

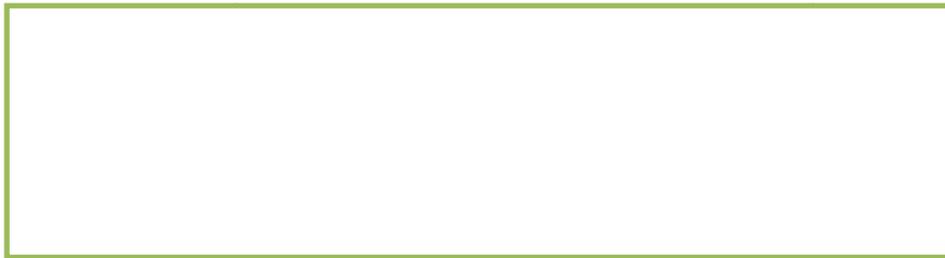
Republique Algérienne Démocratique et populaire  
Ministère de renseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université saad Dahleb de Blida  
Faculté de technologie  
Département de chimie industrielle  
Master 2 Pharmacie industrielle



Pour l'obtention d'un diplôme de  
Master professionnelle en Pharmacie Industrielle



**Par :**

**Diboune Imen**

**Encadré par :**

**M. Benaziz Ouarda**

**M. Oussena nassim**

**Année universitaire 2014/2015**

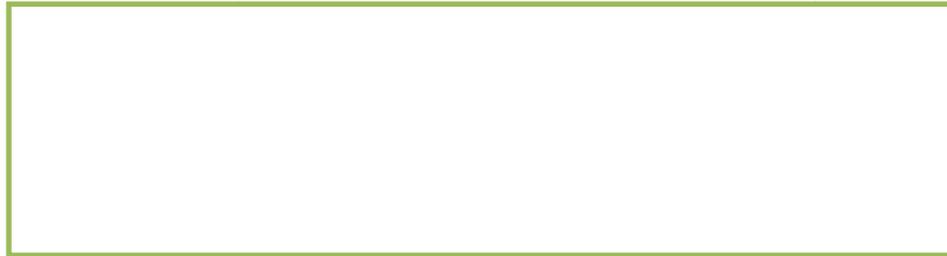
Republique Algérienne Démocratique et populaire  
Ministère de renseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université saad Dahleb de Blida  
Département de chimie industrielle  
Master 2 Pharmacie industrielle



Pour l'obtention d'un diplôme de  
Master professionnelle en pharmacie industrielle



**Par :**

**Diboune Imen**

**Encadrer par :**

**M. Benaziz Ouarda**

**Année universitaire 2014/2015**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

"وَأَوْحَىٰ رَبُّكَ إِلَى النَّحْلِ أَنِ اتَّخِذِي مِنَ الْجِبَالِ بُيُوتًا وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا  
يَعْرِشُونَ (٦٨) ثُمَّ كُلِي مِن كُلِّ الثَّمَرِ تَفَاسَلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلُلًا ۚ يَخْرُجُ مِنْ بُطُونِهَا  
شَرَابٌ مُّخْتَلَفٌ أَلْوَنُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ"

« O prophète ton seigneur a inspirée des abeilles leur mode de vie et leurs moyens de subsistances. Il leur a inspiré de prendre les cavernes des montagnes, les cavités des arbres et les treilles pour demeures (68) Puis Allah – qu’il soit exalté – leur a inspiré leur de se nourrir de tous les fruits des arbres et des plantes, il leur a rendu disponible, à cette fin, des moyens que leur seigneur leur avait préparés et rendus faciles. De leurs entrailles sort un liquide de différents couleurs, qui apporte une guérison pour les homes. Il ya dans cette chose merveilleuse des preuves évidentes de l’existence d’un créateur Tout - puissant et Sage, pour un peuple qui réfléchit pour en tirer profit et gagner ainsi un bonheur permanent » (69) Sourate El Nahl verset 68- 69).



## REMERCIEMENTS



Tout d'abord, nous remercions le Dieu, notre créateur de nos avoir donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce modeste travail.

Nous adressons le grand remerciement à notre encadreur qui a proposé le thème de ce mémoire, pour ses conseil et ses dirigés du début à la fin de ce travail.

Nous tenons également à remercier messieurs les membres de jury pour l'honneur qu'ils nos ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude à notre co-promoteur pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail et pour vos précieux conseils et remarques.

Finalement, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à nos familles qui nous ont toujours soutenues et à tout ce qui participe de réaliser ce mémoire. Ainsi que l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation.

## LISTE DES FIGURES

### PARTIE THEORIQUE

#### CHAPITRE I : MIEL

**Figure 1** : Palette des couleurs de différents miels ([www.paulstarosta.com](http://www.paulstarosta.com)).....3

**Figure 2** : Schéma représentant les effets de l'osmolarité du miel (Tomczak, 2010).....6

#### CHAPITRE II : CICATRISATION

**Figure3** : Structure de la peau, vue en coupe ([www.labmecas.uqam.ca](http://www.labmecas.uqam.ca)).....8

**Figure 4** : Evolution d'une plaie traitée par le miel de thym, réalisée au CHU de limoges (Descotes 2009).....14

### PARTIE : RESULTAS ET DISCUSSION

**Figure 5** : La viscosité en fonction de taux de cisaillement de gel formulé.....30

**Figure 6** : Surfaces des plaies en fonction de temps de rat 1 du premier lot.....31

**Figure 7** : Surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 2 du 1<sup>er</sup> lot.....31

**Figure 8** : Surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 3 du 1<sup>er</sup> lot.....32

**Figure 9**: pourcentage de réduction des surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 1 du 1<sup>er</sup> lot.....32

**Figure 10** : Pourcentage de réduction des surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 2 du 1<sup>er</sup> lot.....32

**Figure 11** : Pourcentage de réduction des surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 3 du 1<sup>er</sup> lot .....33

**Figure 12** : Surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 1 du 2<sup>ème</sup> lot.....33

**Figure 13** : Surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 2 du 2<sup>ème</sup> lot .....34

**Figure 14** : Surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 3 du 3<sup>ème</sup> lot.....34

**Figure 15** : pourcentage de réduction de surfaces des plaies chez le rat 1 du 2<sup>ème</sup> lot....34

**Figure 16**: Pourcentage de réduction de surfaces des plaies chez le rat 2 du 2<sup>ème</sup> lot ....35

**Figure 17** : Pourcentage de réduction de surfaces des plaies chez le rat 3 du 2<sup>ème</sup> lot .....35

**Figure 18**: Surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 1 du 3<sup>ème</sup> lot.....36

<b>Figure 19</b> : Surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 2 du 3 <sup>ème</sup> lot.....	<b>36</b>
<b>Figure 20</b> : Surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 3 du 3 <sup>ème</sup> lot .....	<b>36</b>
<b>Figure 21</b> : Pourcentage de réduction des surfaces des plaies chez le rat 1 du 3 <sup>ème</sup> lot....	<b>37</b>
<b>Figure 22</b> : Pourcentage de réduction des surfaces des plaies chez le rat 2 du 3 <sup>ème</sup> lot...	<b>37</b>
<b>Figure 23</b> : Pourcentage de réduction des surfaces des plaies chez le rat 3 du 3 <sup>ème</sup> lot...	<b>37</b>
<b>Figure 24</b> : Plaie traité par le miel .....	<b>38</b>
<b>Figure 25</b> : Plaie traité par madécassol® .....	<b>38</b>
<b>Figure 26</b> : Plaie traité par le gel .....	<b>38</b>

## **LISTE DES TABLEAUX**

### **PARTIE THEORIQUE**

#### **CHAPITRE I : MIEL**

**Tableau 1**: Composition moyenne des miels européens .....4

### **PARTIE EXPEREMENTALE**

**Tableau 2** : La formule qualitative de départ.....22

**Tableau 3** : Les essais de formulation.....23

ملخص :

موضوع البحث مقتبس في اطار مشروع البحث و التطوير لمجمع صيدال المتمثل في تصنيع ادوية من مواد أولية طبيعية

وفي هذا الإطار قمنا بصنع جل ضد الجروح مصنوع من العسل

في اول الامر قمنا بإجراء تحاليل فزيائية كيميائية للمواد الأولية وذلك للتحقق من مطابقتها للمعايير

وفي الأخير قمنا بإجراء تحاليل على الجرذان لدراسة فعالية الجل المصنوع على الجروح

### **Abstract :**

The theme treated is affected from the axe of research and developpement of SAIDAL group which consist on developping the Bio medicines.

In this case we have formulated a cicatrisant gel based on honey of thym.

At the first time the analysises of physico chemical of first material have been related in order to control its conformity.

And at the end the pharmacological tests have been realised for evaluating the activity cicatrised of the formulated gel.

### **Résumé:**

Le thème traité s'est inspiré de l'axe de recherche et développement du groupe SAIDAL qui consiste de développer des médicaments bio.

Dans ce cadre nous avons formulé un gel cicatrisant à base de miel de thym.

En premier temps des analyses physico-chimiques des matières premières ont été réalisées afin de contrôler sa conformité. Et à la fin des tests pharmacologiques ont été réalisés pour évaluer l'activité cicatrisante du gel formulé.

## SOMMAIRE

### INTRODUCTION

### PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

#### Chapitre I : Miel

<b>I.1. Définition</b> .....	2
<b>I .2. Elaboration de miel</b> .....	2
<b>I.3. Les différents types de miel</b> .....	3
<b>I.4. Composition chimique de miel</b> .....	4
<b>I.5. Propriétés de miel pour utilisation cutanée</b> .....	5
<b>I.5.1. Propriétés cicatrisante</b> .....	5
<b>I.5.1.1. Propriétés hygroscopique</b> .....	5
<b>I.5.1.2. Le PH</b> .....	5
<b>I.5.1.3. L'osmolarité</b> .....	5
<b>I.5.1.4. Les sucres</b> .....	6
<b>I.5.1.5. Le peroxyde d'hydrogène</b> .....	6
<b>I.5.1.6. Les vitamines et oligoélément</b> .....	7

#### Chapitre II : Cicatrisation

<b>II.1. Composition de la peau</b> .....	8
<b>II.2. Les types de plaies</b> .....	9
<b>II.2.1. Les types de premier degré</b> .....	9
<b>II.2.2. Les types de deuxième degré</b> .....	9
<b>II.2.3. Les types de troisième degré</b> .....	9
<b>II.3. Cicatrisation de la peau</b> .....	9
<b>II.3.1. Les différentes étapes de la cicatrisation</b> .....	10
<b>II.3.1.1. Hémostase primaire</b> .....	10
<b>II.3.1.2. Hémostase secondaire ou coagulation</b> .....	10

II.3.1.3. Régénération de l'épiderme .....	10
<b>II.4. Produit cicatrisant .....</b>	<b>11</b>
<b>II.5. Produit cicatrisant naturel.....</b>	<b>11</b>
II.5.1. Huiles essentiels favorisant la cicatrisation .....	11
II.5.2.Huiles végétales.....	12
II.5.3.plante cicatrisant .....	12
II.4.4.Le miel .....	12
<b>II.5. Utilisation de miel comme agent cicatrisant .....</b>	<b>13</b>

### **Chapitre III : GEL**

<b>III.1. Généralités .....</b>	<b>16</b>
<b>III.1.Définition .....</b>	<b>16</b>
<b>III .2. Types de gel .....</b>	<b>16</b>
<b>III.3. Différents gélifiants .....</b>	<b>16</b>
III.3.1Les gélifiants pour hydrogels .....	16
III.3.2Les gélifiants pour oléogels .....	17
<b>III.4 Caractéristiques des gels .....</b>	<b>18</b>

## **DEUXIEME PARTIE : MATERIELS ET METHODES**

### **Chapitre I : MATERIELS**

<b>I.1Matériels non biologique.....</b>	<b>19</b>
<b>I.2Matériel biologique .....</b>	<b>19</b>

### **Chapitre II : METHODES**

<b>II.1 Analyse physicochimique de miel .....</b>	<b>20</b>
<b>II.1.1 Identification .....</b>	<b>20</b>
II.1.1.1Chromatographie sur couche mince (CCM) .....	20
<b>II.1.2.Essai .....</b>	<b>20</b>

II.1.2.1.Indice de réfraction .....	20
II.1.2.2.La conductivité électrique .....	21
II.1.2.3.La teneur en HMF (5-hydroxy méthyl furfural).....	21
II.1.2.4.Angle de rotation optique .....	21
II.1.2.5.Test des chlorures.....	22
II.1.2.6.Test des sulfates .....	22
<b>II.2 Formulation.....</b>	<b>22</b>
II.2.1.La formule qualitative de départ .....	22
II.2.2.Procédé de fabrication .....	22
<b>II.3 Les contrôles réalisés sur le gel .....</b>	<b>24</b>
II.3.1 Contrôle des caractères organoleptiques .....	24
II.3.2 Test rhéologique .....	24
<b>II.4.Evaluation de l'activité cicatrisante .....</b>	<b>24</b>
II.4.1.Protocole d'étude de la cicatrisation chez les rats.....	24
<b>TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION</b>	
<b>I. Analyse physicochimique de miel .....</b>	<b>29</b>
<b>II. Les contrôles effectués sur le gel formulé.....</b>	<b>30</b>
<b>III. Evaluation pharmacologique de la cicatrisation .....</b>	<b>31</b>
III.1 Evaluation du processus de cicatrisation chez les rats du 1 <sup>er</sup> lot traité par le miel..	
III.2 Evaluation du processus de cicatrisation chez les rats du 2 <sup>ème</sup> lot traité par madécassol .....	33
III.3 Evaluation du processus de cicatrisation chez les rats du 3 <sup>ème</sup> lot traité par le gel à base de miel ....	35
<b>Conclusion.....</b>	<b>40</b>

## INTRODUCTION

Le miel est un aliment que l'humanité connaît depuis la nuit des temps. Les usages étaient très variés car les propriétés du miel sont nombreuses et intéressantes.

L'utilisation du miel comme cicatrisant est très ancienne. De nos jours, est très répandue à travers le monde, en France par exemple le CHU de Limoges, au niveau du service de chirurgie abdominale, utilise régulièrement le miel comme aide à la cicatrisation, il est directement appliqué sur la plaie par le biais d'une compresse préalablement imbibée.

Le miel de thym constitue un excellent auxiliaire aidant à la cicatrisation des plaies, qu'elle soit de simples coupures ou bien de plaies graves, voire même infectées. Les principes actifs de thym sont contenus principalement dans sa fleur. [1]

L'utilisation du miel brut sur une plaie a des inconvénients d'ordre pratique tel que l'effet collant, trop visqueux, difficile à nettoyer. De ce fait nous avons jugé utile de formuler un gel cicatrisant à base de miel, pour ce faire, nous avons arrêté une méthodologie de travail qui consiste à :

- I- Caractériser les matières entrant dans la formulation du gel à base de miel,
- II- Réaliser des essais de formulation,
- III- Une fois la formule arrêtée, effectuer des tests sur des rats pour étudier l'effet cicatrisant du gel à base de miel en le comparant avec une crème cicatrisante et le miel brut.

## CHAPITRE I : MIEL

### **I.1. Définition :**

La définition du miel donner dans l'annexe I de la directive européenne 2001/110/CE et du Décret n°2003-587 du 30 juin 2003 est :

« Le miel est la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou des sécrétions provenant de parties vivantes des plantes ou des excréments laissés sur celles-ci par des insectes suceurs, qu'elles butinent, transforment en les combinant avec des matières spécifiques propres, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. » [2]

### **I.2 Elaboration du miel :**

Le miel est fabriqué à partir des récoltes végétales de l'abeille, principalement à partir du nectar, mais aussi à partir du miellat, qu'elle butine sur les fleurs et les plantes.

Le nectar est une exsudation sucrée produite par les glandes de la fleur, les nectaires, qui acheminent la sève dans les fleurs pour attirer les insectes pollinisateurs et assurer ainsi la survie de l'espèce. Il est composé d'une majorité de sucres, d'eau et de substances diverses.

Le miellat, substance sucrée constituée par les excréments liquides des Homoptères (psylles, cochenilles et pucerons), peut également être récolté par les abeilles en complément ou en remplacement du nectar pour produire un miel de composition différente.

L'élaboration du miel (de nectar) commence dans le jabot de la butineuse. Dès son passage dans le tube digestif, le nectar subit ses premières transformations sous l'action d'enzymes, dont l'invertase qui hydrolyse les polysaccharides du nectar en sucres simples (transformation du saccharose en glucose et fructose).

De retour à la ruche, l'abeille butineuse transfère sa récolte à l'abeille ouvrière, qui l'absorbe puis la régurgite à son tour pour la transmettre à une autre ouvrière, et ainsi de suite. La circulation du nectar d'une abeille à une autre, par régurgitations successives, s'appelle la trophallaxie. Progressivement, le nectar se déshydrate, s'enrichit en sucres

gastriques et en substances salivaires, sa concentration en sucre augmente. C'est au terme de ces différentes étapes que le miel, nourriture principale des abeilles est synthétisée. [3]

### **I.3. Les différents types de miel :**

Il existe une innombrable variété de miels, correspondant aux fleurs et plantes visitées par les abeilles, ainsi qu'à la source récoltée (nectar ou miellat) (Figure 1).

On peut ainsi séparer les miels en deux catégories :

- Les miels mono floraux ou uni floraux aussi appelés « miels de cru » qui proviennent de façon prédominante d'une seule espèce florale ;
- Les miels poly floraux ou « miels toutes fleurs » ou « miels mille fleurs » qui résultent de la récolte des abeilles sur plusieurs espèces florales

Les miels les plus employés pour une utilisation cutanée sont le miel de thym, le miel de Lavande, le miel de châtaigner et le miel de manuka (*Leptospermum scoparium*). [4]



**Figure.1 : Palette des couleurs de différents miels [5]**

### **I.4. Composition chimique de miel :**

Le miel est un mélange biochimique complexe. Sa composition varie suivant l'origine des plantes butinée par les abeilles.

La composition moyenne d'un miel est décrite dans le tableau ci-dessous (Tableau 1) :

**Tableau I.1: Composition moyenne des miels européens. [7]**

composition	Pourcentage	Type de composés	Principaux composants
Hydrate de carbone	75 à 80 %	Monosaccharides Disaccharides Polysaccharides (1,5 à 8%)	Fructose (38%), glucose (31%)
Eau	15 à 20 %		
Substances Diverses	1 à 5 %	Acide organique (0,1 à 0,5 %)	Gluconique (0,1 à 4 %) Formique (0,01 à 0,05 %)
		Protéine, peptides et acide aminée (0,2 à 2%)	Matières albuminoïdes, matières azotées
		Vitamines	B1, B2, B3, PP, B5, B6, B8 H, B9, C
		Sel Minéraux	K, Ca, Na, Mg, Mn, Fe, Cu, Se, S, Cl, Zn, Co, B, Si, Cr, Ni, Au, Ag, Ba, P, Cs)
		(Acétylcholine)	
		Enzymes provenant du nectar	(Catalase, amylases, phosphatases acides)
		Enzymes provenant des glandes hyopharyngiennes	Amylases $\alpha$ et $\beta$ , gluco-invertase, glucose-oxydase
Arômes		Esters	Méthylantranilate, acétates, méthyléthylcétone...
		Aldéhydes et acétones	Formaldéhyde, acétaldéhyde
		Alcools	Méthanol, éthanol, isobutanol, 2 phényléthanol...
Pigments		Caroténoïdes et flavonoïdes	Flavanol, catéchine, quercétine, pinocembrine,
Lipides	Traces	Acides gras	(acide palmitique, butyrique, caprique, caproïque, valérique, oléique, linoléique)

Le miel contient approximativement 181 composés [8]. C'est un produit liquide naturel hautement sucré, avec d'autres composés en petites quantités tels que les acides aminés, les

protéines, les minéraux, les vitamines (B1, B2, C), les enzymes, les flavonoïdes, les acides phénoliques, les pigments, ainsi que des substances volatiles donnant au miel son arôme. [9]

## **I.5. Propriétés du miel pour une utilisation au niveau cutanée :**

### **I.5.1. Propriétés cicatrisantes :**

#### **I.5.1.1. Propriété hygroscopique :**

Le miel a tendance à absorber l'humidité de l'air. En effet, grâce à ses propriétés

Hygroscopiques, en partie dues au fructose, le miel génère un milieu humide permettant l'hydratation de la peau qui peut être favorable au processus de cicatrisation.

En application sur une plaie, le miel contribue à la première étape de la cicatrisation. En effet, la détersion en milieu humide permet de solliciter la flore bactérienne normalement présente sur la peau ainsi que les enzymes protéolytiques qui sont capables d'éliminer les débris nécrotiques et/ou fibrineux [10]. Sur une plaie, le milieu humide a également d'autres avantages : il réduit la douleur, protège la plaie, favorise la formation du tissu de granulation et l'épithélialisation [11].

#### **I.5.1.2. Le pH acide :**

Le pH du miel, variant entre 3 et 6, permet de maintenir des conditions optimales pour l'activité fibroblastique. En effet, la migration et la prolifération des fibroblastes, ainsi que la synthèse de collagène sont optimales dans un environnement légèrement acide. [12]

#### **I.5.1.3. L'osmolarité :**

Le miel est une solution saturée ou sursaturée de sucres, les principaux étant le glucose et le fructose [13]. Il possède donc une osmolarité élevée, liée à sa forte concentration en sucres, qui lui confère une partie de ses propriétés thérapeutiques. L'effet osmotique permet de drainer le plasma et la lymphe (qui peuvent contenir des éléments favorisant la reconstitution cutanée) à partir des tissus sous-jacents. De plus, l'osmolarité du miel favorise l'exsudation et donc la diminution de l'œdème au sein de la plaie [14]. Enfin, l'effet osmotique du miel favorise un milieu humide qui facilite les différentes étapes de la cicatrisation (Figure 2).

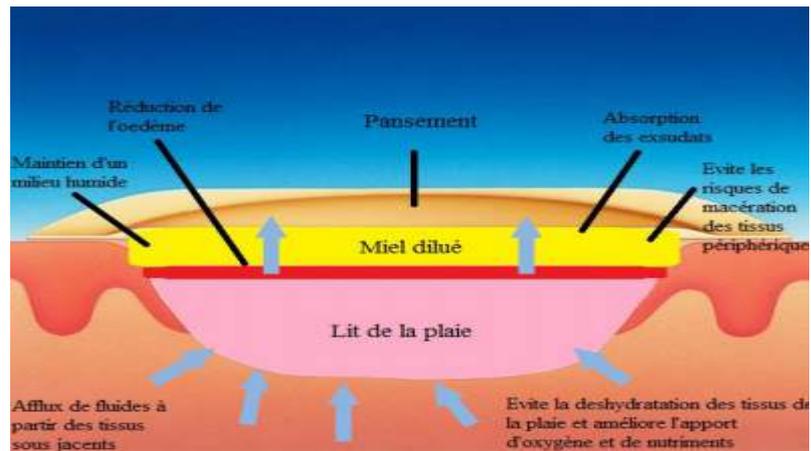


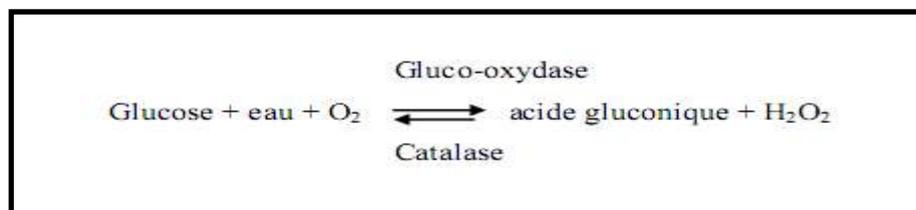
Figure.2 : Schéma représentant les effets de l'osmolarité du miel [14]

#### I.5.1.4. Les sucres :

Les sucres et notamment le lévulose et le fructose présents dans le miel améliorent localement la nutrition de la plaie et donc accélèrent le processus d'épithélialisation. Les cellules (macrophages, fibroblastes ...) impliquées dans le processus de cicatrisation trouvent grâce à ces sucres une source d'énergie supplémentaire qui contribue à leur bon fonctionnement [15].

#### I.5.1.5. Le peroxyde d'hydrogène :

Le peroxyde d'hydrogène est produit par réaction enzymatique. En effet, la glucose-oxydase, sécrétée par les glandes hyopharyngiennes de l'abeille, transforme le glucose en présence, d'eau et d'oxygène, en peroxyde d'hydrogène et acide gluconique, selon la réaction suivante :



Encore appelée eau oxygénée, le peroxyde d'hydrogène joue un rôle dans la détertion des plaies. Lorsqu'il est en contact avec des tissus et du sang, il se décompose en eau et oxygène ce qui crée une « microeffervescence » et un nettoyage mécanique de la plaie. [16]

Il apparaît également que le peroxyde d'hydrogène stimule la multiplication cellulaire et favorise une évolution normale de l'inflammation au cours de la cicatrisation. Il stimule notamment la croissance des fibroblastes et des cellules épithéliales qui vont participer à la réparation tissulaire. Dans le même temps, il stimule également le développement d'une néovascularisation dans le tissu cicatriciel. [17]

#### **I.5.1.6. Vitamines et oligoéléments :**

Les vitamines du groupe B stimulent la régénération cellulaire et contribuent à l'hydratation de la peau.

L'acide pantothénique ou vitamine B5 stimule la croissance cellulaire, et de ce fait réduit le temps de cicatrisation des plaies et favorise la granulation au niveau des lésions.

L'acide ascorbique ou vitamine C stimule la synthèse de collagène et ainsi améliore le micro relief cutané. [18]

Les oligoéléments jouent aussi un rôle important à différents stades de la cicatrisation.

Le zinc, le cuivre et le manganèse agissent lors de l'épidermisation sur la phase de migration active des kératinocytes en modulant l'expression des protéines d'ancrage, les intégrines

Le calcium intervient dans la différenciation de l'épiderme.

Le magnésium joue un rôle dans l'adhésion et la migration cellulaire, phénomènes importants pour générer le tissu de granulation (futur derme), ainsi que dans l'adhésion des cellules de l'épiderme à la jonction dermo-épidermique via les intégrines.

Le silicium est indispensable pour la synthèse des fibres de collagène et d'élastine de la peau.

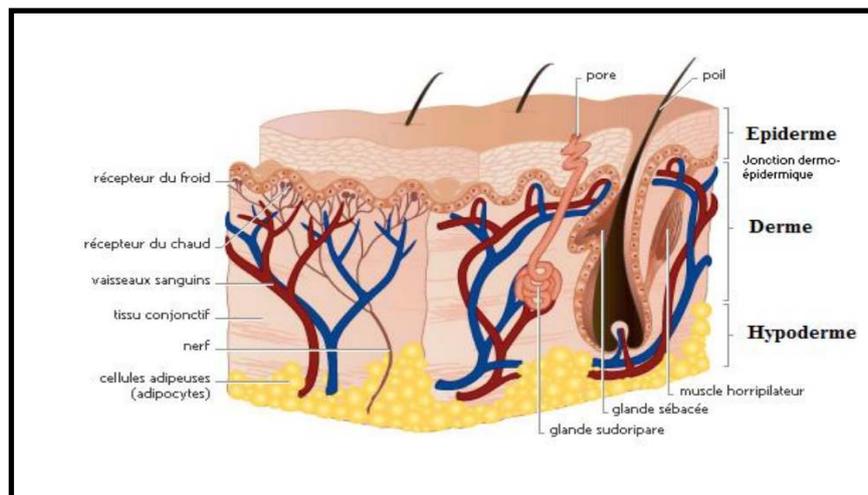
La présence des vitamines et des oligoéléments augmente donc les propriétés cicatrisantes du miel. [19]

## II. 1.Composition de la peau :

la peau, véritable barrière entre l'organisme et le milieu extérieur, pèse environ 4,5kg et représente une surface de 1,8 m<sup>2</sup> chez un adulte [20]

Bien plus qu'une simple enveloppe qui recouvre notre corps, il s'agit d'un organe d'investissement aux fonctions multiples, ayant une architecture complexe (Figure3). Sur un plan structurel la peau est constituée de quatre couches superposées :

- l'épiderme : la couche la plus externe, très fine mais très résistante. Il sert d'isolant et permet de bloquer l'entrée de la plupart des bactéries, des substances toxiques et empêche également les liquides vitaux de s'échapper comme le sang ou la lymphe.
- la jonction dermo-épidermique, qui sépare l'épiderme du derme ;
- le derme : couche intermédiaire, il contient beaucoup de fibres mais peu de cellules. Ces fibres de collagènes assurent la résistance et l'élasticité de la peau.
- l'hypoderme : couche la plus profonde, c'est un amoncellement de cellules graisseuses. Cette couche permet d'amortir les chocs, de protéger du froid et contient la plus grande réserve d'énergie de notre corps.[21]



**Figure 3 : Structure de la peau, vue en coupe. [22]**

## II.2. Les types de plaies :

### **II.2.1. Les plaies du premier degré :**

Les blessures de premier degré ne concernent que l'épiderme. Elles se manifestent par une suppression des kératinocytes situés à la surface de la plaie, l'épiderme se trouve alors plus ou moins aminci. Elles ne sont douloureuses que quelques jours et le pronostic évolutif est rapidement favorable.

Ces lésions proviennent la plupart du temps d'une légère brûlure, d'un coup de soleil ou d'une petite abrasion. [23]

### **II.2.2 Les plaies du deuxième degré :**

Les blessures du second degré sont caractérisées par la destruction de l'épiderme, de la membrane basale et d'une partie du derme.

La blessure ayant touché les corpuscules basaux, les vaisseaux et d'autres cellules importantes, les terminaisons nerveuses des douleurs s'activent. Les blessures du second degré sont donc souvent très douloureuses. Ce type de blessure est généralement causé par une brûlure importante, une abrasion de la peau ou une coupure.[24]

### **II.2.3 Les plaies du troisième degré :**

Les blessures de troisième degré sont les plus graves, elles se manifestent par une destruction complète de l'épiderme et du derme avec bien souvent atteint de l'hypoderme. Ces lésions sont très graves car de nombreuses structures sont touchées et bien souvent détruites. Ces blessures résultent dans la majorité des cas d'une brûlure importante, d'une coupure ou abrasion profonde. [25]

### **II.3. Cicatrisation de la peau :**

La cicatrisation est un processus de réparation tissulaire imparfaite qui aboutit à une cicatrice fibreuse.

L'épiderme guérit par régénération, grâce au renouvellement naturel des kératinocytes. Le derme guérit par réparation, le tissu d'origine étant remplacé par un nouveau tissu non spécifique avec formation d'une cicatrice.

Dès qu'une lésion atteint le derme, les vaisseaux sanguins sont endommagés. Il se produit alors un épanchement de sang dans la plaie. Afin de refermer la blessure et limiter les pertes sanguines, de nombreux mécanismes visant à stopper ou retenir l'hémorragie se mettent en

place : on nomme l'ensemble de ces mécanismes l'hémostase. Cette hémostase est précédée d'un phénomène d'inflammation.[26]

### **II.3.1. Les différentes étapes de la cicatrisation :**

#### **II.3.1.1. Hémostase primaire :**

Lorsqu'il y a une brèche dans un vaisseau sanguin, la première mission est de boucher cette brèche. Ce sont principalement les plaquettes du sang et le fibrinogène qui vont entrer en action afin de colmater la brèche en formant le clou plaquettaire.[27]

#### **II.3.1.2. Hémostase secondaire ou coagulation :**

En entraînant la formation d'un caillot, la coagulation permet que le saignement consécutif à une blessure soit endigué. Ce processus est la conséquence d'un enchaînement de réactions chimiques impliquant divers substrats et enzymes plasmatiques. Il met en jeu un certain nombre de facteurs qui interviennent dans cette chaîne de réactions. Ces interactions complexes ont pour résultat de transformer une protéine soluble, le fibrinogène, en une protéine insoluble, la fibrine, qui forme l'armature du caillot.

Ce processus d'activation des facteurs dure environ 6 minutes, dont 20 secondes pour la formation de la thrombine et 3 secondes pour la fibrine. [28]

#### **II.3.1.3. Régénération de l'épiderme :**

Le nouvel épiderme se régénère de la périphérie de la plaie vers le centre, avec un avancement inégal de la maturation. Ainsi, l'épiderme pourra avoir retrouvé son épaisseur et sa structure d'origine en marge de la plaie, alors qu'au centre il pourra n'être composé que de quelques cellules encore désorganisées et sans membrane basale.

Les cellules encore immatures présentent un arrangement irrégulier. Progressivement, elles se réorganisent en couches et l'espace entre les cellules de l'épiderme diminue. Le caillot sanguin tombe ou disparaît peu à peu, repoussé par des kératinocytes et dégradé par diverses enzymes, exposant à l'air libre un épiderme déjà épais qui reprend peu à peu ses caractéristiques normales. La régénération de l'épiderme est longue et dépend du type de blessure. [29]

## **II.4. Produit cicatrisant :**

- Pommade ou gel cicatrisant :

Ialugen® FamilyCica Soin réparateur, Cicatridine® crème, Epithéliale® A.H A-Derma, CicabioBioderma®, Cicaplast B5®, Hyaluzinc®, Lutsine® Cicamosa, Madécassol®, Porphyral®...

- Gel de silicone ou pansement siliconé :
  - Pansements siliconés :

Cereplas® Cerederm Pansements silicone, Elastoplast® Réducteur de cicatrice, Mepiform, Tricosteril® pansements réducteurs de cicatrices...

- Gels siliconés :

BepanthenCica®, Epitact® cicatrice hypertrophique chéloïde, Kelo-Cote®, Cerederm gel...

Inconvénients :

Ce sont des composés cent pourcent chimiques

La cicatrice se pigmente au soleil. [30]

## **II.5. Produits cicatrisants naturels :**

### **II.5.1. Huiles essentiels favorisant la cicatrisation :**

- La lavande officinale :

C'est l'huile essentielle la plus utilisée car elle est polyvalente, non toxique et bien tolérée par la peau même chez les plus jeunes

- L'hélichryse italienne :

L'hélichryse italienne a des propriétés anticoagulante, anti-inflammatoire, cicatrisante.

- Elle ne doit pas être utilisée chez le patient sous anti coagulant.
- Neurotoxique (cétone), il faut éviter d'utiliser en interne.

- Le géranium rosat :

Le géranium rosat a des propriétés hémostatiques en application locale. Elle est aussi antalgique, antibactérienne, anti-inflammatoire et tonique à astringentes cutanée.

- Cette huile est déconseillée dans les trois premiers mois de grossesse.

- La gaulthérie couchée :

La gaulthérie couchée est un puissant anti-inflammatoire. Elle est particulièrement intéressante pour les cicatrices enflammées types chéloïdes ou hypertrophiques.

- Diluée à 20% dans une huile végétale car elle est démoistrique à l'état pur.[31]

### **II.5.2. Huile végétale :**

- l'amande douce :

L'amande douce a des propriétés cicatrisante, anti inflammatoire et améliore la fonction barrière et la protection de la peau.

- L'argan :

L'argan a des propriétés cicatrisante, anti inflammatoire et améliore la fonction barrière et la protection de la peau.

Inconvénients :

- Allergisante chez les personnes sensibles aux fruits à coques.[32]

### **II.5.3. Plantes cicatrisantes :**

- l'aloévera :

C'est un ingrédient naturel. Elle donne à la peau un pouvoir de régénération de par la présence de ses constituants (polysaccharides immunostimulants, lectines, glycoprotéines antibradycinine, mannose-6 phosphate cicatrisant, 18 acides aminés dont 7 des 8 essentiels, vitamine B12).

- Romarin :

C'est un ingrédient naturel, accélère le processus de régénération tissulaire.

- L'herbe de tige :

Cette plante, de par la présence d'acide madécassique, améliore le processus de cicatrisation des plaies en stimulant la production de collagène et de fibronectine.[33]

### **II.5.4. Le miel :**

Le miel serait un topique désinfectant et cicatrisant. Il réduit rapidement l'inflammation, diminue la douleur, réduit les tissus nécrosés.

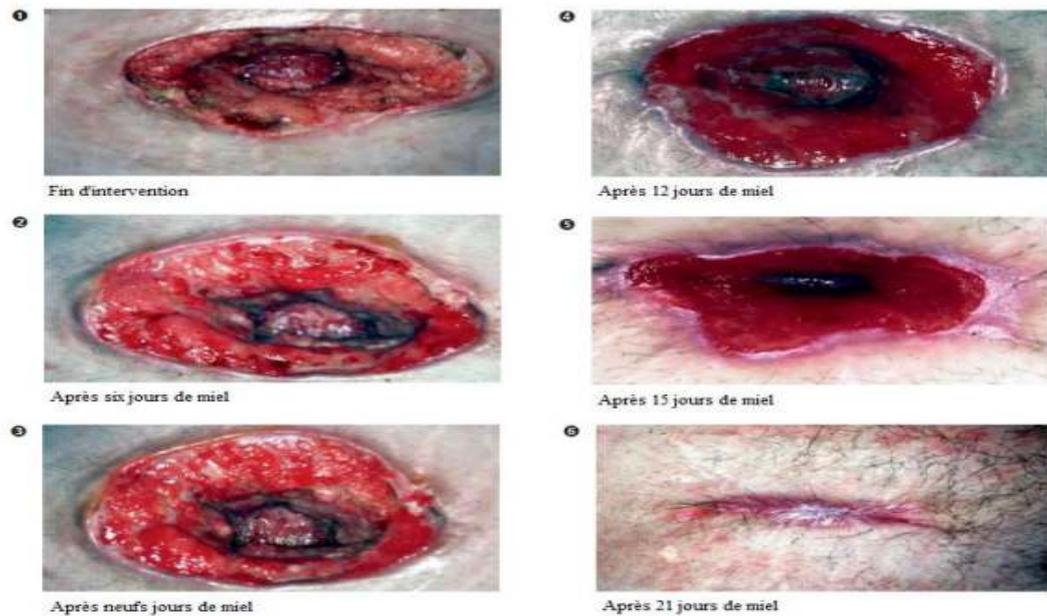
L'équipe du Pr Descottes au CHU de Limoges a utilisé du miel de thym de façon randomisée sur différents types de plaies et dans 90% des cas, la fermeture des plaies a été rapide (14 jours en général).

Le miel a une action cicatrisante. De par sa composition, le miel améliore la synthèse des mucopolysaccharides présents dans le tissu conjonctif. De par sa richesse en flavones et flavonoïdes, le miel participe à la régénération des épithéliums.[34]

## **II.6.Utilisation de miel comme agent cicatrisant :(l'expérience du CHU de limoges) :**

Depuis plusieurs années, le CHU de Limoges utilise le miel comme cicatrisant des plaies. En effet, de 1984 à 2009, l'équipe du Professeur Bernard Descottes, chef du service de chirurgie générale B au CHU et fondateur de l'Association Européenne d'Apithérapie, a utilisé le miel de thym sur 3012 patients pour traiter des lésions diverses (ulcères, escarres, brûlures...), des kystes sacro-coccygiens, des fermetures pariétales après ablation de stomies (iléostomie ou colostomie) et des désunions chirurgicales. Durant la période de l'étude expérimentale, la surface et le volume des plaies prises en charge ont été enregistrés permettant ainsi une étude randomisée, réalisée en 1988. Elle comparait la vitesse de cicatrisation du miel à celle de la BIOGAZE® et du DEBRISAN® pour des plaies de taille égale en moyenne à 8,5 cm<sup>2</sup> (Descottes, 2009). La BIOGAZE® est un pansement gras protecteur composé d'une compresse imprégnée d'huile essentielle de niaouli et de thym, et de lanoline. Le DEBRISAN® dextranomère est un pansement osmotique utilisé pour la détersion des plaies chroniques existant sous forme de poudre ou de pâte (Rossant, 2011). Cette étude a permis de mettre en évidence une vitesse de cicatrisation beaucoup plus importante avec le miel (0,78 cm<sup>2</sup> par jour) qu'avec les autres traitements (0,39 cm<sup>2</sup> par jour pour la BIOGAZE® et 0,47 cm<sup>2</sup> par jour pour le DEBRISAN®). La durée moyenne de cicatrisation était de 21 jours pour des plaies non infectées et de surface inférieure ou égale à 10 cm<sup>2</sup>, contre 75 jours pour des plaies supérieures ou égales à 30 cm<sup>2</sup>.

La figure ci-dessous (Figure 4) correspond au suivi de la cicatrisation d'une plaie chirurgicale (ablation d'une colostomie latérale gauche) traitée par le miel. On assiste progressivement à une détersion de la plaie, suivie du développement rapide d'une néo vascularisation, et d'une prolifération fibroblastique aboutissant à la constitution de bourgeons cicatriciels qui viendront combler l'ensemble de la perte de substance. Enfin, l'épithélialisation se fait de la périphérie vers le centre de la plaie (Descottes, 2009).[35]



**Figure. 4 : Evolution d'une plaie traitée par le miel de thym, réalisée au CHU de limoges [36]**

Durant 25 ans d'expérience, le miel a permis une cicatrisation complète, satisfaisante esthétique dans 98 % des cas pris en charge. De plus, le miel a montré que son application dans les plaies n'était pas douloureuse, voire entraînait une réduction partielle de la douleur. [36]

Un essai clinique mené par l'université de Liverpool, dont les résultats ont été publiés en mars 2006 a testé l'efficacité d'onguents de miel sur 105 patients atteints d'ulcération de jambes. Chez les patients traités avec de miel, le taux de guérison à 12 semaines était de 46% contre 34% chez les patients suivant les traitements conventionnels.

Des chiffres sensiblement équivalents 44% contre 33% chez les patients traités par des compresses hydrogel, ont été obtenus dans un autre essai clinique en Irlande. [ 37]

Ces résultats, très satisfaisants, ont encouragé l'utilisation du miel comme agent cicatrisant. Mais ses préparations utilisées dans les hôpitaux ont subi des stérilisations par irradiation aux rayons gamma.

Au point de vue économique le miel est un produit chère, donc il est préférable de le formuler avec d'autres excipients dont le but de diminuer la quantité de miel utilisée en gardant les mêmes propriétés cicatrisantes et l'efficacité et son utilisation devrait être plus pratique et la meilleure forme pour le miel qui réserve ses propriétés c'est la forme gel à cause de ses propriétés chimiques, physiques et rhéologiques. Et c'est le but recherché dans notre travail « la formulation d'un gel cicatrisant à base de miel ».

## CHAPITRE III : GEL

### III.1 Généralités :

Les gels sont des réseaux tridimensionnels constitués par une faible quantité (0,1 à 10%) d'une substance dans l'eau ou un autre solvant est retenue. Ils peuvent ainsi être obtenus à l'aide de tensioactifs, d'émulsion, de suspensions ou de polymères.

### III.2. Définition :

Les gels sont en fait des états intermédiaires entre l'état solide et l'état liquide. L'origine de la dénomination gela été attribuée à T. Graham vers 1850.

II

est formé de polymère réticulé par des liaisons transversales formant un réseau immergé dans un milieu liquide (solvant).[38]

### III.3. Les Types de gel :

Selon la Pharmacopée européenne, les gels sont des liquides gélifiés à l'aide d'agents gélifiants.

- les gels lipophiles, les excipients sont habituellement la paraffine liquide additionnée de polyéthylène ou des huiles grasses gélifiées par de la silice colloïdale ou des savons d'aluminium ou de zinc.
- les gels hydrophiles, l'excipient est habituellement de l'eau, du glycérol ou du polyéthylène glycol gélifiés par des poloxamères, de l'amidon, des dérivés de la cellulose, des carbomères ou des silicates de magnésium-aluminium On parle d'hydrogels si la phase liquide est l'eau et d'oléogels si elle est huileuse.[39]

### III.3 Différents gélifiants :

#### III.3.1 Les gélifiants pour hydrogels :

Les gels hydrophiles sont formulés principalement grâce à 3 grandes catégories de gélifiants :

- Les carbomères (environ 50% de gels) :  
Ce sont des polymères synthétiques, définis par la pharmacopée européenne comme des « polymères d'acide acrylique de masse moléculaire élevée, réticulés

avec les éthers polyacétyliques de sucres ou de polyalcools ». Deux types de carbomères sont utilisés : les carbomères non modifiés (homopolymères de l'acide de l'acide acrylique qui sont de simples gélifiants) et les carbomères greffés par diverses chaînes alkyles ce qui leur confère, outre propriétés gélifiantes, des propriétés de tensioactifs. Parmi les carbomères rencontrés dans les gels topiques, on peut citer le carbomère 934, le carbomère 934P, le carbomère 940, le carbomère 974P, le carbomère 980, le carbomère 5984 .... Cette famille de gélifiants est commercialisée sous divers noms ( Carbopol, Synthalen, Ultrez).

- Les dérivés de celluloses :

Ce sont des gélifiants d'hémi synthèse, obtenus par « traitement avec des acides minéraux de l'alpha-cellulose obtenus sous forme de pulpe à partir des matières végétales fibreuses (pharmacopée européenne). Les cinq dérivés de cellulose utilisés dans l'industrie pharmaceutique sont l'hypromellose ou hydroxypropylméthylcellulose, la carmellose sel de sodium ou carboxyméthylcellulose sodique, l'hyprolose ou hydropropylcellulose et la hyétellose ou hydroxyéthylcellulose.

- Les macrogols :

Appelés autrefois polyéthylène glycols (PEG), les macrogols sont définis par la pharmacopée européenne comme des « mélanges de polymères de formule générale  $H-(OCH_2-CH_2)_n-OH$ , n représente le nombre d'unités oxyéthylène. Ce dernier conditionne les caractéristiques physico-chimiques de la matière première. Les macrogols rencontrés dans les gels pharmaceutiques sont : macrogol 300 et 400, macrogol 1500, 3350, 4000 et 6000. Le monostéarate de macrogol 400 et le macrogol 350 éther monoéthylique.

Les autres gélifiants utilisés de façon sporadique sont l'amidon, le poloxamère, la gomme guar, la silice colloïdale et les carraghénates. [40]

### **III.3.2 Les gélifiants pour oléogels :**

Les gels huileux ou oléogels se composent de paraffine liquide additionnée d'un gélifiant approprié tel que l'oxyde de silicium ou un stéarate métallique (d'aluminium ou de zinc).[41]

### **III.4 Caractéristiques des gels :**

- Pas totalement transparent à la lumière (effet de Tyndall)
- Plus ou moins visqueux (la viscosité augmente avec le soluté)
- Les macromolécules sont chargées + ou – et possèdent toute la même charge c'est t'a dire stabilité car elles se repoussent
- En changeant l'acidité de milieu ou en ajoutant un électrolyte on neutralise les charges électriques et on annulant les forces de répulsion, les particules s'agglomèrent
- Au de certaines concentrations de soluté, les solutions colloïdales se transforment en gels par liaison des macromolécules entre elles et formation d'un réseau tridimensionnel plus ou moins rigide. [42]

## **CHAPITRE I : MATERIELS**

### **I.1.Matériel non biologique :**

- **Matériels de préparation**
- Agitateur magnétique
- Balance électrique
- Verreries (béchers, éprouvettes, .....)

### **I.2Matériel biologique :**

Notre étude a porté sur le miel de thym issu de la région de Tlemcen, ce miel a été récolté durant le mois de juillet de l'année 2014.

L'évaluation de l'effet cicatrisant a été réalisée sur des rats mâles et femelles, leurs poids moyen est de 350g , provenant de l'animalerie du CRD.

Les conditions d'élevage sont :

- Température de l'animalerie : 20 - 25 °C
- Alimentation : granulé
- Boisson : eau de robinet.

Avant la formulation, des analyses physico chimiques des matières entrant dans la formulation ont été effectuées afin de vérifier leur conformité par rapport à la pharmacopée européenne 2014, 8<sup>ème</sup> édition. Le mode opératoire des différents tests est mentionné en Annexe.

## **II.1 Analyse physicochimique du miel :**

Les analyses sont réalisées au niveau du laboratoire de chimie analytique du CRD

### **II.1.1 Identification :**

#### **II.1.1.1 Chromatographie sur couche mince (CCM) :**

La chromatographie sur couche mince est une technique de séparation dans laquelle une phase stationnaire, constituée d'un matériau approprié, est répandue en une couche mince et uniforme sur un support (plaque) de verre, de métal ou de plastique. Des solutions d'analyses sont appliquées sur la plaque avant le développement. La séparation repose sur les mécanismes d'adsorption, de partage ou d'échange d'ions ou sur des combinaisons de ses mécanismes. [43]

### **II.1.2 Essai :**

#### **II.1.2.1 Indice de réfraction :**

L'indice de réfraction d'un milieu

rapporte à l'air est égal au rapport du sinus de l'angle d'incidence d'un rayon lumineux dans l'air au sinus de l'angle de réfraction du rayon réfracté dans le milieu considéré.

Les réfractomètres d'Abbe déterminent l'angle limite. Dans ces appareils, la partie essentielle est un prisme d'indice de réfraction connu, en contact avec le liquide à examiner. L'indice de réfraction du miel est en fonction de la teneur en eau et de la température. [44]

#### **➤ Appareillage :**

L'appareil utilisé réfractomètre de marque D'ABBE ATAGO CO., LTD

#### **II.1.2.2. La conductivité électrique :**

Le courant d'intensité I (en ampères) qui traverse un conducteur est directement proportionnel à la force électromotrice E (en volts) appliquée et inversement proportionnel à la résistance R (en ohms) du conducteur :

$$I = \frac{E}{R}$$

L'unité de conductivité dans le système international est le siemens par mètre ( $S.m^{-1}$ ). Dans la pratique, la conductivité électrique d'une solution est exprimée en siemens par centimètre ( $S.cm^{-1}$ ) ou en micro siemens par centimètre ( $\mu S.cm^{-1}$ ). [45]

➤ **Appareillage :**

L'appareil utilisé conductimètre

**II.1.2.3 La teneur en HMF (5-hydroxy méthyl furfural):**

C'est un indice de vieillissement des miels, l'HMF ou 5-HydroxyMéthyl-2Furfural est un produit de déshydratation des sucres qui apparaît spontanément dans les miels. Ce n'est pas un produit toxique. C'est un des premiers composants qui apparaît lors de la caramélisation des sucres. [46]

➤ **Appareillage :**

L'appareil utilisé UV visible de marque PERKINELMER UV/VIS spectromètre Lambda 25.

**II.1.2.4. Angle de rotation optique :**

Le pouvoir rotatoire est la caractéristique optique que possède les sucres de dévier le plan de la lumière polarisée. [47]

Le pouvoir rotatoire est considéré comme positif (+) dans le cas substance dextrogyres (c'est-à-dire, celles qui dévient le plan de polarisation dans le sens des aiguilles d'une montre) et négatif (-) dans le cas de substance lévogyres. [48]

➤ **Appareillage :**

Polarimètre

**II.1.2.5. Test des chlorures:**

C'est un test pour détecter la présence ou l'absence des ions chlorure dans le miel par observation macroscopique.

#### **II.1.2.6. Test des sulfates:**

C'est un test pour détecter la présence ou l'absence des ions sulfate dans le miel par observation macroscopique.

### **II.2 Formulation :**

Des essais de formulation ont été réalisés en utilisant différents excipients à différentes concentrations. La formulation s'est déroulée en deux étapes, la première est la formulation et l'optimisation de la base gélifiante, la deuxième est l'incorporation du miel dans la base gélifiante.

#### **II.2.1. La formule qualitative de départ :**

**Tableau. 2 : Formule qualitative de départ**

<b>Matières</b>	<b>Rôle</b>
Miel	Cicatrisant
Carbopol G71	Agent gélifiant
Hydroxyde de sodium (à 2%)	Neutralisant, Stabilisant
Vitamine E	Conservateur
Eau purifiée	Dispersant

#### **II.2.2. Procédé de fabrication :**

- Première étape :

A température ambiante l'eau distillée et le carbopol sont soumis à une agitation de 240 Tour par minute (rpm).

Le carbopol est ajouté progressivement. L'agitation est maintenue jusqu'à obtention d'un mélange homogène.

On verse le NaOH goutte à goutte sous agitation jusqu'à obtention de gel, puis on ajoute la vitamine E.

- Deuxième étapes :

30% du gel obtenu est soumis à une agitation mécanique à vitesse de 500 rpm. 70% de miel est ajouté progressivement jusqu'à obtention d'un mélange homogène.

➤ **Observation :**

On obtient un mélange liquide, ce qui nous a conduits à réaliser plusieurs essais qui sont résumés dans le tableau suivant :

**Tableau .3 : Les essais de formulation**

<b>Essais</b>	<b>Modifications</b>	<b>Observations</b>
Essai 2	-Augmentation de la concentration de la solution de l'hydroxide de sodium (Na OH), ainsi que sa quantité.	Gel moins liquide que celui de l'essai 01
Essai 3	-Augmentation de la concentration de la solution de Na OH.	Lorsqu'on mélange la base gélifiante avec le miel le gel devient liquide.
Essai 4	-Augmentation de la concentration de la solution de Na OH.	Lorsqu'on mélange la base gélifiante avec le miel le gel devient liquide.
Essai 5	-Même quantité que l'essai n°4 -A chaud (40 °C) l'eau purifiée et le miel sont soumise à une agitation à vitesse 240rpm Le carbopol est ajouté progressivement. On verse le NaOH goutte à goutte sous agitation.	On obtient un mélange liquide
Essai 6	-On remplace le carbopol par le HEC -On élimine le Na OH -On prépare le gel à chaud (à 40°C)	On obtient un mélange liquide
Essai 7	-Même formule que l'essai 6. -On prépare le gel à froid (mode opératoire suivi dans l'essai 1)	Lorsqu'on mélange la base gélifiante avec le miel le gel devient liquide.
Essai 8	-On remplace le HEC par le PEG -On prépare le gel à froid	Lorsqu'on mélange la base gélifiante avec le miel le gel devient liquide.
Essai 9	-On remplace le carbopol par l'alginate de sodium de même quantité utilisée dans l'essai 1. -On remplace le Na OH par le chlorure de calcium.	On a obtenu un gel mais qui n'est pas consistant
Essai 10	-On a suivi le même mode opératoire que l'essai 1, mais on a introduire l'alginate jusqu'à obtention de gel très consistant.	Gel consistant, collant
Essai 11	-On a ajouté à la formule de l'essai 1 : le glycérol, et on a remplacé la vitamine E par l'alcool benzylique.	Gel consistant moins collant, d'odeur agréable

**La formule qualitative finale :**

- Miel
- Alginate de sodium
- Chlorure de calcium
- Glycérol
- Alcool benzylique
- Eau purifiée

### **II.3. Les contrôles réalisés sur le gel formulé:**

#### **II.3.1 Contrôle des caractères organoleptiques :**

L'examen macroscopique concerne essentiellement l'aspect avec recherche d'une opacité ou d'une couleur éventuelle. Le contrôle de l'odeur.

#### **II.3.2 Test rhéologique :**

La rhéologie est l'étude de l'écoulement et de la déformation des matériaux sous l'effet des forces appliquées. Il est possible de mesurer les propriétés rhéologiques par la déformation du gel à l'aide d'un rhéomètre mécanique. [49]

##### **➤ Appareillage :**

Rhéomètre de type RHEOPLUS/32 V3.62

### **II.4.Evaluation de l'activité cicatrisante :**

#### **II.4.1.Protocole d'étude de la cicatrisation chez les rats :**

Le but est de tester l'effet cicatrisant du gel à base de miel avec la crème Madécassol<sup>®</sup> et le miel brut.

##### **➤ Principe**

Consiste en l'application du produit à tester sur des plaies préalablement provoquées, est faite avec la méthode d'excision en forme circulaire, car elle présente l'avantage d'une meilleure précision de mesure, du fait de la continuité du processus de reconstitution jusqu'au stade de fermeture totale de la plaie.

Les applications se feront de façon quotidienne jusqu'à épithélialisation complète de la plaie (environ 15 jours).

##### **➤ Mode opératoire**

Se consiste à préparer trois lots de rats de laboratoire à raison de 3 rats par lots, répartie au hasard et numérotés, ces derniers sont mis à jeun la veille de l'expérimentation. Celle-ci est composée des étapes suivantes :

- Anesthésier les rats par injection de la kétamine par voie intrapéritonéale, à la dose de 100mg/ kg. Notons que le poids des rats a été préalablement mis en considération.
- Epiler la région dorsolombaire de chaque rat en deux zones indépendantes (une zone Témoin, et une zone Essai).
- Désinfecter les deux régions épilées (Essai et Témoin) avec de l'alcool chirurgical à 70°.
- Procéder à l'ablation de la peau par excision.
- Tracer les deux zones à découper en forme arrondie de 2cm<sup>2</sup> de surface.
- Découper la zone tracée en utilisant une paire de ciseaux et une pince.
- Nettoyer la surface (S) à l'aide d'une compresse imbibée d'eau physiologique à 0,9%.

Au cours de cette expérimentation les empreintes des plaies sont prélevées sur une feuille transparente dès le jour j0, après au j4, j7, j9, j11 et j14.

Les applications des produits testés se font quotidiennement au niveau de la zone essai (E) jusqu'à l'épithélialisation complète, par contre la zone témoin (T) ne reçoit aucun traitement.

Le lot essais reçoivent une application dermique du produit à raison de 400mg par plaie essai (E). Les lots Références reçoivent la même quantité par plaies.

Lot essaie : gel de miel

Lots de références : miel ,madécassol®

Les images suivantes résumant le déroulement de processus de la cicatrisation :

1/ L'anesthésie des rats



2/ L'épilation :



3 /L'ablation de la peau :



4 / Désinfection avec l'eau physiologie



5/Prélèvement de l’empreinte :



6/ Application de produit :



Les surfaces des plaies sont calculées à l’aide d’un AUTOCAD d’architecte.

Le pourcentage de réduction de la cicatrice est calculé selon l'équation suivante :

$S_{j0}$  : Surface de la plaie au jour 0.

$S_{jn}$  : Surface de la plaie au jour n.

## **RESULTAS ET DISCUSSIONS**

## I. Analyse physicochimique du miel :

### I.1.Chromatographie sur couche mince :

On a eu trois bandes une bande brune intense (fructose) une bande bleu gris intense (glucose) deux bandes gris-brun (saccharose), le résultat obtenu est conforme à la norme.

**Norme :**

Haut de la plaque	
----- Fructose : une bande brun intense	----- Une bande brun intense (fructose)
Glucose : une bande bleu-gris intense	Une bande bleu-gris intense (glucose)
----- Saccharose : une bande brune	----- 2 à 3 bandes gris-brun
<b>Solution témoin</b>	<b>Solution à examiner</b>

### I.2 Indice de réfraction :

Le résultat de l'indice de réfraction de notre miel :  $d^{20} = 1,4880$  à  $20^{\circ}\text{C}$

D'après le tableau en Annexe, la teneur en eau du miel est de **19.4%** avec **80,6%** de matière sèche. La valeur de la teneur en eau obtenu est inférieure à 20%, ce qui traduit la conformité du miel par rapport à la pharmacopée.

### I.3.La conductivité électrique :

La conductivité électrique de notre miel est de **566 $\mu\text{s}/\text{cm}$**

**Norme :**  $\leq 800 \mu\text{s}/\text{cm}$

Ce paramètre nous renseigne sur la teneur en éléments minéraux et de l'acidité du miel, plus ces dernière sont élevées, plus la conductivité correspondante est élevée. [50]

### I.4. La teneur en HMF (5-hydroxy méthyl furfural):

La teneur en HFM de notre miel de thym : **77.39ppm**

**Norme** : maximum 80 ppm.

### **I.5. Angle de rotation optique :**

Notre miel a un pouvoir rotatoire de **-0.4°**.

**Norme** : maximum +0.6°

En raison de leur composition en sucres, tous les miels de nectar possèdent un pouvoir rotatoire négatif alors que c'est l'inverse pour les miellats. C'est un excellent moyen pour les différencier. [51]

### **I.6. Test des chlorures:**

Notre miel Présente une opalescent par rapport au témoin.

### **I.7. Test des sulfates:**

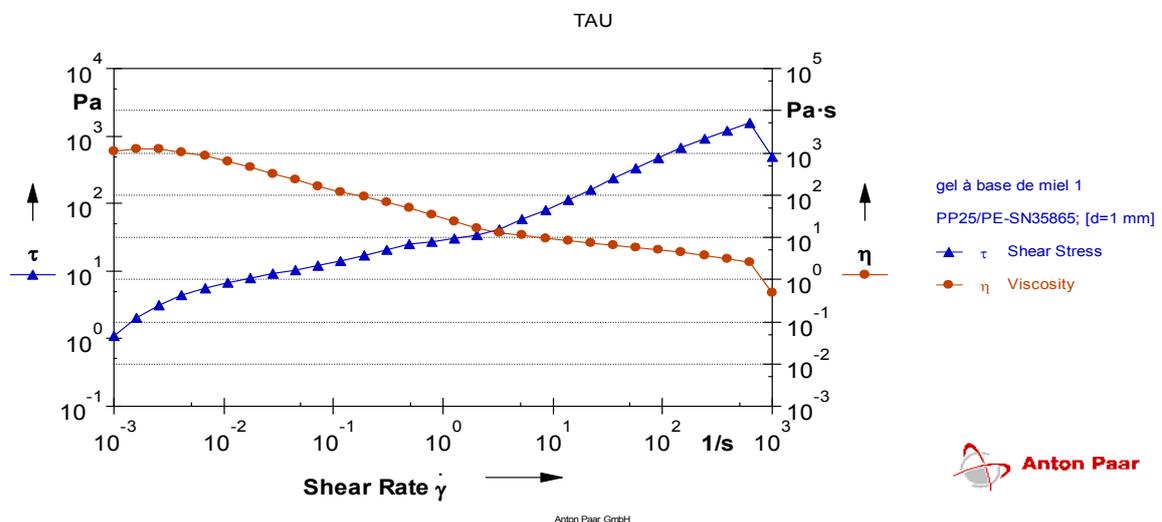
Notre mielPrésente une opalescent par rapport de témoin.

## **II. Les contrôles effectués sur le gel à base de miel :**

### **II.1 Contrôle du caractère organoleptique :**

Le gel obtenu est de couleur marron clair, d'odeur agréable.

### **II.2. Test rhéologique :**



**Figure.5 : la viscosité en fonction du taux de cisaillement du gel formulé**

D'après les valeurs obtenues on remarque que notre gel résiste bien à l'écoulement. Sa viscosité au début de cisaillement est égale 1110 Pa.s. et 763 à la fin de cisaillement.

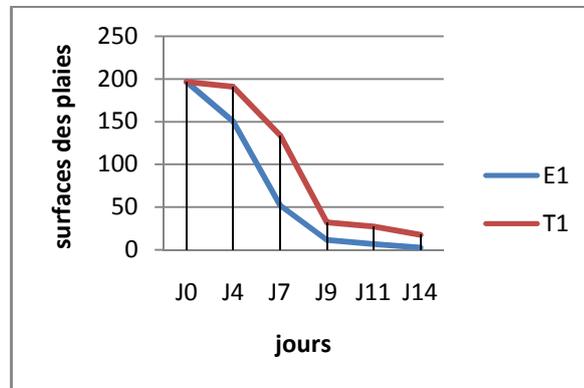
## **III. Evaluation pharmacologique de la cicatrisation :**

Afin d'interpréter les résultats obtenus après l'application journalière des trois produits (le miel, Madécassol®, gel à base de miel) nous avons calculé les surfaces des plaies des rats de chaque lot.

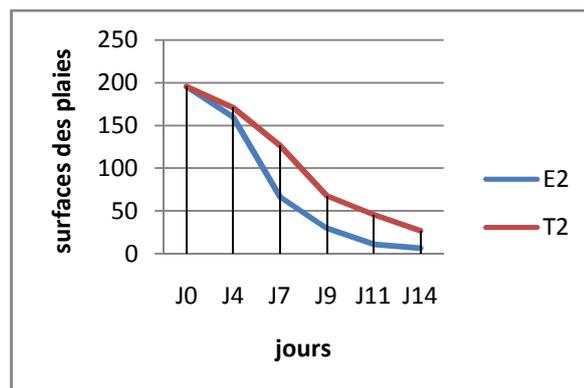
### **III.1.Evaluation du processus de cicatrisation chez les rats du 1<sup>er</sup> lot traités par le miel :**

Les courbes des figures ci-dessous montrent qu'il y'a une diminution importante de surface pour les plaies du rat 1 traitées par le miel par rapport à celle du témoin.

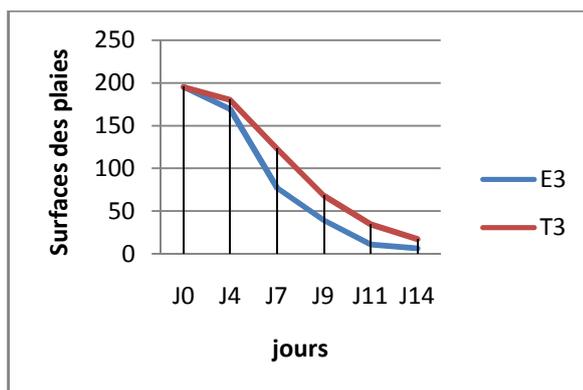
Ces valeurs ont atteint respectivement 2.55, 17.57 cm<sup>2</sup> le dernier jour du traitement chez le Rat 1 ; 6.36, 16.36cm<sup>2</sup> chez le Rat 2 ; 6.54, 17,21 cm<sup>2</sup> chez le Rat 3.



**Figure .6 : Surfaces des plaies en fonction de temps de rat 1<sup>er</sup> lot**

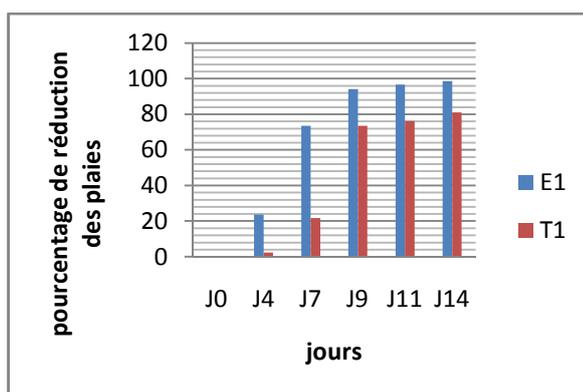


**Figure .7 : Surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 2 du 1<sup>er</sup> lot**

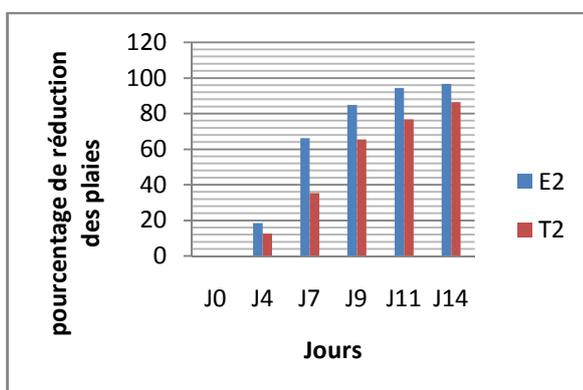


**Figure.8 : Surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 3 du 1<sup>er</sup> lot**

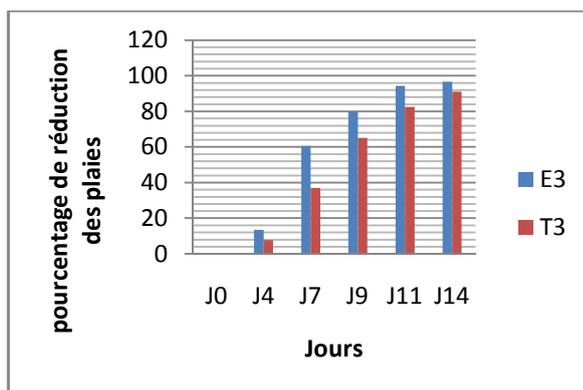
Le pourcentage de réduction des surfaces des plaies en fonction du temps montre que les valeurs obtenues par l'application du miel sont plus importantes que celle du témoin. Ces valeurs ont atteint respectivement 95,7 %, 81% le dernier jour du traitement chez le rat 1.96,74% , 82,49% chez le rat 2 ; 96%, 85% chez le rat 3.



**Figure.9 : Pourcentage de réduction des surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 1 du 1<sup>er</sup> lot**



**Figure.10 : Pourcentage de réduction des surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 2 du 1<sup>er</sup> lot**

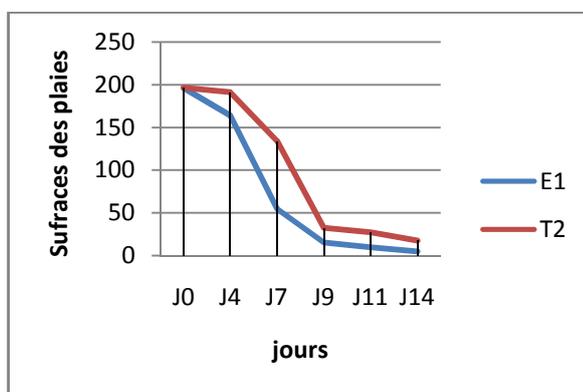


**Figure.11 : Pourcentage de réduction des surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 3 du 1<sup>er</sup> lot**

**III.2 Evaluation du processus de cicatrisation chez les rats du 2<sup>ème</sup> lot traitée par Madécassol® :**

Après traitement des plaies des rats du 2<sup>ème</sup> lot avec Madécassol®, nous n'avons constaté que la surface des plaies à diminuer progressivement durant les 14 jours de traitement. Les valeurs obtenues sont plus importantes que celles du témoin. Ces valeurs sont atteintes respectivement le dernier jour du traitement.

4,73 ; 17,57cm<sup>2</sup> chez le rat 1. 9,23 ; 19,57cm<sup>2</sup> chez le rat 2. 7,16 ; 18,36 cm<sup>2</sup> chez le rat 3.



**Figure. 12 : Surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 1 du 2<sup>ème</sup> lot**

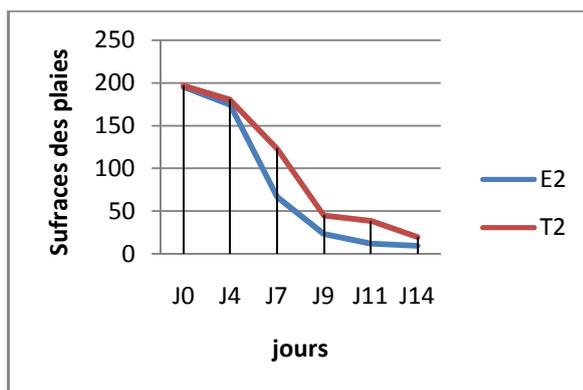


Figure.13 : Surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 2 du 2<sup>ème</sup> lot

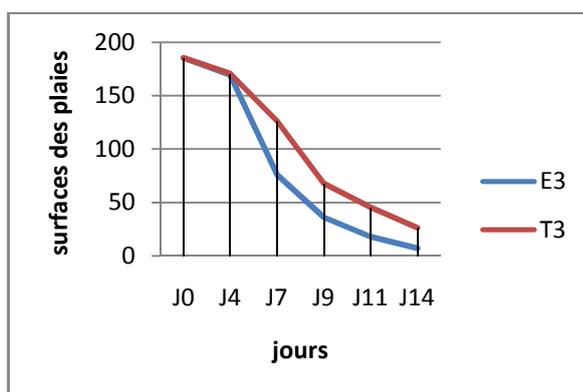


Figure.14 : Surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 3 du 3<sup>ème</sup> lot

L'évolution de la cicatrisation présentée par le pourcentage de réduction de la surface des plaies durant la période de traitement, montre que les valeurs obtenues par l'application du madécassol® plus importantes que celles obtenus du témoin. Ces valeurs atteintes respectivement le dernier jour du traitement 90,27% ; 85,71chez le rat 1. 95,44 % ; 92,03% chez le rat 2. 95,67%, 90,02% chez le rat 3.

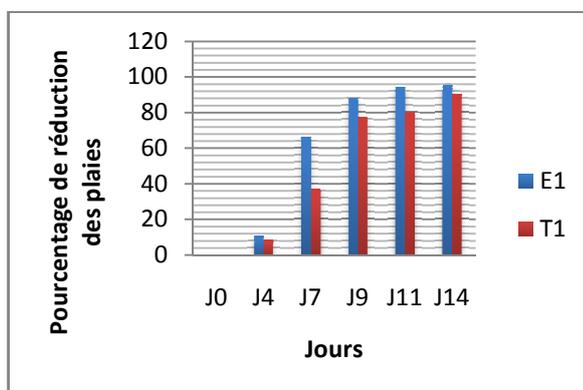
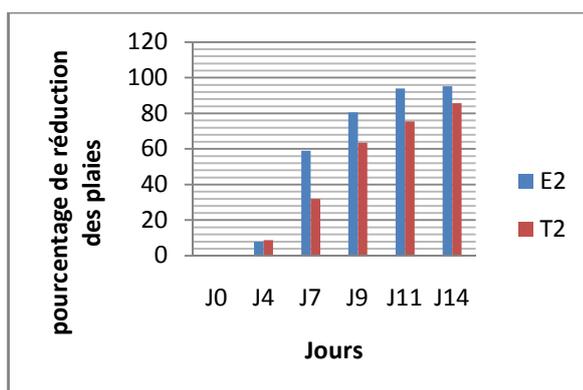
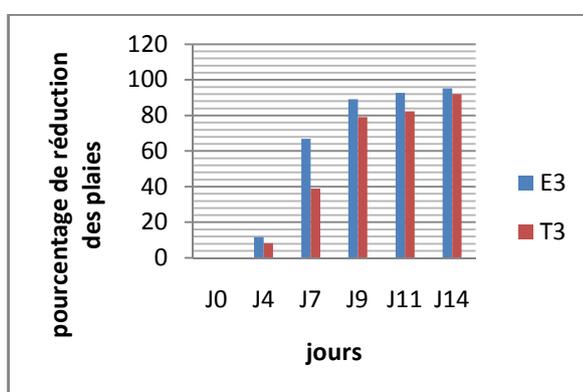


Figure.15 : Pourcentage de réduction de surfaces des plaies chez le rat 1 du 2<sup>ème</sup> lot



**Figure.16 : Pourcentage de réduction de surfaces des plaies chez le rat 2 du 2<sup>ème</sup>**

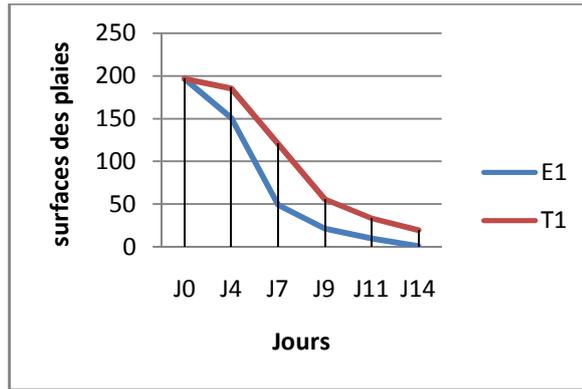


**Figure.17 : Pourcentage de réduction de surfaces des plaies chez le rat 3 du 2<sup>ème</sup> lot**

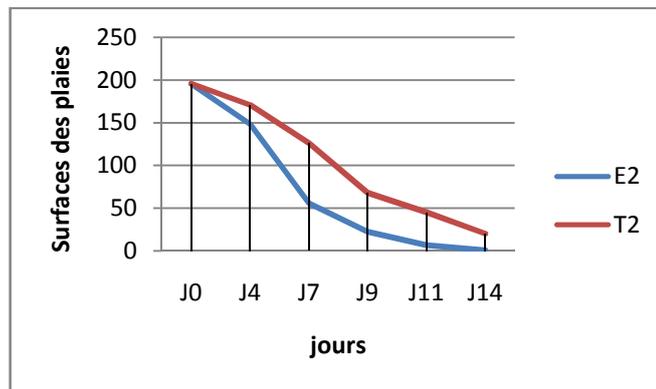
### **III.3 Evaluation de la cicatrisation chez les rats du 3<sup>ème</sup> lot traité par le gel à base de miel :**

Concernant les plaies traitées par le gel à base de miel, nous avons remarqué qu'elles subissent une diminution de surfaces très importantes au cours du traitement à celle du témoin. Ces valeurs sont atteintes respectivement le dernier jour de traitement : 0,76 ; 19,5 chez le rat 1. 0,89 ; 20,36 chez le rat 2. 0,34 ; 19,56 chez le rat 3

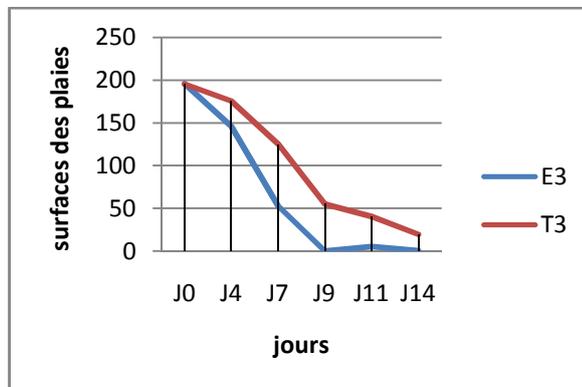
Ces valeurs présente une diminution plus importante que celle de madécassol® et de miel brut.



**Figure.18 : Surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 1 du 3<sup>ème</sup> lot**



**Figure.19 : Surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 2 du 3<sup>ème</sup> lot**



**Figure.20 : Surfaces des plaies en fonction du temps chez le rat 3 du 3<sup>ème</sup> lot**

L'évolution de la cicatrisation présentée par le pourcentage de réduction de la surface des plaies durant la période de traitement, montre que les valeurs obtenues par l'application du gel sont plus importantes que celles obtenus du témoin.

Ces valeurs sont atteintes respectivement le dernier jour du traitement 99,61%, 84, 08% chez le rat 1. 99,54%, 83 ,1% chez le rat 2. 99,82%, 83,05% chez le rat 3.

On remarque que les surfaces des plaies traitées par le gel présente une diminution plus importantes en comparant à celle des plaies traitées par madécassol® et le miel .

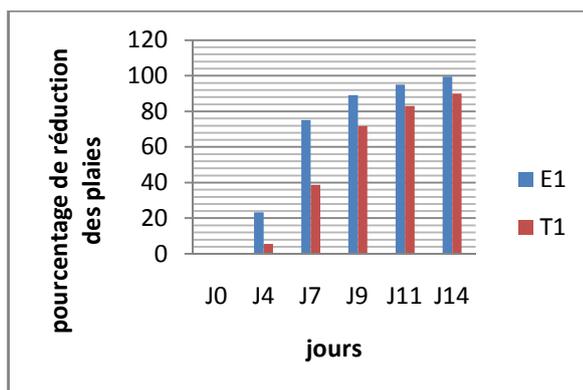


Figure.21 : Pourcentage de réduction des surfaces des plaies chez le rat 1 du 3<sup>ème</sup> lot

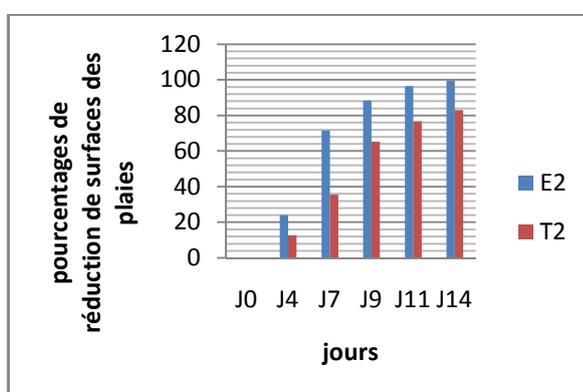


Figure.22 : Pourcentage de réduction des surfaces des plaies chez le rat 2 du 3<sup>ème</sup> lot

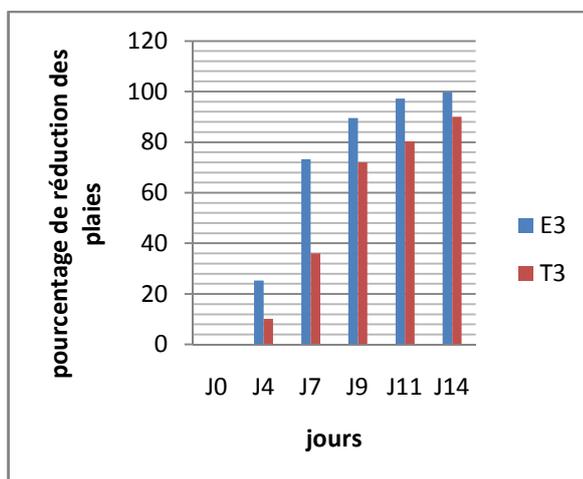


Figure.23 : pourcentage de réduction des surfaces des plaies chez le rat 3 du 3<sup>ème</sup> lot

Les images des plaies après 14 jours du traitement :



**Figure.24 : plaies traitée par le miel**



**Figure.25 : Plaie traitée par madécasse**



**Figure.26 : Plaie traitée par le gel**

Les images ci-dessus montrent que la cicatrisation est plus rapide chez les rats traités par gel à celles par madécassol® ou le miel brut.

## **Discussion :**

L'amélioration de la cicatrisation des plaies apportées par la composition du gel formulé se traduit par une accélération de la cicatrisation le délai de cicatrisation complète est diminué. Au 14<sup>ème</sup> jour du traitement une fermeture complète de la plaie.

La quantité d'eau libre du miel étant très faible, on pourrait s'attendre à un dessèchement des tissus. Au contraire, l'effet osmotique de miel permet de drainer le plasma et la lymphe (qui peuvent contenir des éléments favorisant la reconstitution cutanée).[52]

Le miel induit également la synthèse de collagène, active le transforming growth factor-1 (qui a un puissant pouvoir réparateur) à cela s'ajoute aussi des pouvoirs antioxydant et anti-inflammatoire.[53]

Ce milieu humide permet notamment une cicatrisation plus rapide. De plus l'alginate favorise l'exsudation permettant :

- Une hémostase
- Une accélération de la vitesse de cicatrisation
- Une détersion de la plaie
- Un contrôle microbien [54]

L'utilisation de glycérol comme un émollissant protège la peau de la déshydratation par son effet hygroscopique, le glycérol retient l'eau au niveau de plaie et prévient ainsi son dessèchement. [55]

Cette formule permet notamment une cicatrisation plus rapide grâce à ses composants (le miel, le glycérol, l'alginate de sodium). Et en même temps son utilisation est plus pratique par rapport à l'utilisation du miel brut.

**Conclusion :**

Suite à une série d'essai de formulation on a obtenu un gel consistant de couleur marron clair ayant une odeur agréable, ne colle pas trop, facile à nettoyer sur la peau contrairement au miel brut.

Afin d'évaluer l'activité cicatrisante du gel formulé, des tests pharmacologiques sur les rats ont été réalisés en les comparant avec l'activité cicatrisante du miel brut, et une crème cicatrisante Madécassol<sup>®</sup>.

Les résultats obtenus montrent que l'utilisation du miel sous forme de gel est nettement plus efficace que le miel brut et Madécassol<sup>®</sup>.

Comme perspective, une étude de stabilité et étude rhéologique du gel à base de miel est nécessaire afin de valider la formule qualitativement et quantitativement ainsi que le procédé de fabrication.

ANNEXE

**Matérielles biologiques utilisé pour la formulation :**

<b>Excipient</b>	<b>Aspect</b>	<b>Formule brut</b>	<b>Température de fusion</b>	<b>solubilité</b>	<b>Rôle</b>
Carbopol	Poudre blanche	$C_3H_4O_2$	260°C	Soluble dans l'eau	gélifiant
Alginate de sodium	Poudre blanche à blanc crème	$NaC_6H_7O_6$	>300 °C	Soluble dans l'eau	gélifiant
Chlorure de calcium	Cristaux Blanche	$Ca Cl_2$	772 °C	Soluble dans l'eau	gélifiant
Hydroxyde de sodium	Pastilles translucide	NaOH	318 °C	Soluble dans l'eau	stabilisant
Hydroxy-ethyl cellulose (HEC)	Poudre blanche	HEC	140°C	Soluble dans l'eau	gélifiant
Polyéthylène glycol(PEG)	Poudre blanche	$C_{2n}H_{4n+2}O_{n+1}$	182 to 287 °C	Soluble dans l'eau	gélifiant
Glycérol	Liquide incolore visqueux	$C_3H_8O_3$	18,2 °C <sup>2</sup>	Miscible avec l'eau	Hydratant lubrifiant
Huile de lentisque	Huile essentiel de couleur jaune				Hydratant
Alcool benzylique	Liquide incolore	$C_7H_8O$	_ 15°C	Insoluble dans l'eau	conservateur
Vitamine E					Conservateur

**Mode opératoire des contrôles physico chimique de miel selon la pharmacopée européenne 2014 8<sup>ème</sup> :**

**Chromatographie sur couche mince :**

*Solution à examiner.* Dissolvez 0,6 g de miel dans 50 ml d'éthanol à 30 pour cent V/V R.

*Solution témoin.* Dissolvez 0,5 g de fructose R, 0,5 g de glucose R et 0,1 g de saccharose R dans 100 ml d'éthanol à 30 pour cent V/V R.

*Plaque :* plaque au gel de silice pour CCM R.

*Phase mobile :* eau R, acétonitrile R (13:87 V/V).

*Dépôt :* 5 µl en bandes.

*Développement :* 3 fois sur un parcours de 15 cm.

*Séchage :* à l'air chaud.

*Détection :* pulvérisez une solution préparée comme suit : dissolvez 2 g de diphénylamine R et 2 ml d'aniline R dans 100 ml d'acétone R ; ajoutez une solution d'acide phosphorique R à 850 g/l jusqu'à redissolution du précipité formé (environ 15-20 ml). Chauffez à 100-105 °C pendant 5-10 min, puis examinez à la lumière du jour.

*Résultats :* voir ci-dessous la séquence des bandes présentes dans les chromatogrammes obtenus avec la solution témoin et la solution à examiner. Par ailleurs, la faible bande brune due au saccharose dans le chromatogramme obtenu avec la solution témoin peut également être présente dans le chromatogramme obtenu avec la solution à examiner, ainsi qu'une ou plusieurs autres bandes faibles.

**Indice de réfraction :**

Homogénéisez 100 g de miel et transférez dans un flacon. Fermez hermétiquement le flacon, puis placez-le dans un bain-marie à  $50 \pm 0,2$  °C jusqu'à dissolution de tous les cristaux de sucre. Refroidissez la solution à 20 °C et homogénéisez à nouveau, puis étalez immédiatement l'échantillon de façon uniforme sur le prisme du réfractomètre. Déterminez l'indice de réfraction après 2 min dans le cas d'un réfractomètre d'Abbe, ou 4 min dans le cas d'un réfractomètre numérique. Utilisez le résultat moyen de 2 déterminations.

**Conductivité :**

Utilisez la valeur obtenue pour l'indice de réfraction pour déterminer la teneur en eau du miel à partir du tableau 2051.-1. A l'aide de cette information, dissolvez une quantité de miel équivalant à 20,0 g de matière sèche dans de l'eau R. de façon à obtenir 100,0 ml de solution.

**Angle de rotation optique :**

Utilisez la valeur obtenue pour l'indice de réfraction pour déterminer la teneur en eau du miel à partir du tableau 2051.-1. A l'aide de cette information, dissolvez une quantité de miel équivalant à 20,0 g de matière sèche dans 50 ml d'eau R. Ajoutez 0,2 ml d'ammoniaque concentrée R et complétez à 100,0 ml avec de l'eau R. Si nécessaire, décolorez la solution par addition de charbon activé R.

### Hydroxyméthylfurfural :

Utilisez la valeur obtenue pour l'indice de réfraction pour déterminer la teneur en eau du miel à partir du tableau 2051.-1. A l'aide de cette information, dissolvez une quantité de miel équivalant à 5,0 g de matière sèche dans 25 ml d'eau R et transvasez la solution dans une fiole jaugée de 50,0 ml à l'aide du même solvant. Ajoutez 0,5 ml d'une solution de *ferrocyanure de potassium R* à 150 g/l et mélangez. Ajoutez 0,5 ml d'une solution d'*acétate de zinc R* à 300 g/l et mélangez, puis complétez à 50,0 ml avec de l'eau R (une goutte d'*éthanol anhydre R* peut être ajoutée pour éviter la formation de mousse). Filtrez et transférez 5,0 ml de la solution filtrée dans 2 tubes séparés. Dans un des tubes, ajoutez 5,0 ml d'eau R (solution à examiner). Dans l'autre tube, ajoutez 5,0 ml d'une solution de *bisulfite de sodium R* à 2,0 g/l (solution témoin). Déterminez dans les 60 min l'absorbance (2.2.25) de la solution à examiner par rapport à la solution témoin, à 284 nm et à 336 nm. Si l'absorbance à 284 nm est supérieure à 0,8, diluez, dans les mêmes proportions, la solution à examiner avec de l'eau R et la solution témoin avec une solution de *bisulfite de sodium R* à 2,0 g/l, de façon à obtenir une absorbance inférieure à 0,8.

Calculez la teneur en 5-hydroxyméthylfurfural à l'aide de l'expression :

$$(A_1 - A_2) \times D \times 149,7$$

$A_1$  = absorbance à 284 nm,

$A_2$  = absorbance à 336 nm,

$D$  = facteur de dilution, dans les cas appropriés.

Tableau 2051.-1. – *Relation entre la teneur en eau et l'indice de réfraction du miel*

<b>Teneur en eau (pour cent <i>m/m</i>)</b>	<b>Indice de réfraction à 20 °C</b>
15,0	1,4992
15,2	1,4987
15,4	1,4982
15,6	1,4976
15,8	1,4971
16,0	1,4966
16,2	1,4961
16,4	1,4956
16,6	1,4951
16,8	1,4946
17,0	1,4940
17,2	1,4935
17,4	1,4930
17,6	1,4925
17,8	1,4920
18,0	1,4915
18,2	1,4910
18,4	1,4905
18,6	1,4900
18,8	1,4895
19,0	1,4890
19,2	1,4885
19,4	1,4880
19,6	1,4875
19,8	1,4870
20,0	1,4865

### **Chlorures :**

A 15 ml de la solution prescrite, ajoutez 1 ml d'*acide nitrique dilué R* et versez ce mélange en une seule fois dans un tube à essai contenant 1 ml de *solution de nitrate d'argent R2*. Préparez le témoin dans les mêmes conditions en utilisant un mélange de 10 ml de *solution à 5 ppm de chlorure (Cl) R* et de 5 ml d'*eau R*. Examinez latéralement les tubes à essai sur fond noir.

Après 5 min à l'abri de la lumière, si la solution à examiner présente une opalescence, celle-ci n'est pas plus prononcée que celle du témoin.

### **Sulfates :**

*Toutes les solutions utilisées dans cet essai doivent être préparées à partir d'eau distillée R.*

A 4,5 ml de *solution à 10 ppm de sulfate (SO<sub>4</sub>) R1*, ajoutez 3 ml d'une solution de *chlorure de baryum R* à 250 g/l. Agitez et laissez reposer pendant 1 min. A 2,5 ml de cette solution, ajoutez 15 ml de solution à examiner et 0,5 ml d'*acide acétique R*. Préparez le témoin dans les mêmes conditions en utilisant 15 ml de *solution à 10 ppm de sulfate (SO<sub>4</sub>) R* au lieu de la solution à examiner.

Après 5 min, si la solution à examiner présente une opalescence, celle-ci n'est pas plus prononcée que celle du témoin.

**Les appareillages utilisés au contrôle physicochimique de miel :**



**Réfractomètre**



**Balance**



**UV visible**

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] La presse galénique : [www. guide-phyto.fr](http://www.guide-phyto.fr)
- [2] Directive 2001/110/CE du conseil du 20 décembre 2001 relative au miel, publié au J.O.C.E. n°L10/47 du 12/01/2002. In EUR-Lex [en ligne]. Disponible sur : <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2002:010:0047:0052:FR:PDF>
- [3] BRUNEAU E. Les produits de la ruche. In Le traité rustica de l'apiculture. Paris, Rustica, 2009, p. 354-387. In Miel et Gelée royale : Utilisation thérapeutique dans le domaine cutané et application en cosmétologie. Thèse de doctorat : pharmacie. Limoge 2012, p49
- [4] CLEMENT H. Guide des miels. In Le traité rustica de l'apiculture. Paris, Rustica, 2009, p. 464-528. In Miel et Gelée royale : Utilisation thérapeutique dans le domaine cutané et application en cosmétologie. Thèse de doctorat : pharmacie. Limoge 2012, p49.
- [5] [www.paulstarosta.com](http://www.paulstarosta.com) in Marie-Laure RIGAL., Miel et Gelée royale : Utilisation thérapeutique dans le domaine cutané et application en cosmétologie. Thèse de doctorat : pharmacie. Limoge 2012, P 52
- [6] CASTRO-VAZQUEZ L., DIAZ-MAROTO M.C., PEREZ-COELLO M.S.2007 : Aroma composition and new chemical markers of spanish citrus honeys. Food chemistry, volume 103, Issue 2, 2007 , page 601-606. In Identification des plante mellifères et analyses physicochimique des miels Algériens. Thèse de doctorat : Biochimie. Oran 2014, P20
- [7] Marie-Laure RIGAL., Miel et Gelée royale : Utilisation thérapeutique dans le domaine cutané et application en cosmétologie. Thèse de doctorat : pharmacie. Limoge 2012, P 51.
- [8] AI MAMMERY M., AI-MEERI A., AL-HABORI M. 2002 : Antioxidantactivities and total phenolics of different types of Honey. Nutrition Reasearch 22,1041-1047. In

Identification des plante mellifères et analyses physicochimique des miels Algériens. Thèse de doctorat : Biochimie. Oran 2014.p 21 .

[9] NADA V ., SARKAR B.C .,SHARMA H .K and BAWA A.S.2003 : physico-chemicalpropertes and estimation of mineral content in honeyproducedfromdifferent plants in NorthIndia. Journal of Food Composition and Analysis ,16 :613-619. In Identification des plantes mellifères et analyses physicochimique des miels Algériens. Thèse de doctorat : Biochimie. Oran 2014. P 21.

[10] HOYET C., LAURAIN-MATTAR D. (dir.). Le miel : de la source à la thérapeutique. Thèse de doctorat : Pharmacie. Nancy : Nancy 1 : 2005. P20.

[11],[12],[15]LUSBY P.-E., COOMBES A., WILKINSON J.-M. Honey : apotent agent for woundhealing ? The Wound, Ostomy and Continence Nurses Society, 2002, vol. 29, n° 6, p. 295-300 . In Miel et Gelée royale : Utilisation thérapeutique dans le domaine cutanée et application en cosmétologie. Thèse de doctorat : pharmacie. Limoge 2012, P 56.

[13]OLAITAN P.B., ADELEKE O.E., OLA L.O. Honey: areservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. AfrHealthSci, 2007, vol. 7, n° 3, p. 159-165.. In Miel et Gelée royale : Utilisation thérapeutique dans le domaine cutanée et application en cosmétologie. Thèse de doctorat : pharmacie. Limoge 2012, p57.

[14], [17]DESCOTTES B. Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 années. Phytothérapie, 2009, vol. 7, n° 2, p. 112-116. In Miel et Gelée royale : Utilisation thérapeutique dans le domaine cutanée et application en cosmétologie. Thèse de doctorat : pharmacie. Limoge 2012.p57.

[15] ROSSANT A., DESMOULIERE A. (dir.). Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de doctorat : Pharmacie. Limoges : Université de Limoges : 2011.p 131.

[18] NUSGENS B.V., HUMBERT P., ROUGIER A., [et al.]. Topicallyappliedvitamin C enhances the mRNAlevel of collagens I and III, theirprocessing enzymes and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1 in the humanderms. J InvestDermatol, 2001, vol. 116, n° 6, p.

853-859. In Miel et Gelée royale : Utilisation thérapeutique dans le domaine cutané et application en cosmétologie. Thèse de doctorat : pharmacie. Limoge 2012, p59.

[19] MARINI F., MAGRI A.L., BALETRIERI F., FABRETTI F., MARINI D. 2004 : Supervised pattern recognition applied to the discrimination of the floral origin of six types of Italian honeysamples *Analytica Chimica Acta*, volume 515, Issue 1, 5 July 2004, page 117-125. In Identification des plantes mellifères et analyses physicochimique des miels Algériens. Thèse de doctorat : Biochimie. Oran 2014. p 59

[20], [21] AGACHE P. [et al.]. Physiologie de la peau et explorations fonctionnelles cutanées. Cachan : Editions médicales internationales, 2000. XXIII-706 p. In Miel et Gelée royale : Utilisation thérapeutique dans le domaine cutané et application en cosmétologie. Thèse de doctorat : pharmacie. Limoge 2012. p13

[22] [www.labmecas.uqam.ca](http://www.labmecas.uqam.ca) Marie-Laure RIGAL Miel et Gelée royale : Utilisation thérapeutique dans le domaine cutané et application en cosmétologie. Thèse de doctorat : pharmacie. Limoge 2012, p13.

[23],[24],[25],[26],[27],[28],[29] MARIE FOIT, 2013(dir) . La cicatrisation favorise par les huiles essentielles. Mémoire pour le certificat Hippocratus de conseiller en Huiles essentielles, p5, 6.

[30] Cicatrice et réparation cutanée disponible en ligne sur : [www.pharmaciedelepouille.com/urgence.htm](http://www.pharmaciedelepouille.com/urgence.htm)

[31],[32],[33],[34] MARIE FOIT, 2013(dir) . la cicatrisation favorise par les huiles essentielles. Mémoire pour le certificat Hippocratus de conseiller en Huiles essentielles. P7, 8.

[35], [36] DESCOTTES B. Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 années. *Phytothérapie*, 2009, vol. 7, n° 2, p. 112-116. In Miel et Gelée royale : Utilisation

thérapeutique dans le domaine cutané et application en cosmétologie. Thèse de doctorat : pharmacie. Limoge 2012, p91.

[37]MARIE FOIT, 2013(dir) . La cicatrisation favorise par les huiles essentielles. Mémoire pour le certificat Hippocratus de conseiller en Huiles essentielles. P 24.

[38]FAVRE E ,2004 : Génie de formulation : Gels polycopie du cours de troisième année ENSCI Nancy, 2004. P 33.

[39],[40],[41]P.WEHRLE . Pharmacie galénique (formulation et technologie pharmaceutique), P201-207.

[42] les mélanges homogènes CQP Dermocosmétologie pharmaceutique. Toulouse 2012.

[43] pharmacopée européenne 2014,8<sup>ème</sup> édition Tome 2. P1447.

[44] Pharmacopée européenne 2014, 8<sup>ème</sup> édition Tome1. P27.

[45] Pharmacopée européenne 2014, 8<sup>ème</sup> édition Tome1.P63.

[46], [48].NAIR.S In Identification des plantes mellifères et analyses physicochimique des miels Algériens. Thèse de doctorat : Biochimie. Oran 2014. P29.

[47]NAIR.S :Identification des plantes mellifères et analyses physicochimique des miels Algériens. Thèse de doctorat : Biochimie. Oran 2014. P 35

[49] Rhéologie et viscosité \_ de la formulation à l'usage de produit (en ligne) disponible : [www.malvern.com/produit](http://www.malvern.com/produit)

[50] NAIR.S :Identification des plantes mellifères et analyses physicochimique des miels Algériens. Thèse de doctorat : Biochimie. Oran 2014. P 34.

[51] NAIR.S :Identification des plantes mellifères et analyses physicochimique des miels Algériens. Thèse de doctorat : Biochimie. Oran 2014. P 30.

[52] NAIR.S :Identification des plantes mellifères et analyses physicochimique des miels Algériens. Thèse de doctorat : Biochimie. Oran 2014. P 22

[53] [Marie-Laure RIGAL](#) Miel et Gelée royale : Utilisation thérapeutique dans le domaine cutanée et application en cosmétologie. Thèse de doctorat : pharmacie. Limoge 2012, p 90.

[54] [www.sffpc.org/index.php?pg](http://www.sffpc.org/index.php?pg) : connais-traitement : pansement pour plaies en milieu humide.

[55] [www.naturasie.com/actif.hydratant.html](http://www.naturasie.com/actif.hydratant.html)