

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

**UNIVERSITÉ de BLIDA 1**

**Faculté de Technologie**

**Département de Génie des Procédés**



# Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER EN GENIE DES PROCEDES**

**Spécialité** : pharmacie industrielle.

Laboratoire de biochimie-microbiologie de département de génie de procédés.

**Formulation et application d'une crème bio à base des  
polyphénols extraits à partir de marc de raisin.**

Présenté par :

M<sup>elle</sup> : Latoui Kenza.

M<sup>elle</sup> : Koulougli Bouchra.

Encadré par :

M<sup>me</sup> : Laribi. H

M<sup>elle</sup> : Saadoune .Z

Année universitaire 2017/2018

## Table des matières

Dédicace

Remerciements

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumé

Introduction générale.....1

Chapitre 1 : les polyphenols

1. Généralité sur le raisin ..... 2

2. Le marc de raisin ..... 2

3. Classification des composés phénoliques ..... 3

3.1. Les composés non flavonoïdes ..... 3

3.2. Les composés flavonoïdes ..... 5

3.3. Localisation des composés phénoliques du raisin :..... 7

3.3.1. Répartition tissulaire : ..... 7

Chapitre 2: physiologie de la peau et la pénétration cutanée

1. La peau ..... 9

1.1. Structure de la peau ..... 9

2. Rôle de la peau .....10

3. Les différents types de cicatrices ..... 11

4. Mécanisme de la cicatrisation de la peau ..... 12

5. Facteurs influençant le processus cicatriciel ..... 16

5.1. Facteurs locaux ..... 16

5.2. Facteurs généreux .....	16
6. Les crèmes .....	17
6.1. Définition d'une crème .....	17
6.2. Les type de crème .....	17
6.3. Composition qualitative d'une crème .....	17
6.4. Fabrication d'une crème .....	18
7. Contrôles qualité d'une crème .....	18
7.1. Le contrôle des matières premières .....	18
7.2. Le contrôle en cours de fabrication .....	19
7.3. Contrôle du produit fini .....	20

### Chapitre 3: matériels et méthodes

1. Matériels : .....	23
1.1. Matériel végétal .....	23
1.1.1. Présentation de la variété .....	23
1.2. Matériel biologique .....	23
1.2.1. Souches microbiennes .....	23
1.2.2. Milieux de culture .....	24
1.3. Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait .....	24
1.3.1. Technique en milieu solide (aromatogramme) .....	24
1.3.2. Préparation de préculture .....	25
1.3.3. Préparation de l'inoculum .....	25
1.3.4. Ensemencement .....	25
1.3.5. Dépôts des disques .....	25
1.3.6. Lecture .....	26
2. Essai d'élaboration d'une crème cicatrisante .....	26
3. Optimisation d'une crème par le plan d'expérience .....	26
3.1. Elaboration d'une crème cosmétique avec application d'un plan d'expérience	27

<b>4. Préparation de la crème</b>	<b>27</b>
4.1. Matières premières	27
4.2. Réalisation de la crème	28
4.3. Analyses physiques des crèmes formulées	29
4.3.1. Test rhéologique	29
4.3.2. Le ph	29
4.3.3. Test de stabilité	30
4.4. Tests biologiques sur la crème	30
4.4.1. Animaux et lots expérimentaux	30
4.4.2. Traitements utilisés	30
4.5. Réalisation des plaies expérimentales	30
4.5.1. Induction des plaies	30
4.6. Application des traitements	31
4.7. Evaluation du processus cicatriciel	31
<b>Chapitre 4: résultats et discussions</b>	
<b>1. Activités biologique des extraits phénoliques</b>	<b>32</b>
1.1. Aromatogramme	32
<b>2. Optimisation des parametres de formulation</b>	<b>34</b>
2.1. Etude de stabilité	34
2.2. Mesure du potentiel d'hydrogène des crèmes	35
2.3. Etude organoleptique	35
2.4. Etude du comportement rhéologique de la crème formulée	35
<b>5. Évolution du processus cicatriciel</b>	<b>39</b>
<b>6. Discussions des résultats</b>	<b>43</b>

**Conclusion**

**Références bibliographiques**

**Annexes**

## **LISTE DES FIGURES**

<b>Figure 1.1 : Marc de raisin. ....</b>	<b>3</b>
<b>Figure 1.2: Structure acide gallique. ....</b>	<b>4</b>
<b>Figure 1.3: Acide caféique. ....</b>	<b>4</b>
<b>Figure 1.4: squelette de base de stilbènes. ....</b>	<b>4</b>
<b>Figure 1.5: structure de base de flavonoïdes ....</b>	<b>5</b>
<b>Figure 1.6 : structure de flavan-3ols. ....</b>	<b>6</b>
<b>Figure 1.7: structure chimique de flavanols. ....</b>	<b>6</b>
<b>Figure 1.8 : structure de flavylum cation. ....</b>	<b>7</b>
<b>Figure 2.1 : Coupe transversale de la structure de la peau ....</b>	<b>9</b>
<b>Figure 2.2: Schématisation de la phase vasculaire. ....</b>	<b>12</b>
<b>Figure 2.3: Schématisation de la phase inflammatoire. ....</b>	<b>13</b>
<b>Figure 2.4 : Schématisation de la phase proliférative. ....</b>	<b>14</b>
<b>Figure 2.5: Schématisation de la phase de ré épithélialisation. ....</b>	<b>15</b>
<b>Figure 2.6 : Schématisation de la phase de remodelage. ....</b>	<b>16</b>
<b>Figure 3.1 : Poudre de marc de raisin. ....</b>	<b>23</b>
<b>Figure 3.2 : Procédé de préparation de la crème. ....</b>	<b>28</b>
<b>Figure 3.3 : Induction des plaies ....</b>	<b>31</b>
<b>Figure 4.1 : courbe d'écoulement de la crème d'essais 7 ....</b>	<b>36</b>
<b>Figure 4.2 : courbe d'écoulement de la crème d'essais 8 ....</b>	<b>37</b>
<b>Figure 4.3 : courbe d'écoulement de la crème d'essais 9 ....</b>	<b>37</b>
<b>Figure 4.4 : courbe d'écoulement de la crème d'essais 10 ....</b>	<b>38</b>
<b>Figure 4.5 : courbe d'écoulement de la crème de lot 5. ....</b>	<b>38</b>
<b>Figure 4.6 : courbe d'écoulement de la crème de référence ....</b>	<b>39</b>
<b>Figure 4.7 : Aspect des plaies des lots ....</b>	<b>40</b>

<b>Figure 4.8 : Evolution du pourcentage de la contraction des plaies du premier lot durant la période expérimentale .....</b>	<b>41</b>
<b>Figure 4.9: Evolution du pourcentage de la contraction des plaies du deuxième lot durant la période expérimentale .....</b>	<b>41</b>
<b>Figure 4.10 : Evolution du pourcentage de la contraction des plaies du troisième lot durant la période expérimentale .....</b>	<b>42</b>
<b>Figure 4.11 : Evolution du pourcentage de la contraction des plaies du quatrième lot durant la période expérimentale .....</b>	<b>42</b>
<b>Figure 4.12 : Evolution du pourcentage de la contraction des plaies du cinquième lot durant la période expérimentale .....</b>	<b>43</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau 3.1.</b> : Provenance des germes utilisés. ....	24
<b>Tableau 3.2</b> : proportion de formulation de la crème. ....	27
<b>Tableau 4.1.</b> Halos moyennes d'inhibition en (mm) provoqués par l'extrait de pépin contre Les souches bactériennes et les levures. ....	32
<b>Tableau 4.2.</b> Halos moyennes d'inhibition en (mm) provoqués par l'extrait de la peau Contre les souches bactériennes et les levures. ....	3
<b>Tableau 4.3</b> : étude de stabilité des crèmes avec un rapport $\varphi_a / \varphi_h = 45/55$ .....	34
<b>Tableau 4.4:</b> étude de stabilité des crèmes avec un raapport $\varphi_a / \varphi_h = 45/55$ .....	34
<b>Tableau 4.5:</b> valeur de ph des crèmes stable .....	35
<b>Tableau 4.6</b> : compositions des différents lots .....	40

## LISTE DES ABREVIATIONS

**BF** : Biafine.

**BIO**: Biologique.

**BK**: Beurre de karité.

**CA** : Cire d'abeille.

**E/H** : Eau/Huile.

**ES** : Lécithine de soja.

**G** : Gramme.

**H /E** : Huile /Eau.

**HAD** : L'huile d'amande douce.

**HLB** : Hydrophilic lipophilic balance (balance hydrophile lipophile).

**INCI** : International Nomenclature of Cosmetic Ingredients.

**ISMO** : Indice de Stabilité de la Matière Organique.

**KHz** : Kilo hertz.

**MEC** : Matrice extracellulaire.

**PA** : Principe actif.

**PH** : Potentiel hydrogène.

**UFC** : Unité formant colonie.

# REMERCIEMENTS

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

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui nous voudrais témoigner toute notre reconnaissance.

Nous voudrions tout d'abord adresser toute notre gratitude à la directrice de ce mémoire, Madame Hassiba Laribi, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

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

Notre gratitude s'adresse tout particulièrement à :

Le groupe toxicologie de SAIDAL Guie de Constantine. Sans oublier de remercier laboratoire d'hygiène «Blida ».

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

**Kenza et Bouchra.**

# DEDICACE

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 - 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 mon cher frère et sa femme : Ameer et Hiba

A mes très chères sœurs : Massouda et son mari Abdou et Hamida et son mari Ameer.

A mon fiancé.

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

Spécialement mon oncle Nourri de France.

Aux enfants de la famille : Latifa, Serine, Ritadje , Housseem , Maram ,Milissa , Amine Syliya.

A mon binôme et meilleur amie Bouchera t toute sa famille.

A mes chères amis : Rofeida, Fatiha, Zahra, Souad.....

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

A Mme Hadj Zian .

A toute ma promo 017/2018 de Phi « pharmacie industrielle »

**Kenza...**

# DEDICACE

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance, c'est tous simplement que : Je dédie ce mémoire:

A mes chers parents,

A ma mère, la source de ma joie et soutien,

A mon père, mon modèle, ma fierté,

A mes sœurs KHAOULA et LOUBNA,

A mon petit frère FARES,

A mon fiancé,

A tout les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur,

A tous mes amies,

A toutes les personnes qui m'ont aidée, soutenue ou encouragée au long de mes études, Je vous dédie ce modeste travail.

**Bouchra....**

## **RESUME**

De nombreuses études scientifiques ont permis de confirmer les propriétés antibactériennes et antifongiques des composés phénoliques, contre les germes responsables des infections de la peau. Pour cela, cette étude, a mis au point une formulation galéniques (crème eau /huile) avec pour principe actif des extraits phénoliques du marc de raisin .Par la suite, une étude de la stabilité et des essais d'activité cicatrisante ont été effectuées sur la crème Ces essais ont révélés une bonne homogénéité et une stabilité de la crème, une absence d'irritation au niveau cutané ainsi qu'une conservation de l'activité cicatrisante dans la forme

Le contrôle galénique effectué révèle que la crème est jaune, pâteuse, stable et de pH = 6,2. L'extrait de marc de raisin peut être effectivement utilisé au vue de ces résultats comme Cicatrisant des plaies superficielles et parfaitement apte à être mis en formulation

Mots-clés : Marc de raisin, Cicatrisation, Formulation, Crème

## **ABSTRACT**

Numerous scientific studies have confirmed the antibacterial and antifungal properties of phenolic compounds, against germs responsible for skin infections. For this, this study, has Developed a galenic formulation (cream water / oil) with active ingredient phenolic extracts

Afterwards, a study of stability and tests of healing activity were performed on the cream. These tests revealed a good homogeneity and stability of the cream, a lack of irritation at the cutaneous level as well as a conservation of healing activity in the form.

The galenic control performed reveals that the cream is yellow, pasty, stable and pH = 6.2. The extract of grape pomace can be effectively used in view of these results as healing superficial wounds and perfectly fit to be formulated.

Key words: grape pomace,healing,formulation,cream.

## ملخص

وقد أكدت العديد من الدراسات العلمية خصائص مضادة للجراثيم ومضادات الفطريات من المركبات الفينولية ، ضد الجراثيم المسؤولة عن العدوى بشرة. لهذا، طورت هذه الدراسة تركيبة جالينية (ماء / كريم زيتي) مع مستخلصات فينولوجية فعالة من مارك العنب. بعد ذلك ، تم إجراء دراسة لاستقرار واختبار نشاط الشفاء. كشفت هذه الاختبارات عن تجانس جيد واستقرار كريم ، ونقص في التهيج على المستوى الجلدي وكذلك الحفاظ على نشاط الشفاء في شكل يكشف التحكم الجاليني عن أن الكريم أصفر ، فطير ، ثابت و  $\text{pH} = 6.2$ . يمكن استخدام مستخلص ثفل العنب بشكل فعال في ضوء هذه النتائج شفاء الجروح السطحية وتناسب تماما للصياغة

الكلمات الرئيسية: العنب مارك، شفاء، صياغة، كريم

**ETUDE  
BIBLIOGRAPHIQUE**

# **INTRODUCTION**

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. [1]

À partir du XIX<sup>ème</sup> siècle, les molécules responsables des effets thérapeutiques ont été isolées et ont servi de prototypes à l'élaboration de médicaments conventionnels. [2]

Plus de 120 composés provenant de plantes sont aujourd'hui utilisés en médecine moderne et près de 75% d'entre eux sont utilisés selon leur usage traditionnel. Les plaies sont des effractions cutanées accidentelles ou d'origine pathologique déterminant sur la peau à la guérison, des cicatrices. Ces dernières laissent le plus souvent des séquelles disgracieuses non esthétiques par le fait qu'elles forment des macules hétérogènes même si dans certaines régions d'Afrique, elles constituent des critères ethnographiques et ou esthétiques : les balafres. Ces cicatrices lorsqu'elles sont étendues, au cours de leur formation peuvent dans certains cas entraîner la paralysie des membres causant par la suite une entrave à la locomotion [3].

Dans le souci d'aider à la maîtrise des phénomènes de cicatrisation tant au plan médical qu'en soins esthétiques, malgré l'arsenal thérapeutique moderne disponible mais onéreux, nous nous sommes orientés vers des composés biologiques, les polyphénols réputés pour avoir une activité cicatrisante. La présente étude a pour objectif de réaliser une crème à activité cicatrisante à base des composés phénolique du marc de raisin

Le mémoire est organisé en plusieurs parties:

La première partie constitue l'étude bibliographique, et est divisée en deux chapitres;

Dans le 1<sup>er</sup> chapitre, est consacré sur les composés phénoliques qui composent le marc de raisin.

Chapitre 2<sup>ème</sup> Nous nous intéresserons également de la physiologie cutanée afin de connaître les spécificités de la peau et de mieux comprendre le processus impliqué dans le phénomène de cicatrisation.

La seconde partie traite les deux chapitres de la partie expérimentale ;

Chapitre 3<sup>ème</sup> se focalise sur les méthodes et les techniques réalisées pour l'élaboration de cette crème

Le 4<sup>ème</sup> chapitre est consacrée à la description et la discussion des résultats obtenus.

**CHAPITRE I:**  
**LES**  
**POLY PHENOLS**

### 1 -1-Généralité sur le raisin :

Le raisin de table se décline en une dizaine de variétés, du jaune verdâtre au noir, en passant par le rouge et le bleu violacé. Il se distingue- le raisin rouge notamment - par une haute teneur en poly phénols aux propriétés anti oxydantes. Son jus ainsi que le vin contiennent nettement moins de composés antioxydants que les fruits frais. Tout deux offrirait cependant des concentrations équivalentes.

Le raisin est l'un des fruits les plus riches en glucides. Ces derniers fournissent l'essentiel de ses calories et contribuent à saveur sucrée, que viennent équilibrer quelques acides organiques.

Il renferme plus de 80 % d'eau, dans laquelle sont dissous de nombreux minéraux et oligo-éléments : potassium, manganèse, phosphore, cuivre.

La peau et la chair de ses grains contiennent des vitamines du groupe B, ainsi que de la vitamine C.

Elles comptent surtout une grande variété de composés phénoliques (polyphénols) aux propriétés anti oxydantes, notamment des flavonoïdes (quercétine, myricétine, catéchines, épi catéchines, pro anthocyanidines, anthocyanines, resvératrol).

De nombreuses études ont démontré qu'une consommation élevée de légumes et de fruits, dont le raisin, pouvait diminuer le risque de maladies cardiovasculaires, de certains cancers et d'autres maladies chroniques. Leurs vitamines, minérales, et composés antioxydants ainsi que leurs fibres joueraient un rôle protecteur significatif. [4][5]

### 1 -2-Le marc de raisin :

Le marc de raisin constitue la partie solide du raisin une fois pressé, contrairement au moût qui correspond au liquide extrait. Le marc comprend les pépins, et la peau des raisins, formés sous forme de fines pellicules. Le marc est séparé du moût lors du procédé de vinification. Le marc de raisin utilisé pour ses propriétés thérapeutiques ou cosmétiques est généralement issu de raisin rouge. La peau et les pépins des raisins contiennent de nombreuses propriétés cosmétiques, qui ont fait du marc de raisin un produit incontournable des soins beauté. Les marcs de raisin représentent environ 20% du poids



**Figure 1.1** : Marc de raisin. [6]

### 1-3- Classification des composés phénoliques de raisin :

Les composés phénoliques ont une importance primordiale en œnologie, les familles principales de composés phénoliques du raisin sont des produits de métabolites secondaires des plantes. Ils sont caractérisés par la présence d'un ou plusieurs noyaux benzéniques portant un ou plusieurs groupements hydroxyles. Les composés phénoliques présents dans le marc de raisin appartiennent à différents groupes :

- les non flavonoïdes.
- les flavonoïdes.

#### 1 -3-1 Les composés non flavonoïdes :

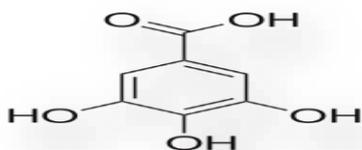
Ils regroupent les acides phénoliques constitués de dérivés de l'acide hydroxy benzoïque (Acide gallique ...), **figure 1.2** ; et hydroxy cinnamique (acide caféique), **figure 1.3** ; mais également des composés Originaux tels que les stilbènes.

##### a) les acides phénoliques :

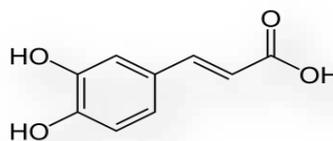
###### -Les acides benzoïques :

Les acides benzoïques ont une structure de type C6-C1. Les plus importants sont les acides vanillique, syringique et notamment l'acide gallique. Le principal représentant des acides benzoïques dans le raisin est l'acide gallique, présent surtout comme substituant des flavanols. [7]

###### -Les acides hydroxy cinnamiques :



**Figure 1.2:** Structure acide gallique.



**Figure 1.3:** Acide caféique.

L'acide coumarique, caféique, férulique se trouve en majorité sous forme d'esters tartriques) mais ils sont aussi impliqués dans l'acylation des anthocyanes. [8]

b) Les stilbènes :

Ils sont des composés phénoliques dérivés de l'acide hydroxy cinnamique dont le squelette de base est constitué de deux cycles benzéniques reliés par un pont éthylène (figure6). A partir de cette structure relativement simple, dont la nature varie en fonction du nombre et de la position des groupements hydroxyles, de la substitution par des sucres, ainsi que de la configuration stérique (-cis ou -trans) de la molécule, il existe de nombreuses molécules. Les isomères trans- et cis- du resvératrol et leurs glucosides, les trans- et cis- picéïdes, constituent les stilbènes les plus classiquement présents dans le marc de raisin. [9]



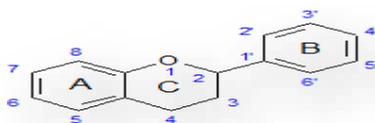
**Figure 1.4:** squelette de base de stilbènes.

Enfin, les lignines sont également des composés phénoliques condensés qui constituent 15 à 35% du bois des Angiospermes et des Gymnospermes. Elles sont responsables de la rigidité des fibres végétales. Elles résultent de la polymérisation de trois unités phénoliques de base qui sont les alcools coumarylique, coniférylique et sinapylique.

1-3-2 Les composés flavonoïdes du raisin :

a) Structure et propriétés générales :

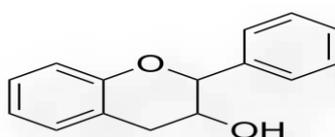
Les flavonoïdes sont caractérisés par une structure en C6-C3-C6 (**figure 1.5**). Ils se différencient par rapport à la position et au degré d'hydroxylation et de saturation des différents noyaux. Chaque composé est caractérisé par une absorption dans le domaine des UV. Dans le raisin, trois principaux types de flavonoïdes sont accumulés, **les flavan-3-ols, les flavanols et les anthocyanes**. [10]



**Figure 1.5:** structure de base de flavonoïdes

### B) Flavan-3-ols :

Les Flavan-3-ols sont présents dans le raisin sous forme de monomères et de structures polymérisées, appelées proanthocyanidines ou tannins condensés. Les structures de base des proanthocyanidines, sont les flavan-3-ols monomères stéréo-isomères, (+)-catéchine et (-)-épi catéchine, qui peuvent être estérifiés en position 3 par l'acide gallique. Au sein du raisin, les proanthocyanidines se différencient entre les différents tissus par leur degré de polymérisation et par la proportion des différentes sous-unités. [11].



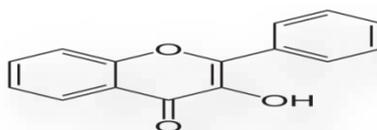
**Figure 1.6 :** structure de flavan-3ols.

### C) Flavanols :

Les flavanols sont des pigments jaunes qui s'accumulent dans les baies à maturité, notamment en réponse à l'exposition au rayonnement UV. Dans les cépages rouges, on détecte majoritairement la quercétine (44%), la myricétine (37%) et en plus faible quantité le kaempférol, la laricitine, l'isorhamnetine et la syringétine. Dans les cépages

blancs, on trouve principalement de la quercétine (81%) et du kaempférol (17%) et en plus faible quantité l'isorhamnetine. [12]

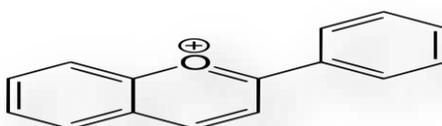
Dans le raisin, les flavanols se trouvent globalement en quantité inférieure aux proanthocyanidines et aux anthocyanes. Ils s'accumulent uniquement sous forme glycosylés, majoritairement quercétine 3-O-glucoside et quercétine 3-O-glucuronide. [13]



**Figure 1.7:** structure chimique de flavanols.

#### D) Les anthocyanes :

Les anthocyanes constituent les pigments rouges du raisin. Ce sont des dérivés poly hydroxylé/méthoxylé de sels de benzopyrilium (flavylium) **figure 10**, A pH acide, comme dans les vacuoles des cellules végétales, la forme prédominante est le cation flavylium (de couleur rouge en solution aqueuse) alors qu'à pH plus élevé, ce cation flavylium est converti en d'autres espèces, dont certaines sont incolores. [14]



**Figure 1.8 :** structure de flavylium cation.

### 1-4 Localisation des composés phénoliques du raisin :

#### 4-1 Répartition tissulaire :

La répartition des poly phénols dans les différents tissus constituant le marc de raisin est très inégal. Le niveau d'accumulation de ces composés apparaît toujours comme la résultante entre leur biosynthèse et leur utilisation et/ou dégradation.

a) La pellicule :

La pellicule renferme les plus grandes teneurs de la baie de raisin en anthocyanes. [15] Même si la composition phénolique dépend fortement du cépage et des conditions de culture, la pellicule possède de fortes quantités de tanins. La composition de la pellicule de raisin en termes de composés phénoliques complète par Les glucosides et glucuronides de quercétine...etc. [16] Excepté la présence d'anthocyanes dans les pellicules de raisins rouges, les compositions phénoliques des raisins rouges et des raisins blancs sont semblables [17]

Les flavanols des deux variétés de raisins rouges diffèrent de ceux de la variété de raisins blancs en ayant une plus forte proportion d'unités d'épigallocatechines [18]

b) Les pépins :

Les tanins de pépins sont constitués des mêmes unités monomères que les tanins de la pellicule. [19]. Les pépins sont également composés de procyanidines et en moindre quantité d'acide gallique et d'épigallocatechine [20]. Les flavanols sont les seuls poly phénols retrouvés dans les pépins des trois cépages de Champagne. Le Pinot Meunier en contient le plus avec 6400 mg/kg de baies, suivi par le Pinot Noir avec 4840 mg/kg de baies puis par le Chardonnay avec 2300 mg/kg de baies [21].

c) La rafle :

La rafle est également une source intéressante de polyphénols ; les vins obtenus de grappes non éraflées contiennent généralement plus de polyphénols que ceux faits à partir de grappes éraflées. Les composés phénoliques les plus abondants dans les rafles sont les tanins (environ 80%) [22].

d) La pulpe :

Les flavanols sont les polyphénols les plus abondants dans la pulpe ; ils représentent 60% des polyphénols totaux. Les pulpes des trois cépages de Champagne sont caractérisées par des tanins globalement similaires. D'autre part, le Pinot Noir détient les proportions les plus élevées d'acides phénoliques dans la pulpe avec 276 mg/kg de baies contre 174 mg/kg dans le Chardonnay et 127 mg/kg de baies dans le Pinot Meunier.

Les pulpes de Chardonnay et Pinot Meunier possèdent plus de flavanols que d'acides phénoliques (ratios 1,8 et 1,7 respectivement) [23]

**CHAPITRE 2:**

**PHYSIOLOGIE DE**

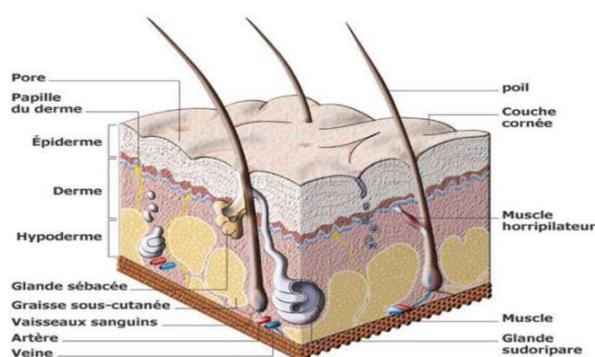
**LA PEAU ET LA PENETRATION**

**CUTANEE.**

## 2 -1 La peau :

### 2 -2-Structure de la peau :

La peau, plus qu'une enveloppe est un organe à part entière, C'est un organe membraneux, doux, épais, résistant, flexible, imperméable, recouvrant tout le corps comme une enveloppe protectrice et le sépare de l'environnement. Il comprend de la superficie en profondeur trois couches l'épiderme, le derme et l'hypoderme.



**Figure 2.1 :** Coupe transversale de la structure de la peau (Anonymes, 2008) [24]

#### a) L'épiderme:

L'épiderme est la partie superficielle de la peau, non vascularisé, mince [25] C'est un épithélium pavimenteux stratifié constitué de plusieurs couches, avec des cellules basales qui se chargent progressivement de kératine, et migrent vers la surface en perdant leur noyau pour régénérer l'épiderme : les kératinocytes, et par le même mécanisme, les possibilités de cicatrisation spontanée de toute brûlure.

On y trouve également des cellules chargées de mélanine : les mélanocytes, ainsi que les cellules de langerhans qui jouent un rôle dans la réponse immunitaire, et les cellules de Merkel qui jouent un rôle dans la sensibilité tactile [26].

#### b) Le derme :

Le derme est la deuxième couche de la peau, il se situe en dessous de l'épiderme [26]. Il est un tissu conjonctif richement vascularisé et innervé, contenant du collagène et des fibres élastiques (fibroblastes). C'est également là que l'on trouve les follicules pileux, les glandes sébacées et sudoripares.

Il a un rôle de soutien, de nutrition et conditionne la qualité de la cicatrisation [27].

c) L'hypoderme :

L'hypoderme est la couche la plus profonde de la peau située sous le derme. C'est une couche grasseuse sous-cutanée mal vascularisée, d'épaisseur variable, il joue deux rôles :

- Diminuer les pressions aux quelles la peau est soumise.
- Il protège l'organisme contre les variations de température. [27]

2 -3 Rôle de la peau :

La structure complexe sert de barrière entre le milieu extérieur et l'intérieur du corps et possède deux rôles majeurs :

- a) Un rôle de communication : entre l'organisme et le milieu environnant : la peau permet de capter les stimuli de l'environnement grâce à ses récepteurs (toucher, pression, douleur et température) ou encore de réguler la température corporelle via la transpiration. [28]

b) Rôle de protection :

La peau a un rôle de :

- Protection vis-à-vis des agents traumatisants grâce à la combinaison des propriétés de dureté, de fermeté, d'élasticité et d'amorti du tissu cutané et assurer l'imperméabilité par la couche cornée et le film hydrolipidique. La peau est imperméable à l'eau et aux ions ainsi qu'à certains agents chimiques. La couche cornée permet aussi des échanges gazeux (respiration cutanée).

Rôle fondamental, si altération de la couche cornée  $\geq$  à 50% de sa surface totale, le pronostic vital peut être engagé. [29]

c) Rôle dans l'immunité

L'immunité est assurée par divers éléments de la peau :

- Flore bactérienne endogène, rôle de la structure épidermique
- Cellules immunitaire épidermiques et les Cellules immunitaires dermiques. [30]

d) Rôle dans la régulation thermique :

La peau assure :

-la sudation est assurée par les glandes sudoripares, l'évaporation permet de diminuer la température superficielle. Les poils jouent aussi un rôle en facilitant l'évaporation.

-une vasodilatation entraîne une diminution de la température corporelle, une vasoconstriction l'augmente et isolation thermique du tissu adipeux hypodermique. [31]

e) Rôle dans la fonction sensorielle :

La fonction sensorielle est assurée par les nombreuses terminaisons nerveuses permettant de ressentir différents stimuli et rôle des cellules de Merkel. La densité de répartition des terminaisons nerveuses varie selon les endroits du corps. Les poils jouent un rôle en amplifiant le contact. [32]

f) Rôle de transformation :

- Transformation de la vitamine D : synthèse de cholécalférol au niveau cutané, à partir du cholestérol sous action des rayons UV.

2.3 Les différents types de cicatrices :

a) Cicatrices chéloïdiennes :

Cicatrices hypertrophiques et chéloïdes Ce sont des cicatrices à période inflammatoire très importante, chronique et décalée dans le temps. Les cicatrices hypertrophiques sont distinctes des cicatrices chéloïdes.

b) Cicatrices rétractiles - brides cicatricielles :

Ces cicatrices peuvent intéresser la peau et les plans profonds ainsi que les muqueuses. Elles peuvent gêner la fonction ou déformer un orifice naturel. Ces cicatrices évoluent vers la rétraction car elles sont orientées dans une direction qui s'éloigne de la parallèle aux lignes de tension cutanée, les lignes de Langer.

c) Cicatrices adhérentes :

Ces cicatrices présentent un manque de mobilité par rapport aux plans profonds et gênent la fonction.

d) Cicatrices fibrosées :

Ces cicatrices sont indurées, manquent de souplesse par rapport aux tissus voisins, sont rigides. [33][34][35][36][37].

2-5 Mécanisme de la cicatrisation de la peau : [38]

La cicatrisation est un mécanisme physiologique complexe de réparation des tissus. Le processus de cicatrisation cutanée apparaît lorsque la peau présente une plaie récente (plaie aiguë) ou lorsque des altérations entraînent un retard de la cicatrisation normale (plaie chronique). Elle a pour but de reconstituer les composants de la matrice extracellulaire (MEC), restaurer les structures et les capacités fonctionnelles du derme et de l'épiderme.

✓ La cicatrisation physiologique :

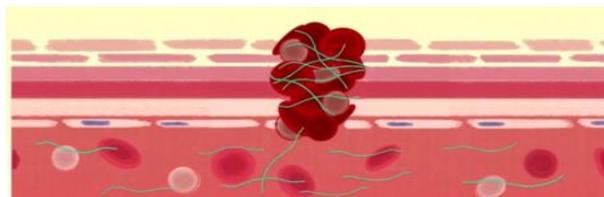
La cicatrisation se fait en 5 étapes qui s'interpénètrent :

a) Phase vasculaire :

Cette phase se commence par le phénomène de saignement, leur efficacité dépend la qualité de coagulation.

La vasoconstriction est rapide et favorise l'hémostase immédiate. La mise à nu du sous endothélium vasculaire provoque l'adhésion plaquettaire suivie par la formation de caillot de fibrine qui forme un réservoir pour les facteurs de croissance libérées dans la plaie.

La migration et l'activité des polynucléaires neutrophiles et des macrophages qui sont favorisées par la fibrine et la fibronectine, ces derniers protègent de l'infection, favorisent la déterision et ont un rôle nutritionnel local.



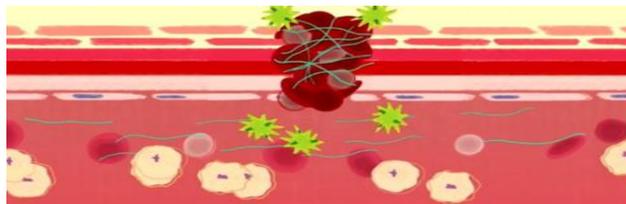
**Figure 2.2:** Schématisation de la phase vasculaire. [39]

Une phase de vasodilatation favorisée par des médiateurs permet aux cellules circulantes d'affluer sur le site de la plaie ; elles sont recrutées par des facteurs plaquettaires, du complément et les produits de dégradation de la fibrine, des peptides bactériens.

Des dépôts de fibrine et des caillots couvrent rapidement le fond de la plaie, dans un but d'hémostase.

b) Phase inflammatoire :

débute entre la 12<sup>ème</sup> et la 24<sup>ème</sup> heure La vasodilatation permet d'augmenter la perméabilité capillaire. Cette dernière ainsi que l'exsudation plasmatique de cytokines et facteurs de croissance par les plaquettes et les cellules endommagées, entraîne une cascade de phénomènes inflammatoires associant un érythème, un œdème, une douleur locale et une augmentation de la température. Les neutrophiles apparaissent vers la 1<sup>ère</sup> heure de la cicatrisation. Le neutrophile est le rempart de l'infection locale. Ces neutrophiles sont rapidement remplacés ou suivis par des macrophages et des lymphocytes. D'autres facteurs locaux (interféron  $\alpha$ ,  $\beta$  ou  $\gamma$ ) vont permettre l'activation du macrophage.



**Figure 2.3:** Schématisation de la phase inflammatoire. [39]

C'est également au cours de la réponse inflammatoire que l'organisme va éliminer physiologiquement les fragments de tissu de la matrice lésée avant de reformer une nouvelle matrice au cours de la phase de bourgeonnement.

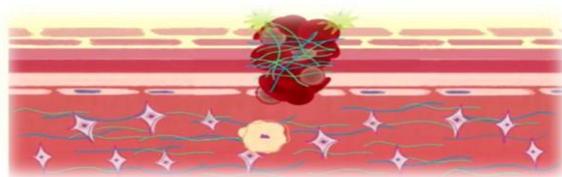
Afin de protéger les tissus sains d'une activité excessive des protéases, un mécanisme de contrôle physiologique empêche une libération excessive prolongée de MMP dans la matrice.

c) Phase de réparation tissulaire ou de bourgeonnement :

Après élimination des déchets tissulaires, il va falloir reconstituer la matrice extracellulaire. Cette phase comprend deux niveaux tissulaires avec, de la profondeur à la superficie :

- le derme : formation d'un tissu de granulation
- l'épiderme : migration des kératinocytes sur ce tissu de granulation.

La formation du tissu de granulation dure entre 10 à 15 jours ; elle associe par une prolifération fibroblastique



**Figure 2.4 :** Schématisation de la phase proliférative. [39]

la synthèse d'une matrice extracellulaire par les fibroblastes, comportant du collagène, de la fibronectine, des protéoglycanes 3<sup>ème</sup> au 15<sup>ème</sup> jour, on assiste à l'apparition de cellules synthétisant de la substance fondamentale, mais aussi à des facteurs de dégradation de cette même substance qui permettent son remodelage.

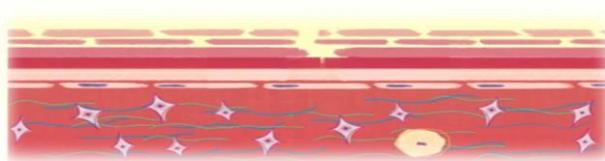
La phase de bourgeonnement dure environ 3 semaines et, lors de la cicatrisation normale, l'épithélialisation se prépare également dès ce moment. Après 3 jours, les fibroblastes produisent du collagène. Leur prolifération est régie par un certain nombre de facteurs. L'arrêt de cette prolifération se fait. Une angiogénèse issue de la migration des cellules endothéliales à partir des vaisseaux sanguins sains proches. Les fibroblastes eux-mêmes auto-entretiennent la formation de cette néoangiogénèse.

L'hypoxie tissulaire dans la plaie et les protéases dégradant la matrice la favorisent. Le réseau vasculaire est d'abord indifférencié (bourgeon charnu) vers le 5<sup>ème</sup> jour .

Certains fibroblastes se transforment en myofibroblastes, caractérisés par la présence de myofibrilles contractiles (ainsi qu'une protéine contractile, l'alpha smooth muscle actine) au sein de son cytoplasme, qui aboutissent à la contraction de la plaie. Cela va diminuer sa surface et accélérer sa fermeture par rapprochement des berges de la plaie.

d) Phase de ré épithélialisation :

Les kératinocytes de la couche basale de l'épiderme se divisent et migrent de façon centripète depuis les bords de la plaie vers le centre de la plaie. Certains facteurs, tels que la régularité de la surface de la plaie ou la présence de fibronectine ou de protéines responsables de l'adhésion cellulaire, jouent un rôle essentiel dans cette étape migratoire du fait de la contiguïté des kératinocytes. Une fois l'intégrité du derme restaurée, le processus continue avec la différenciation des kératinocytes, conduisant à la reformation d'un épiderme stratifié opérationnel, assurant sa fonction protectrice.

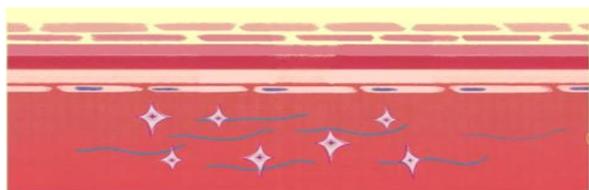


**Figure 2.5:** Schématisation de la phase de ré-épithélialisation. [39]

e) Phase de remodelage tissulaire :

C'est la maturation de la matrice extracellulaire qui dure plusieurs mois après la fermeture de la plaie. Elle conduit à la cicatrice proprement dite. Elle est à la fois inflammatoire et proliférative. La proportion des différents types de collagène est modifiée : la proportion du collagène de type I augmente, alors que celle de collagène de type III diminue (de 30 % à 10 %). La densité cellulaire des myofibroblastes diminue par apoptose, laissant place aux fibroblastes qui synthétiseront une matrice extracellulaire de meilleure qualité, plus résistante aux forces mécaniques. Le réseau vasculaire s'organise. Le collagène, les fibres élastiques et les protéoglycanes remplacent progressivement l'acide hyaluronique et la fibronectine. Certaines cellules (polynucléaires, macrophages) et des protéases sont très importantes dans ce phénomène.

La résistance de la cicatrice est augmentée de 80 à 90% à 6 semaines, sans atteindre celle de la peau normale pré-lésionnelle. Certains facteurs influencent la synthèse et l'orientation des molécules de collagène (âge, forces de tension, pression). La phase de régression finale persiste environ deux ans.



**Figure 2.6 :** Schématisation de la phase de remodelage. [39]

## 2-6 Facteurs influençant le processus cicatriciel :

### 2-6-1) Facteurs locaux :

#### - L'orientation de la plaie :

Influe sur son évolution cicatricielle. Il existe des lignes cutanées de tension liées à l'orientation des faisceaux de collagène, appelées lignes de Langer.

#### - Les berges de la plaie

Doivent être franches et les points de suture réduits au strict minimum pour une bonne cicatrisation.

#### - Le siège de la plaie :

Certaines zones (épaules, thorax) présentent souvent une cicatrisation anormale. La cicatrisation est meilleure sur peau fine. Les tissus soumis à des tensions et détentes peuvent développer une mauvaise cicatrisation. [40][41]

#### - La présence de corps étrangers

### 2-6-2) Facteurs généraux :

- L'origine ethnique et la couleur de la peau, l'âge, le Tabac, la Malnutrition, Le Diabète

-Les Médicaments : Immuno supresseurs, chimiothérapies et anti-inflammatoires.

- Les glucocorticoïdes altèrent toutes les étapes de la cicatrisation : l'inflammation bien évidemment, mais également les proliférations cellulaires, la synthèse de collagène, la formation et la contraction du tissu de granulation, l'épithélialisation. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens altèrent le processus inflammatoire en inhibant les synthèses de prostaglandines.

- Les cytostatiques utilisés dans le cadre de chimiothérapies inhibent les proliférations cellulaires dans les tissus à renouvellement rapide, et donc dans les plaies en cours de cicatrisation. [40][41]

## 2-7 Les crèmes :

### 2-7-1-Définition d'une crème :

Ce sont des émulsions biphasique avec une phase aqueuse et une phase huileuse non miscibles. Selon la proportion, on obtient :

- Crèmes hydrophobes : la phase continue (consistance) huileuse (< 30% d'eau), nécessite des émulsifiantes « eaux dans huile » ;
- Crèmes hydrophiles : la phase continue aqueuse (30 à 80% d'eau), nécessite des émulsifiants «huile dans eau ».[42]

### 2-7-2- Les types de crème :

- Crème hydratante.
- Crème solaire (crème hydratante pour protéger du Soleil la peau humaine grâce à ses filtres ultraviolets).
- Crème éclaircissante. [42]

### 2-7-3-Composition qualitative d'une crème :

-Principe actif

-Phase lipophile

-Agent(s) tensioactifs = émulsionnants

-Phase hydrophile

-Agent(s) épaississant(s)

-Agents conservateurs (antioxydant, antimicrobien)

-Agents aromatisants et agents colorants...

**N.B:** La compréhension des caractéristiques physico-chimiques et pharmaco techniques d'une crème passe par la compréhension de celles d'une émulsion... [43]

#### 2-7-4-Fabrication d'une crème :

##### Le procédé d'émulsification directe :

Les différents constituants de la formulation sont pesés à l'aide d'une balance électrique. Les deux phases de l'émulsion sont ensuite constituées, suivant la solubilité des différents composants de la formulation:

- La phase huileuse comporte les différents corps gras (huiles, cires), les émulsionnants lipophiles, l'agent viscosifiant lipophile et les antioxydants lipophiles.
- La phase aqueuse contient l'eau purifiée, les agents humectant, les viscosifiant hydrosolubles, les émulsionnants hydrosolubles, les conservateurs antimicrobiens et les antioxydants hydrosolubles.

Les deux phases sont chauffées à une température de 60-80 °C, sous une agitation lente. L'émulsification est réalisée lorsque les deux phases sont maintenues à la même température. Elle se fait par une addition lente de la phase interne à la phase dispersante, sous une agitation plus ou moins violente et constante. A la fin de l'émulsification, le mélange est soumis à un refroidissement progressif et lent à la température ambiante, sous une agitation de plus en plus lente évitant les inclusions d'air. Lorsque le processus de refroidissement est terminé, les aromatisants et les principes actifs sont ajoutés, et les pertes dues à l'évaporation de l'eau sont compensées, toujours sous agitation, par addition d'eau jusqu'au poids initial. [44]

#### 2-8 Contrôles qualité d'une crème :

L'assurance de la qualité des crèmes est très importante pour leur mise sur le marché et leur acceptation par le public, comporte à la fois les contrôles en cours de fabrication et les contrôles du produit fini. La qualité de la production se base essentiellement sur la propreté des lieux de travail et du matériel utilisé, et sur le contrôle de la qualité des matières premières, des produits en cours de fabrication (produits intermédiaires) et des produits finis.

##### 2-8-1) Le contrôle des matières premières :

Il consiste, conformément au cahier de charge du demandeur:

- à vérifier la conformité de l'étiquetage, l'emballage et le conditionnement;
- à examiner les caractères organoleptiques tels que l'odeur, la couleur, le toucher, le goût;
- à déterminer les caractéristiques physiques: densité, viscosité, indice de réfraction, absorption des radiations ultraviolettes, point de fusion;
- à examiner les caractères chimiques: identifications et dosages au moyen de réactions chimiques colorées, de la chromatographie sur couche mince, en phase gazeuse ou liquide ; détermination des indices d'iode, d'hydroxyle, peroxyde, d'acide ; recherche des impuretés et des produits de dégradation, etc..
- à évaluer la qualité ou la propreté microbiologique

### 2-8-2) Le contrôle en cours de fabrication :

En plus de l'examen des caractéristiques organoleptiques (odeur, couleur, touché, goût), il consiste aussi à étudier les caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques

#### ➤ Les caractères physico-chimiques : [45]

- Détermination du sens d'émulsion (h/e ou e/h) : Elle est réalisée soit par la méthode par dilution, soit par la méthode utilisant des colorants solubles dans l'une des phases. La méthode de la conductivité électrique, qui se base sur le principe que les émulsions H/E sont conductrices d'électricité tandis que les émulsions E/H sont des isolants électriques, est aussi préconisée par la pharmacopée.

-Contrôle de l'homogénéité: Ce paramètre est étudié macroscopiquement ou grâce à la détermination, à l'aide d'un cytomètre de flux ou d'un microscope muni d'un oculaire micrométrique, de la distribution granulométrique de l'émulsion.

-Détermination des propriétés rhéologiques : La rhéologie est la science qui étudie l'écoulement des fluides et la déformation des corps.

Détermination du pH : Elle est effectuée, grâce à des réactions colorées ou à l'utilisation de pH-mètres, directement sur l'émulsion ou après dilution (à environ 10 %) dans de l'eau distillée. Elle est importante parce que le pH influence la stabilité des émulsions, la tolérance cutanée des préparations et les incompatibilités entre les différents constituants.

➤ Contrôle de la stabilité :

Le contrôle de la stabilité des crèmes consistera à observer, à intervalles réguliers, l'évolution des caractères organoleptiques, physico-chimiques et microbiologiques ainsi que l'apparition des phénomènes d'instabilité. Il peut se faire dans les conditions climatiques normales ou sous des conditions de vieillissement accéléré, en soumettant par exemple l'émulsion à la centrifugation, à des cycles de congélation et de décongélation, ou encore, à l'effet de la chaleur (40 °C ou 50° C)

➤ Contrôle microbiologique :

Il est fondamental afin d'éviter l'altération ou l'intolérance après application des préparations cosmétiques. Il consiste en une recherche et une numération des germes bactériens et fongiques éventuellement présents dans la préparation et en une recherche de germes dits pathogènes, qui ne doivent pas se retrouver dans les préparations dermatologiques.

Dans le but de maintenir une propreté microbienne satisfaisante, il est recommandé, en plus de la propreté du matériel et des matières premières utilisés, de l'hygiène au travail, d'ajouter un conservateur antimicrobien efficace. Cette efficacité peut être vérifiée par un test de contamination artificielle, qui consiste à inoculer environ 10<sup>7</sup> UFC/g de chacun des germes pathogènes.

2-8-3) Contrôle du produit fini :

En plus des contrôles organoleptiques, physico-chimiques et bactériologiques examinés plus haut, des contrôles de tolérance (innocuité) et d'efficacité (activité des préparations contenant des actifs ou principes spécifiques) peuvent également être réalisés sur le produit fini

**PARTIE**

**EXPERIMENTALE**

**CHAPITRE 3 :**  
**MATERIELS ET**  
**METHODES.**

Ce chapitre est consacré à la formulation d'une crème bio à base des composés phénoliques extraits à partir du marc de raisin, ensuite à l'étude de l'effet cicatrisant de cette crème.

Les effets cicatrisants de cette crème sont comparés avec celui de la Biafine, un produit considéré comme traitement de référence. L'évaluation de l'effet cicatrisant des produits utilisés a été faite par une étude in vivo.

### 3.1-Matériel végétal :

#### 3.1.1Présentation de la variété :

Le Marc de raisin, est collecté au niveau d'une entreprise de la production et la commercialisation de vin située à Amer El-Ain, Wilaya de Tipaza. Ensuite, les composés phénoliques sont extraits.



**Figure 3.1 :** Poudre de marc de raisin. (Anonyme)

### 3.2.) Matériel biologique

#### 3.2.1) Souches microbiennes

Lors de cette étude, l'extrait a été testée in vitro sur :

- 04 souches bactériennes (02 Gram+ et 02 Gram-);
- 02 levures ;

Ces germes pathogène font partie de la collection ATCC et ont été délivrées par l'institut Pasteur d'Alger (Tableau 3.1).

**Tableau 3.1. : Provenance des germes utilisés.**

<b>Souches utilisées</b>	<b>Code de la souche</b>	<b>Provenance</b>
<b>Bactéries</b>		
<b>Bactéries à Gram(+)</b>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC6538	IPA-Alger
<i>Bacillus ceureus</i>	ATCC 10876	
<b>Bactéries à Gram(-)</b>		
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853	
<b>Levures</b>		
<i>Candida albicans</i>	ATCC 24433	
<i>Aspergillus flavus</i>		

### 3.2.2) Milieux de culture :

Dans cette étude, nous avons utilisé les milieux de cultures suivant :

-Gélose de Mueller Hinton: pour l'étude de la sensibilité des bactéries à nos extraits.

-Gélose de Sabouraud : pour l'étude de la sensibilité des levures et champignons à nos extraits.

-Eau physiologique : pour la préparation des suspensions bactériennes.

### 3.3) Etude de l'activité antimicrobienne de l'extrait :

La recherche de l'activité antibactérienne et antifongique consiste à estimer l'inhibition de la croissance des micro-organismes soumis à l'extrait.

#### 3.3.1) Technique en milieu solide (Aromatogramme) :

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale ; l'antibiogramme. Dans cette méthode nous utilisons des disques de 6mm de diamètre

imprégnés d'une quantité de l'extrait. Le disque déposé au centre d'une boîte Pétrie contenant un milieu gélosé préalablement ensemencé par une souche microbienne. Une série de dilution d'extrait a été réalisée avec de l'eau distillée.

### 3.3.2) Préparation de préculture :

Les tests antibactériens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de 18 à 24 heures. Le repiquage des souches est effectué par ensemencement de la souche microbienne dans un milieu liquide. Les germes utilisés ont été cultivés sur gélose nutritive, les boîtes ainsi ensemencées sont incubées à 37°C pendant 18 heures pour les bactéries et à 25°C pendant 48 heures pour les champignons.

### 3.3.3) Préparation de l'inoculum :

A l'aide d'une pipette Pasteur, on racle 2 à 3 colonies bien isolés et identiques à partir d'une culture pure de 24 heures d'incubation sur milieu d'isolement. On dilue dans 10ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.

Il faut noter que l'inoculum bactérie peut être ajustée en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, soit de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort et il doit être ensemencé dans les 15 minutes qui suivent sa préparation.

### 3.3.4) Ensemencement :

La technique d'ensemencement complet vise à favoriser la multiplication des bactéries sur un milieu nutritif lorsqu'elles proviennent d'un milieu à faible concentration.

Les bactéries sont prélevées à l'aide d'un écouvillon stérile.

L'ensemencement consiste à beurrer un milieu nutritif solide en vue d'obtenir une culture bactérienne abondante.

Il suffit ensuite de prélever des bactéries sur la gélose ensemencée afin de poursuivre leur étude.

On répète l'opération deux fois, en tournant la boîte de pétrie 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même, à la fin de l'ensemencement on passe l'écouvillon sur périphérique de la boîte de pétrie.

Il faut recharger l'écouvillon à chaque fois, dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes.

### 3.3.5) Dépôts des disques :

A l'aide d'une pince stérile, les disques stériles de papier de Wathman 6 mm du diamètre sont imbibés avec l'extrait en mettant seulement en contact le bout du disque avec l'extrait. Celle-ci est absorbée progressivement jusqu'à imprégnation totale de tout le disque, ensuite ces disques contenant l'extrait sont déposés sur la surface gélosé. Après diffusion de l'extrait dans la gélose pendant 4 heures à température ambiante, les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 heures pour les bactéries et 25°C pendant 48 heures pour les champignons et les levures.

### 3.3.6) Lecture :

La lecture s'effectue après l'incubation par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (le diamètre du disque inclus), les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition. L'apparition et l'importance du diamètre de la zone d'inhibition reflète l'impact de l'extrait sur les souches bactériennes. Ainsi, ces dernières seront qualifiées de sensibles ou très sensibles, ou résistantes.

- Non sensible(-) ou résistante : diamètre < 8 mm.
- Peu sensible(+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- sensible (++) ou intermédiaire : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

La lecture résultats consiste à observer :

- La présence d'une zone claire autour du disque : Présence d'une activité inhibitrice.
- L'absence d'une zone claire autour du disque : Absence d'une activité inhibitrice.

### 3.4) Essai d'élaboration d'une crème cicatrisante par incorporation de l'extrait phénolique :

Dans cette étude, nous avons cherché à optimiser une formulation d'une crème cicatrisante de type l'eau dans l'huile (eau/huile), renfermant essentiellement deux phases, grasse (huile d'amande douce, beurre de karité et cire d'abeille et lécithine de soja (comme émulsifiant) et aqueuse (eau distillée, extrait phénolique, miel et lécithine de soja comme émulsifiant).

### 3.5) Optimisation d'une crème par le plan d'expérience :

Ce travail est basé sur une méthodologie progressive qui rassemble les techniques nécessaires à la conduite des problèmes de recherche, elle nous permet de mener des études avec une grande sûreté et une grande économie de moyens.

Cette stratégie, doit nous faciliter l'organisation progressive de l'acquisition des connaissances et minimiser le plus possible le nombre d'expériences et nous donner une meilleure précision possible des résultats, avec des représentations graphiques qui illustrent de manière spectaculaire les résultats [46]

### 3.5.1) Elaboration d'une crème cosmétique avec application d'un plan d'expérience

Notre travail a pour objectif la recherche d'une composition optimale d'une formule destinée à élaborer une crème bio cicatrisante. Nous avons effectué plusieurs essais pour la formulation de la crème en faisant varier les proportions des composants. A savoir un rapport  $\phi_A / \phi_H = 45/55$ .

Nous avons varié la concentration de principe actif de 0,5 % à 1% et le miel de 3g à 8g, en fixe seulement l'HAD.

**Tableau 3.2** : proportion de formulation de la crème.

Essais	Run order	PA	HAD	Eau	Miel
1	11	0.005	0.55	0.449	0.005
2	4	0.01	0.55	0.4498	0.005
3	3	0.005	0.55	0.4498	0.01
4	9	0.01	0.55	0.4489	0.01
5	6	0.005	0.55	0.44987	0.0075
6	8	0.01	0.55	0.44982	0.0075
7	10	0.0075	0.55	0.44987	0.005
8	2	0.0075	0.55	0.44982	0.01
9	5	0.0075	0.55	0.44985	0.0075
10	7	0.0075	0.55	0.44985	0.0075
11	1	0.0075	0.55	0.44985	0.0075

### 3.6) 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 le fasse.
- Respect des conditions de température et d'agitation

En premier lieu, on effectue les pesées nécessaires :

Phase huileuse : elle est composée essentiellement l'huile d'amande douce, de la cire d'abeille et le beurre de karité.

Phase aqueuse : elle est composée de l'eau distillée en premier lieu, et ensuite, de l'extrait phénolique et de la lécithine de soja comme émulsifiant

#### 3.6.1) Matières premières

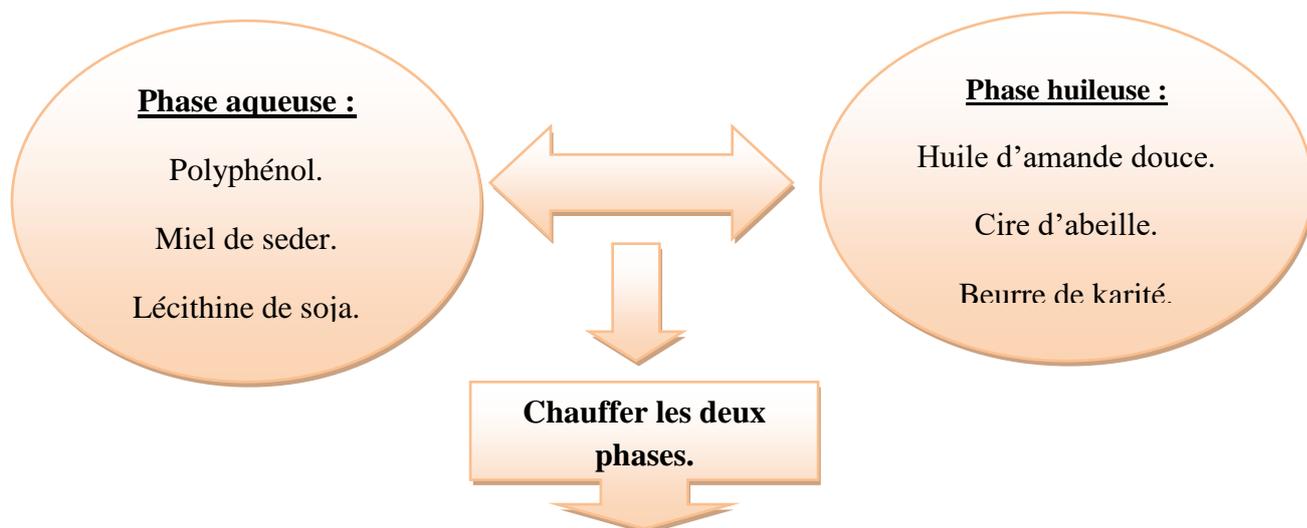
Toutes les matières utilisées dans cette crème sont achetées localement :

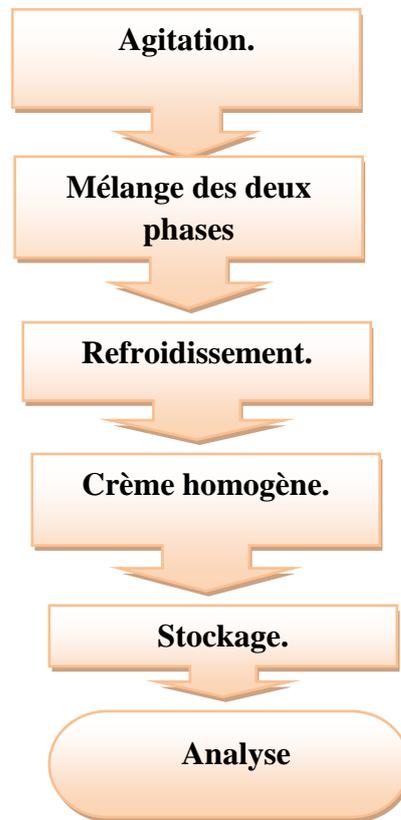
- Huile d'amande douce : Provenant du marché local de Blida.
- La cire d'abeille : Provenant du marché local de Blida (cire gaufrée)
- L'extrait aqueux : il est extrait avec l'eau distillée à partir de la poudre du marc de raisin de la variété étudiée.
- La lécithine : fournie d'une unité de fabrication de la wilaya de Blida (VENUS).

La formulation de la crème est faite dans un laboratoire de Biochimie-Microbio du Département Génie des procédés.

#### 3.6.1) Réalisation de la crème

La crème est préparée selon le diagramme suivant





**Figure 3.2 :** Procédé de préparation de la crème.

### 3.6.2) Analyses physiques des crèmes formulées :

Nos crèmes formulées doivent subir un certain nombre de contrôles :

Les contrôles physico-chimiques comme :

- Le contrôle rhéologique
  - La rhéologie (viscosité).
  - Pouvoir d'étalement.
- Les contrôles de stabilité
  - Centrifugation.
  - Le pH.
- D'autres contrôles sensoriels comme :
  - L'aspect.
  - L'odeur.

- La couleur.

a) Test rhéologique :

La caractérisation rhéologique a été effectuées sur un rhéomètre à contrainte et déformation imposées de marque MCR 302 Anton Paar Physica (Anton Paar, GmbH, Germany). La géométrie utilisée est de type cône-plan avec  $\phi = 25 \text{ mm}$  Les résultats expérimentaux sont traités par un logiciel Rheoplus US200

Le protocole opératoire adopté est le suivant : on met quelques ml de la suspension dans le système de mesure cône-plan du rhéomètre à 20°C, on impose alors une rampe croissante en vitesse de cisaillement de  $0,001 \text{ s}^{-1}$  à  $1000 \text{ s}^{-1}$ .

Les courbes d'écoulements pour les crèmes sont données en termes de viscosité de cisaillement apparente,  $\eta_{app}$  (Pa. s) en fonction de la vitesse de cisaillement  $\dot{\gamma}$  ( $\text{s}^{-1}$ )

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

b) Le PH :

La mesure de pH de la crème est mesurée en diluant une quantité de l'échantillon par l'eau, puis filtré avec un papier filtre Watman N°4 [47]

L'analyse du pH est effectuée à une température de 20° C, en utilisant un pH mètre (HANNA-HI 8424).

c) Test de stabilité :

Cet essai a été effectué sur l'échantillon après une centrifugation à 3000 tours/min, pendant 30 min et à température ambiante. Le degré de séparation des deux phases est à un exprimé par le pourcentage total de stabilité, c'est-à-dire (100 = stable, 0 = instable)

3.6.4) Tests biologiques sur la crème :

a) Animaux et lots expérimentaux :

Des rats albinos de souche Wistar, ont servi de modèle expérimental pour la réalisation des plaies. Les rats proviennent de CRD de Gué de Constantine service de toxicologie.

Les animaux ont été répartis en trois lots comportant chacun 03 rats :

- Lot **Témoin** : laissé sans traitement ;
- Lot **BF** : traité par la BIAFINE ;

- Lot **Crème** : traité par la crème formulé

B) Traitements utilisés :

La Biafine a été procurée auprès une pharmacie. Il s'agit d'un médicament administré pour prévenir et traiter les Brûlures du 1er degré, Les Petites plaies et blessures cutanées non infectées et pour la Protection et soin des peaux sensibles et légèrement enflammées. C'est l'un des traitements les plus utilisés en cas de brûlures.

3.6.5) Réalisation des plaies expérimentales

a) Induction des plaies :

Les plaies ont été réalisées sur la peau de la région dorsal de chaque animal ; le choix de cette région est motivé par la facilité d'accès, tant pour la réalisation de la plaie que pour le suivi de l'évolution de la cicatrisation et le relevé des mensurations.

Les plaies ont été réalisées sur le dos préalablement rasé de chaque animale. On désinfecte la région épilée avec de l'alcool chirurgical à 70° et on trace la zone à découper en forme arrondie et on découpe la zone tracée en utilisant une paire de ciseaux et une pince.



**Figure 3.3** : Induction des plaies

b) Application des traitements :

Juste après l'induction des plaies, les animaux des lots traités ont reçus chacun une application topique du produit destiné à leur lot respectif :

- Lot crème : la crème est étalée sur la plaie en couche de 2 à 3 mm d'épaisseur environ
- Lot BF : la BIAFINE est étalée sur la plaie en couche de 2 à 3 mm d'épaisseur environ

Les traitements ont été appliqués une fois tous les 24 heures pour chaque deux rat de même lot et deux fois tous les 24 heures pour le même lot. Les plaies traitées ou non traités n'ont pas été protégées par un pansement.

c) Evaluation du processus cicatriciel :

Après les avoir photographiées, les dimensions (longueur, largeur) des plaies d'excision sont mesurées tous les 2 jours pendant la période d'essai (15 jours)

Le pourcentage de l'évolution de la contraction des plaies est calculé la formule suivante [48].

$$\text{Pourcentage de la contraction (\%)} = \frac{\text{Surface de la plaie cicatrisée}}{\text{Surface initiale}} \times 100$$

**CHAPITRE 4:**  
**RESULTATS ET**  
**DISCUSSION**

#### 4.1 Activité biologique des extraits phénoliques

Les polyphénols se caractérisent par des propriétés antimicrobiennes, hypolipidémiques, Hypocholestérolémiantes et anticancérigènes. Plus particulièrement, ces substances sont identifiées comme des antioxydants naturels de la Famille des antioxydants phénoliques largement utilisés en agroalimentaire.

Nous avons étudié l'activité antibactérienne et antifongique de l'extrait de Marc de raisin

##### 1.1. Aromatogramme

L'activité antimicrobienne des extraits a été testée par la méthode de l'aromatogramme. La sensibilité des souches se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour des disques.

Le potentiel antibactérien des extraits de la peau et les pépins du raisin, a été évalué sur 04 souches bactériennes (02 Gram+ et 02 Gram-) et 02 levures provenant d'IPA-Alger.

On prépare deux solutions de l'extrait de concentration différentes dans l'eau distillée 15g/l et 20g/l La sensibilité des bactéries vis-à-vis de l'extrait de pépin et de la peau est déterminée selon la méthode de diffusion sur gélose (Aromatogramme) en mesurant le diamètre de l'halo d'inhibition. Après les 24 heures d'incubation.

**Tableau 4.1.** Halos moyennes d'inhibition en (mm) provoqués par l'extrait de pépin

	Zones d'inhibition en mm de l'extrait des pépins	
	0.15 g de PA dans 10 ml de l'eau distillée.	0.20g de PA dans 10 ml de l'eau distillée.
<b>Bactéries à Gram(-)</b>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	9
<i>Escherichia coli</i>	11	11
<b>Bactéries à Gram(+)</b>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	8
<i>Bacillus ceureus</i>	-	-
<b>Levures</b>		
<i>Candida albicans</i>	-	-
<i>Aspergillus flavus</i>	-	-

**Tableau 4.2.** Halos moyennes d'inhibition en (mm) provoqués par l'extrait de la peau contre les souches bactériennes et les levures.

	Zones d'inhibition en mm de l'extrait des pépins	
	0.15 g de PA dans 10 ml de l'eau distillée.	0.20g de PA dans 10 ml de l'eau distillée.
<b>Bactéries à Gram(-)</b>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-
<i>Escherichia coli</i>	7	7

<b>Bactéries à Gram(+)</b>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	9
<i>Bacillus ceureus</i>	-	-
<b>Levures</b>		
<i>Candida albicans</i>	-	-
<i>Aspergillus flavus</i>	-	-

Les résultats obtenus montrent que l'extrait phénolique de la peau et des pépins révèle une absence totale d'effet inhibiteur contre le développement des levures mais les pépins s'avèrent au contraire avoir une zone d'inhibition contre les bactéries à Gram(+) et à Gram(-) sauf pour le développement de *Bacillus ceureus*, tandis que l'extrait de la peau s'avère avoir un effet inhibiteur que pour le développement de *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*.

#### 4.2 Optimisation des paramètres de formulation :

L'optimisation consiste à déterminer le mélange optimal des constituant (poly phénol, cire d'abeille, beurre de karité, miel et émulsifiant) comme variable de réponse nous avons pris la stabilité, la variation du pH.

##### ➤ Etude de stabilité :

Les résultats obtenus des formulations effectuées pour le rapport  $\phi_A / \phi_H = 45/55$  sont regroupés sur le tableau 1. D'après les résultats obtenus dans le tableau de rapport on a constaté que:

**Tableau 4.3 :** Etude de stabilité des crèmes avec un rapport  $\phi_A / \phi_H = 45/55$

Essais	Run order	PA	HAD	Eau	Miel	Stabilité
<b>1</b>	11	0.005	0.55	0.449	0.005	<b>Instable</b>
<b>2</b>	4	0.01	0.55	0.4498	0.005	<b>Instable</b>
<b>3</b>	3	0.005	0.55	0.4498	0.01	<b>Instable</b>
<b>4</b>	9	0.01	0.55	0.4489	0.01	<b>Instable</b>
<b>5</b>	6	0.005	0.55	0.44987	0.0075	<b>Instable</b>
<b>6</b>	8	0.01	0.55	0.44982	0.0075	<b>Instable</b>
<b>7</b>	10	0.0075	0.55	0.44987	0.005	<b>Instable</b>
<b>8</b>	2	0.0075	0.55	0.44982	0.01	<b>Instable</b>
<b>9</b>	5	0.0075	0.55	0.44985	0.0075	<b>Instable</b>

<b>10</b>	7	0.0075	0.55	0.44985	0.0075	<b>Instable</b>
<b>11</b>	1	0.0075	0.55	0.44985	0.0075	<b>Instable</b>

Au fur et à mesure de la formulation de la crème, nous avons remarqué visuellement l'instabilité de notre crème avec une grande séparation de phases et une couleur inacceptable ( grise ).

Pour cela on a proposé de fixer le PA et éliminer l'eau et le remplacer par l'émulsifiant Lécithine de soja pour homogénéiser notre crème.

**Tableau 4.4** : Etude de stabilité des crèmes avec un rapport  $\phi_A / \phi_H = 45/55$

Essais	Run order	PA	H AD	ES	Miel	Stabilité
<b>1</b>	7	0.01	0.55	0.439	0.001	<b>Instable</b>
<b>2</b>	9	0.01	0.55	0.435	0.005	<b>Instable</b>
<b>3</b>	6	0.01	0.55	0.433	0.01	<b>Instable</b>
<b>4</b>	10	0.01	0.55	0.433	0.01	<b>Instable</b>
<b>5</b>	1	0.01	0.55	0.365	0.075	<b>Instable</b>
<b>6</b>	3	0.01	0.55	0.365	0.075	<b>Instable</b>
<b>7</b>	2	0.01	0.55	0.22	0.22	<b>Stable</b>
<b>8</b>	5	0.01	0.55	0.14	0.30	<b>Stable</b>
<b>9</b>	11	0.01	0.55	0.30	0.14	<b>Stable</b>
<b>10</b>	4	0.01	0.55	0.251	0.188	<b>Stable</b>
<b>11</b>	8	0.01	0.55	0.190	0.250	<b>Stable</b>

L'observation visuelle lors de la formulation indique que la plus part des crèmes préparées sont stables « une meilleure homogénéisation des phases » et donne la couleur préférable jaune.

#### 4.3 Mesure du potentiel d'Hydrogène des crèmes :

La mesure du pH a été effectuée sur les crèmes stables pour le rapport  $\phi_A / \phi_H = 45/55$ , les résultats sont regroupés sur le tableau :

**Tableau 4.5:** Valeur de pH des crèmes stable

Essai	PH
<b>7</b>	<b>4.6</b>
<b>8</b>	<b>5.61</b>
<b>9</b>	<b>6.20</b>
<b>10</b>	<b>5.45</b>

<b>11</b>	<b>5.34</b>
-----------	-------------

Les résultats obtenus permettent de voir clairement que les pH de certaines formulations stables obéissent aux normes 5.6 à 6.8 c'est-à-dire inférieures à 6.8 et supérieur à 5.6 (Formulation 8 et 9).

#### **4.4. Etude organoleptique**

Les propriétés organoleptiques sont quasiment identiques: aspect opaque, homogénéité bonne, une couleur jaune, étalement facile

#### **4.5. Etude du comportement rhéologique de la crème formulée**

ont défini la rhéologie comme étant l'étude de l'écoulement et de la déformation des matériaux. Les objectifs généraux des mesures rhéologiques (la rigidité, module, viscosité, dureté et la force) sont:

- obtenir une description quantitative des propriétés mécaniques.
- obtenir l'information liée à la structure moléculaire et à la composition du matériel
- caractériser et simuler l'exécution du matériel pendant le traitement et pour le contrôle de la qualité.

Les mesures du comportement rhéologique sont importantes non seulement pour évaluer la stabilité physique) mais elles sont en même temps des indicateurs des paramètres de type qualité du système et utilité (Les études sur ces propriétés sont devenues un outil crucial dans l'analyse des produits cosmétiques, dans le but de produire des profils physiques et structurels stables.

Dans cette partie on va caractériser le comportement rhéologique de nos crèmes (additionnée de l'extrait phénolique) et une crème de référence (crème commercialisée : BIAFINE).

L'analyse est réalisée au Laboratoire d'analyse fonctionnelle de l'Université de Blida .On a fait subir à la crème formulée les tests rhéologiques qui permettent de déterminer la courbe d'écoulement laquelle donne la variation de la contrainte appliquée en fonction de la déformation enregistrée et de la viscosité.

Les tracés de la viscosité des crèmes préparées et de la crème de référence (Biafine) en fonction de la contrainte de cisaillement sont représentés sur les Rhéogrammes suivants :

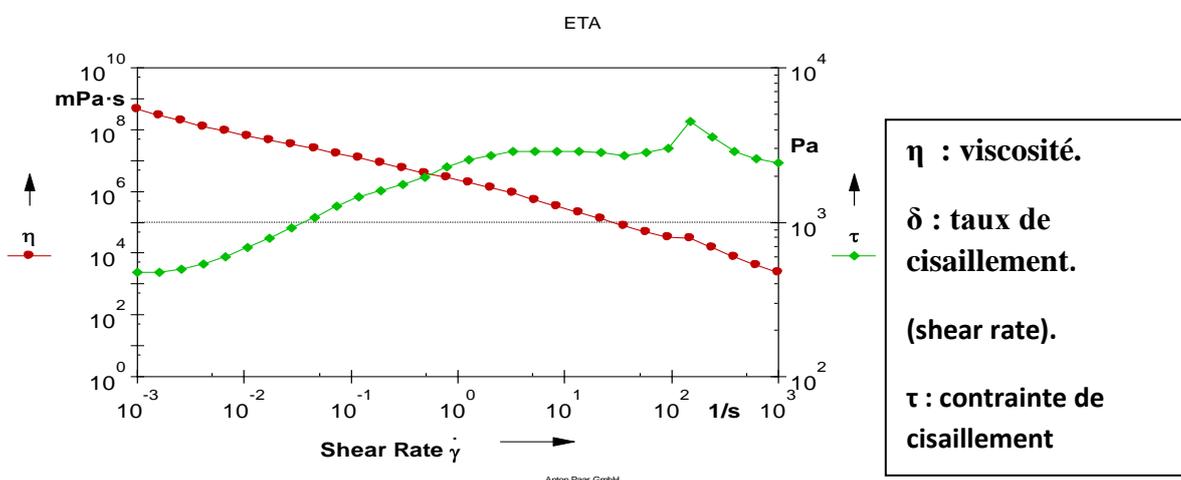


Figure 4.1 : courbe d'écoulement de la crème d'essais 7.

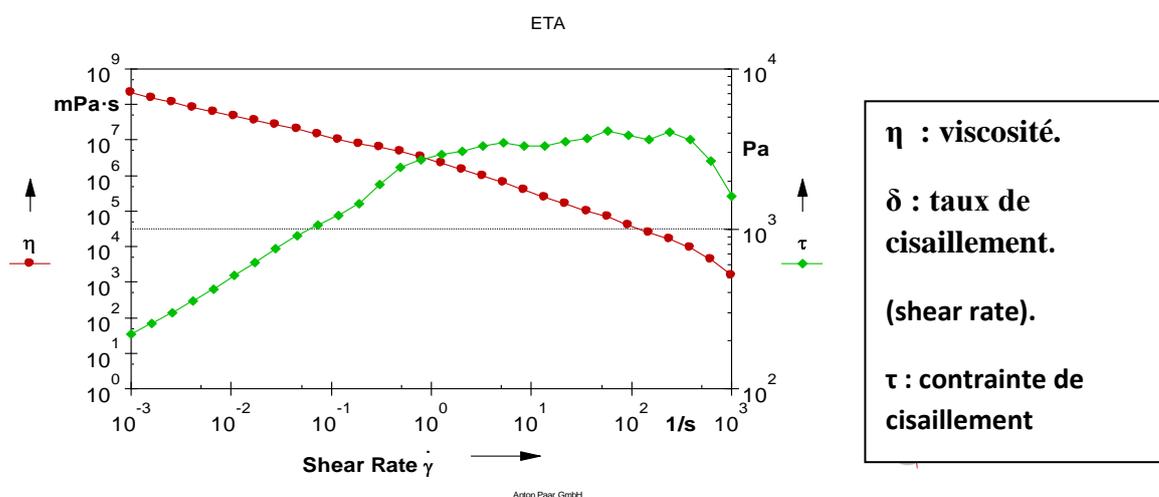
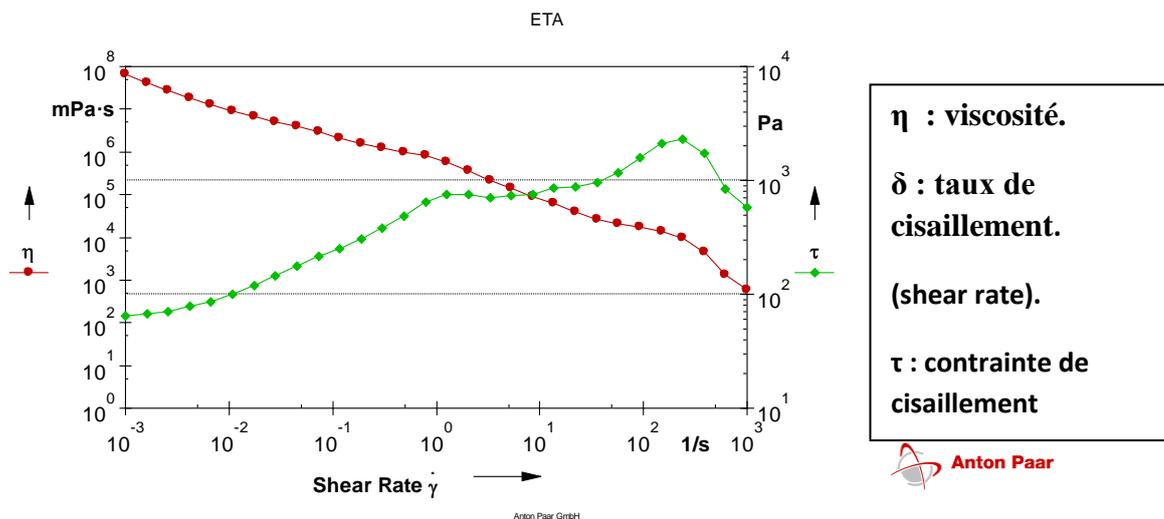
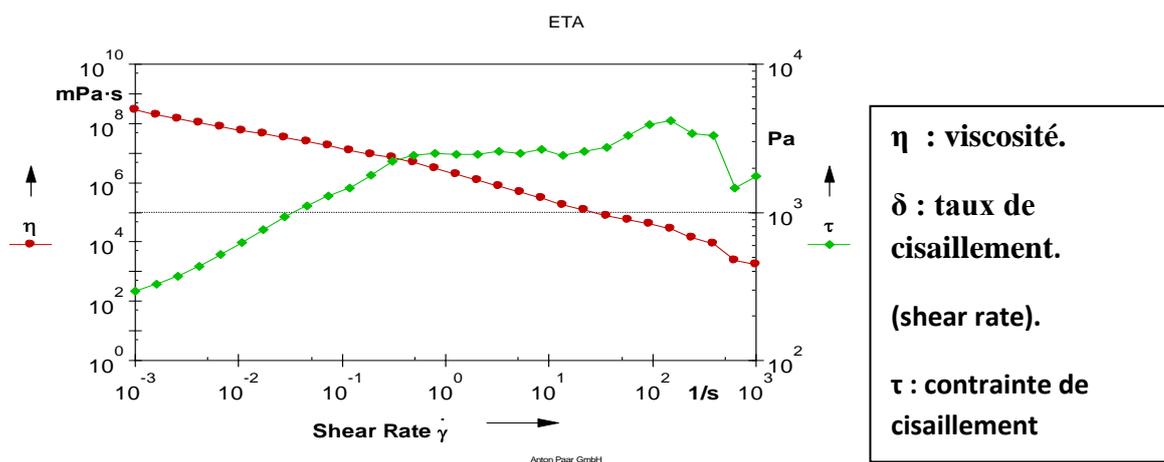


Figure 4.2 : courbe d'écoulement de la crème d'essais 8.



**Figure 4.3** : courbe d'écoulement de la crème d'essais 9.



**Figure 4.4** : courbe d'écoulement de la crème d'essais 10.

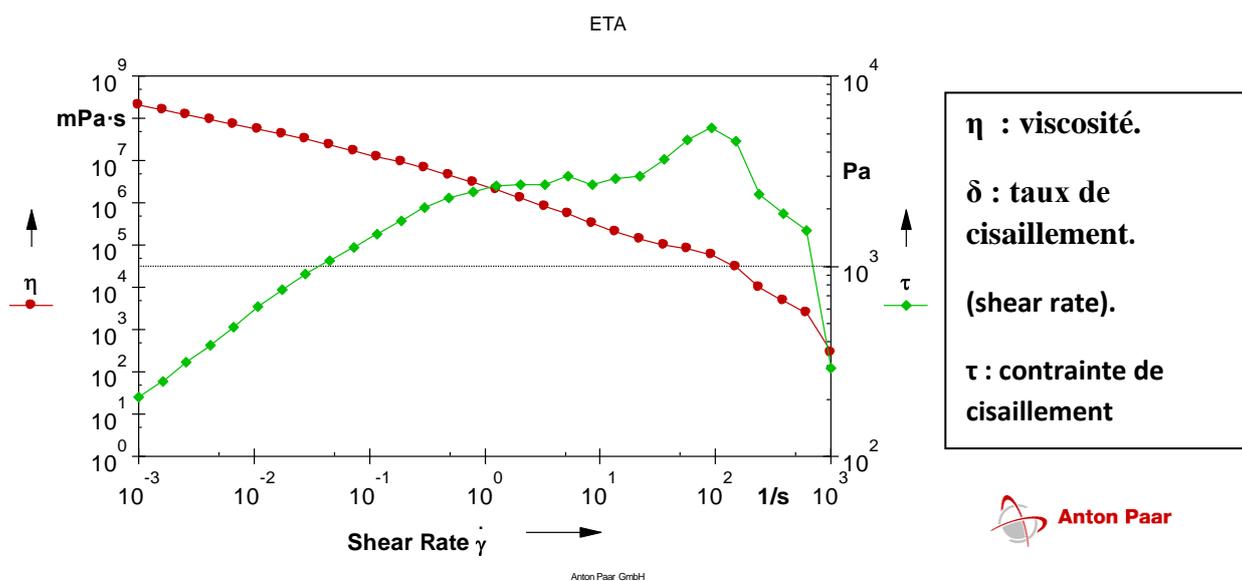


Figure 4.5 : courbe d'écoulement de la crème d'essais 11.

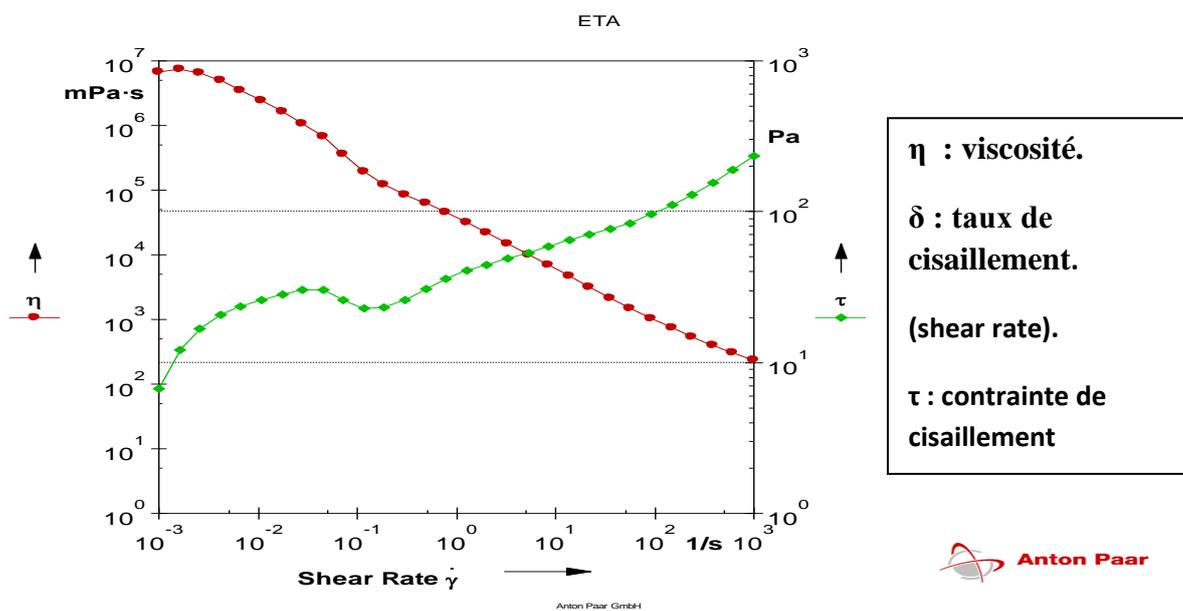


Figure 4.6 : courbe d'écoulement de la crème de référence.

Les courbes d'écoulement mesurées sur une large gamme de vitesse de cisaillement allant de 0,001 à 1000  $s^{-1}$  montrent l'évolution de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement : On observe un premier domaine qui traduit le premier plateau Newtonien (viscosité constante en fonction de la vitesse de cisaillement, une deuxième zone typique d'un système Rhéofluidifiant (la diminution de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement).

Au très fort cisaillement, la viscosité cesse de chuter et enregistre de nouveau un palier constant qui peut être caractérisé par une viscosité newtonienne symbolisée.

#### **4.6. Évolution du processus cicatriciel :**

- Toutes les plaies ont enregistrées une réduction progressive de leur taille avec l'avancée du temps
- Quelque soit le traitement appliqué, les lots traités ont montré une meilleure évolution de leurs plaies par rapport au lot Témoin.

Afin de déduire le Pourcentage de la contraction des plaies, la moyenne des surfaces des trois plaies d'un même lot est calculée puis comparée avec la surface de la brûlure initiale.

LOTS	0 J	6 J	8 J	12 J	15 J
Jours					
LOT 1	○	○	○	○	Fermé
LOT 2	○	○	○	○	Fermé
LOT 3	○	○	○	○	○
LOT 4	○	○	○	○	○
LOT 5	○	○	○	○	○
LOT 6 T	○	○	○	○	Fermé
LOT 7 R	○	○	○	○	Fermé

**Figure 4.7 : aspects des plaies des lots.**

Observation et comparaison des diamètres :

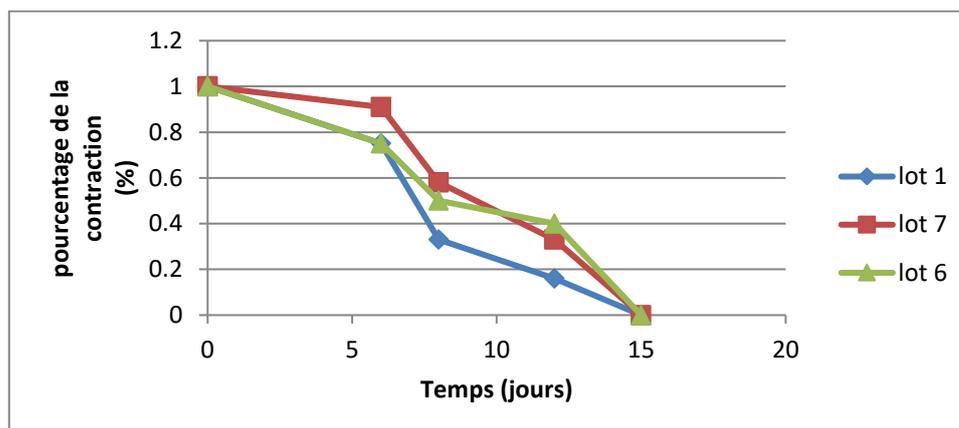
Ce tableau exprime l'observation Des plaies pendant 15 jours de l'application de la crème :

**Tableau 4.6 :** la comparaison de l'efficacité de guérison de la plaie entre les lots.

Les lots	L'observation	Les souris après 15 jours.
Lot 1	La plaie des trois souris est fermée ce qui montre une efficacité de la crème.	
Lot 2	La plaie des trois souris est fermée complètement ce qui montre que cette crème plus efficace que les autres	
Lot 3	Une diminution de diamètre des trois souris et la plaie reste ouverte et la moyenne de diamètre est égale (0.1). Aucun effet cicatrisant.	
Lot 4	Une diminution de diamètre des trois souris et moyenne de diamètre est égale (0.16) ce qui signifiant que cette crème ne possède aucun effet cicatrisant.	
Lot 5	. On voit un gonflement et la plaie reste ouverte avec une diminution de diamètre jusqu'à 0.6 cm ce qui implique de dire c'est la crème ne possède aucun effet cicatrisant.	
Lot 6	on une fermeture de plaie des trois souris, c'est lot de témoin.	

Lot 7	<p>On regarde que les trois plaies sont fermées la crème de lot</p> <p>C'est la crème de référence</p>	
-------	--	---

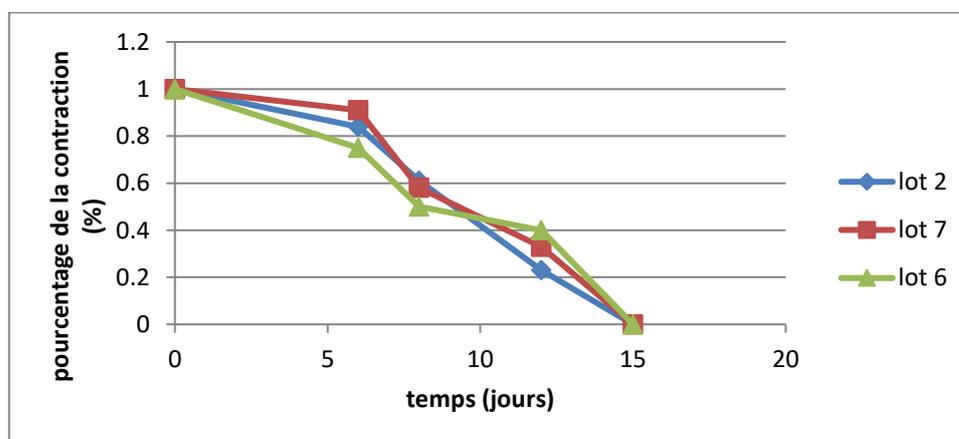
### - les courbes L'évolution de la contraction de la plaie :



**Figure 4.8 :** Evolution du pourcentage de la contraction des plaies du premier lot durant la période expérimentale

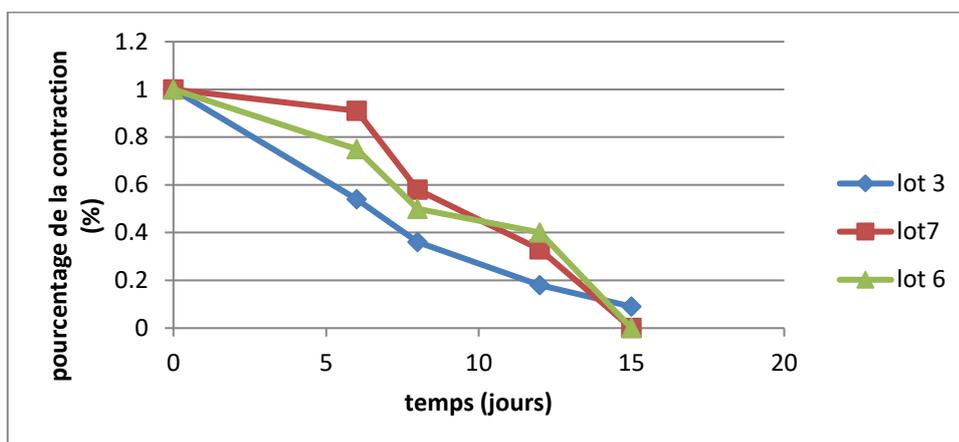
La durée moyenne de la cicatrisation totale des plaies du lot 1 comparé à celle des lots témoin et référence, montre une différence significative à l'avantage du lot traité par la crème.

Le 1erlot a gardé au cours du temps des différences significatives par rapport au lot Témoin. Ainsi, arrivées à j15, les plaies ont totalement cicatrisées

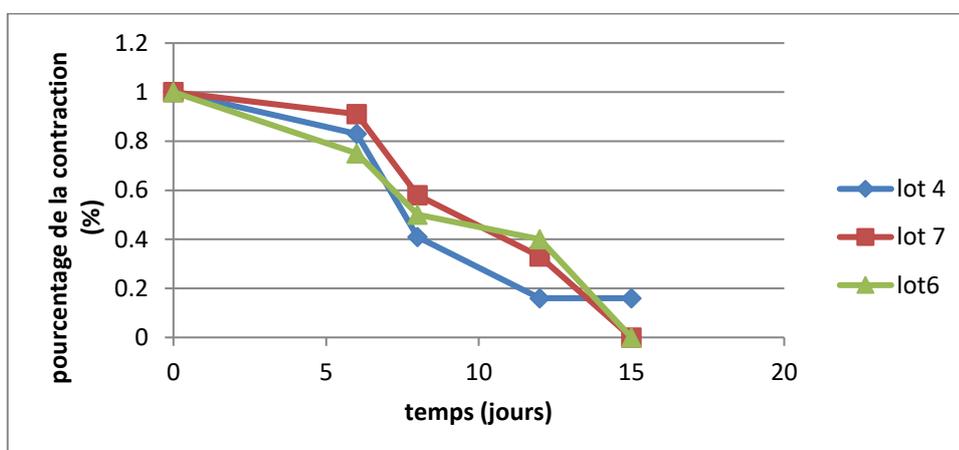


**Figure 4.9 :** Evolution du pourcentage de la contraction des plaies du premier lot durant la période expérimentale.

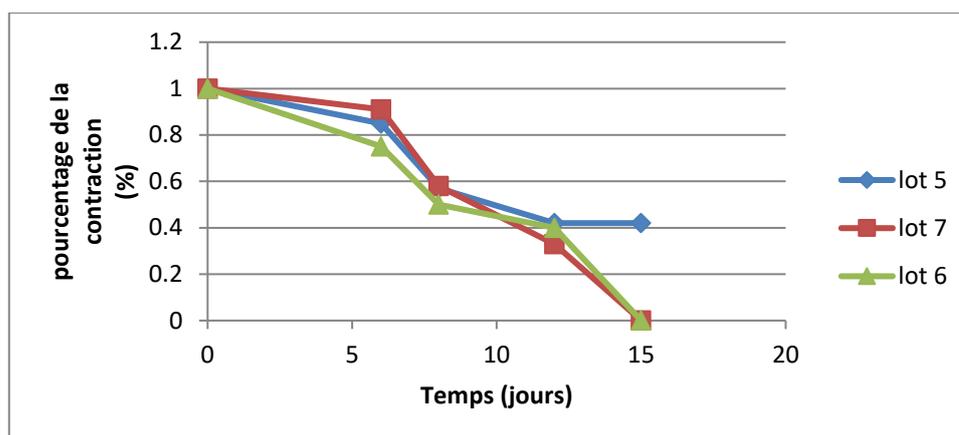
L'effet cicatrisant significativement meilleur du 2<sup>ème</sup> lot par rapport au Témoin s'est manifesté, notamment en période inflammatoire de cicatrisation. Ainsi, les plaies traitées par notre crème ont enregistré une diminution de leur taille en période inflammatoire, avec des résultats au-dessous des performances des plaies témoins.



**Figure 4.10 :** Evolution du pourcentage de la contraction des plaies du premier lot durant la période expérimentale.



**Figure 4.11:** Evolution du pourcentage de la contraction des plaies du premier lot durant la période expérimentale



**Figure 4.12 :** Evolution du pourcentage de la contraction des plaies du premier lot durant la période expérimentale.

Les lots 3, 4,5 n'ont présentés aucun effet cicatrisant, pour le 3ème et le 4ème lot, une diminution de diamètre mais la plaie reste ouverte, tandis, que pour le 5ème lot, on observe un gonflement et la plaie reste ouverte.

#### **4.7. Discussions des résultats :**

L'effet cicatrisant des crèmes est attribuable au diverses constituants phytochimiques entrant dans sa composition. Selon [49] les produits naturels cicatrisants manifestent leurs effets grâce à l'un des mécanismes suivant : effet antimicrobien, anti-inflammatoire, antioxydant, stimulation de la synthèse du collagène et

de la prolifération cellulaire Au cours de la phase inflammatoire des brûlures, l'activité phagocytaire des neutrophiles au niveau du site de la plaie entraîne une production de radicaux libres [50] [51]. D'autres cellules non-phagocytaires présentes dans la plaie génèrent aussi des radicaux libres en impliquant des mécanismes de NADPH oxydase non phagocytaires [52].

Il en résulte que le site de la plaie devient riche en espèces réactives de l'azote et de l'oxygène ainsi que de leurs dérivés [53] Il en ressort, l'importance

de prendre le stress oxydatif comme cible thérapeutique et de considérer l'antioxydant comme une arme efficace dans la lutte contre les complications des brûlures [54] l'ajout d'antioxydants à la liste des traitements chez les patients souffrant de brûlures, entraîne des effets bénéfiques tels que : la réduction de l'incidence de

l'infection de la plaie ; la réduction du temps de guérison ; et l'amélioration du taux de mortalité par rapport aux résultats des autres patients traités de façon classique sans l'ajout d'antioxydants [55]

Les effets antioxydant des différents produits issus de marc de raisin ont été mis en évidence par plusieurs études. Les composés phénoliques ont une fonction hydroxyle (-OH) qui leur permet de piéger les radicaux libres, leur conférant ainsi un pouvoir antioxydant important. La présence de ces phénols est responsable de l'activité antioxydante de plusieurs espèces végétales [56] avec l'existence d'une corrélation significative entre l'activité antioxydante et le taux de phénols.

# CONCLUSION

Les crèmes à base des produits chimiques sont souvent nocives pour la santé dans plusieurs de cas donnent des effets indésirables ce qui implique de fait des recherches sur des plantes et des fruits qui possèdent des activités différents

Le but de cette pratique est de préparer une crème bio qui est une forme d'émulsion dans huile ayant une certaine consistance qui lui confère une bonne acceptabilité et une confortabilité d'utilisation, rendues ainsi cette forme très utilisable pour la cicatrisation, cette crème est à base des composés phénoliques. Pour cela nous nous sommes suivant l'évaluation dans le processus cicatriciel chez le Rat Wistar et la caractérisation physico-chimique de la crème.

Dans ce contexte nous avons évalués l'activité cicatrisante des polyphénols extraits de marc de raisin et la crème formulé. La crème parapharmaceutique à activité cicatrisante obtenu par l'optimisation de paramètre de formulation a révélé une bonne homogénéité et stabilité de la crème. Les tests de l'activité antimicrobienne réalisée par la méthode de disque sur quatre souches bactériennes montrent que les polyphénols possèdent cette activité mais pour les deux champignons montrent que le contraire car les résultats obtenues sont négatives. Les essais précliniques qu'on a fait sur les lots des souris d'application de la crème pendant 15 jour et la comparaison avec la crème de référence Biafine et le témoin montre que notre crème efficace

A la lumière des résultats de cette étude, on peut conclure que les composés phénoliques ont une action protectrice et cicatrisante marquée durant la phase proliférative du processus cicatriciel des plaies d'excision chez le rat.

Cette activité est probablement associée aux différents constituants phytochimiques notamment les polyphénols contenus dans la crème.

Cette étude ouvre de nouvelles voies d'investigations qui permettent de:

- Approfondissement des analyses phytochimiques :
- Détermination des propriétés chimiques et physiques des composés phénoliques du marc de raisin
- Identification de la nature de ou des composés phytochimiques impliqués et/ou associés à l'activité inductrice de la cicatrisation.

- Détermination du mécanisme d'action des substances à activité inductrice de la cicatrisation.
- Détermination de l'effet toxique à moyen et à long terme de différents composés phénoliques du marc de raisin.

**LES REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES.**

- [1] Lee, K.H. J., 2004. Current development in the discovery and design of new drug candidates from.Plant naturalproduct leads. *J. Nat. Prod.* 67, 273-283.
- [2] Butler, M.S., 2004.The roles of natural chemistry in drug discovery.*Journal Natural Product.* 67, 2141-2153.
- [3] Farnsworth, N.R.; Arkerle, O.; Bingel, A.S.; Soejarto, D.D.; Guo, Z., 1985. *Bull. WHO* 63, 965-981.
- [4] bazzano la, serdula mk, liu S. Dietary intake of fruits and vegetables and risk ofcardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep* 2003 November; 5(6): 492-9.
- [5] Lampe JW. Health effects of vegetables and fruit: assessing mechanisms of action inHuman experimental studies. *Am J Clin Nutr* 1999 September; 70(3 Suppl.):475S90S.
- [7] Article.
- [7] Flanzly C., 1998.Oenologie. Fondements scientifiques ettechnologiques. Paris, Lavoisier Tec & Doc. 1310 p
- [8] Ribéreau-Gayon, P., 1965. Identification d'esters des acides cinnamiques et de l'acide tartrique dans les limbes et les baies de V. vinifera. *CR Acad Sci*, pp. 341-343.
- [9] Siemann, E.H., Creasy, L.L., 1992. Concentration of the phytoalexin resveratrol in wine. *Am. J. Enol. Vitic.*, 43, 49-52.
- [10] Markham, K.R., Gould, K. S., Winefield, C. S., Mitchell, K. A., Bloor, S. J., Boase, M. R., 2000. Anthocyanin vacuolar inclusions-Their nature and significance in flower colouration. *Phytochem.*, 55, 327-336.
- [11] Dixon RA, Xie DY, Sharma SB (2005) Proanthocyanidins - a final frontier in flavonoid research? *New Phytologist* 165: 9-28.
- [12] Mattivi F, Guzzon R, Vrhovsek U, Stefanini M, Velasco R (2006) Metabolite profiling of grape: Flavonols and anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food*
- [13] Cheynier V., Rigaud J., Souquet J., Barillère J. et Moutounet M., 1990.Must browning in relation to the behavior of phenolic compounds during oxidation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 41, 346-349.

- [14] Cabrita, L., Fossen, T., Andersen, O.M., 2000. Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions. *Food Chem.*, 68, 101-107
- [15] Monagas, M., Garrido, I., Bartolome, B., Gomez-Cordoves, C., 2006. Chemical characterization of commercial dietary ingredients from *Vitis vinifera* L. *Analytica Chimica Acta*, 463, 401-410.
- [16] Lu, Y., Yeap Foo, L., 1999. The poly phenol constituents of grape pomace. *Food Chem.*, 65, 1-8.
- [17] Borbalan, A.M.A., Zorro, L., Guillen, D.A., Barroso, C.G., 2003. Study of the polyphenol content of red and white grape varieties by liquid chromatography-mass spectrometry and its relationship to antioxidant power. *J. Chrom. A.*, 1012, 31-38.
- [18] Mané, C., Souquet, J.M., Ollé, D., Verries, C., Veran, S.F., Mazerolles, G., Cheynier, V., Fulcrand, H., 2007. Optimization of Simultaneous Flavanol, Phenolic Acid, and Anthocyanin Extraction from Grapes Using an Experimental Design: Application to the Characterization of Champagne Grape Varieties. *J. Agri. Food Chem.*, 55, 7224-7233.
- [19] Kennedy, J.A., Matthews, M. A., Waterhouse, A. L., 2000. Changes in grape seed polyphenols during fruit ripening. *Phytochem.*, 55, 77-85.
- [20] Guendez, R., Kallithraka, S., Makris, D. P., Kefalas, P., 2005. Determination of low molecular weight polyphenolic constituents in grape (*Vitis vinifera* sp.) seed extracts: Correlation with antiradical activity. *Food Chem.*, 89, 1-9.
- [21] Souquet, J.-M., Labarbe, B., Le Guerneve, C., Cheynier, V., Moutounet, M., 2000. Phenolic composition of grape stems. *J. Agri. Food Chem.*, 48, 1076-1080.
- [22] Cabanis, J. C , Cabanis, M.T., Cheynier, V., Teissedre, P.L ., 1998. Caractérisation de la matière première et des produits élaborés. In: C. Flanzy (Ed.) *Oenologie: fondements scientifiques et technologiques*. Lavoisier, Tec & Doc, pp. 291-336
- [23] Souquet, J.-M., Labarbe, B., Le Guerneve, C., Cheynier, V., Moutounet, M., 2000. Phenolic composition of grape stems. *J. Agri. Food Chem.*, 48, 1076-1080.
- [24] ANONYME, 2008 : « Dictionnaire médical ».
- [25] HAZOTTE A.-Laure R- LEBEL Laurène Année 2011-2012 IH A TDS.

[26] El mellaoui I. la prise en charge des brulures chez l'enfant au service de chirurgie infantile de l'hospital al farabid'oujda , thèse pour l'obtention du doctorat en médecine, université sidi Mohammed ben Abdellah année 2011, thèse n° 083/11.

[27][28] HAZOTTE A.-Laure R- LEBEL Laurène Année 2011-2012 IH A TDS

[29] Dréno B. Anatomie et physiologie de la peau et de ses annexes. Annales de dermatologie. 2009 ; 136(6) :S247-S251.

[30][Marieb EN « le système Tégumentaire »(chapitre 5) dans anatomie et physiologie Humaines (1999). De Boeck

[31] Ann Dermatol Venereol, 2005). « Les grandes fonctions de la peau ». (Comprendre la peau [32] “Plaies et cicatrisations”

[32] N.Varaud, J.C Ferrandez (cahiers de kinésithérapie 1998 “Kinésithérapie de la cicatrice et de la paroi thoracique de la mastectomisée pré et postreconstruction mammaire”

[33][34] N.Varaud (Kinésithérapie Scientifique 2002) “La kinésithérapie des séquelles de la cancérologie cervico-maxillo-faciale”

[35][36] .M.Hebting, N.Varaud, P.Jammet (Annales de kinésithérapie 1992) “Chirurgie orbito-palpébrale et massokinésithérapie”

[37] J.M.Hebting, N.Varaud, A.Gary-Bobo, S.Mainguy (Entretiens de Bichat 1993)“La kinésithérapie: alternative ou complément à la chirurgie des paupières” J.M.Hebting,

[38] Pierre et Marie Curie Cours de la faculté de médecine « La peau et les phanères ». Disponible sur:  
<http://www.chups.jussieu.fr/polys/histo/histoP2/POLY.Chp.5.6.html>

[39] Cicatrisation : comment la peau fait-elle pour se réparer ? ». Disponible sur:  
[http://www.maxisciences.com/peau/cicatrisation-comment-la-peau-fait-elle-poursereparer\\_art33831.html](http://www.maxisciences.com/peau/cicatrisation-comment-la-peau-fait-elle-poursereparer_art33831.html)

[40][41] MELISSOPOULOS A., LEVACHER C., La peau, structure et physiologie, 2e édition, Lavoisier, 2012.

[42]-HENRY M., THOMPSON J. Chirurgie clinique, technique et pratique, De boeck, 2001.

[43] [44] Pharmacopée européenne

[45] Le Hir A. Pharmacie Galénique. éd. 6. Paris: Masson, 1992. 377 P.

- [46] Goupy J., 2001. Plans d'expériences: les mélanges. Dunod– Paris.
- [47] Anchisi C., Maccioni A.M., Sinico C.D., 2001. Valenti. Stability studies of new cosmetic Formulations with vegetable extracts as functional agents. II Farmaco56 : 427–431.
- [48] Lodhi, S., Singh Pauer, R., Pal Jain, A., Singhai, A.K., 2006. Wound healing potential of Tephrosiapurpurea (Linn.) Pers. In rats. Journal of Ethnopharmacology 108, 204 -210.
- [49] Bahramsoltani, R., Farzaei, M.H., Rahimi, R. (2014) Medicinal plants and their natural Components as future drugs for the treatment of burn wounds: an integrative review. Arch Dermatol Res. 306,(7):601-617.
- [50]: Forman, H.J., Thomas, M.J. (1986) Oxidant production and bactericidal activity of Phagocytes. Annu Rev Physiol. 48 :669-80.
- [50] Dobke, M. K., Deitch, E.A., Hamar, T. J., Baxter, C.R. (1989). Oxidative activity of polymorphonuclear leukocytes after thermal injury. Arch. Surg. 124(7) :856- 859.
- [52] Chan, E.C., Jiang, F., Peshavariya, H.M., Dusting, G.J. (2009) Regulation of cell proliferation by NADPH oxidase-mediated signaling: potential roles in tissue repair, regenerative medicine and tissue engineering. Pharmacol Ther. 122(2) :97-108.
- [53]: Gopinath D., M. R., Ahmed, K., Gomathi, K., Chitra, P. K., Sehgal, Jayakumar R. (2004) Dermal wound healing processes with curcumin incorporated collagen films, Biomaterials, 25, (10):1911–1917.
- [54] Al-Jawad, F.H. Sahib A.S., Al-Kaisy A.A. (2008) Role of antioxidants in the treatment of burn lesions. Ann Burns Fire Disasters. 21(4):186–191.
- [55] Sahib, A.S., Al-Jawad F.H., Alkaisy, A.A. (2010) Effect of Antioxidants on the Incidence of Wound Infection in Burn Patients Ann Burns Fire Disasters. 23(4) :199–205.
- [56] Benhammou, N. (2011) Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouest et du Sud-Ouest Algérien. Thèse pour l'obtention d'un Doctorat en Biologie Option : Substances Naturelles, Activités biologiques et Synthèse.



# **Annexes**

**Matériel non biologique**

**Petit matériel et verrerie :**

Béchers de 15 ml et 50 ml.

Spatule métallique.

Les pipettes de 1 ml et 5 ml.

Papier aluminium.

Gant.

Boite pétri.

Disque bactérienne stérile.

Bec bunsen.

**Appareillage :**

Balance électrique

Agitateur magnétique

Ultra turax (homogénéisateur)

Centrifugeuse

PH mètre

Etuve 37°C et 120°C.

**Produits et réactifs :**

Extrait de poly phénol de raisin.

Huile d'amande douce.

Milieu de culture : Muller Hinton et saboro.

## ANNEXE A



**Figure 1 :** poly phénol rait extrait de raisin.



**Figure 2:** exemple d'une crème instable.



**Figure 3 :** les crèmes stables.



**Figure 4 :** préparation des dilutions de skin et de speed.

## ANNEXE A



**Figure 5 : les bactéries utilisées.**



**Figure 6 : les champignons utilisés.**



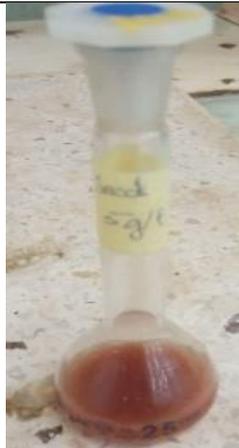
**Figure 7 : préparation de l'inoculum de bactéries et les champignons.**



**Figure 8 : application des disque**

## ANNEXE B

**Tableau 1** :Les produits utilisés dans cette formulation de la crème :

PA (poly phénol)	HAD	ES (émulsifiant)	CA	BK	Miel de sedr
					

## ANNEXE C



**Figure 1** : les souris albinos.



**Figure 2** : plan de travail et la pince.



**Figure 3** : L'épilation par crème dépilatoire.

## ANNEXE C



**Figure 4 :** élimination des poiles.



**Figure 5 :** les lots préparés.



**Figure 6 :** la guérison de la plaie.