

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique Université Hassiba
Benbouali de Chlef
Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Génie Pharmaceutiques

Etude des vertus thérapeutiques des extraits de *Teucrium*

***Polium* et contribution dans les applications locales**

Présenté par :

FELLAH Rayane

ELHADJ ELGOUL Feriel

Encadré par :

Dr. FERAOUN Brahim

Présenté devant le jury composé de :

Mme TAHRAOUI DOUMA Naima

MCA

U.H.B.C

Présidente

Mme DJELLOULI DELLA Siham

MAA

U.H.B.C

Examinatrice

Année Universitaire : 2023/2024

Remerciements

Nous remercions ALLAH le Tout-Puissant de nous avoir accordé la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce modeste travail.

Nous exprimons notre profonde gratitude à **Mr FERAOUNE** notre encadrant, pour son aide précieuse, sa patience tout au long de ce travail. Ses conseils avisés, son expertise et son soutien indéfectible ont été déterminants pour la réussite de ce projet.

Nos remerciements s'adressent également à **Mr MOKHNACHE** pour son aide précieuse, sa patience, sa disponibilité, ses encouragements et ses suggestions.

Nous tenons également à exprimer notre reconnaissance envers **Mr OTMANINE** pour son aide et ses précieux conseils dans le domaine pharmaceutique. Son expertise et son soutien ont été d'une grande aide.

Nous sommes profondément reconnaissants envers Mme **SAIDA**, ingénieure de laboratoire Génie pharmaceutique, pour son aide précieuse et son soutien technique tout au long de ce travail. Nous la remercions pour le temps qu'elle avait consacré à nous guider, pour ses conseils avisés et son soutien moral.

Nous remercions également Mlle **BATOUL** pour son aide.

Enfin, nous adressons nos remerciements à tout le personnel et aux enseignants du département pour leur soutien inestimable, et spécialement aux professeurs de la spécialité de Génie pharmaceutique.

Merci à tous pour votre implication et votre soutien.

Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à tous ceux qui me sont chers.

Aux meilleurs parents au monde

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épaule pour que je puisse atteindre mes objectifs.

Mon amour pour vous est incommensurable. Je vous serai éternellement reconnaissante pour l'amour inconditionnel que vous m'avez donné et toute l'aide que m'avez apportée durant mes études.

A mes chères sœurs

Qui m'ont encouragé et soutenu tout au long de mes études, merci d'avoir été toujours là pour moi et de combler mon cœur de joie.

A tous mes amis

Rayane

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à ma mère qui a consacré sa vie à mon bonheur et à ma réussite, à mon père qui est toujours près de moi, ainsi qu'à leur encouragement et leur compréhension illimités.

À mon frère

À mes sœurs

Feriel

Sommaire

Remerciement	I
Dédicace	II
Table de matière	III
Liste des figures	IV
Liste des tableaux	V
Liste abréviations	VI
Résumé	VII
Introduction Générale	1
Partie bibliographique	
Chapitre I : Généralité sur la plante <i>teucrium polium</i> L	
I.1. La famille des Lamiacées	3
I.1.1. Présentation de la famille des Lamiacées	3
I.1.2. Description botanique de la famille des Lamiacées	4
I.2. <i>Teucrium polium</i> L	4
I.2.1. Le nom scientifique du <i>Teucrium Polium</i> L	4
I.2.2. Description botanique	5
I.2.3. Classification systématique de la plante	5
I.2.4. Distribution géographique	6
I.2.5. Composition chimique	6
I.2.6. Les propriétés médicinales	7
Chapitre II : Généralités sur les crèmes	
II.1. Définition	8
II.2. Classifications des crèmes	9
II.2.1. Classification selon la nature des phases	9
II.2.2. Classification par voie d'administration	9
II.2.3. Classification par usages	9
II.3. Les émulsions	10
II.3.1. Types d'émulsions	10

Table de matière

II.3.1.1. Emulsions simples	10
III.3.1.2. Emulsions multiples	11
II.4. Composition des crèmes	11
II.5. Formulation d'une crème	13
II.6. Contrôles qualité d'une crème	14
II.6.1. Le Contrôle des matières premières	14
II.6.2. Le contrôle en cours de fabrication	14
II.7. Les Problèmes Industriels dans les Procédés de Fabrication des Crèmes	16
II.8. Innovations et Tendances Futures dans la fabrication des crèmes	17
Chapitre III: Cicatrisation et plaie cutanée	
III.1. Plaie cutanée	20
III.1.1. Définition	20
III.1.2. Les types de plaies	21
III.1.3.1. Profondeur de la plaie	21
III.1.3.2. Etendue de la plaie	22
III.1.3.3. Nature de la plaie	22
III.2. La cicatrisation	22
III.2.1. Définition	22
III.2.2. Les différentes étapes de cicatrisation	23
III.2.2.1. La phase de détersion (0 à 4 jours)	23
III.2.2.2. La phase de régénération (2 à 10 jours)	24
III.2.2.3. La phase de remodelage (3-6 semaines)	24
III.2.3. Les différents types de la cicatrisation	25
III.2.3.1. Cicatrisation par première intention	25
III.2.3.2. Cicatrisation par seconde intention	25
III.2.3.3. Cicatrisation par troisième intention	26
III.2.4. Les facteurs qui influencent la guérison des cicatrices	26
Partie expérimentale	
Chapitre IV : Matériels et méthodes	
IV.1. Structure de stage	28
IV.2. Matériel	28
IV.2.1. Matière végétale	28
IV.2.2. Animaux	28
IV.2.3. Matériels de laboratoire	29
IV.2.3.1. Appareillages	29

Table de matière

IV.2.3.2. Matériels et verreries	30
IV.2.3.3. Produits chimiques	30
IV.3. Préparation de la plante	31
IV.3.1. Séchage de la plante	31
IV.3.2. Le broyage	32
IV.3.3. La granulométrie	32
IV.4. Détermination du taux d'humidité	33
IV.5. Préparation des échantillons	33
IV.6. Méthodes d'extraction	33
IV.6.1. Extraction assistée par ultrasons	33
IV.6.2. Optimisation des conditions d'extraction assistée par ultrasons	35
IV.6.3. Etude comparative de l'extraction assistée par ultrason avec d'autres méthodes d'extraction	36
IV.6.3.1. Extraction par macération classique	36
IV.6.3.2. Extraction par soxhlet	37
IV.7. La filtration	39
IV.8. Evaporation	39
IV.9. Calcul du rendement de l'extrait	41
IV.10. Caractérisation des extraits	41
IV.10.1. Caractérisation organoleptiques	41
IV.10.2. Analyse physique	41
IV.10.2.1. Mesure du pH	41
IV.10.2.2. Analyse de la conductivité la conductivité électrique	41
IV.11. Analyse physico-chimique	42
IV.11.1. Analyse par la spectroscopie Infra-rouge	42
IV.11.2. Analyse par chromatographie liquide à haute performance	43
IV.12. Analyses Biologiques	45
IV.12.1. Dosage des polyphenols totaux	45
IV.12.3. Evaluation de l'activité antioxydante	47
IV.12.3.1. Activité de balayage des radicaux libre DPPH	48
IV.13. Analyse Microbiologie	48
IV.13.1. Evaluation de l'activité antibactérienne	51
IV.13.1.1. Les souches bactériennes utilisées	51
IV.13.1.2. Technique de diffusion sur milieu gélosé (Antibiogramme)	52
IV.13.1.3. Préparation du milieu de culture	53
IV.13.1.4. Préparation de la suspension bactérienne	53
IV.13.1.5. L'ensemencement	53
IV.13.1.6. Application des disques	53
IV.13.1.7. Diffusion et incubation	54
IV.13.1.8. Détermination de DI (diamètre d'inhibition)	54
IV.14. Formulation de la crème cicatrisante	55
IV.14.1. Les principaux produits utilisés dans la préparation de la crème cicatrisante	55

Table de matière

IV.15. Optimisation de la formulation de la crème cicatrisante	56
IV.16. Caractérisation la crème	59
IV.16.1. Caractéristiques organoleptiques	60
IV.16.2. Examen microscopique	60
IV.16.3. Analyses physico-chimiques	61
IV.16.3.1. Détermination du pH	61
IV.16.3.2. Evaluation de la stabilité par centrifugation	61
IV.16.3.3. Détermination du sens de l'émulsion (H/E/H ou E/H/E)	62
IV.16.3.4. Mesure de la capacité d'étalement	63
IV.17. Evaluation de l'activité cicatrisante	64
IV.17.1. Etude de l'activité cicatrisante des paies	64
Chapitre V : Résultats et discussion	
V.1. Le taux d'humidité	66
V.2. Rendement d'extraction	67
V.2.1. Optimisation des conditions optimales de l'extraction assistée par ultrasons	67
V.2.1.1. Détermination du diamètre optimale	67
V.2.1.2. Détermination de l'intervalle de temps optimal d'extraction	67
V.2.1.3. Détermination du Concentration optimale du solvant	68
V.2.1.3. Détermination du Concentration optimal du solvant	69
V.2.2. Etude comparative de l'extraction assistée par ultrason avec d'autres méthodes d'extraction	70
V.3. Caractérisation des extraits obtenus	71
V.3.1. Caractérisation organoleptiques	71
V.3.2. Analyse Physique	72
V.4. Analyse physico-chimique	73
V.4.1. Résultats de l'Infra-rouge	73
V.4.2. Résultats de caractérisation par HPLC	74
V.5. Résultats de Quantification des composés	76
V.5.1. Dosage des polyphénols totaux	76
IV.5.2. Dosage des flavonoïdes	77
V.6. Evaluation de l'activité antioxydante	79
V.7. Résultats d'analyse Microbiologique	81
V.7.1. Activité antimicrobienne	81
V.8. Résultats de l'optimisation des formulations des crèmes	82
V.8.1. Composition optimisée	83
V.9. Caractérisation de la crème	83
V.9.1. Analyse organoleptique	83
V.9.2. Examen microscopique	84
V.9.3. Analyses physico-chimiques	85
V.9.3.1. Détermination des valeurs du pH	85

Table de matière

V.9.3.2. Détermination du sens de l'émulsion (H/E/H ou E/H/E)	85
V.9.3.3. Etude de la stabilité par centrifugeuse	87
V.9.3.4. Influence de l'air	88
V.9.4. Détermination de la capacité d'étalement	88
V.9.5. Etude de l'activité cicatrisante de la crème formule	89
Conclusion générale	92
Références bibliographiques	
Annexe	

Liste des figures

Numéro	Figure	Page
Figure I.1	Famille des Lamiacées	3
Figure I.2	Les feuilles de lamiacées	4
Figure I.3	Aspect morphologique de <i>Teucrium polium</i> L	5
Figure II.1	Une crème	8
Figure II.2	Types d'émulsion simples	10
Figure III.3	Types d'émulsions multiples	11
Figure II.4	Schéma représentatif d'une émulsion avec emulsifiant	13
Figure III.1	Une plaie sur la main	20
Figure III.2	Classification des plaies cutanées selon la profondeur	22
Figure III.3	Cicatrisation d'une plaie	23
Figure III.4	La phase de déterision	23
Figure III.5	La phase de régénération	24
Figure III.6	La phase de remodelage	24
Figure III.7	Cicatrisation par première intention	25
Figure III.8	Cicatrisation par seconde intention	26
Figure IV.1	Lapin race hybride californien et Néo-Zélandais.	29
Figure IV. 2	Les différents appareillages utilisés	29
Figure IV.3	Organigramme des étapes de travail	31
Figure IV.4	La plante après séchage	32
Figure IV.5	La plante après broyage	32
Figure IV.6	Tamisage de la plante	32
Figure IV.7	Les 3 diamètres de la plante	33
Figure IV.8	Extraction assistée par ultrasons	35

Liste des figures

Figure IV.9	Extraction par macération classique	37
Figure IV.10	Schéma de l'extracteur Soxhlet	38
Figure IV.11	Extraction par Soxhlet	38
Figure IV.12	La filtration sous vide	39
Figure IV.13	Elimination du solvant par Rota-vapeur	40
Figure IV.14	La spectroscopie infra-rouge	42
Figure IV.15	L' HPLC	43
Figure IV.16	Préparation de la phase mobile	45
Figure IV.17	Les étapes de dosage des polyphénols totaux	46
Figure IV.18	Plaque de dosage des polyphénols des extraits de <i>teucrium polium</i> L	47
Figure IV.19	Les étapes de dosage des flavonoïdes	47
Figure IV.20	Plaque de dosage des flavonoïdes des extraits de <i>tecurium Polium</i> L	48
Figure IV.21	Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant	49
Figure IV.22	Les étapes d'évaluation de l'activité anti radicalaire DPPH	49
Figure IV.23	L'activité anti radicalaire DPPH	50
Figure IV.24	Préparation du milieu de culture	52
Figure IV.25	L'ensemencement de la souche bactérienne	53
Figure IV.26	Application des disques	54
Tableau IV.2	Caractéristiques des produits utilisés	57
Figure IV.27	Diagramme des étapes préparation d'une crème	57
Figure IV.28	La phase aqueuse	57
Figure IV.29	La phase huileuse	58
Figure IV.30	Les phases de préparation de la crème	58
Figure IV.31	Mesure de la capacité d'étalement	63
Figure IV.32	Préparation de la zone traitée	64
Figure IV.33	a) Création des plaies b) Application de la crème	65
Figure V.1	Représentation sectorielle du taux d'humidité <i>Teucrium polium</i> L	66
Figure V.2	Rendement en fonction du diamètre de la plante	67

Liste des figures

FigureV.3	Rendement en fonction du temps d'extraction	68
FigureV.4	Rendement en fonction de la concentration du solvant	68
Figure V.5	Rendement en fonction du rapport masse/volume	69
Figure V.6	Rendement en fonction de méthode d'extraction	70
Figure V.7	FTIR des extraits de <i>Teucrium polium L</i>	73
Figure V.8	chromatogramme de l'extrait par ultrason de <i>Teucrium polium L</i>	74
Figure V.9	chromatogramme de l'extrait par macération de <i>Teucrium polium L</i>	75
Figure V.10	Droite d'étalonnage des polyphénols totaux des extraits.	77
Figure V.11	Evaluation des polyphénols totaux des extraits	77
Figure V.12	Droite d'étalonnage de le quercétine	78
Figure V.13	Evaluation des flavonoïdes des extraits.	78
Figure V.14	Activité antioxydant des 3 extraits obtenus par différents méthodes d'extraction	79
Figure V.15	Comparaisons d'IC 50 des extraits de <i>Teucrium Polium</i> avec L'acide ascorbique vitamine C	80
Figure V.16	Activité antibactérienne des extraits	82
Figure V.17	Aspect finale de la crème formulée	84
Figure V.18	Examen microscopique	84
Figure V.19	Méthode par dilution	86
Figure V.20	Test de stabilité à la centrifugeuse	87
Figure V.21	Capacité d'étalement de la crème	88

Liste des tableaux

Numéro	Tableau	Page
Tableau IV.1	Les souches bactériennes utilisées	52
Tableau IV.2	Caractéristiques des produits utilisés	55
Tableau IV.3	Variations de formulations pour l'optimisation de la crème	59
Tableau V.1	Analyses organoleptiques d'extraits	71
Tableau V.2.	Résultats d'analyse physique des extraits	72
Tableau V.3	Les diamètres des zones d'inhibition	81
Tableau V.4	Résultats de l'optimisation des formulations des crèmes formulés	82
Tableau V.5	Caractère organoleptique de différentes formules	83
Tableau V.6	Résultats de mesure du ph	85
Tableau V.7	Résultats de mesure de la conductivité	86
Tableau V.8	Etude de la stabilité de différentes formulations préparées	87
Tableau V.9	Analyses de stabilités à influence de l'air.	88
Tableau V.10	Capacité d'étalement des crèmes.	88
Tableau V.11	Evaluation des plaies durant les 7 jours de traitement	89

Liste des abréviations

%: Pourcentage

°C : Degré Celsius

µl : Microlitre

Abs : Absorbance

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium

DPPH : 1,1-diphényl-2-picryl-hydrazyl

DMSO : Diméthyl sulfoxyde

EAG:Equivalent de l'acide gallique

EC : Equivalent de la quercétine

g : Gramme

h : Heure

HPLC: Chromatographie en phase liquide à haute performance

IC₅₀ : concentration inhibitrice à 50%

Mech : Massed'échantillon

Mext : Masse extraite

mg : Milligramme

mg/ml : Milligramme/ millilitre

ml : Millilitre

mm : millimètre

mn : Minute

nm:Nanomètre

ملخص :

يهدف هذا العمل إلى صياغة كريم عالجي يعتمد على مستخلصات نيوكروم بولييوم، مع التركيز بشكل خاص على السخال ص بمساعدة الموجات فوق الصوتية. أظهرت النتائج أن هذه الطريقة المبتكرة توفر عائدًا أعلى بؤيمة 12.4% مقارنة بالتقنيات التقليدية (11.8% بواسطة سوكليت، و10.5% بواسطة الزقع الكالسيكي). كشفت التحليلات النزيائية والكيميائية والبيولوجية والمكروبيولوجية للمستخلصات عن تركيز عال من مركبات الفالونويد (36.63 مجم EQ/جم) والبوليفينول (67.76 مجم EQ/جم)، المعروفين بخصائصها المضادة للأكسدة. أظهر المستخلص الذي تم الحصول عليه بواسطة الموجات فوق الصوتية نشاطًا وؤيًا مضادًا للأكسدة بؤيمة IC50 تبلغ 0.24 ملجم/مل، مما يسلط الضوء على إمكاناته العلاجية. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت المستخلصات نشاطًا مضادًا للبكتيريا، حيث ملح وبلغ قطر التثبيط 17 ملم، مما يدعم نائيتها الطبية. وأدت هذه الدراسة إلى تركيب كريم عالجي من هذه المستخلصات، والذي تم تطويره وتمييزه من خلال اختبارات مرائية الجودة الشاملة. أكدت الاختبارات التي أجريت على الجروح الجلدية في الجسم الحي في الأرنب نوحسًا ملحوظًا في الشفاء دون تهيج الجلد. يسلط هذا العمل الضوء على الإمكانيات الوؤية لمستخلصات : نيوكروم بولييوم في المجال العالجي ويسلط الضوء على مزايها السخارج بمساعدة الموجات فوق الصوتية لإنجاز مستخلصات نشطة بؤولوجيًا نعالًا ومبتكرة.

الكلمات المفتاحية: نيوكروم بولييوم، مستخلص، الموجات فوق الصوتية، كريم، الجروح، الإنعام .

Résumé :

Ce travail vise à la formulation d'une crème cicatrisante à base d'extraits de *Teucrium polium* L, avec un accent particulier sur l'extraction assistée par ultrasons. Les résultats ont démontré que cette méthode innovante offre un rendement supérieur d'une valeur de 12,4% par rapport aux techniques traditionnelles, (11,8 % par Soxhlet, et 10,5 % par macération classique). Les analyses physico-chimiques, biologiques et microbiologiques des extraits ont révélé une concentration élevée en flavonoïdes (36,63 mg EQ/g) et en polyphénols (67,76 mg EAG/g), reconnus pour leurs propriétés antioxydants. L'extrait obtenu par ultrasons a présenté une forte activité antioxydante avec une valeur d'IC50 de 0,24 mg/ml, soulignant son potentiel thérapeutique. De plus, les extraits ont montré une activité antibactérienne significative, avec un diamètre d'inhibition de 17 mm, renforçant leur utilité médicinales. Cette étude a conduit à la formulation d'une crème cicatrisante à partir de ces extraits, laquelle a été développée et

Caractérisée à travers des tests approfondis de contrôle qualité. Les tests in vivo sur des plaies cutanées chez un lapin ont confirmé une amélioration notable de la cicatrisation sans irritation cutanée. Ce travail met en lumière le fort potentiel des extraits de *Teucrium polium* L dans le domaine thérapeutique et souligne les avantages de l'extraction assistée par ultrasons pour produire des extraits bioactifs efficaces et innovants.

Mots clés : *Teucrium Polium*, Extrait, Ultrasons, Crème, Plaies, Cicatrisation.

Abstract:

This work aims at formulating a healing cream based on extracts of *Teucrium polium* L, with a particular focus on ultrasound-assisted extraction. The results demonstrated that this innovative method provides a higher yield of 12.4% compared to traditional techniques (11.8% by Soxhlet, and 10.5% by conventional maceration). Physicochemical, biological, and microbiological analyses of the extracts revealed a high concentration of flavonoids (36.63 mg EQ/g) and polyphenols (67.76 mg EAG/g), known for their antioxidant properties. The ultrasound-extracted extract showed strong antioxidant activity with an IC₅₀ value of 0.24 mg/ml, highlighting its therapeutic potential. Additionally, the extracts exhibited significant antibacterial activity, with an inhibition zone diameter of 17 mm, reinforcing their medicinal utility. This study led to the formulation of a healing cream from these extracts, which was developed and characterized through comprehensive quality control tests. In vivo tests on skin wounds in rabbits confirmed a noticeable improvement in healing without skin irritation. This work highlights the strong potential of *Teucrium polium* L extracts in the therapeutic field and underscores the benefits of ultrasound-assisted extraction for producing effective and innovative bioactive extracts.

Keywords: *Teucrium Polium*, Extract, Ultrasound, Cream, Wounds, Healing.

Introduction générale

Introduction générale:

La phytothérapie, l'art de soigner par les plantes, est une pratique médicale ancienne qui conserve une importance fondamentale dans de nombreux systèmes de soins traditionnels à travers le monde [1]. Elle repose sur l'utilisation des propriétés thérapeutiques des plantes pour traiter divers maux et troubles de santé. Cette approche, utilisée depuis des millénaires, est présente dans diverses cultures à travers l'histoire. De nos jours, elle suscite un regain d'intérêt en tant que méthode de traitement alternative ou complémentaire dans de nombreux domaines de la santé [2].

L'Algérie est l'un des pays disposant d'un important réservoir de plantes médicinales à des fins phytothérapeutiques. Avec sa biodiversité exceptionnelle et ses écosystèmes variés, allant des montagnes verdoyantes au nord aux vastes étendues désertiques au sud, l'Algérie abrite une grande variété de plantes aux propriétés médicinales. Ces ressources naturelles constituent une richesse précieuse pour la médecine traditionnelle et offrent également un potentiel prometteur pour la recherche scientifique en phytothérapie [3].

Dans le cadre de ce travail sur les plantes médicinales en Algérie, l'attention s'est portée sur la valorisation du *Teucrium polium*, une plante largement utilisée en phytothérapie et dans la médecine traditionnelle pour ses remarquables propriétés dans le traitement et la cicatrisation des plaies.

Teucrium polium L, ou la germandrée tomenteuse, est une plante herbacée médicinale appartenant à la famille des Lamiacées, connue sous les noms "**El Khayata**" ou "**Gattabat Ladjrah**" en Algérie. Originaires de la région méditerranéenne, elles sont traditionnellement utilisées en médecine populaire [4]. Elles contiennent divers composés phytochimiques, notamment des flavonoïdes et des polyphénols, associés à des activités pharmacologiques potentielles [5]. Son potentiel thérapeutique et les précautions nécessaires à son utilisation exigent davantage de recherches scientifiques pour être pleinement compris et validés. C'est l'objectif principal de cette recherche.

Ce mémoire repose sur l'exploration des trésors thérapeutiques de cette plante médicinale, en particulier ses propriétés cicatrisantes exceptionnelles. Ses extraits renferment une combinaison complexe de composés bioactifs qui stimulent la régénération cellulaire et

Introduction générale

accélèrent le processus de guérison des plaies. Inspirés par cette richesse naturelle, nous avons eu l'idée de produire une crème cicatrisante novatrice à base d'extraits de *Teucrium polium*.

Cette étude est divisée en deux parties principales :

Première partie : Partie bibliographique

Dans cette première partie, nous avons réalisé une étude bibliographique détaillée en trois chapitres :

- Le premier chapitre traite des caractéristiques botaniques de *Teucrium Polium*, de ses composés actifs, ainsi que de ses usages traditionnels et modernes en médecine.
- Le deuxième chapitre explore les classifications des crèmes, leurs types et leurs procédés de formulation, ainsi que les principaux composants utilisés dans leur composition.
- Le troisième chapitre aborde les processus biologiques de la cicatrisation des plaies.

Deuxième partie : Partie expérimentale

La deuxième partie, consacrée à la partie pratique de ce mémoire, contient deux chapitres :

- Le quatrième chapitre détaille la description du matériel et des méthodes d'extraction de *Teucrium Polium*, la caractérisation des extraits obtenus, ainsi que la fabrication des crèmes et les contrôles physico-chimiques appliqués.
- Le cinquième chapitre est consacré à l'interprétation des différents résultats expérimentaux obtenus.

Enfin, ce travail se termine par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

Partie bibliographique

***Chapitre I : Généralités sur la
plante Teucrium Polium L***

Chapitre 1 : Généralités sur la plante *Teucrium polium* L

Les plantes médicinales ont un rôle fondamental dans le domaine de la médecine depuis des millénaires. Leur utilisation remonte à l'antiquité, où elles étaient considérées comme des remèdes naturels efficaces pour traiter diverses affections et promouvoir la guérison. Aujourd'hui, malgré les avancées de la médecine moderne, l'intérêt pour les plantes médicinales persiste, en raison de leur potentiel thérapeutique et leurs propriétés curatives [6]. Parmi ces nombreuses plantes, nous allons étudier la Germandrée tomenteuse-*Teucrium polium* L. plante herbacée, appartenant à la famille des Lamiacées, renommée pour ses propriétés médicinales et cicatrisantes. Originaires de régions variées à travers le monde [7]. En médecine traditionnelle, elle a une place importante en raison de ses indications thérapeutiques [8].

I.1. La famille des Lamiacées :

I.1.1. Présentation de la famille des Lamiacées :

Les lamiacées, communément appelées Lamiacées, Labiacées ou du Latin labié signifiant que les fleurs ont la forme typique à deux lèvres [8], est l'une de plusieurs plantes médicinales et aromatiques [9]. La famille des lamiacées est composée de près de 230 genres et 7 100 espèces de plantes herbacées, réparties en sept ou huit sous-familles. Il s'agit le plus souvent de plantes herbacées, d'arbustes et très rarement d'arbres largement répartis dans le monde mais particulièrement dans les régions tempérées et méditerranéennes [10].



Figure I.1: Famille des Lamiacées [11]

I.1.2. Description botanique de la famille des Lamiacée :

Cette famille est caractérisée par [12] :

- Herbe aromatique.
- Une tige quadrangulaire bien visible sur les jeunes pousses.
- Feuille généralement opposés, simple et sans stipule.
- Racine pivotante ramifié
- Des fleurs irrégulières zygomorphes.
- Fruit typiquement un tétrakéne (formé de 4 nucules)



Figure I.2. : Les feuilles de lamiacées. [13]

I.2. *Teucrium polium* L :

I.2.1. Le nom scientifique du *Teucrium Polium* L:

Le nom générique des germandrées désigne en Latin "teucrion" en grec "teukpion" troie, ou de teucros, prince troyen qui aurait découvert les propriétés médicinales de la plante [14], elle est connue sous plusieurs noms [15] :

- **En arabe :** khayata, Katabet ledjrah
- **En anglais :** Mountain germander
- **En français:** Pouliot de montagne, Germandrée tomenteuse.
- **En latin :** *Teucrium polium* L.

I.2.2. Description botanique :

Teucrium polium de la famille des lamiacées, C'est une plante vivace souvent pérenne, recouverte de poils laineux qui donnent une couleur grise bleutée [16], à odeur poivrée par frottement [17]. Les tiges sont de 10 à 30 cm de hauteur, blanches tomenteuses, ces tiges sont nombreuses, ligneuses à base révolutes, en général à marges, grêles, dressées ascendantes et plus ou moins ramifiées [7], portant des feuilles opposées sessiles, linéaires-lancéolées ou oblongues, en coin et entière à la base, et à dent arrondie en haut [18]. Les fleurs forment des inflorescences compactes globuleuses ou ovoïdes serrées. Le calice brièvement tomenteux, à des dents courtes, la supérieure obtuse; Corolle à lèvre supérieure tronquée et à lobes supérieurs pubescents [19].



Partie végétative

Fleurs et feuilles

Figure I.3 : Aspect morphologique de *Teucrium polium L* [20]

I.2.3. Classification systématique de la plante :

La plante *tecurium polium L* est classée selon les critères suivants [21] :

- Règne : Plantae
- Branche : Spermatophyta
- Classe : Dicotylédones
- Ordre : Lamiale
- Famille : Lamiacées
- Genre : *Teucrium*

I.2.4. Distribution géographique :

Teucrium polium L est une espèce euro-méditerranéenne [22], principalement en Afrique du Nord, en Europe du Sud-ouest [23]. En Algérie elle est assez commune dans l'espace méditerranéo-saharien, plus rare au Sahara septentrional et au Tassili, elle pousse dans les lieux rocaillieux et secs, les lits arides, les roches et les sables [7]. Elle pousse à l'état sauvage dans des régions semi-arides et arides, préférant la lumière, le soleil et les sols bien drainés (comme les pentes, les zones sablonneuses et les endroits arides) [24].

I.2.5. Composition chimique :

Plusieurs chercheurs ont évalué la composition chimique de *Teucrium polium* développé dans différentes régions. Ces études ont utilisé des méthodes de chromatographie en phase gazeuse pour analyser des extraits de plantes. Les résultats ont montré la présence de plusieurs composés [25] :

- ✓ Certaines études ont montré que les extraits de la partie aérienne de *Teucrium polium L* sont riches en polyphénols, flavonoïdes, iridoïdes et stéroïdes.
- ✓ La présence des glycosides tels que verbascoside et poliumoside (connus sous le nom de phényléthanoïde) au niveau des parties aériennes de la plante [26].
- ✓ Les huiles essentielles contiennent principalement des monoterpènes, des diterpènes, des sesquiterpènes hydrocarbures et sesquiterpènes oxygénés [12].
- ✓ Des études ont montré que les plantes appartenant au genre *Teucrium* contiennent différentes classes de composés tels que : les diterpénoïdes néocléro-daniens, les marqueurs chimiotaxonomiques du genre, les monoterpènes, les sesquiterpènes, les polyphénols, les flavonoïdes et les esters d'acides gras. À ce jour, plus de 134 substances actives présentant une grande diversité structurelle et chimique ont été isolées et caractérisées à partir des parties aériennes, des racines et des graines de la sous-espèce *Teucrium polium*[27].
- ✓ *Teucrium polium* constitue aussi une source riche en diterpénoïdes, particulièrement les furanonéocléro-danes, l'un de ces composants majeurs est la teucriine [16].

I.2.6. Les propriétés médicinales :

Au cours des 45 dernières années, les études expérimentales, pharmacologiques et cliniques ont démontré que l'extrait et les composants individuels isolés de diverses parties de *Teucrium polium* possèdent différentes propriétés thérapeutiques et pharmacologiques reconnues [27] :

✓ **Activité antioxydant :**

Des études ont prouvé que les extraits de *Teucrium Polium* possèdent des propriétés antioxydants prometteuses, capables d'inhiber les processus oxydatifs et de jouer un rôle efficace dans la réduction et le traitement des maladies inflammatoires. Ces résultats mettent en évidence le potentiel de *Teucrium polium* en tant qu'agent naturel aux propriétés antioxydants bénéfiques pour la santé [28].

✓ **Activité antidiabétique :**

L'extrait aqueux de *Teucrium polium L* a démontré un effet hypoglycémiant chez les rats. Pour évaluer sa propriété insulinothropique, des îlots pancréatiques de rat ont été utilisés in vitro. Les résultats ont montré que l'extrait brut aqueux peut réduire les niveaux de glucose sérique en augmentant principalement la sécrétion d'insuline par le pancréas par rapport aux îlots témoins [29].

✓ **Activité antibactérien :**

L'examen phytochimique a montré que l'extrait hydroalcoolique de *Teucrium polium L* contient des composés antibactériens. Ces extraits ont montré une activité antibactérienne contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Bacillus cereus* [30].

✓ **Activité cicatrisante :**

L'étude a évalué les activités de cicatrisation des plaies de la plante *Teucrium polium L*. Les résultats ont montré que les extraits de la plante possède des propriétés cicatrisantes significatives dans des modèles de plaies chez l'animal. Les extraits ont favorisé la contraction des plaies, l'épithélialisation et la formation de tissu de granulation, indiquant leur potentiel pour le traitement des plaies [31].

✓ *Teucrium polium L* a également été étudiée pour d'autres activités pharmacologique potentiellement bénéfiques comme : effets anti-inflammatoire, antiulcéreux, anticancéreuses [32], Anti-nociceptive, antispasmodique [33].

Chapitre II : Généralités sur les crèmes

Chapitre II : Généralités sur les crèmes

Les formes semi-solides pharmaceutiques sont essentielles dans le domaine médical pour leur capacité à délivrer des médicaments de manière efficace et ciblée [34]. Ces formes incluent les pommades, les gels, les pâtes et les crèmes, chacune ayant des particularités uniques et des applications spécifiques [35]. Dans ce chapitre, nous allons examiner en détail les crèmes, en mettant en lumière leurs propriétés, leurs modes d'utilisation et leur rôle crucial en pharmacologie.

II.1. Définition :

Selon la définition de la Pharmacopée européenne, les crèmes sont des préparations semi-solides pour application cutanée d'aspect homogène typiquement composées d'une phase lipophile et d'une phase aqueuse, dont la première est finement dispersée dans la seconde. Elles sont conditionnées en récipients unidoses ou multidoses. D'un point de vue physico-chimique, ce sont des dispersions composées d'une phase lipophile et d'une phase aqueuse, non miscibles et généralement stabilisées par des émulsifiants [36].



Figure II.1 : Une crème [37]

II.2. Classifications des crèmes :

Les crèmes pharmaceutiques peuvent être classées selon plusieurs critères :

II.2.1. Classification selon la nature des phases [36] :

- **Les crèmes lipophiles** : qui sont des émulsions H/L où la phase externe est lipophile. Ces préparations contiennent généralement des agents émulsifiants qui stabilisent les émulsions eau-dans-huile tels que des alcools de graisse de laine, des esters de sorbitan et des monoglycérides .
- **Les crèmes hydrophiles** : qui sont des émulsions L/H où la phase externe est aqueuse. Ces préparations contiennent des agents émulsifiants huile-dans-eau tels que des savons de sodium ou de trolamine, des alcools gras sulfatés, des polysorbates et des esters d'acides et d'alcools gras polyoxyéthylénés, éventuellement en combinaison avec des agents émulsifiants eau-dans-huile.

II.2.2. Classification par voie d'administration [38] :

- Le plus souvent par voie cutanée : Crème dermique.
- Par voie ophtalmique : crème ophtalmique.
- Par voie vaginale : crème vaginale.
- Par voie nasale : crème nasale.
- Par voie auriculaire : dans l'oreille.
- Sur les lèvres : crème labiale).

II.2.3. Classification par usages [39] :

Crèmes cosmétique :

- Hydratantes
- Anti-âge
- Eclaircissantes
- Protectrices

Crèmes thérapeutiques :

- Anti-inflammatoires
- Antifongiques

- Antibactériennes
- Analgésiques
- Cicatrisante

I1.3. Les émulsions :

Une émulsion est la dispersion d'une phase liquide dans un autre liquide immiscible sous la forme de fines gouttelettes. En général, une émulsion est obtenue sous l'effet de l'agitation mécanique d'un système diphasique (par exemple de l'eau et de l'huile). Le mélange ne présente plus alors deux phases distinctes mais une pseudo-phase unique composée de gouttes (phase dispersée) mélangées dans une matrice liquide (phase continue) [40].

I1.3.1. Types d'émulsions :

Selon les caractéristiques des phases, les émulsions sont divisées en deux types : les émulsions simples et les émulsions multiples :

II.3.1.1. Emulsions simples :

Les émulsions simples sont constituées de deux phases, l'une hydrophile et l'autre lipophile, accompagnées d'un émulsifiant [41]. Les émulsions simples sont divisées en deux catégories [42] selon la répartition de l'huile et de l'eau, comme le montre la Figure II.2.

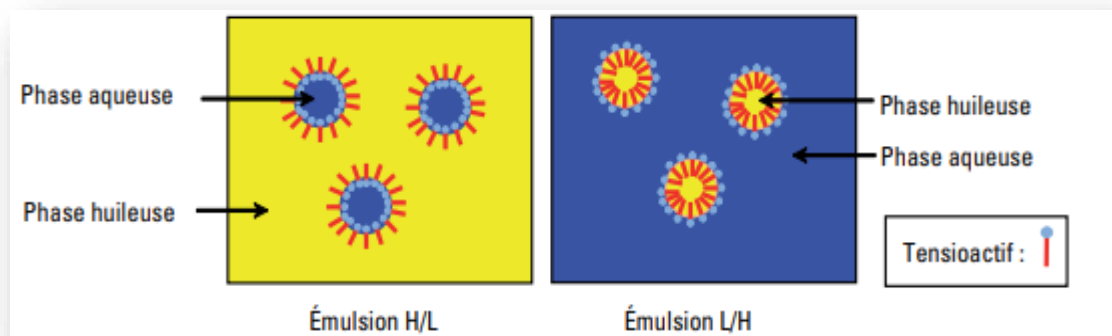


Figure II.2: Types d'émulsion simples [43]

- Les émulsions dans lesquelles la phase dispersée est lipophile. (L), huile végétale ou minérale par exemple et la phase dispersante hydrophile (H), eau par exemple, sont dites de types aqueux L/H (anciennement H/E : huile dans eau).
- Les émulsions dans lesquelles la phase dispersée est hydrophile et la phase dispersante lipophile sont dites de type huileux H/L (anciennement E/H : eau dans huile). [44]

III.3.1.2. Emulsions multiples :

Les émulsions multiples sont représentées schématiquement dans la Figure I.2 comme des systèmes compliqués qui peuvent être décrits comme des émulsions incorporées dans d'autres émulsions. Les deux principales variétés d'émulsions multiples sont les émulsions doubles, telles que l'eau – dans – huile – dans -l'eau (H/L/H) et l'huile-dans l'eau -dans l'huile (L/H/L) [41].

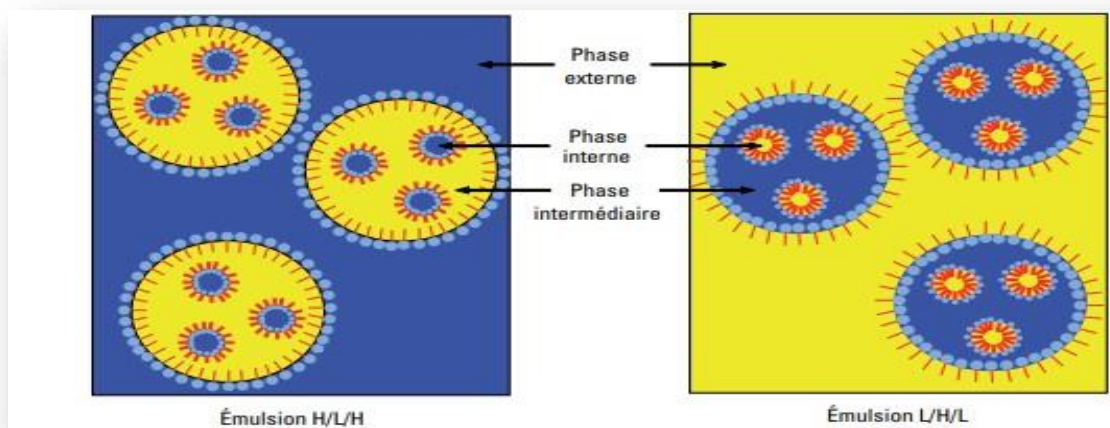


Figure II.3: Types d'émulsions multiples [43]

Pour assurer la stabilité des émulsions doubles, la taille optimum des gouttelettes interne doit être inférieure à 10 microns et la taille des gouttelettes externe doit être inférieure à 100 microns [44].

II.4. Composition des crèmes :

Une crème est une dispersion sous forme de gouttelettes de deux liquides non miscibles entre eux. Elle est donc constituée de deux phases [43].

A. Phase aqueuse :

La phase aqueuse ou phase hydrophile contient l'eau déminéralisée et divers composants hydrosolubles. Les solutés de la phase aqueuse sont de nature diverses : ions minéraux, acides, bases, vitamines, glucides, protéines, etc. En fonction du type d'émulsion (cosmétique, pharmaceutique), des substances peuvent être ajoutées à l'une ou l'autre phase pour conférer au produit diverses propriétés (augmentation de la durée de conservation, modification de l'aspect, maintien de l'humidité, modifier le comportement rhéologique des formulations, diminuer les risques d'oxydation par la capture et l'immobilisation des espèces ioniques issues des eaux de rinçage, ajuster le pH de la formule, limiter la perte en eau du produit, ...etc.) [45].

B. Phase huileuse :

La phase huileuse, appelée également phase grasse, phase lipophile ou phase organique, comporte des huiles, des cires et des graisses (respectivement liquides, solides ou semi-solides à température ambiante) d'origine végétale, animale ou minérale. Des substances synthétiques dérivées ou non de substances naturelles sont aussi utilisées. La phase huileuse d'une émulsion est généralement composée d'un mélange d'ingrédients [46].

C. Emulsifiants :

Les émulsions conventionnelles sont des systèmes thermodynamiquement instables qui se séparent, plus ou moins rapidement, en deux phases. On parle de systèmes hors équilibre. En raison de cette instabilité les émulsions industrielles comportent toujours des émulsifiants, ou émulsionnants, formant un film interracial, ou film mince, ou membrane interraciale, autour des globules de phase dispersée [47].

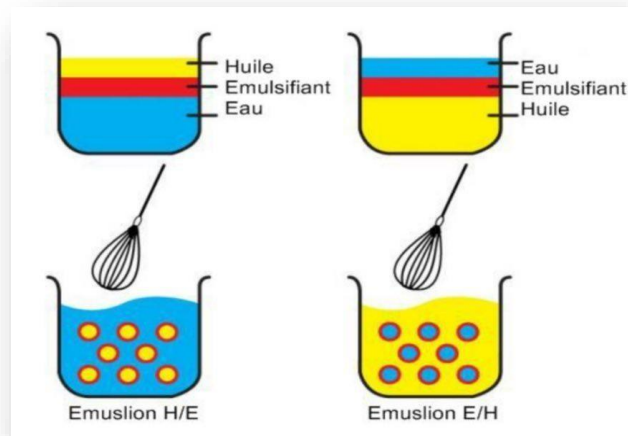


Figure II.4: Schéma représentatif d'une émulsion avec émulsifiant[48]

D. Principe actif (PA) :

Un médicament agit par un ou plusieurs constituants appelés principes actifs. Le principe actif est une substance douée de propriétés thérapeutiques, il est le support de l'activité pharmacologique [49].

E. Agent épaississant, agent conservateur, agent aromatisants et agent colorants [50].

II.5. Formulation d'une crème [51] :

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

- Soit l'ensemble des produits hydrosolubles et liposolubles est mélangé en même temps.
- Soit les phases aqueuse et huileuse contenant leurs constituants respectifs sont préparées séparément. Une augmentation de la température de chacune des deux phases, pouvant aller jusqu'à 80°C, permet de solubiliser toutes les molécules. Ce n'est qu'après refroidissement à une même température, que les deux phases sont mises en contact et soumises au processus d'agitation. Certains ingrédients, sensibles à haute température, sont ajoutés à froid à la formulation finale.

II.6. Contrôles qualité d'une crème :

L'assurance de la qualité des crèmes est très importante pour leur mise sur le marché et leur acceptation par le public, comporte à la fois les contrôles en cours de fabrication et les contrôles du produit fini. La qualité de la production se base essentiellement sur la propreté des lieux de travail et du matériel utilisé, et sur le contrôle de la qualité des matières premières, des produits en cours de fabrication (produits intermédiaires) et des produits finis [50].

II.6.1. Le Contrôle des matières premières [51]:

- Vérifier la conformité de l'étiquetage, l'emballage et le conditionnement.
- Examiner les caractères organoleptiques tels que l'odeur, la couleur, le toucher, le goût.
- Déterminer les caractéristiques physiques: densité, viscosité, indice de réfraction, absorption des radiations ultraviolettes, point de fusion.
- Examiner les caractères chimiques: identifications et dosages au moyen de réactions chimiques colorées, de la chromatographie sur couche mince, en phase gazeuse ou liquide détermination des indices d'iode, d'hydroxyle, peroxyde, d'acide; recherche des impuretés et des produits de dégradation, etc... .
- Évaluer la qualité ou la propreté microbiologique.

II.6.2. Le contrôle en cours de fabrication [52] :

En plus de l'examen des caractéristiques organoleptiques (odeur, couleur, touché, goût), il consiste aussi à étudier les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques.

- **Détermination du sens d'émulsion (H/E ou E/H) :** Elle est réalisée soit par la méthode par dilution, soit par la méthode utilisant des colorants solubles dans l'une des phases. La méthode de la conductivité électrique, qui se base sur le principe que les émulsions H/E sont conductrices d'électricité tandis que les émulsions E/H sont des isolants électriques, est aussi préconisée par la pharmacopée.
- **Contrôle de l'homogénéité :** Ce paramètre peut être réalisé à l'échelle macroscopique ou par l'évaluation de la distribution granulométrique de l'émulsion à l'aide d'un cytomètre de flux ou d'un microscope équipé d'un oculaire micrométrique.
- **Détermination des propriétés rhéologiques :** Consiste à étudier le comportement de sa viscosité et de sa structure sous différentes conditions de contrainte et de température.
- **Détermination du pH :** Elle est effectuée, grâce à des réactions colorées ou à l'utilisation de pH-mètres, directement sur l'émulsion ou après dilution (à environ 10 %) dans de l'eau distillée. Elle est importante parce que le pH influence la stabilité des émulsions, la tolérance cutanée des préparations et les incompatibilités entre les différents constituants.
- **Contrôle de la stabilité :** Le contrôle de la stabilité des crèmes consistera à observer, à intervalles réguliers, l'évolution des caractères organoleptiques, physico-chimiques et microbiologiques ainsi que l'apparition des phénomènes d'instabilité. Il peut se faire dans les conditions climatiques normales ou sous des conditions de vieillissement accéléré, en soumettant par exemple l'émulsion à la centrifugation, à des cycles de congélation et de décongélation, ou encore, à l'effet de la chaleur (40 °C ou 50° C).
- **Contrôle microbiologique :** Il est fondamental afin d'éviter l'altération ou l'intolérance après application des préparations cosmétiques. Il consiste en une recherche et une numération des germes bactériens et fongiques éventuellement présents dans la préparation et en une recherche de germes dits pathogènes, qui ne doivent pas se retrouver dans les préparations dermatologiques.

Dans le but de maintenir une propreté microbienne satisfaisante, il est recommandé, en plus de la propreté du matériel et des matières premières utilisés, de l'hygiène au travail, d'ajouter un conservateur antimicrobien efficace. Cette efficacité peut être vérifiée par un test de contamination artificielle, qui consiste à inoculer environ 10⁷ UFC/g de chacun des germes pathogènes.

- **Contrôle du produit fini** : En plus des contrôles organoleptiques, physico-chimiques et bactériologiques examinés plus haut, des contrôles de tolérance (innocuité) et d'efficacité (activité des préparations contenant des actifs ou principes spécifiques) peuvent également être réalisés sur le produit.

II.7. Les Problèmes Industriels dans les Procédés de Fabrication des Crèmes :

La fabrication des crèmes cosmétiques et dermatologiques est un processus complexe qui rencontre divers défis industriels impactant la qualité, la rentabilité et l'innovation des produits [53]. Voici quelques-uns des défis courants auxquels les fabricants de crèmes peuvent être confrontés :

- **Homogénéité du Mélange** : Assurer une distribution uniforme des ingrédients actifs, des stabilisants et des émulsifiants dans la crème est crucial pour garantir la cohérence du produit final. Les variations dans la viscosité et la densité des ingrédients peuvent compliquer ce processus, nécessitant des méthodes de mélange efficaces et adaptées [54].
- **Formation d'Émulsions** : Les crèmes nécessitent souvent la formation d'émulsions stables entre des phases aqueuses et lipidiques. Le processus de mélange doit gérer les défis de la miscibilité des composants et éviter la séparation des phases après la production [54].
- **Contrôle de la Taille des Particules** : La taille des particules dans la crème influence directement sa texture et son absorption par la peau. Un contrôle précis lors du mélange est essentiel pour garantir une répartition uniforme des particules et une texture agréable du produit final [55].
- **Stabilité des Formulations** : Maintenir la stabilité des formulations sur une longue durée est essentiel pour assurer la qualité constante des produits malgré les variations environnementales. La sensibilité aux facteurs externes comme la température et l'humidité peut compromettre la stabilité des ingrédients actifs et des émulsions [56].
- **Adaptabilité aux Ingrédients Actifs** : Certains ingrédients actifs peuvent nécessiter des techniques de mélange spécifiques pour assurer leur intégration efficace dans la crème sans altérer leur efficacité ou leur stabilité [57].

- **Consistance et Texture** : Obtenir une consistance et une texture uniformes à grande échelle de production peut être difficile. La viscosité, l'épaisseur et l'application de la crème jouent un rôle crucial dans l'expérience utilisateur et l'efficacité du produit [54].
- **Efficacité des Ingrédients Actifs** : Maximiser l'efficacité des ingrédients actifs tout en préservant leur stabilité et leur intégrité pendant le processus de fabrication est essentiel pour garantir des résultats cohérents et efficaces sur la peau [56].
- **Durabilité et Sécurité des Produits** : Assurer la durabilité des produits tout au long de leur cycle de vie, y compris leur emballage, leur transport et leur stockage, est cruciale pour la sécurité du consommateur et la conformité réglementaire [55].

II.8. Innovations et Tendances Futures dans la fabrication des crèmes :

Face à ces défis, l'industrie des crèmes cosmétiques et dermatologiques explore de nouvelles technologies et pratiques pour améliorer les processus de fabrication et répondre aux attentes des consommateurs [58]:

- **Mélangeurs à Ultrasons** :

Les mélangeurs à ultrasons utilisent des ondes sonores de haute fréquence pour créer des cavitations dans le liquide, ce qui permet de mélanger et d'homogénéiser les ingrédients à un niveau microscopique [59]. Cette technologie permet une dispersion homogène des particules, améliore la stabilité des émulsions, et réduit les tailles de particules de manière efficace. Les mélangeurs à ultrasons sont particulièrement utiles pour incorporer des ingrédients actifs et des nanoparticules dans les formulations de crèmes [60]

- **Homogénéisateurs à Haute Pression** :

Ces appareils utilisent une pression élevée pour forcer le produit à travers une valve étroite, créant ainsi une turbulence et un cisaillement qui mélangent les ingrédients de manière très fine. Ils sont capables de produire des émulsions très stables avec une taille de gouttelettes très petite, ce qui améliore la texture et l'efficacité des crèmes. Cette méthode est idéale pour les formulations nécessitant une consistance lisse et uniforme [60]

- **Nanotechnologies :**

L'utilisation de nanotechnologies permet de créer des ingrédients à l'échelle nanométrique, ce qui peut améliorer la pénétration et l'efficacité des actifs dans les crèmes. Les nanoparticules peuvent améliorer l'absorption des actifs par la peau, offrir une protection solaire plus efficace, et fournir une libération contrôlée des ingrédients actifs. Elles permettent également de créer des formulations plus légères et moins grasses [61].

- **Produits Naturels et Biologiques :**

Il y a une demande croissante pour des produits formulés avec des ingrédients naturels et biologiques, exempts de produits chimiques synthétiques. Ces produits sont perçus comme plus sûrs et plus respectueux de la peau et de l'environnement. Ils répondent aux préoccupations des consommateurs concernant les allergènes et les perturbateurs endocriniens potentiels présents dans les produits synthétiques [62].

- **Réduction des Conservateurs et des Additifs Synthétiques :**

Les consommateurs recherchent des produits avec moins de conservateurs et d'additifs synthétiques, qui sont souvent associés à des effets négatifs sur la santé. Réduire l'utilisation de ces substances peut diminuer les risques d'irritation et d'allergies, et améliorer la tolérance des produits pour les peaux sensibles. Les industriels explorent des alternatives naturelles aux conservateurs chimiques pour prolonger la durée de vie des produits sans compromettre leur sécurité [60].

- **Innovation écologique dans les formulations :**

L'impact environnemental des produits cosmétiques est une préoccupation croissante. Les entreprises cherchent à développer des formulations et des emballages plus écologiques. Les formulations biodégradables et les emballages recyclables ou composables réduisent l'empreinte carbone des produits. L'utilisation d'ingrédients durables et d'approvisionnements responsables contribue également à préserver l'environnement et à répondre aux attentes des consommateurs soucieux de l'écologie [63].

- **Automatisation et Robotique :**

L'automatisation des lignes de production avec l'intégration de robots permet d'améliorer la précision et l'efficacité tout en réduisant les erreurs humaines. Les robots peuvent être utilisés pour le dosage précis des ingrédients, le mélange homogène et le conditionnement des produits finis [64].

- **Durabilité et Économie Circulaire :**

La demande croissante pour des produits durables pousse les fabricants à adopter des pratiques de fabrication respectueuses de l'environnement. Cela inclut l'utilisation d'ingrédients naturels, le recyclage des matériaux d'emballage et la réduction des déchets tout au long de la chaîne d'approvisionnement [65].

- **Technologies Avancées de Formulation :**

L'intelligence artificielle et la modélisation prédictive sont de plus en plus utilisées pour développer des formulations personnalisées et optimisées. Ces technologies permettent de prédire les interactions entre les ingrédients, d'optimiser les concentrations et de répondre efficacement aux besoins spécifiques des consommateurs [66].

***Chapitre III : Plaie et
cicatrisation cutanée***

Chapitre III : Plaie et cicatrisation cutanée

Dans la pathologie quotidienne, les plaies restent un problème clinique difficile, les complications précoces et tardives étant une cause fréquente de morbidité et de mortalité. Pour tenter de réduire le fardeau des plaies, de nombreux efforts ont été déployés pour comprendre la physiologie de la cicatrisation et du traitement des plaies, en mettant l'accent sur de nouvelles approches thérapeutiques et sur le développement continu de technologies pour le traitement des plaies aiguës et à long terme [67].

III.1. Plaie cutanée :

III.1.1. Définition :

La plaie est une effraction de la barrière cutanée ou rupture de celle-ci, généralement associée à une perte de substance [68], ou une interruption dans la continuité d'un tissu du corps [69], Elle a été définie comme une perturbation des structures et des fonctions anatomiques normales [70]. Les plaies peuvent être classées selon : leur nature lésionnelle, leurs propriétés physico-chimiques ; leurs propriétés bactériologiques ; leur stade histologique et clinique [71]. L'évolution de la plaie est conditionnée par son étendue et de sa profondeur, ainsi par des facteurs qui pouvant entraver ou bloquer sa guérison [72].



Figure III.1 : Une plaie sur la main.[73]

III.1.2. Les types de plaies :

- **La Plaie chronique :** Une plaie chronique est une plaie dont le délai de cicatrisation est allongé. Une plaie est considérée comme chronique après 4 à 6 semaines d'évolution, selon son étiologie. Les causes de plaie chronique incluent notamment les ulcères de jambe, les escarres, les plaies du diabétique et les moignons d'amputation [74].
- **La plaie aiguë :** La plaie aiguë présente un temps de cicatrisation normal en l'absence de facteur local ou général pouvant retarder la cicatrisation [75].

III.1.3. Classification de plaies :

Il n'y a pas de classification standard pour les blessures. Cependant, existe un certain nombre de façons différentes de classer les plaies qui sont utiles pour décrire la blessure en vue de son gestion et guérison ultime (figure I.3). Les facteurs les plus importants de l'évaluation sont: la nature de la blessure causant les blessures, le moment, aigu ou chronique, et la profondeur des lésions de la peau et des tissus sous-jacents [76].

III.1.3.1. Profondeur de la plaie :

A. Premier degré :

Les plaies du premier degré (plaies partielles) ne touchent que l'épiderme. Elles proviennent généralement d'une légère brûlure, d'un coup de soleil ou d'une légère abrasion et demeurent douloureuses pendant quelques jours [77].

B. Deuxième degré :

Les blessures du 2nd degré concernent les plaies dont l'épiderme est détruit (superficiel) ainsi qu'une partie du derme sous-jacent (profond) [78].

C. Troisième degré :

Les plaies du troisième degré se caractérisent par la destruction complète de l'épiderme et du derme. Une brûlure importante, une coupure ou une abrasion profonde détruisent les terminaisons nerveuses et rendent ces plaies indolores [77].

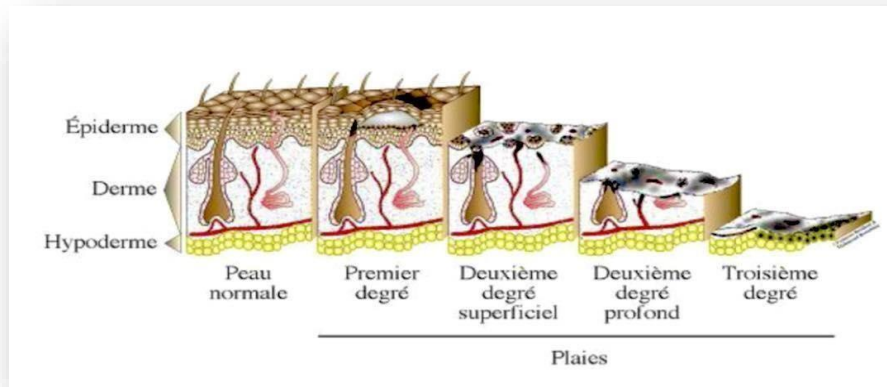


Figure III.2. Classification des plaies cutanées selon la profondeur [77]

III.1.3.2. Étendue de la plaie :

L'étendue d'une plaie constitue un paramètre majeur lors du traitement d'un blessé. Ainsi, les procédures thérapeutiques de même que la prévention des infections différeront s'il s'agit d'une blessure locale ou d'une lésion qui affecte une proportion importante de la surface corporelle [79].

III.1.3.3. Nature de la plaie :

La nature de l'agression produit une plaie dont les caractéristiques influencent sa présentation, sa guérison naturelle et thérapeutique. À la suite d'une brûlure, la ré-épithélialisation débute plus tardivement de sorte que la plaie demeure ouverte plus longtemps. Ainsi, seront traitées différemment : une brûlure chaude, froide ou chimique ; une incision ; une éraflure [79].

III.2. La cicatrisation :

III.2.1. Définition :

La cicatrisation cutanée est un phénomène biologique très complexe, dynamique, qui se met en place après une blessure de manière à rétablir le plus rapidement possible l'intégrité et l'homéostasie de la peau. La fermeture correcte d'une lésion est possible grâce à la coopération entre de nombreux médiateurs solubles (facteurs de croissance et cytokines), la mise en jeu de différents types cellulaires (cellules inflammatoires, endothéliales, sanguines, épithéliales et immunitaires) et les interactions avec la matrice extracellulaire [80].



Figure III.3: Cicatrisation d'une plaie [81]

III.2.2. Les différentes étapes de cicatrisation :

La cicatrisation d'une plaie se déroule en trois phases principales se chevauchent entre elles ainsi que chaque une est caractérisée par des activités cellulaires spécifiques [82] :

III.2.2.1. La phase de détersion (0 à 4 jours) :

Elle permet d'éviter l'extension de la plaie par l'association de 2 processus :

- Un processus vasculaire, les saignements s'accumulent pour former un caillot sanguin qui en séchant forme une croûte qui va fermer la plaie et protéger les tissus profonds.
- Un processus inflammatoire; permet le nettoyage de la plaie par l'élimination des cellules mortes et des microorganismes potentiellement [83].

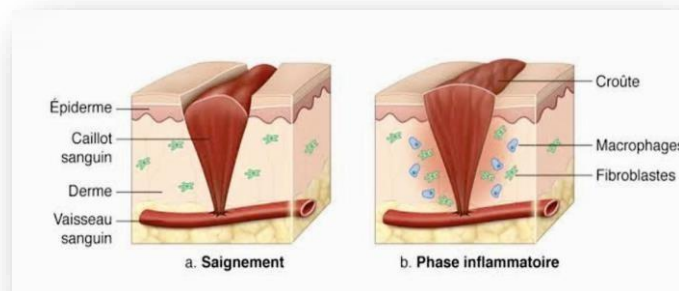


Figure III.4 : La phase de détersion [84]

III.2.2.2. La phase de régénération (2 à 10 jours) :

Cette étape est souvent appelée phase de bourgeonnement car elle correspond à la phase de développement du tissu qui comblera la perte de substance. Elle aboutit à l'épithélialisation ou ré-épithémisation [82].

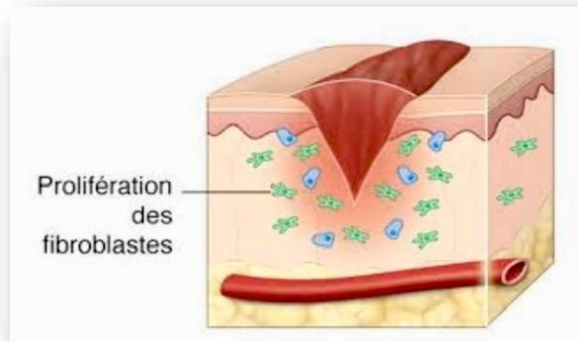


Figure III.5 : La phase de régénération [83]

III.2.2.3. La phase de remodelage (3- 6 semaines) :

La phase de remodelage débute après fermeture de la plaie (figure I. 6), par un tissu épithélial qui permet l'obtention d'une cicatrice dont le remodelage peut durer quelques mois pour aboutir à la cicatrice dite définitive [82].

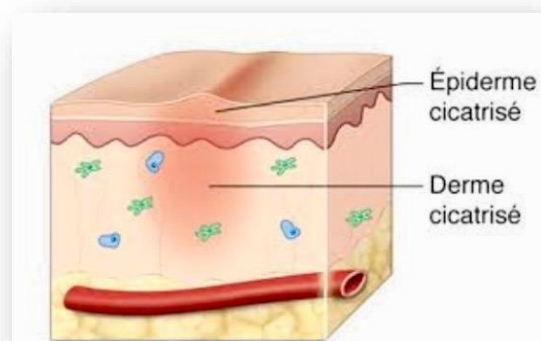


Figure III.6 : La phase de remodelage [83]

III.2.3. Les différents types de la cicatrisation:

Cliniquement, il est classique de distinguer la cicatrisation de première intention, qui est le résultat espéré de la suture chirurgicale, et la cicatrisation de deuxième intention qui est le résultat de l'évolution spontanée de la plaie [84]:

III.2.3.1. Cicatrisation par première intention :

Les tissus rapprochés par des sutures ou des rubans chirurgicaux avec une perte minimale de tissu sont dits guérir par union primaire ou par première intention. Au 5e jour, l'espace incisionnel est rempli de tissu de granulation, la néovascularisation est maximale. À la fin du premier mois, la cicatrice est constituée d'un tissu conjonctif cellulaire dépourvu d'infiltrat inflammatoire, recouvert d'un épiderme intact [84].

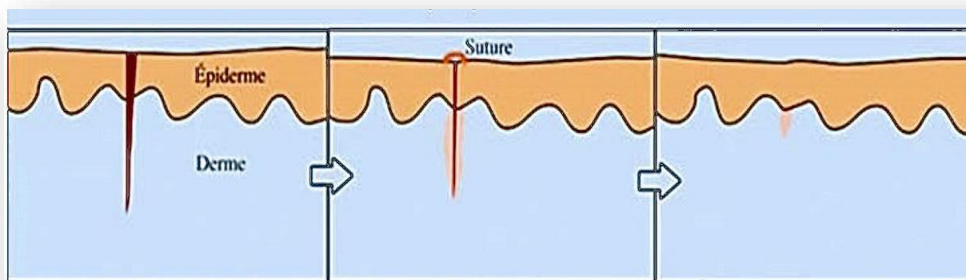


Figure III.7 : Cicatrisation par première intention [85]

III.2.3.2. Cicatrisation par seconde intention :

Lorsqu'il y a une perte plus importante des cellules ou des plaies de surface qui créent de gros défauts, le processus de réparation est plus compliqué. Le tissu de granulation se développe à partir des marges pour terminer la réparation. Ces blessures guérissent avec une vilaine cicatrice. C'est ce qu'on appelle la guérison par intention secondaire [84].

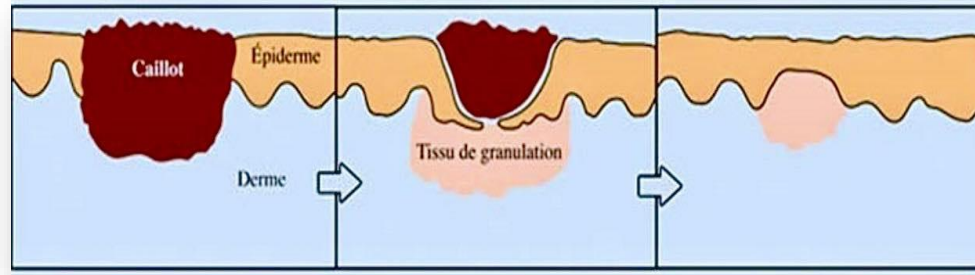


Figure III.8 : Cicatrisation par seconde intention [85]

III.2.3.3. Cicatrisation par troisième intention :

La cicatrisation tertiaire (troisième intention) est un retard de cicatrisation primaire après 4 à 6 jours. Cela se produit lorsque le processus d'intention secondaire est intentionnellement interrompu et que la plaie est fermée mécaniquement. Cela se produit généralement après la formation du tissu de granulation [84].

III.2.4. Les facteurs qui influencent la guérison des cicatrices :

Les possibilités d'évolution pathologique des plaies sont nombreuses, on distingue généralement les complications de nature septique et celles de nature aseptique. Elles peuvent affecter une seule ou plusieurs phases de la cicatrisation et leur coexistence n'est pas rare. Les facteurs influençant la cicatrisation et susceptibles d'entraîner une évolution pathologique sont également nombreux. La connaissance de ces facteurs permet au praticien d'éviter ou d'anticiper l'apparition de complications [86]. Parmi ces facteurs :

➤ Facteurs locaux :

- Localisation, environnement et hydratation de la plaie
- Degré de contamination de la plaie
- La présence de corps étrangers (La souillure de la plaie par des corps étrangers peut conduire à une infection de la plaie et empêcher une cicatrisation rapide)
- Vascularisation de la plaie : une bonne vascularisation est essentielle pour une bonne cicatrisation.

➤ **Facteurs généraux :**

- **Malnutrition :** (carence en albumine, fer, zinc, vitamine C) ;
- **Age :** (diminution des processus de réparation).
- **Diabète:** Dysfonctionnement leucocytaire, à cause de l'hyperglycémie. Risque d'ischémie régionale en raison d'une oblitération vasculaire ou de l'épaississement de la membrane basale des capillaires.
- **Obésité :** Diminution de la vascularisation du tissu adipeux et augmentation de la tension dans la plaie.
- **Tabagisme :** (hypo vascularisation) : Diminution de l'oxygénation de la plaie et anomalies de la coagulation dans les petits vaisseaux sanguins [87].

Partie expérimentale

***Chapitre IV: Matériels et
méthodes***

Chapitre IV : Matériels et méthodes

Le travail est pour les objectifs suivants :

- D'étudier l'optimisation des conditions du procédé d'extraction par ultrasons en le comparant à d'autres méthodes d'extraction et leur influence sur le rendement.
- Une caractérisation approfondie a été entreprise pour comprendre leur composition et leurs propriétés.
- La formulation d'une crème cicatrisante à partir des extraits végétaux obtenus.
- La crème ainsi élaborée a été soumise à une série de tests de caractérisation pour évaluer son efficacité et ses propriétés physico-chimiques, notamment son efficacité cicatrisante à travers des tests in vivo.

IV.1. Structure de stage :

Le travail est réalisé au niveau du Laboratoire de Génie des Procédés (Université de Chlef) et au niveau du Laboratoire de Microbiologie (Pole d'Oueled Fares). De plus, une importante partie des analyses est effectuée au Laboratoire de Contrôle et de Qualité de l'entreprise pharmaceutique El-Kendi Industrie du Médicament (Rahmania, Alger).

IV.2. Matériel :

IV.2.1. Matière végétale :

Le matériel végétal est constitué des parties aériennes de *Teucrium polium*. La récolte de la plante a été effectuée le mois de février dans la région de Sendjas commune de la wilaya de Chlef.

IV.2.2. Animaux :

Lapin femelle albinos de race hybride californienne et Néo-Zélandaise d'environ 2.5 à 3 kg.



Figure IV.1 : Lapin race hybride californien et Néo-Zélandais.

IV.2.3. Matériels de laboratoire :

IV.2.3.1. Appareillages:











		
Balance de précision électronique	Plaque chauffante + Agitateur	Etuve
		
Bain à ultrasons	Rota- Vapeur	Extracteur de soxhlet
		
Pompe de filtration sous vide	Vortex	Lecteur de microplaque
		
HPLC	Infra-rouge	pH-mètre
		
Viscosimètre	Centrifugeuse	Microscope

Figure IV. 2 : Les différents appareillages utilisés

IV.2.3.2. Matériels et verrerie :

- Becher, Fiole, Eprouvette.
- Entonnoir
- Pissette
- Pro pipette
- Thermomètre
- Boite pétrie
- Barreau magnétique
- Papier filtre whatman
- Eppendorf
- Tubes à essais
- Thermomètre

IV.2.3.3. Produits chimiques :

- Ethanol 96%
- Eau distillée
- Chlorure d'aluminium
- Solution de folin
- DPPH
- Carbonate de sodium

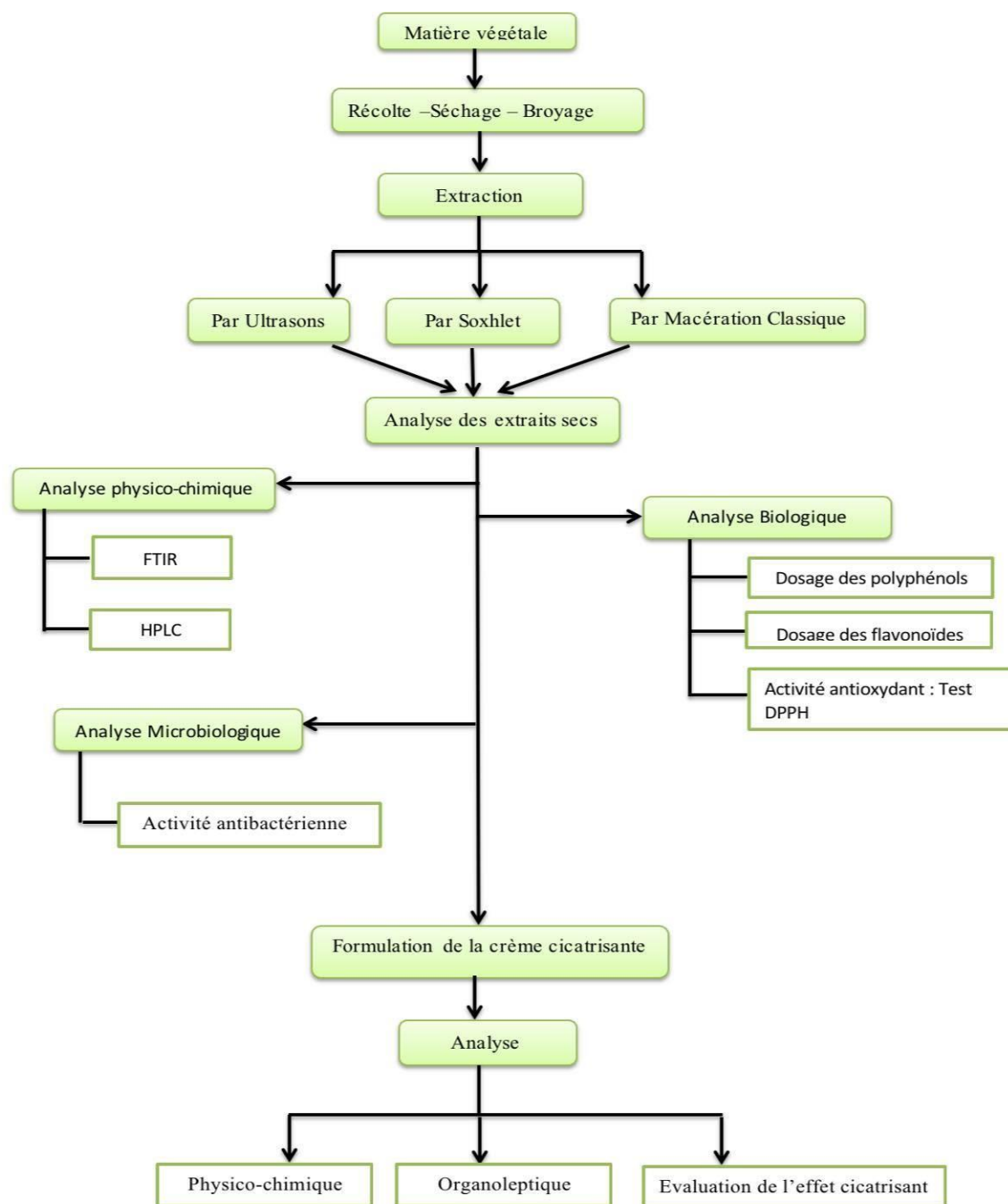


Figure IV.3 : Organigramme des étapes de travail

IV.3. Préparation de la plante :

IV.3.1. Séchage de la plante :

Les feuilles de la plante sont séchées à l'ombre dans un endroit bien aéré, à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 15 jours.



Figure IV.4 : La plante après séchage

IV.3.2. Le broyage :

Après le séchage, les feuilles ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique pour obtenir une poudre fine, qui a ensuite été utilisée pour préparer les extraits.



Figure IV.5 : La plante après broyage

IV.3.3. La granulométrie :

L'analyse granulométrique a été réalisée par un tamiseur, les diamètres des deux tamis utilisés sont respectivement (2mm, 1mm).



Figure IV.6 : Tamisage de la plante

IV.4. Détermination du taux d'humidité :

La teneur en eau (taux d'humidité) est définie comme étant la perte de poids subie lors du séchage, la masse séchée des échantillons ont été déterminée après séchage.

$$H\% = \frac{M_1 - M_2}{M_2} \times 100$$

H %: Taux d'humidité en pourcentage.

M₁ : La masse de la plante avant séchage.

M₂ : La masse de la plante après séchage.

IV.5. Préparation des échantillons :

La plante a été divisée en trois échantillons présentant trois diamètres différents pour effectuer l'extraction : les feuilles, un diamètre de 2mm et un diamètre de 1mm.

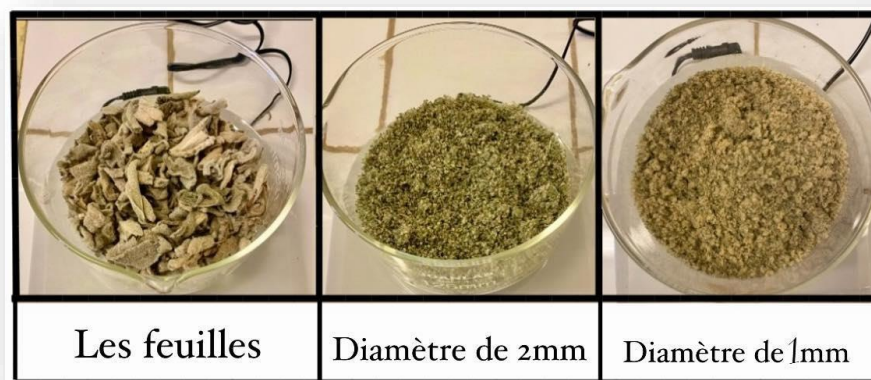


Figure IV.7 : Les 3 diamètres de la plante

IV.6. Méthodes d'extraction :

IV.6.1. Extraction assistée par ultrasons :

L'extraction par ultrasons est une méthode d'extraction de composés bioactifs des plantes qui utilise des ondes ultrasoniques de haute puissance et de basse fréquence pour isoler ces composés. Cette technique est considérée comme efficace, économique et verte, car elle

permet d'obtenir des rendements élevés et des extraits de haute qualité en un temps relativement court [88].

- **Principe :**

L'extraction par ultrasons fonctionne en utilisant des ondes ultrasoniques pour créer des bulles microscopiques dans un liquide, ce qui entraîne des températures et des pressions élevées à proximité de ces bulles. Ces conditions produisent des modifications mécaniques, thermiques et chimiques du milieu, facilitant l'extraction des composés bioactifs. Les ultrasons ont un grand effet mécanique, ce qui permet de pénétrer profondément dans le solvant et d'extraire les composés bioactifs de manière efficace [89].

- **Avantages [90]:**

- L'extraction par ultrason est une alternative peu coûteuse, simple et efficace aux techniques conventionnelles d'extraction. Les principaux avantages de l'utilisation des ultrasons dans l'extraction de solide-liquide incluent.
- L'augmentation de la cinétique et du rendement d'extraction.
- Réduction de la température de fonctionnement permettant l'extraction des composés thermolabiles.
- Faible coût de l'appareillage et facilité de l'opération par comparaison à d'autres nouvelles techniques d'extraction.
- Possibilité d'utilisation de n'importe quel solvant ce qui permet d'intervenir dans l'extraction d'une large variété de composés naturels.

- **Protocole :**

L'extraction a été faite en utilisant un appareil de bain ultrasons. Les étapes suivantes ont été effectuées sur la matière végétale sèche :

- Une quantité de 10 g de la matière végétale est mise dans un bécher contenant un solvant d'éthanol ce dernier est placé dans l'appareil de l'ultrason.



Figure IV.8 : Extraction assistée par ultrasons

IV.6.2. Optimisation des conditions d'extraction assistée par ultrason :

L'optimisation de l'extraction assistée par ultrasons a été un aspect crucial pour maximiser le rendement des composés ciblés. Pour atteindre cet objectif, plusieurs paramètres ont été minutieusement ajustés. L'ensemble de ces démarches a permis de mettre au point une méthode d'extraction assistée par ultrasons hautement efficace et reproductible, offrant des rendements améliorés et des produits de haute qualité [91].

- **Diamètre de la plante :**

Pour optimiser l'extraction assistée par ultrasons, l'effet du diamètre de la matière végétale sur le rendement a été étudié. Trois diamètres différents ont été choisis : les feuilles, diamètre de 2 mm, et fragments de 1 mm. Pour chaque essai, 10 grammes de matière végétale ont été utilisés avec 100 ml d'une solution d'éthanol à 60%.

- **Détermination de l'intervalle de temps d'extraction:**

Dans le but de déterminer l'intervalle de temps pour l'extraction assistée par ultrasons de la matière végétale, une série d'expériences a été réalisée en utilisant différents temps d'extraction (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35) minute avec le diamètre fixé de 2mm.

- **Concentration du solvant :**

Le choix de la concentration du solvant hydroéthanolique est très important [92]. La matière végétale de la plante ont été extraits à l'aide de différentes concentrations de solvant hydroéthanolique (50%, 60%, 70%, 80%) (%). Le diamètre a été fixé à 60% et le temps d'extraction à 30 min.

- **Rapport masse / volume :**

Le rapport masse /solvant est l'un des facteurs les plus critiques lors du transfert de masse [93]. Afin de déterminer le ratio à utiliser pour l'optimisation de l'extraction de la plante, une extraction a été effectuée en variant le ratio (0.05% ; 0.1% ; 0.2% ; 0.3%). Le diamètre a été fixe de 2mm et la concentration de solvant éthanolique fixés à 60% et le temps d'extraction à 30 min.

IV.6.2.1. Préparation de l'extrait optimisé :

Après l'optimisation et afin de continuer notre analyse, en utilisant les paramètres d'optimisation déterminés, nous avons procédé à de nouvelles extractions pour collecter les extraits dans des conditions idéales. Ces conditions comprenaient des intervalles de temps spécifiques, des concentrations de solvant appropriées, des diamètres de feuilles optimaux, des températures contrôlées et des rapports masse-volume bien définis.

IV.6.3. Etude comparative de l'extraction assistée par ultrason avec d'autres méthodes d'extraction :

Le but de ce travail est de faire une comparaison entre différentes méthodes d'extraction classiques et conventionnelles telles que la macération classique et l'extraction par soxhlet et de nouvelles méthodes innovantes telles que l'extraction par ultrason (sonication).

IV.6.3.1. Extraction par macération classique :

La macération classique est une méthode traditionnelle d'extraction des composés actifs des plantes. Elle consiste à laisser la plante (fraîche ou sèche) en contact avec un solvant, pendant une durée déterminée afin d'en extraire les substances solubles comme les arômes, les pigments et les principes actifs [93].

- **Principe :**

La macération est un procédé d'extraction solide-liquide discontinu qui consiste à laisser tremper le solide dans un solvant à température ambiante, à chaud ou à l'ébullition pour en extraire les constituants solubles. La matière végétale est mise dans un bécher, rempli d'un solvant organique, où l'eau [94].

- **Mode opératoire :**

- Peser 10g de la matière végétale (broyat) des 3 diamètres (Les feuilles, diamètre de 2mm et de 1 mm).
- Mettre la matière végétale (10g) dans des fioles puis verser 100ml d'éthanol 60.
- Laisser macérer pendant 72hr à une température ambiante.



Figure IV.9 : Extraction par macération classique

IV.6.3.2. Extraction par soxhlet :

L'extraction par Soxhlet est une méthode classique pour une extraction solide-liquide en continue, cet appareil porte le nom de son inventeur Franz Van Soxhlet [93]. Cette méthode implique le reflux continu du solvant à travers le matériau solide, favorisant ainsi une extraction efficace des composés solubles [95].

- **Principe :**

Le principe de l'extraction par Soxhlet repose sur un processus cyclique où un solvant est utilisé pour extraire sélectivement des composés solubles d'une matière végétale. Le solvant est chauffé dans un ballon à distiller, puis il s'élève jusqu'à une cartouche contenant la matière végétale. Une fois le solvant saturé de composés solubles, il est automatiquement récupéré

dans le ballon par un siphon, où les composés sont ensuite séparés du solvant par distillation. Ce cycle se répète jusqu'à ce que l'extraction soit complète, permettant ainsi de récupérer les composés souhaités dans le solvant [96].

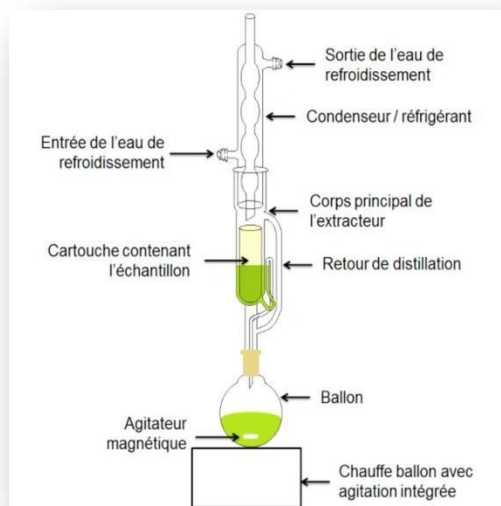


Figure IV.10 : Schéma de l'extracteur Soxhlet [97]

➤ Mode opératoire :

Le corps extracteur, contient une cartouche remplie de 10 g de matière végétale, cette cartouche est fixée sur un réservoir (ballon) contenant 100 mL de solvant et est surmonté d'un réfrigérant. Le solvant est vaporisé puis condensé tout en restant en contact avec la matière végétale. La solution collectée dans le ballon s'enrichit de plus en plus du soluté à chaque cycle d'extraction et la matière végétale est toujours en contact avec du solvant fraîchement distillé.



Figure IV.11 : Extraction par Soxhlet

IV.7. La filtration :

La filtration sous vide des extraits a été effectuée en utilisant une pompe à vide. Le processus commence par l'application du vide, qui réduit la pression au sein du système, augmentant ainsi la vitesse de filtration par rapport à une filtration gravitaire traditionnelle [98].

Le montage typique comprend :

- Un entonnoir Büchner contenant le filtre.
- Une fiole à vide reliée à une trompe à eau ou une pompe à vide.
- Un joint conique assurant l'étanchéité entre l'entonnoir et la fiole.



Figure IV.12 : La filtration sous vide

IV.8. Évaporation :

L'évaporation des extraits a été réalisée à l'aide d'un Rotavapeur. Cet appareil permet une évaporation efficace et contrôlée des solvants sous pression réduite, facilitée par la rotation continue du ballon d'évaporation. Cette technique assure une évaporation rapide tout en préservant les composés thermosensibles, grâce à la combinaison de la réduction de la pression et du contrôle précis de la température [99].

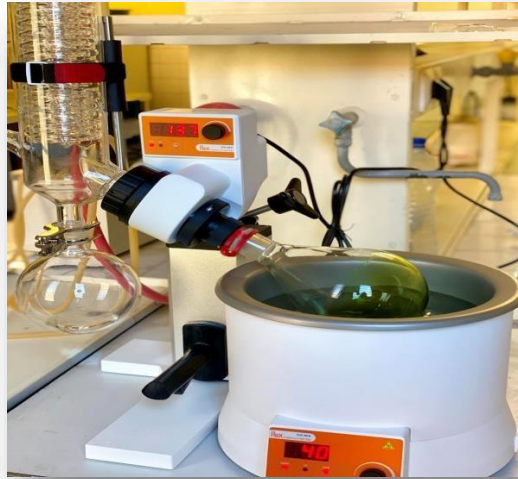


Figure IV.13 : Elimination du solvant par Rota-vapeur

Après cette étape, les extraits concentrés obtenus sont transférés dans des boîtes de Pétri et placés dans une étuve jusqu'à ce qu'ils soient complètement séchés. Cette procédure garantit l'élimination totale des solvants, permettant ainsi d'obtenir des extraits secs.

IV.9. Calcul du rendement de l'extrait :

Le rendement de l'extraction est réalisé après le séchage de l'extrait, il se calcule par le rapport entre la masse de l'extrait obtenu et la masse de la matière première végétale traitée. Ce rendement est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$R\% = \frac{M_{\text{ext}}}{M_{\text{ech}}} \times 100$$

M ext : La masse de l'extrait après évaporation du solvant en g

M ech : La masse de l'échantillon végétale en g.

IV.10. Caractérisation des extraits :

IV.10.1. Caractérisation organoleptiques [100] :

➤ **Aspect visuel :**

- ✓ Observation de la couleur : Les extraits peuvent varier en couleur en fonction des pigments présents dans la plante. Des nuances allant du vert au brun peuvent être observées.
- ✓ Transparence : Certains extraits peuvent être transparents, tandis que d'autres peuvent être opaques en raison de la présence de matières en suspension.
- ✓ Présence de particules : L'observation de particules en suspension peut indiquer la présence de débris de la plante ou d'autres impuretés.

➤ **Odeur :**

- ✓ Évaluation olfactive : Les extraits peuvent avoir des odeurs distinctes qui dépendent des composés volatils présents dans la plante. Certaines plantes peuvent avoir des arômes floraux, herbacés ou épicés.

➤ **Texture :**

- ✓ Évaluation tactile de la texture des extraits, notamment de leur viscosité, de leur fluidité et de leur consistance.

IV.10.2. Analyse physique [101] :

IV.10.2.1. Mesure du pH :

Le pH correspond au logarithme décimal négatif de la concentration en ion $[H^+]$. Son principe est basé sur la détermination, en unité de la différence de potentiel existant entre deux électrodes plongée dans le produit à analyser à l'aide d'un pH-mètre.

IV.10.2.2. Analyse de la conductivité électrique :

Mesure de la conductivité électrique des extraits pour évaluer leur contenu en ions. Cette analyse peut être réalisée à l'aide d'un conductimètre.

IV.11. Analyses physico-chimiques :

IV.11.1. Analyse par la spectroscopie Infra-rouge :

L'analyse infrarouge (IR) est une technique spectroscopique utilisée pour identifier et caractériser les composés chimiques présents dans un échantillon. Cette méthode repose sur l'absorption de la lumière infrarouge par les molécules de l'échantillon, entraînant des vibrations au niveau des liaisons chimiques. Chaque type de liaison chimique absorbe la lumière infrarouge à des fréquences spécifiques, produisant un spectre unique pour chaque substance analysée [102].

➤ Principe :

Le principe de l'analyse infrarouge repose sur l'interaction entre la lumière infrarouge et les molécules de l'échantillon. Le spectromètre infrarouge mesure l'intensité de la lumière absorbée à différentes longueurs d'onde, produisant un spectre IR qui représente l'absorption en fonction du nombre d'ondes (généralement exprimée en cm^{-1}) [103]. Les photos présentes dans le spectre correspondant aux fréquences spécifiques des vibrations des liaisons chimiques, permettant ainsi l'identification des groupes fonctionnels et des composés présents [104].



Figure IV.14 : La spectroscopie infra-rouge

➤ Mode opératoires :

- Prendre une quantité (environ 1 à 2 mg) d'extrait sec de chaque méthode d'extraction.
- Appliquer une petite quantité de m'extraits sur la surface de l'accessoire ATR.
- Configurer le spectromètre pour mesure dans la plage de 4000 A 400 cm^{-1} .
- Identifier les principaux pics d'absorption dans les spectres obtenus.
- Comparaison entre les spectres des différents extraits pour évaluer les différences en fonction de la méthodes d'extraction utilisée à l'aide des bases de données de spectres de référence pour identifier les groupes fonctionnel présent dans chaque extrait.

IV.11.2. Analyse par chromatographie liquide à haute performance :

La technique de séparation la plus appréciée en analyse phytochimique est la chromatographie liquide à haute performance (pression), abrégée HPLC (CLHP en français). Elle est très utilisée dans de nombreux secteurs d'activités tels : l'agroalimentaire, l'industrie chimique et pharmaceutique, les cosmétiques, etc [105].



Figure IV.15 :L' HPLC

➤ Principe :

La méthode de séparation qu'elle utilise fait appel aux mêmes éléments de base que ceux employés pour la chromatographie classique sur colonne, soit un ou plusieurs solvants et une colonne remplie avec une phase stationnaire, mais avec un appareillage plus sophistiqué. C'est une méthode physico-chimique basée sur les différences d'interactions entre les molécules à

séparer et les phases mobile et stationnaire. Préalablement, les solutés sont mis en solution dans la phase mobile (solvant). Après son injection, ce mélange passe sous haute pression à travers la colonne (tube en acier inoxydable) qui renferme la phase stationnaire [106].

➤ **Mode opératoire :**

L'analyse est réalisée par un chromatographe (Waters 2475 Multi Florescence Detector), au niveau du laboratoire de Contrôle et Qualité à l'entreprise ELKENDI pharmaceutique.

➤ **Préparation de la Phase Mobile :**

- Préparez une solution d'eau acidifiée à pH 3 en ajoutant de l'acide phosphorique (H_3PO_4) à de l'eau déionisée.
- Mélangez l'eau acidifiée avec de l'acetonitrile (CH_3CN) dans un rapport de 44 /56.
- Filtrez la phase mobile à travers un filtre de 0,45 μm pour éliminer les particules en suspension et dégazez-la par ultrasonication ou sous vide.

➤ **Préparation de la Colonne :**

- Installez une colonne C18 (250 x 4,6 mm) dans le système HPLC.
- Conditionnez la colonne en la rinçant avec de l'acetonitrile pur pendant environ 30 minutes à un débit de 1 mL/min, puis passez à la phase mobile préparée pour une stabilisation d'au moins 30 minutes.

➤ **Préparation des Échantillons :**

- Dissolution des échantillons à analyser dans une solution appropriée pour obtenir une concentration finale de 10 $\mu g/mL$.
- Filtration des échantillons à travers un filtre de 0,45 μm avant l'injection.

➤ **Réglage des Conditions de l'Appareil :**

- Réglez le débit de la pompe HPLC à 1,0 mL/min.
- Maintenez la température de la colonne à 30°C.
- Configurez le détecteur de fluorescence pour détecter aux longueurs d'onde de 384 nm et 280 nm.

➤ **Procédure d'Injection :**

- Injection d'un volume approprié d'échantillon 20 μL , dans le système HPLC.

➤ Détection :

- Laissez le système HPLC analyser l'échantillon et enregistrez les chromatogrammes générés aux deux longueurs d'onde spécifiées (384 nm et 280 nm).
- Analysez les pics obtenus pour quantifier les composés d'intérêt en utilisant une courbe d'étalonnage appropriée.



Figure IV.16 : Préparation de la phase mobile

IV.12. Analyses Biologiques :

IV.12.1. Dosage des polyphénols totaux:

➤ Principe :

La méthode de Folin-Ciocalteu a été utilisée pour doser les polyphénols dans l'étude. Cette technique repose sur la réaction entre les polyphénols de l'échantillon et le réactif de Folin-Ciocalteu, contenant des ions tungstène et molybdène. Ces ions subissent une réduction lorsqu'ils réagissent avec les polyphénols, formant un complexe coloré bleu. L'intensité de cette couleur est proportionnelle à la concentration en polyphénols et peut être mesurée spectrophotométriquement à environ 760 nm [107]. Les résultats sont comparés à une courbe d'étalonnage obtenue avec un standard, généralement l'acide gallique, pour quantifier les polyphénols totaux dans l'échantillon.

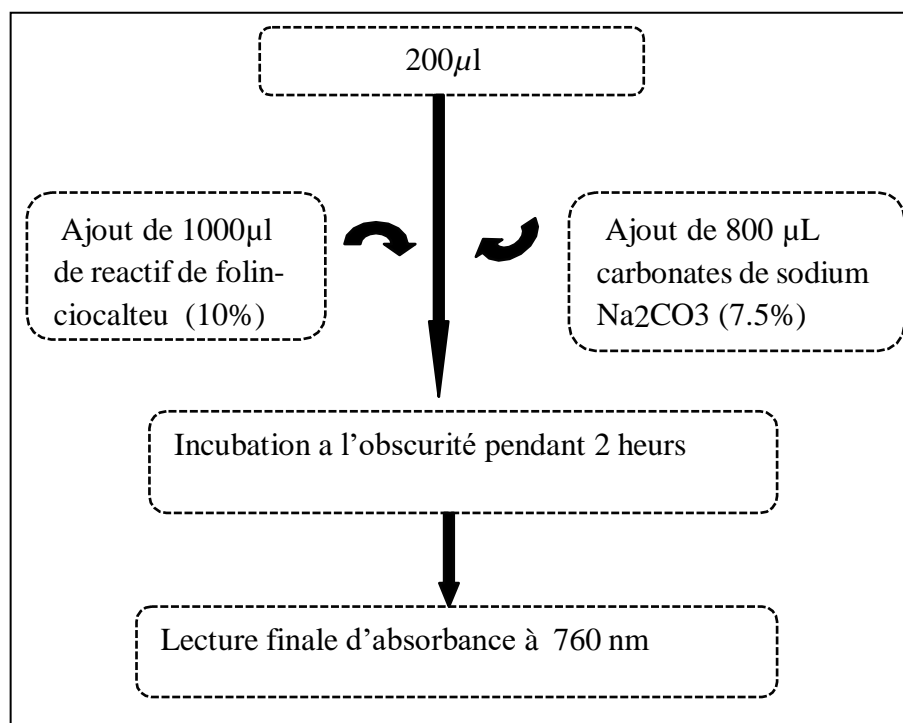


Figure IV.17 : Les étapes de dosage des polyphénols totaux

➤ **Mode opératoire :**

- Des aliquotes de 200 µL des différents extraits de *Teucrium polium* ou de solution d'acide gallique à différentes concentrations (50, 100, 150, 200, 250 et 300 µg/mL), correctement diluées ou étalonnées pour établir la courbe d'étalonnage, sont préparées.
- Ajouter 1 ml du réactif Folin-Ciocalteu (10 %) à chaque aliquote.
- Mélanger soigneusement par agitation.
- Incuber le mélange à la température ambiante pendant 5 minutes.
- Ajouter 800 µL de Na₂CO₃ (7,5 %) à chaque mélange.
- Incuber tous les échantillons à la température ambiante dans l'obscurité pendant 2 heures.
- Enregistrer l'absorbance des mélanges bleus à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

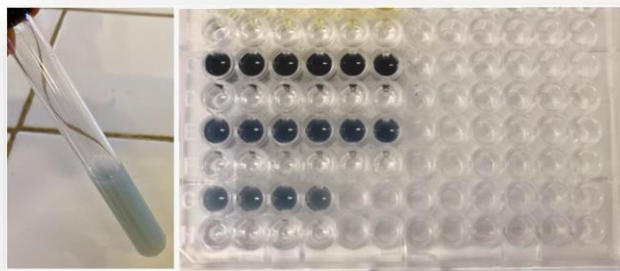


Figure IV.18 : Plaque de dosage des polyphénols des extraits de *teucrium polium* L

IV.12.2. Dosage des flavonoïdes :

➤ **Principe :**

Le dosage des flavonoïdes est réalisé à l'aide de la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium et la soude. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose qui absorbe dans le visible à 510 nm [108].

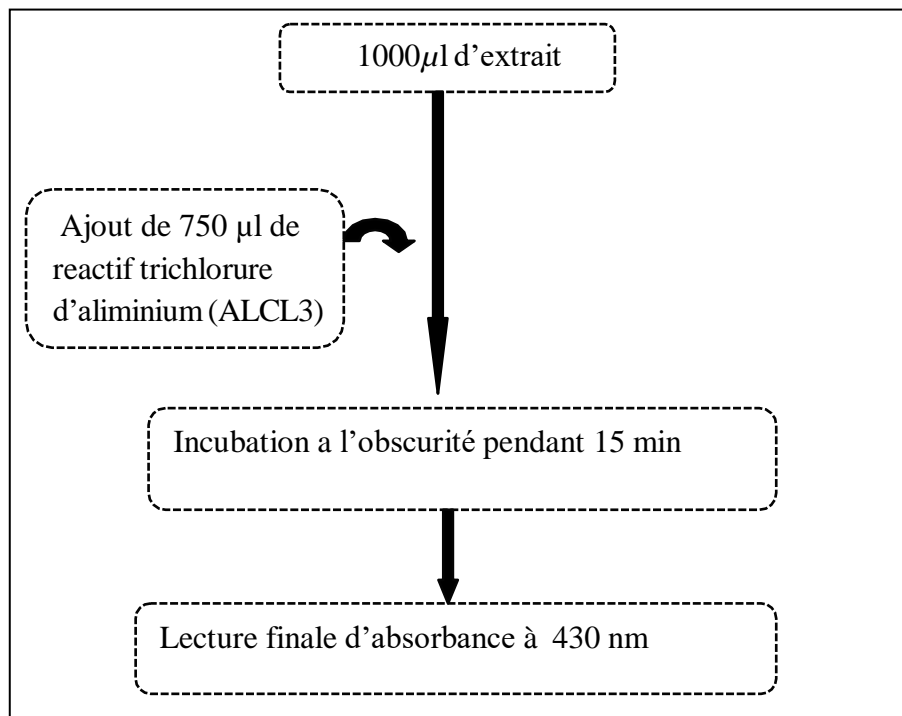


Figure IV.19 : Les étapes de dosage des flavonoïdes

➤ Protocole :

- Préparation de la courbe d'étalonnage avec de la quercétine
- Réaction avec 1 mL de chaque extrait ou de solution étalon (quercétine) à différentes concentrations (2,5, 5, 10, 20, 30, 40 et 50 µg/mL) avec 1 mL de chlorure d'aluminium (2 %).
- Incubation à température ambiante pendant 15min.
- Mesure de l'absorbance du mélange réactionnel à 430 nm.
- Expression de la teneur totale en flavonoïdes en milligramme d'équivalent de quercétine (QE)/g d'extrait en utilisant la courbe d'étalonnage : $y = 0,0315x - 0,0273$ ($R^2 = 0,998$).

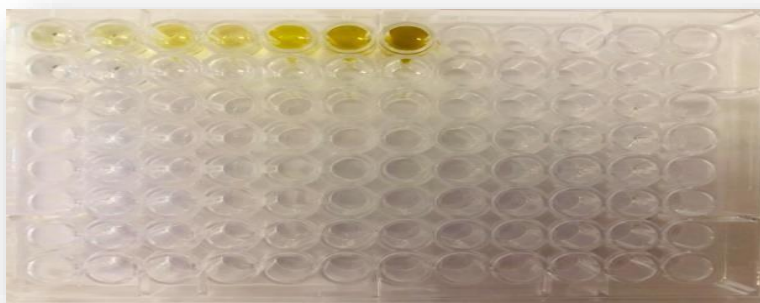


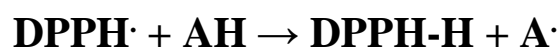
Figure IV.20 : Plaque de dosage des flavonoïdes des extraits de *tecurium Polium L*

IV.12.3. Evaluation de l'activité antioxydante :

IV.12.3.1. Activité de balayage des radicaux libre DPPH :

➤ Principe :

Le 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazine (DPPH•) est un radical organique libre, stable et de couleur rouge pourpre. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH• est réduit et change de couleur en virant au jaune, ce qui entraîne une diminution de son absorbance [109]. Le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration de la forme libre en solution dépend de la nature, de la concentration et de la puissance de la substance anti radicalaire [110]. On peut résumer cette réaction par l'équation suivante :



Où (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH. (violet) pour le transformer en molécule DPPH-H [111].

Le (DPPH•) est généralement le substrat le plus utilisé pour l'évaluation rapide et directe de l'activité antioxydante, en raison de sa stabilité en forme radicalaire libre et la simplicité de l'analyse (Figure IV.4). Il absorbe dans le visible à la longueur d'onde de 515 nm [112].

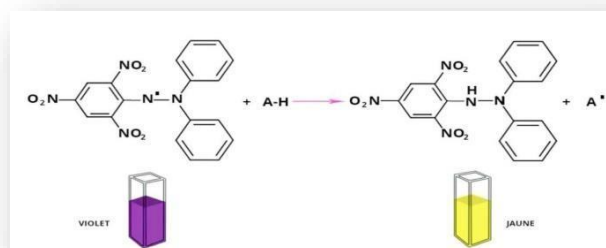


Figure IV.21: Mécanisme réactionnel intervenant lors du test DPPH• entre l'espèce radicalaire DPPH• et un antioxydant [112]

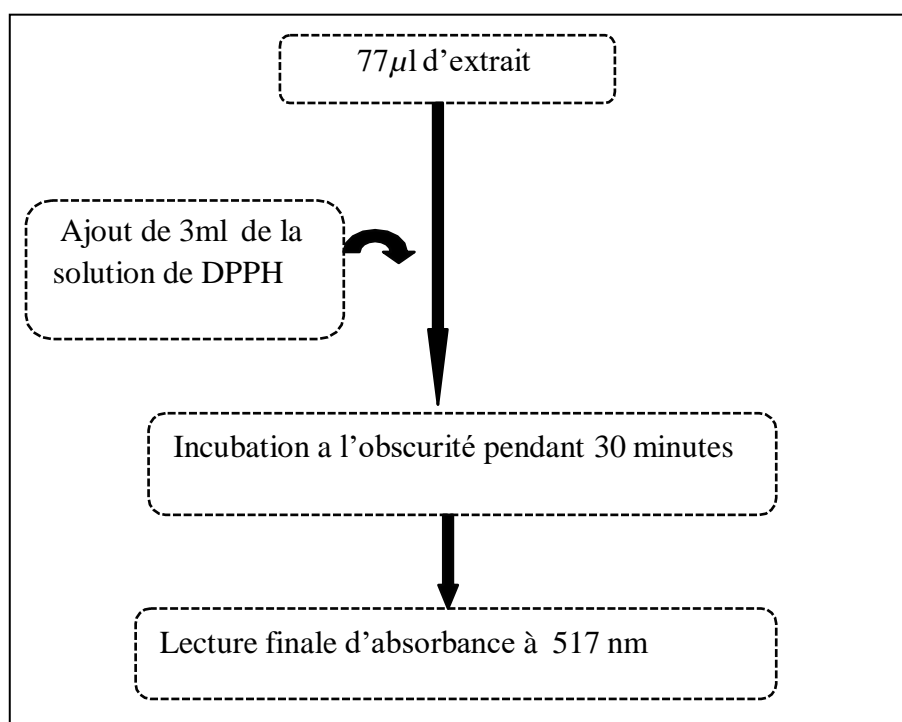


Figure IV.22 : Les étapes d'évaluation de l'activité anti radicalaire DPPH

➤ Mode opératoire [113] :

- **Préparation de la solution mère de DPPH°** : Peser 0,0236 g de DPPH° dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter avec de l'éthanol et placer dans un bain à ultrasons pendant 15 minutes à température ambiante.
- **Préparation de la solution fille à 6.10⁻⁵ mol/L** : Préparer une dilution de 1/100 dans l'éthanol 96° de la solution mère de DPPH. Vérifier que l'absorbance à 515 nm de cette solution est comprise entre 0,6 et 0,7.
- Faire le zéro du spectrophotomètre avec de l'éthanol 96°.
- **Série de dilution des extraits** : Préparer une série de dilutions des extraits à des concentrations de (0, 0,25, 0,5, 1, 2,5 ,10) g/L.
- Prendre 3 ml de la solution fille de DPPH° et ajouter 77 µL de chaque échantillon d'extrait.
- Incuber tous les échantillons à la température ambiante dans l'obscurité pendant 30 minutes.
- Mesurer l'absorbance du mélange réactionnel à 517 nm.

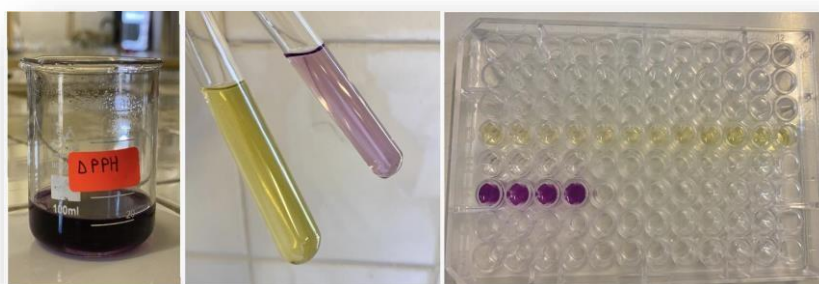


Figure IV.23 : L'activité anti radicalaire DPPH

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition et calculés suite à la diminution de l'intensité de la coloration du mélange, selon la formule suivante :

$$\square \% = \frac{A_{DPPH} - A_{extraits}}{A_{DPPH}} \times 100$$

L'étude de la variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration des extraits, permet de déterminer la concentration qui correspond à 50% d'inhibition (CI50), une faible valeur de la CI50 correspondant à une grande efficacité de l'extrait [110].

Le calcul des IC50 a été réalisé graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées. La valeur de la CI50 est exprimée en µg/ml.

IV.13. Analyse Microbiologie :

IV.13.1. Evaluation de l'activité antibactérienne :

L'évaluation de l'activité antibactérienne est une procédure scientifique visant à déterminer l'efficacité d'une substance, telle qu'un médicament, un extrait de plante ou un composé chimique, à inhiber la croissance des bactéries ou à les tuer. Cette évaluation est cruciale pour le développement de nouveaux antibiotiques et autres agents antimicrobiens. En déterminant la capacité d'une substance à agir contre différentes souches bactériennes, cette procédure fournit des informations essentielles pour la conception de traitements efficaces contre les infections bactériennes, et aide à lutter contre la résistance aux antibiotiques. [114].

IV.13.1.1. Les souches bactériennes utilisées [115]:

Dans notre étude, nous avons testé la sensibilité de quatre souches bactériennes de référence (American Type Culture Collection 'ATCC') provenant du laboratoire de microbiologie de département de science de la vie (Pole d'Ouled fares) Deux souches Gram négatif et deux souches Gram positif ont été utilisées :

- ✓ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
- ✓ *Streptococcus* spp ATCC 12228
- ✓ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027
- ✓ *Escherichia coli* ATCC 8739

Tous ces micro-organismes sont pathogènes, ont des potentiels différents selon le type d'infection qu'ils causent, provoquent des infections nosocomiales et sont résistants aux antibiotiques. C'est pourquoi il est nécessaire de faire des choix judicieux dans leur traitement.

Chapitre IV : Matériels et méthodes

Les milieux de culture, les caractéristiques des souches (Gram) et les températures d'incubation sont répertoriés dans le tableau ci-dessous :

Tableau IV.1 : Les souches bactériennes utilisées

NUM	Microorganisme	Gram	Media culturel	Température d'incubation
1	Staphylococcus aureus ATCC6538	Positif	Chapman	37
2	Escherichia coli ATCC14028	Négatif	Hektoen /slp/mackonki	37
3	Pseudomonas aeruginosa ATCC8626	Positif	Hektoen /slp/mackonki	37
4	Streptococcus spp ATCC12228	Négatif	Gélose au chocolat ou gelée froide	37

IV.13.1.2. Technique de diffusion sur milieu gélosé (Antibiogramme) :

Le principe de cette méthode, consiste à mesurer le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance microbienne autour d'une source d'antibiotique déposée à la surface de la gélose. La sensibilité des souches aux extraits de la plante a été réalisée par la technique, in vitro, de diffusion en milieu gélosé, ou méthode des disques [121].

IV.13.1.3. Préparation du milieu de culture [117]:

- Verser aseptiquement le milieu de culture en gélose (Muller Hinton) en surfusion dans des boîtes de Pétri, à raison de 10 à 15 ml par boîte.
- Laisser refroidir et solidifier le milieu de culture sur la pailleuse (sous la hotte).

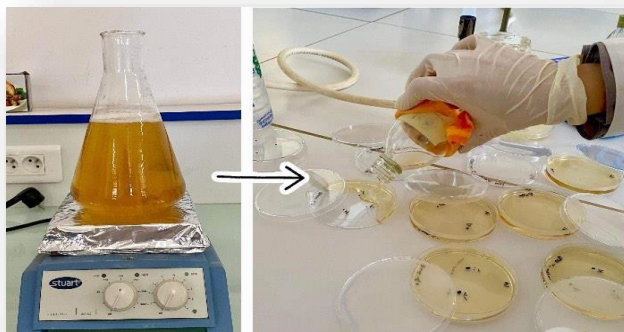


Figure IV.24 : Préparation du milieu de culture

IV.13.1.4. Préparation de la suspension bactérienne [117] :

- Préparer une suspension bactérienne correspondant aux standards de 0,5 McFarland à partir d'une culture pure et jeune (24 heures).
- Ces standards équivalents à une densité optique de 0,08-0,1 à 625 nm. Cet inoculum est utilisé pour ensemercer la gélose MH versée dans les boîtes de Pétri.

IV.13.1.5. L'ensemencement [118] :

Le travail est toujours entre le bec bunsen. On trempe un écouvillon dans la suspension bactérienne puis ensemercer la totalité de la surface de gélose par des stries parallèles. L'écouvillon est rechargé à chaque fois qu'on ensemece plusieurs boites de pétri avec la même souche.



Figure IV.25 : L'ensemencement de la souche bactérienne.

IV.13.1.6. Application des disques [119] :

- À l'aide de pinces stériles, placer des disques stériles Schleicher & Schuell de 9 mm de diamètre selon les besoins sur la surface de la boîte de Pétri contenant la gélose ensemencée.
- Imprégner chaque disque de 15 μ L de chaque extrait.



Figure IV.26 : Application des disques

IV.13.1.7. Diffusion et incubation [119]:

- Mettre les boîtes ensemencées contenant les disques des extraits à 4°C pendant 2 heures pour faciliter la diffusion des extraits.
- Fermer les boîtes de Pétri et laisser diffuser à température ambiante pendant 1 heure.
- Incuber ensuite à 37°C pendant 24 heures.

IV.13.1.8. Détermination de DI (diamètre d'inhibition) [120] :

- Après incubation, l'absence de croissance bactérienne exprimant une activité antimicrobienne se traduit par un halo translucide autour du disque, de la même couleur que la gélose stérile et dont le diamètre est mesuré à l'aide d'un pied à coulisse.
- La lecture se fait en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse ou d'une règle en millimètres (mm).
- Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peuvent être symbolisés par des signes en fonction de la sensibilité des souches par rapport aux extraits.

IV.14. Formulation de la crème cicatrisante :

IV.14.1. Les principaux produits utilisés dans la préparation de la crème cicatrisante :

Tableau IV.2 : Caractéristiques des produits utilisés

	Produits	Principales Caractéristiques
Phase aqueuse	Eau distillé	la bonne eau de fabrication est très douce, au mieux distillée ou déminéralisée, et exempte de germes.
	Glycérol	Le lissage de la peau : la glycérine est dotée de propriétés tensioactives qui lissent la peau -protection et barrière contre les agressions -la restauration des défenses naturelles - Hydratant
Phase huileuse	Huile minérale	Dérivée du pétrole, agit comme barrière pour garder la peau hydratée et la protéger des éléments extérieurs
	Huile d'olive	une huile végétale riche en vitamines, notamment A, C et D, qui apportent de l'énergie. Elle hydrate la peau.
	Huile de vaseline	Une huile minérale qui forme une barrière protectrice pour retenir l'humidité et protéger la peau
	Huile de sésame	Une huile végétale riche en antioxydants et acides gras essentiels qui hydrate la peau et offre des propriétés antibactériennes
	Huile d'amande	Une huile végétale riche en vitamines A et E qui hydrate, adoucit et apaise la peau
	Beurre de karité	c'est un beurre végétal qui présente une activité hydratante pour la peau.
	Cire d'abeille	C'est une cire naturelle particulière sécrétée par les abeilles à miel. Elle sert à la fabrication de médicaments à cause de ses propriétés antibactérienne

	Myristate d'isopropyle	Un ester synthétique utilisé pour ses propriétés émoullientes, qui permette rendre les crèmes plus légères et non grasses, facilitant leur application et absorption par la peau
Les additifs	Emulsifiante 1 et 2	Dans notre travail on a choisi 3 types d'émulsifiant pour augmenter la stabilité de la crème préparer et certains permettent d'épaissir les crèmes et apportent un toucher onctueux et nourrissant.
	Conservateur	Ce sont des substances capables de s'opposer au développement des germes bactériens et fongiques qui peuvent se retrouver dans notre formulation.
	Dioxyde de titane	Colorante
	Arome	Ajoute une odeur agréable

IV.14.2. Principe :

La formulation de la crème est effectuée suivant les étapes décrites sur (la figure IV.27). Le mode opératoire suivi est effectué sous les conditions d'hygiène et les bonnes pratique de fabrication de façons à garantir une crème de bonne qualité hygiénique .

La phase aqueuse est formée des ingrédients hydrophiles dans la quelles les agents humectant ont été ajoutés. Tandis que, la phase huileuse est composée d'un mélange d'huile, beurre et cire d'abeille pour donner une bonne consistance, de l'onctuosité et la douceur de la crème, des agents émulsifiants, agents antimicrobiens pour la conservation .

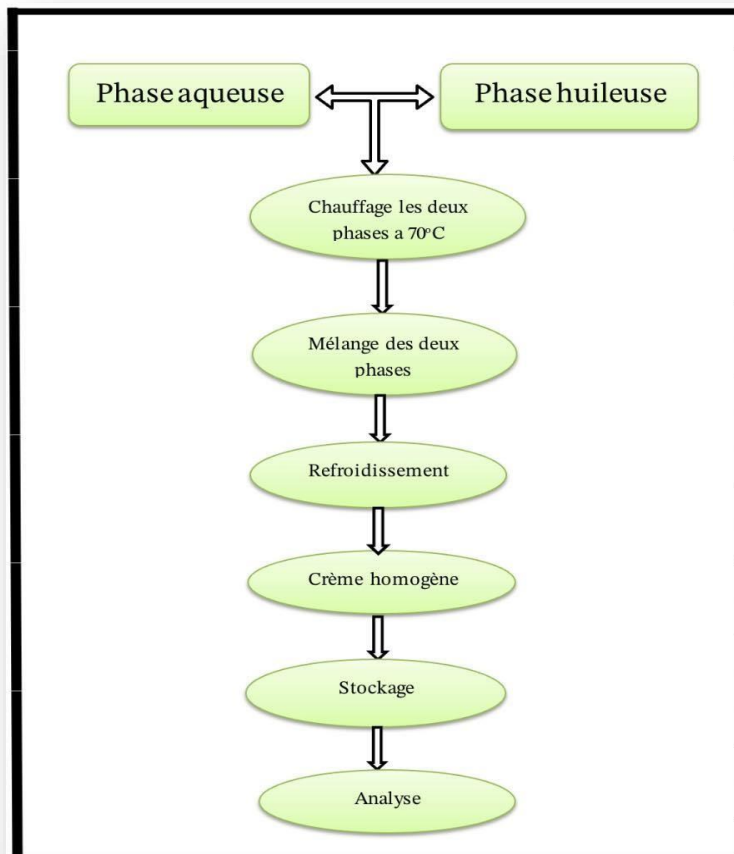


Figure IV.27 : Diagramme des étapes préparation d'une crème

➤ **Mode opératoire :**

• **Préparation de la phase aqueuse :**

Dans un bécher, la quantité, requise, d'eau distillée est mélangée avec le glycérol et le conservateur.



Figure IV.28 : La phase aqueuse

- **Préparation de la phase huileuse :**

Dans un autre bécher, on a mis les composants suivants (huile de coco, huile d'olive, huile d'argan, beurre de karité, cire d'abeille et les émulsifiants 1 et 2). Ce mélange est chauffé jusqu'à la fonte totale de tous les ingrédients.



Figure IV.29 : La phase huileuse

- **Préparation de l'émulsion :**

A l'aide d'un thermomètre, on contrôle la température des deux phases. Après la fonte de la cire d'abeille et dès que la température des deux phases atteint 70°C, on mélange les deux phases en incorporant la phase huileuse dans la phase aqueuse puis l'ajoute de principe actif et le colorante.



Figure IV.30 : Les phases de préparation de la crème

IV.15. Optimisation de la formulation de la crème cicatrisante :

L'objectif de l'optimisation de ces formulations est de déterminer la combinaison idéale de composante pour obtenir une crème qui maximise les propriétés désirées telle que l'efficacité, la texture et la stabilité.

Le tableau suivant résume le balayage réalisé dans le but de préparer la meilleure forme, vis-à-vis les ingrédients disponibles.

Tableau V.3 : Variations de formulations pour l'optimisation de la crème

Composante	Essai 01	Essai 02	Essai 03	Essai 04	Essai 05	Essai 06	Essai 07	Essai 08	Essai 09	Essai 10
Huile minérale	20%	23%	14%	10%	10%	16%	15%	13%	16%	12%
Beurre de karité	5%	5%	3%	4%	10%	4%	5%	3%	6%	4%
Cire d'abeille	6%	6%	3%	6%	7%	9%	4%	4%	6%	4%
Myristate d'isopropyle	3%	3%	3%	3%	3%	4%	6%	3%	3%	3%
Glycérol	1,5%	1,5%	3%	1,5%	2%	3%	3%	2%	1,5%	1,5%
Acide ascorbique	0,1%	0,2%	0,2%	0,5%	0,5%	1%	1%	1%	1%	1%
Dioxyde de titane	0,2%	0,2%	0,4%	0,8%	1%	1%	1%	0,5%	1%	1%
Principe actif	1%	1%	1%	1%	1%	1%	1%	1%	1%	1%
Emulsifiante 01	2,5%	2,5%	/	/	2,5%	2,5%	5%	5%	2,5%	2,5%
Emulsifiante 02	/	/	/	2,5%	2,5%	2,5%	/	/	2,5%	2,5%
Arome	0,1%	0,1%	0,1%	/	/	/	0,1%	0,1%	0,1%	/
Eau	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%	qsp 100%

IV.16. Caractérisation de la crème :

Pour la fiabilité et l'évaluation de la qualité de notre produit aux normes bien définies ; il est recommandé de réaliser les tests de validation suivantes :

IV.16.1. Caractéristiques organoleptiques [121]:

L'observation macroscopique des émulsions est un des tests d'acceptabilité de l'utilisateur. L'examen est pratiqué à l'œil nu directement sur les émulsions préparées. Les principaux caractères observés sont: la couleur, les aspects physiques, la consistance et l'homogénéité de la préparation. Pour cela, nous avons procédé à une description détaillée de chaque émulsion obtenue (Légère, épaisse, opaque, couleur et odeur).

- **Caractères visuels :**

Seront observés la couleur, l'aspect brillant, satiné ou mat, opaque transparent ou opalescent, la fluidité, la finesse de l'émulsion, l'homogénéité d'aspect, la présence de bulles.

- **Caractères olfactifs :**

Il faut détecter :

- ✓ Une odeur typique (principes actifs, excipients, parfums).
- ✓ Une absence d'odeur.
- ✓ Une odeur anormale ou une perte d'odeur (parfum) qui peut être le signe d'une dégradation.

- **Caractères tactiles :**

Après étalement sur le revers de la main, si la préparation n'est pas caustique, il faut préciser :

- ✓ Le toucher, qui peut être gras, évanescent, collant, granuleux ou lisse rugueux.
- ✓ La sensation qui peut être chaude ou fraîche.

IV.16.2. Examen microscopique [122] :

Ce contrôle physique est fondamental. Il a pour objectifs de déterminer la taille, la forme et l'homogénéité de répartition des globules dans l'émulsion, d'en détecter une évolution anormale, de vérifier l'absence de bulles d'air, d'évaluer la présence de particules en suspension.

Cet examen est indispensable pour les systèmes dispersés. En effet la granulométrie (taille et répartition) est un paramètre qui peut avoir une influence sur la consistance, la stabilité et sur l'activité thérapeutique de la préparation, en agissant en particulier sur la libération du principe actif.

➤ **Mode opératoire :**

- ✓ Mettre une très petite quantité de la crème sur la lame et on met dessus une lamelle (une pellicule de crème pratiquement transparente étalée entre lame et lamelle).
- ✓ L'observation est effectuée rapidement après le montage entre lame et lamelle à grossissements croissants, jusqu'à x100

IV.16.3. Analyses physico-chimiques :

IV.16.3.1. Détermination du pH :

L'acidité de la crème formulée est très importante à connaître étant donné que cette dernière est destinée à être appliquée sur la peau du corps, cette acidité est généralement interprétée par la mesure de pH. Elle est effectuée par l'utilisation de pH mètres, directement sur l'émulsion ou après dilution à 10% dans de l'eau distillée. Elle est importante parce que le pH influence la stabilité de l'émulsion, la tolérance cutanée des préparations et les incompatibilités entre les différents constituants. Elle est définie à travers une échelle de 1 à 14 comme suit [123] :

- ✓ $1 < \text{pH} < 7$: pH acid
- ✓ $\text{pH}=7$: pH neutre
- ✓ $7 < \text{pH} < 14$: pH basique

➤ **Mode opératoire :**

- ✓ Une fois l'appareil étalonné, et les électrodes lavées à l'eau distillée.
- ✓ Introduire le pH mètre dans la crème.
- ✓ Vérifier que l'indication donnée par le pH-mètre est stable au bout d'une minute.
- ✓ Prendre la valeur du pH.

IV.16.3.2. Evaluation de la stabilité par centrifugation [124]:

Les études de stabilité jouent un rôle essentiel dans le développement et la commercialisation de nouveaux produits pharmaceutiques, cosmétiques et substances actives. Ces tests garantissent que les produits répondent aux spécifications requises dans les conditions de stockage définies et tout au long de leur durée de vie.

L'objectif du test de stabilité est de vérifier la capacité d'une émulsion, telle qu'une crème cosmétique, à maintenir son homogénéité et à éviter la séparation des phases sous l'effet de la

force centrifuge. Ce test permet d'évaluer la qualité et la stabilité de l'émulsion en simulant des contraintes physiques, comme celles qui pourraient être rencontrées pendant le stockage ou l'utilisation du produit.

➤ **Mode opératoire :**

- ✓ Verser 2,5 grammes pour chaque crème à tester dans les tubes à centrifuger.
- ✓ Placer les tubes de manière équilibrée dans la centrifugeuse.
- ✓ Centrifuger 15 minute à des vitesses de centrifugation successives (1000, 3000, 6000) tour /min ou R.p.m (rotations par minute).
- ✓ Observer l'aspect de tubes contenant.

➤ **Autres test de stabilité**

✓ **Influence de l'air :**

Le produit est exposé à l'air pendant une semaine.

✓ **Influence de la température :**

Ce test consiste à mettre la crème à la température ambiante sous la lumière durant une semaine.

IV.16.3.3. Détermination du sens de l'émulsion (H/E/H ou E/H/E) :

• **Par mesure de la conductivite [125] :**

La variation de conductivité est proportionnelle à la variation de la quantité de la phase externe quand il s'agit d'une émulsion H/E et la conductivité ne varie quasiment pas pour des changements de proportion d'une émulsion E/H. Cela est dû au fait que la conductivité d'une phase huileuse est 100 à 1000 fois inférieure à celle d'une phase aqueuse.

- Les émulsions H/E/H sont conductrices d'électricité.
- Les émulsions E/H/E sont des isolants électriques.

➤ **Protocole :**

- ✓ Mettre la crème dans le bécher.
- ✓ Introduire le conductimètre dans le bécher.
- ✓ Prendre la valeur de la conductivité.

• **Par dilution [126]:**

Le principe de cette méthode est fondé sur le fait que la phase continue d'une émulsion peut être diluée ou non par l'une des deux phases. Ce procédé est bien évidemment moins faible que celui réalisé par conductivité.

- Si l'émulsion se dilue bien et reste homogène, elle est probablement H/E.
- Si elle ne se dilue pas bien et forme des globules ou des séparations, elle est probablement H/E.

➤ **Mode opératoire :**

- ✓ Peser 1g de la crème.
- ✓ Mettre la crème dans le bécher.
- ✓ Ajouter l'eau distillée jusqu'à 20 ml.
- ✓ Mélanger bien avec une spatule pour quelques minutes.
- ✓ Prendre les résultats visuellement.

IV.16.3.4. Mesure de la capacité d'étalement [127]:

Cette méthode repose sur la mesure de la capacité d'étalement d'une crème sous l'action d'une force déterminée. Elle est importante pour évaluer sa facilité d'application et sa couverture sur la peau.

➤ **Mode opératoire :**

Les expériences ont été effectuées à la température ambiante selon le principe d'un extensomètre :

- Déposer 1g de la crème au centre d'une plaque de verre, graduée en millimètres, à partir d'un cercle central.
- Appliquer une autre plaque de verre, de même diamètre, et une masse définie (1kg).
- Mesurer, après 8 minute, le diamètre moyen (d) du cercle occupé par la crème. Il correspond à la moyenne des valeurs obtenues dans les quatre directions graduées.
- Calculer la surface $S \text{ (mm}^2\text{)} = (d^2 * \pi) / 4$.

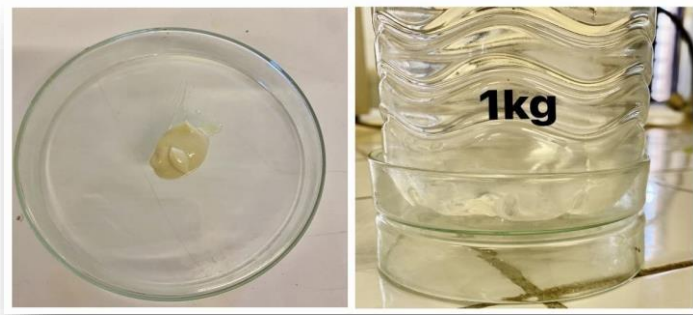


Figure IV.31 : Mesure de la capacité d'étalement

IV.17. Evaluation de l'activité cicatrisante :

IV.17.1. Etude de l'activité cicatrisante des plaies [128]:

➤ But :

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'efficacité de la crème formulée à base d'extrait de *Teucrium Polium* L par rapport à une crème de référence MADECASOLE dans la cicatrisation des plaies chez un lapin. Cela permettra de déterminer si la crème à base d'extraits de plantes présente des avantages significatifs par rapport au traitement standard.

Cette technique est utilisée dans le but de mieux comprendre l'évolution de la guérison des plaies. Elle permet non seulement de suivre visuellement les changements macroscopiques, mais également de mesurer précisément la contraction et l'approximation des bords de la plaie.

➤ Création de la plaie :

- Les deux côtes du dos de lapin ont été rasées à l'aide d'une lame du rasoir.
- Les plaies sont réalisées sur la peau rasée de la région dorsale du lapin (3 plaies dans chaque cote).
- Juste après l'induction des plaies, sont soignés par une application topique de 1g du traitement testé sur chaque zone.

Plaie 01 : Traité par la crème cicatrisante 1% à base d'extraits de *tecrium polium*.

Plaie 02 : Traité par la crème MADECASOLE 1%.

Plaie 03 : Témoin (Aucune traitement).



Figure IV.32 : Préparation de la zone traitée

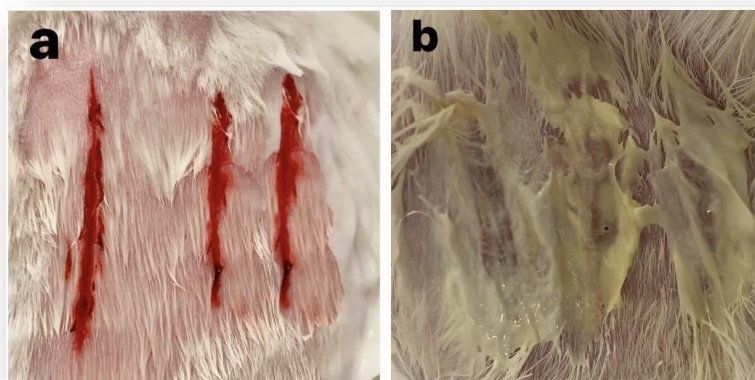


Figure IV.33 : a) Création des plaies b) Application de la crème

***Chapitre V : Résultats et
discussion***

Chapitre V : Résultats et discussion

Ce chapitre est consacré pour la présentation des résultats de l'étude :

- Les étapes d'optimisation des conditions d'extractions.
- Caractérisation des extraits par différentes méthodes.
- Préparation d'une forme pharmaceutique avec l'étude des propriétés de la forme préparée.

V.1. Le taux d'humidité :

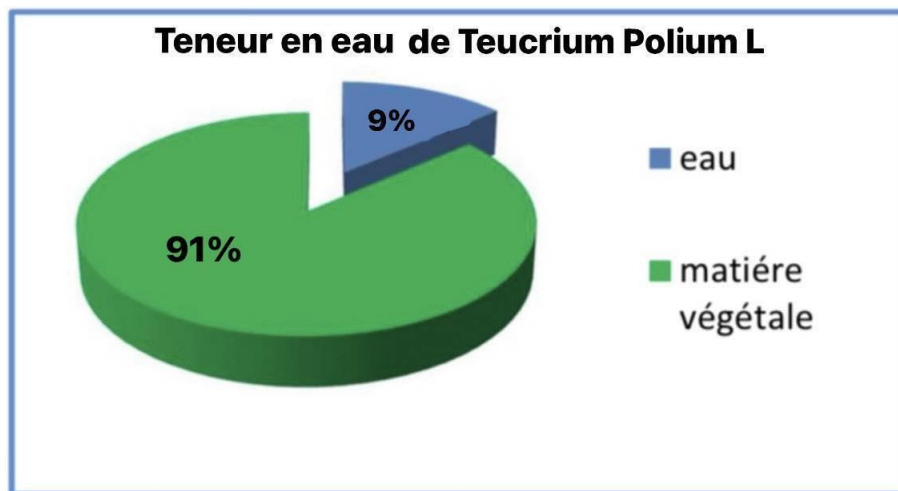


Figure V.1 : Représentation sectorielle du taux d'humidité *Teucrium polium L*

Les résultats de cette analyse ont révélé un taux d'humidité inférieure à 10%, dans la plante de *Teucrium polium L* provenant de la région de Chlef, avec une valeur égale à 9%. La teneur en eau, inférieure à 10%, confère à notre poudre une meilleure conservation à long terme.

V.2. Rendement d'extraction :

V.2.1. Optimisation des conditions optimales de l'extraction assistée par ultrasons :

V.2.1.1. Détermination du diamètre optimal :

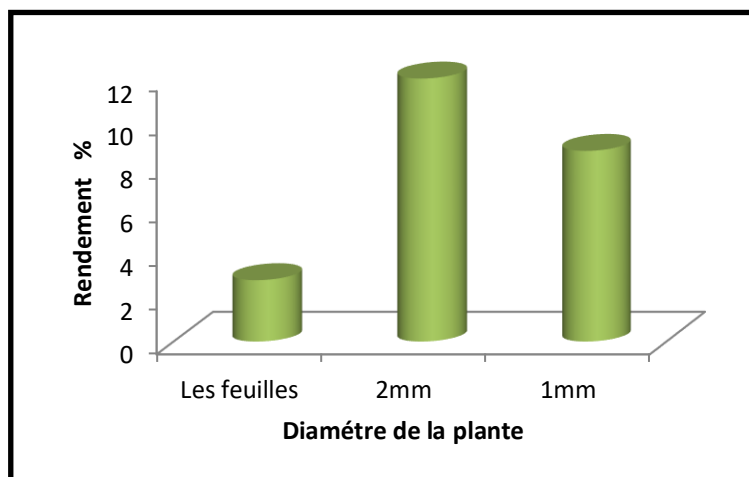


Figure V.2 : Rendement en fonction du diamètre de la plante

Les expériences menées en variant le diamètre de la matière végétale ont montré des différences significatives dans les rendements d'extraction. Le diamètre de 2 mm a produit les rendements les plus élevés par rapport aux fragments de 1 mm et aux feuilles entières. En effet, le diamètre de 2 mm a conduit à un rendement d'extraction de 12,4%, tandis que les fragments de 1 mm ont donné un rendement de 8,7% et les feuilles entières seulement 2,7%. Ces résultats suggèrent que la taille des particules a un impact sur la surface de contact entre la matière végétale et le solvant, influençant ainsi de manière significative l'efficacité de l'extraction.

V.2.1.2. Détermination de l'intervalle de temps optimal d'extraction :

Afin de déterminer le temps d'extraction assistée par ultrasons de la plante, une série d'extractions a été effectuée à différents temps (5, 10, 15, 20, 25, 30,35) min.

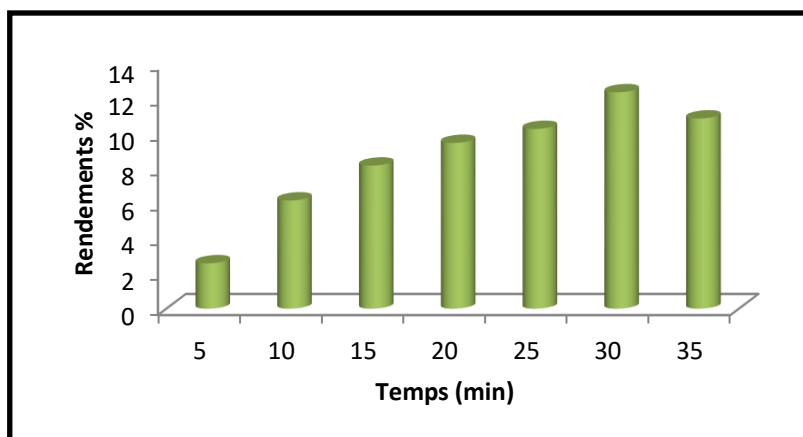
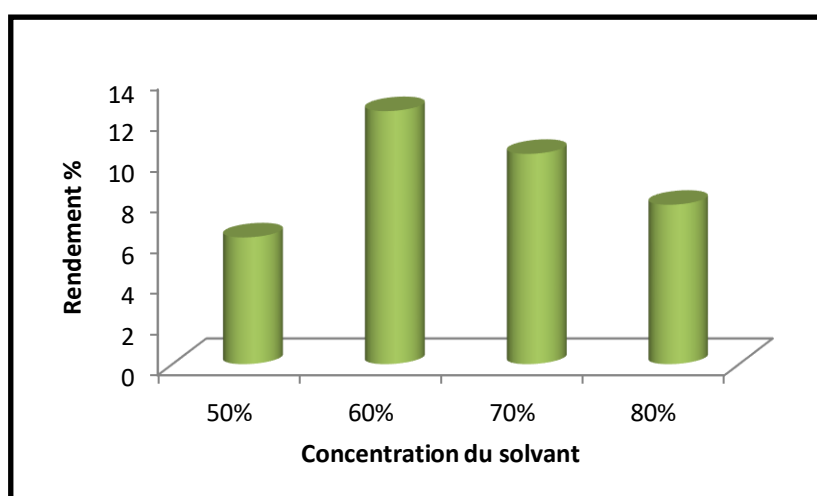


Figure V.3 : Rendement en fonction du temps d'extraction

Après une analyse approfondie des différents temps d'extraction, il est devenu évident qu'une augmentation progressive du rendement était observée jusqu'à ce qu'un plateau soit atteint à 30 minutes, avec un rendement maximal de 12,8% à 30 minutes et un rendement minimal de 2,6% à 5 minutes. Cette stabilisation du rendement indique que la plupart des composés souhaités ont été extraits de manière efficace pendant cette période. Cela suggère que la durée optimale d'extraction pour cette méthode spécifique est de 30 minutes, au-delà de laquelle aucun gain significatif de rendement n'a été observé. En d'autres termes, prolonger le temps d'extraction au-delà de 30 minutes n'offre pas d'avantages supplémentaires en termes de rendement, ce qui met en évidence l'importance de contrôler précisément la durée d'extraction pour optimiser les performances de l'extraction assistée par ultrasons.

V.2.1.3. Détermination du Concentration optimale du solvant :



FigureV.4 : Rendement en fonction de la concentration du solvant

Dans cette étude, l'impact de différentes concentrations de solvant hydroéthanolique (50%, 60%, 70%, et 80%) sur le rendement d'extraction de composés de la matière végétale a été examiné. Les résultats ont montré que la concentration optimale était de 60%, avec un rendement d'extraction de 12,4%, tandis que la concentration la plus basse, à 50%, a produit un rendement minimal de 6,2%. Cela suggère qu'un équilibre entre la capacité de dissolution du solvant et la saturation des composés extraits a été atteint à 60%. Ces observations mettent en lumière l'importance cruciale du choix de la concentration du solvant dans le processus d'extraction, offrant des implications pratiques pour diverses industries telles que la pharmacie, en optimisant les rendements d'extraction pour la production efficace de produits de haute qualité.

V.2.1.4. Détermination du Rapport masse / volume optimal :

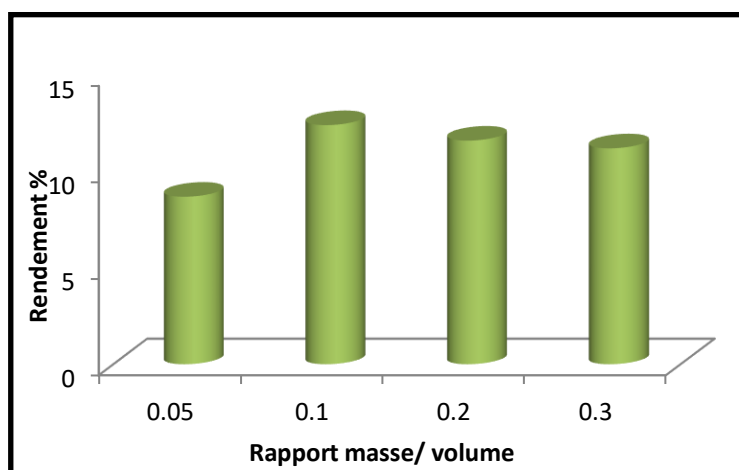


Figure V.5 : Rendement en fonction du rapport masse/volume

Les résultats mettent en évidence que le rapport masse/solvant de 0,1 donne le rendement d'extraction le plus élevé parmi les ratios testés, avec un rendement maximal de 12,4% et un rendement minimal de 9,8% pour le ratio de 0,05%. Cette constatation suggère qu'à ce niveau spécifique, un équilibre optimal est atteint pour faciliter le transfert efficace des composés de la matière végétale vers le solvant. En comparant les autres ratios (0,05%, 0,2% et 0,3%), il est clair que le rendement d'extraction varie considérablement en fonction du rapport masse/solvant. Le fait que le rapport de 0,1% soit identifié comme le meilleur suggère que des facteurs tels que la saturation du solvant et la capacité de dissolution des composés jouent un rôle clé dans l'efficacité de l'extraction.

D'après cette optimisation, les conditions opératoires optimales pour l'extraction de *Teucrium polium* L par ultrasons sont :

- ✓ Diamètre de la plante : 2mm
- ✓ Temps d'extraction : 30min
- ✓ Solvant : Ethanol 60%
- ✓ Rapport masse /volume : 0,1%

V.2.2. Etude comparative de l'extraction assistée par ultrasons avec d'autres méthodes d'extraction :

Les résultats de l'étude comparative des différentes méthodes d'extraction révèlent des différences significatives dans les rendements d'extraction. Parmi les méthodes évaluées, l'extraction par ultrasons a produit le rendement le plus élevé, suivi par le Soxhlet, puis par la macération classique. Cette observation suggère que l'extraction par ultrasons est la méthode la plus efficace pour extraire les composés ciblés des matières végétales dans cette étude spécifique (voir figure V.6).

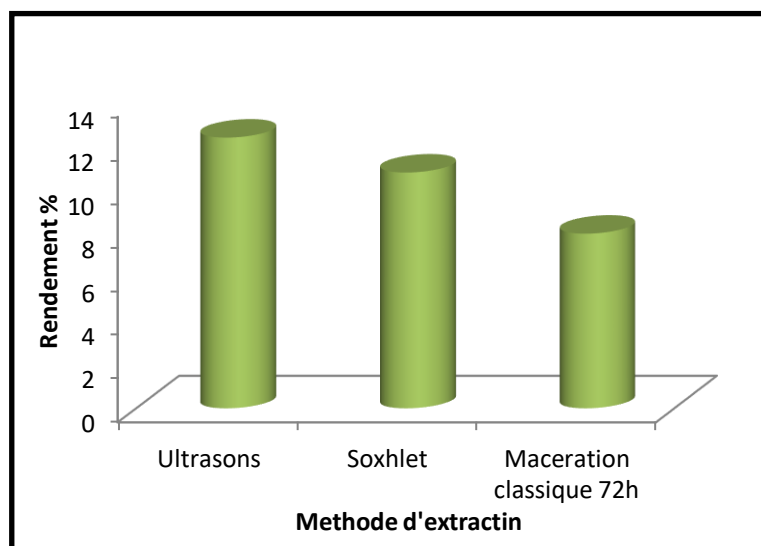


Figure V.6 : Rendement en fonction de méthode d'extraction

L'avantage de l'extraction par ultrasons peut être attribué à plusieurs facteurs, notamment sa capacité à faciliter la rupture des parois cellulaires et à améliorer la diffusion des solvants dans la matière végétale, entraînant ainsi une extraction plus complète des composés souhaités, avec un rendement de 12,4%. En revanche, bien que le Soxhlet soit une méthode

Chapitre V : Résultats et discussion

traditionnelle bien établie, elle peut être moins efficace en raison de son temps d'extraction plus long et de son utilisation de volumes plus importants de solvants, avec un rendement de 11,8%.

La macération classique, bien qu'elle soit souvent utilisée pour des extraits de plantes, a montré des rendements d'extraction inférieurs dans cette étude, atteignant seulement 10,5%. Cela pourrait être dû à sa méthode plus passive qui ne favorise pas une extraction aussi rapide ou complète que les autres méthodes évaluées.

Ces résultats soulignent l'importance de choisir la méthode d'extraction la plus appropriée en fonction des objectifs de l'étude et des caractéristiques des composés cibles. Dans ce cas, l'extraction par ultrasons semble être la méthode préférée pour obtenir des rendements d'extraction optimaux.


V.3. Caractérisation des extraits obtenus :

V.3.1. Caractérisation organoleptiques :


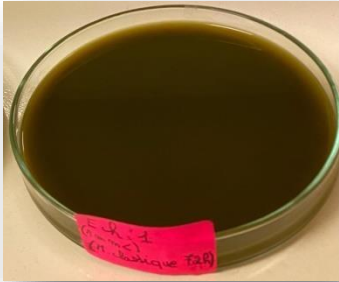
L'extraction par ultrason et par d'autres techniques de *Teucrium polium* L a permis d'obtenir des extraits dont les tests organoleptiques observés dans le tableau V.1.

Chaque extrait a des propriétés organoleptiques caractéristiques (odeur, couleur et goût).

Tableau V.1 : Analyses organoleptiques d'extraits

Extrait	Aspect	Couleur	odeur
Extrait de l'ultrasons	Liquide	 Vert, Marron foncé, vert jaunâtre	Odeur poivre

Chapitre V : Résultats et discussion

Extrait de Soxhlet	Liquide	 Marron foncé	Odeur poivre
Extrait de macération classique	Liquide	 vert foncé	Odeur poivre

V.3.2. Analyse Physique :

Les résultats d'analyses physiques sont cités dans le tableau V.2 :

Tableau V.2. : Résultats d'analyse physique des extraits

Extrait	Extrait de l'Ultrasons	Extrait de Soxhlet	Extrait de macération classique
pH	4,596	4,705	4,830
Conductivité (µs/cm)	459	545	483

Les valeurs de pH des extraits sont très proches et d'une acidité moyenne, en même temps on remarque une forte conductivité qui peut être expliquée par la présence des éléments conducteurs anioniques du au pH acide.

V.4. Analyse physico-chimique :

V.4.1. Résultats de l'Infra-rouge :

L'analyse spectroscopique FTIR des extraits par ultrason, Soxhlet et macération sont présentés sur la figure V.7 :

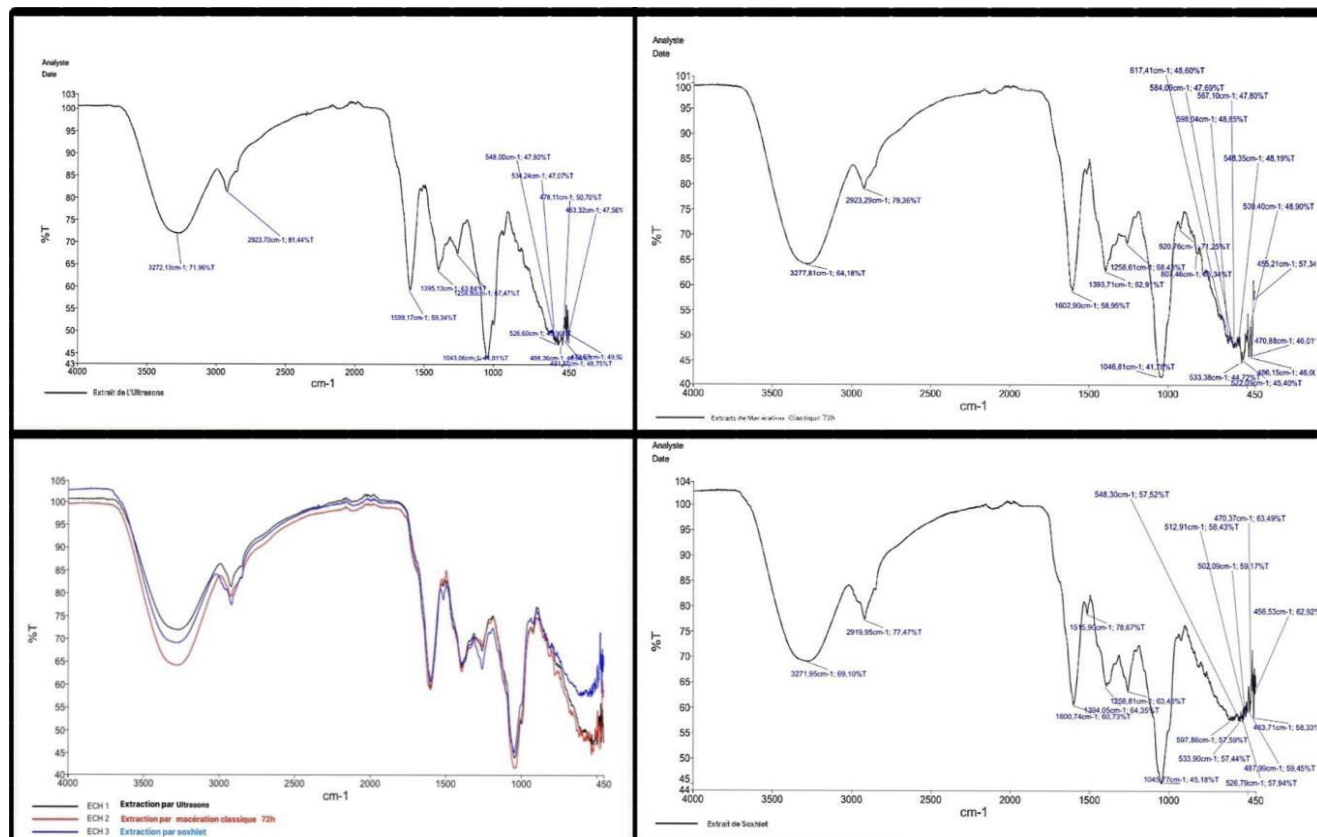


Figure V.7 : FTIR des extraits de *Teucrium polium L.*

L'examen du spectre infrarouge montre l'existence des bandes majoritaires suivantes :

- Une bande faible correspondant à la vibration d'allongement asymétrique des groupements N-H, vibration de valence qui apparaissent vers $3450,81\text{cm}^{-1}$
- Une bande forte correspondant à la vibration d'allongement des groupements C-H, vibration de valence qui apparaissent vers $2923,22\text{cm}^{-1}$
- Une bande forte correspondant à la vibration d'allongement des groupements C=O, vibration de valence qui apparaissent vers $1735,25\text{cm}^{-1}$
- Une bande forte correspondant à la vibration d'allongement des groupements C=O, vibration de valence qui apparaissent vers $1630,81\text{cm}^{-1}$
- Une bande variable correspondant à la vibration d'allongement des groupements C=C, de vibration de valence apparaissent vers $1619,91$

Chapitre V : Résultats et discussion

- Une bande correspondant à la déformation dans le plan des groupements O-H, de vibration de valence appariassent vers 1401,87
- Une bande moyenne correspondant à la déformation asymétrique des groupements C=H, vibration de valence qui appariassent vers 1384,15 cm^{-1} des CH] des cycles benzénique à 905.00 - 530.92 - 395.75 cm^{-1} .

D'après les résultats trouvés, dans les spectres infrarouge on remarque que toutes les spectres donne des bandes représente des groupements fonctionnels : O-H, C=C, C=O et N-H, cette richesse en groupements fonctionnels indique la richesse des extraits par composés d'intérêt à l'identifier.

V.4.2. Résultats de caractérisation par HPLC :

L'analyse par la chromatographie liquide à haut performance l'extrait par ultrason de *Teucrium polium* L donne le chromatogramme porté sur la figure V.8 .

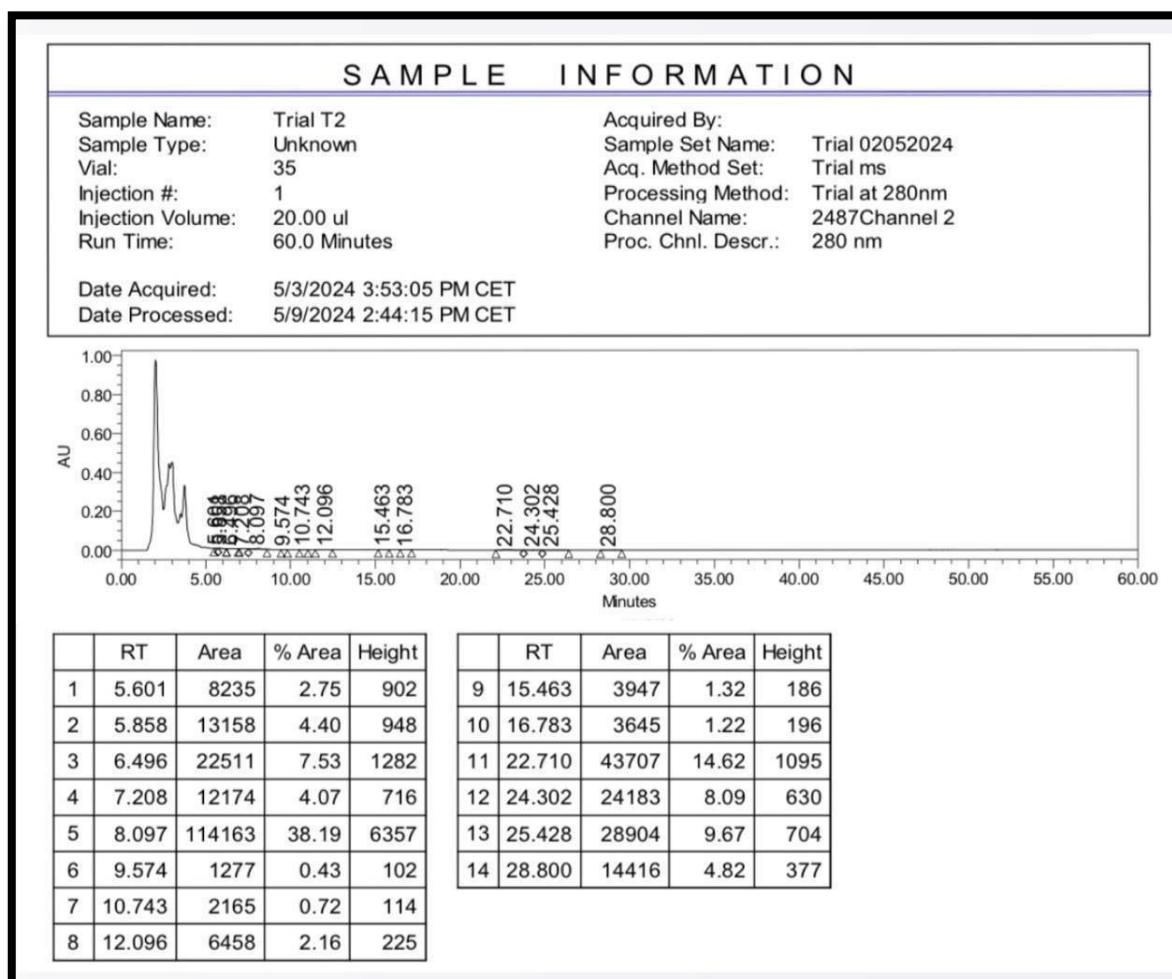


Figure V.8 chromatogramme de l'extrait par ultrasons de *Teucrium polium* L

Chapitre V : Résultats et discussion

D'après la figure V.8 le chromatogramme indique la présence de 14 composés dans l'échantillon de l'extrait d'ultrason de *Teucrium polium* L, ces composés ont une concentration varie dans l'échantillon.

Le cinquième composé présente une quantité majoritaire avec temps de rétention de 8.097 min et un titre de 38.19%.

Il y a aussi la présence des autres composées de quantité importante, spécialement le 3^{eme}, 12^{eme} et 13^{eme} composés avec des temps de rétention 6.496 min, 24.302min et 25.428 min et des titres 7.73, 8.09 et 9.67 respectivement.

L'analyse par la chromatographie liquide à haute performance et dans les mêmes conditions l'extrait par macération de *Teucrium polium* L donne des résultats présenté sur la figure V.9.

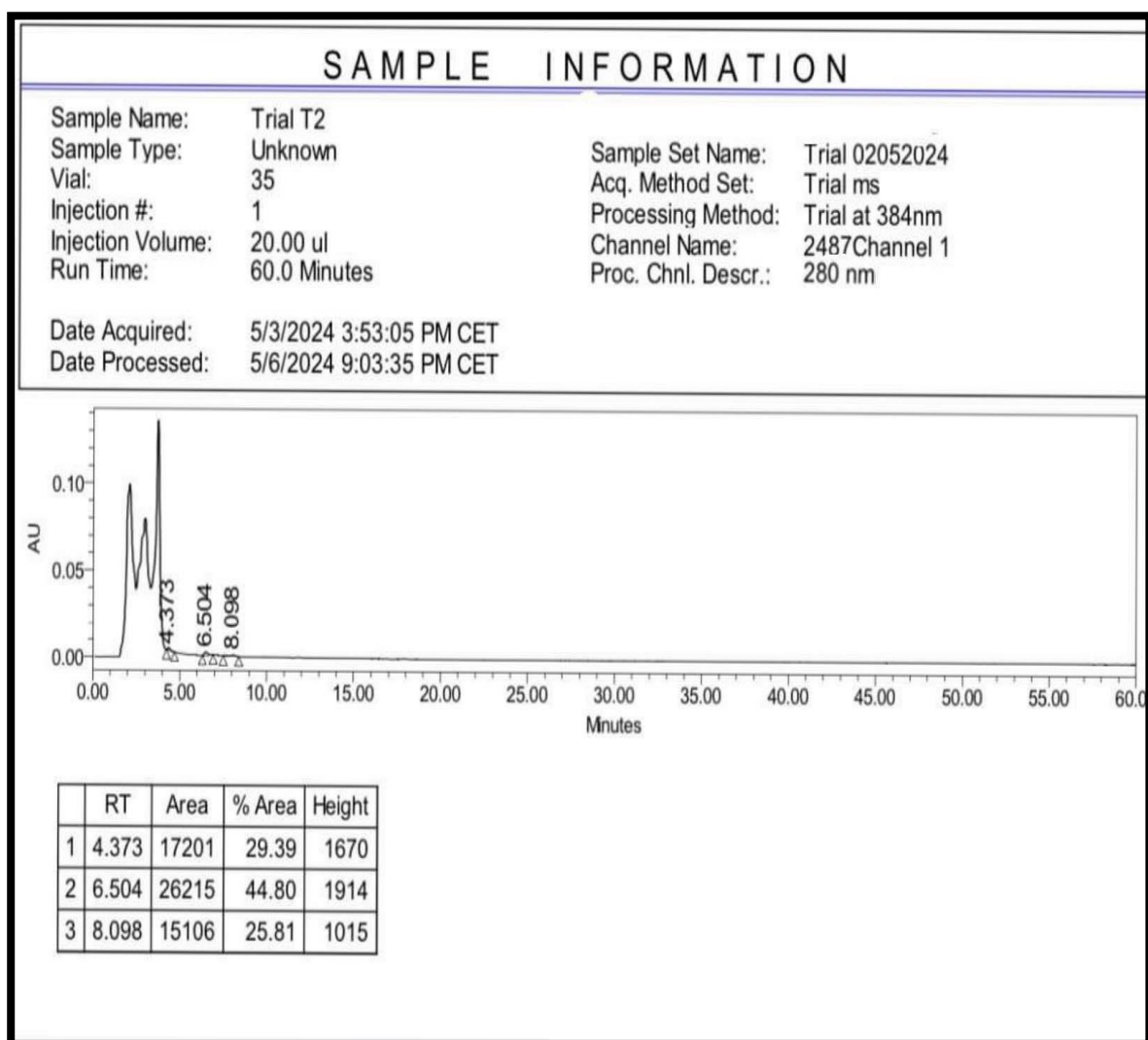


Figure V.9 chromatogramme de l'extrait par macération de *Teucrium polium* L

L'échantillon de l'extrait par macération de *Teucrium polium* L présente trois composés, deux composés sont présent dans l'extrait par ultrason, qui ont un temps de rétention 6.504 min et 8.098 min et des titres 44.80% et 25.81% respectivement.

Une augmentation de titre de composé 2 (44.08%) dans l'échantillon macération qui été 7.73% dans l'échantillon d'ultrason (composé 3), et pour le composé 5 dans l'échantillon ultrason reste majoritaire avec un titre de 38.19%.

L'échantillon de macération présent un nouveau composé de temps de rétention 4.373 min ne figure pas dans l'échantillon d'ultrason avec un titre très important de 29.39%.

L'extrait obtenu par ultrasons est plus riche que l'extrait obtenu par macération, et une analyse complémentaire par CG-MS ou LC-MS est nécessaire pour identifier ces molécules.

V.5. Résultats de Quantification des composés phénoliques :

V.5.1. Dosage des polyphénols totaux :

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide caféique a été utilisé comme standard. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 765 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation:

$$Y = 0,001x - 0,008 \quad R^2 = 0,993$$

La quantité des polyphénols a été rapportée en milligramme d'équivalent de l'acide caféique par milligramme de poids sec de l'extrait (mg EAG/mg Ps).

Les résultats de dosage des polyphénols totaux montrent que l'extrait d'ultrason par représente l'extrait le plus riche avec : 67.76 mg EAG/g d'extrait, suivi de l'extrait par Soxhlet 61.57 mg EAG/g d'extrait. L'extrait par Macération avec 33.27 mg EAG/g d'extrait, représente la fraction qui contient la plus faible teneur en polyphénols, voir les figures V.10, IV.11.

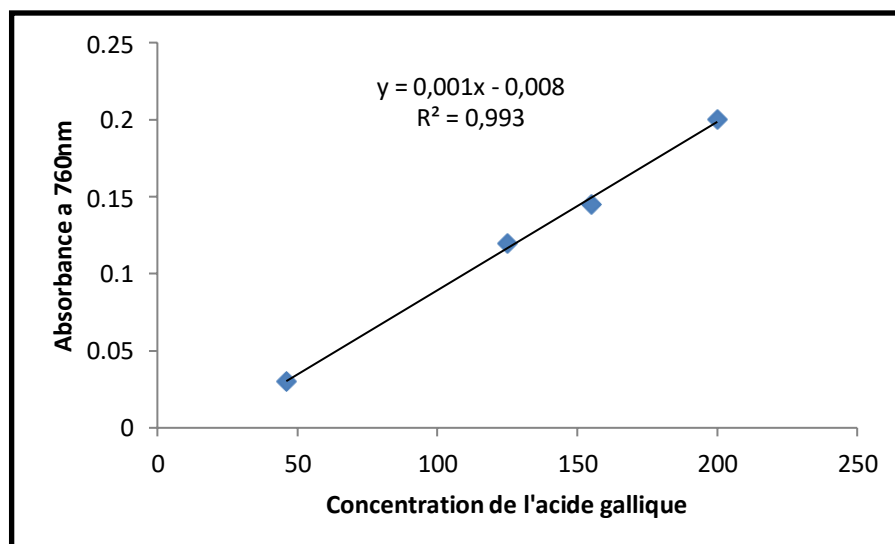


Figure V.10 : Droite d'étalonnage de l'acide gallique

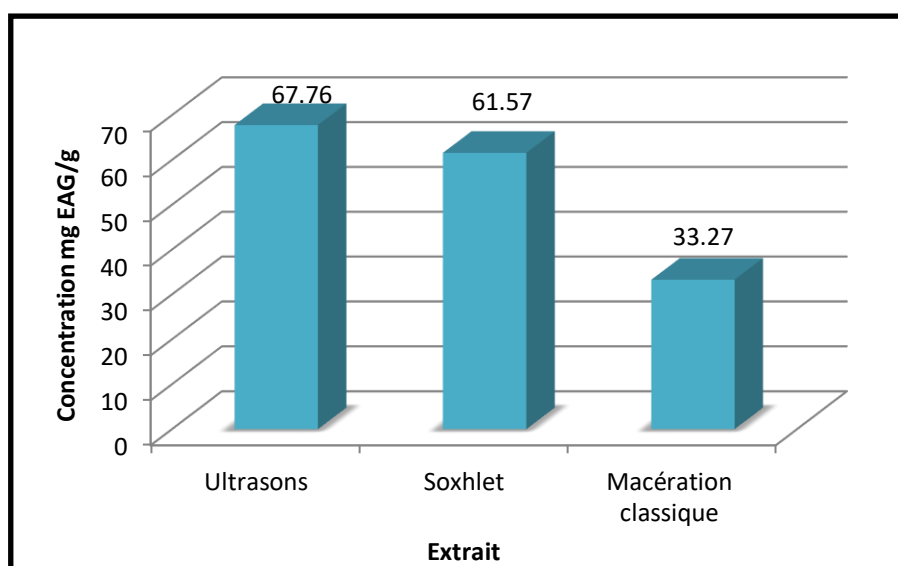


Figure V.11 : Evaluation des polyphénols totaux des extraits.

IV.5.2. Dosage des flavonoïdes :

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$), la quercétine a été utilisée comme étalon. L'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 430 nm. Les résultats obtenus sont représentés dans une courbe d'étalonnage, ayant l'équation :

$$Y = 0,031x + 0,100 \quad R^2 = 0,995$$

Chapitre V : Résultats et discussion

La quantité des flavonoïdes a été rapportée en milligramme d'équivalent de la quercétine par milligramme de poids sec de l'extrait (mg EQ/mg Ps). À partir de la courbe d'étalonnage, la concentration des flavonoïdes est récapitulée dans le tableau V.4.

Les résultats du dosage des flavonoïdes totaux montrent que l'extrait d'ultrasons représente l'extrait le plus riche avec : 36.63 mg EAC/g d'extrait, suivi de l'extrait par Soxhlet 31.12 mg EQ/g d'extrait. L'extrait par Macération avec 22.03 mg EQ/g d'extrait représente la fraction qui contient la plus faible teneur en flavonoïdes. (Voir les figures V.12, V.13).

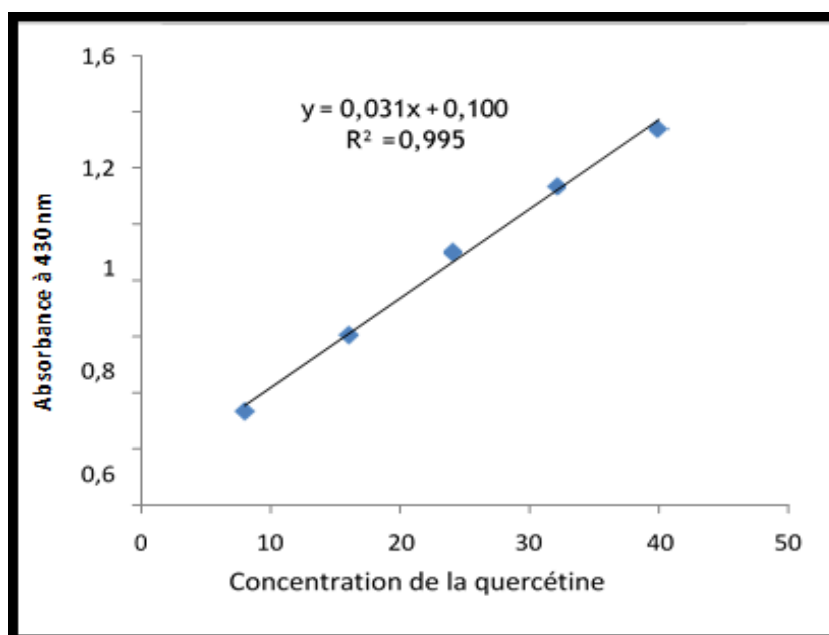


Figure V.12. Droite d'étalonnage de la quercétine

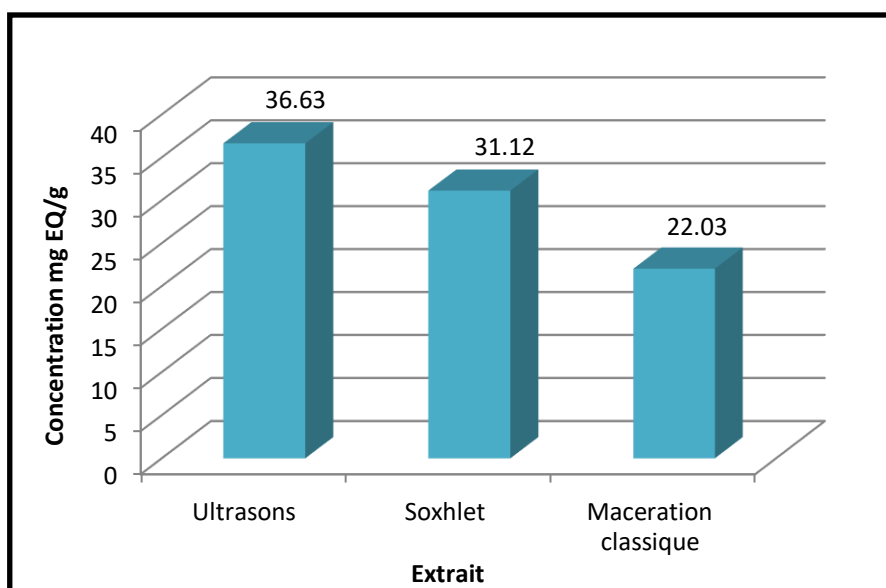


Figure V.13 : Evaluation des flavonoïdes des extraits

V.6. Evaluation de l'activité antioxydante :

Les activités anti-radicalaires des extraits de *Teucrium Polium* vis-à-vis du radical DPPH, A été évaluée spectrophotométrie en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de couleur violette à couleur jaune à 517 nm. L'activité anti- radicalaire des extraits de *Teucrium Polium* est évaluée par la méthode de DPPH en le comparant avec l'acide ascorbique.

L'IC50 est inversement Lié à la capacité anti-oxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydant d'un composé est grande, un exemple de calcul est schématisé dans (l'annexe). Une valeur d'IC50 plus basse indique une plus grande activité antioxydant.

Les valeurs d'IC50 sont calculées, en vue de déterminer les concentrations qui réduisent 50% des radicaux libres. Les IC50 moyenne sont obtenues par la moyenne des CE50 évaluées graphiquement.

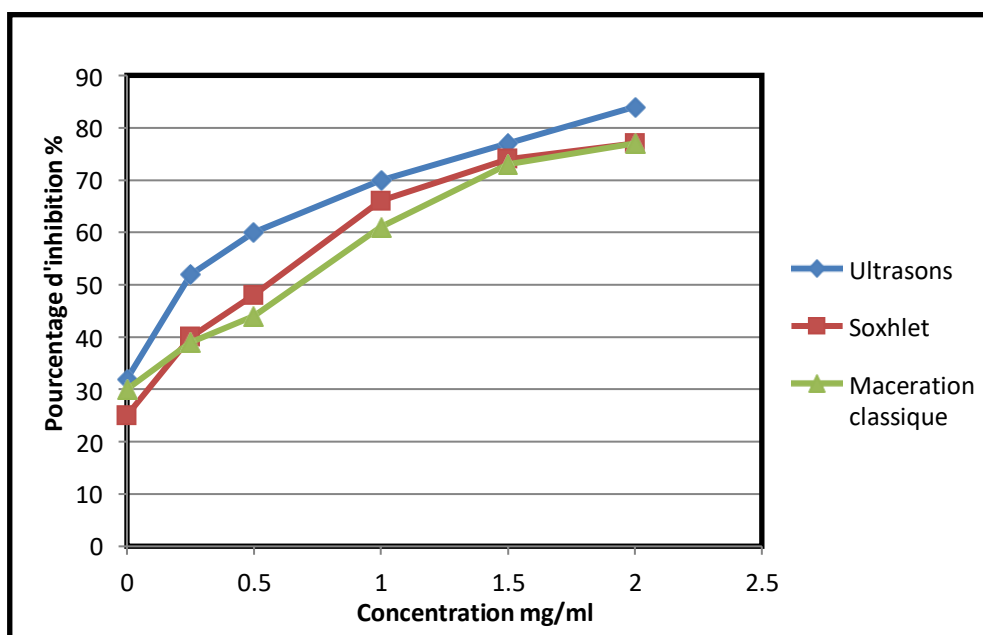


Figure V.14: Activité antioxydant des 3 extraits obtenus par différents méthodes d'extraction

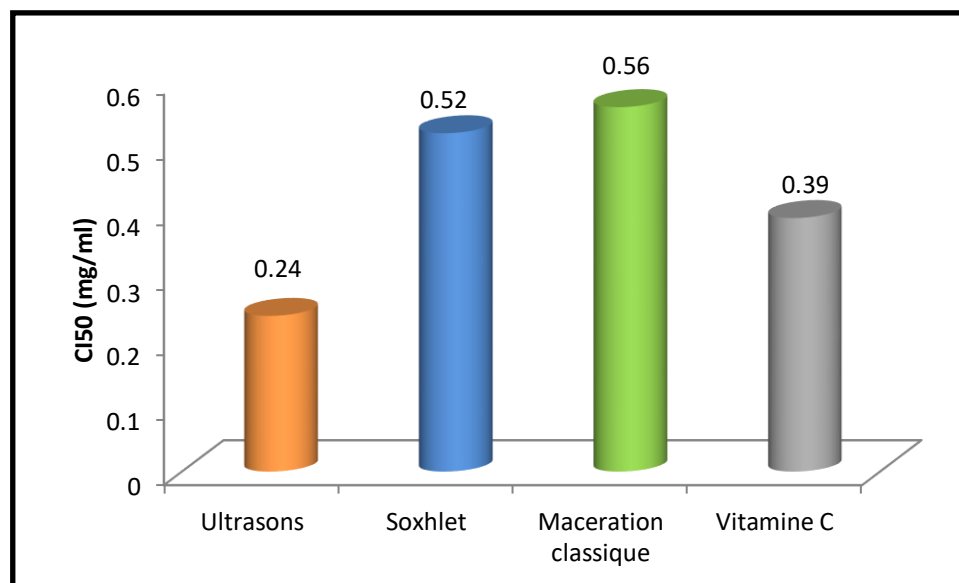


Figure V.15 : Comparaisons d'IC 50 des extraits de *Teucrium Polium* avec L'acide ascorbique (vitamine C)

Les résultats de l'étude comparative sur l'activité antioxydant des extraits obtenus par différentes méthodes d'extraction montrent des variations significatives dans les valeurs d'IC50. L'extrait obtenu par ultrasons présente la plus faible valeur d'IC50 (0,25 mg/ml), indiquant la meilleure activité antioxydant parmi les trois méthodes testées.

Cette efficacité supérieure peut être attribuée à la capacité des ultrasons à libérer efficacement les composés antioxydants de la matrice végétale. En comparaison, l'extrait obtenu par Soxhlet a une valeur d'IC50 de 0,52 mg/mL, ce qui, bien que performant, reste moins efficace que l'extraction par ultrasons.

L'extrait par macération classique a la valeur d'IC50 la plus élevée (0,56 mg/ml), reflétant la plus faible activité antioxydant. Lorsque ces valeurs sont comparées à celle de la vitamine C (0,39 mg/ml), il est évident que l'extrait par ultrasons dépasse même l'activité antioxydant de la vitamine C, tandis que les extraits par Soxhlet et macération classique sont moins efficaces.

Ces résultats soulignent l'importance de la méthode d'extraction utilisée pour maximiser la récupération des composés antioxydants, avec une préférence claire pour l'extraction par ultrasons dans ce contexte.

V.7. Résultats d'analyse Microbiologique :

V.7.1. Activité antimicrobienne :

L'étude in vitro a examiné le pouvoir antimicrobien des extraits de *Teucrium Polium* L en utilisant la méthode de diffusion des disques sur un milieu gélosé solide, tel que le milieu Mueller-Hinton, pour les bactéries. L'activité antimicrobienne des extraits a été évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant les extraits à tester par rapport à différents germes pathogènes.

Les résultats des tests ont révélé des zones d'inhibition significatives pour *Escherichia coli*, *Pseudomonas* et *Streptococcus*, mais aucune zone d'inhibition n'a été observée pour *Staphylococcus*, indiquant l'absence d'activité antibactérienne contre cette souche. Les diamètres moyens des zones d'inhibition sont résumés dans le tableau ci-dessous

Tableau V.3 : Les diamètres des zones d'inhibition

Souche	Diamètre d'inhibition (mm)
Staphylococcus	14
Escherichia coli	17
Pseudomonas	9
Streptococcus	/

Les diamètres d'inhibition observés pour *Escherichia coli*, *Pseudomonas* et *Streptococcus* suggèrent une capacité significative des extraits de *Teucrium polium* L à inhiber la croissance de ces bactéries. Cependant, l'absence de zone d'inhibition pour *Staphylococcus* indique qu'il n'y a pas d'activité antibactérienne contre cette souche.

Ces résultats sont prometteurs car *Escherichia coli* est une bactérie pathogène courante impliquée dans de nombreuses infections gastro-intestinales, tandis que *Pseudomonas* et *Streptococcus* sont associés à diverses infections, y compris les infections des voies cutanées.

Chapitre V : Résultats et discussion

L'activité antibactérienne démontrée par les extraits de *Teucrium polium* L contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas* et *Streptococcus* suggère le potentiel de ces extraits comme source d'agents antimicrobiens naturels.

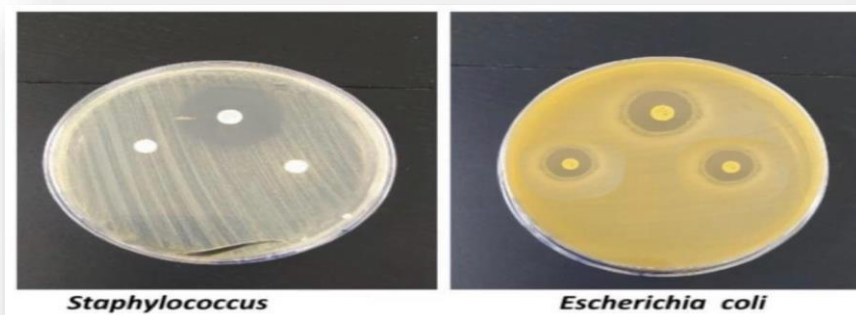












Figure V.16 : Activité antibactérienne des extraits

V.8. Résultats de l'optimisation des formulations des crèmes :

Les résultats de l'optimisation des formulations des crèmes sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau V.4 : Résultats de l'optimisation des formulations des crèmes formulés

Formulation	Formulation 01	Formulation 02	Formulation 03	Formulation 04	Formulation 05
Aspect	 Pâteuse	 Laiteux	 Crème homogène	 Crème homogène	 Pâteuse
Formulation	Formulation 06	Formulation 07	Formulation 08	Formulation 09	Formulation 10
Aspect	 Aspect caillé	 Déphase	 Crème homogène	 Léger	 Crème homogène

V.8.1. Composition optimisée :

- Après l'expérimentation de dix formulations distinctes de crème, les résultats ont révélé que les formulations 3, 4, 8 et 10 se sont avérées être les plus optimisées.
- Toutes les formulations ont été conçues avec une composition de base consistant en 20% d'huile, variant entre 2,5% et 5% d'émulsifiant, et complétées avec de l'eau distillée pour atteindre 100%.
- L'analyse des résultats a montré que les formulations sélectionnées ont présenté des caractéristiques distinctives améliorées, une texture plus agréable.
- Ces constatations suggèrent que les proportions d'huile et d'émulsifiant ont joué un rôle crucial dans la performance des formulations. En effet, une combinaison optimale de ces ingrédients a permis d'obtenir une émulsion stable et homogène, offrant ainsi une meilleure expérience utilisateur.
- Ces découvertes ouvrent la voie à de futures recherches visant à affiner davantage les formulations sélectionnées, ainsi qu'à explorer de nouvelles possibilités pour améliorer encore les performances des produits topiques.

V.9. Caractérisation de la crème :

Les formulations optimisées (3, 4, 8,10) sont respectivement les formulations 1, 2, 3 et 4.

V.9.1. Analyse organoleptique :

Les résultats de l'analyse organoleptique sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau V.5 : Caractère organoleptique de différentes formules

	Formulation 1	Formulation 2	Formulation 3	Formulation 4
Couleur	Beige	Blanc cassé	Blanc cassé	Blanc cassé
Odeur	Odeur de l'arôme	Odeur d'extrait		
Apparence (forme et brillance)	Aspect crémeux homogène épais, onctueux Brillante au toucher doux et soyeux			
Application ou pénétration	Humide, s'étale facilement et rapidement absorbée par la peau			
Après application	Une texture plutôt légère avec une bonne sensation d'hydratations fraîches après étalement			

Chapitre V : Résultats et discussion

L'étude d'analyse macroscopique basée sur une visualisation à l'œil nu a été réalisée. Elle consiste à observer l'aspect des émulsions formulées. Les émulsions formulées (F2, F3 et F4) présentent un aspect crémeux, blanc cassé homogène épais et onctueux, de toucher soyeux et doux et lisse. Sauf l'émulsion F1 qui a une couleur beige .



Figure V.17: Aspect finale de la crème formulée

V.9.2. Examen microscopique :

L'examen microscopique a été réalisé à l'aide d'un microscope optique avec un agrandissement $\times 100$ fois directement après formulation. Pour une meilleure dispersion de l'émulsion, l'échantillon a été placé entre une lame et lamelle. Les observations microscopiques des formulations sont représentées dans la (figure V.9.2).

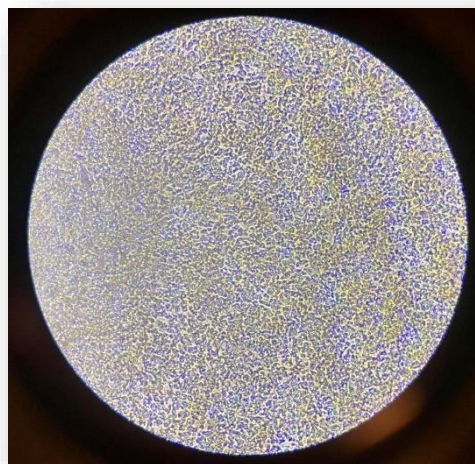


Figure V.18 : Examen microscopique

Chapitre V : Résultats et discussion

L'observation microscopique au grossissement 100 nous a permis d'obtenir la (figureV.18) elle montre que la taille des globules est plus homogène.

V.9.3. Analyses physico-chimiques :

V.9.3.1. Détermination des valeurs du pH :

Les valeurs du pH sont présentes dans le tableau suivant :

Tableau V.6 : Résultats de mesure du pH

	Formulation 1	Formulation 2	Formulation 3	Formulation 4
pH	4,78	5,55	5,47	4,98

Le pH est un paramètre crucial dans la formulation des crèmes cosmétiques, influençant à la fois la stabilité des ingrédients actifs et la tolérance cutanée. La peau humaine possède un pH naturel légèrement acide, généralement compris entre 4,5 et 5,5, ce qui aide à maintenir la barrière protectrice et à prévenir les infections microbiennes.

Les résultats des tests de pH pour les différentes crèmes montrent des valeurs qui se situent toutes dans une plage relativement proche du pH naturel de la peau humaine. La Formule 1 et la Formule 4 sont très proches de la valeur optimale, ce qui indique une bonne compatibilité potentielle avec la peau, aidant à maintenir la barrière cutanée et à prévenir les irritations. La Formule 2 et la Formule 3 sont légèrement plus alcalines, mais restent dans la plage acceptable. Ces valeurs de pH suggèrent que toutes les formules devraient être bien tolérées par la plupart des types de peau. . Globalement, ces résultats indiquent que les crèmes sont formulées pour être compatibles avec le pH naturel de la peau, favorisant ainsi leur efficacité et leur innocuité.

V.9.3.2. Détermination du sens de l'émulsion (H/E ou E/H) :

➤ Par conductivité :

Les résultats de mesure de la conductivité électrique obtenus sont représentés dans le (tableau. V.7.).

Tableau V.7 : Résultats de mesure de la conductivité

	Formulation 1	Formulation 2	Formulation 3	Formulation 4
La conductivité ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	9,8	12,7	10,4	11,8

Lors du test de détermination du sens d'émulsion par la conductivité, les valeurs très faibles observées, variant entre 9,8 et 12,7 ($\mu\text{S}/\text{cm}$), indiquent que les crèmes testées sont de type eau dans l'huile dans l'eau (E/H/E). Cette faible conductivité suggère que la phase continue de ces crèmes est l'huile, tandis que l'eau est dispersée en petites gouttelettes. Cette interprétation directe confirme que les crèmes sont classées comme étant de type E/H/E, ce qui est important pour comprendre leurs propriétés et leur utilisation dans l'industrie des cosmétiques et des soins de la peau.

➤ **Méthode par Dilution :**

Les résultats de la méthode par dilution sont montrés dans la figure :



Figure V.19 : Méthode par dilution

Selon les résultats obtenus, obtenus la crème ne se dissout pas lors du test de dilution dans l'eau indique directement que la crème est de type eau dans l'huile (E/H/E). Cette observation confirme que la phase huileuse de la crème est continue, tandis que l'eau est dispersée en petites gouttelettes. Par conséquent, la crème est hydrophobe et ne se mélange pas avec l'eau, ce qui confirme son sens d'émulsion comme étant (E/H/E). Cette interprétation directe des

résultats du test de dilution fournit une indication claire sur la nature de l'émulsion de la crème, ce qui est essentiel pour comprendre ses propriétés et son utilisation dans divers produits pharmaceutiques.

Dans le cas d'une émulsion de type eau dans l'huile (E/H), où la phase huileuse est continue et l'eau est dispersée en petites gouttelettes, la crème tend à être plus riche et plus nourrissante. Cette texture plus riche peut être plus adaptée à une utilisation comme crème de nuit, car elle offre une hydratation intensive et une réparation de la peau pendant la nuit.

V.9.3.3. Etude de la stabilité par centrifugeuse :

Les résultats de l'étude de stabilité par centrifugeuse sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau V.8 : Etude de la stabilité de différentes formulations préparées

Vitesse de Centrifugation	Formulation 1	Formulation 2	Formulation 3	Formulation 4
1000 tr/min	Stable	Stable	Stable	Stable
3000 tr/min	Légère séparation	Stable	Stable	Stable
6000 tr/min	Légère séparation	Légère séparation	Stable	Stable

Le tableau V.7, montre que toutes les formules préparées sont stables à une vitesse de centrifugation de 3000 tr/min pendant 15 minutes sauf la formule témoin (F1) et seulement les formulations 3 et 4 qui sont stable à une vitesse de 6000 tr/min pendant 15 min. Ces résultats sont également montrés par la figure V.20.

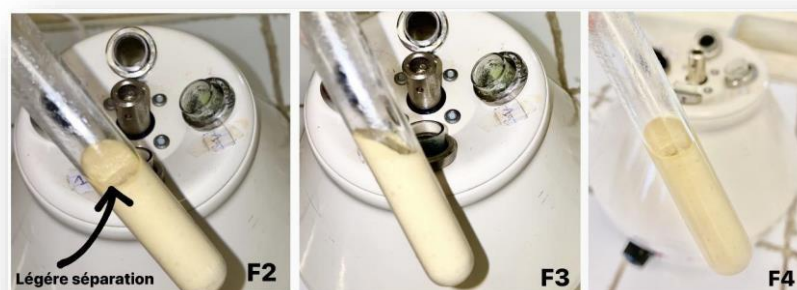


Figure V.20 : Test de stabilité à la centrifugeuse

V.9.3.4. Influence de l'air :

Les résultats des tests de stabilités à l'influence de l'air pour les 4 formulations sont cités dans le tableau suivant :

Tableau V.9 : analyses de stabilités à influence de l'air.

Jour	1 ^{er} jour	2 ^{eme} jour	3 ^{eme} jour	4 ^{eme} jour	5 ^{eme} jour	6 ^{eme} jour	7 ^{eme} jour
Stabilité	stable	stable	Stable	stable	Stable	stable	stable

Après avoir présenté la formule à l'air libre en remarque l'absence de tous zones de contamination par des bactéries ou des champignons et même absence des zones d'oxydation à l'oxygène libre.

V.9.4. Détermination de la capacité d'étalement :

Les résultats de la capacité d'étalement et donc l'application sur le visage est bien ulster dans le tableau IV.3 :

Tableau V.10 : Capacité d'étalement des crèmes.

	Formulation 1	Formulation 2	Formulation 3	Formulation 4
Diamètre (cm)	8,4	7,8	8	8,2
Surface (cm²)	55,38	47,75	50,24	52,78

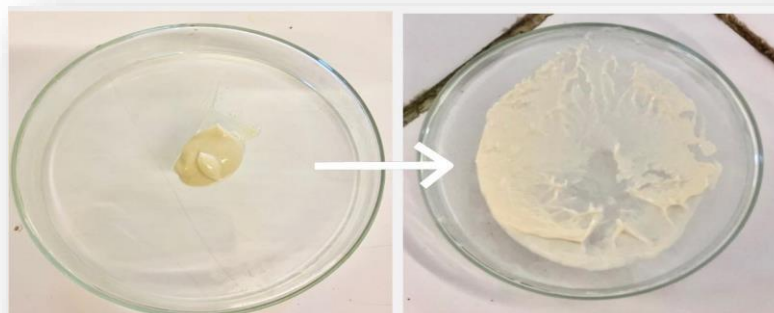


Figure V.21 : Capacité d'étalement de la crème

Les résultats de la détermination de la capacité d'étalement pour les différentes formulations de crème révèlent des variations subtiles mais significatives. Les valeurs de

Chapitre V : Résultats et discussion







surface, variant entre 45,75 et 55,38 centimètres carrés, témoignent de la capacité de chaque formulation à s'étaler uniformément sur une surface donnée. Bien que chaque formulation présente une légère différence dans sa capacité d'étalement, toutes démontrent une cohérence relative avec des performances proches les unes des autres.

Cette constatation suggère une formulation équilibrée et une méthodologie de test précise. Ces résultats offrent des perspectives importantes pour l'évaluation des propriétés d'application des crèmes, mettant en lumière l'importance d'une couverture uniforme pour assurer une efficacité optimale des produits pharmaceutiques.

V.9.5. Etude de l'activité cicatrisante de la crème formule :

Les résultats de l'effet cicatrisant de la crème formule durant les 7 jours sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau V.11: Evaluation des plaies durant les 7 jours de traitement

	Crème cicatrisante 1%	MADECASOL 1%	Témoin
1^{er} Jour			
3^{ème} Jour			



➤ Comparaison avec MADECASOLE 1% (crème de référence) et le témoin :

Les plaies traitées avec la crème à base d'extraits de *Teucrium polium* ont montré une cicatrisation remarquable, presque complète, avec une formation rapide de tissu de granulation. Ce résultat est comparable à celui observé avec MADECASOLE 1%, la crème de référence connue pour ses propriétés cicatrisantes.

En revanche, les plaies du groupe témoin (sans traitement) sont restées ouvertes avec seulement des signes minimes de cicatrisation. Cela souligne l'efficacité significative de la crème formulée par rapport à l'absence de traitement.

➤ Efficacité de la crème formulée :

Les observations indiquent que la crème à base d'extraits de *Teucrium polium* L possède une activité cicatrisante très efficace. Elle favorise la fermeture presque complète des plaies et une formation rapide de tissu de granulation, deux aspects cruciaux pour la cicatrisation rapide et efficace des plaies.

La comparaison directe avec MADECASOLE, qui est déjà bien établie pour ses effets cicatrisants, confirme que la crème formulée est au moins aussi efficace, voire comparable, ce qui est très prometteur pour son application clinique potentielle.

➤ Implications pour la régénération tissulaire :

L'effet observé suggère que les extraits de *Teucrium polium* L utilisés dans la crème jouent un rôle crucial dans la régénération tissulaire et la réparation des plaies. Cela pourrait être dû à leurs propriétés biologiques spécifiques, telles que la stimulation de la prolifération cellulaire, la modulation de la réponse inflammatoire ou la promotion de la vascularisation locale.

Les résultats des analyses ont également confirmé la sécurité du produit, ce qui est essentiel pour son utilisation clinique. Cela indique que la crème formulée à base d'extraits de *Teucrium polium* L peut être une alternative sûre et efficace aux traitements cicatrisants existants.

En conclusion, les résultats de cette étude sont très encourageants et méritent une analyse approfondie et mettent en évidence le potentiel prometteur de la crème formulée à base d'extraits de *Teucrium polium* L en tant que traitement cicatrisant. Ils montrent non seulement son efficacité comparable à celle d'une crème de référence bien établie, mais aussi sa capacité à favoriser une cicatrisation rapide et complète des plaies.

Conclusion générale

Conclusion générale :

La présente étude visait à explorer les vertus thérapeutiques de la plante *Teucrium polium* L, une plante médicinale connue pour ses propriétés bénéfiques en termes de guérison des plaies, en mettant l'accent sur ses applications locales potentielles. Pour atteindre cet objectif, nous avons entrepris une série d'expériences et d'analyses exhaustives afin de mieux comprendre et valoriser les propriétés bioactives de cette plante.

Tout d'abord, nous avons réalisé l'extraction des composés actifs de la plante en utilisant une méthode d'extraction par ultrasons. Cette méthode a été optimisée et comparée avec d'autres techniques d'extraction traditionnelles telles que la macération classique et l'extraction par Soxhlet. Nos résultats ont montré que l'extraction par ultrasons permet d'obtenir un rendement supérieur en termes de quantité et de qualité, avec une valeur de 12,4% par rapport aux techniques traditionnelles (11,8% par Soxhlet et 10,5% par macération classique).

Les extraits obtenus ont ensuite été soumis à une série d'analyses physico-chimiques, biologiques et microbiologiques. Ces analyses ont révélé une concentration élevée en flavonoïdes (36,63 mg EQ/g) et en polyphénols (67,76 mg EAG/g), reconnus pour leurs propriétés antioxydants. L'extrait obtenu par ultrasons a présenté une forte activité antioxydante avec une valeur d'IC₅₀ de 0,24 mg/ml, soulignant son potentiel thérapeutique par rapport aux techniques traditionnelles (0,56 mg/ml pour Soxhlet et 0,52 mg/ml pour la macération classique). De plus, les extraits ont également montré une activité antibactérienne significative, illustrée par un diamètre d'inhibition de 17 mm, renforçant ainsi leur valeur médicinale.

En vue de valoriser ces extraits obtenus, nous avons développé une crème cicatrisante en utilisant les principes actifs issus de la plante. Cette crème a été soumise à une caractérisation approfondie par des analyses physico-chimiques, ainsi qu'à des analyses organoleptiques pour évaluer ses qualités sensorielles. De plus, nous avons évalué l'effet cicatrisant de cette formulation in vivo sur un modèle animal (lapin), avec des résultats prometteurs pour la guérison des plaies.

Conclusion générale

En conclusion, notre étude confirme que la plante *Teucrium polium* L possède des vertus thérapeutiques remarquables, notamment grâce à ses activités antioxydantes et antimicrobiennes. L'application locale sous forme de crème cicatrisante a montré un potentiel significatif pour le traitement des plaies. Ces résultats ouvrent la voie à de futures recherches pour une exploitation plus large de cette plante dans des applications pharmaceutiques, favorisant ainsi une utilisation innovante et bénéfique des plantes médicinales.

*Références
bibliographique*

Références Bibliographiques:

- [1]. Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., & Williamson, E. M. (Eds.). (2012). *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Churchill Livingstone.
- [2]. Fabricant, D. (2007). *The American Herbal Products Association's Botanical Safety Handbook*. CRC Press.
- [3]. Bentchikou, M., & Amara, N. (2012). *Plantes médicinales du Sahara Algérien : Savoirs traditionnels*. Editions APIC.
- [4]. Mahdavi Omran, S., Baradaran, A., Mehrabi, Y., et al. (2020). Pharmacological effects of *Teucrium polium* L. in the treatment of diabetes: A review. *Journal of Endocrinological Investigation*, 43(11), 1519-1528. doi:10.1007/s40618-020-01292-4.
- [5]. Heydari, M., Hashempur, M. H., Shams, M., et al. (2019). *Teucrium polium* in the treatment of metabolic and inflammatory diseases: A review of the evidence. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, Article ID 8938981. doi:10.1155/2019/8938981.
- [6]. Hamel, T. (2018). *Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de l'Edough (nord-est algérien)*. *Ethnopharmacologia*, n°59, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie.
- [7]. Fettah Asma (2019). *Étude phytochimique et évaluation de l'activité biologique (antioxydante - antibactérienne) des extraits de la plante Teucrium polium L. sous-espèce Thymoïdes de la région Beni Souik, Biskra*. Thèse de Doctorat en Chimie, Université Mohamed Khider, wilaya de Biskra, Algérie.
- [8]. OUNIS R et BOUMAZA D. (2018). *Évaluation du contenu phénolique et des activités biologiques de Teucrium polium*. Mémoire de Master, Université L'ARBI BEN MHIDI-OUM EL BOUAGHI.
- [9]. Bitterlich, M., Roupahel, Y., Graefe, J., & Franken, P. (2018). Arbuscular Mycorrhizas: A Promising Component of Plant Production Systems Provided Favorable Conditions for Their Growth. *Frontiers in Plant Science*, 9, 1329. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01329>
- [10]. Rahmouni, F., Saoudi, M., & Rebaï, T. (2021). Therapeutics studies and biological properties of *Teucrium polium* (Lamiaceae). *BioFactors*, 47, 952-963. doi: 10.1002/biof.1782
- [11]. <https://www.aujardin.info/plantes/famille-lamiaceae.php> (22/03/2024)
- [12]. Boudilmi Imene (2021). *Substances Naturelles Végétales Et Activités Biologiques D'une Lamiaceae*. Mémoire de Master en Biotechnologie Végétale, Université Mohamed Boudiaf, M'sila.
- [13]. *Alsagarden : Graines BIO, Plantes Rares & Variétés anciennes*.
- [14]. Couplan, F. (2000). *Dictionnaire étymologie de botanique*. Nestlé (Ed). Luisane. Paris.

Références Bibliographiques

- [15].BELAICHE, F. (2022). Étude phytochimique de la plante *Teucrium polium*. Mémoire de Master en Chimie Pharmaceutique, Université Mohamed Khider de Biskra, Algérie.
- [16].Hammoudi, R., & Hadj Mahammed, M. (2010). Contribution à l'étude de la composition chimique des huiles essentielles de la plante *Teucrium polium* ssp. *geyrii* (Lamiaceae). *Annales des Sciences et Technologie*.
- [17].Adda Fella, & Allami Hind (2020). Études des effets thérapeutiques du *Teucrium polium* L (KHIYATA) et contribution à la formulation d'un hydrogel cicatrisant. Mémoire de Master en Génie des Procédés, Spécialité Pharmacie Industrielle. Université de Blida1.
- [18].MERDJI Khadidja et ZEMMIT Fatima Zahra (2020). Évaluation des propriétés antioxydantes des extraits de *Teucrium polium* L. Mémoire de Master, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, Bordj Bou Arreridj, Algérie.
- [19].MAADI KENZA (2019). Évaluation des propriétés biopharmacologiques de deux plantes sauvages de l'est algérien. Mémoire de Master, Université des Frères Mentouri Constantine, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département de Biologie et Écologie Végétale.
- [20].<https://quelle-est-cette-fleur.com/Fiches-botaniques/Fiche-espece-germandree-poil.php> (23/03/2024)
- [21].Rahmouni, F., Saoudi, M., Rebai, T. (2021). Etudes thérapeutiques et propriétés biologiques du *Teucrium polium* (Lamiaceae). *BioFactors*, 6(2), 952-963. doi: 10.1002/biof.1782
- [22].Chabane Sara (2021). Caractérisation, toxicité et activités biologiques de *Teucrium Polium*. Thèse de doctorat en sciences biologiques, Biotechnologie végétale, Université Mohamed Boudiaf - M'sila.
- [23].Ikram, Mahieddine, et Ouissam Zerroukhat (2020). Encapsulation des extraits de *Teucrium polium* L « Khyata » dans une nanoémulsion : contribution à l'élaboration d'un patch cicatrisant. Mémoire de Master en Génie des Procédés, Spécialité Pharmacie Industrielle, Université de Blida1.
- [24].Beniaiche, Lilia, et Abderrahmane Zerdoudi (2023). Evaluation des propriétés anti-inflammatoires et gastro-protectrices des extraits hydroalcooliques de *Marrubium vulgare* et *Teucrium polium* chez des rats Wistar. Mémoire de Master en Sciences de la Nature et de la Vie, Spécialité Biochimie Appliquée, Université de Constantine.
- [25].Maadi Kenza (2019). Evaluation des propriétés bio-pharmacologiques de deux plantes sauvages de l'est algérien. Mémoire de Master en Biologie et Physiologie de la Reproduction, Université des Frères Mentouri 1, Constantine.
- [26].Maadi Kenza (2019). Evaluation des propriétés bio-pharmacologiques de deux plantes sauvages de l'est algérien. Mémoire de Master en Biologie et Physiologie de la Reproduction, Université des Frères Mentouri 1, Constantine.

Références Bibliographiques

- [27].Seifollah Bahramikia, Razieh Yazdanparast (année non spécifiée). Phytochemistry and Medicinal Properties of *Teucrium polium* L. (Lamiaceae). *Phytotherapy Research*. <https://www.researchgate.net/publication/337719891>
- [28].Benchikha, N., et al. (2022). Evaluation of Possible Antioxidant, Anti-Hyperglycaemic, Anti-Alzheimer and Anti-Inflammatory Effects of *Teucrium polium* Aerial Parts (Lamiaceae). *Life* (Basel), 2022.
- [29].Rasekh, H.R, Khoshnood-Mansourkhani, M.J., Kamalinejad, M. (2001). Hypolipidemic effects of *Teucrium polium* in rats. *Fitoterapia*.
- [30].Ilaghinezhad Bardsiri T, Moayedi S, Nabi Meybodi R, Torbati M, Mokhtari Sorkhani T (2022). Investigation of Antioxidant, Antifungal, Antibacterial, and Anti-inflammatory Effects of *Teucrium polium* on Common Pathogens in Vaginitis: A Review. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 17(4), e128060. <https://doi.org/10.5812/jjnpp-128060>.
- [31].Meguellati H., Ouafi S., Saad S., Djemouai N. (2019).
- [32].Eftekhar, F., & Nariman, F. (2009). Antimicrobial activity of *Teucrium polium* against some clinical pathogens. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*.
- [33].Moallem, S. A., Hosseinzadeh, H., & Farahi, S. (2007). Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Teucrium polium* essential oil and hydroalcoholic extract in animal models. *Journal of Medicinal Plants Research*.
- [34].Pinel, Jacques. "Traitements locaux en dermatologie." *devsante.org*, 1 août 1994, <https://devsante.org/articles/traitements-locaux-en-dermatologie>.
- [35].Ben Saoucha, H. et Lakhenache, S. (2021). La préparation des formes pharmaceutiques destinée à l'application sur la peau à bases d'une plante médicinale [Mémoire de master, Université Mohamed BOUDIAF - M'SILA].
- [36].BOLZINGER, M.-A., BRIANÇON, S., CHEVALIER, Y., & MILLION, M.-E. (2023, March 10). Produits pâteux et mécanismes impliqués. Systèmes pâteux ou préparations semi-solides.
- [37]. "Crème cosmétique saine soin du visage à base de plantes lotion hydratante gros plan." Freepik, https://fr.freepik.com/photos-premium/creme-cosmetique-saine-soin-du-visage-base-plantes-lotion-hydratante-gros-plan_16019112.htm (10/04/2024).
- [38]. Ratisbonne-Zafimahova. (2013). Formulation d'un adjuvant phytosanitaire sous forme d'émulsion et optimisation de la pulvérisation. Thèse de doctorat, Université de Technologie de Compiègne.
- [39].Caullet, Laurine, et al. (2018). "Les émulsions alimentaires et cosmétiques." *Projet Professionnel*, 2017-2018. Tuteur de projet : Florentin Michaux.

Références Bibliographiques

- [40]. Flesinski, Lionel. (2011). Étude de la stabilité des émulsions et de la rhéologie interfaciale des systèmes pétrole brut/eau, influence des asphaltènes et des acides naphthéniques. Thèse de doctorat, Université de Pau et des Pays de l'Adour.
- [41]. Felton, L. (2013). Remington: Essentials of Pharmaceuticals. Philadelphia: Pharmaceutical Press.
- [42].Tatar B.C., Sumnu G., Sahin S. (2017). Rheology of Emulsions. Advances in Food Rheology and Its Applications Chapter 17.
- [43].Pierat, N. (2010). Préparations d'émulsions par inversion de phase induite par agitation.
- [44].Guimberteau F., Dagleish D., Bibette J. M. J. (2001). Emulsion multiple alimentaire composée d'une émulsion primaire inverse dispersée au sein d'une phase continue aqueuse..
- [45].Doumeix O. (2011). Opérations Unitaires En Génie Biologique. Tome 1: Les Émulsions. CRDP d'Aquitaine,.
- [46].Shinodak H. (1967). "The effect of phase volume on the phase inversion température of emulsions stabilized with non-ionic surfactants." Journal of colloid Interface Sciences.
- [47].Ouatas, H. et Mansouri, S. "Développement d'une crème cicatrisante à base de chlorophylle." Mémoire de Master en Chimie pharmaceutique, Université de Médéa, Faculté des Sciences, 2020.
- [48]."90% des cosmétiques sont des émulsions." Journal Esthétique, <https://www.journal-esthetique.ch/journal/90-des-cosmetiques-sont-desemulsions>.(28/03/2024)
- [49].Aiache J.M., Aiache S., et Renoux R. (1995). Initiation à la connaissance des médicaments. Masson, Paris. 2ème édition, p. 2.
- [50].Latoui, K., & Koulougli, B. (2017/2018). Formulation et application d'une crème bio à base des polyphénols extraits à partir de marc de raisin. Mémoire de master en génie des procédés, spécialité pharmacie industrielle, Université de Blida 1.
- [51].Barus, C. "Étude électrochimique de molécules anti-oxydantes et de leur association en milieux homogène et biphasique - Application aux produits dermocosmétiques." Thèse de doctorat, Université de Toulouse, 2008.
- [52].Siessina, T. (2004). Essais de mises au point de formulation de crèmes et laits corporels à base du beurre de karité du Burkina Faso, 2003-2004 [Thèse de doctorat, Université de [Nom de l'Université]].
- [53].Le Hir, A. (1992). Les caractères physico-chimiques. Pharmacie Galénique, éd. 6. Paris: Masson.
- [54].Brown, J., et al. (2023). Advanced Mixing Techniques for Cosmetic Creams. Journal of Cosmetic Science.

Références Bibliographiques

- [55].White, S., et al. (2022). Particle Size Control in Cosmetic Formulations. *Cosmetic Science Journal*.
- [56].Green, C. (2021). Long-term Stability of Cosmetic Formulations. *Journal of Cosmetic Chemistry*.
- [57].Martinez, E., et al. (2022). Effective Mixing Techniques for Active Ingredients in Cosmetics. *Industrial Engineering in Cosmetics*.
- [58].Smith, J., et al. (2021). Innovative Technologies in Cosmetic Cream Manufacturing. *International Journal of Cosmetic Science*.
- [59].Rosano, H.L., et al. (2018). Ultrasound Technology in Cosmetic Cream Production. *Journal of Cosmetic Science*.
- [60].Smith, A. (2023). Advanced Ultrasonic Mixing Techniques in Cosmetic Formulations. *Journal of Cosmetic Science*.
- [61].Johnson, B., et al. (2022). High-Pressure Homogenization Techniques for Cosmetic Creams. *Industrial Engineering in Cosmetics*.
- [62].Lee, D., et al. (2023). Natural and Organic Ingredients in Cosmetics. *Cosmetic Science Journal*, 30(3).
- [63].Taylor, F. (2021). Environmental Sustainability in Cosmetics Manufacturing. *Sustainable Chemistry Journal*.
- [64].Chen, L., et al. (2022). Robotics in Cosmetic Manufacturing. *Industrial Robotics Journal*.
- [65].Wong, K., et al. (2023). Circular Economy Practices in Cosmetic Industry. *Sustainability Journal*.
- [66].Zhang, Q., et al. (2022). AI Applications in Cosmetic Formulation Development. *AI and Machine Learning Journal*.
- [67].Velnar, T., Bailey, T., & Smrkolj, V. (2009). The Wound Healing Process: An Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *Journal of International Medical Research*, 37, 1528. DOI: 10.1177/147323000903700531.
- [68].Battuet, V., & Brischoux, S. (2012). *Actualités Pharmaceutiques*, Volume 51, Issue 518, September 2012, Pages 14-19. [https://doi.org/10.1016/S0515-3700\(12\)71166-7](https://doi.org/10.1016/S0515-3700(12)71166-7)
- [69].Fortin, V. (2005). Étude de régénération de la membrane basilaire au cours de la guérison de plaies cutanées humaines. Université Laval, Canada.
- [70].Chhabra, S., Chhabra, N., Kaur, A., & Gupta, N. (2017). Wound Healing Concepts in Clinical Practice of OMFS. *Journal of maxillofacial and oral surgery*, 16(4), 4033423.
- [71].Le Bronec, M. (2005). Influence des pansements Urgotul® dans la cicatrisation des plaies par seconde intention chez le chien et le chat: étude clinique (Doctoral dissertation).

Références Bibliographiques

- [72].Hé, D. (2006). Bilan des connaissances actuelles sur la cicatrisation des plaies cutanées chez le chien et le chat (PhD Thesis). Paul-Sabatier de Toulouse.
- [73].Institut Main Médipôle Toulouse. (n.d.). Plaies de la main. <https://institut-main-medipole-toulouse.fr/fr/plaies-de-la-main/> (02/04/2024)
- [74].HAS. (2011). Bon usage des technologies médicales. Les pansements. Indications et utilisations recommandées. France.
- [75].Battuet, V., & Brischoux, S. (2012). Les plaies : définitions et étiologie. *Actualités Pharmaceutiques*, 51(518), 14–19.
- [76].Percival, N. J. (2002). Classification of Wounds and their Management. *Surgery (Oxford)*, 20(5), 114–117.
- [77].Lindsay, D. T. (1996). The integument. In J. M. Smith (Ed.), *Functional Human Anatomy* (pp. 345-375). Mosby-Year Book, St. Louis.
- [78].François, A. (2014). Conception et évaluation d'un pansement multicouche antibactérien pour le traitement des plaies chroniques. Thèse de doctorat, Université du Droit et de la Santé de Lille.
- [79].Winter, G. D. (1972). Epidermal regeneration studied in domestic pig. In H. I. Maibach & D. T. Rovee (Eds.), *Epidermal Wound Healing* (pp. 71-113). Year Book Medical Publishing, Chicago.
- [80].Fanny, C. (2009). Fonction et régulation des peptidyl-arginine désiminases dans l'épiderme et au cours de la cicatrisation cutanée. Thèse de doctorat, Université de Toulouse III- Paul Sabatier.
- [81].Doctissimo.(n.d.).Cicatrisation.<https://www.doctissimo.fr/sante/sante-pour-tous/cicatrice/cicatrisation> (10/04/2024)
- [82].Singer, A. J., & Clark, R. A. (1999). Cutaneous wound healing. *New England Journal of Medicine*, 341(10), 738-746. DOI: 10.1056/NEJM199909023411006
- [83].Geoffre, C. S. (2018). Plaies chroniques: des soins dirigés pour une efficacité optimale. Diplôme universitaire infirmier(ère) référent(e) et coordinateur(trice) en Ehpad et en Ssiad. Université Paris Descartes.
- [84].Elsevier. (n.d.). Plaies, cicatrisation et pansements. <https://www.elsevier.com/fr-fr/connect/ifsiiinfirmier/plaies,-cicatrisation-et-pansements> (14/04/2024)
- [85].OUMMAD, A. (2013). Cicatrisation et Plaie Cutanée chez l'Enfant (Thesis No. 230). Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed Y- Soutssi.
- [86].Mahmoud, D. (2015). Effet de différents traitements sur les mécanismes de cicatrisation des plaies cutanées chez le lapin (Mémoire de magister en sciences vétérinaires, option chirurgie des petits animaux). Université de Tiaret.

Références Bibliographiques

- [87]. Ouatas, H., & Mansouri, S. (2020). Développement d'une crème cicatrisante à base de chlorophylle. Mémoire de master, Spécialité: Chimie pharmaceutique, Faculté des Sciences, Université de Médéa.
- [88]. Bashi, D. S., Mortazavi, S. A., Rezaei, K., Rajaei, A., & Karimkhani, M. M. (2012). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Yarrow (*Achillea beibrestinii*) by response surface methodology. *Food Science and Biotechnology*.
- [89]. Shirsath, S., Sonawane, S., & Gogate, P. (2012). Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations—A review of current status. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*.
- [90]. Routray, W., & Orsat, V. (2012). Microwave-assisted extraction of flavonoids: a review. *Food and Bioprocess Technology*.
- [91]. Fazila, Z., Jen-Kit, T., Siti Munirah, M.-F., Mohd Basyaruddin, A., & Siti, E. A. (2021). Ultrasound-assisted extraction conditions optimisation using response surface methodology from *Mitragyna speciosa* (Korth.) Havil leaves. *Ultrasonics Sonochemistry*.
- [92]. Galvan, D., Kriaa, L., Nikov, K., & Dimitrov, I. K. (2012). Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. *Purification Technologie*.
- [93]. Nelly, M.-T., Ayora-Talavera, T., Hugo, E.-A., Angeles, S.-C., & Neith, P. (2017). Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources. *Agronomy*.
- [94]. Makino, R., Ohara, S., & Hashida, K. (2009). Efficient extraction of polyphenolics from the bark of tropical tree species. *Journal of Tropical Forest Science*.
- [95]. Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*.
- [96]. George, S., Brat, P., Alter, P., & Amiot, M.-J. (2005). Rapid determination of polyphenols and vitamin C in plant derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- [97]. Benhammou, N., Atik Bekkara, F., & Panovska, K. T. (2007). Antiradical capacity of the phenolic compounds of *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* Desf. *Advances in Food Science*.
- [98]. Thomas, M. (2011). Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë rhamnoides*). Thèse de doctorat en chimie analytique-Phytochimie, Université d'Orléans.
- [99]. Schmitz, R., Meier, M., & Zenobi, R. (2005). *Modern Techniques for the Characterization of Natural Products*. Wiley-VCH.
- [100]. Moussa-Ayoub, T. E., El-Nemr, S. E., & Saber, F. R. (2018). Extraction, Identification, and Biological Activities of Flavonoids from *Citrus sinensis*. *Journal of Chemistry*, 2018, 1-7. doi:10.1155/2018/2096014.

Références Bibliographiques

- [101]. Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2013). *Fundamentals of Analytical Chemistry* (9th ed.). Brooks/Cole Cengage Learning.
- [102]. Griffiths, P., & de Haseth, J. A. (2007). *Fourier Transform Infrared Spectrometry* (2nd ed.). Wiley-Blackwell.
- [103]. Fan, H., Xiao, H., Zhang, Y., & Qi, L. (2020). Recent advances in FTIR spectroscopy for the analysis of traditional Chinese medicine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 189, 113447. doi:10.1016/j.jpba.2020.113447.
- [104]. Silverstein, R. M., Webster, F. X., & Kiemle, D. J. (2014). *Spectrometric Identification of Organic Compounds* (8th ed.). Wiley.
- [105]. NOLLET, L. M. L., & TOLDRA, F. (Eds.). (2013). *Food Analysis by HPLC, Third Edition*. CRC Press. Taylor & Francis Group, London.
- [106]. Hammoudi, R. (2009). Contribution à la mise en évidence de principes actifs de plante *Teucrium polium geyrii* provenant de la région Tamanrasset. Mémoire Magister. Université Kasdi Merbah-Ouargla.
- [107]. Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*.
- [108]. Kim, D. O., Chun, O. K., Kim, Y. J., Moon, H. Y., & Lee, C. Y. (2003). Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- [109]. Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. *Food Chemistry*.
- [110]. Asadi, S., Ahmadiani, A., Esmaeili, M. A., Sonboli, A., Ansari, N., & Hodaghali, F. (2010). In vitro antioxidant activities and an investigation of neuroprotection by six *Salvia* species from Iran: A comparative study. *Food and Chemical Toxicology*.
- [111]. Wang, S. Y., Wu, J. H., Shyur, L. F., Kuo, Y. H., & Chang, S. T. (2002). Antioxidant activity of abietane-type diterpenes from heartwood of *Taiwania cryptomerioides* Hayata. *Holzforschung*.
- [112]. Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., Goran, A., & Igic, R. (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (*Allium sativum* L., Alliaceae). *Food Chemistry*.
- [113]. Hatano, T., Kagawa, H., & Yasuhara, T. (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: Their relative astringency and radical scavenging effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*.

Références Bibliographiques

- [114]. Quezel, P., & Santa, S. (1962). Nouvelle Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome 1. Paris.
- [115]. Guérin-Faublée, V., & Carret, G. (1999). L'antibiogramme: principes, méthodologie, intérêt et limites. Journées nationales GTV-INRA.
- [116]. Celiktas, O. Y., Hames Kocabas, E. E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T., & Baser, K. H. C. (2007). Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*.
- [117]. Adesokan, A. A., Akanji, M. A., & Yakubu, M. T. (2007). Antibacterial potentials of aqueous extract of *Enantia chlorantha* stem bark. *African Journal of Biotechnology*.
- [118]. Henry, N. L. H., Le Houérou, H. N. (2001). Biogeography of the arid steppeland north of the Sahara. *Journal of Arid Environments*.
- [119]. Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., et al. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT - Food Science and Technology*.
- [120]. Jorgensen, J. H., Turnidge, J. D., & Washington, J. A. (1999). Antibacterial susceptibility tests: dilution and disk diffusion methods. In P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Tenover, & R. H. Tenover (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (7th ed.). American Society for Microbiology.
- [121]. Tournier, C., et al. (2018). Influence of fat content and viscosity on sensory perception and consumer liking of dairy cream. *Journal of Dairy Science*, 101(3), 1780-1793. doi:10.3168/jds.2017-13225.
- [122]. Müller, R. H., & Keck, C. M. (Eds.). (2012). *Nanocosmetics and nanomedicines: New approaches for skin care*. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- [123]. Rasnani, N. M., Mirhosseini, H., Sham Bin Baharin, B., & Chin, P. T. (2011). Effect of pH on physicochemical properties and stability of sodium caseinate-pectin stabilized emulsion. *Journal of Food, Agriculture & Environment*.
- [124]. Marty, J., & Guy, R. (1996). *Les formes topiques* (chap. 18, p. 466). Londres, New York: Editions.
- [125]. Le Hir, A. (1992). *Pharmacie galénique* (6ème édition). Paris: Masson, p. 377.
- [126]. Amrouche, F. (2019). L'émulsification: la fabrication d'émulsion. *Génie Alimentaire*.
- [127]. Naveed, T., Aslam, R., Khan, S. A., Zahid, M., & Amir, S. (2018). Formulation and evaluation of herbal gel for its spreadability, extrudability, pH, and viscosity. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 9(1), 24-29. doi:10.4103/japtr.JAPTR_282_17.
- [128]. Gupta, A., Keshri, L., & Pathak, K. (2012). Evaluation of wound healing activity of extracts of plantain banana (*Musa sapientum* var. *paradisiaca*) in rats. *Indian Journal of Experimental Biology*, 50(5), 332-337.

Annexe

Annexe 1 : Calcul du taux d'humidité

- Masse de l'échantillon avant le séchage $m_1 = 2$ g
- Masse de l'échantillon après le séchage $m_2 = 1,82$ g

$$H\% = \frac{2 - 1,82}{2} \times 100 = 9\%$$

Annexe 2 : Résultats du Rendement en fonction du diamètre de la plante

Diamètre de la plante	Masse de l'extrait sec (g)	Rendement%
Les feuilles	0,27	2,7
2mm	1,24	12,4
1mm	0,87	8,7

Annexe 3 : Résultats du Rendement en fonction du temps

Temps (min)	Masse de l'extrait sec (g)	Rendement%
5	0,26	2,6
10	0,68	6,8
15	0,74	7,4
20	0,88	8,8
25	1,07	10,7
30	1,24	12,4
35	1,1	11

Annexe 4 : Résultats du Rendement en fonction du concentration du solvant

Concentration du solvant	Masse de l'extrait sec (g)	Rendement%
50%	0,62	6,2
60%	1,24	12,4
70%	1,04	10,4
80%	1,12	11,2

Annexe 5 : Résultats du Rendement en fonction du Rapport masse/volume

Rapport masse/volume	Masse de l'extrait sec (g)	Rendement%
0,05	0,87	8,7
0,1	1,24	12,4
0,2	1,13	11,3
0,3	1,07	10,7

Annexe 6 : Résultats du Rendement en fonction du méthode d'extraction

Méthode d'extraction	Masse de l'extrait sec (g)	Rendement%
Ultrasons	1,24	12,4
Soxhlet	1,18	11,8
Macération classique	1,05	10,5

Annexe 7 : Valeurs d' IC50 de différents extraits étudié

Extraits	Valeurs de (IC 50 en mg/ml)
Ultrasons	0,24
Soxhlet	0,52
Macération classique	0,56
Vitamine C	0,39

Annexe 8 : Pourcentage d'inhibition des extraits

Concentration mg/ml	Ultrasons	Soxhlet	Macération classique
0	32,6	25,40	30,24
0,25	52,55	40,67	39,43
0,5	60, 3	48,23	44,36
1,5	70	66,03	61,03
2	77,8	74,54	73,34
2,5	84,2	77,89	77,28