

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

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés

Laboratoire Analyses Fonctionnelles des Procédés Chimiques



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GENIE DES PROCEDES

Spécialité : Matériaux et produits organiques industriels /Pharmacie
industrielle

Intitulé du mémoire

Extraction et caractérisation des saponines à partir de Hedera

Hélix

Formulation d'une crème anti brûlure

Présenté par :

ABDELKERIM IDRIS HOUR
MAKI ADAM MINAWI

Encadré par:

Dr: M. REBIHA

Promotion 2017/2018

RESUME

L'objectif de ce travail est d'extraire un principe actif à partir des feuilles du lierre grimpant, à savoir les saponines et d'en formuler une crème anti brûlure.

Pour aboutir à nos fins, nous avons procédé à l'extraction par macération à froid avec de l'éthanol. La caractérisation de l'extrait en tant que bio surfactant par des méthodes physico-chimiques (IR et pouvoir moussant) a été effectuée. Les résultats obtenus confirment la présence des saponines.

A la lumière de ces données nous avons réalisé la formulation d'une crème dans laquelle on a introduit la matière bioactive. Afin d'optimiser la composition donnant un produit stable et conforme, nous avons adopté une méthodologie qui repose sur une modélisation en surface de réponses à l'aide du logiciel Modde 6. La caractérisation rhéologique des différents essais proposés par le plan d'expériences a été réalisée. La modélisation des paramètres rhéologiques nous a permis de faire ressortir les effets importants des différents facteurs ainsi que les interactions entre les facteurs.

Au vue de ces résultats, notre principal objectif reste à savoir si les crèmes formulées à base de cette matière végétale confirment réellement l'activité thérapeutique recherchée et cela se fait par le biais des essais précliniques.

Mots clés : lierre grimpant, macération, saponines tri-terpéniques, formulation, rhéologie, teste in vivo.

ABSTRACT

This work has been carried out on climbing ivy (*Hedera helix*) precisely on its leaves, harvested in the University of Blida1, it is a widespread species worldwide known for its healing properties and beneficial to human health. In order to obtain the saponins from it, we proceeded to the extraction by cold maceration with ethanol, which allowed us to proceed to the filtration then to recover the purified saponins in accordance to the details of the protocol and thus giving a yield. The Characterization of the extract as bio-surfactant by physicochemical methods (thin layer chromatography (TLC), IR, surface tension and foaming power) was carried out. The results obtained confirm the presence of saponins. In light of these data we have thought to achieve the formulation of a cream to which the bioactive material is introduced for therapeutic purposes, specifically the anti-burn activity. The various tests carried out on the final product such as physicochemical and rheological characterization allowed the optimization of the parameters of the formulation in order to have a stable cream. In the view of these results, our main objective remains to know if the creams formulated based on this plant material actually confirms the desired therapeutic activity and this is done through in vivo tests applied to rats.

Key words: climbing ivy, maceration, tri-terpenic saponins, formulation, rheology, tests in vivo.

Remerciements

Nous tenons en premier à remercier Allah Le Tout Puissant de nous avoir donnés la santé, le courage, la volonté, l'amour du savoir et surtout la patience qui nous ont permis de poursuivre nos études et de surmonter toutes les difficultés tout au long de notre cursus universitaire et de réaliser ce modeste travail.

Nous tenons en second de témoigner toute notre reconnaissance et gratitude à nos familles pour leur soutien et leur compréhension indéfectibles dans la poursuite de nos rêves. Toutes les aides apportées et qu'ils continuent de nous apporter prouvent à suffisance leur amour à nos égards, et sans elles nous ne serions pas là où nous sommes aujourd'hui. Nous leur disons un grand merci.

Nous aimerions également remercier notre promotrice **Dr. M. REBIHA**, Maitre de conférences B à l'université de Blida 1, pour avoir accepté de nous encadrer. Sa disponibilité, la confiance qu'elle nous a témoignée, sa patience et surtout ses conseils nous ont été cruciaux dans la rédaction de ce mémoire de fin de cycle.

Nous remercions également nos enseignants membres du jury de nous avoir honoré et jugé ce travail.

Nos remerciements vont également à l'endroit de tous le corps professoral de l'université Saad Dahleb Blida-1, particulièrement à nos enseignants du département de génie des procédés, à leur tête Monsieur le chef de département, nous leur disons merci pour le savoir qu'ils nous ont noblement transmis.

A **Madame AIT ALI Zahira**, Ingénieur du laboratoire chimie organique, pour avoir accepté de nous accueillir dans son laboratoire auquel nous a permis d'accomplir l'objectif de notre travail, pour son aide, sa disponibilité et ses conseils pertinents.

Nous remercions aussi **Mr Boutoumi et Mme Ayachi** pour leur soutien.

Nous disons merci aussi à la Doctorante Zineb Sadouni pour ses précieux conseils.

Nos remerciements vont également à toute l'équipe de CRD Saidal (Centre de recherche et de développement) particulièrement à **Dr. Mme Belkhadi, responsable du laboratoire pharmacotoxicologie**, pour son encadrement et sa gentillesse.

Enfin, nous tenons à remercier tous nos collègues étudiants du département de génie des procédés spécialement ceux des spécialités: Matériaux et produits organiques industriels et la pharmacie industrielle, pour leur esprit d'équipe et leur gentillesse qui nous marquera à jamais.

A nos compatriotes et à tous nos amis de Blida pour le respect, la gentillesse qu'ils ont eu envers nous, nous leur témoignons ici la réciprocité également.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE.....	1
CHAPITRE 1 : LA PHYTOTHERAPIE.....	3
1.1 Introduction.....	3
1.2 Définition.....	3
1.3 Limites, risques, mésusages et vigilance.....	4
1.4 Différentes types de la phytothérapie.....	5
1.5 Les plantes et critères de qualité.....	5
1.6 Effets secondaires de la phytothérapie.....	5
1.7 Les avantages de la phytothérapie.....	5
CHAPITRE 2 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA PLANTE SELECTIONNEE : LE LIERRE GRIMPANT.....	7
2.1 Introduction.....	7
2.2 Définition de lierre grimpant.....	7
2.3 Taxonomie et origine.....	8
2.4 Habitat et Fréquence.....	9
2.5 Distribution Géographique.....	9
2.6 Caractéristique de Hedera hélix.....	9
2.7 Usages thérapeutiques du lierre.....	9
2.8 Propriétés physico-chimiques.....	10
2.9 Propriété pharmacologique.....	11
2.10 Les saponines.....	12
2.11 Répartition et localisation.....	12
2.12 Structure et classification.....	12
2.13 Saponinessteroidique.....	13
2.14 Saponine tri-terpénique.....	13
2.15 Les composés phénoliques.....	13
2.16 Généralités des flavonoïdes.....	15
2.17 Les tenins.....	16
2.18 Les alcaloïdes.....	17
2.19 Principaux métabolites secondaires d'Hedera hélix.....	19
2.20 Extraction des saponines.....	19
CHAPITRE 3 : FORMULATION D'UNE CREME ANTI BRULURE.....	23
3.1 Introduction.....	23
3.2 Différentes types de formulation.....	24
3.3 Les émulsions.....	25
3.4 Différentes types des émulsions.....	26
3.5 Caractéristiques des émulsions.....	27
3.6 Les milieux dispersés.....	28
3.7 Définition d'un tensioactif.....	31
3.8 Méthodes de détermination.....	33

3.9 Physico-chimie des interfaces.....	33
3.10 Description des émulsions.....	34
CHAPITRE 4 : MATERIELS ET METHODES.....	35
4.1 Introduction.....	35
4.2 Identification de la matière végétale extraite.....	35
4.3 Cueillette et prétraitement de lierre grimpant (<i>herera hélis</i>).....	35
4.4 Les solvants utilisés.....	36
4.5 Les matières premières entrant dans la formulation.....	36
4.6 Description de l'extraction du principe actif.....	39
4.7 Purification de l'extrait.....	42
4.8 Aspect et caractérisation de la saponine obtenue.....	43
4.9 Détermination du rendement.....	44
4.9 Mesure du pouvoir moussant.....	44
4.11 Formulation de la crème anti brûlure.....	45
4.12 Caractérisation de la crème formulée.....	48
4.13 Test D'activité Anti brûlure sur les rats (<i>invivo</i>).....	51
CHAPITRE 5 : RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	55
5.1 Résultats de l'extraction.....	55
5.2 Indice de mousse.....	56
5.3 Résultats de la caractérisation des saponines par IR.....	58
5.4 Interprétation du spectre infra rouge (IR).....	58
5.5 Caractérisation physicochimique de la crème.....	59
5.6 Caractérisation de la rhéologie de la crème de référence et des crèmes formulées.....	61
5.7 Résultats de l'analyse statistique.....	65
CONCLUSION.....	70
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

LISTES DES FIGURES

CHAPITRE 2

<i>Figure 2.1 : tige a crampons du lierre grim pant.....</i>	<i>7</i>
<i>figure 2. 2 : feuilles de lierre grim pant</i>	<i>8</i>
<i>figure 2. 3 floraison d'un lierre a feuilles panachees detail d'une inflorescence</i>	<i>9</i>
<i>figure 2. 4 : fruits murs de lierre grim pant.....</i>	<i>10</i>
<i>FIGURE 2. 5 COMPOSITION DES SAPONINES.</i>	<i>12</i>
<i>FIGURE 2. 6 : squelettes des geniens steroidiques des saponosides</i>	<i>13</i>
<i>FIGURE 2. 7 : EXEMPLES DE GENINES TRI-TERPENIQUES. [11].....</i>	<i>13</i>
<i>FIGURE 2. 8 : STRUCTURE DE BASE DES POLYPHENOLS.....</i>	<i>14</i>
<i>figure 2. 9 : schema 1 : flavone, schema 2 : flavane</i>	<i>15</i>
<i>FIGURE 2. 10 : SCHEMA STRUCTURE GENERALE DE FLAVONOIDE.....</i>	<i>16</i>
<i>figure 2. 11 : la biosynthese des flavonoïdes :</i>	<i>16</i>
<i>figure 2. 12 : des alcaloïdes.....</i>	<i>17</i>
<i>figure 2. 13 : STRUCTURE DE BASE DE L'ISOPRENE.....</i>	<i>18</i>
<i>FIGURE 2. 14 : SQUELETTE DE BASE DES TRI-TERPENES TETRA-CYCLIQUES ET STEROÏDES.....</i>	<i>19</i>
<i>figure 2. 15 : dispositif experimental d'un extracteur soxhlet.....</i>	<i>20</i>

CHAPITRE 3

<i>figure 3. 1: l'emulsion de deux phases</i>	<i>26</i>
<i>figure 3. 2 : les differents types d'emulsion simple</i>	<i>26</i>
<i>figure 3. 3: schemas d'une emulsion multiple.....</i>	<i>27</i>
<i>figure 3. 4: stabilite d'une emulsion.....</i>	<i>28</i>
<i>figure 3. 5 : dispersion de l'huile dans l'eau.....</i>	<i>28</i>
<i>figure 3. 6 : separation de phase dans le cas d'une emulsion.....</i>	<i>29</i>
<i>figure 3. 7: separation de phase dans le cas d'une suspension.....</i>	<i>29</i>
<i>figure 3. 8: phenomene de murissement d'ostwald</i>	<i>30</i>
<i>figure 3. 9 : representation schematique d'une molecule de tensioactif.....</i>	<i>32</i>

CHAPITRE 4

<i>figure 4. 1 : sechage de lierre grim pant (hedera helix).....</i>	<i>35</i>
<i>figure 4. 2 : structure chimique du tween 80.....</i>	<i>37</i>
<i>figure 4. 3: structure chimique du xanthane.....</i>	<i>38</i>
<i>figure 4. 4: structure chimique de l'alcool cetylique.....</i>	<i>38</i>
<i>figure 4. 5: structure chimique de glycerol.</i>	<i>39</i>
<i>figure 4. 6: Representation schematique d'un extracteur de soxhlet</i>	<i>40</i>
<i>figure 4. 7 : representation schematique de la separation par rotavapor.</i>	<i>40</i>
<i>figure 4. 8 : maceration des feuilles du lierre degreaisse trempees dans de l'ethanol.....</i>	<i>41</i>
<i>figure 4. 9: filtration solide-liquide des saponines apres maceration.....</i>	<i>42</i>
<i>figure 4. 10: extraction liquides-liquides</i>	<i>42</i>
<i>figure 4. 11: diagramme recapitulatif d'extraction et de recuperation du principe actif.</i>	<i>43</i>
<i>figure 4. 12 : aspect du tensioactif apres sechage.....</i>	<i>44</i>
<i>figure 4. 13: rheometre anton paarmodular compact rheometre mcr 302</i>	<i>51</i>

CHAPITRE 5

<i>Figure 5. 1: graisse obtenue apres extraction par soxhlet.....</i>	<i>55</i>
<i>figure 5. 3: de pouvoirs moussants.....</i>	<i>57</i>
<i>figure 5. 4:caracterisation des saponines par ir</i>	<i>58</i>
<i>figure 5. 5: d'un echantillon de la creme et de centrifugeuse</i>	<i>60</i>
<i>figure 5. 6: variation des modules de conservation g' et de perte g'' de la creme de reference en fonction de la deformation a $t = 20^{\circ}c$ et $f = 1hz$.....</i>	<i>62</i>
<i>figure 5. 7: presente les resultats de deux cremes de la matrice d'experiences, compares a ceux de la reference.....</i>	<i>63</i>
<i>figure 5. 8 : representee une courbe d'ecoulement en termes de viscosite apparente en fonction de la vitesse de cisaillement</i>	<i>64</i>
<i>figure 5. 9 : courbe d'ecoulement.....</i>	<i>64</i>
<i>figure 5. 10 : represente le coefficient de correlation et de prediction.....</i>	<i>66</i>
<i>figure 5. 11: histogrammes presentant les differents coefficients des modeles mathematiques des reponses etudiees en fonction des facteurs.</i>	<i>67</i>
<i>figure 5. 12: les contours isoreponses de \square_0 des cremes en fonction simultanement des concentrations de : (a) l'huile et la gomme xanthne, (b) saponines et glycerol, a $20^{\circ}c$.....</i>	<i>68</i>

*figure 5.13: les contours isoreponses du parametre k du modele de cross en fonction
simultanement des concentrations de : (a) l'huile et la gomme xanthne, (b) saponines et
glycerol, a 20°C. 69*

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE 3

<i>TABLEAU 2. 1 : PRINCIPALES CLASSES DES COMPOSES PHENOLIQUES [19].</i>	14
<i>TABLEAU 2. 2 : DIFFERENTS TYPES DES TERPENOÏDES [19]</i>	18

CHAPITRE 3

<i>TABLEAU 3. 1 : DIFFERENTS TYPES D'EMULSION SIMPLE</i>	26
<i>TABLEAU 3. 2 : LES VALEURS DE HLB D'UN TENSIO-ACTIF.</i>	33
<i>TABLEAU 3. 3: D'EVALUATION DE HLB</i>	33

CHAPITRE 3

<i>TABLEAU 4. 1: PRODUIT CHIMIQUES UTILISES</i>	36
<i>TABLEAU 4. 2: MATIERES PREMIERES UTILISEES DANS LA FORMATION</i>	46
<i>TABLEAU 4. 3: MATRICE D'EXPERIENCES DEDUITE DU PLAN ADOPTE DANS CETTE ETUDE</i>	47

CHAPITRE 3

<i>TABLEAU 5. 1: LES PRINCIPAUX RESULTATS DES EXTRACTIONS</i>	56
<i>TABLEAU 5. 2: RESULTAT DE LA STABILITE MOUSSANTE</i>	58
<i>TABLEAU 5. 3: FREQUENCE ET VIBRATIONS DU SPECTRE IR DE L'EXTRAIT DE SAPONINE</i>	59
<i>TABLEAU 5. 4: COMPARATIF DU PH</i>	60
<i>TABLEAU 5. 5: COMPORTANT TOUTES LES CREMES EN INDIQUANT CELLES STABLES ECELLES INSTABLES</i>	61
<i>TABLEAU 5. 6:DE MATRICE D'EXPERIENCES AVEC LES REPONSES</i>	65

LISTE DES SYMBOLES

Symbols	Désignations	Unité
η	Viscosité	
K	Constante de Cross	[Pa.s]
P	Exposant de Cross	
N	Indice de loi de puissance.	
η_0	Viscosité a un taux de cisaillement nul	[Pa.s]
η_∞	Viscosité a un taux de cisaillement infini	[Pa.s]
$\dot{\gamma}$	Vitesse de cisaillement	[s ⁻¹]
η_a	Viscosité apparent	[Pa.s]
G'	Module de conservation	[Pa]
G''	Module de perte ou de dissipation	[Pa]
τ seuil	Contrainte de seuil	
R ²	Coefficient de corrélation	
Q ²	Coefficient de prédiction	

LISTE DES ABREVIATIONS

- TA : Tension actif.
- TA1 : Tween 80.
- PA : Principe actif.
- Sap : Saponine.
- Réf : Référence.
- IR : Chromatographie par Infra Rouge.
- γ : tension de surface.
- T : Temperature.
- °C : Degré Celsius.
- HLB : balance hydrophile-lipophile.
- E/H : Phase aqueuse dans la phase huileuse.
- H/E : Phase huileuse dans la phase aqueuse.
- Φ H : Phase organique.
- Φ A : Phase aqueuse.
- CA : Cire d'abeille.
- D : Densité.
- pH : Potentiel hydrométrique.
- cm : Centimètre.
- mL : Millilitre.
- μ cm : Micro centimètre.
- g : Gramme.
- Xan: Xanthane.
- HDP : Huile de Paraffine.
- Δ : Conductivité.
- t : temps.
- SM : Stabilité Moussante.
- CM : Capacité Moussante.
- mi : Masse initiale.
- mf : Masse finale
- RSM: Modélisation en surface de réponse.

- e_i : Résidu au point i
- CDCF: cahier de charge fonctionnel
- CCF : Composite à faces centrées

INTRODUCTION GÉNÉRALE

A travers le temps, l'homme a pu compter sur la nature pour assurer ses besoins de base: nourritures, abris, vêtements et également pour ses besoins médicaux. L'utilisation thérapeutique des extraordinaires vertus des plantes pour le traitement de toutes les maladies de l'homme est très ancienne et évolue avec l'histoire de l'humanité. Les plantes médicinales sont des plantes dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses. Elles occupent actuellement un rang très important dans la production agricole et dans l'industrie. Elles sont les sources principales des principes actifs utilisés dans le domaine pharmaceutique pour la production des médicaments. Elles sont également utilisées dans le secteur cosmétique, généralement dans la fabrication des produits de beauté, les détergents et bien d'autres. Elles sont impliquées dans ces différents secteurs sous formes de principes actifs, des huiles, des extraits, des solutions aqueuses ou organiques [1]. Plus de 80% des populations dans le monde bénéficient de ces plantes médicinales pour se soigner, et ceci pour plusieurs raisons : moins d'effets secondaires, meilleure biodisponibilité et à la portée de la main des pauvres citoyens, cela est dû également à leurs bonnes performances thérapeutiques et leur faible toxicité.

En Afrique de l'Ouest comme dans le reste du continent, plus de 80% de la population a recours à la médecine traditionnelle et aux plantes médicinales pour ses soins de santé primaires. Ces recours aux pratiques traditionnelles s'expliquent par : le manque des médicaments essentiels, l'insuffisance des soins de santé, le coût élevé des médicaments et les habitudes socio-culturelles de la population. Les connaissances relatives aux plantes et à la médecine traditionnelle sont un patrimoine important dans le continent africain.

La recherche de nouvelles molécules doit être entreprise au sein de la biodiversité végétale en se servant de données ethno pharmacologiques. Cette approche permettrait de sélectionner des plantes potentiellement actives et d'augmenter significativement le nombre de découvertes de nouveaux principes actifs [2].

La valeur de ces plantes médicinales réside dans une substance chimique qui produit une action physiologique définie sur le corps humain. Ces composés bioactifs

sont les alcaloïdes, les saponines, les flavonoïdes, les tanins et les composés phénoliques.

La plante à laquelle nous nous sommes intéressés est l'Hedera Hélix, connue par le lierre grimpant, elle fait partie de la famille des Araliacées. Cette espèce est originaire d'Europe et d'Asie occidentale et elle est largement répandue en Algérie.

Les feuilles du lierre pourraient constituer un véritable réservoir des principes actifs, notamment les saponines tri-terpéniques qui sont responsables des activités biologiques de cette plante. Dans le domaine de la pharmacologie et de la cosmétique de nombreuses recherches ont été réalisées pour démontrer ses éventuelles propriétés anti-inflammatoires, antibactériennes, antidiabétiques, antifongiques, anti cancérigènes et antioxydants [3].

Pour notre part, notre choix s'est porté sur l'étude et la valorisation des feuilles de lierre grimpant en vue d'extraire son richissime principe actif qui est la saponine, afin de formuler une crème anti brûlure.

Pour ce faire, nous avons structuré notre travail comme suit :

- Une introduction faisant le point sur l'extraction des molécules bioactives, suivie par une étude photochimique détaillée de la plante se basant notamment sur la caractérisation des molécules extraites majeures existant au niveau de la partie aérienne, qui fera donc l'objet d'une première partie.

- Dans un deuxième volet, notre travail sera consacré à une étude expérimentale dans laquelle les méthodes d'extractions utilisées, la caractérisation physicochimique et biologique seront décrites ainsi que le procédé de la formulation de la crème voulue fera l'objet de l'aboutissement de ce mémoire.

- Enfin, on termine par une conclusion en faisant ressortir l'essentiel des résultats obtenus dans ce travail et, éventuellement, recadrer les perspectives pour la continuité dans ce travail expérimental

Chapitre 1

LA PHYTOTHERAPIE

1.1 Introduction

Marrun Abbud disait «La science, après tout, n'est rien d'autre que l'expérience».

La phytothérapie est, au sens étymologique «la thérapeutique par les plantes » : elle utilise les plantes ou les formes immédiatement dérivées des plantes, en excluent les principes actifs purs issus de celles-ci. Elle correspond au traitement des pathologies bénignes par les plantes médicinales. C'est une thérapie familiale, de conseil et d'automédication, à viser symptomatique, parfois préventive [4].

Les substances naturelles constituent une source importante de chimio diversité puisqu'elles présentent des structures très originales. C'est pourquoi, il est très difficile d'en obtenir une synthèse totale et rentable (due à leur complexité structurale, stéréospécificité...). De nos jours, nous constatons un renouveau d'estime des consommateurs pour les produits naturels. C'est pour cette raison que les industriels développent de plus en plus des procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origines végétales. Et ces principes actifs doivent être mis sous la forme la plus appropriée afin d'avoir une bonne administration et une efficacité optimale chez les patients.

1.2 Définition de la phytothérapie

Le mot phytothérapie provient de deux mots grecs qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes ». On entend par phytothérapie le traitement curatif ou préventif des maladies et des troubles subjectifs par l'utilisation de préparations obtenues à partir de plantes entières ou d'organes de plantes : feuilles, fleurs, racines, fruits, gaines. Les plantes ainsi employées sont communément appelées plantes médicinales [5].

1.3 Limites, risques, mésusages et vigilance

Il est d'usage d'exclure la phytothérapie des traitements de l'hypertension, du diabète, des cancers, du sida, de la tuberculose... et dans toutes les pathologies

lourdes, sauf comme complément, pour pallier des effets secondaires des traitements principales.

Pratiquement la phytothérapie est bien adaptée aux pathologies légères, et au traitement symptomatique. C'est une thérapie familiale, de conseil, souvent préventive. Contrairement à la situation des pays en voies de développement, où l'offre thérapeutique est souvent restreinte à la médecine traditionnelle (pour 75% de la population mondiale, d'après L'OMS), employée en Europe que dans des pathologies légères et passagères, parfois, trouve sa place dans des maladies chronique bénignes (insuffisances veineuses, symptôme urinaires de l'hypertrophie prostatique,...). La phytothérapie est théoriquement une « médecine douce », ce qui n'est pas forcément le cas dans le cadre de pratique médicinales autres que la médecine occidentale; les pratiques occidentales anciennes actuellement jugées comme présentant un rapport bénéfice/risque défavorables ; hors d'un cadre strictement raisonné. La phytothérapie vit actuellement un renouveau lié à un désir d'une frange du public de retour au « naturel » et au « sain », ainsi qu'à l'importation des médecine traditionnelles des pays asiatiques (médecines chinoise, indienne, Ayurvédique), dites « alternatives et complémentaires » (définie par OMS) dans le contexte occidental [4].

1.4 Différents types de la phytothérapie

➤ **Phytothérapie pharmaceutique** : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, de gouttes, de gélules, de lyophilisats... [6].

➤ **Homéopathie** : a recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive ; les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.

➤ **Aromathérapie** : est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles de plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.

➤ **Gemmothérapie** : se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux tels que les bourgeons et les radiceles.

➤ **Herboristerie** : correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des méthodes simples, le plus souvent à base d'eau : décoction, infusion, macération. Ces

préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale.

1.5 Les plantes et critères de qualité

Nos ancêtres tenaient compte des rythmes et des éléments de la terre. C'est aujourd'hui la biodynamique, agriculture garantissant la santé du sol et donc des plantes qui y puisent leur force. La biodynamique met l'accent sur les rythmes de la nature, de l'influence des astres et des cycles lunaires. Ils dépendent de nombreux facteurs notamment:

- ❖ Du biotope: Le pays, le climat, la composition du sol, l'altitude, l'environnement végétal interviennent dans l'évolution de la plante.
- ❖ De la récolte, du mode et du temps d'extraction :
- ❖ De la composition chimique: Une classification botanique et biochimique désigne les molécules de la plante qui énumère ainsi leurs propriétés [7].

1.6 Effets secondaires de la phytothérapie

Les phytomédicaments se distinguent des médicaments chimiques de synthèse par la fréquence et l'intensité, mais pas fondamentalement, car, ils sont mieux tolérés que les médicaments synthétiques. Les effets indésirables des phytomédicaments sont classés comme suivant :

- ✓ Phytomédicaments contenant des substances très actives et possédant un potentiel de risques proportionnel ; ont généralement disparu de l'arsenal thérapeutique moderne, sinon sous forme de substances pures isolées.
- ✓ Phytomédicaments contenant des substances actives et dont l'usage excessif (surdosage, utilisation prolongée) peut entraîner des effets indésirables.
- ✓ Phytomédicaments dont l'action thérapeutique n'a pas été clairement démontrée, mais pouvant néanmoins entraîner des effets indésirables.
- ✓ Phytomédicaments pouvant entraîner des effets secondaires dangereux du fait de la présence d'additifs non définis [8].

Les réactions allergiques font aussi partie des effets secondaires classiques des phytomédicaments. Egalement l'ignorance dans laquelle nous sommes des rapports dosage/effet est d'ailleurs, elle aussi, très problématique.

1.7 Les avantages de la phytothérapie

Actuellement, l'humanité s'oriente de plus en plus vers la phytothérapie. Les traitements à base de plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus. Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières années, les hommes n'ont pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse de maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite [5].

L'action de la phytothérapie sur l'organisme dépend de la composition des plantes, depuis XVIIIème siècle, au cours duquel des savants ont commencé à extraire et à isoler les substances chimiques qu'elles contiennent. On considère les plantes et leurs effets en fonction de leurs principes actifs. La recherche des principes actifs extraits des plantes est d'une importance capitale car elle a permis la mise au point de médicaments essentiels. Aujourd'hui les plantes sont de plus en plus utilisées par l'industrie pharmaceutique, il est impossible d'imaginer le monde sans la quinine qui est employée contre la malaria ou sans la digoxine qui soigne le cœur, ou encore l'éphédrine que l'on retrouve dans de nombreuses prescriptions contre les rhumes [5].

Actuellement, plusieurs questions se sont soulevées concernant la sécurité et l'efficacité des produits chimiques utilisés en médecine. Face aux limites thérapeutiques, des antibiotiques classiques ont poussé les scientifiques à orienter les recherches vers des nouvelles voies et surtout l'utilisation des principes actifs des plantes (composés phénoliques, alcaloïdes, huiles essentielles etc.).

La flore algérienne est caractérisée par sa diversité florale méditerranéenne, saharienne et une flore paléo tropicale, estimée à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% endémique [9], ce qui a donné à la pharmacopée traditionnelle une richesse inestimable. Parmi celles-ci, le lierre grimpant, qui fait le sujet de ce mémoire, utilisé pour ses vertus thérapeutiques pour soigner les brûlures grâce aux saponines qu'il renferme. Notre objectif est d'extraire ces saponines afin de formuler une crème anti brûlure.

Chapitre 2

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA PLANTE SÉLECTIONNÉE : HEDERA HELIX (LIERRE GRIMPANT)

2.1 INTRODUCTION

Le lierre (*Hedera hélix*, de la famille des Araliacées) est une liane culturelle qui peut adopter un port rampant ou grimpant. C'est une plante médicinale, vivace et très ancienne dont sa longueur pouvant atteindre 25 à 30 mètres. Elle s'attache à son support grâce à des racines ayant des ventouses à leurs extrémités (racines crampons) comme s'est montré sur la figure 1. Il s'agit d'une plante vigoureuse à feuilles persistantes poussant dans les forêts humides (à l'état sauvage), où il s'agrippe aux arbres par ses racines.

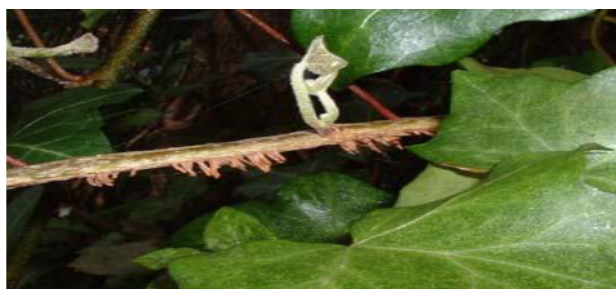


Figure 2.1 : Tige à crampons du lierre grimpant

Le lierre qui est considéré depuis longtemps comme parasite ne l'est pas vraiment au sens vrai du terme, il peut seulement étouffer les plantes qui lui servent de support. Le lierre grimpant a plusieurs propriétés parmi les quelles, nous pouvons citer : antitussif et antispasmodique dans les inflammations chroniques, etc. [10].

2.2 Définition du lierre grimpant

Le Lierre est une plante médicinale très ancienne liée à Dionysos et Bacchus. Ses feuilles renferment différents principes actifs facilitant l'expectoration de muqueuses et antispasmodiques. En raison de la toxicité de la plante, les médecins recourent aujourd'hui plutôt aux préparations prêtes à l'emploi pour soigner la toux, les bronchites, l'asthme. Les cataplasmes de feuilles de lierre étaient d'usage uniquement en médecine populaire en cas des

maladies cutanées et de rhumatismes. Le lierre est une plante très importante pour le monde animal. Plante fleurissante, les insectes y trouvent du nectar encore en automne. Au printemps suivant, les oiseaux chanteurs picorent volontiers les baies et bâtissent leurs nids bien cachés entre les feuilles. Les fruits du lierre sont riches en lipides (30 % dans la pulpe située entre les graines et jouent ainsi un rôle important pour la survie de nombreux oiseaux à la fin de l'hiver [11].

2.3 Taxonomie et Origine

Nom scientifique: Hedera hélix

Nom commun: Joli bois, lierre à cautère, bourreau des arbres, rampe de bois

Nom anglais: ivy, Efeu (allemand)

Classification botanique: famille des araliacées (Araliacées)

Région de la récolte: Mitidja (Blida), Algérie.

Étymologie : Le lierre grimpant est également connu sous le nom de Hedera hélix.

Hedera vient du latin haerere qui signifie « s'attacher » et hélix vient du grec eilein qui signifie « s'enrouler ».

❖ **Origine:** Originnaire d'Europe occidentale, centrale et du Sud, le lierre s'étend désormais au nord et à l'Est ainsi que sur le pourtour méditerranéen. Implanté dans la quasi-totalité des zones tempérées, il peut être séculaire. La drogue est importée des pays d'Europe de l'Est.

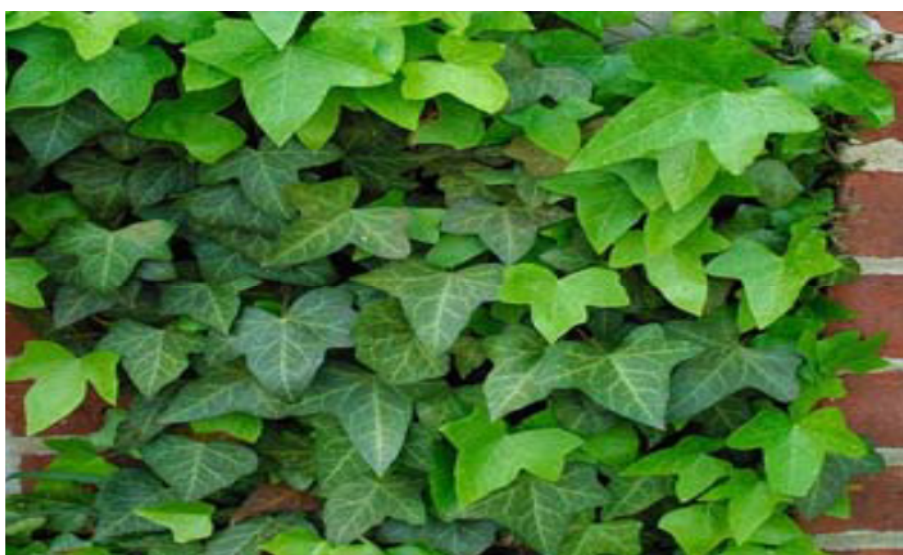


Figure 2. 2 : Feuilles de lierre grimpant

2.4 Habitat et fréquence

Le lierre est une plante grimpante sur les arbres, Forêts d'essences mixtes, parcs, murs et maisons ou rampante sur le sol : bois, jardins. La plante préfère le climat tempéré : Europe, Asie du sud-ouest.

2.5 Distribution géographique

Le lierre est une espèce très répandue dans le monde entier, il pousse en Europe, en Asie, en Afrique et aussi en Amérique. En Algérie, le Lierre est une plante fréquente dans tout le pays sauf dans les régions arides. Présent sur des arbres, des rochers, des bâtiments, des haies, et peut aussi ramper, parfois, sur le sol, le lierre se retrouve à l'état sauvage comme il peut être cultivé [12].

2.6 Caractéristiques de Hedera hélix

2.6.1. Les fleurs du lierre

Les fleurs du Lierre et ses fruits se développent sur des rameaux spéciaux, exposés en pleine lumière, et donc généralement au sommet des supports sur lesquels se hisse et se fixe le Lierre à l'aide de ses crampons qui n'ont pas de fonction nourricière.

La morphogenèse foliaire est modifiée sur les rameaux fertiles, les feuilles prenant une forme losangique. Lorsque le Lierre atteint sa période de floraison, il change d'aspect. Les feuilles des rameaux à fleurs ne sont plus lobées mais ovales et simplement pointues à l'extrémité. Les fleurs, petites, sont groupées dans des ombelles sphériques très serrées [13].



Figure 2. 3 Floraison d'un lierre à feuilles panachées Détail d'une inflorescence

2.6.2. Les fruits du lierre

Les fruits sont groupés comme les fleurs. Ce sont des baies contenant quatre (4) loges. Elles sont toxiques. Les fruits mûrs de lierre sont noirs comme on le voit sur ces photographies. Les feuilles des rameaux fertiles sont ovales. Les baies bleuâtres portées en ombelles serrées viennent à maturité au printemps, les baies sont de diamètre 8 à 10mm.



Figure 2. 4 : Fruits murs de lierre grim pant

2.7. Usages thérapeutiques du lierre

On utilise principalement les feuilles pour :

- Traiter les furoncles.
- Faciliter la cicatrisation des plaies et de résorber les engorgements des seins.
- En infusion des feuilles, il a des propriétés : décongestionnant, antispasmodique, analgésique, antirhumatismal, émollient et emménagogue.
- En application, par des feuilles fraîches, sur les brûlures pour calmer la douleur.

2.7.1. Usage Interne

Le Lierre est utilisé pour lutter contre la coqueluche, l'hypertension, les laryngites, les bronchites chroniques, les rhumatismes,... On utilise sous forme d'infusion de 3 cuillerées de feuilles coupées par litre d'eau bouillante, On laisse infuser pendant 10 minutes, ensuite prendre à raison de 3 tasses par jour. Contre la coqueluche et l'hypertension, à prendre sous forme de teinture au 1/10e à raison de 5 à 10 gouttes par prise selon l'âge, avec un maximum de 40 à 50 gouttes par jour [15].

2.6.1 USAGE EXTERNE

En usage externe, le Lierre est utilisé en application cutanée pour soigner de nombreuses maladies telles que : les plaies et les brûlures, les névralgies et les rhumatismes, la cellulite, les durillons et les polypes du nez. Cependant, l'utilisation de ses feuilles peut se faire sous plusieurs formes. Elles sont utilisées fraîches en application et à renouveler dès qu'elles se dessèchent. Appliquer en décoction de (200g dans un litre d'eau et bouillir pendant un temps), en des confites dans du vinaigre, utilisé également sous forme de teinture pure, de cataplasme (1/4 des feuilles fraîches agrégées à 3/4 de farine de lin) ou des pommades à 10% contre les brûlures, les rhumatismes... On utilise aussi pour soigner la cellulite douloureuse et pour le massage (en dehors des crises inflammatoires). Le résine du lierre est utilisé dans le traitement de teigne, comme antalgique pour les douleurs dentaires et arrêter le développement d'une carie dentaire [15].

2.6.2 COMPOSITION

Le lierre se compose de plusieurs substances:

- ✓ Saponosides tri terpéniques (2,5 à 6 %), tels que: l'hédérine et l'alpha-hédérine.
- ✓ Hétérosides deK flavones: rutoside
- ✓ Dérivés polyacétyléniques (falcarinone, falcarinol,...) stéroïdes -scopoloside
- ✓ acide chlorogénique -acide caféique (intermédiaire clé dans la biosynthèse de la lignine)
- ✓ Huile essentielle (germacrène D, limonène, sabinène,...) [14].

2.7.2. Les saponines

Les saponines sont généralement connues comme des composés non-volatils, tensio-actifs qui sont principalement distribués dans le règne végétal. Le nom «saponine» est dérivé du mot latin sapo, qui signifie «savon». En effet, les molécules de saponines dans l'eau forment une solution moussante [11]. Ils sont principalement produits par les plantes mais aussi par les organismes marins. Structuralement, les saponines peuvent être classés en deux groupes selon la nature de la génine: les saponines à génines tri-terpéniques, de loin les plus nombreux existant chez les angiospermes dicotylédones et chez certains animaux marins et celles à génines stéroïdiques, presque exclusivement présentes chez les angiospermes

monocotylédones [17]. Le schéma de la figure (2.5) résume la composition des saponines.

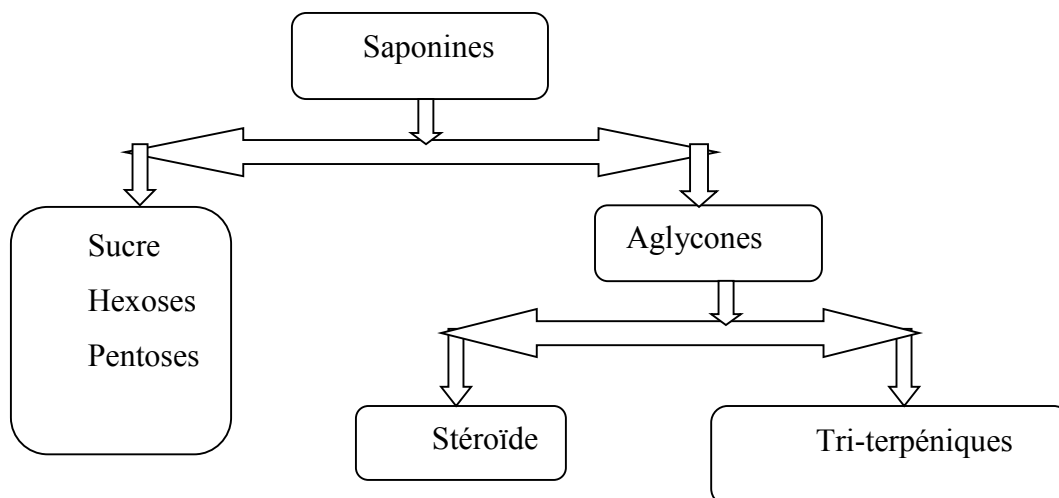


FIGURE 2.5 COMPOSITION DES SAPONINES.

2.9.1.1 Sources de saponines

Les saponines sont un ensemble de molécules totalement naturelles produites par certains animaux et certaines plantes (quinoa, lierre, soja, salsepareille, etc). Cependant, elles ne représentent aucun danger pour l'Homme et sont seulement dangereuses pour certains animaux, comme les poissons ou les insectes, s'ils en consomment de grandes quantités [48].

2.9.1.2 Structure et classification

Structuralement, les saponines peuvent être classées en deux groupes selon la nature de la génine, saponine stéroïdique et saponine triterpénique.

a- Saponines stéroïdiques

Ce sont des saponosides à génine stéroïdique Figure (2.6), les stéroïdes sont des substances se trouvant à l'état libre chez le végétal, soit des Stérols, soit des alcools. Ces substances se rencontrent surtout chez les Monocotylédones (Liliacées, Amaryllidacées) et Dicotylédones (Scrofulariacées).

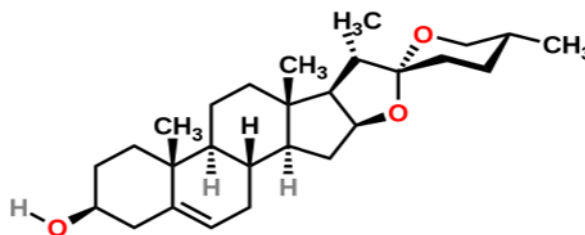


FIGURE 2. 6 : squelettes des génines stéroïdiques des saponosides

b- Saponine tri-terpénique

Les tri-terpéniques à squelettes en C30 constituent la majorité des saponosides rencontrés notamment chez les dicotylédones (Caryophyllacées, Araliacées, Luippocastanacées...). Dans ce cas, l'aglycone peut être penta-cyclique ou tétra-cyclique. Les sapogénolstriterpéniques n'ont pas encore tous été identifiés



FIGURE 2. 7 : EXEMPLES DE GENINES TRI-TERPENIQUES. [11].

2.9.1.3 Propriétés physico-chimiques des saponines

Parmi les propriétés physico-chimiques des saponines on peut citer :

- Des substances amorphes, rarement cristallisées, thermosensibles.
- Masse moléculaire entre 600 à 2000 Daltons.
- Peu soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool méthylique dilué, l'alcool à chaud.
- Les saponines acides précipitent par : Sulfate d'ammonium, Sulfate de plomb.
- Moussent fortement dans l'eau par agitation.

2.9.1.4 Propriété pharmacologique des saponines

❖ Les saponosides (hédéracoside C) aux propriétés expectorantes, antispasmodiques et qui favoriseraient, en outre, l'élimination du mucus bronchique.

❖ Les hédéracosides possèdent aussi des propriétés antifongiques, antibactériennes et antiparasitaires.

❖ Les saponines contiennent par ailleurs d'autres composés comme le faltarinol qui présente des activités antimycosiques, antimicrobiennes, analgésiques [16].

2.9.2 Les composés phénoliques

Les composés phénoliques ou polyphénols constituent une famille de molécules très largement répandue dans le règne végétal. La structure de base est un phénol, qui est un cycle aromatique hydroxylé, comporte plusieurs groupements hydroxyles associés à un ou plusieurs noyaux benzéniques [18].

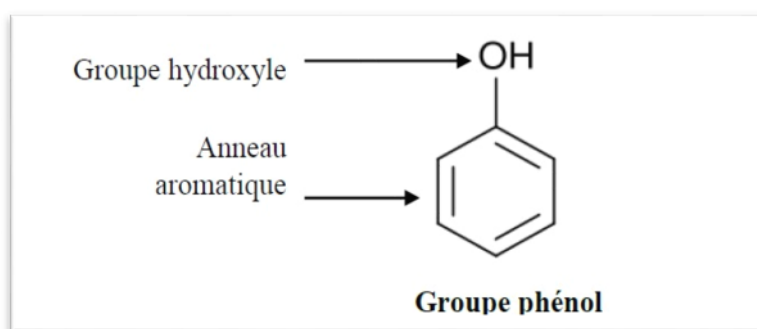


FIGURE 2. 8 : STRUCTURE DE BASE DES POLYPHENOLS

Les composés phénoliques sont classés en différents groupes en fonction du nombre de noyaux aromatiques qui les compose et aussi la substitution qui les lie. Les principales classes des composés phénoliques sont mentionnées dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 2. 1 : principales classes des composés phénoliques [19].

Nombre d'atomes de carbone	Squelette de base	Classe
6	C6	Phénols simples
7	C6-C1	Acides phénoliques
9	C6-C3	Acides cinnamiques Coumarines, Phénylpropènes
(9) ²	(C6-C3) ²	Lignanes
(9) n	(C6-C3) n	Lignines
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes Iso-flavonoïdes Anthocyanes
(15) ²	(C6-C3-C6) ²	Bilavonoïdes
(15) n	(C6-C3-C6) n	Proanthocyanes (Tanins)

2.6.3 DIVERSITE DES COMPOSES PHENOLIQUES

Les composés phénoliques des végétaux constituent un groupe d'une extrême diversité dont les flavonoïdes font partie. Plusieurs milliers de molécules ont été identifiées à ce jour. Ainsi, nous en observons chaque fois que nous consommons un aliment d'origine végétale.

2.6.4 2.9.3 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des substances naturelles issues de plantes, présentes dans tout le règne végétal. Ce sont des pigments responsables de la coloration des fleurs, des fruits et des feuilles. Ils sont universellement présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, et sont susceptibles d'assurer la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement UV; ce qui explique une grande part de leur intérêt commercial dans l'industrie alimentaire et des colorants. Ils possèdent en outre un intérêt médical considérable [20].

2.6.5 DEFINITION DES FLAVONOÏDES

Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone (Schéma 1), ou 2-phenyl chromone portant des hydroxyles libres, éthers ou glycosides. Le noyau flavone est lui même un dérivé du noyau flavane.

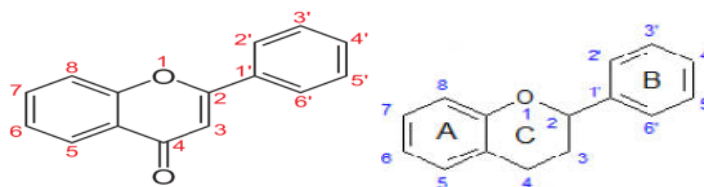


Figure 2. 9 : Schéma 1 : Flavone, Schéma 2 : Flavane

Les flavonoïdes sont donc des polyphénols complexes dont la structure est constituée de deux noyaux aromatiques (cycles A et B) et d'un hétérocycle oxygéné (cycle C) comme reporté dans le (schéma 10).

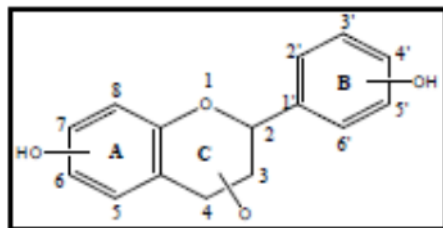


FIGURE 2. 10 : SCHEMA STRUCTURE GENERALE DE FLAVONOIDE

2.6.6 LA BIOSYNTHESE DES FLAVONOÏDES

Les Flavonoïdes ont été un sujet de recherche pendant plus d'un siècle. De nombreuses molécules de cette famille de substances naturelles ont été isolées d'extraits de plantes grâce auxquelles de nombreuses propriétés biologiques intéressantes leur ont été attribuées.

Dans ce contexte, la synthèse organique a apporté sa contribution notamment, la constitution du squelette flavonique [21], par deux voies de synthèse figure (2.11). Ces chemins réactionnels consistent en :

- la substitution d'un phénol avec un chlorure de l'acyle.
- la substitution d'une acétophénone avec un benzaldéhyde, un anhydride de benzoyle, ou un chlorure de benzoyle.

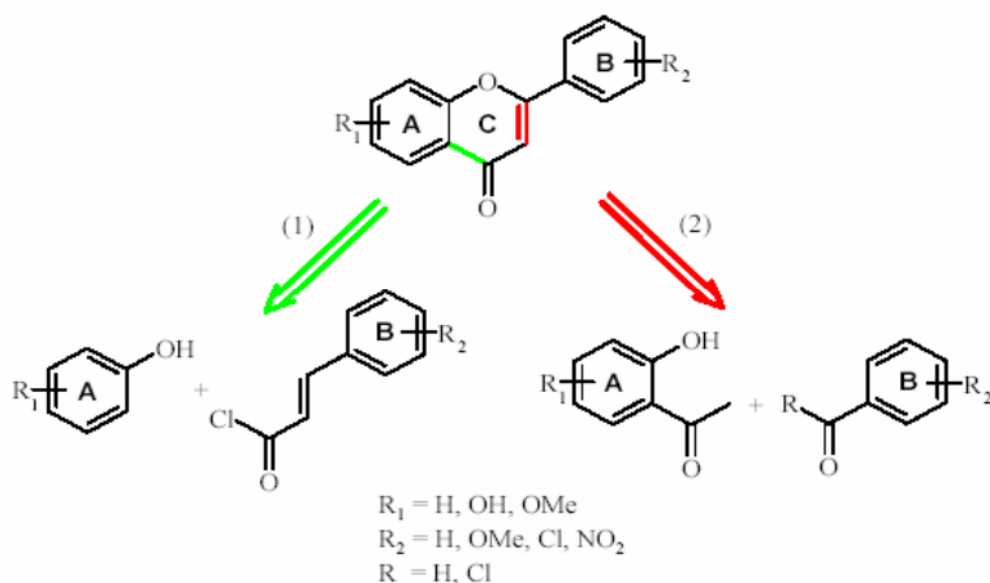


Figure 2. 11 : la biosynthèse des flavonoïdes :

2.6.7 LES TANINS

Les tanins (ou tannins) sont des composés phénoliques complexes à haut poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Da. Ce sont des molécules fortement hydroxylées appartenant à la classe des polyphénols et pouvant les trouver dans divers organes : l'écorce, les feuilles, les fruits, les racines et les grains [18].

Ces composés naturels produits par les plantes et se caractérisent par leurs capacités de se combiner aux protéines et à d'autres polymères organiques tels que les glucides, les acides nucléiques, les stéroïdes et les alcaloïdes pour former un précipité.

On distingue deux grands groupes différents en fonction du type de l'acide phénolique et du type de liaisons qui déterminent la taille et la réactivité chimique de la molécule : les tanins hydrolysables et les tanins condensés [22].

2.6.8 LES ALCALOÏDES

Les alcaloïdes sont des molécules organiques hétérocycliques azotées basiques, d'origine naturelle, constituent un groupe très vaste des métabolites secondaires. La plupart des alcaloïdes possèdent une activité biologique et surtout dans le secteur pharmaceutique. La structure de base des alcaloïdes est un cercle hétérocyclique qui possède un atome d'azote.

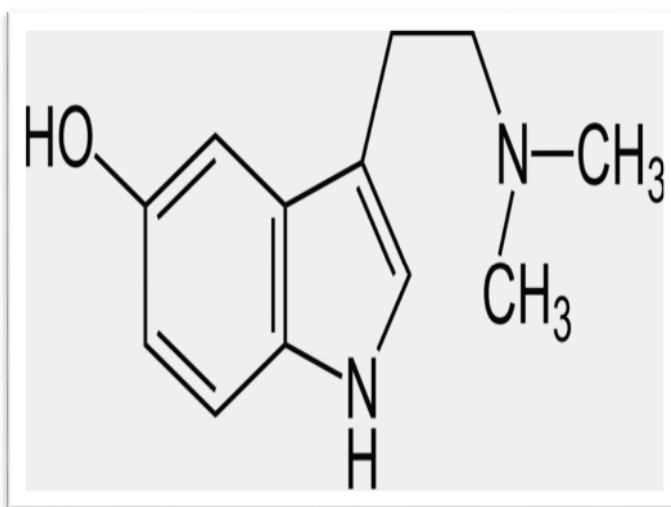


Figure 2. 12 : Structures des alcaloïdes

Beaucoup d'alcaloïdes possèdent des propriétés antibactériennes et ce sont actifs contre les infections microbiennes [22].

2.6.9 TERPENOÏDES ET STEROÏDES

Les terpénoïdes ou terpènes regroupent un ensemble de molécules très différentes de métabolites secondaires chez les végétaux. Ce terme est réservé pour les composés possédant une structure moléculaire construite d'un monomère à 5 carbones appelé isoprène. La structure de base d'isoprène illustré ci-dessous Figure (2.13) [18].

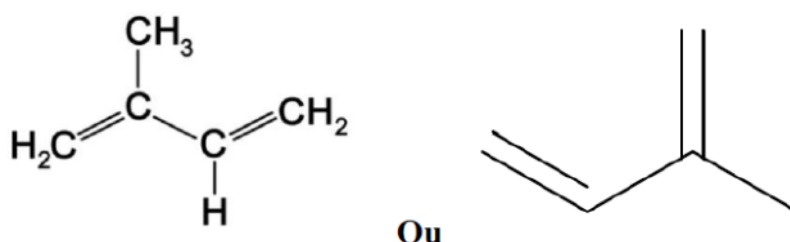


Figure 2. 13 : STRUCTURE DE BASE DE L'ISOPRENE

Les terpénoïdes sont stockés dans les vacuoles au niveau des épines, des racines ou encore des feuilles comme l'Hedera hélix L qui représentent notre objet de recherche. On distingue différentes classes selon le nombre d'unité iso-prénique qu'ils contiennent.

Tableau 2. 2 : différents types des terpénoïdes [19]

Nombre de carbone	Types du terpénoïdes
5	Hémi-terpènes
10	Mono-terpènes
15	Sesquiterpènes
20	Di-terpènes
30	Tri-terpènes
40	Tétra-terpènes
> 40	Poly-terpènes

2.6.10 TRI-TERPENES ET STEROÏDES

Les triterpènes sont des composés en C30 issus de la cyclisation hypoxysqualène ou du squalène. Les stéroïdes peuvent être considérés comme tri-terpènes tétra-cycliques Figure (2.14) ayant perdu au moins trois méthyles [22].

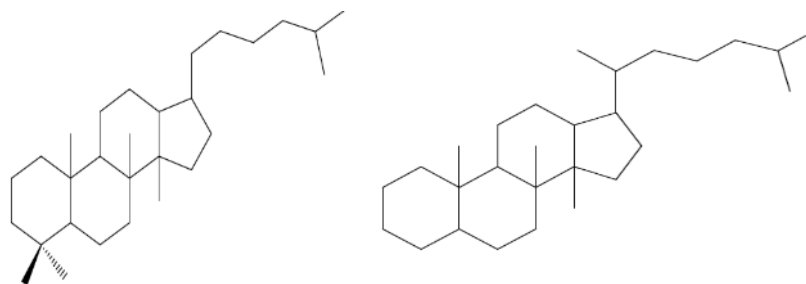


FIGURE 2. 14 : SQUELETTE DE BASE DES TRI-TERPENES TETRA-CYCLIQUES ET STEROÏDES

2.6.11 PRINCIPAUX METABOLITES SECONDAIRES D’HEDERA HELIX

Le lierre est une plante riche en métabolites secondaires. Cette richesse lui accorde une grande importance et lui permet de se démarquer des autres plantes. Parmi ces métabolites on retrouve les saponosides qui sont des substances dans lesquelles réside l’effet thérapeutique.

Les saponines présentes dans les feuilles de lierre sont l'Hederacoside C et la α -hédérine, ainsi que l'hédéragénine obtenue après l’hydrolyse. Ces molécules actives ont une action antitussif et anti inflammatoire.

Parmi les polyphénols trouvés dans les feuilles de lierre: Flavonoïdes (quercétine, le kaempferol), les tannins ont montré une activité antispasmodique contre les contractions induites par l'acétylcholine d'un iléon de cobaye isolé. Les alcaloïdes sont aussi présents dans les feuilles de lierre [24].

2.9 extraction des saponines

Tous les saponosides sont solubles dans l'alcool tels que : méthanol, éthanol et elles sont également soluble dans l’eau. Ces sont des substances qui sont fragiles et facilement hydrolysables. Pour extraire les saponines, il faudrait traiter la plante avec de l’alcool dilué, ce qui aura pour avantage d’annihiler l’action des ferments qui, au cours de l’extraction, pourraient détruire les principes recherchés.

A l’évidence on accélère la séparation par adjonction de l’éther pour chasser maximum de graisse contenant la plante, ensuite, procéderons à la purification [25].

2.11.1 Différentes types d'extraction

2.11.1.1 Méthodes d'extraction conventionnelles

➤ extraction par reflux et Soxhlet

L'extracteur Soxhlet est un appareil spécialement conçu pour l'extraction continue solide liquide (dans notre cas on a utilisé le papier filtre épais). Le solide est placé dans une cartouche poreuse. Le solvant, contenu dans le ballon, est porté à ébullition, ce qui le transfère dans la partie supérieure. Là, il est condensé grâce à un réfrigérant situé en haut de l'installation et s'accumule autour et à l'intérieur de la cartouche. Lorsque le solvant atteint le niveau supérieur du siphon, le mélange est renvoyé dans le ballon par différence de pression, ou il est à nouveau évaporé. Plusieurs cycles d'extraction sont ainsi effectués, la durée de l'opération est laissée libre à l'utilisateur. On considère avoir alors atteint l'épuisement total en soluté du substrat solide et avoir concentré l'extrait [26].

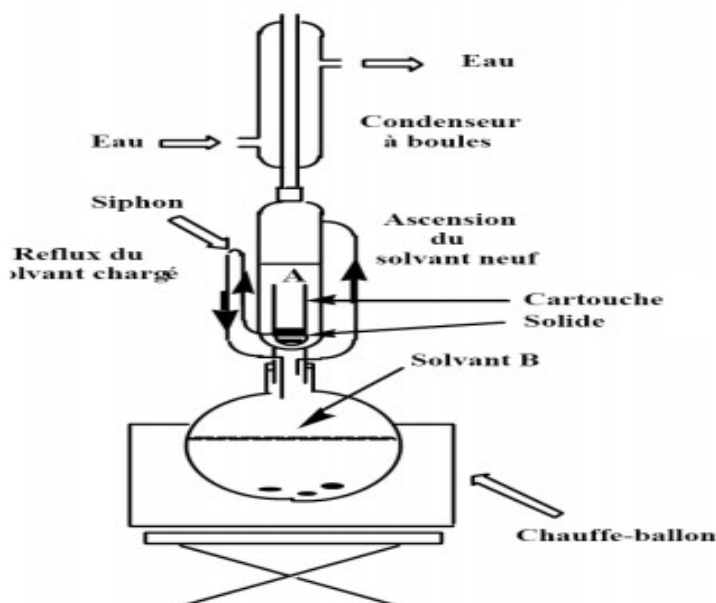


Figure 2. 15 : Dispositif expérimental d'un extracteur Soxhlet

➤ L'extraction par macération

L'extraction par macération est une extraction solide-liquide où le composé bioactif (soluté) à l'intérieur de la plante est extrait en faisant tremper le matériel végétal dans un solvant spécifique pour une période de temps. L'efficacité du processus de macération est déterminée en deux facteurs principaux, la solubilité et la diffusion efficace. La solubilité est

régié par la règle de base de « comme dissout comme » là ou il est indiqué que des composés polaires se dissolvent dans les solvants polaires, et les composés non polaires se dissolvent dans les solvants non polaires.

L'éthanol et le méthanol sont les solvants d'extraction les plus utilisés pour extraire les saponines végétales du matériel et l'éthanol est mieux préféré sans doute en raison de l'inquiétude amicale à l'environnement. La durée d'extraction est longue et parfois il faut jusqu'à des semaines en utilisant cette méthode, donc, l'extraction par macération est souvent aidée par une agitation mécanique pour raccourcir le temps d'extraction [27].

2.11.2 Technologies d'extraction vertes

➤ Extraction par gaz supercritique

L'extraction avec le fluide supercritique est une méthode très attractive qui mérite une attention particulière. Ils pénètrent les échantillons presque aussi facilement que les gaz. Ceci est dû à leur coefficient de diffusion élevé ainsi qu'à leur viscosité réduite. Leur solubilité est cependant proche de celle des liquides. Le CO₂ reste le gaz le plus utilisé départ ses paramètres critiques, mais il reste néanmoins un solvant non polaire. En mélange avec des solvants organiques plus polaires, il permet d'extraire des métabolites de polarité moyenne. L'avantage principal est la réduction du volume de solvant utilisé ainsi que du temps d'extraction [28].

➤ Extraction assistée par micro-ondes

C'est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes d'extraction traditionnelles. Des études démontrent que cette technique possède plusieurs avantages tels qu'un gain de temps d'extraction, une utilisation de petites quantités de solvants et un rendement d'extraction élevé. La micro-onde agit sur certaines molécules, telles que l'eau, qui absorbent l'onde, et convertissent son énergie en chaleur [29].

➤ Extraction accélérée par solvant

L'extraction par solvant accélérée a été considérée comme une technique verte dans la préparation de l'échantillon du matériau végétal avant l'analyse chromatographique. C'est une technique d'extraction rapide automatisée qui utilise des solvants minime à pression et température élevée. Le mérite d'augmentation de la température est d'améliorer le transfert de solubilité et de la masse du soluté dans le solvant, et la tension élevée maintient le solvant inférieur à son point d'ébullition, activation rapide, sûre et efficace, des analystes cibles à partir de matières végétales le solvant d'extraction [30]. Le processus d'extraction est habituellement réalisé dans 15 à 25 minutes, seulement de 15 à 45 ml de consommation de solvant. Par conséquent, il a été largement appliqué dans les domaines de l'environnement, nourriture, polymère et les recherches pharmaceutiques.

➤ **Extraction par ultrasons**

Les ondes ultrasons ont une fréquence allant de 16 KHz à 1GHz et sont inaudibles par les humains. Les vibrations dues aux ultrasons sont la source d'énergie permettant le relargage des métabolites dans les matrices complexes. Le phénomène principal durant la sonication est la création de cavités (plus particulièrement la création et l'effondrement de ces cavités), la friction et l'accroissement des débits de diffusion [31].

➤ **Intérêt de l'extraction**

L'intérêt de l'extraction est d'isoler une ou plusieurs molécules à partir d'un organisme. Ainsi, la découverte de nouveaux médicaments peut passer par l'étude de ces substances naturelles et si une molécule se trouve être performante dans un domaine précis, elle pourra faire l'objet d'une commercialisation sous forme de médicament [32].

Chapitre 3

FORMULATION D'UNE CRÈME ANTI BRULURES

3.1 Introduction

La formulation est aujourd'hui une des branches les plus importantes de la chimie. Elle concerne les produits cosmétiques et pharmaceutiques, les parfums, les peintures, les matières plastiques, les produits d'entretien, les produits de nettoyage, les bétons, les produits agroalimentaires, les explosifs, etc.

La formulation est une activité industrielle consistant à fabriquer des produits homogènes, stables, non toxiques et possédants des propriétés finales spécifiques, répondant aux exigences d'un cahier de charges fonctionnel (CDCF), en mélangeant différentes matières premières (on utilise l'expression formuler un produit) [33].

Les domaines de la pharmacie et de la parachimie rassemblent l'essentiel des industries de la formulation compris au sens de produit fini destiné à d'autres industries ou au consommateur final.

Sur le plan économique, l'industrie pharmaceutique est l'industrie de la formulation la plus importante. Elle doit maîtriser parfaitement deux métiers :

- Etre capable de découvrir de nouveaux principes actifs présentant une activité thérapeutique originale
- Elle doit savoir les formuler pour les transformer en spécialités pharmaceutiques appelées communément médicaments.

Ceux-ci doivent être acceptables par le patient et présenter un rapport bénéfice thérapeutique.

Le domaine de la parachimie est plus hétéroclite puisqu'il comprend des spécialités très diverses qui s'adressent soit à d'autres industries, soit au grand public. Chez certaines d'entre elles, telles que les phytosanitaires, les explosifs et certains cosmétiques, on retrouve la notion de matière active à laquelle on associe judicieusement des auxiliaires de formulation chargés de faciliter la préparation du produit fini, d'assurer sa stabilité au stockage dans des conditions fixées par un cahier des charges et de permettre son application par l'utilisateur final. Pour d'autres spécialités telles que les détergents, peintures, vernis, encres, colles, lubrifiants, parfums et produits d'hygiène, la notion de matière active est plus diluée car plusieurs

constituants de la formule jouent un rôle important dans les performances du produit final. [34].

3.2 Différentes types de formulation

Toutes les industries productrices de matières premières ou de produits finis destinés à d'autres industries aval ou au consommateur final sont amenées, peu ou prou, à formuler leurs produits pour les adapter aux besoins réels des clients [34].

3.2.1 FORMULATION AGRO-ALIMENTAIRE

La particularité de l'industrie agroalimentaire présente exclusivement de n'utiliser que des ingrédients d'origines naturelles. Le fait que les produits alimentaires soient ingérés quotidiennement par le consommateur a conduit le législateur à imposer des réglementations particulièrement sévères en ce qui concerne le nombre et la nature des adjuvants synthétiques autorisés (colorants, édulcorants, agents texturants, antioxydants).celle-ci se rapproche des domaines de la pharmacie et de la cosmétique.

Une autre particularité du domaine alimentaire est la sophistication des procédés de préparation de la formule qui permet d'aboutir à une très grande diversité de produits finis en dépit d'un nombre relativement réduit de matières premières. Les opérations de transformation des ingrédients et des additifs en un produit alimentaire consommable et leur emballage constituent le génie des procédés alimentaires [34].

3.2.2 Formulation pharmaceutique

Les préparations pharmaceutiques sont en général des formulations complexes qui ont pour but de donner à chaque substance active la présentation médicamenteuse la mieux adaptée pour obtenir l'effet thérapeutique désiré. Il ne suffit pas d'administrer un certain nombre de prises unitaires parfaitement dosées, il faut de plus que la forme pharmaceutique envisagée libère les principes actifs pour les mettre à la disposition de l'organisme dans des délais prédéterminés. Les propriétés physiques, chimiques et thérapeutiques des principes actifs conditionnent des facteurs qui entrent en jeu dans la mise au point d'un médicament. [35]

3.2.2 FORMULATION COSMETIQUE

On entend par produit cosmétique toute substance ou préparation destinée à être mise 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.(Article 5131-1 du Code de la Santé Publique) [36].

Les produits cosmétiques et de soins personnels sont le plus souvent élaborés pour :

- Produire un avantage cosmétique au moyen de la modification de certaines propriétés et fonctions des tissus corporels, en les protégeant des agressions extérieures, en évitant le dessèchement des couches superficielles de l'épiderme, et en introduisant des substances actives à l'intérieur de l'épiderme.
- Améliorer l'esthétique de l'utilisateur.
- Introduire dans le produit même, un ensemble de caractéristiques qui le rendent plus attrayant pour le consommateur [35].

3.2.3 PHYSICO-CHIMIE DE LA FORMULATION

La première caractéristique des produits formulés est leur micro-hétérogénéité qui résulte de l'incompatibilité de certains constituants qu'ils paraissent souvent homogènes à l'échelle macroscopique. Ce sont donc des systèmes dispersés qui requièrent la présence d'agents tensioactifs pour assurer la stabilité du système. Ils agissent sous forme de films minces appliqués sur des surfaces variées telles que : métaux, bois, les matériaux de construction, les feuilles (phytosanitaires), la peau ou les cheveux (cosmétiques et produits d'hygiène). La physico-chimie des interfaces, des tensioactifs, des polymères solubles et des systèmes dispersés constitue donc la base de la physico-chimie de la formulation sur laquelle le formateur doit s'appuyer pour concevoir ses formules. Cependant, la plupart des lois physiques ne sont vérifiées quantitativement que pour les systèmes modèles simples ne contenant qu'un petit nombre de constituants peu concentrés. La complexité des formules réelles et leur concentration élevée limitent la validité de ces lois et, dans le meilleur des cas, elles ne fournissent qu'un cadre conceptuel et des guides qualitatifs pour le formateur.

3.3 Les émulsions

Une émulsion est, selon la définition courante, une dispersion d'un liquide en fines gouttelettes dans un autre liquide, les deux liquides étant non miscibles :

- ✓ le liquide sous forme de gouttelettes est qualifié de phase dispersée, phase discontinue ou phase interne ;

✓ l'autre liquide est appelé phase dispersante, phase continue ou phase externe.

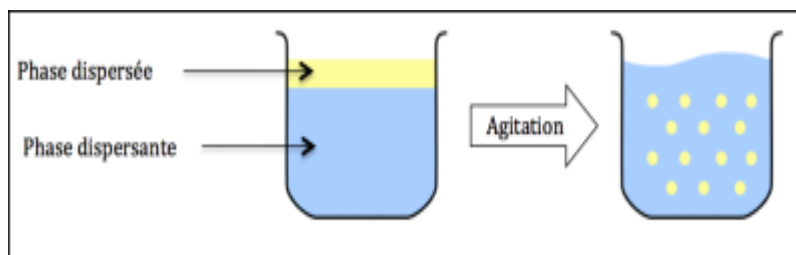


Figure 3. 1: l'émulsion de deux phases

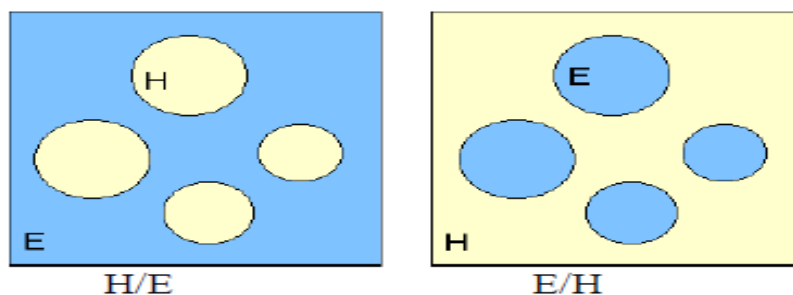
3.4 Différentes types des émulsions

3.4.1 Emulsions simples

Une émulsion simple est une émulsion composée d'une phase hydrophile, d'une phase lipophile et d'un émulsifiant. Les émulsions simples sont appelées eau-dans-huile (E/H) quand des gouttelettes d'eau sont dispersées dans la phase huileuse, et huile-dans-eau (H/E) pour l'inverse [37].

Tableau 3. 1 : différents types d'émulsion simple

Sens de l'émulsion	Phase dispersée	Phase dispersante	Symbole
Emulsion Huile dans Eau = émulsion de type aqueuse	Lipophile	Hydrophile	H/E, L/H, O/W,
Emulsion Eau dans huile = émulsion de type hileuse	Hydrophile	Lipophile	E/H, H/L, W/O



1

1

Figure 3. 2 : les différents types d'émulsion simple

3.4.1 LES EMULSIONS MULTIPLES

Les émulsions multiples sont des systèmes multiphasiques comprenant au moins deux liquides non miscibles, à savoir, deux émulsions H/L et L/H siègent des tensio-actifs hydrophiles et lipophiles qui sont utilisés pour stabiliser ces deux émulsions, respectivement et dont l'un est dispersé sous forme de fines gouttelettes uniforme dans l'autre, ainsi sont appelées «émulsions d'émulsions ». Le diamètre des gouttelettes dans les émulsions multiples peut varier de 0,1 à 100 μm [38]. Les gouttelettes de l'émulsion double E/H/E devraient être d'une taille comprise entre 10 - 60 μm , de façon à optimiser sa stabilité. Le diamètre des globules d'huile devrait atteindre préférentiellement au moins six fois celui du diamètre des gouttelettes aqueuses internes. Ces valeurs sont les paramètres optimaux pour obtenir une émulsion multiple stable. De façon plus générale, les gouttelettes aqueuses internes devraient être inférieures à 10 microns et les gouttelettes externes, de taille inférieure à 100 microns. Ce sont des systèmes thermodynamiquement instables, leur formulation constitue un paramètre critique à leur préparation [39].

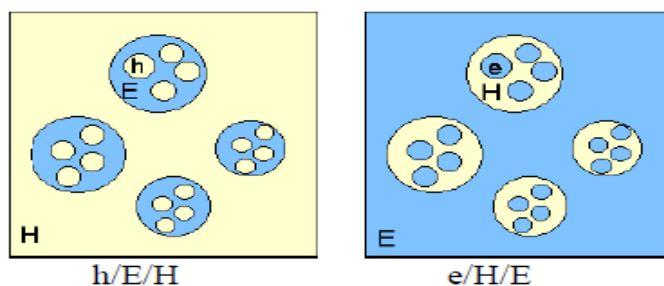


Figure 3. 3: schémas d'une émulsion multiple

3.5 Caractéristiques des émulsions

3.5.1 Stabilité des émulsions

On cherche à stabiliser une dispersion colloïdale en empêchant l'agrégation des particules de la phase dispersée. Les deux principaux mécanismes sont la stabilisation [33].

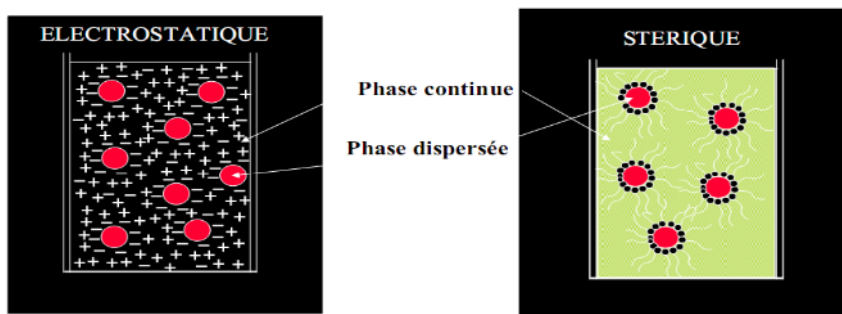


Figure 3. 4: stabilité d'une émulsion

3.6 Les milieux dispersés

L'eau et l'huile sont dites immiscibles, ou encore incompatibles. Introduites dans un même récipient, elles forment deux phases distinctes. On peut « forcer » leur union par agitation mécanique, l'une des deux se trouve alors dispersée sous forme de fines gouttelettes dans l'autre. Mais très rapidement les deux liquides se séparent à nouveau.

Or, la formulation est « l'art de gérer les incompatibilités » : la plupart des formules font en effet intervenir des matières premières incompatibles qu'il faut pourtant faire cohabiter de manière à obtenir un produit homogène [40].

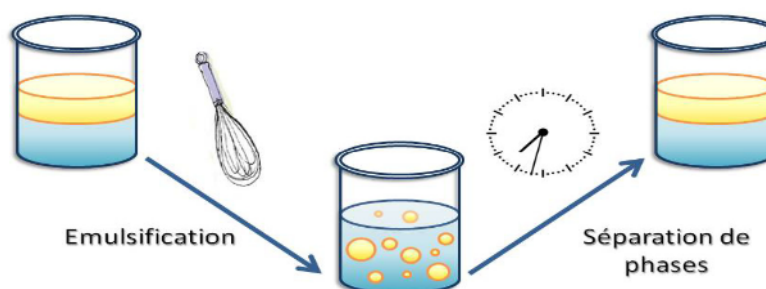


Figure 3. 5 : dispersion de l'huile dans l'eau

3.6.1 PHENOMENE D'INSTABILITE DE MILIEUX DISPERSE

Aucun milieu dispersé n'est réellement stable. Cette instabilité est le premier problème que doit résoudre le formulateur. Pour espérer stabiliser une dispersion, il est nécessaire de connaître les phénomènes risquant de la conduire à l'état le plus instable (rupture de phase) ainsi que les causes de cette instabilité [40].

3.6.2 LA RUPTURE DE PHASE

Le type de rupture de phase dépend essentiellement de la nature de la dispersion.

Les phénomènes susceptibles de se produire dans le cas d'une émulsion sont :

- **Coalescence** : les gouttelettes ont tendance à se réunir pour en former de plus grosses, de manière à réduire la surface de contact entre les deux liquides, et donc l'énergie de surface.
- **Crémage** : la phase huileuse, moins dense que l'eau, migre vers la surface (si la phase dispersée est la plus dense, on aura au contraire une sédimentation).

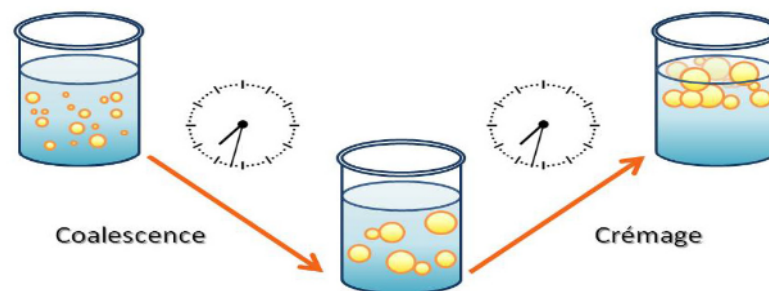


Figure 3. 6 : séparation de phase dans le cas d'une émulsion

Dans le cas d'une suspension, les particules solides ne pouvant fusionner les unes dans les autres, on observe un autre type de séparation de phases (figure 3.7) :

- **Floculation** : agglomération des particules en suspension pour former des particules plus grosses, appelées agglomérats.
- **Sédimentation** : les agglomérats, plus volumineux que les particules, migrent vers le fond du récipient sous l'effet de la gravité.

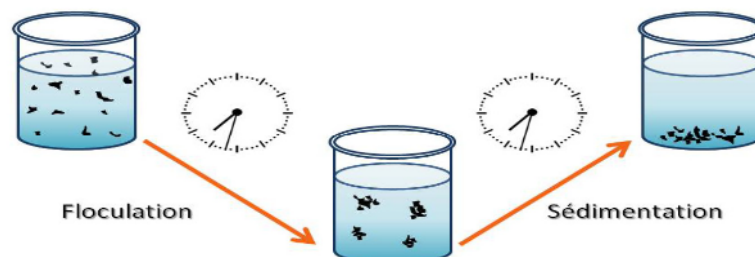


Figure 3. 7 : séparation de phase dans le cas d'une suspension

À l'origine des phénomènes de séparation de phase, il y a donc toujours un phénomène d'attraction des particules. C'est à ces forces attractives que nous allons maintenant nous intéresser.

La vitesse de crémage ou de sédimentation est donnée par la *loi de Stokes* :

$$v = \frac{2r^2g\Delta(\rho)}{9\eta}$$

v : en cm.s^{-1}

r : rayon des gouttelettes ou des globules d'émulsion en cm

g : accélération de la gravite 981cm.s^{-1}

η : viscosité de la phase dispersante ou continue en Pa.s

Pour limiter ce phénomène, on a plusieurs possibilités [33] :

- réduire la taille des gouttes de phase dispersée,
- ajouter un agent qui augmente la viscosité,
- diminuer la différence de densité entre les deux phases,
- éviter l'agrégation des gouttes.

3.6.3 Le mûrissement d'Ostwald ou diffusion moléculaire

C'est un processus irréversible qui dépend d'une part de la granulométrie et d'autre part de la surpression de Laplace. Les gouttes les plus petites disparaissent au profit des plus grosses par transfert de matière à travers la phase continue. Inversion des phases.

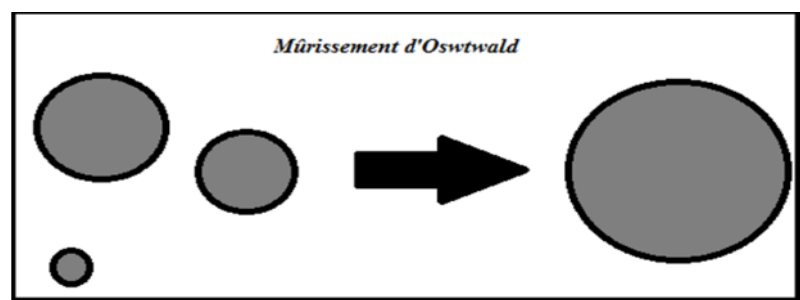


Figure 3. 8: phénomène de murissement d'ostwald

Ce phénomène est en pratique peu gênant dans la plupart des émulsions fabriquées. Par contre, ce phénomène est prédominant dans le cas de microémulsions. Ce phénomène peut être évité par:

- mono dispersion de la population de gouttelettes,
- diminution de la solubilité en ajoutant du sel dans une émulsion E/H ou un soluté apolaire de masse molaire élevée pour une émulsion H/E,
- tensioactifs faisant barrière à la diffusion de molécules de la phase dispersée [41]

3.6.3 LES FORCES INTERMOLECULAIRES, CAUSES DE L'INSTABILITE

Les forces liants les atomes dans les molécules sont appelées liaisons chimiques. L'énergie nécessaire pour casser une telle liaison est appelée énergie de liaison.

Pour des petites molécules, les liaisons physiques sont généralement moins intenses que les liaisons chimiques. Cependant, dans le cas des polymères, celles-ci deviennent comparables.

L'intensité des interactions moléculaires dans un liquide peut être mesurée par sa température d'ébullition.

On distingue trois types principaux de forces intermoléculaires :

- Force de polarisation ;
- Force de dispersion de London ;
- Liaison hydrogène.

Toutes ces forces sont d'origine électrostatique [40].

3.7 Définition d'un tensioactif

Les tensioactifs sont de petites molécules amphiphiles ayant des propriétés émulsifiantes. Ce sont des composés capables de disperser les corps gras dans l'eau (pouvoir détergent), de former des mousses, de stabiliser des émulsions, de favoriser le mouillage des surfaces. Ces molécules ont la particularité de contenir d'une part une chaîne à caractère hydrophobe (ou lipophile), et d'autre part, un groupement polaire ayant de l'affinité pour l'eau : elles sont amphiphiles. On peut les schématiser de la façon suivante.

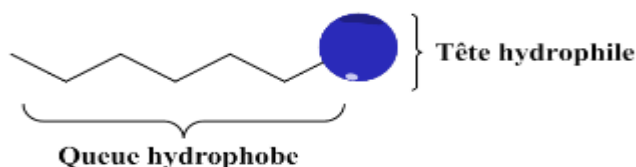
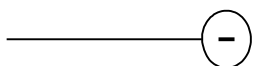


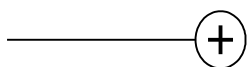
Figure 3.9 : représentation schématique d'une molécule de tensioactif

Les tensio-actifs sont classés comme suit :

- a) Tensioactif anionique : La partie hydrophile est anionique



- b) Tensioactif cationique : La partie hydrophile est cationique.



c) Tensioactif non-ionique : La partie hydrophile est neutre mais fortement polaire. Ces produits sont biologiquement sans risques. On les retrouve dans la formulation de nombreux shampoings pour leurs pouvoirs détergents et moussants et dans les émulsions [42].

3.7.1 BALANCE HYDROPHILE-LIPOPHE (HLB)

Grandeur caractéristique d'un tensioactif permettant de chiffrer l'importance relative, en masse, de son pôle hydrophile par rapport à son pôle lipophile. L'échelle varie de 0 à 20 pour les tensioactifs non ioniques : plus la valeur est élevée, plus la solubilité dans l'eau est grande. Pour les tensioactifs ioniques, la valeur du HLB peut dépasser 20. Tous les tensioactifs sont amphiphiles, mais ont une solubilité dominante :

- $HLB < 10$: tensioactifs plutôt lipophiles.
- $HLB > 10$: tensioactifs plutôt hydrophiles.

3.7.2 CLASSIFICATION DES TENSIOACTIFS SELON LEUR HLB

La valeur du HLB d'un tensioactif permet de donner une indication sur ses utilisations possibles. Il ne tient pas compte de facteurs importants comme la température, ou la salinité du milieu. De plus, un tensioactif peut jouer plusieurs rôles dans un même produit. Comme le cas de crème lavant par exemple qui peut à la fois jouer le rôle d'émulsifiant et de détergent. [40].

Tableau 3. 2 : Valeurs de HLB d'un tensio-actif.

HLB	Rôle
1-3	Anti mousse
3-6	Emulsion E/H
7-9	Mouillant
8-16	Emulsifiant H/E
13-15	Détergent
15-40	Solubilisant

3.7.3

3.8 Méthodes de détermination

Il est possible d'évaluer grossièrement la valeur du HLB en observant le tensioactif étudié lorsqu'il est mélangé dans l'eau [40].

Tableau 3. 3: Evaluation de HLB

Observation	HLB
Deux phases séparées	1-3
Mélange grossier	3-6
Mélange laiteux peu stable	6-8
Mélange laiteux stable	9-10
Mélange opalescent	10-13
Mélange transparent	> 13

Mouillants: Ils diminuent la tension interraciale entre un liquide et un solide (la peau par exemple). Ils facilitent l'étalement des produits.

3.9 Physico-chimie des interfaces

Les matériaux finement divisés tels que les émulsions, les mousses ou les suspensions sont caractérisés par la très grande quantité d'interface développée entre les deux milieux non miscibles. L'accroissement de la quantité d'interface entre les deux phases s'accompagne d'un accroissement de l'énergie libre totale du système. Ces systèmes ne sont pas stables thermodynamiquement. Les propriétés de l'interface vont jouer un rôle fondamental dans

l'évolution cinétique et les propriétés physiques de ces matériaux. Nous allons donc rappeler dans cette partie quelques concepts de physico-chimie des interfaces. Nous verrons en particulier les modifications induites par l'adsorption de molécules amphiphiles comme les tensio-actifs et les protéines.

3.9.1 LA TENSION INTER-FACIALE

La coexistence de deux phases non miscibles à l'équilibre n'est possible que si l'interface de séparation est stable. Le traitement thermodynamique des surfaces et des interfaces a été introduit pour la première fois par Gibbs. L'interface est caractérisée par son énergie libre, associée à la formation d'une surface de contact A entre les deux phases. La quantité notée γ , appelée tension inter-faciale, représente l'énergie qu'il faut fournir au système pour augmenter d'une quantité dA une interface d'aire A . La tension inter-faciale γ est indifféremment définie comme une énergie par unité de surface ou comme une force par unité de longueur. Il s'agit d'une contrainte tangentielle qui tend à minimiser l'aire inter-faciale [43].

3.10 Description des émulsions

L'aspect des émulsions dépend de trois paramètres :

- la taille des gouttelettes de phase dispersée ;
- la concentration de l'émulsion ;
- le rapport d'indice de réfraction entre phase dispersante et phase dispersée.

L'aspect des émulsions dépend également de l'importance de la lumière transmise par rapport à la lumière diffusée. Plus les gouttelettes ne sont grosses, plus la diffusion est importante. Pour les nano-émulsions, une partie de la lumière est transmise. Plus l'émulsion se rapproche de la solution, plus elle est transparente.

Chapitre 4

MATERIELS ET METHODES

4.1 Introduction

L'objectif visé par cette étude est de formuler une crème cicatrisante anti brulure dont le principe actif est extrait à partir des feuilles de lierre grimpant. Ce travail s'est déroulé en trois étapes principales : la première consiste à extraire et identifier le principe actif, à savoir les saponines tri terpéniques. La seconde étape est la formulation d'une crème anti brulure. Pour ce faire, on a effectué un plan d'expériences en utilisant le logiciel Modde6, qui nous a permis de faire un balayage des concentrations des différents ingrédients rentrant dans la composition de notre crème. La troisième étape est consacrée à l'étude du comportement rhéologique et de la stabilité des crèmes formulées.

4.2 Identification de la matière végétale extraite

La matière végétale utilisée dans cette étude expérimentale est le lierre grimpant (*Hedera hélix*) appartenant à la famille des *Araliaceae*, sa taxonomie et toutes les données le concernant ont été détaillées précédemment. L'organe végétal choisi pour la réalisation des expérimentations de cette étude est les feuilles puisque c'est dans cette partie de la plante que se trouve la majorité de ses principales substances actives, en d'autre terme, c'est le lieu de synthèse et de la mise en réserve temporaire des principaux composés du métabolisme primaire et secondaire.

4.3 Cueillette et prétraitement de lierre grimpant (*Hedera hélix*)

Les feuilles de *Hedera hélix* ont été cueillies en décembre 2017, à l'université de Blida1. Elles ont été soigneusement lavées, séchées à l'ombre pendant deux semaines et enfin broyées avant d'entamer l'extraction.



Figure 4. 1 : séchage de lierre grimpant (*hedera helix*).

4.4 Les solvants utilisés

Les solvants utilisés, leurs structures et leurs caractéristiques physico-chimiques sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 4. 1: Produit chimiques utilisés

NOM	Structure	Caractéristique	Polarité
Ether de pétrole	$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$	T fusion :- 100 °C <u>T d'ébullition</u> : 35°C Densité : 0,714.	Apolaire
Éthanol	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	<u>T de fusion</u> : - 114,1 °C <u>T d'ébullition</u> : 78,37 °C Densité = 0,7893	Polaire
Chloroforme	CHCl_3	<u>T de fusion</u> : - 63,5 °C <u>T d'ébullition</u> : 61,2 °C Densité : 1,48 à 20 °C.	Apolaire
N-butanol	$\text{C}_4\text{H}_9\text{OH}$	T fusion :- 90 °C T d'ébullition : 117 °C Densité : 0.81 g cm ⁻³	Polaire

4.5 Matières premières entrant dans la formulation

➤ La cire d'abeille

La cire est un ester d'éthylène glycol et de deux acides gras ou un mono ester d'acide gras et d'alcool à longues chaînes. Le terme cire a longtemps fait référence à la cire d'abeille, substance sécrétée par les abeilles pour construire les rayons de leur ruche. Elle sert de facteur de consistance des phases grasses auxquelles elle apporte un caractère occlusif qui réduit la perte en eau de la peau. A faible concentration, elle augmente la consistance des émulsions ; à forte concentration, elle stabilise certaines crèmes en leur conférant une grande viscosité, et permet même d'obtenir des préparations de consistance solide. Elle entre dans la composition de certains produits cosmétiques et parapharmaceutiques [44].

➤ Tween 80

Les polysorbates sont des esters d'acides gras et de polyoxyéthylénessorbitane (dérivé éthoxylé du sorbitane). Constitués ainsi d'une chaîne aliphatique hydrophobe (acide ou acides gras) et d'une « tête » éthoxylée hydrophile, ce sont des molécules amphiphiles utilisées

comme tensioactifs, dont leur HLB varie entre 10,5 et 16,7. Les polysorbates sont parfois désignés par le nom de marque Tween. Le tween 80 utilisé dans nos formulations possède les propriétés suivantes :

- Densité : 1.07 à 25 °C.
- HLB (hydrophile-lipophile balance): 15.0
- Concentration Micellaire Critique (CMC): 13-15 mg/l.
- Viscosité Brookfield: 400-620 cps à 25 °C.
- Poids moléculaire d'une Micelle : 76 kDa.

Sa structure chimique est présentée sur la figure ci-dessous.

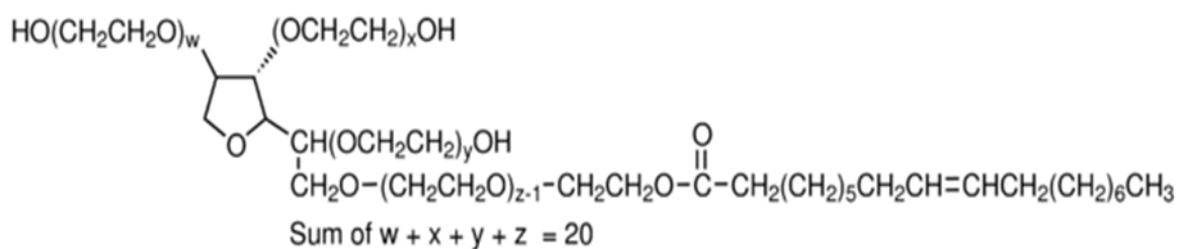


Figure 4. 2 : structure chimique du tween 80

➤ Huile de paraffine

La paraffine liquide ou fluides (*paraffinumperliquidum*), ($n = 8$ à 19) dont la viscosité est de 25 à 80 mPa.s et sa masse volumique de $0,90 \text{ g.cm}^{-3}$. Elle entre dans la composition de nombreuses préparations dermatologiques et cosmétiques, en qualité d'excipient ou comme émoullient. Insoluble dans l'eau et l'éthanol et soluble dans un bon nombre de solvants polaires comme le benzène, disulfure de carbone, chloroforme, éther diéthylique.

➤ La gomme de xanthane

C'est un polyside obtenu à partir de l'action d'une bactérie appelée, « la Xanthomonascampestris » intervenant dans le métabolisme de certains végétaux. Elle est soluble à froid et utilisée comme additif alimentaire sous le code E415 pour ses propriétés épaississantes et gélifiantes afin de modifier la consistance des produits formulés. Comme sauces chaudes, vinaigrette, crèmes.

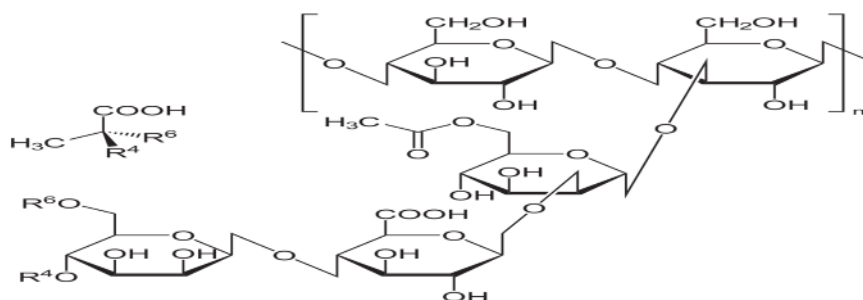


Figure 4. 3: structure chimique du xanthane.

➤ Alcool cétylique

Le n-hexadécanol, aussi connu comme l'alcool cétylique ou palmitique, est un alcool gras de formule semi-développée $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{15}\text{OH}$. (INCI : Cetylalcohol), À température ambiante, il prend la forme d'un solide blanc cireux ou de paillettes. Le terme cétylique dérive de baleine (en latin : Cetus) car c'est de leur huile qu'il a été isolé pour la première fois. C'est un Co-émulsifiant et agent de consistance pour stabiliser les émulsions et en modifier la texture. Il permet également d'épaissir les crèmes et apporter un toucher onctueux et nourrissant. Il est en principe employé à raison de 2 à 5 %, en association avec un autre émulsifiant tel que le Cire émulsifiante et s'incorpore dans la phase huileuse des émulsions. Flocons blancs inodores, insolubles dans l'eau froide, partiellement solubles dans l'eau chaude et légèrement solubles dans l'alcool.

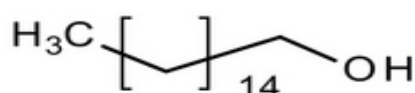


Figure 4. 4: structure chimique de l'alcool cetylique

➤ Le glycérol

Le glycérol, ou glycérine, est un composé chimique de formule $\text{HOH}_2\text{C}-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$. C'est un liquide incolore, visqueux et inodore au goût sucré et faiblement toxique, miscible dans l'eau en toutes proportions et dans les alcools en proportions variables. Il est utilisé dans de nombreuses compositions pharmaceutiques. Sa molécule possède trois hydroxyles correspondant à trois fonctions alcool responsables de sa solubilité dans l'eau et de sa nature hygroscopique[45].

Dans la formulation préparée, le glycérol sert à améliorer l'onctuosité et la lubrification de la crème.

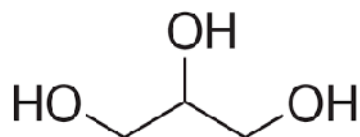


Figure 4. 5: structure chimique de glycérol.

➤ Eau de rose

L'eau de rose est une solution aqueuse faite avec des pétales de roses. Les pétales de roses sont distillés pour faire de l'essence de rose. L'eau de rose est très parfumée, on s'en sert beaucoup dans l'industrie cosmétique comme fragrance.

L'eau de rose est un produit naturel possédant de multiples vertus. Elle est recommandée pour tous les types de peau et se trouve très facilement dans les magasins spécialisés, en herboristerie ou en pharmacie mais on peut aussi la préparer soi-même [46].

4.6 Description de l'extraction du principe actif

Après avoir récolté, séché et broyé les feuilles de la plante (*Hedera hélix*), nous procédons à l'extraction, qui elle-même est divisée en deux étapes.

4.6.1 PREMIERE ETAPE : LE DEGRAISSAGE

En premier lieu, on procède au dégraissage pour éliminer les lipides de la matière Végétale en utilisant le Soxhlet. Le dégraissage est une méthode d'extraction utilisée afin d'éliminer les lipides de la matière végétale à l'aide d'un solvant apolaire. Dans notre cas le solvant utilisé est l'éther de pétrole.

Cette opération a été réalisée en utilisant un Soxhlet de 250mL. Ce soxhlet est constitué d'un réfrigérant dont le système de refroidissement est assuré par l'entrée d'eau froide du robinet. Au cours de l'extraction, nous avons utilisé des papiers filtre comme cartouche. On place 40 g de poudre de la matière végétale sèche dans la cartouche et on remplit le ballon mis dans un bain marie avec 330 ml d'éther de pétrole.

Quand le liquide atteint le niveau de débordement, un siphon aspire la solution de la cartouche et la décharge à nouveau dans le ballon à distiller, portant la graisse extraite

dans le liquide en bloc. La matière grasse reste dans le flacon et le solvant passe à nouveau dans le lit de solide. L'opération est répétée 3 fois pour avoir un meilleur dégraissage.

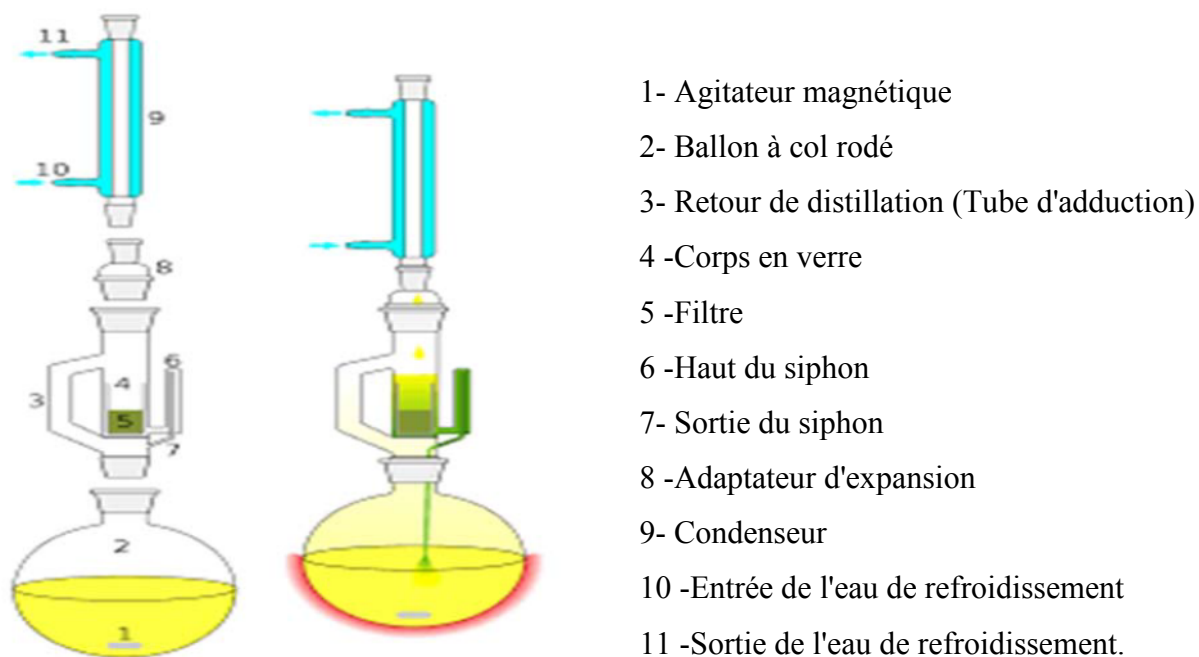


Figure 4. 6: Représentation schématique d'un extracteur de Soxhlet.

- la poudre dégraissée est ensuite séchée pendant 24h à l'air libre pour une seconde extraction.

A la fin de cette opération de dégraissage, nous avons utilisé un évaporateur rotatif à une température de 40°C, pour séparer le mélange éther de pétrole/ matière grasse, comme indiqué sur l'image de la figure (4.7).

La masse finale de la graisse ainsi récupérée est déterminée par la différence de poids du ballon du Rotavapor vide et rempli, avant et après évaporation du solvant.



Figure 4. 7 : Représentation schématique de la séparation par rotavapor

4.6.2 DETERMINATION DU RENDEMENT DE LA MATIERE GRASSE

Le rendement est calculé par le rapport des masses de poudre et de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pour cent (%) et calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{m_f}{m_i} \cdot 100 \dots\dots\dots (4.1)$$

R(%): Rendement en (%)

m_f: Masse de la graisse (g)

m_i: Masse de la matière végétale utilisée (g)

4.6.3 Deuxième étape : Extraction des saponines par macération

Après avoir dégraissée, on laisse la poudre sécher pendant une journée, puis on procède à la macération à froid par l'éthanol. On utilise une proportion de 400mL d'éthanol 96° pour 150g de poudre. Le composé bioactif à l'intérieur de la plante est extrait en faisant tremper la plante (la poudre dégraissée) dans l'éthanol à température ambiante pendant 2 jours. Après le macérât est filtré au papier filtre, ainsi on obtient un extrait éthanolique riche en saponines. Puis on évapore le solvant d'extraction au rotavapor ; d'où le mélange extrait qui contient des saponines et le solvant est mis dans le premier ballon qui trempe en tournant dans un bain marie, la vapeur de solvant monte vers le réfrigérant où elle se condense puis tombe dans le second ballon. A la fin le premier ballon ne contient que l'extrait de saponines, et dans le second on récupère le solvant pour une utilisation ultérieure [50].

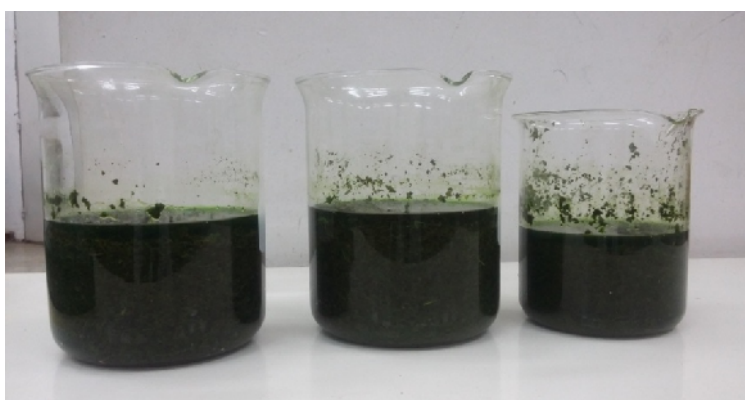


Figure 4. 8 : Macération des feuilles dégraissées trempées dans de l'éthanol pendant (72h)



Figure 4. 9: Purification solide-liquide des saponines après macération

4.7 Purification de l'extrait

Une fois l'extrait est récupéré, on fait un lavage avec du chloroforme (4 fois) dans une ampoule à décanter jusqu'à ce que le chloroforme devienne claire, puis on ajoute de l'eau pour éviter au maximum les pertes et aussi avoir une bonne séparation des phases, puis on réalise une extraction liquide-liquide avec du n-butanol. La phase butanolique récupérée est évaporée puis séchée sous vide à 40°C afin d'obtenir des saponines partiellement purifiées. La figure ci dessous nous montre que, (A) c'est la phase du premier lavage avec du chloroforme et (B) c'est la phase après 4eme lavage avec du chloroforme.

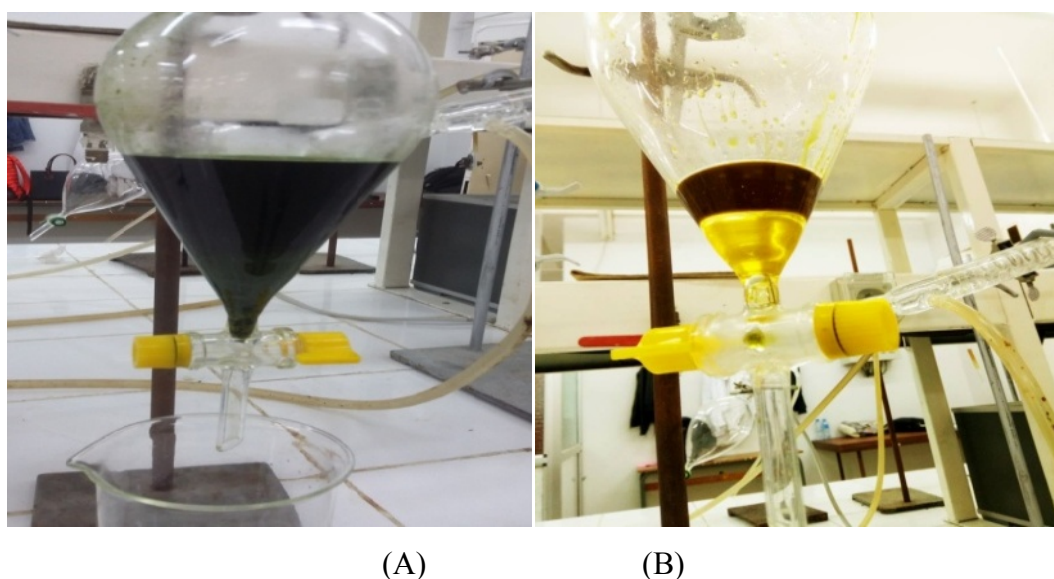


Figure 4. 10: extraction liquide-liquide des saponines

Le **diagramme** suivant présente la procédure de purification des saponines (saponines partiellement purifiées).

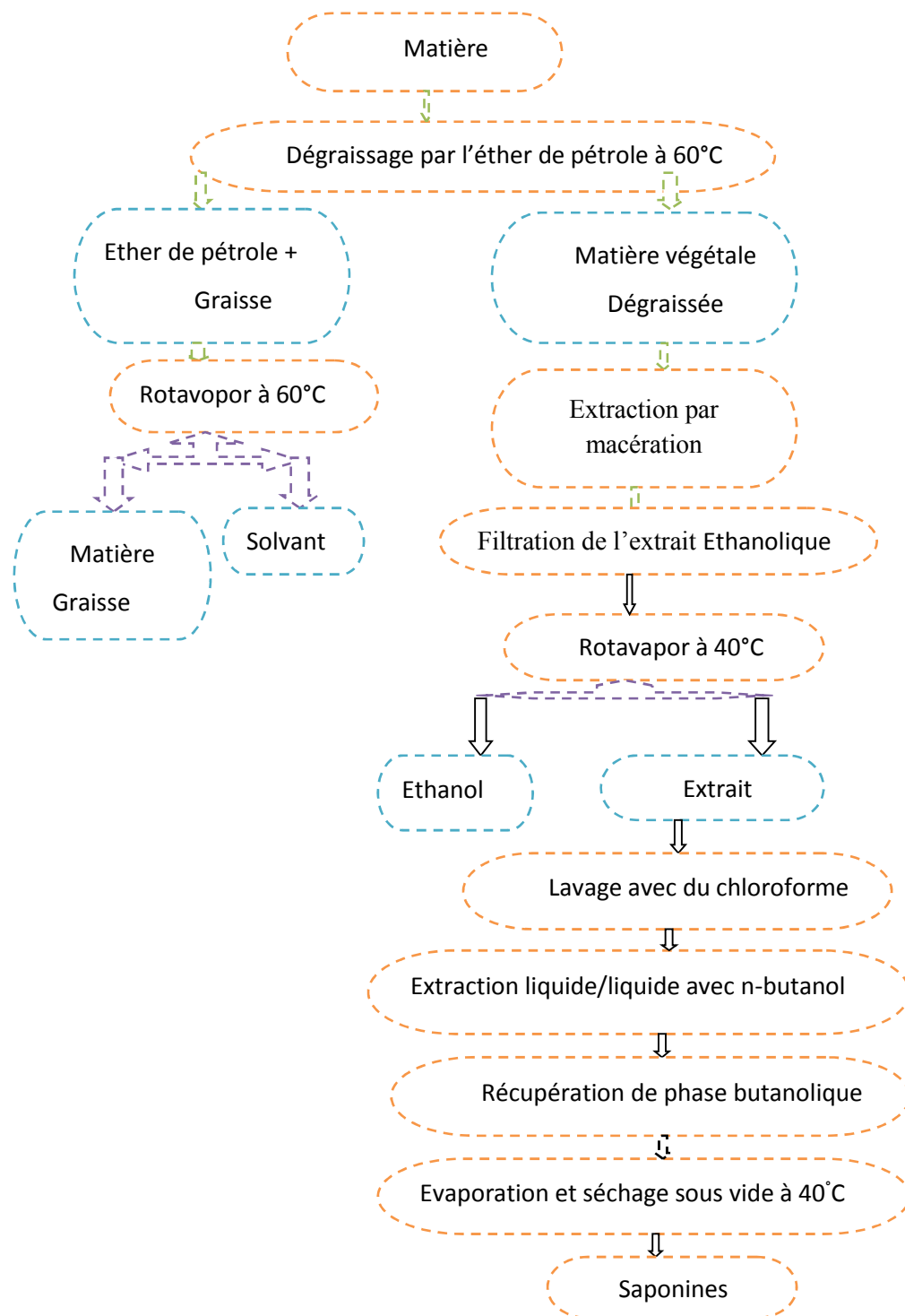


Figure 4. 11: diagramme récapitulatif d'extraction et de récupération du principe actif.

4.8 Aspects et Caractérisation de la saponine obtenue

Le produit que nous avons récupéré présente une couleur brune, d'un aspect très visqueux avant séchage, avec une odeur aromatique peu sensible, la figure suivant montre l'aspect du produit après séchage.

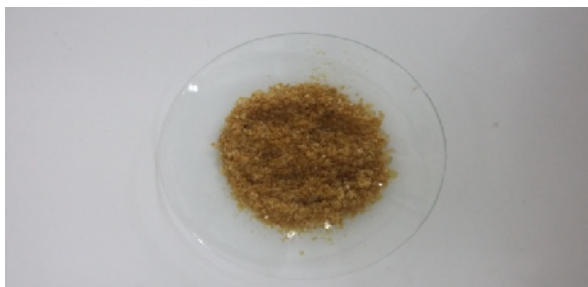


Figure 4. 12 : Aspect du principe actif après séchage

4.9 Détermination du rendement

Le rendement est calculé par le rapport des masses de poudre et de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pour cent (%) et calculé par la formule suivante :

$$R = \frac{m_f}{m_i} \times 100 \dots \dots \dots (4.2)$$

R: Rendement

m_f: Masse des saponines purifiées (g)

m_i: Masse de la matière végétale dégraissée (g)

4.10 Mesure du pouvoir moussant

La présence des saponines est déterminée qualitativement par le calcul de la capacité moussante. Le procédé consiste à mélanger 0.1g du principe actif dans 10ml d'eau distillée dans un tube à essai [47].

La capacité moussante (CM) est exprimée en pourcentage de volume (liquide+mousse) en utilisant la formule suivante :

$$CM = \frac{\text{volume après agitation} - \text{volume avant agitation}}{\text{volume avant agitation}} \times 100 \dots \dots (4.3)$$

Le volume de la mousse est enregistré à 5, 20, 40, 70 100mn après agitation.

La stabilité moussante (SM) est calculée en utilisant la formule suivante :

$$SM = \frac{\text{Volume de la mousse après un temps "t"}}{\text{Volume de la mousse initial}} \times 100 \dots \dots \dots (4.4)$$

4.10.1 Analyse par spectrométrie infrarouge(IR)

On prend une petite quantité de l'extrait et on mélange avec une quantité de dispersif KBr et mis dans un mortier en Agathe, la quantité de dispersif KBr est largement plus grande que celle de l'extrait .Le mélange est broyé très finement et déposé dans un moule puis soumis à une pression de 10 tonnes pendant quelque minutes dans une presse pour en faire sortir des pastilles.

4.11 Formulation de la crème anti-brulure

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

Notre travail a pour objectif la recherche d'une composition optimale pour formuler une crème anti brulure avec les propriétés suivantes :

- Aspect : Opaque blanc ;
- Consistance : Crémeuse ;
- Homogénéité : Bonne ;
- Toucher : collant, étalement facile ;
- Sens de l'émulsion : H/E.

4.11.1 MATERIELS UTILISES

- Agitateur magnétique, barreaux aimantés ;
- Plaque chauffante ;
- Homogénéisateur de type ultraturax,
- Matériel courant de laboratoire : fioles de 10 mL, béchers, spatules, thermomètre, cristalliseur.

4.11.2 MATIERES PREMIERES

Les matières premières utilisées pour la fabrication de la crème anti-brûlure sont citées sur le tableau suivant.

Tableau 4. 2: Matières premières utilisées dans la formulation

Composition de la phase huileuse	Composition de la phase aqueuse
Cire d'abeille Alcool cétylique Huile de paraffine	Gomme Xanthane Glycérol Tween 80 Extrait sec de feuilles de lierre (Saponines) Eau de rose

4.11.3 METHODOLOGIE EXPERIMENTALE

La démarche adoptée dans ce travail est basée sur la planification des expériences. Le recours à cette méthode des plans d'expériences permet d'obtenir des modèles prévisionnels des réponses étudiées, ainsi que les conditions optimales, et ce avec un minimum d'essais et un maximum de crédibilité.

Compte tenu de l'objectif visé par cette étude, à savoir la détermination des effets des facteurs sur la qualité de la crème, la stratégie de planification expérimentale la plus adéquate repose sur une modélisation en surface de réponse (RSM), par un modèle d'ordre 2 tenant compte de toutes les interactions doubles entre les facteurs :

$$y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_4x_4 + a_{11}x_1^2 + a_{22}x_2^2 + a_{33}x_3^2 + a_{44}x_4^2 + a_{12}x_1x_2 + a_{13}x_1x_3 + a_{14}x_1x_4 + a_{23}x_2x_3 + a_{24}x_2x_4 + a_{34}x_3x_4 \dots \dots \dots (4-5)$$

Où: y est la réponse et x_1, x_2, x_3 et x_4 sont les composantes centrées réduites des facteurs.

❖ Définition des facteurs

- x_1 correspond à la fraction massique de la phase huileuse variant dans le domaine [20 - 40%] ;
- x_2 correspond à la concentration massique de la gomme xanthane prise dans l'intervalle [0.5 – 1%] ;
- x_3 correspond à la concentration massique des saponines, variant de [0.1- 0.5%];
- x_4 correspond à la concentration du glycérol [1 à 5%]

La matrice d'expériences choisie qui répond à cette stratégie est de type CCF (Composite à faces centrées), ce type minimise l'erreur dans l'estimation des coefficients, ainsi que l'erreur globale. La matrice contient 27 essais, avec 3 répétitions au centre des différents domaines de variation des facteurs, pour minimiser l'erreur au centre, et estimer l'écart type de la variabilité naturelle (l'erreur expérimentale).

Tableau 4. 3: Matrice d'expériences déduite du plan adopté dans cette étude.

Crèmes	Phase huileuses			Phase aqueuses			
	Huile de paraffine	Cire d'abeille	Alcool cétyle	Xanthane	Saponines	Glycérol	Eau
1	10	2.5	2.5	7.5	0.15	0.5	26.85
2	5	2.5	2.5	5	0.05	2.5	32.45
3	5	2.5	2.5	10	0.25	2.5	27.25
4	10	2.5	2.5	7.5	0.15	2.5	24.85
5	5	2.5	2.5	5	0.25	2.5	32.25
6	10	2.5	2.5	7.5	0.25	1.5	25.75
7	15	2.5	2.5	10	0.25	0.5	19.25
8	10	2.5	2.5	5	0.15	1.5	25.85
9	15	2.5	2.5	5	0.25	2.5	22.25
10	15	2.5	2.5	10	0.05	2.5	17.45
11	10	2.5	2.5	10	0.05	0.5	29.45
12	15	2.5	2.5	5	0.05	0.5	24.45
13	10	2.5	2.5	5	0.15	1.5	28.35
14	15	2.5	2.5	7.5	0.15	1.5	20.85
15	10	2.5	2.5	10	0.15	1.5	23.35
16	5	2.5	2.5	7.5	0.15	1.5	30.85
17	10	2.5	2.5	7.5	0.05	1.5	25.95
18	15	2.5	2.5	10	0.25	2.5	17.25
19	15	2.5	2.5	5	0.25	0.5	24.25
20	15	2.5	2.5	5	0.05	2.5	22.45
21	5	2.5	2.5	10	0.05	2.5	27.45
22	5	2.5	2.5	10	0.25	0.5	19.25
23	5	2.5	2.5	5	0.05	0.5	34.45
24	5	2.5	2.5	5	0.25	0.5	34.25
25	10	2.5	2.5	7.5	0.15	1.5	25.85
26	15	2.5	2.5	10	0.1	0.5	19.45
27	10	2.5	2.5	7.5	0.15	1.5	25.85

4.11.4 PREPARATION DE LA PHASE AQUEUSE

La phase aqueuse n'est d'autres que la préparation d'une solution de xanthane à différente concentration selon notre plan d'expérience (1 ,0.75 et 0.5%) puis on en ajoute

du glycérol ; du tensioactif (TA) qui est le tween80 et de l'eau de rose. Nous avons porté à 70°C dans le bécher sous agitation.

4.11.5 PREPARATION DE LA PHASE HUILEUSE

La phase huileuse est un mélange de Cire d'abeille, Alcool acétylique et l'huile de paraffine. Ce mélange a été mis dans un bécher chauffé aussi à 70°C sur une plaque chauffante et maintenu jusqu'à fusion complète des composants.

4.11.6 PREPARATION DE LA CREME (EMULSIFICATION)

Tous les constituants hydrophiles et lipophiles sont portés à 70°C au bain marie dans deux béchers différents. Lorsque les deux mélanges ont atteint la même température. Nous avons, rapidement incorporé la phase huileuse dans la phase aqueuse sous homogénéisation et chauffage pendant 10 minute. Ensuite, on arrête le chauffage tout en maintenant l'agitation jusqu'à ce que la température atteigne 40°C. A ce moment-là, nous avons ajouté la saponine sous une homogénéisation continue. Nous avons procédé ainsi pour empêcher toute dégradation de notre saponine car, celle-ci ne résiste pas à plus de 40°C.

4.12 Caractérisation de la crème formulée

Pour l'évaluation de la qualité du produit formulé, à savoir la crème anti brûlure, nous avons effectué les tests suivants.

4.12.1 La centrifugation

La stabilité de notre formulation au cours du temps et sous des conditions physiques rigoureuses est déterminée en utilisant une centrifugeuse réglée à une vitesse de 2500 tours/min pendant 10min.

4.12.2 MESURE DE LA CONDUCTIVITE

La conductivité est utilisée pour distinguer les émulsions E/H de H/E. Lorsque la phase externe est aqueuse (H/E), le milieu est conducteur et peut nous donner une valeur de conductivité. Contrairement, lorsque la phase externe est lipidique (E/H) le milieu n'est pas conducteur et n'a pas de valeur de conductivité.

Le conductimètre utilisé est de type EC214 de marque HANNA® instruments.

4.12.3 MESURE DU PH

L'acidité de la crème formulée est très importante à connaître étant donné que cette dernière est destinée à être appliquée sur la peau. Cette acidité est généralement interprétée par la mesure du pH.

Cette mesure a été effectuée à l'aide d'un pH mètre de type intoLab-pH de type HANNA®. Cet instrument est équipé d'une électrode spécifique pour la mesure du pH des gels et des crèmes.

4.12.4 ETUDE DU COMPORTEMENT RHEOLOGIQUE

Définition : Un rhéomètre est un appareil de recherche capable de faire des mesures relatives à la rhéologie des fluides, qui est l'étude de la déformation et de l'écoulement de la matière sous l'effet d'une contrainte de cisaillement appliquée. Généralement de faible dimension caractéristique (très faible inertie mécanique du rotor), il permet d'étudier fondamentalement les propriétés d'écoulement d'un liquide, d'une suspension d'une pâte, etc., en réponse à une force appliquée.

L'objectif de ce test est de caractériser le comportement rhéologique des crèmes dans le domaine linéaire et sous écoulement. Pour se faire, deux tests ont été effectués :

- ✓ Le test de viscoélasticité :

Les propriétés viscoélastiques des crèmes ont été mesurées en mode dynamique par un test non destructif d'oscillations de faible amplitude. Un balayage croissant en déformation, de 0,001 à 1000 a été effectué à la fréquence constante de 1 Hz. Cette mesure permet d'obtenir les valeurs des modules G' , G'' dans le domaine linéaire viscoélastique.

✚ G' : le module de conservation, il représente le caractère élastique de la crème, l'énergie emmagasinée dans le matériau.

✚ G'' : le module de perte, qui représente le caractère visqueux de la crème et correspond à l'énergie dissipée.

- ✓ Le test d'écoulement :

Des courbes d'écoulement ont été déterminées en régime continu sous cisaillement variable, traduisant la viscosité apparente η_{app} (Pa.s) en fonction de la vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$ (s^{-1}).

Pour l'obtention de ces courbes, on fait varier la vitesse de cisaillement par pas logarithmique de 0,001 à 1000 s⁻¹.

Les courbes d'écoulement issues de ce test sont ensuite modélisées par des modèles mathématiques qui représentent le comportement rhéologique des crèmes à l'aide du logiciel « STATISTICA » qui offre une multitude de techniques de méthodes d'optimisation non linéaires se basant sur un calcul itératif.

Le modèle de cross est le modèle qui convient le mieux au comportement de nos échantillons. Il s'écrit comme suit :

$$\frac{\eta - \eta_{\infty}}{\eta_0 - \eta_{\infty}} = \frac{1}{(1 + (K\dot{\gamma})^n)} \dots\dots\dots (4.5)$$

Avec :

η : viscosité apparente (Pa.s). Pour formule : $\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$

η_0 : La viscosité du palier newtonien à taux de cisaillement nul.

η_{∞} : viscosité apparente à cisaillement infini, lorsque les macromolécules sont complètement dispersées (Pa.s).

$\dot{\gamma}$: vitesse de cisaillement (s⁻¹). Pour formule : $\dot{\gamma} = \frac{dy}{dt}$

K : est le temps caractéristique nécessaire pour obtenir un début de déstructuration et donc un comportement rhéofluidifiant de la crème.

n : Paramètre adimensionnel compris entre 0 et 1 et pouvant être considéré comme un indice d'écoulement.

Ce test rhéologique nous permet de déterminer la viscosité de nos essais ainsi de faire la comparaison avec celle de la crème de référence et pour cela nous avons utilisé un rhéomètre de marque Anton Paar Modulat Compact Rhéomètre MCR 302, relié à un bain thermostaté et commandé à l'aide d'un logiciel qui permet de traiter les données.

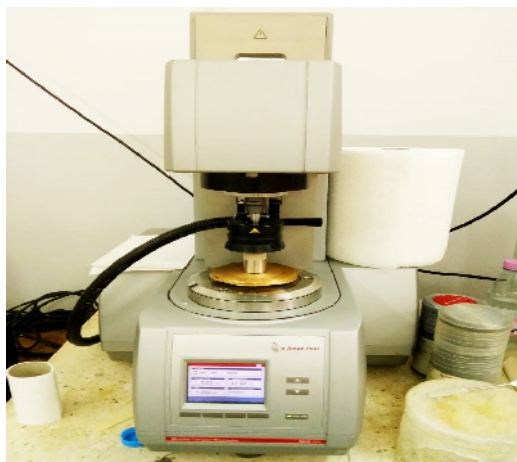


Figure 4. 13: rhéomètre Anton paarmodular compact rhéomètre mcr 302

4.13 Test d'activité anti brûlure sur les rats (in vivo)

4.13.1 PROTOCOLE D'ETUDE DE LA BRULURE CHEZ LES RATS

Le but est de tester l'effet anti brûlure de la crème formulée à base de saponines et la comparer à une crème de référence la Biaffine

➤ **Principe**

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

Les applications se feront de façon quotidienne et en comparant l'évolution des différentes plaies provoquées (environ 15jours).

➤ **Mode opératoire**

Il a fallu préparer 15 lots de rats de laboratoire à raison de 5 rats par lots, répartis au hasard et numérotés chronologiquement.

Celle-ci est composée des étapes suivantes :

- Anesthésier les rats par injection de la kétamine par voie intra péritonéale, à la dose de 0.3mg/ kg. Notons que le poids des rats a été préalablement pris en considération.
- Epiler la région dorsolombaire de chaque rat en deux zones indépendantes (une zone Témoin, et une zone Essai).
- Désinfecter les deux régions épilées (Essai et Témoin) avec de l'alcool chirurgical à 70°.

- Procéder à la brûlure par provocation de peau avec la masselotte en acier en forme circulaire.
- Tracer les deux zones en forme arrondie de 2cm de surface.

Au cours de cette expérimentation les empreintes des plaies sont prélevées sur une feuille transparente dès le jour j0, après au j3, j5, j7, j9 et j11...

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

Le lot des essais reçoivent une application dermique au quotidien jusqu'à l'évolution des plaies essai (E). Celles des Références reçoivent la même application.

Lots essais : crème

Lots de références : biaffine

Les images suivantes résument le déroulement du processus de la cicatrisation :

1 * L'anesthésie générale des rats

2* L'épilation



3*:L'anesthésie locale des rats

4*Provocation avec la masselotte



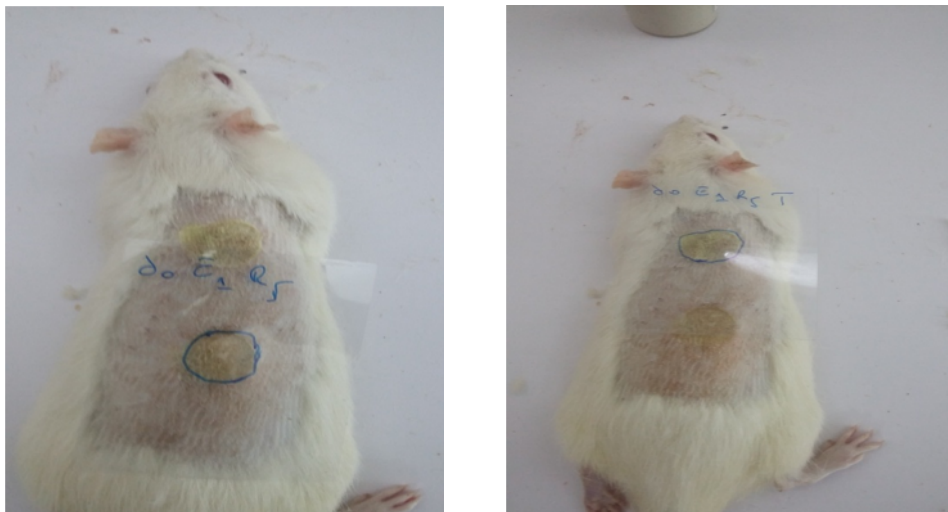
4* Provocation des deux plaies



5*Prélèvement d'empreinte E₁



6* prélèvement d'empreinte du T témoin



6/ Application de la crème sur la plaie :



Chaque 3 jour l'étude doit être effectuée 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.

Chapitre 5

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Dans cette dernière partie du travail considéré, nous allons exposer et discuter l'essentiel des résultats de l'extraction et de la formulation obtenus et d'essayer d'en tirer des conclusions.

5.1 Résultats de l'extraction

5.1.1. calcul du rendement du dégraissage et de la macération

Avant de présenter les résultats de la caractérisation de l'extrait obtenu, nous allons d'abord calculer le rendement des deux opérations d'extraction réalisées sur la plante, à savoir le dégraissage et la récupération des saponines.

Le rendement du dégraissage exprime la quantité de graisse contenue dans les feuilles du lierre grim pant séchées et broyées. Quant au rendement de la récupération des saponines, c'est la quantité de ces dernières présentes dans la plante. Il s'agit du rapport entre la masse finale récupérée et la masse initiale à extraire.

Le calcul du rendement est détaillé comme suit :

➤ **Détermination du Rendement d'extraction de dégraissage**

$$R(\%) = \frac{m_f}{m_i} \times 100 \dots \dots \dots R(\%): \text{Rendement en } (\%)$$

m_f : Masse de la graisse elle est égale à 0.98 g

m_i : Masse de la matière végétale utilisée elle est égale à 40 g

$$R(\%) = \frac{0,98}{40} \times 100$$

$$R(\%) = 2,45\%$$



Figure 5. 1: graisse obtenue après extraction par soxhlet

$$R(\%) = \frac{m_f}{m_i} \times 100 \dots\dots\dots R(\%): \text{Rendement en (\%)}$$

➤ **Détermination du Rendement après macération**

m_f : Masse des saponines purifiées elle est égale à 8,40g

m_i : Masse de la matière végétale dégraissée elle est égale à 837,75g

$$R(\%) = \frac{8,40}{850} \times 100$$

$$R(\%) = 0,98\%$$

Tableau 5. 1: les principaux résultats des extractions

	Temps d'extraction	Quantité de solvants	Masses (g)	Rendements
Dégraissage	45 mn	330 mL	40	2,45 %
Macération	72 h	400 mL	150	0,98 %

Le rendement de la matière grasse est de 2.45% qui est un rendement relativement important par rapport à celui des saponines. Il serait intéressant de pouvoir identifier la nature de cette matière grasse et de la valoriser. Quant aux saponines le faible rendement obtenu est dû aux pertes considérables lors de l'extraction.

5.2. Indice de mousse

Une mousse est une dispersion d'un gaz, le plus souvent de l'air, dans un liquide. Les liquides purs ne donnent pas de mousses stables, car les bulles qui apparaissent lors de la dispersion du gaz éclatent dès que l'agitation cesse. Par contre les tensioactifs, ces molécules de part leur caractère amphiphile vont se placer aux interfaces air-solution et se stabiliser. Dans une certaine mesure, une mousse peut être considérée comme un type d'émulsion entre un liquide et un gaz où le gaz est la phase interne et le liquide la phase continue. Les origines de la formation de mousse dans les milieux aqueux et non-aqueux sont d'ordre physique (agitation, chute de liquide...), physicochimique ou chimique (présence d'impuretés).

➤ **Détermination de la capacité moussante :**

La capacité moussante est déterminée par la formule suivante :

$$\text{Capacité moussante} = \frac{\text{volume après agitation} - \text{volume juste avant agitation}}{\text{volume avant agitation}} \times 100 \dots\dots\dots 5.1$$

Volume avant agitation = 10,2 ml

Volume après agitation = 14,84 ml

$$CM = \frac{14.84 - 10,2}{10.2} \times 100 = 45,49\%$$

Il est aussi important d'évaluer la stabilité de la mousse formée au cours du temps. Les résultats sont présentés sur le tableau V.2

$$\text{Stabilité moussante} = \frac{\text{volume de la mousse après un temps "t"}}{\text{volume de la mousse initial}} \times 100 \dots\dots\dots 5.2$$

Volume de la mousse initial = 9,5 ml

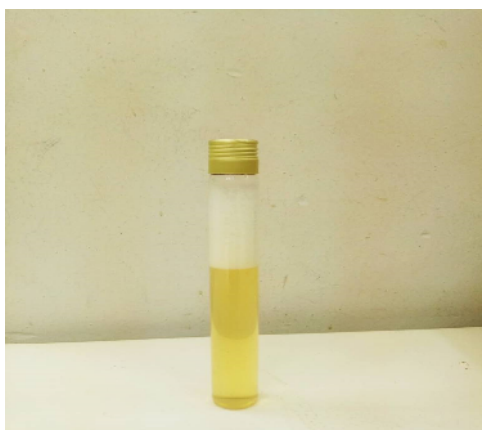


Figure 5. 2: De pouvoir moussant

Pour détecter s'il y a des mousses, nous avons pris 0.1g de l'extrait dans 10ml d'eau dans un tube à essai et après une forte agitation, les résultats du tableau nous montrent que les Saponines ont une bonne stabilité moussante.

Tableau 5. 2: Résultat de la stabilité moussante

t (min)	Volume de la mousse (ml)	SM %
5	8,4	88,42
20	7,7	81,05
40	7,4	77,89
70	6,8	71,57
100	6,1	64,21

5.3. Résultats de la caractérisation des saponines par IR

Le spectre IR des saponines est présenté sur la figure ci-dessous

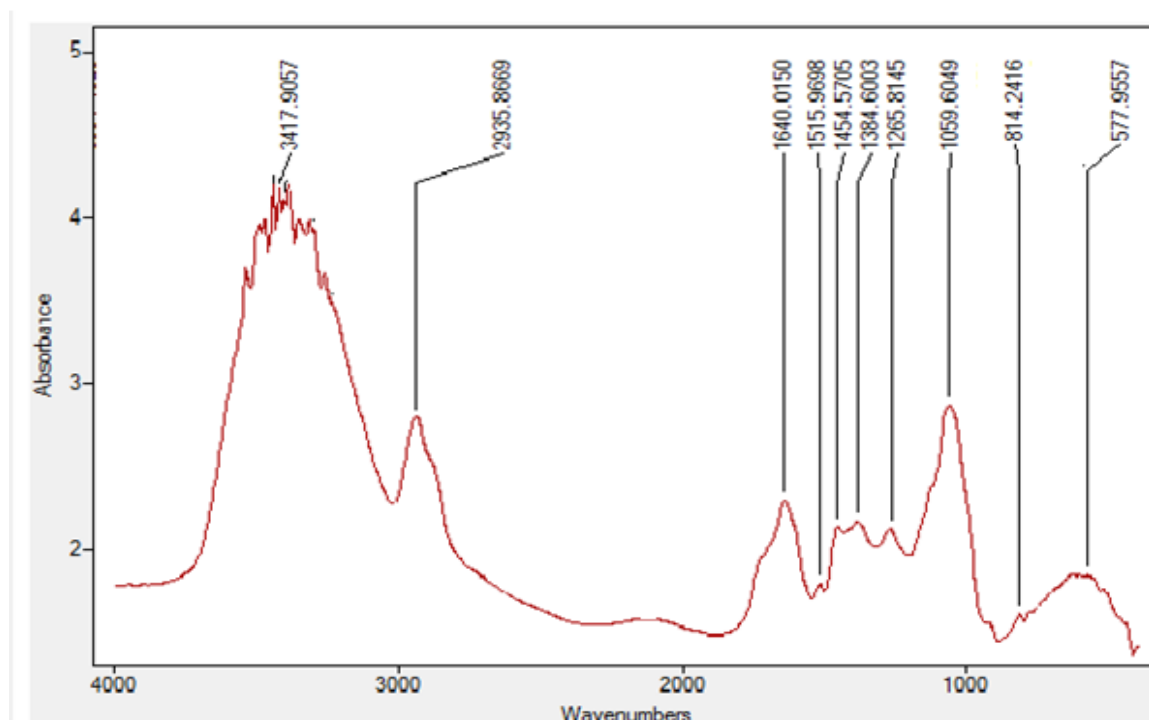


Figure 5. 3 : Caractérisation des saponines par IR

5.4. Interprétation du spectre infrarouge (IR)

L'analyse spectroscopique de la matière végétale indique la présence de bandes de vibration. Le tableau ci-dessous indique avec précision les absorptions infrarouges des différents groupements fonctionnels en indiquant la liaison concernée.

Tableau 5. 3: Fréquence et vibrations du spectre IR de l'extrait de saponine.

Fréquences	Vibration
3417.9057 cm ⁻¹	Dans cette zone, on observe une bande d'absorption très large, hyper intense car on a une fonction O-H liée (dans la molécule impliquée dans la liaison hydrogène)
2935.8669 cm ⁻¹	Vibration de valence de forte fréquence associés à la vibration de la liaison -C-H du groupement méthyle (-CH ₂).
1640.0150 cm ⁻¹	Vibration d'allongement de liaison C= O du cycle
1515.9698 cm ⁻¹	Vibration de valence de forte intensité de la liaison C=O acides carboxyliques
1454.5706 cm ⁻¹	Vibration d'élongation de la liaison c=c du cycle
1334.6003 cm ⁻¹	Vibration d'élongation de fonction dans le plan de liaison O-H du groupe Hydroxyle
1265.8145 cm ⁻¹	Vibration de forte élongation de liaison C-O du cycle
1059.6049 cm ⁻¹	Vibration de valence de l'intensité forte, caractéristique du groupement hydroxyde, liaison O-H alcool primaire
814.2416cm ⁻¹	Vibration d'élongation de forte intensité, caractéristique du groupement de liaison C-H aromatique tri-substitué asymétrique
577.95 cm ⁻¹	Vibration d'allongement de liaison C-O-C du cycle

5.5. Caractérisation physico-chimique de la crème

5.5.1. MESURE DU PH

Le pH d'une crème favorable et conforme aux normes doit être légèrement acide, car la peau à un pH légèrement acide, pouvant atteindre des valeurs de 5.5- 6,5. C'est ce qui permet au film hydrolipidique d'assurer une défense naturelle contre le milieu extérieur. La crème se doit d'avoir un pH qui ne vient pas mettre à mal l'équilibre du film hydrolipidique. Pour cela, nous avons procédé à la mesure à l'aide d'un pH mètre. Il est indispensable de savoir que la valeur lue sur le pH mètre ne peut être retenue comme mesure que lorsqu'elle est stabilisée. La durée de stabilisation est en général de quelques secondes et elle varie en fonction de la nature de la solution ou de l'encrassement de l'électrode.

Tableau 5. 4: Mesures du pH.

Crème	Ph	Crème	pH
1	6,22	14	6,27
2	6,28	15	6,25
3	5,40	16	6,53
4	6,25	17	6,58
5	5,45	18	5,35
6	5,50	19	5,25
7	6,45	20	6,04
8	6,33	22	5,93
9	6,23	23	6,28
10	6,40	24	6,25
11	6,45	25	6,27
12	6,30	26	6,04
13	6,28	27	6,23

D'après les résultats obtenus, présentés sur le tableau ci-dessus, on remarque que les valeurs de pH ont tendance à montrer une légère diminution lorsque la concentration des saponines est plus grande, d'où l'incorporation des saponines a légèrement acidifié notre crème. Cela peut être expliqué par le groupement d'acide que comporte la structure de notre principe actif. Malgré l'acidité du principe actif, les valeurs de pH sont toujours dans les normes et proche de celles de la peau donc on peut dire qu'on a obtenu un résultat satisfaisant.

5.5.2. TEST DE STABILITE (PAR CENTRIFUGEUSE) :

Les tests de stabilité ont été effectués avec une centrifugeuse afin d'accélérer la séparation des deux phases à une vitesse de 2500 tr/min pendant 10 minutes, afin de voir si les crèmes vont rester stables ou non dans le temps.

**Figure 5. 4:** Échantillon de crème centrifugée

Tableau 5. 5 : Résultats du test de centrifugation

Crèmes		Crèmes	
Ordre	Stabilité	Ordre	Stabilité
1	Instable	15	Stable
2	Instable	16	Instable
3	Instable	17	Stable
4	Stable	18	Instable
5	Stable	19	Instable
6	Stable	20	Stable
7	Stable	21	Stable
8	Stable	22	Instable
9	Stable	23	stable
10	Stable	24	Instable
11	Instable	25	Instable
12	Instable	26	Stable
13	Stable	27	Instable
14	Instable		

5.6. Caractérisation de la rhéologie de la crème de référence et des crèmes formulées

5.6.1. TEST DE VISCOELASTICITE

Parmi les différents tests rhéologiques, on s'intéresse à l'étude de la viscoélasticité en régime dynamique.

L'étude des propriétés viscoélastiques linéaires d'un corps permet de caractériser sa structure au repos puisque le comportement linéaire est relié à l'aptitude du matériau à supporter des déformations, sans modification de sa structure à l'échelle microscopique. Dans ce qui suit, on étudiera ce comportement en cisaillement simple, en faisant subir aux crèmes des tests oscillatoires par variation de l'amplitude de la déformation γ de 0.01 à 100%, avec une fréquence f de $1s^{-1}$, à une température égale à 20°C.

Tout d'abord, on a étudié le comportement viscoélastique d'une crème commerciale prise comme référence pour pouvoir optimiser le comportement des crèmes formulées.

L'évolution des deux modules de conservation G' et de perte G'' en fonction de la déformation de cisaillement est illustrée dans la figure (5.6) Aux faibles déformations, on remarque bien que les deux modules sont constants ce qui correspond au domaine de la viscoélasticité linéaire, appelé, LinearVisco-Elastic Range, LVE range. Dans ce domaine, le comportement de la crème est viscoélastique et les déformations enregistrées sont récupérables. Aussi, G' est supérieur à G'' ce qui veut dire que la crème se comporte comme

un solide. Quand la déformation augmente, on remarque que G' diminue et intercepte G'' , ce point-là est appelé point gel. A ce stade le comportement s'inverse, donc pour de faibles déformations le produit se comporte comme un solide viscoélastique, au-delà du point gel le produit se comporte comme un liquide viscoélastique.

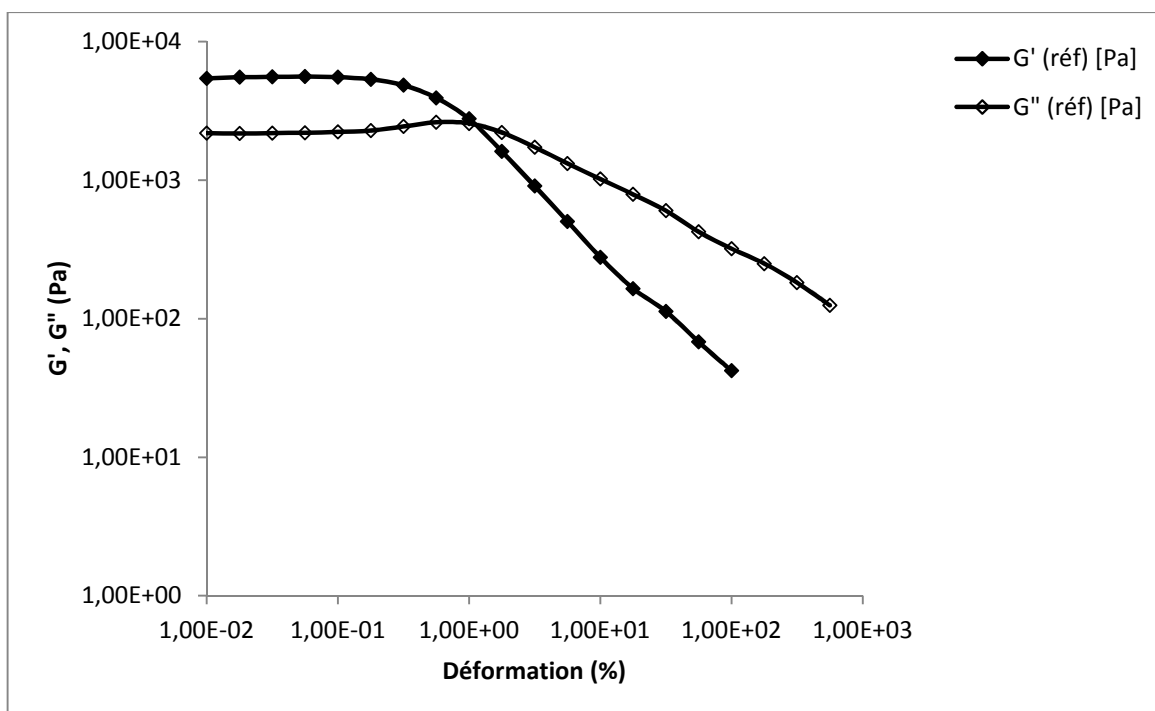


Figure 5. 5: variation des modules de conservation G' et de perte G'' de la crème de référence en fonction de la déformation a $T = 20^{\circ}\text{c}$ et $f = 1\text{hz}$.

Le même test a été effectué aux différentes crèmes formulées. La figure (5.7) présente les résultats de deux crèmes de la matrice d'expériences, comparés à ceux de la référence. Au vu de cette courbe, on remarque bien que le comportement des crèmes formulées est identique à celui de la référence.

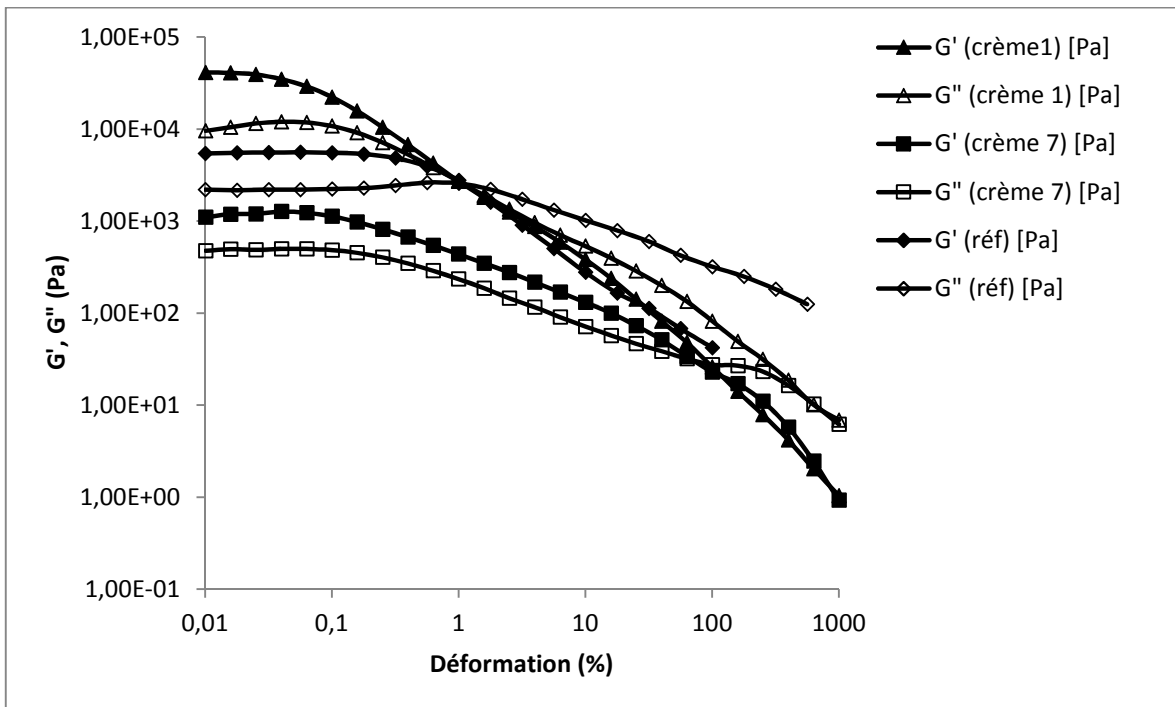


Figure 5. 6: présente les résultats de deux crèmes de la matrice d'expériences, comparés à ceux de la référence

5.6.2. TEST D'ÉCOULEMENT

Le test d'écoulement permet une mesure macroscopique de la force nécessaire pour vaincre les résistances à l'écoulement, ainsi d'évaluer la stabilité et la facilité de prise au moment de l'emploi. Alors, tous les éléments obtenus lors de cette étude permettent de cerner le domaine de variation, auquel les essais présentent un comportement rhéologique intéressant.

Sur la figure (5.8) est représentée une courbe d'écoulement en termes de viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement. À première vue, le comportement des essais et du produit de référence est globalement non newtonien, vu la variation affichée de la viscosité. Toutefois, il apparaît clairement la présence de deux zones : une zone au comportement newtonien à de faibles vitesses de cisaillement et une deuxième zone rhéofluidifiante. C'est un comportement typique d'une crème, sa valeur élevée de la viscosité à faible vitesse de cisaillement traduit sa stabilité et son comportement rhéofluidifiant lorsque le cisaillement augmente traduit son étalement aisé lors de l'application.

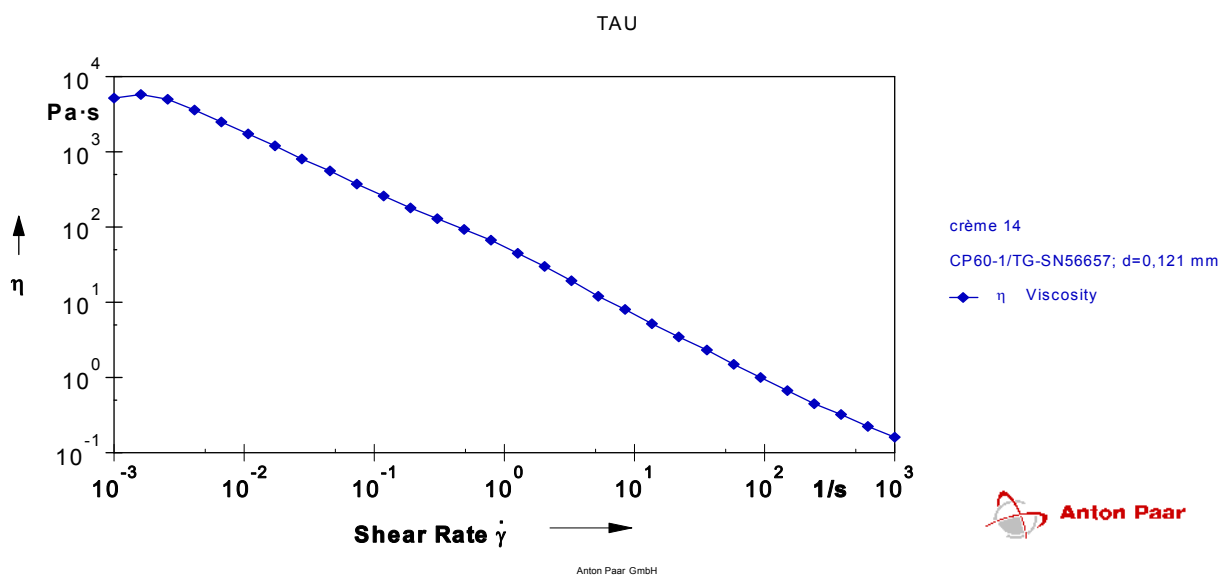


Figure 5. 7 : Représentée une courbe d’écoulement en termes de viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement

La modélisation des courbes d’écoulement nous a permis de dégager les paramètres rhéologiques. Le modèle de Cross a bien décrit le comportement structural des crèmes formulées avec un coefficient de corrélation élevé ($R^2 > 0.9$).

➤ L’équation de cross est écrite comme suit :

$$\frac{\eta - \eta_{\infty}}{\eta_0 - \eta_{\infty}} = \frac{1}{(1 + (K \dot{\gamma})^n)^d}$$

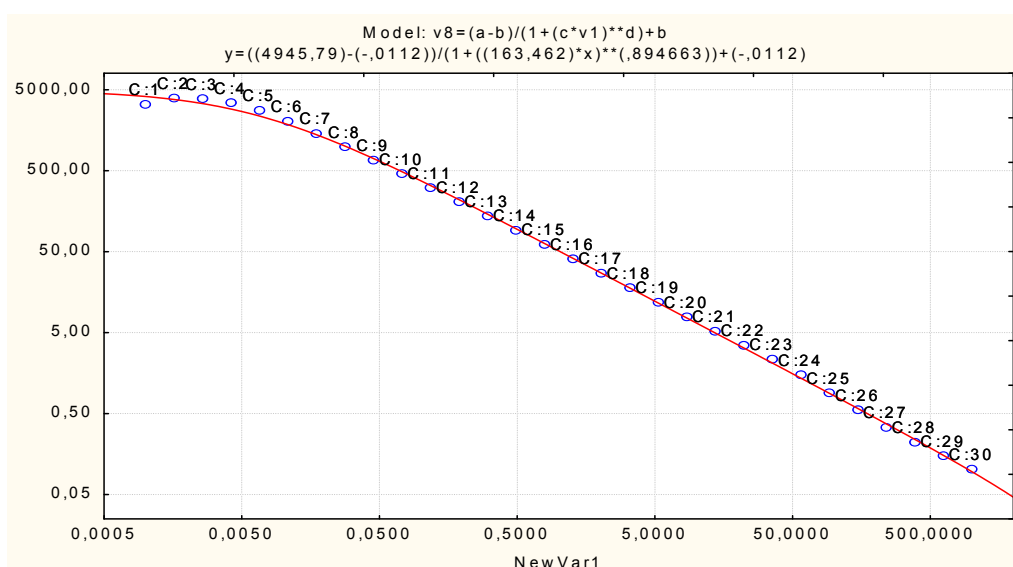


Figure 5. 8 : courbe d’écoulement

5.7 Résultats de l'analyse statistique

Le tableau (5.6) résume les valeurs des paramètres rhéologiques issus de la modélisation des courbes d'écoulement des différentes crèmes formulées. Ainsi, les réponses retenues sont :

η_0 : La viscosité du palier newtonien à faible taux de cisaillement.

K : est le temps caractéristique nécessaire pour obtenir un début de déstructuration et donc un comportement rhéofluidifiant de la crème.

Tableau 5. 6:de matrice d'expériences avec les réponses

Ordres des crèmes	Run Order	η_0	k
1	23	384,055	64,2052
2	12	7923,49	710,744
3	11	2595,81	122,058
4	26	3405,49	231,44
5	24	161,677	28,6862
6	19	4513	317,385
7	22	2102,64	108,579
8	7	4945,79	163,462
9	2	926,518	91,5052
10	20	10678	3141,66
11	21	2851,43	160,577
12	10	9641,46	417,897
13	5	325,811	29,5559
14	9	2347,57	267,229
15	3	3641,89	102,48
16	18	3757,32	120,777
17	16	1607,45	126,889
18	14	9643,68	544,714
19	13	2769,16	216,068
20	15	5170,21	436,056
21	17	2419,5	107,123
22	6	2025,36	73,5419
23	1	5938,79	475,063
24	4	1107,8	44,7878
25	25	1396,84	159,36
26	8	2347,58	217,36
27	27	4702,21	297,531

Le calcul des paramètres des modèles polynomiaux de surface de réponse s'effectue par la méthode des moindres carrés partiels (PLS), en utilisant les valeurs expérimentales des réponses en fonction des concentrations des constituants.

La qualité au sens statistique des résultats, obtenue à l'issue des ajustements, est conditionnée par le coefficient expliquant la variance, R^2 . Il indique à quel point le modèle explique les valeurs observées. Plus il est proche de 1, plus le modèle est bien ajusté (adéquat).

Les expressions mathématiques de ce coefficient est :

$$R^2 = \frac{\sum (y_i - \bar{y})^2 - \sum e_i^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2} \quad 0 \leq R^2 \leq 1 \quad \dots\dots\dots (5.3)$$

Avec :

\bar{y} : Moyenne de l'ensemble des réponses y_i mesurées ;

e_i : Résidu au point i ;

Les valeurs de R^2 et Q^2 en fonction des réponses sont montrées dans l'histogramme suivant figure (5.9)

Le graphe suivant représente le coefficient de corrélation et de prédiction.

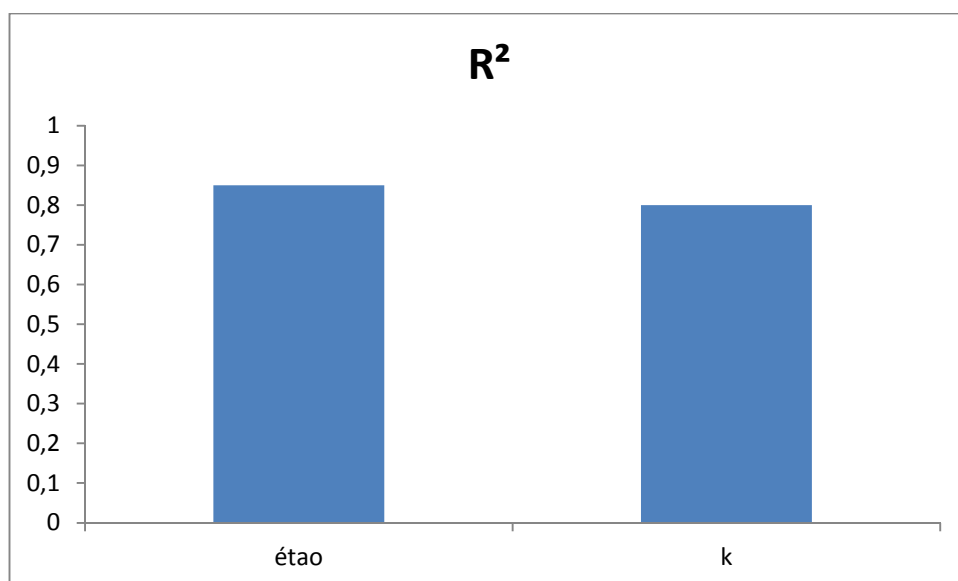


Figure 5. 9 : Représente le coefficient de corrélation et de prédiction des valeurs R^2 pour les réponses eta_0 et K.

Au vu de ces résultats, nous pouvons déduire que les modèles choisis expliquent en grande partie les variations observées. Ceci nous mène à déterminer, par simulation, les effets des concentrations de chaque composant, sur les caractéristiques de l'émulsion, dans le domaine de l'étude.

5.7.1 RESULTATS DE LA MODELISATION

L'histogramme ci-dessous présente les différents effets des facteurs variés, à savoir les concentrations de la phase huileuse, de la gomme xanthane, des saponines et du glycérol, sur les réponses étudiées, ainsi que les interactions entre les facteurs.

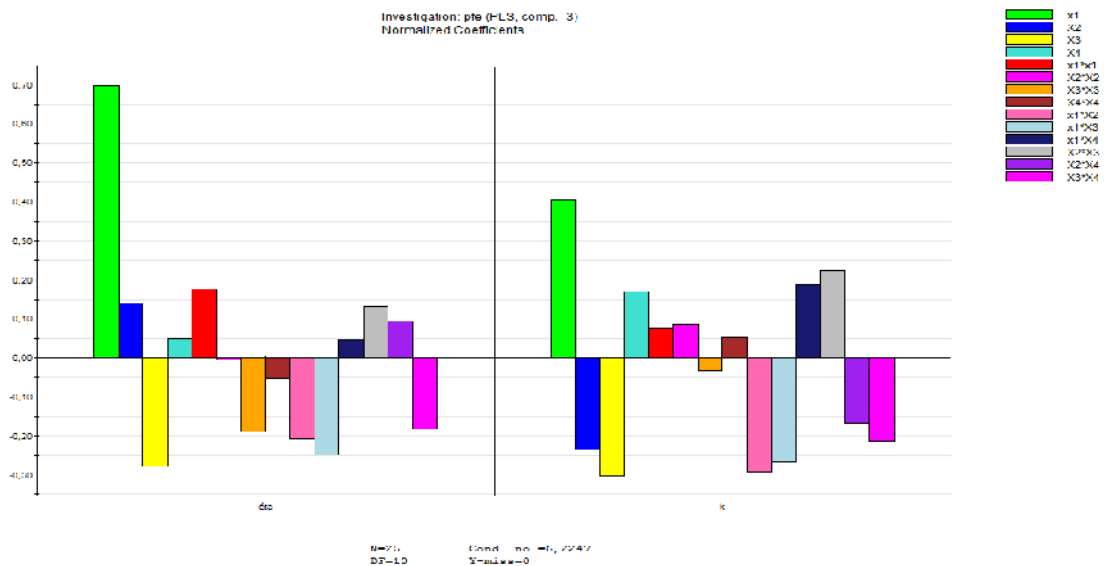


Figure 5. 10: Histogrammes présentant les différents coefficients des modèles mathématiques des réponses étudiées en fonction des facteurs.

Au vu de ces histogrammes, on observe bien que la concentration de la phase huileuse a l'effet le plus important sur les deux réponses, cela veut dire que plus la phase huile est importante plus η_0 et k sont importants et donc plus la crème est consistante. Aussi, l'effet de la concentration des saponines est négatif sur les deux réponses, plus elle augmente, plus η_0 et k diminuent.

Pour mieux visualiser et interpréter ces effets, il est judicieux de tracer les différentes isoréponses sur un diagramme à trois axes.

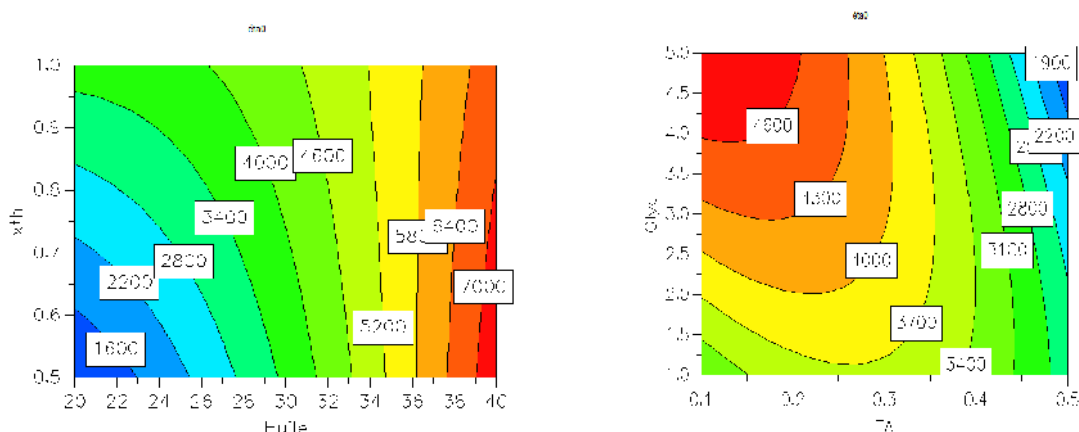


Figure 5. 11: les contours isoreponses de η_0 des cremes en fonction simultanement des concentrations de : (a) l'huile et la gomme xanthne, (b) saponines et glycerol, a 20°C.

Ces isoréponses montrent les effets des différents facteurs sur η_0 . On rappelle que cette dernière est la viscosité de la crème à cisaillement nul, autrement dit au repos, elle traduit donc la consistance de la crème dans son étui d'emballage. Plus η_0 est grande, plus l'aspect crémeux du produit est important. Les courbes tracées montrent bien l'effet positif et important de l'huile et de la gomme xanthane, plus la concentrations de ces deux ingrédients augmente plus la viscosité augmente et ceci est favorable quant à l'aspect de la crème. Par contre, à forte concentration d'huile, l'effet de la gomme xanthane devient négligeable. Aussi, l'effet du glycérol est positif. En revanche, celui des saponines est partaiquement négligeable, sauf dans le cas où la quantité du glycérol est importante, l'ajout du principe actif fait abaisser la viscosité de la crème. Cette observation peut être expliquée par la naissance d'interactions négatives entre les deux ingrédients.

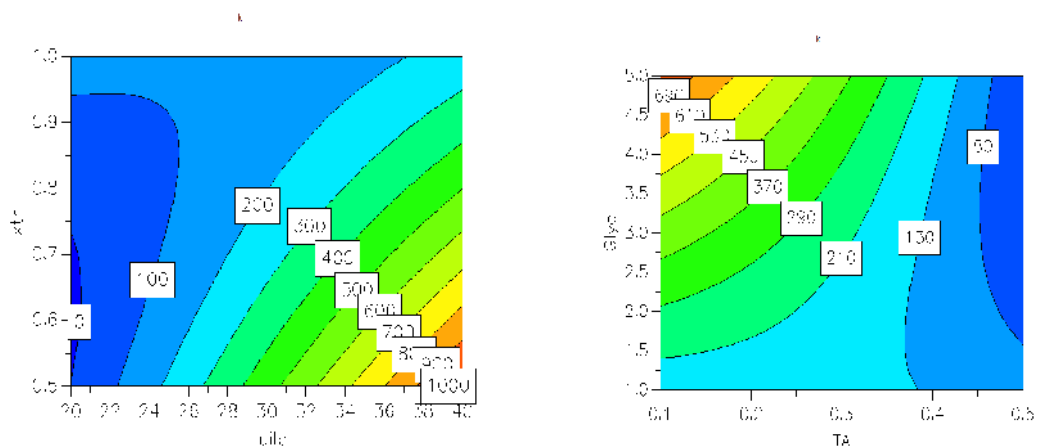


Figure 5. 12: les contours isoreponses du parametre k du modele de cross en fonction simultanement des concentrations de : (a) l'huile et la gomme xanthne, (b) saponines et glycerol, a 20 °C.

Le paramètre K du modèle rhéologique de Cross exprime le temps caractéristique nécessaire pour obtenir un début de déstructuration et donc un comportement rhéofluidifiant de la crème. Plus K est petit, plus l'étalement de la crème est facile. Les contours iso réponses montrent

CONCLUSION

Dans ce travail, il a été question d'extraire de la matière bioactive à partir des feuilles de l'*Hedera hélix*, qui possèdent des constituants à effets antibactérien anti brûlures importants, en vue de l'introduire dans la formulation d'une crème. Il s'agit des saponines tri-terpéniques.

La crème à formuler peut avoir des propriétés thérapeutiques différentes à savoir l'anti-inflammatoire, anti brûlure, cicatrisante...dont l'objet de notre étude est de valoriser essentiellement l'activité anti brûlure de cette crème effectuant des tests *in vivo* sur les rats.

L'opération d'extraction s'est faite par la macération à froid avec de l'éthanol. La mise en évidence de la présence des saponines dans l'extrait récupéré a été faite par la caractérisation de ce dernier par spectroscopie IR et détermination du caractère moussant qui ont répondu positivement.

La crème proposée se compose de deux phases, une phase huileuse comportant l'huile de vaseline, la cire d'abeille et l'alcool cétylique et une phase aqueuse contenant de la gomme xanthane, du glycérol, du tween 80, l'extrait de saponine et de l'eau de rose. Le choix des ingrédients a été fait de telle sorte que la crème à formuler soit la plus naturelle possible et contenant un minimum de produits.

L'optimisation des paramètres de la formulation a été effectuée par des essais préliminaires, sur lesquels nous nous sommes basé pour réaliser un plan des expériences. La méthodologie adoptée repose sur une modélisation en surface de réponses, en faisant varier la concentration de certains ingrédients, à savoir, la fraction volumique de la phase huileuse, les concentrations de la gomme xanthane, du glycérol et de l'extrait des saponines, afin d'étudier les effets de ces ingrédients sur les propriétés rhéologiques et la stabilité de la crème.

La crème formulée à base des saponines a été caractérisée par deux tests rhéologiques: test de viscoélasticité en régime dynamique et test sous écoulement. Les courbes d'écoulement ont été modélisées à l'aide du modèle de Cross afin de faire ressortir les paramètres à étudier. Les résultats obtenus ont été comparé au comportement d'une crème de référence. Les résultats s'avèrent satisfaisants.

Les résultats de la modélisation en surface de réponses nous ont permis d'obtenir des modèles prévisionnels des réponses retenues, relatives aux paramètres d'écoulements du modèle de Cross, en fonction des concentrations des ingrédients variés. Grâce à ces modèles prévisionnels on a pu tracer les contours iso réponses afin de déterminer les effets des différents facteurs étudiés.

A partir de l'étude des contours iso-réponses, il a été déduit que les ingrédients responsables de l'augmentation de la viscosité sont la gomme xanthane et l'huile. Quant à l'ajout de l'extrait des saponines par contre fait réduire ce paramètre. Il faudrait alors faire un compromis et trouver une zone optimale où la crème est suffisamment visqueuse pour rester stable dans le temps.

Nous avons également effectué un test oscillatoire, faisant varier la fréquence à une déformation suffisamment petite pour rester dans le domaine linéaire (crème au repos). La crème présente un comportement de fluide purement rigide ($G' > G''$) dans tout le domaine de fréquence étudié, ce qui démontre la stabilité de notre crème au cours du temps.

Cependant, comme tout travail réalisé, nous nous sommes heurtés à des difficultés d'ordre expérimental, En dépit des désagréments constatés, nous avons pu atteindre notre objectif qui était d'extraire un principe actif bio afin de l'utiliser dans la formulation d'une crème anti-brûlure.

Ce pieux objectif, ne peut être atteint qu'en s'appuyant sur les résultats obtenues et les expériences que nous avons engrangé dans ce modeste travail de mémoire. Nous demeurons résolument convaincus que ce travail nous servira dans l'avenir. Il serait donc intéressant de mener une étude plus approfondie sur l'*Hedera hélix*, afin de pouvoir réaliser un extrait pur en éliminant ce qui semble toxique en passant par les mêmes démarches faites sur l'extrait. Ce qui valoriserait d'avantage et limiterait toutes importations et ouvrirait les portes vers l'utilisation de la flore continentale pour la fabrication des médicaments synthétisés à base de cette plante.

Nous pensons montrer à travers ce travail que le lierre constitue un réservoir très intéressant pour un bon investissement dans le futur.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]. ALI KALLA : Thèse de doctorat : Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius*, *Rantherium adpressum* et *Traganum nudatum*; Soutenue le 04 /10 / 2012
- [2]. Dr, SANOGO : Les rôles des plantes médicinales en médecine traditionnelle ; 10eme école d'été de l'IEPF et du SIFEE du 06 au 10 juin 2006.
- [3]. The Complete German Commission E Monographs - Therapeutic Guide to Herbal Medicines, American Botanical Council, US 1998.
- [4]. Jean-Marie Gozengel. Anne-Marie Orechioni: Le préparateur en pharmacie 2^e édition
- [5]. Iserin P, Masson M., Restellini J. P, Ybert E, De Laage de Meux A, Moulard F, Zha E, De la Roque R., De la Roque O, Vican P., Deelesalle –Féat T, Biaujeaud M , Ringuet J, Bloth J. et Botrel A. (2001). Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse. p10-12.]
- [6]. Strang C. (2006). La rousse médicale. Ed Larousse.
- [7]. F.E.BILZ Dr. La Médication naturelle Traité populaire sous forme Dictionnaire pratique W.WOLFF, Dr GEHRMANN. Début 1900 Photo de couverture : Echinacée – *Echinacea angustifolia*
- [8]. Dr Ben Moussa MT : Cour de la phytothérapie ; Département de pharmacie Batna Laboratoire de pharmacognosie (3^{ème} année)
- [9]. Gaussen, H., Deuroy, J.F and Ozenda P. (1982) Précis de botanique II « Les végétaux supérieurs ». Ed : Masson ; pp215-408).]
- [10]. FINTELMANN, V et WEISS, R.F. Manuel pratique de phytothérapie. Edition Vigot. Paris. (2004). P: 204.
- [11]. Wolfgang Hensel, welche Heilpflanze IST das@2007Franckh-Kosmos verlags-GmbH&co, Stuttgart .Edition Française@Delachaux et Nestlé SA, Paris 2008, ISBN : 978-2-603-01531-5 : Les indispensables nature de Del chaux, 350 plantes médicinales

- [12].BEDRY.RetJOUGLARD.J."HederahelixL".IPCSINCHEM.France.1997.<http://www.inchem.org/documents/pims/plant/pim258fr.htm#SubSectionTitle:3.1.1Caractéristiques essentielles permettant l'identification>
- [13]. SFO PCV 45, Grand'Rue 79200 La Peyratte Tel 05.49.64.43.91, Op Tech : Observatoire de l'environnement Poitou Charentes, Webmaster (Photographie : Jean-Pierre RingAngles sur Anglin17 février 2008), Les baies du Lierre (Hedera hélix)
- [14]. AMEENOH GURIB-FAKIN Toutes plantes qui soignent, description, utilisation, action, thérapeutique.
- [15]. Ce livre est publié sous la licence libre Creative Commons BYNCND:<http://creativecommons.org/licenses/byncnd/2.0/be/>)
- [16]. JAAN-PHITIPPE ZAHALKA, les plantes en pharmacie propriétés et utilisation
- [17]. Avilov, S.A., Kalinovsky, A.I., Stonik, V.A., Riguera, R., Jiménez, C. Koreaside A, a new nonholostane triterpene glycoside from the sea cucumber cucumariakoraiensis. J.Nat.Prod p 60, p 808–810 ,1997.
- [18]. AAREF. M & HADED. M. Contribution à l'étude phytochimique, les activités biologiques (Antioxydante et Antibactérienne) d'une plante médicinale Cleome arabica L (région d'Oued Souf). Mémoire du Master. Université El Chahid Hamma Lakhder. Oued Souf. Algérie. 2015. P : 3-19.
- [19]. MERGUEM. R. Eléments de biochimie végétal. Bahaeddine Edition. Algérie.2009. p : 93-158.
- [20]. V. David, A. Valerie, K. Stephanie, C. Cheze, J. Vercauteren; Thèse de doctorat.Université Segalen Bordeaux.
- [21]. J. Zhang and J. S-Brodbelt; Threshold dissociation and molecular modeling of transition metal complexes of flavonoïds. Texas.2005. J An Soc Mass Spectrom 16,139-151.
- [22]. LEGRAND. G. Contribution à la caractérisation du métabolisme des acideschlorogéniques chez la chicorée : approches biochimique et moléculaire. Thèse de doctorat. Université de Lille1. France. 2015. p : 35-60.

- [23]. KRIEF. S. Métabolites secondaires des plantes et compartiment animaux : Surveillance sanitaire et observation de l'alimentation des chimpanzés (*Pan troglodytes schweinfurthii*) en OUGANDA. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse du doctorat. Muséum national d'histoire naturelle. Paris. France. 2003. P : 18-31.
- [24]. GHIASHIAS.U et *al.* "Preliminary Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of *Hedera Helix L.*". Middle-East Journal of Scientific Research. 2011 ; 8; 198-202.
- [25]. AMEENOH GURIB-FAKIN Toutes plantes qui soignent, description, utilisation, action, thérapeutique.
- [26]. Rachel POIROT : Thèse de doctorat : METHODOLOGIE POUR LE PASSAGE EN CONTINU D'EXTRACTION DE SOLUTE A PARTIR DE MATIERE VEGETALE ; 13 Décembre 2007
- [27]. LEE S T, MITCHELL R B, GARDNER D R, WANG Z, AZADI P, HEISS C. Isolation, characterization, and quantification of steroidal saponins in Switchgrass (*Panicum virgatum L.*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009.
- [28]. Grégory Genta Jouve : Université de Paris Descartes ; faculté de pharmacie ; Cours : Spectrométrie de masse appliquée aux Substances Naturelles.
- [29]. HEMWIMON S., PAVASANT P. et SHOTIPRUK A., 2007-Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. Separation and Purification Technology. 54: 44-50.
- [30]. MOTTALEB M A, SARKER S D, Chapter 4-Accelerated solvent extraction for natural products isolation. In : Natural Products Isolation, Maryville : USA, 2012, pp. 75-87.
- [31]. Grégory Genta Jouve : Préparation des échantillons pour l'analyse en LC MS ; Université de Paris Descartes ; faculté de pharmacie de Paris
- [32]. Dr. BENABDALLAH Hassiba : Université Ferhat Abbas de Sétif : Polycopié du Cours : Techniques d'extraction, de purification et de Conservation, 2015/2016
- [33]. Djedri-Bani.S : Université de Blida 1 : Master 2 M.P.O.I (2013-2014), Responsable du module cosmétique

[34]. Jean-Marie AUBRY : Ingénieur de l'École supérieure de physique et de chimie industrielles de Paris (ESPCI) Professeur à l'École nationale supérieure de chimie de Lille, J 2 1101

[35]. Matilde Minana-Perez : CAHIER FIRP N°F372-A, Modules d'enseignant en phénomènes inter-faciaux ; Universidad de Los Andes ; FACULTAD DE INGENIERIA, version # 1 (1991)

[36]. Législation et réglementation – Produits cosmétiques et d'hygiène corporelle Les éditions du journal officiel, Paris, 1997

[37]. NADINE PIERAT. PREPARATIONS D'EMULSIONS PAR INVERSION DE PHASE INDUITE PAR AGITATION. THESE DE DOCTORAT. UNIVERSITE HENRI POINCARÉ -NANCY 1. 2010. p.7

[38]. Bhandari, B.R., Dumoulin, E. et H. Richard. Techniques de préparation d'arômes élaborés (chapitre 7) dans Les arômes alimentaires, Éd. Lavoisier, Paris, 1992. 438p.

[39]. Anisha Agrawal, Sunisha Kulkarni, Shyam Bihari Sharma. Recent advancements and applications of multiple emulsions. School of Studies in Pharmaceutical Sciences, Jiwaji University, Gwalior, Madhya Pradesh, India. International Journal of Advances in Pharmaceutics. 2015.

[40]. Retrouver ce document sur le portail national Physique-Chimie – [http://eduscol.education.fr/physique-chimie/Vangelis Antzoulatos](http://eduscol.education.fr/physique-chimie/Vangelis_Antzoulatos) est agrégé de chimie et docteur en histoire et épistémologie des sciences. Et a enseigné la formulation en BTS Peintures Encres Adhésifs de 2000 à 2016.

[41]. Puisieux F, Seiller M (1983), Galenica . Les systèmes dispersés. 1 Agents de surface et émulsions Techniques et Documentation. Editions Lavoisier, France.

[42]. F.Rivoal et M.Vidal (Lycée Saint Louis- Bordeaux), Les cosmétiques ou produits d'hygiène corporelle

[43]. Gibbs, J. W. The collected work of J. W. Gibbs. Longman's, Green, (1931).

[44]. LACHARME, F, Les produits cosmétiques biologique : labels, composition et analyse critique de quelques formules, thèse doctorat, de l'université de JOSEPH FOURIER, 2004

[45]. Karam, A., Le glycérol, une matière première renouvelable pour la préparation catalytique de nouveaux bioproduits, 2010, Thèse de l'Université de Poitiers.

[46]. <http://www.minutefacile.com/cuisine/recettes-desserts/12384-recette...>

[47]. CHABNI Malika. Thèse de doctorat : Etude de la stabilité physique des systèmes dispersés, Mais 2012.

[48]. 2013, c'est l'année Internationale du Quinoa Publié le 4 novembre 2012 par Le monde du quinoa.

INTRODUCTION

CHAPITRE 1

LA PHYTOTHERAPIE

CHAPITRE 2

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE

PLANTE SÉLECTIONNÉE : LE

LIERRE GRIMPANT.

**CHAPITRE 3 : FORMULATION
D'UNE CREME ANTI BRULURE**

CHAPITRE 4

MATERIELS ET METHODES

CHAPITRE 5

RESULTATS ET DISCUSSIONS

CONCLUSION

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES