

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITÉ BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GÉNIE DES PROCÉDÉS

Spécialité : Pharmacie industrielle

Intitulé du mémoire

**Extraction de la xanthotoxine et son utilisation
dans un émulsion solaire**

Présenté par :

Daoud Hamida
Zamime Sarah

Encadré par :

Boutoumi Hocine
Drioueche Asma

Année universitaire 2020/2021

Remerciements

*On tient tout d'abord à remercier l'ensemble des membres des jurys, notamment madame **HADJ ZIANE**, responsable de formation, pour nous avoir fait l'honneur de juger notre travail de mémoire de fin d'étude.*

*A notre promoteur, encadreur du mémoire, **Pr BOUTOUMI HOCINE**,
Votre amour pour le travail bien fait, votre compétence et votre désir de valoriser la profession, nous ont guidées vers vous, pour solliciter votre encadrement.
Nous souhaitons vous remercier, avant tout, pour votre patience, simplicité, constant disponibilité, suivi permanent et surtout vos judicieux conseils qui ont contribué à alimenter notre réflexion. Votre rigueur, vos qualités professionnelles et humaines qui nous servent d'exemples, ont suscité une grande admiration et un profond respect.
Veuillez croire, chère professeur à l'expression de notre véritable considération et entière gratitude.*

*A madame **DRIOUECHE ASMA**, merci de nous avoir donné le privilège de travailler avec vous et de réaliser ce travail. On vous remercie de votre soutien, de votre engagement et la confiance que vous nous avez accordée. Votre motivation et votre bienveillance nous ont été d'une aide précieuse. Votre orientation et soutient nous ont énormément impressionnées*

*On souhaite évidemment aussi remercier **Mme CHIKH HAYET**, pour le partage de ses connaissances, expériences et pour son professionnalisme dans ce domaine, tout en nous accordant son grand soutien, encouragements. Merci pour le temps consacré à nous aider et guider. Veuillez accepter, dans ce travail l'assurance de notre profonde reconnaissance et notre profond respect.*

*Nous remercions également toute l'équipe et le personnel du Laboratoire de génie chimique, Laboratoire de génie des matériaux, Laboratoire d'analytique, Laboratoire 340 des analyses physico-chimique ainsi que les ingénieurs de laboratoires : **Nabil, Karima...**
Pour leur bienveillance et simplicité avec lesquelles ils nous ont accueillis, ils nous ont fourni les outils et les équipements nécessaires à la réussite de la partie expérimentale du travail présenté dans ce mémoire.*

Dédicace

Je dédie ce travail accompagné d'un profond amour

A mes très chers parents,

Je ne saurais point les remercier comme il se doit, leur soutien, leur sacrifice, leur prières et leur présence à mes côtés a toujours été ma source de force et d'inspiration. Leur confiance en moi m'encourage à donner le meilleur de moi-même et d'affronter les différents obstacles de la vie.

A ma sœur bien aimée,

Ma sœur, ma copine et ma confidente, merci pour tout le soutien et l'amour que tu me donne au quotidien, tes conseils et encouragement son d'une aide précieuse pour moi. Je te souhaite que du bonheur et du succès dans ta vie.

Ainsi qu'

A ma famille la plus proche

A mes chers cousins cousines

Depuis toute petite, j'ai toujours baigné dans un environnement de savoir vivre, de partage, d'ouverture d'esprit et de valeurs qui n'ont pas de prix. Sachez que vous êtes un exemple pour moi.

En souvenir d'agréables moments passés je dédie ce travail a toutes les personnes que j'ai pu rencontrer et nouer des liens d'amitiés au sein du laboratoire et même durant mon parcours car les personnes et les gestes nous marquent a vie.

Zamime Sarah

Dédicace

Je dédie ce travail accompagné d'un profond amour

A mes très chers parents,

A ma maman SOUAD, A mon papa HABIB,

Votre prière et votre bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, Le Tout Puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.

A mes frères YASSER, SALAH ELDDIN et ZAKARIA,

Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité. Je vous exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.

A mes sœurs BOUCHRA et MERIEM,

Merci pour tout le soutien et l'amour que vous me donnez au quotidien, vos conseils et encouragement son d'une aide précieuse pour moi. Je vous souhaite que du bonheur et du succès dans votre vie.

A tous les membres de ma famille, petits et grands,

A mes chers cousins cousines

J'aimerais bien dédier ce travail pour mon cher grand père ABDELAZIZ ZOUBIR, il était une vraie source d'inspiration et de motivation pour toute la famille

A mes chères ami(e)s

En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

HAMIDA DAOUD...

RESUME

Nous avons procédé à l'extraction des furocoumarines, des substances actives présentes dans la rue des montagnes par Soxhlet à partir de 3 sources différentes (de Tissemsilt, de Jijel et un mélange de chez l'herboriste).

Les résultats obtenus durant notre travail expérimental ont montré que la rue des montagnes de chez l'herboriste, celle qui est riche en graine, possède le rendement le plus élevé de 0.33%. Le produit obtenu a été identifié par différentes méthodes de caractérisation. Ce dernier a été caractérisé par un large spectre d'absorption dans l'UVA et l'UVB, ce qui justifie sa photosensibilisation et qui peut être utilisée comme filtre UV dans la préparation des produits solaires. La substance active obtenue est la xanthotoxine.

Cette dernière est soluble dans un solvant dit DMSO qui est aprotique polaire avec un mélange d'un autre solvant protique polaire qui est l'éthanol. L'émulgel solaire est la forme la plus stable avec un indice de protection (SPF)26.

ABSTRACT

Herbal medicine represents an invaluable potential of active therapeutic substances. We proceeded with the extraction of furocoumarins, active substances present in the *Rutamontana* by Soxhlet from 3 different sources (Tissemsilt, Jijel and a mixture from the herbalist).

The results obtained during our experimental work showed that the herbalist's *Rutamontana*, the one that is rich in seeds, has the highest yield of 0.33%. The product obtained was identified by different characterization methods. The latter has been characterized by a broad absorption spectrum in UVA and UVB, which justifies its photosensitization and which can be used as a UV filter in the preparation of sun products. The active substance obtained is xanthotoxin.

The latter is soluble in a solvent called DMSO which is polar aprotic with a mixture of another polar protic solvent which is ethanol.

Sun Emulgel is the most stable form with a sun protection factor 26.

ملخص

يمثل طب الاعشاب امكانية قيمة للمواد العلاجية النشطة.

لقد قمنا باستخراج الفوروكومارينات ، و هي نشطة موجودة في الروتامونتانا بواسطة جهاز موكهيلت من مصادر مختلفة (تيسمسيلت جيجل و الخليط من العشاب).

و اظهرت النتائج التي تم التوصل اليها اثناء عملنا التجريبي ان الروتامونتانا الموجودة في الاعشاب الغنية بالبذور يتمتع بأعلى نسبة من الغلة بلغت 0.33 % و تم تحديد المنتج من اجل الحصول عليه بطرق مختلفة لتحديد الخصائص. و قد اتسم هذا الاخير بطيف امتصاص واسع النطاق في الاشعة فوق البنفسجية ، مما يبرر تحسيسه الضوئي و يمكن استخدامه كمرشح للأشعة فوق البنفسجية في تحضير منتجات الشمس. المادة النشطة التي تم الحصول عليها هي " الكزونتوتوكسين " قابل للذوبان في مذيب يسمى DMSO.

LISTE DES FIGURES

Figure I.1. Structure chimique des coumarines	3
Figure I.2. Classification des dérivés des coumarines	4
Figure I.3. Structure chimique de certaines furocoumarines linéaires et angulaires	4
Figure I.4. La Rue des montagnes	8
Figure I.5. Photophyodermatoses chez des patients ayant été en contact ou ayant ingéré des furocoumarines et s'étant exposés au soleil	10
Figure II.1. Structure de la peau	12
Figure II.2. Différentes formes de produits de protection solaire	24
Figure III.1. Représentation de l'extracteur Soxhlet	29
Figure III.2. Extrait qui contient les furocoumarines en suspension	30
Figure III.3. Elimination du solvant « éther de pétrole » par le rotavapeur	31
Figure III.4. Etapes de purification des furocoumarines	32
Figure IV.1. Spectre d'absorption UV de la xanthotoxine «Ruta montana de Tissemsilt »	41
Figure IV.2. Spectre d'absorption UV de la xanthotoxine « <i>Ruta montana</i> de Jijel »	42
Figure IV.3. Spectre d'absorption UV de la xanthotoxine «Rutamontana de chez « l'herboriste »	42
Figure IV.4. Spectre IR de la xanthotoxine	43
Figure IV.5. La structure chimique de la xanthotoxine	43
Figure IV.6. Résultat du test de centrifugation de la crème placebo	44
Figure IV.7. Instabilité de la crème solaire	45
Figure IV.8. L'émulgel placebo	46
Figure IV.9. Résultat du test de centrifugation de l'émulgel placebo	46
Figure IV.10. Emulgel solaire	47

Figure IV.11. Le résultat du test de centrifugation de l'émulgel solaire	47
Figure IV.12. La représentation de l'émulgel solaire par microscope optique	48
Figure IV.13. La courbe d'écoulement de l'émulgel.....	49
Figure IV.14. Comportement viscoélastique des émulgels	50

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1. Structures chimiques et propriétés physico-chimiques des furocoumarines.....	5
Tableau II.1. Classification des phototypes et leur réaction aux ultraviolets	14
Tableau II.2. Valeurs du produit (EE x I) utilisé dans le calcul du SPF.....	17
Tableau II.3. Filtres chimiques organiques les plus utilisées	19
Tableau II.4. Filtres minéraux	20
Tableau II.5. Excipients utilisés dans les produits de protections solaires	21
Tableau III.1. Les différentes sources de la rue des montagnes	26
Tableau III.2. Solvants utilisés dans l'extraction et la purification des furocoumarines	27
Tableau III.3. Matières premières de la formulation	28
Tableau III.4. Formulations des crèmes (placebo et solaire).....	35
Tableau III.5. Formulations des émulsions (placebo et solaire).....	36
Tableau IV.1. Propriétés organoleptiques des furocoumarines	39
Tableau IV.2. Rendement des furocoumarines pures	40
Tableau IV.3. Les résultats de l'UV de l'émulsion solaire.....	51
Tableau IV.4. Les concentrations de certains filtres organiques dans les produits solaires.....	52

SOMMAIRE

Partie bibliographique

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

CHAPITRE I

LES FUROCOUMARINES

I. 1. Introduction.....	3
I.2 Les furocoumarines.....	4
I.2.1. Structures chimiques et propriétés physico-chimiques des furocoumarines.....	5
I.2.2. Sources végétales des furocoumarines.....	7
I.3. Présentation de la rue des montagnes, plante productrice des furocoumarines et objet de notre étude	8
I.3. Propriétés pharmacologiques des furocoumarines.....	9
I.3.1. Photooxydation et photolyse.....	9
I.3.2. Photoactivation et photocycloadditions	9
I.3.3. Toxicité des furocoumarines.....	10
I.4. Utilisation des furocoumarines dans les produits de protection solaire	11

CHAPITE II

PROTECTION SOLAIRE DE LA PEAU ET INDICE DE PROTECTION

II.1. Structure physiologique de la peau	12
II.2. Pouvoir autoprotecteur de la peau	13
II.3. Effets du soleil sur la peau	13
II.4. Classification des phototypes	14
II.5. Produits de protections solaires	15
II.5.1. Indice de protection (SPF).....	16
II.5.2. Caractéristiques idéales d'un produit de protection solaire.....	18

II.5.3. Composition des produits de protection solaire	18
II.6. Forme semi-solide émulsion	24
II.5.4. Choix de la forme de protection solaire	25

CHAPITRE III

MATERIELS ET METHODES

Matériels	26
III.1.1 Matériel végétal	26
III.1.2 Matériel chimique.....	26
III.1.3 Matières premières de la formulation.....	27
III.2 Méthodes	29
III.2.1.1 Méthode d'extraction (solide-liquide) par Soxhlet.....	29
III.2.1.2 Elimination du solvant.....	31
III.2.1.3 Purification	32
Identification et caractérisation des furocoumarines.....	33
a. Point de fusion	33
b. La spectrophotométrie UV	33
c. La spectrophotométrie infrarouge.....	34
III.2.2.1 Formulation.....	34
III.2.2.2 Etude de stabilité.....	36
a. Mesure de pH... ..	36
b. Microscope Optique	37
c. Centrifugation.....	37
d. Test de rhéologie	37
III.2.2.3 Détermination du SPF de l'émulsion solaire.....	37

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS

IV.1.1	Caractérisations physiques des furocoumarines	39
a.	Propriétés organoleptiques	39
b.	Rendement des furocoumarines.....	39
c.	Le point de fusion	41
IV.1.2.	Caractérisation chimique des furocoumarines «la xanthoxine »	41
a.	La spectrophotométrie UV-visible	41
b.	Spectrophotométrie infrarouge	43
IV.2	Formulation.....	44
IV.2.1	La crème placebo	44
a.	Caractérisation organoleptique.....	44
b.	Le test de centrifugation	44
IV.2.2	La crème solaire	45
IV.2.3	L'émulgel placebo	45
a.	Caractérisation organoleptique.....	45
b.	Test de centrifugation.....	46
IV.2.4.	L'émulgel solaire	46
a.	Caractérisation organoleptique.....	46
b.	Test de centrifugation	47
c.	La mesure du pH	47
d.	Microscope Optique	48
e.	Test de rhéologie	48
	• Test d'écoulement	48
	• Test de viscoélasticité.....	49
f.	Calcul du SPF de l'émulgel solaire	50

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Tous les êtres vivants sur la planète sont naturellement exposés à la lumière du soleil. Parmi les spectres électromagnétiques du soleil, le rayonnement UV a la plus haute énergie parmi les rayonnements atteignant le sol. L'être humain est plus exposé aux rayonnements UV nocifs, particulièrement pendant la saison estivale et dans les zones tropicales.

Ces rayonnements sont également connus comme une cause de mélanome malin cutané, responsable de certains cas de cancer dont la croissance est la plus rapide. En effet, chaque année, environ un million de personnes reçoivent un diagnostic de cancer de la peau, et environ 10 000 meurent d'un mélanome malin. La plupart des cancers de la peau surviennent sur les zones du corps les plus fréquemment exposées au soleil, telles que le visage, le cou, la tête et le dos des mains.

Les rayonnements UV ont tendance à accumuler des effets indésirables au fil du temps, et des changements notables sont observés sur la peau grâce à des processus de vieillissement accélérés. Les UV induisent un dysfonctionnement des systèmes de protection du corps, tels qu'une inflammation accrue, une diminution des fonctions de réparation des tissus et de graves dommages de l'ADN cutanée, ce qui augmente la survenue de cancers de la peau.

En raison de ces méfaits, des substances de protection solaire sont maintenant incorporées dans les produits cosmétiques de tous les jours, tels que les crèmes, les lotions, les mousses et autres préparations pour la peau. L'utilisation régulière de ces produits peut aider à réduire les risques d'effets nocifs des rayonnements ultraviolets. Cependant, il est nécessaire qu'une substance de protection solaire très efficace soit utilisée quotidiennement.

Il existe différents types de protections solaires: crèmes, lotions, laits, émulsions, huiles, sprays, etc., mais quelle que soit leur forme, ils n'ont qu'un but : éviter le « coup de soleil ». Pour cela, ils contiennent des filtres qui protègent la peau des rayons ultraviolets (UV). L'indice de protection renseigne sur leur degré de photo protection.

Les filtres solaires peuvent être de nature chimique organique ou bien minérale, Ils fonctionnent en arrêtant les rayons UV, soit par absorption, ou par réflexion. Ces filtres sont des substances synthétiques absentes dans le milieu naturel et sont produites artificiellement par un ensemble de réaction. Ils ont donc des inconvénients qui se font de plus en plus remarquer, comme leurs impacts et toxicités sur l'environnement, la provocation

d'irritations et d'allergies cutanées (réactions photo allergiques) et des perturbations hormonales, relevées par une étude américaine effectuée en 2011.

Pour toutes ces raisons, il ne faut pas hésiter à lancer de nouvelles recherches afin de trouver des filtres solaires naturels biodégradables à partir de ressources végétales renouvelables. C'est justement le but de notre étude dans laquelle nous nous intéressons à des substances appelées furocoumarines, réputées pour leur action anti UV, d'après la littérature.

Les furocoumarines sont extraites d'une plante appelée rue des montagnes. Notre objectif est de répondre à deux problématiques majeures : vérifier l'activité protectrice des furocoumarines contre les radiations UV, et tenter de les incorporer dans une formulation semi-solide pour pouvoir les utiliser.

Pour traiter ces deux problématiques, notre travail s'est déroulé en deux étapes : d'abord une extraction et une caractérisation des furocoumarines, puis la formulation d'une forme semi-solide à base de furocoumarines. Pour la formulation, nous avons mené une étude de pré formulation justifiant les choix des composants et du contenant.

CHAPITRE I

LES FUROCOUMARINES

I. 1. Introduction

Les coumarines sont des substances naturelles dont la structure comporte un noyau benzo-a pyrone (coumarine) résultant de la lactonisation de l'acide ortho-hydroxy-cis cinnamique. À ce noyau peuvent s'ajouter différents groupements chimiques à l'origine de quatre types de coumarines [1].

Les coumarines tirent leur nom de (coumarou), nom vernaculaire de la fève tonka (*Dipteryx Willd.*, Fabaceae), d'où fut isolée, en 1820, la coumarine.

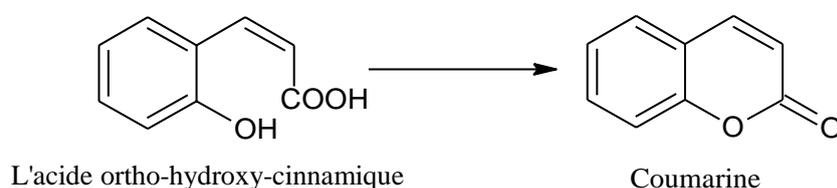


Figure I.1. Structure chimique des coumarines

Il existe différentes classifications pour les dérivés de la coumarine. Généralement, ils peuvent être chimiquement classés selon les noyaux les plus courants : coumarines simples, coumarines complexes, et diverses coumarines [2].

Les coumarines plus complexes sont généralement fusionnées avec d'autres hétérocycles. Par conséquent, ils peuvent être classés comme : coumarines simples, furocoumarines, dihydrofurocoumarines, pyranocoumarines (linéaires et angulaires), phénylcoumarines et biscoumarines [2].

Leur spectre UV est caractéristique et sert à leur identification (à 300 nm).

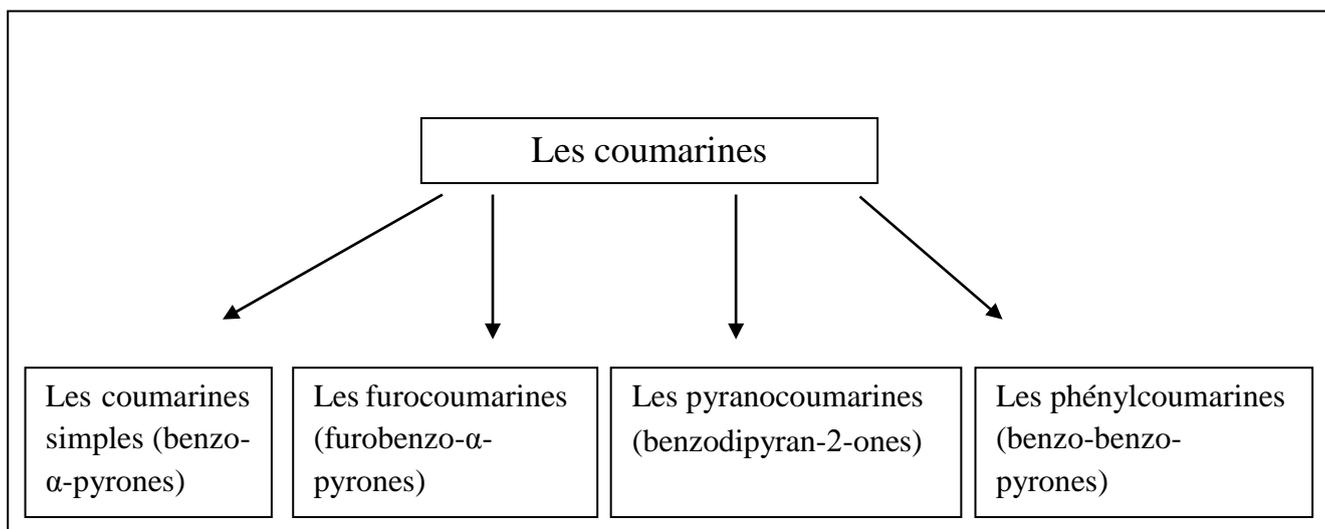


Figure I.2. Classification des dérivés des coumarines [55]

I.2 Les furocoumarines

Les furocoumarines (ou furanocoumarines) sont des molécules issues du métabolisme secondaire des plantes appartenant à la famille des phénylproanoïdes. Ces molécules résultent de la condensation de deux hétérocycles : coumarines (benzo- α -pyrone) et furanes. Cette structure tricyclique est caractérisée par la position du cycle furane qui permet de distinguer deux types de furocoumarines : les furocoumarines linéaires (en position 6 et 7) ou angulaires (en position 7 et 8) (Figure3). De plus, la présence de différents groupements hydroxyle, alkyle et méthoxyle sur les hétérocycles, confèrent un large panel de molécules différentes à cette famille [5,1].

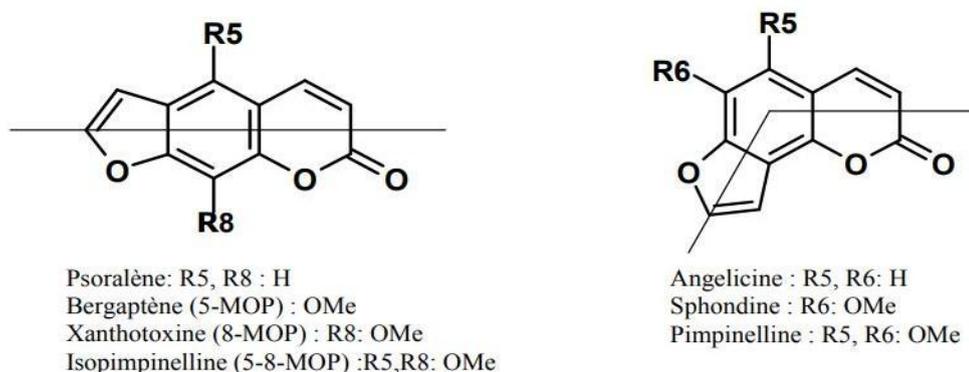


Figure I.3. Structure chimique de certaines furocoumarines linéaires et angulaires

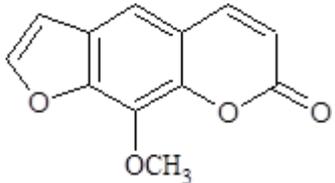
Les cycles aromatiques constituant ces molécules confèrent à celle-ci une forte absorbance des longueurs d'onde comprises entre 250 et 320 nm.

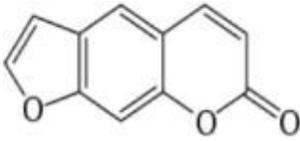
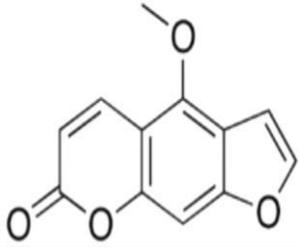
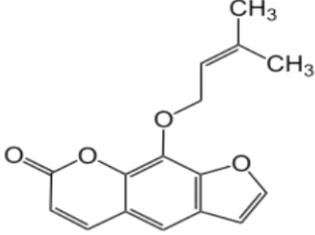
Ces molécules présentent une meilleure solubilité dans les solvants aprotiques apolaires, tels que le chloroforme, ainsi que dans certains solvants aprotiques polaires tels que le diméthylesufoxide (DMSO). Par contre, elles sont peu solubles dans les solvants protiques polaires, tels que l'eau, le méthanol ou l'éthanol [6].

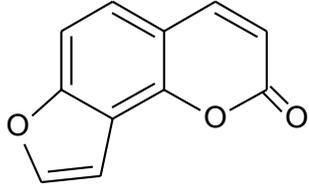
I.2.1. Structures chimiques et propriétés physico-chimiques des furocoumarines

D'un point de vue chimique, les furocoumarines sont des hétérocycles oxygénés correspondant à l'adjonction d'un cycle furane sur un noyau benzo-a-pyrone (ou coumarine). Il existe 12 façons différentes de condenser un cycle furane et un noyau benzo-a-pyrone. L'anneau furane peut être fusionné de diverses manières produisant plusieurs isomères différents. Les composés parents des isomères les plus courants sont le psoralène et l'angélicine. Les dérivés de ces deux composés sont appelés respectivement furanocoumarines linéaires et angulaires (Figure I.3) [4].

Tableau I.1. Structures chimiques et propriétés physico-chimiques des furocoumarines

Nom de la molécule	Propriétés physiques	Structure chimique
<p>Xanthotoxine 9-méthoxy-7H-furo[3,2-g]chromén-7-one</p>	<p>Apparence : poudre blanche à jaune</p> <p>Formule brute : C₁₂H₈O₄</p> <p>Masse molaire : 216,1895 ± 0,0114 g/mol</p> <p>Température de fusion : 148 à 150 °C</p> <p>Température d'ébullition : 414 à 415°C</p> <p>Solubilité : soluble dans l'alcool, l'acide acétique et l'eau, 706,2 mg/L à 25 °C</p>	

<p>Psoralène</p> <p>7H-furo[3,2-g]chromèn-7-one</p> <p>ou bien :</p> <p>7H-furo[3,2-g]benzopyran-7-one</p>	<p>Formule brute : C₁₁H₆O₃</p> <p>Masse molaire :</p> <p>186,1635 ± 0,0101 g/mol</p> <p>Température de fusion :</p> <p>163 à 164 °C</p> <p>Température d'ébullition :</p> <p>362 à 363 °C</p> <p>Solubilité: soluble dans l'alcool et dans l'eau 1925 mg/L à 25 °C</p>	
<p>Bergaptène</p> <p>5-méthoxy-2H-furo[3,2-g]chromèn-2-one</p>	<p>Apparence : cristaux verts</p> <p>Formule brute : C₁₂H₈O₄</p> <p>Masse molaire :</p> <p>216,1895 ± 0,0114 g/mol</p> <p>Température de fusion :</p> <p>190 à 193 °C</p> <p>Température d'ébullition :</p> <p>412 à 413 °C</p> <p>Solubilité : soluble dans l'alcool et dans l'eau 810.5 mg/L à 25 °C</p>	
<p>Impératorine</p> <p>9-(3-méthylbut-2-énoxy)-7-furo[3,2-g]chromènone</p>	<p>Formule brute : C₁₆H₁₄O₄</p> <p>Masse molaire :</p> <p>270,28 ± 0,015 g/mol</p> <p>Température de fusion :</p> <p>102 °C</p>	

<p>Angélicine ou isopsoralène</p> <p>2H-furo(2,3-h)(1)benzopyran-2-one</p>	<p>Apparence : cristaux blancs</p> <p>Formule brute : C₁₁H₆O₃</p> <p>Masse molaire :</p> <p>186,1635 ± 0,0101 g/mol</p> <p>Température de fusion :</p> <p>126,5 °C</p> <p>Température d'ébullition :</p> <p>360 à 326 °C</p> <p>Solubilité : soluble dans l'alcool et dans l'eau 860 mg/L à 25 °C</p>	
---	--	---

I.2.2. Sources végétales des furocoumarines

Les furocoumarines sont moins répandues que les coumarines simples. Quatre familles de plantes sont bien connues pour en contenir : les Apiacées (ex : persil, panais), les Moracées (ex : figuier), les Rutacées (Rutagraveolens) et les Fabacées [5] mais il en existe d'autres, telles que les Astéracées, les Rosacées [7].

Les concentrations et les différentes formes de furocoumarines sont variables d'une famille et d'une espèce à l'autre. À titre d'exemples, les Rutacées ne synthétisent que des furocoumarines linéaires dont les molécules principalement retrouvées sont le bergaptène, la xanthotoxine et l'isopimpinelline. Au contraire, les Fabacées, dont les Psoraleacaneceae, synthétisent principalement 2 types de molécules : une furocoumarine linéaire, le psoralène, et une furocoumarine angulaire, l'angélicine [8]. Les furocoumarines angulaires sont moins répandues que les linéaires [5].

La plupart des tissus ou organes fortement producteurs de coumarines et furocoumarines sont ceux exposés aux prédateurs (ex : feuilles, racines) ou voués à la survie de l'espèce (ex : fruits contenant les graines). Mais la localisation des furocoumarines au sein des plantes est aussi soumise aux conditions environnementales et peut donc varier au cours du temps [3].

Lors d'une attaque par un insecte, les blessures occasionnées à la plante permettent la libération des furocoumarines. Les plantes peuvent aussi excréter des coumarines et des furocoumarines toxiques à la surface de certains organes, comme par exemple les feuilles [22].

I.2.3. Présentation de la rue des montagnes, plante productrice des furocoumarines et objet de notre étude

La rue, appelée populairement «fidjel», est une plante annuelle de la famille des rutacées, utilisée depuis longtemps pour des usages thérapeutiques et culinaires. C'est une plante aromatique de la région méditerranéenne [13].

Elle vit à l'état spontané ou subspontané, sur les lieux arides de presque toute l'Afrique du nord, la France et l'Europe méridionale.

En Algérie, elle est rencontrée dans les zones montagneuses [17], où elle pousse spontanément dans les rochers, vieux murs et collines sèches, et elle est abondante dans les terrains calcaires des régions méditerranéennes [18].

La rue des montagnes émet une odeur très forte, plutôt désagréable, et a un goût très amer et acre. Elle pousse jusqu'à 1 m et fleurie de mai à juin.



Figure I.4. La Rue des montagnes

I.3. Propriétés pharmacologiques des furocoumarines

La xanthotoxine (8-méthoxypsoralène, méthoxsalène) est une furocoumarine linéaire, avec le psoralène et le 5-méthoxypsoralène (bergaptène), ils font partie des substances photoactives naturelles [9].

L'une des principales caractéristiques des furocoumarines est leur capacité à réagir sous l'action de la lumière. Ces molécules peuvent, en effet, être photoactivées par certaines radiations U.V. Leurs propriétés réactives peuvent alors s'exprimer de multiples façons. Ainsi, les furocoumarines sont capables de se transformer spontanément par action de la lumière, pour donner divers produits de photodégradation. Cependant, la propriété biologique la plus remarquable résultant de la photoactivation, est leur fixation sur les bases pyrimidiques des acides nucléiques (ADN et ARN).

Une autre action des furocoumarines, associée à la lumière, est l'activation de la mélanogénèse de la peau. Cette propriété est mise à profit en cosmétologie [10].

I.3.1. Photooxydation et photolyse

En présence d'un rayonnement UVA (320-400 nm), les furocoumarines sont susceptibles de subir des réactions de photooxydation, pouvant générer des espèces oxygénées réactives (O_2 , H_2O_2 , H_2O) impliquées dans l'apoptose cellulaire.

Il a également été montré que le psoralène et la xanthotoxine peuvent subir des réactions de photolyse.

La formation de ces produits, et en particulier des aldéhydes, pourrait être à l'origine du caractère phototoxique des furocoumarines [11].

I.3.2. Photoactivation et photocycloadditions

Lorsqu'elles sont soumises à un rayonnement UV, les furocoumarines ont la capacité de se fixer à différentes macromolécules dans la cellule (sur l'ADN, sur les protéines ainsi que sur les acides gras).

Les furanocoumarines, surtout les linéaires, ont des propriétés photo-sensibilisantes. Ces propriétés sont liées à des processus photochimiques induits par les furocoumarines en présence d'oxygène, sous l'influence des rayonnements UV solaires.

Ces processus photochimiques entraînent l'oxydation et la polymérisation des catécholamines, conduisant à la formation de mélanine, et donc à la pigmentation cutanée [11].

Lorsqu'elles sont soumises à des rayonnements UV, les furocoumarines ont la capacité de se fixer à différentes macromolécules dans la cellule ; on parlera alors de photoactivation et de photocycloadditions [11].

I.3.3. Toxicité des furocoumarines

Il faut signaler toutefois que les propriétés de photoactivation des furocoumarines peuvent avoir des effets négatifs. Ainsi, la manipulation de végétaux contenant ces produits peut être à l'origine d'inflammations de la peau à la suite d'exposition à la lumière (photodermatites). C'est le cas classique de la dermatite des ramasseurs de céleri, espèce connue pour contenir ces molécules en quantité pourtant moyenne [10].

Si le phénomène de photocycloaddition des furocoumarines sur l'ADN est détourné dans le cadre de la P-UVA thérapie, pour traiter les maladies de la peau, il se révèle aussi problématique chez des personnes saines exposées à des furocoumarines et aux UV. En effet, une telle exposition peut entraîner dans les 24 heures des dermatites (Figure I.5), parfois graves, telles que des brûlures, des gonflements, une hyperpigmentation de la peau ou encore des cloques. Ces phénomènes de phototoxicité peuvent aussi bien se produire suite à un contact cutané, que suite à l'ingestion de furocoumarines présentes dans des plantes [11].



Figure I.5. Photophytopharmacodermatose chez des patients ayant été en contact ou ayant ingéré des furocoumarines et s'étant exposés au soleil [11]

I.4. Utilisation des furocoumarines dans les produits de protection solaire

Par expérience, l'homme de métier sait que l'adjonction dans les formulations pour administration topique de chromophores, comme les furocoumarines, augmentent rapidement la production des mélanines, en quantité ayant pour effet une amélioration du filtre naturel protecteur de la peau contre les ultraviolet [12].

La commission européenne a limité à moins de 1 ppm la concentration des furocoumarines dans les produits solaires, due aux propriétés photomutagènes des furocoumarines linéaires [12]. En effet, en photochimiothérapie, les furocoumarines ont la capacité de se fixer sur l'ADN en présence de rayonnements UV [13], modifiant alors sa structure, ce qui empêche sa réplication et donc la prolifération des cellules [14]. Ce phénomène a été détourné dans le but de traiter des maladies de la peau, comme le psoriasis et le vitiligo [15], qui se caractérisent par des lésions rouges et une dépigmentation de la peau respectivement. Le traitement combine ainsi l'application de furocoumarines et d'un rayonnement UVA sur la peau et porte le nom de P-UVA thérapie, le P venant à l'origine du psoralène. Concernant le psoriasis, une étude récente a montré que la combinaison de xanthotoxine et d'UVA provenant du soleil, permettait d'améliorer l'apparence physique des patients atteints de cette maladie, tout comme leur qualité de vie [16].

CHAPITE II
PROTECTION SOLAIRE DE LA PEAU
ET
INDICE DE PROTECTION

II.1. Structure physiologique de la peau

La peau est souvent présentée comme étant l'organe le plus lourd et le plus étendu du corps humain, dont la fonction principale est de protéger l'organisme des agressions extérieures, physiques, chimiques et infectieuses (Mélissopoulos et Levacher, 2012).

La peau est constituée de trois couches bien distinctes, auxquelles sont associées des annexes, telles que les glandes sudoripares et les follicules pilosébacés. On peut donc distinguer, de l'extérieur vers l'intérieur : l'épiderme, le derme et l'hypoderme [27].

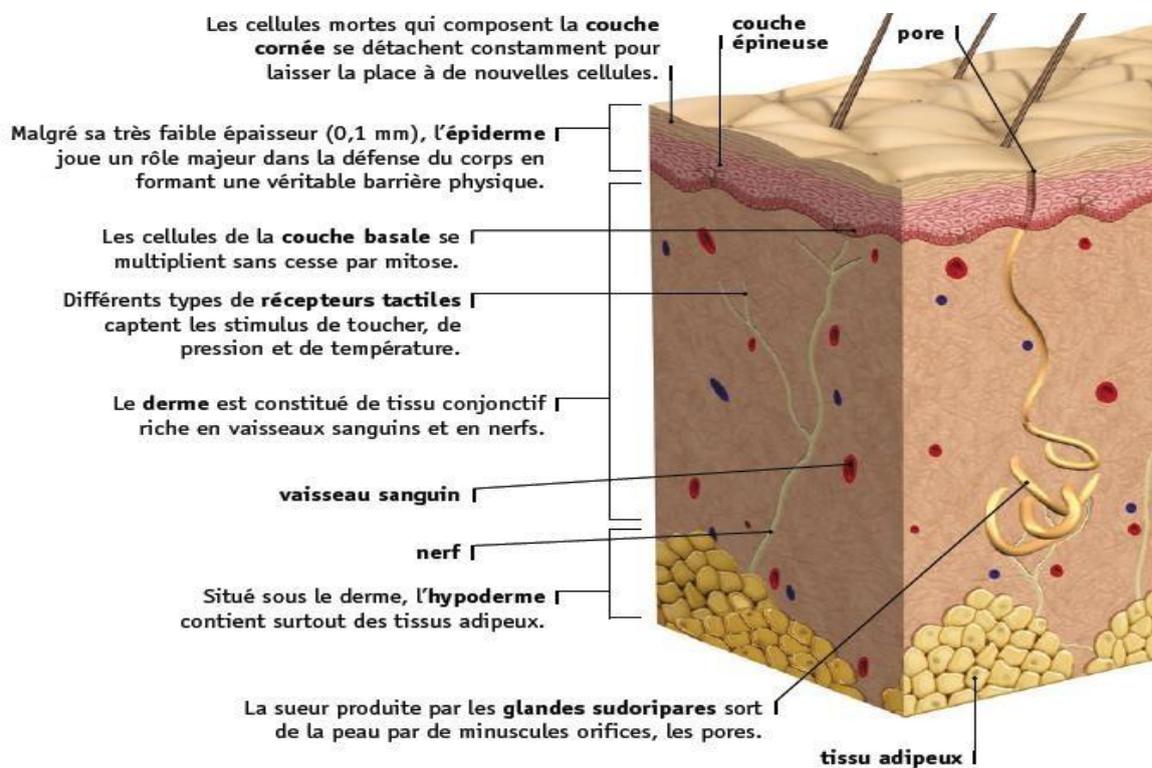


Figure II.1. Structure de la peau [28]

II.2. Pouvoir autoprotecteur de la peau

La couche cornée représente la première barrière de protection de la peau contre les radiations lumineuses. Elle exerce son effet photoprotecteur par deux mécanismes :

- Réflexion : la surface de la peau est capable de réfléchir le rayonnement solaire, essentiellement les photons du spectre visible et des UVA.
- Absorption : la couche cornée et le film hydrolipidique absorbent essentiellement les UVB, grâce aux lipides constituant le sébum et à l'acide urocanique présent dans la sueur [37].

II.3. Effets du soleil sur la peau

Le soleil est indispensable à la vie ; il donne de la lumière et de la chaleur et contribue au bien-être. Ses rayons ultraviolets (UV) sont cependant aussi source de danger, car ils peuvent abîmer notre peau, induisant notamment érythème et pigmentation. Chacun doit se protéger du soleil, que sa peau soit claire ou mate. La protection adéquate dépend de l'intensité des rayons UV, de l'activité exercée, ainsi que de la durée d'exposition au soleil [36].

Le mécanisme du bronzage est bien connu : sous l'action des rayons ultraviolets, il y a production de pigments appelés « Mélanines ». Ce processus physiologique s'appelle la mélanogénèse. A partir des unités de mélanisation, sont fabriqués des granules de pigments appelés mélanosomes ; ces mélanosomes sont ensuite absorbés par d'autres cellules cutanées : les kératinocytes qui migrent vers les couches superficielles de l'épiderme, pour former les couleurs typiques des différents bronzages. La mélanine joue alors le rôle de filtre naturel protecteur contre les rayons du soleil. Cependant, une exposition prolongée limite l'auto protection de la peau, et peut causer son altération, selon le type de rayon auxquels elle est exposée.

On distingue trois catégories de rayons UV :

- **Les ultraviolets longs ou UVA** : ils sont considérés comme les rayons du vieillissement. Leur longueur d'onde est comprise entre 320 et 400 nm. Ils sont subdivisés en UVA2 (320-340 nm) et UVA1 (340-400 nm). Les UVA sont arrêtés par le derme (20% à 30% des UVA atteignent le derme moyen). Leur énergie est plus faible que celle des UVB.

- **Les ultraviolets moyens ou UVB** : ils représentent approximativement 5% du rayonnement UV solaire émis et est principalement responsable de diverses affections d'ordre dermatologique, dont le cancer cutané. Les rayons UVB peuvent pénétrer à l'intérieur de l'épiderme et peuvent provoquer des effets biologiques directs et indirects défavorables, ainsi que l'induction d'un stress oxydant (diminution du taux d'enzymes antioxydantes). On les rend également responsables d'altérations de l'ADN et du vieillissement prématuré.

- **Les ultraviolets courts ou UVC** : leur longueur d'onde est comprise entre 239 et 290 nm. Ils sont particulièrement redoutables mais ils n'atteignent pas la surface de la terre, car ils sont totalement arrêtés par la couche d'ozone.

II.4. Classification des phototypes

La mélanine responsable de la pigmentation naturelle de la peau constitue le facteur essentiel pour se protéger contre les UV. Les couleurs de la peau, des yeux et des cheveux, permettent de définir le phototype qui classe les individus selon la réaction de leur peau lors d'une exposition solaire. Les cancers de la peau prédominent chez les sujets blancs à la peau plus claire vivant au soleil.

Tableau II.1. Classification des phototypes et leur réaction aux ultraviolets [32].

Type de peau	Caractéristiques	
	Apparence/ Caractéristiques générales	Réaction à l'exposition aux UV
0	Albinos	Brûle toujours sans acquérir de hâle protecteur
I	Très clair : Cheveux blonds ou roux, yeux clairs, taches de rousseur fréquentes	Brûle toujours, ne bronze jamais. Risque élevé de cancer de la peau, lésions vasculaires.
II	Peau claire, yeux clairs, cheveux clairs	Brûle facilement ; bronze avec difficulté. Risque élevé de cancer de la peau, lésions vasculaires.
III	Type de peau très fréquent, équitable, la couleur des yeux et des cheveux varient	Brûle parfois, bronze progressivement. Risque d'hyper/hypopigmentation. Risque modéré de cancer de la peau et de lésions vasculaires.

IV	Peau caucasienne méditerranéenne : cheveux bruns foncés, moyenne à forte pigmentation	Brûle rarement, bronze facilement. Risque élevé d'hyper/hypopigmentation Risque élevé de cicatrices.
V	Peau du Moyen-Orient : cheveux bruns et noirs, yeux marrons, rarement sensible au soleil	La peau s'assombrit, peut ne jamais brûler. Risque élevé d'hyper/hypopigmentation. Moins de risque de pigmentation solaire et de vieillissement actinique (du fait de l'exposition au soleil).
VI	Peau noire, yeux marron, rarement sensible au soleil	Bronze facilement; peut ne jamais brûler. Risque très élevé d'hyper/hypopigmentation. Moins de risque de pigmentation solaire et de vieillissement actinique.

II.5. Produits de protections solaires

Les produits cosmétiques jouent un rôle majeur dans la fonction protectrice de la peau. Par définition, un cosmétique est une substance ou une préparation destinée à être mise en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain, notamment l'épiderme, les systèmes pileux et capillaires, les ongles, les lèvres et les organes génitaux externes, ou avec les dents et les muqueuses buccales, en vue, exclusivement ou principalement, de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de les protéger, de les maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles [34].

Les écrans solaires contiennent des filtres UV, qui sont également présents dans d'autres crèmes cosmétiques telles que les crèmes de jour, les lotions pour la peau, les sprays coiffants, etc., parce qu'ils en augmentent la durée de conservation, la stabilité et protègent contre les rayons ultraviolets (UV) et, par conséquent, contre le vieillissement prématuré de la peau et le cancer de la peau [34,36].

La fonction principale des écrans solaires est d'empêcher les UV solaires d'interagir avec les chromophores de la peau. À cette fin, les produits de protection solaire sont assez simples : ils absorbent/réfléchissent/diffusent les rayons UV du soleil, réduisant ainsi la dose

de ces rayonnements nocifs avant que cette énergie ne puisse être absorbée par les chromophores résidant dans la peau [35].

L'efficacité de tout produit de protection solaire dépend de son absorption des UV, de sa concentration, de sa formulation et de sa capacité à résister à la baignade ou à la transpiration.

Il existe deux types de crèmes de base disponibles sur le marché aujourd'hui : les écrans solaires organiques, qui agissent en absorbant la lumière ultraviolette, et les écrans solaires minéraux qui réfléchissent ou diffusent la lumière dans les spectres du visible et des UV [34].

II.5.1. Indice de protection (SPF)

L'efficacité d'un écran solaire est généralement exprimée par le facteur de protection solaire SPF (Sun Protection Factor), qui désigne le niveau de protection d'un produit de protection solaire contre les dommages induits essentiellement par les UVB, en particulier contre les érythèmes [37]. Il est défini comme l'énergie UV requise pour produire une dose minimale d'érythème (DEM) sur une peau protégée, divisée par l'énergie UV requise pour produire une DEM sur une peau non protégée :

$$\text{SPF} = \frac{\text{minimal erythemal sun screen-protected skin}}{\text{minimal erythemal non sun screen-protected skin}}$$

La dose érythémateuse minimale (DEM) est définie comme l'intervalle de temps le plus faible, ou la dose d'irradiation de lumière UV suffisante pour produire un érythème minime et perceptible sur une peau non protégée [38].

Plus le SPF est élevé, plus le produit est efficace pour prévenir les coups de soleil.

La méthode de détermination du facteur de protection solaire est standardisée à l'international et peut être réalisée par des tests in vivo ou in vitro [37]. Elle est idéalement déterminée par des phototests sur des volontaires humains [38].

Les méthodes in vitro sont en général de deux types, méthodes qui impliquent la mesure de l'absorption ou de la transmission du rayonnement UV à travers des films de

produits de protection solaire dans des plaques de quartz ou des biomembranes, et méthodes dans lesquelles les caractéristiques d'absorption des agents de protection solaire sont déterminées sur la base de données spectrophotométriques de solutions diluées [38].

Mansur et al. (1986), ont développé une équation mathématique très simple qui substitue la méthode in vitro proposée par Sayre et al. (1979) [39], utilisant la spectrophotométrie UV :

$$\text{SPF}_{\text{Spectrophotometric}} = \text{CF} \times \sum_{290}^{320} EE(\lambda) \times I(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

Avec :

EE : spectre d'effet érythémateux ;

I : spectre d'intensité solaire ;

Abs : absorbance du produit solaire ;

CF : facteur de correction (= 10).

Les valeurs du produit (EE x I) sont des constantes. Elles ont été déterminées par Sayre et al. (1979), et sont présentés dans le tableau suivant [38] :

Tableau II.2. Valeurs du produit (EE x I) utilisé dans le calcul du SPF [39]

Longueur d'onde ()	EE I (normalisé)
290	0,0150
295	0,0817
300	0,2874
305	0,3278
310	0,1864
315	0,0839
320	0,0180
Total	1

II.5.2. Caractéristiques idéales d'un produit de protection solaire

Idéalement, le produit de protection solaire doit répondre aux critères suivants :

- avoir un spectre large UVB et UVA ;
- présenter une totale innocuité : être bien toléré (non allergisant, non sensibilisant et non toxique) ;
- avoir une bonne rémanence, c'est-à-dire être capable de conserver son efficacité dans les conditions normales d'utilisation. Elle est évaluée par des tests de résistance à l'eau, à la sueur. Cette résistance va être déterminée par le choix du sens de l'émulsion, celui de l'émulsifiant qui ne doit pas se ré-émulsionner avec l'eau de baignade, par la nature de la phase grasse et par l'ajout d'agent filmogènes ;
- être capable de garder son pouvoir de filtration le plus longtemps possible une fois étalé sur la peau. Il doit avoir une bonne stabilité à la lumière (photostabilité) et à la chaleur [37].

II.5.3. Composition des produits de protection solaire

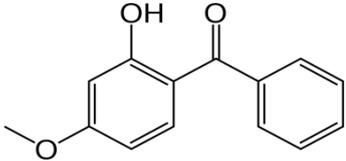
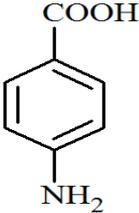
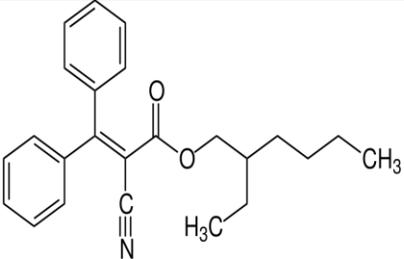
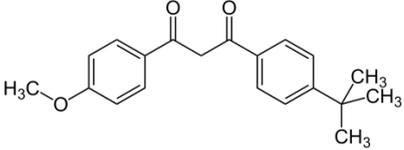
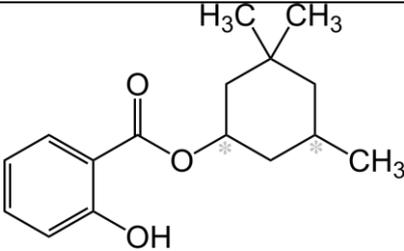
Un produit de protection solaire est composé de deux principales catégories d'ingrédients : les actifs et les excipients. Les principaux actifs sont les filtres UV. Parmi les autres ingrédients on retrouve des émoullients, émulsifiants, conservateurs, photostabilisateurs, agents filmogènes, etc. [37].

a- Les filtres UV

➤ Filtres chimiques organiques

Les filtres chimiques sont des molécules organiques (benzophènes, aminobenzoates) comportant des liaisons π , formant un système conjugué. Ils peuvent se présenter sous forme solide ou liquide et peuvent être lipophiles, hydrophiles ou encore totalement insolubles dans les milieux de formulation dans lesquels ils sont introduits.

Tableau II.3. Filtres chimiques organiques les plus utilisées.

Nom	Autres dénominations	UV filtrés	Structure chimique
benzophénone-3	Oxybenzone	UV-B, UV-A courts	
PABA	Acide para-aminobenzoïque	UV-B	
Octocrylene	cyanophenylcinnamate d'octyle ou Parsol 340	UV-B, UV-A courts	
Butylméthoxydibenzoylméthane	Avobenzone ou Parsol 1789	UV-A	
Homosalate	Salicylate d'octyle	UV-B	

Ce sont des molécules qui absorbent la lumière ultraviolette et qui protègent dans une gamme donnée de longueur d'onde le support qu'elles recouvrent. Pour une protection efficace sur tout le domaine UV (UV A et UVB), il est nécessaire d'associer plusieurs filtres différents (absorption associée à des transitions électroniques très intenses mais très localisées en énergie) [41].

Leur avantage principal est leurs indices de protection UVA élevés, grâce à l'association de différents filtres UVA et UVB. En outre, ils sont relativement résistants à l'eau et à la transpiration.

Les inconvénients des filtres chimiques ou organiques sont nombreux. D'un côté, Ils peuvent pénétrer dans l'épiderme et entraîner des allergies. D'un autre côté, leur mise en formulation dans des protections solaires s'avère souvent complexe. Ils sont également une source de pollution de l'eau, car ils sont difficiles à éliminer même par les stations d'épuration.

➤ **Filtres minéraux**

Ce sont des poudres inertes et opaques qui correspondent à des pigments blancs, détournés de leur utilisation première, à savoir des matériaux qui n'absorbent pas mais diffusent la lumière du visible. Ce sont des oxydes métalliques, de granulométrie variable. Plus leur taille est petite, moins ils absorbent dans l'UVB. Ils sont souvent recouverts d'un agent d'enrobage, qui permet d'améliorer la dispersion de la charge dans la phase aqueuse ou dans la phase grasse, selon l'affinité.

L'oxyde de zinc (ZnO) et le dioxyde de titane (TiO₂) sont les deux matériaux le plus souvent utilisés dans les crèmes solaires.

Tableau II.4. Filtres minéraux.

Nom	Autres dénominations	UV filtrés	Photostable
Titanium dioxide	dioxyde de titane	UV-A, UV-B	Oui
Zinc oxide (ZnO)	Oxyde de zinc	UV-A, UV-B	Oui

Ces pigments blancs reflètent et diffusent les radiations UV, mais aussi la lumière visible, en agissant comme un miroir. Les écrans solaires minéraux agissent physiquement en bloquant la pénétration des rayons UV dans la peau. Ces oxydes ultrafins (diamètre des particules de 20 à 50 nm) présentent généralement des spectres larges, s'étendant des UVB au visible.

Leur avantage principal est qu'ils ne pénètrent pas dans la peau et n'induisent pas d'allergie. C'est la raison pour laquelle ils font partie de la composition des produits solaires pour enfants et peaux sensibles. Comme ils protègent de tous les rayons, un seul matériau est donc souvent suffisant pour absorber à la fois les UV A et les UVB, éventuellement deux ; de plus, ils sont actifs immédiatement après leur application [45].

Cependant, les filtres minéraux présentent un inconvénient majeur, celui de l'absorption du rayonnement solaire qui reste généralement plus faible que pour les filtres chimiques organiques, de sorte qu'il est difficile d'atteindre des SPF élevés tout en garantissant une texture acceptable. En effet, la formulation de photoprotecteurs à base de charges minérales est parfois difficile, car la pré dispersion des poudres nécessite un mode opératoire parfois contraignant. En outre, il faut souligner que cette classe de composés peut présenter des propriétés photocatalytiques génératrices de radicaux libres, ce qui requière leur enrobage par de la silice ou de l'alumine avant leur utilisation.

b- Les excipients

Les excipients permettent la formulation du produit. Ils jouent un rôle dans son acceptabilité cosmétique mais également dans son efficacité, en modifiant les propriétés filtrantes d'une molécule, en conditionnant la substantivité et la rémanence du produit fini (les silicones par exemple, vont assurer une meilleure résistance à l'eau) et en intervenant sur les propriétés d'étalement, la régularité et l'épaisseur du film appliquée sur la peau. En effet, il est important que la répartition des filtres soit homogène [37].

Tableau II.5. Excipients utilisés dans les produits de protections solaires [40,57]

Excipient	Propriétés
Agents véhicules/excipients de support	Permettent de moduler la pénétration du principe actif à travers la peau tout en conférant au produit cosmétique sa consistance finale. Les plus fréquemment utilisés sont les huiles, l'eau et l'alcool [59].
Agents humectants	Substances qui ont des propriétés hygroscopiques et qui permettent d'attirer et de retenir l'eau pour une meilleure

	hydratation. Tels que le propylène glycol, le méthylpropane diol et la glycérine.
Conservateurs hydrophiles/hydrophobes	Antimicrobiens/antifongiques, permettent une longue vie au produit. Les plus utilisés sont: l'acide levulinique, méthylthiazolinone, parabens, phénoxyéthanol et la vitamine E.
Agents filmogènes	Permettent aux produits de protection solaire de s'étaler plus uniformément et de former un film uniforme sur la peau. Ils donnent des propriétés rhéologiques plus stables.
Agents épaississants/stabilisants	Ils apportent une cohérence à la préparation et permettent de stabiliser la formule en lui donnant une consistance en gonflant dans la phase aqueuse et en formant une structure gélifiante [53]. L'incorporation d'agent gélifiant à un système le rend thixotrope [54]. Il diminue les phénomènes de sédimentation ou crémage exemple : carbopol, xanthane, carraghenane, agar-agar.
Emulsionnants	Le tensioactif facilite l'émulsion et la stabilité entre deux liquides non miscibles. On cite le span, le tween, sodium stéarate. Le mélange de deux tensioactifs entraîne une plus grande stabilité de l'émulsion comme le span 20 et le tween 20 [51].
Agent tampon	C'est le composant chimique qui permet à la préparation d'avoir un pH adapté à la peau comme : le triéthanolamine.
Agent hydrophobe (water resistance agent)	Il permet de former une fine couche sur la peau pour résister à l'eau, tels que les cires de silicone, les cires naturelles, les dérivés de

	<p>polyvinyl pyrrolidone (PVP).</p> <p>Il peut être solubilisé dans la phase huileuse ou aqueuse comme la résine polyester.</p>
Solubilisant de filtre	<p>Ça peut être un ou une combinaison de solvants, selon la nature du filtre.</p> <p>Pour les filtres organiques solides, les plus utilisés sont : isoamylaurate avec l'éthanol, Diisoamylsébacate.</p>
Agent emollient	<p>C'est souvent les huiles végétales ou minérales qui sont utilisées. Elles apportent l'hydratation et un effet adoucissement dans les préparations. Exemple : la paraffine, l'huile de jojoba. Les huiles régissent de manière significative la spontanéité du processus d'émulsification, la taille des gouttelettes de l'émulsion, la solubilité du principe actif grâce à leurs propriétés physico-chimiques (le volume moléculaire, la polarité et la viscosité).</p>
Substances antioxydantes	<p>L'ajout de substances antioxydantes aux formulations de filtres solaires anti-UVB et anti-UVA peut renforcer l'action photoprotectrice des produits de protection solaire. On retrouve par exemple la vitamine E (alpha-tocophérol), la vitamine C (acide ascorbique) [40].</p>
Parfums, pigments	<p>Pour donner une odeur et une teinte agréable.</p>

II.5.4. Choix de la forme de protection solaire

Le choix de la forme (crème, lait, gel, huile, émulsion, etc.) est en fonction de la surface à protéger (visage, corps) et du confort d'application. Plus la surface à protéger est grande, plus le produit solaire doit être fluide. En pratique, il est recommandé d'utiliser les crèmes et les émulsions pour le visage et le cou, et les laits, les huiles et les sprays pour le corps.

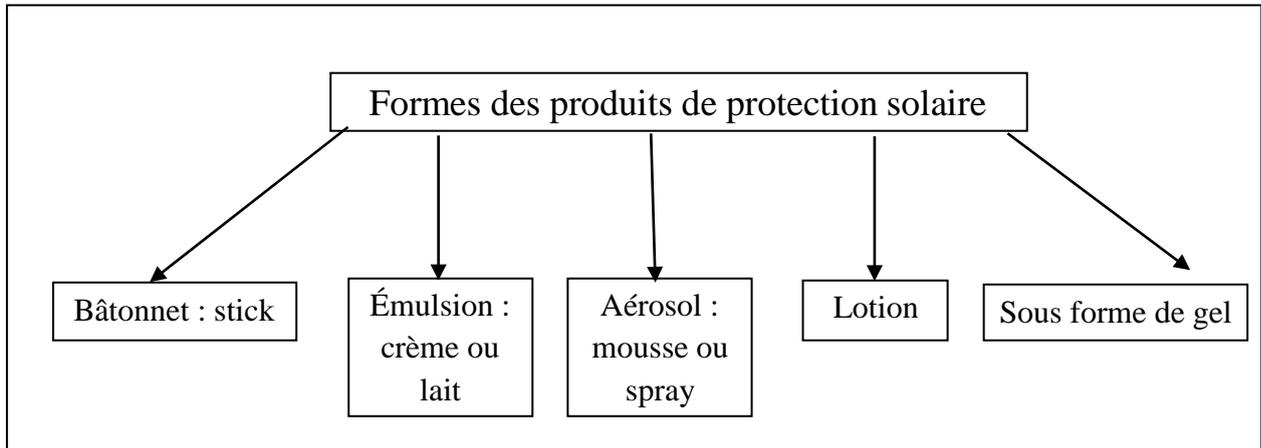


Figure II.2. Différentes formes de produits de protection solaire

- **La crème solaire** : elle possède une texture onctueuse et un fort pouvoir hydratant. Elle adhère à la peau et peut être facilement étalée de façon homogène. Elle convient surtout aux enfants et aux personnes à la peau sèche ou bien très sensible.
- **Le lait solaire** : est un produit moins épais que la crème, mais qui reste doux et agréable. Il pénètre rapidement dans la peau pour offrir une protection solaire résistante à l'eau. Il est particulièrement approprié avant une baignade.
- **Le spray solaire** : il dépose d'un fin voile de protection de la peau. Il permet d'atteindre facilement toutes les zones du corps.
- **L'émulsion solaire** : C'est un mélange entre un gel et une émulsion que ça soit de type huile dans eau ou eau dans huile. Grâce à un filtre solaire organique ou minéral, elle protège la peau d'une partie du rayonnement ultraviolet (UV) du soleil qui peut provoquer des coups de soleil assez douloureux et, surtout, à prévenir le cancer de la peau. L'utilisation assidue d'un émulsion solaire peut également aider à ralentir ou à empêcher temporairement le développement des rides, des taches brunes et du relâchement cutané.

II.6. Forme semi-solide émulgel

En comparaison avec les autres préparations semi-solides, l'utilisation de gels s'est imposée aussi bien dans les préparations cosmétiques que pharmaceutiques. Lorsque le gel et l'émulsion sont utilisés sous forme combinée, ils sont appelés émulgels.

L'émulgel est le système d'administration de médicaments prometteur pour les principes actifs hydrophobes, en limitant leur délivrance en la rendant contrôlée [46].

Les émulgels ont plusieurs propriétés favorables à l'usage dermatologique, telles que que [47]:

- Éviter l'incompatibilité gastro-intestinale.
- Plus sélectif pour un site spécifique.
- Améliorer l'observance du patient.
- Aptitude à l'automédication.
- Fournir l'utilisation du médicament avec une demi-vie biologique courte et une fenêtre thérapeutique étroite.
- Possibilité de mettre fin facilement à la médication en cas de besoin.
- Pratique et facile à appliquer.
- Incorporation de médicaments hydrophobes.
- Meilleure capacité de chargement et meilleure stabilité.
- Faisabilité de la production et faible coût de préparation.
- Libération contrôlée.
- Sans graisse, émollient, ne tache pas.
- Une meilleure stabilité

CHAPITRE III :
MATERIELS ET METHODES

III.1. Matériels

III.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé pour notre étude est la *rue des montagnes* (Fidjel) ou encore *Ruta montana* L.

La rue des montagnes est très riche en furocoumarine plus précisément en xanthotoxine.

Nous avons pris 3 sortes de la rue provenant de trois régions différentes d'Algérie, une de la région de Tisemsilt l'autre de Jijel et enfin un mélange des chez l'herboriste. Chacune d'elles représentent des spécifications (voir le tableau III.1)

Le but est de déterminer quelle Rue représente un meilleur rendement.

Tableau III.1. Les différentes sources de la rue des montagnes

		
<u>Rue des montagne de Tisemsilt</u> Plante sèche de couleur jaune/marron, contient des petites graines jaunes en forme de capsule. Elle a une forte odeur spécifique fétide.	<u>Rue des montagnes de Jijel</u> Plante sèche de couleur vert glauque, contient des feuilles fines. Elle ne contient pas de graines. Caractérisée par une forte odeur désagréable	<u>Rue des montagnes de chez l'herboriste</u> Plante sèche, contient des graines jaunes regroupés dans un même plan (corymbe). Elle a une forte odeur fétide.

III.1.2 Matériel chimique

Les solvants utilisés sont représentés dans le tableau (III.2).

Tableau III.2. Solvants utilisés dans l'extraction et la purification des furocoumarines

Nom	Caractéristiques physico-chimiques
<p style="text-align: center;">Ether de pétrole (Honeywell/ Germany)</p> <p>-Nom IUPAC : 2-méthylpentane</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Aspect : liquide clair volatil incolore. - Odeur : odeur caractéristique d'essence. - Température d'ébullition (C°) : 40-60 - Densité : 0.65 g/cm³ - Indice de polarité : 0.1 aprotique apolaire - Solvant inflammable.
<p style="text-align: center;">n-Hexane (de BIOCHEM Chemopharma)</p> <p>-Formule chimique: C₆H₁₄</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Aspect : liquide transparent, volatile, caractérisé par une odeur d'essence. - Pureté : 95 % - Masse molaire : 89,18 g/mol - Point d'ebullition: 68,73 °C - Solvant facilement inflammable.
<p style="text-align: center;">Méthanol (de SIGMA-ALDAICH)</p> <p>-Formule chimique : CH₃OH</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Point d'ébullition : 64,7 °C - Masse molaire : 32,04 g/mol - Point de fusion : -97,6 °C - Classification : Alcool
<p style="text-align: center;">Ethanol (de SIGMA-ALDAICH)</p> <p>-Formule chimique : C₂H₆O</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Masse molaire : 46.07 g/mol - Point d'ébullition : 78,37 °C - Point de fusion : -114,1 °C - Pureté : 98%

III.1.3 Matières premiers de la formulation

Les matières premières utilisées dans la formulation de nos produits sont représenté dans le tableau (III.3).

Tableau III.3. Matières premières de la formulation

Produits	Caractérisation
La paraffine liquide	<p>C'est une huile minérale, liquide, transparente, hydrophobe, visqueuse, dépourvu de toxicité. Elle est visqueuse ce qui représente une parfaite stabilité, bien tolérés et ne présentent pas d'incompatibilités.</p> <p>On la retrouve dans de nombreuses dispersions, avec une concentration de 10 à 40%. Elle s'émulsionne facilement, d'où l'obtention des produits de bonne stabilité.</p>
Le Tween 80 ou le polysorbate	<p>Les tensioactifs Tween® sont non ioniques, hydrophiles, généralement solubles ou dispersibles dans l'eau, et solubles à des degrés variés dans les liquides organiques. Ils sont utilisés pour des émulsifications H/E, dispersions ou solubilisations d'huiles, et mouillages.</p> <p>Le tween 80 est le PEG(20)- sorbitanemonoooléate, liquide et soluble dans l'eau, HLB de 15.</p>
Le Span 80	<p>Les tensioactifs Span® sont lipophiles. Ils sont généralement solubles ou dispersibles dans l'huile, formant des émulsions E/H.</p> <p>Les tensioactifs Span® sont très utilisés pour leurs excellentes propriétés d'émulsification.</p>
Methylparaben et le Propylparaben	<p>C'est des conservateurs de la famille des parabènes, qui possèdent des propriétés antibactérienne et antifongique.</p>
La Carbopol 980	<p>Le carbopol (carbomer) est un polymère réticulé à l'acide acrylique . C'est un polymère hydrophile et donc ne repousse pas l'eau. Il possède une propriété qui lui permet d'augmenter son volume en présence d'eau et augmentent la viscosité du liquide, entraînant la formation d'un gel.</p> <p>Il est généralement utilisé avec de faibles proportions, car le carbopol peut absorber jusqu'à cent fois son poids en eau, ce qui donne des gels très visqueux.</p>
Huile essentielle de la lavande	<p>Une huile liquide, concentrée, hydrophobe, de composés aromatiques (odoriférants) volatils. Elle possède des propriétés antifongiques et antibactériennes. Utilisée également pour la bonne odeur.</p>
Hydrolat de la lavande	<p>C'est un liquide aqueux de condensation obtenu après la distillation de la lavande. L'hydrolat de lavande apaise, cicatrise et adoucit les peaux sensible, il purifie les peaux les plus grasses.</p> <p>Utilisé comme phase aqueuse (peut remplacer l'eau) dans les émulsions.</p>
Trolamine	<p>Le trolamine ou la triéthanolamine est un composé chimique organique qui est une amine tertiaire et un trialcool.</p> <p>C'est une base faible due à la seule paire d'électrons sur l'atome d'azote utilisé dans de nombreuses formulations cosmétiques et dermatologiques comme compensateur du pH.</p>

Les furocoumarines: la xanthotoxine	Ils sont le résultat de la fusion d'une coumarine et d'un noyau furane. Peuvent être utilisés comme filtre solaire UV organique d'origine naturel.
Eau distillée	C'est une phase aqueuse, utilisée comme un véhicule.
L'éthanol pur a 98%	C'est un solvant protique polaire « alcool ». Il se présente sous forme de liquide, incolore, volatil, et miscible à l'eau en toutes proportions. Utilisé comme un solvant pour dissoudre les matières organique et comme conservateur (antiseptique, antibactérien).
Le Diméthylsulfoxyde (DMSO)	C'est un solvant polaire organosulfuré, aprotique, de formule C_2H_6OS . Il est liquide, incolore, miscible dans une large gamme de solvants organiques, ainsi que dans l'eau. Il dissout à la fois des composés polaires et apolaires, et il présente également des propriétés anesthésiques et antibactériennes.

III.2 Méthodes

III.2.1.1 Méthode d'extraction (solide-liquide) par Soxhlet

Il existe plusieurs méthodes d'extraction (solide-liquide), parmi ces méthodes on a utilisé l'extraction par Soxhlet. C'est une méthode conventionnelle rapide, efficace qui permet de donner un bon rendement dans un laps de temps et économique qui ne nécessite pas une grande quantité de solvant.

L'extraction par Soxhlet permet d'extraire les furocoumarines à chaud. Elle permet aussi de mettre en contact en permanence la *rue des montagnes* avec l'éther de pétrole et régénérer l'opération plusieurs fois sans avoir recourt au démontage du dispositif (voir la figure III.1).

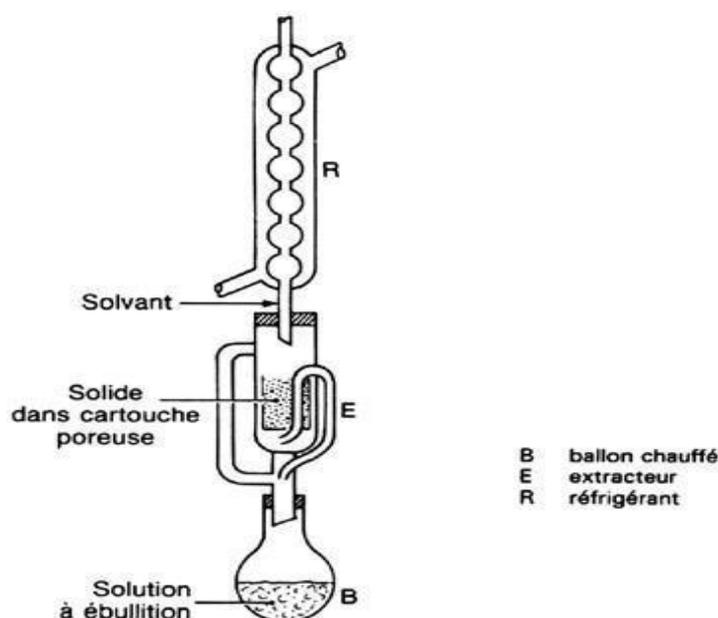


Figure III.1. Représentation de l'extracteur Soxhlet

- **Le choix du solvant de l'extraction**

Il est indispensable de choisir un solvant ou un mélange de solvants lorsqu'il s'agit d'une extraction des principes actifs végétaux.

Notre choix de solvant s'est basé sur plusieurs paramètres physico-chimiques.

L'éther de pétrole a une affinité avec les furocoumarines, c'est un solvant aprotique apolaire de la même nature que les furocoumarines. Il possède un moment dipolaire permanent nul.

Il est capable d'extraire à chaud à une température pas très élevée entre 40 et 60 °C (pour permettre son élimination totale). Il représente une innocuité et une pureté acceptable.

Les furocoumarines sont soluble dans l'éther de pétrole.

- **Mode opératoire de l'extraction**

On prépare d'abord la cartouche qui doit contenir la rue des montagnes. La cartouche est en papier filtre, qui permet de faire pénétrer le solvant et être en contact avec la matière végétale. Une cartouche peut contenir 20g de la masse végétale (tout dépend de la taille de l'extracteur). Elle est ensuite insérée dans l'extracteur au-dessus du quel est placé un réfrigérant, qui sert à condenser et liquéfier les vapeurs du solvant.

On remplit 350 ml d'éther de pétrole dans le ballon de 500 ml et on le place en dessous de l'extracteur (figure III.1). Il est important de chauffer le ballon avec un bain marri (par un transfert de chaleur) pour pas que le solvant ne brule.

Une fois que le système de chauffage est mis en marche, à une température entre 40 et 60 C° le solvant commence à s'évaporer et passe par le tube adducteur. Les vapeurs se condensent dans le réfrigérant et retombent dans l'extracteur faisant ainsi macérer la plante dans le solvant et solubilisé les composés organiques.

Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur et le siphon se remplit en même temps. A un certain niveau, lorsqu'il atteint le sommet de l'extracteur il est déversé par le siphon dans le ballon on parlera alors d'un siphonage « une extraction ».

Plus on fait d'extraction plus le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement de composés organique soluble « les furocoumarines ».

L'extraction a été réalisée plusieurs fois jusqu'à épuisement de la plante.

Après refroidissement et repos, on remarque des particules blanches en suspension. Les particules se précipitent et sédimentent au fond du ballon (voir figure III.2). Ces particules sont les furocoumarines.

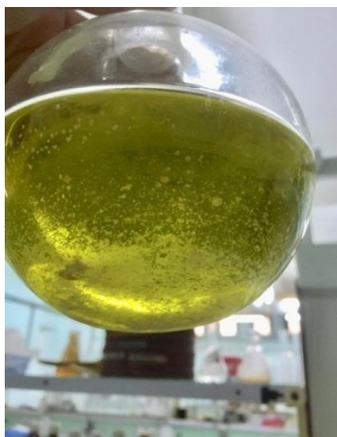


Figure III.2. Extrait qui contient les furocoumarines en suspension

III.2.1.2. Elimination du solvant

L'élimination du solvant permet de sécher la matière organique.

On élimine l'éther de pétrole par l'évaporateur rotatif « rotavapor » de la marque LABOROTA 4001 Heidolph, sous pression réduite pour permettre de réduire les températures d'ébullition et une évaporation plus vite du solvant.

L'extrait est mis dans un ballon en rotation dans le bain marie, afin qu'il ne génère pas des bulles d'ébullition et obtenir une évaporation régulière avec une température uniforme de l'extrait. A une température de 45°C l'éther de pétrole commence à s'évaporer, ces vapeurs sont liquéfiées par le réfrigérant en forme de serpent.

L'éther de pétrole évaporé de notre extrait est récupéré dans un autre ballon, cela nous permettra de le réutiliser pour plusieurs extractions ultérieures.

Il est souhaitable de laisser une petite quantité de solvant dans notre extrait pour pouvoir le récupérer facilement.

Une fois que le volume de l'éther de pétrole souhaité est séparé, on récupère les furocoumarines par filtration sous forme solide.

C'est une méthode d'évaporation simple, utile et rapide.



Figure III.3. Elimination du solvant « éther de pétrole » par le rotavapeur

III.2.1.3. Purification

La recristallisation permet de purifier les furocoumarines des impuretés ainsi de les séparer des corps gras.

Le principe de la recristallisation repose sur la différence de solubilité d'un composé à purifier et ses impuretés dans un solvant à froid ou à chaud.

Dans un premier temps, on utilise l'éthanol pour dissoudre les matières lipidiques qui sont mélangées avec les furocoumarines. On solubilise les furocoumarines dans de l'éthanol et on chauffe sur une plaque chauffante ensuite on filtre à chaud sur le papier filtre. Les matières grasses se regroupent dans le filtrat.

Après l'élimination des corps gras, on récupère les furocoumarines sur le papier filtre séchés à l'air libre (l'éthanol s'évapore rapidement). On procède à une purification, les furocoumarines récupérés seront dissout dans l'héxane, qui est ensuite chauffé et filtré sur un papier filtre.

L'héxane possède des propriétés apolaires « présence des groupements OCH_3 », il solubilise les furocoumarines à chaud mais non pas à froid ce qui est un avantage pour la purification.

Plusieurs recristallisations sont nécessaire jusqu'à l'obtention du résultat souhaité, une poudre blanche pure.

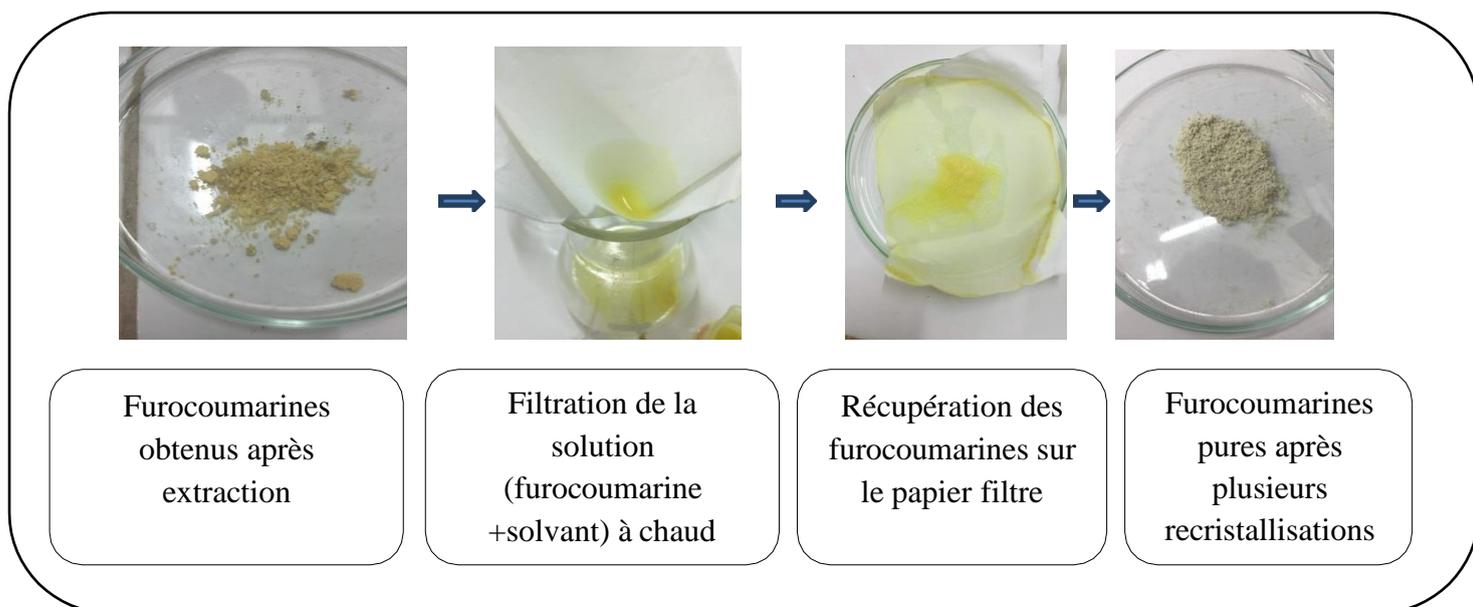


Figure III.4. Etapes de purification des furocoumarines

III.2.1.4. Identification et caractérisation des furocoumarines

a. Point de fusion

Le point de fusion des furocoumarines a été déterminé à l'aide d'un fusiomètre de marque Fisher Jhones à lamelle.

Le but est de déterminer la température exacte nécessaire de passer d'un état solide à un état liquide (fusion). Cela permet de caractériser les furocoumarines et permet de les classifiés aisément car le point de fusion dépend de la pureté de la substance obtenue.

On place une petite quantité des furocoumarines sur la lame et on met sur le support chauffé à vitesse constante sur une plage de températures comprenant la température de fusion attendue pour la substance, jusqu'à fusion complète de celle-ci.

La première goutte remarqué c'est elle qui détermine le point de fusion de la substance.

b. La spectrophotométrie UV

Au but de déterminer l'absorbance des furocoumarines dans le domaine des UVA et les UVB compris entre [200et 400] nm.

La spectrophotométrie UV-visible nous permet de déterminer les longueurs d'ondes et également le dosage quantitativement des furocoumarines absorbant dans leur domaine

spectral. C'est une analyse largement utilisée pour l'identification des espèces organiques et inorganiques.

Pour ce faire, on prépare des dilutions de chaque échantillon de furocoumarines pures.

On pèse dans un verre de montre 14 mg de furocoumarines sur une balance de grande précision à 10^{-4} g près et on introduit la quantité pesée dans une fiole de 25 ml. On dilue avec le méthanol jusqu'au trait de jauge et on agite bien jusqu'à solubilisation complète des furocoumarines.

Les dilutions sont préparées de la même manière pour tous les échantillons.

Le spectrophotomètre qu'on a utilisé est le SHIMADZU UV 1800 spectrometer uv-visible.

c. La spectrophotométrie infrarouge

La spectrophotométrie infrarouge c'est un moyen de caractérisation qui nous permet de déterminer et d'identifier la nature des liaisons chimiques et des groupements fonctionnels présents dans les furocoumarines.

Le spectrophotomètre infrarouge utilisé est le spectrophotomètre de FOURIER FRIR-8900 de la marque SHIMADZU.

On prépare une pastille de KBr et de furocoumarines qui est ensuite placée dans la cartouche est mise dans l'appareil à mesure.

D'autres méthodes d'identifications sont utilisées, comme la chromatographie en phase liquide haute pression qui est une technique d'analyse séparative et la chromatographie en couche mince.

III.2.2.1. Formulation d'un produit solaire de xanthotoxine

Le tableau suivant regroupe toutes les formulations et les essais faits lors de cette pratique, principalement deux formes semi-solide : crème et émulsion.

Tableau III.4. Formulations des crèmes (placebo et solaire)

<u>Les crèmes</u>	
La formule	La méthode
<p style="text-align: center;"><u>Crème placebo :</u></p> <p>30g de la paraffine liquide 1g du tween 80 0,5g carbopol 980 0,03g Methylparaben 0,06g Propylparaben Une solution de Trolamine à 0,5M. Eau distillée qsp 100g.</p>	<p>Pesée des matières premières : la pesée se passe à l'aide d'une balance électrique.</p> <p>- Préparation de la phase huileuse : on mélange dans un bécher, sous agitation, la paraffine liquide et le tween 80 pendant 5 mn. Puis, on ajoute les conservateurs.</p> <p>-Phase aqueuse : dans un autre bécher on disperse le carbopol dans 60ml d'eau sous une forte homogénéisation avec un homogénéisateur à hélice IKARW 16 basic (vitesse 7) jusqu'à l'obtention d'une dispersion lisse sans agrégats. Après, on ajoute, goutte à goutte, la solution de triéthanolamine sous une très faible agitation jusqu'à gélification du mélange.</p> <p>- Formation de l'émulsion par mélange des phases : On verse la solution huileuse sur le gel de carbopol sous une faible homogénéisation pendant 20 mn avec l'Ultra –turax IKA T25 digital.</p> <p>- Finition : On complète au q.s.p. avec l'eau distillée.</p> <p>-Homogénéisation : On continue l'homogénéisation pendant 5 mn et puis on arrête.</p>
<p style="text-align: center;"><u>Crème solaire :</u></p> <p>30g de la paraffine liquide 1g du tween 80 0,5g carbopol 980 0,03g Methylparaben 0,06g Propylparaben Une solution de Trolamine à 0,5M Eau distillée qsp 100g 1g des furocoumarines</p>	<p>La seule différence majeure entre la crème placebo et la crème solaire est l'incorporation des furocoumarines dans la phase huileuse.</p> <p>Dans cette étape on mélange dans un bécher, sous agitation, la paraffine liquide et le tween 80 pendant 5 mn à température ambiante. Après, on ajoute les furocoumarines et puis les conservateurs.</p> <p>Pour assure la solubilité du principe actif on utilise un bain a ultrasons pendant 15 mn.</p> <p>On continue avec l'étape de finition et d'homogénéisation pour avoir notre produit fini.</p>

Tableau III.5. Formulations des émulsions (placebo et solaire)

<u>Les émulsions</u>	
La formule	La méthode
<p style="text-align: center;"><u>Emulsion placebo :</u></p> <p>24g de paraffine liquide 1g du tween 80 1g du span 80 0,5g du carbopol 980 Une solution de Trolamine à 0,5M. Eau distillée qsp 100g</p>	<p>Pesée des matières premières</p> <p>La phase gel: on disperse le carbopol dans 40g d'eau distillée sous agitation magnétique jusqu'à l'obtention d'une dispersion lisse sans agrégats. Puis on ajoute des gouttes de la solution de Trolamine sous homogénéisation jusqu'à la gélification du mélange.</p> <p>La phase aqueuse: sous agitation magnétique, on mélange 32g d'eau avec le tween 80</p> <p>La phase huileuse: Dans un bécher on solubilise le Span 80 dans l'huile de paraffine à l'aide d'un agitateur magnétique.</p> <p>Préparation de l'émulsion : on verse la phase huileuse sur la phase aqueuse, et on mélange pendant 5 min.</p> <p>Préparation de l'émulsion : on introduit l'émulsion dans la phase gel, on complète au qsp l'eau distillée, et on mélange avec l'ultra-turrax pendant 20 min jusqu'à l'obtention du produit final.</p>
<p style="text-align: center;"><u>Emulsion solaire :</u></p> <p>24g de paraffine liquide 1g du tween 80 1g du span 80 0,5g du carbopol 980 40g d'eau distillée 1g des furocoumarines 2 gouttes de l'huile essentielle de la lavande L'hydrolat de la lavande qsp 100g Une solution de Trolamine à 0,5M. 5 ml d'éthanol 5 ml de DMSO</p>	<p>La phase gel : elle est identique à celle de l'émulsion placebo.</p> <p>La phase aqueuse: dans un bécher, on mélange le tween80 avec 22g d'hydrolat de lavande. Dans un autre bécher, on solubilise, à l'aide d'un bain à ultrasons les furocoumarines avec l'éthanol, puis on ajoute le DMSO. On mélange tout les composants pour obtenir une seule phase aqueuse.</p> <p>La phase huileuse: dans un bécher, on mélange la paraffine liquide, le Span 80 et l'huile essentielle de lavande.</p> <p>Préparation de l'émulsion : on verse la phase huileuse sur la phase aqueuse, et on mélange pendant 5 min.</p> <p>Préparation de l'émulsion : on introduit l'émulsion dans la phase gel, on complète au qsp l'hydrolat de la lavande, et on mélange avec l'ultra-turrax pendant 20 min jusqu'à l'obtention du produit final.</p>

III.2.2.2. Etude de stabilité de l'émulsion solaire

a. Mesure de pH

La mesure de pH a été réalisée avec un pH-mètre HANNA INSTRUMENTS/ HI 2210 menu d'une électrode pour produits visqueux.

b. Microscope Optique

La microscopie optique est une technique très utile pour l'étude des émulsions. Elle constitue un excellent moyen pour suivre la stabilité de ces systèmes lors du vieillissement. Elle permet d'avoir une idée sur la taille des gouttelettes internes souvent de l'ordre du micromètre. L'analyse microscopique de produit formulé a été effectuée à l'aide d'un microscope optique OPTIKA MICROSCOPES menu d'une caméra.

c. Centrifugation

Le produit est centrifugé à 3000 rpm pendant 15 minutes avec une centrifugeuse Pro-Analytical by Centurion Scientific Ltd, pour vérifier la crémation ou la séparation des phases. Ce test est utilisé pour évaluer la stabilité physique.

d. Test de rhéologie

Ce test se fait à l'aide d'un rhéomètre Anton Paar MCR 302 / Julabo F12. Il est capable de faire des mesures relatives à la rhéologie d'un fluide (la viscosité, la rigidité, dureté, l'écoulement...), en appliquant un cisaillement à l'échantillon. Les mesures du comportement rhéologique sont importantes non seulement pour évaluer la stabilité physique du produit, mais elles sont en même temps des indicateurs des paramètres de type qualité du système.

III.2.2.3. Détermination du SPF de l'émulgel solaire

Le SPF de l'émulgel solaire a été déterminé selon le protocole de détermination de Mansur [38]. Après plusieurs tests de validation de la méthode de mesure avec des produits solaires commerciaux avec différents SPF.

On pèse 1g de l'émulgel solaire, on le transfère dans une fiole jaugée de 100 ml diluée au volume avec de l'éthanol et on le met dans le bain ultrason pendant 5 min pour la solubilisation de l'émulgel. Ensuite on filtre sur coton, rejetant les dix premiers ml.

Avec une pipette graduée on prélève 5 ml dans une fiole jaugée de 50 ml et on dilue au volume avec de l'éthanol. Après ça, on dilue 5/25 ml soit 5 ml a été transférée dans une fiole jaugée de 25 ml et le volume a été complété avec de l'éthanol.

Les spectres d'absorption des échantillons en solution ont été obtenus grâce à l'appareil UV, dans la gamme de 290 à 450 nm en utilisant une cellule de quartz de 1cm et de l'éthanol

comme blanc. Les données d'absorption ont été obtenues dans la plage de 290 à 320 nm, tous les 5 nm suivies de l'application de l'équation de Mansur [38].

La formule du calcul du SPF est la suivante :

$$\text{SPF}_{\text{Spectrophotometric}} = \text{CF} \times \sum_{290}^{320} (\lambda) \times I(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

CHAPITRE IV

RESULTATS ET DISCUSSIONS

IV.1.1. Caractérisations physiques des furocoumarines

a. Propriétés organoleptiques

Les furocoumarines obtenues des différentes sources présentent les caractéristiques regroupés dans le tableau (Tableau IV.1) suivant :

Tableau IV.1. Propriétés organoleptiques des furocoumarines

Sources Caractères organoleptiques	Furocoumarines pures de la rue des montagnes « Tissemsilte »	Furocoumarines pures de la rue des montagnes « Jijel »	Furocoumarines pures de la rue des montagnes « de chez l'herboriste »
Aspect	Poudre	Poudre	Poudre
Couleur	Blanche	Blanche	Blanche
Odeur	Odeur typique de la rue des montagnes	Odeur typique de la rue des montagnes	Odeur typique de la rue des montagnes

b. Rendement des furocoumarines

Le rendement est calculé selon l'équation suivante :

$$R(\%) = \left(\frac{m}{m_0} \right) \times 10^2$$

Avec :

R : rendement des furocoumarines en pourcentage.

m : masse des furocoumarines en gramme.

m₀ : masse de la rue des montagnes en gramme.

Les rendements obtenus des furocoumarines pures des trois plantes procurées des 3 sources différentes sont représentés dans le tableau (tableau IV.2) suivant :

Tableau IV.2. Rendement des furocoumarines pures

Sources de la rue des montagnes utilisé	Rue des montagnes de Tissemsilt	Rue des montagnes de Jijel	Rue des montagnes de chez l'herboriste
Masse de la Rue des montagnes (g)	42	42	42
Masse des furocoumarines obtenus (mg)	25	75	14
Rendement en (%)	0,06	0.17	0,33

D'après nos résultats, le meilleur rendement est obtenu avec la rue des montagnes de chez l'herboriste avec une valeur de 0.33 %. Ce rendement peut être dû aux quantités de graines présentent dans la plante.

Plus la plante est riche en graines, plus on a une quantité importante en furocoumarines.

Malgré la quantité obtenue, le rendement reste très faible. Cela explique que la rue des montagnes produits les furocoumarines avec des métabolites secondaire et ne peut pas produire une grande quantité, principalement la xanthotoxine, à cause de ses propriétés toxiques qui peuvent donc devenir néfaste pour elle-même.

La production des furocoumarines dépend aussi de leur milieu de culture. Lorsque la plante vit dans un environnement aride et est en contact avec des facteurs stressant, tels que les changements de température, un milieu pollué, attaques par des prédateurs ,etc, elle se défend en produisant ces substances actives pour survivre. [58]

c. Le point de fusion

Le point de fusion des furocoumarines est de 145 C° avec une fusion immédiate caractéristique de la pureté de la xanthotoxine. Presque identique à celle de la littérature de la xanthotoxine.

IV.1.2. Caractérisation chimique des furocoumarines «la xanthotoxine »

a. La spectrophotométrie UV-visible

On a obtenu ces trois graphes du spectre d'absorbance des trois différentes sources :

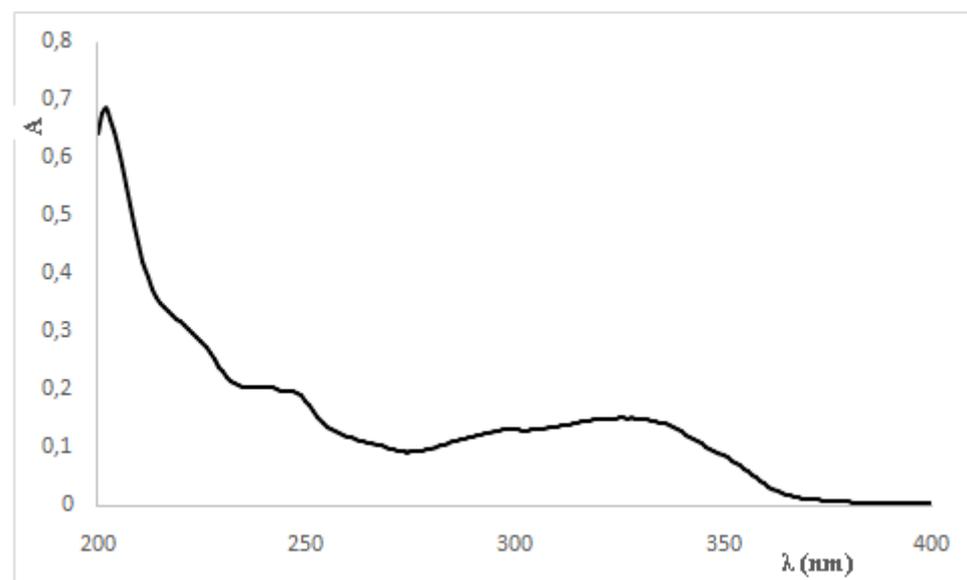


Figure IV.1. Spectre d'absorption UV de la xanthotoxine « *Ruta montana* de Tissemsilt »

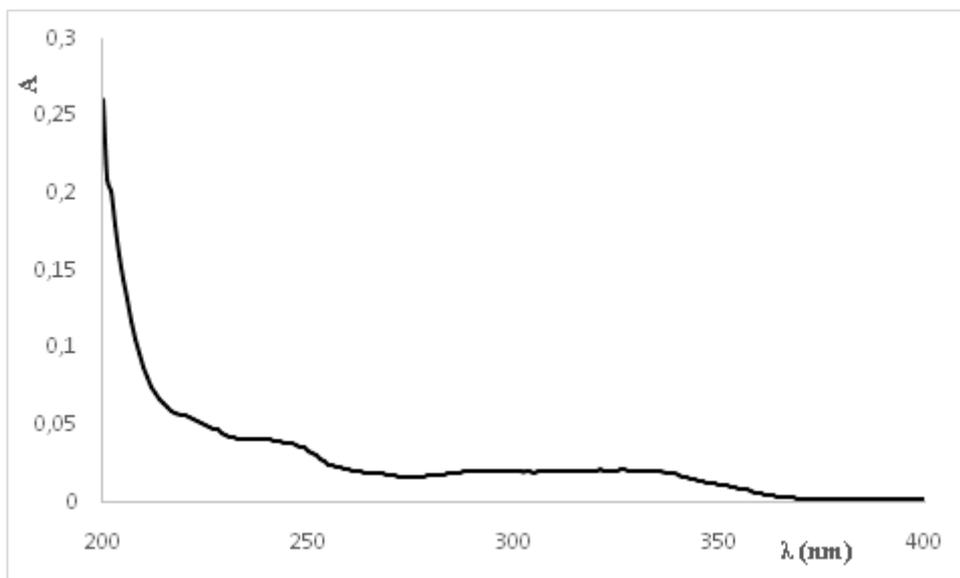


Figure IV.2. Spectre d'absorption UV de la xanthoxine « *Ruta montana* de Jijel »

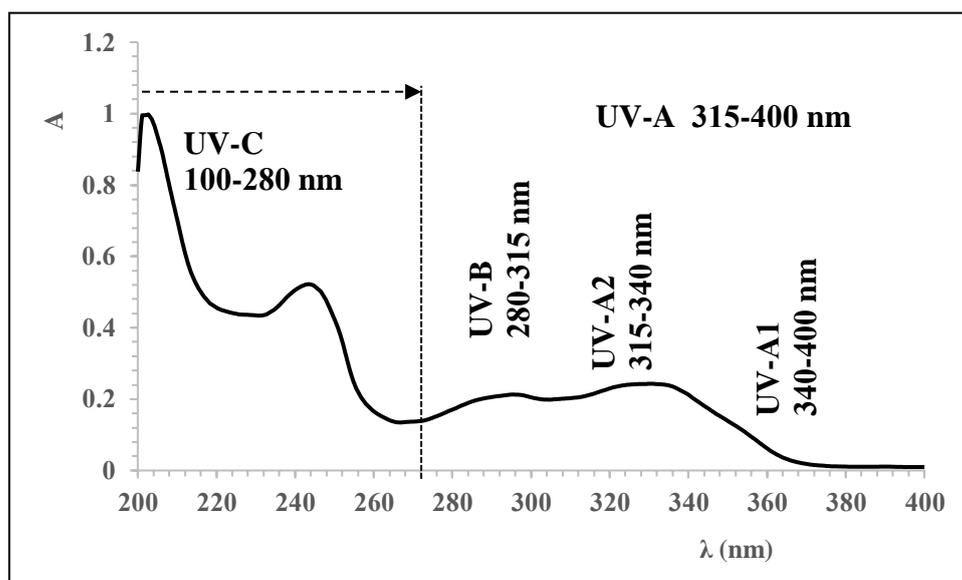


Figure IV.3. Spectre d'absorption UV de la xanthoxine « *Ruta montana* de chez l'herboriste »

Les trois graphes représentent les mêmes caractéristiques chimiques, ce qui indique que c'est le même produit « xanthoxine ». Ces derniers représentent le domaine d'absorption de l'UV de la xanthoxine des trois différentes sources.

La xanthotoxine absorbe le rayonnement dans le domaine de longueur d'onde compris entre 180 et 380 nm « UV-visible », ce qui traduit une bonne absorption dans l'UVB et dans l'UVA.

La xanthotoxine est caractérisé par un pic intense au environ de 200 nm relatif à l'excitation $\pi \rightarrow \pi^*$ des doubles liaisons (C=C), et d'un pic à 242 nm relatif à l'excitation $n \rightarrow \pi^*$ de la fonction carbonyle (C=O). Le spectre est caractérisé par un large pic de 270- 370 nm relatif au noyau benzène et au groupement chromophore (groupement d'atomes comportant une ou plusieurs doubles liaisons). La présence des groupements chromophores augmente l'absorbance dans le domaine de l'UVA et de l'UVB grâce à l'alternance de doubles et de simples liaisons.

b. Spectrophotométrie infrarouge

L'analyse infrarouge de la xanthotoxine extraite a donnée le graphe représenté dans la figure suivante (figure IV.4):

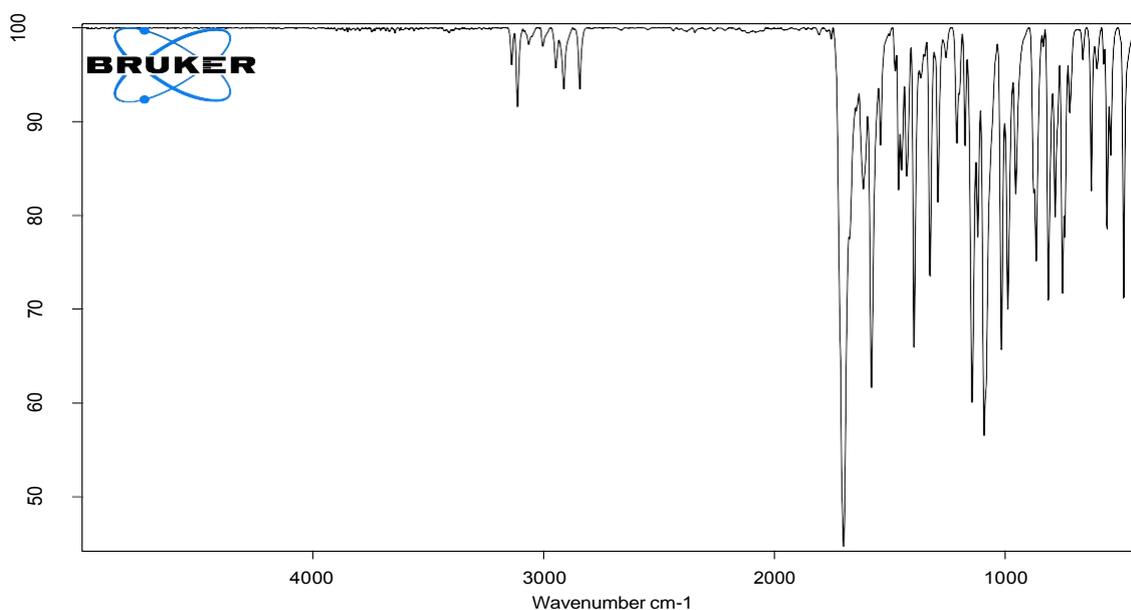


Figure IV.4. Spectre IR de la xanthotoxine

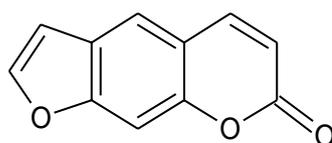


Figure IV.5. La structure chimique de la xanthotoxine

Le spectre IR analysé de la xanthotoxine est comparé avec un spectre de référence.

Les pics situés entre 2920 et 2852 cm^{-1} sont attribués aux vibrations des liaisons C-H des groupes méthyles (CH_3) et méthylènes (CH_2) sans oublier la présence d'un pic de faible intensité qui se trouve à 3005 cm^{-1} spécifique de la liaison C-H des alcènes.

Le pic le plus important de la structure de la xanthotoxine est celui qui est localisé à 1773 cm^{-1} caractéristique de la vibration de la fonction carbonyle d'une lactone. De plus, la présence d'un pic à 1636 cm^{-1} confirme la présence de la vibration de la ($\text{C}=\text{C}$).

IV.2 Formulation

IV.2.1 La crème placebo

a. Caractérisation organoleptique

La crème placebo obtenu est une crème qui est visuellement stable, avec un aspect opaque de couleur blanche caractérisé par une bonne homogénéité et d'un étalement facile.

b. Test de centrifugation

L'observation visuelle après le test indique que notre crème est stable (une bonne homogénéité) sans séparation de phases, comme est montré dans la figure ci-dessous.



Figure IV.6. Résultat du test de centrifugation de la crème placebo

IV.2.2 La crème solaire

L'observation visuelle de la crème solaire obtenu était suffisante pour dire que le produit final est instable sans test de centrifugation.



Figure IV.7. Instabilité de la crème solaire

L'instabilité de cette crème est un problème qu'on n'a pas pu régler malgré plusieurs essais de changements de la formule. Ce problème est dû principalement à la mauvaise solubilité du filtre solaire naturel (xanthotoxine) dans la phase huileuse. Pour cela, on a procédé à la préparation d'une nouvelle forme galénique : l'émulgel.

Le choix de cette forme est justifié par les nombreux avantages que cette dernière peut nous offrir, car elle regroupe les avantages des émulsions et des gels.

IV.2.3. L'émulgel placebo

a. Caractérisation organoleptique

L'émulgel placebo obtenu est stable visuellement, il a un aspect opaque de couleur blanche caractérisé par une bonne homogénéité, un étalement facile et une texture épaisse.

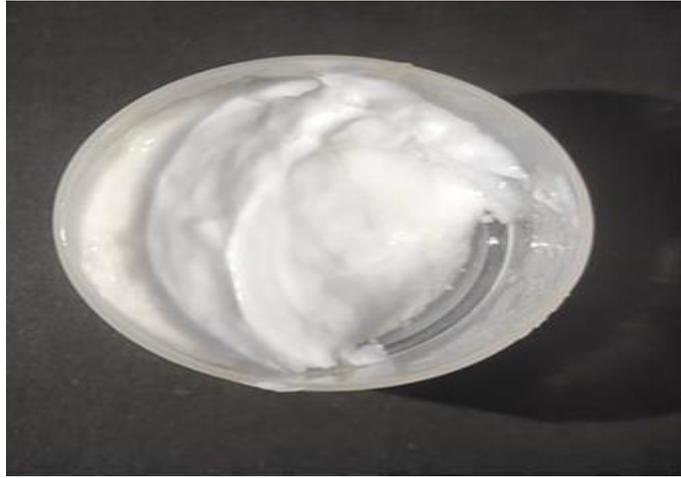


Figure IV.8. L'emulgel placebo

b. Le test de centrifugation

Ce test indique que notre émulsion est stable (une bonne homogénéité) sans séparation de phases.



Figure IV.9. Résultat du test de centrifugation de l'emulgel placebo

IV.2.4. L'emulgel solaire

a. Caractérisation organoleptique

L'emulgel solaire préparé à partir des furocoumarines comme filtre solaire, possède une texture épaisse, un aspect opaque de couleur blanche caractérisé par une bonne homogénéité et un étalement facile.



Figure IV.10. Emulgel solaire

b. Test de centrifugation

Après le test de centrifugation, on remarque que l'émulgel est toujours stable, sans séparation de phase, comme est montré dans la figure ci-dessous.



Figure IV.11. Le résultat du test de centrifugation de l'émulgel solaire

c. La mesure du pH

Le pH de l'émulgel en contact avec la peau doit se situer dans une fourchette allant de 5,5 à 6 car une peau dit normale, est légèrement acide, ce qui lui permet de développer une protection plus efficace contre les attaques naturelles et permanentes des micro-organismes.

L'émulgel solaire préparé possède un pH de 5.7 conforme aux normes établies par les recommandations relatifs aux préparations semi solides.

d. Microscope Optique

La taille des globules est appréciée par la mise au point au microscope optique (objectif x 400). Il y a des globules de taille moyenne; ce qui indique une homogénéité acceptable et un aspect homogène de système dispersé.

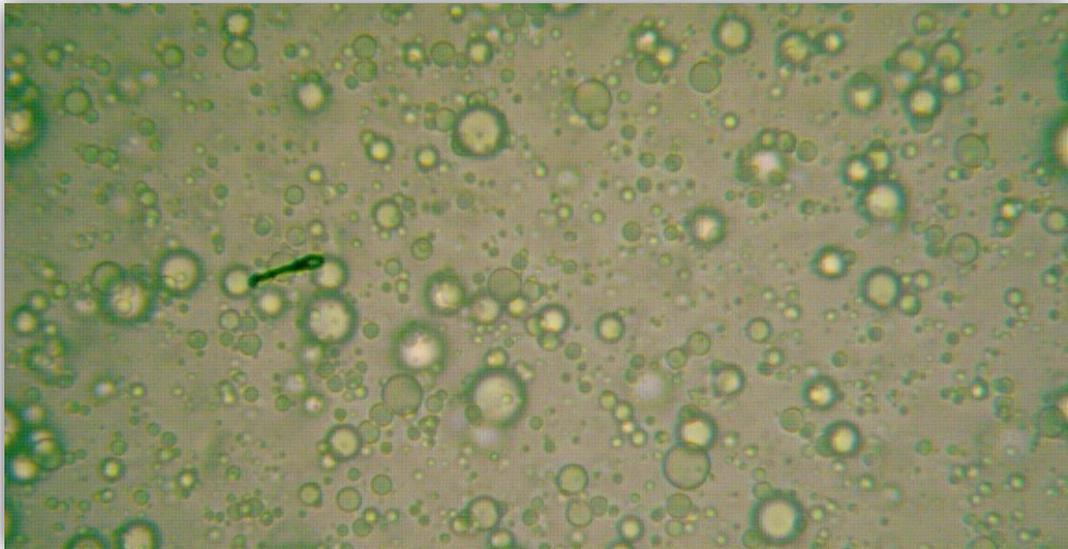


Figure IV.12. La représentation de l'émulgel solaire par microscope optique

e. Test de rhéologie

- **Test d'écoulement**

La figure IV.12 représente la courbe d'écoulement (viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement) de l'émulgel solaire et placebo.

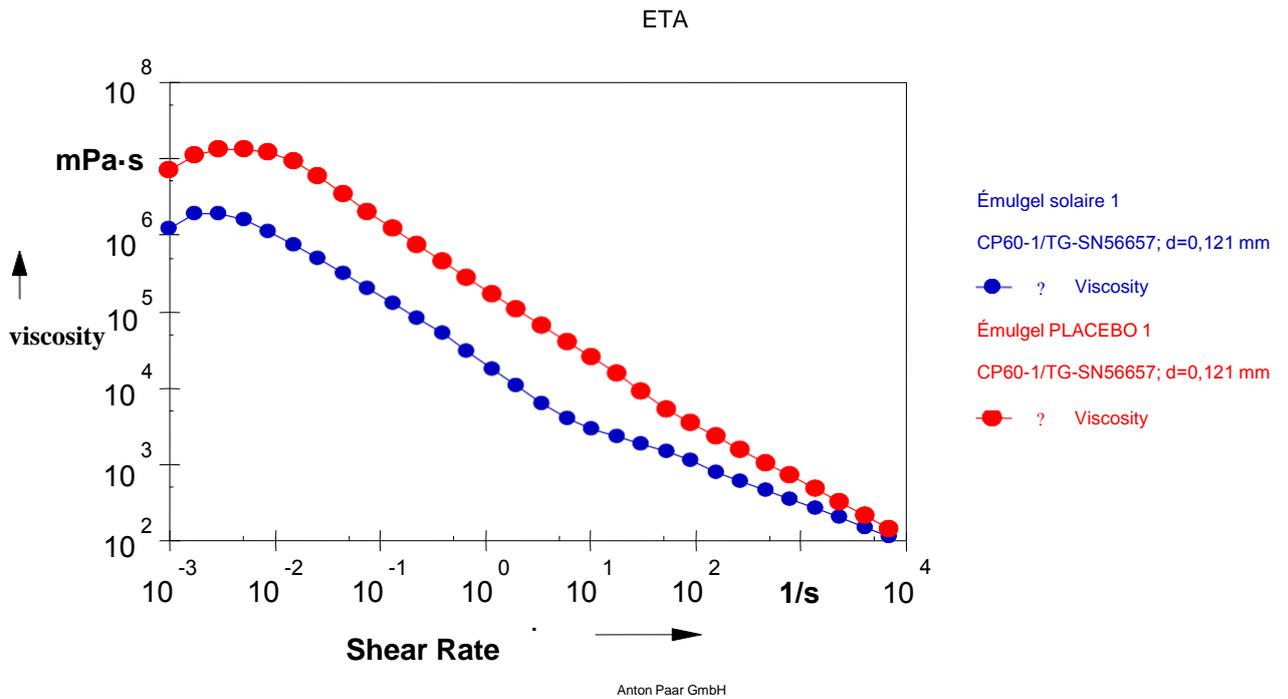


Figure IV.13. La courbe d'écoulement de l'émulgel

À la lumière de la figure précédente, il apparaît clairement la présence de deux zones distinctes : une région au comportement newtonien dans la gamme de vitesse de cisaillement très faible ($\dot{\gamma} < 0,001 \text{ s}^{-1}$), une deuxième région rhéofluidifiante s'étalant jusqu'à la valeur de vitesse de cisaillement de 10000 s^{-1} .

- **Test de viscoélasticité**

Le résultat du test de la viscoélasticité de l'émulgel solaire et placebo est représenté dans la figure IV.13 suivante

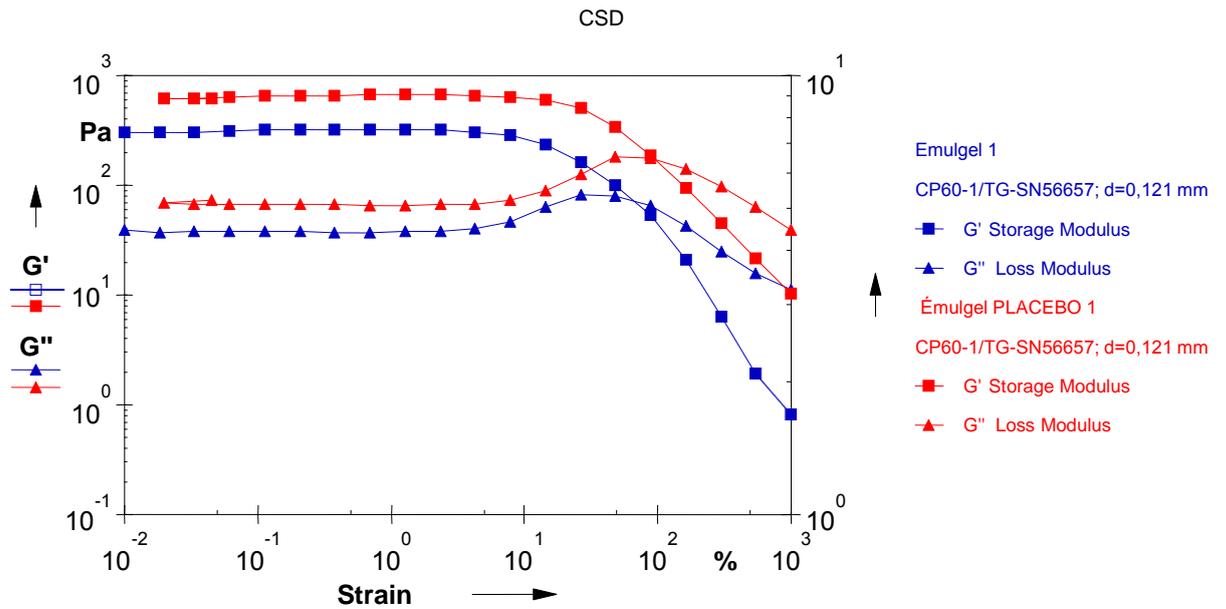


Figure IV.14. Comportement viscoélastique des émulsions (placébo ■ et solaire ▼)

G' évolue en fonction du type de l'émulsion et de la vitesse de cisaillement.

D'après l'observation de la courbe, on remarque qu'elle est divisée en trois parties :

- Tout d'abord, un régime solide élastique ($G' > G''$) pour les faibles déformations avec G'' plus ou moins constant. Le système adopte une structure de type émulsion élastique.
- Ensuite un régime de transition régime élastique-visqueux pour les déformations intermédiaires où G' décroît rapidement pendant que G'' atteint un maximum,
- Et enfin, un régime liquide visqueux ($G'' > G'$) pour les plus grandes déformations. A cause de trop grandes déformations imposées, l'émulsion se déstructure et le réseau disparaît pour laisser place à des agrégats isolés (le système s'écoule).

f. Calcul du SPF de l'émulsion solaire

Les résultats obtenus après le passage par l'appareil UV sont représentés dans le tableau ci-dessous.

$$\text{SPF}_{\text{Spectrophotometric}} = \text{CF} \times \sum_{290}^{320} (\lambda) \times I(\lambda) \times \text{Abs}(\lambda)$$

Tableau IV.3. Les résultats de l'UV de l'émulgel solaire

Les longueurs d'ondes λ (nm)	Les absorbances
290	0.2155
295	0.2386
300	0.2576
305	0.2752
310	0.2763
315	0.2722
320	0.2561

Après calcul, le SPF de l'émulgel solaire formulé est égale à **26**.

Il existe 4 niveaux de SPF [41]:

- de 6 à 10 = protection faible,
- de 15 à 25 = moyenne,
- de 30 à 50 = haute,
- 50 et + = très haute. Chaque indice solaire correspond à un pourcentage d'UVB bloqués.

Donc, on peut dire qu'à partir d'un SPF 6, un produit peut posséder une activité protectrice des radiations UV.

L'émulgel solaire préparé avec uniquement 1% de filtre solaire (xanthotoxine) et qui possède un SPF 26, peut être utilisé comme un produit de protection contre les radiations UV du soleil. La protection qu'il va procurer sera située entre une moyenne et une haute protection.

Une étude comparative est suffisante pour dire que la quantité du filtre solaire organique naturel (xanthotoxine) utilisée dans la préparation de l'émulgel, est faible (1%) par rapport à

celle utilisée dans les produits solaires disponible sur le marché comme l'indique le tableau suivant (tableau IV.3).

Tableau IV.4. Les concertations de certains filtres organiques dans les produits solaires [5]

Le filtre	La concentration maximale d'utilisation dans les produits cosmétiques
PABA	5 %
l'octocrylène	10 %
avobenzone	5%
L'homosalate	10 %
L'octyl salicylate	5 %
les dérivés du benzimidazole	8 %.

D'autres tests peuvent éventuellement être réalisés sur l'émulgel solaire, tel que le test de rhéologie en étudiant la viscosité en fonction de la température et les analyse microbiologiques.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Un fort photosensibilisant qui est la xanthotoxine a été isolé de la rue des montagnes récoltés à différents stades a différent rendement. Le rendement le plus important est situé dans les graines de la rue.

Le produit obtenu a été identifié par différentes méthodes de caractérisation. Ce dernier a été caractérisé par un large spectre d'absorption dans l'UVA et l'UVB, ce qui justifie sa photosensibilisation.

Des essais de formulation d'un produit solaire à base de xanthotoxine ont été élaborés : d'abord une crème solaire qui s'est avérée instable à cause de la mauvaise solubilité de la xanthotoxine dans la phase huileuse.

La solubilité de la xanthotoxine nécessite l'utilisation d'un solvant ou d'un mélange de solvant, elle présente une bonne solubilité dans les solvants aprotique polaire comme le DMSO qui a été utilisé par la suite mais également dans certains solvants protique polaire tel que l'éthanol [59].

Par la suite, on a opté pour une autre formulation plus stable qui est l'émulgel. La caractérisation de l'émulgel solaire a démontré sa stabilité après la centrifugation. Cette stabilité a été confirmée par l'observation microscopique qui a démontré une distribution granulométrique homogène.

L'utilisation de l'émulgel élaboré autant que produit solaire a été justifié après la détermination de l'indice de protection SPF qui été estimée de 26.

Il est recommandé de chercher d'autre sources plus riches en furocoumarines pour un rendement plus élevé.

Dans le but d'améliorer la solubilité de la xanthotoxine, il est souhaitable d'utilisé une combinaison de solvant aprotique polaire avec protique polaire tel que le diéthyl succinate et l'éthanol ou encore diisoamyl sébacate et l'éthanol.

L'ajout d'un agent filmogène à l'émulgel solaire permet un étalement plus uniforme et forme un film bien réparti sur la peau. Il donne des propriétés rhéologiques plus stables.

D'autre test de toxicités et d'irritation cutané sont indispensable à la validation de la conformité de l'émulgel.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :

- [1]. Ben Moussa. M.T. Département de pharmacie Batna Laboratoire de pharmacognosie 3^{ème} année,
http://pharmacie.univbatna2.dz/sites/default/files/pharmacie/files/cours_15_coumarine_batna.pdf.
- [2]. Matos. M. J, Santana. L, Uriarte. E, Abreu. O. A, Molina. E et Yordi E. G.
« Coumarins - An Important Class of Phytochemicals », in *Phytochemicals - Isolation, Characterisation and Role in Human Health*, A. V. Rao et L. G. Rao, Éd. InTech. 2015.
- [3]. Venugopala. K.N, Rashmi. V and Odhav. BioMedRes.Int, Review on natural coumarin lead compounds for their pharmacological activity963248. 2013.
- [4]. Miller. K.G, Poole. C.F and Pawlowski. T.M.P. *Chromatographia*, Classification of the botanical origin of cinnamon by solid-phase microextraction and gas chromatography. 42, 639–646. 1996.
- [5]. Bourgaud. F, Hehn. A, Larbat. R, Doerper. S, Gontier. E, Kellner. S and Matern. U. Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unraveled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochem. Rev*, 5, 293–308. 2006.
- [6]. Spencer. G.F, Tjarks. L.W, and Powell. R.G. Analysis of linear and angular furanocoumarins by dual-column high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 35, 803-805. 1987.
- [7]. Seigler. D.S. *Plant secondary metabolism*, Boston, MA: Springer US.1998.
- [8]. Bourgaud.F, Poutaraud. A, and Guckert. A. Extraction of coumarins from plant material (Leguminosae). *Phytochemical Analysis* 5, 127-132. 1994.
- [9]. Zagaja. M, Pyrka, Skalicka. D, Wozniak. K, Glowniak. K, Florek-Luszczki. M, Glensk. M & Luszczki. J.J. Effect of xanthotoxin (8-methoxypsoralen) on the anticonvulsant activity of classical antiepileptic drugs against maximal electroshock-induced seizures in mice.*Fitoterapia*, 105, 1–6. 2015.
- [10]. Bourgaud. F. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de LORRAINE,
« Etude de la biologie de plantes du genre psoralea (legumineuse) productrices de furocoumarines a interetpharmaceutiqur essais de cultures in-vitro ». 1990.
- [11]. Dugrand-Judek. A. Contribution à l'étude phytochimique et moléculaire de la synthèse des coumarines et furocoumarines chez diverses variétés d'agrumes du genre Citrus. 2015.

- [12]. Chappelle.A, composition based on 5, 7 dmc and bergamottin, 03/059309 A1, 2003.
- [13]. Kitamura. N, Kohtani. S and Nakagak. R. J. Photochem.Photobiol. Molecular aspects of furocoumarin reactions: Photophysics, photochemistry, photobiology, and structural analysis. C,6,168–185.
- [14]. Sasaki. M, Meguro. F, Kumazawa. E, Fujita. H, Kakishima. H and Sakata. T. Evidence for uptake of 8-methoxypsoralen and 5-methoxypsoralen by cellular nuclei. Mutat. Res.197, 51–58.2005.
- [15]. Parrish. J.A, Fitzpatrick. T.B, Tanenbaum. L and Pathak. M.A. Photochemotherapy of Psoriasis with Oral Methoxsalen and Longwave Ultraviolet Light. N.Engl.J.Med. 291, 1207–1211.1974.
- [16]. Gahalaut. P, Mishra. N, Soodan. P.S and Rastogi. M.K. Effect of Oral PUVA Sol on the Quality of Life in Indian Patients Having Chronic Plaque Psoriasis. Dermatol. Res. Pract., 291586.2014.
- [17]. Clevely. A, Richmond. K. Plantes et Herbes Aromatique, Connaitre et préparation Larousse.1977.
- [18]. Quezel. P et Santa. S. Nouvelle Flore De l'Algérie Et Des Régions Désertiques Méridionales,vol.1-2Ed.CNRS,Paris,France.1963.
- [19]. Fournier. P. Le livre des plantes médicinales et vénéneuses en France. Ed, Paul Le chevalier, tome III. Paris, pp 356-361. 1948.
- [20]. Bassard. R, Cuissance. P. Arbres et arbustes d'ornement des régions tempérées et méditerranéennes. Paris. 1981.
- [21]. Julve. Ph, Baseflor. F. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. Version 27. 2020.
- [22]. Zobel. A.M, Wang. J, March. R.E and Brown. S.A. Identification of eight coumarins occurring with psoralen, xanthotoxin and bergapten on leaf surfaces. J.Chem.Ecol, 17, 1859–1870. 1991.
- [23]. Jones. P and Vogt. T. Glycosyltransferases in secondary plant metabolism: tranquilizers and stimulant controllers. Planta, 213, 164–174. 2001.
- [24]. Robert Pierre et al. Dermopharmacologie clinique. Sainte-Hyacinthe : Edisem, 985.- 313p
- [25]. Thomas. Skin deep the essential guide to what's in the toiletries and cosmetics you use. London: Rodale, 2008.

- [26]. **Laredj Bourezg. F.** Emulsions stabilisées par des particules polymériques biodégradables : études physico-chimiques et évaluation pour l'application cutanée. LYON 1. 2015.
- [27]. Geogel. A. Pénétration transcutanée des substances actives. Application en dermocosmétologie. Thèse pour l'obtention de Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie. Université HENRI POINCARÉ - NANCY 1; 2008.
- [28]. QA International, Le corps humain comprendre notre organisme et son fonctionnement. Montréal: Québec Amérique, 2002. Consulté le: juin 17, 2021.
- [29]. Ghazi. S. Détermination par méthode in vitro de l'efficacité différents systèmes photoprotecteurs (vêtements, verres, produits solaires) Nante. 2011.
- [30]. Avril. M.F, Brodin. M, Dreno. B, Dreno. P, Gotman. A, Jeanmougin. M, Le maitre.M, Mischlich. D, Reuter. G. Soleil et peaux, bénéfiques, risque et prévention. MASSON Ed, Paris, p279. 2002.
- [31]. Marguey. M.C. Photoprotection (interne et externe). Dermatologie, 98-944-A-10,11p, 2001.
- [32]. Michalunet. M. V et Dinardo. J. C, Milady skin care and cosmetic ingredients dictionary, Fourth edition. Clifton Park, NJ: Cengage Learning, 2015.
- [33]. Site du CSP: www.admi.net/code/index-CSANPUNL.html.
- [34]. Thomas P. Skin deep the essential guide to what's in the toiletries and cosmetics you use. London: Rodale, 2008.
- [35]. Z. D. Draelose L. A. Thaman, Cosmetic formulation of skin care products, vol. 30. United States of America, 2006.
- [36]. Gerber.N. « Protection solaire - Une information de la Ligue contre le cancer », p. 32. 2017.
- [37]. M. Rousseau. « Les produits de protection solaire et leur impact sur les organismes marins », p. 115. 2020.
- [38]. E. A. Dutra, D. A. G. da C. Oliveira, E. R. M. Kedor-Hackmann, et M. I. R. M. Santoro, « Determination of sun protection factor (SPF) of sunscreens by ultraviolet spectrophotometry », Rev. Bras. Cienc.Farm. vol. 40, n° 3, p. 381- 385, sept. 2004.
- [39]. Sayre. R.M, Agin. P.P, Levee. G.J et Marlowe. E. Comparison of in vivo and in vitro testing of suncreening formulas. Photochem.Photobiol. Oxford, v. 29, p. 559-566, 1979.
- [40]. Lallier .J. P, Lacoutr. S et J. BRIAT. « Solubilisation des filtres UV », WO/101752 AI. 2015.

- [41]. Laporte. S. Thèse de doctorat Le Produit Solaire : Un Produit De Sante Harmonisation Juridique Europeene. Et Recommandations Aux Utilisateurs. Universite Joseph Fourier Faculté De Pharmacie De Grenoble .2008.
- [42]. Rocquefelte X, Goubin .F, Jo Bic. S. Anti-UV rôle, nature et recherches actuelles, Dossier Sagascience. 2007.
- [43] .Solène De Laporte. Le produit solaire : un produit de santé : harmonisation juridique européenne et recommandations aux utilisateurs. Sciences pharmaceutiques. 2008.
- [44]. Berard F. Peau et soleil. Edition Michel Servet. 2002.
- [45]. Protection solaire : le dossier qui tâche. 2007. www.satoriz.com.
- [46]. Anil .R, Phad ,Nandgude.T.D , SundaraGanapathy. R. Asian Journal of Pharmaceutics • 12 (2). S382. Apr-Jun 2018.
- [47]. Sreevidya. V.S. “An overview on emulgel”, International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research. 9 (1), pp.92-97. 2019.
- [49]. Pant. S, Badola. A, Baluni. S et Pant. W. A review on emulgel novel approach for topical drug delivery system. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 4, pp1728-43. 2015.
- [50]. Mortazavi. S.A et Aboofazeli. R. An Investigation into the Effect of Various Penetration Enhancers on Percutaneous Absorption of Piroxicam. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, pp 135-140. 2003.
- [51]. Vilasau. J, Solans. C, Gómez. M.J, Dabrio. J, Mújika-Garai. R et Esquena. J. Phase behaviour of a mixed ionic/nonionic surfactant system used to prepare stable oil-in-water paraffinemulsions. Colloids Surf. A Physicochem. Eng. Asp, 384: 473–481. 2011.
- [52]. BaibhavJ, SinghG, Rana AC, SainiS: Development and Characterization of Clarithromycin Emulgel for topical delivery. IJDDR, 2012; 4(3): 310-323.
- [53]. Patel. RP, Patel. G, Baria.A: Formulation and evaluation of transdermal patch of aceclofenac. Int. J. Drug Del, 1: 41 – 51. 2009.
- [54]. Baibhav. J, Singh. G, Rana. C, Saini. S et Singla. V: Emulgel: A Comprehensive Review on The Recent Advances In Topical Drug Delivery, International Research Journal of Pharmacy, 2(11), 66-70. 2011.
- [55]. Bourgaud. F, Hehn. A, Larbat. R, Doerper. S, Gontier. E, Kellner. S and Matern, U. Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unraveled for cytochrome P450 enzymes. Phytochem. Rev., 5, 293–308. 2006.

- [56]. Sánchez-Quiles. D & Tovar-Sánchez. A. Sunscreens as a source of hydrogen peroxide production in coastal waters. *Environmental science & technology*, 48(16), 9037-9042. 2014.
- [57]. Sabine Berteina-Raboin. « Nouveaux actifs et nouveaux ingrédients » de, Colloque Chimie, dermocosmétique et beauté. 2016.
- [58]. Vialart Guilhem. Identification et caractérisation fonctionnelle de gènes impliqués dans la voie de biosynthèse des furocoumarines chez les végétaux supérieurs. NNT : 2012LORR0390. 2018
- [59]. Doerper Sebastien. « Modification de la synthés des furocoumarines chez *Rutagraveolens*L. Par une approche de génie métabolique» Pages 41. 2008.