

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie Des Procédés



THESE DE DOCTORAT

En Génie des Procédés

Spécialité : Génie Pharmaceutique

**Mise en œuvre des procédés de micronisation et de dispersion pour
l'amélioration des propriétés physico-chimiques de molécules à visée
thérapeutique.**

Par

FERRADJ SAFA

Hadj-Sadok	Abdelkader	Professeur	Université Blida 1	Président
Lamoudi	Lynda	Professeur	USTHB	Examinatrice
Chennouf	Zohra	MCA	Université de Blida	Examinatrice
Lefnaoui	Sonia	Professeur	Université de Médéa	Co-Directrice de thèse
Hadj-Ziane	Amel	Professeur	Université Blida 1	Directrice de thèse
Yahoum	Madina	MCA	Université de Médéa	Invitée

Blida 2024/2025

المخلص

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة الحالية هو تحسين الخصائص الفيزيائية والكيميائية والدوائية للكرمين، وهو مكون نشط ذو فضائل علاجية متعددة، من خلال تنفيذ عمليات التكسير والتشتت في نظام يحتوي على مواد مساعدة حيوية تسمح بتوافق حيوي أفضل مع الكائن الحي.

لتحقيق هذه الغاية، تم تحسين عملية استخلاص الكركمين من جذور نبات الكركم لونجا عن طريق إضافة إضافات صالحة للأكل. تم الحصول على مستخلصات الكركمين بواسطة عملية صوكصلي، باستخدام الأسيتون والإيثانول كمذيبات. وأظهرت النتائج المحسوبة أن الأسيتون مع البيبيرين أعطى نتائج أفضل مقارنة بالإيثانول والحلبة. وأشارت بيانات التحليل في المحلول الفيزيولوجي إلى معدل إذابة مرتفع لكلا المضافين، يتراوح من 87.6% إلى 97.9%.

وتمثلت الخطوة الثانية في تطوير تركيبات مبتكرة تعتمد على الكركمين النانوي مصممة لعلاج والوقاية من الإجهاد التأكسدي وارتفاع السكر بدم. تم الحصول على الكركمين النانوي عن طريق عملية التكوير ثم تغليفه في البوليمرات الحيوية المتمثلة في نشأ الذرة ومخاط الحلبة بمعدلات تغليف 75 و 85% على التوالي. تم استخدام النانوكرمين المغلف كمادة فعالة في مستحضرات ستيشيا ريبوديانا بيرتوني. أظهر التشتت الضوئي الديناميكي (DLS) حجم جسيم يبلغ 119.9 نانومتر لصيغة مخاط الحلبة (CURF) و 117 نانومتر لصيغة نشأ الذرة (CURA)، مع مؤشرات تعدد التشتت PDI من 0.509 و 0.495 على التوالي. تم تحسين معدلات إذابة الكركمين النانوي المغلف بشكل ملحوظ، حيث أظهرت تحسناً بنسبة 67% في CURA وتحسناً بنسبة 70% في CURF مقارنة بالكرمين الخام (12.82%). وقد أظهرت كلتا التركيبتين نشاطاً مضاداً للأكسدة ممتازاً. أظهر تقييم النشاط المضاد لمرض السكري داخل الجسم لدى فئران ويستار انخفاضاً كبيراً في مستويات سكر الدم الصائم من 392 إلى 187 مجم / مل.

تم دمج النانوكرمين في تركيبة مستحلب باستخدام طريقة الترسيب. تم تقليل حجم الكركمين الأصلي الذي يبلغ 53 ميكرومترًا إلى 99.6 نانومتر. وقد تم تأكيد هذا الأمر من قبل DLS. تميز المنتج المحضر بالطرق الفيزيائية والكيميائية، حيث تم تحسين قابليته للذوبان. أظهر المستحلب ملمسًا كريميًا ومتجانسًا ولزجًا بلون أصفر، مع درجة حموضة محايدة (5-6) وقدرة ممتازة على الانتشار. وأظهر التحليل الصيدلاني الحيوي إطلاقاً تدريجيًا في وسط الذوبان (درجة الحموضة 5.5). أظهرت عملية الانتشار الخلوي المختبري بواسطة خلايا فرانز أن النانوكرمين يمر بسرعة أكبر إلى مستوى أقصى يبلغ 85% بعد 5 ساعات. بالإضافة إلى ذلك، أظهر مستحلب الكركمين النانوي خصائص مضادة للأكسدة ومضادة للالتهابات ومضادة للميكروبات مثيرة للاهتمام بشكل خاص. تم التحقق من استقرار المستحلب على مدى فترة ثلاثة أشهر عن طريق قياس زيتا وأحجام الجسيمات باستخدام DLS.

الكلمات المفتاحية: نانوكرمين، تكنولوجيا النانو، التوافر البيولوجي، الاستخلاص، المستحلب، البوليمرات الحيوية، التغليف.

ABSTRACT

The main objective of this present study is the improvement of the physicochemical and pharmacological properties of curcumin, an active ingredient with multiple therapeutic virtues, by the implementation of micronization and dispersion processes in a system containing bio excipients which allow better biocompatibility with the organism.

For this purpose, the extraction of curcumin from *Curcuma Longa* rhizome by incorporating edible additives was optimized. Curcumin extracts were obtained by Soxhlet, using acetone and ethanol as solvents. The calculated yields demonstrated that acetone with piperine gave better results compared to ethanol and fenugreek. The release profile data indicated a high dissolution rate for both additives, ranging from 87.6% to 97.9%.

The second step consisted in the development of innovative nanocurcumin formulations designed for the treatment and prevention of oxidative stress and diabetes. Nanocurcumin was obtained by a micronization process and then encapsulated in biopolymers derived from corn starch and fenugreek mucilage with encapsulation rates of 75 and 85%, respectively. The encapsulated nanocurcumin was used as an active ingredient in *Stevia Rebaudiana* Bertonni preparations. Dynamic light scattering (DLS) revealed a particle size of 119.9 nm for the fenugreek mucilage formula (CURF) and 117 nm for the corn starch formula (CURA), with polydispersity indices PDI of 0.509 and 0.495, respectively. The dissolution rates of encapsulated nanocurcumin were significantly improved, showing 67% improvement in CURA and 70% improvement in CURF compared to raw curcumin (12.82%). Both formulations demonstrated excellent antioxidant activity. In-vivo antidiabetic activity evaluation in Wistar rats demonstrated substantial reduction in fasting blood glucose levels from 392 to 187 mg/ml.

Nanocurcumin was incorporated into the formulation of an emulgel using the precipitation method. The native curcumin of 53 μm size, was reduced to 99.6 nm. The latter was confirmed by DLS. The formulated product was characterized by physicochemical methods including the solubility which improved. The emulgel presented a creamy, homogeneous and viscous texture of yellow color, with a neutral pH (5-6) and an excellent spreading capacity. The biopharmaceutical analysis demonstrated a progressive release in the dissolution medium (pH 5.5). The in vitro cellular diffusion by Franz cell showed that nanocurcumin passes more quickly to a maximum rate of 85% after 5 hours. In addition, the emulgel based on nanocurcumin demonstrated particularly interesting antioxidant, anti-inflammatory and antimicrobial characteristics. The stability of the emulgel was validated over a period of three months by measuring zeta potentials and particle sizes using DLS.

Keywords: nanocurcumin, nanotechnology, bioavailability, extraction, emulgel, biopolymers, encapsulation.

RESUME

L'objectif principal de cette présente étude est l'amélioration des propriétés physico-chimiques et pharmacologiques de la curcumine, un principe actif à vertus thérapeutiques multiples, et ce par la mise en œuvre de procédé de micronisation et de dispersion dans un système contenant des bio excipients qui permettent une meilleure biocompatibilité avec l'organisme.

A cet effet, l'extraction de la curcumine à partir de rhizome *Curcuma Longa* en incorporant des additifs comestibles a été optimisée. Les extraits de curcumine ont été obtenus par Soxhlet, en utilisant l'acétone et l'éthanol comme solvants. Les rendements calculés ont démontré que l'acétone avec la pipérine ont donné de meilleurs résultats par rapport à l'éthanol et le fenugrec. Les données des profils de libération ont indiqué un taux de dissolution élevé pour les deux additifs, oscillant entre 87,6% et 97,9%.

La deuxième étape a consisté au développement de formulations innovantes à base de nano curcumine conçues pour le traitement et la prévention du stress oxydatif et du diabète. La nano curcumine a été obtenue par un processus de micronisation puis encapsulée dans des biopolymères dérivés de l'amidon de maïs et du mucilage de fenugrec avec des taux d'encapsulation de 75 et 85 %, respectivement. La nano curcumine encapsulée a été utilisée comme principe actif dans des préparations à base de *Stevia Rebaudiana Bertoni*. La diffusion dynamique de la lumière (DLS) a révélé une taille de particules de 119,9 nm pour la formule à base de mucilage de fenugrec (CURF) et de 117 nm pour la formule à base d'amidon de maïs (CURA), avec des indices de polydispersité PDI de 0,509 et 0,495, respectivement. Les taux de dissolution de la nano curcumine encapsulée ont été considérablement améliorés, montrant une amélioration de 67 % du CURA et de 70 % du CURF par rapport à la curcumine brute (12,82 %). Les deux formulations ont démontré une excellente activité antioxydante. L'évaluation de l'activité antidiabétique in-vivo sur des rats Wistar a mis en évidence une réduction substantielle des taux de glycémie à jeun de 392 à 187 mg/ml a été observée.

La nano curcumine a été incorporée dans la formulation d'un émulgel en utilisant le procédé de précipitation. La curcumine native de taille 53 μm , a été réduite à 99,6 nm. Cette dernière a été confirmée par DLS. Le produit formulé a été caractérisé par des méthodes physico-chimiques dont la solubilité qui s'est améliorée. L'émulgel a présenté une texture crémeuse, homogène et visqueuse de couleur jaune, avec un pH neutre (5-6) et une excellente capacité d'étalement. L'analyse biopharmaceutique a démontré une libération progressive dans le milieu de dissolution (pH 5,5). La diffusion cellulaire in vitro par cellule de Franz a montré que la nano curcumine passe plus rapidement à un taux maximal de 85 % après 5 heures. En outre, l'émulgel à base de nano curcumine a prouvé des caractéristiques antioxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes particulièrement intéressantes. La stabilité de l'émulgel a été validée sur une durée de trois mois par mesures des potentiels zêta et des tailles de particules en utilisant la DLS.

Mots clés : nanocurcumine, nanotechnologie, biodisponibilité, extraction, émulgel, biopolymères, encapsulation.

REMERCIEMENTS

Je tiens avant tout à exprimer notre profonde gratitude à Dieu, le Tout-Puissant de m'avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme ma formation Doctorale et pouvoir réaliser ce travail.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent à ma directrice de thèse Pr. HADJ-ZIANE Amel, Chef de La Spécialité Pharmacie Industrielle et Directrice du Laboratoire de Recherche « Génie chimique », qui a accepté de diriger ce travail, pour la confiance qu'elle m'a accordé en toutes circonstances, pour sa gentillesse, sa disponibilité, ses précieux conseils pendant toute la durée de notre travail, son soutien dans les moments difficiles et ses encouragements afin de bien mener ce travail de recherche. Permettez-moi de vous exprimer l'expression de ma profonde gratitude.

Mes vifs remerciements s'adressent également à Pr. LEFNAOUI Sonia, enseignante à l'Université Yahia Farès de Médéa, ma co-directrice de thèse, pour sa gentillesse, sa collaboration, ses précieux conseils et pour le temps qu'elle m'a accordé à tout moment et tout particulièrement pendant la rédaction de l'article.

Je tiens à remercier Mme YAHOUM Madina, Maître de Conférences A, Enseignante à l'université Yahia Farès de Médéa, pour son appui scientifique, ses orientations, son aide, sa collaboration et son savoir-faire ont été pour moi d'un grand appui pour la réalisation de ce travail de recherche.

Mes remerciements les plus distingués s'adressent aux membres de jury, Pr HADJ SADOK Professeur à l'USDB1 et Directeur du Laboratoire d'Analyse Fonctionnelle et Procédés chimiques pour l'honneur qu'il fera au Jury en le présidant, Pr. LAMOUD, enseignante à l'université des Sciences et Technologies Houari Boumediene, Alger, et Dr. CHENOUF, Maître de Conférences A, pour l'intérêt qu'ils ont accordé en acceptant d'examiner ce modeste travail de recherche, votre participation au jury est un honneur pour moi.

Je tiens à adresser mes reconnaissances également aux enseignants du département de Génie des procédés, le staff administratif et en leur tête Mme Cheffe de département Dr. CHENNOUF et sans oublier le staff technique en particulier les ingénieurs des laboratoires

Sans oublier ma sincère reconnaissance à Mme TAOUALIT, Vice Doyenne chargée de la PGRS/Relex pour sa patience, ses précieux conseils à tout moment et pour m'avoir facilité la procédure durant toute la formation Doctorale.

Je remercie vivement Dr. NABI Ikram, ingénieur au Laboratoire de pharmacologie, Faculté de Médecine, pour sa gentillesse, son aide et sa collaboration dans la réalisation de la partie in-vivo et Dr REBIHA Mounia, enseignante à la Faculté de Technologie pour son aide dans la réalisation et l'interprétation des analyses rhéologiques.

Mes remerciements les plus chaleureux s'adressent à ma famille qui m'a soutenue tout au long de ma vie, mon très cher papa KAMEL, ma très chère maman CHELLALI FATIMA ZAHRA, ma sœur GACEM MAROUA, mes frères ABDERRAHIM et ABDELKADER. En leur exprimant mon amour, mon respect et mes vives gratitude. Que Dieu les protège.

Je remercie également ma petite famille, particulièrement mon mari ABDESSALAM pour son amour, son soutien et ses encouragements tout au long de mes études.

Finalement, mes vifs remerciements à tous ce qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

TABLE DES MATIERES

RESUME

REMERCIEMENTS

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION GENERALE

1.	REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	4
1.1.	Introduction	4
1.2.	Histoire de curcuma et curcumine	4
1.3.	Taxonomie et description botanique	5
1.4.	Utilisations du curcuma.....	6
1.5.	Composition chimique du curcuma.....	7
1.6.	Extraction et purification de la curcumine	9
1.6.1	Les méthodes d'extraction	9
1.6.2	Les techniques de purification.....	10
1.7.	Propriétés pharmacologiques de la curcumine	11
1.7.1	L'activité anti-inflammatoire	11
1.7.2	L'activité antioxydante.....	12
1.7.3	L'activité antibactérienne	12
1.7.4	L'activité anti-tumorale.....	13
1.7.5	L'activité antidiabétique.....	13
1.7.6	L'activité antivirale	13
1.7.8	Curcumine et système immunitaire.....	14
1.8.	La pharmacocinétique de la curcumine.....	14
1.8.1	Les raisons de la faible biodisponibilité de la curcumine	14
1.8.2	Les voies de dégradation de la curcumine	15
1.9.	L'amélioration de la biodisponibilité de la curcumine.....	16
1.10.	La toxicité de la curcumine	17
1.11.	Conclusion.....	17
1.12.	Etat de l'art.....	18

1.13.	Conclusion.....	26
2.	MATERIEL ET METHODES	28
2.1.	Introduction	28
2.2.	Matériels et équipements utilisés	28
2.3.	Matières premières utilisés.....	29
2.4.	Traitement statistique des données.....	35
2.4.1	Optimisation.....	35
2.4.2	Analyse des effets des facteurs.....	35
2.4.3	Niveau d'influence de l'effet.....	35
2.5.	Protocoles expérimentaux	35
3.	RESULTATS ET DISCUSSION.....	55
3.1.	Introduction	55
3.2.	Optimisation de l'extraction de la curcumine et effet des additifs sur l'amélioration de la solubilité.....	55
3.2.1.	Calcul du rendement.....	55
3.2.2.	Plan d'expérience	56
3.2.3.	Identification des groupements fonctionnels par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier	60
3.2.4.	Etude de la cinétique de dissolution in-vitro	62
3.3.	Etude de l'effet de la formulation sur le diabète	62
3.3.1	Caractérisations physico-chimiques des formulations à base de curcumine micronisée	62
3.3.2.	Evaluation des activités biologiques des formulations.....	71
3.4.	Formulation d'un émulgel à base de nanocurcumine, eau thermale et huile d'amande	78
3.4.1	Caractérisation physico-chimique de différentes formulations.....	78
3.4.2	Evaluation des activités biologiques des formulations.....	86
3.5.	Conclusion.....	90

CONCLUSION GENERALE

REFERENCES

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1	Plante du <i>curcuma longa</i> .	5
Figure 1.2	Le pourcentage de la curcumine contenant dans les curcuminoïdes.	8
Figure 1.3	(A). Structures chimiques des curcuminoïdes, (B). tautomères céto-énol de la curcumine, et (C). Sites de réactivité chimique de la curcumine qui contribuent à son activité et à sa biodisponibilité.	9
Figure 1.4	Les méthodes d'extraction de la curcumine à partir du curcuma.	10
Figure 1.5	Les techniques de purification de la curcumine.	11
Figure 1.6	Le passage de la curcumine par la barrière gastro-intestinal.	15
Figure 1.7	Dégradation de la curcumine et produits du métabolisme.	16
Figure 1.8	Nombre de publications se rapportant à la nanotechnologie d'encapsulation de la curcumine par année selon la base de données en ligne PubMed®.	19
Figure 1.9	De nouveaux systèmes d'administration de médicaments nanométriques pour les produits naturels.	26
Figure 2.1	Le poivre noir et la structure chimique de la pipérine.	31
Figure 2.2	Les grains de fenugrec.	31
Figure 2.3	La poudre de l'amidon de maïs et sa structure chimique.	32
Figure 2.4	La poudre de stévia et sa structure chimique.	32
Figure 2.5	L'huile d'amande douce et sa structure chimique.	33
Figure 2.6	Les étapes de développement des formulations à base de nanocurcumine (CURF et CURA).	40
Figure 2.7	La photo des rats wistar.	45
Figure 2.8	La voie d'administration de la streptozotocine.	45
Figure 2.9	Le gavage d'un rat.	46
Figure 2.10	La dissection d'un rat.	47

Figure 2.11	Les étapes de formulation de l'émulgel à base de nanocurcumine.	49
Figure 2.12	La cellule de franz.	52
Figure 3.1	La matrice expérimentale.	57
Figure 3.2	Représentation des coefficients de corrélation, prédiction, validité du modèle et de la reproductibilité.	57
Figure 3.3	La représentation graphique des résidus.	58
Figure 3.4	Spectres infrarouges des extraits de curcuma, pipérine et fenugrec.	61
Figure 3.5	Les profils de libérations des extrais.	62
Figure 3.6	Histogramme représentant la variation de la taille des particules et du potentiel zêta des formulations de nanocurcumines.	63
Figure 3.7	Spectre FTIR du mucilage de fenugrec.	64
Figure 3.8	Histogramme illustrant la variation de la taille des particules et du potentiel zêta des formulations CURA et CURF.	66
Figure 3.9	Evolution de la viscosité des formulations CURF et CURA en fonction du taux de cisaillement.	68
Figure 3.10	Profils de viscoélasticité des formulations CURA et CURF.	69
Figure 3.11	Profils de dissolution de la curcumine brute et les formulations.	71
Figure 3.12	Le pourcentage d'inhibition de différentes formulations.	72
Figure 3.13	Le pourcentage d'hémolyse de différentes formulations.	73
Figure 3.14	Glycémie à jeun des lots traités.	75
Figure 3.15	Courbes d'évolution du poids des rats.	75
Figure 3.16	Photographies représentant des échantillons de foie provenant de différents lots.	76
Figure 3.17	Microscopie histologique du pancréas.	77
Figure 3.18	Histogramme montrant comment le potentiel zêta et la taille des particules des différentes formulations d'émulgel varient.	79
Figure 3.19	Le produit final de l'émulgel.	79
Figure 3.20	Examen microscopique des formulations ENCD et ENCM à un grossissement x100.	80

Figure 3.21	La coloration des émulsifiants par le bleu de méthylène.	80
Figure 3.22	ENCD et ENCM avant et après la centrifugation.	81
Figure 3.23	Evolution de la viscosité des formulations ENCM et ENCD en fonction du cisaillement.	83
Figure 3.24	Profils de viscoélasticité des formulations ENCM et ENCD.	84
Figure 3.25	Profils de diffusion des émulgels de curcumine brute et des formulations ENCM, ENCD.	86
Figure 3.26	Changement de couleur après incubation avec une série de dilutions.	86
Figure 3.27	Pourcentage d'inhibition de différentes formulations.	87
Figure 3.28	Pourcentage d'inhibition de l'inflammation de différentes formulations.	88
Figure 3.29	Les zones d'inhibition de différentes bactéries.	89
Figure 3.30	Les zones d'inhibition du champignon.	89

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1	Les appareils utilisés pour les formulations et les caractérisations.	29
Tableau 2.2	Les propriétés physico-chimiques de la curcumine.	30
Tableau 2.3	La composition physico-chimique et concentration des espèces chimiques majeures.	33
Tableau 2.4	La liste des produits utilisés.	34
Tableau 2.5	La matrice expérimentale des différentes combinaisons de type de solvant, la nature d'additif et la masse d'additif.	37
Tableau 2.6	Répartition des lots de l'étude expérimentale sur les rats Wistar.	44
Tableau 3.1	Les rendements calculés de l'extraction.	56
Tableau 3.2	La représentation numérique des résidus.	58
Tableau 3.3	Les résultats de l'analyse ANOVA.	60
Tableau 3.4	Les groupements fonctionnels caractéristiques des extraits.	61
Tableau 3.5	Les valeurs de stabilité de l'ENCM sur trois mois.	81
Tableau 3.6	Les valeurs de stabilité de l'ENCD sur les trois mois.	82
Tableau 3.7	Le diamètre des zones d'inhibition de différentes souches.	89

LISTE DES ABREVIATIONS

- BMC** : bisdéméthoxycurcumine.
- CUR** : Curcumine.
- CURA** : formulation à base d'amidon de maïs.
- CURF** : formulation à base du mucilage de fenugrec.
- DLS** : Diffusion dynamique de la lumière.
- DMC** : déméthoxycurcumine.
- DPPH** : 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazyl.
- DMSO** : Diméthylsulfoxyde.
- ECD** : Emulgel à base de curcumine brute et d'eau distillé.
- ECM** : Emulgel à base de curcumine brute et d'eau minérale.
- ENCD** : Emulgel à base de nanocurcumine et d'eau distillé.
- ENCM** : Emulgel à base de nanocurcumine et d'eau minérale.
- FDA**: Food and Drug Administration.
- FTIR** : La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier.
- GSH** : Le glutathion.
- KBr** : Bromure de potassium.
- KH₂PO₄** : Phosphate de potassium monobasique.
- NaOH** : Hydroxyde de sodium.
- Pub Med**: Public Access to Medline.
- PA** : Principe actif.
- PDI** : L'indice de polydispersité.
- PDX1** : protéine (facteur promoteur de l'insuline 1).
- STZ** : La streptozotocine.
- SLN** : Les nanoparticules lipidiques solides.
- SOD** : Superoxyde dismutase (enzyme).
- UV-Vis** : La spectroscopie Ultraviolet-Visible.
- AA%** : Le pourcentage d'activité antioxydante.

Abs : Absorbance.

PA : Principe actif.

NP : nanoparticules polymères.

IC50 : Concentration d'inhibition à 50%.

ZI : zone d'inhibition.

INTRODUCTION GENERALE

Les nouvelles recherches ne cessent de prouver que la santé est étroitement liée à l'alimentation et nombreux sont les maladies qui déclenchent suite à la consommation de produits synthétiques dont certains sont même cancérigènes. Il est donc essentiel de puiser dans la nature afin d'améliorer la qualité nutritionnelle des aliments par incorporation de nutriments reconnus pour leurs vertus préventives et/ou curatives [1]. Parmi une diversité d'ingrédients naturels ; la curcumine, une phytomolécule prometteuse dans le domaine pharmaceutique en raison de son profil de sécurité supérieur et de son accessibilité financière pour tous les segments de la population [2]. La curcumine (CUR) est un composé polyphénolique puissant. C'est une substance hydrophobe à faible poids moléculaire et le principal agent actif de la plante curcuma (*Curcuma longa L*) est directement isolée de son rhizome [3]. Les recherches existantes fournissent des preuves à l'appui des effets bénéfiques de la curcumine sur diverses maladies humaines, entre autres les inflammations, l'arthrite, le diabète et d'autres maladies [4], [5]. Malheureusement, la curcumine très consommée en épice dans nos plats est dans la plupart des cas sans effets non absorbé par l'organisme des limites en raison de divers inconvénients, tels que son insolubilité dans l'eau, son instabilité physicochimique, une pharmacocinétique peu favorable et une biodisponibilité très réduite [6]. Plusieurs chercheurs ont proposé des solutions par développement de nombreuses méthodes afin d'améliorer la solubilité et la biodisponibilité de la curcumine, à savoir les émulsions [7], les microémulsions [8], les systèmes auto-émulsifiants [9], les liposomes [10] et les supports colloïdaux nanoparticulaires [11]. La réduction des tailles des nutraceutiques à l'échelle nanométrique pour une administration in vivo a montré des résultats très prometteurs et semble être une approche avantageuse à cet égard [1] . L'incorporation de curcumine dans des nanotransporteurs par diverses méthodes est un choix approprié et réussi pour stimuler son activité biologique, augmentant ainsi sa biodisponibilité, sa circulation à long terme et sa rétention dans le corps, et surmontant les barrières physiologiques [12, 13]. Les nanotransporteurs à base de biopolymères sont considérés comme les plus favorables à l'administration orale de curcumine car ils sont biocompatibles et biodégradables.

Au cours de cette dernière décennie, on assiste à un intérêt croissant dans notre pays aux compléments alimentaires qui sont mis en avant à travers les médias. Les marques à base de

curcumine sont rares sur le marché Algérien en comparaison aux produits dans les pays Européens et autres

C'est dans ce contexte précis que s'inscrit notre problématique qui consiste à développer des formulations contenant de la curcumine micronisée encapsulée d'additifs BIO réputés pour leurs vertus thérapeutiques.

L'objectif principal de cette présente thèse est de concevoir des formes galéniques avec une curcumine rendue soluble et biodisponible en incorporant des excipients naturels afin de bénéficier de la dose exacte de principe actif au lieu de la consommer en épice qui dans la plupart des cas sera non absorbée par l'organisme.

Afin d'atteindre ces objectifs, le travail a été organisé de la manière suivante :

Dans une première étape, et démarrant de la nature, la curcumine a été extraite de son rhizome en incorporant des additifs comestibles (pipérine / fenugrec) et étudier les effets de ces combinaisons sur l'amélioration de la solubilité aqueuse. L'objectif de cette étude est l'optimisation de l'extraction moyennant les plans d'expérience et aussi prouver que l'épice consommée dans notre quotidien comme épice est réellement non disponible.

Dans un autre volet, il s'agit de réduire la taille de la curcumine en lui conférant une solubilité élevée en vue du développement de deux formes galéniques ; l'une une formulation pour administration orale avec des excipients BIO tels que le mucilage de fenugrec, l'amidon édulcorée à la *stévia*, Ce dernier vise entre autres à démontrer l'impact positif de son interaction avec la nanocurcumine dans la réduction de la glycémie chez les sujets diabétiques.

L'émulgel administré par voie transdermique constitue la deuxième formulation à base de nanocurcumine, l'opportunité de cette formulation réside aussi dans les ingrédients incorporés ; l'eau thermale comme phase aqueuse permettant de combiner les vertus thérapeutiques des eaux minérales avec la curcumine afin de maximiser les effets de chaque additif non seulement sur l'organisme mais aussi sur les qualités physico-chimiques, organoleptiques et la stabilité microbiologique durant la période de stockage.

Ce manuscrit a été structuré en trois sections ; la première consiste en une revue bibliographique où la curcumine est décrite en détail : ses caractéristiques physico-chimiques et pharmacologiques, ainsi qu'une synthèse des recherches récentes réalisées dans ce contexte avec la même problématique.

La seconde partie décrit tous les protocoles expérimentaux réalisées en pratique avec description des diverses techniques de caractérisation mises en œuvre. La discussion des résultats fera à chaque fois référence aux travaux antérieurs en comparaison à ceux trouvés dans cette présente étude.

Pour finir, cette thèse sera clôturée par une conclusion générale ou l'accent sera mis sur les résultats clés qui répondent aux objectifs visés dès le départ avec des suggestions, orientations et recommandation pour la continuité de ce travail afin de présenter au consommateur Algérien qui devient de plus en plus exigeant pour sa santé non seulement un produit naturel mais aussi accessible à toutes les catégories de population du point de vue qualité/prix.

CHAPITRE 1 : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1.Introduction

Les plantes médicinales sont importantes pour la recherche pharmacologique et l'élaboration des médicaments, non seulement lorsque les constituants des plantes sont utilisés directement comme agents thérapeutiques, mais aussi comme matières premières pour la synthèse de médicaments ou comme modèles pour les composés pharmacologiques actifs [14].

Le curcuma est une plante vivace appartenant à la famille des *Zingiberaceae*. Le rhizome est la partie utilisée de la plante en tant qu'épice alimentaire, conservateur, et comme colorant des aliments. Cependant, on l'utilise aussi depuis des siècles en médecine traditionnelle indienne et chinoise [15]. La couleur jaune caractéristique de la poudre de rhizome est donnée par les curcuminoïdes. Parmi ceux-ci, la curcumine est la molécule la plus abondante et la plus étudiée [14].

La curcumine est un polyphénol hydrophobe, qui a été objet de nombreuses études au cours des dernières décennies pour l'identification et caractérisation de ses propriétés pharmacocinétiques, pharmacodynamiques et les propriétés pharmacologiques cliniques. En raison de la nature polyphénolique, la curcumine module plusieurs voies thérapeutiques, telles que l'anti-inflammatoire, antioxydant, anti-cancérigène, anti-tumeur, antibactériennes et neuro-protectrices [16].

1.2. Histoire de curcuma et curcumine

Le curcuma est une épice qui fait l'objet d'échanges commerciaux depuis tellement longtemps qu'on ne peut déterminer avec certitude son origine. On pense cependant qu'il vient du Sud ou du Sud-est de l'Asie, peut-être plus spécifiquement de l'Inde, d'où il se serait répandu dans toute l'Asie, de même qu'au Proche et au Moyen-Orient, il y a des milliers d'années. Son emploi, en Asie, en Afrique et au Proche et Moyen-Orient, remonte à plus de 4000 ans [17].

La découverte de la curcumine présente dans le curcuma parmi les autres curcuminoïdes, remonte au milieu du siècle des lumières quand Vogel et Pelletier publient en 1815 dans le Journal de Pharmacie et Sciences Accessoires l'isolement de la « matière colorante

jaune » des rhizomes de *Curcuma* dans leur essai intitulé « Examen chimique de la racine de *Curcuma* ». A la suite de quoi ils ont nommé cette matière curcumine [14].

1.3. Taxonomie et description botanique

Curcuma longa L. appartient au règne végétal, angiosperme, monocotylédone, division *Magnoliophyta*, classe des *Liliopsidaeae*, ordre des *Zingiberales*, famille des *Zingiberaceae*, genre *Curcuma*. [18]



Figure 1.1. Plante du curcuma longa.

Curcuma longa L. est une plante persistante qui peut mesurer de 60 à 100 cm de hauteur, pourvue d'une tige courte et de longues feuilles engainantes. Les feuilles sont très longues, avec des lames elliptiques disposées en touffes, pouvant mesurer jusqu'à 1 m ou plus et dont le pétiole, effilé à la base, peut être aussi long que la lame [19].

Les fleurs sont généralement jaunes et assemblées en épi. Elles mesurent entre 10 à 15 cm de long et leur pédoncule mesure 15 cm mais il est généralement caché par les gaines des pétioles. Quand il fleurit, les bractées vert clair deviennent violettes [19].

Le rhizome se compose de plusieurs parties. Le rhizome commercialisé est le rhizome primaire, il est ovale, oblong, piriforme et communément appelé « ampoule » ou curcuma « rond ». Les rhizomes secondaires sont plus cylindriques, mesurent 4 à 7 cm de long pour 1 à 1,5 cm de

large et sont appelés « doigts ». Ils sont de couleur jaunâtre à brun-jaunâtre à l'extérieur et jaune ou jaune orange à l'intérieur. Leur odeur est aromatique, leur goût chaud et légèrement amer [19].

1.4.Utilisations du curcuma

De nombreuses études ont exploré les applications de la curcumine dans la cuisine, la médecine, la beauté et les produits de santé.

- Curcuma en cuisine

Le curcuma est l'une des épices les plus importantes de la boîte à épices que l'on peut trouver dans presque toutes les cuisines. Il est consommé quotidiennement sous le nom de E100 [20].

Certaines études ont montré que les bienfaits du curcuma pour la santé sont plus efficaces lorsqu'ils sont combinés avec une graisse comme l'huile d'olive, l'huile de coco ou le lait, Cette méthode fait partie de la lipodation (solubilisation), de l'activation et de la stabilisation des principes actifs du curcuma. Il est utilisé comme aliment et peut offrir certains avantages pour la santé aux premiers stades des maladies chroniques [21].

De plus, la curcumine est également proposée comme indicateur sensible au pH ou un capteur pour surveiller et donner des informations sur la qualité des aliments aux fabricants, détaillants ou consommateurs car la curcumine est très sensible vers des actions acido-basiques. Au cours du processus de détérioration des aliments, la couleur change du capteur peut être surveillé directement avec une inspection visuelle, ainsi que la couleur peut être mesuré quantitativement après la mise en conserve avec analyse de la couleur via Logiciel [22].

- Curcuma en cosmétique

Les formulations à base de curcumine ont attiré l'attention de nombreux chercheurs en raison de leurs propriétés uniques dans le traitement de diverses maladies de la peau comme l'eczéma, la dermatite, la pigmentation, l'acné, le psoriasis, lésions, dermatite de contact irritante, applications de cicatrisation, et les objectifs cosmétiques [20].

La curcumine a montré un potentiel pour une grande variété de soins de beauté pour la peau, le visage, les cheveux, les lèvres et les ongles aux actions bienfaites contre les ultraviolets, le vieillissement et l'inflammation. Elle peut être utilisée pour la protection de la peau pour des

propriétés telles que l'antivieillessement, les antirides, la crème solaire et la rétention d'humidité [22].

- Curcuma en industrie

L'huile essentielle est celle qui fournit le rhizome de *C. longa* une saveur épicée et aromatique particulière, De nos jours, il y a une demande croissante d'huiles essentielles dans la parfumerie, la cosmétique, l'agriculture, la pharmacie, l'alimentation et les boissons, ainsi que dans de nombreuses autres industries. Les curcuminoïdes favorisent leur utilisation potentielle comme conservateurs naturels pour empêcher la détérioration des cultures et des aliments et prolonger leur durée de conservation [23].

Depuis des siècles, les membres du genre *Curcuma* L. sont employés en médecine traditionnelle pour traiter divers problèmes gastro-intestinaux, la douleur, les maladies inflammatoires, les blessures, et aussi pour prévenir le cancer [3].

1.5.Composition chimique du curcuma

Le curcuma contient plus de 235 ingrédients actifs naturellement contenus dans sa racine [21]. Il se compose d'environ 70% de glucides, 13% d'humidité, 6% de protéines, 6% d'huiles essentielles (phellandrène, sabinène, cinéol, bornéol, zingiberène et sesquiterpènes), 5% de matières grasses, 3% de minéraux (potassium, calcium, phosphore), 3 à 5 % de curcuminoïdes et des traces de vitamines (B1, B2, C et niacine). Parmi les curcuminoïdes, la CUR représente environ 77%, déméthoxycurcumine (DMC) 17% et bisdéméthoxycurcumine (BMC) 3-6% [3].

L'extraction du rhizome à l'alcool éthylique, à l'acétone ou au chlorure de méthylène donne 6 à 10% d'oléorésine, qui contient 35 à 45% de curcumine et de ses dérivés [24].

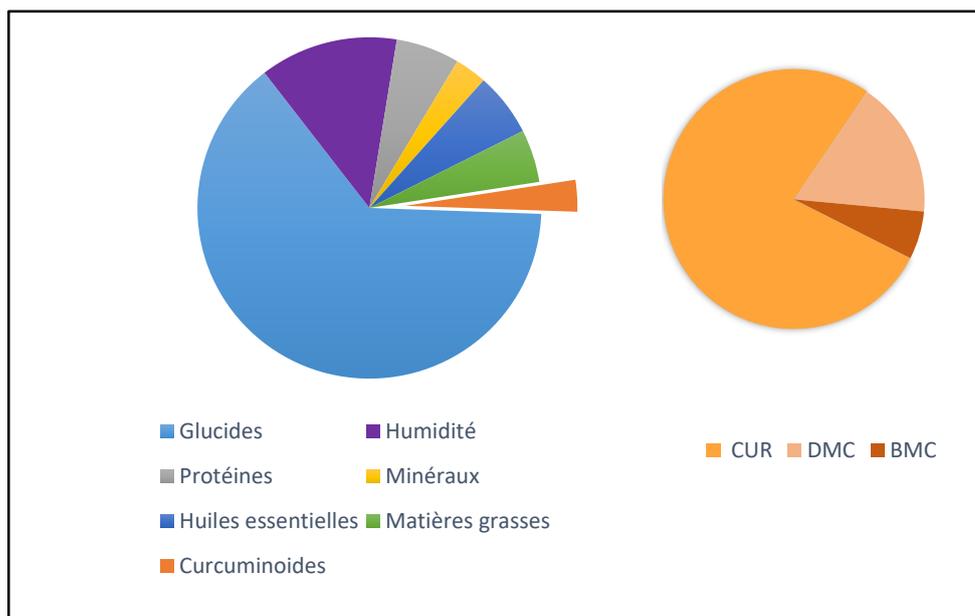


Figure 1.2. Le pourcentage de la curcumine contenant dans les curcuminoïdes.

La curcumine a deux formes tautomères, le céto- et l'énol (**Figure 1.3**). La CUR est pratiquement insoluble à température ambiante dans les solutions aqueuses à pH neutre et acide. Cependant, en raison de sa nature lipophile avec une valeur de log P d'environ 3, il est soluble dans les solvants organiques comme le méthanol, l'éthanol, l'acétone et le diméthyl sulfoxyde. À pH neutre et acide, la forme céto est prédominante, cependant, le tautomère d'énol est exclusivement présent dans des conditions alcalines, ce qui peut être rationalisé par la liaison hydrogène intramoléculaire sous forme d'énol [3].

La solubilité de la CUR en solution aqueuse augmente dans des conditions alcalines, mais elle se dégrade rapidement dans des conditions neutres et alcalines. La CUR présente une absorption maximale à 430 nm dans le méthanol et à 415-420 nm dans l'acétone. Dans des conditions alcalines (pH > 10), la CUR est complètement déprotonée et présente une absorbance maximale à 467 nm. La curcumine a un pKa de 8,54 et possède trois protons labiles à pH neutre dont un est énolique et deux sont des protons phénoliques [25].

La CUR a principalement trois sites réactifs, comme illustré sur **la figure 1.3**, un donneur d'atomes d'hydrogène, un accepteur de Michael et un chélateur de métal. La partie,β-insaturée-dicétone du CUR est un excellent agent de chélation des métaux et forme des complexes avec plusieurs ions métalliques connus. La capacité de chélation des métaux du CUR s'est révélée

très prometteuse en tant qu'agent thérapeutique contre des maladies comme la maladie d'Alzheimer, le cancer, la dépression et l'arthrite [3].

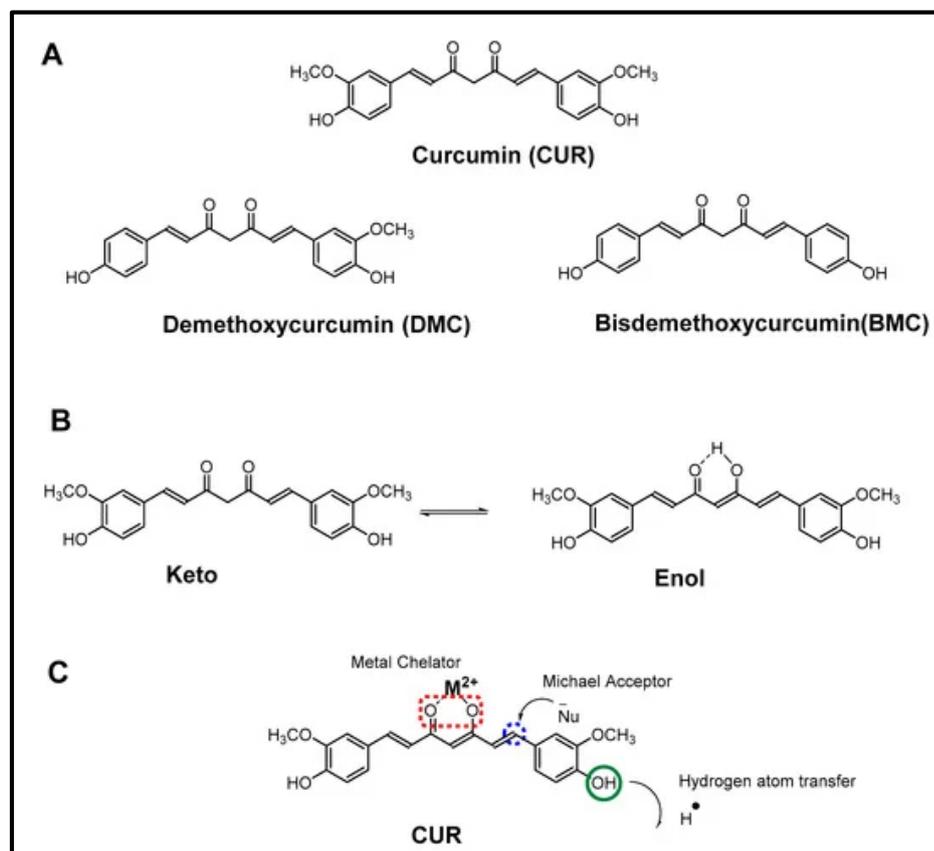


Figure 1.3. (A). Structures chimiques des curcuminoïdes, (B). tautomères céto-énol de la curcumine, et (C). Sites de réactivité chimique de la curcumine qui contribuent à son activité et à sa biodisponibilité [3].

1.6. Extraction et purification de la curcumine

1.6.1 Les méthodes d'extraction

L'obtention de curcumine pure à partir de sources végétales est très importante pour la recherche fondamentale. Des méthodes d'extraction et de purification à haute efficacité qui répondent aux normes de chimie verte sont requises, y compris la sécurité, le respect de l'environnement, les exigences économiques et l'efficacité des processus [26]. Plusieurs solvants organiques polaires et non polaires ont été utilisés dans l'extraction de la curcumine,

notamment l'hexane, l'acétate d'éthyle, l'acétone, le méthanol, etc. Parmi les solvants organiques utilisés, Le solvant pour lequel on obtient le meilleur rendement d'extraction est l'acétone [27].

De nombreuses méthodes d'extraction différentes allant des techniques conventionnelles (ex. extraction au soxhlet, macération et extraction par solvant) ou des technologies d'extraction avancées (ex. extraction assistée par micro-ondes, extraction assistée par enzyme, extraction par liquide supercritique, etc.) ont été exploitées pour obtenir de la curcumine à partir de matières végétales [26].

La figure suivante résume les différentes méthodes utilisées pour l'extraction de CUR.

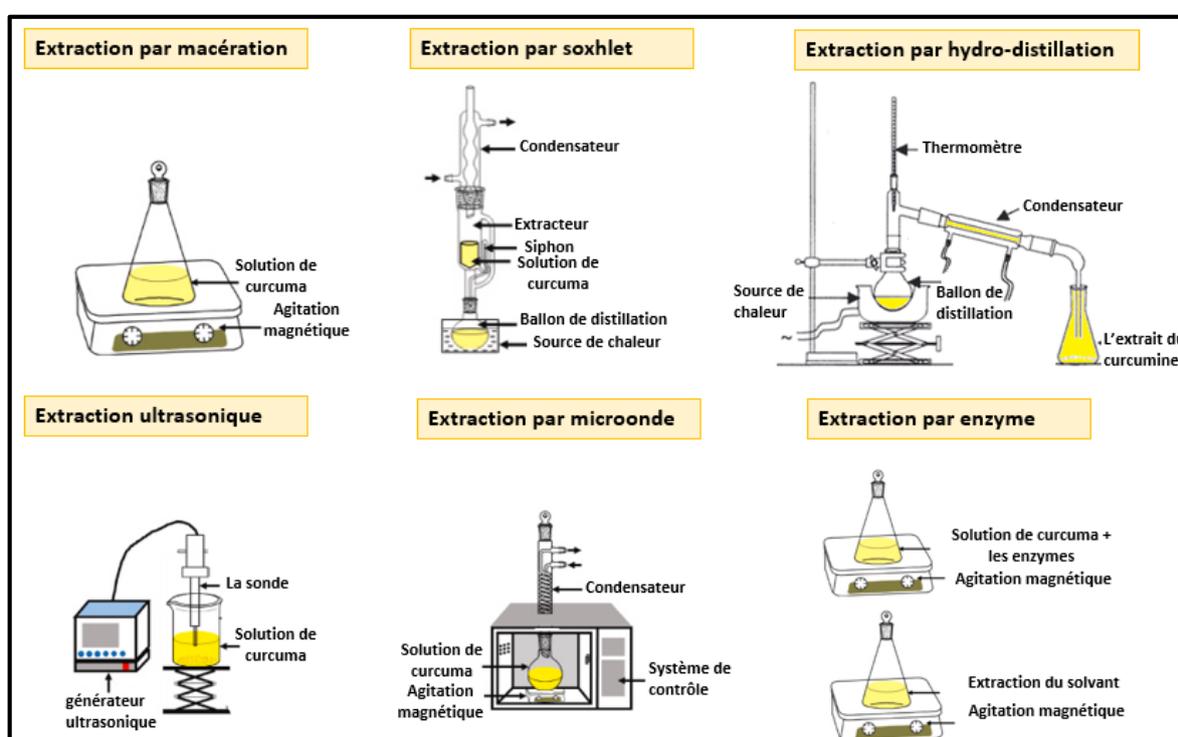


Figure 1.4. Les méthodes d'extraction de la curcumine à partir du curcuma.

1.6.2 Les techniques de purification

D'autre part, les méthodes de séparation et de purification comprennent des techniques de cristallisation à froid et de purification par chromatographie [26].

La cristallisation par refroidissement est la sursaturation et la précipitation cristalline de la solution après refroidissement de l'état solide dissous dans un solvant chaud pour atteindre la saturation. En raison de la différence de degré de solubilité, la substance purifiée est précipitée hors de la solution, tandis que la plupart des impuretés restent dans la solution. Cependant, le

produit purifié est obtenu par filtration, atteignant le but de la cristallisation de refroidissement. Le solvant utilisé pour cristalliser et séparer la curcumine du mélange était l'acétone, l'acétonitrile et l'isopropanol [26].

La chromatographie sur colonne est la méthode la plus courante pour la purification des substances. Son principe est basé sur la différence d'adsorption de substances à une phase particulière, des substances faciles à adsorber avec une polarité élevée mais pas une faible polarité [26].

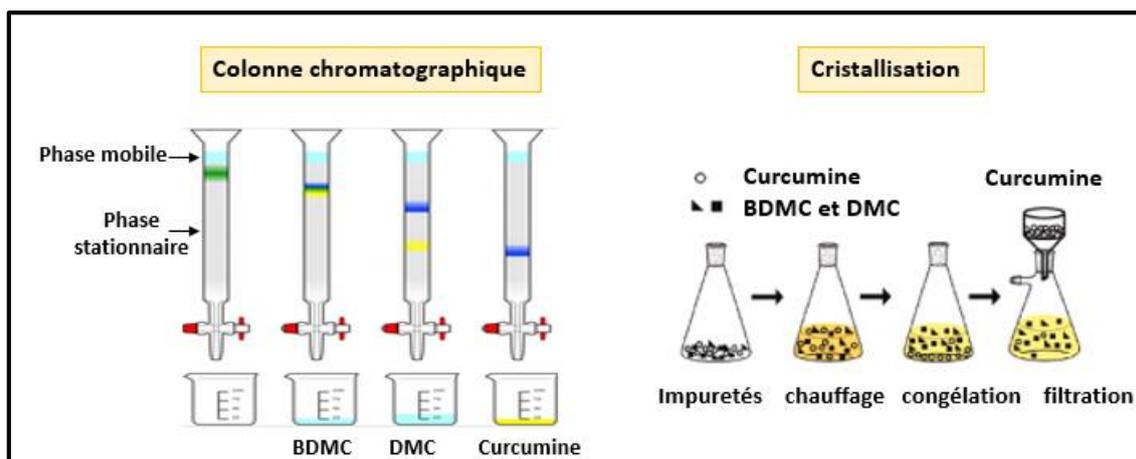


Figure 1.5. Les techniques de purification de la curcumine.

1.7. Propriétés pharmacologiques de la curcumine

Des études approfondies sur les propriétés biologiques et les conséquences pharmacologiques des extraits de curcuma ont été menées ces dernières années. La curcumine possède des propriétés anti-inflammatoires, antioxydantes, anticancérigènes, antidiabétiques, antibactériennes, antivirales, antifibrotiques, immunomodulatrices et antifongiques [17].

1.7.1 L'activité anti-inflammatoire

L'inflammation est une réaction de défense de l'organisme à des agressions qui peuvent être d'origine physique, chimique, biologique ou infectieuse [28]. La curcumine peut réduire l'inflammation en abaissant les niveaux d'histamine et éventuellement en augmentant la production de la cortisone naturelle par les glandes surrénales [29].

La curcumine peut fonctionner à travers divers mécanismes, seuls ou en combinaison. Le mécanisme de la CUR en tant qu'anti-inflammatoire comprend l'inhibition des processus métaboliques de l'acide arachidonique, des voies COX et LOX et diminue la synthèse des prostaglandines. Elle inhibe spécifiquement l'expression de la COX-2. Elle a une activité plus active contre l'enzyme COX-2 par rapport à l'enzyme COX-1 [30]. Elle peut empêcher les réponses anti-inflammatoires dans les fibroblastes synoviaux en inhibant la synthèse des prostaglandines E2 (PGE2) et en supprimant la COX-2 [29]. L'effet anti-inflammatoire de la curcumine est également observé dans l'inhibition de la 5-LOX sur les neutrophiles péritonéaux de rat et l'activité de la cyclooxygénase sur les plaquettes humaines (PYB Setiawan, 2021).

1.7.2 L'activité antioxydante

Les extraits de curcuma présentent une activité antioxydante significative bien connue depuis longtemps. La CUR, DMC et BMC exercent un puissant effet antiradicalaire en piégeant le radical superoxyde produit par la xanthine oxydase [29].

La CUR inhibe la peroxydation des lipides à l'aide de linoléate, un acide gras polyinsaturé capable de s'oxyder et de former des radicaux d'acides gras. Les curcuminoïdes réduisent considérablement l'hémolyse et la peroxydation lipidique des érythrocytes [31]. La CUR favorise l'expression accrue de l'hème oxygénase-1 (HO-1), une enzyme qui catalyse la dégradation de l'hème et produit de la biliverdine, du fer et du monoxyde de carbone et présente une activité cytoprotectrice contre le stress oxydatif [31].

1.7.3 L'activité antibactérienne

Le curcuma longa inhibe le développement de plusieurs micro-organismes. La CUR a une action bactériostatique sur le staphylocoque, Il a été démontré qu'elle réduit la croissance des bactéries parodontales et *Porphyromonas gingivitis* Protéïnase arg- et lys-spécifique [16].

Il réduit les souches bactériennes endodontiques de *Streptococcus mutans*, *Actinomyces viscosus*, *Lactobacillus casei*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* et *Enterococcus fécale*, avec une concentration inhibitrice minimale de 333.33, 167.67, 125, 125 et 208.33 mg.L⁻¹, respectivement [17].

La curcumine a des effets inhibiteurs sur de nombreux pathogènes d'origine alimentaire et des bactéries de détérioration (p. ex., *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Streptococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Bacillus cereus*) [17].

1.7.4 L'activité anti-tumorale

La curcumine est connue depuis longtemps pour son pouvoir à prévenir le cancer de la peau, du sein, des poumons, de la vessie, du côlon, et plus récemment de la prostate. L'ensemble des études expérimentales menées avec la CUR ont permis d'observer qu'elle inhibe le cancer à toutes les étapes de son développement (commencement, promotion et progression)[29].

La curcumine pourrait renforcer l'effet de la radiothérapie, inhiber l'angiogenèse et la prolifération cellulaire en supprimant NF- κ B et ses gènes cibles dans les cellules cancéreuses du côlon, et inhiber la croissance cellulaire [21].

1.7.5 L'activité antidiabétique

Le curcuma a été utilisé pour la gestion du diabète en médecine ayurvédique et traditionnelle chinoise. La curcumine réduit la glycémie et l'hyperlipidémie et soulage le stress dans les tissus métaboliques, entraînant des améliorations du diabète et des complications associées aux maladies dans les modèles de rongeurs et dans les études cliniques [21].

La CUR supprime les activités des enzymes gluconéogènes et augmente le stockage du glycogène dans le foie et réduit la glycémie chez les souris [17]. 6 g de curcuma pris par voie orale augmentaient les niveaux d'insuline postprandiale chez des sujets sains. L'augmentation de la réponse insulínique peut être due à la stimulation de la fonction des cellules par la curcumine [21].

1.7.6 L'activité antivirale

Les études indiquent que la curcumine joue un rôle inhibiteur contre l'infection de nombreux virus. Ces mécanismes impliquent soit une interférence directe de la machinerie de réplication virale, soit la suppression de voies de signalisation cellulaire essentielles à la réplication virale, telles que PI3K/Akt, NF- κ B [32].

La curcumine a fourni une protection importante contre le virus humain intravaginal de type 2 dans le modèle de souris, de plus elle a inhibé le développement de l'antigène p24 dans les cellules VIH-1 infectées de manière aiguë ou chronique [17].

1.7.8 Curcumine et système immunitaire

Les études in vitro rapportent que l'administration de curcuma à des animaux après douze jours de traitement est responsable d'une augmentation du nombre de globules blancs, du titre des anticorps circulants, et d'une augmentation de cellulaire dans la moelle osseuse. Il note aussi une amélioration de l'activité phagocytaire des macrophages [16].

1.8. La pharmacocinétique de la curcumine

Le potentiel thérapeutique de la CUR est principalement contourné par sa faible biodisponibilité et son faible profil pharmacocinétique (ADME ; absorption, distribution, métabolisme et excrétion) et sa courte demi-vie dans le tractus gastro-intestinal [33].

Un autre défi pour le CUR en tant qu'agent thérapeutique potentiel est sa faible stabilité dans des conditions physiologiques. Par exemple, à 37 ° C et à pH neutre (7,2), la $t_{1/2}$ de CUR a été signalée en moins de 10 min [3]. Elle est peu absorbée par le tractus digestif et une grande partie de la dose administrée (environ 40 à 75 %) est excrétée dans les excréments [34].

1.8.1 Les raisons de la faible biodisponibilité de la curcumine

Les trois barrières physiologiques dans le tractus gastro-intestinal sont liées à la faible biodisponibilité orale du CUR. Premièrement, les barrières physiques telles que le mucus supérieur et l'épithélium intestinal peuvent restreindre le transport de la drogue. Les jonctions serrées dans les cellules épithéliales peuvent inhiber l'absorption de molécules [35]. La couche de mucus qui se compose de glycoprotéines mucines chargées négativement et l'eau sont à la surface de l'épithélium et peuvent inhiber la diffusion de curcumine en raison de l'humidité élevée [36]. Deuxièmement, les barrières chimiques telles que l'acide gastrique, la bile et diverses enzymes digestives peuvent provoquer la dégradation du CUR, ce qui peut également influencer son absorption dans le sang. Troisièmement, l'effet de premier passage hépatique peut inhiber l'absorption orale du CUR [37].

Les principales raisons qui contribuent à la faible concentration plasmatique et au bas niveau de CUR dans les tissus après administration par voie orale semblent être une mauvaise absorption, une métabolisation rapide, et une élimination rapide [33].

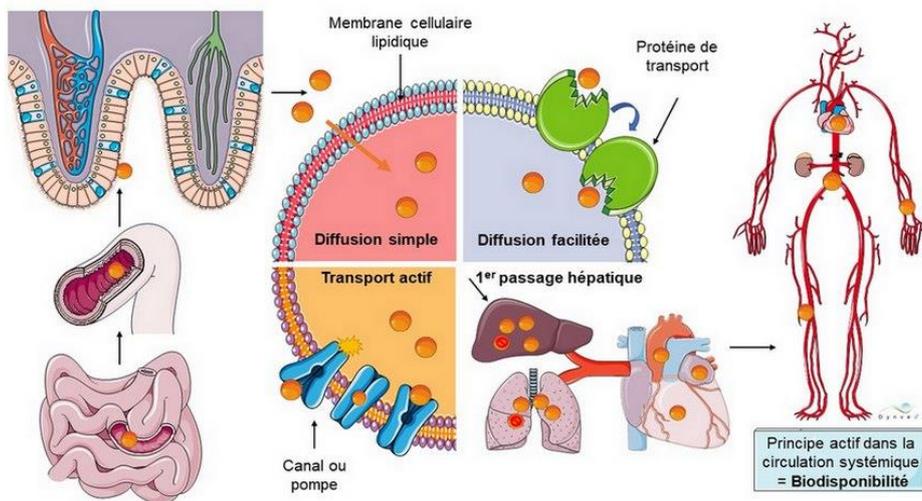


Figure 1.6. Le passage de la curcumine par la barrière gastro-intestinal.

1.8.2 Les voies de dégradation de la curcumine

La dégradation du CUR se produit selon trois voies : la solvolysse, l'oxydation et la photodégradation [3]. La solvolysse implique la substitution ou l'élimination nucléophile par des molécules de solvant. L'attaque nucléophile se produit sur la partie cétone, β -insaturée du CUR (addition de Michael). Dans un tampon alcalin aqueux, la solvolysse de la chaîne heptadiénone entraîne 90% de la dégradation du CUR pour générer de la vanilline, de l'acide férulique, de l'aldéhyde férulique et d'autres produits [33].

Plusieurs rapports suggèrent que le CUR est sensible à la lumière UV-Visible à la fois sous forme solide et en solution; par conséquent, les échantillons de curcumine doivent être protégés de l'exposition au soleil.[21] L'auto-oxydation du CUR se produit via une réaction en chaîne radicalaire qui conduit à l'incorporation d'oxygène pour donner un produit bicyclopentadione [38].

Le métabolisme du CUR se produit principalement par réduction et conjugaison. La réduction du CUR se produit principalement par les doubles liaisons de la chaîne heptadiénone pour former la di-, tétra- et octahydrocurcumine, qui est facilitée par plusieurs enzymes telles que la réductase NADPH-dépendante, l'alcool déshydrogénase et une enzyme microsomale non identifiée [39]. La conjugaison glucuronidation /sulfonation est l'autre voie métabolique

principale de la CUR dans le corps. La conjugaison se produit principalement au niveau de l'oxygène phénolique de la curcumine via des réactions enzymatiques [39].

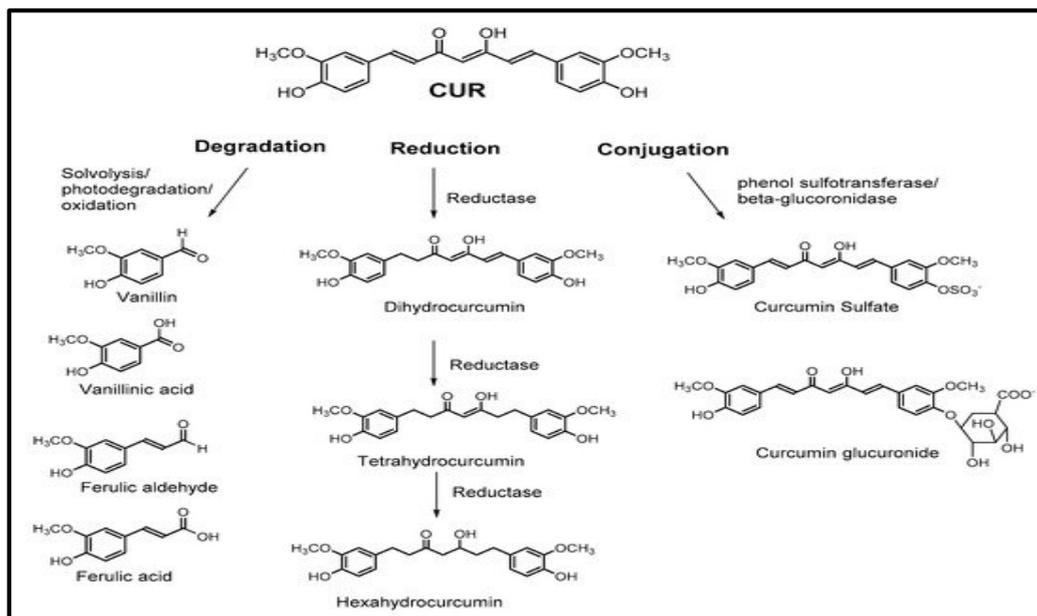


Figure 1.7. Dégradation de la curcumine et produits du métabolisme [3].

La voie majeure d'élimination de curcumine est également biliaire mais elle n'est pas distinguable, par compteur de radioactivité, de ses conjugués. La demi-vie d'élimination dans les cas d'administration chez le rat qui est de $1,7 \pm 0,5$ h. Chez l'Homme, à la même dose que chez le rat, les taux de curcumine absorbée sont si faibles qu'ils n'ont pas produit de données exploitables pour le calcul des caractéristiques d'élimination de la curcumine [33].

La curcumine subit un fort effet de premier passage hépatique pour être métabolisée rapidement en dérivés conjugués ou réduits puis conjugués qui seront éliminés ou excrétés rapidement quels que soient le mode et la voie d'administration.

1.9. L'amélioration de la biodisponibilité de la curcumine

En raison d'une solubilité aqueuse insatisfaisante et une faible biodisponibilité, l'application clinique de la curcumine a été considérablement restreinte [40]. Divers types de modifications chimiques du CUR (qui incluent l'utilisation de liposomes, de nanoparticules, de micelles, de complexes phospholipidiques, de polymères, d'adjuvants) ont été développés [3].

Dans ces systèmes, la curcumine est solubilisée en se retrouvant piégée dans des poches hydrophobes, principalement par le biais d'interactions hydrophobes, d'où une augmentation significative de l'activité pharmacologique due à l'amélioration de la biodisponibilité de la curcumine a été signalée [39]. Les nano-, micro-formulations ont acquis une grande importance en raison des avantages qui leur sont associés, notamment une solubilité accrue, une absorption cellulaire améliorée et une dégradation réduite [3].

1.10. La toxicité de la curcumine

Les études sur la curcumine ont été réalisées en utilisant des modèles animaux et humains, et la FDA a confirmé que la curcumine est un composé généralement considéré comme et sans effet toxique. Certains sujets testés ont rapporté des effets secondaires mineurs, tels que la respiration ou les difficultés respiratoires. Une autre étude chez l'homme n'a révélé que des effets secondaires légers (diarrhée, éruption cutanée, maux de tête et selles jaunes) avec une dose relativement élevée (1 à 12 g par jour) de curcumine pendant des périodes persistantes [41].

Selon l'United States Food and Drug Admission, la curcumine est généralement perçue comme étant sécuritaire. L'Autorité européenne de sécurité des aliments et le Comité d'experts sur les additifs alimentaires des Nations Unies et de l'Organisation mondiale de la santé autorisent une dose quotidienne relativement élevée de curcumine : 0 à 3 mg/kg de poids corporel/jour, soit environ 210 mg par jour pour une personne moyenne. Ce degré est bien plus élevé que celui qui pourrait avoir des conséquences positives dans les recherches sur l'alimentation humaine [42].

1.11. Conclusion

Dans la plupart des cas, les composés phytochimiques et notamment la curcumine ne fonctionnent efficacement que lorsqu'ils sont livrés dans une combinaison mixte. Par conséquent, en appliquant les connaissances nanotechnologiques de formulation, en administration et en ingénierie moléculaire, le champ des applications pharmacologique peut être élargi.

En utilisant la nanotechnologie, il est possible d'augmenter la solubilité et la stabilité de la curcumine, d'améliorer leur absorption, d'améliorer la perméation et la rétention dans les tissus cibles, d'augmenter la biodisponibilité, de les protéger d'une dégradation prématurée dans le corps, de présenter une efficacité d'absorption différentielle élevée dans les cellules cibles, et prolonger leur temps de circulation [43].

Il est crucial de poursuivre les études et le développement dans ces domaines afin de saisir pleinement le potentiel thérapeutique de la curcumine, d'améliorer ses méthodes d'administration et d'assurer son utilisation sécurisée et efficace dans différentes applications biomédicales et pharmaceutiques.

1.12. Etat de l'art

En réalisant des études approfondies dans différentes bases de données en ligne, en utilisant des termes tels que curcumine, administration de curcumine, nanotechnologie, nanoparticules, liposomes, nanoémulsions, nanoparticules polymères, micelles polymères, nanoparticules lipidiques solides, transporteurs lipidiques nanostructurés. Ces données résument les progrès actuels et les nouvelles tendances dans l'administration de médicaments à base de curcumine.

La nanotechnologie est rentrée dans le domaine de l'administration des médicaments. Les performances des systèmes intelligents d'administration de principes actifs sont continuellement améliorées dans le but de maximiser l'activité thérapeutique et de minimiser les effets secondaires indésirables. La nanotechnologie désigne l'ensemble des technologies et des sciences traitant des matériaux qui a pour point commun la taille nanométrique nanomètre [44].

De nombreuses nanoformulations visent à améliorer la biodisponibilité et la solubilité de la curcumine et à protéger la curcumine de l'inactivation par hydrolyse. Certaines formulations sont destinées à la circulation et à la rétention à long terme dans le corps, tandis que d'autres se sont concentrées sur les mécanismes de distribution cellulaire et de libération intracellulaire [15].

La figure 1.8 présente un graphique linéaire qui dénote le nombre en évolution de publications sur l'utilisation des nanotechnologies pour améliorer les caractéristiques de la curcumine entre 2015 et 2024.

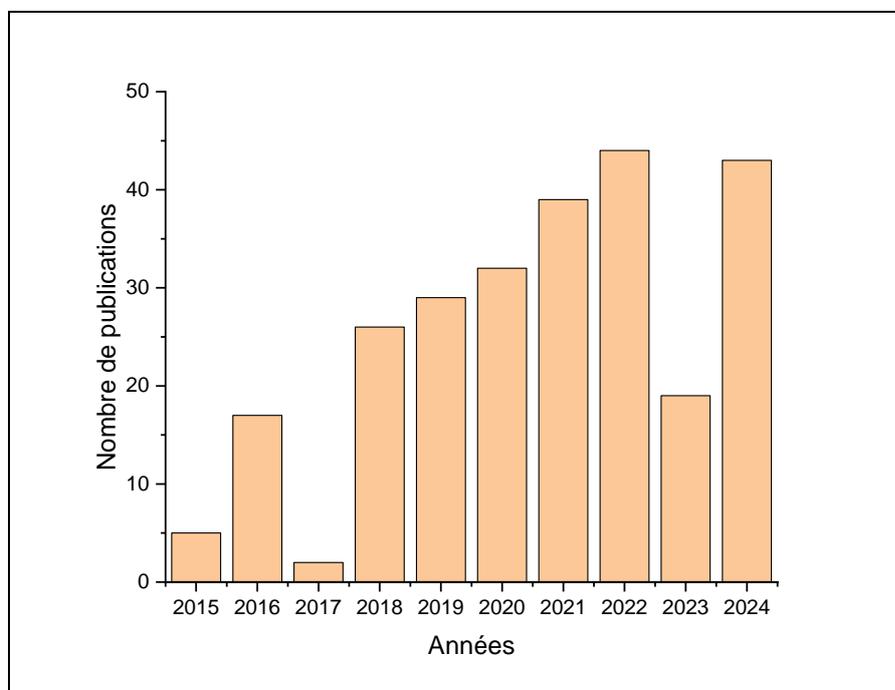


Figure 1.8. Nombre de publications se rapportant à la nanotechnologie d'encapsulation de la curcumine par année selon la base de données en ligne PubMed®.

Les technologies d'encapsulation qui utilisent des particules colloïdales pour améliorer la stabilité chimique et la biodisponibilité de la curcumine dans les systèmes aqueux sont décrites ci-dessous.

- **Nanoparticule polymère**

Les nanoparticules sont des particules d'environ 1 à 100 nm de diamètre possèdent des propriétés physiques, chimiques et biologiques uniques qui peuvent être utile pour l'administration et l'encapsulation de molécules actives. Les nanoparticules sont 1000 fois plus petites que la cellule moyenne du corps humain et se composent de matériaux conçus au niveau

atomique ou moléculaire. Ils peuvent améliorer la pharmacocinétique et la solubilité de médicaments, fournir une livraison ciblée et une libération contrôlée [15].

Les nanoparticules polymères (NP) sont de nature colloïdale avec une taille allant de 10 à 100 nm. Ils sont formulés sous forme de sphères, de structures ramifiées ou de structures noyau-enveloppe utilisant des molécules naturelles de collagène, d'albumine, d'alginate, de gélatine et de chitosane. Il peut également être fabriqué à l'aide de polymères synthétiques mais biodégradables comme les poly lactide-poly glycolides, les poly caprolactones et les poly acrylates [43].

Les NP possèdent certains avantages, notamment une encapsulation, une solubilisation améliorée des molécules actives, une capacité d'administrer différents types de médicaments thérapeutiques, une biocompatibilité, une pharmacocinétique élevée, une légère clairance du corps et une efficacité d'endocytose élevée [45].

L'encapsulation de la curcumine dans des nanoparticules de chitosane dans des matrices d'alginate-carraghénane assure la protection et la stabilité du composé lors de son déplacement dans le tube digestif. Cet effet assure une biodisponibilité accrue de la curcumine et, grâce à la présence d'alginate, également une libération prolongée de la substance lors de son déplacement dans le tube digestif [46].

Les NP de PLGA-polyéthylène glycol (PEG) ont été conçues comme une nouvelle formulation et présentent une demi-vie moyenne de curcumine accrue [45].

Une simple étude de la solubilité dans l'eau des nanoparticules à base de chitosane a prouvé qu'un tel vecteur potentiel augmente la solubilité de la curcumine dans la solution hydrophile. Après avoir été encapsulée dans des nanoparticules de chitosane, la solubilité de la curcumine dans l'eau (0,6 µg/mL) a été augmentée jusqu'à 180 µg/mL. Dans ces conditions, la curcumine était bien dispersée et formait une solution homogène [46].

- **Les liposomes**

Les liposomes sont à ce jour un système de transport de médicaments puissant et préféré par les chercheurs. Le diamètre du liposome varie entre 25 nm à 25 µm selon la formulation et la méthode de fabrication utilisées [15]. Les liposomes ont des régions polaires, non polaires et amphiphiles à l'intérieur de la même particule colloïdale, ce qui peut être utile pour encapsuler

un ou plusieurs agents bioactifs avec des polarités différentes dans un seul système d'administration [41].

De nombreuses études ont montré que les liposomes solubilisent la curcumine dans la bicouche phospholipidique et permettent à la curcumine d'être distribuée dans un milieu aqueux et augmentent l'effet de la curcumine, ils ont montré que la curcumine liposomale était le véhicule le plus approprié pour traiter diverses maladies cancéreuses [15].

Les administrations orales de curcumine encapsulée dans des liposomes chez le rat représentent une biodisponibilité élevée, une absorption plus rapide et meilleure par rapport à la curcumine native. Bien que les liposomes aient une grande biocompatibilité, ils souffrent de certains inconvénients tels que la fuite de curcumine et l'instabilité pendant le stockage, ce qui limite leur utilisation à des fins d'administration de médicaments [45].

- **Les micelles**

La micelle est considérée comme un ensemble de molécules tensioactives amphiphiles qui s'agrègent spontanément dans l'eau en une vésicule sphérique, ce sont composées d'une coque hydrophile et d'un noyau hydrophobe qui peuvent charger des principes actifs hydrophobes comme la curcumine[47].

Une étude a observé une biodisponibilité 24 fois plus élevée dans un intervalle de 24 heures avec une formulation micellaire de curcumine spécifique par rapport à l'extrait standard de curcuma [48]. De plus, une dose de 300 mg de la combinaison de curcumine micellaire s'est avérée avoir une concentration plasmatique plus élevée qu'une dose de 1500 mg d'extrait standard de curcuma [48].

Il est mis en évidence par ces résultats le potentiel des formulations micellaires pour dépasser les limites de la curcumine et améliorer son efficacité thérapeutique.

- **Les nanoémulsions**

Une émulsion est un mélange de deux ou plusieurs liquides qui sont généralement non miscibles mais qui, sous l'effet de processus de transformation spécifiques, vont adopter un aspect macroscopique homogène et un aspect microscopique hétérogène. Les nanoémulsions

ont été décrites comme d'excellents transporteurs lipophile de curcumine, pour améliorer sa stabilité et sa biodisponibilité [49].

L'encapsulation de la curcumine dans des nanoémulsions améliore sa biodisponibilité par rapport aux cristaux de curcumine dispersés dans l'eau, comme l'ont démontré des études in vitro et in vivo. Plus spécifiquement, les concentrations de curcumine dans le plasma des souris étaient nettement supérieures après leur administration de curcumine sous forme de nanoémulsions plutôt que de cristaux [50].

- **Les nanoparticules lipidiques solides**

Les SLN, également appelés nanoparticules lipidiques solides, sont des supports lipidiques colloïdaux composés de lipides physiologiques qui sont biocompatibles et biodégradables. Malgré leur caractère rigide, les SLN ne conviennent que pour charger des molécules actives hydrophobes [51]. En effet, les chercheurs ont montré qu'il y avait une augmentation de plus de 12 fois de la biodisponibilité lorsque la curcumine était encapsulée dans les SLN, et que la coencapsulation avec la pipérine progresse leur bioactivité [50].

En outre, les nanoparticules à base de lipides contenant la curcumine ont démontré leur potentiel dans le traitement de la maladie d'Alzheimer, en particulier ralentissant efficacement la formation de plaques amyloïdes et améliorant la fonction cognitive dans les modèles animaux [52].

Les SLN sphériques formulé à partir de cire blanche chinoise ont démontré un potentiel d'administration efficace de curcumine en raison de leur petite taille, de leur capacité de pénétration, de leur stabilité physique et de leur capacité à charger efficacement le médicament. Ils ont réussi à empêcher la prolifération de *Staphylococcus aureus* et à diminuer la création de biofilms, L'efficacité de chargement du médicament a été estimée à 84,6 % [12].

- **Les nanogels**

Les nanogels sont des réseaux d'hydrogels de taille nanométrique tridimensionnelle qui sont principalement constitués de polymères réticulés qui ont la capacité de gonfler et de retenir une solution aqueuse, sans se dissoudre dans le milieu. En général, ils incluent une variété de polymères naturels ou synthétiques, ou leur combinaison. Il est possible de modifier la

composition chimique des nanogels afin de modifier leur taille, leur souplesse, leur caractère amphiphile, leur charge, leur porosité et leur dégradabilité [13, 15].

La préparation de nanogels de curcumine s'est avérée être une approche prometteuse pour l'administration de composés afin de traiter plusieurs maladies. Les préparations de nanogels de Cur ont montré leur efficacité dans le traitement du psoriasis en améliorant sa biodisponibilité et sa stabilité, ce qui suggère qu'une dose plus faible est requise pour obtenir le même effet thérapeutique. Cette étude montre que les préparations de nanogels de curcumine pourraient être utilisées comme une alternative plus efficace et plus sûre aux traitements traditionnels du psoriasis [53]. La conception de nanogels à base de protéines pour administrer la curcumine permet d'améliorer de manière efficace sa stabilité et sa biodisponibilité.

Les scientifiques ont créé des nanogels biocompatibles à noyau-coque à partir de poly(vinylisole) et de poly(éthylène glycol), qui ont démontré une capacité de chargement exceptionnelle, une stabilité et une libération contrôlée de la curcumine ; Dans la plage de concentration testée jusqu'à 2,3 mg/mL, les supports de nanogels présentent une cytotoxicité minimale à la fois contre les cellules tumorales et les cellules normales, ce qui leur permet de transporter de grandes quantités de molécules médicamenteuses [54].

- **Les émulgels**

Les émulgels sont de nouveaux systèmes d'administration topique de médicaments qui associent des émulsions et des gels, ce qui permet d'améliorer la stabilité et de contrôler la libération des principes actifs. Ces formulations se révèlent particulièrement performantes pour administrer des substances hydrophobes, résolvantes ainsi les contraintes des gels classiques. Les émulgels possèdent des propriétés bénéfiques comme la thixotropie, l'absence de graisse et un étalement facile, ce qui les rend appropriés pour différentes applications pharmaceutiques et cosmétiques [73, 74]. La porosité de ces réseaux réticulés fournit un réservoir parfait pour le chargement des molécules actives, les protège également de la dégradation de l'environnement, de plus l'émulgel possède une surface spécifique ultra-élevée, permettant une pénétration efficace à travers diverses membranes protectrices du corps humain et une endocytose facile par les cellules [5].

Des études récentes ont exploré les émulgels à base de curcumine pour diverses applications, les chercheurs ont formulé des émulgels à base de Cur, d'où ses propriétés pharmacologiques et pharmacocinétiques ont été améliorées [57].

Dans une nouvelle approche, la curcumine et l'huile d'arbre à thé sont utilisées pour développer un système d'administration de médicaments en émulsion. Les taux d'encapsulation et de libération de Cur sont respectivement de 96,7 % et 94,48 %. L'émulsion a permis de guérir les symptômes du psoriasis plus rapidement que le gel de référence habituel. Le potentiel de l'émulsion en tant que méthode d'administration de médicaments a été confirmé par les résultats obtenus, mettant en évidence les bénéfices complémentaires de l'huile d'arbre à thé et de la curcumine en tant que nouvelle thérapie efficace contre le psoriasis [58]. La recherche menée par Ergin et ses collègues a examiné l'évaluation *in vitro* et *ex vivo* d'un émulsion topique de curcumine sans tensioactif. Leurs objectifs étaient d'augmenter la perméabilité de la curcumine sur la peau en créant des formulations d'émulsions sans tensioactifs. Les produits ont été créés en utilisant des gels de Carbopol 940 en tant que phase aqueuse, de l'huile d'olive et une solution de méthanol de curcumine en tant que phase huileuse. Il n'a pas été utilisé de tensioactif supplémentaire pour démontrer l'effet stabilisateur du Carbopol dans les émulsions. En résumé, la formulation récente d'émulsion sans tensioactif a été réalisée avec succès afin d'améliorer la perméabilité de la curcumine à travers la peau du rat [59]. Les chercheurs ont examiné les effets positifs de la curcumine et du resvératrol présents dans un nanoémulsion pour guérir les plaies causées par les brûlures.

Ils ont essayé de créer des nanoémulsions pour deux substances polyphénoliques. Les nanoémulsions ont contribué à améliorer la fixation des nutraceutiques sur la peau, ce qui a entraîné une augmentation de leur potentiel antioxydant et anti-inflammatoire, ainsi qu'une augmentation des niveaux de collagène et d'acides aminés dans la peau des rats brûlés [60].

Un émulsion composé de biomolécules a été développé pour une utilisation cutanée. Selon les analyses réalisées, la formulation possède de bonnes qualités de libération, d'étalement et de rhéologie. D'après les données, l'utilisation de l'émulsion à base de curcumine associée à l'huile de lin et de la vitamine E a démontré des résultats améliorés pour traiter la propriété anti-âge [61].

- **Les nanosuspensions**

Les nanosuspensions sont une forme biphasique dans laquelle les molécules dispersées ne dépassent pas les dimensions de 1 μm . Cette forme de produits a récemment suscité un grand intérêt dans l'industrie pharmaceutique en raison de sa capacité à améliorer la solubilité des médicaments faiblement dispersés [46], [62].

La nanosuspension de CUR, c'est une nouvelle forme posologique de la curcumine, a été réalisée avec succès en homogénéisant à haute pression afin d'améliorer la cytotoxicité de la CUR et son application par injection intraveineuse. Cette formulation a montré une grande amélioration de la solubilité (plus de 600-fois) et le taux de dissolution (plus de 10-fois) par rapport au CUR vierge initialement. Ces résultats suggèrent que ces formulations pourraient représenter une nouvelle formulation prometteuse pour l'administration intraveineuse dans le traitement de certains cancers [63].

Des nanosuspensions de curcumine amorphes ont été fabriquées en utilisant la méthode de précipitation par antisolvant avec la β -lactoglobuline (β -lg) comme stabilisant. Les nanosuspensions de curcumine amorphes résultantes avaient une taille comprise entre 150 et 175 nm avec une distribution de taille unimodale. La solubilité de la formulation amorphe de curcumine a été multipliée par 35 en raison de sa taille réduite et de sa cristallinité inférieure. Une stabilité aqueuse maximale supérieure à 90 % après 30 jours a été obtenue. Une étude in vitro utilisant les lignées cellulaires CaCO₂ a montré une augmentation significative de la biodisponibilité de la curcumine après stabilisation avec la β -lg [64].

Une nanosuspension de curcumine a été préparée avec du caoutchouc arabe comme stabilisateur en utilisant l'homogénéisation à grande vitesse. La préparation obtenue pouvait être utilisée dans les sept jours suivant la fabrication sans perte de consistance granulométrique, le microscope électronique à transmission a également montré que les nanoparticules de curcumine avaient une forme presque sphérique et une structure homogène avec une gamme de taille de 40 à 80 nm [65].

Les nanosuspensions de curcumine ont prouvé leur efficacité dans le traitement des affections inflammatoires et immunomodulées, comme l'athérosclérose, la polyarthrite rhumatoïde et les troubles neurodégénératifs. En outre, l'utilisation de nanoformulations contenant de la curcumine a montré des résultats prometteurs dans la guérison des plaques en stimulant l'angiogenèse, le dépôt de collagène et la croissance tumorale [66].

Ces progrès en nanotechnologie permettent de tirer parti du potentiel thérapeutique de la curcumine dans différents domaines de la santé.

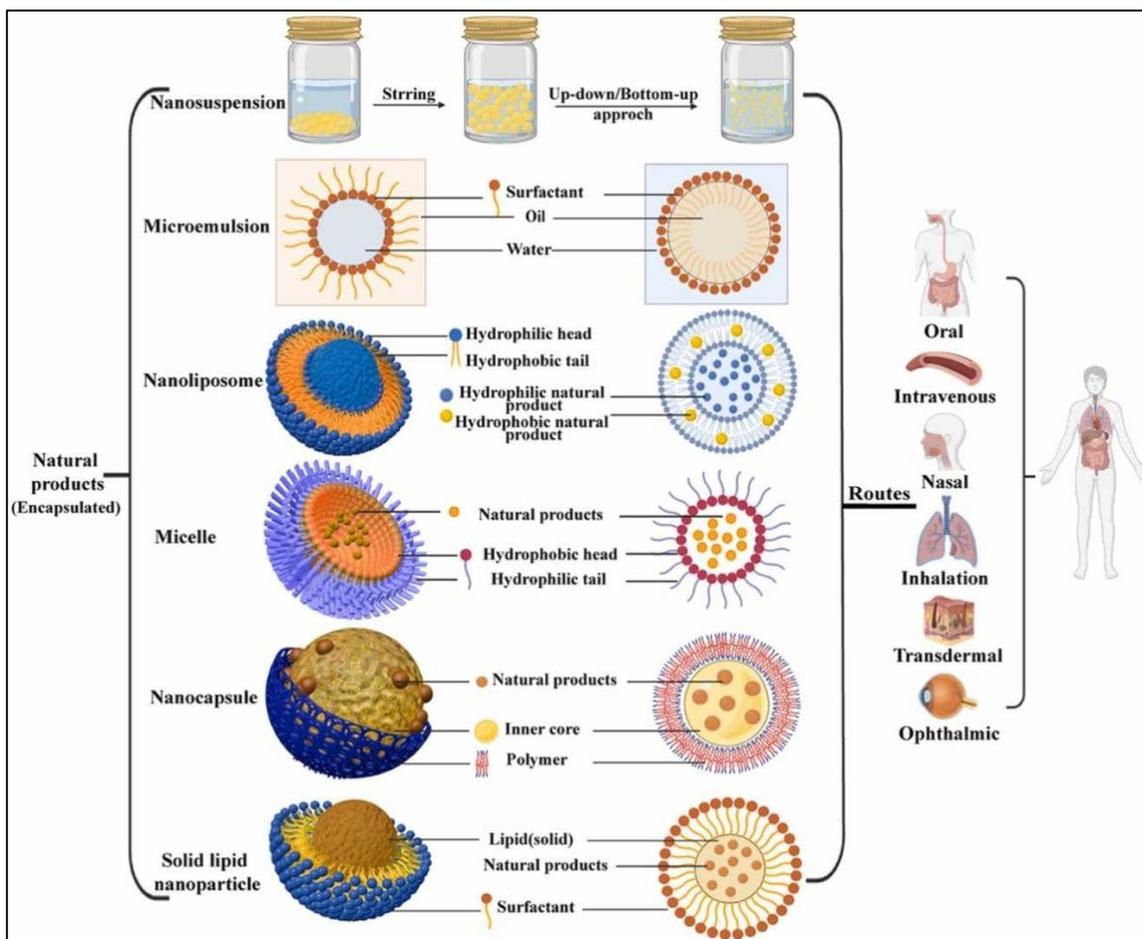


Figure 1.9. De nouveaux systèmes d'administration de médicaments nanométriques pour les produits naturels [67].

1.13. Conclusion

La nanotechnologie est en train de se transformer en une nouvelle tendance qui favorise des avancées dans pratiquement tous les secteurs technologiques, et en particulier dans le secteur pharmaceutique.

De nouvelles méthodes perfectionnées ont la capacité de résoudre les problèmes associés à la phytothérapie. Les nanoformulations illustrent la connexion entre la technologie récente et les biomolécules. L'avantage réel des nanosystèmes réside dans l'administration précise du médicament, ce qui permet de diminuer la fréquence de dosage tout en améliorant la solubilité, l'absorption et l'élimination du produit.

En conclusion, la synthèse des données probantes présentée dans ce chapitre met en évidence l'avantage des stratégies des nanoformulations pour relever les défis associés à la curcumine. Grâce à ces systèmes, l'efficacité thérapeutique, le ciblage et la stabilité de CUR sont considérablement améliorés.

À l'avenir, les nanoformulations à base de plantes offrent un potentiel en raison de sa capacité d'encapsulation élevée, de son homogénéité et de sa stabilité améliorée.

CHAPITRE 2 / MATERIEL ET METHODES

2.1.Introduction

Cette étude a été réalisée aux laboratoires de Génie Chimique du département de Génie des procédés, Faculté de Technologie conjointement au laboratoire de Pharmacologie de la faculté de médecine de l'université Blida 1.

Le matériel et les différentes méthodes de préparation et de caractérisation utilisées dans toutes les étapes de la partie expérimentale seront exposés dans ce présent chapitre. Afin d'atteindre l'objectif principal de ce travail qui consiste en la mise en œuvre des procédés de micronisation et /ou dispersion pour l'amélioration des propriétés physico-chimiques, la biodisponibilité et l'effet thérapeutique de la curcumine. Des excipients naturels (pipérine, amidon de maïs, *stevia rebaudiana*, mucilage de fenugrec, l'huile d'amande douce, l'eau minérale) ont été incorporés dans différentes formulations en vue de lui conférer en plus des paramètres cités ci-dessus, des caractéristiques organoleptiques appréciées par le consommateur.

La partie pratique a été répartie en trois étapes comme suit :

- Optimisation des paramètres d'extraction de la curcumine et étude de l'effet des additifs sur l'amélioration de sa solubilité.
- Formulation d'un sirop sans sucre à base de nanocurcumine et mise en évidence de son impact sur le diabète et la réduction du stress oxydatif.
- Formulation d'émulgel à base de nanocurcumine, eau minérale et l'huile d'amande.

2.2. Matériels et équipements utilisés

Les équipements utilisés au cours de notre travail pratique sont résumés dans le tableau 2.1 ci-dessous :

Tableau 2.1 : Les appareils utilisés dans la partie pratique :

Appareillages	Utilité	Marque
Homogénéisateur (Ultra turax)	Homogénéisation et micronisation de la curcumine	IKA
Granulomètre DLS nano particule analyzer SZ-100)	Mesure de la taille et du potentiel zêta des particules	HORIBA SCIENTIFIC NANO PARTICA
UV-Visible	Analyse qualitative et quantitative du PA	HITACHI, U-5100 spectrophotometer
Dissolutest	Contrôle de la libération du PA dans le milieu intestinal	Erweka
Rhéomètre	Evaluation des paramètres rhéologiques de la formulation	ANTON PAAR modular compact rhéomètre MCR 302
Centrifugeuse	Avoir une séparation	HETTICH
FTIR	L'analyse qualitative du produit	SHIMADZU
Réfractomètre	Détermination du degré Brix	ORA 20BA - Brix – KERN
Glucomètre	Mesure de la glycémie	VITAL CHECK
Microscope optique	Observation de la taille, la distribution et la stabilité des gouttelettes	Leica DM750
pH mètre	Détermination des degrés d'alcalinité ou d'acidité	HANNA

2.3.Matières premières utilisés

Les produits utilisés dans la partie pratique sont décrits dans les paragraphes ci-dessous :

2.3.1 La curcumine

La curcumine a été utilisée comme principe actif dans toutes les formulations. Cette dernière, de grade pharmaceutique a été fournie par le laboratoire BIOCHEM Chermopharma (France). Les propriétés physico-chimiques de cette dernière sont énumérées sur le tableau ci-dessous :

Tableau 2.2 : Les propriétés physico-chimiques de la curcumine.

Formule chimique	$C_{21}H_{20}O_6$
Masse molaire	368.4 g/mol
Couleur	Jaune orangé
Etat physique	Solide (poudre)
Solubilité	Insoluble dans l'eau, soluble dans l'éthanol, le DMSO, le méthanol, l'acétone, le chloroforme et l'acide acétique glacial
Point de fusion	183°C
Point d'ébullition	591.4°C
Masse volumique	12.72 g/cm ³

2.3.2 La pipérine

La pipérine est obtenue à partir du poivre noir, une des épices les plus anciennes utilisées dans la médecine ayurvédique. Le poivre noir est originaire du sud-ouest de l'Inde, plus précisément de la région du Kerala. Le fruit est représenté lorsque la baie devient rouge, séchée puis débarrassé de la rafle, il est sphérique et très dur.

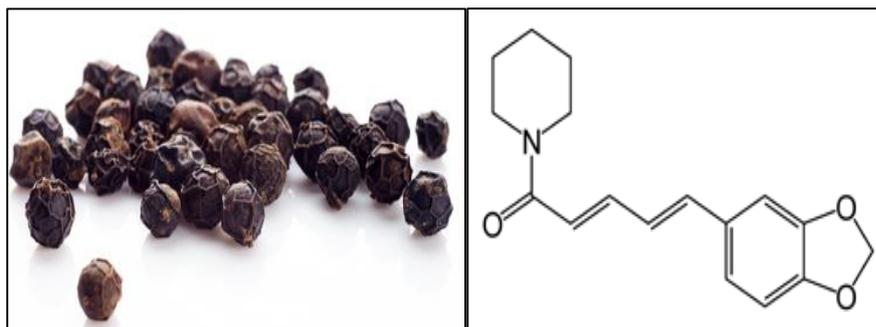


Figure 2.1. Le poivre noir et la structure chimique de la pipérine.

Il contient entre 5 et 8 % d'un actif précieux, la pipérine (ou 1-pipéroylpipéridine), un alcaloïde à l'odeur piquante. Il semble que la pipérine ait divers effets bénéfiques sur le bien-être. Ce qu'elles ont de plus important : elles sont antimicrobiennes, anti-inflammatoires et hépatoprotectrices. De plus, elle favorise l'absorption ainsi que la biodisponibilité de nombreuses molécules telles que : vitamines, minéraux, médicaments et les polyphénols, notamment quand elle est associée à d'autres substances actives comme la curcumine, car elle améliore la biodisponibilité du curcuma, grâce à une diminution de la clairance hépatique, et de son effet de rendre l'intestin plus perméable [68].

2.3.3 Le fenugrec

En Inde, la graine de fenugrec est une épice essentielle, que ce soit dans la cuisine ou en phytothérapie dans la médecine ayurvédique, et dans tous les pays du bassin méditerranéen, avec un taux élevé de fibres mucilagineuses (jusqu'à 40%) et un taux beaucoup plus faible de stéroïdes saponines (3% maximum), dont les qualités sont liées à leur activité tensioactive et liées à la régulation du cholestérol [69]. La structure du fenugrec est visualisée ci-après :



Figure 2.2. Les grains de fenugrec.

2.3.4 L'amidon de maïs

C'est un biopolymère composé de deux éléments principaux ; l'amylose et l'amylopectine. Le D-glucose est l'unité qui forme ces deux composants. Il s'agit d'un polymère d'hydrate de carbone composé de nombreuses unités de glucose liées par des liaisons glycosidiques. La poudre d'amidon de maïs est une poudre blanche à écoulement libre et est extrait de végétaux insolubles dans l'eau et se présente sous forme de granulés à température ambiante, mais soluble dans l'eau bouillante (90°C) [70]. L'amidon de maïs utilisé dans nos formulations a été fourni par Sigma-Aldrich Laborchemikaliengmbh.

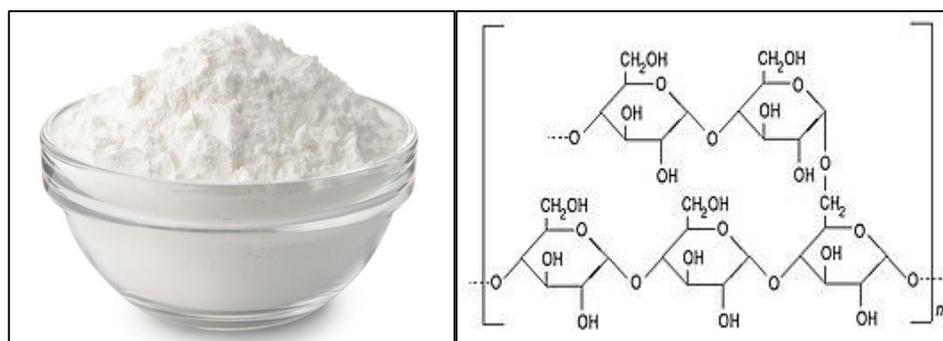


Figure 2.3. La poudre de l'amidon de maïs et sa structure chimique.

2.3.5 Rébaudioside A

C'est un édulcorant naturel extrait de l'espèce végétale *stévia rebaudiana*, qui confère à la formulation un goût sucré. Il est composé d'une génine de steviol glycosylée par quatre molécules de glucose. Sa formule chimique est la $C_{44}H_{70}O_{23}$ [71]. Comme illustré sur la figure ci-après :

La poudre blanche de *stévia* provient de l'unité de production NATURA SAS- France, cette poudre se compose de 95% de *Rebaudioside A*

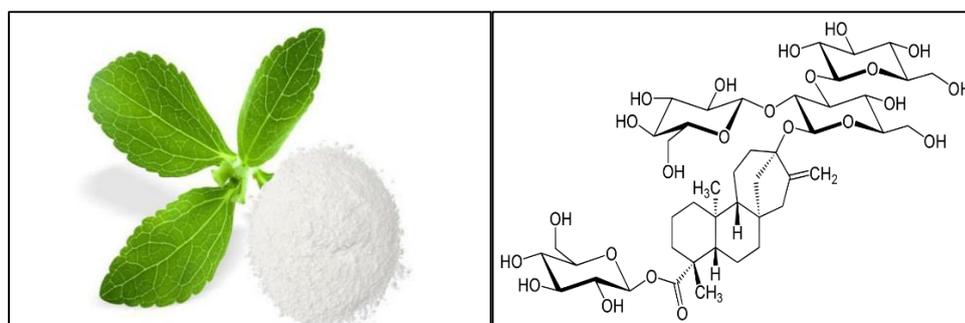


Figure 2.4. La poudre de stévia et sa structure chimique.

2.3.6 L'huile d'amande douce

L'huile d'amande douce est le composant essentiel de la phase huileuse dans la formulation de l'émulgel. C'est un liquide de couleur jaune pâle avec une odeur et un goût agréables. Elle est composée d'acides gras : l'acide oléique 9 de pourcentage varie entre [60 %-85 %], l'acide linoléique 6 entre [7 %-30 %], l'acide palmitique entre [4 %-9 %], et l'acide stéarique avec un pourcentage de (2 %). Ces composés sont essentiels au maintien d'une peau saine, elle possède aussi des propriétés anti-inflammatoires, hydratantes et apaisantes [72]. L'huile d'amande utilisée lors de nos expériences est locale provenant des fournisseurs pratiquant les extractions des huiles.



Figure 2.5. L'huile d'amande douce et sa structure chimique.

2.3.7 L'eau minérale :

L'eau minérale a été incorporée dans l'émulgel en qualité de phase aqueuse en raison de ses nombreux bienfaits sur la peau. La composition en minéraux des différentes eaux thermales définit les propriétés spécifiques de chaque eau. Elle peut contribuer à rééquilibrer le pH de la peau, à l'hydrater et à enrichir l'organisme en sels minéraux.

On a utilisé l'eau thermale de Hammam Righa, plus exactement à Ain Toulba, c'est l'une des eaux les plus chaudes en Algérie. C'est situé dans la commune de Hammam Righa, dans la wilaya d'Aïn Defla, à 100 km au sud-est de la ville d'Alger.

Le tableau ci-dessous montre la composition de l'eau minérale utilisée.

Tableau 2.3 : La composition chimique de l'eau minérale utilisée avec les principales caractéristiques :

Température	38°C
pH	6.77
Conductivité	2836 μ S/cm

Ca	369.20 mg/L
Mg	37.08 mg/L
Na	182.16 mg/L
K	7.02 mg/L
HCO₃	289.75 mg/L
Cl	292.17 mg/L
SO₄	830.88 mg/L
SiO₂	28.70 mg/L

2.3.8 Autres réactifs:

D'autres matières premières et réactifs chimiques utilisés dans notre partie pratique ont été délivrés par des fournisseurs agréés. Aucune purification préalable n'a été réalisée. Le tableau ci-dessous énumère les différents réactifs utilisés :

Tableau 2.4. Liste des réactifs utilisés.

Composé	Rôle dans la formulation
Carbopol 940	Agent gélifiant
Tween 80	Tensioactif
Lécithine	Tensioactif
DPPH	Un radical libre utilisé pour déterminer l'activité antioxydante
Stréptozotocine	L'induction chimique du diabète de type 2 chez des modèles animaux.
Triéthanolamine	Ajusteur de pH
NaOH	Ajusteur de pH
Acétone	Solvant
Ethanol	Solvant

2.4. Traitement statistique des données

2.4.1 Optimisation

Dans la première partie de l'étude, les analyses des données ont été effectuées avec le logiciel MODDE 6, Umetrics, Suède (2001).

La qualité totale du modèle mathématique qui est la corrélation entre les facteurs et la réponse a été évaluée par la qualité de l'ajustement R^2 et la prédiction Q^2 .

Le test ANOVA a été utilisé pour les analyses statistiques. Les différences ont été considérées comme significatives à $p < 0,05$ et hautement significatives à $p < 0,01$.

2.4.2 Analyse des effets des facteurs

Les graphiques du logiciel MODDE 6 illustrent l'influence de l'effet de chaque facteur sur la réponse. Un effet positif d'un facteur étudié est constaté si l'ordonnée est positive. L'ordonnée négative signifie l'absence d'effet de ce facteur sur la stabilité de la formulation.

2.4.3 Niveau d'influence de l'effet

L'importance de l'effet est également prédite par le logiciel MODDE 6.

D'après le graphique, l'influence d'un facteur par rapport à l'autre peut être facilement être détectée.

2.5. Protocoles expérimentaux

2.5.1 L'extraction optimisée de la curcumine et l'effet des additifs sur l'amélioration de la solubilité

Cette étude vise principalement à améliorer la performance d'extraction des curcuminoïdes, en particulier de la curcumine, à partir du rhizome végétal du curcuma, en utilisant des additifs tels que la pipérine et le fenugrec pour améliorer la solubilité et la biodisponibilité de CUR. Le procédé le plus fréquent qui est l'extraction par Soxhlet a été utilisé.

Pour se faire, cette première étude a été divisée en deux étapes, à savoir :

- Extraire la curcumine du rhizome en utilisant l'acétone et l'éthanol comme solvants, ainsi que la pipérine et le fenugrec comme additifs.
- Caractérisation des extraits obtenus en utilisant des techniques spectroscopiques et physico-chimiques ainsi que la mesure des rendements d'extraction.

2.5.1.1. L'extraction de la curcumine

Le curcuma provenant des commerces à Blida a été broyé tamisé à travers un tamis de taille 50 μm afin d'obtenir une poudre très fine de granulométrie homogène. On a pris 15 g de la poudre qu'on place dans une cartouche en cellulose. Le solvant approprié a été introduit dans un ballon porté à ébullition. La quantité de solvant doit être deux tiers du volume de ballon. Deux solvants ont été utilisés (éthanol / l'acétone). Une fois les extraits récupérés, les solvants ont été éliminés par évaporation sous vide moyennant un rotavapeur.

2.5.1.2. Optimisation de la formulation

A priori, il est nécessaire de répertorier tous les éléments qui impactent le rendement tant sur le plan qualitatif que quantitatif. Ces derniers illustrent les exigences de notre activité. Les éléments clés sélectionnés, qui varient en fonction du mode d'opération, et qui présentent un effet direct sur le rendement. Le choix a été porté sur les plus importants : les additifs, les solvants et la nature de l'additif incorporé. Les variables ont été dénommées comme suit :

X_1 : la masse des additifs est comprise dans un intervalle de 0,5 à 2 g ;

X_2 : le type de solvant (acétone et éthanol) ;

X_3 : la nature de l'additif (la pipérine p et le fenugrec f) ;

Y : le rendement, seule réponse significative choisie ;

Le volume du solvant est toujours de 300ml. Les températures ont été fixées et sont celles d'ébullition (acétone à 69°C et éthanol à 79,5°C). La durée de l'expérience a été fixé à 4 heures.

Un plan factoriel complet à trois facteurs a été choisi avec deux niveaux et un point central, ce dernier permet d'estimer, non seulement les effets des facteurs, mais également toutes leurs interactions. Le choix des niveaux de facteur était basé sur des recherches bibliographiques [73,74] et des essais préliminaires établis. Les combinaisons des facteurs étudiés sont indiquées dans **Le tableau 2.5**.

Tableau 2.5 : la matrice expérimentale des différentes combinaisons de type de solvant, la nature d'additif et la masse d'additif.

Le numéro d'expérience	Solvant	additif	quantité (g)
1	Ethanol	Pipérine	0.5
2	Ethanol	Pipérine	2
3	Ethanol	Fenugrec	0.5
4	Ethanol	Fenugrec	2
5	Acétone	Pipérine	0.5
6	Acétone	Pipérine	2
7	Acétone	Fenugrec	0.5
8	Acétone	Fenugrec	2
9	Ethanol	Pipérine	1.25
10	Ethanol	Fenugrec	1.25
11	Acétone	Pipérine	1.25
12	Acétone	fenugrec	1.25
13	Ethanol	fenugrec	2

2.5.1.3. Caractérisations des extraits

a) Calcul du rendement

On peut définir le rendement de l'extrait brut comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenu et la masse du matériel végétal traité. Ce rendement est calculé par l'équation 2.1.

$$R(\%) = \frac{Me}{Mv} \times 100 \dots \dots \dots (2.1)$$

R (%) : Rendement en % ;

Me : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant (g) ;

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction(g).

b) Analyse par spectroscopie UV-visible

L'UV-vis a été utilisée pour les analyses qualitatives et quantitatives des extraits récupérés.

Par la loi de Beer-Lambert rappelée ci-dessous, la concentration en curcumine peut être évaluée :

$$A = \varepsilon \times l \times C \dots\dots\dots (2.2)$$

A: absorbance ;

ε : le coefficient d'absorption molaire en $L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$;

L: l'épaisseur de la cuve en cm ;

C: la concentration de la solution en mol/l ;

Comme indiqué précédemment, un spectrophotomètre de type U-5100 de la marque HITACH a été utilisé.

c) Identification par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

Afin d'identifier les groupements caractéristiques dans la curcumine, la spectrophotométrie par infrarouge comme étant l'un des moyens très efficaces. 1 mg de l'extrait a été mélangé avec 100 mg de KBr, puis la poudre a été broyée uniformément avec un mortier, ensuite elle a été compactée en disque transparent sous haute pression, à la fin le disque a été placé avec le porte-échantillon à travers la lumière émise par le spectrophotomètre IR (FTIR-8900 SHIMADZU, Kyoto, Japan), et le spectre a été enregistré entre 400 et 4000 cm^{-1} à une résolution spectrale de 4,0 cm^{-1} .

d) Etude de la cinétique de dissolution in vitro

Cette étude a été réalisée pour comparer le taux de dissolution des extraits à base de curcumine par rapport au taux de dissolution du curcuma brute dans le milieu physiologique (pH 6.8). Un volume de 500 ml du milieu a été introduit dans chaque godet et chauffé préalablement à $(37 \pm 0,5) ^\circ C$. Un échantillon de 5 ml a été introduit dans chaque godet sous une agitation de 100 tr/min pendant 4h30min en continue [75]. À divers intervalles de temps à des pas de 30 min, un volume de 5 ml a été prélevé dans des tubes après filtration sur un filtre à seringue puis remplacé par une quantité égale de milieu frais. Les échantillons prélevés ont été analysés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à 421 nm.

2.5.2 Etude de l'effet sur le diabète et la réduction du stress oxydatif d'une formulation Bio à base de nanocurcumine

L'objectif de cette étude est la mise au point de deux formulations à base de nanocurcumine pour le traitement et la prévention contre le stress oxydatif et le diabète. La curcumine utilisée comme principe actif, connue pour son insolubilité dans l'eau, a été micronisée afin d'améliorer sa biodisponibilité. Dans le but de la protéger contre la photodégradation, la nanocurcumine a été encapsulée dans deux biopolymères (amidon de maïs et mucilage de fenugrec). La *Stevia Rebaudiana Bertoni* a été incorporée en tant qu'édulcorant naturel.

L'effet sur le diabète a été prouvé par des tests in-vivo sur des rats Wistar pour lesquelles le diabète de types 2 a été induit. Par la détermination de l'activité antioxydante in-vitro, la réduction et la prévention contre le stress oxydatif des formulations ont été mises en évidence.

2.5.2.1. Préparation des formulations

➤ **Micronisation de la curcumine**

Dans une première étape, la curcumine a été micronisée afin d'améliorer sa solubilité et par conséquent sa solubilité. La curcumine a été dissoute dans l'éthanol avant d'être ajoutée goutte à goutte à l'eau bouillante sous homogénéisation pendant 1 heure à l'aide d'un IKA T25 Ultra Turrax (Allemagne) à 8000 tr/min, selon [76] avec quelques modifications.

➤ **Encapsulation de nanocurcumine**

Dans l'amidon de maïs : La première opération consiste à faire chauffer de l'eau distillée, puis une quantité d'amidon de maïs a été ajoutée dans l'eau bouillante sous agitation. La deuxième étape consiste à ajouter goutte à goutte la solution de nanocurcumine à l'aide d'une seringue dans la solution d'amidon de maïs sous homogénéisation.

Dans le mucilage de fenugrec extrait des graines : Les graines ont été recueillies et lavées à l'eau pour éliminer les impuretés et les débris. Elles ont été macérées dans de l'eau distillée à température ambiante pendant 24h puis chauffés jusqu'à ébullition. Après refroidissement, la solution a été filtrée à travers des compresses. Le filtrat a été refroidi et conservé au réfrigérateur pendant une nuit. Le filtrat a été incorporé avec un rapport (1/1) dans l'alcool éthylique. Le mucilage précipité a été filtré et séché dans l'étuve à une température de 45°C. Le produit obtenu a été broyé et passé à travers le tamis (80 µm) pour garantir une granulométrie homogène [77]. Afin d'encapsuler la solution de nanocurcumines dans le mucilage de fenugrec, une solution de ce dernier a été préalablement préparée. A cet effet,

première étape consiste à chauffer d'eau distillée à laquelle une quantité de mucilage de fenugrec a été ajoutée sous agitation. La deuxième étape consiste à incorporer goutte à goutte la solution de nanocurcumine à l'aide d'une seringue dans la solution de mucilage de fenugrec sous homogénéisation.

➤ **Préparation de la solution *rébaudioside A* et les formulations**

Une quantité de *rébaudioside A* a été dissoute dans l'eau froide sous agitation. Un volume de la solution de *Stévia Rébaudiana Bertoni* a été ajouté dans la solution de nanocurcumines encapsulée dans les biopolymères sous homogénéisation. Le schéma ci-dessous (**Figure 2.6**) illustre les différentes étapes que nous avons adoptées pour l'élaboration des deux formulations ; l'une à base de nanocurcumine encapsulée dans l'amidon de maïs (CURA) et l'autre à base de nanocurcumine encapsulée dans le mucilage de *fenugrec* (CURF).

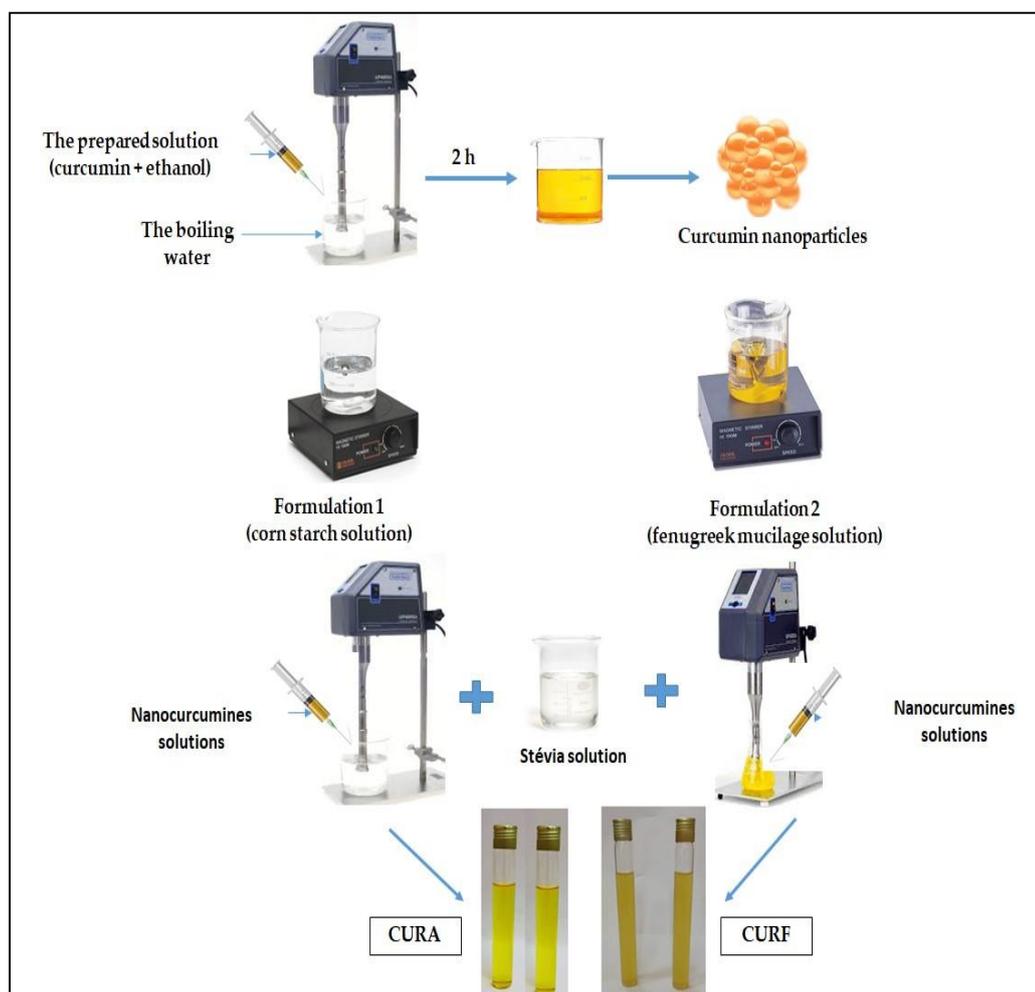


Figure 2.6. Les étapes de développement des formulations à base de nanocurcumine (CURF et CURA).

2.5.2.2. Caractérisation physico-chimiques des deux formulations

a) Détermination de la taille et du potentiel zêta de la curcumine micronisée

La taille et les charges des particules de nanocurcumine ont été mesurées par diffusion dynamique de la lumière DLS. Des échantillons ont été dilués et agités dans l'eau distillé pendant 15 min. Les mesures ont été effectuées à 25°C en utilisant la cellule en quartz avec un angle de détection de 90° en utilisant le Zétasizer Horiba. Les mesures sont effectuées trois fois et une moyenne des résultats est calculée.

b) Caractérisation du mucilage de fenugrec par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

1 mg du mucilage de fenugrec a été mélangé avec 100 mg de KBr, puis la poudre a été broyée uniformément avec un mortier, ensuite elle a été compactée en disque transparent sous haute pression, à la fin le disque a été placé avec le porte-échantillon à travers la lumière émise par le spectrophotomètre IR.

c) Caractérisation des formulations à base de nanocurcumines

- **Mesure du pH :** La mesure du pH se fait par méthode potentiométrique à l'aide d'un pH-mètre calibré (HANNA, Roumanie) dont l'électrode est directement immergée dans la formulation. La valeur obtenue est lue sur l'écran de l'appareil.
- **Mesure de la densité :** Il suffit de peser au moyen d'une balance de précision le pycnomètre avant et après remplissage pour déterminer par calcul la densité d'un produit liquide. Les mesures sont effectuées trois fois et une moyenne des résultats a été calculée par la formule suivante :

$$d = \frac{m_{\text{péch}} - m_{\text{pvide}}}{m_{\text{peau}} - m_{\text{pvide}}} \dots\dots\dots (2.3)$$

Où : $m_{\text{péch}}$ est la masse du pycnomètre avec l'échantillon, m_{peau} est la masse du pycnomètre avec l'eau distillée et m_{pvide} est la masse du pycnomètre vide.

- **Mesure de degré Brix :** Le degré Brix sert à identifier le taux de sucre dans un liquide, cette mesure a été réalisée à l'aide d'un réfractomètre portable. Après homogénéisation de la formulation, un échantillon a été prélevé et quelques gouttes ont été déposées sur

le réfractomètre (MA871, Milwaukee, Romania). A travers l'oculaire, il suffit de détecter la démarcation entre le bleu et le blanc sur l'échelle pour lire la valeur de degré Brix. Les mesures sont effectuées trois fois et une moyenne des résultats est calculée.

d) Détermination de la taille et du potentiel zêta des formulations

La taille et le potentiel zêta des particules des formulations (CURA ; CURF) a été mesurée par DLS dans les mêmes conditions opératoires citées préalablement au paragraphe (a) 2.5.2.2.

e) Détermination du taux d'encapsulation du PA dans les biopolymères

Les échantillons prélevés ont été centrifugés à 3000 tr/min pendant 10 min, le surnageant de chaque tube a été retiré, les absorbances des échantillons et des formulations ont été mesurés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à 421 nm. Le taux d'encapsulation de nanocurcumines a été calculé par la formule ci-dessous [78]:

$$\text{Le taux d'encapsulation (\%)} = \frac{\text{Abs de l'échantillon}}{\text{Abs de formulation}} \times 100 \dots\dots\dots(2.4)$$

f) Etude de la cinétique de dissolution in vitro

Cette étude a été réalisée pour comparer le taux de dissolution des formulations à base de nanocurcumines par rapport au taux de dissolution de la curcumine brute dans le milieu intestinal (pH 6.8). Un volume de 500 ml du milieu intestinal a été introduit dans chaque godet et chauffé préalablement à $(37 \pm 0,5)$ °C. Un échantillon de 5 ml a été introduit dans chaque godet sous une agitation de 100 tr/min pendant 3h en continue [75]. À divers intervalles de temps à des pas de 30 min, un volume de 5 ml a été prélevé dans des tubes après filtration sur un filtre à seringue puis remplacé par une quantité égale de milieu frais. Les échantillons prélevés ont été analysés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à 421 nm.

g) Etude du comportement rhéologique

Cette étude a été réalisée afin d'étudier l'écoulement des formulations et de déterminer la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement. Le test a été réalisé à l'aide d'un rhéomètre de marque « MCR 302 Anton PAAR PHYSICA » qui fonctionne en régime continu et en oscillation. Le dispositif est muni d'un logiciel qui permet le pilotage du rhéomètre et le traitement des données ainsi que leur exploitation. La géométrie utilisée est le cône plan 60 mm qui permet d'appréhender des viscosités les plus faibles aux viscosités les plus fortes dans des conditions de température de 20°C.

2.5.2.3. Evaluation des activités biologiques des formulations

L'évaluation des activités biologiques des formulations a porté essentiellement sur la détermination de l'activité antioxydante *in vitro*, l'activité antidiabétique *in vivo*.

a) L'activité antioxydante *in vitro*

L'activité antioxydante a été déterminée pour les deux formulations par le test au DPPH. Le protocole et le mécanisme réactionnel a été décrit par [78]. Une solution de DPPH a été préparée en dissolvant le réactif DPPH dans de l'éthanol à une concentration de 0,1 mM. Ensuite, 1 ml de solution contenant de la curcumine a été ajouté à 4 ml de la solution de DPPH. Le mélange a été secoué et laissé dans l'obscurité à la température ambiante pendant 30 minutes. L'absorption a été enregistrée à 421 nm sur un spectrophotomètre UV-vis.

L'activité de piégeage des radicaux par le DPPH a été estimée selon l'équation suivante :

$$\text{Activité de piégeage des radicaux DPPH (\%)} = \frac{A_{\text{blanc}} - A_{\text{ech}}}{A_{\text{blanc}}} \times 100 \dots\dots\dots(2.5)$$

Où A_{blanc} et A_{ech} sont l'absorption de la solution de DPPH additionnée d'eau distillée et de la solution d'échantillon, respectivement, à 421 nm. Tous les tests ont été effectués en triple et les résultats ont été exprimés sous forme de moyenne et d'écart type.

b) L'activité antidiabétique in vivo

Le but de cette étude est de prouver l'efficacité de la formulation contenant la curcumine encapsulée du mucilage de fenugrec sur la régulation de la glycémie chez les rats rendus diabétiques par induction de streptozotocine ; une substance de référence pour les études expérimentales sur le diabète [79].

b1) Les animaux d'expérimentation : Douze rats mâles adultes en bonne santé de souche Wistar, âgés de 2 mois de poids corporel compris entre 200 et 240g ont été utilisés dans cette étude. Les rats ont été gardés dans des cages en matière plastique ayant un couvercle en acier inoxydable dans des conditions du laboratoire standard (période de lumière de 12 heures par jour). Les rats ont été nourris avec des aliments (les bouchons de graines de tournesol) et l'eau distribuée par des biberons en plastiques. Les animaux ont été divisés en trois groupes de quatre rats par cage, chaque groupe a été marqué avec des bandes de couleurs différentes afin que chaque rat soit clairement identifié [79]. La répartition de chaque lot de l'étude a été exprimée comme mentionné sur le tableau.

Tableau 2.6. Répartition des lots de l'étude expérimentale sur les rats Wistar.

Groupes	Désignation
Groupe 1	Témoin négatif (rats normaux)
Groupe 2	Témoin positif (rats diabétiques)
Groupe 3	Des rats diabétiques gavés par la formulation du mucilage de fenugrec



Figure 2.7. La photo des rats wistar.

b2) Induction du diabète : La dose administrée était de 50 mg / kg de poids corporel par une seule injection intrapéritonéale dans le quart inférieur gauche de l'abdomen de chaque rat de groupe 2 et 3. Ensuite, les rats ont été gardés dans des cages avec accès à la nourriture et des bouteilles de solutions de glucose à 5% pendant 24 heures pour éviter un choc hypoglycémique [80].



Figure 2.8. La voie d'administration de la streptozotocine.

b3) Mesures de la glycémie et confirmation du diabète : Le taux de la glycémie à jeun des rats a été mesuré après 48h de l'induction de la streptozotocine. Le rat a été immobilisé dans une boîte à contention en stérilisant l'extrémité terminale de la queue avec une solution d'alcool éthylique à 20 %, puis en piquant la queue, l'échantillon de sang a été prélevé et déposé sur une bandelette qui a été placée dans un glucomètre [81].

Le site piqué de la queue a été immédiatement pressé avec du coton et à nouveau stérilisé pour protéger les rats contre l'infection. Le diabète a été confirmé après 10 jours de l'induction.

b4) Gavage des rats par le CURF : Les rats du groupe 3 ont été gavés à l'aide d'une sonde de gavage, ils ont reçu une dose quotidienne de 0,5 ml de formulation de curcumine à base de mucilage de fenugrec (CURF), une fois par jour et à jeun, pendant 3 semaines de traitement [82]. La mesure de la glycémie a été faite une fois par semaine.



Figure 2.9. Le gavage d'un rat.

b5) Dissection et prélèvement des organes : Au 30^{ème} jour, tous les rats ont été sacrifiés sous une légère anesthésie de chloroforme. On procède à la dissection des rats dans le but de prélever les foies qui seront tout d'abord rincés au NaCl à 0,9 %, puis ont été conservés dans du formol à 10 % dans le but d'effectuer des observations macroscopiques ce qui permis de détecter l'efficacité du traitement sur les foies. Cette étape a été réalisée selon [83] avec quelques modifications.



Figure 2.10. La dissection d'un rat.

b6) Etude Histologique du pancréas

A la fin de l'expérimentation, les animaux ont été sacrifiés. Après dissection, le pancréas a été immédiatement retiré, lavé dans une solution saline physiologique froide et conservé dans du formol neutre à 10 % dilué dans de l'alcool à 96 %. Ensuite, les tissus ont subi le traitement décrit par [84]. Les coupes en série obtenues ont été inspectées avec un microscope optique (Leica DM500).

c) Activité d'hémocompatibilité in vitro

La capacité des formulations à produire une hémolyse a été évaluée conformément à un paramètre permettant de prédire leur hémocompatibilité. En bref, une dilution 4:5 (v/v) de sang total d'individus sains a été réalisée en utilisant une solution saline normale (0,9 % de NaCl). Des mesures précises des formulations ont été prises. 30 minutes ont été consacrées à l'incubation de chaque échantillon à 37 °C après son immersion dans 5 ml de solution saline normale. Le sang préalablement dilué a ensuite été ajouté à raison de 0,1 ml, et le mélange a été incubé pendant deux heures supplémentaires à 37 °C. Après avoir centrifugé les échantillons pendant 10 minutes à 1 500 tr/min, le surnageant a été extrait. Un contrôle négatif a été ajouté à 5 ml de NaCl à 0,9 % avec 0,1 ml de sang dilué, et un contrôle positif ont également été utilisés, qui comprenait 0,1 ml de sang dilué dans 5 ml d'eau distillée. À $\lambda = 545 \text{ nm}$, l'absorbance a été mesurée. La formule suivante a été utilisée pour calculer l'hémolyse :

$$\text{Hemolysis \%} = \frac{\text{Abs (ech)} - \text{Abs (contrôle négatif)}}{\text{Abs (contrôle positif)} - \text{Abs (contrôle négatif)}} \times 100 \dots \dots \dots (2.6)$$

Tous les protocoles relatifs à l'utilisation des échantillons de sang ont été approuvés par le Comité d'éthique de l'Institut, IIT Madras (IEC/2017/04/VMV/15).

2.5.3. Formulation de l'émulgel

Dans cette troisième partie de la partie pratique, une forme galénique semi solide ; émulsion à base de nanocurcumine a été développée pour une administration transdermique. Les deux phases aqueuse et huile ont été l'eau minérale et l'huile d'amande douce respectivement. L'utilisation de l'eau thermale renforcera les effets thérapeutiques tels que l'activité anti-inflammatoire.

La procédure de préparation est divisée en deux parties : Il s'agit tout d'abord de préparer les deux formulations d'émulsion à base de curcumine brute et à base de nanocurcumine. Dans la deuxième phase, la même préparation est réalisée en substituant l'eau distillée par de l'eau minérale. La caractérisation des préparations finales a été effectuée par des analyses physico-chimiques et microbiologiques et l'activité thérapeutique. Ainsi l'efficacité, la conformité et la stabilité de notre préparation peuvent être confirmées

La valeur thérapeutique des eaux minérales a été largement étudiée par les balnéologues européens. Les sources minérales avec différentes teneurs en minéraux sont souvent recommandées pour des utilisations thérapeutiques spécifiques [85].

2.5.3.1 Préparation de l'émulsion

➤ Micronisation de la curcumine

On a appliqué le même protocole avec les mêmes conditions opératoires citées préalablement au paragraphe 2.5.2.1.

➤ Préparation de la phase aqueuse

Le carbopol 940 a été préalablement incorporé dans l'eau distillée et dans l'eau thermique respectivement L'ensemble est soumis à une homogénéisation à l'aide d'un homogénéisateur ultra-thorax vitesse de 3200 tr/min.

➤ Préparation de la phase huileuse

La phase huileuse a été obtenue en mélangeant de l'huile d'amande douce, de la lécithine et de la solution éthanolique de la Curcumine micronisée, puis homogénéisée. L'éthanol a été enfin évaporé par rotavapeur.

➤ Emulsification

Les deux phases préparées ont été placées dans un bain à ultrasons, puis chauffées séparément sous agitation. L'étape suivante consiste à incorporer la phase huileuse goutte à goutte l'autre dans la phase aqueuse sous homogénéisation pendant 1 h qui a été optimisée. À la préparation obtenue, nous avons ajouté une quantité de la solution NaOH à 10% sous agitateur à hélice afin de provoquer la gélification du carbopol [86]. Comme illustré sur la figure ci-dessous :

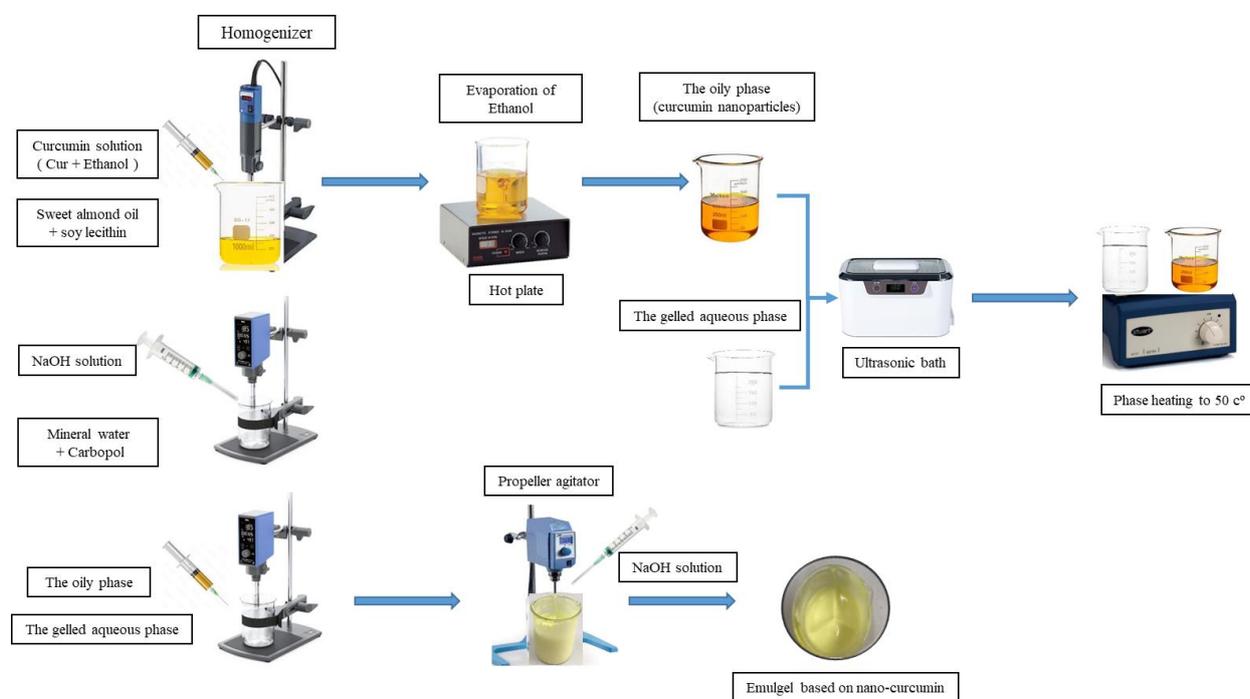


Figure 2.11. Les étapes de formulation de l'émulgel à base de nanocurcumine.

2.5.3.2. Caractérisations physico-chimiques des différentes formulations

a) Détermination de la taille des particules et du potentiel zêta des formulations

Comme décrit précédemment, Le granulomètre ZetaSizer (SZ-100-Z, Kyoto, Japon) a été utilisé pour évaluer les charges et la taille des particules dans l'émulgel à base de

nanocurcumine en utilisant la diffusion dynamique de la lumière (DLS). Avant d'obtenir la moyenne de trois mesures des échantillons dilués dans l'eau, les échantillons ont été préparés et stabilisés sous agitation magnétique pendant 15 minutes. À un angle de détection de 90°, toutes les mesures ont été prises à 25°C.

b) Observations macroscopiques

Les paramètres suivants ont été vérifiés : couleur, texture, consistance, uniformité et d'éventuelles séparations de phases [87].

c) Examen microscopique

Cette observation a été réalisée sur un échantillon d'émulgel placé entre lame et lamelle sous un microscope optique « LEICA » avec un grossissement de 40 x 10. L'objectif était de déterminer la direction de l'émulsion de base et de détecter des formes d'instabilité telles que la floculation ou la coalescence [88].

e) Détermination du sens de la formulation

En utilisant la méthode de la coloration. Un colorant hydrosoluble (bleu de méthylène) a été ajouté à un échantillon d'émulgel. Selon le mode opératoire, une diffusion rapide et homogène du colorant indique que l'émulsion de base est de type huile dans l'eau [86].

d) Analyse physicochimique et rhéologique

- La mesure du pH :

Le pH est mesuré par la méthode potentiométrique à l'aide d'un pH-mètre étalonné (HANNA, Roumanie). Une quantité de l'émulgel a été diluée dans de l'eau distillée pour obtenir une solution aqueuse. Cette solution est ensuite bien agitée pour obtenir une suspension homogène. L'état du système a été maintenu pendant 2 heures. Après une période de 2 heures, le pH a été mesuré en plongeant l'électrode de verre dans la suspension. Les valeurs ont été reprises en triplicata à trois reprises et la moyenne indique le pH calculé [56].

- Stabilité

La stabilité de la préparation a été contrôlée par deux méthodes :

- Centrifugation : en introduisant une quantité d'échantillon dans un tube à centrifuger à arrêt unique à 25 °C à 5000 tr/min pendant 10 minutes. Après centrifugation, les caractéristiques

de stabilité de l'échantillon ont été vérifiées, telles que la séparation de phase, la précipitation, le crémage et la coagulation [89].

- Stabilité accélérée : les formulations ENCM et ENCD ont été soumises à des études de stabilité accélérées pendant une période de 3 mois. Les émulsions préparées ont été stockées dans des tubes de 5 g. La stabilité à des températures de 5 °C, 25 °C et 40 °C a été contrôlée pendant 3 mois. Des échantillons ont été prélevés à des intervalles de 15 jours et les paramètres (pH, taille des particules, potentiel Zêta) ainsi que l'absorbance en UV/VIS analysés. [90].

- **Etude du comportement rhéologique**

Comme précédemment cité, des analyses rhéologiques ont pu confirmer le comportement de l'émulsion. Les courbes d'écoulement ont été déterminées à $20 \pm 0,5$ °C par la variation de la viscosité apparente (η_{app}) en fonction de la contrainte de cisaillement (γ) dans la plage de 10^{-3} (s^{-1}) à 10^3 (s^{-1}).

Pour les formulations ENCD, ENCM, ECD et ECM, un essai de balayage de déformation a été effectué à une fréquence constante (1 Hz) sur une plage de 0,1 % à 100 % afin d'estimer la plage viscoélastique linéaire.

- **Etude du taux d'encapsulation et de la cinétique de dissolution in vitro**

Pour la détermination du taux d'encapsulation de la nanocurcumine, on a fait dissoudre une quantité de la préparation pendant 2 heures dans une fiole jaugée et on mélange convenablement avec un agitateur afin de bien homogénéiser. Ensuite, la solution a été filtrée à l'aide d'un filtre papier Millipore. L'absorbance a été mesurée à 421 nm. Le taux d'encapsulation de la nanocurcumine a été calculé par l'équation ci-dessous [56] :

$$\text{Le taux d'encapsulation (\%)} = (C \times F_d \times V_p \times F_c) \dots\dots\dots (2.7)$$

C : concentration (mg/ml)

F_d : facteur de dilution

V_p : volume prélevé

F_c : facteur de conversion

- **Etude de la libération in-vitro**

Les études de libération du PA ont été menées dans la cellule de diffusion appelée cellule de Franz (**figure 2.12**). L'émulsion a été placée sur la surface de la membrane qui a été fixée

entre la chambre donneuse et la chambre réceptrice de l'échantillon. Des solutions tampons fraîchement préparées ont été ajoutées à la chambre réceptrice pour permettre la solubilisation du médicament. La chambre réceptrice a été agitée à 50 tr/min avec un agitateur magnétique et maintenue à $37 \pm 0,2$ °C. Des échantillons ont été prélevés à des intervalles de temps appropriés. Le spectrophotomètre UV visible à 421 nm a été utilisé pour analyser la teneur en médicament des échantillons et déterminer la quantité totale de nanocurcumine libérée à travers la membrane en fonction du temps [55].

L'étude de dissolution a été réalisée pour comparer le taux de dissolution de l'émulgel à base de formulations de nanocurcumine et d'eau (distillée/minérale) (ENCD/ENCM), par rapport au taux de dissolution de l'émulgel à base de curcumine brute et d'eau (distillée/minérale) (ECD/ECM).

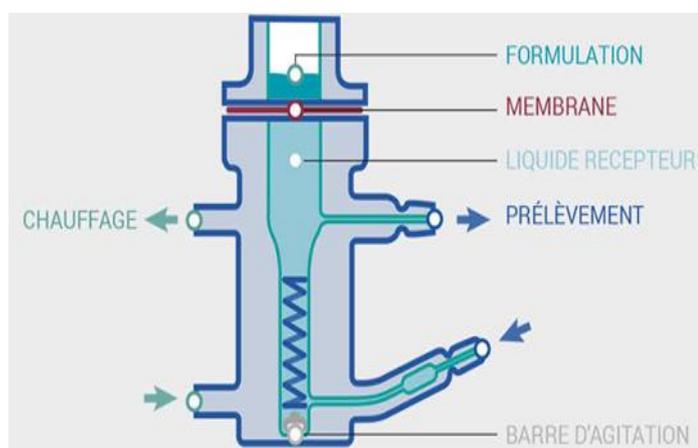


Figure 2.12. Schéma de la cellule de diffusion de Frantz.

2.5.3.3. Évaluation des activités biologiques des formulations

L'évaluation des activités biologiques des formulations s'est concentrée sur la détermination de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire *in vitro* et de l'activité antibactérienne/antifongique.

a) Activité antioxydante *in vitro*

En utilisant le test DPPH, l'activité antioxydante a été évaluée pour les deux émulgels (ENCD, ENCM). Selon [78], la procédure a été expliquée dans le paragraphe (a) 2.5.2.3.

b) Activité anti-inflammatoire in vitro

Une étude comparative a été réalisée en utilisant la méthode de dénaturation thermique des protéines décrite par [91], avec quelques modifications. Le diclofénac sodique a été utilisé comme anti-inflammatoire de référence.

Une série de concentrations standard d'émulgels a été préparée. Le diclofénac sodique a été utilisé comme témoin positif. Un tampon phosphate salin (PBS, pH 6,4) a été produit. Tous les échantillons préparés ont été incubés dans un bain-marie à 37°C, puis chauffés pendant cinq minutes. Les échantillons ont été laissés refroidir à température ambiante. Les absorbances ont été mesurées à 660 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible. Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œuf a été mesurée moyennant l'équation suivante :

$$\% \text{ Inhibition de la dénaturation de l'albumine d'œuf} = \frac{(Ac - An)}{Ac} \times 100 \dots \dots \dots (2.8)$$

Ac : Absorption du témoin

An : Absorption du standard

c) Activité antibactérienne/antifongique

Afin de prouver l'activité antibactérienne de notre principe actif qui est la curcumine, et donc l'efficacité de notre émulgel et sa stabilité contre les bactéries et les champignons, des méthodes standards de microbiologie ont été testés pour évaluer l'activité antibactérienne de l'émulgel contre différentes souches de bactéries Gram-positives et Gram-négatives. La détermination de la zone de l'inhibition (ZI) autour d'émulgel sur les cultures bactériennes a été réalisée lors des tests.

Un milieu Mueller agar Hinton stérile a été utilisé pour l'analyse antimicrobienne de cinq bactéries :

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (Gram-negative).
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (Gram-positive).
- *Escherichia Coli* ATCC 8738 (Gram-negative).
- *Salmonelle Aboney* NCTC 6017 (Gram-negative).
- *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (Gram-positive).

Des boîtes de Petri ont été incubées à 37°C. Après incubation, les boîtes de Petri ont été inspectées pour la recherche de signes éventuels de croissance bactérienne (colonies). Le nombre de colonies détectés à la fin de l'incubation a été pris en compte [92].

Et le milieu Sabouraud Agar a été utilisé pour l'analyse antifongique de deux champignons :

- *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.
- *Candida albicans* ATCC 10231.

La méthode de diffusion en puits d'agar a été adoptée pour évaluer l'activité antifongique des préparations comme décrit [93]. Des champignons ont été ajoutés sur des plaques SDA. Un perce-bouchon stérilisé a été utilisé pour percer des trous de 6 mm et les émulsions préparés ont été administrés de manière aseptique. Les zones d'inhibition ont été mesurées.

CHAPITRE 3/ RESULTATS ET DISCUSSION

3.1.Introduction

Les principaux résultats expérimentaux obtenus lors de cette présente étude seront présentés, argumentés et interprétés dans ce troisième chapitre, ils peuvent être résumés aux points suivants :

- L'optimisation de l'extraction de la curcumine et caractérisation des extraits.
- Caractérisation de la curcumine micronisée.
- Caractérisation physicochimique des deux formulations.
- Évaluation des activités biologiques

3.2. Optimisation de l'extraction de la curcumine et effet des additifs sur l'amélioration de la solubilité

L'un des objectifs principaux de cette étude concerne l'amélioration de la solubilité de la curcumine dans l'eau précisément dans le milieu physiologique. L'extraction de la curcumine du rhizome a donné lieu à une poudre de couleur jaune comparable du point de vue aspect à la curcumine de grande pureté et de grade pharmaceutique.

3.2.1. Calcul du rendement

La détermination du rendement d'extraction de la curcumine a été effectuée en se basant sur la quantité de curcuminoïdes présents initialement dans la masse de 15g de curcuma. Étant donné que 100 g de curcuma contiennent seulement 3% du total des curcuminoïdes, et comprennent la curcumine, dans notre cas, les 15g contiennent 0,45g de curcuminoïdes. Le calcul du rendement a été effectué en utilisant les courbes d'étalonnage, sachant que les équations d'étalonnage sont les suivantes :

Dans l'éthanol : $Y = 7.25 X + 0.006$; $R^2 = 99.8\%$

Dans l'acétone : $Y = 3.28 X - 0.01$; $R^2 = 99.5\%$

Tableau 3.1. : Les rendements calculés de l'extraction.

Numéro d'expérience	La masse d'additifs (g)	Le solvant	L'additifs	Rendement (%)
1	0.5	Ethanol	Pipérine	0.537
2	1.25	Ethanol	Pipérine	0.5675
3	2	Ethanol	pipérine	0.9384
4	0.5	Acétone	Pipérine	1.8569
5	1.25	Acétone	Pipérine	1.8557
6	2	Acétone	Pipérine	1.9292
7	0.5	Ethanol	Fenugrec	1.15
8	1.25	Ethanol	Fenugrec	1.6291
9	2	Ethanol	Fenugrec	2.2866
10	0.5	Acétone	Fenugrec	1.05
11	1.25	Acétone	Fenugrec	0.9296
12	2	Acétone	Fenugrec	1.5874
13	-	Ethanol	-	0.307
14	-	acétone	-	1.013

3.2.2. Plan d'expérience

Dans cette étude, l'accent a été mis sur l'impact des trois facteurs choisis sur le rendement, tout en vérifiant également l'existence d'interactions entre eux. C'est pourquoi nous avons utilisé la méthodologie du plan d'expériences, qui nous a permis de mieux comprendre les phénomènes mis en jeu tout en minimisant le nombre d'essais.

3.2.2.1. La matrice expérimentale

L'utilisation du logiciel MODDE 6, nous a permis d'identifier les effets des facteurs et leurs interactions, d'optimiser l'extraction et de déterminer le modèle mathématique adéquat.

La matrice expérimentale est illustrée sur la figure suivante :

	1	2	3	4	5	6	7	8
	Exp No	Exp Name	Run Order	Incl/Excl	Solvant	Additif	Quantité	Rendement
1	1	N1	7	Incl	Ethanol	Pipérine	0,5	0,537
2	2	N2	2	Incl	Acétone	Pipérine	0,5	1,8569
3	3	N3	6	Incl	Ethanol	fenugrec	0,5	1,15
4	4	N4	3	Incl	Acétone	fenugrec	0,5	1,05
5	5	N5	9	Incl	Ethanol	Pipérine	1,25	0,5675
6	6	N6	11	Incl	Acétone	Pipérine	1,25	1,8557
7	7	N7	4	Incl	Ethanol	fenugrec	1,25	1,6291
8	8	N8	12	Incl	Acétone	fenugrec	1,25	0,9296
9	9	N9	5	Incl	Ethanol	Pipérine	2	0,9384
10	10	N10	1	Incl	Acétone	Pipérine	2	1,9292
11	11	N11	13	Incl	Ethanol	fenugrec	2	2,2866
12	12	N12	10	Incl	Acétone	fenugrec	2	1,5874
13	13	N13	8	Incl	Ethanol	Pipérine	0,5	0,62

Figure 3.1. La matrice expérimentale.

Une fois que le modèle a été sélectionné, les résultats de l'extraction ont été ajoutés, ce qui correspond aux valeurs des rendements calculés. Ensuite, on passe à l'étape de fit du modèle. Notre modèle a été présenté et les résultats obtenus sont les suivants :

$$R^2 = 0.962749$$

$$Q^2 = 0.810626$$

$$\text{Validité du modèle} = 0.654618$$

$$\text{Reproductibilité} = 0.98995$$

D'après ces résultats, on peut conclure que notre modèle est valable et significatif.

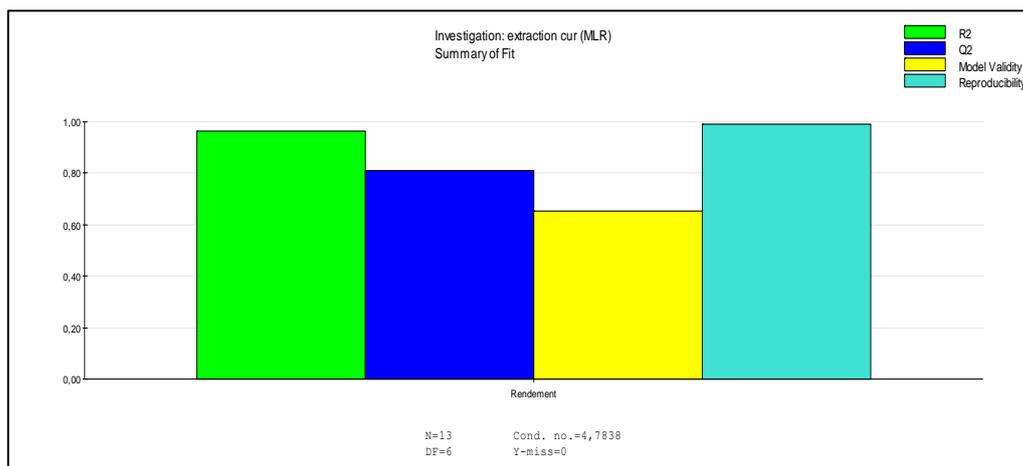


Figure 3.2. Représentation des coefficients de corrélation, prédiction, validité du modèle et de la reproductibilité.

3.2.2.2. Analyse des résidus

La vérification de l'adéquation du modèle consiste à représenter la valeur optimisée en fonction de la valeur expérimentale. Un résidu est la différence entre la réponse mesurée et la réponse calculée. On remarque sur le graphique ci-dessous que les points sont remarquablement proches de la bissectrice, ce qui montre une bonne adéquation sur toute l'étendue des valeurs.

Tableau 3.2. La représentation numérique des résidus.

Rendement	Observé	Prédite	Obs - Pred	Conf. int()
1	0,537	0,518441	0,0185586	0,251787
2	1,8569	1,89091	-0,0340068	0,326962
3	1,15	1,16672	-0,0167239	0,326962
4	1,05	0,873843	0,176157	0,326962
5	0,5675	0,714819	-0,147319	0,202537
6	1,8557	1,8806	-0,0249003	0,225756
7	1,6291	1,68857	-0,0594665	0,225756
8	0,9296	1,189	-0,259399	0,225756
9	0,9384	0,911197	0,0272027	0,328858
10	1,9292	1,87029	0,0589072	0,326962
11	2,2866	2,21041	0,0761907	0,326962
12	1,5874	1,50416	0,0832431	0,326962
13	0,62	0,518441	0,101559	0,251787

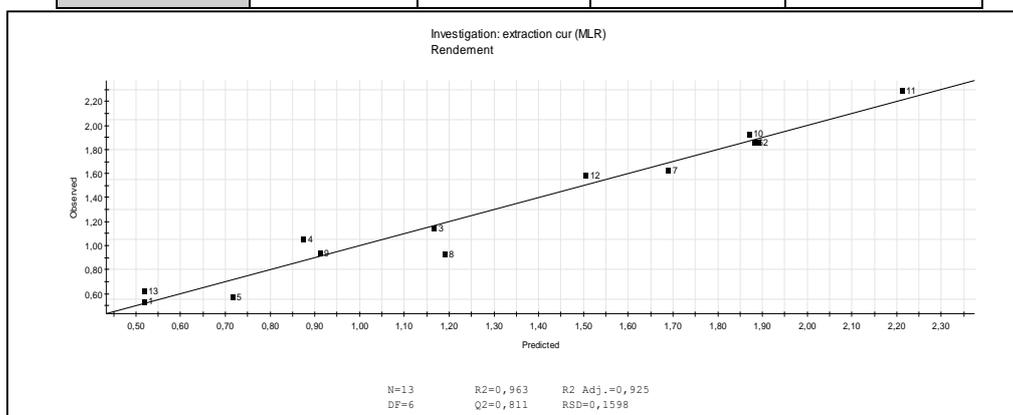


Figure 3.3. La représentation graphique des résidus.

3.2.2.3. Modélisation mathématique

Le calcul et la définition des effets des facteurs sont réalisés grâce au modèle mathématique, qui met en évidence l'existence d'interactions pour obtenir les conditions optimales.

Le plan factoriel que nous avons est un plan discontinu, ce qui explique notre modèle mathématique de cette manière :

⇒ **Ethanol, pipérine**

$$Y = 0.941 - 0.338X_1 + 0.200X_2 + 0.341X_3 - 0.416X_1X_2 + 0.137X_1X_3 - 0.216X_2X_3$$

⇒ **Ethanol, fenugrec**

$$Y = 0.941 - 0.338X_1 - 0.200X_2 + 0.341X_3 + 0.416X_1X_2 + 0.137X_1X_3 + 0.216X_2X_3$$

⇒ **Acétone, pipérine**

$$Y = 0.941 + 0.338X_1 + 0.200X_2 + 0.341X_3 + 0.416X_1X_2 - 0.137X_1X_3 - 0.216X_2X_3$$

⇒ **Acétone, fenugrec**

$$Y = 0.941 + 0.338X_1 - 0.200X_2 + 0.341X_3 - 0.416X_1X_2 - 0.137X_1X_3 + 0.216X_2X_3$$

- Le facteur X_3 (la masse d'additif) présente la grande valeur, donc il a un effet plus important que les autres facteurs qui sont : X_1 (le type du solvant) et X_2 (type d'additif) ;
- Le facteur X_1 présente un signe négatif lorsqu'il s'agit de l'éthanol, ce qui a un impact négatif sur le rendement, contrairement à l'acétone, où les rendements obtenus pour l'extraction sont les meilleurs ;
- Le signe du facteur X_2 est négatif quand il s'agit de fenugrec, donc il a un effet négatif sur le rendement contrairement au pipérine ;
- L'acétone et la pipérine est la meilleure coordination pour extraire le maximum de curcumine ;

L'analyse ANOVA joue un rôle crucial dans la prédiction de la signification d'un effet ou d'un modèle mathématique, selon les résultats obtenus par cette dernière, le modèle était hautement significatif ($p < 0,01$) comme le montre le tableau ci-dessous.

Tableau 3.3. Les résultats de l'analyse ANOVA.

Rendement	DF	SS	MS	F	p	SD
			(variance)			
Total	13	26,1804	2,01388			
Constant	1	22,0673	22,0673			
Total Correcte	12	4,11308	0,342757			0,585455
Régression	6	3,95987	0,659978	25,8447	0,000	0,81239
Résiduel	6	0,153218	0,0255363			0,159801
Lack of Fit	5	0,149773	0,0299547	8,69625	0,252	0,173074
(Model Error)						
Pure Error	1	0,00344455	0,00344455			0,0586903
(Replicate Error)						
N = 13	Q2 =	0,811	Cond. no. =	4,7838		
DF = 6	R2 =	0,963	Y-miss =	0		
	R2 Adj. =	0,925	RSD =	0,1598		

3.2.3. Identification des groupements fonctionnels par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

Les extraits ont été analysés par spectrophotométrie infrarouge dans la gamme de 4000 à 500 cm⁻¹, réalisée sur des pastilles de bromure de potassium (KBr) comme décrit dans la partie expérimentale. Il faut souligner que dans le cadre de cette recherche, l'analyse est totalement qualitative et met en lumière la présence d'additifs dans l'extrait final.

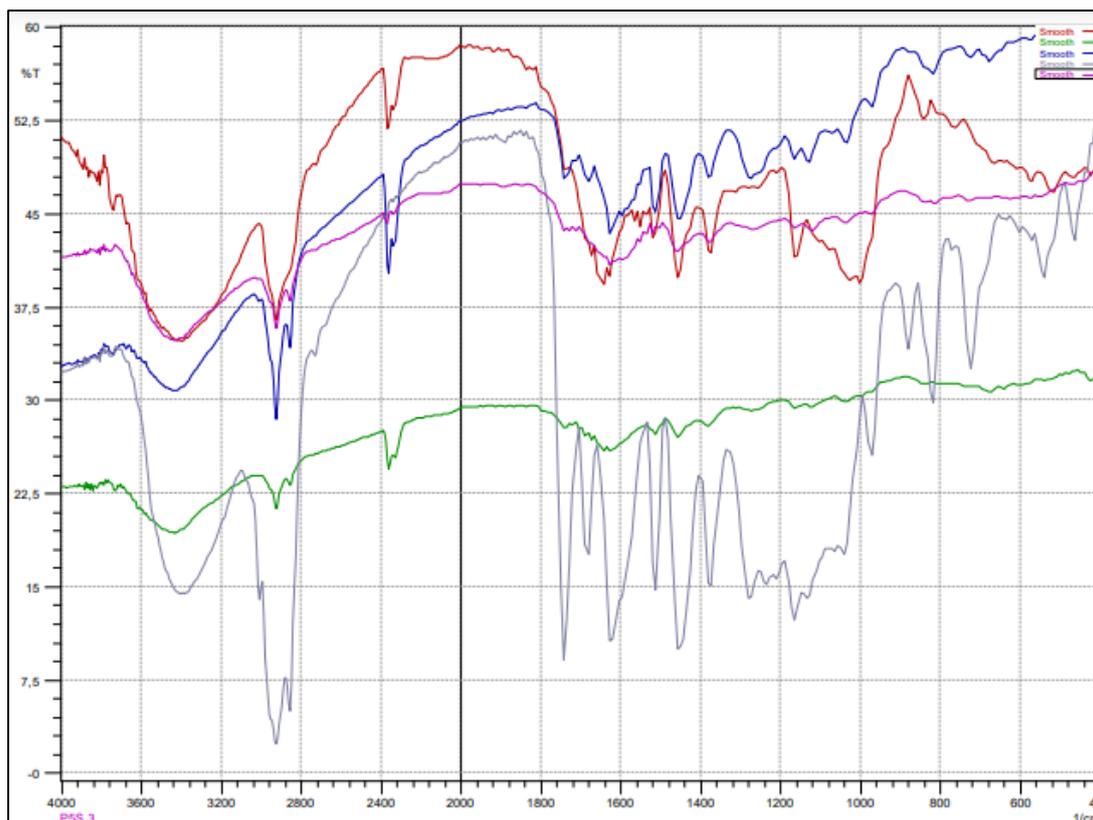


Figure 3.4. Spectres infrarouges des extraits de curcuma (gris), pipérine (rose) et fenugrec(vert).

L'analyse des spectres a mis en évidence les groupements fonctionnels distinctifs. Le tableau suivant reprend les bandes les plus significatives mises en évidence sur le spectre infrarouge des extraits :

Tableau 3.4. Les groupements fonctionnels caractéristiques des extraits.

Fréquences (cm ⁻¹)	Groupement correspondant	Intensité
1465 – 1458 – 1450 - 1442	Liaison C=C (aromatique)	Faible à Forte Intense
1635 – 1620 – 1666 - 1650	Liaison C=N (correspond aux pipérine et fenugrec)	Intense Moyenne
2931– 2923 – 2939	Liaison C-H alcane	Intense
3448 – 3479 – 3471 - 3440	Liaison O-H (alcools, phénols)	Faible

- Les bandes vers 1620 cm⁻¹ correspondant au mode vibration de l'allongement C=N qui ont confirmé l'extraction de la curcumine du curcuma avec la pipérine et fenugrec.

- La bande large aux environs de 3400 cm^{-1} a été affectée aux vibrations du groupe hydroxyle libre du Phénol (Ar-OH).

Ces résultats préliminaires semblent confirmer bien l'existence des additifs dans l'extrait final.

3.2.4. Etude de la cinétique de dissolution in-vitro

Les résultats de l'étude de la cinétique de dissolution sont présentés sur la figure suivante :

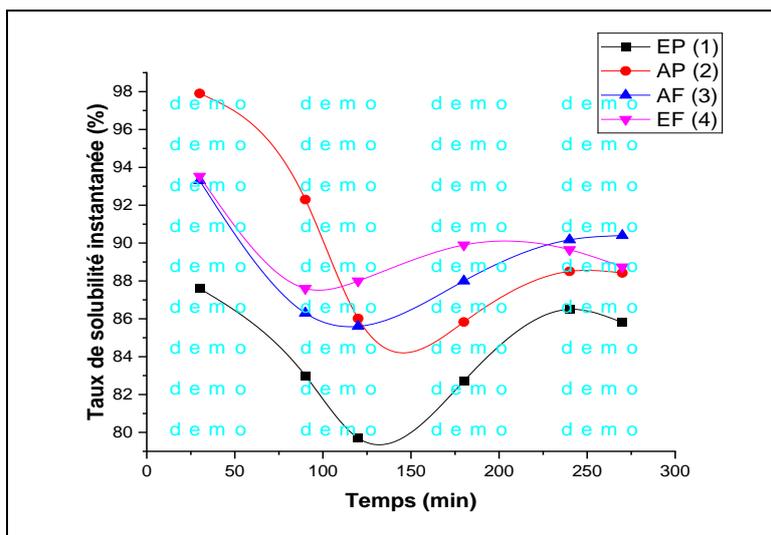


Figure 3.5. Les profils de libérations des extraits.

A la lumière de cette figure, il apparaît clairement que la solubilité de la curcumine pour les quatre extraits atteint un maximum durant 30 min, ensuite elle diminue en fonction du temps pour atteindre le minimum entre 1h30 et 2h. Une période de stabilité a été constatée suivie d'une diminution aux environs de 30 minutes, puis une augmentation de la concentration a été détectée de nouveau.

3.3. Etude de l'effet de la formulation sur le diabète

3.3.1 Caractérisations physico-chimiques des formulations à base de curcumine micronisée

a) Détermination de la taille et du potentiel zêta de la curcumine micronisée

La taille des particules et les indices de polydispersité (PDI) de la nanocurcumine ont été déterminés par DLS et illustrés dans la figure 3.6. Les résultats obtenus montrent, d'une part, que la taille moyenne des particules de la curcumine dans la formulation CURA (1) était de 102,8 $\text{nm} \pm 0,1$ avec un PDI de 0,390. D'autre part, la taille moyenne des particules de la curcumine dans le CURF (2) était de 95,7 $\text{nm} \pm 0,1$ avec un PDI de 0,420, ce qui confirme que

la taille des particules a été réduite du micromètre au nanomètre. De plus, les valeurs PDI sont inférieures à 1, ce qui indique que la distribution granulométrique est homogène dans la solution de nano curcumine.

La plupart des nanoparticules de 10 à 100 nm ont été utilisées pour diverses applications médicales et des essais cliniques [94]. L'analyse du potentiel zêta a montré que les deux formulations de nanoparticules de curcumine ont des valeurs de potentiel zêta positif de 35,4 mV $\pm 0,1$ et 40,6 mV $\pm 0,1$ pour les formulations CURA et les formulations CURF, respectivement. Ces résultats montrent la présence de fortes interactions électrostatiques entre les nanoparticules de curcumine. Cela permet d'éviter que les particules de nano curcumine se rassemblent et forment des agglomérats, ce qui contribue à la stabilité des nanoparticules de curcumine.

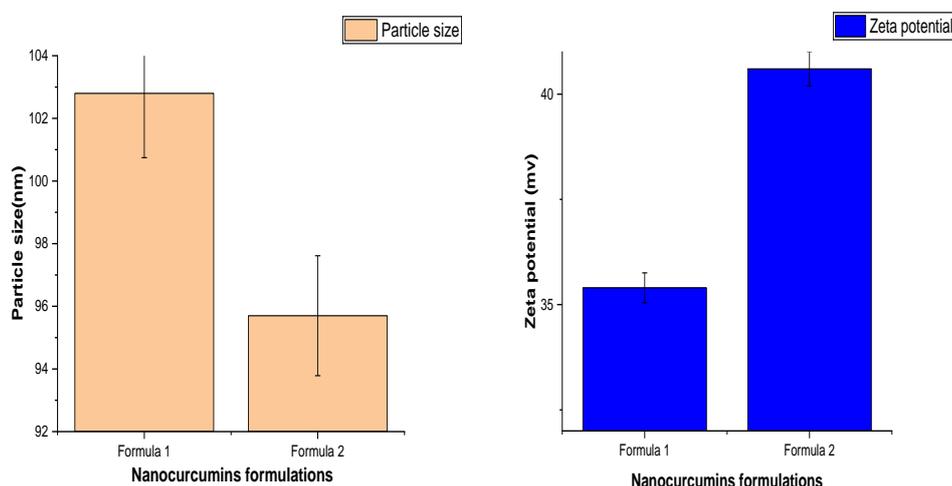


Figure 3.6. Histogramme représentant la variation de la taille des particules et du potentiel zêta des formulations de nanocurcumines.

b) Identification par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) du mucilage de fenugrec

Le spectre FTIR du mucilage de fenugrec est illustré sur **la figure 3.7**, où les différents pics correspondant aux groupements fonctionnels caractéristiques sont clairement observés. La bande caractéristique entre 3425,69 et 3379,40 cm^{-1} est attribuée à l'étirement du groupement hydroxyle (-OH). Les pics détectés à 2924,18 cm^{-1} et 1627,97 cm^{-1} sont caractéristiques des liaisons C-H et C-C, respectivement. Deux autres bandes d'absorption ont été détectées entre

1435,09 cm^{-1} à 1265,35 cm^{-1} et de 1149,61 cm^{-1} à 1026,16 cm^{-1} , caractéristiques du groupement C-O, mais leurs intensités sont relativement faibles

Les résultats obtenus lors de nos expériences sont conformes à ceux rapportés par [77] pour le mucilage de fenugrec isolé de *Trigonelle foenumgraceum*.

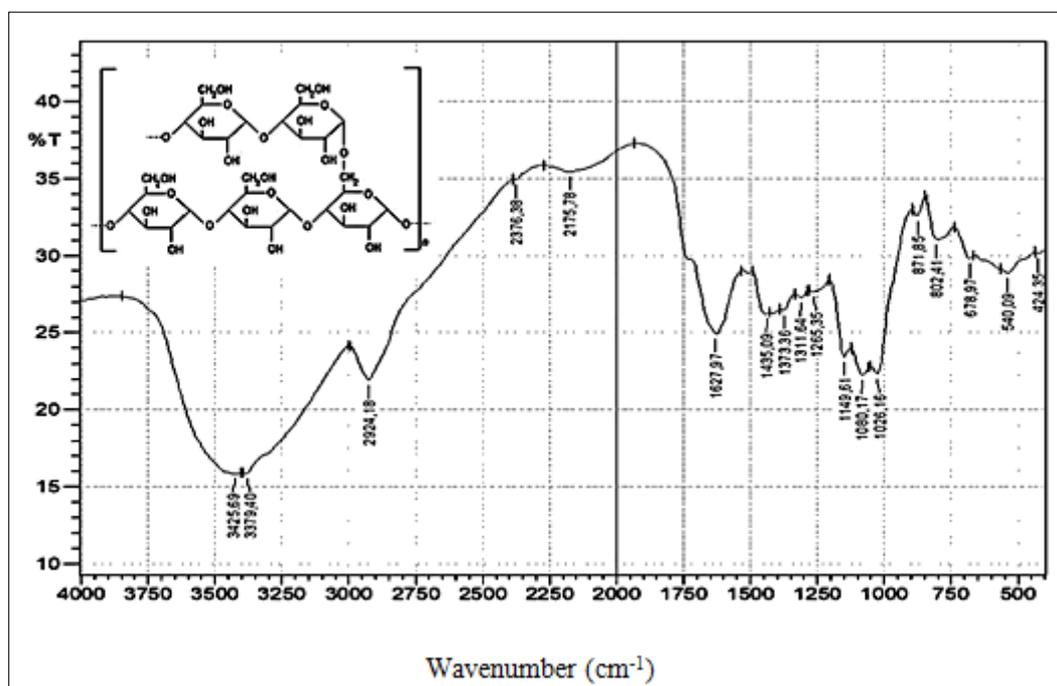


Figure 3.7. Spectre FTIR du mucilage de fenugrec.

c) Caractérisation de la première formulation à base de nano curcumine

➤ Mesure du pH

Les mesures du pH pour la préparation à base d'amidon de maïs (CURA) et la formulation à base de mucilage de fenugrec (CURF) sont respectivement de $6,22 \pm 0,1$ et $6,94 \pm 0,1$. Ces valeurs sont donc proches de la neutralité mais restent acides (< 7). À pH acide, la stabilité de la curcumine est améliorée du fait qu'elle existe sous sa forme énolique, qui est plus stable que la structure céto dans des conditions alcalines [95], [96]. La sensible dégradation de la curcumine démontrée dans l'intervalle de pH 7-10 a conduit les chercheurs à maintenir le pH de travail en dessous de 7 pour assurer la stabilité [97].

➤ Mesure de la densité

Les résultats des mesures de densité obtenus ont montré que pour la formulation à base de mucilage de fenugrec CURF ($1,15 \pm 0,1$), ce paramètre est légèrement supérieure à celle du

formulation à base d'amidon de maïs CURA ($1,10 \pm 0,1$). Cette faible différence est probablement liée à la nature et aux propriétés physico-chimiques des biopolymères utilisés.

➤ **Mesure du degré Brix**

Les valeurs Brix renseignent sur la douceur des produits. Les deux formulations édulcorées à la stevia rebaudiana ont montré un niveau Brix de $1,3341^\circ$ pour CURA et de $1,3369^\circ$ pour CURF. Ces valeurs sont significativement plus faibles par rapport à une solution à base de saccharose, où les valeurs Brix sont beaucoup plus élevées [98]. De plus, aucune différence significative de valeur Brix n'a été observée entre les deux formulations. Ces résultats sont très intéressants pour les patients diabétiques, sachant que la stevia a un pouvoir sucrant 300 fois supérieur au saccharose à zéro calorie [99], ce qui en fait l'un des édulcorants les plus utilisés pour le contrôle du poids chez les individus obèses suivant un régime hypocalorique. Il a également été rapporté que la stevia diminuait les taux de glucose sanguin et la résistance à l'insuline [99], [100].

d) Détermination de la taille des particules et du potentiel zêta des formulations

La taille des particules de la nanocurcumine encapsulée dans les sirops formulés est présentée dans la **Figure 3.8**. Les résultats obtenus montrent que la taille moyenne des deux formulations, CURA et CURF, est de $117 \text{ nm} \pm 0,1$ et $119,9 \text{ nm} \pm 0,1$, avec des indices de polydispersité (PDI) de 0,495 et 0,509, respectivement. Ces résultats ont démontré que l'encapsulation de la nano curcumine dans les biopolymères d'amidon de maïs et de mucilage de fenugrec a permis de maintenir la taille nanométrique de la nano curcumine pratiquement inchangée, permettant aux formulations d'être stables. Sinon, les particules de la solution de nano curcumine non encapsulée peuvent s'agréger, provoquant une déstabilisation au fil du temps et une augmentation de la taille des particules. La taille des particules, la surface, la charge de surface et l'hydrophobicité sont des propriétés physicochimiques importantes qui rendent la nano curcumine plus efficace que la curcumine native [101]. Les caractéristiques de la curcumine varient en fonction du changement de taille des particules à l'échelle nanométrique. Il a été constaté que la réduction de la taille des particules améliore considérablement l'efficacité de la nano curcumine et la rend supérieure à la curcumine native [94].

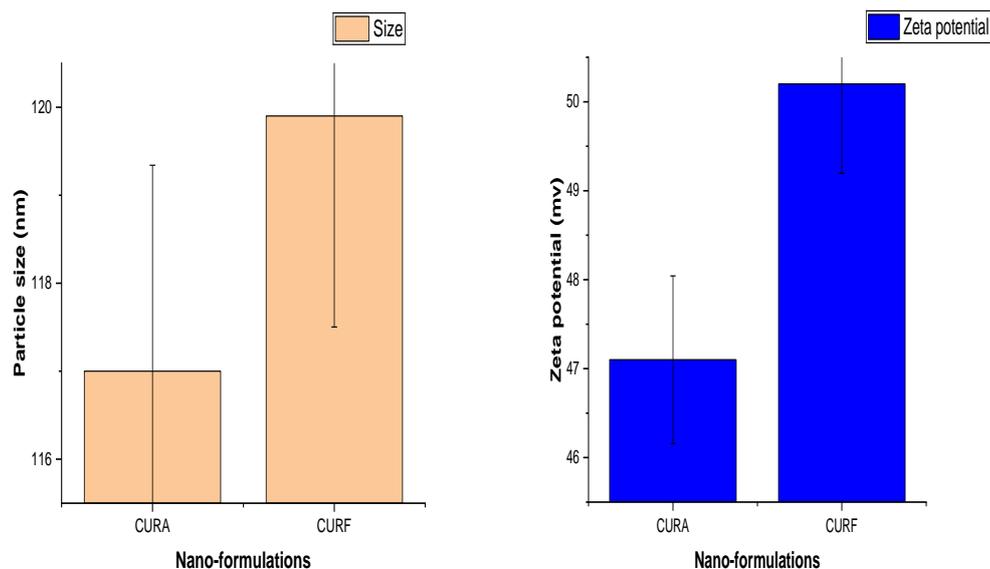


Figure 3.8. Histogramme illustrant la variation de la taille des particules et du potentiel zêta des formulations CURA et CURF.

Les résultats du potentiel zêta obtenus pour les nanoparticules de curcumine encapsulées dans les formulations CURA et CURF montrent des valeurs de $47,1 \pm 0,1$ mV et $50,2 \pm 0,1$ mV, respectivement. Ces valeurs sont légèrement supérieures à celles enregistrées pour la solution de nano curcumine non encapsulée.

Bhattacharjee (2016) a précédemment rapporté que les nanoparticules à potentiel zêta élevé sont relativement stables car elles se repoussent et leur fréquence de collision est inexistante ou relativement faible [102]. Le potentiel électrique des nanoparticules est défini par la charge de surface et il est entièrement lié à la composition chimique des nanoparticules.

Les recherches de Muller et Keck ont prouvé que les potentiels zêta négatifs et positifs jouent un rôle crucial dans la prévention de l'agrégation des nanoparticules. La curcumine a tendance à former des agrégats et est susceptible d'opsonisation en raison de sa solubilité limitée dans l'eau. En revanche, la nanocurcumine présente une dissolution complète dans les milieux aqueux, évitant la formation d'agrégats [103].

En particulier, les nanoparticules à surface chargée positivement sont souvent considérées comme avantageuses, car cette propriété facilite une meilleure pénétration à travers les membranes cellulaires et conduit à un taux d'absorption plus élevé par rapport aux particules chargées négativement [104].

e) Etude du comportement rhéologique

La figure 3.9 ci-dessous illustre les courbes d'écoulements des formulations de nano curcumine sous contrainte en fonction du taux de cisaillement. Les courbes obtenues présentent deux sections différentes : la première est caractéristique du comportement non Newtonien, où l'on voit clairement que la viscosité diminue avec l'augmentation du taux de cisaillement, correspondant à un comportement plastique d'où la viscosité à t_0 tend vers l'infinie. Ce dernier comportement est lié, d'une part, au démêlage des chaînes polymères dans le sens de l'écoulement et à l'alignement de leurs chaînes dans le sens de l'écoulement, ce qui a conduit, d'autre part, à la diminution de l'interaction des chaînes polymères [104], [105].

D'autre part, la deuxième section présente un comportement typiquement newtonien, où la viscosité reste constante et invariante avec l'augmentation de la contrainte. Cela pourrait s'expliquer par une structure assez rigide au repos, qui est immédiatement détruite par l'application du cisaillement, résultant en un réseau cassant. Au fur et à mesure que le taux de cisaillement augmente, les molécules de polymère, les chaînes positionnées de manière aléatoire, deviennent de plus en plus alignées dans la direction de l'écoulement, ce qui entraîne une rupture des liaisons entre les chaînes de polymère adjacentes.

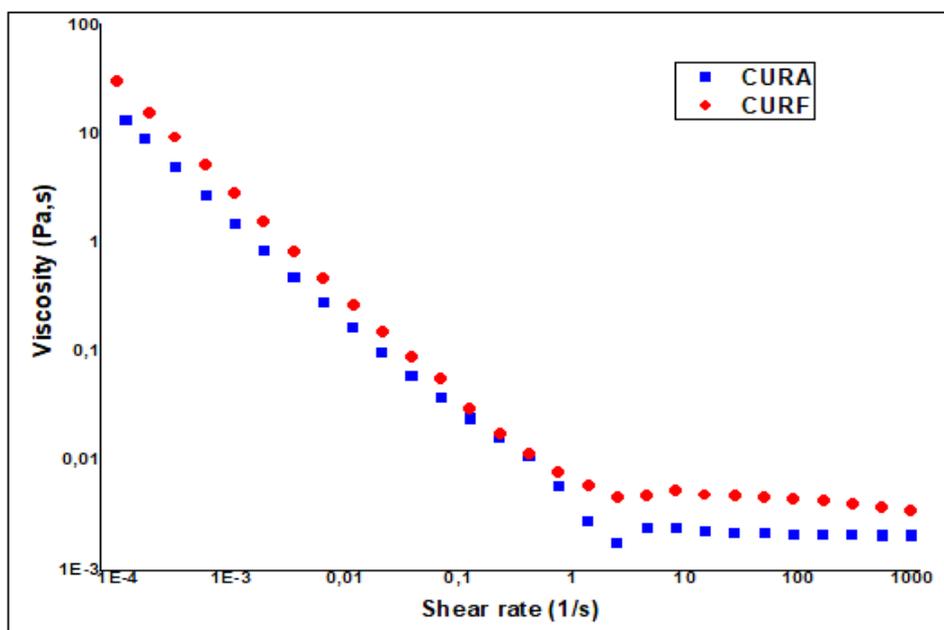


Figure 3.9. Evolution de la viscosité des formulations CURF et CURA en fonction du taux de cisaillement.

Ce comportement est parfaitement adapté aux solutions diluées, comme notre produit. Néanmoins, on observe que la formulation à base de fenugrec (4×10^{-3} Pa.s) est légèrement plus visqueuse que celle à base d'amidon (2×10^{-3} Pa.s). Cela démontre la rigidité plus élevée du réseau de mucilage de fenugrec, probablement due à la présence d'interactions moléculaires d'entrelacement (inter-intra) plus fortes entre les chaînes polymères, ce qui augmente la rigidité du réseau de gel, le rendant plus difficile à perturber.

Les tests de viscoélasticité confirment les résultats obtenus dans des conditions d'écoulement. **La figure 3.10** montre que dans le domaine linéaire, à faible déformation, le comportement est légèrement plus élastique que visqueux, ce qui se traduit par des valeurs de G' légèrement supérieures à celles de G'' , ce qui implique une bonne stabilité de notre produit au repos.

Le G' des échantillons était supérieur à G'' dans la région LVR et avant le point d'écoulement (G^* correspond au point de croisement auquel $G'=G''$), ce qui démontre un comportement de type solide (gel) dans les solutions. Cependant, on observe que la formulation à base de fenugrec présente une plage LVR plus grande que dans la formulation à base d'amidon de maïs, démontrant à nouveau la plus grande rigidité du réseau polymère de mucilage de fenugrec, ce qui indique des interactions plus dures entre les macromolécules et une structure plus serrée [106].

Lorsque la déformation dépasse la valeur du point d'écoulement (G^*), le comportement s'inverse et devient plus liquide ($G'' > G'$). A forte déformation, les valeurs de G' diminuent plus rapidement que celles de G'' , qui, en revanche, enregistrent une diminution moins rapide ou un plateau qui correspond à une atteinte rapide du comportement liquide visqueux newtonien par les produits. Cependant, on observe clairement que le comportement liquide s'établit plus rapidement dans la gamme de déformation pour la formulation CURA que pour celle CURF, démontrant une fois de plus la structure plus serrée du réseau de gel de mucilage de fenugrec [105], [106], [107].

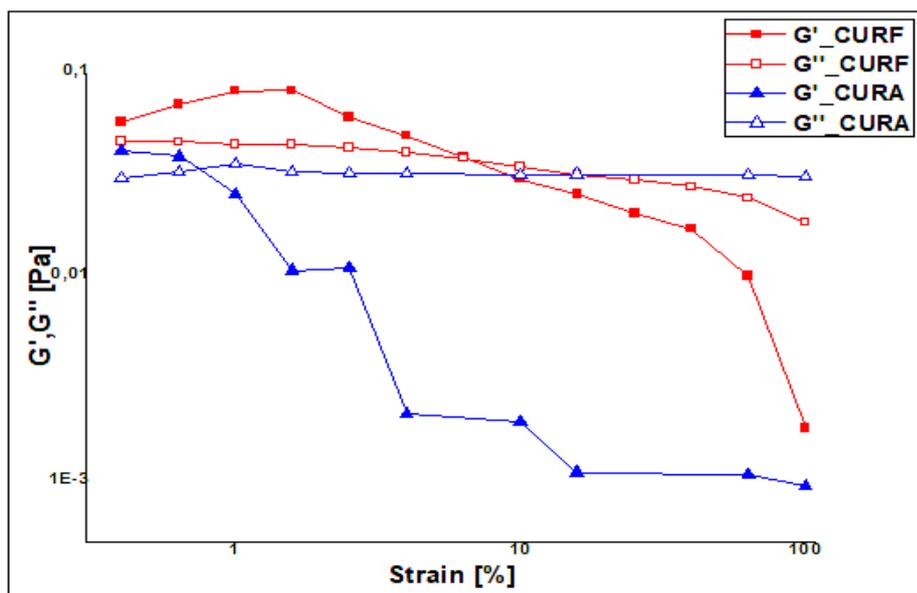


Figure 3.10. Profils de viscoélasticité des formulations CURA et CURF.

f) Etude du taux d'encapsulation et de la cinétique de dissolution in vitro

Les taux d'encapsulation des nanocurcumines dans les formulations sont de 75 % pour CURA et de 85 % pour CURF. De plus, le taux d'encapsulation des nanocurcumines dans le mucilage de fenugrec est relativement meilleur que celui de l'amidon de maïs, ce qui semble être dû aux caractéristiques des deux polymères. Ces résultats sont probablement dus, d'une part, au fait que le mucilage de fenugrec forme une coque autour des nanoparticules de curcumine sous la forme d'une capsule transparente de type gel, qui représente une sorte de paroi cellulaire modifiée avec tous les polysaccharides typiques [108]. D'autre part, la surface extérieure de l'amidon est hydrophile, mais elle présente une cavité axiale ouverte, qui est hydrophobe et capable d'inclure d'autres molécules non polaires en cas de compatibilité géométrique [109].

Les profils de libération de nano curcumine des deux formulations de sirop, CURA et CURF en plus du profil de dissolution de la curcumine brute, dans le milieu intestinal simulé sont présentés dans la Figure 3.11. On observe que le taux de libération de nano curcumine encapsulée dans l'amidon de maïs (CURA) et le biopolymère de mucilage de fenugrec (CURF) augmente progressivement avec le temps pour atteindre un taux maximal de 75 % après 180 min et de 82,5 % respectivement (indiquant une libération contrôlée de curcumine). Comparé à la curcumine brute, qui a atteint un taux maximal de 12,82 % après 60 min, les résultats ci-dessus montrent que le taux de dissolution a été amélioré de 62 % dans CURA et de 70 % dans CURF. De plus, on remarque clairement que le taux de libération de nano curcumine encapsulée

dans le mucilage de fenugrec est relativement meilleur par rapport au taux de libération de nano curcumine encapsulée dans l'amidon de maïs. Cela peut être dû à la morphologie du matériau d'encapsulation et au mécanisme de diffusion de la curcumine à travers le réseau macromoléculaire. Le mécanisme d'action physiologique est lié à la capacité de rétention d'eau à travers la matrice hydrophile et aux propriétés épaississantes du mucilage de fenugrec, qui provoquent un ralentissement et une libération contrôlés de l'ingrédient actif [110]. Pour l'amidon de maïs, la libération d'un composé actif à partir d'un système de distribution de type matriciel peut être contrôlée par diffusion, érosion ou une combinaison des deux. L'érosion homogène et hétérogène est détectable. L'érosion hétérogène se produit lorsque la dégradation est confinée à une fine couche à la surface du système de distribution, tandis que l'érosion homogène est le résultat d'une dégradation se produisant à un rythme uniforme dans toute la matrice polymère [111].

La surface est également une caractéristique primordiale des nanoparticules. En premier lieu, les matériaux constitués de nanoparticules ont une surface relativement plus grande, ce qui augmente le taux de dégradation et la solubilité aqueuse, ce qui conduit à une biodisponibilité accrue des médicaments. Néanmoins, une grande surface améliore la réponse d'un médicament à une cible moléculaire spécifique et améliore son activité pharmacologique [112].

Les variations observées dans les taux de dissolution entre les deux formulations et la curcumine brute correspondent aux résultats de la littérature existante [47]. Ces différences soulignent la biodisponibilité limitée de la curcumine, un facteur entravant son application dans les produits pharmaceutiques. Cela souligne l'importance de réduire la taille de la curcumine à l'échelle nanométrique et d'encapsuler les nanoparticules dans des biopolymères. Cette approche facilite un mécanisme de libération contrôlée de la nano curcumine, répondant aux défis associés à la disponibilité de la curcumine et améliorant son efficacité thérapeutique potentielle.

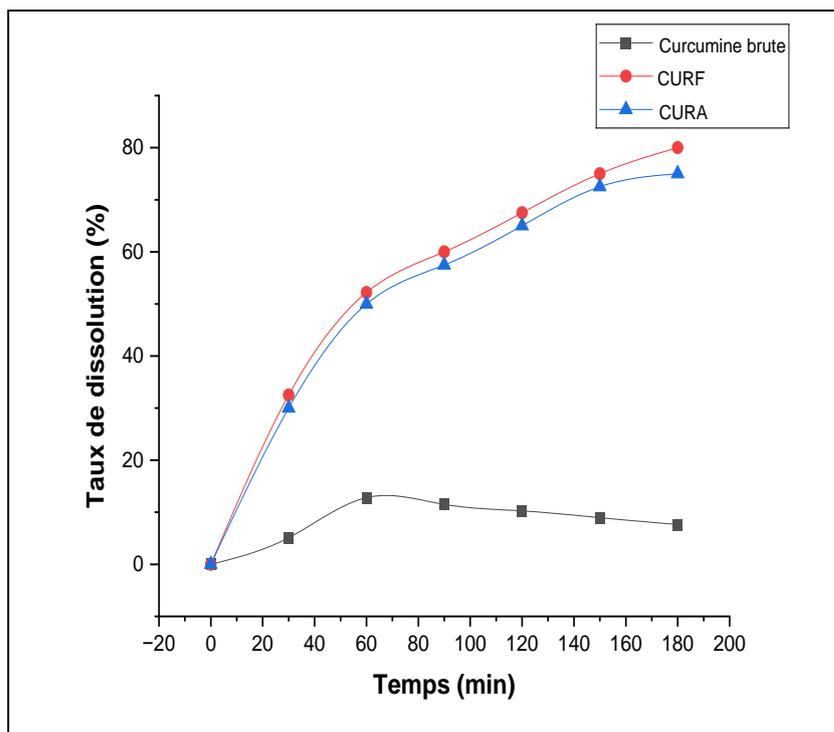


Figure 3.11. Profils de dissolution de la curcumine brute et les formulations.

3.3.2. Evaluation des activités biologiques des formulations

(a) L'activité antioxydante in-vitro

Les résultats de l'étude de l'activité antioxydante ont montré que la formulation CURF présente un pourcentage d'inhibition plus élevé, égal à 75 %, par rapport à 60 % pour le sirop CURA. Par ailleurs, il est également démontré que l'encapsulation de la nanocurcumine dans des biopolymères améliore considérablement son activité de piégeage des radicaux libres par rapport à la curcumine libre, qui présente un pourcentage d'inhibition de 32,31 %. Cette activité antioxydante améliorée dans les deux formulations par rapport à la curcumine libre peut être due, d'une part, à la présence de stevia dans les deux formulations, comme indiqué précédemment par [113], [114].

D'autre part, le pourcentage d'inhibition plus élevé de CURF est probablement dû à l'activité antioxydante supplémentaire du mucilage de fenugrec comme démontré par [68], résultant de l'effet synergique du mucilage de fenugrec avec la stevia et la curcumine par rapport à CURA, qui contient de l'amidon de maïs et est dépourvu de tout effet antioxydant comme indiqué précédemment par [115], [116].

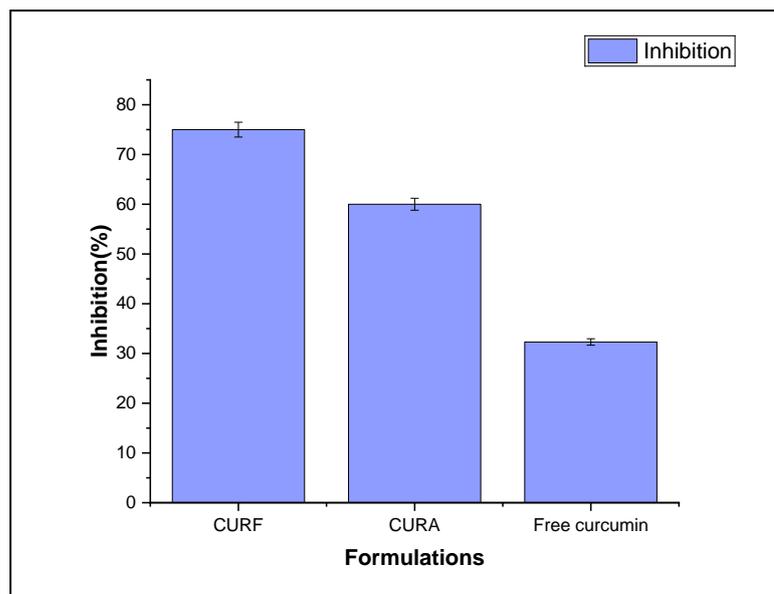


Figure 3.12. Le pourcentage d'inhibition de CURA et CURF par rapport à la curcumine brute.

b) L'activité d'hémocompatibilité in vitro

Conformément à la norme ISO 10993-4, les matériaux sont considérés comme sûrs et hémocompatibles si leur indice hémolytique est inférieur à 5 % [117]. L'acceptabilité des formulations a été vérifiée par l'évaluation de l'hémolyse des globules rouges. La curcumine libre, le CURA et le CURF ont présenté des pourcentages d'hémolyse de 1,00 %, 1,24 % et 1,03 %, respectivement. Ces résultats ont prouvé que les composants des formulations sont biocompatibles et peuvent être utilisés sans provoquer d'hémolyse aiguë.

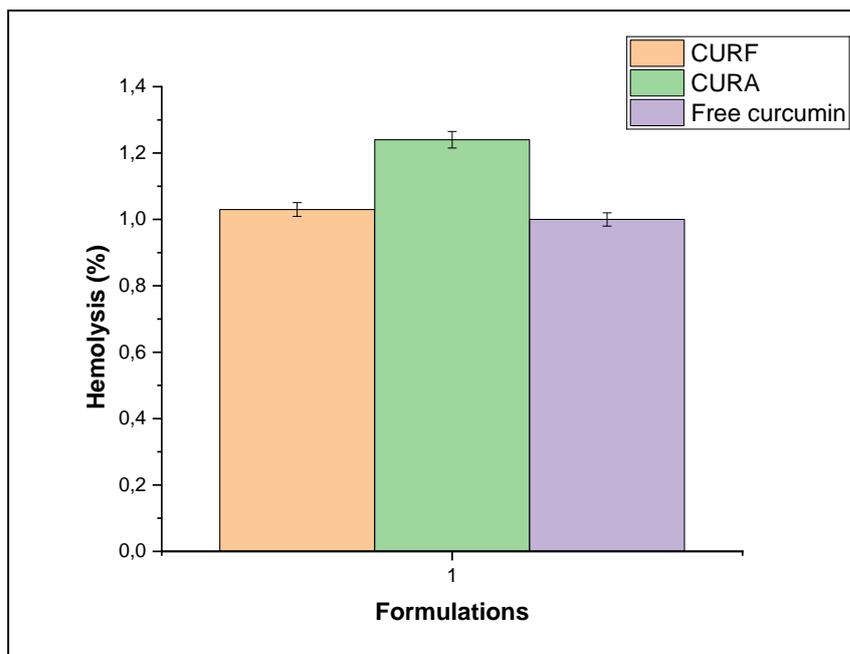


Figure 3.13. Le pourcentage d'hémolyse de différentes formulations.

c) Activité antidiabétique in vivo

A la lumière de tous les résultats obtenus, étant donné que la formulation CURF a montré de meilleures caractéristiques physico-chimiques et rhéologiques en plus d'une activité antioxydante plus élevée par rapport à celle de CURA, seule la formulation CURF a été retenue pour le test d'activité antidiabétique.

➤ Évaluation des niveaux de glucose sanguin :

Les résultats de l'étude in vivo sur des rats Wistar pendant une période de traitement de 21 jours sont présentés dans **la Figure 3.14**. Il a été rapporté que les niveaux de glucose sanguin à jeun chez les rats du Groupe 1 (témoin négatif) étaient inférieurs à 120 mg/dl, confirmant que les rats sont en bonne santé. Pour les rats du Groupe 2 (témoin positif), une seule injection intrapéritonéale de streptozotocine a entraîné une hyperglycémie (un état diabétique), avec des niveaux d'insuline sérique inférieurs à ceux du Groupe 1 (témoin négatif). Des symptômes associés tels que la polydipsie, la polyphagie et la polyurie, dans lesquels la consommation de nourriture et d'eau a doublé par rapport au groupe 1 (témoin négatif), ainsi qu'une perte de poids due à une dégradation excessive des protéines tissulaires, ont également été notés. Les taux de glycémie à jeun des rats du groupe 2 (témoin positif) étaient plus élevés que ceux du groupe 1.

Ainsi, toutes les valeurs étaient supérieures à 300 mg/dl, confirmant l'induction du diabète par la dose administrée de streptozotocine.

Le groupe 3 est consacré à la démonstration de l'effet synergique des 3 composés (curcumine, stevia et mucilage de fenugrec) dans la formulation CURF, à condition que les effets de chaque composé pris séparément sur la réduction de la glycémie aient déjà été démontrés et prouvés dans des travaux antérieurs [118], [119].

D'après la courbe ci-dessus, le gavage des rats du groupe 3 avec la formulation de mucilage de fenugrec a entraîné une diminution de la consommation de nourriture, de la production d'eau et d'urine. De plus, le poids corporel était limité par rapport au groupe 2 (témoin positif). En revanche, une diminution de la glycémie à partir du 7^{ème} jour de traitement, avec une différence de 0,7g, a été observée. Cette amélioration est due à la synergie des trois composés (curcumine, *stevia* et mucilage de fenugrec) de la formulation par rapport aux effets de chaque composé seul, et par rapport à la dose administrée de la formulation [119], [120]. L'efficacité de la formulation sur les rats pendant la période de traitement a augmenté progressivement jusqu'au jour 21, avec une réduction permanente de la glycémie de 392 mg/ml à 187 mg/ml. Ainsi, l'effet antidiabétique du sirop CURF a été significativement augmenté. Les taux d'insuline sérique à jeun, la sensibilité à l'insuline et la résistance à l'insuline ont été significativement réduits. Cela a été mis en évidence par une diminution significative de la glycémie avec une amélioration de la fonction des cellules β , conduisant à un métabolisme amélioré et au transport du glucose vers les cellules, réduisant ainsi le stress oxydatif [121], [122].

Enfin, la consommation de CURF a permis le contrôle de la glycémie et du poids corporel. Ce dernier effet contribue à prévenir l'obésité chez les patients diabétiques.

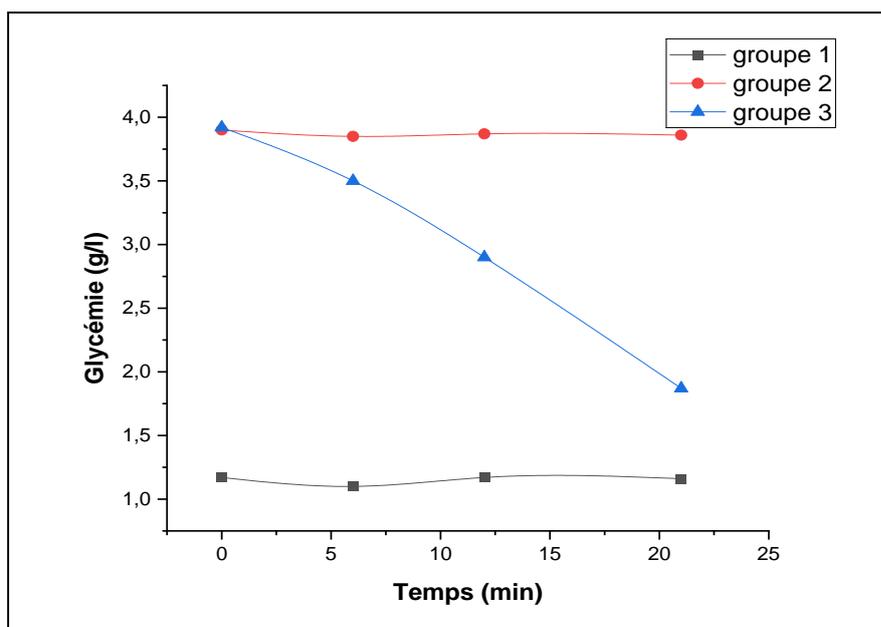


Figure 3.14. Glycémie à jeun des lots traités.

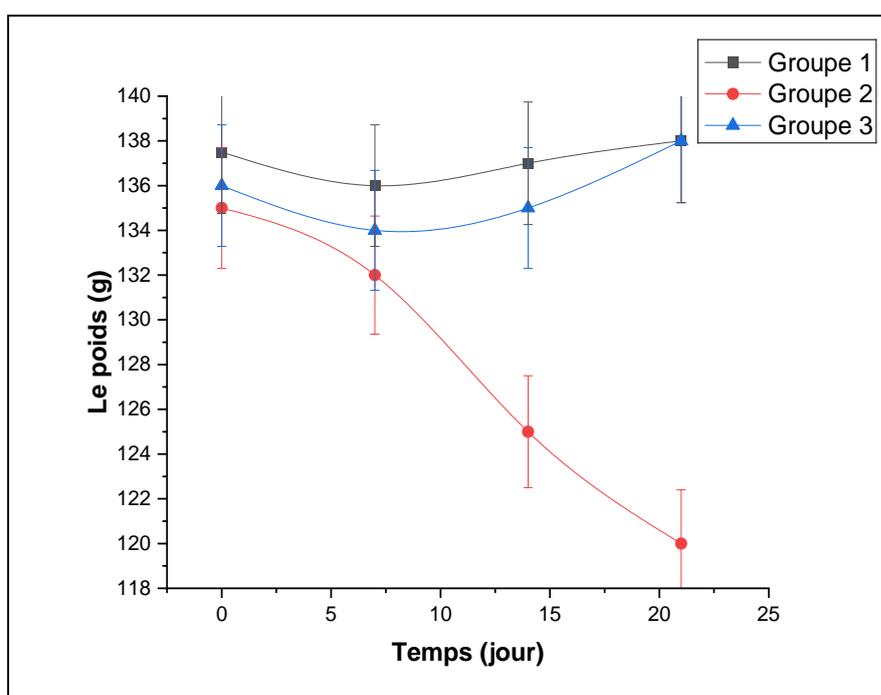


Figure 3.15. Courbes d'évolution du poids des rats.

La figure 3.15 ci-dessus montre une réduction significative du poids des rats diabétiques (groupe II) par rapport à leurs homologues normaux. Cette diminution est attribuée au catabolisme des protéines structurelles et des lipides, qui serait une conséquence de la privation de glucides [68]. La perte de poids observée chez les rats diabétiques met en évidence les

changements métaboliques associés à la maladie, en particulier la dégradation des biomolécules essentielles en raison de la disponibilité limitée des glucides. Ces informations approfondissent la compréhension de l'impact physiologique sur la dynamique du poids chez les sujets diabétiques et mettent en lumière l'interaction complexe entre les processus métaboliques et les facteurs alimentaires.

➤ **Dissection et prélèvement d'organes :**

Les observations macroscopiques du foie des rats après dissection sont présentées dans la **Figure 3.16**. Les photographies ont montré que les rats du groupe 1 (témoin négatif) avaient un foie d'apparence normale avec une couleur rougeâtre. Le groupe 2 (témoin positif) a une couleur de foie rouge foncé à marron, ce qui signifie que la STZ a un effet secondaire sur le foie en augmentant les molécules de peroxyde libérées en raison du stress oxydatif, induisant le changement de couleur du foie [68]. Les rats du groupe 3, ayant reçu le traitement (sirops CURF) présentaient un foie rouge clair en meilleur état que ceux du groupe 2, ce qui explique que la formulation a augmenté le niveau d'enzymes antioxydantes et pourrait être efficace pour éliminer ces radicaux libres [68]. D'après les résultats obtenus, il est évident que le sirop présentait une protection significative contre les dommages oxydatifs de la STZ.

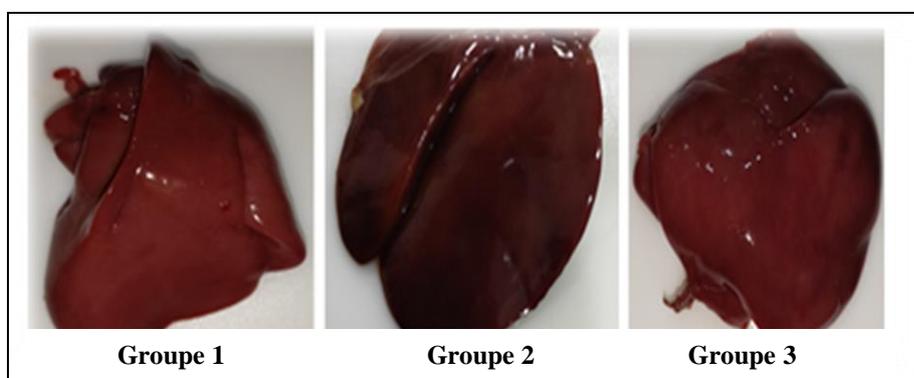


Figure 3.16. Photos originales illustrant des échantillons de foie provenant de différents lots.

➤ Etude histologique

La figure ci-dessous montre ces coupes histologiques d'un pancréas représentatif des groupes expérimentaux.

Le pancréas des rats du groupe 1 a une structure anatomique avec des îlots de Langerhans réguliers. Les rats du groupe témoin diabétique 2, en revanche, présentent une névrose centrale et des îlots de forme irrégulière avec des vacuoles. Ces lésions pancréatiques confirment la présence de diabète et l'efficacité du dosage choisi de streptozotocine, qui induit un diabète de type transitoire chez les rats [123]. Les rats du groupe 3 ayant subi le traitement avec la formulation à base de nanocurcumine, les structures du pancréas n'ont montré aucun changement significatif par rapport au contrôle du diabète. Ce résultat souligne la nécessité d'une administration quotidienne de la formulation à base de nano curcumine contenant une variété d'excipients naturels. Ainsi, l'ingestion de *stevia*, de mucilage de fenugrec et de nano curcumine a favorisé la régénération des cellules bêta. La capacité de la curcumine à combattre le stress oxydatif peut être responsable de leur restauration.

De plus, il a été suggéré que la nano curcumine peut restructurer contre les dommages causés aux cellules bêta pancréatiques par les radicaux libres produits par le stress oxydatif et prévenir la rupture de la membrane. L'utilisation de la nano curcumine a exercé un effet supérieur dans la promotion du taux d'insuline sérique, l'immunoréactivité pancréatique de l'insuline, l'expression de SOD, GSH et PDX1 et la réduction de la caspase pancréatique-3 que la CUR non micronisée [124].

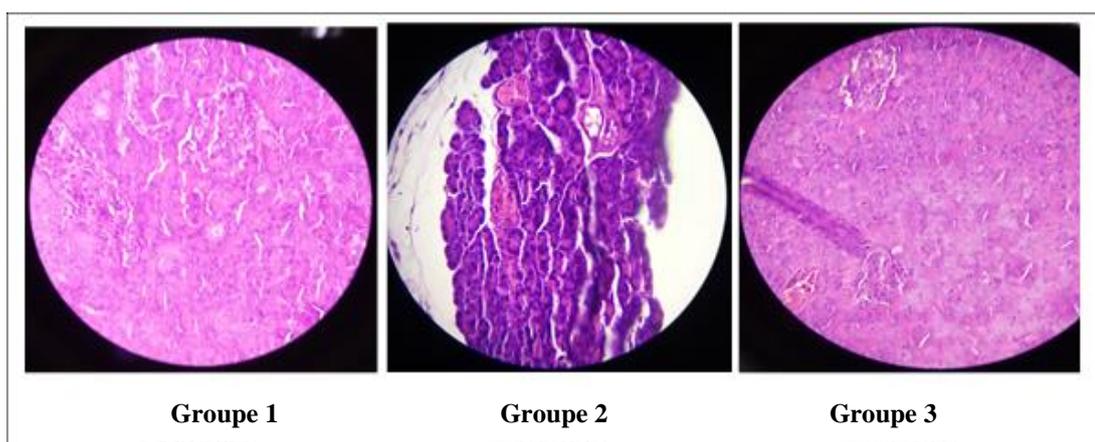


Figure 3.17. Microscopie histologique du pancréas.

3.4. Formulation d'un émulgel à base de nanocurcumine, eau thermale et huile d'amande

3.4.1 Caractérisation physico-chimique de différentes formulations

a) Détermination de la taille des particules et du potentiel zêta de la nano curcumine

Les tailles de particules et les indices de polydispersité (PDI) des formulations ENCD et ENCM ont été déterminés comme précédemment par DLS. Les résultats obtenus indiquent que, d'une part, les nanoparticules de curcumine dans la formulation ENCD (1) ont une taille de particule moyenne de $99,6 \text{ nm} \pm 0,1$ et un PDI de 0,95. D'autre part, la taille moyenne des particules de curcumine dans la formulation ENCM (2) était de $62,4 \text{ nm} \pm 0,1$, avec un PDI de 0,97, confirmant ainsi que la taille des particules était réduite du micromètre au nanomètre. De plus, un modèle de distribution granulométrique polydispersé dans la taille de la solution de nanocurcumine est indiqué par des valeurs de PDI inférieures à 1.

Selon les valeurs du potentiel zêta, les formulations ENCD et ENCM ont présenté des valeurs de potentiel zêta positives de $70,5 \text{ mV} \pm 0,1$ et $65,9 \text{ mV} \pm 0,1$, respectivement. Ces résultats démontrent qu'il existe des interactions électrostatiques intenses entre les nanoparticules qui sont répulsives. Cela améliore la durabilité des gouttelettes d'huile en empêchant l'agglomération des particules de nano curcumine et empêche le processus de coalescence de se produire.

En raison de leur répulsion mutuelle et de leur fréquence de collision négligeable ou inexistante, les nanoparticules à potentiel zêta élevé présentent une stabilité relative [102]. Plus précisément, les nanoparticules chargées positivement sont souvent considérées comme avantageuses en raison de leur capacité à pénétrer plus facilement les membranes cellulaires et à absorber les substances à un rythme plus élevé que celles chargées négativement [104].

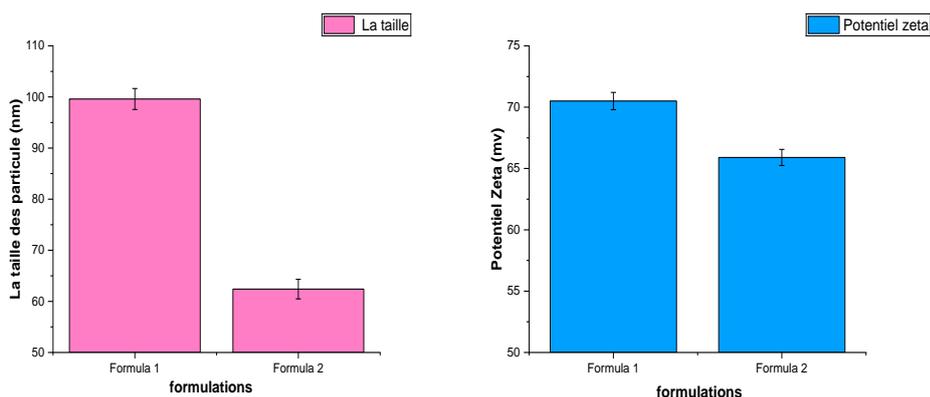


Figure 3.18. Histogramme montrant comment le potentiel zêta et la taille des particules des différentes formulations d'émulgel varient.

b) Examen macroscopique

Les émulgels préparés ont présenté une couleur jaune uniforme sur toute la surface, avec une odeur agréable, un aspect crémeux, homogène et lisse au toucher, aucun signe de séparation de phase n'a été observé à l'œil nu comme le montre la figure ci-dessous :



Figure 3.19. Le produit final de l'émulgel.

c) Examen microscopique

L'échantillon ENCD examiné au microscope a montré une microstructure stable et uniforme. La dispersion homogène des globules indique une distribution régulière des particules dans la matrice environnante, sans tendance à l'agrégation ou à la sédimentation. L'absence d'instabilité suggère que les forces intermoléculaires entre les globules et la matrice sont suffisamment fortes pour empêcher leur mouvement ou leur coalescence.

L'image du microscope ENCM montre une structure mal observée en raison de l'utilisation d'eau minérale, donc la figure révèle un réseau colloïdal chargé de sels minéraux et condensé par les gouttelettes d'huile. Les gouttelettes de la phase dispersée étaient uniformément réparties dans tout l'échantillon.

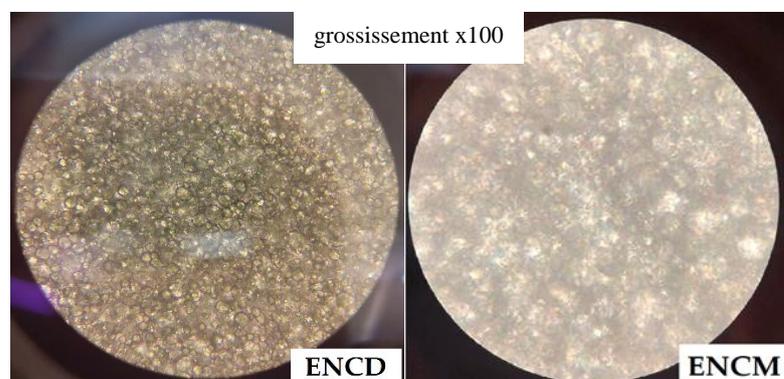


Figure 3.20. Examen microscopique des formulations ENCD et ENCM.

d) Détermination du sens de la formulation

Le test au colorant bleu de méthylène a mis en évidence une diffusion rapide et homogène du colorant hydrosoluble, ce qui signifie que l'émulsion est de type huile dans eau H/E. Le test a été réalisé sur un échantillon d'émulsion placebo pour mieux observer la coloration bleue.



Figure 3.21. La coloration des émulgels par le bleu de méthylène.

(e) Caractérisation physico-chimique et rhéologique

- **La mesure du pH**

Le pH des formulations préparées a été mesuré pour justifier une utilisation topique avec un risque réduit d'irritation cutanée. Les différentes formulations d'émulgels préparés ont montré un pH compris entre 5,51 et 6, conforme aux normes fixées par les recommandations pour les préparations semi-solides par voie cutanée (pH = 5,5 – 7) [57].

- **Contrôle de la stabilité**

- Par vieillissement accéléré (Centrifugation) :

Il a été constaté que durant la période de stockage des formulations à températures ambiantes, La couleur et le parfum sont restés inchangés. Le test de centrifugation (figure ci-dessous) également connu sous le nom de test de vieillissement accéléré ou de stress [89] a prouvé que les formulations n'ont montré aucun signe de séparation de phase, ce qui indique que ses préparations ne sont pas susceptibles de se décomposer en phases séparées pendant le stockage ou l'utilisation, donc témoignant d'une bonne stabilité.

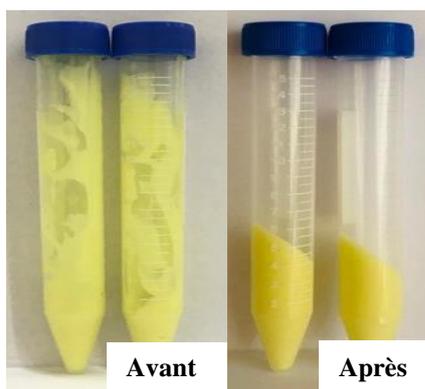


Figure 3.22. ENCD et ENCM avant et après la centrifugation.

- Contrôle de la stabilité en fonction de la température :

Les préparations ENCD et ENCM ont été surveillées en termes de stabilité pendant trois mois à différentes températures : 25°C à 40°C et 5°C. Les paramètres contrôlés étant les tailles des particules, les potentiels Zêta et les dosages en nanocurcumine.

Tableau 3.5. Paramètres de stabilité de l'ENCM contrôlés pendant trois mois.

Temps	Température(°C)	pH	Taille (nm)	Zêta (mv)	Abs
15 j	5°C	5.41	90,2	40.1	2.801
	25°C	5.51	89.4	-41.2	2.886
	40°C	5.55	99.4	65.9	2.649
90 j	5°C	5.47	94.7	-55.4	2.701
	25°C	5.59	109.1	67.5	2.801
	40°C	5.67	118.6	68.4	2.590

L'examen du tableau ci-dessous fait ressortir les constatations suivantes :

- ✓ Le pH de l'émulsion dans ces conditions a sensiblement augmenté au cours des trois mois de la période de test. Ces variations sont relativement faibles et négligeables, ce qui indique que le pH reste relativement constant pendant la période de stockage de trois mois, et donc l'émulsion a une bonne stabilité en termes de pH.
- ✓ Une légère augmentation de la taille des particules est observée en fonction du temps, cela peut être dû à une coalescence des particules en fonction du temps, spécifiquement à une température élevée de 40°C, ce qui signifie que la chaleur a un effet sur l'accélération du mouvement des particules et peut conduire à une agrégation.. Cela implique que la préparation est plus stable à température ambiante. Néanmoins la taille est restée toujours inférieure à 120 nm donc la préparation reste à l'échelle nanométrique dans différentes conditions.
- ✓ Potentiel zêta : on peut dire qu'un produit est stable si, les valeurs du potentiel zêta ne sont pas comprises dans la gamme [-30,30] mV [125], nos résultats se révèlent donc conformes et donc la préparation est stable.
- ✓ Pour l'absorbance, aussi une légère diminution négligeable a été constatée au cours des 3 mois de test de stabilité, ce qui semble être dû à une dégradation minimale du principe actif CUR et donc à une diminution de sa concentration.

Tableau 3.6. Les valeurs de stabilité de l'ENCDC sur les trois mois.

Temps	Température(°C)	pH	Taille (nm)	Zeta (mv)	Abs
15 D	5°C	5.54	68.5	-90.4	2.751
	25°C	5.52	62.4	70.5	2.694
	40°C	5.53	70,6	-44.5	2.684
90 D	5°C	5.56	75.6	-87.5	2.686
	25°C	5.55	78.5	45.8	2.640
	40°C	5.61	82.4	78.6	2.642

- ✓ Le pH de l'ENCD aux trois températures a montré de légères variations qui sont pratiquement négligeables, confirmant ainsi que le pH reste constant.
- ✓ Les mêmes résultats que précédemment ont été obtenus et ont montré que les formulations de 3 mois sont stables, justifiées par une taille nanométrique, un potentiel Zêta conforme aux normes et un dosage de curcumine qui confirme sa non-dégradation.

- **Etude du comportement rhéologique**

Le comportement rhéologique des émulgels a été déterminé à $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Les courbes d'écoulement des deux formulations sont représentés sur la figure ci-dessous :

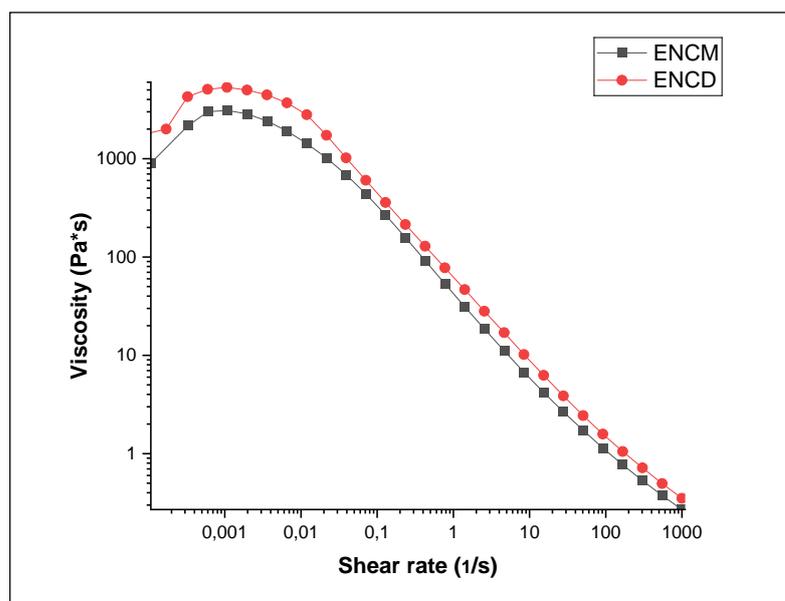


Figure 3.23. Evolution de la viscosité des formulations ENCM et ENCD en fonction du taux cisaillement.

Les deux types d'émulgels (ENCD, ENCM) ont présenté un comportement newtonien à faible et fort cisaillement correspondant à un comportement pseudoplastique et cisailleur et à une action rhéofluidifiante à vitesses intermédiaires. A faible vitesse de cisaillement les liaisons physiques résistent à l'écoulement. Lorsque la vitesse augmente, le cisaillement provoque des phénomènes de rupture de liaisons physiques, dont la cinétique gouverne l'évolution de la structure globale du système. Lorsque le cisaillement est très fort, les macromolécules sont

complètement dispersées et orientent l'écoulement et leur résistance devient constante et par là même la viscosité [126].

On observe que la formulation ENCD ($5,31 \times 10^{-3}$ Pa.s) est légèrement plus visqueuse que l'ENCM ($3,09 \times 10^{-3}$ Pa.s). Ceci montre que le réseau de chaîne polymère est plus rigide et en conséquence de l'absence de sels minéraux présents. Cela peut être probablement dû au fait que les chaînes polymères présentent des connexions moléculaires entrelacées (inter-intra) plus fortes, ce qui rend le réseau ENCD plus rigide et plus difficile à perturber.

L'étude des propriétés viscoélastiques linéaires d'un corps permet de caractériser sa structure au repos puisque le comportement linéaire est lié à la capacité du matériau à supporter la déformation, sans changer sa structure à l'échelle microscopique. Dans ce qui suit, nous étudierons ce comportement en cisaillement simple, en soumettant les émulsions à des essais oscillants par variation de l'amplitude de déformation de 0,1 à 100%, avec une fréquence de 10 s^{-1} , à une température de 20°C .

La figure 3.24 représente G' et G'' en fonction de la déformation. Dans toute la zone balayée de la courbe de viscoélasticité de la formulation, $G' > G''$ ce qui donne à notre solution le caractère "émulsion". Pour des déformations faibles, G' et G'' enregistrent une plage correspondant au domaine de viscoélasticité linéaire. Au fur et à mesure que la déformation augmente, les deux modules présentent une baisse. On peut dire que le matériau devient relativement plus dissipatif avec une rigidité plus faible tout en conservant le caractère semi-solide [127].

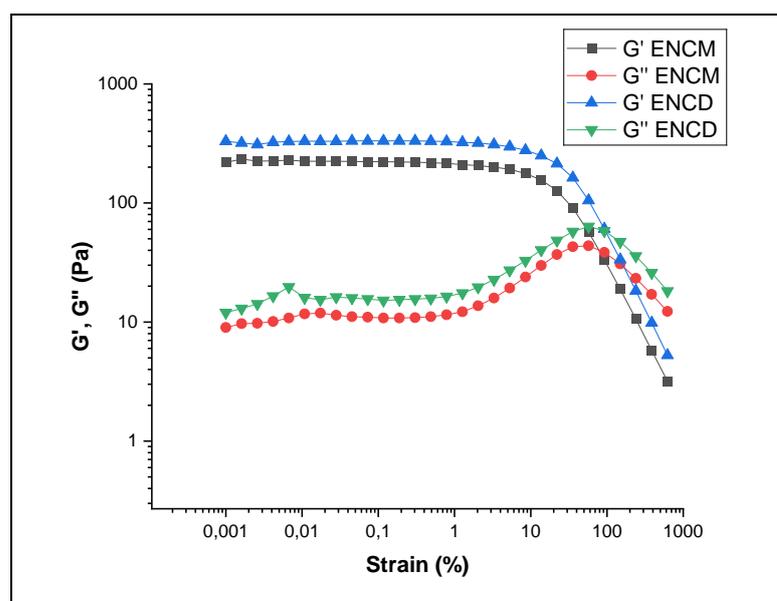


Figure 3.24. Profils de viscoélasticité des formulations ENCM et ENCD.

- **Détermination du taux d'encapsulation et étude de la cinétique de dissolution in vitro**

Un taux d'encapsulation de [72,8 % - 74,2 %] dans ENCD, ENCM respectivement signifie que la nano-curcumine initialement destinée à être encapsulée est effectivement piégée à l'intérieur des matrices polymériques.

Une autre caractéristique importante des nanoparticules est leur surface. D'une manière générale, les matériaux à base de nanoparticules ont une surface comparativement plus grande, ce qui accélère l'encapsulation, la dégradation et la solubilité dans l'eau, augmentant ainsi la biodisponibilité des médicaments. D'autre part, l'activité pharmacologique d'un médicament et sa réactivité à une cible moléculaire particulière sont améliorées par une large surface [112].

Les profils de diffusion in vitro des préparations ont été obtenus par cellule de Franz pendant 5 heures pour comparer la diffusion de la curcumine brute et de la nanocurcumine dans les émulsions, afin de garantir que le problème de biodisponibilité est résolu en réduisant la taille des particules de la curcumine à l'échelle nanométrique. La comparaison entre une préparation à base d'eau minérale et d'eau distillée avait pour but de voir si l'eau minérale a une influence positive ou négative sur la diffusion du principe actif (Cur). Les résultats sont regroupés dans **la figure 3.25** représentant le pourcentage de libération de curcumine en fonction du temps en temps.

On constate que pour une même durée, le pourcentage maximum de diffusion diffère d'une préparation à l'autre, les préparations des émulsions ont un taux de diffusion élevé de [75-85%], contrairement aux préparations brutes de curcumine, leur pourcentage varie entre [35-40%], donc la libération a été augmentée de 45% en diminuant la taille de la curcumine, c'est un résultat très prometteur et encourageant.

On peut observer sur le graphique que la diffusion maximale des formulations préparées avec de l'eau minérale est meilleure, ce qui suggère que les sels minéraux contribuent également à faciliter et accélérer le processus de diffusion. Ces variations attirent l'attention sur la faible biodisponibilité de la curcumine non transformée, ce qui empêche son utilisation dans les médicaments. Cela souligne à quel point il est crucial de réduire le noyau à l'échelle nanométrique et d'encapsuler les nanoparticules dans des biomatériaux. Cette expérience aborde les problèmes liés à la disponibilité de la curcumine et améliore son efficacité thérapeutique potentielle en facilitant un mécanisme de libération régulée de la nanocurcumine.

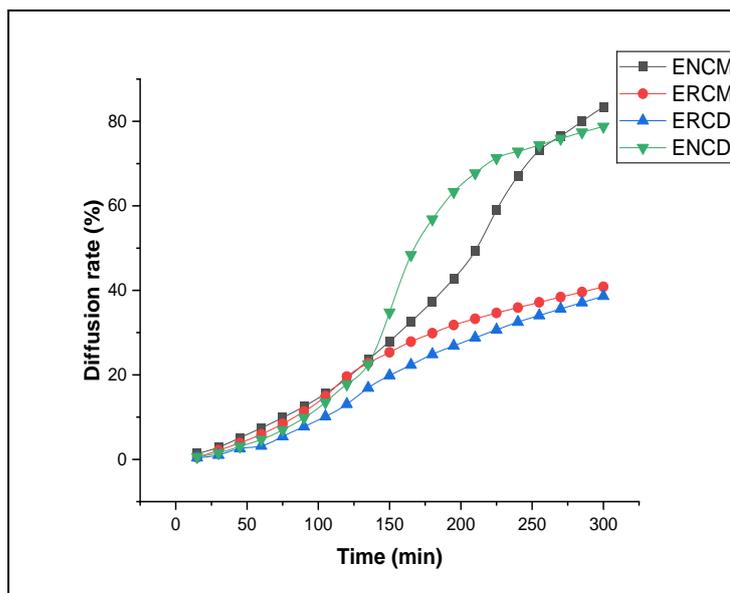


Figure 3.25. Profils de diffusion des émulsions de curcumine brute et des formulations ENCM, ENCD.

3.4.2 Evaluation des activités biologiques des formulations

a) Evaluation de l'activité antioxydante in vitro

Le potentiel antioxydant des préparations a été estimé par la méthode de la solution DPPH. Après 30 min d'incubation, la coloration violette de la solution a disparu et une coloration jaune est apparue. Ce changement de coloration indique la présence d'antioxydant de nos préparations. La décoloration est plus intense lorsque la concentration en curcumine est élevée, indiquant une plus grande neutralisation des radicaux libres. Les mesures de l'absorbance de chaque concentration nous ont permis de calculer les pourcentages de la concentration, et ainsi de tracer les courbes de Pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en curcumine.



Figure 3.26. Changement de couleur après incubation avec une série de dilutions.

Une augmentation linéaire de l'activité antioxydante avec l'augmentation de la concentration de curcumine a été observée, jusqu'au point de saturation où l'activité antioxydante maximale est atteinte.

Les résultats des activités antioxydantes obtenus ont montré que la formulation ENCM a présenté un pourcentage d'inhibition plus élevé (97,61 %) par rapport à l'émulgel l'ENCD (84,19 %) et la CUR seule (79,42 %). Selon [72], l'inclusion d'huile d'amande douce dans les deux formulations peut être la cause de cette activité antioxydante plus élevée par rapport à la curcumine libre.

En comparant les résultats (figure ci-dessous) de l'ENCM et de l'ENCD obtenus avec ceux de l'acide ascorbique, il est remarquable que les deux émulgels sont comparables avec une activité anti-radicalaire considérable, se rapprochant de celle de l'acide ascorbique. Ces observations suggèrent que les formulations étudiées pourraient être des agents antioxydants efficaces, avec un potentiel comparable à celui de l'acide ascorbique et donc indiquées pour la réduction du stress oxydatif chez les personnes malades.

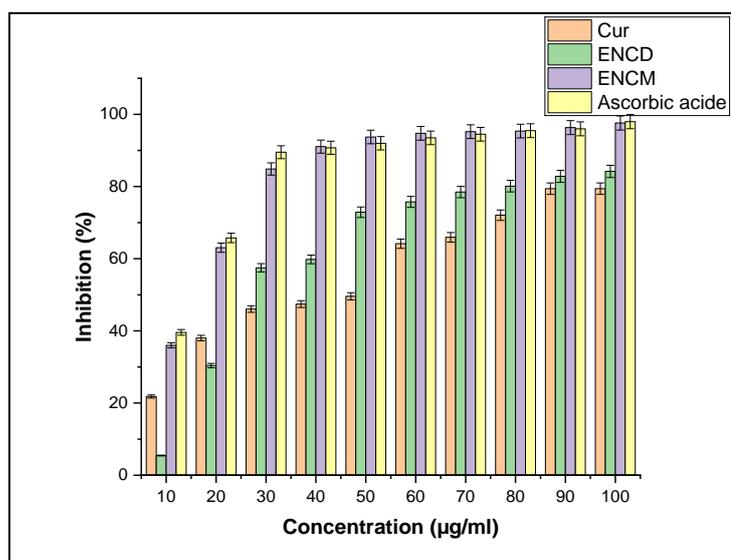


Figure 3.27. Pourcentage d'inhibition de différentes formulations.

b) Activité anti-inflammatoire in vitro

La méthode de dénaturation de l'albumine d'œuf in-vitro a été utilisée, le diclofénac sodique, un anti-inflammatoire commercial puissant a servi de référence avec une activité une inhibition de la dénaturation maximale de l'albumine qui atteint 98 % à une concentration de 2000 µg/ml.

L'histogramme suivant présente les résultats comparatifs de l'efficacité anti-inflammatoire de trois préparations : le diclofénac sodique (standard), l'ENCM et l'ENCD. Il représente le pourcentage d'inhibition de l'inflammation en fonction de la concentration des préparations en $\mu\text{g/ml}$.

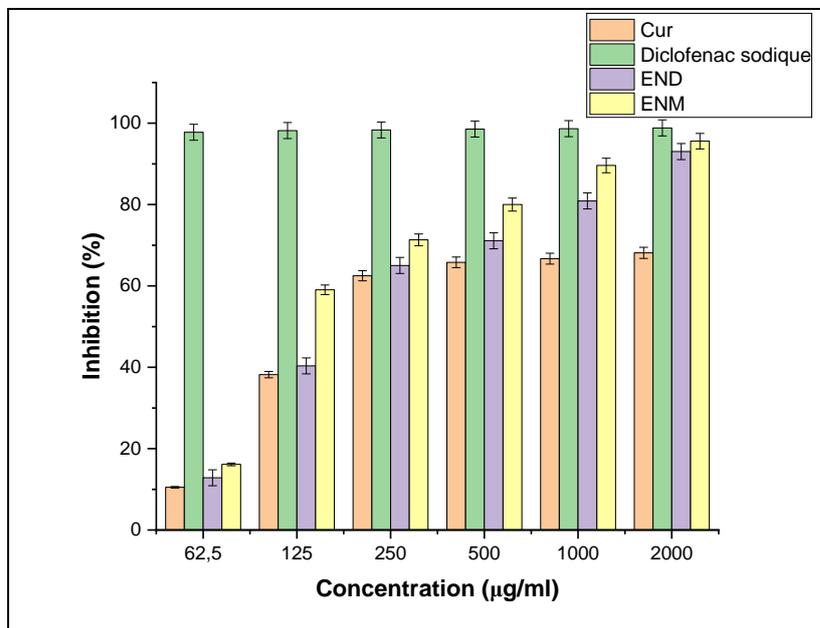


Figure 3.28. Pourcentage d'inhibition de l'inflammation de différentes formulations.

Sur la base des résultats, les pourcentages d'inhibition des formulations ENCM et ENCD ont atteint respectivement 95 %, 93 % à une concentration de 2000 $\mu\text{g/ml}$. L'émugel à base d'eau distillée est la préparation ayant une activité relativement moindre par rapport aux autres. Il est à noter que l'activité anti-inflammatoire de la curcumine brute est moins élevée que celle des émulgels, ce qui est probablement attribué à la nanonisation qui a amélioré son activité thérapeutique.

c) Activité antibactérienne / antifongique

Dans cette partie du travail et en vue de contrôler la stabilité microbiologique des formulations, cinq souches bactériennes et deux souches fongiques ont été utilisés. Moyennant la méthode des puits, les résultats suivants ont été obtenus après incubation des bactéries pendant 48 h à 37 °C et 72 h d'incubation des champignons à 25 °C. L'inhibition de l'action se produit par la formation d'une zone d'inhibition ZI autour des puits contenant le produit (figures ci-dessous).

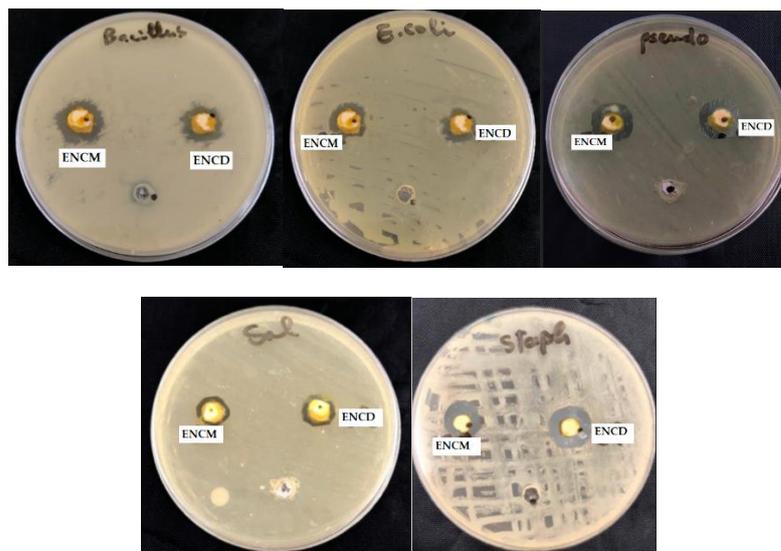


Figure 3.29. Les zones d'inhibition de différentes bactéries.

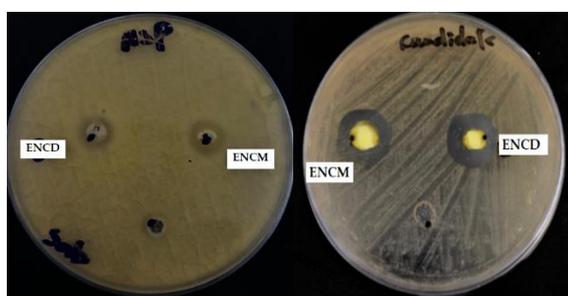


Figure 3.30. Les zones d'inhibition du champignon.

Le tableau suivant résume les résultats des diamètres des zones d'inhibition pour les bactéries et les champignons.

Tableau 3.7. Le diamètre des zones d'inhibition de différentes souches.

		ENCM ZI (mm)	ENCD ZI (mm)
Bactéries	<i>Bacillus subtilis</i>	20	18
	<i>Escherichia Coli</i>	19	19
	<i>Salmonelle Aboney</i>	20	16
	<i>Pseudomonas aeruginos</i>	15	11
	<i>Staphylococcus aureus</i>	24	23
Champignons	<i>Aspergillus brasiliensi</i>	15	11

<i>Candida albicans</i>	23	25
-------------------------	----	----

Sur la base des résultats obtenus ci-dessus et selon la recherche de Kebede et al [128], il est conclu que les émulsions à base d'eau distillée et d'eau minérale ont la même activité contre les bactéries et les champignons. L'ENCD et l'ENCM ont une activité inhibitrice modérée contre les bactéries : *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Salmonelle aboney*. Et une activité fortement inhibitrice contre les bactéries *Staphylococcus aureus* et une activité légèrement inhibitrice contre la bactérie *Pseudomonas aeruginos*.

Pour les champignons, les deux préparations ont présenté une forte activité inhibitrice contre *Candida albicans* et une activité légèrement inhibitrice contre *Aspergillus brasiliensi*.

Sur la base de ces résultats sur la croissance des micro-organismes, on peut conclure que les formulations présentent des activités antibactérienne et antifongique assez remarquables et donc peuvent être utilisées non seulement comme agents antiseptiques mais aussi sans conservateurs.

3.5. Conclusion

Notre modeste intervention vise à augmenter la solubilité aqueuse et l'effet thérapeutique de la curcumine tout en appliquant la nanotechnologie par utilisation des bio-excipients. Les résultats obtenus ont montré que la réduction de la taille des particules permettait une amélioration des propriétés physico-chimiques, et avoir des meilleurs profils de libérations par rapport à la curcumine brute.

Les activités pharmacologiques ont été prouvées par des tests in vitro et in vivo, les résultats sont significatifs et intéressantes pour toutes les formulations.

CONCLUSION GENERALE

Nombreux sont les consommateurs qui connaissent parfaitement les bienfaits de la curcumine, en particulier pour le traitement des inflammations articulaires. Malgré qu'elle est introduite quotidiennement dans les repas mais malheureusement l'organisme n'en bénéficie que d'une très petite quantité négligeable, hypothèse prouvée scientifiquement par des recherches par attribution de ceci à l'insolubilité de la curcumine et sa non biodisponibilité

Et donc partant de cette réalité que l'objectif de cette présente étude a été ciblé vers l'amélioration de la solubilité de cet ingrédient actif et par conséquent les effets thérapeutiques moyennant les nouvelles technologies dans le domaine pharmaceutique, et l'incorporation d'excipients naturels appréciés par les patients pour en préparer des formulations facilement administrables.

Partant du rhizome de la plante, la première partie était focalisée sur l'optimisation des conditions opératoires d'extraction de la curcumine à l'aide des solvants couramment utilisés, tels que l'acétone et l'éthanol. Par la suite, on a examiné l'impact de l'ajout d'additifs dans le but d'augmenter la solubilité aqueuse. D'après les résultats, l'extraction par la technique de Soxhlet s'est révélée assez performante. Le rendement en extraits récupéré a démontré que l'extraction des curcuminoïdes purs par l'acétone est meilleure et se situe aux environs de 0.70 % différent de celui obtenu avec l'éthanol. Une progression notable des rendements a été constatée suite à l'incorporation des additifs. Les données des profils de libérations de la curcumine ont montré un taux de dissolution élevé dans les première 30 minutes, variant entre 87.6 % et 97.9 %.

Dans une autre étape, il a été question d'encapsuler de la curcumine micronisée dans du mucilage de fenugrec et de l'amidon de maïs en utilisant une technique simple de précipitation solvant-antisolvant. Les résultats trouvés ont mis en évidence une amélioration dans les propriétés physico-chimiques telles que la solubilité suite à la diminution de la taille des particules ($117 \text{ nm} \pm 0,1$ et $119,9 \text{ nm} \pm 0,1$; $47,1 \pm 0,1 \text{ mV}$ et $50,2 \pm 0,1$) et l'utilisation des polysaccharides qui semblent offrir des qualités remarquables pour protéger le PA contre les éléments environnementaux, la dégradation et par conséquent l'instabilité. Les deux formulations à base de fenugrec (CURF) et d'amidon de maïs (CURA) offrent un mécanisme de libération prolongée, avec des pourcentages de dissolution d'environ 70% et 67% respectivement ; dans l'environnement physiologique de pH 6,9 pendant 180 min. Cette étude

suggère que le mucilage de fenugrec présente le meilleur potentiel pour être utilisé comme support de libération de la nanocurcumine et améliorer sa solubilité aqueuse par rapport à l'amidon de maïs. L'application dans une formulation à administration orale a prouvé que :

- ✓ L'effet antioxydant synergique évalué in-vitro pour les trois composés (curcumine, *stevia* et mucilage de fenugrec) est meilleur par rapport à leurs activités antioxydantes individuelles, ce qui confirme l'intérêt de cette formulation dans la prévention du stress oxydatif. CURF présente un pourcentage d'inhibition plus élevé, égal à 75 %, par rapport à 60 % pour CURA
- ✓ Le suivi des taux de glycémie pendant un mois chez des rats rendus diabétiques par induction à la streptozotocine a également montré un effet hypoglycémiant remarquable puisque les taux de glycémie à jeun ont été réduits de 392 à 187 mg/dl. Autrement dit, la formulation de curcumine à base de mucilage de fenugrec résultante représente un candidat idéal pour le traitement et la prévention du diabète, en particulier chez les patients prédiabétiques.

La troisième partie a mené à l'élaboration d'un émulsion à base de nano curcumine en utilisant des bio-composants associés à l'eau minérale, notre objectif est d'améliorer la concentration sanguine de cette dernière. La nanonisation de la curcumine par la précipitation a donné des tailles nanométriques de l'ordre de 100 nm, justifiées par l'analyse de taille DLS. Le contrôle de stabilité pendant 3 mois a montré que les formulations sont stables à différentes températures ont montré un pH relativement constant entre (5,5 – 6) et proche de celui de la peau, pas d'agglomération par des différences négligeables de tailles de particules, les valeurs du potentiel zêta sont dans les normes et la non dégradation de la curcumine a été justifiée par l'UV-VIS. L'étude biopharmaceutique a montré une cinétique de libération progressive dans le milieu physiologique (pH 5,5). La libération marquée à l'ENCM et ENCD sont plus importantes, par rapport aux émulsions à base de curcumine brute, ce qui prouve l'importance de réduire la taille des particules. Pour une application transdermique, les constatations suivantes ont été soulevées :

- ✓ L'activité anti-inflammatoire a montré que les émulsions préparées ont une activité anti-inflammatoire significative qui est très proche de la substance de référence diclofénac sodique, confirmée par des tests in vitro.
- ✓ L'évaluation de l'activité antioxydante a montré que nos produits ont un pouvoir antioxydant important. Les résultats des activités antioxydantes obtenus ont montré que la formulation ENCM a présenté un pourcentage d'inhibition plus

élevé (97,61 %) par rapport à l'émulgel l'ENCDC (84,19 %) et la CUR seule (79,42 %).

- ✓ La détermination de l'activité antimicrobienne a démontré un effet antibactérien contre cinq souches bactériennes et deux souches fongiques différentes.

Des conclusions très prometteuses tirées de cette étude ouvrent de nouvelles perspectives pour des recherches supplémentaires utilisant la curcumine micronisée. Il serait pertinent de l'expérimenter sur d'autres maladies, notamment le cancer, l'arthrose et le stress oxydatif en menant des études sur des cultures cellulaires

L'utilisation de la curcumine micronisée dans des formulations innovantes constitue un défi majeur non seulement pour les professionnels de santé mais aussi pour les spécialistes de la nutrition et l'art culinaire pour joindre qualité, prix et goût aussi.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] S. Verma et A. K. Pandey, « Improving Bioavailability of Nutrients Through Nanotechnology », in *Sustainable Agriculture Reviews 55: Micro and Nano Engineering in Food Science Vol 1*, V. K. Maurya, K. M. Gothandam, S. Ranjan, N. Dasgupta, et E. Lichtfouse, Éd., in Sustainable Agriculture Reviews. , Cham: Springer International Publishing, 2021, p. 135-170. doi: 10.1007/978-3-030-76813-3_6.
- [2] S. C. Gupta, G. Kismali, et B. B. Aggarwal, « Curcumin, a component of turmeric: From farm to pharmacy », *BioFactors*, vol. 39, n° 1, p. 2-13, janv. 2013, doi: 10.1002/biof.1079.
- [3] R. R. Kotha et D. L. Luthria, « Curcumin: Biological, Pharmaceutical, Nutraceutical, and Analytical Aspects », *Molecules*, vol. 24, n° 16, p. 2930, août 2019, doi: 10.3390/molecules24162930.
- [4] K. Chhouk, W. Diono, H. Kanda, et M. Goto, « Micronization for Enhancement of Curcumin Dissolution via Electrospraying Technique », *ChemEngineering*, vol. 2, n° 4, Art. n° 4, déc. 2018, doi: 10.3390/chemengineering2040060.
- [5] Y. Zhou *et al.*, « Curcumin and nanodelivery systems: New directions for targeted therapy and diagnosis of breast cancer », *Biomedicine & Pharmacotherapy*, vol. 180, p. 117404, nov. 2024, doi: 10.1016/j.biopha.2024.117404.
- [6] K. Chhouk, Wahyudiono, H. Kanda, S.-I. Kawasaki, et M. Goto, « Micronization of curcumin with biodegradable polymer by supercritical anti-solvent using micro swirl mixer », *Front. Chem. Sci. Eng.*, vol. 12, n° 1, p. 184-193, mars 2018, doi: 10.1007/s11705-017-1678-3.
- [7] M. Kharat, G. Zhang, et D. J. McClements, « Stability of curcumin in oil-in-water emulsions: Impact of emulsifier type and concentration on chemical degradation », *Food Research International*, vol. 111, p. 178-186, sept. 2018, doi: 10.1016/j.foodres.2018.05.021.
- [8] L. Hu, Y. Jia, F. Niu, Z. Jia, X. Yang, et K. Jiao, « Preparation and Enhancement of Oral Bioavailability of Curcumin Using Microemulsions Vehicle », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 60, n° 29, p. 7137-7141, juill. 2012, doi: 10.1021/jf204078t.
- [9] Y. V. Ramshankar, S. Suresh, et K. Devi, « Novel Self-emulsifying Formulation of Curcumin with Improved Dissolution, Antiangiogenic and Anti-inflammatory Activity », *Clinical Research and Regulatory Affairs*, vol. 25, n° 4, p. 213-234, janv. 2008, doi: 10.1080/10601330802600893.
- [10] S. Bisht *et al.*, « Polymeric nanoparticle-encapsulated curcumin (“nanocurcumin”): a novel strategy for human cancer therapy », *Journal of Nanobiotechnology*, vol. 5, n° 1, p. 3, avr. 2007, doi: 10.1186/1477-3155-5-3.
- [11] K. Verma, A. Tarafdar, D. Kumar, Y. Kumar, J. S. Rana, et P. C. Badgujar, « Formulation and characterization of nano-curcumin fortified milk cream powder

- through microfluidization and spray drying », *Food Research International*, vol. 160, p. 111705, oct. 2022, doi: 10.1016/j.foodres.2022.111705.
- [12] G. Elanthendral, N. Shobana, R. Meena, P. P, et A. V. Samrot, « Utilizing pharmacological properties of polyphenolic curcumin in nanotechnology », *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 38, p. 102212, nov. 2021, doi: 10.1016/j.bcab.2021.102212.
- [13] N. Ghalandarlaki, A. M. Alizadeh, et S. Ashkani-Esfahani, « Nanotechnology-Applied Curcumin for Different Diseases Therapy », *BioMed Research International*, vol. 2014, p. e394264, juin 2014, doi: 10.1155/2014/394264.
- [14] J. Bokelmann, « Turmeric (*Curcuma longa*) », 2022, p. 615-636. doi: 10.1016/B978-0-323-84676-9.00073-8.
- [15] A. Karthikeyan, N. Senthil, et T. Min, « Nanocurcumin: A Promising Candidate for Therapeutic Applications », *Front. Pharmacol.*, vol. 11, p. 487, mai 2020, doi: 10.3389/fphar.2020.00487.
- [16] S. Loap, « Curcuma (partie II) », *Phytothérapie*, vol. 6, n° 2, p. 136-143, avr. 2008, doi: 10.1007/s10298-008-0304-4.
- [17] M. E. Abd El-Hack *et al.*, « Curcumin, the active substance of turmeric: its effects on health and ways to improve its bioavailability », *J Sci Food Agric*, vol. 101, n° 14, p. 5747-5762, nov. 2021, doi: 10.1002/jsfa.11372.
- [18] S. Syamkumar et B. Sasikumar, « Molecular marker based genetic diversity analysis of *Curcuma* species from India », *Scientia Horticulturae*, vol. 112, n° 2, p. 235-241, mars 2007, doi: 10.1016/j.scienta.2006.12.021.
- [19] B. Boullard, *Plantes médicinales du monde. Croyances et réalités*. Paris: Editions Estem, 2001.
- [20] K. Khezri, M. Saeedi, H. Mohammadamini, et A. S. Zakaryaei, « A comprehensive review of the therapeutic potential of curcumin nanoformulations », *Phytotherapy Research*, vol. 35, n° 10, p. 5527-5563, oct. 2021, doi: 10.1002/ptr.7190.
- [21] N. Chand, « Standardized Turmeric and Curcumin », in *Nutraceuticals in Veterinary Medicine*, R. C. Gupta, A. Srivastava, et R. Lall, Éd., Cham: Springer International Publishing, 2019, p. 3-23. doi: 10.1007/978-3-030-04624-8_1.
- [22] T. Jiang, R. Ghosh, et C. Charcosset, « Extraction, purification and applications of curcumin from plant materials-A comprehensive review », *Trends in Food Science & Technology*, vol. 112, p. 419-430, juin 2021, doi: 10.1016/j.tifs.2021.04.015.
- [23] M. D. Ibáñez et M. A. Blázquez, « *Curcuma longa* L. Rhizome Essential Oil from Extraction to Its Agri-Food Applications. A Review », *Plants*, vol. 10, n° 1, Art. n° 1, janv. 2021, doi: 10.3390/plants10010044.
- [24] R. Takawira Nyenya, « Takawira-Nyenya R. (2005). *Pterocarpus angolensis*. In : Jansen P.C.M. & Cardon D. (Eds). *Plant Resources of Tropical Africa 3. Dyes & Tannins*.

- PROTA Foundfation, Wageningen, Netherlands/Backhugs Publishers, Leiden, Netherlanmds/CTA, Wageningen, Netherlands. 216 pp », 2005.
- [25] al Arrieta, « Säurestärke und Komplexbildung von Curcuminoiden - Arrieta - 1988 - Journal für Praktische Chemie - Wiley Online Library ». Consulté le: 13 novembre 2021. [En ligne]. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/prac.19883300120>
- [26] Tian Jiang, Raja Ghosh, et Catherine Charcosset, « Extraction, purification and applications of curcumin from plant materials-A comprehensive review », *Trends in food science & technology*, vol. 112, p. 419-430, juin 2021, doi: 10.1016/j.tifs.2021.04.015.
- [27] A. K. Popuri et B. Pagala, « Extraction of Curcumin From Turmeric Roots », vol. 2, n° 5, p. 11, 2013.
- [28] M. Antonelli et I. Kushner, « It's time to redefine inflammation », *The FASEB Journal*, vol. 31, n° 5, p. 1787-1791, 2017, doi: 10.1096/fj.201601326R.
- [29] S. Loap, « Curcuma (partie I) », *Phytothérapie*, vol. 6, n° 1, p. 22-28, févr. 2008, doi: 10.1007/s10298-008-0281-7.
- [30] F. Zhao *et al.*, « Curcumin and its major metabolites inhibit the inflammatory response induced by lipopolysaccharide: Translocation of nuclear factor- κ B as potential target », *Molecular Medicine Reports*, vol. 11, n° 4, p. 3087-3093, avr. 2015, doi: 10.3892/mmr.2014.3079.
- [31] D. Perrone *et al.*, « Biological and therapeutic activities, and anticancer properties of curcumin (Review) », *Experimental and Therapeutic Medicine*, vol. 10, n° 5, p. 1615-1623, nov. 2015, doi: 10.3892/etm.2015.2749.
- [32] D. Mathew et W.-L. Hsu, « Antiviral potential of curcumin », *Journal of Functional Foods*, vol. 40, p. 692-699, janv. 2018, doi: 10.1016/j.jff.2017.12.017.
- [33] P. Anand, A. B. Kunnumakkara, R. A. Newman, et B. B. Aggarwal, « Bioavailability of curcumin: problems and promises », *Mol Pharm*, vol. 4, n° 6, p. 807-818, déc. 2007, doi: 10.1021/mp700113r.
- [34] G. Shoba, D. Joy, T. Joseph, M. Majeed, R. Rajendran, et P. S. Srinivas, « Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers », *Planta Med*, vol. 64, n° 4, p. 353-356, mai 1998, doi: 10.1055/s-2006-957450.
- [35] F. Antunes, F. Andrade, D. Ferreira, H. M. Nielsen, et B. Sarmiento, « Models to predict intestinal absorption of therapeutic peptides and proteins », *Curr Drug Metab*, vol. 14, n° 1, p. 4-20, janv. 2013.
- [36] M. S. Quraishi, N. S. Jones, et J. Mason, « The rheology of nasal mucus: a review », *Clin Otolaryngol Allied Sci*, vol. 23, n° 5, p. 403-413, oct. 1998, doi: 10.1046/j.1365-2273.1998.00172.x.
- [37] Z. Ma, N. Wang, H. He, et X. Tang, « Pharmaceutical strategies of improving oral systemic bioavailability of curcumin for clinical application », *Journal of Controlled Release*, vol. 316, p. 359-380, déc. 2019, doi: 10.1016/j.jconrel.2019.10.053.

- [38] P. Anand, A. B. Kunnumakkara, R. A. Newman, et B. B. Aggarwal, « Bioavailability of Curcumin: Problems and Promises », *Mol. Pharmaceutics*, vol. 4, n° 6, p. 807-818, déc. 2007, doi: 10.1021/mp700113r.
- [39] K. I. Priyadarsini, « The Chemistry of Curcumin: From Extraction to Therapeutic Agent », *Molecules*, vol. 19, n° 12, Art. n° 12, déc. 2014, doi: 10.3390/molecules191220091.
- [40] Z. Li, M. Shi, N. Li, et R. Xu, « Application of Functional Biocompatible Nanomaterials to Improve Curcumin Bioavailability », *Frontiers in Chemistry*, vol. 8, p. 929, 2020, doi: 10.3389/fchem.2020.589957.
- [41] B. Zheng et D. J. McClements, « Formulation of More Efficacious Curcumin Delivery Systems Using Colloid Science: Enhanced Solubility, Stability, and Bioavailability », *Molecules*, vol. 25, n° 12, Art. n° 12, janv. 2020, doi: 10.3390/molecules25122791.
- [42] B. Zheng et D. J. McClements, « Formulation of More Efficacious Curcumin Delivery Systems Using Colloid Science: Enhanced Solubility, Stability, and Bioavailability », *Molecules*, vol. 25, n° 12, Art. n° 12, janv. 2020, doi: 10.3390/molecules25122791.
- [43] V. Manickam, V. Sundar, R. L. Panchangam, Amity, K. A. S, et R. Tamizhselvi, « Nanotechnology in Delivery and Targeting of Phytochemicals », in *Nanopharmaceuticals: Principles and Applications Vol. 2*, V. K. Yata, S. Ranjan, N. Dasgupta, et E. Lichtfouse, Éd., in Environmental Chemistry for a Sustainable World. , Cham: Springer International Publishing, 2021, p. 211-264. doi: 10.1007/978-3-030-44921-6_6.
- [44] J. Safari et Z. Zarnegar, « Advanced drug delivery systems: Nanotechnology of health design A review », *Journal of Saudi Chemical Society*, vol. 18, n° 2, p. 85-99, avr. 2014, doi: 10.1016/j.jscs.2012.12.009.
- [45] S. Deljoo, N. Rabiee, et M. Rabiee, « Curcumin-hybrid Nanoparticles in Drug Delivery System (Review) », *Asian Journal of Nanosciences and Materials*, vol. 2, n° 1, p. 66-91, janv. 2019, doi: 10.26655/ajnanomat.2019.1.5.
- [46] J. Górnicka, M. Mika, O. Wróblewska, P. Siudem, et K. Paradowska, « Methods to Improve the Solubility of Curcumin from Turmeric », *Life*, vol. 13, n° 1, Art. n° 1, janv. 2023, doi: 10.3390/life13010207.
- [47] Y. Chen, Y. Lu, R. J. Lee, et G. Xiang, « Nano Encapsulated Curcumin: And Its Potential for Biomedical Applications », *Int J Nanomedicine*, vol. 15, p. 3099-3120, 2020, doi: 10.2147/IJN.S210320.
- [48] M. A. Khosravi et R. Seifert, « Clinical trials on curcumin in relation to its bioavailability and effect on malignant diseases: critical analysis », *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, vol. 397, n° 5, p. 3477-3491, mai 2024, doi: 10.1007/s00210-023-02825-7.
- [49] T. Jiang, W. Liao, et C. Charcosset, « Recent advances in encapsulation of curcumin in nanoemulsions: A review of encapsulation technologies, bioaccessibility and applications », *Food Research International*, vol. 132, p. 109035, juin 2020, doi: 10.1016/j.foodres.2020.109035.

- [50] K. Z. Sanidad, E. Sukamtoh, H. Xiao, D. J. McClements, et G. Zhang, « Curcumin: Recent Advances in the Development of Strategies to Improve Oral Bioavailability », *Annual Review of Food Science and Technology*, vol. 10, n° Volume 10, 2019, p. 597-617, mars 2019, doi: 10.1146/annurev-food-032818-121738.
- [51] V. S. Ipar, A. Dsouza, et P. V. Devarajan, « Enhancing Curcumin Oral Bioavailability Through Nanoformulations », *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, vol. 44, n° 4, p. 459-480, août 2019, doi: 10.1007/s13318-019-00545-z.
- [52] B. F. Far *et al.*, « Exploring Curcumin-Loaded Lipid-Based Nanomedicine as Efficient Targeted Therapy for Alzheimer's Diseases », *ACS Applied Bio Materials*, mai 2024, doi: 10.1021/acsabm.4c00112.
- [53] A. Ahmad *et al.*, « Curcumin Nanogel Preparations: A Promising Alternative for Psoriasis Treatment », <http://www.eurekaselect.com>, 2024, Consulté le: 29 décembre 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.eurekaselect.com/article/140397>
- [54] Jing Shen, Jiangtao Zhang, Weitai Wu, Probal Banerjee, et Shuiqin Zhou, « Biocompatible Anisole-Nonlinear PEG Core–Shell Nanogels for High Loading Capacity, Excellent Stability, and Controlled Release of Curcumin ». Consulté le: 29 décembre 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.mdpi.com/2310-2861/9/9/762>
- [55] S. K. Sah, A. Badola, et B. K. Nayak, « Emulgel: Magnifying the application of topical drug delivery », *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*, vol. 5, n° 01, Art. n° 01, janv. 2017, doi: 10.30750/ijpbr.5.1.4.
- [56] Navneet Kumar Verma, « Emulgel: A Recent Technique For Topical Drug Delivery- A Review », févr. 2023, doi: 10.5281/ZENODO.7593756.
- [57] V. Jyothi, M. Pullemla, S. Nafiroona, G. Pujari, et R. Purama, « Formulation and evaluation of curcumin emulgel for topical delivery », *J Pharmacogn Phytochem*, vol. 11, n° 6, p. 33-41, nov. 2022, doi: 10.22271/phyto.2022.v11.i6a.14522.
- [58] R. Km, Iram, yasser, et Ahmed, « Enhancement of Curcumin's Anti-Psoriatic Efficacy via Formulation into Tea Tree Oil-Based Emulgel ». Consulté le: 2 janvier 2025. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.mdpi.com/2310-2861/9/12/973>
- [59] A. Ergin, Ö. İnal, et A. Barakat, « In vitro and ex vivo assessments of surfactant-free topical curcumin emulgel », *Journal of Research in Pharmacy*, vol. 27, n° 2, 2023, doi: 10.29228/jrp.336.
- [60] A. Alyoussef, R. I. El-Gogary, R. F. Ahmed, O. AH. Ahmed Farid, R. M. Bakeer, et M. Nasr, « The beneficial activity of curcumin and resveratrol loaded in nanoemulgel for healing of burn-induced wounds », *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, vol. 62, p. 102360, avr. 2021, doi: 10.1016/j.jddst.2021.102360.
- [61] D. Jain, D. V. Tiwari, et D. Dutta, « DEVELOPMENT AND EVALUATION OF POLY HERBAL EMULGEL OF CURCUMA LONGA », *World Journal of Pharmaceutical Research*, vol. 11, n° 9, 2022.
- [62] C. Prabhakar et K. B. Krishna, « A REVIEW ON NANOSUSPENSIONS IN DRUG DELIVERY », 2011.

- [63] Y. Gao *et al.*, « Preparation and characterization of intravenously injectable curcumin nanosuspension », *Drug Delivery*, vol. 18, n° 2, p. 131-142, févr. 2011, doi: 10.3109/10717544.2010.520353.
- [64] N. P. Aditya, H. Yang, S. Kim, et S. Ko, « Fabrication of amorphous curcumin nanosuspensions using β -lactoglobulin to enhance solubility, stability, and bioavailability », *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 127, p. 114-121, mars 2015, doi: 10.1016/j.colsurfb.2015.01.027.
- [65] D. Bao hoang, trung hoai, et Quynh, « Processes | Free Full-Text | Preparation of Curcumin Nanosuspension with Gum Arabic as a Natural Stabilizer: Process Optimization and Product Characterization ». Consulté le: 5 septembre 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.mdpi.com/2227-9717/8/8/970>
- [66] Legha, Habibeh, Vahid, et Madjid, « Les nanoformulations à base de curcumine soulagent les plaies et les troubles associés : une étude approfondie - Ansari - 2023 - BioFactors - Wiley Online Library ». Consulté le: 6 janvier 2025. [En ligne]. Disponible sur: <https://iubmb.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/biof.1945>
- [67] L. Huang *et al.*, « Novel nano-drug delivery system for natural products and their application », *Pharmacological Research*, vol. 201, p. 107100, mars 2024, doi: 10.1016/j.phrs.2024.107100.
- [68] C. A. Arcaro *et al.*, « Piperine, a Natural Bioenhancer, Nullifies the Antidiabetic and Antioxidant Activities of Curcumin in Streptozotocin-Diabetic Rats », *PLOS ONE*, vol. 9, n° 12, p. e113993, déc. 2014, doi: 10.1371/journal.pone.0113993.
- [69] B. B. Al-Shammari, R. M. Al-Ali, et A. A. Al-Sahi, « The Effect of Fenugreek Gum on The Rheological and Qualitative Properties of Pan Bread », *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.*, vol. 761, n° 1, p. 012118, mai 2021, doi: 10.1088/1755-1315/761/1/012118.
- [70] J.-K. Yu et Y.-S. Moon, « Corn Starch: Quality and Quantity Improvement for Industrial Uses », *Plants*, vol. 11, n° 1, Art. n° 1, janv. 2022, doi: 10.3390/plants11010092.
- [71] K. Marcinek et Z. Krejpcio, « Stevia rebaudiana Bertoni - chemical composition and functional properties », *Acta Sci Pol Technol Aliment*, vol. 14, n° 2, p. 145-152, juin 2015, doi: 10.17306/J.AFS.16.
- [72] Wei Zhao, Liwen Wang, Fan Yang, et Ning Zhang, « Antioxidant activity assessment of Yingjisha sweet almond oil | Request PDF », *ResearchGate*, mai 2024, doi: 10.1111/ijfs.15553.
- [73] « (PDF) Extraction of bioactive compound curcumin from turmeric (*Curcuma longa* L.) via different routes: A comparative study », *ResearchGate*. Consulté le: 7 avril 2025. [En ligne]. Disponible sur: https://www.researchgate.net/publication/309122266_Extraction_of_bioactive_compound_curcumin_from_turmeric_Curcuma_longa_L_via_different_routes_A_comparative_study
- [74] « (PDF) Extraction, isolement et évaluation de l'activité anti-inflammatoire des curcuminoïdes de *Curcuma longa* ». Consulté le: 7 avril 2025. [En ligne]. Disponible sur:

https://www.researchgate.net/publication/265914762_Extraction_isolation_and_evaluation_of_anti-inflammatory_activity_of_Curcuminoids_from_Curcuma_longa

- [75] S. Miskeen, Y. S. An, et J.-Y. Kim, « Application of starch nanoparticles as host materials for encapsulation of curcumin: Effect of citric acid modification », *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 183, p. 1-11, juill. 2021, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.04.133.
- [76] M. Kakran, N. G. Sahoo, I.-L. Tan, et L. Li, « Preparation of nanoparticles of poorly water-soluble antioxidant curcumin by antisolvent precipitation methods », *J Nanopart Res*, vol. 14, n° 3, p. 757, mars 2012, doi: 10.1007/s11051-012-0757-0.
- [77] A. K. Nayak, D. Pal, et K. Santra, « Screening of polysaccharides from tamarind, fenugreek and jackfruit seeds as pharmaceutical excipients », *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 79, p. 756-760, août 2015, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2015.05.018.
- [78] J. Li, G. H. Shin, I. W. Lee, X. Chen, et H. J. Park, « Soluble starch formulated nanocomposite increases water solubility and stability of curcumin », *Food Hydrocolloids*, vol. 56, p. 41-49, mai 2016, doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.11.024.
- [79] P. Suryanarayana, M. Saraswat, T. Mrudula, T. P. Krishna, K. Krishnaswamy, et G. B. Reddy, « Curcumin and turmeric delay streptozotocin-induced diabetic cataract in rats », *Invest Ophthalmol Vis Sci*, vol. 46, n° 6, p. 2092-2099, juin 2005, doi: 10.1167/iovs.04-1304.
- [80] R. A. Abdel-Aal, M. S. Abdel-Rahman, S. Al Bayoumi, et L. A. Ali, « Effect of stevia aqueous extract on the antidiabetic activity of saxagliptin in diabetic rats », *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 265, p. 113188, janv. 2021, doi: 10.1016/j.jep.2020.113188.
- [81] M. U. Akbar, K. M. Zia, M. S. H. Akash, A. Nazir, M. Zuber, et M. Ibrahim, « In-vivo anti-diabetic and wound healing potential of chitosan/alginate/maltodextrin/pluronic-based mixed polymeric micelles: Curcumin therapeutic potential », *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 120, p. 2418-2430, déc. 2018, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.09.010.
- [82] F. Irshaid, K. Mansi, et T. Aburjai, « Antidiabetic effect of essential oil from *Artemisia sieberi* growing in Jordan in normal and alloxan induced diabetic rats », *Pak J Biol Sci*, vol. 13, n° 9, p. 423-430, mai 2010, doi: 10.3923/pjbs.2010.423.430.
- [83] R. Saravanan, K. Vengatash babu, et V. Ramachandran, « Effect of Rebaudioside A, a diterpenoid on glucose homeostasis in STZ-induced diabetic rats », *J Physiol Biochem*, vol. 68, n° 3, p. 421-431, sept. 2012, doi: 10.1007/s13105-012-0156-0.
- [84] V. Perumal, T. Manickam, K.-S. Bang, P. Velmurugan, et B.-T. Oh, « Antidiabetic potential of bioactive molecules coated chitosan nanoparticles in experimental rats », *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 92, p. 63-69, nov. 2016, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.07.006.
- [85] I. Mormile *et al.*, « The Benefits of Water from Nitrodi's Spring: The In Vitro Studies Leading the Potential Clinical Applications », *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, n° 18, Art. n° 18, janv. 2023, doi: 10.3390/ijms241813685.

- [86] S. Djeraba, C. Nehal, et F. Zohra, « Formulation d'un émulsion à base d'actifs naturels », 2022.
- [87] Y. Shen, X. Ling, W. Jiang, S. Du, Y. Lu, et J. Tu, « Formulation and evaluation of Cyclosporin A emulgel for ocular delivery », *Drug Delivery*, oct. 2015, Consulté le: 5 octobre 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/10717544.2013.861883>
- [88] V. Harshitha, M. V. Swamy, D. P. Kumar, K. S. Rani, et A. Trinath, « Nanoemulgel: A Process Promising in Drug Delivery System », *Rese. Jour. Pharmaceut. Dosag. Form. and Technol.*, vol. 12, n° 2, p. 125, 2020, doi: 10.5958/0975-4377.2020.00022.1.
- [89] M. Sohail, A. Naveed, R. Abdul, Gulfishan, H. Muhammad Shoaib Khan, et H. Khan, « Une approche pour une stabilité améliorée : Formulation et caractérisation d'un émulsion topique à base de lycopène dérivé de *Solanum lycopersicum* », *Saudi Pharmaceutical Journal*, vol. 26, n° 8, p. 1170-1177, déc. 2018, doi: 10.1016/j.jsps.2018.07.005.
- [90] S. Sultana, P. Parveen, M. Rekha, K. Deepthi, C. Sowjanya, et Devi, « EMULGEL -A NOVEL SURROGATE APPROACH FOR TRANSDERMAL DRUG DELIVERY SYSTEM », janv. 2014.
- [91] T. Samaraweera, T. Samaraweera, N. N. Senadeera, et C. B. Ranaweera, « In vitro Anti-Inflammatory Activity of Leaves of *Jeffreyia zeylanica* Using the Egg Albumin Denaturation Method and Human Red Blood Cell Stabilization Method », *Asian Plant Research Journal*, vol. 11, n° 6, Art. n° 6, nov. 2023, doi: 10.9734/aprj/2023/v11i6230.
- [92] H. Sabry, W. Ali, B. Abdullah, et W. Al-ani, « Formulation design and evaluation of anti-microbial activity of emulgel containing essential oil of *myrtus communis* L. », *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, vol. 40, p. 271-277, janv. 2016.
- [93] T. Kitisin, W. Muangkaew, S. Ampawong, N. Sansurin, N. Thitipramote, et P. Sukphopetch, « Development and efficacy of tryptophol-containing emulgel for reducing subcutaneous fungal nodules from *Scedosporium apiospermum* eumycetoma », *Research in Pharmaceutical Sciences*, vol. 17, n° 6, p. 707, déc. 2022, doi: 10.4103/1735-5362.359437.
- [94] G. Flora, D. Gupta, et A. Tiwari, « Nanocurcumin: A Promising Therapeutic Advancement over Native Curcumin », *CRT*, vol. 30, n° 4, 2013, doi: 10.1615/CritRevTherDrugCarrierSyst.2013007236.
- [95] M. Kharat, Z. Du, G. Zhang, et D. J. McClements, « Physical and Chemical Stability of Curcumin in Aqueous Solutions and Emulsions: Impact of pH, Temperature, and Molecular Environment », *J. Agric. Food Chem.*, vol. 65, n° 8, p. 1525-1532, mars 2017, doi: 10.1021/acs.jafc.6b04815.
- [96] O. Kazakova, N. Lipkovska, et V. Barvinchenko, « Keto-enol tautomerism of curcumin in the preparation of nanobiocomposites with fumed silica », *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 277, p. 121287, sept. 2022, doi: 10.1016/j.saa.2022.121287.

- [97] H. H. Tonnesen et J. Karlsen, « Studies on curcumin and curcuminoids: VI. Kinetics of curcumin degradation in aqueous solution », *Z Lebensm Unters Forsch*, vol. 180, n° 5, p. 402-404, mai 1985, doi: 10.1007/BF01027775.
- [98] A. Vázquez et C. I. Beristain, « [Co-crystallization of cucumber concentrate (*Cucumis sativa* L.)] », *Arch Latinoam Nutr*, vol. 48, n° 3, p. 247-249, sept. 1998.
- [99] M. Ajami *et al.*, « Effects of stevia on glycemic and lipid profile of type 2 diabetic patients: A randomized controlled trial », *Avicenna J Phytomed*, vol. 10, n° 2, p. 118-127, 2020.
- [100] A. M. Orellana-Paucar, « Steviol Glycosides from *Stevia rebaudiana*: An Updated Overview of Their Sweetening Activity, Pharmacological Properties, and Safety Aspects », *Molecules*, vol. 28, n° 3, Art. n° 3, janv. 2023, doi: 10.3390/molecules28031258.
- [101] A. K. Biswas, M. R. Islam, Z. S. Choudhury, A. Mostafa, et M. F. Kadir, « Nanotechnology based approaches in cancer therapeutics », *Adv. Nat. Sci. Nanosci. Nanotechnol.*, vol. 5, n° 4, p. 043001, nov. 2014, doi: 10.1088/2043-6262/5/4/043001.
- [102] S. Bhattacharjee, « DLS and zeta potential - What they are and what they are not? », *J Control Release*, vol. 235, p. 337-351, août 2016, doi: 10.1016/j.jconrel.2016.06.017.
- [103] R. H. Muller et C. M. Keck, « Challenges and solutions for the delivery of biotech drugs – a review of drug nanocrystal technology and lipid nanoparticles », *Journal of Biotechnology*, vol. 113, n° 1, p. 151-170, sept. 2004, doi: 10.1016/j.jbiotec.2004.06.007.
- [104] M. M. Yallapu, P. K. B. Nagesh, M. Jaggi, et S. C. Chauhan, « Therapeutic Applications of Curcumin Nanoformulations », *AAPS J*, vol. 17, n° 6, p. 1341-1356, nov. 2015, doi: 10.1208/s12248-015-9811-z.
- [105] Y. Wei, Y. Lin, R. Xie, Y. Xu, J. Yao, et J. Zhang, « The flow behavior, thixotropy and dynamical viscoelasticity of fenugreek gum », *Journal of Food Engineering*, vol. 166, p. 21-28, déc. 2015, doi: 10.1016/j.jfoodeng.2015.05.015.
- [106] R. Niknam, M. Mousavi, et H. Kiani, « New Studies on the Galactomannan Extracted from *Trigonella foenum-graecum* (Fenugreek) Seed: Effect of Subsequent Use of Ultrasound and Microwave on the Physicochemical and Rheological Properties », *Food Bioprocess Technol*, vol. 13, n° 5, p. 882-900, mai 2020, doi: 10.1007/s11947-020-02437-6.
- [107] H.-L. Jian, X.-J. Lin, W.-A. Zhang, W.-M. Zhang, D.-F. Sun, et J.-X. Jiang, « Characterization of fractional precipitation behavior of galactomannan gums with ethanol and isopropanol », *Food Hydrocolloids*, vol. 40, p. 115-121, oct. 2014, doi: 10.1016/j.foodhyd.2014.02.012.
- [108] M. Kučka, K. Ražná, Ľ. Harenčár, et T. Kolarovičová, « Plant Seed Mucilage—Great Potential for Sticky Matter », *Nutraceuticals*, vol. 2, n° 4, Art. n° 4, déc. 2022, doi: 10.3390/nutraceuticals2040019.

- [109] M. A. V. T. Garcia, C. F. Garcia, et A. A. G. Faraco, « Pharmaceutical and Biomedical Applications of Native and Modified Starch: A Review », *Starch - Stärke*, vol. 72, n° 7-8, p. 1900270, 2020, doi: 10.1002/star.201900270.
- [110] E. Bourret, « Mucilages et galactomannanes de fenugrec et leurs applications », FR2807324A1, 12 octobre 2001 Consulté le: 29 mars 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://patents.google.com/patent/FR2807324A1/fr>
- [111] U. R. Pothakamury et G. V. Barbosa-Cánovas, « Fundamental aspects of controlled release in foods », *Trends in Food Science & Technology*, vol. 6, n° 12, p. 397-406, déc. 1995, doi: 10.1016/S0924-2244(00)89218-3.
- [112] C. Mohanty et S. K. Sahoo, « The in vitro stability and in vivo pharmacokinetics of curcumin prepared as an aqueous nanoparticulate formulation », *Biomaterials*, vol. 31, n° 25, p. 6597-6611, sept. 2010, doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.04.062.
- [113] M. Papaefthimiou, P. I. Kontou, P. G. Bagos, et G. G. Braliou, « Antioxidant Activity of Leaf Extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni Exerts Attenuating Effect on Diseased Experimental Rats: A Systematic Review and Meta-Analysis », *Nutrients*, vol. 15, n° 15, Art. n° 15, janv. 2023, doi: 10.3390/nu15153325.
- [114] R. Shahu, R. Jobby, S. Patil, M. Bhorl, K. Tungare, et P. Jha, « Phytochemical content and antioxidant activity of different varieties of *Stevia rebaudiana* », *Hortic. Environ. Biotechnol.*, vol. 63, n° 6, p. 935-948, déc. 2022, doi: 10.1007/s13580-022-00451-5.
- [115] G. Sindhu, M. Ratheesh, G. L. Shyni, B. Nambisan, et A. Helen, « Anti-inflammatory and antioxidative effects of mucilage of *Trigonella foenum graecum* (Fenugreek) on adjuvant induced arthritic rats », *Int Immunopharmacol*, vol. 12, n° 1, p. 205-211, janv. 2012, doi: 10.1016/j.intimp.2011.11.012.
- [116] S. Samarghandian, M. Azimi-Nezhad, T. Farkhondeh, et F. Samini, « Anti-oxidative effects of curcumin on immobilization-induced oxidative stress in rat brain, liver and kidney », *Biomed Pharmacother*, vol. 87, p. 223-229, mars 2017, doi: 10.1016/j.biopha.2016.12.105.
- [117] O. M. Ionescu *et al.*, « Design, preparation and in vitro characterization of biomimetic and bioactive chitosan/polyethylene oxide based nanofibers as wound dressings », *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 193, p. 996-1008, déc. 2021, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.10.166.
- [118] F. Pivari, A. Mingione, C. Brasacchio, et L. Soldati, « Curcumin and Type 2 Diabetes Mellitus: Prevention and Treatment », *Nutrients*, vol. 11, n° 8, p. 1837, août 2019, doi: 10.3390/nu11081837.
- [119] S. Bahadur, « Formulation of Glipizide Tablets using Fenugreek Seed Mucilage: Optimization by Factorial Design », *Asian Journal of Pharmaceutics (AJP)*, vol. 10, n° 04, Art. n° 04, déc. 2016, doi: 10.22377/ajp.v10i04.906.
- [120] H. Misra, M. Soni, N. Silawat, D. Mehta, B. K. Mehta, et D. C. Jain, « Antidiabetic activity of medium-polar extract from the leaves of *Stevia rebaudiana* Bert. (Bertoni) on alloxan-induced diabetic rats », *J Pharm Bioallied Sci*, vol. 3, n° 2, p. 242-248, 2011, doi: 10.4103/0975-7406.80779.

- [121] Li-Xin Na et al, « Curcuminoids exert glucose-lowering effect in type 2 diabetes by decreasing serum free fatty acids: a double-blind, placebo-controlled trial - Na - 2013 - Molecular Nutrition & Food Research - Wiley Online Library ». Consulté le: 8 mars 2023. [En ligne]. Disponible sur: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/mnfr.201200131>
- [122] S. Rivera-Mancía, J. Trujillo, et J. P. Chaverri, « Utility of curcumin for the treatment of diabetes mellitus: Evidence from preclinical and clinical studies », *Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism*, vol. 14, p. 29-41, déc. 2018, doi: 10.1016/j.jnim.2018.05.001.
- [123] A. Ar'Rajab et B. AhréN, « Long-Term Diabetogenic Effect of Streptozotocin in Rats », *Pancreas*, vol. 8, n° 1, p. 50, janv. 1993.
- [124] M. R. Metawea, H. M. A. Abdelrazek, H. N. G. El-Hak, M. M. Moghazee, et O. M. Marie, « Comparative effects of curcumin versus nano-curcumin on histological, immunohistochemical expression, histomorphometric, and biochemical changes to pancreatic beta cells and lipid profile of streptozocin induced diabetes in male Sprague–Dawley rats », *Environ Sci Pollut Res*, vol. 30, n° 22, p. 62067-62079, mai 2023, doi: 10.1007/s11356-023-26260-6.
- [125] Samir G. Patel, Meghal D. Patel, Hira Choudhury, et Mahavir B. Chougule, « Potentiel zêta – un aperçu | ScienceDirect Topics ». Consulté le: 19 octobre 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/zeta-potential>
- [126] M. Rebiha, N. Moulai-Mostefa, et A. H. Sadok, « Propriétés physicochimiques et rhéologiques d'un mélange aqueux de biopolymères et d'un tensioactif non ionique », *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, vol. 23, p. 99-106, 2011.
- [127] Hadj sadok Abdelkader, M. Rebiha, et Nadji moulai, « Full article: Rheological Properties and Phase Separation of Xanthan-Sodium Caseinate Mixtures Analyzed by a Response Surface Method ». Consulté le: 20 octobre 2024. [En ligne]. Disponible sur: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942910802532531#d1e297>
- [128] B. Kebede et W. Shibeshi, « In vitro antibacterial and antifungal activities of extracts and fractions of leaves of *Ricinus communis* Linn against selected pathogens », *Veterinary Medicine and Science*, vol. 8, n° 4, p. 1802, févr. 2022, doi: 10.1002/vms3.772.