qualitative et quantitative, ainsi que de définir le mode de fabrication et de choisir le conditionnement. La formulation a pour but l'obtention d'une forme galénique :

- la plus active thérapeutiquement.

- la moins toxique possible.

- la plus stable dans le temps.

II.2.3. Forme galénique des médicaments

II.2.3.1. Définition

La pharmacie galénique c'est la science qui étudie la préparation des médicaments ou, plus complètement, selon le professeur Maurice Marie Janot « la science et l'art de préparer, conserver et présenter les médicaments » **[55]**.

Avant la mise sur le marché, chaque médicament doit faire l'objet d'une étude de composition, de forme et de présentation qui conviennent le mieux à son administration, permettant ainsi de garantie la précision de dosage, une stabilité satisfaisante pendant une durée déterminée et d'en rendre l'administration la plus facile possible.

Schématiquement, un médicament se compose de principe(s) actif(s), excipient(s), l'ensemble étant continu dans un récipient (figure II.1).

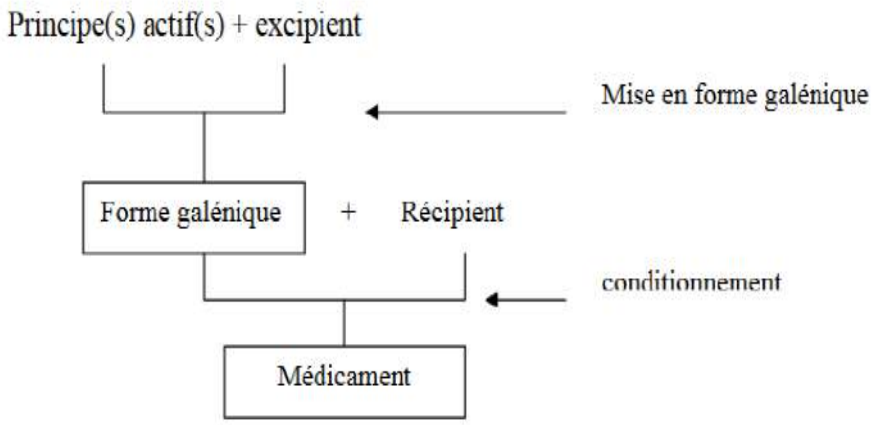


Figure II.1 : Origine, présentation et mode d'administration des médicaments

Le choix de la forme galénique découle de celui de la voie d'administration. Bien que l'éventail des possibilités ne cesse d'augmenter du fait des succès de la recherche galénique

en ce domaine, on a presque toujours recours à un nombre limité de formes courantes. Dans la majorité des cas, on se limite à une ou deux alternatives **[56,57]**.

La forme galénique du médicament doit permettre à la substance active d'atteindre l'organe visé le plus vite et le mieux possible. C'est un élément important du médicament, car un mode d'administration adapté est gage de meilleure efficacité et de moindre risque **[58]**.

II.2.3.2. Caractéristique des principales formes galéniques [59]

- Crème dermique : pommade de consistance molle, peu graisseuse et peu épaisse, constituée d'une émulsion H/E ou E/H, cette composition favorise la pénétration dans les tissus cutanés. Conditionnement en pot ou en tube.
- Pate dermique : pommade reformant de fortes proportions de poudre dispersées dans l'excipient.
- Pommade : préparation de consistance molle, onctueuse et épaisse, d'aspect homogène, destinée à être appliquée sur la peau ou sur certaine muqueuse, en vue d'une action locale ou parfois générale après pénétration percutanée. Contrairement aux crèmes, les pommades présentes une phase aqueuse en quantité limitée.

II.3. Pommades dermiques

II.3.1. Définition

Les pommades sont des préparations de consistance semi solide destinées à être appliquées sur la peau ou sur certaines muqueuses en vue, le plus souvent, de réaliser une action locale, rarement pour permettre une pénétration percutanée de principes actifs **[60]**.

Les pommades qui contiennent des résines sont appelées des onguents et celles renfermant une forte proportion de poudres sont des pâtes dermiques. Les baumes sont des pommades douées d'une propriété antalgique et anti-inflammatoire **[61]**.

II.3.2. Classification des pommades

Les pommades se composent d'une base monophasique dans laquelle peuvent être dispersées des substances liquides ou solides. On distingue :

- ❖ Les pommades hydrophobes :

Les pommades hydrophobes (lipophiles) ne peuvent absorber normalement que de petites quantités d'eau. Les substances les plus communément employées pour la formulation de

telles pommades sont la vaseline, la paraffine, la paraffine liquide, les huiles végétales ou les graisses animales, les glycérides synthétiques, les cires et les polyalkylsiloxanes liquides.

- ❖ Les pommades absorbant de l'eau :

Ces pommades peuvent absorber des quantités plus importantes d'eau. Leurs excipients sont ceux d'une pommade hydrophobe dans lesquels sont incorporés des émulsifiants du type eau-dans-huile tels que la graisse de laine, des alcools de graisse de laine, des esters de sorbitanne, des monoglycérides, des alcools gras.

- ❖ Les pommades hydrophiles :

Les pommades hydrophiles sont des préparations dont les excipients sont miscibles à l'eau. Ces derniers sont constitués habituellement par des mélanges de polyéthylèneglycols (macrogols) liquids et solides. Ils peuvent contenir des quantités appropriées d'eau **[57].**

II.3.3. Critères de choix des Excipients

Les excipients pour pommades peuvent être d'origine naturelle ou synthétique. Selon la nature de l'excipient, la préparation peut avoir des propriétés hydrophiles ou hydrophobes (Tableau II.1).

Un bon excipient doit contribuer à donner à la préparation pour application cutanée une consistance qui permette un étalement facile :

- Il doit être bien toléré et son pouvoir allergisant doit être faible.
- Il doit présenter le moins d'incompatibilités possibles avec les autres constituants et le conditionnement.
- Il doit en général faciliter la pénétration des principes actifs dans les tissus.
- Il doit être suffisamment stable pour permettre une bonne conservation.
- Si cela n'est pas incompatible avec d'autres propriétés, on lui demande de plus d'être lavable à l'eau et de ne pas tacher le linge.
- Enfin, on peut lui demander d'être stérilisable. **[57]**

Tableau II.1 : Classification des excipients pour la préparation des pommades **[57,61]**

Type d'excipient	**Famille**	**constituants**
Excipients anhydres	Glycérides	Axonge Saindoux Huiles végétales Huiles hydrogénées
	Cires	Lanoleine Cire d'abeille Palmilate de cetyle
	Hydrocarbures	Vaseline Perhydrosqualène Paraffine
	Polyéthylène glycol et homologues	Silicones
Excipients hydratés ou Hydrogels	Gels de produits minéraux	Bentonite Clarsol Silice Alginates
	Gels de polymères organiques	Gélose Pectine Lanoline Kaogel
Excipients émulsionnés	Excipients émulsionnés eau dans huile (E/H) Excipients émulsionnés huile dans eau (H/E)	

II.3.3. Préparation des pommades

- **À l'officine :**

Les pommades sont préparées dans un mortier. Quelquefois, l'excipient est ramolli par chauffage ou même fondu pour un malaxage plus facile ou pour pouvoir dissoudre plus facilement des principes solubles.

- **À l'industrie :**

Dans l'industrie on fait appel à des mélangeurs – malaxeurs choisis en fonction de la consistance de la pommade, ou à des agitateurs à fouet ou à palette. Le malaxage se fait souvent sous vide pour éviter l'inclusion de bulles d'air, dans une cuve à double enveloppe, chauffée à la vapeur. Pour parfaire l'homogénéité, on fait passer la pommade obtenue dans les filières d'un homogénéisateur.

Lorsque le principe actif est insoluble, il est broyé finement, tamisé et la pommade obtenue homogénéisée dans un broyeur à 3 cylindres (figure II.2).

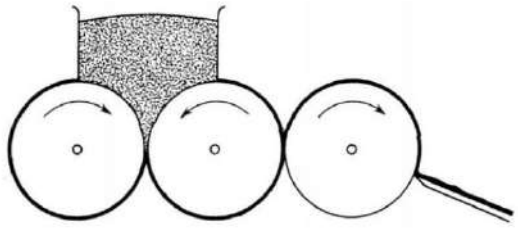


Figure II.2 : Broyeur à cylindres (lisseuse)

Avant d'aborde la pénétration de la pommade à travers la peau, il faut faire un rappel sur la constitution de la peau. **[55]**

II.3.4. La peau

La peau est assurément un organe vivant à l'interface entre les organismes vivants et l'environnement. Ses propriétés quantitatives qui varient selon les sites anatomiques du corps humain et dépendent de l'âge et du sexe. La connaissance du comportement mécanique de la peau présente un intérêt pour le diagnostic des maladies cutanées et pour tester l'efficacité des produits cosmétiques sur la peau **[62]**.

II.3.4.1. Structure de la peau

La peau est l'organe le plus important de l'organisme, avec la surface environ 1,8 m^2 et un poids d'environ 4 kg pour un adulte de 70 kg. C'est un organe hétérogène, composé de plusieurs couches et annexes (figure II.3). Structurellement et en relation avec son origine embryologique, la peau est divisée en deux régions très différentes : l'épiderme qui a une origine ectodermique et le derme d'origine mésodermique.

- **L'épiderme :**

L'épiderme est un épithélium pavimenteux pluristratifié et kératinisé en perpétuel renouvellement. Il se renouvelle en 28 jours. De sa surface au derme on retrouve 5 ou 6

couches, basées sur les propriétés des cellules. Le nombre de couches varie selon les localisations corporelles. La plupart des cellules épidermiques sont des kératinocytes qui sont formés par différentiation des cellules de la couche basale.

- **Le derme :**

Le derme est un tissu conjonctif constitué d'une substance fondamentale dans laquelle baignent des cellules, des fibres de collagène et des fibres élastiques. Son épaisseur est de 0,2– 0,3 cm. Contrairement à l'épiderme le derme contient des vaisseaux sanguins et lymphatiques et des nerfs.

Parmi les cellules du derme, les fibroblastes sont les plus nombreux et ils sont responsables de la synthèse du matériel extracellulaire. Ils synthétisent le collagène, l'élastine, la substance fondamentale de la matrice extracellulaire et les glycoprotéines de structure. Leur activité est intense lors de la cicatrisation. Dans le derme on retrouve aussi des mastocytes, macrophages et leucocytes qui jouent un rôle dans les réponses inflammatoire et immunologique.

- **L'hypoderme :**

L'hypoderme est la couche la plus profonde de la peau et constitue 15 à 20 % du poids corporel. C'est un réseau de cellules graisseuses (adipocytes) qui sont regroupées sous forme de lobules et attachées au derme par des fibres de collagène et d'élastine. On y trouve aussi des fibroblastes et des macrophages. Elle agit comme isolant thermique, protège contre les chocs et constitue aussi un réservoir énergétique.

- **Les annexes cutanées :**

Dans le derme et dans la partie supérieure de l'hypoderme se trouvent des annexes cutanées les follicules pilosébacés, les glandes sébacées, les glandes sudoripares et les phanères (ongles et cheveux). Les annexes sont présentes sur tout le corps mais leur nombre varie beaucoup selon l'endroit **[63]**.

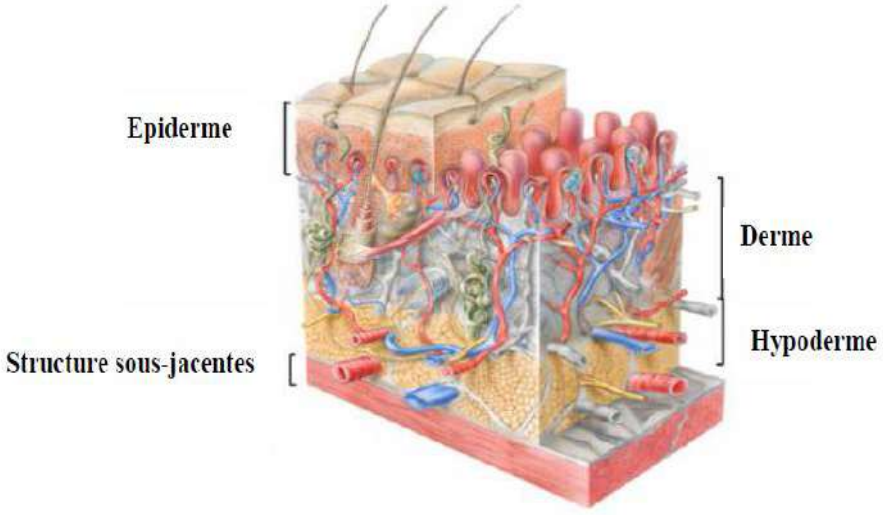


Figure II.3 : Schéma représentant la structure de la peau humaine **[64]**

II.3.4.2. Enjeux de l'application topique

La peau peut être la cible des principes actifs en elle-même ou bien elle peut être considérée comme une voie d'administration systémique des médicaments. L'usage pharmaceutique consiste à appliquer des formulations sur la peau afin d'atteindre plusieurs objectifs :

- ✓ Pour obtenir une action locale en traitement des maladies dermatologiques de type eczémateux (par exemple des corticostéroïdes dans le cas de dermatite),
- ✓ Pour obtenir des effets systémiques en utilisant le passage transdermique (par exemple des patches de nicotine pour cesser de fumer, des patches contenant des dérivés œstrogèniques),
- ✓ Pour protéger la surface cutanée (par exemple antisolaires, désinfectants), Pour obtenir une action des principes actifs dans les couches profondes de la peau (par exemple des anti-inflammatoires non-stéroïdiens pour le traitement des états inflammatoires musculaires).

L'absorption percutanée est un terme assez général qui décrit le transport de substances de la surface de la peau vers les couches profondes de la peau, voire dans la circulation sanguine. Cela prend en compte plusieurs termes différents :

- ✓ La pénétration – décrit l'entrée de la substance dans une couche ou structure particulière, par exemple dans la couche cornée

- ✓ La perméation – décrit la pénétration d'une couche vers une autre, qui est fonctionnellement et structuralement différente de la première couche
- ✓ La résorption – décrit le transport de la substance vers les vaisseaux sanguins et/ou lymphatiques ; dans la plupart des cas ce processus conduira la substance résorbée vers la circulation sanguine générale L'absorption – concerne l'ensemble des processus mentionnés ci-dessus, indiquant la quantité finale de la substance qui se retrouve dans la peau après son application sur la surface de la peau.

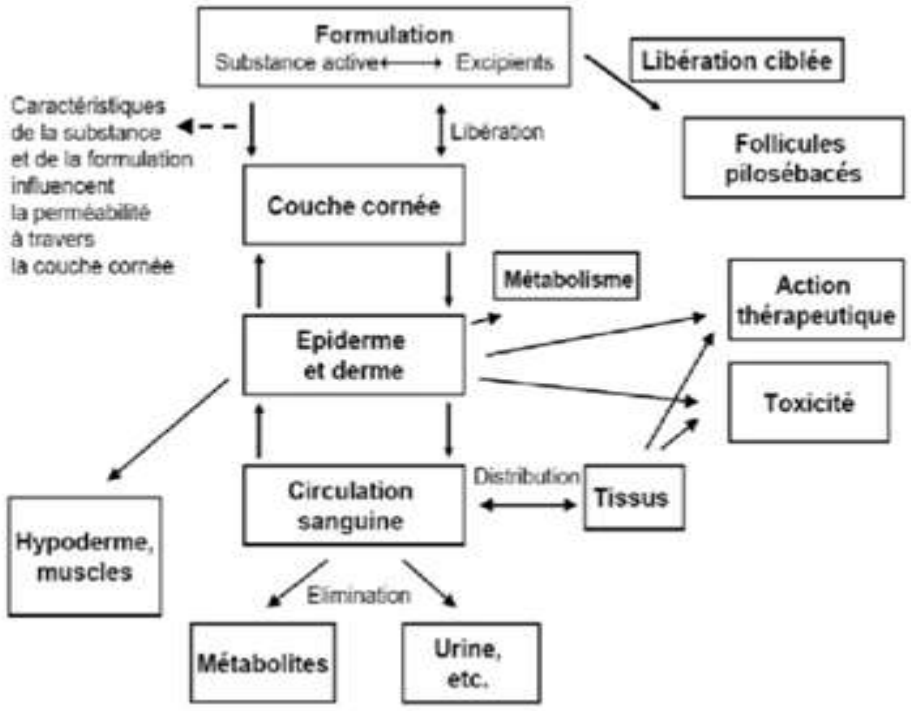


Figure II.4 : Les processus d'absorption à travers la peau en fonction de différents facteurs, ainsi que différents résultats possibles

II.3.4.3. Perméation à travers la peau

a. Perméation à travers la couche cornée

Prenant en compte la structure et composition chimique de la couche cornée et les propriétés physico-chimiques du perméat, on distingue deux voies de perméation possibles : intercellulaire et transcellulaire. Il a été observé que la plupart des substances empruntent la route intercellulaire, ce que souligne le rôle des lipides du stratum corneum dans le processus de perméation.

b. Perméation à travers les couches viables de l'épiderme

Une fois la substance dans la couche cornée, celle-ci diffuse ensuite vers les couches viables de la peau (l'épiderme viable et le derme) selon un gradient de concentration. Le deuxième procédé de partage se produit : à partir des lipides bien structurés dans l'espace intercellulaire de la couche cornée vers un tissu majoritairement hydrophile. La solubilité dans l'eau est en effet nécessaire pour qu'une molécule puisse pénétrer dans cette couche hydrophile de la peau. Ensuite, la diffusion de la substance dans les couches viables de la peau se produit. Les molécules de caractère lipophile modéré diffusent facilement.

c. Perméation à travers le derme

La substance rejoint, ensuite, le derme qui contient les vaisseaux sanguins et le phénomène de résorption se produit. L'absorption d'une molécule par le derme a été récemment décrite par Krestos et al.. Cross et Roberts ont montré que les vaisseaux sanguins permettaient l'élimination de petites molécules. La profondeur de pénétration d'une molécule dépend de sa masse moléculaire et de la fraction libre de la molécule dans la peau.

d. Perméation à travers des annexes

Plusieurs auteurs ont souligné le rôle des annexes dans l'absorption cutanée (glandes sudoripares, follicules pilosébacés). La surface relative des annexes cutanées de la peau humaine est que 0,1 – 1 %, donc cette voie n'est pas considérée comme prédominante pour l'absorption cutanée. Cependant, dans les zones de forte pilosité ce transport peut être important. Les annexes pourtant peuvent constituer des voies de "shunt" permettant le transport transcutané rapide pour de grandes molécules polaires.

L'efficacité immunisante de l'ADN après application topique a été observée. Puisque la taille de cette molécule est importante, la voie Trans folliculaire a été la seule possibilité de transport vers des couches profondes de la peau. Les annexes peuvent aussi constituer des réservoirs pour des molécules et des vecteurs tels que les micro- et nanoparticules **[63]**.

II.3.5. Caractérisation des pommades

- Contrôle macroscopique : Homogénéité, coloration, finesse de la poudre dispersée, présence ou absence de bulles d'air, facilité d'étalement.
- Contrôle microscopique : Homogénéité de la dispersion des poudres ou des gouttelettes de liquide dans une émulsion.

- Etude viscosimétrique : Mesure de l'enfoncement du cône de Mahler (dureté de la pommade qui donne une idée de la facilité d'étalement).
- PH : Il doit être compatible à celui de la peau ou ramener celui-ci à sa valeur normale. Le pH peut avoir aussi une influence sur la stabilité d'une émulsion, d'un gel, d'un principe actif, sur la compatibilité avec les excipients, sur l'activité des conservateurs.
- Essais de conservation : Essais de vieillissement dans des conditions de température, d'humidité différentes puis dosage du principe actif pour vérifier l'homogénéité.

II.3.6. Activité anti-inflammatoire des pommades

L'inflammation ou réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés à une agression. Cette agression peut être liée à une infection, c'est-à-dire à une bactérie, un virus, un parasite ou encore un champignon. Elle peut aussi être due à un agent physique comme le froid, les radiations, un traumatisme ou encore à un agent chimique, c'est à dire un agent caustique, une toxine ou un venin. Les corps étrangers exogènes ou endogènes peuvent aussi entrainer une réaction inflammatoire. Enfin, l'inflammation peut être liée à une agression de type dysimmunitaire. Cette réaction inflammatoire est habituellement bénéfique, son but étant d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois elle peut être néfaste s'il y a une anomalie de régulation des processus inflammatoires ou s'il y a des anomalies qualitatives ou quantitatives des cellules intervenant dans l'inflammation **[65]**.

Les anti-inflammatoires permettent de lutter contre l'inflammation quelle que soit la cause de cette inflammation. Ce sont des traitements symptomatiques, c'est à dire qu'ils ne suppriment pas la cause de l'inflammation mais seulement sa conséquence. Ils ont une action également sur la douleur. Il existe deux catégories, les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS), et les anti-inflammatoires stéroïdiens : les corticoïdes. **[66]**

II.3.6.1. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Les AINS constituent une classe thérapeutique très utilisée en raison de leur activité antipyrétique, antalgique et anti-inflammatoire. Ils sont utilisés dans de nombreuses indications comme dans les douleurs ostéomusculaires, les affections rhumatologiques, en traumatologie, dans les coliques néphrétiques … **[67]**

Le mécanisme d'action des AINS a été précisé par les travaux de Vane en 1971, et repose en grande partie sur l'inhibition compétitive, réversible ou non, de la cyclo-oxygénase (COX), une enzyme qui permet la production de prostaglandines, à partir de l'acide arachidonique. La

production de prostaglandines participe à l'inflammation (vasodilatation, augmentation de la perméabilité capillaire), à la douleur (sensibilisation des nocicepteurs) mais contribue également, en dehors de toutes situations pathologiques, à la production basale au niveau de la muqueuse gastrique, de mucus et de bicarbonates intervenant dans le maintien de l'hémodynamique rénale et l'homéostasie tissulaire **[78]**

Cette caractéristique commune à tous les AINS d'inhiber la COX conduit à une réduction d'importants médiateurs de l'inflammation notamment les prostaglandines (PGE2, PGI2) (Figure II.5).

La cyclo-oxygénase comporte deux (2) iso-enzymes :

- Cyclo-oxygénase 1 (COX-1) : constitutive
- Cyclo-oxygénase 2 (COX-2) : inductible

Certains AINS inhibent les deux (2) COX, ils sont dits classiques ou non sélectifs. D'autres inhibent sélectivement la COX-2, ils sont dits sélectifs, ce sont les coxibs.

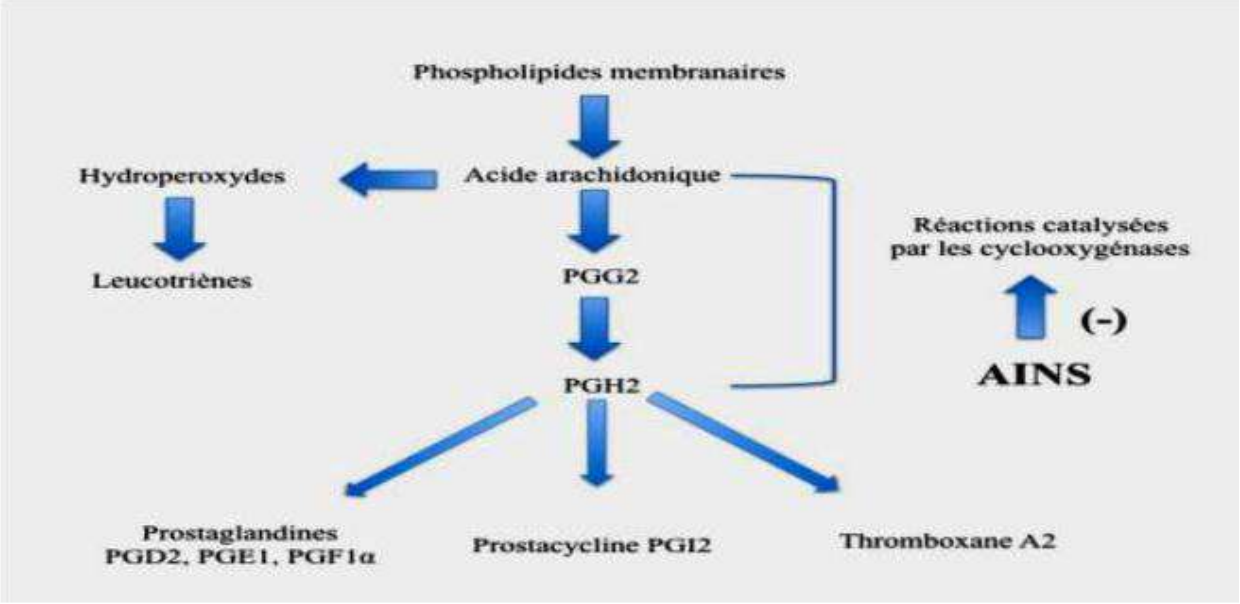


Figure II.5 : Mécanisme d'action des AINS. **[68]**

II.3.6.2. Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS)

Les AIS constituent une vaste famille de médicaments dérivés du cortisol (glucocorticoïde surrénalien). Les glucocorticoïdes sont des substances dérivées du cholestérol, dont la

production est stimulée par l'hormone corticotrope (ACTH : Adreno Cortico Trophic Hormone) libérée, selon un cycle nycthéméral, par le lobe antérieur de l'hypophyse. Dans les tissus cibles, les glucocorticoïdes se fixent à leurs récepteurs situés dans le cytoplasme de la cellule.

Le complexe récepteur-ligand formé, pénètre dans le noyau cellulaire où il se fixe à de nombreux éléments de réponse aux glucocorticoïdes dans la région du promoteur des gènes-cibles. Le récepteur, ainsi fixé à la molécule d'ADN, interagit avec les facteurs de transcription basiques, provoquant une augmentation de l'expression génique de gènes-cibles spécifiques. Ce processus est appelé transactivation et conditionne la plupart des effets secondaires métaboliques et cardiovasculaires des glucocorticoïdes (**Figure II.6)**. La transcription de l'ADN en ARNm, permet la synthèse de protéines spécifique dont la lipocortine qui a une action inhibitrice sur la phospholipase A2 membranaire, bloque la formation d'acide arachidonique. Le mécanisme opposé est appelé transrépression, où le récepteur hormonal activé interagit avec des facteurs de transcription spécifiques et prévient la transcription des gènes-cibles. Les glucocorticoïdes sont capables d'empêcher la transcription de tous les gènes immuns, incluant celui codant interleukine 2 (IL-2) **[69]**

Les glucocorticoïdes ordinaires ne font pas de différence entre la transactivation et la transrépression, et influencent à la fois les gènes immuns "voulus" et ceux "non voulus" régulant les fonctions métaboliques et cardiovasculaires. Actuellement, les efforts de recherche visent à découvrir des glucocorticoïdes qui agissent sélectivement sans réprimer le système immunitaire. **[70]**

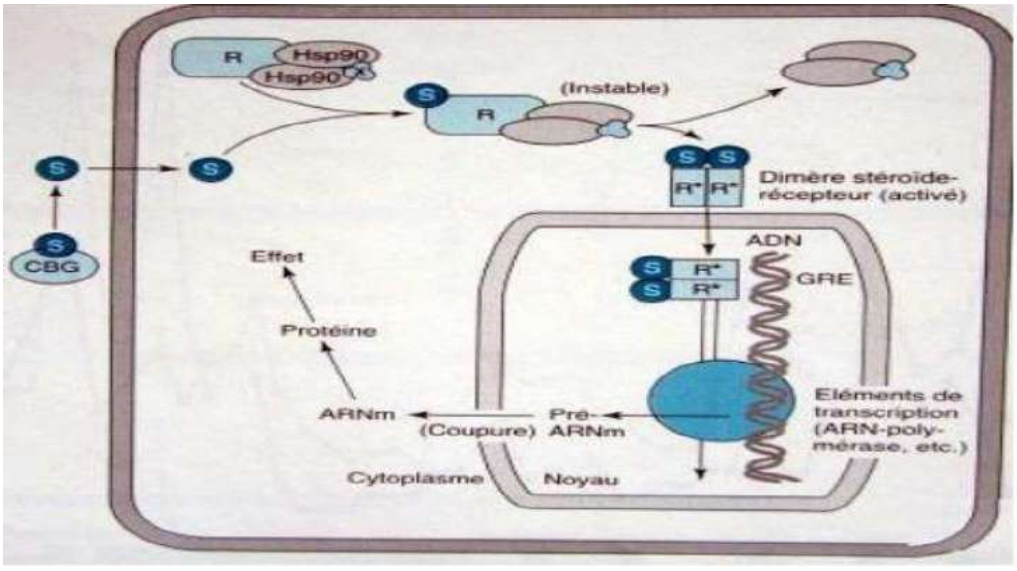


Figure II.6 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes. S: substrat (glucocorticoïde) → traversée membrane plasmique, R: récepteur, CBG : cortisol binding globulin (transcortine)

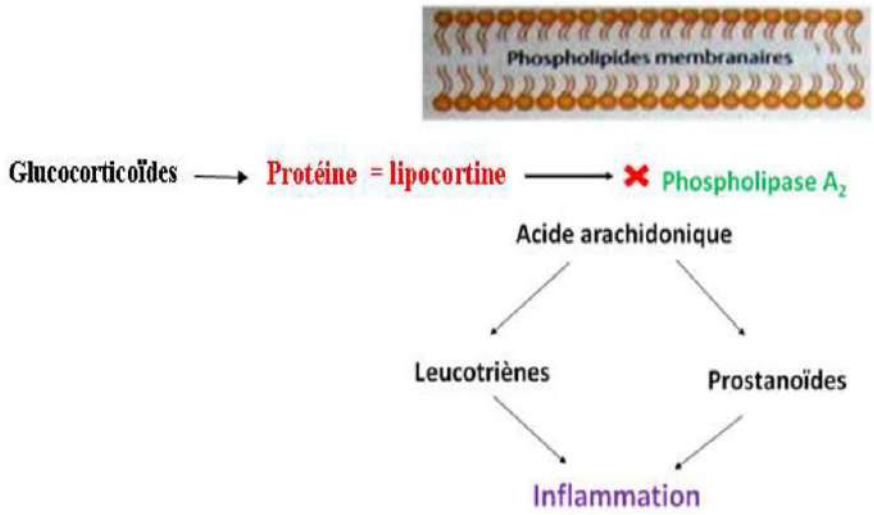


Figure II.7 : Mécanisme d'action des glucocorticoïdes (suite)

II.4. Conclusion :

Nous concluons que la pommade anti-inflammatoire est produit médicale utilise en application locale sur la peau. Elle est obtenue en mélangeant des substances graisse dans une solution aqueuse, a des principes actifs destinés à combattre des inflammations. La pommade anti-inflammatoire peut être utilise pour soigner diverses douleurs musculaire et articulaires d'origine inflammatoire comme dans des traumatismes de type entorses, tendinites, ou dans certain maladie chronique des articulations comme les spondylarthropathies ou l'arthrose. Il est généralement indique de masser la zone attient jusqu'à pénétration complet de la pommade, plusieurs fois par jour.

CHAPITRE III

Matériel et Méthodes

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III.1. Objectif du travail

Lors de ce travail, on cherche à optimiser la formulation d'une pommade anti-inflammatoire de type hydrophobe à base de l'huile fixe de la Nigelle cultivée. Les excipients employés pour la formulation de cette pommade sont : huile de vaseline, la vaseline, la paraffine et le beurre de karité.

L'étude expérimentale est divisée en trois parties principales :

- La première partie consiste à la caractérisation physico-chimique de l'huile végétale de Nigelle
- Dans la deuxième partie, on s'intéresse à la formulation de la pommade anti-inflammatoire
- Lors de la dernière partie de notre travail, on opte à une caractérisation de la pommade formulée par le biais des moyens existant au niveau du laboratoire, en plus on étudie l'effet anti-inflammatoire de la formulation préparée.

Cette étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire Chimie 4 du Hall Technologie. L'activité anti-inflammatoire de la pommade formulée a été déterminée au niveau du laboratoire d'expérimentation animale (l'animalerie) de lycée.

III.2. Matériel et méthodes

III.2.1. Matériels

- **Matériel et Produit chimique utilisés**

Le matériel et les produits utilisés dans cette étude expérimentale sont résumée dans le tableau III.1 et III.2 respectivement.

Tableau III.1 : Matériel utilisés

Matériels	Fournisseurs
La centrifugeuse	Hellich (ZENTRIFUGEN)
Agitateur / plaque chauffante	Heidolph
Balance	Adventurer (OHAUS)
Refractomètre	Fxacta+optech
Spectrophotomètre UV-visible	SHIMADZU
Spectrophotomètre IR transformé de fourier (FTIR)	/

Tableau III.2 : Produits chimiques utilisés.

Nom	Formule générale	M (g/mol)	Pureté (%)	Fournisseurs
Ethanol	C_2H_6O	46.07	96	Sigma-Aldrich
Ether de pétrole	/	/	/	/
Hydroxyde de potassium	KOH	56.11	97	BDH chemicals Ltd
Acide chlorhydrique	HCL	36.5	37	Chem-Lab NV
Phénophtaléine	$C_{20}H_{14}O4$	318.32	/	Sigma- Aldrich
carbonate de sodium	Na2CO3	105,9888	/	Chem-Lab CL

- **Matière végétale**

Dans notre étude, l'huile végétale fraiche de la Nigelle est obtenue par pression à froid des graines de la Nigelle cultivée (*Nigella Sativa L.*). Ces graines sont commercialisées et originaire de la Syrie.

- **Matières premières**

- **Vaseline :** Chimiquement, la vaseline est un mélange purifie hydrocarbure saturée à longue de chaine, solide Son inertie chimique et physique en fait un véhicule idéal pour protéger les ingrédients actifs délicats, pour formuler des pommades pour les peaux les

plus sensible, ou pour formuler les produits avec pH acide ou alcalin. Sa nature chimique et sa microstructure colloïde définissent ses qualités multiples. Grace à sa consistance semi-solide, la vaseline peut être employée seul comme un agent structurant idéal pour les pommades hydrophobes **[71]**.

- **Beurre de karité :**

  Synonymes : arbre a beurre, arbre de vie aux multiples vertus.

  Nom scientifique : Butyrospermum parkii.

  Famille : sapotacées

  Le beurre de karité est un produit efficace aux vertus exceptionnelles, il résout les problèmes de peau sans aucune contre-indication. Il possède de puissantes vertus régénératrices et réparatrices de la peau grâce aux vitamines A, D, E et F qu'il contient naturellement. Il apaise, protégé, nourrit et assoupli la peau, ce qui contribue à la garde jeune et en bonne santé, il combat les rides et le dessèchement **[72]**.

- **Paraffine**

  Les paraffines, du latin *Parum affinis*, "qui a peu d'affinité", sont des alcanes, à savoir des molécules linéaires d'hydrocarbures saturés à chaîne droite (C_nH_{2n+2}). On peut distinguer essentiellement les :

  - Paraffine solide : cires (n=20 à 40)
  - Paraffine liquide : (n=8 à 19) **[73].**

➢ **d) matière animale :**

Pour réaliser notre étude expérimentale concernant l'effet anti-inflammatoire, on a acheté des souris de race Swiss à Blida et on les a déposé dans le laboratoire d'expérimentation animale (animalerie) au niveau de lycée, le poids des souris varié entre 20 et 30g, ils ont été gardés à une température ambiante variante entre 25 et 30℃.

III.2.2. Méthodes

Avant le démarrage de l'expérimentation, tout d'abord, nous effectuons le processus de centrifugation de l'huile végétale de Nigelle (HV) à l'aide d'une centrifugeuse (figure III.1) pour séparer la poudre fine restante des graines de l'huile de Nigelle. A la fin de centrifugation, on récupère l'huile nette seulement.



Figure III. 1 : Centrifugation de l'huile de Nigelle achetée

Protocole :

- Remplir l'HV dans des tubes au même niveau.
- Déposer les tubes dans l'appareil en parallèle.
- Régler l'appareil a vitesse de 6000rpm pendant 15 minutes.

III.2.2.1. Caractérisation physico-chimique de l'huile végétale de Nigelle

Pour déterminer les différentes caractéristiques physico-chimiques de l'huile de Nigelle, on utilise les méthodes indiquées par le recueil de norme de l'Association Française de Normalisation (AFNOR).

a. Caractérisation physique de l'HV

- **Densité relative**

La densité relative est le rapport entre la masse d'HV à 20°C et la masse d'eau distillée, au même volume et à la même température. Elle est mesurée à l'aide d'un pycnomètre et une balance analytique. **[4]**



Figure III.2 : le pycnomètre

Protocole de mesure :

- Nettoyer soigneusement le pycnomètre et le sécher.
- Déterminer la masse $\mathbf{m_0}$ du pycnomètre vide.
- Remplir le pycnomètre avec de l'eau distillée jusqu'à le trait de jauge
- Déterminer la masse $\mathbf{m_1}$ de pycnomètre rempli d'eau distillée.
- Nettoyer et sécher le pycnomètre.
- Remplir le pycnomètre avec l'HV jusqu'à trait de jauge.
- Déterminer la masse $\mathbf{m_2}$ de pycnomètre contenant l'HV

En utilisant l'équation (III.1) pour calculer la densité relative de l'HV.

$$\boldsymbol{d = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \textit{(III.1)}$$

Avec :

$\mathbf{m_0}$: Masse (g) du pycnomètre vide.

$\mathbf{m_1}$: Masse (g) du pycnomètre rempli d'eau.

$\mathbf{m_2}$: Masse (g) du pycnomètre rempli d'HV.

- **Indice de réfraction**

L'indice de réfraction est défini comme étant le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'ondes déterminée passant de l'air à l'HV maintenue à une température constante. L'indice de réfraction est mesuré à l'aide d'un refractomètre d'Abbe à la température ambiant puis ramené à 20℃. **[74]**



Figure III.3 : Réfractomètre d'Abbe utilisé pour mesurer l'indice de réfraction.

Protocole de travail :

- Nettoyer la lame du réfractomètre en utilisant du papier absorbant.
- Etalonner l'appareil avec l'eau distillée.
- Mettre quelques gouttes d'HV à analyser dans la lame de réfractomètre et régler le cercle de chambre sombre et claire dans la moitié, et effectuer la lecture des résultats en prenant compte de la température du laboratoire 24.2°C.

L'indice de réfraction est calculé par la formule suivante :

$$\boldsymbol{n_D^{20} = n_D^T + 0.0004(T - 20)} \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \textit{(III.2)}$$

Avec :

$\boldsymbol{n_D^{20}}$**:** L'indice de réfraction à 20°C.

$\mathbf{n_D^T}$**:** L'indice de réfraction à la température de l'analyse.

T : la température de l'échantillon pendant l'analyse.

b. Caractérisation chimique de l'HV

- **Indice d'acide (IA)**

L'indice d'acide est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'Hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans 1g de l'HV **[74].**

Mode opératoire

- Dissolvez 1g d'HV, dans 50 ml d'un mélange à volumes égaux d'éthanol et éther.
- Titrez le mélange avec la solution de KOH (0.1 M) en présence de phénophtaléine jusqu'au virage de coloration (rose persiste).
- Notez le volume de la solution de KOH versé.

L'indice d'acide est déterminé par l'expression suivante : (III.3)

$$I_A = \frac{5.91 * n}{M} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (III.3)$$

Avec :

5.91 : Equivalent de KOH.

n : volume de KOH (ml).

M : masse d'HV (g).

- **Indice de Saponification (Is)**

C'est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité KOH nécessaire à la neutralisation des acides libres et à la saponification des esters présents dans 1g d'HV **[74]**.

Mode opératoire

- Dans une fiole de 250 ml de verre munie d'un réfrigérant à reflux, introduisez la prise d'essai (1g) d'huile végétale de Nigella sativa L. et Ajoutez 25 ml d'Hydroxyde de potassium alcoolique (0.5 M) et quelque billes en verre.
- Adaptez le réfrigérant et chauffez à reflux pendant 30 min.
- Titrez immédiatement (alors que la solution est encore chaude) par l'acide Chlorhydrique 0.5M ($\mathbf{n_1}$ ml d'acide Chlorhydrique 0.5 M) en présence de phénophtaléine.
- Effectuez un essai à blanc dans les mêmes conditions ($\mathbf{n_2}$ ml d'acide Chlorhydrique 0.5M).

  L'indice de saponification est déterminé à partir de cette formulation (III.4)

$$I_S = \frac{28.05 * (n_2 - n_1)}{M} \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \quad (III.4).$$

  Avec :

  $\mathbf{n_1}$: Volume de HCl nécessaire pour la neutralisation de l'échantillon (ml).

  $\mathbf{n_2}$**:** Volume de HCl nécessaire pour la neutralisation de l'essai à blanc (ml).

M : Masse d'échantillon (g).

- **Indice d'Ester (IE)**

C'est nombre qui exprime en milligrammes la quantité de KOH nécessaire à la saponification des ester présents dans 1g de substance. Il est déterminé à partir de l'indice de Saponification et l'indice d'Acidité.

$$I_E = I_S - I_A \quad \text{(III.5)}$$

III.2.2.2. Caractérisation structurale par spectroscopie FTIR de l'HV

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourrier (FTIR) est une méthode d'analyse basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentent dans le matériau **[75]**.

Le spectre infrarouge de cette HV est obtenu en suivants les étapes ci-dessous :

- Une pastille est réalisée en mettant sous presse la poudre obtenue après avoir mélangé notre huile à analyser et le KBr sec préalablement broyée dans un mortier.
- Les proportions sont les suivantes : nous prenons quelques mg de KBr broyé en poudre avec quelques gouttes d'huile végétale de Nigelle cultivée, le mélange est comprimé sous pression. La pastille obtenue doit être la plus translucide possible. Après avoir été placée dans le support approprié, la pastille est positionnée sur la trajectoire du rayon. Le spectre est alors enregistré.

*III.2.*2.3. Evaluation de l'activité antioxydant par DPPH

- **Principe**

L'activité antioxydant de l'huile de Nigelle et de l'antioxydant standard (acide férulique) vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517 nm (Figure III.5). Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti-radicalaires. **[76]**

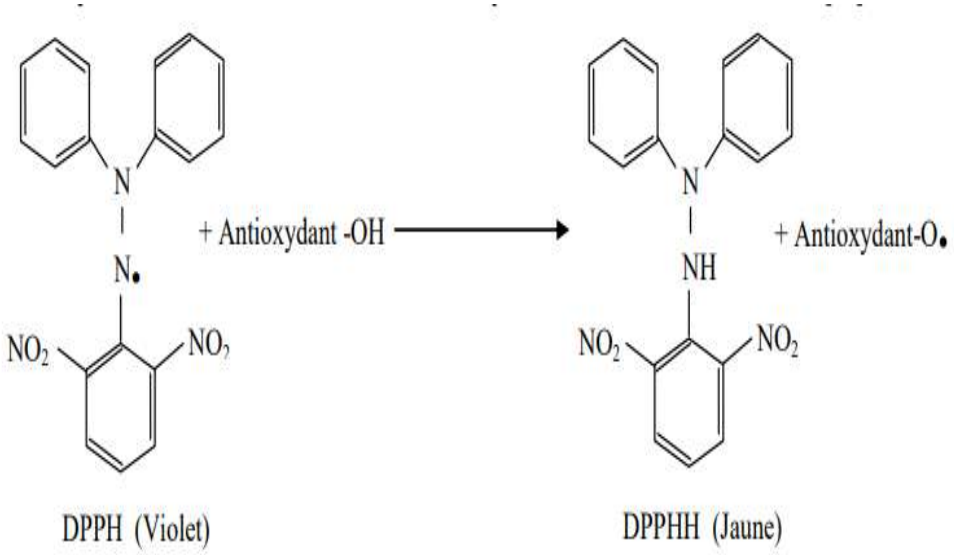


Figure III.4 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH

- **Mode opératoire**

Préparation des solutions de travail

- On prépare au début la solution de DPPH par dissolution de 2.4 mg de DPPH dans 100ml Ethanol, on laisse la solution sous agitation pendant 2h jusqu'à la solubilisation totale du DPPH.
- Préparation de la courbe d'étalonnage :
  Les solutions en acide férulique (AF : molécule anti-oxydante puissante) sont préparées avec des concentrations varies entre 5.10^{-3} et 10^{-1} mg/mL (Tableau III.3).

Tableau III.3 : Différentes concentrations d'AF utilisées

Tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C_{AF} (mg/ml)	5.10^{-3}	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.08	0.09	0.1

Protocole :

- Dans un tube d'essai, mettez 0.1ml de la solution de l'AF avec 3.9ml de la solution de DPPH, laissez le mélange à l'obscurité pendant 30 min à 25°C.
- Un contrôle a blanc qui est contenu uniquement la solution de DPPH est mesuré à 517nm.
- Le blanc contient uniquement l'éthanol.
- Après 30min, la lecture est réalisée par UV visible à 517nm.

À partir des valeurs obtenues lors de l'expérience d'étalonnage, nous établissons le pourcentage d'inhibition qui est calculé par la formule suivante (III.6) :

$$\boldsymbol{I}(\%) = \frac{A_c - A_E}{A_C} \text{……………………………..}(III.6)$$

Avec :

$\mathbf{A_C}$ **:** Absorbance de contrôle.

$\mathbf{A_E}$ **:** Absorbance de l'échantillon

On refait la même chose (même protocole) pour l'huile végétale de Nigelle (HV) en changeant uniquement le volume de l'huile pris dans chaque expérience (Tableau III.4):

Tableau III.4 : Différentes expériences réalisées avec l'HN

Tube	**1**	**2**	**3**
$\mathbf{V_{HN}}$ **(ml)**	0.1	0.05	0.025
$\mathbf{V_{DPPH}}$ **(ml)**	3.9	3.950	3.975

III.2.2.4. Pouvoir réducteur

Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour la quantification des polyphénols totaux. L'analyse par le réactif de Folin-Ciocalteu est la plus utilisée, nous avons utilisé le mode opératoire proposé par Al-Farsi et *al.* **[77]** mais avec quelques modifications au niveau des concentrations des réactifs.

Préparations des solutions de travail

- Initialement, on prépare 250 ml de la solution de réactif de folin 10 fois diluée.
- Plusieurs solutions en AF sont préparées avec des concentrations varies entre 0.01 et 0.1 mg/ml (Tableau III.5).

Tableau III.5 : Différentes concentrations d'AF utilisées dans l'expérience

Tube	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
C_{AF} (mg/mL)	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09	0.1

Protocole expérimentale

- Dans un tube à essai, on met un volume de 200µL d'échantillon (les solutions de l'AF ou l'huile végétale) avec 1ml de réactif de folin et on agite bien.
- Après 4 minutes, 800µL de carbonate de sodium (Na_2CO_3) de concentration 75 mg /ml ont été ajoutés au mélange précédent.
- L'ensemble a été à l'abri de la lumière à la température ambiante pendant 120 min et la lecture a été effectuée à 765 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

III.2.2.5. Formulation de la pommade anti-inflammatoire

L'objectif de cette partie est d'optimiser les différents constituants pour formuler une pommade douée d'un effet anti-inflammatoire à base de l'huile de Nigelle.

Généralement les propriétés de mélange dépendent de sa composition, il est fréquent que l'on veuille traduire les variations d'une propriété en fonction de la concentration de divers constituant

La préparation est de nature semi dure destinée à l'application cutanée, et consiste en une pommade hydrophobe de 25g. Trois types de pommades ont été préparés, en changeant la matière première hydrophobe :

- Pommade à base de la vaseline
- Pommade à base de la paraffine solide
- Pommade à base de beurre de karité

A/ Formulation d'une pommade à base de la vaseline :

- Dans un bain marie dissoudre la vaseline à T 60℃.
- Après la dissolution de vaseline ajouter l'huile de vaseline et laisser le mélange refroidir jusqu'à T=40°C
- Ajouter l'HV avec des proportions différentes. Selon le tableau ci-dessous, on obtient 9 formulations différentes

Tableau III.6 : Différentes formulations préparée à base de la vaseline.

Essai	Vaseline (%)	Huile de vaseline (%)	HV (%)
F_1	60	20	20
F_2	70	10	20
F_3	50	30	20
F_4	50	20	30
F_5	60	10	30
F_6	40	30	30
F_7	55	20	25
F_8	65	10	25
F_9	45	30	25

B/ Formulation de la pommade à base de la paraffine solide

- Dans un bain marie dissoudre la paraffine solide à température environ de 60 ℃
- Après la dissolution totale de la paraffine ajouter l'huile de vaseline et laisser le mélange refroidir.
- Ajouter l'HV. Quatre formulations sont obtenues en variant la proportion de la paraffine, l'huile de vaseline et HV dans le mélange (tableau III.7*).*

Tableau III.7 : Différentes formulations préparées à base de la paraffine

Essai	**Paraffine (%)**	**Huile de vaseline (%)**	**HN (%)**
F'_1	15	55	30
F'_2	20	55	25
F'_3	25	55	20
F'_4	15	60	25

C/ Formulation de la pommade par le beurre de karité

- Dans un bain marie dissoudre le beurre de karité à température entre 28 et 35 ℃.
- Après la dissolution, ajouter l'huile de vaseline et laisser le mélange refroidir.
- Ajouter l'HN avec des pourcentages différents.

Tableau III.8 : Différentes formulations à base du beurre de karité

Essai	Beurre de karité (%)	Huile de vaseline (%)	HV (%)
F"$_1$	79.04	10	10.96
F"$_2$	70	10	20

III.2.2.6. Caractérisation des pommades formulées

a. Caractérisation macroscopique

- ❖ Obstruction de la couleur
- ❖ La consistance
- ❖ Odeur de chaque pommade

b. Homogénéité

Étaler la pommade en couche mince sure une surface plane à l'aide d'une spatule afin de voir la répartition régulière ou non des constituants.

c. Mesure de pH

C'est une mesure de l'activité chimique des ions hydrogène H^+ en solution. Le pH de la pommade en contact de la peau doit se située à une fourchette allant de 5.5 à 6 car la peau est normalement légèrement acide, ce qui lui permet de développer une protection plus contre les attaques naturelles et permanents des micro-organismes **[78]**.

Il existe de nombreuses méthodes de mesure le pH. Dans notre étude, le pH est mesuré à l'aide du papier pH.

III.2.2.7. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo

a. But

L'activité anti-inflammatoire de la pommade formulée à base d'HV est évaluée par une méthode chimique à la carragéenine sur une inflammation provoquée chez les souris par l'injection intra-plantaire de la carragéenine **[80]**.

b. Principe

- ❖ On Provoque une inflammation locale en injectant par voie sous cutanée dans la patte du pied d'une patte postérieure une substance phlogogène (témoin positif).

- ❖ Parallèlement, procéder de même façon à un deuxième groupe de souris, mais en injectons de la solution physiologique au lieu de la substance phlogogène (témoin négatif).
- ❖ Le volume ou l'épaisseur de la patte utilisée est mesuré avant l'injection de la substance phlogogène, et la solution physiologique, tout de suite après, puis plusieurs fois de suite à intervalle réguliers.
- ❖ La comparaison de l'évolution de l'inflammation à travers le volume ou l'épaisseur de la patte, chez le groupe expérimental et le groupe témoin renseigne sur la propriété anti-inflammatoire de la pommade testée.

Réactifs et matériel

- Solution de la carragéenine à 1%.
- Solution physiologique (Na Cl à 0.9%).
- Balance analytique
- Pied à coulisse numérique
- Seringue graduée et aiguillée
- Gants
- Cage

c. Mode opératoire

Ce teste a été réalisé sur 8 souris males de masse variant entre 20 et 30g (figure III.7), reparties en 4 lots.

- ❖ Le lot A est utilisé pour la mise en évidence de l'effet phlogogène de la carragéenine, en injectant 0.1 ml de la carragéenine à 1% dans la plante du pied de la patte.
- ❖ Le Lot B est un témoin négatif, on injecte 0.1 ml de l'eau physiologique (Na Cl à 0.9%) dans la plante du pied de la patte.
- ❖ Lot C, expérimental, on applique la pommade formulée par voie cutanée dans la plante du pied.
- ❖ Lot D, expérimental, on applique la pommade commerciale (Flucidal 3%) par voie cutanée dans la plante du pied.
- ❖ Les pattes postérieures droites des 8 souris sont mesurées à l'aide d'un pied à coulisse numérique comme le montre la figure III.8.
- ❖ On mesure l'épaisseur des pattes juste après l'injection, puis après toutes les 30 min, on refait la mesure de l'épaisseur des pates pour chaque lot et on compile les résultats dans un tableau à deux entrées.

- On arrête la mesure, lorsque les pattes des souris reprennent leur dimension initiale à savoir avant l'injection de la carragéenine ou bien au bout de 3 heures.



Figure III.5 : Souris blanches utilisées dans notre étude, la race swisse



Figure III.6 : mesure des pattes des souris à l'aide d'un pied à coulisse numérique.

CHAPITRE IV

Résultats et discussions

Dans le chapitre précédent, on a décrit tous les protocoles appliqués lors de la réalisation de cette étude. Dans ce chapitre, les résultats obtenus ainsi que leurs interprétations ont été présentés. L'étude expérimentale est divisée en trois parties :

- La caractérisation physico-chimique et spectroscopique de l'huile de Nigelle cultivée.
- La formulation d'une pommade anti-inflammatoire à base de l'huile de Nigelle.
- Etude de l'activité anti inflammatoire de la pommade.

Tout d'abord, on a fait une centrifugation de l'HN afin d'éliminer toutes les impuretés solides restant dans l'huile après la pression à froid (figure IV.1).

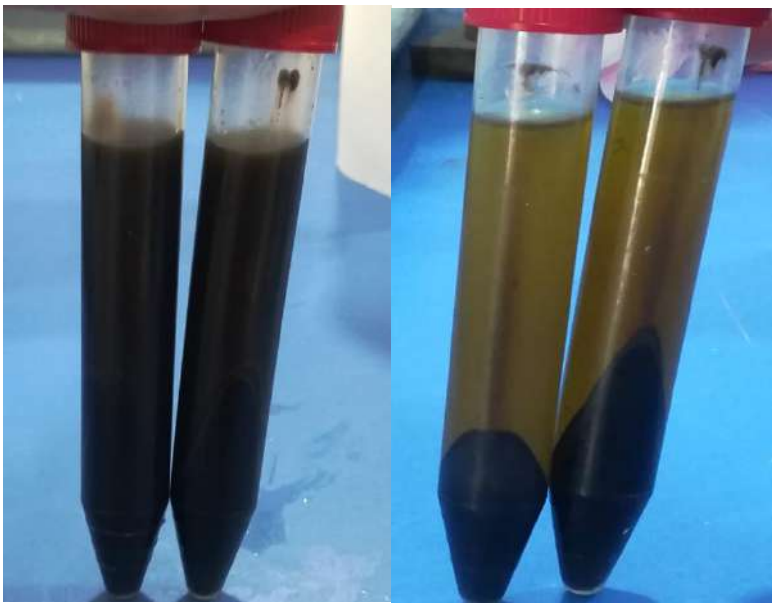


Figure IV.1 : HN avant et après la centrifugation

IV.1. Caractérisation organoleptique de l'HV

L'huile végétale de Nigelle d'origine de la Syrie est obtenue par pression à froid des graines de Nigella Sativa L., le liquide obtenu de nature visqueuse, de couleur jaune à brun, à une odeur forte. Les propriétés organoleptiques de cette huile sont présentées dans le tableau IV.1

Tableau IV. 1 : Propriétés organoleptiques d'huile végétale de la Nigelle cultivée

Aspect	**Liquide huileux**
Couleur	Jaune à brun
Odeur	A une odeur forte caractéristique de Nigella sativa L.

IV.2. Caractérisation physico-chimique de l'HV

Les caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques constituent un moyen de vérification et de contrôle de la qualité de l'huile végétale étudiée.

- Premièrement, nous avons déterminé la densité de l'huile de Nigelle, qui est un moyen simple de contrôler la pureté de l'huile. La densité de notre huile mesurée est de 0.919, et elle est proche de celle trouvée par Atta **[29]**
- L'indice de réfraction (IR) est un paramètre qui dépend de la pureté du produit, plus l'indice de réfraction d'un produit est proche à sa valeur normale, plus sa pureté est grande. Dans notre cas, l'IR mesuré à la température de 24.2°C est de 1.4721, et il est très proche à celui trouvé par Atta **[29]**
- L'indice d'acide représente la quantité en mg de KOH nécessaire pour neutraliser les acides gras libres présents dans 1g de corps gras. Il est utilisé pour la caractérisation et l'évaluation de la qualité d'huile et la teneur en acides gras libres, donc il permet de juger leur état de détérioration. L'indice d'acide de l'HV mesuré (figure IV.2) est de 9.45 mg KOH/g HV et il est inférieur aux normes ce qui indique que l'HN est fraiche.
- Les valeurs de l'indice de saponification (figure IV.3) et d'ester sont légèrement différentes à celles mentionnées par Atta **[29]** Et cette différence revient peut-être à l'origine des graines (l'Egypte dans le cas des travaux de Atta) et aussi aux conditions de culture et de stockage des graines.

Tableau IV. 2 : Résultats de la caractérisation physico-chimique de l'HV

		Résultat	Normes **[29]**
Caractéristiques physiques	**Densité**	0.919	0.921 ± 0.0002
	Indice de réfraction	1.4721	1.4732
Caractéristiques chimique	**Indice d'acide** (mg KOH/g HV)	9.45	11
	Indice de saponification (mg KOH/g HV)	207.57	192
	Indice d'ester (mg KOH/g HV)	198.12	181



Figure IV.2 : Détermination d'indice d'acide. Apparition de la coloration rose.



Figure IV.3 : Détermination d'indice de saponification. La solution titrée.

IV.3. Caractérisation par spectroscopie FTIR

La spectroscopie infrarouge joue un rôle très important dans la caractérisation et l'identification des groupements fonctionnels des composés des plantes.

La caractérisation par spectroscopie FTIR de l'HV de la Nigelle cultivée est réalisée au niveau du laboratoire d'analyses physico-chimiques du Hall Technologie. Le spectre IR obtenu est représenté dans la figure IV.4

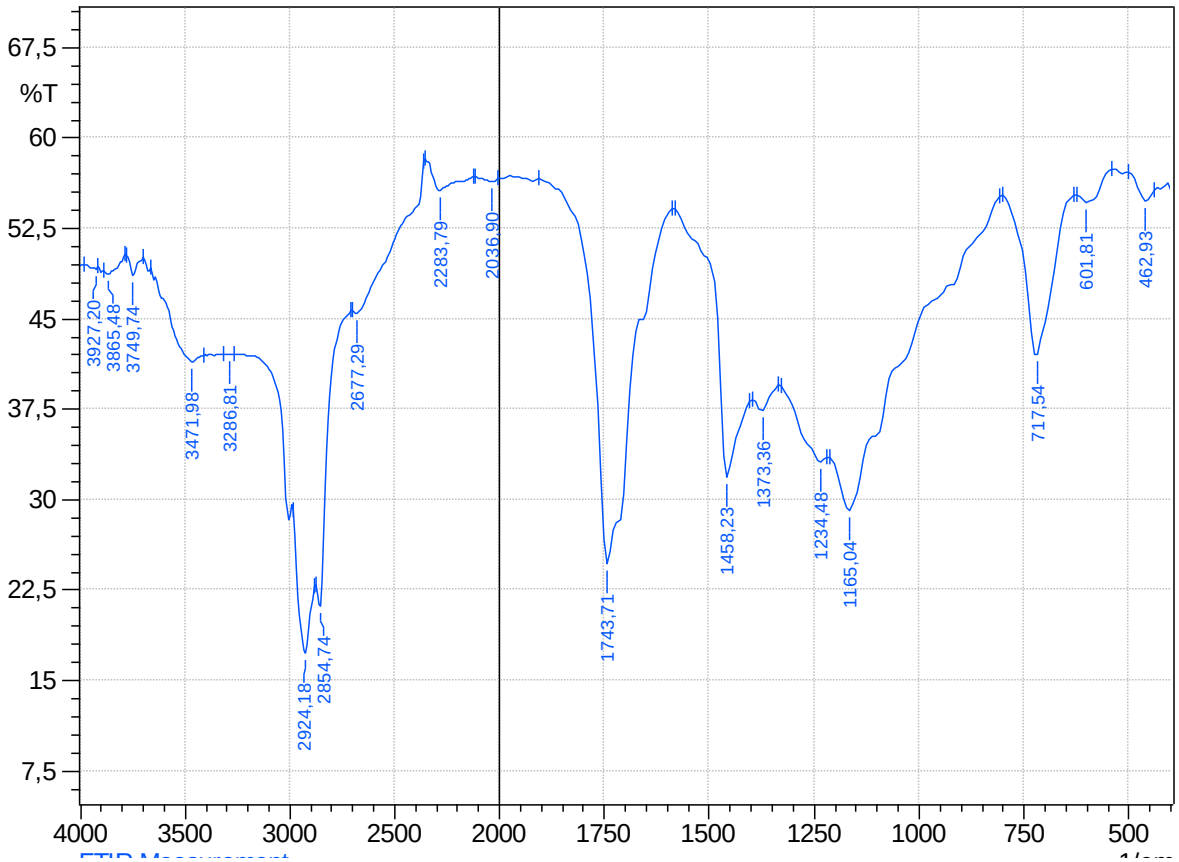


Figure IV.4 : Spectre FTIR de l'huile végétale la Nigelle Cultivée

A partir de la figure IV.4, le spectre FTIR de notre l'huile présente une large bande d'absorption à 3286.81 cm^{-1} qui a été affectée à la vibration du groupe hydroxyle du carboxyle (R-COOH), les bandes à 2924.18 et 2854.74 cm^{-1} ont été attribuées aux vibrations de la liaison C-H des groupe d'alcane (CH_2,CH_3). Un groupe intense à 1743.71 cm^{-1} attribuée à la vibration de la liaison carbonyle (C=O), la bande à 1658.84 cm^{-1} a été affecté à la vibration de la liaison du C=C, les bandes à 879.57 et 717.4 cm^{-1} correspondant au mode vibrationnel du cycle aromatique.

IV.4. Evaluation de l'activité antioxydant par DPPH

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH.

L'activité antioxydante du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette (DPPH*) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm (figure IV.5). **[2]**

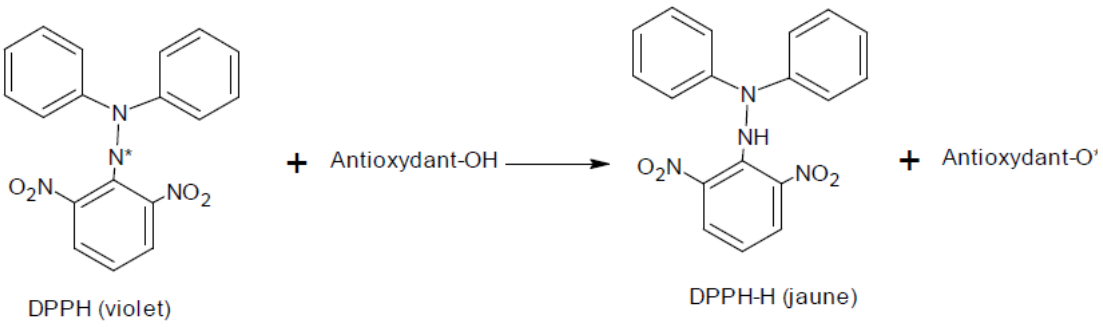


Figure IV.5 : Réaction d'une molécule antioxydante avec le radical DPPH

Afin de déterminer l'activité antioxydant de l'huile fixe de la nigelle cultivée, on a suit le protocole opératoire indiquée dans le paragraphe III.2.2.3 du 3ème chapitre.

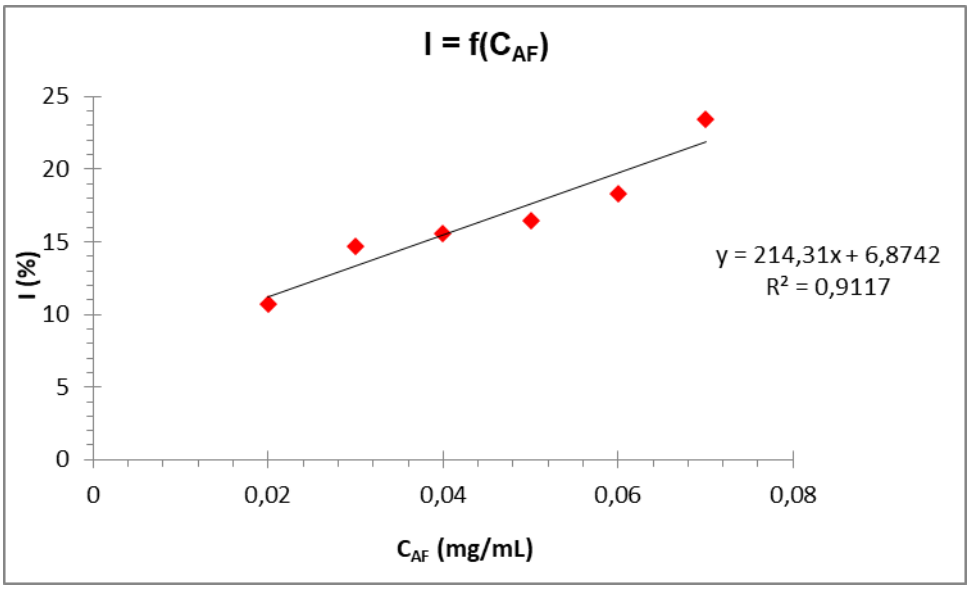


Figure IV.6: Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction de différentes concentrations de l'acide férulique.

Tableau IV.3 : Les valeurs d'absorbance de (HV+DPPH)

Volume de l'HV (ml)	0.025	0.05	0.1
DO	0.598	0.718	1.609

La méthode du piégeage du radical libre DPPH a montré que l'HV possède une activité antioxydant modérée. Constituer une alternative à certains additifs synthétiques.

La valeur du pourcentage d'inhibition calculée est : 12.59%

IV.5. Pouvoir réducteur

D'après la courbe d'étalonnage de l'acide férulique (Figure IV.6), lorsque la concentration d'AF augmente l'absorbance augmente aussi donc, le pouvoir réducteur augmente ce qui confirme que l'AF possède un pouvoir réducteur, c'est-à-dire il a une capacité de libérer l'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle pour stabiliser d'autres radicaux qui sont instables.

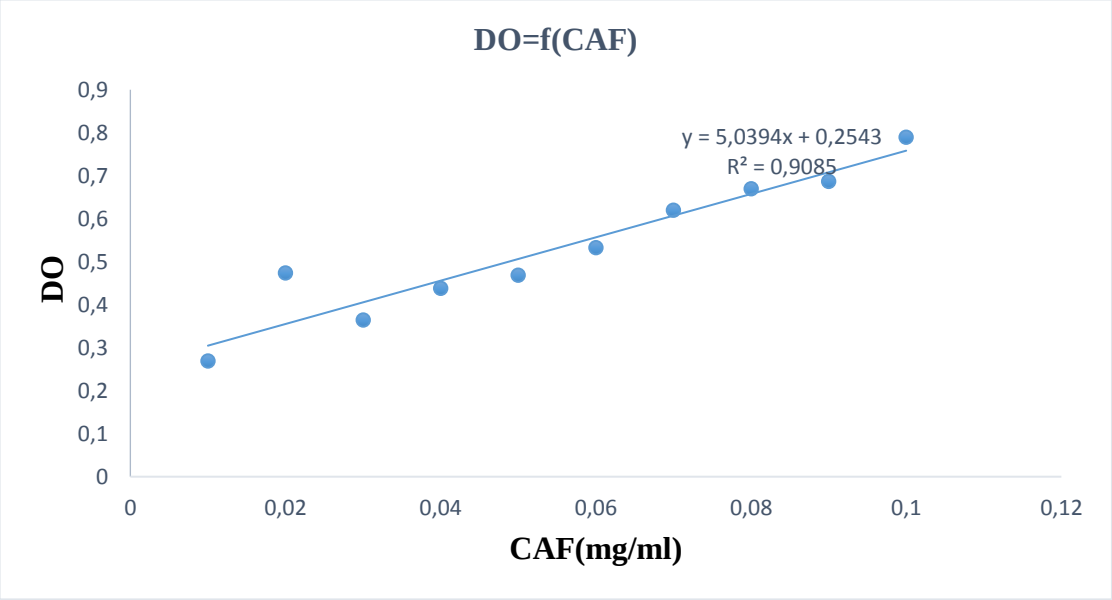


Figure IV.7 : la densité optique du réactif de folin en fonction de différentes concentrations de l'acide férulique.

Après avoir déposé la valeur de DO(HV)= 0.380 dans la courbe d'étalonnage, nous obtenons la valeur C=0.02mg/ml.

IV.6. Formulation de la pommade

Le balayage de formulation va permettre de choisir parmi une vaste palette de variables de formulation celle sur laquelle on va jouer pour fabriquer une pommade de type donné.

Nous avons préparé 15 formules de pommades à étudier :

- Celles qui contiennent de (la vaseline, l'huile de vaseline et l'huile de Nigelle) de différentes quantités.
- Et celles qui contient de (/beurre de karité, l'huile de vaseline et l'huile de Nigelle) de différentes quantités.
- Et l'autre qui contient de (la paraffine, l'huile de vaseline et l'huile de Nigelle) de différentes quantités.

IV.7. Optimisation des paramètres de formulation :

L'optimisation consiste à déterminer le mélange optimal des toutes les formulations, et comme variable de réponse nous avons pris les analyses organoleptiques (la couleur, la consistance et l'odeur), l'homogénéité et le pH par le papier pH.

a. Les analyses macroscopiques :

Les résultats de ce balayage sont résumés sur :

- Pour la série d'essais réalisé qui contient de la vaseline, on obtient des formules presque identiques de même couleur de même odeur et de même aspect avec une différence non remarquable. Leurs couleurs est jaune brun, leurs aspects est visqueuse, leur consistance semi dur et leurs odeurs est agréable inspiré par les graines de nigelle.
- Puis on passe à la série d'essais qui contient de la paraffine. Les quatre formulations sont de couleur jaune pâle, on a remarqué que les formules sont instables dans le temps et l'apparition de deux phases. Elles sont de consistance molle, inspiré par une odeur faible de l'HV.
- Et enfin pour la série d'essais réalisé qui contient du beurre de karité, on a remarqué que les deux formules sont stables, de consistance semi dure et elles possèdent un bon aspect et une couleur jaune. L'odeur est celle de d'HV et de beurre de karité.



Figure IV.8: pommade formulée qui contient la vaseline



Figure IV.9: pommade formulée qui contient la paraffine



Figure IV.10 : pommade formulée qui contient le beurre de karité

b. Homogénéité

Le test d'homogénéité a été réalisé macroscopiquement par étalement d'une couche mince de notre pommade sur une surface plane d'une feuille.

- Pour la série qui contient de vaseline. Toutes les formulations homogènes avec une présence des petites bulles d'air.
- Et pour la série qui contient de paraffine, on voit de l'apparition de deux phases dans le temps avec des grains remarquables donc les formulations non homogènes.
- Enfin pour la série qui contient de beurre de karité, elle est parfaitement homogène, on ne voit aucune présence de grumeaux ou des bulles d'air.

c. Potentiel Hydrogène

Le paramètre le plus important après l'étude de la stabilité est la teneur en pH de ces pommades étant donné que le produit va être met en contact directe avec la peau. Pour cela, nous avons procédé à un test à l'aide d'un papier pH.

- Les valeurs du pH mesurés par le papier pH sont comprises entre 5.5 et 6, cela est montré par la couleur de papier pH.

Les formules	**F1**	**F2**	**F3**	**F4**	**F5**	**F6**	**F7**	**F8**	**F9**	**F'1**	**F'2**	**F'3**	**F'4**	**F''1**	**F''2**

PH	6.5	7	6.5	7	6	6	7	7	7	5	5	5.5	5	6	6.5

IV.8. Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo

Pour chaque lot, les résultats obtenus sont compilés dans les tableaux qui suivent :

Tableau IV.4 : *lot (1) : mise en évidence de l'effet phlogogène de la carragéenine.*

N ° de souris	1	2	moyenne
Épaisseur initiale à t_0	0.085	0.061	0.073
Après injection du carragéenine t_1	0.104	0.094	0.099
Après 30 min à t_2	0.102	0.092	0.097
Après 60 min à t_3	0.104	0.090	0.097
Après90 min à t_4	0.100	0.084	0.092
Après 120 min à t_5	0.097	0.079	0.088
Après 150 min à t_6	0.092	0.082	0.087
Après 180 min à t_7	0.087	0.083	0.085

Tableau IV.5 : Lot (2) : Témoin négatif de l'effet phlogogène de la carraghénine

N ° de souris	1	2	moyenne
Épaisseur initiale à t_0	0.08	0.07	0.075
Après injection du carraghénine t_1	0.099	0.109	0.104
Après 30 min à t_2	0.086	0.09	0.088
Après 60 min à t_3	0.08	0.081	0.08
Après90 min à t_4	0.079	0.08	0.079
Après 120 min à t_5	0.074	0.077	0.075
Après 150 min à t_6	0.072	0.074	0.073
Après 180 min à t_7	0.071	0.075	0.073

Tableau IV.6 : Lot (3) : mise en évidence de l'effet anti-inflammatoire de la pommade formulée

N ° de souris	1	2	moyenne
Épaisseur initiale à t_0	0.085	0.061	0.073
Après injection du carragéenine t_1	0.104	0.09	0.097
Après 30 min à t_2	0.093	0.079	0.086

Après 60 min à t_3	0.105	0.07	0.087
Après90 min à t_4	0.102	0.068	0.085
Après 120 min à t_5	0.100	0.07	0.085
Après 150 min à t_6	0.090	0.074	0.082
Après 180 min à t_7	0.084	0.076	0.080

Tableau IV.7 : Lot (4) : mise en évidence de l'effet anti inflammatoire de la pommade commerciale (Flucidal 3%)

N ° de souris	1	2	moyenne
Épaisseur initiale à t_0	0.073	0.067	0.07
Après injection du carragéenine t_1	0.114	0.104	0.109
Après 30 min à t_2	0.101	0.093	0.097
Après 60 min à t_3	0.097	0.084	0.09
Après90 min à t_4	0.099	0.082	0.09
Après 120 min à t_5	0.095	0.077	0.086
Après 150 min à t_6	0.089	0.076	0.081
Après 180 min à t_7	0.083	0.071	0.077

Pour chaque lot c'est la moyenne des valeurs des 2 souris qui est prise en compte, et ce à chaque temps. Les valeurs et surtout leur évolution, sont plus explicites une fois représentées sous forme de 4 graphes dans un repère unique (fig. IV-9).

Ci-dessous les 4 courbes dans un seul repère pour faciliter leur comparaison :

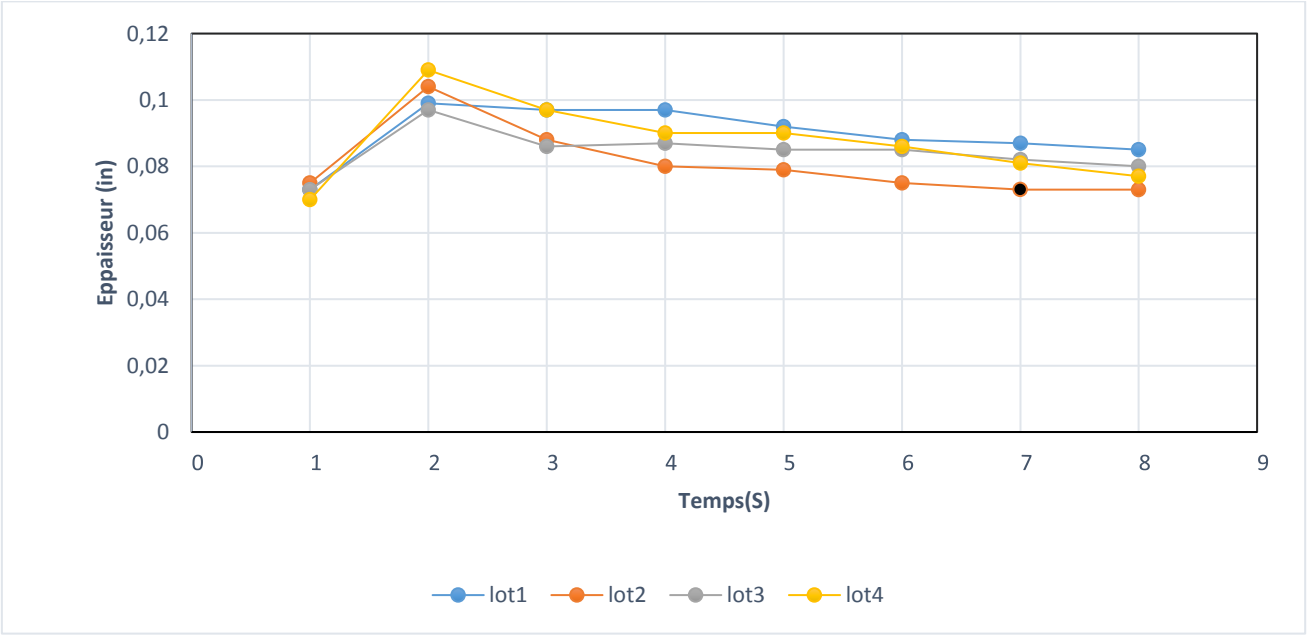


Figure IV.11 : Graphe qui montre l'évolution des épaisseurs des pattes, pour les 4 lots.

- **Lot 1, et 2 :** l'épaisseur des pattes diminue lentement et c'est normal, car c'est la réaction de défense de l'organisme, mais la disparition de l'inflammation pour le lot 1 est plus lente que celle du 2ème lot, et ça veut dire que l'effet phlogogène de la carragéenine est prouvé, et par conséquent l'eau physiologique (solvant de dilution) ne provoque pas de l'inflammation.
- **Lot 3, et 4 :** on remarque que presque la même diminution de l'épaisseur des pattes à travers le temps de la pommade formulée et de la pommade commercial, et la régression de l'inflammation sensiblement par rapport au témoin 1.

En conclusion, notre pommade formulée qui est contient de (la vaseline, l'huile de vaseline et l'huile de nigelle) possède une bonne activité anti-inflammatoire par voie cutané.

Conclusion

Conclusion :

Malgré les progrès considérables de la chimie, de l'industrie pharmaceutique et de la médecine, les plantes médicinales n'ont rien perdu de leurs importances, ces plantes possèdent des composés qui ont des propriétés anti-inflammatoires ce qui permet leurs utilisations dans le domaine thérapeutique.

L'objectif de ce projet est :

- Evaluation de la qualité de l'huile de nigelle par caractérisation organoleptique avec une consistance visqueuse, de couleur jaune à brun, et une odeur caractéristique de Nigella sativa L.
- Les valeurs des caractéristiques physico-chimiques de l'huile de nigelle mesurées dans notre étude (une densité de 0.919, un indice de réfraction de 1.4721, un indice d'acide de 9.45 mg KOH/g HV et un indice de saponification de valeur égale à 207.57 mg KOH/g HV) sont proches à ceux mentionnées par Atta, ce qui prouve la pureté de l'huile de nigelle.
- L'activité antioxydant, mesurée par la méthode du piégeage du radical libre DPPH, a donné un pourcentage de 12.59%, Ce qui montre que l'huile de nigelle possède une activité antioxydant modérée en la comparant avec l'acide férulique.
- Le pouvoir réducteur est déterminé expérimentalement en utilisant la méthode de réactif de folin,
- La 2ème partie de notre étude consiste à la formulation d'une pommade anti-inflammatoire en optimisant la quantité des différents constituants de la pommade. Plusieurs formulations en été préparées mais celles qui nous a donné de bon résultats suivants les tests réalisés est la formule qui est à base de beurre de karité
- La détermination de l'activité anti-inflammatoire des pommades formulées a été réalisée sur des souris et dans des conditions opératoires bien déterminées, les résultats obtenus lors de cette partie montrent que la formulation qui est à base de beurre de karité a donné le meilleur effet anti-inflammatoire.
- En se basant sur les tests physico-chimiques et l'activité anti-inflammatoire, on constate que la formule qui est à base de beurre de karité est la meilleure pommade anti-inflammatoire formulée lors de cette étude et qui réponds à l'objectif de notre étude fixé auparavant.

Comme perspectives, on peut par la suite améliorer ce travail et le développer en étudiant les points suivants :

- Détermination de la composition exacte de notre l'huile végétale en utilisant la chromatographie en phase liquide HPLC.
- Etudier d'autres activités pharmacologiques notamment l'activité antidiabétique, anticancéreuse et aussi l'activité antiallergique.
- Préparer des pommades d'autres types (hydrophile).

Références bibliographiques

Références bibliographiques

[1] Hambaba L., Boudjellal K., abdeddaim M., Aberkane M.C., Boudiaf K. 2012. Etude in vitro des activités anantimicrobienne et antioxydante des extraits du fruit d'Elaeagnus angustifolia L. Phytothérapie 10 :350-356.

[2] Youssef, M.K.E., Eshak, N.S., Hana, R. S. (2013) Physicochemical characteristics, nutrient content and fatty acid composition of Nigella sativa oil and sesame oil., Food and Public Health 3 : 309-314

[3] Aroma-zone, A-Z., Huile végétale de nigelle BIO (cumin noir).

[4] Salama, 2010:‹‹ clinical and therapeutic trials of Nigella sativa ››, TAF Prev Med Bull, 9(5): 513-522.

[5] https://doi.org/10.1016/S1957-2557(11)70237-1

[6]https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://cosmetiques.ooreka.fr/astuce/voir/580739/huile-vegetale&ved=2ahUKEwjHoMzx04PxAhVCRBoKHfeTBLQQFjAFegQIExAC&usg=AOvVaw0uapIOO3gVC2wh2RMlwtza&cshid=1623004838412

[7] Morin O., et PAGèS-XATART-PARèS, (2012). Huile et corps gras végétaux : ressource fonctionnelle et intérêt nutritionnel », OCL, 19 (2) 63-64.

[8] Littarru GP., Lambrechts P. (2011). Coenzyme Q10: multiple benefits in one ingredient. Oleagineux Corps gras Lipides; 18 : 76-82.

[9] Pagès X, Morin O. Industries des corps gras. In : De Reynal B, Multon JL (Eds), Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires. Paris, Lavoisier, 2009

[10] Pagès X, Morin O, Birot C et al. (2010). Raffinage des huiles et des corps gras et élimination des contaminants. Oléagineux Corps gras Lipides; 17 : 86-99.

[11] Gros C., « Extraction aqueuse et athermique de l'huile de lin assistée par décharges électriques de haute tension », Thèse de doctorat, université de technologie de compiègne, France, 2005, P 244.

[12] Baba aissa, F., 2011 : « encyclopédie des plantes utiles », el Maarifa, alger, p255.p471

[13] Ghedira K., (2006). La nigelle cultivée : Nigella sativa L. (Ranunculaceae). phytothérapie, p220.p226

[14] Avenzora, 2012 : « la graine de nigelle ou cumin noir : un remède miraculeux »p2.

[15] IBN-SINA. (1972). La loi de la médecine, le livre des médicaments et des plantes. Beyrouth: Maktab A1ttollab

[16] Guignard J-L., (2001). Botanique systématique moléculaire , 12e édition, Masson, paris.

[17] Moussaoui M. (2013). Les vertus médicinales de la graine de Nigelle. Paris : Sana.

[18] Wichtl M. ; Anton R. (2003). Plantes thérapeutiques. Tournai (Belgique): 2ème édition, Tec & Doc; 2003

[19] Belouad A., (2005). Plante médicinales d'Algérie, offices des publications universitaires, p144.p154

[20] Toparslan C. À propos de Nigella sativa L. Thèse de Pharmacie. Université de Nancy; 2012.

[21] Anton R., Teuscher E., Lobstein-Guth A., Bauermann U., Werner M., Rohrner C., et al. (2005). Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles. Paris: Médicales internationales;

[22] Hadjadj N., Optimisation des paramètres influençant le taux d'extraction de l'huile des graines de nigelle (Nigella sativa L.) par pressage,2008, INA.

[23]. Tuter M., Aksoy H.A., Ustun G., Riva S., Secundo F., Ipekler S. (200). Partial purification of Nigella sativa L. seed lipase and its application in hydrolytic reactions: enrichment of γ-linolenic acid from borage oil. Journal of the American Oil Chemists' Society; 80: 237-241.

[24] AL-Jassir M. (1992). Chemical composition and microflora of black cumin (Nigella sativa) seeds growing in Saudi Arabia. Food Chemistry; 45: 239-242.

[25] Nergiz C., Otles S. (2003). Some characteristics of Nigella sativa L. seed cultivated in Egypt and its lipid profile. Food Chemistry; 83: 63-68.

[26] Ramadan M. F., MÖrsel J.T. (2002). Direct isocratic normal-phase HPLC assay for fat soluble vitamins and β-carotene in oil seeds. European food research and technology; 214: 521-527.

[27] AL-Salah I., Billedo G., EL-Doush I. (2006). Levels of selenium, DL-α-tocopherol, DL-γ tocopherol, alltrans-retinol, thymoquinone and thymol in different brands of Nigella sativa seeds. J Food Comp Analysis; 19: 167-175

[28] Sultan M.T. 2009. Nutritional profile of indigenous cultivar of black cumin seeds and antioxidant potential of its fixed and essential oil. Pakistan Journal of Botany, vol. 41; 3: 1321-1330.

[29] Atta B. M. Some characteristics of Nigella (Nigella sativa L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile. Food Chemistry. 2003, 83: 63-68.

[30]. Benkaci-Ali F., Baalioumer A., Meklati B, 2006 : « Kinetic study of microwave extraction of essential oil of Nigella sativa L" seeds, chromatographia,p227.p231.

[31]. Benkaci-Ali F., Baaliouamer A., Meklati B.Y., CHEMAT F. Chemical composition of seed essential oils from Algerian Nigella sativa extracted by microwave and hydrodistillation. Flavour & Fragrance Journal. 2007; 22: 148-153.

[32] Toma C-C., Simu G-M., Hanganu D., Olah N., Georgiana Vata F.M., Hammami C., Hammami M. Chemical composition of the Tunisian Nigella sativa. Note I. Profile on essential oil. Farmacia, vol. 58. 2010; 4.

[33] Kazemi M. Chemical composition and antioxidant properties of the essential oil of Nigella sativa L. Bangladesh J. Bot. 2015 (March); 44(1): 111-116,

[34] Greenish, H. (1880). Contribution to the Chemistry of Nigella sativa (Vol. 10). Pharmac J Trans.

[35]Taskin, M., Alankus-Caliskan, O., Anil, H., Abou-Gazar, H., A- Khan, I., Bedir, E. (2005). Triterpène saponins from Nigella sativa L. Turkish J Chem (29), 561-569.

[36] Merfort, I., Wray, V., Barakat, H., Hussein, S., Nawwar, M., Willuhn, G. (1997). Flavonoid triglycerides from seeds of Nigella sativa. Phytochemistry (46), pp. 359-363.

.**[37]** Atta-Ur-Rahman, M., Hassan, S., Coudhary, M., NI, C., Clardy, J. (1995). Nigellidine : a new indazole alkaloid from the seeds of Nigella sativa. Tetrahedron letters (36), pp. 1993-1996.

[38]. Panch phoron. Consulté le 29 Février 2012, sur Wikipedia, The Free Encyclopedia: http://en.wikipedia.org/wiki/Panch_phoron

[39] Orsi-Linares F. La nigelle, une épice d'intérêt médicinal. Thèse de Pharmacie. Université de Grenoble; 2005. Université de Grenoble; 2005.

[40] Aggarwal, B. B., Kunnumakkara, A. B. (2009). Molecular Targets and Therapeutic Uses of Spices, Modern Uses for Ancient Medicine. Singapore: World Scientific Publishing.

[41] EL-Fatatry, H., EL-Alfy, T. (1975, Février). Isolation and structure assignment of an antimicrobial principle from the volatile oil of Nigella sativa L. seeds. Die Pharmazie , 30 (2), pp. 109-111.

[42].Houghton, P., Zarka, R., De Las -Heras, B., Hoult, J. (1995). Fixed oil of Nigella sativa and eicosanoid generation in leukocytes and membrane lipid peroxidation derived thymoquinone inhibit. Planta medica (61), 33-36.

[43] Baser, K., Honda, G., Miki W. (1986). Herb drugs and herbalists in Turkey. Institute for the study of languages and cultures of Asia and Africa, Tokyo.

[44] Toparslan, 2012 : « A propos de Nigella sativa L », thèse de doctorat.

[45] Mariod A.A., Ibrahim R.M., Ismail M., Ismail N. Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (Nigella sativa) seedcake. Food Chemistry. 2009; 116: 306-312

[46]. AL-Majed A.A., AL-Omar F.A., Nagi M.N. Neuroprotective effects of thymoquinone against transient forebrain ischemia in the rat hippocampus. European Journal of Pharmacology. 2006; 543:40-47.

[47] Mansour M, Tornhamre S, 2004. Inhibition of 5-lipoxygenase and leukotriene c4synthèse in Human Blood Cells by Thymoquinone. Jornal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry,p431.p436

[48] Ghannadi A, Hajhashemi V, Jafarabadi H, 2005: « An Investigation of the Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of Nigella sativa seed Polyphenols », J Med Food, p488.p493.

[49].Nikakhlagh S., Rahim F., Aayani F.H., Syapoush A., Brougerdnya M.G., Saki N. Herbal treatment of allergic rhinitis: the use of Nigella Sativa. Am. J. Otolaryngol. 2011; 32(5): 402-407.

[50]. KB Shuid A.N., Mohamed N., Mohamd I.N., Othman F., Suhaimi F., Mohd Ramli E.S. et al. Nigella Sativa: a potential antiosteoporotic agent. Evid. Based Compl. Altern. Med. 2012; 696230.

[51] Yousefi M., Barikbin B., Kamalinejad M., Abolhasani E., Ebadi A., Younespour S., Manoucherhian M., Hejazi S. Comparison effect of therapeutic of topical Nigella with Betamethasone and Eucerin in hand eczema. J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 2013; 27: 1498-1504.

[52] https://solidarites-sante.gouv.fr/soins-et-maladies/medicaments/le-bon-usage-des medicaments/article/qu-est-ce-qu-un-medicament publié le13.06.16 mise à jour28.05.18

[53] https://www.maxicours.com/se/cours/la-formulation-d-un-medicament/

[54] https://www.afterclasse.fr/fiche/558/la-formulation-d-un-medicament

[55] Denine, R., cours de pharmacie galénique.

[56] Dillemann, G., H. Bonnemain, and A. Boucherle, La pharmacie française : ses origines, Son histoire, Son evolution 1992 : Tec & Doc-Lavoisier

[57] Le Hir, A. and M. Janot, pharmacie galénique (bonne pratique de la fabrication). Abrégés de pharmacie, 2001.

[58] https://www.vidal.fr/medicaments/utilisation/regles-bon-usage/formes-medicament.html

[59] F. Dridi, Extraction se analyse de l'huile de cumin formulation d'une pommade décongestionnante. 2005.

[60] Martie-Mestres, G.and F.Nielloud, Emulsion in health care application-an overview. Journal of dispersion science and technology, 2002.23 (1-3):P 419-439.

[61] Legrand. G (1986) , Manuel du préparateur en pharmacie, 10ème édition Masson, Paris,

P 618.

[62] Tran, H., et al. Propriétés mécanique multi-couches de la peau humaine in vivo. In Colloque National en Calcul des structures. 2005.

[63] frelichowska, J., Emulsions stabilisées par des particules solides : études physico-chimiques et évaluation pour l'application cutanée, 2009, université claude Bernard-Lyon I

[64] Tran, H, -V., Caractérisation des propriétés mécanique de la peau humaine in vivo l'TRM, 2007, Université technologie de Compiègne.

[65] Immunopathologie et réactions inflammatoires. Bernard weill, Frédéric batteux. 12-20. De Boeck. 2003.

[66] https://public.larhumatologie.fr/files/files/Generique/fichePratique-Generique-Anti-inflammatoire.pdf

[67] Clinard F, Sgro C, Bardou M, Dumas M, Hillon P, Borithon_Kopp C. Non-steroidal antiinflammatory drug prescribing patterns in general practice: comparison of a general practitionerbased survey and a pharmacy-based survey in France. Pharmacoepidemiol Drug 2001 Juillet; 10 (4): 329_338

[68] Nicolas J-F., Florence C. et Jean T. (2001) : Immunologie clinique et allergologie. Aspirine et AINS : intolérance et allergie. John Libbey Eurotext, p.55-58.

[69] Barnes, P.J. (1998): Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. Clinical science, 94(6), 557-572.

[70] Henzen C, Suter A, Lerch E, Urbinelli R, Schorno XH, Briner VA (2000).Suppression and recovery of adrenal response after short-term, highdose glucocorticoid treatment. Lancet; 355; 542–5.

[71] Aroma-zone, A-Z., Huile végétale d'Andira BIO.

[72] Davrieux F.,Allalf.,Pimbo G., Kelly B.,Okulo J., Thiam M., Diallo & Bouvert J.M.,2010 : ‹‹journal of Agricultural and Food Chemistry, 58›› 7811-7819.

[73] http://www.physique-et-matiere.com/paraffine.php

[74] A.F.N.O.R Huile essentielles(2000), tome 1, Paris. Densité relative : NFT 75-111, Indice de réfraction : NFT 75-112, Indice d'acide : NFT 75-103, Indice d'ester : NFT 75-104

[75] M .Rahmani, N.Moussaoui, Elimination du Pb2+ par deux types de kaolins naturel et traités thermiquement. Mémoire de master, Université de Béjaia, 2013..

[76] Majhenic L., kerget M.S., ET Knez Z., Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food Chemist. 104 (2007) 1258–1268.

[77] Al-Farsi M, Alasalvar C, Morris A, Barron M, Shahidi F. 2005. Comparison of Antioxidant Activity, Anthocyanins, Carotenoids, and Phenolics of Three Native Fresh and Sun-Dried Date (Phoenix dactylifera L.) Varieties Grown in Oman. J. Agric. Food Chem, 53: 7592-7599. DOI: 10.1021/jf050579q.

[78] Rasnani N.M., Mirhosseini H., Sham Baharin B., Tan C. P., 2011:‹‹effect of PH on physiochemical properties and stability of sodium caseinate-pectin stabilized emulsion››, journal of food, agriculture & environment.

[79] Winter C.A., Risley E.A., Nuss C.W. (1962). Carrageenan-induced oedema in hind paw of rats-an assay for anti-inflammatory drugs. Proceedings of Society Experimental Biology Medicine 111, 544Ŕ547.

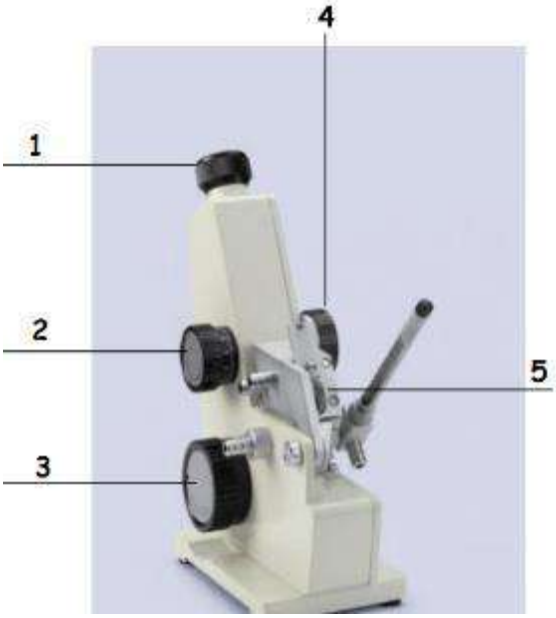
[80] Atta M. B.,"Some characteristics of nigella (Nigella sativa L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile", Food Chemistry 83 (2003) 63–68

[81] choi C.W., kim S.C., Hwang S.S., choi B.K., Ahn H.J., Lee M. Y. Park S. H. and kim S.K., 2002. Antioxydant activity and free radial scavenging capacity between korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison plant science, 163: 1161-1168

ANNEXE

Annexes

Annexe 1 : Principe de réfractométrie



1. L'oculaire : permet de voir le champ visuel qui comprend à la fois le réticule et l'échelle d'indice de réfraction, et de faire la mise au point.

2. Bouton (dispersion) : permet d'achromatiser pour obtenir une ligne de démarcation nette entre la zone éclairée et la zone sombre.

3. Bouton de mesure : permet de faire coïncider la ligne de démarcation entre la zone éclairée et la zone sombre avec la croisée des fils du réticule.

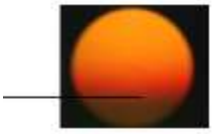
4. Bouton d'ouverture de l'emplacement des deux prismes.

5. Couvercle d'ouverture de la fenêtre d'entrée de la lumière.

- Ouvrir l'emplacement des deux prismes avec le bouton (4), nettoyer doucement les deux prismes avec du papier filtre imbibée d'une solution alcoolisée.
- Ouvrir la fenêtre (5) d'entrée de la lumière, la diriger vers une source de lumière (lampe).
- Déposer à l'aide d'un compte-gouttes une goutte du liquide sur le prisme P non rabattu. Rabattre doucement le prisme P' et fermer à l'aide du bouton (4)



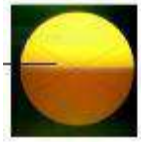
❖ *Régler le bouton (3) de façon à observer dans l'oculaire (1) une zone de démarcation entre les deux zones sombre et claire.*



❖ *Tourner le bouton (2) jusqu'à observer à l'oculaire une ligne de démarcation nette entre les deux zones.*



❖ *Agir de nouveau sur le bouton (3) pour ramener la ligne de démarcation au centre de la mise.*



❖ *Effectuer la lecture de l'indice de réfraction en ajustant au besoin la mise au point de L'oculaire Lecture de l'indice du liquide déposé*



Ici n=1.3625

Annexe 2 : Principe de Spectrométrie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR)

Le principe de transformation de Faurrier (TF) se base sur le fait que chaque fonction peut être décomposée en une somme de fonctions sinusoïdales, chaque fonction sinusoïdal étant définie par deux valeurs : sa fréquence (longueur d'ondes) et son amplitude (intensité).

La transformation de Fourier est une procédure mathématique qui permet de décomposer un interférogramme en une somme de fonction sinusoïdale, représentant chacune une onde donnée. La fréquence et l'amplitude de ces ondes sont calculées a partir des données de L'interferogramme. En quelques secondes, l'interferogramme est recueilli par le spectromètre, traite par le calcul de transformation de fourier et converti pour donner le spectre entier de l'échantillon.

Dans les conditions normales de température et de pression (CNTP), les atomes et groupements fonctionnels, constituant la matière, sont animés de mouvements vibratoires. Si ces constituants sont exposés à un rayonnement électromagnétique dont la fréquence est proche de celle de l'une ou l'autre de leurs vibrations propres, ils entrent en résonance, empruntant pour ce faire, de l'énergie dans le faisceau incident. Il y alors absorption d'énergie. Sous l'effet d'un rayonnement électromagnétique infrarouge, les liaisons moléculaires absorbent une partie de cette énergie et vibrent selon des mouvements de différents types (vibrations d'élongation ou de déformation). Le domaine infrarouge, dans lequel se trouvent les énergies de vibration des liaisons moléculaires, est divisé en trois zones:

- proche infrarouge : λ = 0,8 à 2,5 mm (ou ν = 4000 à 12500 cm-1)

- moyen infrarouge : λ = 2,5 à 25 mm (ou ν = 400 à 4000 cm-1)

- lointain infrarouge : λ = 25 à 1000 mm (ou ν = 10 à 400 cm-1).

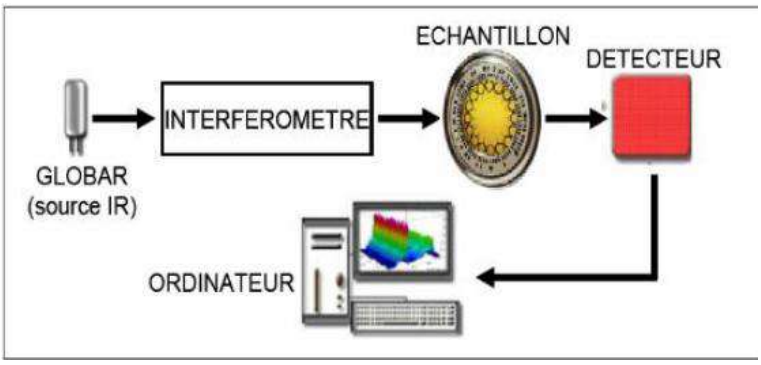


Schéma de montage d'un spectromètre FT-IR.

Annexe 3 : Préparation de la solution de DPPH

- Dissoudre 2.4 mg de DPPH dans 100 ml éthanol,
- Laisser la solution sous agitation pendant 2h jusqu'à la solubilisation totale de DPPH.

Annexe 4 : Préparation de la solution de la carragéenine

Le carragéenine : Mucopolysaccharide sulfaté extrait d'une algue marine

- Dissoudre 1g de carragéenine dans 100 ml l'eau distillée.