

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

UNIVERSITÉ BLIDA I
Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés



Mémoire de Fin d'Études de Master en
GÉNIE DES PROCÉDÉS
Spécialité : Pharmacie industrielle

Thème

**Formulation d'une crème à effets anti-
inflammatoire, antifongique et antibactérien
en utilisant de l'huile essentielle de résine
de pin d'Alep**

Présenté par :

- MERMOUL Yasmine
- ABDULLAH-JARRAR Marwa
- DOUIK Abdeslam

Encadrés par :

CHIKH R.

Année universitaire 2023/2024

في هذا العمل ، تمت صياغة كريم باستخدام زيت الأساسي لراتنج الصنوبر الحلبي ،الذي له خصائص إيجابية في علاج الأمراض الجلدية ، بما في ذلك الالتهابات والالتهابات الفطرية والبكتيرية. بعد استخراج الزيت العطري ، تم استكشاف المراحل المختلفة للصياغة ، بما في ذلك اختيار المكونات ، وكذلك اختبارات فعالية الكريم المطور.

الكلمات المفتاحية: راتنج الصنوبر الحلبي ، زيت التربينتين ، صياغة ، كريمة ، مضادات الميكروبات ، مضادات للالتهابات ، مضادات للفطريات.

Abstract

In this work, a cream was formulated using Aleppo pine resin essential oil, having positive properties on the treatment of skin conditions, including inflammations, fungal and bacterial infections. After the extraction of the essential oil, the different stages of formulation were explored, including the choice of ingredients, as well as the efficacy tests of the cream developed.

Keywords: Aleppo pine resin, turpentine essence, formulation, cream, antimicrobial, anti-inflammatory, antifungal.

Résumé

Dans ce travail, une crème a été formulée en utilisant de l'huile essentielle de résine de pin d'Alep, ayant des propriétés positives sur le traitement des affections cutanées, notamment les inflammations, les infections fongiques et bactériennes. Après l'extraction de l'huile essentielle, les différentes étapes de formulation ont été explorées, incluant le choix des ingrédients, ainsi que les tests d'efficacité de la crème élaborée.

Mots-clés : résine de pin d'Alep, essence de térébenthine, formulation, crème, antimicrobien, anti-inflammatoire, antifongique.

Remerciements

Avant toute chose, nous remercions ALLAH, Le Tout Puissant, pour nous avoir orientés vers le droit chemin, pour nous avoir aidés tout au long de nos années d'études, ainsi pour nous avoir donnés la force, la volonté et la patience dans l'accomplissement de ce travail.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à notre promotrice Mme Rebiha CHIKH, qui nous a dirigés avec sa patience, ses conseils et sa disponibilité tout au long de la réalisation de ce mémoire, et surtout pour sa bonne humeur.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous nos professeurs et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont accepté de nous rencontrer et de répondre à nos questions durant nos recherches.

A tous les membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous tenons à remercier également M ATTOU Islam , pour nous avoir recueillis et nous avoir facilité la réalisation de notre formulation au sein des laboratoires VENUS, ainsi que pour l'expérience enrichissante qu'il nous a transmis au cours de notre stage.

Mais avant tout, merci à nos familles, sans qui sans eux nous n'aurons sans doute jamais eu le courage ni l'énergie de finir ce travail.

YASMINE, MARWA, ABDESLAM

DÉDICACES

Tout d'abord, je remercie Dieu, notre Créateur, de m'avoir donnée la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

Je dédie ce travail

À mes chers parents,

Rien ne pourra jamais exprimer toute ma gratitude envers vous. C'est grâce à votre amour inconditionnel, votre soutien indéfectible et vos encouragements constants que j'ai pu mener à bien ce travail. Vous avez toujours cru en moi et m'avez donnée la force de persévérer dans les moments difficiles. Puisse ce mémoire être le reflet de votre dévouement et de vos sacrifices. Je vous dédie le fruit de ces années d'études, en espérant vous rendre fiers.

À mes frères et sœur : FELLA, SOFIANE et AYMEN

Merci d'avoir égayé mon quotidien et d'avoir su me changer les idées quand j'en avais besoin.

Votre présence et votre soutien ont été précieux tout au long de ce parcours.

À tous mes amis, HANA, YOUSRA, IKRAM, AYA, MARWA, ISLAM et ABDOU

Merci d'avoir été là, de m'avoir encouragée et soutenue. Votre affection et votre présence à mes côtés ont été un véritable réconfort.

À tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce travail,
je dis un grand merci

YASMINE

DÉDICACES

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance.
C'est tout simplement que je dédie ce mémoire de master :

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

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

A mes chères sœurs Rama et Arim

A mes chers frères Mosab et Omar

A mes amies : Azad, Hana, Yasmine, Haya

À mes partenaires dans ce mémoire : Yasmine et Islam

MARWA

DÉDICACES

Tout d'abord, je remercie Dieu, notre Créateur de m'avoir donné la force, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

Je dédie ce travail :

À mes parents, pour leur amour inconditionnel, leur soutien indéfectible et leurs encouragements constants tout au long de ce voyage académique.

À mes professeurs, pour leur expertise, leur patience et leur guidance précieuse qui m'ont permis de grandir tant sur le plan intellectuel que personnel.

À mes amis, pour leur soutien moral, leurs encouragements et les moments de détente bien mérités qui ont égayé les moments de stress.

À toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire, je vous adresse ma plus sincère gratitude.

ABDESLAM

Table des matières

Résumé.....	Erreur ! Signet non défini.
<i>Remerciements</i>	ii
DÉDICACES	iii
Listes des figures	viii
Liste des tableaux	x
Liste de Abréviations	xi
INTRODUCTION GÉNÉRALE	1

CHAPITRE I : Phytothérapie

I. Historique	2
I.1 Phytothérapie dans le monde	2
I.2 Définition de la phytothérapie	2
I.3 Types de phytothérapies	4
I.4 Avantages et efficacité de la phytothérapie	4
I.5 Limites de la phytothérapie	5
I.6 Réglementation	6

Chapitre II : Étude bibliographique sur le pin d'Alep

II. Généralités sur le genre pinus	9
II.1 Le Pin d'Alep : Pinus halepensis	9
II.2 Description botanique du pin d'Alep	10
II.2 Biogéographie et répartition du pin d'Alep	11
II.3 Taxonomie	13
II.4 Noms usuels	14
II.5 Résine de pin d'Alep	14
II.6 Type de résines de pin	16
II.7 Oléorésine	16
II.8 Utilisations thérapeutiques de la résine de pin d'Alep	20

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1 Introduction	23
III.2 Matière végétale.....	23
III.3 Méthode d'extraction de l'huile essentielle	24
III.4 Étude du pouvoir antimicrobien et antifongique	26
III.5 Analyse par spectrométrie infrarouge de l'HE	29
III.6 Préparation de la crème.....	29
III.7 Contrôle qualité physico-chimique du PF.....	34
III.8 Contrôle de qualité microbiologique.....	37
III.9 Test de toxicité de PF.....	37

Chapitre VI : Résultats et discussions

IV.1 Calcul du rendement.....	38
IV.2 Résultats de l'antibiogramme de l'essence de térébenthine.....	38
IV.3 Résultats de l'analyse par spectrométrie infrarouge de l'HE.....	40
IV.4 Résultat du contrôle de qualité de PF.....	40

Conclusion générale

Références bibliographiques

Listes des figures

Figure	Titre	Page
Figure II.1	Le Pin d'Alep (<i>Pinus halepensis</i> Mill)	9
Figure II.2	Pin d'Alep : (a) arbre, (b) cônes, (c) aiguilles, (d) chatons, (e) graines et (f) écorce	10
Figure II.3	Répartition du pin d'Alep dans la région méditerranéenne	12
Figure II.4	Répartition du pin d'Alep en Algérie	12
Figure II.5	Résine de pin d'Alep	14
Figure II.6	Méthode de gemmage traditionnelle (Chrèa)	15
Figure II.7	Méthode de gemmage en vase clos	16
Figure II.8	Structure chimique de la colophane	17
Figure III.1	Résine avant le traitement	24
Figure III.2	Résine après le traitement	24
Figure III.3	Schéma du principe de l'hydrodistillation sous micro ondes	24
Figure III.4	Pesée de résine	25
Figure III.5	Position du ballon dans le micro ondes	26
Figure III.6	Montage d'hydrodistillation	26
Figure III.7	Accumulation de l'HE	26
Figure III.8	Schéma de la méthode de l'antibiogramme	28
Figure III.9	Préparation de la phase aqueuse	31
Figure III.10	Phase l'huileuse	32
Figure III.11	Homogénéisation du mélange	32
Figure III.12	Crème homogène	33
Figure III.13	Organigramme du procédé de préparation de la crème	34
Figure IV.1	Recherche de <i>Candida albicans</i>	39
Figure IV.2	Recherche d' <i>Aspergillus Niger</i>	39
Figure IV.3	Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i>	39
Figure IV.4	Recherche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39

Figure IV.5	Analyse par spectrométrie infrarouge de l'HE de résine de pin d'Alep	40
Figure IV.6	Résultat du test de vieillissement accéléré	41
Figure IV.7	Observation sous microscope optique ($\times 10$) du PF	43
Figure IV.8	Lame micrométrique (x10)	43
Figure IV.9	Image sous microscope optique du PF après son traitement par le logiciel Image-J	44
Figure IV.10	Fréquence cumulées en fonction des tailles des gouttelettes	44
Figure IV.11	Courbe d'écoulement de la crème à 20 °C et 45 °C	45
Figure IV.12	Tests microbiologique	46

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau II.1	Répartition du pin d'Alep en Algérie	13
Tableau II.2	Caractéristiques organoleptiques et physico chimiques de l'essence de térébenthine	18
Tableau II.3	Composition chimique de l'essence de térébenthine du pin d'Alep	19
Tableau III.1	Matières premières utilisés	30
Tableau IV.1	Diamètre d'inhibition de quelques souches bactériennes et fongiques	39
Tableau IV.2	Résultats des contrôles organoleptiques	41
Tableau IV.3	Résultats des tests de stabilité aux températures extrêmes pendant 30 jours	42
Tableau IV.4	Résultats du contrôle microbiologique	46
Tableau IV.5	Résultats de test d'irritation cutanée	47

Liste des abréviations

- **H/E** : huile/eau.
- **IK** : indice de Kovalts
- **OMS**: organisation mondiale de la santé.
- **PA** : principe actif
- **PF** : produit fini
- **HE** : huile essentielle
- **CA** : cire d'abeille
- **CMI** : concentration minimale inhibitrice
- **IR** : infra rouge
- **UV** : ultra violet
- **W** : Watt
- **Min** : minute
- **R (%)** : rendement
- **Tr /min** : tour par minute
- **η_{app}** : viscosité apparente
- **MABP** : matières actives à base de plantes
- **Cps** : centipoise
- **AEM** : agence européenne des médicaments
- **ESCOP** : european scientific cooperative on phytotherapy

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les plantes médicinales ont été utilisées par les civilisations du monde entier depuis des millénaires pour traiter diverses affections et préserver leur bien-être. En effet, depuis l'Antiquité, elles ont été employées grâce aux connaissances empiriques transmises de génération en génération. Aujourd'hui, on étudie les éléments actifs de ces plantes, leurs mécanismes d'action et leurs efficacités cliniques, ce qui permet de faire de nouvelles découvertes et d'en utiliser au profit de la santé. L'alliance entre la tradition et la recherche scientifique offre un immense potentiel pour la création de traitements innovants et naturels [1].

L'exploration des ressources naturelles pour leurs propriétés thérapeutiques a toujours été au cœur de la recherche pharmaceutique. Parmi ces ressources, la résine de pin émerge comme un ingrédient prometteur, riche en composés bioactifs aux multiples bienfaits pour la santé. Dans ce mémoire, nous nous pencherons sur la préparation d'une crème huile-dans-eau à base de l'huile essentielle de résine de pin d'Alep, mettant en lumière son potentiel en tant qu'agent thérapeutique aux effets antifongiques, anti-inflammatoires et antimicrobiens.

La résine de pin d'Alep, extraite des arbres de conifères, a été traditionnellement utilisée pour ses propriétés médicinales dans de nombreuses cultures à travers le monde. Sa composition complexe comprend une variété de terpènes, de flavonoïdes, d'acides phénoliques et d'autres composés bioactifs, qui lui confèrent ses vertus thérapeutiques remarquables. Ces composés ont démontré leur efficacité dans le traitement de diverses affections cutanées, allant des infections fongiques aux inflammations cutanées et aux infections microbiennes [2, 3].

Ce travail est présenté en quatre chapitres. Le 1^{er} chapitre aborde quelques aspects généraux de la phytothérapie : ses types, ses avantages et efficacités et les réglementations auxquelles elle est soumise selon l'OMS. Le 2^{ème} chapitre est une étude bibliographique sur le pin d'Alep, fournissant des données générales sur cette espèce ainsi qu'une description détaillée de l'arbre. Il explore en particulier la résine de pin. Le 3^{ème} chapitre, est réservé aux méthodes et matériels utilisés. Enfin, le 4^{ème} chapitre regroupe tous les résultats obtenus et leurs discussions.

CHAPITRE I

Phytothérapie

I. Historique**I.1 Phytothérapie dans le monde**

Les soins par les plantes, aussi appelées « les simples », ou la phytothérapie, est une science millénaire basée sur un savoir empirique qui s'est transmis et enrichi au fil d'innombrables générations. Il est très difficile d'établir avec précision l'origine de la première utilisation des plantes par les humains comme thérapie car toutes les cultures les ont utilisées à un moment de leur histoire comme source de traitement.

Au cours de l'évolution : hasard, négligence et une indéterminable série d'essais et d'erreurs ont permis à l'homme d'acquérir des bonnes et des mauvaises expériences avec les différentes espèces (herbes, arbres, mousse, champignon, etc.). On choisissait souvent les plantes pour leur apparence qui évoquait un organe ou une affection et il s'avéra souvent que cette similitude indiquait mystérieusement un effet thérapeutique.

A l'origine, il semble que la transmission du savoir se fait de façon orale et se perpétue avec la tradition. La phytothérapie a été pendant des siècles, utilisée par les chamans, les druides et les prêtres dans leurs pratiques mystiques et c'est au fil des siècles que l'homme a su exploiter les vertus thérapeutiques des plantes [4].

I.1.1 La phytothérapie en Algérie

En Algérie, les plantes jouent un rôle important dans la médecine traditionnelle et sont elles-mêmes largement utilisées dans divers domaines de la santé. Des publications anciennes et nouvelles indiquent qu'un grand nombre de plantes médicinales sont utilisées pour traiter et prévenir de nombreuses maladies. Ces dernières années, la phytothérapie traditionnelle est devenue largement utilisée dans le pays. Les données recueillies par le centre national du registre du commerce montrent qu'à fin 2009, il y avait 1926 vendeurs spécialisés dans la vente de matériels médicaux en Algérie, dont 1393 personnels permanents et 533 personnels mobiles. La capitale compte à elle seule le plus grand nombre de magasins, avec 199, suivie par la wilaya de Sétif (107), Béchar (100) et la wilaya d'El-Oued avec 60 magasins [5]

I.2 Définition de la phytothérapie

Le mot phytothérapie se compose étymologiquement de deux racines grecques : "photon" et "therapeia" qui signifient respectivement "plante" et "traitement". La phytothérapie

est la somme des connaissances, compétences et pratiques qui reposent sur les théories, croyances et expériences propres à une culture et qui sont utilisées pour maintenir les êtres humains en bonne santé ainsi que pour prévenir, diagnostiquer, traiter et guérir des maladies physiques, mentales ou le déséquilibre social. Elle est reliée à une expérience pratique et à des observations faites de génération en génération et transmises de façon orale ou écrite [5,6].

On distingue à l'heure actuelle, deux concepts distincts :

- **La phytothérapie moderne** qui s'appuie sur des connaissances biochimiques et cherche à soulager les symptômes grâce à des principes actifs identifiés, des tests cliniques et des ingrédients dans les plantes médicinales. Elle utilise principalement des produits d'origine végétale obtenus par extraction qui sont incorporés dans des formules présentées comme toute autre spécialité pharmaceutique [7].
- **La phytothérapie dite « traditionnelle »** qui est une alternative conçue pour traiter les symptômes d'une maladie. Ses origines peuvent parfois être très anciennes et reposent sur l'utilisation des plantes pour des vertus découvertes par l'expérience, pour traiter des pathologies saisonnières allant des troubles psychosomatiques légers aux symptômes hépatobiliaires, en passant par les troubles digestifs ou dermatologiques [8].

La phytothérapie connaît actuellement un regain d'intérêt, en partie grâce aux évolutions technologiques et aux avancées scientifiques, qui ont permis de démystifier les ingrédients végétaux et d'en faire des remèdes plus simples, grâce à l'avènement de la simplicité et de la pratique. On note notamment un énorme succès avec le grand nombre de livres, d'articles, de sites Internet et de blogs consacrés à la promotion des nombreuses vertus et utilisations des plantes, ainsi que de nombreux remèdes de grand-mères qui étaient auparavant relégués au placard ou jetés [9].

La phytothérapie, au sens large, peut englober plusieurs familles de produits qui n'ont pas tous les mêmes caractéristiques : les plantes médicinales en vrac, les préparations pharmaceutiques, les médicaments à base de plantes fabriqués industriellement et les compléments alimentaires. Elle est surtout utilisée dans le traitement des troubles bénins mineurs (fatigue, rhume, troubles digestifs, etc.). En revanche, elle ne doit pas être utilisée pour certaines pathologies telles le cancer, le diabète et les maladies cardiovasculaires. Elle propose des traitements et des remèdes acceptés par l'organisme et souvent associées aux traitements conventionnels [10].

I.3 Types de phytothérapies

La phytothérapie comprend différentes types :

- Aromathérapie : c'est une thérapie qui utilise les substances aromatiques (essences) secrétées par de nombreuses plantes. Ces huiles sont des produits complexes et sont souvent utilisées à travers la peau.
- Gemmothérapie : elle se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes de végétaux, tels que les bourgeons et racinelles.
- Herboristerie : c'est la thérapie la plus classique et ancienne. L'herboristerie se sert de plante fraîche ou séchée. Elle utilise la plante entière ou 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 des formes plus modernes, telles que les gélules de poudres de plantes sèches.
- Homéopathie : elle a recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive. Les trois quarts de principes actifs qu'elle emploie sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.
- Phytothérapie pharmaceutique : elle utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans l'alcool éthylique ou autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme de sirop, gouttes, gélules et lyophilisats [11].

I.4 Avantages et efficacité de la phytothérapie

De nombreuses études scientifiques relatent les effets bénéfiques des plantes, parfois même supérieurs aux médicaments, et ce dans les plus grandes revues médicales.

Quatre organismes aujourd'hui s'attachent à démontrer leur efficacité :

- L'AEM
- l'ESCOP
- l'OMS
- La Commission E en Allemagne

Ces 4 instances répertorient les vertus médicinales des plantes, étudient leurs usages traditionnels et se prononcent sur leur utilité dans le traitement de certains symptômes.

La phytothérapie couvre un très large champ de maladies et l'industrie pharmaceutique utilise de nombreux principes actifs végétaux pour traiter toutes sortes de maladies. Par exemple le taxol (molécule utilisée pour le traitement du cancer) est extrait de l'écorce d'If [12].

Les médicaments chimiques provoquent souvent des réactions néfastes (responsables de 10 à 20% des hospitalisations), contrairement aux phyto médicaments qui ne présentent quasi pas d'effets secondaires, si utilisés avec précaution. Les plantes médicinales sont beaucoup moins chères que les médicaments de synthèse [13].

La phytothérapie peut être utilisée comme un moyen de prévention ; elle est accessible pour tout le monde et ne nécessite pas d'obtenir une ordonnance. Le corps humain est mieux adapté à un traitement à base de plantes qu'à une thérapie essentiellement chimique. La production des plantes est très peu polluante, contrairement aux médicaments chimiques [14].

I.5 Limites de la phytothérapie

Depuis quelque temps, de nombreuses publications ont été réalisées sur le thème des conseils, recettes et herbes anciennes de grands-mères, et ces publications ont connu un grand succès auprès du public. Également connue sous le nom de médecine alternative, les travaux de ces publications peuvent être comparés à une médecine sûre, mais ce n'est pas le cas. Leurs conseils sont précieux pour les connaisseurs et ceux qui savent faire la différence entre le bien et le mal. En revanche, se soigner uniquement sur la base de ces publications peut être très gênant et parfois fatal. La phytothérapie peut être dangereuse, voire mortelle, selon la plante et la dose appliquée, car ses principes actifs ne sont pas toujours connus : les plantes peuvent contenir de multiples molécules qui peuvent interagir entre elles et avec d'autres interactions matérielles. Parfois, la composition chimique d'une même plante peut varier d'un organe à l'autre, et parfois d'une saison à l'autre. Mais aussi avec la ressemblance des espèces, les erreurs botaniques ou des erreurs sur la partie de la plante à utiliser peuvent avoir lieu. Les quantités administrées ne sont pas toujours contrôlées (risques d'inefficacité et de toxicité) et la reproductibilité des administrations n'est pas assurée (lieu et moment de récolte, stockage, etc.).

Les extraits sont souvent impurs et peuvent contenir d'autres principes éventuellement toxiques ou bénéfiques : la composition étant variée, la consommation d'une plante peut induire

la consommation d'autres substances et d'autres composés autres que le principe actif sans connaître la dose ingérée, entraînant ainsi des surdosages ou des sous dosages.

Les interactions sont difficilement évaluables : des interactions d'ordre pharmacodynamiques (augmentation ou diminution de l'effet) ou pharmacocinétique (modification de l'absorption, de la distribution, du métabolisme ou de l'élimination) avec d'autres médicaments ou avec d'autres composés peuvent avoir lieu.

La pharmacologie préclinique et clinique est souvent médiocre (les essais contrôlés sont difficiles à réaliser) : les plantes ont des propriétés et des structures complexes, compliquant ainsi leur étude, et malgré les progrès scientifiques actuels, les mystères des plantes et de tous leurs composants restent inconnus et irrésolus.

Le contrôle par les professionnels de santé n'est pas toujours garanti : l'absence de systèmes de phyto vigilance ou de surveillance des effets indésirables et des interactions, l'absence de contrôle sur le conditionnement ou les conditions de stockage peuvent altérer les produits végétaux et entraîner une perte de leur qualité.

Un patient peut être intéressé par les plantes médicinales même si sa maladie nécessite un traitement avec une molécule prouvée efficace pour cette indication. Certaines plantes sont inoffensives, mais d'autre, comme de nombreuses espèces (digitale, belladone, colchique, etc.), sont toxiques et ne sont utilisées que sous des formes bien contrôlées, exclusivement commercialisées en pharmacie. L'emploi inconsidéré de plantes cueillies dans la nature peut aboutir à des intoxications graves et mortelles [14].

I.6 Réglementation

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutique, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicament ou comme modèles pour les composés pharmacologiquement actifs ; ainsi, certains principes actifs peuvent être à l'origine d'une toxicité mortelle d'où la nécessité d'une réglementation rigoureuse, pour assurer la conservation et la disponibilité de ces plantes pour l'avenir et, avant cela, la protection des utilisateurs de ces plantes et des MABP [15].

I.6.1 Réglementation de l'OMS

Une consultation de l'OMS tenue à Munich en juin 1991, a élaboré des lignes directrices concernant l'évaluation des MABP qui ont été adoptées pour l'utilisation générale, par la sixième conférence internationale sur la promotion de la santé à Ottawa, en octobre 1991. Ces lignes directrices définissent les critères de base de l'évaluation de la qualité, de l'innocuité et de l'efficacité des remèdes à base de plantes. Une règle générale de cette évaluation est qu'il faut tenir compte de l'expérience traditionnelle acquise dans l'utilisation de ces produits et de leur contexte médical, historique et ethnologique [15].

En 1995, un projet de mise au point de monographies exhaustives a vu le jour, en rédigeant un document technique intitulé "Monographies de l'OMS sur des plantes médicinales sélectionnées". 28 monographies ont été adoptées après la consultation de 1996.

En 2000, l'OMS a publié des directives générales concernant les procédures méthodiques d'examen dans le cadre de la médecine traditionnelle, incluant des mesures sur la qualité, la surveillance des risques et l'efficacité [16].

I.6.2 Réglementation en Algérie

L'Organisation mondiale de la santé exhorte les pays en développement à inclure dans leurs systèmes de santé officiels les plantes médicinales dont l'apparence, la sécurité, l'efficacité et la qualité sont garanties. L'Algérie dispose d'une réserve de thérapies et de savoir-faire à base de plantes dans, le cadre de la médecine humaine et vétérinaire traditionnelle. Son objectif est de mieux uniformiser les réglementations pharmaceutiques nationales en ce qui concerne les médicaments à base de plantes, et de prendre les mesures nécessaires pour simplifier le processus d'autorisation de mise sur le marché, pour lequel le document est divisé en deux parties :

1. Résumé du contexte réglementaire des MABP en Algérie ainsi que des médicaments les plus commercialisés.
2. Critères législatifs en vue d'améliorer la procédure d'AMM des MABP. Ces mesures ont été proposées sur la base d'une comparaison entre la réglementation européenne et algérienne. De plus, une liste des drogues végétales présentant un risque sérieux sur la santé a été précisée, selon les recommandations de l'agence européenne des médicaments.

En Algérie, selon l'article 170 de la loi n° 85-05 du 16 février 1985, relative à la promotion et à la protection de la santé du citoyen, les plantes médicinales sont considérées comme des médicaments du moment qu'elles présentent des propriétés thérapeutiques. En ce qui concerne les plantes vénéneuses stupéfiantes et non stupéfiantes, elles sont réglementées selon l'article 120 de la loi 85-05 du 16 février 1985, relative à la promotion et à la protection de la santé du citoyen : « la production, le transport, l'importation, l'exportation, la détention, l'offre, la cession, l'acquisition, l'emploi de substances ou de plantes vénéneuses stupéfiantes et non stupéfiantes, ainsi que la culture des dites plantes sont fixés par voie réglementaire. » [17].

Chapitre II

Étude bibliographique sur le pin d'Alep

II. Généralités sur le genre pinus

Le pin est la désignation générique des arbres appartenant au genre Pinus. L'origine du nom Pinus provient de mot « pit » : c'est un mot Indo-européen désignant une résine. Le pin est une gymnosperme de la famille des pinacées. Il est le plus important de tous les conifères tant par le nombre de ses espèces (plus de 90), toutes caractérisées par une phyllotaxie unique et prétendue des forêts qu'il constitue, que par son utilisation intensive dans le reboisement et l'importance économique de ses produits [18, 19].

II.1 Le Pin d'Alep : Pinus halepensis

Pinus halepensis, communément appelé pin d'Alep est le plus largement répandu et le plus abondant parmi les pins méditerranéens. Il couvre près de 6,8 millions d'hectares de cette région. Le nom de Pinus halepensis est dérivé de la ville d'Alep (Halebe) située sur la côte syrienne.

Les pins du groupe « halepensis » représentent une essence forestière de première importance dans le bassin méditerranéen, par la superficie qu'elle occupe et le rôle qu'elle joue dans l'économie des pays de cette région [20].



Figure II.1. Pin d'Alep : Pinus halepensis

II.2 Description botanique du pin d'Alep

Ce sont généralement des arbres de taille moyenne, surtout au-dessus de 30 m, à cônes solitaires, rarement appariés ou verticillés, pédonculés et réfléchis jusqu'à la base des branches.

Les aiguilles du pin d'Alep sont molles et de couleur jaune-vert, présentant des boucles très fines sur les bords et mesurent 5 à 10 cm de long. Elles se rassemblent par paires et rarement en groupes de trois dans une même graine, généralement dans des buissons au bout des branches des arbres. Elles donnent au couvert végétal un aspect jaune-vert clairsemé [21].

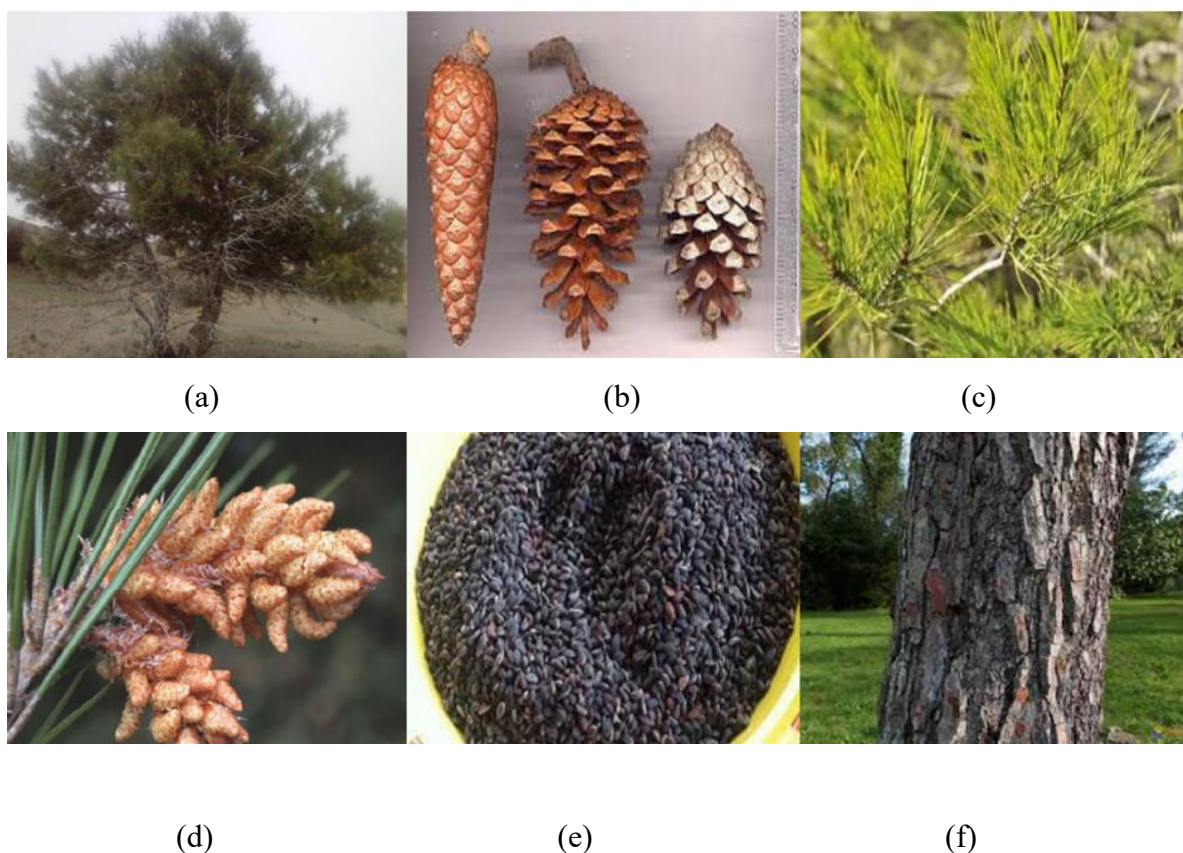


Figure II.2. Pin d'Alep.

(a) arbre, (b) cônes, (c) aiguilles, (d) chatons, (e) graines, (f) écorce [22].

Les fleurs du pin d'Alep sont monoïques : les fleurs mâles sont des chatons roses situés à la base des branches et les fleurs femelles sont de petits cônes violets situés au sommet. Les graines sont brunes d'un côté, grises de l'autre et noires au milieu ; elles possèdent une aile pâle quatre fois plus longue que la graine. Les plantules ont une écorce lisse, gris argenté. À l'âge

adulte, ils présentent plus ou moins de sillons et sont constitués d'écailles fines, grandes, plates et rougeâtres. Au fil du temps, l'écorce se fissure gravement et s'épaissit, selon les zones géographiques. Le bois du pin d'Alep est léger et présente une résistance faible à modérée. Sa résine est un liquide clair jaune à brun qui durcit et vire au brun en séchant [22].

II.2 Biogéographie et répartition du pin d'Alep

II.2.1 Dans le monde

Le pin d'Alep (*Pinus halepensis*) est un des arbres les plus communs dans la partie ouest du bassin méditerranéen, où il occupe environ 3,5 millions d'hectares. Il possède l'amplitude écologique la plus vaste.

En Espagne, le pin d'Alep existe dans la partie méditerranéenne de la péninsule ainsi qu'aux Iles Baléares. En Italie, il couvre une superficie de 20 000 ha environ, notamment dans le sud et en de rares localités de Sicile et de Sardaigne.

En France, l'inventaire forestier national lui attribuait 244 000 ha en 2003, dont 208 000 ha dans la région Provence-Alpes-Côte d'Azur.

Au Proche-Orient, le pin d'Alep n'est certainement présent en Turquie qu'au Nord-est d'Adana. En Syrie il constitue quelques peuplements sur le revers occidental de la chaîne des Alaouites. Il constitue en outre quelques boisements relativement importants en Palestine et en Jordanie.

En Afrique du Nord, le pin d'Alep est plus développé puisqu'il apparaît à peu près partout sur les massifs montagneux. Il s'étend sur une superficie de 1 260 000 ha. Au Maroc, il est relativement rare. Sa distribution est très disloquée. Il couvre une superficie de 65 000 ha environ, répartie sur le versant méditerranéen au niveau du Maroc Oriental, du Rif Oriental, du Moyen Atlas, des montagnes de Debdou, de la presqu'île de Melilia, du Grand Atlas oriental et du Sud-est de Moulouya. En Tunisie, le pin d'Alep est présent sous différents étages bioclimatiques, depuis l'aride supérieur jusqu'à l'humide avec des variantes thermiques chaudes, douces et tempérées ; son optimum de croissance étant enregistré dans le semi-aride à hivers frais [23].



Figure II.3. Répartition du pin d'Alep dans la région méditerranéenne [23].

II.2.2 En Algérie

En Algérie, le pin d'Alep occupe une superficie estimée à 3 250 000 hectares, soit environ 35 % de la surface arborée. Cet arbre est assez commun à l'est et à l'ouest. Dans la région orientale, il se développe dans les forêts des monts de Tébessa et des Aurès. Dans la région centrale, il est situé dans la forêt de l'Ouarsenis. A l'ouest, il est bien représenté dans les zones suivantes : Maskara, Sidi Bel Abbes, les montagnes boisées d'Aida et les montagnes de l'Atlas saharien, les forêts des montagnes d'Ouled Nail, Gyor près de Fah et Jebel al-Amour, près d'Aflou [23].

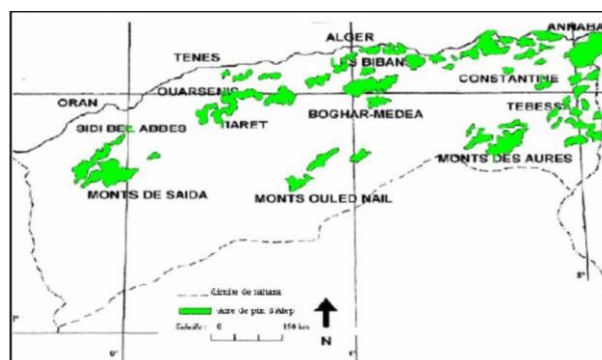


Figure II.4. Répartition du pin d'Alep en Algérie [24].

Tableau II.1. Réparation de pin d'Alep en Algérie [24].

Région	Superficie (ha)
Djurdjura	36,000
Tebssa	90,000
Medéa, Bogher	52,000
Aurès	100,000
Theniet el hed	47,000

II.3 Taxonomie

Le pin d'Alep appartient au genre *Pinus* et à la famille des Pinacées. Il est divisé en trois sous-genres comptant chacun 800 espèces. Le mot *Pinus* vient de l'indo-européen « fosse » qui signifie résine. *Pinus halepensis* a été nommé en 1768 par le botaniste Philip Miller. Communément appelé pin d'Alep ou pin blanc, c'est une espèce d'arbre répandue dans le bassin méditerranéen [25, 26].

La taxonomie du pin d'Alep est décrite comme suit :

- Règne : Plantes
- Embranchement : Spermaphytes (Phanérogames)
- Sous-embranchement : Gymnospermes
- Classe : Pinopsida
- Ordre : Pinale
- Famille : Pinaceae
- Sous-famille : Pinoïdée
- Genre : *Pinus*
- Sous-genre : *Pinus*
- Espèce : *Pinus halepensis* [27].

II.4 Noms usuels

On trouve plusieurs appellations selon les pays.

- En France, le pin d'Alep est appelé pin de Jérusalem ou pin blanc ;
- Dans les pays arabes: Sanawbar Halabi ;
- En Angleterre : Jerusalem pine, Aleppo pine ;
- En Espagne : Pincarrasco, Pinoblanquillo, Pin bord, Pi blanc [19].

II.5 Résine de pin d'Alep**II.5.1 Définition**

Les résines sont des mélanges complexes de diterpènes de la famille Abietan, et d'acides résiniques dont les proportions varient selon les espèces et l'origine géographique. Synthétisé et préservé par les arbres, elles peuvent être considérées comme un système de défense contre les fissures mécaniques du bois, pour le protéger des agressions extérieures telles que l'attaque des champignons ou des insectes [28].

La synthèse de résine se produit dans l'aubier par une fine couche de cellules tapissant les conduits de résine et formant un tissu épithélial. Ces canaux mesurent environ 90 à 300 μm de diamètre chez le pin et peuvent être divisés en deux groupes, selon leur orientation dans le tissu de l'arbre : tubes en résine axiaux et radiaux [28].



Figure II.5. Résine de pin d'Alep [28].

II.5.2 Récolte de la résine de pin d'Alep

La production annuelle de résine par arbre peut varier d'environ 1 kg à 6 kg, selon l'arbre et sa zone géographique. Certaines caractéristiques dendritiques d'un arbre peuvent augmenter son rendement, comme le diamètre et la fréquence des canaux de résine (0,4 à 1,1 canal/mm²). La récolte s'effectue tout simplement sur les zones endommagées de l'écorce de pin où il y a une production de résine, qui durcit lorsqu'elle sèche mais se ramollit lorsqu'elle est chauffée. Avant de couper l'écorce de pin pour la récolte de la résine, il faut rechercher d'abord les branches endommagées ou tombées, si on en trouve pas, on peut endommager l'arbre, seulement dans une petite zone et d'un seul côté. On ne prélève que la quantité dont on a vraiment besoin et l'excédent doit être laissé sur l'arbre pour le protéger des parasites.

La résine est récoltée en été, ce qui prend environ 6 mois. En effet, une diminution de la synthèse de résine est observée en hiver, ceci est dû à une baisse de température qui réduit l'activité des cellules sécrétrices et augmente la viscosité de la résine.

II.5.3 Méthodes d'extraction**II.5.3.1 Méthode traditionnelle**

Le tapotement de la gomme est une technique d'extraction de la résine des pins d'Alep âgés de 30 ans. Selon le « Système Hugos » breveté en 1844, le tapotement consiste à utiliser un outil (hapchot) pour créer des plaies à hauteur de l'écorce d'un arbre. Les pierres précieuses s'écoulent vers un pot en terre cuite. À la fin de l'extraction, de l'acide sulfurique est appliqué sur la surface de la plaie pour empêcher sa cicatrisation et améliorer sa biosynthèse [29, 30].



Figure II.6. Méthode de gemmage traditionnelle (Chróa)

II.5.3.2 Méthode moderne

Il s'agit d'une récolte dans un récipient en plastique clos (figure 2.7) fixé sur l'entaille afin d'éviter l'oxydation de la résine par l'air. Un pique sera réalisé à l'aide d'une perceuse équipée avec une scie à cloche. A la fin, un acide organique naturel est appliqué au lieu de l'acide sulfurique, afin de protéger l'arbre [31].



Figure II.7 Méthode de gemmage en vase clos [32].

II.6 Type de résine de pin

- Oléorésine : si elle est associée à des huiles essentielles : pins, sapin.
- Gomme-résine : si elle est associée à une gomme soluble dans l'eau : aloé, myrrhe, oliban.
- Baume : si la résine est associée à des essences et des acides aromatiques : baume de Tolu, benjoin, styrax.

II.7 Oléorésine

C'est un mélange condensé d'une fraction non volatile, dite colophane, et d'une fraction volatile qui est la térébenthine [33].

II.7.1 Colophane

C'est une fraction solide, non volatile, fragile, vitreuse, translucide, de couleur jaune clair vers marron. Cette fraction représente 70% de la masse initiale de la gemme. Elle est insoluble dans l'eau, et soluble dans le méthanol, l'éthanol, et l'acétone. La colophane contient deux principaux acides résiniques : les pimaranes, et les abiétanes . Cette fraction est utilisée en chimie, comme polymère antibactérien ou dans l'emballage [34,35,36].

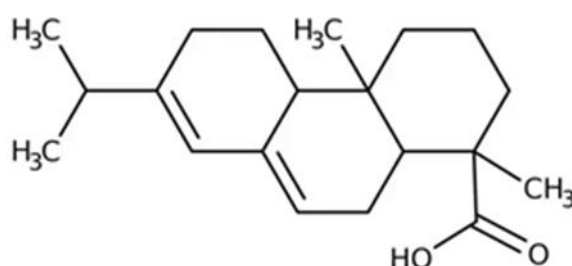


Figure II.8. Structure chimique de la colophane [35].

II.7.2 Térébenthine

La térébenthine est un liquide volatil présentant une odeur caractéristique de pin, largement utilisé dans divers domaines, tels que la cosmétique et l'industrie. Elle constitue généralement entre 20 et 30 % de la résine obtenue après distillation. Composée principalement de composés terpéniques ($C_{10}H_{16}$), sa composition en ces composés varie en fonction de plusieurs facteurs, tels que l'espèce de pin, la localisation géographique de la récolte et les techniques de distillation utilisées.[37, 38].

La térébenthine est connue pour ses propriétés antifongiques, antimicrobiennes et anti-inflammatoires. Son efficacité dans ces domaines en fait un ingrédient précieux dans de nombreuses applications médicales et industrielles.

Cependant, il convient de noter que l'essence de térébenthine est un composé stable qui peut s'oxyder en vieillissant lorsqu'il est exposé à l'air et à la lumière. De plus, elle peut réagir violemment avec certains produits oxydants, tels que les acides minéraux forts, ainsi qu'avec les halogènes (F, Cl, I), ce qui peut entraîner un risque d'inflammation lors du contact avec ces substances. [39, 40, 41].

Tableau II.2. Caractéristiques organoleptique et physico-chimiques de l'essence de térébenthine [41].

Paramètres	Propriétés retenues
Caractéristiques organoleptiques	
Couleur	Incolore ou légèrement jaune
Odeur	Odeur caractéristique de pin
Consistance	Liquide
Caractéristiques physico-chimiques	
Point de fusion	- 50 à - 60 °C
Densité	0,860 à 0,870
Indice d'évaporation	0,4 (acétate de butyle = 1)
Point d'ébullition	150 à 180 °C
Point d'éclair	32 à 46 °C (coupelle fermée)
Limites d'explosivité ou d'inflammabilité (en % volume dans l'air)	Limite inférieure : 0,8 % Limite supérieure : 6 %
Masse molaire	Environ 136
Température d'auto-inflammation	220 à 253 °C
Densité gaz / vapeur	4,6 à 4,8

II.7.2.1 Analyses chromatographiques de l'essence de térébenthine

Dans une étude, des analyses chromatographiques de l'essence de térébenthine de pin d'Alep, effectuées avec un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (CPG-SM), ont révélé la présence de 21 constituants. Du point de vue chimique, la résine est un mélange de différentes classes de terpènes (monoterpènes, sesquiterpènes et diterpènes) La classe des monoterpènes étant prédominante avec l' α -pinène comme constituant majoritaire ; la meilleure teneur obtenue de ce constituant est de 89 %.

En général, plusieurs travaux ont montré que le pourcentage élevé de l' α -pinène est une caractéristique de la plupart des térébenthines du genre *Pinus*, à l'exception de *P. heldreichii* dont le limonène est le constituant majoritaire avec 79,44 %, et *P. roxburghii* avec comme principal composé le Δ -3-carène qui représente plus de 50 %. Le taux de β -pinène est seulement de 1 % pour le pin d'Alep.

Les autres monoterpènes, tels que le limonène, se retrouvent à un taux de 0,87 % dans le pin d'Alep. Le principal sesquiterpène de cette térébenthine est représenté par le caryophyllène avec une teneur de 2,26 %. Cependant, il convient de noter que certains composés spécifiques tels que l' α -terpinène-7-al, l' α -acétate de terpinyle et α et β -longipinènes sont absents dans la térébenthine du pin d'Alep [42].

Tableau II.3. Composition chimique de l'essence de térébenthine de pin d'Alep [42]

N°	I K	Composé	PA
1	939	α -Pinène	88,62
2	953	Camphène	0,94
3	980	β -Pinène	1,08
4	991	Myrcène	1,16
5	1005	α -Phéllandrène	Traces
6	1011	Δ -3-Carène	0,42
7	1018	α -terpinène	Traces
8	1031	Limonène	0,87
9	1062	δ -Terpinèn	Traces
10	1088	Terpinolène	0,49
11	1144	cis- β -Terpineol	Traces
12	1163	Trans- β -Terpineol	0,46
13	1189	α -Terpineol	1,43
14	1282	α -Terpinen-7-al	-

15	1350	α -Acétate terpinyle	-
16	1351	α -Longipinène	-
17	1372	Longicyclène	Traces
18	1398	β -Longipinène	-
19	1402	Longifollène	Traces
20	1418	Caryophyllène	2,26
21	1581	Oxyde de caryophyllène	Traces
Total			97,73

II.8 Utilisations thérapeutiques de la résine de pin d'Alep

De nombreuses enquêtes ethnobotaniques ont indiqué l'utilisation des pommes, des feuilles, de l'écorce et de la résine de *Pinus halepensis* en médecine traditionnelle. La résine sert comme antidiabétique, pour traiter les ulcères du tube digestif et les blessures. Elle a des effets diurétiques, émoullients, stimulants, antiseptiques, anthelminthiques, insecticides, désinfectants, cytotoxiques, antibactériens, antifongiques, spasmolytiques, cicatrisants, anti-inflammatoire, etc.

En effet, en Algérie la résine est utilisée pour traiter les affections des voies respiratoires et urinaires, la parasitose délirante, comme antiseptique, antifongique et stimulant des glandes surrénales, Les populations du Maroc utilisent aussi la résine de *Pinus halepensis* sous forme de poudre contre les troubles digestifs, respiratoires, cutanés, circulatoires et génitaux. Comme c'est le cas de la majorité des pays méditerranéens, en Espagne la gomme, la résine, les feuilles et le pollen sont utilisés comme expectorants et contre les abcès.

En outre, la résine de pin est utilisée en poudre mélangée avec du miel pour soigner les maladies de l'estomac et des intestins en Turquie. Elle est aussi mâchée pour nettoyer la bouche et les dents et pour éviter la mauvaise haleine [42].

II.8.1 Activité antifongique

Les substances naturelles antifongiques sont capables de détruire sélectivement ou non les différents champignons rencontrés en mycologie. Ils s'administrent par voie locale ou générale [43].

Les champignons sont des microorganismes hétérotrophes qui se nourrissent de matière organique vivante ou morte, en sécrétant des enzymes à travers leurs parois cellulaires. Ils se divisent en trois catégories : les champignons filamenteux, les levures et les champignons supérieurs. Ils sont constitués de cellules cylindriques allongées, appelées hyphes, qui peuvent mesurer jusqu'à 0,1 mm de longueur ; les hyphes de 0,01 mm forment apparemment un « mycélium » qui s'étend dans le sol, le bois ou tout autre substrat. Leurs parois cellulaires contiennent généralement de la chitine et du glucane. Plus de 100 000 espèces sont connues, la plupart saprophytes ; moins de 0,5 % sont considérées comme pathogènes. Ils peuvent se reproduire de manière sexuée ou asexuée. [44,45]

II.8.2 Activité anti inflammatoire

L'inflammation est une réponse complexe aux signaux nocifs qui, pour la survie de l'hôte, est impliquée dans la pathogenèse de nombreuses maladies humaines. Elle est le mécanisme de défense immunologique de l'organisme contre les irritants nocifs, de l'élimination des facteurs de blessure à la régénération des tissus lésés. Le but de l'inflammation est d'éliminer l'agent pathogène et de réparer les lésions tissulaires. Parfois, l'inflammation peut être néfaste du fait de la persistance de l'agent pathogène dans le siège de l'inflammation, par anomalies des régulations du processus inflammatoire [45, 46].

Une réaction inflammatoire peut être déclenchée par :

- Des micro-organismes comme des bactéries, des virus, des champignons ou des parasites.
- Des corps étrangers (des protéines étrangères, par ex : les pollens ; des cristaux de silice ou d'amiante).
- Des lésions tissulaires avec formation de débris de tissus comme après une atteinte mécanique (coupure, pique, frottement, ou corps étranger), chimique (acides et bases), physique (chaleur, froid ou rayonnements UV, x, radioactifs) ou encore sous l'influence d'inducteurs endogènes comme les cellules tumorales tuées, hémorragies, réactions auto-immunes ou cristaux formés dans l'organisme (urée, oxalate ou phosphate de calcium, cholestérol) [47].

La thérapeutique anti-inflammatoire est généralement menée par des molécules de synthèses de types anti-inflammatoires non stéroïdien ou stéroïdien (corticoïdes), Ce sont des médicaments largement utilisés, mais dont les effets secondaires sont parfois graves, en particulier leur toxicité sur les systèmes rénal et digestif.

La résine de pin d'Alep appartient aux nombreuses substances phytochimiques présentes dans le règne végétal, ayant un large spectre d'activité anti inflammatoire. On suppose que ces substances agissent en bloquant les voies de la cyclooxygénase et de la lipoxygénase, entre autres mécanismes. [48].

Chapitre III

Matériels et méthodes

III.1 Introduction

Notre travail expérimental a porté sur :

- Extraction de l'huile de résine de pin d'Alep en utilisant la méthode de l'hydrodistillation sous micro-ondes.
- Etude du pouvoir antimicrobien et antifongique de l'essence de térébenthine.
- Formulation d'une crème bio pour la peau, ayant des effets thérapeutiques antifongiques, antibactériens et anti-inflammatoires, à base de l'essence de térébenthine extraite de la résine de pin d'Alep. Cette essence a démontré des propriétés dans des études antérieures, ce qui nous laisse penser que cette crème aura un double effet hydratant et thérapeutique.
- Pendant la phase de formulation, des tests de stabilité ont été effectués au niveau des laboratoires VENUS pour s'assurer de la qualité du produit.
- Etude de la rhéologie et de la granulométrie de la crème formulée.
- Test de toxicité du PF.

III.2 Matière végétale

Les échantillons de résine proviennent d'un mélange de gemmes extraites à partir des arbres de pin d'Alep situés dans les hautes montagnes de Chréa, wilaya de Blida. La récolte des échantillons a été réalisée au mois de janvier, février et mars 2024.

Pour chaque mélange de gemmes, on a effectué des essais de distillation de 50 g pour une quantité totale de 550 g de résine.

III.2.1 prétraitement de la matière végétale

Dans un premier temps, nous avons effectué un tri et un nettoyage manuels de la résine, en éliminant les débris végétaux. Ensuite, nous l'avons soigneusement lavée à l'eau pour éliminer les impuretés et la poussière, puis nous l'avons laissée sécher à la température ambiante. Une fois séchée, nous l'avons broyée manuellement jusqu'à obtenir la consistance indiquée dans la figure III.2.



Figure III.1. Résine avant le traitement

Figure III.2. Résine après le traitement

III.3 Méthode d'extraction de l'huile essentielle

III.3.1 Extraction assistée par hydrodistillation sous micro-ondes

La méthode de l'extraction par micro-ondes se déroule en enceinte close, c'est une combinaison de chauffage par micro-ondes et d'hydrodistillation. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau de la plante et récupérés par condensation.

Cette méthode fournit des huiles essentielles plus précieuses et d'importance économique et énergétique. L'extraction par micro-ondes à l'avantage de minimiser la durée de la distillation et d'améliorer le rendement de l'extrait ; elle offre beaucoup de bénéfices comparée aux autres méthodes [49, 50].

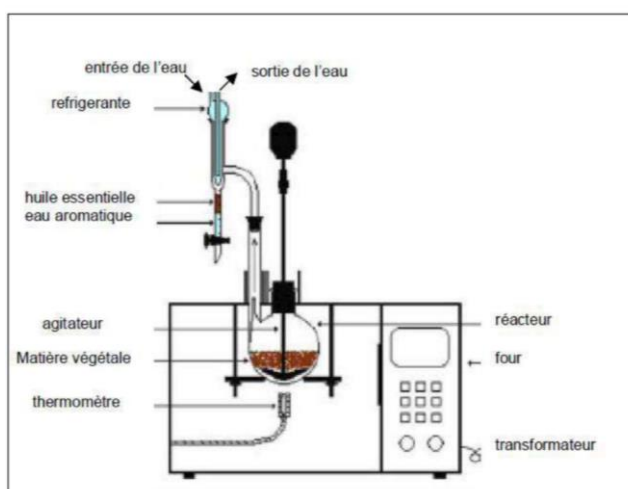


Figure III.3. Schéma du principe de l'hydrodistillation sous micro-ondes [50]

- **Mode opératoire**

- Peser 50 g de résine de pin.
- Placer la résine de pin dans un ballon en verre propre et sec de 500 mL.

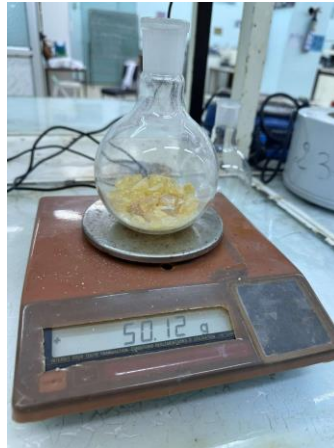


Figure III.4. Pesée de résine

- Ajouter de l'eau distillée dans le ballon pour couvrir la résine de pin.
- Fermer hermétiquement le ballon avec son couvercle.
- Placer le ballon dans le micro-ondes. S'assurer qu'il y a suffisamment d'espace autour du ballon pour permettre une distribution uniforme des micro-ondes.
- Régler le micro-ondes sur une puissance de 350 W et une durée de 45 minutes par échantillon.

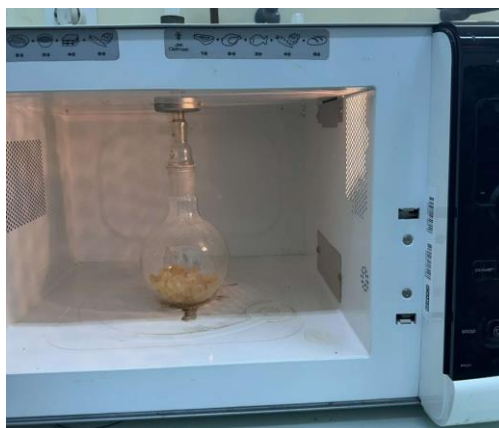


Figure III.5. Position du ballon dans le micro-ondes

- Ajouter de l'eau distillée dans le ballon contenant la résine de pin, toutes les 15 min pour maintenir un niveau constant.
- Les vapeurs sont acheminées vers le réfrigérant où elles se condensent, produisant un mélange d'eau et d'huile essentielle.



Figure III.6. Montage d'hydrodistillation



Figure III.7. Accumulation de l'HE

- Après un délai de 45 minutes, L'HE récupérée, qui n'est autre que de l'essence de térébenthine, est conservée dans des vials à 4°C.

III.3.2 Détermination du rendement d'extraction de l'HE de résine

Le rendement de l'extraction est donné par la relation :

$$R (\%) = (\text{Poids de l'huile essentielle obtenue} / \text{Poids de la matière première utilisée}) \times 100$$

III.4 Étude du pouvoir antimicrobien et antifongique de l'essence de térébenthine

III.4.1 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Afin de pouvoir conclure sur l'action de notre essence, il faut déterminer sa concentration minimale permettant d'inhiber une souche bactérienne ou un champignon. La

méthode utilisée est l'antibiogramme. La détermination du diamètre de la zone d'inhibition permet une estimation de la concentration minimale inhibitrice.

III.4.2 Méthode de l'antibiogramme

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'une substance supposée ou connue. Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence de ou des substances, et à observer les conséquences sur son développement et sa survie.

Principe

Pour cette méthode, nous utilisons des disques de papier Wattman, absorbants et stériles de 9 mm de diamètre. Imbibé de térébenthine à différentes concentrations (0.1 g/L, 0,01g/L, 0,001 g/L). Le disque est déposé sur une boîte de Pétri contenant un milieu gélosé préalablement inoculée et uniformémentensemencée par une suspension bactérienne ou fongique (*Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus.aureus*, *Aspergillus Niger*, *Candidas albicans*).

Durant l'incubation, les souchesensemencées entrent en contact avec le térébenthine et l'inhibition se traduit par une zone circulaire stérile (zone d'inhibition) dont le diamètre est fonction de la sensibilité ou de la résistance du germe [51].

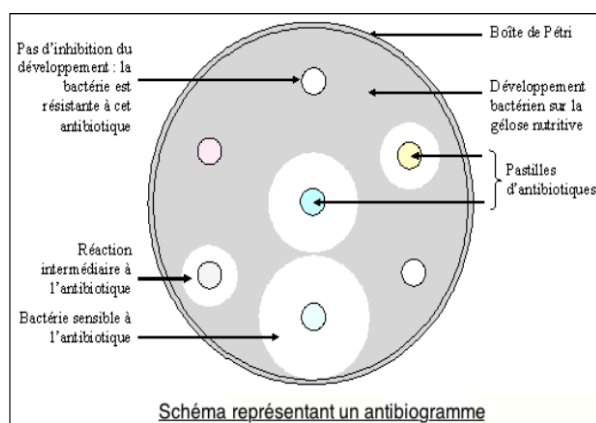


Figure III.8. Schéma de la méthode d l'antibiogramme [51].

Mode opératoire

Le protocole adopté est celui de la pharmacopée européenne (2010), communément utilisés dans les laboratoires de microbiologie de l'entreprise VENUS.

Préparation de l'inoculum

- Réaliser une suspension microbienne à partir d'une culture jeune de bactéries (18-24 h) ou de levures (48 h), prélever quelques colonies isolées et incorporer dans 5 mL d'eau physiologique.
- Agiter et homogénéiser la suspension à l'aide de l'agitateur Vortex jusqu'à dissolution totale des colonies dans l'eau physiologique.
- Préparer trois solutions d'essence térébenthine de concentrations connues, 0,1 g/L, 0,01g/L et 0,001g/L.
- Incuber les suspensions bactériennes et fongiques respectivement dans des étuves à 37 °C et 25 °C pendant 20 à 25 mn.

Préparation des milieux de culture

- Liquéfier les milieux de cultures (Muller Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les levures et moisissures) dans un bain-marie à 95 °C et garder en surfusion dans une étuve à 45 °C.
- Sous hotte à flux laminaire, verser aseptiquement les milieux de culture gélifiés sur boîtes de Pétri à raison de 15 mL par boîte.
- Laisser refroidir et solidifier à température ambiante, et conserver dans des conditions évitant toute modification de leur composition.

Ensemencement

- Imbiber aseptiquement un écouvillon avec la suspension microbienne.
- Essorer l'écouvillon en pressant fermement et en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger du surplus de suspension.
- Ensemencer aseptiquement une boîte de Pétri en frottant délicatement l'écouvillon sur la surface de la gélose en stries serrées.

Dépôt des disques

- Prélever aseptiquement un disque stérile de 9 mm de diamètre avec une pince stérile.

- Mettre en contact le bout du disque avec la solution de térébenthine de concentration connue, qui va être absorbée par le disque par capillarité.
- Déposer le disque ainsi imbibé d'essence de térébenthine sur la surface de la gélose, au centre de la boîte de Pétri.
- Incuber les boîtes à 37 °C durant 24 h pour les bactéries, et à 25 °C durant 48 h pour les levures et les moisissures.
- L'essence de térébenthine à tester peut également être directement mélangée au milieu de culture en concentration connue, sans oublier que les techniques de dilution exigent une dispersion homogène. Le milieu est ensuite inoculé à un taux déterminé de microorganismes et, après incubation, on note la présence ou l'absence de colonies; la lecture peut être visuelle ou spectrophotométrique, car le degré d'inhibition est en rapport avec la turbidité du milieu.

III.5 Analyse par spectroscopie infrarouge de l'HE

La procédure est la suivante :

- Réduire en poudre 3 mg d'un échantillon de crème avec 20 mg de KBr dans un mortier en agate.
- Mettre le mélange dans le moule pour obtenir une pastille translucide.
- Mettre le moule dans la presse à pastilles et presser l'échantillon jusqu'à 5 tonnes maximum.
- Démouler la pastille de KBr avec l'échantillon.
- Placer la pastille dans le support et analyser dans l'appareil à IR.

III.6 Préparation de la crème

Pour réaliser une émulsion huile dans l'eau, il faut employer certaines précautions en particulier :

- Introduction de la phase dispersée par fraction en attendant que l'émulsion se fasse.

- Respect des conditions de température et d'agitation.

Nous avons réalisé la formulation de la crème dans les laboratoires VENUS.

Tableau III.1. Matières premières utilisées

	MP	Quantité (%)	Rôle
Phase 1 (Aqueuse)	Eau distillé de résine	88,54	Solvant
	Carbomer (acrylic acid)	0,2	Polymères hydrophiles, stabilisateur d'émulsion, gélifiant, agent de contrôle de la viscosité.
	Glycérine	0,5	Agent hydratant, émollient et protecteur.
Phase 2 (Huileuse)	Cetyl Alcohol (and) Glyceryl Stearate (and) PEG-75 Stearate (and) Ceteth-20 (and) Steareth-20	4	Emulsifiant H/E
	(Cetyl-Stearyl Alcohol)	0,5	Agent épaississant (régulateur de viscosité)
	Huile de coco	3	Réduit considérablement la déshydratation de la peau, calme les rougeurs, permet une guérison plus rapide des plaies, sans complications.
	Cire d'abeille	3	Réduit la déshydratation épidermique par son caractère occlusif, apaisante et cicatrisante. Se conserve très bien et possède une bonne tolérance cutanée.
Phase 3 (active)	HE de résine de pin (essence de térébenthine	0,1	Principe actif
	Neosol ema trideceth 9 PEG hydrogenated castor oil	0,1	Solubilisant
Phase 4	Hydroxyde de sodium	0,06	Régulateur de pH

- **Mode opératoire**

- **Phase aqueuse**

- a- Peser et verser la quantité totale de l'eau distillée de résine dans un bécher de 1 L et ajouter la glycérine. Mélanger pendant 3 mn.
- b- Peser et saupoudrer dans le mélange précédent sous une forte agitation le carbomère pendant 7 mn, jusqu'à l'obtention d'un gel homogène et vérifier l'absence des grumeaux de gélifiant.



Figure III.9. Préparation de la phase aqueuse

- **Phase huileuse :** Peser tous les ingrédients de la phase 2 dans un autre bécher, l'huile de coco, la cire d'abeille, le viscosifiant et l'émulsifiant.

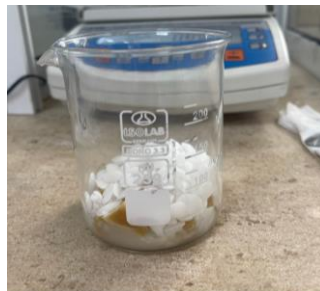


Figure III.10. Phase huileuse

- Mettre les deux phases séparément dans un bain marie à 90 °C pendant 40 mn, jusqu'à fusion complète de la phase l'huileuse.

- **Emulsification**
 - a- verser la solution huileuse sur la phase aqueuse sous une forte homogénéisation.
 - b- lancer le refroidissement en mettant le récipient de préparation dans un bain d'eau froid et continuer l'agitation pendant 15 mn.
 - c- Solubiliser l'huile de résine de pin dans le solubilisant à 40 °C, puis incorporer le tout à l'émulsion sous agitation pendant 5 mn.



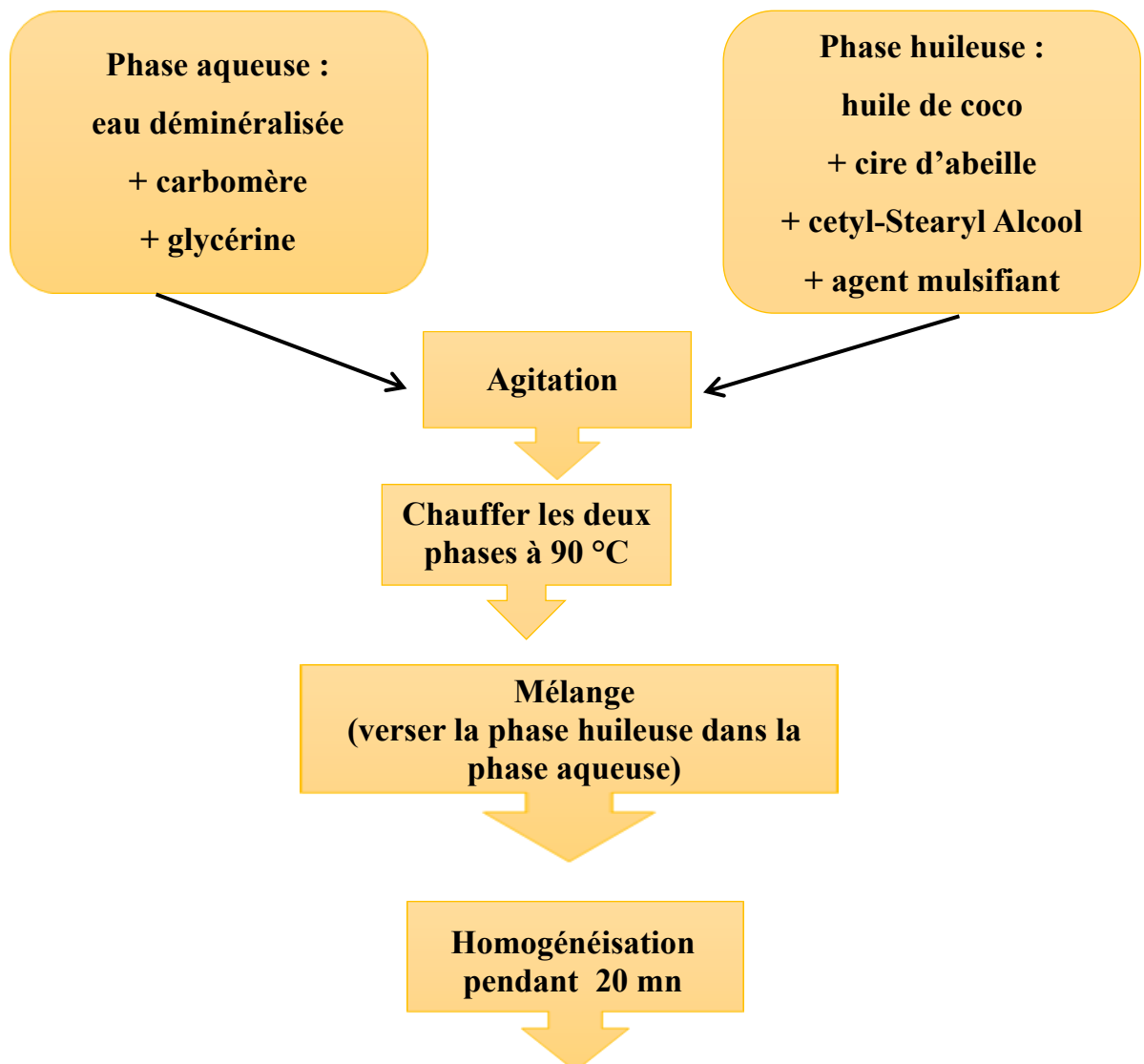
Figure III.11. Homogénéisation du mélange

- d- Neutraliser avec l'hydroxyde de sodium dilué à 10 % (5 mn d'agitation).
- e- Compléter au q.s.p. avec l'eau déminéralisée et continuer l'homogénéisation pendant 5 mn



Figure III.12. Crème homogène

L'organigramme suivant résume les étapes du procédé de préparation de la crème :



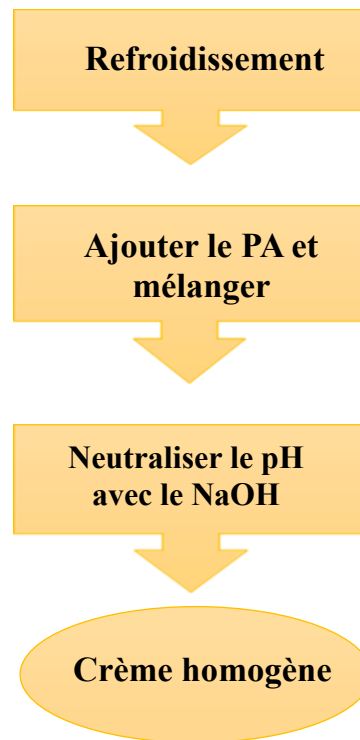


Figure III.13. Organigramme du procédé de préparation de la crème

III.7 Contrôle qualité physico-chimique du PF

III.7.1 Contrôle organoleptique

C'est un contrôle macroscopique par les cinq sens, On prend une quantité du produit fini sur un papier et on la caractérise par la couleur, la texture (homogénéité, consistance) et l'odeur.

III.7.2 Contrôle du pH

Le pH ou «potentiel hydrogène » mesure l'activité chimique des ions hydrogènes H^+ en solution. Il mesure l'acidité ou la basicité d'une solution.

Cette mesure a été effectuée à l'aide d'un pH-mètre de type HANNA edgepH

III.7.3 Test de vieillissement accéléré (centrifugation)

C'est une technique qui utilise la force centrifuge pour séparer des fluides de différentes densités ou pour séparer des éléments solides en suspension dans un fluide.

Une vitesse de centrifugation appliquée à nos échantillons est de 40 000 tr/min pendant 20 minutes, selon les normes des laboratoires VENUS, en utilisant une centrifugeuse de type SIGMA 3-30 Ks.

III.7.4 Contrôle de la viscosité

Un viscosimètre Brookfield a été utilisé pour évaluer la viscosité de la crème. Il s'agit d'un appareil équipé d'un affichage digital, permettant une lecture directe de la viscosité.

Le principe de fonctionnement du viscosimètre Brookfield est de faire tourner un mobile plongé dans la crème. La mesure de la viscosité (en centipoise) est déterminée par la vitesse de la broche de la taille 6 et la forme de ronde

III.7.5 Test de stabilité aux températures extrêmes

Ils sont réalisées par observation visuelle d'échantillons de la crème stockés à basse température (+4 °C), à ambiante et à haute température (+35 à +50 °C), pendant 30 jours.

III.7.6 Observation sous microscope optique

La détermination de la taille des gouttelettes de l'émulsion formulée est d'une importance capitale. Elle fait l'objet d'une analyse granulométrique qui renseigne principalement sur l'efficacité du processus de formulation.

L'examen microscopique s'est effectué à l'aide d'un microscope optique à un grossissement de 100 x, directement après la formulation. L'évolution des tailles des particules est suivie au cours de temps.

III.7.7 Tests de caractérisation rhéologique

La caractérisation rhéologique a été effectuée avec un rhéomètre de type cône/plan de marque MCR 302 Anton Paar Physica, avec $\phi = 25$ mm. Les résultats expérimentaux sont traités par le logiciel Rheoplus US200.

Le protocole opératoire adopté est le suivant : on met quelques mL de la crème dans le système de mesure cône-plan du rhéomètre, on impose alors une rampe croissante de vitesses de cisaillement de $0,001 \text{ s}^{-1}$ à 1000 s^{-1} .

Les courbes d'écoulements de la crème (à $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ et à $45 \text{ }^{\circ}\text{C}$) sont données en termes de viscosité de cisaillement apparente, η_{app} (Pa. s) en fonction de la vitesse de cisaillement $\dot{\gamma}$ (s^{-1}).

Les courbes seront systématiquement ajustées par le modèle rhéologique le plus adéquat pour faire ressortir des paramètres caractéristiques intrinsèques.

III.8 Contrôle qualité microbiologique du PF

L'objectif est de s'assurer que le PF satisfait aux critères microbiologiques définis dans les monographies. Les tests à réaliser comprennent la détection et le compte des germes aérobies viables totaux ainsi que la recherche de germes spécifiques.

III.8.1 Equipement et matériels

- Seringues de 5 et de 10 mL.
- Instruments stériles : scalpel, ciseaux, spatules, etc.
- Flacons à bouchons à vis stériles de $16 \times 125 / 20 \times 150$ mm.
- Autoclave.
- Balance analytique.
- Boîtes de Pétri de 55 et 90 mm.
- Étuves bactériologiques de $22 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ et $32 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$.
- Compteur de colonies.
- Poste de sécurité microbiologique de type II (hotte à flux laminaires avec filtre HEPA).

- Lampe ultra violet.

III.8.2 Milieux de cultures

- Agar de SABOURAUD
- Agar Plate-Count

III.8.3 Procédure de détermination

L'essai a été effectué dans des conditions d'asepsie en un endroit exempt de contamination (lampe UV). Les manipulations ont été accomplies sous une hotte à flux laminaire.

La préparation des dilutions (1/10) s'effectue par dissolution de 10 g de la crème à analyser dans un flacon contenant 90 mL de diluant (D/E Neutralizing Broth).

On aensemencé, en profondeur 2 boîtes de Pétri stériles, avec 1 mL de la dilution dans chacune. On a ajouté 10 à 15 mL de milieu de culture (PCA et Sabouraud).

La première boîte de Pétri est incubée à 32 °C pendant 72 ± 06 heures pour détecter les bactéries aérobies mésophiles (milieu de culture sélectif Agar Plate-Count), l'autre boîte est incubée à 22 °C pendant 5 jours pour détecter les levures et moisissures (milieu sélectif Agar SABOURAUD).

III.9 Tests de toxicité

le test de Draize est un protocole d'expérimentation animale et test toxicologique est utilisé afin de connaître l'irritabilité d'un produit. On injecte la substance dans les yeux d'un lapin car il ne fait pas de larmes. Plus le produit est toxique, plus l'œil réagit, Le test DRAIZE peut aussi être cutané : l'animal est rasé et reçoit différentes concentrations du produit. L'épiderme change alors d'aspect, rougit et se plisse.[53].

Chapitre IV

Résultats et discussions

IV.1 Rendement d'extraction de l'HE

Nous avons trouvé le rendement suivant :

$$R (\%) = (8/550) \times 100$$

$$R (\%) = 1,45 \%$$

IV.2 Résultats de l'antibiogramme de l'essence de térébenthine

Les résultats obtenus montrent que l'essence de térébenthine présente une activité bactéricide forte avec une zone d'inhibition de plus de 14 mm avec une concentration de 0,1 %. Les diamètres des zones d'inhibitions varient entre 10 et 15 mm pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* et *Aspergillus Niger* respectivement (Tableau IV.1).

La concentration 0,01 % d'HE est moins active par rapport à 0,1 %. Cependant, un léger effet a été constaté sur *Staphylococcus aureus* et *Candidas albicans*, dont les croissances ont été légèrement inhibées avec cette concentration de 0,001 % d'essence de térébenthine. En général, les bactéries étaient plus vulnérables à l'essence de térébenthine que les champignons.

En effet, l'essence de térébenthine est une huile riche en α -pinène avec environ 89 %. Une étude réalisée sur l'huile essentielle de *Juniperus oxycedrus* a montré qu'elle présente une bonne activité inhibitrice contre *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus*. Cette huile, constituée majoritairement de l' α -pinène (environ 86 %) suivie en plus faible quantité de β -pinène (1,03 %), de myrcène (1,20 %) et de limonène (0,83 %), a une composition sensiblement proche de l'essence de térébenthine de pin d'Alep. Des travaux sur les HE de *Croton stellulifer* et de *Sideritis sipylea* ont démontré que l' α -pinène, composé dominant de ces huiles, est responsable de l'activité observée contre les microorganismes testés.

En ce qui concerne le β -pinène présent avec un taux de 1,08 % dans l'essence de térébenthine de pin d'Alep, son pouvoir bioactif a été prouvé dans la littérature, cependant tout cela n'empêche pas un effet synergique entre plusieurs constituants de l'essence de térébenthine, ce qui doit être pris en compte dans cette activité. Des études sur les propriétés antimicrobiennes des constituants aromatiques des HE, ont conclu que le spectre d'activité total d'une HE est parfois plus grand que ceux de leurs principaux constituants testés isolément [42].

Tableau IV.1. Diamètre d'inhibition de quelques souches bactériennes et fongiques

Souches	Diamètre d'inhibition à 0,1 %	Diamètre d'inhibition à 0,01 %	Diamètre d'inhibition à 0,001 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 mm	7 mm	0 mm
<i>Staphylococcus aureus</i>	14 mm	8 mm	1 mm
<i>Aspergillus Niger</i>	15 mm	6 mm	0 mm
<i>Candidas albicans</i>	12 mm	5 mm	2 mm



Figure IV.1. *Candidas albicans*



Figure IV.2. *Aspergillus Niger*



Figure IV.3. *Staphylococcus aureus*

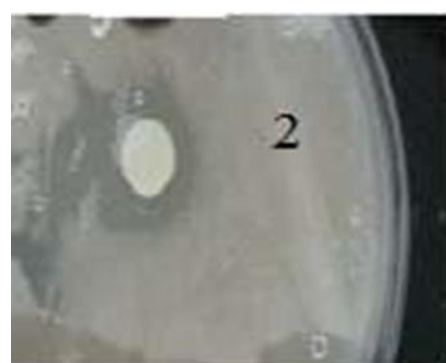


Figure IV.4. *Pseudomonas aeruginosa*

IV.3 Résultats de l'analyse par spectroscopie infrarouge de l'HE

L'analyse du spectre infrarouge de l'HE de résine de pin d'Alep (figure IV.5), montre des pics caractéristiques. Les pics identifiés dans la plage de 1000 à 1500 cm^{-1} correspondent aux vibrations de valence des liaisons C - O et C - C, présentes dans les composés terpéniques et les esters, qui sont les principaux constituants de l'HE de résine de pin. Les bandes intenses observées dans la région de 2850 à 2950 cm^{-1} sont attribuées aux vibrations de valence asymétrique et symétrique des groupes CH_2 et CH_3 , caractéristiques des longues chaînes aliphatiques présentes dans les terpènes et les esters. Enfin, la large bande remarquée autour de 3400 - 3500 cm^{-1} est associée aux vibrations de valence des groupes hydroxyles (OH), pouvant provenir des alcools terpéniques et des acides gras présents dans l'huile.

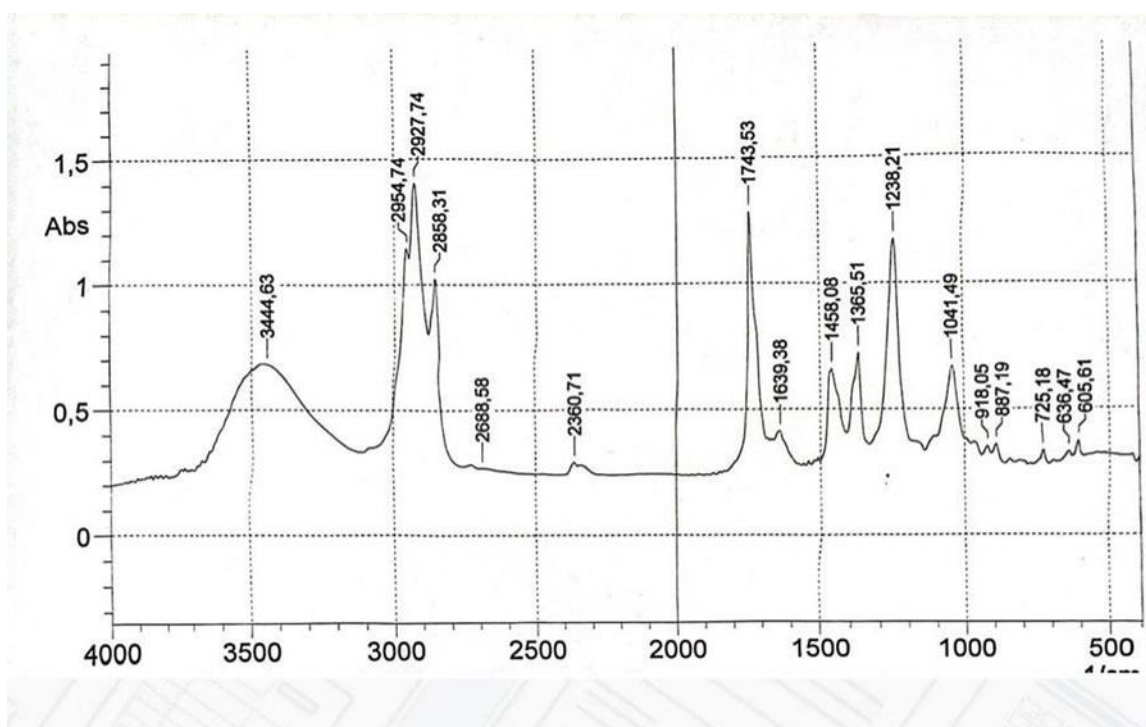


Figure IV.5. Analyse par spectroscopie infrarouge de l'HE de résine du pin d'Alep

IV.4 Résultats du contrôle qualité du PF

IV.4.1 Résultats du contrôle physico-chimique du PF

- Résultats du contrôle organoleptique, mesure du pH et viscosité

Le tableau suivant résume les différentes observations de la crème :

Tableau IV.2. Résultats du contrôle organoleptiques.

Paramètre de contrôle	Méthodes	Résultats
Couleur	Contrôle visuel	Blanc
Odeur	Contrôle olfactif	Odeur spécifique forte
Aspect	Contrôle visuel et toucher	Crème très visqueuse
pH	pH-mètre ($5,5 \leq \text{pH} \leq 6,5$)	6,3
Viscosité	Viscosimètre ($4000 \leq \text{viscosité} \leq 9000$) cps	6900

- **Résultat du test de vieillissement accéléré**

Les deux flacons remplis avec la même quantité de crème, sont montrés sur les photos suivantes, après 20 min de centrifugation. Aucune séparation de phase n'a été constatée.



Figure IV.6. Résultat du test de vieillissement accéléré

- **Résultats des tests de stabilité aux températures extrêmes**

Tableau IV.3. Résultats des tests de stabilité aux températures extrêmes pendant 30 jours

Jours	Température (°C)	pH	Viscosité (cps)
05	0	6,4	6800
	25	6,2	5800
	45	6,0	5000
10	0	6,5	6500
	25	6,3	6000
	45	5,9	5200
15	0	6,4	6500
	25	6,1	6000
	45	5,8	5900
20	0	6,3	6500
	25	6,1	5700
	45	5,8	5400
30	0	6,2	6400
	25	6,0	5800
	45	5,9	5300

- **Résultats de l'observation sous microscope optique**

La photo sous microscopique optique du PF est représentée dans la figure IV.7. On voit qu'il s'agit d'une émulsion, constituée d'une dispersion particulière de tailles de gouttelettes différentes.

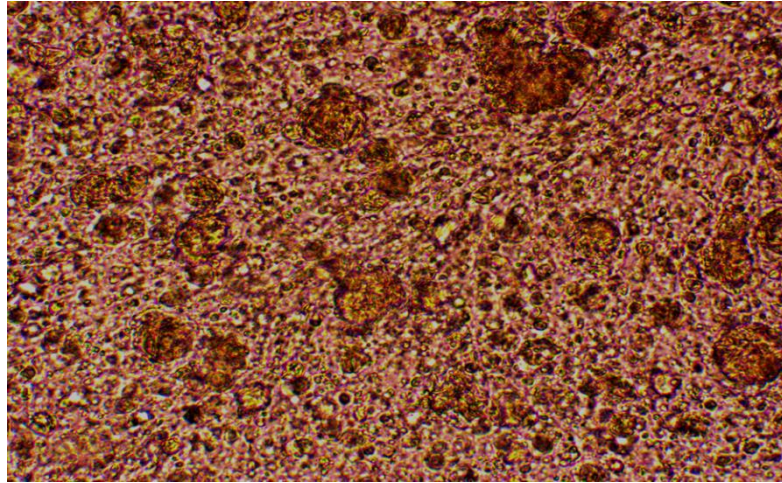


Figure IV.7. Observation sous microscope optique du PF (10 x)

Nous avons tenté de réaliser une analyse granulométrique des tailles des gouttelettes de la phase dispersée, par la méthode de la lame micrométrique représentée sur la figure IV.8, en utilisant un logiciel et biais d'un logiciel de traitement d'image, Image-J. Sur la figure IV.9 est représentée l'image sous microscope optique du PF après son traitement par le logiciel Image-J

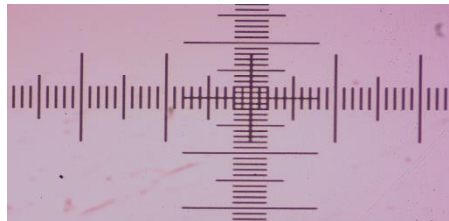


Figure IV.8. Lame micrométrique (10 x)



Figure IV.9. Image sous microscope optique du PF, après son traitement par le logiciel Image-J

La distribution granulométrique des tailles des gouttelettes de la phase dispersée du PF, obtenues avec Image-J, est présentée dans la figure IV.10, qui donne la fréquence cumulée en fonction de la taille.

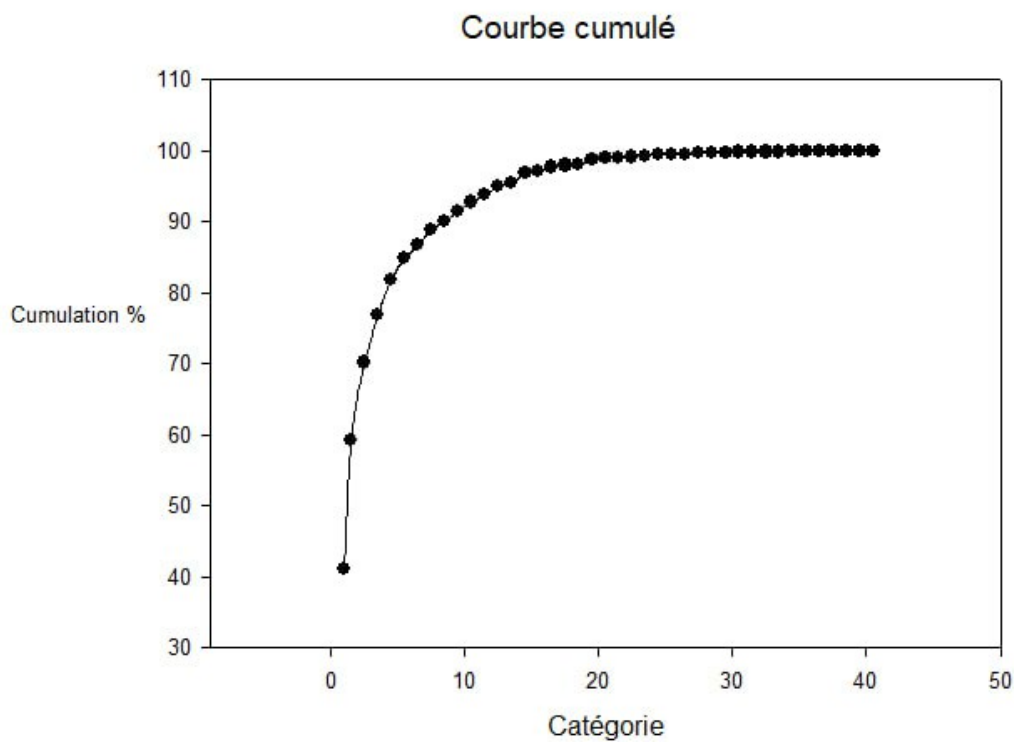


Figure IV.10 Fréquences cumulées en fonction des tailles des gouttelettes

On détermine à partir de la courbe des fréquences cumulées les valeurs de $d_{50} = 1,05 \mu\text{m}$ et $d_{90} = 8,21 \mu\text{m}$, qui sont des paramètres cruciaux pour comprendre la distribution des gouttelettes. La valeur d_{50} représente la taille médiane des gouttelettes, tandis que la valeur d_{90} représente la taille au-dessous de laquelle 90 % des gouttelettes se situent.

- **Résultats de la caractérisation de rhéologique**

Les courbes d'écoulement ont été tracées à deux températures différentes, 20 °C et 45 °C. Le modèle de Carreau a été utilisé pour modéliser nos résultats.

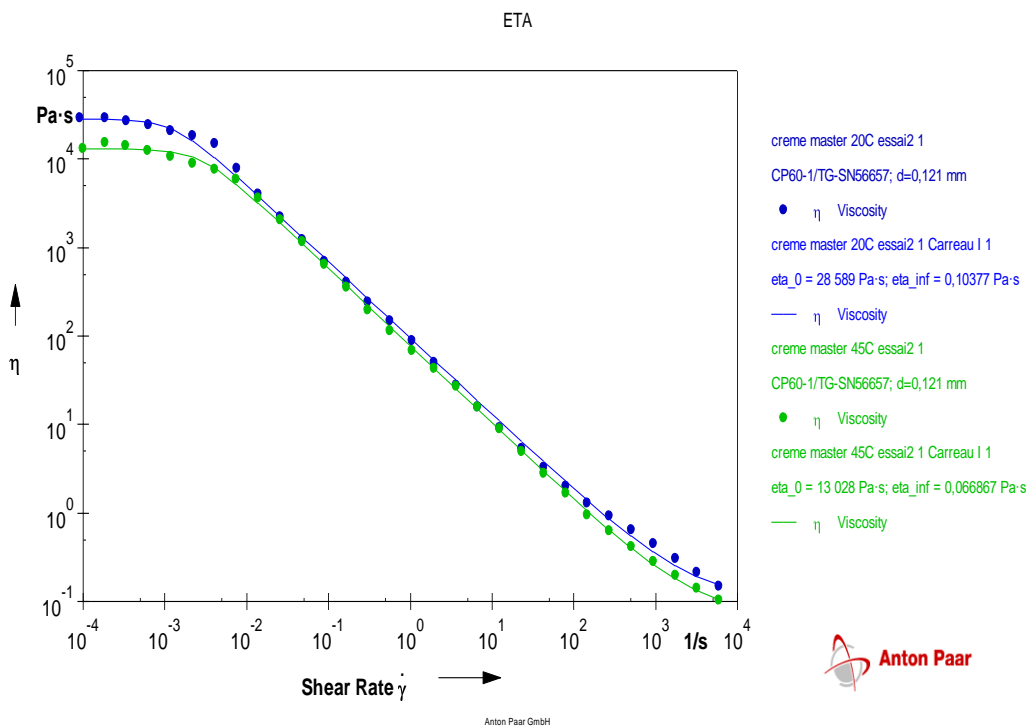


Figure IV.11. Courbes d'écoulement de la crème à 20 °C et 45 °C

La courbe d'écoulement de la crème présente une allure typique d'un comportement non Newtonien. Aux faibles vitesses de cisaillement, le comportement est cependant newtonien, avec une viscosité de 28 500 Pa.s à 20°C et de 13 000 Pa.s à 45°C. Au-delà d'une certaine valeur cisaillement, le comportement devient rhéofluidifiant, se traduisant par une chute de la viscosité apparente. On note une quasi absence d'une deuxième région Newtonienne aux cisaillements élevés, due probablement aux limites de l'appareil.

En écoulement, la viscosité chute jusqu'à 0,10377 Pa.s à 20 °C et 0,066867 Pa.s à 45 °C, ce qui permet de faciliter son étalement et son application.

IV.4.2 Résultat du contrôle microbiologique de la crème

Ces résultats, exprimés dans le tableau suivant, révèlent une absence de toute contamination bactérienne et fongique, ce qui permet de dire que notre PF (crème) est de bonne qualité microbiologique (tableau IV.3).

Tableau IV.4. Résultats du contrôle microbiologique

Germe recherché	Milieu de culture	Température (°C)	Duré (h)	Résultat	Norme
Germes Aérobie	Agar Plate-Count	32 ± 2 °C	72 h	Absence	< 10 ³ g/mL
Levures et moisissures	Agar de SABOURAUD	22 - 25 °C	120 h	Absence	< 10 ² g/mL

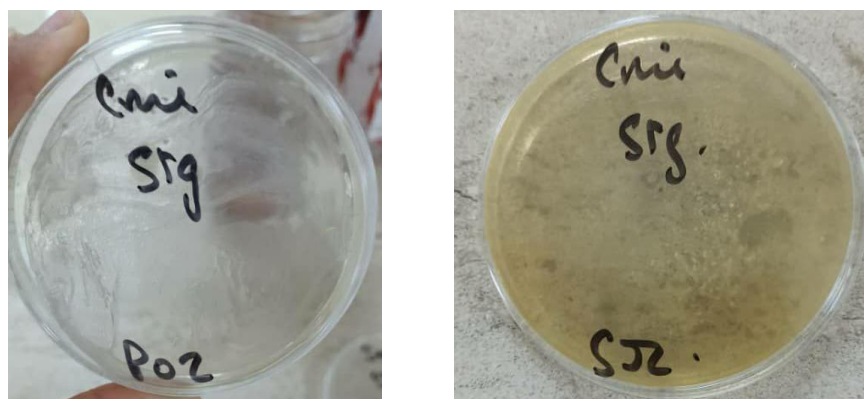


Figure IV.12. Tests microbiologiques

IV.4.3 Résultat de test de toxicité de la crème

Le test d'irritation cutanée (test de Draize) montre que cette crème ne présente aucun risque de contact par voie cutanée. Ce produit est conforme dans les conditions normales d'utilisation

Tableaux IV.5.Résultats de test d'irritation cutanée

ID LAPIN	Score	T 24H	T 48 H	T 72H	RESULTAT	Normes
PF	Erythème et escarre	≤2	≤2	≤2	Non IRRITANT	<2: Faiblement irritant
	Cedème	≤2	≤2	≤2		2-6 : Moyennement
	Autres	(-)	(-)	(-)		>6 : Irritant

Conclusion générale

Cette recherche met en lumière l'importance de se tourner vers des alternatives naturelles, comme les plantes et les fruits, pour développer des produits de soin cutané efficaces et sûrs. La formulation de cette crème bio répond à un besoin croissant de solutions naturelles pour traiter les infections cutanées, offrant une approche holistique pour lutter contre l'inflammation, les infections fongiques et bactériennes.

Le but de cette étude était de préparer une crème bio, en combinant les propriétés anti-inflammatoires, antifongiques et antibactériennes de l'huile essentielle de résine de pin d'Alep dans une émulsion huile dans eau. Cette crème offre non seulement une efficacité thérapeutique, mais aussi une texture agréable et une facilité d'utilisation qui la rendent idéale pour les affections cutanées variées. Cette recherche ouvre la voie à de nouvelles perspectives dans le domaine des soins cutanés naturels et souligne le potentiel des produits dérivés de plantes pour répondre aux besoins de santé de manière sûre et efficace.

Les tests effectués sur l'HE de résine de pin ont montré de très bons résultats en termes d'activités antifongique et antibactérienne. De plus, la crème a démontré une stabilité exceptionnelle, une très bonne consistance et homogénéité. Les résultats des contrôles microbiologiques et physicochimiques se sont également révélés conformes aux attentes, garantissant la sécurité et l'efficacité du produit.

La crème à base d'HE de résine de pin d'Alep offre une alternative naturelle et efficace aux produits chimiques conventionnels. Grâce à ses propriétés anti-inflammatoires, antifongiques et antibactériennes, elle constitue une solution prometteuse pour le traitement des infections cutanées, tout en minimisant les risques d'effets indésirables. Cette formulation pourrait représenter un progrès significatif dans le domaine des soins dermatologiques naturels, répondant à une demande croissante pour des produits de soin sûrs et respectueux de la santé.

Références Bibliographiques

- [1]. Mukherjee T. (2009). Medicinal plants: need for protection. In Trivedi, P. C. (Ed.), *Medicinal Plants, Utilisation and Conservation*. (2nd Revised and Enlarged Edition, chap. 19, pp. 39-404). Jaipur-302 004, India.
- [2]. Alfredsen, G., Solheim, H., & Slimstad, R.. Antifungal effect of bark extracts from some European tree species. *European Journal of Forest Research*. 2008; 127(5), 387-393.
- [3] Mir, I. A., Sofi, G., & Mehfooz, S. Phytochemical Analysis and Pharmacological Studies of *Pinus roxburghii* sarg. *International Archives of Orthopedic Research and Therapy*. 2018 ; 101(01), 1-5
- [4]. -MERAD, F., & MAHIOUT Tassadit, T. (2019). Contribution à l'étude de conformité des drogues pour tisanes vendues en officines
- [5]. -BOUMEDIQU A. ADDOUN S. [THÈSE]. étude ethnobotanique sur l'usage des plantes toxiques en médecine traditionnelle, dans la ville de Tlemcen .ALGÉRIE . (28/05/2017).
- [6]. -MERAD, F., & MAHIOUT Tassadit, T. (2019). Contribution à l'étude de conformité des drogues pour tisanes vendues en officines
- [7]. O.M.S (Organisation Mondiale de la Santé)., 2000 – Principes méthodologiques généraux pour la recherche et l'évaluation de la médecine traditionnelle.
- [8]. - MOREAU B., 2003 _ maître de conférences de pharmacognosie à la faculté de Pharmacie de Nancy. Travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de 3ème année de doctorat de pharmacie.
- [9]. PRESCRIRE., 2007 _ Bien utiliser les plantes en situations de soins, numéro spécial été, . 27, n° 286.
- [10]. KUNKELE U et LOBMEYER T.R., 2007 _ Plantes médicinales, Identification, Récolte, Propriétés et emplois. Edition parragon Books L tol : 33 _ 318.
- [11]. Sophia Jorite. La phytothérapie, une discipline entre passé et futur : de l'herboristerie aux pharmacies dédiées au naturel. (Thèse). Fort de France. Université de Bordeaux 2. 2015.
- [12]. - STRANG C., 2006 - Larousse médical. Ed. Larousse, Paris, 1219 p

- [13]. ISERIN P. Encyclopédie des plantes médicinales. 2^{ème} édition. Londres : Larousse ; 2001.
- [14]. Gayet C. Michel P. Guide de poche de la phytothérapie. Paris : Quotidien Malin Editions 2013.
- [15]. -Dr Xiaorui Z. Programme de médecine traditionnelle : Réglementation des médicaments à base de plantes situation dans le monde. OMS Genève 1998
- [16]. Grunwald J. Janick C. guide de la phytothérapie. 2^{ème} édition. Italie : marabout ; 2006.
- [17]. Haudret J-C. Bien se soigner par les plantes. 1^{ère} édition. Paris : éd SOLAR ; 2004 .
- [18]. Judd W.S., Campbell C.S., Kellogg E.A., Stevens P. (2002). Relation phylogénétique entre les principaux groupes de trachéophytes à l'exclusion des angiospermes « Spermatophytes non angiospermes ». In : « Botanique système ». Ed. De Boeck. ISBN, Paris. ,152, pp.2-7445-0123-9.
- [19]. Jacques Brosse, (2003). Larousse des arbres dictionnaire des arbres et des arbustes, Edition Rustica/ FLER, N° de l'éditeur ; 48396N1 (F12062). Paris, 325p Ammari, Y., Sghaier, T., Khaldi, A., Garchi, S. (2001). Productivité du pin d'Alep en Tunisie: Table de Production. Annales de l'Ingréf N° Special, 239-246.
- [20]. Nahal I, (1962). Le pin d'Alep. Étude taxonomique, phytogéographique, écologique et sylvicole. Annales de l'école Nationale des Eaux et Forêts .19 (4), pp.533-627
- [21]. Nahal, I. (1992). Taxonomie et aire géographique des pins du groupe halepensis. In : options méditerranéennes, Série Etude Ciheam 86/1. Le pin d'Alep et le pin brutia dans la sylviculture méditerranéenne ,1-9 p.
- [22]. Kadik, B. (1987). Contribution à l'étude du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill) en Algérie : Ecologie, Dendrométrie, Morphologie. Office des publications universitaires (Alger). 585p.
- [23]. Lakreb, N., Sen, U., Bezzazi, B., & Pereira, H. (2022). The physico-mechanical and thermal properties of Algerian Aleppo pine (*Pinus halepensis*) wood as a component of sandwich panels. *iForest 3 Biogeosciences and Forestry*, 15(2), 106-111. <https://doi.org/10.3832/ifor3952-015>
- [24]. Bentouati A. Croissance, productivité et aménagement des forêts de pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) Du massif de de ouledyagoub (Khenchla-Aurès).Thèse Doctorat, Univ. Batna. 2006 ; p116- 119.

- [25]. Djerrad., Kadik, L & Djouahri, A. (2015). Chemical variability and antioxidant activities among *Pinus halepensis* Mill. Essential oils provenances, depending on geographic variation and environmental conditions. *Industrial Crops and Products* 74:4403449.
- [26]. Ladjal, S. (2012). Activité antimicrobienne des métabolites secondaires des champignons endophytes isolés du pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) de la région de M'sila, Université Ferhat Abbas-Sétif. 76pages.
- [27]. Guit, B. (2015). Croissance et état sanitaire des peuplements de Pin d'Alep (*Pinus halepensis* Mill.) dans le massif forestier de Senalba (région de Djelfa). Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques, Ecole nationale supérieure d'agronomie, Alger.
- [28]. Joye, N. M., Lawrence, R.V. (1967). Resin Acid Composition of Pine Oleoresins. *Journal of Chemical and Engineering Data* 12, 2793281
- [29]. Rodríguez-García, A., López, R., Martín, J.A., Pinillos, F., Gil, L. (2014). Resin yield in *Pinus pinaster* is related to tree dendrometry, stand density and tapping-induced systemic changes in xylem anatomy. *Forest Ecology and Management* 313, 47354. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2013.10.038>
- [30]. Verma, V.P.S., Pant, S.P. (1978). Performance of slash pine (*Pinus elliottii* Engelm.) vis-à-vis chirpine (*Pinus roxburghii* Sargent) in respect of oleoresin yield at Dehra Dun. *Indian forester*.
- [31]. Holiste. (2017). Biogemme is innovating the way pine resin is collected. Holiste Laboratoire et Développement.
- [32]. Rodríguez-García, A., Martín, J.A., López, R., Sanz, A., Gil, L., Effect of four tapping methods on anatomical traits and resin yield in Maritime pine (*Pinus pinaster* L.). *Ind. Cropsprod.* 86, 2016; 143-154.
- [33]. Rubini, M., Clopeau, A., Sandak, J., Dumarcay, S., Sandak, A., Gerardin, P., & Charrier, B. (2022). Characterization and classification of *Pinus* oleoresin samples according to *Pinus* species, tapping method, and geographical origin based on chemical composition and chemometrics. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 42, 102340. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102340>

- [34]. Cheikh-Rouhou S, Hentati B, Besbes S, Blecker C, Deroanne C and Attia H (2006) Chemical Composition and Lipid Fraction Characteristics of Aleppo Pine (*Pinus halepensis* Mill.) Seeds Cultivated in Tunisia. *Food Sei Tech Int* 15:407-416.
- [35]. Kanerva, M., Puolakka, A., Takala, T.M., Elert, A.M., Mylläri, V., Jönkkäri, I., Sarlin, E., Seitsonen, J., Ruokolainen, J., Saris, P., Vuorinen, J. (2019). Antibacterial polymer fibres by rosin compounding and melt-spinning. *Materials Today Communications* 100527. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2019.05.003>
- [36]. Neis, F.A., de Costa, F., de Araújo, A.T., Fett, J.P., Fett-Neto, A.G. (2019). Multiple industrial uses of non-wood pine products. *Industrial Crops and Products* 130, 2483258. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.088>
- [37]. A Comparative Study on Turpentine Oils of Oleoresins of *Pinus sylvestris* L. from Three Districts of Denizli
- [38]. Tumen, I., Reunanen, M. (2010). A Comparative Study on Turpentine Oils of Oleoresins of *Pinus sylvestris* L. from Three Districts of Denizli. *Records of Natural Products* 4
- [39]. Phillips et Croteau. (1999). Resin-based defenses in conifers. *T.P.S.* 4, 1843190.
- [40]. Ulukanli, Z., Karabörklü, S., Bozok, F., Ates, B., Erdogan, S., Cenet, M., Karaaslan, M.G. (2014). Chemical composition, antimicrobial, insecticidal, phytotoxic and antioxidant activities of Mediterranean *Pinus brutia* and *Pinus pinea* resin essential oils. *Chin J Nat Med* 12, 9013910. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(14\)60133-3](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(14)60133-3)
- [41]. Vallinayagam, R., Vedharaj, S., Naser, N., Roberts, W.L., Dibble, R.W., Sarathy, S.M. (2017). Terpeneol as a novel octane booster for extending the knock limit of gasoline. *Fuel* 187, 9315. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.09.034>
- [42]. Mohamed Ghanmi, Badr Satrani, Abdelaziz Chaouch, Abderrahman Aafi, Abdelhak El Abid, Moulay Rchid Ismaili & Abdellah Farah (2007) Composition chimique et activité antimicrobienne de l'essence de térébenthine du pin maritime (*Pinus pinaster*) et du pin d'Alep (*Pinus halepensis*) du Maroc, *Acta Botanica Gallica*, 154:2, 293-300,
- [43]. Kızılarlan, C., Sevgi, E. (2013). Ethnobotanical uses of genus *Pinus* L. (Pinaceae) in Turkey. *Indian J Tradit Knowle*. 12, p. 209 -220.
- [44]. O'fel. A., Parasitologie, Mycologie : Maladies parasitaires et fongiques. Association des professeurs de parasitologie. Paris : E.Crouan et Roques. 1982 ; p.p. 34

- [45]. Charles D., Pierre F., Jean J.H. 2003. Pathologie Tumorale. Anatomie Pathologique, 202:99-104
- [46]. Parikh NS, Merkler AE, Iadecola C. Inflammation, autoimmunity, infection, and stroke: epidemiology and lessons from therapeutic intervention. *Stroke* 2020; 51:711–8
- [47]. Ashley T.N., Weil Z.M. and Nelson R.J. (2012). Inflammation: mechanisms, costs and natural variation. *Annual Review*, 43; 385-406.
- [48]. BUSSE R. and FLEMING I. (2006). Vascular endothelium and blood flow. *Handbook of Experimental Pharmacology*. No 176. pp 43–78.
- [49]. DARCHEN, R. (1968). « Les glandes cirières et la cire ». In *Traité de biologie de l'abeille*, 1: 450-73. Biologie et physiologie générale
- [50]. WARRE, A. (2005). *L'apiculture pour tous*, Seme édition, Paris, p. 153-167.
- [51]. BOGDANOV, (2009a). Beeswax book [en ligne], disponible sur <http://www.bee-hexagon.net/wax/> [consulté le 26 juin 2022].
- [52]. R. M. Silverstein ; F. X. Webster ; D. J. Kiemle. *Spectrometric Identification of Organic Compounds 7^e Edition*, (2005) John Wiley & Sons, Inc. ISBN 0-471-39362-2.