



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :
N° de série :

Faculté des Sciences et Technologies
Département génie des procédés

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

Domaine : *Sciences et Technologies*

Filière : *Génie des procédés*

Spécialité : *Génie chimique*

Par : Kebier siham

Thème

**Fabrication d'un patch médical à partir d'extraits de COLOQUINTE et
de matériaux cellulosesiques**

Soutenu publiquement le 24/06/2019

Devant le jury :

Bellaouar Abderahman	Grade	Université	Président
Ben cheikh Salah Eddine	Grade	Université	Examineur
Bousdira Dina	Grade	Université	Examineur
Touaiti Farid	Grade	Université	Encadreur

Année universitaire 2018/2019

"Nothing Can Be Created From Nothing "

Lucretius

A mes parents

Et à tous ceux qui m'ont dit que je ne pouvais pas le faire, je vais vous dire maintenant que je l'ai fait.

REMERCIEMENTS

Je tien tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui ma donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

En second lieu, je tien à remercier Dr Touaiti Farid mon encadreur. Son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail. Vous m'avez fait confiance en acceptant de me guider dans la réalisation de ce travail qui est d' ailleurs le votre. J'ai bénéficié de vos qualités pédagogiques et humaines.

Mes vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à ma recherche, en acceptant d'examiner mon travail Et de l'enrichir par leurs propositions.

En fin, il est agréable d'exprimer mes sincères reconnaissances à tous ceux qui mon apporté de près ou de loin, aide et conseils lors de l'élaboration de ce mémoire de master.

RESUME

Le but de notre recherche est de fabriquer un patch transdermique en utilisant une plante médicinale locale (plante *Citrullus Colocynthis*), donc nous avons essayé de profiter des procédés industriels avancés pour convertir un traitement traditionnel en un produit médical pharmaceutique.

Dans la première partie, la cellulose a été extraite de la carotte pour obtenir la pâte de cellulose qui a été formée sous forme de disque et séchée en utilisant la technique de lyophilisation. Dans la deuxième partie, l'huile de synthèse et la substance active de la plante médicale appelée colocynthis ont été extraites et chargées sur le disque de cellulose à l'aide d'une technique de filtration sous pression. La dernière partie a été consacrée à la caractérisation de ce patch médical. Premièrement, les caractéristiques physiques du patch cellulosique ont été mesurées en termes de diamètre, d'épaisseur et de teneur en humidité. Après cela, l'activité bactérienne des extraits de coloquinte a été étudiée et, au stade final, la durée de vie de ce matériau médical a été étudiée à l'aide du FTIR afin de rechercher toute oxydation ou modification chimique de la structure chimique. Les résultats de cette étude ont été prometteurs et ont nécessité des développements supplémentaires.

Mots clés : Patch transdermique, *Citrullus colocynthis*, substance active, lyophilisation, cellulose.

Abstract

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : La taxonomie complète de la plante <i>Colocynthis</i> .	20
Tableau 2 : Les noms la plante de coloquinte.	21
Tableau 3 : Rendement en extrait de grain et extrait de pulpe.	41
Tableau 4 : Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits de coloquinte.	42
Tableau 5 : Les caractéristiques dimensionnelles des patches.	43

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Biomatériaux dans un corps humain.	04
Figure 2 : Schéma du développement les pansements à travers l'histoire.	08
Figure 3 : Types de pansements modernes.	12
Figure 4 : Schéma d'un patch transdermique, exemple du patch de type « adhésif actif ».	14
Figure 5 : Structure de système thérapeutique transdermique.	15
Figure 6 : Structure de la peau humaine.	16
Figure 7 : Celluloses d'un mouchoir en papier grossie 200 fois en lumière polarisée.	18
Figure 8 : Structure représentée en projection de Haworth.	18
Figure 9 : Fruits de coloquinte.	20
Figure 10 : Pulpe et grains de coloquinte.	23
Figure 11 : Structures d'alcaloïdes.	24
Figure 12 : Structure de salicine (glycoside).	24
Figure 13 : Les granules des pulpes de carotte.	27
Figure 14 : Les étapes processus d'extraction cellulose.	29
Figure 15 : Fruit et poudre de (grain, pulpe) de coloquinte.	30
Figure 16 : Processus d'extraction huile de grain de coloquinte.	31
Figure 17 : Processus d'extraction SA de pulpe de coloquinte.	32
Figure 18 : les formes du disque en fibre.	34
Figure 19 : Trois phases majeures dans un cycle de lyophilisation.	35
Figure 20 : Le processus d'immersion du patch avec l'huile extraite de plante coloquinte	35
Figure 21 : Appareil dessiccateur.	36
Figure 22 : FTIR-600.	37
Figure 23 : Les solutions produites a processus d'extraction la cellulose.	40
Figure 24 : La pâte de cellulose.	41
Figure 25 : FTIR spectre pour l'extrait des grains.	44

Figure 26 : FTIR spectre pour l'extrait des pulpes.

45

LISTE DES ABREVIATIONS

CCT : Citrullus colocynthis.

SA : Substance Active.

FTIR : fourir transformée infrarouge.

TABLE DES MATIERES

Résumer	i
Liste des Tableaux	iii
Liste des Figures	iv
Liste des Abréviations	v
Table des matières	
Introduction Générale	01
Chapitre I : Biomatériaux	
I.1.1. Histoire et définitions	03
I.1.2. Impact des Biomatériaux	04
I.1.3. Class des Biomatériaux	04
I.2. Les pansements	05
I.2.1. Histoire et Définition	05
I.2.2. Type des pansements	09
I.2.2.1. Pansement Alginates	09
I.2.2.2. Pansement Hydrocolloïdes	09
I.2.2.3. Pansement Hydrogel	09
I.2.2.4. Pansement Hydrocellulaires	10
I.2.2.5. Pansement Collagène	10
I.2.2.6. Pansement a Basse D'argent	10
I.2.2.7. Pansement au charbon Actif et Antibactériens	10
I.2.2.8. Les interfaces (TULLES)	10
I.2.2.9. Les interfaces Siliconées	10
I.2.2.10. Pansement Natural	10
I.3. les patch transdermique	13
I.3.1. Effet des patchs transdermiques	13
I.3.2. Structure des systèmes transdermiques	14
I.4. les passages transdermiques	14
I.4.1. Structure de la peau	14
I.4.2. Mécanisme de passage des substances actives à travers la peau	16
I.5. Patch transdermique par cellulose	17

I.5.1. Structure	18
------------------	----

Chapitre II : La plante médicinale (*Citrullus colocynthis*)

II.1 Présentation de la plante	20
II.2. Caractéristiques du Colocynthis	20
II.2.1. Taxonomie	20
II.2.2 Nom vernaculaires	21
II.2.3. Description morphologique	21
II.3. La Coloquinte dans la pharmacopée traditionnelle	22
II.3.1. Effets secondaires de la coloquinte	23
II.4. Les Ingrédients médicaux dans coloquinte	23
II.4.1. Alcaloïdes	23
II.4.2. Glycosides	24
II.4.3. les Resins	25
II.4.4. Tannins	25

CHAPITER III : Matériels et Méthodes

III. Matériels et Méthodes	27
III.1. L'extraction de la cellulose	27
III.1.1. Méthode d'extraction	28
III.2. Extraction des huiles de Coloquinte	30
III.2. 1. Extraction de l'huile fixe des grains	31
III.2. 1. Extraction de la substance active des pulpes	32
III.2. 3. Evaluation d'activité antibactérienne	33
III.3. Fabrication du Patch médical	33
III.3.1. La lyophilisation du disc cellulosique	34
III.3.2. Chargement du patch par les extraits	35
III.4. Caractérisations des patchs transdermiques	36
III.4.1. Caractéristiques physiques	36
III.4.2. Caractéristiques structurales	36
III.4.2.1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	37

CHAPITER IV : Résultats et Discussions

IV.1. Extraction la cellulose	40
IV.2. Extraction de l'huile fixe et de substance active	41

IV.2.1. Evaluation d'activité antibactérienne de l'huile de coloquinte	42
IV.3. Fabrication de patch médical	42
IV.3.1. Chargement du patch par l'extrait	42
IV.3.2. Caractérisations physique	42
IV.3.2.1. Teneur en humidité	43
IV.3.3. Stabilité des extraits	43
Conclusion générale	46
Bibliographie	47
Annexes	

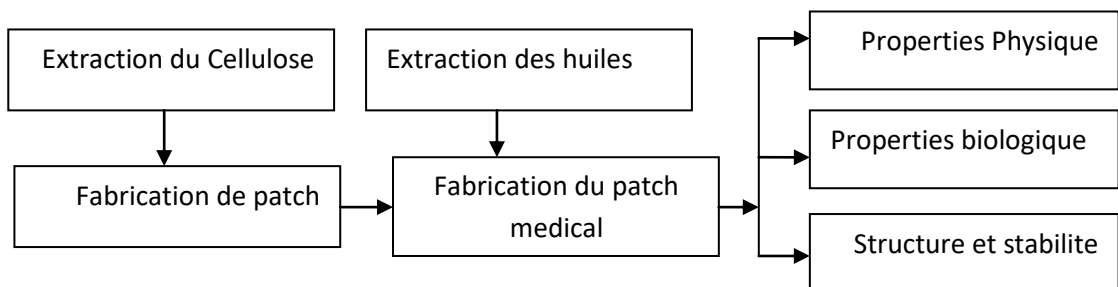
INTRODUCTION GÉNÉRALE

En raison de développement technologique et sa contribution significative à la résolution de plusieurs problèmes dans les différents domaines important dans la vie humaine comme le domaine biologique, médical et pharmaceutique, cette recherche contribue dans ces domaines.

Dans cette étude on utilise les notions fondamentales de génie chimique comme les opérations de séparation et l'extraction, côte à côte avec le principe de génie pharmaceutique pour fabriquer un patch transdermique utiliser pour traiter les maladies du peau.

Cette thèse de master est organisée comme suit :

- Chapitre 1 : Introduction aux biomatériaux où nous présentons un champ historique sur les principaux développements de différents biomatériaux et ces classes. Après, on concentre sur les patches (timbres) transdermiques ; leur définition, leur composition et le mécanisme des traitements. Finalement, nous présentons enfin les différents matériaux utilisés pour fabriquer ce patch principalement les celluloses.
- Chapitre 2 : La plante médicinale où nous présentons des informations sur la plante utilisée dans notre étude « *Colocynthis* ». Une attention particulière est accordée à l'activité médicale de cette plante ainsi qu'aux différents produits chimiques pouvant avoir des utilisations médicales telles que les alcaloïdes, les glycosides et les tanins.
- Chapitre 3 : Le travail expérimental où nous présentons les différents matériaux et méthodes utilisées pour effectuer cette étude selon le plan suivant :



- Chapitre 4 : Les résultats, discussion et conclusions où nous présentons les résultats de notre étude avec la justification nécessaire pour comprendre le comportement et évaluer les qualités et les besoins de notre produit. Finalement on présente des recommandations pour améliorer cette étude.

CHAPTER I :

BIOMATERIAUX

I.1 INTRODUCTION

I.1.1. Historique et définitions :

Les biomatériaux représentent une des grandes avancées thérapeutiques de ces quarante dernières années. Définis comme des matériaux travaillant sous contrainte biologique, voués au remplacement d'une fonction ou d'un organe, ils sont présents dans de très nombreuses stratégies thérapeutiques. Selon la définition de Chester (1981), il s'agit de tout matériau non vivant utilisé dans un dispositif médical et visant à remplacer ou traiter un tissu, organe ou une fonction avec une durée de contact supérieure à trois semaines [1]. Ils peuvent être implantés, réparer des tissus lésés ou même constituer des systèmes d'assistance extra corporelle (par exemple : un système de respiration jouant le rôle d'un troisième poumon) [2].

A travers les siècles, les matériaux utilisés en médecine ont eu un impact énorme sur le traitement des blessures et des maladies [1]. Les Égyptiens essayaient déjà de remplacer tout ou partie d'organes défaillants par des substituts: fer, cuivre, plomb, bois, plâtre [2]. Dès la fin du 19ème siècle, l'utilisation des biomatériaux se généralisa grâce à la mise au point de procédures chirurgicales aseptiques par J. Lister en 1860 [3].

Les premiers biomatériaux métalliques utilisés comme attelles pour les os, datent de la fin du 18ème siècle. et La première prothèse complète de hanche a été réalisée en 1938 .Dans les années 1950, les biomatériaux polymères font leur apparition. Ils sont utilisés pour les prothèses de cornée ainsi que pour les vaisseaux sanguins [1].

Les biomatériaux restent un domaine de recherche très actif car chaque intervention médicale nouvelle requiert pratiquement un nouveau biomatériau spécialement adapté. Aujourd'hui les biomatériaux sont utilisés pratiquement partout au niveau du corps humain et leur utilisation est très largement répandue comme articulation de la hanche, Prothèse du genou et du coude, Implants dentaires, Cathéter coronarien. Des millions de vies ont été sauvées grâce aux Biomatériaux, et la qualité de vie de millions d'autres est améliorée chaque année [1].

La notion de biomatériaux réside dans la nécessaire prise en compte du contact de ces matériaux avec des fluides ou des tissus vivants. Ils doivent ainsi être considérés comme des matériaux avancés, mais avec la dimension supplémentaire de la biocompatibilité, qui leur impose de concilier des paramètres techniques avec la biologie humaine [6]. Actuellement, les biomatériaux représentent, au niveau international, un enjeu social considérable (plus de 5 % de la population est porteuse d'un biomatériau implanté) et un enjeu économique très important. La demande

continue d'augmenter ca nécessite l'élaboration de nouveaux biomatériaux ayant une durée de vie plus importante [4]. La chirurgie réparatrice et elle de la suppléance fonctionnelle constituent les domaines d' applications les plus importants des biomatériaux [5].

I.1.2. Impact des Biomatériaux :

Biocompatibilité: définie comme "la capacité d'un matériau a etre utilisé avec une réponse de l'hôte appropriée dans une application spécifique". Cependant, c'est une notion relative et difficilement mesurable appréciée à travers une comparaison de comportement par rapport a des matériaux dits de référence .En effet la biocompatibilité est une relation d'équilibre à l'interface tissu/matériau, relation extra-physiologique qui ne doit pas devenir pathologique [6].

La bioactivité : désigne les caractéristiques d'un matériau lui permettant d'obtenir plus ou moins facilement une liaison avec les tissus environnants sans interposition d'une couche-fibreuse [7].

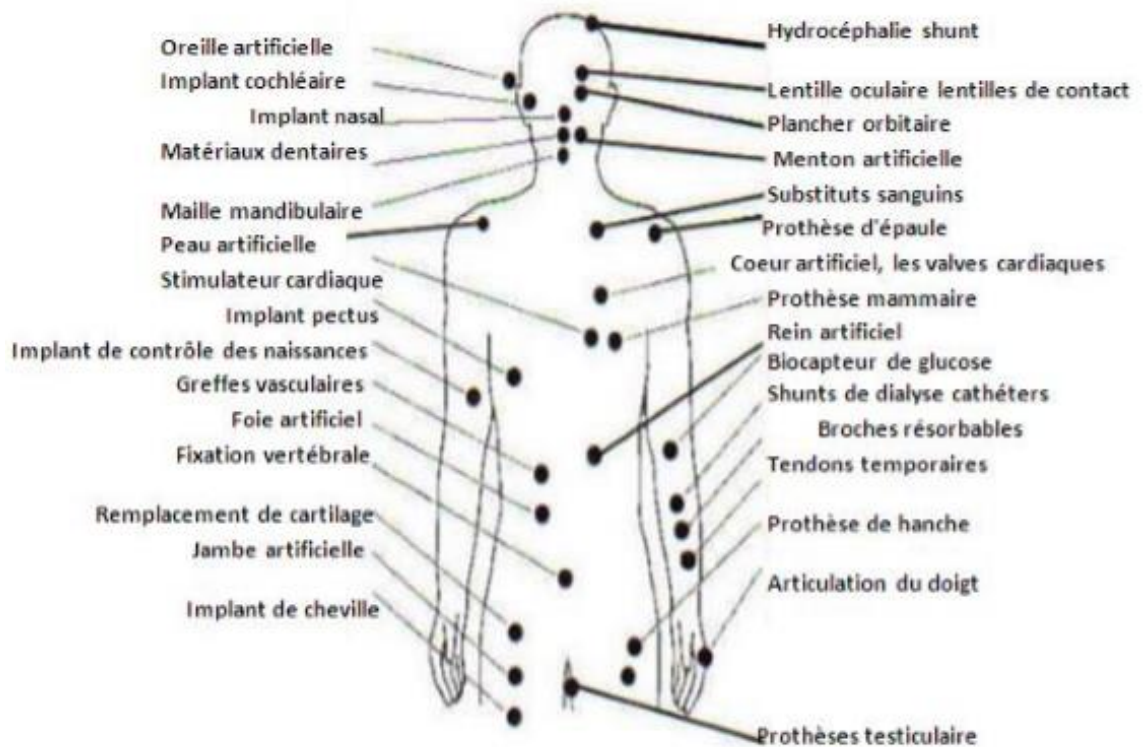


Figure 1 : Biomatériaux dans un corps humain de [1].

I.1.3. Classes de matériaux:

Les biomatériaux peuvent etre classées en quatre grandes familles :

- **Les métaux et les alliages métalliques:** Aciers inoxydable, Chrome, Cobalt, NiTi.
- **Les céramiques:** Alumine, Zircane, Phosphates tricalciques, Verres.
- **Les matériaux d'origine naturelle:** collagène, corail, nacre, osmodifiés.
- **Les polymères et matières plastiques:** Téflon, Polyéthylènes, Polyuréthanes ,Silicones [8].

Le tableau I (voir par annexe).

I.2. Les pansements

I.2.1. Histoire et Définition :

les très nombreux dispositifs médicaux nécessaires aux professionnels de santé pour la prise en charge des plaies et cicatrises ont connu une évolution soutenue durant ces quarante dernières années. Cette dynamique d'innovations a touché toutes les familles de dispositifs. Les plaies chroniques, très prévalentes, ont ainsi connu leur lot de progrès. Sont concernés les dispositifs médicaux utilisés par les infirmières pour faire des pansements, les compresses et les bandes de maintien. Les plaies aiguës ont également bénéficié de matériels de suture qui ont considérablement évolué au cours des dernières années [9].

Un pansement est un dispositif de protection et de soins destiné à recouvrir une plaie. Il est constitué d'un ensemble d'éléments (compresses, coton, bande, gaze, médicaments etc.) appliqués et fixés sur la plaie par un bandage ou un adhésif de façon à la protéger des agents infectieux et à la soigner. Il est parfois imprégné de substances actives pouvant notamment favoriser la cicatrisation [9].

Un des plus anciens documents retrouvés en Egypte (une tablette datant de 3000 ans) énumère une liste de recettes à base de plantes (saule, sabin...), de substances animales (lait, serpent...) à utiliser sous forme de cataplasmes sur les blessures ; des corps datant de 2500 ans avant JC ont été découverts, comportant des fractures ouvertes traitées par contention, Le "Papyrus d'Edwin Smith" (- 1500 ans) est le plus célèbre et le plus complet des « traités médicaux » Égyptiens : il rapporte 48 « cas cliniques », surtout des blessures de guerre, détaillant à chaque fois la conduite de l'examen, le diagnostic, le pronostic et le traitement à mettre en œuvre. Le traitement des plaies ouvertes comporte ainsi : réductions des fractures et luxation ; rapprochement par bandages adhésifs avec des bandelettes ou par suture, Enfin l'application de baumes à base de

miel et de graisse. Voici quelques exemples de pansements utilisés à l'époque : le premier jour, de la viande fraîche est souvent appliquée sur les plaies, pour son effet calmant mais aussi pour la croyance que la viande prélevée sur un animal fraîchement abattu était encore imprégnée de vie. Ensuite, la plaie est recouverte d'une préparation à base de:

- Miel qui possède un pouvoir antiseptique en modifiant le milieu dans lequel se développent les germes.
- Graisse ou de cire d'abeilles, adoucissantes et qui évitent l'adhérence du tampon de lin sur la plaie.
- Liquides (huile, vin, lait, eau) qui servent d'excipients.
- Fibres végétales absorbantes, des tampons de charpie.

Le tout est maintenu par des bandelettes de lin bien serrées, qui assurent la contention des plaies béantes. Le nombre d'instruments chirurgicaux retrouvés dans les fouilles (sondes, curettes, aiguilles, bistouris...) montre la connaissance chirurgicale des Égyptiens, dès le 2^{ème} millénaire avant JC. Vers la même époque, des documents montrent qu'en Mésopotamie, les Sumériens utilisaient aussi les « pansements occlusifs » à base de graisse et miel, et les vertus analgésiques de l'opium. A l'autre bout du monde, en Inde, un texte contemporain en Sanskrit décrit 14 types de bandages, la façon de les utiliser, de suturer et couvrir une plaie[10] .

Les Grecs connaissaient sûrement les pratiques égyptiennes du traitement des plaies, qu'ils adaptèrent et améliorèrent. 1000 ans avant JC, la précision des descriptions anatomiques indique les bonnes connaissances de l'époque : les premiers soins sont appliqués par les combattants eux-mêmes ou par des médecins : on extrait le trait vulnérant, le sang est lavé à l'eau tiède, et on pose sur la plaie des plantes aux propriétés hémostatiques et calmantes. Puis vint Hippocrate (460 avant JC), considéré comme le "père fondateur de la médecine occidentale" : ses recommandations dureront plus de 2000 ans ; localement, il lave la plaie avec une éponge, applique une pièce propre de lin imbibé de vin ou de vinaigre ; il conseille l'eau de mer pour le nettoyage et lutter contre l'œdème [10].

Les Romains en médecine comme en chirurgie, les Romains s'inspirèrent des Grecs (qui s'étaient rappelés le inspirés des Egyptiens), avant tout parce que les premiers médecins de Rome étaient des Grecs. Des instruments retrouvés et des écrits semblent montrer que certains s'étaient déjà spécialisés dans le traitement des plaies. Au premier siècle avant JC, le grand encyclopédiste romain Celse rappelle l'importance d'arrêter l'hémorragie (compression à l'eau

vinaigrée ou cautérisation) et surtout de bien nettoyer la blessure des caillots de sang ; les plaies souillées étaient ensuite suturées sans être trop rapprochées et parfois recouvertes d'un mélange appelé barbarum (huile, vinaigre, aluminium, oxyde de plomb...) astringent et antiseptique. Galien (131 après JC) décrit quant à lui la ligature des vaisseaux pour arrêter les hémorragies [10].

A partir du Septième siècle, on note le formidable développement de la médecine et de la chirurgie Arabes, Au 12ème et 13ème siècles : les croisades auront une grande influence sur la médecine occidentale par les nombreux échanges qui s'installèrent., les plaies sont élargies avec les doigts et "méchées" avec de l'étoffe trempée dans du blanc d'œuf), on retrouve régulièrement l'utilisation d'un mélange de blanc d'œuf, d'huile de rose, et de vin, emprunté à la médecine arabe , vers 1300 après JC recommandent que la plaie nettoyée (en particulier à l'eau salée) soit suturée rapidement et que des compresses soient appliquées dessus et non dans la plaie [10].

Pendant les Campagnes de Napoléon, les fameux barons Larrey et Percy améliorent la prise en charge des blessés en perfectionnant les techniques opératoires, A été utilisé les pansements habituellement utilisés sont composés de charpie (obtenue par effilage de vieille toile de lin ou de coton), d'étoupe (peignage des fils de lin ou de coton), de toile de lin et de bandelettes agglutinatives pour maintenir les berges des plaies. Les pansements sont imbibés de préparation visant à déterger la plaie et stimuler la cicatrisation : vin miellé, eau de vie, vinaigre camphré, baumes et onguents à base d'huile, de jaune d'œuf, de térébenthine... Mais hélas cette abondance de bien ne dura pas ; dans les dernières campagnes, tout est bon pour remplacer la charpie : chiffons, lambeaux de chemises, mousse et feuilles sont utilisés pour leur pouvoir absorbant ; en Russie, du papier trouvé dans les archives remplace le linge et les vieux parchemins servent d'attelles ! Et bien souvent, c'est l'eau "pure" de la Moselle, du Rhin, du Danube qui servira à Percy de pansement humide.

En 1860, le bactériologiste français Louis Pasteur découvrit que les germes - et non-l 'air - étaient responsables de la fermentation et de la putréfaction des plaies. Les pansements devinrent dès lors propres et stériles tandis que le coton et la gaze remplacèrent la charpie, ces vieux linges de lin ou de chanvre utilisés depuis près de quinze siècles comme pansement ou compresse. Les pansements commencèrent également à jouer un rôle de protection contre le monde extérieur [9].

Jusqu'à la Première guerre mondiale, la plupart des pansements confectionnés étaient des pansements secs. Changés tous les trois ou quatre jours, ils étaient parfois occlusifs (bien fermés de chaque côté) et antiseptiques grâce à du charbon ou de l'alcool. Cela n'empêchait pas les douleurs, les infections et les retards de cicatrisation. Une nouvelle étape fut donc franchie en 1915. Auguste Lumière, qui avait inventé le cinématographe avec son frère Louis et qui étudia aussi des plaies sur des chiens et des plaies de guerre, mit au point le tulle gras Lumière semi-occlusif, non adhérent et stérile. Il constata que l'emploi du tulle gras diminue de 30 % la durée de cicatrisation. Il établit également les règles d'un bon pansement : celui-ci doit être changé tous les jours au début puis un jour sur deux ; il doit également être non adhérent et stérile tout en évitant l'utilisation d'un antiseptique fort qui inhibe la régénération tissulaire [9].

Schéma suivant qui résumée du développement des pansements à travers le histoire :

1 600 avant J.-C., les égyptiens couvraient les plaies de viande fraîche. Puis de miel, de graisse ou de cire d'abeille, de fibres végétales absorbantes ou encore d'excipients G à base de liquides (huile, vin, lait, eau) [11].



460 avant J.-C Les Grecs : (Hippocrate) lavage des mains à l'eau de mer. Lavage la plaie avec une éponge et la couvre d'un morceau de Lin imbibé de vinaigre ou de vin [12].



1550 Ambroise Paré: plus de lavage des mains à l'eau mais térébenthine. Suture des vaisseaux et utilisation de larves [12].



1860 Pasteur: Découvre les micro organismes Pansements propres de gaze de coton puis stériles (Autoclave 1880, poupinel 1885) [12].

Figure 2 : Schéma de développement les pansements à travers l'histoire.

I.2.2. Type des pansements :

Les pansements traditionnels se sont placés sous la forme d'une bonne tenue sur papier par un adhésif. Il s'agit là de pansements dits secs. Il existe également des pansements dits modernes aux propriétés variables come indique Figure 3. De ces types de pansement on peut nommer [9] :

Pansement Alginates	Pansement Hydrocolloïdes
Pansement Hydrogel	Pansement hydrofibres
Pansement Argent	Pansement Antibactérien
Pansement Charbon	Pansement Naturels
Pansement Hydrocellulaires	Pansement Tullés et interfaces

I.2.2.1. Pansement Alginates :

Efficace sur plaies humides, exsudatives et hémorragiques. Sous forme de mèche ou de compresse (Figure 3a). Ces pansements ont des propriétés hémostatique et absorbante excellents. Le composant actif de ces pansements se transforme en gel au contact de la plaie, qui donne Un aspect purulent et une odeur nauséabonde. Nécessite un film de recouvrement [13].

I.2.2.2. Pansement Hydrocolloïdes :

Ce pansement primaire est efficace sur les plaies sèches et chroniques (Figure 3b). Il Se transforme en gel odorant au contact de l'exsudat. Reste en place jusqu'à sept jours selon l'épaisseur et l'exsudat. Peut-être découpé. Aussi utilisé pour les pansements de stomie. [13].

I.2.2.3. Pansement Hydrogel :

Il est efficace sur plaies sèches (Figure 3c), et peut aussi maintenir le climat humide car il contient plus de 50% d'eau (double effet : hydratation et absorption). Ces placements sont formés de plaque (différentes tailles et épaisseurs), de compresse imprégnée ou de gel [13].

- **HYPER GELS** : nécessite de la pâte à l'eau et une plaque Hydrocolloïdes. (Convatec) (Figure 3c-1).
- **HYDROFIBRES** : Convatec avec ou sans argent (Figure 3c-2).

I.2.2.4. Pansement Hydrocellulaires :

À base de polyuréthane, ces pansement sont très absorbant ; jusqu'à 10 fois son poids (Figure 3-d-). Idéal pour les plaies en phase de granulation et d'épithélisation (retrait non traumatique). Il se colle et se décolle plusieurs fois, réutilisable. Ils sont fabriqués sous forme de plaque avec ou sans adhésive et sous différentes dimensions [13].

I.2.2.5. Pansement Collagène :

Ils ont une faible adhérence, un retrait non traumatique et sont aussi des booster de cicatrisation (Figure 3-e-) [13].

I.2.2.6. Pansement a Basse D'argent :

Crèmes, compresses, plaques auxquelles a été ajouté de l'argent, pour sa valeur antibactérienne (Figure 3-f-) [13].

I.2.2.7. Pansement au charbon Actif et Antibactériens :

En cas de plaie malodorante. Sous forme de plaques et compresses (Figure 3-g- h-) [13].

I.2.2.8. Les interfaces (TULLES) :

- **TULLES NEUTRES** : Pansements gras souvent vaselinés au maillage très fin. Retrait non traumatique, respect des nouveaux tissus, hydratation de la plaie. Indiqués dans la protection des plaies en voie d'épithélisation non infectées [13].
- **TULLES ACTIFS** : Compresses largement tissées imbibées d'une pommade antibactérienne le plus souvent [13].

I.2.2.9. Les interface Siliconées :

Ils sont des compresses siliconées généralement neutres, favorisant l'épidémisation et le retrait non traumatique. Peuvent être décollées et recollées plusieurs fois, nettoyées au sérum physiologique [13]. (Figure 3-i-).

I.2.2.10. Pansement Natural :

Les pansements dits « naturels » font actuellement l'objet d'un nouveau marché pharmaceutique. Ce sont les pansements à base de miel ou d'argile,

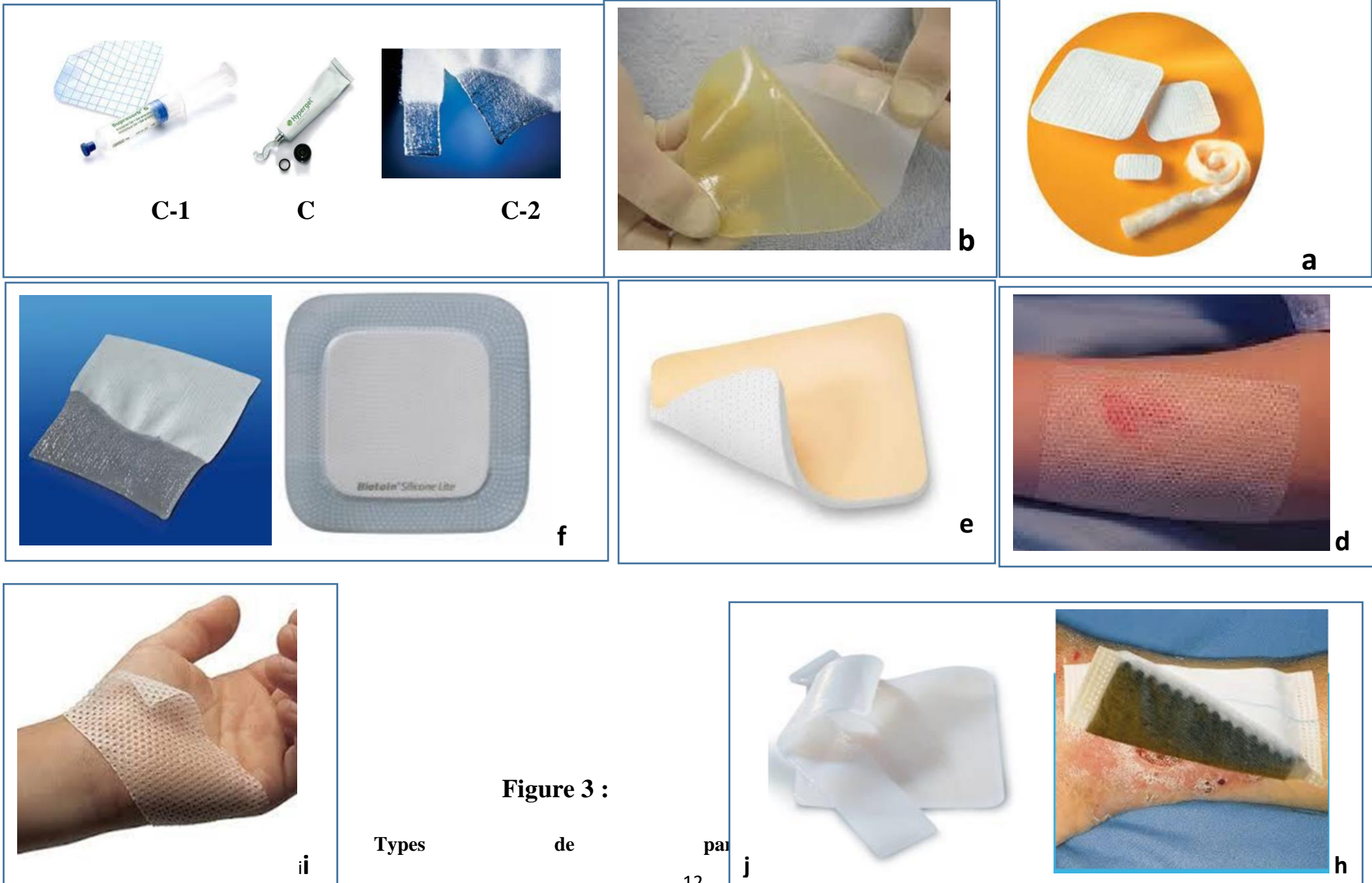


Figure 3 :

Types de pansements

I.3.les patch transdermiques :

Le patch est un dispositif autocollant qui diffuse un médicament au travers de la peau (voie transdermique). Grâce à la membrane poreuse du patch, le médicament est libéré de façon continue et à dose précise dès qu'il est en contact avec votre peau [18] .Leur développement a vu le jour au début des années 70 et le premier patch, approuvé par le FDA « Food And Drug Administration » en 1979, traitait le mal du transport [15].

I.3.1. Effet des patchs transdermiques : [16]

Ces dernières années, de nombreux types des patchs ont émergé, en termes de compositions et de traitements comme :

- **Des patchs à la nicotine** : Popularisés dans les années 90 avec les **timbres à la nicotine**, les "dispositifs transdermiques" sont désormais utilisés dans toutes sortes d'indications¹. Ceux qui contiennent des médicaments sont vendus en pharmacie, généralement sur ordonnance.
- **Des patchs aux hormones** : C'est le cas du contraceptif ou de certains *traitements hormonaux substitutifs*. Remplacer la prise d'une pilule par le changement hebdomadaire d'un patch contraceptif évite les oublis et rend le traitement plus discret.
- **Les patchs antidouleur** contiennent quant à eux du fentanyl, un dérivé morphinique qui peut aussi être injecté -ou pris par voie transmuqueuse- mais pas avalé car il est en grande partie dégradé par a digestion
- **Des patchs à base d'huiles essentielles** ou d'extraits végétaux patchs à divers se sont aussi développés. Ils revendiquent des effets similaires aux médicaments, sur la douleur, les nausées, la baisse de désir, l'arthrose ou le stress, mais ne sont pas soumis aux mêmes normes.
- **Les patchs anesthésiants** à la lidocaïne, quant à eux, sont conçus pour agir sur le site d'application et non via la circulation générale : ce ne sont pas des dispositifs transdermiques.

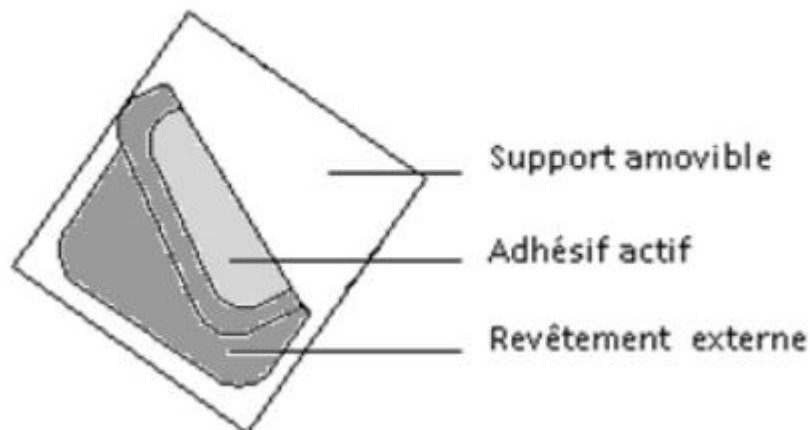


Figure 4: Schema d'un patch transdermique, exemple du patch de type « adhésifs ctif » de [19]

I.3.2. Structure des systèmes transdermiques :

Un patch transdermique est composé de plusieurs couches : un adhésif qui le maintien sur la peau, une zone intermédiaire qui contient le médicament et contrôle sa libération, une couche protectrice externe, souvent imperméable. L'ensemble du dispositif est étudié pour minimiser les risques d'intolérance et d'irritation cutanée. Les particularités de la zone intermédiaire permettent de distinguer deux types fondamentaux de systèmes transdermiques [16] :

- Les **systèmes à réservoir**, composés d'une couche de support, un revêtement pour une protection externe imperméable à la substance active, d'une couche de protection à enlever avant l'application du patch, d'un compartiment réservoir contenant le médicament et d'une membrane perméable qui régule la diffusion à travers la peau.
- Les **systèmes dits matriciels**, composés des mêmes couches supérieures et inférieures que le premier type, mais aussi de médicaments dissous et dispersés dans un polymère. La diffusion dans ce type de patchs est contrôlée essentiellement par les propriétés physico-chimiques des médicaments. [15]

L'adhésif peut être situé sur le pourtour du système (cas des systèmes réservoirs), il peut aussi recouvrir la totalité de la surface de libération et faire partie intégrante de la matrice ; ce dernier cas correspond à des systèmes dits adhésifs actifs qui ont l'avantage de présenter une technologie simplifiée, une faible épaisseur et une grande souplesse le rendant plus confortable pour le patient [20].

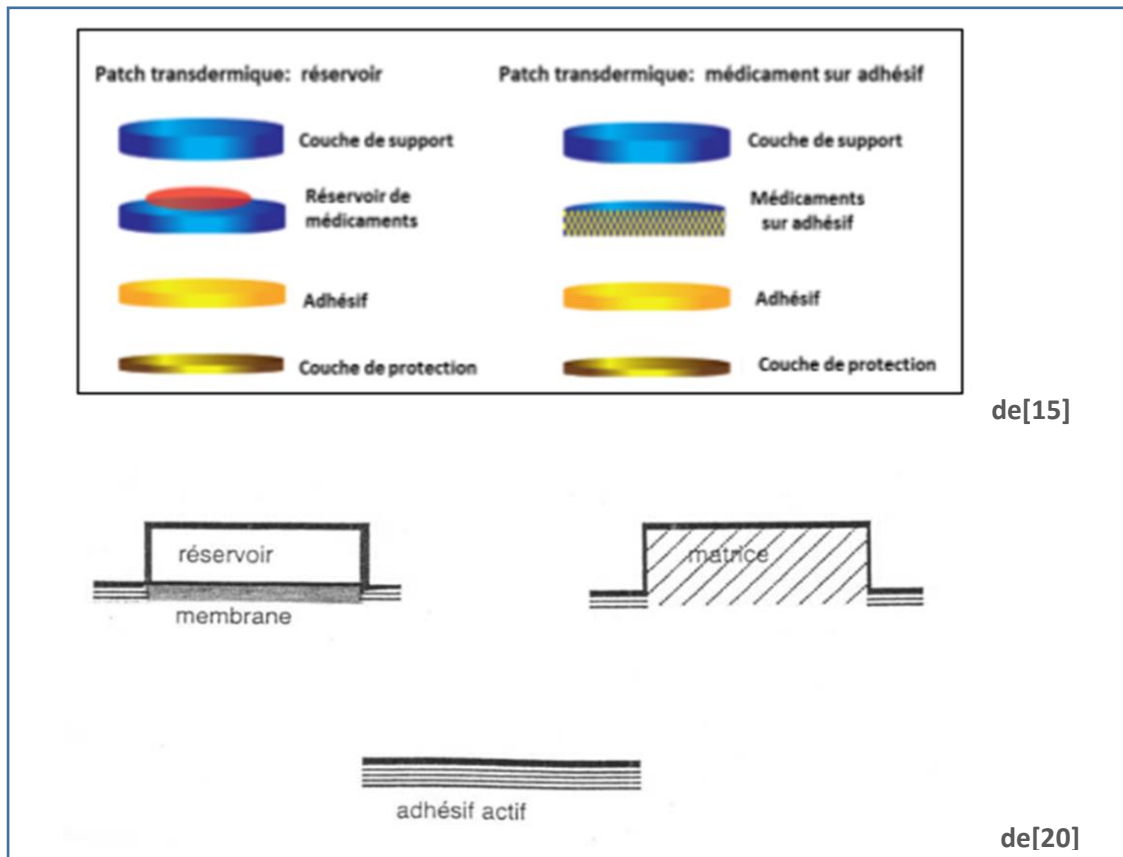


Figure 5 : Structure de système thérapeutique transdermique.

I.4. Le passage transdermique :

I.4.1. Structure de la peau : [15]

La peau est l'organe le plus large du corps humain avec en moyenne près de 2 m² de surface et 10 % de la masse totale d'un adulte. A la fois souple et résistante, elle est capable de résister aux attaques constantes des agents du milieu externe, que ce soient des radiations UV, des allergènes ou des microorganismes. Elle permet la régulation de la température et de la pression artérielle, en plus d'assurer la fonction sensorielle grâce aux terminaisons nerveuses ce qui permet le contact avec l'environnement externe la peau est composée de trois couches

- **L'épiderme** : Il comporte une région importante, appelée la couche cornée « Stratum Corneum », il s'agit de la couche extérieure de l'épiderme avec une épaisseur approximative de 10 à 25 µm. La couche cornée se compose de 15 à 25 couches de cellules hexagonales, aplaties et empilées noyées dans une matrice de lipides intercellulaires. Ces cellules sont riches en kératine, une molécule résistante, qui confère à la couche cornée sa résistance et s'oppose à l'entrée de la majorité des substances l'organisme.

- **Le derme** : Avec une épaisseur d'environ 1,1mm, le derme est la couche médiane, il est constitué de fibroblastes et de fibres de collagène et d'élastine noyées dans un gel visqueux. Les fibres de collagène constituent 70 % des protéines du derme et lui confèrent une propriété élastique. Il contient un vaste réseau vasculaire qui garantit à la peau une nutrition, une réparation et un échange thermique.
- **L'hypoderme** : appelé aussi tissu sous cutané, c'est la couche la plus profonde de la peau avec une épaisseur d'environ 1.2 mm, un tissu plutôt élastique qui a un rôle d'isolant thermique et d'absorbeur de vibrations. Une sorte de coussin de protection qui sépare la peau des systèmes nerveux et vasculaires.

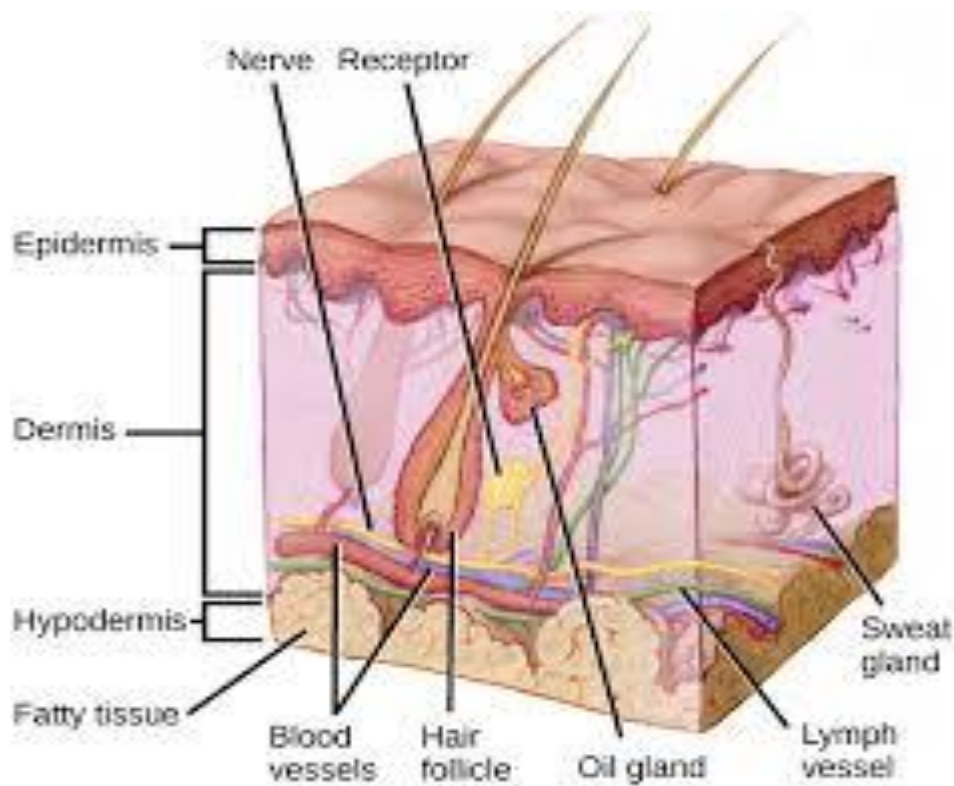


Figure 6 : Structure de la peau humaine de [17].

I.4.2. Mécanisme transfert de substance active par la peau :

La voie transdermique permet d'éviter le métabolisme qui a lieu dans la muqueuse gastro-intestinale et la biotransformation hépatique ensuite [14]. La peau forme une barrière protectrice mais elle n'est pas impénétrable. En fonction de leur taille, de leurs affinités relatives pour les lipides et pour l'eau, de leurs charges ioniques, certaines molécules peuvent passer. Elles traversent la couche cornée composée de cellules mortes, diffusent à travers l'épiderme, le

derme, l'hypoderme, puis sont résorbées dans les capillaires, de tous petits vaisseaux qui les conduisent jusque dans la circulation générale [16].

Dans le cas des patches de **type réservoir**, la quantité de médicament passant dans la circulation est contrôlée par une membrane. La concentration plasmatique est proportionnelle à la dimension du patch. A l'application du premier patch, le taux de principe actif s'élève graduellement pour se stabiliser après 12 à 24 heures. En effet, un réservoir sous-cutané de principe actif se forme lentement sous la peau, et c'est de ce dépôt que le principe actif passe dans le sang pour aboutir à son site d'action. L'effet du médicament reste stable après changement de patch, pour autant que le délai mentionné par le fabricant soit respecté. En effet, lorsque l'ancien patch est retiré, le dépôt sous-cutané qu'il a créé assure encore une diffusion continue de principe actif, ce jusqu'à ce qu'un autre dépôt se crée sous le nouveau patch et prenne la relève. Il faut prendre en compte cette élimination retardée lors d'un surdosage du médicament ou d'un changement de traitement [14]

L'absorption des médicaments par voie transdermique est influencée par divers facteurs. En cas d'altération de la peau (blessure ou maladie) par exemple, la résorption peut être sensiblement augmentée. La fièvre et l'activité sportive peuvent aussi accroître l'irrigation sanguine de la peau et favoriser la résorption du principe actif. Une augmentation transitoire du taux sérique de principe actif peut parfois en résulter. Ainsi, tout apport exogène de chaleur (bouillotte ou coussin électrique) à l'endroit où est appliqué le patch est à éviter (risque de surdosage). D'autre part, la composition du tissu sous-cutané en lipides et en eau varie avec l'âge, de même que la température corporelle, rendant moins prévisible l'absorption des médicaments [14].

I.5.Patch transdermique par cellulose :

La cellulose Est un glucide constitué d'une chaîne linéaire de molécules de D-glucose (entre 15 et 15 000). Ce biopolymère est le principal constituant de la paroi des cellules végétales, y compris du bois (lequel est caractérisé par ailleurs par une forte teneur en lignine .Elle constitue 35 à 50 % de la biomasse végétales terrestre devant l'hémicellulose (30 à 45 %) et la lignine (15 à 25 %), formant ainsi la première famille de composés par ordre d'abondance dans les plantes et dans les écosystèmes terrestres où domine la biomasse végétale morte ou vive[21].

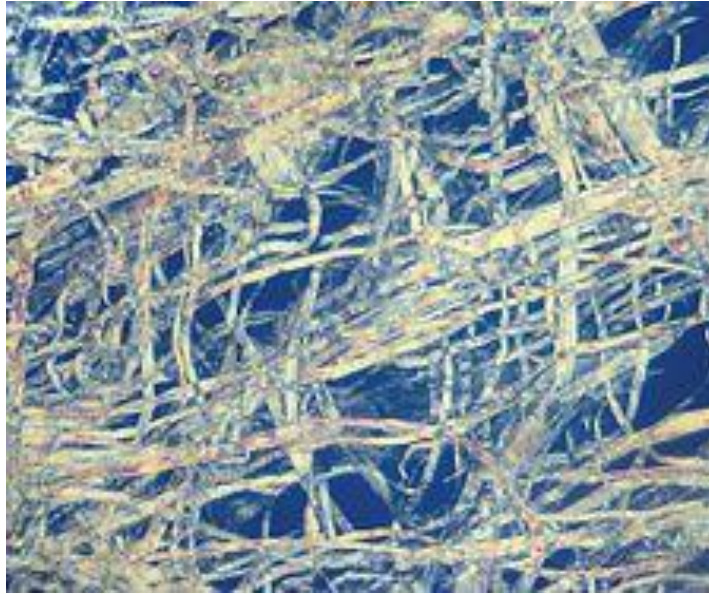


Figure 7: Cellulose d'un mouchoir en papier grossie 200 fois en lumière polarisée.de [21].

I.5.1.Structure :

Les monomères de glucose sont liés par des liaisons β -(1 \rightarrow 4), conduisant à des polymères linéaires. À chaque unité, on a une rotation de 180° qui permet de faire un réseau de liaisons hydrogènes entre l'oxygène du cycle et le OH en position 3, conférant ainsi une structure fibreuse à la cellulose. L'association de 36 chaînes de cellulose forme une micro fibrille de cellulose. L'association de 6 micro-fibrilles de cellulose forme une macro-fibrille et un agencement de plusieurs macro fibrilles forme ce qui est généralement appelé une fibre de cellulose [21]

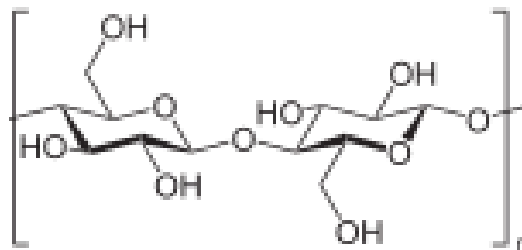


FIGURE 8 : structure représentée en projection de Haworth.de [21].

CHAPITRE II :
LA PLANTE MIDICINALE
(COLOQUINTE)

II.CITRULLUS COLOCYNTHIS

II.1Présentation de la plante :

La coloquinte est une plante herbacée, vivace de la famille des cucurbitacées. Sa tige est munie de vrilles et son fruit est une grosse baie sphérique de couleur ocre à maturité, de la dimension d'une grosse orange, lisse à sarcocarpe spongieux. Ses feuilles sont multilobées et velues et ses fleurs sont jaunes. Le fruit est d'un goût très amer [35].



Figure 9 : Fruits de coloquinte.

Plante coloquinte se trouve dans les régions d'Afrique du Nord, tel que le Grand Sahara, la péninsule arabique, le golfe arabe et le Soudan [28].

II.2. Caractéristiques du Colocynthis :

II.2.1. Taxonomie:

Comme tous les plantes la *Citrullus Colocynthis* appartient au règne du végétale comme une plante vasculaires. La description complète de la taxonomie est présentée dans le tableau

Tableau1 : La taxonomie complète de la plante Colocynthis [31]

Super division	<i>spermaphytes</i>
Sivision	<i>angiospermes</i>
Classe	<i>dicotylédones</i>
Sous classe	<i>dialypétales</i>
Ordre	<i>violales</i>
Famille	<i>cucurbitacées</i>
Genre	<i>citrullus</i>
Espèce	<i>colocynthis</i>

II.2.2. Nom vernaculaires :

Tableau 2 : Les noms la plante de coloquinte [27]

Nom commun	Pays	Références
Arabe : El hadj, Elhandal Alqam, mararet essahara	Algérie Maroc, Tunis	(Baba Aissa, 2000) (Marzouk et al 2010)
Berbères : Tifersite, tabrka		(Meziane et al 2011)
Bitter Apple Bitter gourd	Grand Bretagne	(Patrick et al 1960) (Sincich ,2002)
Coloquinte, coqueret, chicotin	France	(Sincich ,2002)

II.2.3. Description morphologique :

Citrullus colocynthis est une plante monoïque (fleurs mâles et fleurs femelles Séparées). La pollinisation se fait naturellement par des insectes [26]. C'est une plante bisannuelle, à tiges rampantes munies de feuilles palmatilobées à 3-5 segment, crénelées ; fleurs jaunes pâles ou verdâtres, solitaires à pédoncules courts, Axillaires ; corolles à 5 pétales ovales, à marge sinueuse, 5 étamines à anthères épaisses se touchant entre elles [26]. Les tiges, assez grêles et souvent cannelées, peuvent dépasser 10 mètres. Au niveau de chaque nœud se différencie un complexe axillaire se composant d'une ou de plusieurs feuilles, d'une ou de plusieurs inflorescences, d'une ramification ou d'une vrille. Les vrilles, simples ou ramifiées, permettent aux tiges de s'accrocher à un support [36].

Les fruits sont des baies appelées aussi pépons ou péponides, globuleux de 8 à 12 cm, à épicarpe coriace, de couleur verte tachetée ou marbrée qui devient jaune à maturité et à pulpe blanchâtre à saveur très amère contenant de très nombreuses graines .Les grosses baies peuvent contenir jusqu'à 500 graines par unité [38] .

II.3. La Coloquinte dans la pharmacopée traditionnelle :

La coloquinte est une plante médicinale connue depuis l'antiquité, ces utilisations médicinales ont été signalée parmi les médicaments indigènes dans différents pays notamment au Pakistan, en Inde, en chine, en Afrique et en Asie [27]. Elle a des utilisations diverses :

- Utilisé comme un puissant facilitateur dans la constipation sévère et chronique
- Utilisé dans la fabrication de médicaments pour les maladies des voies urinaires
- Utilisé dans le traitement des rhumatismes et des douleurs articulaires
- L'huile de grain est utilisée pour traiter les maladies de la peau
- L'extrait est également utilisé dans le traitement des maladies parasitaires externes chez les bovins tels que les chameaux.
- Utilisations cosmétique : Les extraits sont recommandés pour leurs activités hydratantes et reminéralisantes. Ils entrent dans la composition de :
 - Produits capillaires destinés aux cheveux mous et plats, abîmés et fragiles
 - Produits pour les mains
 - Produits de soin du visage, crèmes hydratantes pour peaux sèches et matures
 - Produits régénérant pour le contour des yeux [30].
 - Il s'agit d'une activité anti-maligne telle que le cancer.

Dr. Munjiyat de *l'Académie des sciences de Shanghai* a déclaré qu'il s'agissait d'une bonne alternative aux médicaments antidiabétiques, qui ont des effets secondaires indésirables et sont les meilleurs pour le traitement de la comparaison de l'insuline et de l'obésité [29].

Au niveau national elle a différent utilisation ; dans la région d'**El Goléa** et **Beni Abbes**, en plus du traitement du diabète, il est utilisé pour les dermatoses, odontalgies, infections génitales et algies Rhumatoïdes. Tandis qu'a la région d'**Ouargla**, on traite des plaies, des dermatoses et des piqûres de scorpions [26].

Dans la région de **Ghardaïa**, les fruits frais de la coloquinte sont chauffés pour traiter la rugosité ou le gonflement genou. Qui sont massage à l'huile d'olive, puis placés pendant une heure. Quant à l'huile de coloquinte, elle est utilisée comme antalgique local ou mélangée à de la vaseline pour former de la graisse, ce qui en facilite l'utilisation.

II.3.1.Effets secondaires de la coloquinte :

L'utilisant extensif de Coloquinte peut entraîner un effet secondaire qui peut être risquée. Elle est l'une des substances les plus toxiques, si elle n'est pas consommée avec modération, et à fortes doses provoquant une irritation de l'estomac ou de l'intestin, provoquant une forte diarrhée et accompagnée de sang. Ses utilisations devraient être très contrôlées chez les patients âgés et les femmes pendant la grossesse [29]. La pulpe de fruit frais est plus dangereuse si le contact avec la peau stimule la réduction rapide du taux de sucre dans le corps. Figure 10, montre les différent part du coloquinte fruit.

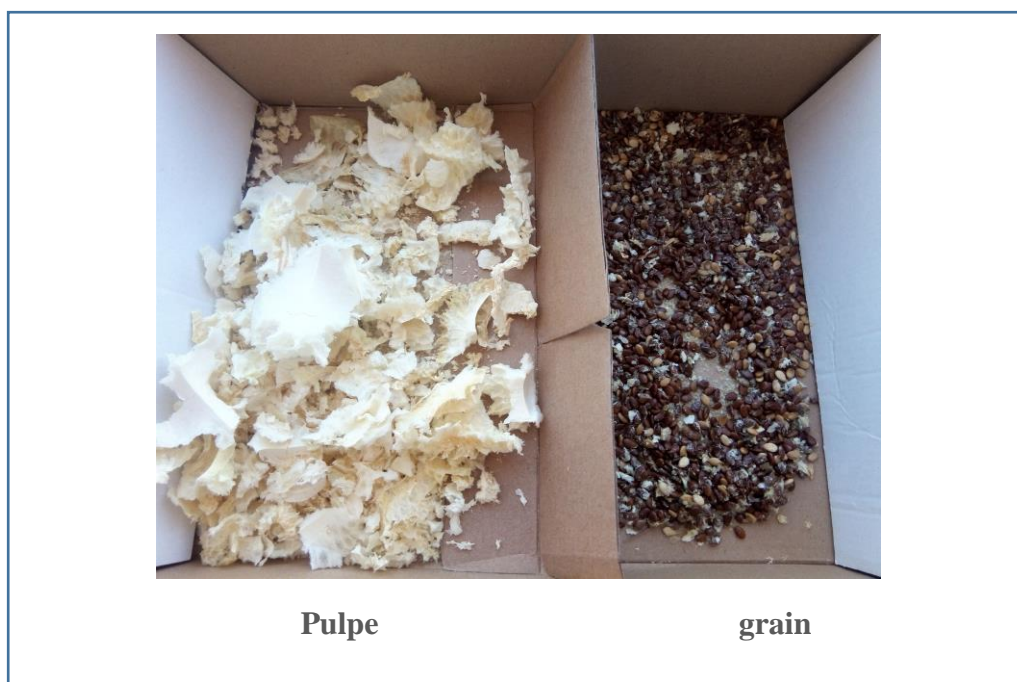


Figure 10 : La pulpe et grains de coloquinte.

II.4. Les Ingrédients médicaux dans coloquinte :

Le fruit du coloquinte Contient différents substances comme des **Resins**, ainsi que des **alcaloïdes**, de la **pectine** et des **saponines**, les **Glycosides** et aussi (Colocynththin) Et (Colocynthtin). Ces deux substances sont révélées être un mélange de glycosides et alcoids (Citrual).

Les graines contiennent également des huiles fixes jusqu'à 20% [28].

II.4.1. Alcaloïdes :

C'est un groupe hétérogène de substances qui n'ont pas une structure uniforme, mais qui sont généralement des composés organiques complexes, La molécule contient un ou plusieurs atomes d'azote associés à des cycles hétérogènes [28]. Les alcaloïdes sont caractérisés par les qualités générales suivantes :

- Composé chimiquement d'azote, de carbone, d'hydrogène et parfois d'oxygène [28].
- La plupart d'entre eux se trouvent sous forme pure, qui est des composés cristallins solides tels que les composés de nicotine et l'héosine (Fig.9).
- La plupart d'entre elles sont incolores, inodore et amères de gout, mais d'autres ont une odeur comme nicotine et une couleur jaune, comme collagène.
- Tous les alcaloïdes sont liquides (volatiles et non-volatiles)

- Ils sont solubles dans les solvants organique et pas soluble dans l'eau
- Composés toxiques.

Alkaloids

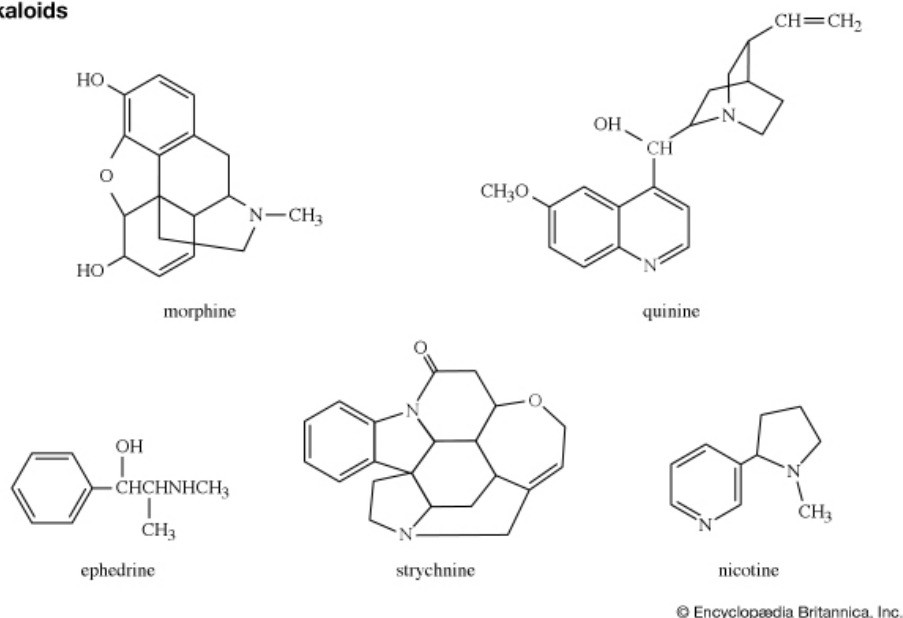


Figure 11 : Les structures d'alkaloïdes de [32].

Les Alcaloïdes sont généralement utiliser dans certain traitements come antidouleur agents (Morphine), anti-hypertensive (Reserpine) et dans le traitement du cancer (Laukocristin) [28].

II.4.2. Glycosides :

Des composés organiques qui dégradent (métaboliser) par des acides et des enzymes pour produire du sucre glucose et glycosides contient du soufre et de l'azote [28]. Les glycosides sont généralement des monosaccharides qui sont d'un composé non glucidique [33]. Le glycoside, comme la salicine (fig.10), est une substance cristalline incolore au goût amer qui se dissout dans l'eau et l'alcool [28]. Il comprend une classe de produits chimiques formés par l'union de molécules d'hydrates de carbone, glycines, glycols ou oses (habituellement un monosaccharide) avec un composé non glycolique, également appelé aglycone [33].

Les Glycosides sont généralement utiliser come stéroïdiens activateurs du cœur et renforcent les battements. Ainsi que des agents d'anesthésique local et antidouleur. Ila intervient aussi dans le traitement de la rupture des capillaires et prévient les saignements [28].



Figure 12 : Structure de salicine (glycoside) de [33].

II.4.3. les Resins :

Ces substances ont une composition chimique très complexe résultant de l'oxydation de différents types d'huiles et excrétées des canaux ou des espaces dans les plantes. Les résines sont constituées de trois éléments : le carbone, l'hydrogène et l'oxygène insolubles dans l'alcool ou l'éther [28].

II.4.4. Tannins :

Les tanins sont des substances végétales de la famille des polyphénols, généralement soluble dans l'eau, ils possèdent la capacité de précipiter les protéines, alcaloïdes et les polysaccharides dans une solution aqueuse [34].

Les Tannins sont utilisés dans le traitement de l'intoxication interne par des alcaloïdes et des métaux lourds. Ils sont aussi décrits comme des agents antiseptiques, anti-inflammatoires, anti-inflammatoires. Dans des applications avancées ils sont utilisés pour traiter et prévenir les symptômes de radiation [28].

CHAPTER III :

Matériels et Méthodes

III. MATERIELS ET METHODES

Durant cette étude, plusieurs matériaux, méthodes et procédées ont été utilisé pour atteindre notre objectif. La partie expérimentale est présentée dans le même ordre chronologique d'exécution. nous commençons par l'extraction de la pâte de cellulose, où une description complète des matières premières et de la procédure d'extraction est présentée. Ensuite, l'huile extraite de la plante de coloquinte est présentée en détail, puis la procédure de fabrication du patch médical est présentée. Enfin, une explication en détail de toutes les techniques de caractérisation utilisées dans ce travail est présentée.

III.1. L'extraction de la cellulose :

La pâte de cellulose a été extrait de la racine de carotte comme indique la figure 13. Les racines des carottes ont été collectées puis broyées à l'aide d'un mélangeur électrique pour produire de petits copeaux pouvant être immergés facilement et complètement dans la solution.



Figure 13 : Les granules des pulpes de carotte.

Le processus d'extraction de la cellulose de ces copeaux a été réalisé à l'aide de plusieurs produits chimiques et solvants pour éliminer les composés organiques. Les solutions utilisées sont :

- **Acide hydrochlorique (HCl) :** 41 ml de HCl est dilué avec de l'eau distillée jusqu'au volume total de solution égale 500ml ($V_T = 500$ ml).
- **Hydroxyde de sodium (NaOH) :** 20g de NaOH (granules) est dissoudre dans 25ml d'eau distillée, puis la solution est chauffée et agitée pour facilite la

dissolution. Après 10 min on ajoute l'eau distillée jusqu'à ce que le volume total soit égal 500ml.

- **Hypochlorite de sodium (NaClO)** : 27ml de NaClO (1-2%) est dilué avec de l'eau distillée jusqu'au volume total de la solution égale 200ml.

III.1.1. Méthode d'extraction :

Le procédé d'extraction est basé sur le trempage du copeau (carrot) dans différentes solutions dans un bain marée à température bien déterminée comme indique le diagramme dans la figure 14.

- **Etape 1** : On a pesé 50 grammes de pulpe de carotte et trempé dans de l'eau chaude pendant 10 minutes, pour éliminer le sucre, les phénoliques, l'amidon et la pectine polysaccharides.
- **Etape 2** : on place la matière végétale dans l'acide hydrochlorique pendant 30 min dans bain marée à température 85°C, pour éliminer pectine polysaccharides. Cette étape est répétée deux fois.
- **Etape 3** : on trempe la matière végétale dans l'hydroxyde de sodium pendant 30 min dans bain marée à température 85 °C, pour éliminer la hémicelluloses, Répétez cette étape trois fois.
- **Etape 4** : on place la matière végétale dans l'Hypochlorite de sodium pendant 60 min dans bain marée à température 95°C, pour Blanchiment de la cellulose, Répétez cette étape deux fois.

La figure 14 est montrée et résume les étapes de processus d'extraction de la cellulose.

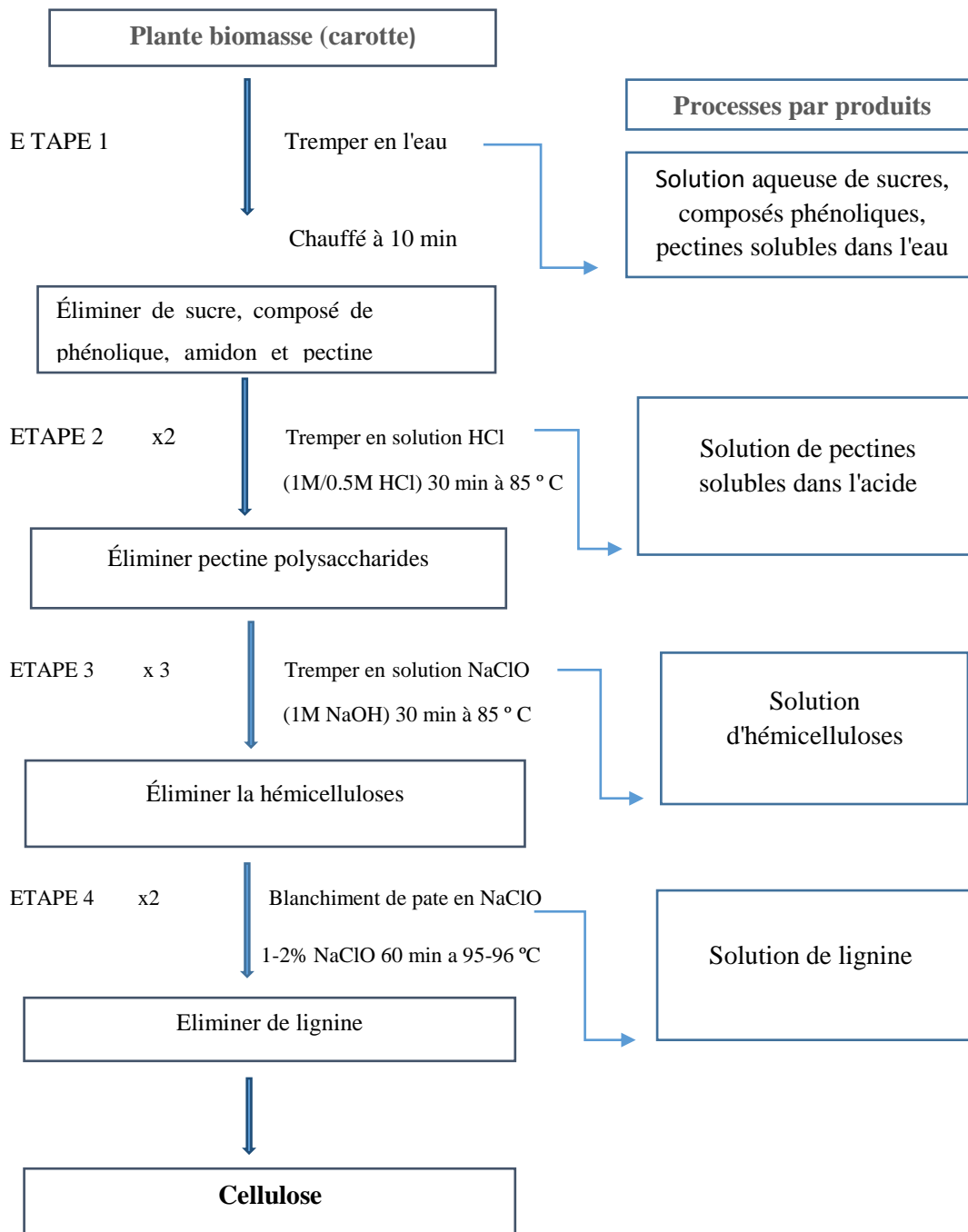


Figure 14 : les étapes processus d'extraction cellulose de [39].

III.2. Extraction des huiles de Coloquinte :

La récolte de la coloquinte (*Citrullus colocynthis*) a été effectuée du mois décembre et mois de mars dans la région de metlili au sud algérien. Après la récolte, les fruits ont été nettoyés du sol, puis coupés au couteau en deux afin de faciliter le processus de séchage. Les pièces sont placées au soleil pendant dix jours afin de garantir leur séchage complet. (fig.15-a-), Après cela, les graines fig.15-b-1) et la pulpe (fig.15-b-2) ont été isolées séparément, puis chacune a été broyée individuellement dans broyeur a type (JiKa-weke-M20) jusqu'à obtention d'un poudre fine.



Figure 15 : fruit et poudre de (grain, pulpe) de coloquinte.

III.2. 1. Extraction de l'huile fixe des grains :

L'extraction de l'huile de coloquinte a été réalisée par l'extracteur de Soxhlet avec l'Hexane (solvant polaire). La cartouche est remplie de 50g des graines de coloquinte broyées est place dans un extracteur Soxhlet avec réfrigérant. Le système est monté sur un ballon rempli avec 150 ml d'hexane. L'opération a duré 4 heures à l'aide d'un chauffe ballon qui a assuré une température d'ébullition stable [6]. Pour des raisons techniques, deux extracteurs sont utilisé chaque fois (fig.16). Ensuite l'extrait a été évapore dans un rotavapeur pour éliminer l'hexane tandis que, l'huile a été recueillie dans un flacon.



Figure 16 : Processus d'extraction huile de grain de coloquinte.

L'avantage dans ce procédé est que le solvant condensé s'accumule dans un réservoir à siphon, ce qui augmente la durée de contact entre le solvant et le produit à extraire, Quand le solvant atteint un certain niveau, il amorce le siphon et retourne dans le ballon en entrainant la substance dissoute [12].

III.2. 1. Extraction de la substance active des pulpes :

L'extraction de la substance active (SA) de la pulpe a été effectuée de la même manière que l'extraction de l'huile fixée des graines à l'aide Soxhlet avec le solvant hexane.

Le cartouche est remplie avec 34g des pulpes de coloquinte broyées, et monté sur un ballon rempli par 200 ml d'hexane comme l'indique figure 17. La quantité totale du solvant ajoutée doit être de 1.5 jusqu'à 2 fois la capacité du réservoir à siphon d'extraction de l'appareil. Après 4 heures d'extraction et d'évaporation de l'extrait, celui-ci a été conservé dans un flacon.

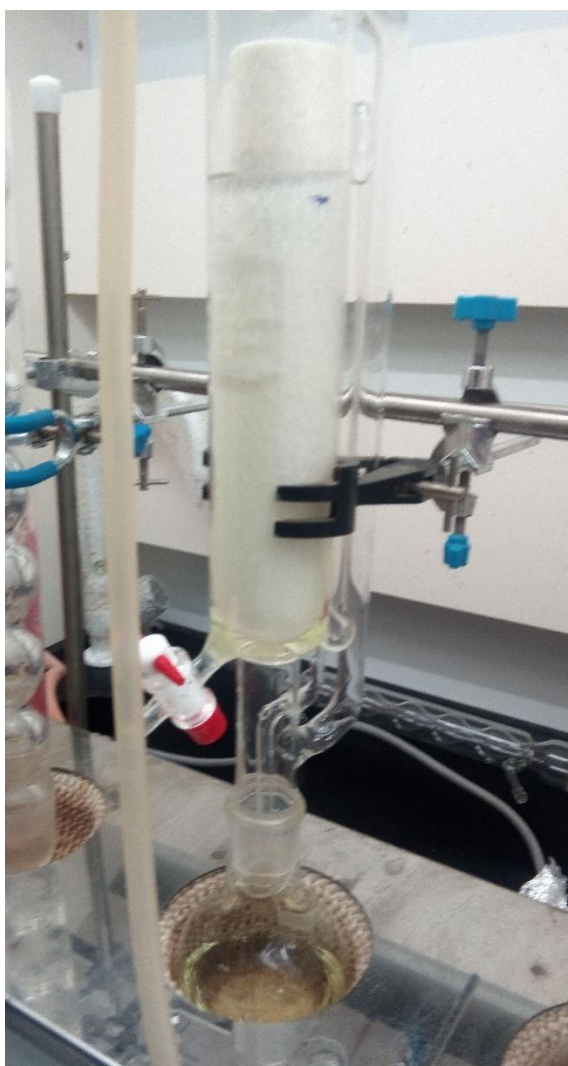


Figure 17 : Processus d'extraction SA de pulpe de coloquinte.

Le rendement (η) est calculé par la formule suivante :

$$\eta\% = (m_0 / m_1) \times 100$$

m_0 : Masse en grammes de l'huile évaporée

m_1 : Masse en grammes de la prise d'essai (les graines broyées).

III.2. 3.Evaluation d'activité antibactérienne :

Nous avons testé l'activité des extraits de coloquinte, par la méthode de diffusion en disque [22].

C'est la technique de base utilisée pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet antibactérienne, elle est aussi appelée: la technique de dilution en gélose pour la détermination des extraits actifs. Pour exécuter cette essai on a utilisé les deux extrais du Coloquinte (huile fixe, extrait de pulpe) ainsi que une bactérie « *staphylocoques* » fourni par laboratoire d'analyse Iben-Elhithem à Metlili.

L'essai commence par préparation du milieu Mueller-Hinton ; 9.4 g de poudre Mueller Hinton a été dissous dans 250 ml de l'eau distillé, après ça, le milieu est stérile dans un autoclave et refroidi jusqu'a 45-50°C. Pour chaque échantillon, une quantité de 15ml du milieu et coulé dans la boîte de Pétri stériles de 9 cm de diamètre. Au même temps placé les bactéries (staphylocoques) dans 10 ml de l'eau physiologie.

Dans 6 flacons remplie avec 10 µl de dimethyl sulfoxide (DMSO) dans chaque flacons pour diluée les extraits [25%, 50%, 75%], Les disques de papier filtre (6 mm de diamètre) ont été individuellement imprégnés avec la solution de l'extrait et ensuite placés sur la surface des milieux gélosés déjà inoculés avec les microorganismes testés .Les boîtes de Pétri ont été conservés à 4 °C pendant 1 h et ont été ensuite incubées à 37 °C pendant 24h pour les bactéries [22].

III.3. Fabrication du Patch médical:

Après l'extraction de la pâte de cellulose, elle a été formée en un disque de 4 cm de diamètre et en épaisseur qui varies de 1–3mm (Fig.18). Le processus de séchage a été effectué par un freeze draying (CHRIST) machine pendant 22h.

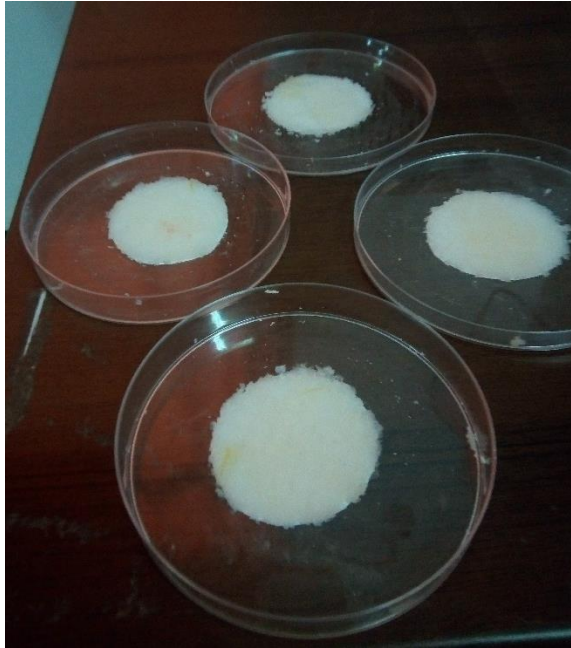


Figure 18 : la forme du disque en fibre.

III.3.1. La lyophilisation du disque cellulosique :

La lyophilisation est la dessiccation d'un produit préalablement congelé, par sublimation. Cette méthode est utilisée généralement pour sublimer l'eau et les alcools [23].

La lyophilisation consiste à retirer l'eau d'un produit liquide, pâteux ou solide, à l'aide de la surgélation puis une évaporation sous vide de la glace sans la faire fondre. Le principe de base est que lorsqu'on réchauffe de l'eau à l'état solide à très basse pression, l'eau se sublime, c'est-à-dire qu'elle passe directement de l'état solide à l'état gazeux. La vapeur d'eau (ou de tout autre solvant) quitte le produit et on la capture par congélation à l'aide d'un condenseur, ou piège froid. Cette technique permet de conserver à la fois le volume, l'aspect et les propriétés du produit traité. Elle peut avoir lieu naturellement (séchage en montagne), ou, plus rapidement, dans un lyophilisateur.

On distingue trois phases majeures dans un cycle de lyophilisation:

- la congélation, où les produits sont réfrigérés à des températures de l'ordre de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$; l'eau se transforme alors en glace. (fig.19-a)
- la dessiccation primaire, sous vide, qui consiste à sublimer la glace libre (interstitielle), donc sans effet d'ébullition (pas d'eau en phase liquide). (fig.19-b)
- la dessiccation secondaire, qui permet d'extraire par désorption les molécules d'eau piégées à la surface des produits séchés. (fig.19-c)

À la fin du cycle, le produit ne contient plus que 1-5 % d'eau, ce qui est extrêmement faible [23].



a) la congélation

b) la dessiccation primaire

c) la dessiccation secondaire

Figure 19 : trois phases majeures dans un cycle de lyophilisation.

III.3.2. Chargement du patch par les extraits :

L'opération de chargement du patch avec l'huile extraite de plante coloquinte est exécutée à l'aide du dispositif de pompe à vide de la même manière à celle utilisée dans la filtration.

L'air aspiré par la pompe permet la saturation totale du patch et permet également la mesurer de quantité d'huile nécessaire pour saturer d'un patch. Figure 20, explique le principe d'immersion.

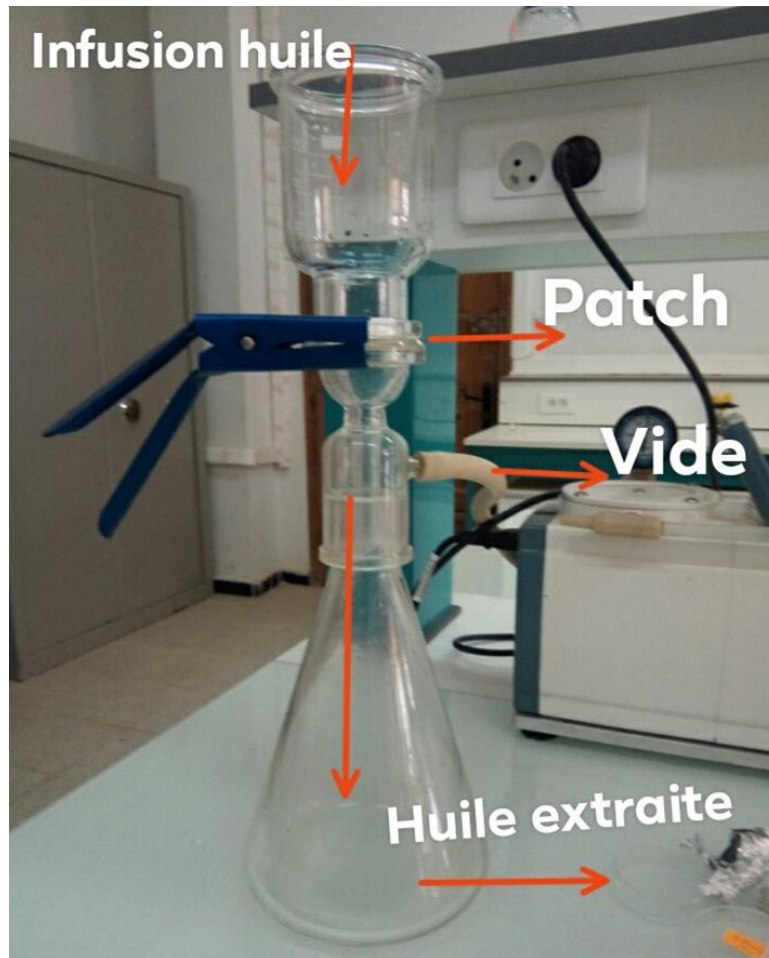


Figure 20 : Le processus d'immersion du patch avec l'huile extraite de plante coloquinte.

III.4. Caractérisations des patchs transdermiques :

Les patchs sont caractérisés en termes de propriétés physiques et structurelles.

III.4.1. Caractéristiques physiques

- Le densité du patchs est calculée par le rapport du poids (qui est mesure par une microbalance électronique) et le volume (qui est déduite du diamètre et épaisseur qu'ils sont mesurée par une pieds a coulisse digitale) [24].
- La teneur en humidité est déduit de la perte de poids due à l'élimination de l'humidité dans un dessiccateur met sous-vire pendant 4 minute à 24 ° C (fig.20).

$$\text{Teneur en humidité (\%)} = (\text{perte en poids} / \text{poids initial}) \times 100$$



Figure 21 : Appareil dessiccateur.

III.4.2. Caractéristiques structural :

La caractérisation structurale utilise un appareil FTIR-600 comme présente la Figure.22. le but de cette essai est d'étudier la stabilité de l'ingrédient active dans la patch. Le test étudie les modifications chimiques pouvant survenir dans les huiles extraites du fait de l'impact de l'environnement principalement l'air. Par conséquent, l'essai consiste à déterminer les groupes fonctionnels du spectre d'infrarouge dans les échantillons d'huile laissé en plein air à différentes périodes (0, 5 et 15 jours).

III.4.2. 1. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) :

La *spectroscopie infrarouge* est une technique d'analyse rapide et non destructive utilisée en analyse chimique permettant, via la détection de vibrations caractéristiques, d'identifier les fonctions chimiques des molécules présentes dans les matériaux analysés qui peuvent être présents sous forme solide, liquide ou gazeuse. Cette technique repose sur l'absorption (ou la transmissions) par l'échantillon de radiations électromagnétiques infrarouges comprises entre 1 et 50 μm (micromètre). Cette bande spectrale est divisée en proche infrarouge (de 1 à 2.5 μm) et en

moyen infrarouge (de 2.5 à 50 μm). Le moyen infrarouge est utilisé pour identifier des molécules organiques dont il permet de garder une sorte d'**empreinte digitale** [25].



Figure 22 : FTIR-600.

Cette technique compare l'intensité I du rayonnement transmis par l'échantillon étudié à l'intensité du rayonnement incident I_0 à différentes longueurs d'onde dans le domaine infrarouge. On obtient ainsi un spectre d'absorption qui donne la transmittance $T = I/I_0$ ou l'absorbance

$A = -\log(I/I_0)$ de l'échantillon en fonction de la longueur d'onde incidente ou du nombre d'onde (inverse de la longueur d'onde). Etant donné le nombre et la complexité des bandes d'absorption, le spectre infrarouge d'une molécule donnée est caractéristique de celle-ci et peut donc être utilisé pour l'identifier, en consultant des tables de correspondance ou par comparaison avec des spectres de référence enregistrés dans une spectrothèque. Ainsi, lors d'études comparatives de deux substances, des spectres infrarouges identiques indiquent des substances identiques [25].

En général, lorsque le rayonnement infrarouge passe à travers la substance, les énergies des photons infrarouges sont suffisantes pour provoquer des rotations et des vibrations (élongation ou déformation) de la molécule et des groupes chimiques mis en jeu autour de leur position d'équilibre. Selon la longueur d'onde de la radiation incidente, certains photons infrarouges seront effectivement absorbés par la molécule provoquant la vibration de certains groupes caractéristiques et d'autres seront simplement transmis [25].

Résultats et Discussions

IV.1. Extraction la cellulose :

Au cours du processus d'extraction de la cellulose de la pulpe du carotte, des solutions ont été produites à chaque étape pour que :

- Etape 1 : Tremper en l'eau donne un résidu liquide aqueux de sucres (fig.23-a)
- Etape 2 : Tremper en HCl donne un résidu liquide de pectines solubles dans l'acide (fig.23-b)
- Etape 3 : Tremper en NaOH donne un résidu liquide Solution d'hémicelluloses (fig.23-c)
- Etape 4 : Blanchiment en solution NaClO donne un résidu liquide de lignine fig.23-d)



Figure 23 : Les solutions produites a processus d'extraction la cellulose.

Le processus d'extraction de la cellulose était d'environ 4 heures et 30 min À la fin de l'extraction A été obtenu une pâte blanche de cellulose (fig.24). Le rendement ne peut pas être déterminé de sorte qu'il varie en fonction des carottes utilisés dans chaque expérience. Le produit est stocké et stocké à la température ambiante ou dans le réfrigérateur

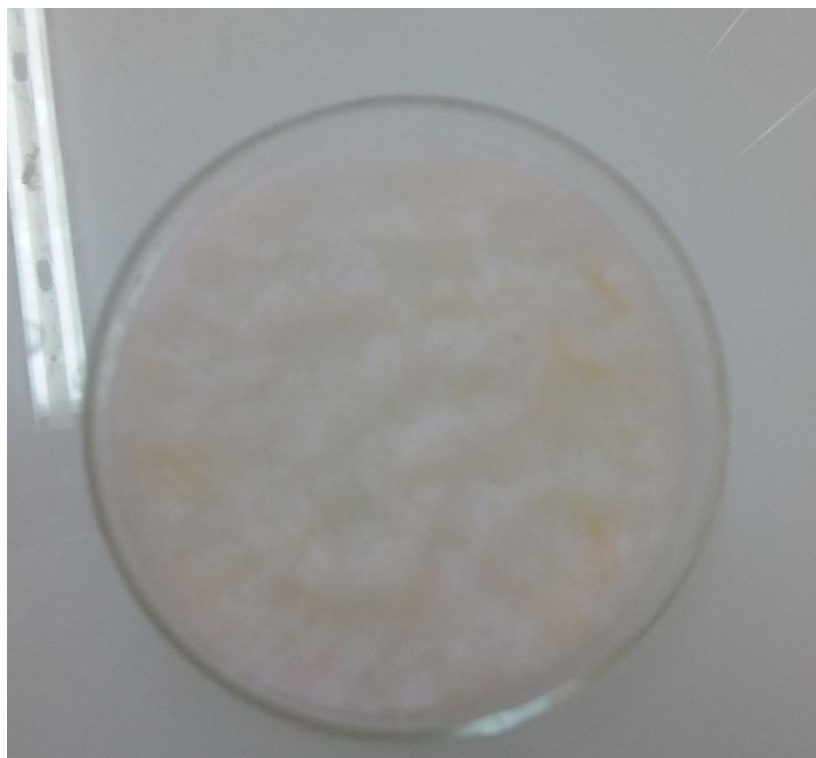


Figure 24 : La pâte de cellulose.

IV.2. Extraction l'huile fixe et la substance active :

Au cours du processus d'extraction de l'huile fixée des graines et de la substance active de la plante de coloquinte, qui a duré 6 heures à une température constante 69°C, le rendement des deux extracteurs a été calculé comme suit :

Tableau 3 : Rendement en extrait de grain et extrait de pulpe

Matière	Rendement ($\eta\%$)
Extrait de grain	25
Extrait de pulpe	67.64

Il est clairement montré que le rendement en extrait de pulpe est supérieur à celui en extrait de graine. Les caractéristiques de l'extrait de grain (huile fixe) et l'extrait de pulpe peut être résumé comme suit :

- La couleur des extraits est différente, de sorte que l'extrait de pulpe est jaune net, mais que l'extrait de graine était gras jaunâtre.
- La viscosité n'a pas été mesurée, mais une fois observée, l'extrait d'huile était plus visqueux que l'extrait de pulpe.

- Pour les dépôts lipidiques on observe que après l'extraction, l'huile de grain formait un dépôt gras blanc facilement séparé par empila décante, Tandis que l'extrait de pulpe, il a fallu environ 10 jours pour former le lipide.

Les extraits sont stockés à l'abri de la lumière et de l'humidité dans des flacons en verre au réfrigérateur.

IV.2.1. Evaluation d'activité antibactérienne de l'huile de coloquinte :

Dans extrait de pulpe n'ont donné aucun résultat puisque la coloquinte n'a pas d'effet antibactérien (est un inhibiteur de l'activité bactérienne).

Tableau 4 : Les résultats de l'activité antibactérienne de les extraits de plante coloquinte.

	25%	50%	75%	100%
Extrait de grain	+	+	+	-
Extrait de pulpe	-	-	-	-

(-) : résultat négative → Il n'y a pas d'activité antibactérien.

(+) : résultat positive → Il y a d'activité antibactérien.

Dans extrait de grain ont donné résultat positif puisque effet résistance dans milieu, La raison du manque d'activité de l'extrait pure est probablement due à la non-prolifération des bactéries dans le milieu en raison de sa concentration.

IV.3. Fabrication de patch médical :

Dans notre travaille ont à peu formé 6 disques de cellulose de différentes épaisseurs varient de 1 à 3 mm On a observé que l'épaisseur de 2 mm est plus appropriée comme il est facile à manipulation.

IV.3.1. Chargement du patch par l'extrait :

Dans ce processus, a été mesurée la quantité de l'huile avant de commencer et aussi mesurée la quantité d'huile éliminée et combinez-les pour déterminer la quantité suffisante pour remplir la fibre d'huile.

On observe que l'épaisseur de la fibre est liée à la quantité d'huile nécessaire pour immerger complètement la fibre.

IV.3.2. Caractérisations physique :

Certaines des caractéristiques physiques sont présentées dans le tableau suivant (pour les détails voir ANNEX II) :

Tableau 4 : les caractéristiques dimensionnelles des patches.

N° patch	Poids(g)	Diamètre (cm)	Epaisseur (mm)	Volume (cm ³)	Densité (g/ cm ³)
N°01	0.60	4.04	2.72	13.66	0.011
N°02	0.76	-	-	-	-
N°03	0.16	3.97	1.44	17.81	0.008
N°04	0.19	4.06	1.43	18.50	0.010
N°05	0.19	4.08	1.58	20.64	0.009
N°06	0.20	3.93	1.75	21.21	0.009

IV.3.2.1. Teneur de humidité :

Dans ce test a été utilisé chantaiant de fibre n 2= 0.76g, Après la déshumidification du patch est devenu un poids = 0.59 g, danc taux humidité égal à 23%. Ce résultat nous indique que notre patch n'est pas très sensible à l'humidité.

IV.3.3. Stabilité des extraits :

Dans cette étape à été prévisualisé les extrais par intervalles : 0 jour, 5 jours, 11jours. Les spectres indique l'existence des déférentes fonctionnalités come indique dans le tableau 6. Le but de cette caractérisation n'est pas l'investigation de composition chimique des extraits mais la comparaison entre les huiles à différent intervalle des temps.

On peut clairement voir que on n'a pas des changements important dans les structures de ces huiles alors on peut dire que ces extrait ont une durée de vie supérieur à 10 jours.

Figure 25 : FTIR spectre pour l'extrait des grains

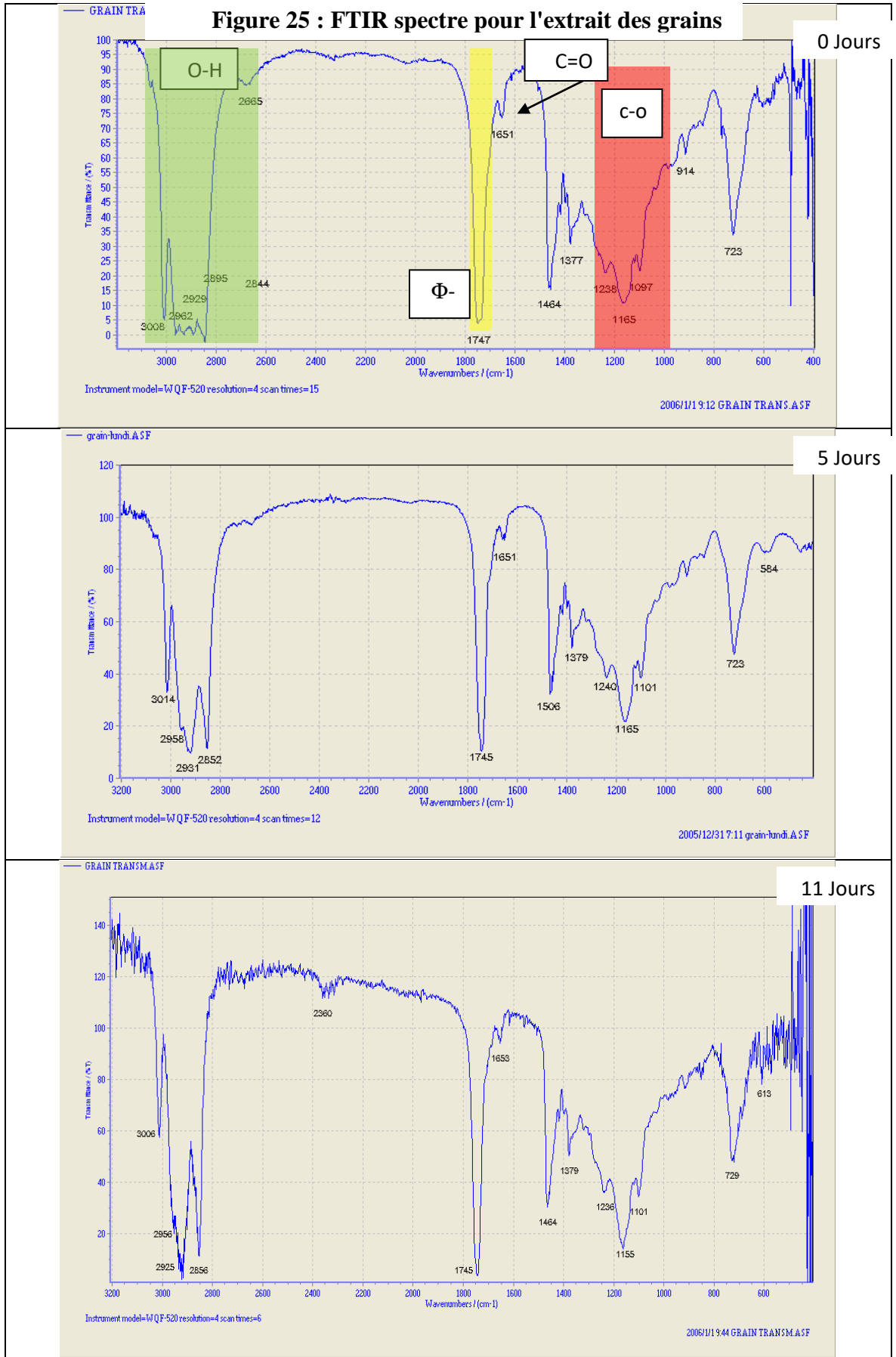
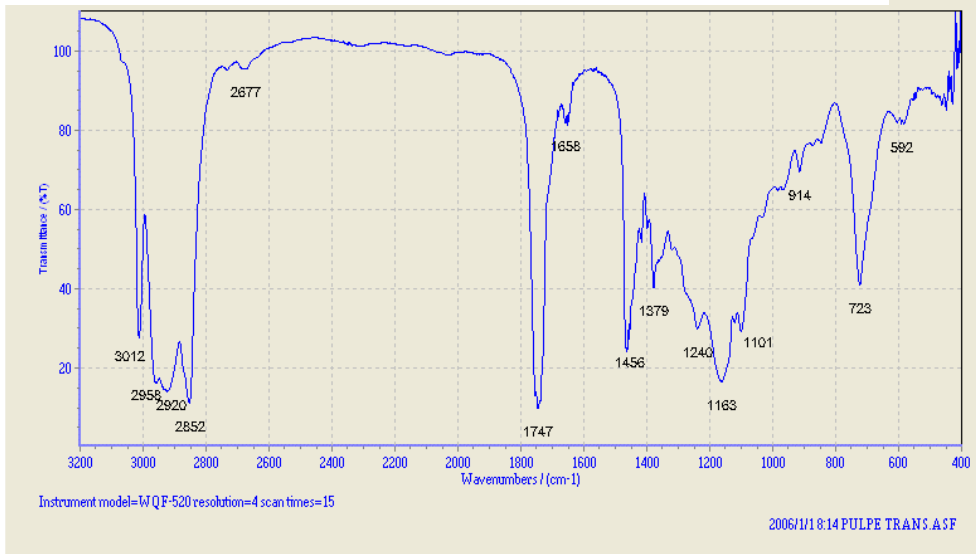
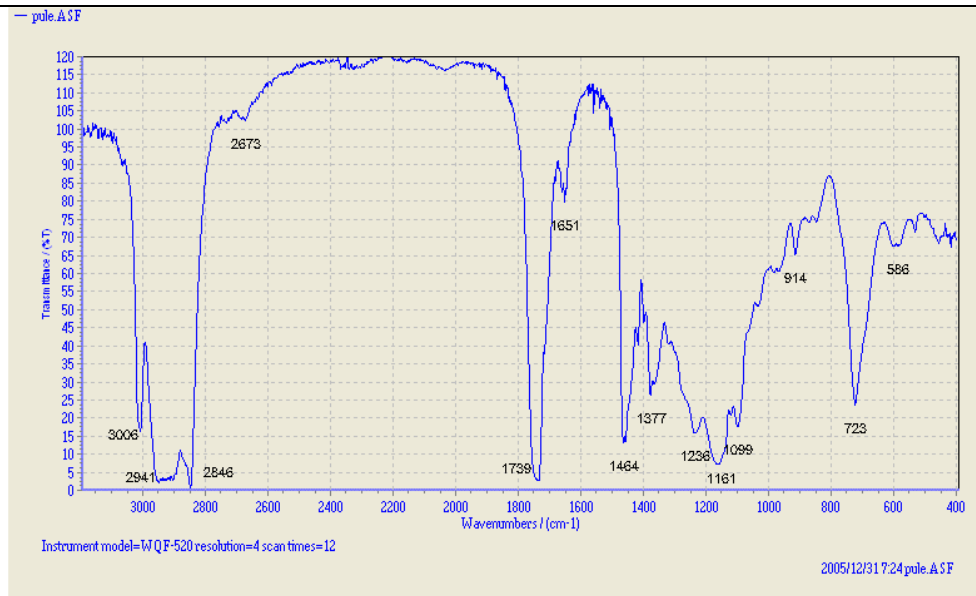


Figure 26 : FTIR spectre pour l'extrait des pulpes

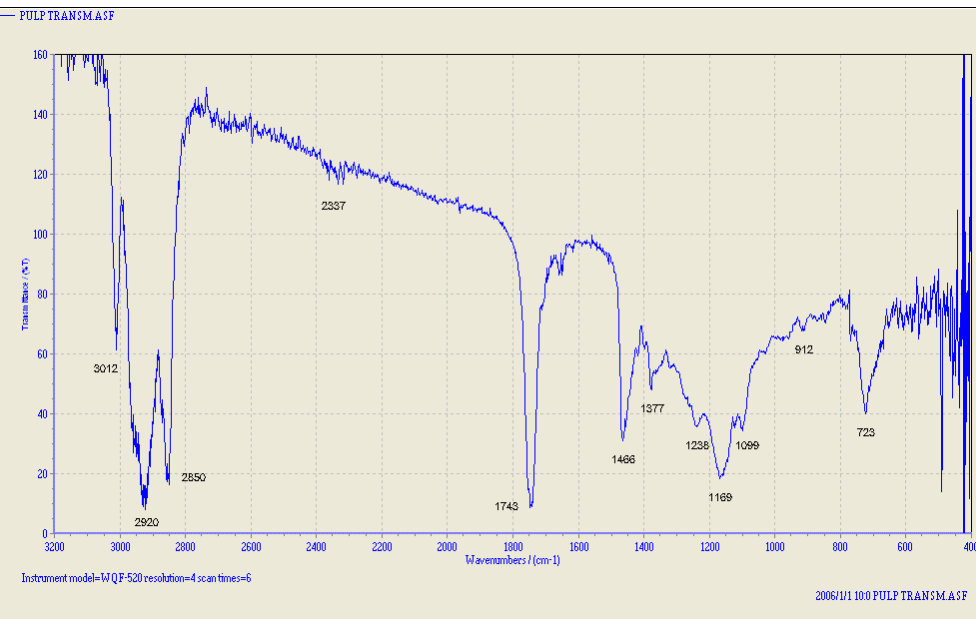
0 Jours



5 Jours



11 Jours



CONCLUSION GENERALE

A travers des expériences que nous avons effectuées en laboratoire, a été obtenus des résultats préliminaires on peut dire que nous pouvons produire des patchs « primitif » qui pouvant être utilisé pour supporter différents extraits de plantes. Au cours de cette étude, nous avons également pu développer un ensemble de tests et de procédures pour atteindre nos objectifs. L'utilisation du séchage sur gel a permis d'obtenir une structure stable de patch cellulosique stable à l'humidité. Il était également possible de charger ces patchs en utilisant un système de filtration à vide, à la fois économique, économique et pratique. Les propriétés physiques ont montré que ces biomatériaux sont très légers et très poreux.

Les huiles de coloquinte sont stables vis-à-vis de l'environnement puisqu'aucune oxydation importante n'a été observée après 10 jours d'utilisation.

Cette étude, bien que prometteuse, est encore primitive et nécessite des investigations supplémentaires dans des domaines tels que :

1. Application directe sur la peau humaine ou animale
2. utiliser d'autres matériaux composites pour renforcer la qualité de ces biomatériaux.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] A. Mokaddem et A. Boutaous, "Structures et propriétés des biomatériaux " [Physiques] 2015 USTOS-MB Alger
- [2] D. Barrias, "Biomatériaux : une avancée majeure avec le titane poreux" 2006.
- [3] Portraits de médecins, "Sir Joseph Lister 1827-1912".
- [4] S. Mallou, " les caractérisations des matériaux utilisées pour la fabrication des prothèses Dentaires" [chimie des matériaux] 2015 UAM-Bejaïa Alger.
- [5] P. Rocher, J.-J. Guyonnet, G. Grégoire, " Travail des alliages dentaires", J EMC Dentisterie 1,284-311 2004.
- [6] M. Hubert, " modélisation de la transformation de biomatériaux par un modèles de Percolation"[physics.bio-ph] 2011 Blaise Pascal France.
- [7] C. Wanpeng, L.L. Hench, Ceramics international, 22, 493–507, 1996.
- [8] M. B.Jaber, " Biomatériaux et prothèses" [biomédical] 2009 Tunis.
- [9] Dispositifs médicaux et progrès en "plaies et cicatrisation" les innovations technologique Médicales Edition 2014.
- [10] L.G.Thierry, " histoire de pansement" 2006 cicatrisation.info.
- [11] M. Carrère et R. Boxelé "L'art de panser les plaies",2017 d'Allodocteurs.fr.
- [12] G. Pancq, " Stomathérapeute Du soins de plaies et cicatrisation" HPHS 2013 Belgique.
- [13] " Les pansements", Lamarque Rachel-service infirmier 2014
Indication et utilisation recommencées.
- [14] A.F. wasilewski et P. Bonnabry Revue médicale SMSR 2004. Médecine et hygiène, Suisse, chemin de la moussa 46, 1225 Chêne-Bourg seul.
- [15] Y. Talbi, " Conception d'un patch transdermique intelligent pour le monitoring et l'aide à La prise de médicament, Micro et nanotechnologies/Microélectronique" Doctorat de

Micro et nanosystème 2018, INSA Toulouse, France.

- [16] A. Plessis, Journaliste santé "Le patch transdermique aujourd'hui et demain" 2013,
- [17] BC Open Textbooks, Concepts of Biology-1st Canadian Edition,
- [18] R. Laroutis Monnet, G. Schärer et M. Munnier "Patches contre la douleur contenant des Dérivés de morphine" 2008. HUG Genève.
- [19] M.F.Mayka, "Développement des formes transdermiques " 2014 [s-pharmaceutique] Univ-Toulouse France.
- [20] CAPP-INFO "SYSTEMES TRANSDERMIQUES (OU PATCHS)" N° 18, Avril 2002 Bip: 8 65 60.
- [21] page web : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Cellulose> .
- [22] Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre* Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, Vol. 85, 2016, p. 152 – 159.
- [23] page-web : <https://en.wikipedia.org/wiki/Freeze-drying> .
- [24] G. Seth. L. Bihani "transdermal drug delivery system (patch)" IJRPC 2011, 1(4) .ISSN: 2231-2781 india.
- [25] laboratoire pluridisciplinaire de criminalistique " spectromètre infrarouge a transformé de Fourier.
- [26] M. K. Ikrame, " contribution a l'étude de l'analyse d'huile *Citrullus colocynthis* et de son pouvoir antimicrobien" UABBT Alger 2011.
- [27] S .Soufane, "l'étude de la toxicité des fruits du *Citrullus colocynthis*" UFAS1 Alger 2018.
- [28] S.O.Al Haj, M. M. Hassan, J.Al-Hussein " استخلاص وتعبئة المواد الفعالة من نباتات الحرجل والحنظل و الصبار واستخداماتها في التدوي " <http://repository.rsu.edu.sd/handle/123456789/204> P:29 soudan 2014

- [29] M. Esraa, A.Ishaq, "استخلاص المادة الفعالة والزيت من نبات الحنظل"
2016-10-01, <http://repository.sustech.edu/handle/123456789/16063>
- [30] <http://mieux-se-connaître.com/2014/07/la-coloquinte/>
- [31] B. Khaldia "toxicité aigüe et effet hypoglycémiant de alcaloïdes totaux extraits des
graines
de coloquinte" UABBT Alger 2011.
- [32] <https://www.britannica.com/science/alkaloid> .
- [33] <https://www.aquaportail.com/definition-5302-glycoside.html> .
- [34] <https://fr.wikipedia.org/wiki/Tanin> .
- [35] Farid Baba Aissa livre "les plantes médicinales en Algérie". P 53.
- [36] P.R.Armougom " Etude de la fraction lipidique des graines de cucurbitacées
Tropicales des genres Lagenaria, Luffa, Momordica. Thèse Doctorat en science 1998,
UNIV de la reunion. France
- [37] A.O. Haidara. "Valorisation d'une huile de végétale tropicale : L'Huile de Pourghère "
1996. Sherbrooke, Canada.
- [38] C. Akoh et C. Nwosu "Fatty acids of melon seed oil lipids and phospholipids"
AOCS, Vol. 69, n°. 4 : 314-316.
- [39] M. S-Chargot ,M. Chylińska ,K. Gdula ,A. Kozioł and A. Zdunek "Isolation
And Characterization of Cellulose from Different Fruit and Vegetable Pomaces "
Polymers 2017, 9(10), 495.

Annexes

ANNEXES

ANNAXES I

Tableau I : Quelques biomatériaux leur usage de [1]

Les catégories	métaux	Utilisations
Les métaux et les alliages métalliques	Acier inoxydable	Remplacement mixte, fracture osseuse fixation, valves cardiaques, des électrodes
	Alliages cobalt-chrome	Joint de Remplacement, revêtements de surface sur le total des remplacements articulaires, échafaudages cellulaires
	Titane et alliages de titane	Joint de remplacement, fracture osseuse fixation
	Or	obturations et les couronnes, les électrodes dentaires
	Argent	Fils de pacemakers, matériel de suture, les amalgames dentaires
	Platine	Électrodes, de neurones périphériques stimulations
Les céramiques	Verre	Des substituts de greffe osseuse, des charges pour matériaux dentaires
	Oxydes d'aluminium	Implants de la hanche, les implants dentaires, remplacement cochléaire
	Le phosphate de calcium	Substituts osseux, des revêtements de surface sur remplacement total de l'articulation, échafaudages cellulaires
	Zircone	Implants de la hanche
Les matériaux d'origine naturelle	Le collagène et la gélatine	La chirurgie esthétique, pansements, ingénierie tissulaire, échafaudage cellulaire
	La chitine	Plaies pansements, échafaudage cellulaire
	Alginate	cellule encapsulation

	L'acide hyaluronique	La prévention des adhérences postopératoires, lubrifiant ophtalmique et orthopédique, échafaudage cellulaire
Les polymères et matières plastiques	Nylon	Sutures chirurgicales, segments gastro-intestinaux, rubes trachéales
	Silicone caoutchouc	Articulations des doigts, la peau artificielle, implants mammaires, lentilles intraoculaires, les cathéters
	Polyester	Sutures résorbables, la fixation des fractures, des échafaudages cellulaires, les pansements de la
		peau, des dispositifs d'administration de médicaments
	Polyéthylène (PE)	Hanche et du genou implants, les tendons et les ligaments artificiels, greffons vasculaires synthétiques, les prothèses dentaires, les implants faciaux
	Polyméthacrylate (PMMA)	lentilles intraoculaires
	chlorure de polyvinyle	Tubes, prothèses faciales

ANNAXES II

Tableau II explique les mesures (diamètre, épaisseur) de chaque patch.

Nº de patch	Epaisseur (mm)	Diamètre (cm)
Patch 1	1= 3.14 2= 2.73 3= 2.82 4= 3.02 5= 3.00 6= 2.56 7= 2.30 8= 2.25 $(\sum e)/8 = 2.72$	1 = 4.09 2 = 4.01 3 = 4.05 4 = 4.01 4.04
Patch 3	1= 1.53 2= 1.69 3= 1.26 4= 1.36 5= 1.67 6= 1.25 7= 1.29 8= 1.44	1 = 3.94 2 = 3.98 3 = 3.90 4 = 4.06 3.97
Patch 4	1= 1.71 2= 1.84 3= 1.84 4= 1.67 5= 1.68 6= 1.78 7= 1.44 8= 1.64 $(\sum e)/8 = 1.43$	1 = 4.12 2 = 4.04 3 = 4.05 4 = 4.03 4.06
Patch 5	1= 1.59 2= 1.94 3= 1.55 4= 1.71 5= 1.57 6= 1.41 7= 1.45 8= 1.64 $(\sum e)/8 = 1.58$	1 = 4.13 2 = 4.07 3 = 4.04 4 = 4.11 4.08
Patch 6	1= 1.69	1 = 4.01

	2= 1.75		2 = 3.77	
	3= 1.84			
	4= 1.83	$(\sum e)/8 = 1.75$		3.93
	5= 1.88		3 = 3.95	
	6= 1.81			
	7= 1.77		4 = 4.02	
	8= 1.48			