

**MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**



Faculté de science

Département de Génie des Procédés

Université–BLIDA-1-

**Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master
en génie des procédés organiques**

Option : Matériaux et produits organiques industriels

Thème

**Extraction des huiles essentielles de graines de nigelle et
application à la formulation de crème anti-inflammatoire**

Présenté par:

MOHAND KACI Lamia

BOUDERBALA Khalida

Encadré par:

Dr.DJEDRI.BANI Safia

Année universitaire 2016 - 2017

Remerciements

Nos premières pensées vont au bon dieu qui nous a donné la force pour pouvoir affronter cette épreuve.

Ensuite nous remercions de tout notre cœur notre encadreur Nos premières pensées vont à notre promotrice Dr : Mme DJEDRI.BANI Safia, merci de nous avoir soutenue, guidée et encouragée tout au long de ce mémoire, merci pour la confiance accordée, de nous avoir toujours écoutée.

Nous devons remercier aussi les membres de jury d'avoir examiné notre travail.

Notre gratitude va aux personnes qui ont consacré une part significative de leur temps pour nous aider, cette gratitude s'adresse tout particulièrement à :

L'institut national de la protection des végétaux « INPV », ensuite nous remercions le groupe "Antibiotical" de l'entreprise pharmaceutique "SAIDAL Médéa", sans oublier de remercier laboratoire d'hygiène «Blida » et le groupe Biotic de SAIDAL EL-harrach.

Mais avant tout, merci à nos familles, sans qui sans eux nous n'aurons sans doute jamais eu le courage ni l'énergie de finir ce travail. Merci à nos amis pour tous ces encouragements, leurs relectures et leurs paroles rassurantes dans mes moments de doute.

Dédicace

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance...

C'est tout simplement que je dédie ce mémoire de master :

A ma tendre Mère : tu représentes pour moi la source de tendresse et l'exemple de dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leurs vies et leurs études.

A mon très cher Père : Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'avais toujours pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour notre éducation et notre bien-être. Ce modeste travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour notre éducation et notre formation le long de ces années.

A mes très chères sœurs : Louisa, Zina, Samia et Amel.

A mon cher frère : Mouloud.

A Ma chère nièce et sœur : Sara.

A mes chères nièces : Alaa, Anais, Nélia et Rima.

A mes chers neveux : Amine et Imed.

A ma chère binôme et amie : Khalida.

A mes amie : Wafa, Houda, Sihem, Ibtissem, Meriem et Asma.

A madame BANI.DJEDRI : qui n'a pas cessé de nous encourager et nous conseiller. Cette humble dédicace ne saurait exprimer notre grand respect et notre profonde estime.

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer.

LAMIA

Dédicace

Avec l'aide de Dieu, Tout Puissant, j'ai pu réalisée ce modeste travail que je dédie :

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutient permanent venu de toi.

Mes deux chère sœurs et leurs époux : Imene et Hadjer, Sofiane et Farouk

Que je leurs souhaite une vie pleine de bonheur et de prospérité

A mon cher frère, ma nièce chérie et mon neveu : Mohamed Amine, Amira et Islam

A toute ma famille : tantes, oncles, cousins et cousines

A mon binôme et meilleur amie Lamia et toute sa famille

A mes chères amis : Meriem, Wafa, Hadjer, Wassila merci pour les bon moments qu'on a passée ensemble.

A Mme. Bani Djedri.S : qui n'a pas cessé de nous encourager et nous conseiller. Cette humble dédicace ne saurait exprimer notre grand respect et notre profonde estime.

*A toute ma promo 2016/2017 « Matériaux et Produits Organiques Industriels **MPOI** ».*

A toute les personnes que je n'ai pas citées mais que je porte dans mon cœur.

KHALIDA.B

ملخص:

يقتصر عملنا على استخلاص الزيوت الأساسية من بذور النيجيلا "نيجيلاساتيفا" L وصياغة كريمة شبه صيدلانية طبيعية ثم دراسة أنشطتها المضادة للالتهابات وكذلك المضادة للميكروبات.

استخلاص الزيوت الأساسية تم بطريقة التقطير إنطلاقا من بذور النيجيلا فقد سعينا إلى صياغة كريمة صيدلانية طبيعية مستقرة ومتجانسة من نوع زيت في الماء (الزيت / الماء)، والتي تحتوي أساسا مرحلتين: مرحلة الزيتية والمرحلة المائية..

فلهذا قمنا بدراسة النشاط المضاد للميكروبات لهيدرولا بذور النيجيلا والكريمة المصاغة من خلال خمس سلالات بكتيرية مرجعية بطريقة نشر الأقراص. النتائج التي تم الحصول عليها تبين أن هيدرولا بذور النيجيلا والكريمة لا يكون لها نفس تأثير مضاد الجراثيم.

كما هدفت دراستنا أيضا لتقييم النشاط المضاد للالتهابات لكل من الهيدرولا و بذور النيجيلا من خلال تجربتهما على الساقين اليسرتين وعلى أذني الفئران على التوالي. فلاحظنا أن هيدرولا البذرة والكريمة المصاغة أعطت نتائج جيدة وهذا بالحد من وذمة

كلمات البحث: نيجيلا ساتيفا. L ، الزيوت الأساسية، الكريمة شبه الصيدلانية الطبيعية، مضادة الميكروبات، مضادة للالتهابات

Résumé

Notre travail porte sur l'extraction de l'huile essentielle de graines de nigelle « *Nigella sativa* L. » par hydrodistillation et la formulation d'une crème parapharmaceutique BIO stable et homogène de type huile dans l'eau (huile/eau), renfermant essentiellement deux phases : phase huileuse et phase aqueuse.

Puis l'étude de leurs activités anti-inflammatoires et antimicrobiennes.

Pour cette raison nous avons étudiés l'activité antimicrobienne de l'hydrolat de graines de nigelle et de la crème formulé, les résultats obtenus montrent que l'hydrolat de graines de nigelle et la crème ne possèdent pas le même effet antibactérien.

Notre étude avait pour but aussi d'évaluer l'activité anti-inflammatoire de l'hydrolat et la crème, nous avons remarqué que l'hydrolat de la plante et la crème formulé ont marqué une bonne efficacité en réduisant les œdèmes.

Mots clé : *Nigella sativa* L., huile essentielle, crème parapharmaceutique BIO, antimicrobienne, anti-inflammatoire

Abstract

Our work focuses on the extraction of the essential oil of nigella seeds “*Nigella sativa* L.” and the formulation of a parapharmaceutical cream BIO then the study of their anti-inflammatory and antimicrobial activities.

The extraction of the essential oil was carried out by hydrodistillation from the seeds of *Nigella*.

We have sought to optimize a formulation of stable and homogeneous oil-in-water (oil/water) BIO. Parapharmaceutical cream, essentially containing two phases: oily phase and aqueous phase.

And also to study the antimicrobial activity of the *Nigella* seed hydrolat and the cream formulated, with respect to five bacterial reference strains, by the method of the discs. The results obtained show that *Nigella* seed hydrolat and cream do not have the same antibacterial effect.

Our study also aimed to evaluate the anti-inflammatory activity of the hydrolat and the cream through their experience on the left legs and on the ears of the mice, respectively. We noticed that the hydrosol of the plant and the cream formulated marked a good efficiency by reducing the edema.

Keywords: *Nigella sativa* L, essential oil, parapharmaceutical cream BIO, antimicrobial, anti-inflammatory

Liste des tableaux

N° de tableau	Titre	Page
Tableau 3.1	les caractéristiques de souches microbiennes utilisées	36
Tableau 3.2	valeur de pH des crèmes stable.	54
Tableau 3.3	les valeurs de la viscosité.	58
Tableau 3.4	résultats du test d'irritation cutané	59
Tableau 3.5	résultats de l'activité antimicrobienne de l'hydrolat de graines de nigelle et la crème	60
Tableau 3.6	les valeurs représentant le pourcentage et de la réduction de l'œdème.	61
Tableau 3.7	Les valeurs de pourcentage de réduction de l'œdème.	62

Liste des figures

N° de Figures	Titre	Page
Figure 1.1	structure de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles	8
Figure 1.2	Nigella sativa L.	13
Figure 1.3	représentation de la thymoquinone et de ses dérivés retrouvés dans l'huile essentielle de Nigella sativa L.	15
Figure 1.4	structure chimique des trois flavonoïdes isolés de Nigella sativa L.	16
Figure 1.5	structure chimique des principaux alcaloïdes de Nigella sativa L.	16
Figure 2.1	coupe transversale de la structure de la peau.	29
Figure 3.1	dispositif de l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.	38
Figure 3.2	schéma représentatif du processus de fabrication.	45
Figure 3.3	méthode de l'aromatogramme.	49
Figure 3.4	préparation de l'inoculum et l'ensemencement.	50
Figure 3.5	aspect de la crème c'1 formulé.	55
Figure 3.6	observation microscopique de la crème formulé.	58
Figure 3.7	observation microscopique de la crème de référence.	56
Figure 3.8	Contrainte de cisaillement en fonction du taux de cisaillement pour la crème formulé	57
Figure 3.9	Contrainte de cisaillement en fonction du taux de cisaillement pour la crème de référence.	57
Figure 3.10	courbe de la viscosité en fonction du taux de cisaillement pour crème formulé.	57

Figure 3.11	courbe de la viscosité en fonction du taux de cisaillement pour la crème de référence.	57
-------------	--	----

Liste des abréviations

AFNOR	Association française de normalisation
HE	Huile Essentielle
H/E	HUILE/ EAU
E/H	Eau/ huile
HLB	Hydrophilic lipophilic balance (balance hydrophile lipophile).
BIO	Biologique
pH	Potentiel hydrogène
CPG	Chromatographie phase gazeuse
ml	Millilitre
µL	Micro litre
Kg	Kilogramme
g	Gramme
CA	Cire d'abeille
BK	Beurre de karité
HAD	L'huile d'amande douce
TA	Tension Actif
U.S.P	United States Pharmacopia.
ATCC	American Type Culture Collection

Glossaire

Anti-inflammatoire : Ce dit d'un produit ayant la propriété de diminuer l'inflammation.

Carragénine : Mucopolysaccharide sulfaté extrait d'une algue marine.

Œdème : Gonflement des tissus provoqué par une infiltration de liquide interne.

L'irritation cutanée : désigne l'apparition de lésions cutanées réversibles consécutives à l'application d'un produit chimique testé durant une période de quatre heures au maximum.

Inflammation : réaction localisée d'un tissu, consécutive à une agression. Une inflammation se manifeste par quatre signes principaux : rougeur, chaleur, douleur et tuméfaction (gonflement).

Sommaire

Introduction générale.....01

Chapitre 01: Les huiles essentielles

1.1. Les huiles essentielles.....03

1.2. Généralité sur la plante « Nigella sativa L. ».....11

Chapitre 02: Les cosmétiques et les émulsions

2.1. Les cosmétique.....20

2.2. Les émulsions24

2.3. La peau.....28

Chapitre 03: Partie expérimentale

3.1. Matériels et méthodes.....35

3.2. Résultats et discussions.....55

Conclusion générale.....67



Table des matières

Remerciement

Dédicaces

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Sommaire

Table de matière

Introduction générale.....01

Chapitre01:Les huiles essentielles

1.1. Les huiles essentielles.....03

1.1.1. Généralités sur les plantes médicinales.....03

1.1.2. Principes actifs des plantes médicinales.....03

1.1.3. Généralités sur les huiles essentielles.....04

1.1.4. Localisation des huiles essentielles dans la plante.....05

1.1.5. Propriétés physico-chimique des huiles essentielles.....06

1.1.6. Composition chimique des huiles essentielles.....06

1.1.7. Les procédés d'extraction des huiles essentielles.....08

a. L'hydrodistillation.....09

b. L'extraction par entrainement à la vapeur d'eau.....09

c. Extraction par solvants volatils.....09

1.1.8. Conservation des huiles essentielles.....09

1.1.9. Les propriétés thérapeutiques et domaines d'utilisation des huiles

essentielles.....	10
1.1.10. Mode d'utilisation des huiles essentielles.....	10
a. En usage interne.....	10
b. En usage externe.....	11
1.2. Généralité sur la plante « Nigella sativa L. ».....	11
1.2.1. Historique.....	11
1.2.2. Distributions botaniques.....	12
1.2.3. Distribution géographiques de la nigelle.....	13
1.2.4. Culture de la nigelle.....	13
1.2.5. Composition chimique.....	14
1.2.6. Propriétés thérapeutiques de <i>Nigella Sativa</i>	18
a. Propriétés antibactériennes.....	18
b. Propriétés antifongiques.....	18
c. Propriétés antidiabétiques.....	18
d. Propriétés anti-inflammatoire.....	19
e. Autres propriétés.....	19

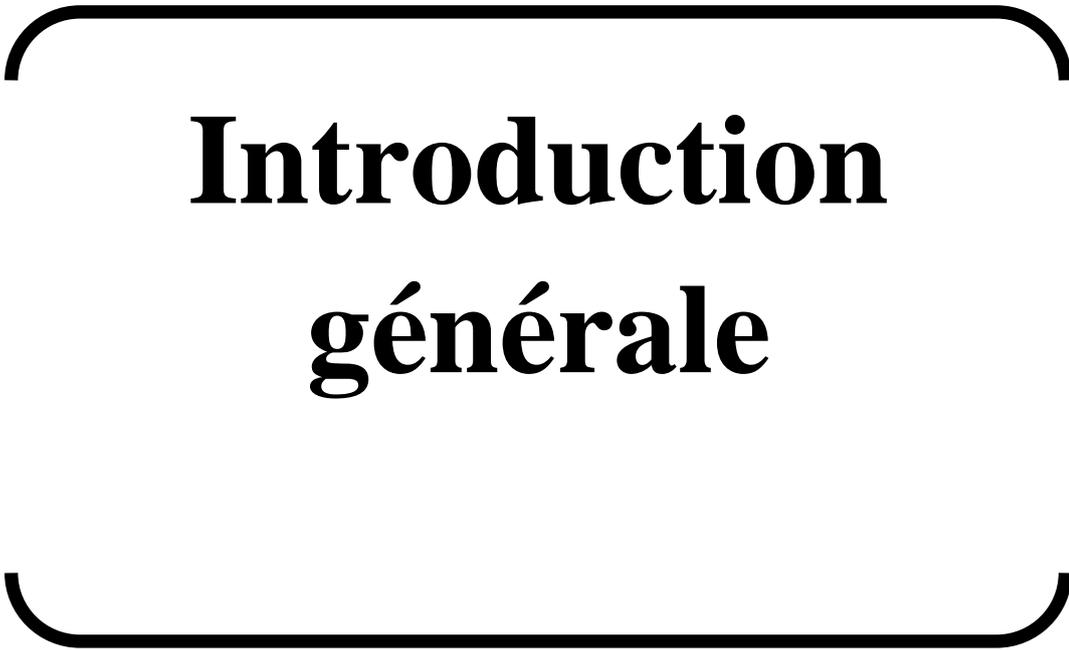
Chapitre02 : Les cosmétiques et les émulsions

2.1. Les cosmétique.....	20
2.1.1. Définition d'un produit cosmétique.....	20
2.1.2. Produit cosmétique naturel.....	20
2.1.3. Produit cosmétique biologique.....	20
2.1.4. Les différences entre la cosmétique conventionnels et la cosmétique biologique.....	21
2.1.5. Les différents types de cosmétique.....	22
2.1.6. La formulation des crèmes cosmétiques.....	23
2.2. Les émulsions.....	24
2.2.1. Définition.....	24
2.2.2. Les différents types d'émulsions.....	24
2.2.3. Potentiels d'interaction et stabilité des émulsions.....	25

2.2.4. Mécanismes d'évolution ou de destruction des émulsions.....	27
a. Le crémage ou sédimentation.....	27
b. La floculation.....	27
c. Coagulation.....	28
d. Coalescence.....	28
2.3. La peau.....	28
2.3.1. La structure de la peau.....	28
2.3.2. Les problèmes liés à la peau.....	30

Chapitre03: Partie expérimentale

3.1. Matériels et méthodes.....	35
3.1.1. L'extraction d'huile essentielle des grains de nigelle par hydrodistillation.....	39
3.1.2. Elaboration de la crème.....	41
3.1.2.1. Préparation de la crème de base type Huile/ Eau.....	41
3.1.2.2. Optimisation des paramètres.....	42
3.1.2.3. Effet irritant/corrosif aigue sur la peau.....	44
3.1.3. Activité pharmacologique.....	46
3.1.3.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	46
3.1.3.2. Détermination de l'activité anti-inflammatoire.....	49
3.2. Résultats et discussions.....	53
3.2.1. Détermination du rendement d'extraction et caractérisation physico chimique.....	53
3.2.2. Optimisation des paramètres de formulation.....	53
3.2.3. Effet irritant/corrosif aigue sur la peau.....	58
3.2.4. Tests biologiques (l'activité antimicrobienne).....	60
3.2.5. Test pharmacologique (test anti-inflammatoire).....	61
Conclusion générale.....	63
Bibliographie	
Annexes	



Introduction générale

Introduction générale

A l'époque où la chimie était encore méconnue, l'homme, curieux et désireux de connaître les secrets de la nature, a eu recours aux plantes pour soigner des maladies. [1].

Il s'agit des plantes à usage pharmaceutiques ou plantes médicinales, employées en pharmacie humaines et vétérinaire, en cosmétologie. Ces plantes présentent également des usages dans le domaine agroalimentaire. Elles sont utilisées sous formes naturelle, extraits actifs ou en préparation galénique. Elles servent également comme matières première ou précurseurs pour l'obtention de médicaments [1].

De nombreuses plantes médicinales efficaces revendiquées par la médecine populaire ont besoin de la recherche scientifique pour s'assurer de leurs efficacité ou de leurs toxicité afin d'élaborer des médicaments de substitution et de stratégies thérapeutiques [2].

Parmi les plantes médicinales les plus utilisée et qui ont suscité un grand intérêt pour les pays méditerranéens et asiatiques, la **Nigella sativa L** à trouver n intérêt particulier.

Le prophète Mohamed (QSSL) a incité les croyants à son utilisation en insistant sur les bienfaits de cette graine en tant que traitement médicinaal 'contre tous les maux', ce qui constitué une tradition pour le monde musulman en se référant à cette graine et à son l'huile [3].

Les graines de *Nigella sativa L*, ou la nigelle cultivée (sanoudj ou habba sawda) est l'une des sources de plantes médicinales qui occupent une place particulière dans le monde la médecine traditionnelle à cause de ses utilisations thérapeutiques très vastes par les populations dans les pays arabe, en Asie et en Europe contre de nombreuses pathologies telles que l'hypertension, le diabète, la fièvre la migraine, l'inflammation, les problèmes gastro-intestinales....etc. [4].

Dans ce but que nous nous sommes intéressés à étudier les activités de l'huile essentielle de graine de nigelle. Ainsi l'évaluation de son activité antibactérienne et anti-inflammatoire. Ces derniers ont été recherchés dans l'hydrolat et dans une crème parapharmaceutique Bio formulée au laboratoire.

La première partie de notre manuscrit est consacrée à une synthèse bibliographique comprenant une présentation de la plante ainsi que des définitions.

Dans la partie expérimentale on a parlé de l'extraction de l'huile essentielle à partir des graines de la nigelle cultivée puis à l'optimisation des paramètres de la formulation de la crème Bio en présence de l'huile essentielle. Ainsi que les différents tests effectués afin de prouver les activités de la crème formulées.

Chapitre 01:
Les huiles
essentiels

1.1. Les huiles essentielles

1.1.1. Généralités sur les plantes médicinales

Les plantes ont toujours fait partie de la vie quotidienne de l'homme puisqu'il s'en sert pour se nourrir, se soigner et parfois dans son rite religieux. L'utilisation des plantes médicinales comme source de remède pour se soigner ou prévenir des maladies est originaire des millénaires jusqu'à la récente civilisation chinoise, indienne et du Proche-Orient. Elle est devenue certainement un art au fil des siècles, la thérapeutique par les plantes s'est dissociée des pratiques magiques pour devenir empirique puis scientifique. Cela était évident au début du 19^{ème} siècle qui marque la découverte des alcaloïdes (la morphine, la strychnine, la quinine...). Dans les pays industrialisés, les recherches dans le domaine des plantes médicinales durant les dernières décennies. Néanmoins les substances actives isolées constituent environ 25% des préparations médicamenteuses [5].

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale : Méditerranéenne, saharienne et une flore Paléo Tropicale, estime à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques. Ces espèces sont pour la plupart spontanées avec un nombre non négligeable 15% d'espèces endémiques. Ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable [5].

1.1.2. Principes actifs des plantes médicinales

La plupart des espèces végétales qui poussent dans le monde entier possèdent des vertus thérapeutiques car elles contiennent des principes actifs qui agissent directement sur l'organisme. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie, elles présentent en effet des avantages dont les médicaments sont dépourvus [6], et parmi ces principes actifs on cite :

a. Flavonoïdes

Ils sont présents dans la plupart des plantes, ce sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres à colorer les fleurs et les fruits en jaune et en blanc, ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales antioxydant, des propriétés anti-inflammatoires et antivirales [7].

b. Tanins

Les tanins sont des substances constituées par un mélange de glucosides et d'acide gallique. On les rencontre, en petite quantité, dans de très nombreuses plantes [8]. Elles sont dotées de propriétés astringentes, cytostatique et bactéricides [6].

c. Alcaloïdes

Ce sont des substances azotées produites dans les plantes dont l'action sur l'homme et les animaux est extraordinaire. Quelques milligrammes peuvent suffire pour provoquer de graves intoxications. En revanche, lorsqu'elles sont bien dosées, elles deviennent des médicaments tout aussi puissants [6].

d. Phénols

Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l'acide salicylique, molécule donnant par synthèse l'aspirine. Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. Les acides phénoliques, comme l'acide rosmarinique, sont fortement antioxydants et anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales [7].

e. Anthocyanes

Les anthocyanes sont issus de l'hydrolyse des anthocyanides (flavonoïdes proches des flavones),

Qui donnent aux fleurs et aux fruits leurs teintes bleues, rouge ou pourpre. Ces puissants antioxydants nettoient l'organisme des radicaux libres [7].

1.1.3. Généralités sur les huiles essentielles

Les huiles essentielles ont, à toutes époques occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner.

Beaucoup de travaux sont réalisés dans ce sens, du fait de l'importance incontestable des huiles essentielles dans divers secteurs économiques, comme l'industrie de la parfumerie et de la cosmétique, l'industrie alimentaire, l'industrie pharmaceutique et plus particulièrement dans la branche de l'aromathérapie qui utilise leurs propriétés bactéricides et fongicides [9].

Cependant, l'Association Française de Normalisation (AFNOR) a donné une définition qui prend en compte le mode d'obtention des huiles essentielles, comme étant un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus, soit par distillation à sec [10]. Cette définition est cependant restrictive car elle exclut aussi bien les produits extraits à l'aide de solvants que ceux obtenus par tout autre procédé.

Nous retenons alors que les huiles essentielles sont des mélanges de complexes aromatiques de plantes, extraits par distillation à la vapeur d'eau ou aux solvants [11, 12].

1.1.4. Localisation des huiles essentielles dans la plante

Les HE n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices et s'accumulent en général dans des cellules glandulaires spécialisées, souvent situées sur ou à proximité de la surface des tissus de plantes et recouvertes d'une cuticule. Ensuite, elles sont stockées dans des cellules dites cellules à huiles essentielles (Lauraceae ou Zingiberaceae), dans des poils sécréteurs (Lamiaceae), dans des poches sécrétrices (Myrtaceae ou Rutaceae) ou dans des canaux sécréteurs (Apiaceae ou Asteraceae).

Elles peuvent être stockées dans divers organes végétaux : les fleurs (rose, bergamotier,...), les sommités fleuries (tagète, lavande,...), les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier,...), les racines (vétiver), les rhizomes (gingembre, curcuma,...), les fruits (badiane,..), le bois (bois de rose, santal,...), ou les graines (ambrette, muscade, nigelle,...) [13, 14, 15].

Elles diffèrent par leur taille, leur paroi ou leur contenu, caractérisant parfois une famille donnée. Elles jouent un rôle important dans la détermination des conditions d'extraction des produits volatils qu'elles contiennent [14]. Plusieurs catégories de

tissus sécréteurs peuvent coexister simultanément chez une même espèce, voire dans un même organe [13].

1.1.5. Propriétés physico-chimique des huiles essentielles

Les essences produites par les différentes espèces de plante, varient dans leurs caractéristiques physico-chimiques selon certains facteurs ex : les régions et les climats, l'époque et le moyen de la récolte [16] :

- ❖ A température ambiante, elles sont liquides alors qu'elles sont volatiles, à température élevées, c'est leur volatilité qui les distingue des huiles fixes telle que l'huile d'olive.
- ❖ L'indice de réfraction est généralement élevé et la plus part dévient la lumière polarisée [17].
- ❖ Elles sont très solubles dans les solvants organiques (alcool, éther).
- ❖ Pouvoir intense de diffusion et de pénétration.
- ❖ Elles sont très peu solubles dans l'eau.
- ❖ Elles ont une densité inférieure à celle de l'eau ($d < 1$), (les huiles essentielles de girofle ou de cannelle, constituent des exceptions) [18].

1.1.6. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de constituants, contiennent 20 à 60 composants avec des concentrations différentes, et elles sont caractérisées généralement par 2 ou 3 composants majoritaires représentent 20-70% d'huile essentielle totale, alors que les autres composés se trouve sous forme des traces [19].

Les constituants des huiles essentielles appartiennent de façon quasi exclusive à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes, le groupe des terpènes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés de phényle propane beaucoup moins fréquents [20].

Les huiles essentielles peuvent être également renfermées d'autres constituants qui ne sont pas des terpènes ou des dérivés de phényl propane, comme les composés issus de la dégradation d'acides gras et de terpènes (les ionones, et les irones), et les

composés azotés et soufrés qui résultent du clivage d'acides aminés ou de ces précurseurs (indole) [20, 21, 22].

➤ Les terpènes

Les terpènes sont les composants les plus abondants dans les huiles essentielles et sont subdivisés en deux classes, les mono et les sesquiterpènes.

- **Les monoterpènes** : représentent la classe la plus simple de la série des terpènes (à l'exception des hémiterpènes qui sont très rares), ils contiennent 10 atomes de carbones résultants du couplage tête à queue de deux unités d'isoprène de 5 atomes de carbones. Ils constituent un pourcentage important dans la composition des huiles essentielles (80 à 98% d'huiles essentielles totales) par rapport aux sesquiterpènes. Sur le plan structural les monoterpènes peuvent être : acyclique comme le myrcène et ocimène, monocyclique comme P-cymène et α -terpine, ou bicyclique comme le pinène, camphène et sabinène. Ils peuvent être aussi fonctionnalisés tel que les alcools (géraniol, linalol, citronellol, menthol, fenchol...), les aldéhydes (géraniol, néral), les cétones (tagétone, menthone, carvone), les esters (acétate de citronellyle, acétate de méthyle, acétate d' α -terpinyle), les peroxydes (ascaridole), et les phénols (thymol et carvacrol) [20].
- **Les sesquiterpènes** : sont composés de 15 atomes de carbones et issus de l'assemblage de 3 unités isopréniques. Ils ont aussi diverses structures, des carbures mono ou polycycliques (β -bisabolène, β -caryophyllène et longifolène), des alcools (farnésol, carotol, β -santalol, et patchoulol), des cétones (nootkatone, cis-longipinane-2,7-dione, et β -vétivone), des aldéhydes (sinensal) et des esters (acétate de cédryle) [20].

➤ Les composés aromatiques

Les composés aromatiques sont des dérivés de phénylpropane (C₆-C₃), et sont beaucoup moins fréquents que les terpènes. Ils peuvent être des aldéhydes comme le cinnamaldéhyde, des alcools comme le cinnamique alcool, des phénols comme le chavicol,

et eugénol, des dérivés de méthoxy comme l'anéthol elemicine et estragole et des dérivés de dioxyméthylène comme l'apiole, myristicine, et safrole [19].

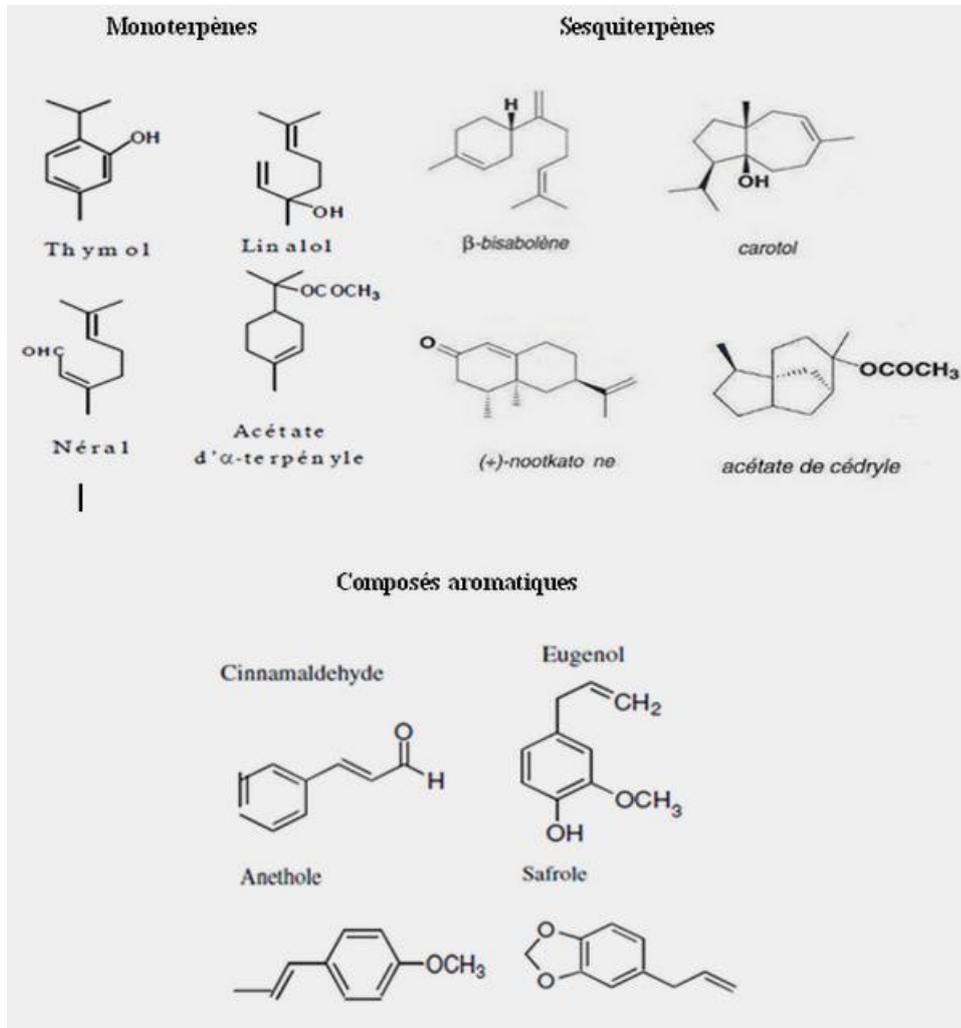


Figure 1.1 : Structure de quelques composés rencontrés dans les huiles essentielles [23].

1.1.7. Les procédés d'extraction des huiles essentielles

Les méthodes d'extraction des principes odorants des matières végétales ont considérablement progressé grâce à la chimie moderne. Les principales méthodes sont :

- L'hydrodistillation ;
- L'entraînement à la vapeur d'eau ;
- L'extraction par solvants volatils.

a. L'hydrodistillation

Illustré par Garnier en 1891, elle sert à séparer l'huile essentielle des autres composés naturels selon la divergence de densité, elle demeure un mode d'extraction ancien et efficace malgré la possibilité d'entraîner des molécules indésirables [24]. L'intérêt de cette méthode réside dans la possibilité d'extraire des huiles essentielles contenues dans les plantes et de préparer des hydrolats ou eaux distillées florales. Cette technique permet de dissocier le solvant et le principe actif [25].

b. L'extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Il s'agit de l'un des procédés d'extraction ou de séparation de certaines substances organiques les plus anciens, apporté par les Arabes au IX^e siècle. Cette opération s'accomplit dans un distillateur ou « alambic ». Le matériel végétal est supporté par une grille ou une plaque perforée placée à une distance adéquate du fond de l'alambic, rempli d'eau. Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et passe à travers les plantes en entraînant les molécules aromatiques vers un système de refroidissement. La vapeur d'eau chargée ainsi d'essence retourne à l'état liquide par condensation. Le produit de la distillation se sépare donc en deux phases distinctes : l'huile et l'eau condensée que l'on appelle eau florale ou hydrolat [25]. Les parties insolubles sont séparées de l'eau par décantation pour donner l'huile essentielle [25].

c. Extraction par solvants volatils

C'est une extraction chimique qui consiste à séparer une substance donnée d'un mélange par un solvant où la molécule cible est très soluble. L'espèce à extraire abandonne ce mélange par diffusion pour se dissoudre dans le solvant où sa solubilité est plus grande, ce dernier s'évapore et quitte la solution après passage au rotavapeur ou au Soxhlet [26,27]. Le choix du solvant est important car plusieurs facteurs causent la rupture solvant-solution aqueuse : structure moléculaire, composition ionique, température, sélectivité [28].

1.1.8. Conservation des huiles essentielles

Elles se présentent et se conservent dans des flacons de verre fumé, fermés par un bouchon bien hermétique, ce qui les préserve de la lumière et de l'air pour éviter

leur oxydation (à l'aire) et leur polymérisation (à la lumière). Elles se conservent à une température ambiante varie entre 3 C° et 4 C°. Les huiles essentielles se conservent entre 12 et 18 mois après leur fabrication. Avec le temps leur propriétés diminuent et deviennent alors inactives [16].

1.1.9. Les propriétés thérapeutiques et domaines d'utilisation des huiles essentielles

Selon Hammer et al., [29] la richesse des huiles essentielles en composés biologiquement actifs leur permettent d'être quasiment utilisées dans tous les domaines. Les huiles essentielles possèdent de nombreuses propriétés thérapeutiques tel que : antibactérienne [29], antifongique, antioxydant [30] et insecticides [31].

Grace à leurs pouvoirs curatifs : spasmolytique [32] antispasmodique [33], anticancer [34], anti-inflammatoire, anti-ulcère [35], antivirale [36]...etc., les huiles essentielles sont utilisées pour le traitement ou la prévention contre la plupart des maladies de l'homme.

Elles sont actuellement employés comme arômes alimentaires et peuvent servir en même temps comme agents de conservation des aliments grâce à leur effet antimicrobien, et ce d'autant plus qu'elles sont reconnues comme saines [37,38].

Selon Alessendra et al., [39] les huiles essentielles sont aussi largement utilisées dans la fabrication des produits cosmétiques tel que les parfums, savons, lotions et pommade de soins.....etc

1.1.10. Mode d'utilisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent s'utiliser par différents voies [40]

a. En usage interne

- ❖ par voie orale (ou buccale), les huiles essentielles ne doivent pas être utilisées pures car elles peuvent provoquer des brûlures digestives,
- ❖ Par voie rectale sous forme de suppositoires,
- ❖ Par voie vaginale sous forme d'ovules.

b. En usage externe

- ❖ La voie cutanée est la voie la plus fréquemment utilisée car c'est la moins toxique et elle permet une pénétration facile et rapide des huiles essentielles à travers la peau puis la circulation générale arrivant aux organes ou elles vont exercer leur activité.

- ❖ L'huile essentielle peut également être prise par inhalation par ajout de quelques gouttes d'huile essentielle dans un bol d'eau chaude et de respirer les vapeurs ou en déposant quelques gouttes sur un mouchoir propre que l'on respirera.

1.2. Généralité sur la plante « Nigella sativa L. »

La nigelle est traditionnellement connue dans les pays du Moyen Orient grâce à ses puissantes qualités de guérison pour de nombreuses affections. Elle a été utilisée depuis des milliers d'années au Moyen-Orient ainsi que des ports d'Afrique et d'Asie et est désormais bien connue dans le monde entier [41].

1.2.1. Historique

La nigelle est connue depuis l'antiquité. Les Egyptiens en faisant usage (ses graines ont été découvertes dans la tombe de Tout Ankh Amon). Le médecin grec Dioscorides, la préconisait contre les céphalées, les douleurs dentaire et abdominales et pour combattre l'écoulement nasal [42].

Les Romains qui avaient connaissances de la nigelle, ou « coriandre grecque » la considéraient comme complément alimentaire [43].

Chez les Grecs anciens (Hippocrate et Galien), la nigelle était considérée comme un remède précieux dans les traitements des affections hépatiques et digestives [44].

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

Boukhari, auteur d'Al-tibb al-nabawi cite le prophète (QSSL) « soignez-vous en utilisant la graine de nigelle c'est un remède contre tous les maux à l'exception de la mort » [43].

1.2.2. Distributions botaniques

Nigella sativa L ou nigelle cultivée est une plante annuelle herbacée, atteignant 30 à 60 cm de haut. Les fruits murs, constitués de follicules soudés s'ouvrant par une fente interne, renferment de nombreuses graines de couleur noir mat, ovoïdes mesurant de 2 à 3,5 mm de long et présentant trois ou quatre angles. La face supérieure est finement granuleuse et réticulée.

➤ Situation botanique de l'espèce *Nigella sativa*

- Règne : Plante ;
- Classe : Dicotylédone ;
- Ordre : Ranunculales ;
- Famille : Ranunculaceae ;
- Genre : *Nigella* ;
- Espèce : *Nigella sativa*.



Figure 1.2 : *Nigella sativa* L., d'après [45]

1.2.3. Distribution géographique de la nigelle

- **Dans le monde**

La graine de Nigelle est une plante qui pousse une fois par an et qui est considérée comme une plante indigène de la Méditerranée mais qui a été cultivée dans d'autres régions du monde comme en Arabie Saoudite, en Inde, en Syrie, en Afrique du Nord et dans certaines régions d'Asie [44].

- **En Algérie**

La nigelle est cultivée un peu partout en Algérie [46]. Les régions de la Mitidja et du Sahel en sec, ainsi que les régions d'Adrar, de Touggourt et l'Oranais en irrigué lui conviennent bien [47].

1.2.4. Culture de la nigelle

La plante est très peu exigeante et pousse sur des terrains argileux ou sablonneux, dans des endroits chauds et peu humides.

Les graines sont semées en général au printemps, elles commencent leur germination dans les trois à quatre semaines. Après environ six mois de croissance végétative, la floraison apparaît et les graines continuent leur maturation pendant un bon mois encore. Dès le jaunissement des feuilles, le brunissement des follicules, la récolte peut être faite à l'automne pour séchage à l'ombre [48].

1.2.5. Composition chimique

En raison de leur large domaine d'usage médicinal, les graines de *Nigella sativa* ont fait l'objet de plusieurs études phytochimiques intensives dans le but d'identifier des principes actifs.

Les recherches sur la composition des graines de *N. sativa* ont débuté en 1880 avec Greenish, qui publia le premier rapport mentionnant la présence de 37% d'huiles et 4,1% d'éléments minéraux [49].

Par la suite, des études ont montré la présence d'une diversité de substances naturelles regroupant des lipides, des dérivés terpéniques, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des saponines. *N. sativa* constitue également une importante source de protéines et de sels minéraux : phosphore, calcium, potassium, magnésium et sodium [50]. Les valeurs et proportions fournies par la littérature diffèrent d'un auteur à l'autre ; la variété et l'origine des échantillons peuvent en être partiellement responsables. L'huile essentielle des grains de nigelle est constituée des composants suivants :

a. L'huile fixe

Représente entre 37,9% - 39,2% du poids de la graine. Elle est constituée principalement de lipides neutres 96,1%-97,2%, de lipides polaires 3% et de phospholipides 0,32%-1,05% [51].

b. Huile essentielle

Représente entre 1,4-1,9% du poids de l'huile fixe et 0,18 à 0,50% du poids des grains [52]. L'analyse de cette huile par GC-MS réalisée par Burits et Bucar [53], a permis d'identifier 32 composants, dont la majorité d'entre eux sont des monoterpènes :

p-cymène (teneur \approx 38%), thymoquinone (\approx 30%), α -pinène (5 à 14%), β -pinène (\approx 5%) et limonène (\approx 4%).

La présence de thymohydroquinone, de thymol, de produits d'oxydation de la thymoquinone, comme la dithymoquinone sont également signalés (**figure 3**).

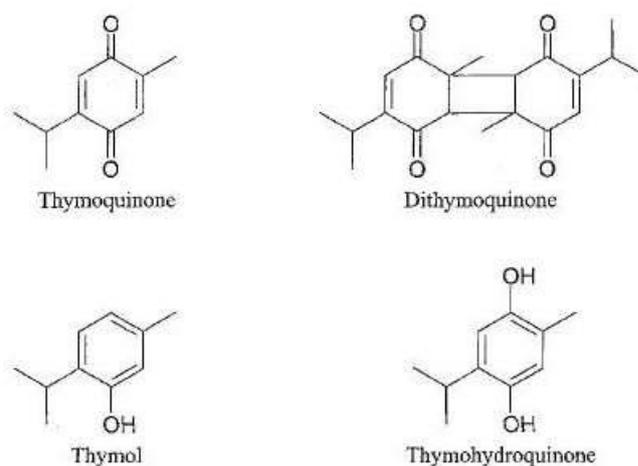


Figure 1.3 : Représentation chimique de la thymoquinone et de ses dérivés retrouvés dans l'huile essentielle de *Nigella sativa* L., d'après [54].

c. Lipide

Représentent entre 30 à 35% du poids de la graine ; les acides formant des triglycérides sont constitués de 50 à 60% d'acide linoléique, 18 à 25% d'acide oléique, 10 à 15% d'acide palmitique, 3 à 4% d'acide stéarique, 2 à 3% d'acide eicosadiénique ; ces acides majoritaires sont accompagnés de petites quantités d'acide myristique, palmitoléique, stéarique, α -linoléique, arachinique, eicosénique et eicosapentadiénique [55].

d. Polyphénols et flavonoïdes

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

Les flavonoïdes sont des substances généralement colorées très répandues chez les végétaux. Les Renonculacées sont un groupe riche en flavonols et en flavones [55].

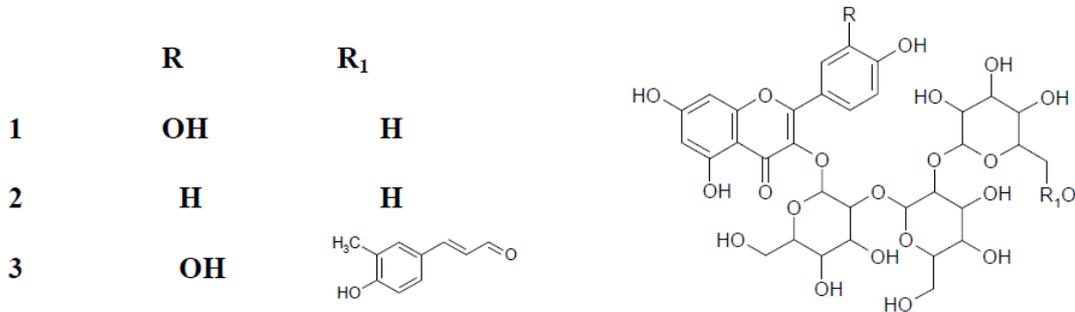


Figure 1.4 : Structure chimique des trois flavonoïdes isolés de *Nigella sativa* L., d'après [55].

e. Alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des substances présentant un caractère alcalin, contenant de l'azote, le plus souvent inclus dans un hétérocycle. Les alcaloïdes ont, pour la plupart des actions physiologiques et thérapeutiques à faibles doses. Ils deviennent cependant très toxiques à fortes doses [56].

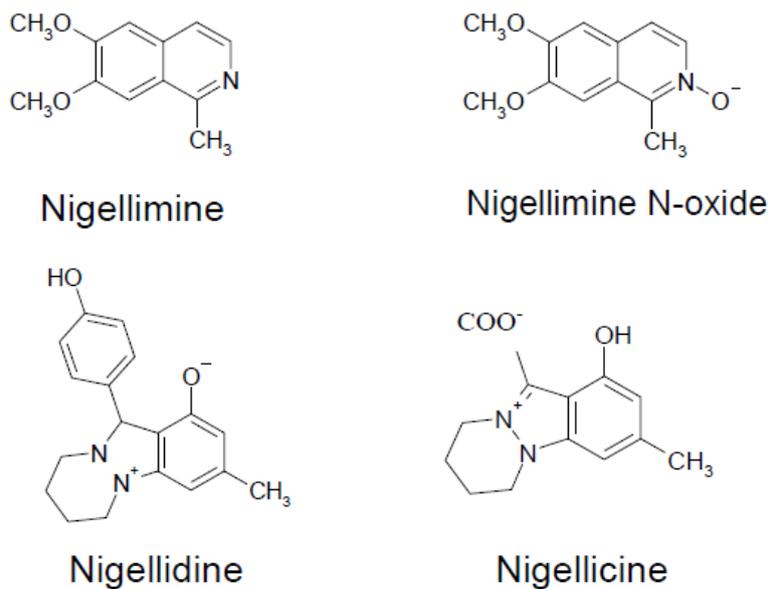


Figure 1.5 : Structure chimique des principaux alcaloïdes de *N. sativa* L., d'après [56].

f. Les protéines

Les graines de *Nigella sativa* sont très riches en protéines (environ 20%), avec dominance d'acide glutamique (22,4%), d'acide aspartique (10,05%), et d'arginine (9,18%) [57].

g. Les vitamines et sels minéraux

La composition en vitamines a été déterminée et révèle la présence des vitamines A, B1, B2, B6, et de l'acide folique [58].

Les tocophérols totaux constituent 0,05% de l'huile, et sont constitués majoritairement de l' α -tocophérol (48%) et du γ -tocophérol (28%). D'autres vitamines liposolubles comme le β -carotène (0,05%) et la vitamine K1 (0,1%).

Des travaux sur la composition minérale de la graine de *Nigella sativa* ont rapporté que sa teneur en potassium est importante (1,18% de poids total de la graine) et que le calcium, le fer, le sodium, représentent 0,188 ; 0,0575 et 0,0853% respectivement [58].

La teneur des graines en sélénium a été également déterminée, elle représente 0,27 à 0,54 mg/kg de graines [59].

1.2.6. Propriétés thérapeutiques de *Nigella Sativa*

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

a. Propriétés antibactériennes

L'huile essentielle de *N. sativa* a inhibé la croissance des bactéries Gram positif et négatif dans une étude réalisée sur plusieurs bactéries, sauf certaines souche de

Pseudomonas aeruginosa. Les composés phénoliques présents dans l'huile seraient responsables de cet effet antibactérien [60].

Une étude *in vitro* par la méthode de diffusion sur disque a mis en évidence la forte activité inhibitrice de l'huile essentielle diluée au centième contre plusieurs bactéries dont *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhit* *Vibrio cholerae*, avec une plus forte action sur les bactéries Gram(+) [60].

b. Propriétés antifongiques

Les différents extraits étudiés sur les bactéries ont également été utilisés pour déterminer l'activité antifongique. L'essai de l'huile essentielle diluée au centième par la méthode de diffusion sur disque, cité précédemment, a été réalisé sur les champignons de genre *Aspergillus Microsporium*. L'effet antifongique de l'huile essentielle de nigelle a été observé au même titre que l'effet antibactérien [60].

c. Propriétés antidiabétiques

La nigelle inhibe l'absorption de glucose par l'intestin et régule le poids, en même temps. Elle sera intéressante pour compléter un traitement contre l'insulino-résistance [61]

Sur des lapins hyperglycémiques et normaux, l'huile essentielle de nigelle a été injectée par voie intra-péritonéale à une dose de 50 mg/kg. Quatre à six heures après administration, une diminution de la glycémie a été observée (15-23%). L'amélioration de la glycémie n'étant pas accompagnée de modification de l'insulinémie, cet effet de la nigelle serait indépendant des mécanismes insuliniques [62].

d. Propriétés anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire de la nigelle a été également étudiée. En effet l'administration de l'huile fixe est la thymoquinone par voie intra-péritonéale chez les rats et les souris respectivement avant le traitement par l'ovalbumine par voie nasale pour induire une allergie pulmonaire, inhibe de façon significative la réaction inflammatoire via l'inhibition de la production des cytokines et l'infiltration des

cellules pro-inflammatoires vers le tissu pulmonaire [63,64]. D'autre part l'étude de MANSOUR et al., [65] ont établis que la thymoquinone est capable d'inhiber le 5-lipoxygénase, et le leucotriène C₄synthèse, des polyphénols de la graine exercent un effet anti-inflammatoire via l'inhibition de l'œdème des pâtes induit par le carragénine chez les rats [66].

e. Autres propriétés

La recherche réaliser par le laboratoire de recherche immunobiologique de Caroline du Sud contre le cancer a révélé que l'huile de nigelle (les graines de nigelle) aide généralement à la simulation de production de la moelle osseuse ainsi que détruit les cellules cancéreuse et augmente le nombre d'anticorps [67].

Grâce à l'un de ses composants, la nigellone, qui offre à la fois des propriétés antispasmodiques et de broncho-dilatation, la graine de nigelle est un remède puissant contre les maladies respiratoires [69].

La graine de nigelle est un antioxydant qui aide le corps à se nettoyer de ses toxines [69].

Chapitre 02 :
Les cosmétique
et les émulsions

2.1. Les cosmétique

2.1.1. Définition d'un produit cosmétique

On entend par produit cosmétique toute substance ou mélange destiné à être mis en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain, notamment l'épiderme, les systèmes pileux et capillaire, 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 [68].

2.1.2. Produit cosmétique naturel

Un « produit cosmétique naturel » signifie tout produit qui se compose de substances naturelles de toutes origines et qui est préparé dans des conditions bien définies.

En fait, un produit fini ne peut être qualifié de « naturel » que s'il ne reforme aucun produit de synthèse à part les conservateurs, les parfums et les propulseurs. Les composants utilisés en phytothérapie constituent essentiellement les ingrédients des cosmétiques naturelles [69].

2.1.3. Produit cosmétique biologique

Ce que l'on appelle communément les « cosmétiques bio » désigne une famille de produits composés d'ingrédients naturels ou d'origine naturelle (en proportion plus ou moins selon les marques), contrairement aux produits cosmétiques « classiques » fabriqués en grande majorité à partir d'ingrédients synthétiques. La cosmétiques bio limite ou exclut l'utilisation de substances pouvant entraîner des effets nocifs sur l'utilisateur (allergies, cancer...) ou sur la nature (tests sur les animaux, utilisation de précédés de fabrication polluants...) [69].

Les produits cosmétiques naturels sont très proches des produits « natifs », comme la phytothérapie traditionnelle, qui utilise des matières premières quasiment

brutes. Ils subissent essentiellement des transformations mécaniques et chimiques primaires, telles que distillation, extraction, cuisson ou filtration, fermentation et oxydation, percolation, dessiccation, laissant peu de résidus, qui sont aisément recyclables et biodégradables. Schématiquement, on trouve dans les produits cosmétiques naturels et bio par extension une majorité d'ingrédients issus du monde végétal (plantes, fruits, fleurs...) exploités sous différentes formes (huiles essentielles, huiles végétales, poudres...), mais aussi des substances d'origine animale produites naturellement et sans maltraitance pour les obtenir (miel, cire d'abeille, lait, œufs) et quelques ressources minérales (argiles, silices...).

2.1.4. Les différences entre la cosmétique conventionnels et la cosmétique biologique

Les différences entre les produits cosmétiques biologiques et les produits cosmétiques conventionnels proviennent :

- De l'origine des ingrédients choisis : la cosmétique bio s'appuie sur l'utilisation de matières première naturelles comme les huiles végétales, les huiles essentielles, les eaux florales, les cires, les beurres... qui n'ont quasiment pas subi de transformation (distillation, filtration...). Ces ingrédients sont facilement recyclables et biodégradables. La cosmétique conventionnelle, elle, utilise bien souvent les produits d'origine synthétique, qui ont été obtenus selon des procédés chimiques et physiques lourds.
- De l'exclusion d'un certain nombre d'ingrédients jugés potentiellement à risque pour l'homme et l'environnement : OGM, matières issues e la pétrochimie, silicones, PEG, nanoparticules, parabènes, phénoxyéthanol, colorants et parfum de synthèse...
- De la diversité d'ingrédients : la cosmétique naturelle utilise des composants d'une grande richesse et la plupart des formules qui en découlent sont « épurées », contrairement à la cosmétique conventionnelle dans laquelle il n'est pas rare de retrouver une cinquantaine de produits dans la formule.
- De la méthode de fabrication du produit : en respectant l'environnement, en interdisant toutes les pratiques polluantes (pesticides, engrais chimiques), en limitant les déchets, la cosmétique biologique annonce clairement son objectif de protéger l'Homme et sa planète [69].

2.1.5. Les différents types de cosmétique

Il existe plusieurs grandes catégories de produits cosmétiques, qui se subdivisent elles-mêmes en plusieurs sous-catégories. On distingue principalement :

- Les produits d'hygiène et de toilette : démaquillants, produits pour le nettoyage de la peau, déodorants, produits destinés au rasage ;
- Les produits de soins esthétiques : gommages du visage et du corps, masques, crèmes de soin du visage et autres sérums ;
- Les produits solaires : autobronzants, crème de protection solaire, etc. ;
- Les produits pour la beauté des mains et des pieds : vernis, dissolvants et autres produits traitants ;
- Les produits pour l'épilation : cire, crèmes dépilatoires, etc. ;
- L'ensemble des produits de maquillage : poudres, fonds de teint, rouge à lèvres, etc. ;
- Les produits d'entretien capillaires : shampoings, après-shampoings, masques, produits de coloration des cheveux, etc. ;
- Les parfums [70].

➤ Compositions des produits cosmétiques

Outre les parfums, la plupart des produits cosmétiques sont ce que l'on nomme des émulsions : un mélange d'eau et d'huile, grâce à la présence de tensioactifs. Ils se composent donc, par ordre d'importance :

- Phase hydrophile : contient essentiellement de l'eau, de la glycérine, etc. ;
- Phase lipophile : contient huile végétale ou minérale, c'est-à-dire issue de l'industrie pétrochimique (vaseline, paraffine, huile de vaseline), des silicones, etc. ;
- Des tensioactifs : des molécules qui servent de lien entre la partie grasse et la partie aqueuse des émulsions, et qui ont des propriétés moussantes, antiseptiques, détergentes, etc. ;
- Des ingrédients actifs : des substances d'origine naturelle ou synthétique choisies pour leur action sur les différents types de peau et les problèmes cutanés ;
- Des additifs :
 - des conservateurs : parabens, éthanol, acide sorbique ;

- des antioxydants qui empêchent le rancissement des produits : Vitamines E et C (d'origine naturelle), BHT et BHA (d'origine synthétique) ;
- des colorants naturels ou synthétiques. [70]

2.1.6. La formulation des crèmes cosmétiques

La formulation consiste à associer un ou plusieurs principes actifs avec divers constituants en vue de répondre à un cahier des charges. Dans la pratique, la formulation consiste à mieux cerner les attentes et la perception des consommateurs pour adapter les produits à la demande. En effet, la formulation permet soit de concevoir un nouveau produit, soit d'améliorer une formule déjà existante. Un crème cosmétique est constitué d'un excipient, d'adjuvants et éventuellement de principes actifs (dont l'efficacité est quelquefois difficile à prouver –exemple : anti-âge...).

- L'excipient : pour la forme, le transport, la stabilité, l'efficacité, eau, huiles, tensioactifs.
- L'adjuvant :
 - Conservateur : dérivés de l'acide benzoïque (parabens), ammoniums quaternaires.
 - Agents viscosants (gélifiants ou épaississants) : chlorure de sodium, dérivés.
 - Cellulosiques, diéthanolamine, gomme xanthane, polymère de l'acide acrylique (Carbopol®).
 - Opacifiants et colorants : TiO₂ pigment blanc, colorants identifiables par le préfixe Color Index (CI).
 - Abrasifs (peeling, dentifrices) : carbonates...
 - Parfums.
 - Ajusteurs de pH : acide lactique, acide phosphorique, acide tartrique, acide citrique, acide malique, acide sorbique.
 - Stabilisateurs de mousse : diéthanolamine, lécithines.
 - Séquestrants : EDTA.
 - Humectants : retiennent l'eau, maintiennent l'hydratation : glycérol, constituants du NMF...

- Filmogènes...diméthicone, polyquaternium... polymères.
- Bactéricides, agents tannants...
- Les actifs : ce sont des substances qui agiraient en profondeur (antivieillessement, antirides...).

2.2. Les émulsions

2.2.1. Définition

Le terme émulsion désigne un système hétérogène comprenant au moins un liquide immiscible dispersé dans un autre sous la forme de gouttelettes dont les diamètres sont en général supérieurs à $0,1 \mu\text{m}$ [71]. Ces systèmes sont caractérisés par la présence d'interface [72]. Ces interfaces entre les deux liquides sont généralement occupées par des molécules amphiphiles, qui sont en équilibre avec les phases dispersées et continues (On appelle phase dispersée le liquide qui forme les gouttes, et la phase continue celle qui les disperse), et s'adsorbent spontanément aux interfaces [73]. Les deux liquides ou phases formant l'émulsion sont appelées symboliquement eau (E) pour la phase aqueuse et huile (H) pour la phase organique.

2.2.2. Les différents types d'émulsion

Les émulsions sont généralement constituées d'une phase aqueuse E, et d'une phase huileuse H, si la phase dispersée est la phase huileuse, l'émulsion est dite directe, de type huile dans eau notée H/E (O/W), tandis que si la phase huileuse est la phase continue (ou phase externe) l'émulsion est inverse de type eau dans huile E/H (W/O) (figure) [74].

On trouve aussi des morphologies plus complexes, comme le cas des émulsions doubles ou multiples. La phase dispersée est alors elle-même une émulsion. Par exemple une émulsion de types E/H/E correspond à la dispersion de fines gouttelettes d'eau dans des gouttes d'huiles, elles-mêmes dispersées dans une phase continue. De manière analogue, il est possible d'avoir des émulsions d'huile dans eau dans huile H/E/H [75].

Les émulsions sont aussi classées selon la fraction volumique la phase dispersée (φ). En particulier, les émulsions sont considérées comme concentrées lorsque φ est supérieure à 0.74, cette valeur correspond à la fraction volumique de l'empilement

compacte (hexagonal ou cubique à faces centrées) de sphères indéformables de même taille. Ces émulsions peuvent atteindre des φ de 0.99, c'est pourquoi elles sont dénommées émulsions très concentrées. En plus, les gouttelettes dans la phase continue ne sont pas homogènes [76,77].

2.2.3. Potentiels d'interaction et stabilité des émulsions

L'équilibre thermodynamique d'un système composé de deux phases non miscibles correspond à la séparation macroscopique de phase, état dans lequel la surface de contact est minimale par les interactions attractives. La création d'une barrière énergétique sous forme d'un potentiel d'interaction répulsif permet d'obtenir des émulsions métastables ou cinétiquement stables. La stabilité d'un système dispersé est liée à la compétition entre les interactions attractives et répulsives [78].

❖ Attraction de Van der Waals

Les interactions attractives de Van der Waals regroupent toutes les interactions moléculaires d'origine dipolaire :

- Les interactions de Keesom qui s'exercent entre dipôles permanents (molécules polaires) et qui dépendent de l'orientation des dipôles ;
- Les interactions de Debye qui s'exercent entre le dipôle induit d'une molécule non polaire et dipôle permanent ;
- Les interactions de London qui s'exercent entre dipôles induits et qui sont toujours présentes, quelle que soit la nature chimique des espèces [79].

❖ Interactions de déplétion

L'interaction attractive de déplétion est induite par la présence en très grand nombre, dans la suspension de gouttes de rayon \mathcal{R} , d'une autre population de particules de rayon α (des micelles de tensioactifs par exemple). Les particules de rayon α ($\mathcal{R} \gg \alpha$) peuvent s'apparenter à la constitution d'un gaz et exercent, en conséquence, une pression osmotique sur les gouttes de rayon \mathcal{R} . Tant que les gouttes sont suffisamment éloignées les unes des autres, la pression est isotrope.

Si celles-ci s'approchent d'une distance inférieure à 2α , il se crée une zone dite de volume exclu, dans laquelle les petites particules ne peuvent plus pénétrer. La pression osmotique devient anisotrope et conduit à l'agrégation des gouttes [80].

❖ Stabilisation électrostatique

Des répulsions électrostatiques apparaissent lorsque, en solution aqueuse, les gouttes sont stabilisées par un tensioactif ionique. Les gouttes sont alors chargées en raison de l'ionisation partielle des fonctions polaires des agents de surface. La présence de cette charge de surface crée une organisation spatiale des ions (présents dans la phase continue) au voisinage de la surface. Les ions de même signe que la surface (Co-ions) sont écartés tandis que les ions de signe contraire (contre-ions) sont attirés [80].

❖ Stabilisation stérique

Les polymères présents à l'interface stabilisent des systèmes colloïdaux en développant des interactions stériques. Ces forces répulsives sont d'origine entropique et dépendent du degré de couverture de la surface et des caractéristiques de la phase continue. Pour un taux de couverture assez faible, les chaînes polymériques sont isolées les unes des autres. Lorsque la densité en chaînes est élevée, les interactions latérales modifient l'extension des chaînes, elles s'interpénètrent. L'état d'étirement des chaînes a une influence sur l'amplitude et la portée des répulsions stériques (portée plus longue dans le cas de chaînes étirées que dans le cas de polymères en pelote [81]

La nature de la phase continue influence également les interactions stériques répulsives : lorsque la phase continue est un « bon solvant » des polymères, les contacts polymère-solvant sont favorables, deux gouttelettes entourées de polymère préfèrent baigner dans la phase continue plutôt que de flocculer. A l'inverse, lorsque la phase continue est un « mauvais solvant » des polymères, les répulsions stériques sont minimisées, les polymères s'interpénètrent et la flocculation des gouttelettes est favorisée [80].

2.2.4. Mécanismes d'évolution ou de destruction des émulsions

Les émulsions sont des systèmes thermodynamiquement instables. Leur dégradation totale, c'est-à-dire la séparation de phase complète, peut survenir très vite après leur préparation ou bien durer un certain temps. Cette déstabilisation est à l'origine de l'évolution de leur structure microscopique, et dépend fortement de la cinétique d'évolution de la structure, et donc des mécanismes d'évolution. On reconnaît plusieurs types de mécanismes, réversibles et irréversibles, ils peuvent être regroupés ainsi : flocculation, crémage, sédimentation, coalescence et murissement d'Ostwald [82].

a. Le crémage ou sédimentation

Le crémage est un mécanisme de déstabilisation selon lequel les gouttelettes d'huile remontent en surface dû à leur différence de densité avec la phase continue [83]. La sédimentation est le phénomène inverse, observable par exemple dans l'émulsion eau dans huile. L'eau ayant une densité plus importante, les gouttelettes vont migrer vers le bas de la solution. Ce phénomène, comme peut être minimisé en réduisant la différence de densité entre les deux phases ou en augmentant la viscosité du milieu car ceci diminue le mouvement des gouttelettes à travers la phase continue. Ces processus sont réversibles, une simple agitation permet de distribuer les gouttelettes dans la phase continue [80].

b. La floculation

La floculation est un phénomène réversible qui a pour origine une adhésivité des gouttes, résultat d'une compétition entre l'agitation thermique et les forces de van der Waals. Ce phénomène consiste en un rapprochement des gouttes qui initialement éloignées les unes des autres, viennent s'agréger [84].

La floculation est fortement influencée par la fraction de la phase dispersée, la viscosité de la phase continue et l'interaction entre les gouttelettes. Elle est aussi influencée par la taille des gouttelettes, la distribution de leur taille et l'épaisseur de la couche d'émulsifiant adsorbée.

La floculation des émulsions peut se produire selon deux mécanismes : la formation de ponts entre les gouttelettes par l'émulsifiant ou la formation de canaux entre les gouttelettes afin d'expulser un polymère incompatible [85].

c. Coagulation

Lorsque le potentiel d'interaction dans un système devient assez important pour dépasser la barrière énergétique décrit dans la théorie DLVO. Les gouttes forment des agrégats où les distances internes sont de l'ordre de dimensions atomiques. Cependant, la coagulation dans une émulsion peu concentrée, est divisée en deux processus fondamentaux : le rapprochement de particules et l'éventuel contact et adhésion entre elles [86].

d. Coalescence

La coalescence est un mécanisme qui consiste en la fusion irréversible de deux gouttes adjacentes de phase dispersée. Elle peut mener à la destruction de l'émulsion, et donc à la séparation de deux phases non miscibles.

La coalescence est généralement influencée par la fraction volumique de la phase dispersée, la viscosité et l'épaisseur de la couche d'émulsifiant adsorbée et la cristallisation de la matière grasse. Elle est aussi influencée par la viscosité de la phase continue et par les interactions électrostatiques et macromoléculaires entre les gouttelettes. Afin d'éviter la coalescence, les forces de répulsions résultant des charges résiduelles sur les gouttelettes doivent être supérieure aux forces attractives de van der Waals [87].

2.3. La peau

2.3.1. La structure de la peau

La peau est un organe protecteur recouvrant la surface externe du corps, constituant une barrière protectrice efficace vis-à-vis nombreux agents physiques, chimiques, bactériens ou viraux ; elle est formée de trois couches superposées [88]. :

- L'épiderme ;
- Le derme ;
- L'hypoderme.

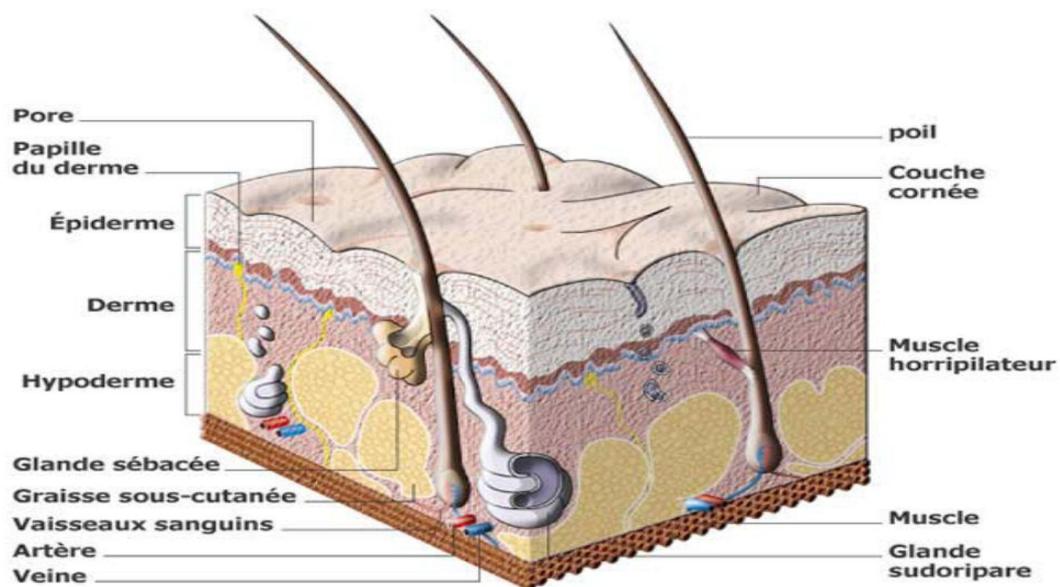


Figure 2.1 : Coupe transversale de la structure de la peau (Anonymes, 2008) [89].

❖ L'épiderme

C'est la couche la plus superficielle de la peau, d'origine ectoblastique. Elle comprend un épithélium pavimenteux kératinisé, d'épaisseur variable selon la partie du corps.

L'épiderme ne renferme ni vaisseaux sanguins ni terminaisons nerveuses, les nutriments et l'oxygène lui sont fournis par le derme et pénètrent par diffusion. Il comporte plusieurs couches (strates) de cellules :

- La couche basale (couche germinative) la plus profonde.
- La couche granuleuse (stratum granulosum).
- La couche cornée (couche superficielle) présente une couche de cellules mortes kératinisées particulièrement imperméable qui remplit seule la fonction de protection de la peau [90].

❖ Le derme

C'est la deuxième couche de la peau, d'origine mésoblastique elle est composée de tissu conjonctif [87]. Il constitue le support solide de la peau, il est constitué par les fibroblastes, du matériel extracellulaire en quantité importante et aussi de divers types de leucocytes, mastocytes, et macrophages. Il renferme le système vasculaire et joue un rôle dans la thermorégulation. On y trouve également des fibres nerveuses et des récepteurs sensoriels.

❖ L'hypoderme

C'est la couche la plus profonde de cet épithélium kératinisé. Ses cellules sont riches en graisses. Elle est composée de follicules pileux, de glandes sudoripares (sécrétant la sueur), de vaisseaux, de terminaisons nerveuses, des corpuscules sensibles au toucher, au froid, à la pression [91].

Les annexes cutanées

Selon **Ross et Wilson, (2003)[89]** la peau est traversée par une série d'éléments annexes en relation avec le milieu extérieur tels que les glandes sébacées, sudoripares et aussi Les follicules pileux.

2.3.2. Les problèmes liés à la peau

❖ Les maladies de la peau

La peau est la couche protectrice du corps. Elle est exposée à toutes sortes d'attaques : microbes, rayons du soleil, pollution, etc.

La plupart du temps, les problèmes de peau ne sont pas graves. Par contre, certains d'entre eux peuvent être dangereux pour la santé :

a. L'acné

L'acné est un problème de peau très courant qui apparaît surtout à l'adolescence. Pendant cette période, la peau devient souvent plus grasse, ce qui peut entraîner l'apparition de boutons. Plusieurs jeunes en souffrent, d'autant plus qu'à cet âge, le corps se transforme et on cherche à être bien dans sa peau. L'alimentation, l'hygiène et le stress sont aussi des facteurs qui peuvent favoriser l'apparition de l'acné. En général, ces boutons disparaissent avec le temps [92].

b. L'eczéma, l'urticaire et le psoriasis

Ces trois problèmes de peau se ressemblent. La peau enfle, devient rouge et on a une envie irrésistible de se gratter. On les confond d'ailleurs souvent.

- L'eczéma est un problème de peau dû à plusieurs facteurs : allergies, stress, hérédité, etc. Il cause des enflures et de fortes envies de se gratter.
- L'urticaire ressemble à l'eczéma. Elle cause des plaques rouges et gonflées. Il est parfois difficile de découvrir la cause des crises d'urticaire. En général, elles sont dues à des réactions allergiques. Par exemple, certaines personnes feront des crises d'urticaire après avoir mangé des fraises, pris des médicaments ou avoir été exposées au froid.
- Le psoriasis est dû à un mauvais fonctionnement des cellules de la peau. Des plaques de peau sèche apparaissent en général sur les mains, les coudes, les genoux et la tête.

En général, elles sont dues à des réactions allergiques. Par exemple, certaines personnes feront des crises d'urticaire après avoir mangé des fraises, pris des médicaments ou avoir été exposées au froid.

Ces problèmes de peau ne sont pas toujours graves. Par contre, ils ne se guérissent pas. De plus, ils sont souvent désagréables ; ils causent des envies de se gratter

intolérables. Dans le meilleur des cas, on peut en soulager les effets avec des crèmes [92].

c. La varicelle et le zona

- La varicelle est une maladie très contagieuse qui touche surtout les jeunes de moins de 14 ans. Il vaut mieux l'attraper quand on est jeune, car les effets sont moins graves. C'est une maladie qu'on n'attrape jamais deux fois. Quand on l'a déjà eu, on dit qu'on est immunisé par la suite.
- Le zona est une maladie de la même famille que la varicelle. En général, elle touche les gens de plus de 60 ans. Le zona cause des maux de tête et d'estomac, de la douleur, de la fièvre et l'apparition de boutons. Le liquide contenu dans ces boutons est très contagieux ; il faut donc faire attention pour ne pas transmettre la maladie. Pour la majorité des gens, une crise de zona dure environ trois semaines. Après cette période, il est rare, mais pas impossible, qu'on fasse d'autres crises [92]

d. Le cancer de la peau

Le cancer de la peau est le plus répandu de tous les cancers. La plupart du temps, il est causé par l'exposition au soleil. Il existe plusieurs types de cancer de la peau. C'est le mélanome, qui est le plus dangereux.

Le cancer de la peau frappe surtout les personnes au teint clair (les blonds et les roux). La meilleure façon de prévenir ce type de cancer, c'est de se protéger du soleil, d'éviter les salons de bronzage et d'utiliser de la crème solaire [92].

e. L'inflammation

1. Définition

La réaction inflammatoire est un ensemble de phénomène par lesquels les leucocytes et les médiateurs se concentrent dans un territoire agressé de l'organisme, quelle que soit la nature de l'agresseur ; physique, infectieux, immunologique. (gaucher et al., 1993).c'est une réaction de tissu conjonctif et vaisseaux [93].

Selon **ROBERT et VINCENT (1995)[94]**, l'inflammation est une réaction de défense des êtres vivants à une lésion ou une stimulation cellulaire excessive ou normale.

2. Les causes de l'inflammation

D'après **GIRAUDET et al., (1984)[95]**, elles déterminent des lésions cellulaires ou tissulaires qui vont déclencher l'inflammation :

- Causes physiques (traumatisme, chaleur, froid, rayonnement, courant électrique) ;
- Causes trophiques par défaut de vascularisation ;
- Causes chimiques (acides, bases) ;
- Causes biologiques (germes, bactéries, virus, parasites, champignons).

➤ Les signes de l'inflammation (symptômes)

Plusieurs évènements constituent la phase initiale de la réaction inflammatoire :

- Accroissement de flux sanguin vers la zone agressée
- Accroissement de la perméabilité capillaire locale.
- Migration des cellules à partir de flux sanguin vers le territoire lésé.
(**gaucher et al., 1993)[96]**.

3. Les phases de l'inflammation

Selon **TORTORA et REYNOLDS (2001) [97]** le déroulement de processus inflammatoire est toujours le même. Il évolue en 3 stades successifs :

- Phases vasculaire ;
- Phases de réparation tissulaire.

L'inflammation peut aussi causer une perte fonctionnelle dans la région touchée, selon l'étendue de lésion et l'endroit où elle se trouve. Elle circonscrit les microbes, les toxines et les substances étrangères aux environs de la lésion et prépare le site pour la réparation tissulaire. C'est ainsi qu'elle contribue à rétablir l'homéostasie des tissus.

➤ La phase vasculaire

Une phase initiale vasculaire où les cellules irritées ou lésées libèrent des médiateurs de l'inflammation (histamine, sérotonine, kinines, prostaglandines,

leucotriènes, facteurs des systèmes complément, etc.) Et des protéases ce qui provoquent la douleur, une vasodilatation des capillaires sanguins (d'où rougeur et chaleur) et une augmentation de leur perméabilité (d'où œdème) [90].

➤ **La phase cellulaire**

Une phase cellulaire marquant l'arrivée des polynucléaires neutrophiles, macrophages, lymphocytes qui traversent la paroi des vaisseaux et vont encercler le foyer inflammatoire pour phagocyter l'agent irritant et cellules lésées [90].

➤ **La phase tissulaire**

Une phase tissulaire évoluant vers la réparation ou cicatrisation avec prolifération de fibroblastes, formation de tissu conjonctif et de fibres de collagène. Parfois apparaissent un granulome, une fibrose et une chronicité [90].

❖ **Les anti-inflammatoires**

Les anti-inflammatoire, inhibe la réponse inflammatoire quel soit l'agent pathogène responsable, par réduction de la vasodilatation et l'œdème en diminuant le chimiotactisme et la migration leucocytaire vers le foyer inflammatoire [98].

Selon **PIERI et al. (1992) [98]** ; il existe deux grandes catégories des médicaments anti-inflammatoires :

a. Anti-inflammatoire non stéroïdiens (A.I.N.S)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (A.I.N.S) forment un groupe médicaments destinés à traiter la réaction inflammatoire et maladies qui en résultent :

- Manifestation rhumatismales (arthrites, polyarthrites).
- Fractures, stomatites.
- Inflammation génito-urinaires.

b. Anti-inflammatoires stéroïdiens (A.I.S)

Ce sont des médicaments destinés à lutter contre l'inflammation qui constitue la réponse de l'organisme à un agent pathogène, en vue de son élimination, suivie de la régénération des tissus lésés.

Chapitre 03 :
Partie
expérimentale

3.1. Matériel et méthode

Dans cette étude nous avons cherché à optimiser une formulation d'une crème parapharmaceutique BIO type l'huile dans l'eau (huile/eau), renfermant essentiellement deux phases.

- Une phase grasse (huile d'amande douce, beurre de karité, cire d'abeille),
- une phase aqueuse (hydrolat de graines de nigelle) et lécithine de soja (comme émulsifiant).
- L'huile essentielle (HE) de graines de nigelle est ensuite ajoutée autant que principe actif.

Cette huile essentielle possède en plus des propriétés pharmacologiques (Anti-infectieuse, anti-inflammatoire), des propriétés dermatologique très intéressantes (eczéma, inflammation, brûlures du soleil, peau sèche, herpès, peau grasse, mycose, cicatrisante) [4]. L'extraction de l'huile essentielle s'est effectuée par hydrodistillation à partir des graines de nigelle qui par la suite a été introduite dans la crème autant que principe actif renfermant plusieurs activités (anti-inflammatoires).

a. Matériel biologique

❖ Matière végétal

Pour notre étude, nous avons utilisé les graines de nigelle « *Nigella sativa L* » du Sahara Algérien achetées sous formes sèches chez un arboriste. Les graines ont été récupérées dans un sac propre pour servir ultérieurement à l'extraction.

❖ Les souches microbiennes

Pour mettre en évidence le caractère antimicrobien de l'huile essentielle et de la crème, nous avons utilisé des bactéries fournies par le laboratoire de microbiologies du laboratoire d'hygiène de Blida, il s'agit de cinq souches dont les références sont inscrites sur tableau 3.1

Tableau 3.1 : les caractéristiques de souches microbiennes utilisées

Les souches bactériennes	Gram	ATCC
Escherichia coli	-	10536
Bacillus subtilis	+	6633
Staphylococcus aureus	+	6538
Pseudomonase aeruginosa	-	9027
Klebsiella pneumoniae	-	1803

- **Matières premières**

- ❖ **L'hydrolat de grains de nigelle**

L'eau d'évaporation condensée durant la distillation de l'huile essentielle constitue l'hydrolat. Cet hydrolat, plus communément appelé « eau florale », contient les mêmes composés volatils présents dans l'huile essentielle mais en quantité moindre, en plus des composés hydrosolubles. Ces eaux florales constituent fréquemment la partie aqueuse des bases de produits Bio mais peuvent également s'appliquer directement sur le visage comme tonique.

- ❖ **Huile d'amande douce**

Nom latin : Prunus amygdalus, Prunus dulis.

INCI : PRUNUS AMYGDALUS DULCIS OIL.

L'huile d'amande douce est riche en différents vitamines, mais surtout en vitamine A (améliore l'élasticité de la peau) et en vitamine E (accélère la réparation cellulaire).

Elle est aussi très riche en minéraux et contient du potassium, du phosphore, du calcium, du magnésium, du fer, du zinc et du cuivre. C'est surtout utile à savoir si vous mangez des amandes régulièrement (les minéraux sont plus utiles dans la digestion que sur la peau).

L'huile d'amandes en plus de désenflammer et calmer les irritations cutanées, hydrate et atténue tout type de peaux. Elle prévient les rides et les vergetures.

- ❖ **Le beurre de karité**

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

Nom scientifique : Butyrospermum parkii ;

Famille : sapotacées.

Le beurre de karité est un produit efficace aux vertus exceptionnelles, il résout les problèmes de peau sans aucune contre-indication. Il possède de puissantes vertus régénératrices et réparatrices de la peau grâce aux vitamines A, D, E et F qu'il contient naturellement. Il apaise, protège, nourrit et assouplit la peau, ce qui contribue à la garder jeune et en bonne santé, il combat les rides, le dessèchement [101].

Il est recommandé pour :

- L'hydratation de la peau (partie lipidique) la cicatrisation (esters cinnamiques) ;
- La protection solaire (calme les coups de soleil grâce au karitène) ;
- Retarder la formation des rides au visage ;
- Soulager les tendinites ou autres problèmes musculaires ;
- Protège les cheveux et les pieds secs ;
- Il est bénéfique pour les démangeaisons de la peau, éruption cutanée ; eczéma...etc. et pour les peaux intolérantes ne supportant pas les cosmétiques à base de produits chimiques.

❖ La cire d'abeille

Nom scientifique : Ceraflava ;

Description : Il s'agit de la cire des abeilles, non purifiée elle est de couleur jaune. Elle forme un film protecteur sur la peau, elle lisse et graisse la peau.

Famille : Cire : solide ou liquide.

Origine : Animale.

On trouve la cire d'abeille dans les traités de médecine de l'antiquité romaine ou elle est mentionnée dans les formules de cérat [101]. Plus tard, elle entre dans la composition des rouges à lèvres.

De nos jours, en cosmétique, c'est un ingrédient presque incontournable. La cire d'abeille est en effet un émulsifiant naturel, un actif filmogène extraordinaire (qui empêche la déshydratation) et un additif (qui permet de durcir les huiles pour en faire des baumes par exemple).

Utilisée dans les soins de prévention de vergetures, elle apporte en outre à la peau un toucher très doux, l'assouplit et empêche son dessèchement.

❖ Lécithine de soja

On trouve de la lécithine dans le soja (c'est la principale source aujourd'hui de lécithine) et dans le jaune d'œuf (on extrait de l'œuf principalement pour la cosmétique).

La lécithine contient également une vitamine parente de groupe B, la choline, elle contient aussi de la vitamine E, antioxydant puissant et ennemi des graisses. Incorporée dans les émulsions, elle en augmentera la stabilité tout en conservant une texture plutôt fluide, au toucher très soyeux.

b. Matériel animal

Pour la réalisation de notre expérimentation, nous avons utilisé des animaux de laboratoire qui ont été élevés au niveau du laboratoire pharmacotoxicologie, unité animalerie du complexe Biotic et Antibiotical SAIDAL de Harrach et Médéa à savoir :

- Des lapins de race albinos, ces animaux sont placés dans des cages individuelles. La température du local expérimental est réglée à 20°C ($\pm 3^\circ\text{C}$) pour les lapins. si l'humidité relative doit atteindre au moins 30% pour sans excéder de préférence 70%, en dehors des heures de nettoyage du local, on s'efforcera de maintenir le taux d'humidité autour de 50 à 60%. On appliquera un éclairage artificiel, alternant 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. Ils sont nourris avec un mélange classique pour animaux de laboratoire et boiront de l'eau potable à volonté.
- Des souris de race Swiss albinos, souche *NMRI* (Naval Médical Institute, Bethesda, Maryland, USA), d'un poids moyen de 24g, ils sont gardés à une température ambiante variant entre 25 et 30°C avec 10 heures d'éclairage par jour et 70% d'hygrométrie. elles sont nourris avec des granulés composé de 49% de glucide, 23.3% de protéine et 5.7% de complexe minérale vitaminé et l'eau du robinet.

c. Matériel non biologique

Le matériel utilisé au laboratoire (Appareillages, la verrerie et les réactifs) est présenté en **Annexe A**.

3.1.1. L'extraction d'huile essentielle des grains de nigelle par hydrodistillation

L'extraction de l'huile essentielle s'est fait par la méthode d'hydrodistillation au sein de l'Institut National de la Protection des Végétaux INPV à EL-HARACH.

❖ Principe de la méthode

La plante contenant l'huile essentielle recherchée est immergée dans un volume d'eau, le tout contenu dans un ballon est porté à ébullition. En s'évaporant, l'eau entraîne les composés volatils de l'huile essentielle recherchée, les vapeurs se condensent ensuite dans le réfrigérant et s'écoulent à l'état liquide dans un récipient où elles forment le distillat (huile essentielle et l'eau).

En générale, le distillat fait apparaître deux phases non miscibles : les huiles essentielles et l'hydrolat [23].

❖ Mode opératoire de l'hydrodistillation

Nous avons pris 150 g de matière végétale sèche dans un ballon de 1 litre, remplie d'eau distillé jusqu'aux 3/4 de sa capacité. Le ballon est chauffée à l'aide d'un chauffe ballon jusqu'à ébullition de l'eau distillée, ceci engendre la formation de vapeurs. Ces vapeurs s'élèvent et passent dans un réfrigérant qui est constamment refroidie à une température qui oscille entre 5°C et 10°C.

Au contact des parois refroidies du réfrigérant les vapeurs chaudes se condensent et s'écoulent à l'état liquide, goutte à goutte dans le Clevenger où elles forment le distillat. Ce dernier est un mélange de deux phases non miscibles qui sont séparées l'une de l'autre par le robinet de Clevenger, tandis que la fraction aqueuse retourne automatiquement dans le ballon générateur de vapeur.



Figure 3.1: Dispositif de l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation.

❖ Conservation de l'huile essentielle obtenue

La conservation de l'huile essentielle exige certaines précautions indispensables cette dernière est conservé à une température voisine de 4°C, dans un flacon en verre brun fermé hermétiquement à l'abri de l'air et de la lumière jusqu'à son utilisation selon Burt 2004[99].

❖ Analyse de l'huile essentielle

La valeur commerciale d'une huile essentielle est la plus part du temps estimée d'après ses qualités organoleptiques, (odeur, goût, couleur, état) auxquelles s'ajoutent un certain nombre de constantes appelées « indices » qui ont fait l'objet d'étude statistique très importante. Ces constantes ont été normalisées au sein d'organismes nationaux exemple en France : l'AFNOR (Association Française de Normalisation) ou encore l'ISO (International Standard Organisation) et généralement dans tous les pharmacopées existantes.

Comme les propriétés organoleptiques ne donnent qu'une idée fluctuante et fragmentaire d'une huile essentielle, le besoin d'une caractérisation plus précise est exigé. Ainsi les propriétés physico-chimiques (densité, indice de réfraction, pouvoir rotatoire, indice d'acide, indice d'ester....) doivent être déterminé.

❖ Analyse physico-chimique de l'huile essentielle

a. Mesure de densité relative à 20°C

La densité ou la masse volumique est une grandeur physique qui caractérise la masse d'un matériau par unité de volume. La densité relative de l'HE est le rapport de la masse d'un certain volume de l'huile à 20°C et la masse d'un égal volume d'eau distillé à même température [100]. On a utilisé pour la mesure de densité une balance électronique de précision 10^{-4} , une seringue de 5 ml propre et sèche. 1 ml d'huile essentielle est pesé afin d'obtenir son poids exact.

b. Indice de réfraction

C'est le rapport entre le sinus des angles d'incidence et de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante.

L'indice de réfraction des huiles essentielles est généralement élevé, il est supérieur à celui de l'eau distillée à 20°C (=1,333).

Les indices de réfraction sont mesurés à l'aide d'un réfractomètre d'Abbe à la température ambiante puis ramenés à 20°C° par la formule :

$$N_{20} = N_t + 0,00045 (T - 20C^\circ)$$

Où :

N_{20} : indice à 20 C° ;

N_t : indice à la température ambiante ou de mesure ;

T : température ambiante ou de mesure.

3.1.2. Elaboration de la crème

Les propriétés d'un mélange dépendent généralement de sa composition, il est fréquent que l'on veuille traduire les variations d'une propriété en fonction de la concentration des divers constituants.

Notre travail à pour objectif la recherche d'une composition optimale d'une formulation destinée à élaborer une crème Bio anti-inflammatoire.

3.1.2.1. Préparation de la crème de base type Huile/ Eau

- Stérilisation des matériels utilisés

Pour réaliser une émulsion huile dans l'eau, il est exigé de prendre certaines précautions en particulier :

- Introduction de la phase dispersée par dans la phase dispersante (dans notre cas l'huile dans de l'eau).
- Respect des conditions de température et d'agitation, compte tenu de ses principes, le mode opératoire décrit ci-après a été adopté.

En premier lieu, on effectue les pesées nécessaires des deux phases :

- **Phase huileuse** : elle est composée essentiellement de la cire d'abeille, beurre de karité et l'huile d'amande douce.
- **Phase aqueuse** : elle est composée d'hydrolat de graine de nigelle, et de la lécithine de soja comme émulsifiant.

Notre travail a pour objectif la recherche d'une composition optimale d'une formulation destinée à élaborer une crème parapharmaceutique stable contenant l'huile

essentielle de nigelle comme principe actif, l'optimisation de la composition met en œuvre un balayage des paramètres de formulations, nous nous sommes aussi proposé de varier les rapports des phases.

3.1.2.2. Optimisation des paramètres

Nous avons effectué plusieurs essais pour la formulation de la crème en faisant varier les proportions des composants. A savoir un rapport $\phi_H / \phi_A=40/60$, $\phi_H / \phi_A=35/65$

Pour chaque rapport nous avons fait varier la quantité de la cire d'abeille (CA) et du beurre de karité (BK), cependant la somme des deux constituant devrait être constante et égale 8%, il est à noter que la quantité en tensioactif a été variée de 0.4%, 0.2% et 0.1% les résultats obtenues sont regroupés dans des tableaux voir Annexe B.

❖ Mode Opératoire

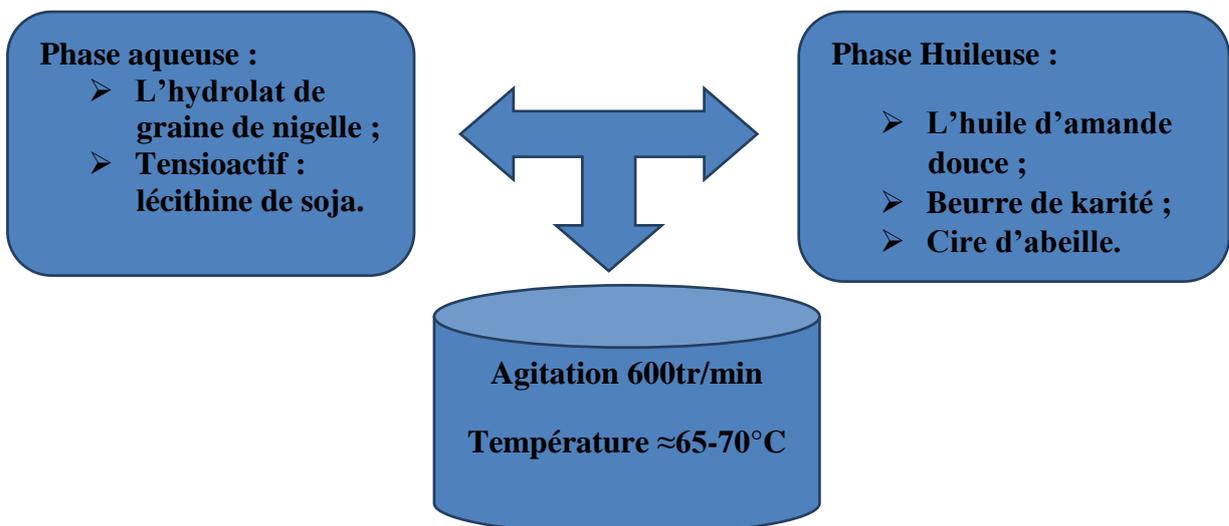
A. Préparation des deux phases

Dans un bœcher on place une quantité d'huile d'amande douce, de cire d'abeille et de beurre de karité et l'émulsifiant. Le bœcher est maintenu à une température entre (60-70°C) avec une agitation d'environ 600tr/mn jusqu'à liquéfaction total des composés.

La phase aqueuse constitue d'hydrolat contenant de l'huile essentielle de graine de nigelle est aussi chauffée entre (60-70°C).

Après chauffage on incorpore la phase huileuse dans la phase aqueuse. Lorsque le mélange passe en dessous des 40°C, on ajoute le conservateur tout en maintenant l'agitation et l'homogénéisation à l'aide d'un homogénéisateur de type Ultra-Turax jusqu'à refroidissement du mélange à environ 20 à 25°C.

L'ensemble du procédé de la formulation est représenté sur l'organigramme, Figure 3.3 :



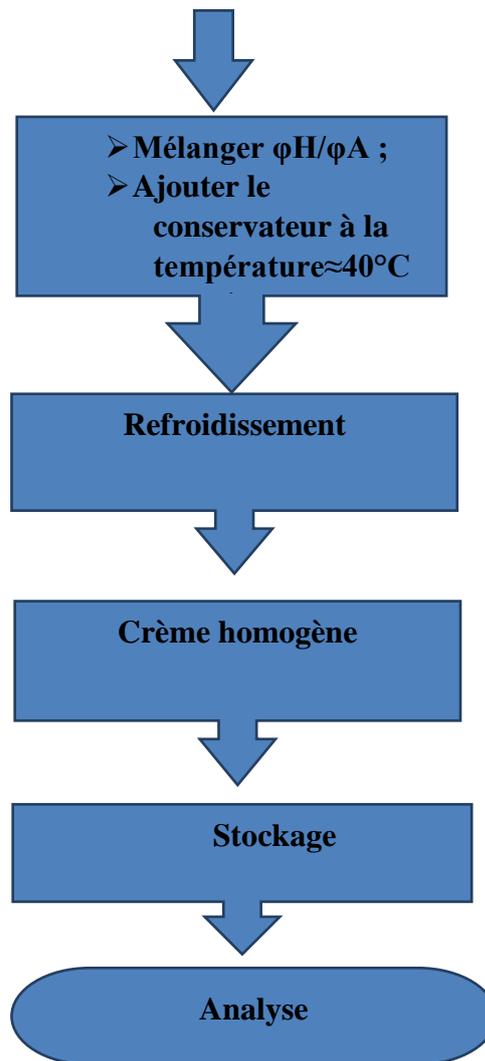


Figure 3.2 : Schéma représentatif du processus de fabrication

B. Stockage et conservation

Lors que la crème est prête on la met dans un récipient hermétique et la conserver dans un endroit frais afin d'éviter les risques d'évaporation du principe actif et de la contamination de la crème.

C. Contrôle du produit finis

Physico-chimique

➤ **Examen microscopique**

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. La microscopie optique est une méthode d'analyse usuelle pour la multiplicité des systèmes, cette méthode permet d'avoir une idée sur la taille des gouttelettes internes souvent de l'ordre du micromètre [103]. L'analyse microscopique des crèmes formulées a été effectuée à l'aide d'un microscope optique menu de caméra type.

➤ **Contrôle de stabilité**

La stabilité d'une émulsion peut être appréciée dans une éprouvette graduée, par l'observation, à intervalles réguliers de la sédimentation, du crémage, de la coalescence et de la séparation des phases [104].

Pour une étude comparative, on obtient des résultats beaucoup plus rapidement en soumet l'émulsion à des vitesses de centrifugation 3600 Trs pendant 10 min.

➤ **Détermination de pH**

La mesure de pH est nécessaire, elle a été réalisée avec un pH-mètre type INOLAB menu d'une électrode pour produits visqueux. Le pH de la crème en contact de la peau doit se situer à une fourchette allant de 5,5 à 6 car la peau est normalement légèrement acide, ce qui lui permet de développer une protection plus efficace contre les attaques naturelles et permanentes des micro-organismes [105].

➤ **Analyse rhéologique**

Etude rhéologique en écoulement afin de déterminer le comportement rhéologique ainsi que la viscosité au repos des crèmes formulés. Pour cela on a utilisé un rhéomètre de type ANTON PAAR.

3.1.2.3. Effet irritant/corrosif aigue sur la peau

Cette analyse doit donc permettre de diminuer le recours aux essais *in vivo* de l'effet corrosif ou irritant sur la peau voire figure de l'Annexe A.

➤ **Principe de l'essai *in vivo***

Une seule dose de la crème testé est appliquée sur la peau de l'animal choisi pour l'expérience, d'autres zones de l'animal servant de témoin en absence de la crème.

On observe et on note selon une échelle de valeurs le degré d'irritation ou de corrosion à intervalles déterminés tout en décrivant de façon plus détaillée afin de fournir une évaluation complète des effets. La durée de l'étude doit être suffisante pour permettre d'évaluer la réversibilité des effets observés.

Les animaux qui manifestent des signes persistants de détresse et/ou de douleurs aiguës à n'importe quel stade de l'essai doivent être euthanasiés, et ces symptômes seront pris en compte dans l'évaluation du produit testé [106].

➤ **Protocole expérimentale**

Une dose de 0.5g de la crème est appliquée sur la plage à tester.

- La crème testé est appliquée sur une petite zone (environ 6 cm²) de la peau recouverte par une compresse de gaze, assujettie au moyen d'un sparadrap non irritant. La compresse doit être maintenue en contact souple avec la peau à l'aide d'un pansement semi-occlusif durant la période d'exposition voir Annexe A.
- À la fin de la période d'exposition des observations ont été effectuées. La crème a testé a été enlevé à l'aide d'un solvant neutre non irritant pour la peau. L'opération de nettoyage a été réalisée sans altérer l'intégrité de l'épiderme.

➤ **La période d'observation**

L'observation des signes d'érythème et d'œdème chez tous les animaux et la cotation des réactions s'effectuent au bout de 60 minutes et ensuite 24, 48 et 72 heures après l'enlèvement du timbre.

S'agissant de l'animal du test initial, la plage soumise à l'épreuve est aussi examinée immédiatement après l'enlèvement du timbre.

Si la peau présente des lésions qui s'accusent pas l'irritation ou la corrosion après 72 heures, il pourra être nécessaire d'observer l'animal jusqu'au 14 jour afin de déterminer la réversibilité des effets. En plus de l'observation de l'irritation, tous les effets toxiques locaux, tels que le dégraissage de la peau, et tous effets systématiques

nocifs (par exemple, des effets se manifestent par des signes cliniques de toxicité et sur le poids corporel) doivent être relevés et décrits en détail.

➤ **Essai confirmatoire (essai d'irritation cutanée sur des lapins supplémentaires)**

Si l'essai initial ne révèle aucun effet corrosif, il convient de confirmer la réaction irritante ou négative sur deux animaux supplémentaires, traités chacun avec un timbre maintenu durant quatre heures. Si l'essai initial produit un effet irritant, l'essai confirmatoire peut être conduit en mode séquentiel ou par l'exposition simultanée de deux animaux supplémentaires. Au cas exceptionnel où l'essai initial ne serait pas pratiqué, deux ou trois animaux peuvent être au moyen d'un seul timbre appliqué durant quatre heures. Si l'on utilise deux animaux et qu'ils expriment la même réaction, il n'est pas nécessaire de poursuivre l'essai. Dans le cas contraire, le troisième animal est également testé. L'utilisation d'animaux supplémentaires pourra être requise si les réactions sont équivoques.

➤ **Résultats et Rapport**

Les résultats de l'étude devraient être récapitulés dans un tableau joint au rapport d'essai final.

3.1.3. Activité pharmacologique

3.1.3.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne

❖ **But et principe**

Le but repose sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'hydrolat de grains de nigelle et de la crème.

Le principe consiste à estimer l'inhibition de la croissance des micro-organismes en contact de l'hydrolat de grains de nigelle et la crème par la méthode de diffusion sur milieu de gélose ou aromatoگرامme en utilisant des disques absorbants de 9 mm de diamètre.

❖ **Méthode de l'aromatoگرامme**

La méthode de diffusion des disques ou l'aromatogramme appliquée est celle décrite par **Mayachien & Devahastin [107]** ; **Gachkar et al., [108]** et **Hussain et al., [109]**.

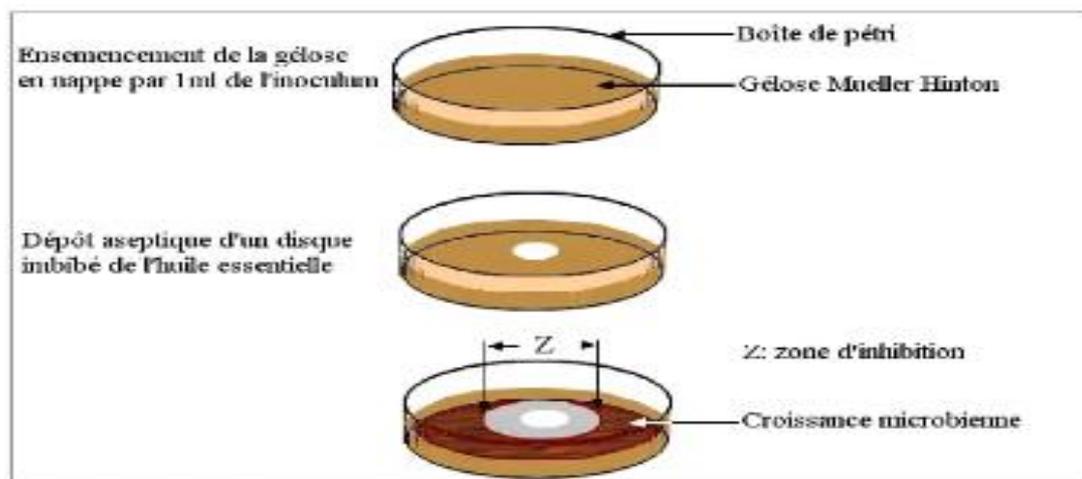


Figure 3.3: méthode de l'aromatogramme

a. Purification des souches

Les différentes souches bactériennes ont été repiquées sur milieu gélose nutritif par la méthode de stries, puis incubées à 37°C pendant 24h afin d'obtenir des colonies isolées et pures et pouvant servir l'inoculum.

b. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture bactérienne jeune et pure de 18 heures, nous avons réalisé des suspensions en mettant quelques colonies dans 5ml d'eau physiologique stérile ensuite, les solutions ont été homogénéisées à l'aide d'un vortex, la suspension doit avoir une densité de 0.5 Mac Farland.

c. L'ensemencement

L'ensemencement se fait par écouvillonnage. Après avoir trempé l'écouvillon stérile dans la suspension bactérienne en le pressant fermement sur la paroi interne de tube à fin de le déchargée au maximum, l'écouvillon est étalé sur la totalité de la surface gélosée séchée, de haut en bas en strie serrée. L'opération est répétée trois fois en tournant la boîte 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillonnage sur la périphérie de la gélose.

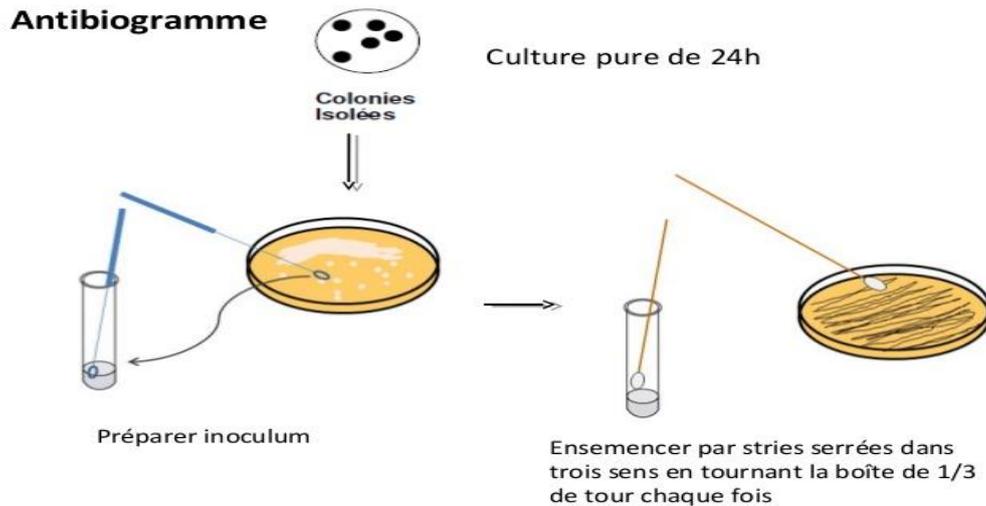


Figure 3.4 : préparation de l'inoculum et l'ensemencement

d. Application des disques

A l'aide d'une pince stérile, nous avons prélevé un disque imbibé avec l'hydrolat et pour la crème nous avons fait des trous dans les puis. Ce dernier est déposé à la surface de la gélose. Nous avons laissé diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes, puis incubé à 37°C pendant 18 heures voire figure sur l'Annexe A.

➤ L'échelle

- ❖ Observer l'absence ou la présence de zone claire autour des disques.
- ❖ Mesurer le diamètre de la zone d'inhibition à l'aide d'une règle.
- ❖ Les diamètres des zones d'inhibitions sont classés selon la croissance microbienne en quatre classes, selon le comité Français de Microbiologie :

- Fortement inhibitrice : diamètre ≥ 28 mm ;
- Modérément inhibitrice : $16\text{mm} \leq \text{diamètre} < 28\text{mm}$;
- Légèrement inhibitrice : $10\text{mm} \leq \text{diamètre} < 16\text{mm}$;
- Non inhibitrice : diamètre $< 10\text{mm}$.

3.1.3.2. Détermination de l'activité anti-inflammatoire

➤ Pour la crème

L'activité anti-inflammatoire est testée, en provoquant une inflammation locale au niveau de l'oreille de souris.

i. Principe

Cette technique repose sur la détermination de l'action inhibitrice de l'huile d'argan sur une inflammation provoquée par l'application locale sur l'oreille d'une souris d'un produit à base d'huile de croton.

ii. Mode opératoire

Ce test été réalisé sur 20 souris maintenues à jeun pendant 18h avant le début de l'expérience.

- On prépare la solution irritante à 5% d'huile de croton (produit commercialisé) :
 - L'huile de croton : 1ml ;
 - Acétone : 19ml.
- On prépare le produit de référence (témoin positif) à base d'indométacine à une concentration de 0,5 mg/ml d'acétone.
- On répartit les 20 souris en 4 lots : (voire figure sur l'Annexe A)
 - ✓ Un lot essais (E) : traité par crème ;
 - ✓ Un lot témoin positif (T+) : traité par le produit de référence (indométacine) ;
 - ✓ Un lot placebo : traité par l'eau distillée ;
 - ✓ Un lot témoin négatif : ne reçoit aucun traitement.

Au temps T_0 , On applique la solution irritante de façon suivante :

- Prélever 10 μ l de la solution irritante à l'aide d'une micropipette.
- On applique sur l'oreille droite et gauche de chaque souris, frotté de bas en haut à l'aide d'un coton. (pour le lot témoin négatif, en applique la solution irritante uniquement sur l'oreille droite) (voire figure sur l'Annexe A).
- On applique respectivement 20 μ l de crème, produit de référence et l'eau distillée sur l'oreille droite de chaque souris du lot E, T+, placebo (voire figure sur l'Annexe A)

Au temps T_{4h} :

- On sacrifie les souris par rupture de la nuque; puis sectionner l'oreille droite et gauche de chaque souris suivant l'arête cartilagineuse.
- On coupe à l'aide d'un perforateur de papier de 6 mm de diamètre un disque de chaque oreille (voire figure sur l'Annexe A).
- On pèse les disques.

Les disques de chaque lot sont disposés dans une boîte à part contenant du formol à 10%. Les disques d'oreille du lot d'essai dans une boîte ; les disques du lot test dans une autre boîte...etc. et on mentionne le nom du lot sur la boîte) (voire figure sur l'Annexe A)

- On calcule les moyennes arithmétiques massiques des disques des oreilles droites O_D et gauche O_G pour chaque lot.
- On calcule le pourcentage de réduction de l'œdème de l'oreille traité O_G par rapport au contrôle O_G .

$$\% \text{ réduction de l'œdème} = [(O_G - O_D) / O_G] * 100$$

- O_D : Poids de l'oreille droite ;
- O_G : Poids de l'oreille gauche.

➤ Pour l'hydrolat

L'objet de ce test est de déterminer l'activité anti-inflammatoire de l'hydrolat c-à-dire de l'huile essentielle de la nigelle sativa L. selon le test de Levy [110].

Le principe

L'injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de la souris provoque une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti-inflammatoire.

Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème plantaire après administration de doses égales du produit anti-inflammatoire à tester et produit de référence correspondant.

Protocole expérimentale**❖ Préparation de la solution de carragénine**

Pour la préparation nous mettons 25ml d'eau distillée dans un petit bécher, nous lui ajoutons progressivement de la carragénine (0.2g), puis nous ajustons le volume à 50 ml avec de l'eau distillée. (Plus quelques gouttes de Tween pour permettre la poudre de carragénine de se disperser dans l'eau distillée).

❖ Mode opératoire

- On répartit les 15 souris en 3 lots :
 - ✓ Un lot témoin ;
 - ✓ Un lot d'espèce (Hydrolat)
 - ✓ Un lot de référence.

Administrer aux 3 lots les suspensions suivantes :

- ✓ Lot de témoin : chaque reçoit 0.5 ml d'eau distillée ou de solvant ;
- ✓ Lot d'espèce chaque souris reçoit 0.5ml du l'hydrolat de graine de nigelle.
- ✓ Lot de référence : chaque souris reçoit 0.5 ml de produit de référence Diclofenac de Sodium 12.5mg.

Au temps T_{30mn} :

Injecter la solution de carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche sous un volume de 0.025 ml aux souris (voire figure sur l'Annexe A). Il est à noter que la patte arrières droites de chaque souris sert de contrôle.

Au temps T_{4h} :

- les souris ont été sacrifiées par rupture de la nuque.
- les pattes postérieures ont été coupées à hauteur de l'articulation puis peser. (voire figure sur l'Annexe A)

❖ Expression des résultats

- Calculer les moyennes arithmétiques des poids de la patte gauche et la patte droite pour chaque lot ;
- Calculer le pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% d'œdème) par la formule suivante :

$$\%d'œdème = [(MP_G - MP_D)/MP_D]*100$$

- **MP_G** : moyenne des poids de la patte gauche ;
 - **MP_D** moyenne des poids de la patte droite.
-
- Calculer le pourcentage de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins :

$$\% \text{réduction de l'œdème} = [(\% \text{de l'œdème témoin} - \% \text{de l'œdème essai}) / \% \text{d'œdème témoin} * 100]$$

3.2. RESULTATS ET DISCUSSION

3.2.1. Détermination du rendement d'extraction et caractérisation physico chimique

Plusieurs extractions par la méthode d'hydrodistillation ont été effectuées, mais vue que le rendement de l'huile essentielle a été très faible, il était nécessaire de recourir à une récupération de l'huile de l'hydrolat à l'aide d'un solvant organique. Cette méthode nous a permis d'augmenter la quantité de l'huile extraite ni au moins ce rendement reste assez faible. Vu la faible quantité extraite, l'étude des caractéristiques physico-chimique de cette huile (extraite de l'hydrolat à l'aide d'un solvant organique) n'a pas été effectuée que pour l'indice de réfraction. La valeur de cet indice après correction à 20°C est de 1,4676.

Les recherches bibliographiques faites montrent qu'aucun de ces indices n'a été déterminés jusqu'à l'heure.

De ce fait il a été plus convenable de formuler notre crème Bio à partir de l'hydrolat, sachant que ce dernier contient de l'huile essentielle des grains de nigelle.

3.2.2. Optimisation des paramètres de formulation

L'optimisation consiste à déterminer le mélange optimal des quatre constituants (huile d'amande douce, cire d'abeille, beurre de karité et tensioactif) comme variable de réponse nous avons pris la stabilité, la variation du pH.

➤ Etude de stabilité

Les résultats obtenus des formulations effectuées pour les différents rapports à savoir $\phi_H / \phi_A = 40/60$ et $\phi_H / \phi_A = 35/65$ sont regroupés sur les tableaux 1, 2 (voir l'Annexe C).

D'après les résultats obtenus dans les tableaux des deux rapports on a constaté que pour :

- rapport $\phi_H / \phi_A = 40/60$

On remarque sur le tableau 1 sur l'Annexe C que des cas d'instabilités ont été retrouvés pour une concentration en tensioactif égale à 0,4%, 0,2% et 0,1% (a2, a3, b2, b3, c2, c3, c7), (a7, b7) sont instables due au fait que la quantité de la cire est insuffisante du fait que cette dernière joue un effet émulsifiant dans notre formulation en plus du tensioactif utilisée (lécithine de soja) (voir figure 2 sur l'annexe D).

On a eu des formulations stable pour des concentrations de 0,1 ; 0,2 et 0,4% lorsqu'on a augmenté les quantités de cire d'abeille et de beurre de karité supérieur à 5% voir figure 1 sur l'Annexe D.

- Rapport $\phi_H / \phi_A = 35/65$

Dans ce rapport on a gardé les mêmes quantités de cire d'abeille et beurre de karité pour chaque essai avec les mêmes quantités de tension actif 0.4%, 0.2%, et 0.1%.

Les résultats obtenus sur le tableau 2 de l'Annexe C nous permettent de constater que les mêmes cas de figure que le rapport de phase 40/60 ont été retrouvés c'est-à-dire que les formulations stables ont été obtenus pour des concentrations en beurre de karité supérieur à 2% et une quantité de cire d'abeille supérieur à 2%.

- D'après les résultats obtenus sur les tableaux 1,2 (voir l'Annexe C), les formulations stables à retenir sont celles qui contient le moins de tensioactif et le moins de cire d'abeille (c1, c'1). Pour des raisons économiques il est important de prendre plus en considérations quant à la stabilité des formulations ceux qui contiennent le moins de matière organique c'est-à-dire ceux au rapport $\phi_H / \phi_A = 35/65$.

➤ Mesure du potentiel d'Hydrogène des crèmes

La mesure du pH a été effectuée sur les crèmes stables pour le rapport $\phi_H / \phi_A = 35/65$, les résultats sont regroupés sur le tableau 3.2 :

Tableau 3.2 : Valeur de pH des crèmes stable

Essai	pH
a'1	5,12
a'4	5,65
a'6	6,01
a'8	5,61
b'1	5,24
b'4	5,22

b'5	6,25
b'6	5,62
b'8	5,85
c'1	5,61
c'3	5,22
c'4	5,35
c'5	5,12
c'6	5,86
c'8	5,12

Les résultats obtenus permettent de voir clairement que les pH de certaines formulations stables obéissent aux normes 5,5 à 6, c'est-à-dire inférieures à 6 et supérieur à 5,5 (formulation c'1).

De ces formulations on s'est intéressé à celui qui contient le moins de cire d'abeille et le moins de tensioactif c'est la formulation c'1 sur la figure 3.6.



Figure 3.5 : aspect de la crème c'1 formulée.

➤ Etude de l'homogénéité

Dans le cas de notre crème, les observations visuelles ne montrent aucune présence de grumeaux ou de gouttes d'huile ou d'eau, de ce fait nous constatons que notre crème est parfaitement homogène.

Les observations microscopique de la crème de référence a permet de voir que la dispersion des gouttelettes et la taille sont homogènes. Les mêmes observations ont été constaté sur la crème formulé ce qui confirme que notre crème possède les même propriétés microscopique que ceux existes dans le commerce sur figure 3.7, 3.8.

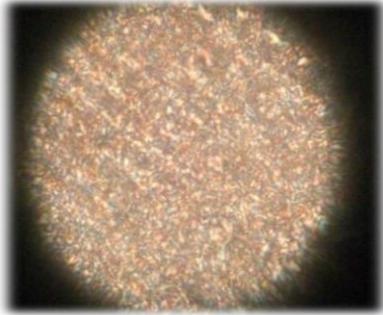


Figure 3.6 : Observation microscopique
Crème formulée



Figure 3.7 : Observation microscopique
crème de référence

➤ **Analyse microbiologique**

- **Influence de l'aire :** La crème formulée en absence de conservateur a été exposée à l'air libre pendant une semaine, on n'observe aucune présence de moisissures.
- **Influence de température :** La crème a été mise dans une étude pendant 10 jours, à une température de 37 °C. Après cette période aucune séparation de phase n'a été observée, ce qui confère à la crème une qualité meilleure.

➤ **Etude du comportement rhéologique et mesure de la viscosité**

On se propose dans cette partie d'étudier le comportement rhéologique de notre crème. Cette étude a été réalisée au sein du laboratoire de recherche universitaire de BLIDA1 Département de Génie des procédés au moyen d'un viscosimètre de type ANTON PAAR. Les expériences sont effectuées à une température de 20°C.

On fait subir aux crèmes formulées (c'1) des tests rhéologiques qui permettent de tracer les courbes d'écoulement permettant ainsi de définir leurs comportements rhéologiques et la détermination de la viscosité au repos de la crème formulée.

Les résultats de l'étude rhéologique sont présentés par la figure 3.8 ;

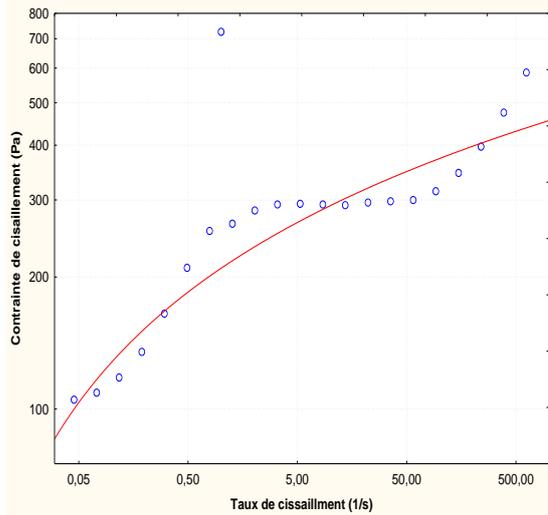


Figure 3.8 : contrainte de cisaillement en fonction du taux de cisaillement pour la crème formulé

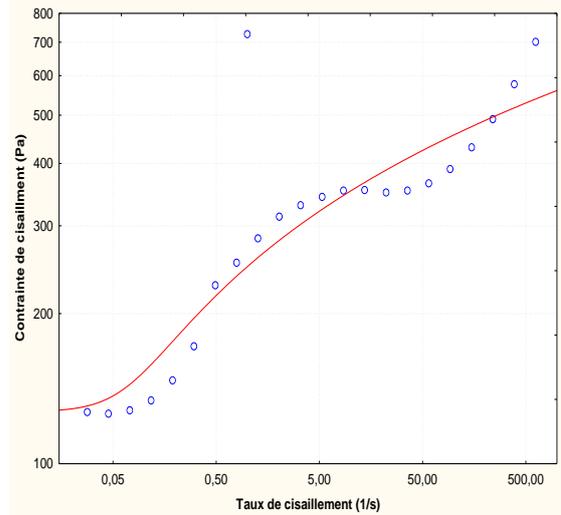


Figure 3.9 : contrainte de cisaillement en fonction du taux de cisaillement pour la crème de référence

On remarque sur ces figures que la courbe représentant la contrainte de en fonction du taux cisaillement est de type non newtonien rhéo-fluidifiant, ce résultat est confirmé par l'étude d'écoulement de la crème de référence par la figure 3. 9.

L'effet du cisaillement sur la valeur de la viscosité a été interprété par les graphes présentés sur figure 3.10, 3.11

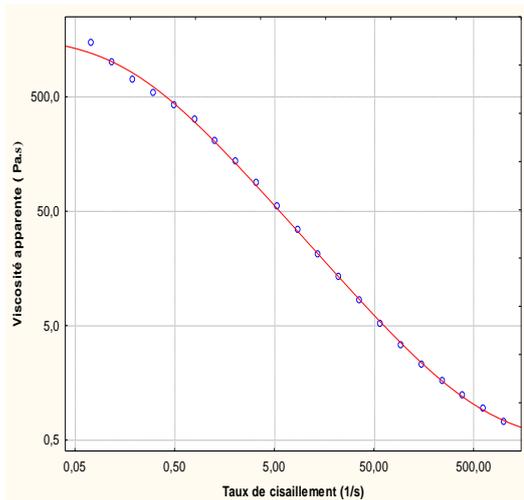


Figure 3.10: Courbe de la viscosité en fonction du taux de cisaillement pour crème formulé.

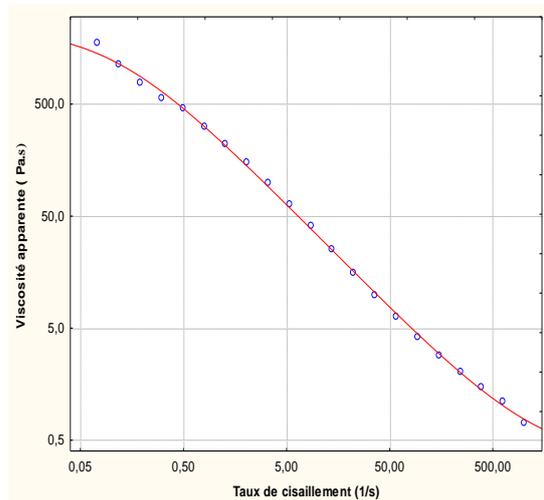


Figure 3.11 : Courbe de la viscosité en fonction du taux de cisaillement pour la crème de référence.

Sur le graphe indiquant la viscosité en fonction du taux de cisaillement on remarque que la viscosité diminue lorsque le taux de cisaillement augmente, cela confirme le comportement rhéo-fluidifiant.

La réduction de la valeur de la viscosité au repos a été établie par des méthodes mathématiques, en prenant les modèles les plus usuelles pour ce type d'écoulement, tel que le modèle de Carreau.

$$\eta = (1 + (a \cdot \dot{\gamma})^2)^p$$

η : viscosité [pa.s]

Les valeurs de la viscosité sont ainsi présentées sur le tableau 3.3 :

Tableau 3.3 : les valeurs de la viscosité

	V_F	K	B	N
Valeurs de crème formé	0,144786	-229,151	24,191	0,430651
Valeurs de crème de référence	0,146214	-238,0163	25,039	0,430786

$$\eta_f = 24,335 ; \text{ avec } R=0,98357.$$

$$\eta_r = 25,185 ; \text{ avec } R=0,98328.$$

Avec :

η_f : la viscosité de la crème formulée ;

η_r : la viscosité de la crème de référence ;

R : coefficient de corrélation.

Il est à remarquer que la valeur de la viscosité de la crème formulée est assez importante (24335 mPa.s), elle est pratiquement dans la même gamme que la crème de référence, ces valeurs sont confirmées sur la bibliographie.

3.2.3. Effet irritant/corrosif aiguë sur la peau

Cette analyse doit donc permettre de diminuer le recours aux essais *in vivo* de l'effet corrosif ou irritant sur la peau.

Une seule dose de la crème testée a été appliquée sur la peau des deux lapins pour l'expérience, d'autres zones de lapin ont servi de témoin en absence de la crème.

La crème testé a été appliquée sur une petite zone (environ 6 cm²) de la peau recouverte par une compresse de gaze, assujettie au moyen d'un sparadrap non irritant.

L'observation des signes d'érythème et d'œdème chez tous les animaux et la cotation des réactions s'effectuent au bout de 60 minutes et ensuite 24, 48 et 7 heures après l'enlèvement du timbre.

Les résultats des irritations cutanées pour chaque essai sont regroupés sur le tableau 3.4

Tableau 3.4 : Résultat du test d'irritation cutané

Délai d'observation	N° de lapin	Cotation de réactions cutanées	
		Formation d'érythème et d'escarre	Formation d'œdème
Après 1 heure	Lapin N°1	0	0
	Lapin N°2	0	0
Après 24 heures	Lapin N°1	0	0
	Lapin N°2	0	0
Après 48 heures	Lapin N°1	0	0
	Lapin N°2	0	0
Après 72 heures	Lapin N°1	0	0
	Lapin N°2	0	0
Après 14 jours	Lapin N°1	0	0
	Lapin N°2	/	/

Suite aux résultats obtenus pour les 2 lapins après 1h, 24h, 48h, 72h il n'a été constaté aucune présence d'érythème, d'escarre et d'œdème. De ce fait il était nécessaire de poursuivre les observations jusqu'aux 14 jours. Cette période permet de confirmer définitivement le bon effet de la crème appliqué quant à l'absence des effets

précédemment cités. Cela mis en évidence l'absence des effets irritant et corrosif de la crème formulé.

3.2.4. Tests biologiques (l'activité antimicrobienne)

La méthode de diffusion des disques (aromatogramme), nous a permis de mettre en évidence le pouvoir antibactérien de l'hydrolat et la crème des grains de nigelle vis-à-vis de cinq bactéries pathogène. Cette étude est basée sur la mesure de diamètre des halos d'inhibition de l'extrait obtenu. Les résultats qualitatifs du pouvoir antimicrobien de l'hydrolat de graines de nigelle et la crème sur les souches étudiées sont représentés dans le tableau 3.5:

Tableau 3.5 : Résultats de l'activité antimicrobienne de l'hydrolat de graines de nigelle et la crème

Les souches bactériennes	Zone d'inhibition en (mm)	
	L'hydrolat	La crème
Escherichia coli	0	0
Bacillus subtilis	14	0
Staphylococcus aureus	0	14
Pseudomonase aeruginosa	0	11
Klebsiella pneumoniae	12	0

Les résultats obtenus sur le tableau 3.4 montrent que pour l'hydrolat les diamètres des zones d'inhibition varient d'une souche à une autre. L'hydrolat de graines de *Nigella sativa* a montré une zone légèrement inhibitrice par rapport à *Bacillus subtilis* et *Klebsiella pneumoniae* les diamètres obtenus sont de 14 mm et 12 respectivement.

Concernant les bactéries telles que l'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonase aeruginosa*, aucune zone d'inhibition na été observée ce qui signifie une résistance de ces bactéries à l'hydrolat (figure 3, 4 voir l'Annexe D).

Concernant la crème, nous signalons une zone légèrement inhibitrice vis-à-vis *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonase aeruginosa* de diamètres 14 mm et 11 mm respectivement.

Une résistance à la crème a été remarque pour les bactéries telles que ; *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et *Klebsiella pneumoniae* (figure 5, 6 voir l'Annexe D).

D'après le tableau, nous constatant que la crème et l'hydrolat ne possèdent pas le même effet anti bactérien, cela peut être interprété par l'existence d'autre composé dans la crème, ce qui donné des interactions entre l'huile essentielle et ces composés.

3.2.5. Test pharmacologique (test anti-inflammatoire)

Le but de ce test est la mesure de l'activité anti-inflammatoire de l'hydrolat de graines de nigelle et de la crème formulé.

Pour cela deux techniques différentes ont été adoptées :

➤ Pour l'hydrolat :

Nous avons déterminés le pourcentage d'œdème suite une inflammation provoquée sur les pattes de souris à l'aide d'un produit irritant à base de carragénine. Des doses d'eau (témoin) d'hydrolat (huile essentielle) et le produit de référence (diclofénac de sodium) ont été injectés aux lots de souris correspondants.

La comparaison du taux de réduction de l'œdème des pates après injection des doses égales du produit à tester et celui du produit de référence correspondant, est réalisée par rapport à un témoin.

Les tableaux 3, 4 et 5 représentent la moyenne des pattes gauche et droite des souris des lots hydrolat, de référence et témoin (voir l'Annexe C).

A partir des tableaux 3, 4 et 5 et l'équation d'œdème, et de la réduction de l'œdème

- L'équation de l'œdème :

$$\%d'œdème = [(MP_G - MP_D)/MP_D]*100$$

- **MP_G** : moyenne des poids de la patte gauche ;
- **MP_D** moyenne des poids de la patte droite.
- L'équation de réduction de l'œdème :

$$\%réduction\ de\ l'œdème = [(\%de\ l'œdème\ témoin - \%de\ l'œdème\ essai)/\%d'œdème\ témoin *100]$$

Le pourcentage de l'œdème et le pourcentage de la réduction de l'œdème de chaque lot ont été calculés, les résultats sont présentés sur le tableau 3.6

Tableau 3.6 : Les valeurs représentant le pourcentage et de la réduction de l'œdème.

Lots	Témoin	Référence	l'hydrolat
%d'œdème	24,58	18	17,06
%de réduction	00	26,76	30,66

Du tableau précédemment on remarque que la valeur de la réduction de l'œdème est de 30,66% pour l'hydrolat ce qui montre que l'hydrolat de graines de nigelle réduit de façon appréciable l'œdème induit par la carragénine à 1%, cette valeur est donc plus élevée que celui du produit de référence qui est de 26,76%. De ce fait nous concluons que l'hydrolat de la plante étudiée est un produit qui possède non seulement une activité anti-inflammatoire mais celle-ci est meilleure que celle d'un produit déjà existante dans le commerce.

➤ Pour la crème :

Nous avons déterminé le pourcentage de réduction suite à une inflammation provoquée sur les oreilles de souris par application d'un produit irritant (l'huile de croton). L'effet anti-inflammatoire est étudié par l'application de l'eau (témoin 1), du produit à tester (crème formulée) et le produit de référence (indométacine) aux lots de souris correspondants.

Les tableaux 6, 7, 8 et 9 (voir l'Annexe C) Représentent la moyenne des oreilles gauche et droite des souris des lots de la crème, de référence et témoin

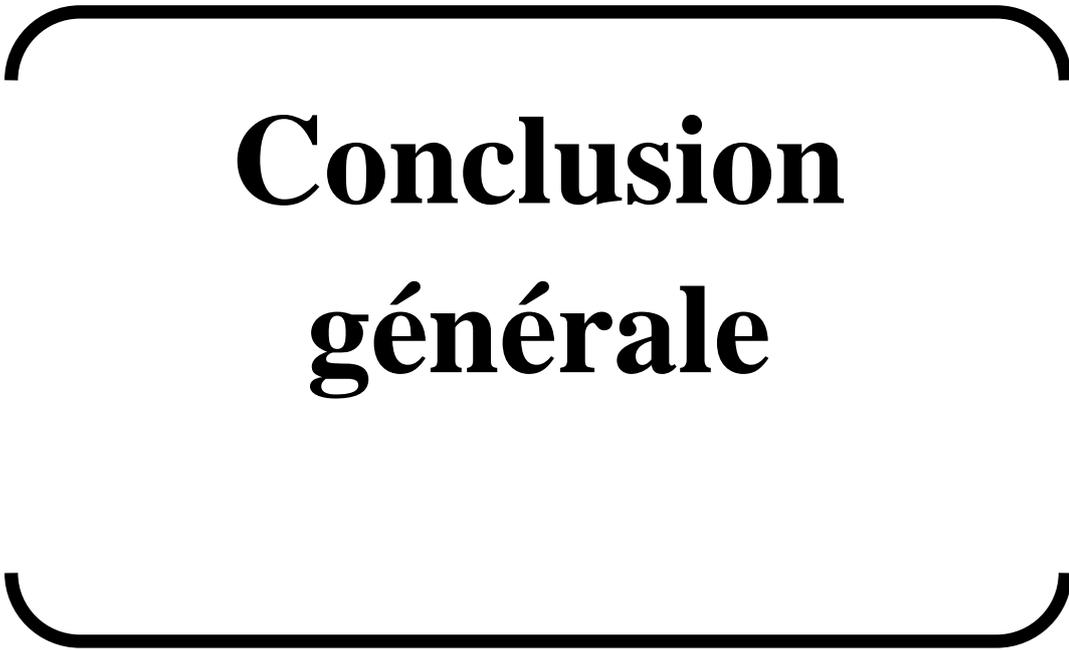
A partir des tableaux 6, 7, 8 et 9 et de l'équation de la réduction de l'œdème

$$\% \text{ réduction de l'œdème} = [(O_G - O_D) / O_G] * 100$$

Le pourcentage de la réduction de l'œdème de chaque lot a été calculé, on remarque que la valeur de la réduction de l'œdème est de 59,93% pour la crème formulée cette valeur est donc plus élevée que celui du produit de référence ce qui montre que la crème de graines de nigelle, cette valeur est donc plus élevée que celui du produit de référence qui est de 53,60% voir tableau 3.7. De ce fait nous concluons que notre crème bio est un produit qui possède une activité anti-inflammatoire assez importante.

Tableau 3.7 : les valeurs de pourcentage de réduction de l'œdème

Lots	Crème formulé	Référence
% réduction de l'œdème	59,93	53,60



Conclusion générale

Conclusion :

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

Dans ce contexte, nous avons évalués l'activité anti-inflammatoire et antimicrobienne de l'hydrolat de graine de nigelle et de la crème formulé avec cet hydrolat.

La crème parapharmaceutique à activité anti-inflammatoire obtenu par l'optimisation de paramètre de formulation a révélé une bonne homogénéité et stabilité de la crème.

L'étude du comportement rhéologique de cette crème a confirmé un comportement rhéofluidifiant avec une viscosité de 24335mPa.s.

Les tests de l'activité antimicrobienne réalisée par la méthode de disque sur cinq souches bactériennes, montrent que l'hydrolat de graines de nigelle et la crème ne possèdent pas le même effet antimicrobien, cela peut être interprété par l'existence d'autre composé dans la crème, ce qui donne des interactions entre l'huile essentielle et ces composés.

La recherche de l'activité anti-inflammatoire a montré que l'hydrolat de la plante étudié et la crème formulé possèdent non seulement une activité anti-inflammatoire mais celle-ci est meilleure que celle d'un produit déjà existant dans le commerce.



Bibliographie



Références bibliographiques

- [1] MAGHAMI Paris, 1979 :« Culture et cueillette des plantes médicinales », nouvelle encyclopédie des connaissances agricoles, Edition Hachette, p217.
- [2] XAVIER L., 1997 : « les médicaments pour la science », Edition françaises de scientificamericain, p339.
- [3] HADJADJ N., 2007 : « Optimisation des paramètres influençant le taux d'extraction de l'huile des graines de nigelle (*Nigella sativa* L.) par pressage » p12.
- [4] SALAMA, 2010: «Clinical and therapeutic Trials of *Nigella sativa* », TAF Prev Med Bull, 9(5): 513-522.
- [5] BENKIKI N, 2006 « Etude phytochimique des plantes médicinales Algérienne *Rutamontana*, *Matricaripubescense* et *Hypertciumperfoliatum* », thèse de doctorat, Université El-Hadj-Lakhdra.Batna.
- [6] TICLI, B.1997 : « L'herbier de santé », 1^oédition, Paris, édition VECCHI SAO, p206.
- [7] ISERIN, 2001 : « Les huiles essentielles (synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie) », Edition FRISON-ROCHE, p23.p36.
- [8] VERDRAGER, J, 1978 : « Des médicaments qui nous viennent des plantes », 1^oédition, Paris, édition Maloine S.A, vol.01, p233.
- [9] BAKKALI F, AVERBECK S, AVERBECK D, 2008: «Review MI-Biological effects of essential oils-A review food and chemical toxicology», vol.46, p446.p475.
- [10] Association Française de Normalisation Recueil de normes française, 2000 : « Huiles essentielles », AFNOR, Paris,AFNOR NF T 75-006.
- [11] PRABUSEENINIVASAN S, JAJAKUMAR M, IGNACIMUTHU S, 2006:« In vitro antibacterial activity of some plant essential oils »,BioMed Central Complementart and Altemative Medicine, Vol.6.N°39.
- [12] LAHLOU M, 2004: « Methods to study the phytochemistry and bioactivity of the essential oils», Phytotherapy research, vol.18, p435.p448.
- [13] OUSSALA M, CAILLET S , SAUCIER L, LACROIX M, 2006 : «Antimicrobial effects plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat», Meat science, vol.73, p236.p244.

Références bibliographiques

- [14] BRUNETON J, 1999 : « Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales, monoterpènes et sesquiterpènes », TEC & DOC, 3eme édition, p484.p497, Lavoisier, Paris.
- [15] ANTON R, LOBSTEIN A, 2005 : «Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles », TEC & DOC, Paris, p522.
- [16] Salle, J. L., 1991 : « Les huiles essentielles, synthèse d'arômes et introduction à la sympathicothérapie ». Ed. Frison-Roche, Paris.
- [17] Ibid. BRUNETON J, 1999 : « pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales » édition. TEC & DOC, Paris, 1120, p.286-426.
- [18] DESMARES C, DELERME C, LAURENT A, 2008 : « Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles », Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS), Saint-Denis Cedex, Franc.
- [19] BAKKALI F, AVERBECK S, AVERBECK D, IDAOMAR M,2008: «Biological effects of essential oils», A review, Food and Chemical Toxicology,p446-475.
- [20] Ibid. BRUNETON J, 1999 : « Pharmagnosie,phytochimie, plantes médicinales », (3éme Ed), Technique et Documentation, Paris, p484.
- [21] MAFFEI ME, 2010: « biochemistry and functional role of plant volatiles », Sites of synthesis, South African Journal of Botany, p612.p631.
- [22] CSEKEA LJ, KAUFMANB PB, KIRAKOSYAN A. «The Biology of Essential Oils in the Pollination of Flowers », Natural Product communication2007, 2 (12):1317-1336.
- [23] Ibid. BRUNETON J, 1999 : « Pharmagnosie : phytochimie, plantes médicinales », (3éme Ed), Technique et Documentation, Paris, 1999, p484.
- [24] BRUNETON J. 1993 : « pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2^{ème} édition : Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 1120.
- [25] CHARPENTIER B. et al., 2004 : « Guide du préparateur en pharmacie », 2^{ème} édition : Masson, Paris, p1300.
- [26] DIALLO A. et al., 2004 :« Etude de la phytochimie et des activités biologique de *Syzygiumguineense* »,Thèse de doctorat en Pharmacie, Université BAMAKO, MALI, p38.p47.
- [27] YAKHLEF G., 2010 :« Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *Thymus vulgaris* L. et *Laurusnobilis* L. », thèse de Magister en biochimie appliqué, université de Batna, p78.

Références bibliographiques

- [28] CALVET R., 2005 :« Les pesticides dans le sol : conséquences agronomiques et environnementales », Edition France agricole, Paris, p637.
- [29] HAMMER K.A., CARSON C.F., RILEY T.V., 1999, « Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts » Journal of Applied Microbiology, V.86.Issue 6, p985.p990.
- [30] KORDALI S., KOTAN R., MAVI A., CAKIR A., ALA A., ET YILDIRIM A., 2005: « Determination of the chemical composition and antioxydant activity of the essential oil of *Artemisia dracunculoides* of the antifungal and antibacterial activities of Turkish », *Dracunculus, Artemisia santonicum, et Artemisia spicigera* essential oil.
- [31] YANG Y.C., LEE H.S., MARSHALL CLARK J., JOONAHN Y., 2005: « Ovicidal and adulticidal activities of *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil compounds and related compounds against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae) », International journal for parasitology, V.35, Issue 14, p1595.p1600.
- [32] GILANI A.H., SHAH A.J., ZUBAIR A., KHALID S., KIANI J., AHMAD V.U., « bronchodilatory properties of the essential oil of *Nepeta cataria* L. » Journal of ethnopharmacology, V.221, Issue 3, p405.p411.
- [33] GILANI A.H., MEHMOOD M.H., JANBAZK.H., KHAN U.A., SAÏD S.A., 2008 :« Ethnopharmacological studies on antispasmodic and antiplatelet activities of *Ficus carica* » Journal of ethnopharmacology, V.119 n°1, p1.p5.
- [34] SYLVESTRE M., PICHETTE A., LONGTIN A., NAGAU F., LEGAULT F, 2006 :« Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guadeloupe » Journal of ethnopharmacology V.113, p99.p102.
- [35] DORDEVIC S., PETROVIC S., DOBRIC S., MILENKOVIC M., VUCICEVIC D., ZIZIC S., KUKIC J., 2007: « Antimicrobial, anti-inflammatory, anti-ulcer and antioxidant activities of *Carlina acanthifolia* root essential oil », Journal of ethnopharmacology, V.109, Issue 3, p458.p463.
- [36] SCHNITZEL P., KOCH C., REICHLING J., 2007, « Susceptibility of drug-resistant clinical herpes simplex virus type 1 strains oils of ginger, thyme, hyssop, and sandalwood » American society for Microbiologie Antimicrobial agents and chemotherapy, V.50, n°5, p1859.p1862.
- [37] GAILLET S., LACROIX M., 2007 : « Les huiles essentielles : leurs propriétés antimicrobienne et leur application potentielles en alimentaire », p1.p8.

Références bibliographiques

- [38] DABA F., DANG XUAN T., YASUDA M., SHINKICHI T., 2008: « Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. Var. *Radiata* », *Food control*, V. 19, Issue 4, p346.p352.
- [39] ALESANDRA, MORO BURONZO, 2008 :« Grand guide eshuilesessentielle », édition, hachattepratique, P244.
- [40] WILLEM. J.P, 2004, « les huiles essentielles médecine d'avenir ». Dauphin, troisième édition, Paris, P318.
- [41] Anonyme, 2009: « http://bioweb.uwlax.edu/bio203/s2009/shaheen_baya/ »
- [42] BABA AISSA, F., 2011:« encyclopédie des plantes utiles », el Maarifa, Alger, p255.p471.
- [43] GHEDIRA, 2006 : « La nigelle cultivée : *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae) », phytothérapie, p220.p226.
- [44] AVENZORA, 2012 : « La graine de nigelle ou cumin noir : un remède miraculeux » P2.
- [45] GUIGNARD, J.-L, 2001 : « Botanique systématique moléculaire», 12e édition, Masson, Paris.
- [46] BELOUAD A., 2005 : « Plante médicinales d'Algérie », offices des publications universitaires, p144.p154.
- [47] MOKKEDEM A., 2004 : « La culture de la nigelle en zone subhumide ». Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie, Laboratoire des ressources phytogénétiques, Alger (INRAA).
- [48] TUSCHER E., ANTON R., LOBSTEIN-GUTH A., 2005 : « Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles Lavoisier, technique et documentation », p343.p337.
- [49] GREENISH H, 1880: «Contribution to the Chemistry of *Nigella sativa* », Vol. 10, *Pharmac J Trans*.
- [50] ABOUTABL E., EL-AZZOUNY A., &HAMMERSCHMIDT F, 1986: «Aroma volatiles of *Nigella sativa* L. seeds. *Progress in Essential Oil Research*», Berlin, New York.
- [51] Ramadan, M.F., Morsel, J.T. 2002: «Characterization of phospholipids composition of black cumin (*Nigella sativa* L.) Seed oil». *Nahrung Food*. p240.p244.
- [52] BENKACI-ALI F., BAALIOUAMER A., Meklati B, 2006: « Kinetic study of microwave extraction of essential oil of *Nigella sativa* L» seeds, *Chromatographia*, p227.p231.

Références bibliographiques

- [53] BURITS M., BUCAR F, 2000: « Antioxidant activity of *Nigella sativa* essential oil ». *Phytotherapyresearch*, p323.p328.
- [54] Orient bien-être, « composition chimique de la graine de *Nigella sativa* », Consulté le 30 Janvier 2012, sur Orient bien-être : http://www.orient-bien-etre.com/cgi-bin/prog/pform.cgi?Langue=fr&TypeListe=showdoc&Mcenter=galeriephoto&mot_cle_show=&ID_document=31.
- [55] MERFORT I., WRAY V., BARAKAT S., NAWWAR, M., &WILLUHN, G,1997: « Flavonoid triglycerides from seeds of *Nigella sativa* ». *phytochemistry*, p359.p363.
- [56] ATTA-UR-RAHMAN M., HASSAN S., COUDHARY M., NI, C., & CLARDY, J,1995: « Nigellidine: a new indazole alkaloid from the seeds of *Nigella sativa*», *Tetrahedron letters*(36), p1993.p1996.
- [57] AL-GABY, A.M.A, 1998: « Amino acid composition and biological effects of supplementing broad bean and corn proteins with *Nigella sativa* (black cumin) », *cake protein, Die Nahrung*, p290.p294.
- [58] NERGIZ C., OTLES S, 2003: «Some characteristics of *Nigella* (*Nigella sativa* L) Seed cultivated in Egypt and its lipid profile », *Food Chemistry*,p63.p68.
- [59] AL-SALEH, I.A., BILLEDI, G., EL-DOUSH, I.I, 2006: « Levels of selenium, DL- α -tocopherol, DL- γ -tocopherol, all-trans-retinol, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella sativa* seeds », *Journal of Food Composition and Analysis*, p167.p175.
- [60] TOPARSLAN, 2012 : « À propos de *Nigella sativa* L », thèse de doctorat.
- [61] SAIDI, B. 2012: « La graine de nigelle : remède sacré ou sacré remède ? », Paris : Iqra et les quatre sources, p136.
- [62] AL-HADER., AQELB M., HASAN M, 1993: «Hypoglycemic Effects of the Volatile Oil OF *Nigella sativa* Seeds», *Int. J. pharmacog*, 31, N°2, p96.p100.
- [63] El GAZZAR M, El MEZAYEN R, MARECKI JC, NICOLLS MR, CANASTAR A, DRESKIN SC, 2006: «Anti-inflammatory effect of thymoquinone in a mouse model of allergic lung inflammation», *International Immuno pharmacology*, p1135.p1142.
- [64] SHAHZAD M, YANG X, RAZA ASIM MB, SUN Q, HAN Y, ZHANG F, CAO Y, LU S, 2009: «Blackseed oil ameliorates allergic airway inflammation by inhibiting T-cell proliferation in rats»,*Pulmonary pharmacology & Therapeutics* p37.p43.
- [65] MANSOUR M, TORNHAMRE S, 2004:«Inhibition of 5-lipoxygenase and Leukotriene C₄Synthase in Human Blood Cells by Thymoquinone»,*Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, p431.p436.

Références bibliographiques

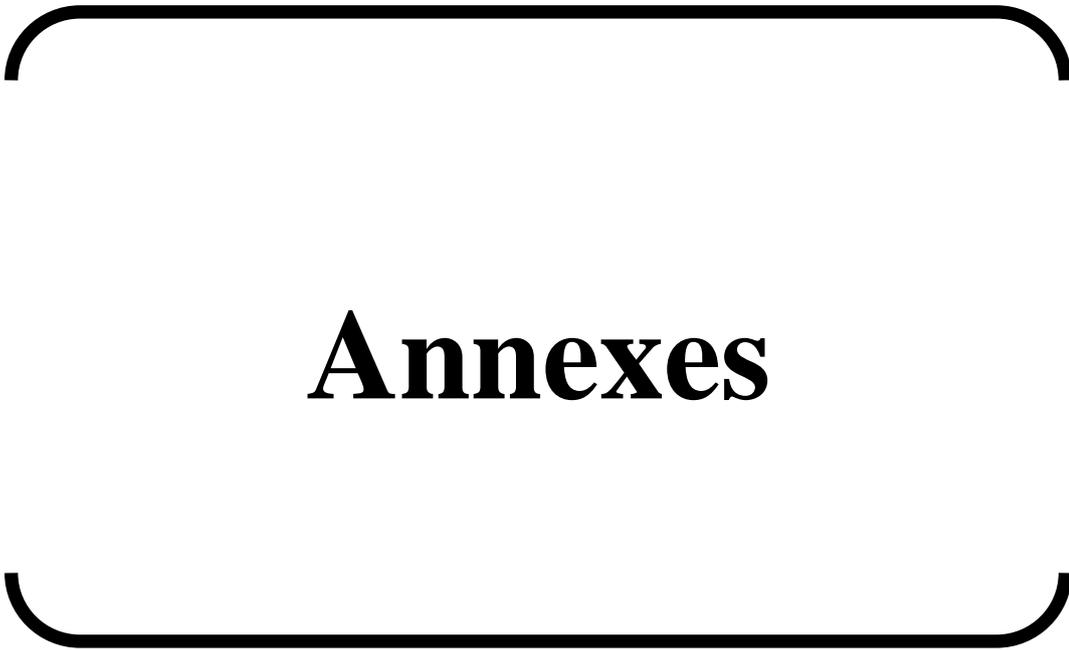
- [66] GHANNADI A, HAJHASHEMI V, JAFARABADI H, 2005: «An Investigation of the Analgesic and Anti-Inflammatory Effects of Nigella sativa Seed Polyphenols», J Med Food, p488.p493.
- [67] KHANON, 2012 : « la graine de la nigelle », Paris.
- [68] Article L 5131-1, « Code de la santé publique », site Légifrance, consulté le URL:
<http://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do?cidTexte=LEGITEXT000006072665&idArticle=LEGIARTI000023385246&dateTexte=20110131>
- [69] MORILLON F, « Le livre vert de la Cosmétique Bio », le Courrier du Livre, Paris, 2008 : Chapitre 2, p23.p56.
- [70] <https://soin-du-corps.ooreka.fr/comprendre/produit-cosmetique>.
- [71] RODRIGUEZ ROJAS, 2007 : « Emulsification en cuve agitée », thèse de l'université l'institut national polytechnique de Toulouse.
- [72] CABANE BERNARD, 2003 : « liquide solution, dispersion, émulsion, gels », p240.p243, édition dunod, paris.
- [73] M.RONDON GONZALAZ, 2007 : « Inversion de phase d'émulsion induite par agitation », thèse de l'université l'institut national polytechnique de Lorraine.
- [74] O.DOUMEIX, « Opérations unitaires en génie biologique, les émulsions ».
- [75] R.KUMAR, M.S.KUMAR, N.MAHADEVAN, 2012: « multiple emulsion»a review, international journal of recent advances in pharmaceutical research.
- [76] E.A.PARUTA TUARAZ, 2010 : « émulsion inverse très concentrées », thèses de l'université de l'institut national polytechnique de Lorraine.
- [77] HANS MOLLET, ARNOLD GRUBENMANN, 2010: «formulation technology: emulsion, suspensions, solidforms», chap 2, p63.
- [78] T.GUZUN, 2010 : « peroxydation des lipides émulsionnent et transfert d'ions de fer a l'interface huile/eau stabilisée par des protéines de lait : influence des résidus phosphates et de la stabilité de chélate de fer », thèse de l'université de bourgogne.
- [79] E.BARDEZ, 2009 : « chimie générale »p93.p94, édition dunod, paris.
- [80] M.BONNET, 2008 : « libération contrôlée du magnésium par des émulsions doubles : impact de paramètres de formulation », thèse de l'université de bordeaux 1.
- [81] S.ARDITTY, 2004 : « fabrication, stabilité et propriétés rhéologiques des émulsions stabilisées par des particules colloïdales », thèse de l'université bordeaux 1.

Références bibliographiques

- [82] H.FERSADOU, 2011 : « étude de la libération de principes actifs depuis les émulsions concentrées : caractérisation et modélisation », thèse de l'institut national polytechnique de lorraine.
- [83] T.D.DIMITROVA, D.GURKOV, N.VASSILEVA, 2000: « kinetics of cream formation by the mechanism of consolidation in flocculating emulsions»,journal of colloid and interface science.
- [84] T.FELICIE, 2009 : « conception et mise en œuvre d'un procédé intensifié continu de micro encapsulation par polycondensation interfaciale », thèse de l'institut national polytechnique de Toulouse.
- [85] J.M.G.ALVAREZ, 2008 : « étude de l'inversion de phase catastrophique lors de l'émulsification de produits visqueux », thèse de l'institut national polytechnique de lorraine.
- [86] D.N.PETSEV, 2004: « emulsion: structure, stability and interactions»chap 09, p353.p354.
- [87] M.GIRARD, 2000 : « étude des propriétés d'émulsifiantes d'un complexe de protéines de lactosérum et de carboxyméthylcellulose », thèses de l'université Laval.
- [88] NGUYEN S, 2005 : « Manuel d'anatomie et de physiologie », 3ème édition, p308.p310.
- [89] ANONYME, 2008 : « Dictionnaire médical ».
- [90] ROSS et WILSON, 2003 : « Anatomie et physiologie normales et pathologique », édition maloine, p362.p368.
- [91] CHARPENTIER B, et al, 2004 : « Guide du préparateur en pharmacie », 2ème éditionMasson, Paris, p1300.
- [92] JULIE ORHON et GILLES LANDRY, 2014 : « la peau », les nouvelles connaissances usuelles, lettre en main.
- [93] TOUITOU YVAN, 2003 : « Pharmacologie », édition Masson, p229.
- [94] ROBERT C., vencent P., 1995 : « Biologie et physiologie humaine », 2^{ème} édition Vuibert, France, p700
- [95] GIRAUDET P., FAURE A., et FROT J.C, 1984 : « La réaction inflammatoire », Physiopathologie et exploitation clinique, édition Rinçot, Paris, p260.
- [97] TORTORA G. et REYNOLDS S., 2001 : « Principe d'anatomie et physiologie », 3ème Ed. De Boeck université, Québec, p1121.
- [98] PIERI François, 1992 : « Pharmacologie et thérapeutique », édition Elipses, Paris, p 298.

Références bibliographiques

- [99] BURT.S, 2004: « Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods», p223.p53.
- [100] AFNOR, 1992 : « recueil des normes françaises sur les huiles essentielles», paris.
- [101] Davrieux F., Allal F., Piombo G., Kelly B., Okulo J., Thiam M., Diallo & Bouvert J.M., 2010 : « journal of Agricultural and Food Chemistry, 58 » 7811-7819.
- [102] CARRE P, 1939 : « Précis de technologie et de chimie industrielle », édition Boullière J. B. et fils, p781.
- [103] J.P.MARTY, R.GUY, 1996: « les formetopic», chap18, p466, edition londres, New York.
- [104] S.SEDDARI, 2001 : « formulation et caractérisation rhéologique d'une émulsion multiple a usage pharmaceutique », mémoire C.U. Yahia farés. Média.
- [105] N. M.RASNANI, H.MIRHOSSEINI, B.SHAM BIN, BAHARIN, CHIN P TAN, 2011: «effect of pH on physicochemical properties and stability of sodium caseinate-pectin stabilized emulsion », journal of food, agriculture & environment.
- [106] OECD, 2014: «Guidance Document on Integrated Approaches to Testing and Assessment. Environmental Health and Safety Publications», Series on Testing and Assessment, (No. 203.) Organization for Economic Cooperation and Development, Paris.
- [107] MAYACHIEW P, & DEVAHASTIN S., 2008: «antimicrobial and antioxidant activities of Indiangooseberry and galangal extracts »,Food Science and Technology, p1153.p1159.
- [108] GACHKAR L., YADEGARI D., REZAEI M.B., TAGHIZADEH M., ASTANEH S.A. and RASOOLI I., 2007: « chemical and biological characteristics of Cuminum cyminum and Rosmarinus officinalis essential oils », p898.p904.
- [109] HUSSAIN A.I., ANWAR F., CHATHA S.A.S., JABBAR A., MAHBOOB S. and NIGAM P.S., 2010:« Rosmarinus officinalis essential oils: antiproliferative, antioxidant and antibacterial activities »,Brazilian Journal of Microbiology, p1070.p1078.
- [110] COLOT. M, 1972 : « Notions techniques de pharmacologie générale », Édition Masson.



Annexes

Matériel non biologique

Petit matériel et verrerie

- Bécher
- Ballon de 1L
- Barreau magnétique
- Pissette
- Eprouvette 25ml
- Etiquette
- Spatule métallique
- Seringue
- Tube à essai
- Papier aluminium
- Milieu de culture
- Gant
- Boite pétri
- Disque bactérienne stérile
- Bec bunsen

Appareillage

- Balance électrique
- Balance pour animaux
- Agitateur magnétique
- Chauffe ballon
- Ultra turax (homogénéisateur)
- Centrifugeuse
- pH mètre
- Microscopie
- Micro-onde
- Autoclave verticale
- Haute
- Etuve 37°C et 120°C

Produits et réactifs

- Eau distillé
- KOH
- Carragénine
- Huile de croton



Figure 1 : l'effet irritant/corrosif sur la peau du lapin



Figure 2 : l'application de la crème sur la peau du lapin

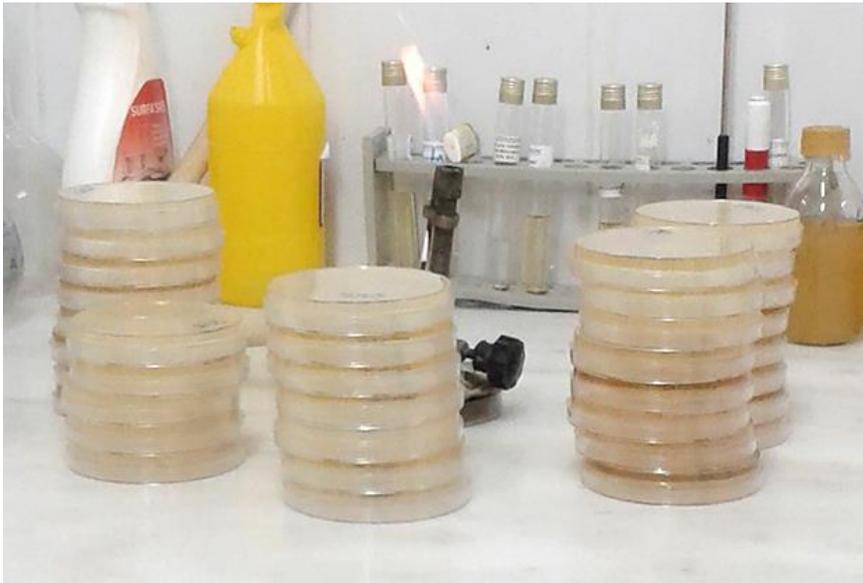


Figure 3 : préparation de l'inoculum

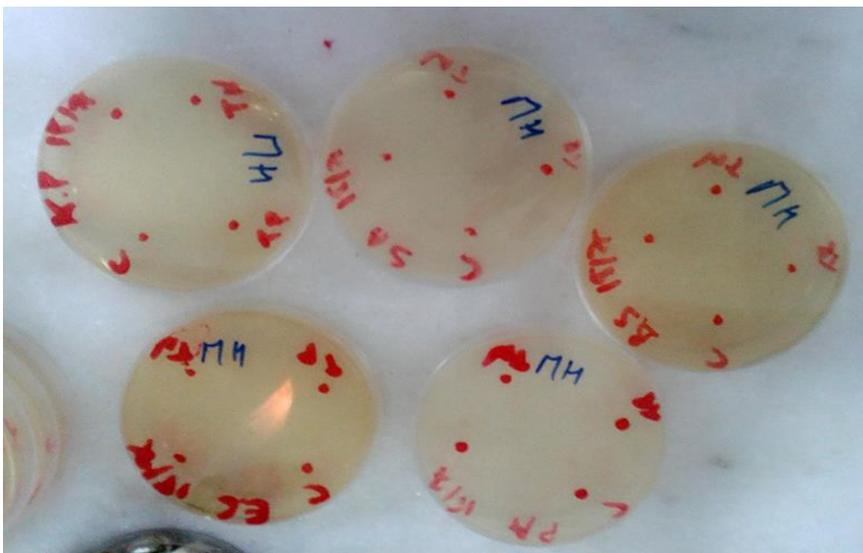


Figure 4 : Application des disques



Figure 5 : Les quatre lots de souris

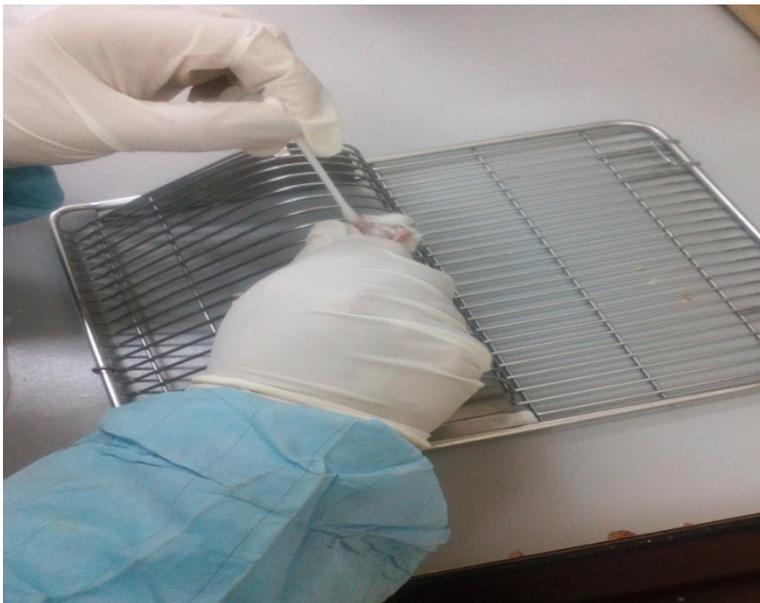


Figure 6 : l'application de la solution irritante



Figure 6 : l'application de la crème de référence

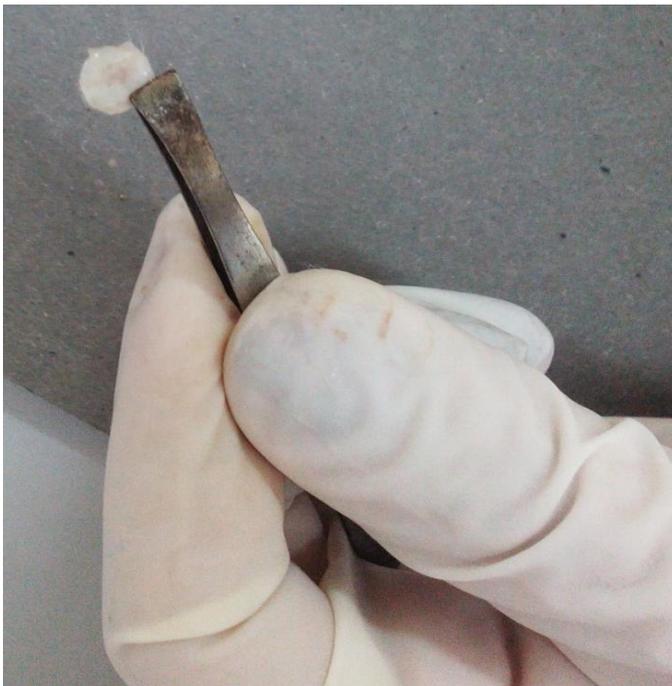


Figure 7 : les disques qu'on a été coupé de l'oreille du souris

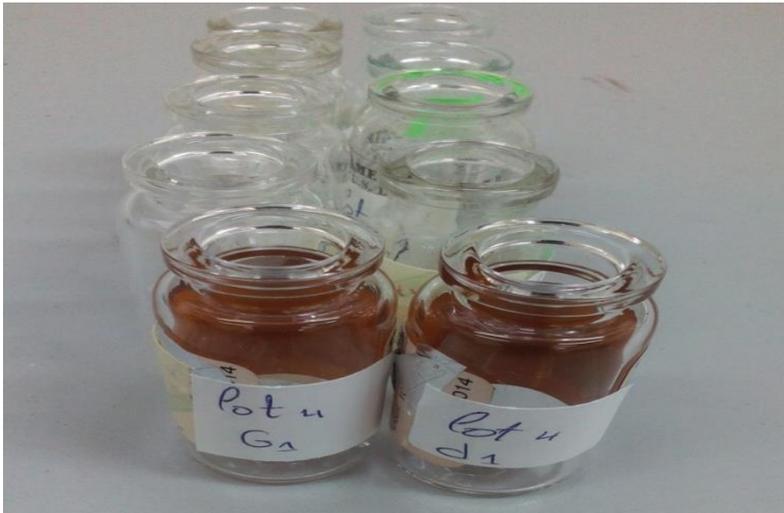


Figure 8 : la disposition des disques dans les boites



Figure 9 : l'injection de la solution de carragénine

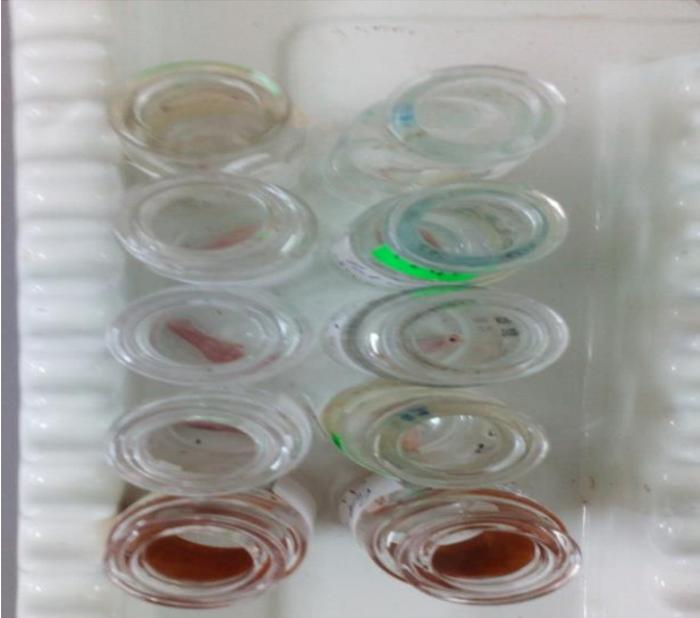


Figure 10 : la disposition des disques dans les boites

Tableau 1 : Mélange $\phi_H / \phi_A = 40/60$;(TA=0,4% ; (CA+BK \leq 8%)

Essai N°	BK%	CA%	HAD%
a1	3	3	34
a2	2	3	35
a3	3	2	35
a4	3	5	32
a5	5	3	32
a6	2	6	32
a7	6	2	32
a8	4	4	32

Tableau 2 : Mélange $\phi_H / \phi_A = 40/60$;(TA=0,2% ; (CA+BK \leq 8%)

Essais N°	BK%	CA%	HAD%
b1	3	3	34
b2	2	3	35
b3	3	2	35
b4	3	5	32
b5	5	3	32
b6	2	6	32
b7	6	2	32
b8	4	4	32

Tableau 3 : Mélange $\phi_H / \phi_A = 40/60$; (TA=0,1% ; (CA+BK \leq 8%))

Essais N°	BK%	CA%	HAD%
c1	3	3	34
c2	2	3	35
c3	3	2	35
c4	3	5	32
c5	5	3	32
c6	2	6	32
c7	6	2	32
c8	4	4	32

Tableau 4 : Mélange $\phi_H / \phi_A = 35/65$; (TA=0,4% ; (CA+BK \leq 8%))

Essais N°	BK%	CA%	HAD%
a'1	3	3	29
a'2	2	3	30
a'3	3	2	30
a'4	3	5	27
a'5	5	3	27
a'6	2	6	27
a'7	6	2	27
a'8	4	4	27

Tableau 5 : Mélange $\phi_H / \phi_A = 35/65$; (TA=0,2% ; (CA+BK \leq 8%))

Essais N°	BK%	CA%	HAD%
b'1	3	3	29
b'2	2	3	30
b'3	3	2	30
b'4	3	5	27
b'5	5	3	27
b'6	2	6	27
b'7	6	2	27
b'8	4	4	27

Tableau 6 : Mélange $\phi H / \phi A = 35/65$; (TA=0,1% ; (CA+BK \leq 8%))

Essais N°	BK%	CA%	HAD%
c'1	3	3	29
c'2	2	3	30
c'3	3	2	30
c'4	3	5	27
c'5	5	3	27
c'6	2	6	27
c'7	6	2	27
c'8	4	4	27

Tableau1: Plan de mélange $\phi_H / \phi_A = 40/60$

Essai n°	BK%	CA%	TA%	HAD%	Stabilité
a1	3	3	0,4	34	Stable
a2	2	3	0,4	35	Instable
a3	3	2	0,4	35	Instable
a4	3	5	0,4	32	Stable
a5	5	3	0,4	32	Stable
a6	2	6	0,4	32	Stable
a7	6	2	0,4	32	Instable
a8	4	4	0,4	32	Stable
b1	3	3	0,2	34	Stable
b2	2	3	0,2	35	Instable
b3	3	2	0,2	35	Instable
b4	3	5	0,2	32	Stable
b5	5	3	0,2	32	Stable
b6	2	6	0,2	32	Stable
b7	6	2	0,2	32	Instable
b8	4	4	0,2	32	Stable
c1	3	3	0,1	34	Stable
c2	2	3	0,1	35	Instable
c3	3	2	0,1	35	Instable
c4	3	5	0,1	32	Stable
c5	5	3	0,1	32	Stable
c6	2	6	0,1	32	Stable
c7	6	2	0,1	32	Instable
c8	4	4	0,1	32	Stable

Tableau2 : Plan de mélange $\phi_H / \phi_A = 35/65$.

Essai n°	BK%	CA%	TA%	HAD%	Stabilité
a'1	3	3	0,4	29	Stable
a'2	2	3	0,4	30	Instable
a'3	3	2	0,4	30	instable
a'4	3	5	0,4	27	Stable
a'5	5	3	0,4	27	Stable
a'6	2	6	0,4	27	Stable
a'7	6	2	0,4	27	Instable
a'8	4	4	0,4	27	Stable
b'1	3	3	0,2	29	Stable
b'2	2	3	0,2	30	Instable
b'3	3	2	0,2	30	Instable
b'4	3	5	0,2	27	Stable
b'5	5	3	0,2	27	Stable
b'6	2	6	0,2	27	Stable
b'7	6	2	0,2	27	Instable
b'8	4	4	0,2	27	Stable
c'1	3	3	0,1	29	Stable
c'2	2	3	0,1	30	Instable
c'3	3	2	0,1	30	Stable
c'4	3	5	0,1	27	Stable
c'5	5	3	0,1	27	Stable
c'6	2	6	0,1	27	Stable
c'7	6	2	0,1	27	Instable
c'8	4	4	0,1	27	Stable

Tableau 3 : Poids des pattes gauche et droite des souris avec leurs moyennes pour l'hydrolat

	Sourie 01	Sourie 02	Sourie 03	Sourie 04	Sourie 05	Moyenne
P _G	0,1740	0,1940	0,2100	0,1950	0,1840	0,1914
P _D	0,1527	0,1700	0,1788	0,1601	0,1559	0,1635

P_G : Patte gauche ;

P_D : Patte droite.

Tableau 4 : Poids des pattes gauche et droite des souris avec leurs moyennes pour la solution physiologique 0.9%

ANNEXE C

	Sourie 01	Sourie 02	Sourie 03	Sourie 04	Sourie 05	Moyenne
P_G	0,2088g	0,2102g	0,2197g	0,2474g	0,2248g	0,22218g
P_D	0,1839g	0,1705g	0,1683g	0,1870g	0,182g	0,17834g

Tableau 5 : Poids des pattes gauche et droite des souris avec leurs moyennes pour le diclofénac de sodium

	Sourie 01	Sourie 02	Sourie 03	Sourie 04	Sourie 05	Moyenne
P_G	0,1852g	0,1950g	0,2150g	0,1960g	0,1768g	0,1936g
P_D	0,1729g	0,1611g	0,1701g	0,1622g	0,1540g	0,16406g

Tableau 6: Poids des oreilles gauche et droite des souris avec leurs moyennes pour un lot d'essais (E)

	Sourie 01	Sourie 02	Sourie 03	Sourie 04	Sourie 05	Moyenne
O_G	0,050g	0,071g	0,0106g	0,0132g	0,0112g	0,0312g
O_D	0,017g	0,0097g	0,0175g	0,0098g	0,0085g	0,0125g

Tableau7 : Poids des oreilles gauche et droite des souris avec leurs moyennes pour un lot témoin positif (T+)

	Sourie 01	Sourie 02	Sourie 03	Sourie 04	Sourie 05	Moyenne
O_D	0,0114g	0,0137g	0,0130g	0,0134g	0,0122g	0,01274g
O_G	0,097g	0,0127g	0,0097g	0,0075g	0,0104g	0,02746g

Tableau 8 : Poids des oreilles gauche et droite des souris avec leurs moyennes pour un lot placebo

	Sourie 01	Sourie 02	Sourie 03	Sourie 04	Sourie 05	Moyenne
O_G	0,0113g	0,0105g	0,0108g	0,0128g	0,0110g	0,01128g
O_D	0,0099g	0,0092g	0,0070g	0,0139g	0,0123g	0,01046g

Tableau 9 : Poids des oreilles gauche et droite des souris avec leurs moyennes pour un lot témoin négatif

	Sourie 01	Sourie 02	Sourie 03	Sourie 04	Sourie 05	Moyenne
O_G	0,0114g	0,0050g	0,0076g	0,0068g	0,0057g	0,0073g
O_D	0,0118g	0,0062g	0,0042g	0,0078g	0,0092g	0,00784g



Figure 1 : Essai d'une crème instable



Figure 2 : Essai d'une crème stable



Figure 3: Zone d'inhibition vis-à-vis *Bacillus subtilis*



Figure 4: Zone d'inhibition vis-à-vis *Klebsiella pneumoniae*

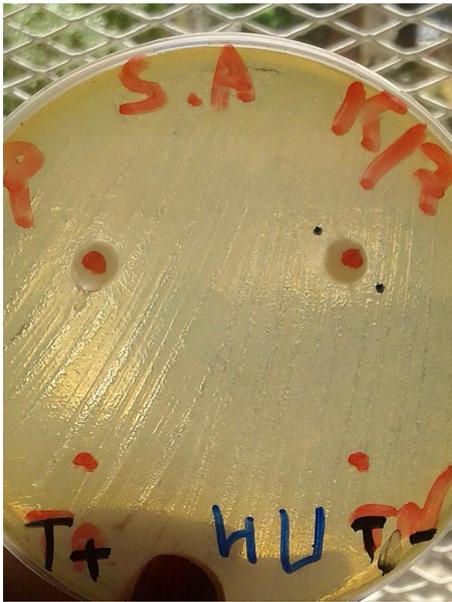


Figure 5: Zone d'inhibition vis-à-vis staphylococcus aureus



Figure 5: Zone d'inhibition vis-à-vis kelbsiella pneumoniae