

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

UNIVERSITÉ BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GÉNIE DES PROCÉDES

Spécialité : pharmacie industrielle

Intitulé du mémoire

**Etude de l'effet de la plante *Ajuga iva* sur la
fertilité féminine en vue d'une application
pharmaceutique**

Présenté par :

M^{elle} AIDA Anefel

M^{elle} BOUDISSA Ibtissem

Encadrés par :

Dr. ZERMENE Faiza

Dr. CHADER Henni

Année universitaire 2018/2019

ملخص

يهدف هذا العمل أولاً إلى دراسة فعالية الإلكديستيرويدات الموجودة في نبات الشندقورة ضد العقم عند النساء ، بدءاً من استخراج هذه المركبات باستخدام مذيب عضوي. بعد التعرف على هذه الإلكديستيرويدات بتقنيات التحليل بالأشعة فوق البنفسجية والأشعة تحت الحمراء ، تم تقييم درجة تسمم هذا المستخلص من أجل تحديد أعلى جرعة غير سامة له و لإستعمالها لاختبار النشاط الخصوي ، بعد ذلك أجريت عملية استخلاص ثانية من أجل الحصول على الزيوت الأساسية لنبتة الشندقورة بواسطة تقنية التمييع المائي ، ثانياً ، تم اعداد مراحل تصنيع الأقراص بإستعمال مسحوق هذه النبتة.

ABSTRACT

This work aims first at studying the therapeutic activity of the ecdysteroides present in the *Ajuga iva* plant on female sterility, starting with an extraction of these compounds using an organic solvent. After the identification of these ecdysteroids by uv-visible and infrared analysis techniques, a step of evaluation of the toxicity and the fertilizing activity was carried out in order to determine the highest non-toxic dose for testing this activity, a second extraction was carried out in order to obtain the essential oil of *ajuga iva* by the hydrodistillation technique. Secondly, the elaboration of the steps for manufacturing tablets based of the plant *ajuga iva*.

RÉSUMÉ

Ce travail vise dans un premier temps à étudier l'activité thérapeutique des ecdystéroïdes présents dans la plante *Ajuga iva* sur la stérilité féminine, en commençant par une extraction de ces composés à l'aide d'un solvant organique. Après l'identification de ces ecdystéroïdes par des technique d'analyses, à savoir l'uv-visible et l'infrarouge, une étape d'évaluation de la toxicité et de l'activité fertilisante a été réalisée dans le but de déterminer la plus grande dose non toxique pour l'utiliser afin de tester cette activité, une deuxième extraction a été effectuer afin d'obtenir l'huile essentielle de l'*Ajuga iva* par la technique d'hydrodistillation et dans un deuxième temps l'élaboration des étapes de fabrication des comprimés à base de la plante *Ajuga iva*.

REMERCIEMENTS

Remerciements

Nos premiers remerciements vont tout naturellement à ALLAH qui nous a donné le courage et la volonté de réaliser ce travail.

Au terme de ce travail, On tient à exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice Mme zermane pour son soutien et ses renseignements

J'adresse mes sincères remerciements à Mrs chader, chef de service de pharmacotoxicologie au LNCPP pour le temps qu'il a consacré et pour les précieuses informations qu'il nous a prodiguées avec intérêt et compréhension.

Nos sincères remerciements s'adressent aussi à HANA et ZINEB pour leur aide et leur soutien

Que tous les membres de jury soient remerciés pour l'intérêt et l'attention qu'ils portent à ce travail

Enfin nos remerciements vont également à tous nos amis, pour leur appui moral qu'ils nous ont témoigné ainsi que leur disponibilité durant les jours de travail.

DEDICACES

Dédicace

On dédie ce travail à ...

A nos très chers parents qui ont toujours été la pour nous, et qui nous ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.

A nos frères et sœurs « Sirine, Azhar, Abderrahmen »,

*A toute les familles **AIDA ET BOUDISSA,***

A tous nos amis,

A tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, nous ont soutenus ou aidés durant la réalisation de ce travail.

TABLE DES MATIERES

TABLE DE MATIERES

Introduction générale.....	01
CHAPITRE 01 : REVUE BIBIOLOGRAPHIQUE	
1.1.Généralités sur la plante <i>Ajuga iva</i>	03
1.1.1. Description de la plante	03
1.1.2. Distribution géographique et habitat	04
1.1.3. Les propriétés thérapeutiques et usages de la plante <i>Ajuga iva</i>	04
1.1.4. Toxicité d' <i>Ajuga iva</i>	05
1.1.5. Principes actifs de l' <i>Ajuga iva</i>	06
1.1.6. Les travaux réalisés sur la plante <i>Ajuga iva</i>	09
1.2.La phytothérapie.....	11
1.2.1. Introduction	11
1.2.2. Définition de la phytothérapie	11
1.2.3. Différents types de la phytothérapie	11
1.2.4. Les avantages de la phytothérapie	12
1.2.5. Importance de l'utilisation de la phytothérapie dans le monde	12
1.3. Aperçu sur les comprimés.....	13
1.3.1. Définition du comprimé	13
1.3.2. Caractéristiques des comprimés	13
1.3.3. Classification des comprimés	14
1.3.4. Procédé de fabrication des comprimés	17
CHAPITRE 02 : MATERIELS ET METHODES	
2.1.Introduction	20
2.2.Présentation des sites d'accueil	20
2.3.Protocoles d'extraction d'huile essentielle	20
2.4.Caractérisation de l'huile essentielle	23
2.5.Evaluation de la toxicité aigue de l'extrait obtenu.....	23
2.6.Evaluation de l'activité fertilisante in vivo	24
2.7. Préparation des comprimés à base de la plante <i>Ajuga iva</i>	26
CHAPITRE 03 : RÉSULTATS ET DISCUSSION	
3.1.Introduction	38
3.2.Les résultats de l'extraction	38

3.3.La caractérisation de l'extrait obtenu	39
3.4.Les résultats de la toxicité aigue	41
3.5.Résultats de l'évaluation de l'activité fertilisante in vivo	41
3.6.Analyse granulométrique	45
3.7. Résultats pharmaco-techniques	51
3.8.Résultats biopharmaceutiques	52
3.9.Analyse statistique	57
Conclusion	63

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1.1 : Quelques photographies d' <i>Ajuga iva</i> . (A) Les feuilles est les fleurs, (B) la plante entière.....	03
Figure 1.2 : La structure chimique de 20-Hydroxyecdysone	08
Figure 1.3 : La structure chimique de Makisterone A.....	08
Figure 1.4 : La structure chimique de Cyasterone R=H.....	09
Figure 1.5 : La structure chimique de 24,25-Dehydroprecyasterone.....	09
Figure 1.6 : La structure chimique de 24(28)-Dydromakisterone A.....	09
Figure 1.7 : La structure chimique de 22-Oxocyasterone.....	09
Figure 1.8 : La structure chimique d'Ecdysterone.....	09
Figure 2.1 : Les feuilles d' <i>Ajuga iva</i> fraîches.....	20
Figure 2.2 : Les feuilles d' <i>Ajuga iva</i> séchées.....	20
Figure 2.3 : L'agitation magnétique du mélange.....	21
Figure 2.4 : La filtration du mélange.....	21
Figure 2.5 : Montage d'hydrodistillation (Clevenger).....	22
Figure 2.6 : procédé de séparation de l'huile essentielle et l'hydrolat.....	22
Figure 2.7 : Le gavage de la souris.....	25
Figure 2.8 : La fixation de la souris sur la planche à dissection.....	26
Figure 2.9 : Le déroulement des intestins et l'observation de l'appareil génital.....	26
Figure 2.10 : Formule structurale de lactose alpha-monohydrate.....	28
Figure 2.11 : Formule structurale de saccharose.....	29
Figure 2.12 : Structure de la molécule de stéarate de magnésium.....	30
Figure 2.13 : Formule structurale de l'amidon.....	30
Figure 2.14 : Appareil de mesure de la vitesse d'écoulement.....	32
Figure 2.15 : Appareil de tassement des poudres.....	33
Figure 2.16 : Appareil de tamisage.....	33
Figure 2.17 : Appareil de mesure d'humidité résiduelle.....	34
Figure 2.18 : Appareil de mesure de friabilité.....	35
Figure 2.19 : Appareil de mesure de la dureté.....	36
Figure 2.20 : dissolutest	37
Figure 3.1 : Spectres UV-Visible d'ecdystéroïdes.....	39
Figure 3.2 : spectre IR d'ecdysteroïde.....	40

Figure 3.3 : Histogramme montrant l'évolution pondérale des ovaires chez les différents groupes de souris.....	43
Figure 3.4 : Histogramme montrant l'évolution pondérale de l'appareil génital chez les différents groupes de souris.....	43
Figure 3.5: Distribution granulométrique [essai 1]	45
Figure 3.6: Distribution granulométrique [essai 2]	46
Figure 3.7: Distribution granulométrique [essai 3]	46
Figure 3.8: Distribution granulométrique [essai 4]	46
Figure 3.9: Distribution granulométrique [essai 5].	47
Figure 3.10: Distribution granulométrique [essai 6]	47
Figure 3.11: Distribution granulométrique [essai 7]	47
Figure 3.12: Distribution granulométrique [essai 8].....	48
Figure 3.13: Distribution granulométrique [essai 9]	48
Figure 3.14: Distribution granulométrique [essai 10]	48
Figure 3.15: Distribution granulométrique [essai 11]	49
Figure 3.16: Distribution granulométrique [essai 12]	49
Figure 3.17: Distribution granulométrique [essai 13]	49
Figure 3.18: Distribution granulométrique [essai 14]	50
Figure 3.19 : le tracé de la courbe d'étalonnage.....	53
Figure 3.20 : Profil de dissolution [essai 1]	53
Figure 3.21: Profil de dissolution [essai 2]	53
Figure 3.22 : Profil de dissolution [essai 3]	54
Figure 3.23 : Profil de dissolution [essai 4]	54
Figure 3.24 : Profil de dissolution [essai 5].....	54
Figure 3.25 : Profil de dissolution [essai 6].....	54
Figure 3.26 : Profil de dissolution [essai 7].....	55
Figure 3.27 : Profil de dissolution [essai 8].....	55
Figure 3.28 : Profil de dissolution [essai 9].....	55
Figure 3.29 : Profil de dissolution [essai 10].....	55
Figure 3.30 : Profil de dissolution [essai 11].....	56
Figure 3.31 : Profil de dissolution [essai 12].....	56
Figure 3.32 : Profil de dissolution [essai 13].....	56
Figure 3.33 : Profil de dissolution [essai 14].....	56
Figure 3.34 : Histogramme des effets des excipients sur la friabilité.....	57

Figure 3.35 : Histogramme des effets des excipients sur l'indice de Carr.....	58
Figure 3.36 : Histogramme des effets des excipients sur le tassement.....	59
Figure 3.37 : Histogramme des effets des excipients sur l'écoulement.....	59
Figure 3.38 : Histogramme des effets des excipients sur l'humidité résiduelle.....	60
Figure 3.39 : Histogramme des effets des excipients sur l'uniformité de masse.....	61
Figure 3.40 : Histogramme des effets des excipients sur la dureté.....	61

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 : les noms vernaculaires d' <i>Ajuga iva</i>	04
Tableau 1.2 : principales caractéristiques culturelles d' <i>Ajuga iva</i>	04
Tableau 1.3 : Synthèse des essais relatifs aux comprimés décrits dans la Ph. Eur. 8.0 (2014).....	19
Tableau 2.1 : La préparation de la dose administrée à partir de la dose de la substance d'essai (50-300-2000 mg/ kg/per os).....	24
Tableau 2.2 : Matrice d'expériences en variables centrées et réduites.....	27
Tableau 2.3 : Ecartes limites en fonction de la masse des comprimés.....	34
Tableau 3.1 : Les caractéristiques organoleptiques des huiles extraites.....	38
Tableau 3.2 : La teneur en huile essentielle.....	38
Tableau 3.3 : les résultats de la toxicité.....	41
Tableau 3.4 : tableau récapitulatif le poids de l'appareil génital et des ovaires des souris immatures traités par l'extrait d'ecdystéride.....	41
Tableau 3.5 : tableau récapitulatif le poids de l'appareil génital et des ovaires des souris immatures non traités par l'extrait d'ecdystéride.....	42
Tableau 3.6 : tableau récapitulatif le poids de l'appareil génital et des ovaires des souris matures non traités par l'extrait d'ecdystéride.....	42
Tableau 3.7 : La comparaison des moyennes par le test de Student.....	44
Tableau 3.8 : Valeurs de D50 D _{mo} Y et D modal.....	50
Tableau 3.9 : Résultats pharmaco-techniques.....	51
Tableau 3.10 : Résultats de l'uniformité de masse.....	52

INTRODUCTION

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les médicaments à base de plantes sont des extraits de plantes ou des parties de plantes réputées pour leurs propriétés curatives. On les appelle également remèdes naturels, médicaments botaniques ou de phytothérapie

La phytothérapie est l'une des plus vieilles médecines du monde. Elle représente une alternative intéressante pour traiter et soigner, sans créer de nouvelles maladies. Malgré le développement phénoménal de l'industrie pharmaceutique et chimique, l'intérêt populaire pour la phytothérapie n'a jamais cessé d'évoluer. De nos jours, ces deux types de médication se retrouvent intimement liés puisque les modèles moléculaires de la plupart des médicaments mis sur le marché, ont pour origine la plante.

Les plantes sont le réservoir de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires, qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique possédant d'éventuelles activités biologiques, l'extraction des huiles essentielles est certainement la phase la plus délicate. Elle a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborés par le végétal.

Il existe plusieurs techniques d'extraction des huiles essentielles à savoir l'expression à froid, l'extraction par solvant organique volatil, l'enfleurage, l'extraction par gaz liquéfié, par fluide à l'état supercritique et aussi par distillation à la vapeur d'eau.

Comme toutes plantes médicinales, *Ajuga iva* renferme une grande variété de composés dits secondaires, ce qui explique son utilisation dans la médecine traditionnelle notamment pour améliorer la fertilité féminine par provocation de l'ovulation chez une femme qui présente des troubles d'ovulation.

Les hormones sexuelles féminines (œstrogène, progestérone...) qui favorisent l'ovulation appartiennent à la famille des stéroïdes hormonaux et dans la plante *Ajuga iva* les composés qui appartiennent à cette famille sont les ecdystéroïdes.

L'objectif de la présente étude est donc, d'étudier l'effet de l'extrait des ecdystéroïdes sur la stérilité féminine et aussi de formuler des comprimés à base de cette plante.

Dans ce contexte nous avons essayé de réaliser un travail qui comprend trois parties :

- ✓ la première est une étude bibliographique qui comporte : une description de la plante *Ajuga iva*, l'importance de la phytothérapie et aussi des généralités sur les comprimés.
- ✓ La deuxième partie est expérimentale, elle est consacrée à la présentation des travaux personnels et elle comporte : d'une part, l'extraction des ecdystéroïdes par macération, l'identification de l'extrait ainsi que l'évaluation de sa toxicité et la détermination de son activité fertilisante et aussi l'extraction de l'huile essentielle de l'*Ajuga iva* par hydrodistillation , d'une autre part, les différentes étapes de la fabrication des comprimés à base de cette plante.
- ✓ La troisième partie consiste à présenter l'ensemble des résultats obtenus et les discussions qui en découlent.

Ces chapitres sont précédés d'une introduction générale et terminés par une conclusion et des perspectives.

CHAPITRE 1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 01

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Généralités sur la plante *Ajuga iva* :

1.1.1. Description de la plante :

Ajuga iva ou l'*Ivette musquée* se sont des fleurs appartenant à la famille des lamiacées dont la majorité des espèces sont natives de l'Europe, l'Asie et l'Afrique. Deux espèces uniquement sont originaires du Sud-Est d'Australie. Dans la région méditerranéenne et en Algérie, elle est très employée dans la médecine traditionnelle pour une variété des maladies. [1-3]

Ajuga iva est une plante herbacée, de 5 à 15 cm de hauteur, velue, très feuillée, à tige dressée et ligneuse. La floraison est au printemps. La couleur des fleurs est généralement rose, et rarement blanche ou jaune, longues de 18 à 24 mm à lobe terminal large. L'*Ajuga iva* possède une saveur amère et résineuse et une odeur forte qui se rapproche du musc. Les parties utilisées sont les tiges feuillées avec les boutons floraux. [4,5]



(A)



(B)

Figure 1.1 : Quelques photographies d'*Ajuga iva*. (A) Les feuilles et les fleurs, (B) la plante entière. [1]

Selon la langue et la région, plusieurs noms sont attribués à cette plante a savoir :

Tableau 1.1 : les noms vernaculaires d'*Ajuga iva*. [7,8]

Langue	Nom
Français	Bugle musquée, ivette musquée
Anglais	Musky Bugle
Italien	Iva moscada
Espagnole	Iva, iva menor, iva moscada
Maltais	Xantkura
Arabe	Mesk elqobour
Berbère	Chendqoura, chkentura

1.1.2. Distribution géographique et habitat :

Ajuga iva est une espèce très spontanée ré pondue dans les régions montagneuses. Elle se développe sur les pelouses et les sols rocailleux.

L'*Ajuga iva* pousse dans les régions arides où elle croît dans les champs. Elle est commune dans la région méditerranéenne, très répandue dans les pelouses et les forêts du Tell algérien. [4,6]

Le tableau suivant présente quelques caractéristiques de l'*Ajuga iva* :

Tableau 1.2 : principales caractéristiques culturelles d'*Ajuga iva* :

Hauteur de la plante	Diamètre de la fleur	Floraison	Altitude de croissance
5 à 15 cm	18 à 24mm	Avril à octobre	0 à 1600m

1.1.3. Les propriétés thérapeutiques et usages de la plante *Ajuga iva* :

Ajuga iva est une plante très utilisée en médecine traditionnelle pour traiter le diabète, l'hypertension, les gastralgies, la stérilité féminine, les hémorroïdes, et pour calmer les douleurs.

Ajuga iva est une plante connue dans les pays du Maghreb pour son usage en phytothérapie, plusieurs maladies infectieuses ou autres, peuvent être soignées grâce à leur utilisation. Parmi ces pathologies, on note les infections et les désordres intestinaux, les maladies cardiovasculaires, les troubles hépatiques. [11,12]

A. Activité hypoglycémique :

L'extrait aqueux lyophilisé des feuilles d'*Ajuga iva* est examiné pour son effet hypoglycémique sur des rats normaux et des rats diabétiques Streptozotocine-induits. L'activité hypoglycémique est expérimentalement démontrée. Des études toxicologiques ont révélé que l'extrait est sans effet toxique à des doses hypoglycémiantes. [13]

B. Activité hypotensive :

L'effet de l'extrait des feuilles d'*Ajuga iva* sur la pression artérielle est examiné in vivo. [8]

C. Activité antioxydante :

L'effet antioxydant d'extrait aqueux d'*Ajuga iva* a été étudié sur des rats rendus diabétiques par la streptozotocine. Cette étude montre que l'extrait d'*Ajuga iva* développe une activité antioxydante en réduisant la peroxydation des lipides et l'amélioration de l'activité des enzymes anti-oxydantes dans le plasma, les érythrocytes et les tissus des rats diabétiques. [3]

D. Activité Hypotriglycéridémique :

Une étude a été réalisée pour montrer que l'injection intraveineuse continue de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Ajuga iva* diminue rapidement les triglycérides sanguins. [7]

E. Activité Anti-hypercholestérolémie :

Des études ont montré l'efficacité de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* sur l'efflux du cholestérol des tissus périphériques vers le foie en augmentant l'activité de la LCAT et atténuent l'hypercholestérolémie. [14]

F. Activité anti-hypolipémiante :

L'extrait aqueux d'*Ajuga iva* possède un effet hypolipémiant, il exerce une action contre la peroxydation lipidique des tissus chez les rats diabétiques. [15]

G. Pouvoir somnifère :

L'extrait flavonoïdiques d'*Ajuga iva* provoque un temps de sommeil plus long que celui observé lors du traitement de souris et des rats traités par le tranxène. [2]

Elle est aussi utilisée dans la médecine traditionnelle pour traiter la l'infertilité féminine.

1.1.4. Toxicité d'*Ajuga iva* :

Les études réalisées n'ont révélé aucune toxicité d'*Ajuga iva*. Aucune létalité n'a été observée chez les souris traitées. La consommation de l'*Ajuga iva* par des personnes normales n'aboutit pas à la réduction de leurs glycémies, alors qu'elle a un effet

hypoglycémiant chez les personnes diabétiques. Les doses orales uniques (2-4g/kg) d'un extrait aqueux lyophilisé d'*Ajuga iva* chez les souris ou l'administration quotidienne orale de 10 mg/kg de l'extrait d'*Ajuga iva* chez des rats pendant deux semaines n'a pas entraîné des effets indésirables. L'extrait d'*Ajuga iva* a été évalué pour ses effets comportementaux et pharmaco-toxicologiques après l'administration aiguë et chronique par voie orale et intra- péritonéale chez les rats et les souris. Aucune toxicité n'a été observée chez les souris après une dose unique supérieure à 14 g/kg de l'extrait d'*Ajuga iva*. Cependant, les injections intra- péritonéales simples de l'extrait d'*Ajuga iva* (1500-5500 mg/kg) ont produit des effets nuisibles sur le comportement général et le taux de mortalité ; la DL50 de la dose intra- péritonéale aiguë était 3,6 g/kg. Dans des études toxicologiques chroniques chez les rats, l'extrait d'*Ajuga iva* (administré par voie orale à des doses quotidiennes de 100,300 et 600 mg/kg pendant 3 mois), n'a causé aucun changement des paramètres hématologiques et biochimiques, à l'exception d'une augmentation passagère du taux des plaquettes et une diminution à court terme des taux du glucose sanguin. A la fin de l'étude, (après 3mois), l'examen histo-pathologique du cerveau, du foie et des reins a montré une architecture normale suggérant l'absence de troubles morphologiques. [18]

1.1.5. Principes actifs de l'*Ajuga iva* :

Dans la composition de la plante *Ajuga iva*, on peut trouver plusieurs substances actives que nous citons :

A. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux. Presque toujours hydrosolubles, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils sont également présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, assurant ainsi la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet.

Tous les flavonoïdes possèdent le même élément structural de base : le noyau flavane qui est un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3. [30,29]

B. Les polyphénols simples : les acides phénoliques

Le terme d'acide – phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Les deux groupes essentiels des acides phénoliques sont les acides hydroxybenzoïques et les acides

hydroxycinnamiques qui dérivent respectivement de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. [29, 31, 32]

C. Les principes amers :

Les substances qui présentent un goût amer excitent les cellules gustatives, stimulent l'appétit et augmente la sécrétion des sucs gastriques. La pharmacologie regroupe sous le nom des principes amers des substances végétales terpéniques susceptibles de libérer de l'azote, ainsi que des glucosides de diverses structures biochimiques.

Ils sont aussi très utiles dans le traitement des maladies hépatiques et rénales, entre autre, les principes amers activent la circulation du sang, stimulent les globules rouges et constituent de ce fait, un excellent adjuvant dans le traitement de l'anémie [19].

D. Les tanins :

Les tanins sont des substances constituées par un mélange de glucosides et d'acide gallique. On les rencontre, en petite quantité, dans très nombreuses plantes. Ce sont des substances phénoliques assez complexes, dotes de propriétés tannantes, elles sont également astringentes, cytostatiques et bactéricides car elles interfèrent également avec les protéines du protoplasme. Selon leurs natures chimiques ces composés sont divisés en deux classes: les tanins hydrolysables et les tanins condensés. [27, 28, 33,34]

E. Les saponines :

On entend par saponosides, des hétérosides naturels dont la matière est un composé soluble à l'eau qui la rend moussante comme une eau de savon. Ils modifient la tension superficielle de l'eau. On les emploie pour la fabrication d'émulsions, dans lesquelles une substance insoluble est mise en dispersion. Elles vont entraîner un mélange plus rapide avec la fonction aqueuse, un effet de pénétration plus grand et plus rapide de la substance dans l'eau.

Ces plantes à saponines facilitent la pénétration des autres substances au niveau de la peau et au niveau de l'intestin et aussi au niveau de toutes les muqueuses [20].

F. Stéroïde :

Le terme générique « stéroïde » rend compte des caractéristiques physico-chimiques des premiers représentants de cette famille. Il s'agissait, en effet, d'alcools secondaires se singularisant par leur état solide cristallisé et fondant à des températures supérieures à 100 °C. Le nom « stérol », formé du mot grec stéréos = solide et de la désinence – ol, spécifique des alcools, traduit ces propriétés. Le premier de ces composés fut isolé, vers

1770, de calculs biliaires, par Poulletier de la Salle, puis trouvé également, en 1815, dans les graisses animales, par M. E. Chevreul. Il fut nommé « cholestérine » (du grec kholé = bile et stéréos = solide) en souvenir de la source où il avait été découvert initialement. En 1859, M. Berthelot, prenant en considération la fonction alcool, modifia le nom en cholestérol. Depuis lors, de nombreux autres composés voisins ont été isolés. À partir de 1936, le terme générique « stéroïde » est donné à tous les corps chimiques qui possèdent un noyau (gonane) identique ou très proche de celui des stérols, alors que la dénomination « stérol » est réservée aux seuls hydroxy-3 β stéroïdes porteurs d'une longue chaîne en 17 comme le cholestérol.

- **Types de stéroïdes :**

a. Les stéroïdes non hormonaux :

Dans ce vaste ensemble se côtoient des substances de structures assez différentes, d'activité et d'importance biologiques très variables : il s'agit des stérols, des acides, sels et alcools biliaires, des stéroïdes alcaloïdiques, des stéroïdes des venins, des hétérosides cardiotoniques, des sapogénines, des stéroïdes fossiles et des hopanoïdes (molécules apparentées aux stéroïdes).

b. Les stéroïdes hormonaux :

Les principaux types d'hormones stéroïdiennes en général sont les estrogènes, les androgènes, les corticostéroïdes et les ecdystéroïdes.

Les principaux ecdystéroïdes sont :

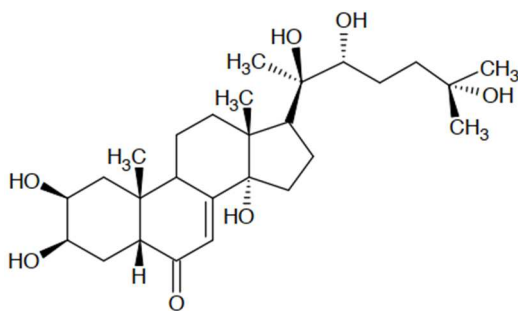


Figure 1.2 : La structure chimique de 20-Hydroxyecdysone

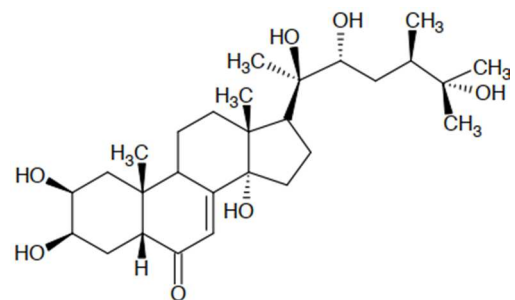


Figure 1.3 : La structure chimique de Makisterone A

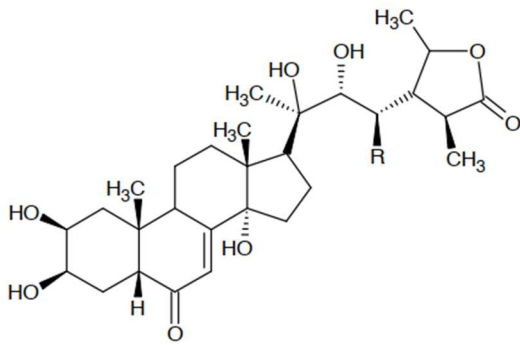


Figure 1.4 : La structure chimique de Cyasterone R=H

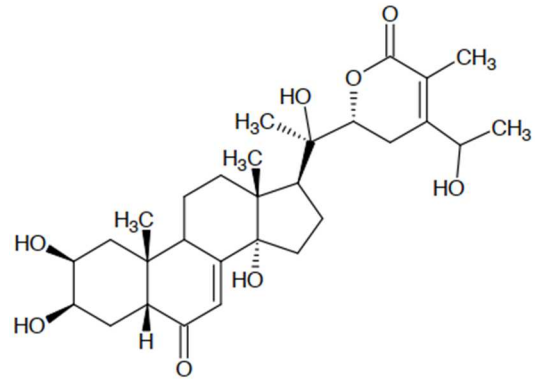


Figure 1.5 : La structure chimique de 24,25-Dehydroprecyasteron

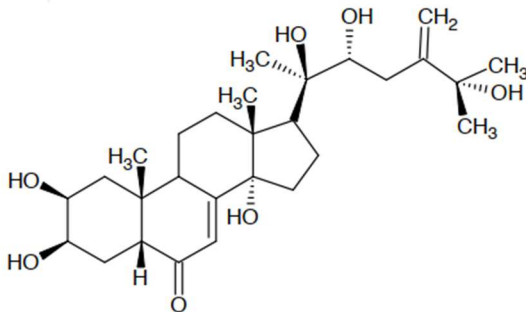


Figure 1.6 : La structure chimique de 24(28)-Dydromakisterone A

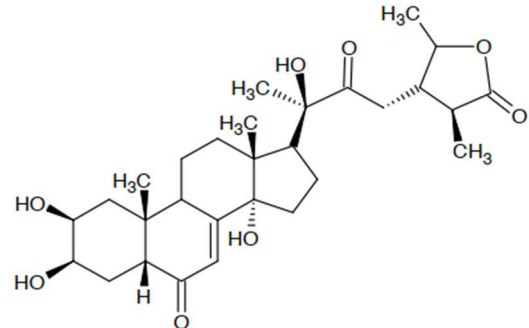


Figure 1.7 : La structure chimique de 22-Oxocyasterone

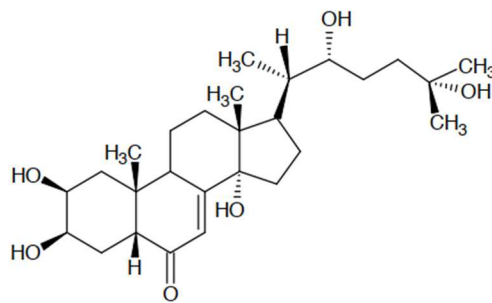


Figure 1.8 : La structure chimique d'Ecdysterone [38-39]

L'*Ajuga iva* contient aussi les anthocyanes, les acides phénoliques et d'autres substances en particulier caféine (acide caféique, acide chlorogénique) et l'ajugarine. [5, 10]

1.1.6. Les travaux réalisés sur la plante *Ajuga iva*:

Plusieurs études ont été réalisées concernant la plante *Ajuga iva* parmi lesquels, il convient de citer les travaux suivant :

Comme les flavonoïdes et les iridoïdes ont été isolés de cette plante (Ghedira et al., 1991), il a été suggéré que la défense antioxydante chez les rats hypercholestérolémiques traités par *Ajuga iva* peut être dû à ces composés.

Les études de Simmonds et Blaney (1992) ont montré que l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* possède un effet insecticide contre la *Spodoptera frugiperda* et *S. littoralis*.

Son effet inhibiteur est aussi étudié par Pascual-Villalobos et Robledo (1998; 1999) contre la croissance de la larve *Tribolium castaneum* (70-100% de mortalité).

L'*Ajuga iva* a une activité antibactérienne contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* et *Pseudomonas aeruginosa* (Ben Jannet et al., 1999).

En 2000, l'apparition de l'antifédant 14,15-dihydroajugapitine dans les parties aériennes d'*Ajuga iva* d'Algérie a été démontré par ML Bondi et al..

Les résultats des recherches d'El-Hilaly et Lyoussi (2002) et d'El-Hilaly et ses collaborateurs (2006) suggèrent que l'*Ajuga iva* peut être considérée comme un agent anti-diabétique et hypolipidémique chez l'Homme.

En 2004, El-Hilaly et ses collaborateurs ont trouvé que l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* a des propriétés vasodilatatrices et est donc considéré comme agent anti-hypertensif.

Chenni et ses collaborateurs (2007) ont étudié l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* qui diminue les endommagements issus du stress oxydatif chez les rats traités par des doses élevées de cholestérol.

Dans le même axe, Bouderbala et al. (2008) ont montré que l'extrait aqueux lyophilisé d'*Ajuga iva* peut réduire le stress oxydant et diminuer la peroxydation lipidique chez des rats hypercholestérolémiques.

En 2009 l'effet antioxydant de l'extrait aqueux de l'*Ajuga iva* chez des rats rendus diabétiques par injection de streptozotocine a été étudié par (Taleb-Senouci, D et al..)

En 2010, Bouderbala S et al., ont montré que les iridoïdes d'*Ajuga iva* augmentent l'activité des enzymes antioxydants dans les globules rouges des rats nourrit d'une alimentation riche en cholestérol.

En 2011, l'action antifongique de l'extrait méthanolique d'*Ajuga iva* sur *Aspergillus flavus* (92.5%) et *Fusarium oxysporum* (70.5%) a été étudié par Bougandoura.

En 2012, une étude comparative de l'activité antispasmodique de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* L. et de l'ibuprofène chez les souris a été réalisé par Dalila Chabane et al..

En 2013, Mohamed Makni, et al., ont étudié les antioxydants radicaux libres et activités antimicrobiennes de la feuille d'*Ajuga iva*.

En 2014, Diafat, Abdelouahab a évalué des effets anti-arthritique et toxique de l'extrait méthanolique de l'*Ajuga iva*.

En 2015, Ouchene Noura et Zebboudji Lila ont évalué l'activité anti-radicalaire et antimicrobienne de l'extrait méthanolique de la partie aérienne d'*Ajuga iva*.

En 2016, profil d'empreinte digitale HPTLC des triterpènes de l'amplexicaule lamium Benth. Et *Ajuga iva L.* surveillé avec dépistage de leur effet anti-inflammatoire a été réalisé par Atef A El-Hela, et al..

En 2017, les études de (Jin-Jun wang, et al..) ont montré que les phytoecdystéroïdes d'*Ajuga iva* agissent comme des antidiabétiques puissants contre les rats albinos males diabétiques induits par l'alloxane.

1.2.La phytothérapie :

1.2.1. Introduction :

En Algérie les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle, qui elle-même est largement employée dans divers domaines de la santé. Dans les dernières années la phytothérapie est très répondeuse, des herboristes sont partout sans aucune formation spécialisée ou connaissance scientifique sur la phytothérapie, des plantes et de mélanges pour toutes les maladies: diabète, rhumatisme, minceur et même les maladies incurables ...

1.2.2. Définition de la phytothérapie :

Le mot phytothérapie provient de deux mots (Phyton - végétal et Therapein -soigner) qui signifient essentiellement « soigner avec les plantes ». La phytothérapie désigne la médecine basée sur les extraits des plantes et les principes actifs naturels. [24]

1.2.3. Différents types de la phytothérapie :

- **Aromathérapie** : est une thérapeutique qui utilise les essences des plantes, ou huiles essentielles, substances aromatiques secrétées par de nombreuses familles des plantes, ces huiles sont des produits complexes à utiliser souvent à travers la peau.
- **Gemmothérapie** : se fonde sur l'utilisation d'extrait alcoolique de tissus jeunes des végétaux tels que les bourgeons et les radicelles.
- **Herboristerie** : correspond à la méthode de phytothérapie la plus classique et la plus ancienne. L'herboristerie se sert de la plante fraîche ou séchée; elle utilise soit la plante entière, soit une partie de celle-ci (écorce, fruits, fleurs). La préparation repose sur des

méthodes simples, le plus souvent à base d'eau: décoction, infusion, macération. Ces préparations existent aussi sous forme plus moderne de gélule de poudre de plante sèche que le sujet avale.

- **Homéopathie** : à recours aux plantes d'une façon prépondérante, mais non exclusive, les trois quarts des souches sont d'origine végétale, le reste étant d'origine animale et minérale.
- **Phytothérapie pharmaceutique** : utilise des produits d'origines végétales obtenus par extraction et qui sont dilués dans de l'alcool éthylique ou un autre solvant. Ces extraits sont dosés en quantités suffisantes pour avoir une action soutenue et rapide. Ils sont présentés sous forme des sirops, des gouttes, des gélules, des lyophilisats. [21]

1.2.4. Les avantages de la phytothérapie :

Malgré les énormes progrès réalisés par la médecine moderne, la phytothérapie offre de multiples avantages. N'oublions pas que de tout temps à l'exception de ces cent dernières années, l'homme n'a pas eu que les plantes pour se soigner, qu'il s'agisse des maladies bénignes, rhume ou toux ou plus sérieuses, telles que la tuberculose ou la malaria. Aujourd'hui, les traitements à base des plantes reviennent au premier plan, car l'efficacité des médicaments tels que les antibiotiques (considérés comme la solution quasi universelle aux infections graves) décroît, les bactéries et les virus se sont peu à peu adaptés aux médicaments et leur résistent de plus en plus.

La phytothérapie qui repose sur des remèdes naturels est bien acceptée par l'organisme, et souvent associée aux traitements classiques. Elle connaît de nos jours un renouveau exceptionnel en occident, spécialement dans le traitement des maladies chroniques comme l'asthme ou l'arthrite. [22]

1.2.5. Importance de l'utilisation de la phytothérapie dans le monde :

En Afrique, jusqu'à 80 % de la population utilise la médecine traditionnelle pour répondre à ses besoins de soins de santé. Précisément, dans certains pays d'Afrique, les plantes médicinales représentent la seule source de médicaments pour près de 90 % de la population. De même, dans de nombreux pays asiatiques la médecine traditionnelle continue d'être largement utilisée, même si l'allopathie est facilement disponible. En Chine, l'utilisation des remèdes traditionnels représente 40 % de tous les soins de santé. En même temps, pour certains pays de l'Amérique Latine, il a été rapporté que 71 % de la population de Chili et 40 % de la population de Colombie ont utilisé la médecine traditionnelle.

La médecine traditionnelle est également très populaire dans de nombreux pays développés parce qu'elle est fermement intégrée à des systèmes de croyance plus globaux. Tous ces chiffres montrent que les gens se tournent, de nouveau, vers la médecine traditionnelle et surtout vers les plantes médicinales. [23,35]

1.3.Aperçu sur les comprimés :

1.3.1. Définition du comprimé :

D'après la Pharmacopée Européenne, « les comprimés sont des préparations solides contenant une unité de prise d'une ou plusieurs substances actives. Ils sont obtenus en agglomérant par compression un volume constant de particules ou par un autre procédé de fabrication approprié tel que l'extrusion, le moulage ou la cryodessiccation (lyophilisation) ». Le comprimé est d'une forme sèche dont la conservation est favorisée l'état condensé et sec. En tant que préparation unidose, le comprimé assure l'administration d'une dose précise de principe(s) actif(s) (PA) et l'adaptation des posologies est conditionnée par les dosages existants. [40]

1.3.2. Caractéristiques des comprimés :

A. Caractères organoleptiques :

Le comprimé doit être identifiable afin d'éviter toute confusion chez les patients mais également le personnel soignant. Le risque iatrogène est augmenté en cas de polymédication et/ou déconditionnement des médicaments (utilisation de pilulier, dispensation nominative en milieu hospitalier). Chaque comprimé est caractérisé visuellement par sa forme et ses dimensions (« surface d'échange » et volume), sa couleur, son marquage et sa structure (après coupure). [41]

B. Formes et dimensions des comprimés :

Un comprimé correspond en général à « un cylindre droit dont les faces inférieures et supérieures peuvent être plates ou convexes et les bords biseautés ». Les comprimés peuvent être de formes très variées. En effet, lors de la production de comprimés par compression, la matrice et les poinçons définissent la forme du comprimé et il faut savoir que cet outillage est généralement conçu sur-mesure. A noter que la surface externe du comprimé (en contact avec le milieu extérieur et fluide biologiques) peut avoir une influence sur la libération du principe actif. [42 – 44]

Il est également souligné que plus le comprimé est petit, plus son administration est aisée : passage rapide à travers le pharynx et l'œsophage. Le diamètre recommandé n'excède pas 22 mm et est préférentiellement inférieure à 17 mm. [45]

C. Couleur et marquage :

La couleur du comprimé correspond à celle du mélange de matières premières ou à la coloration de l'enrobage. La réglementation relative à l'emploi de colorant diffère selon les pays, et l'ajout d'un colorant peut donc restreindre la commercialisation du comprimé à un territoire. La coloration joue un rôle esthétique et constitue un critère d'identification discriminant dans le cadre de l'identification du comprimé. Enfin, l'altération du médicament (non adéquation avec le RCP) peut se traduire par un changement de couleur.

Comme le mentionne l'article 206.3 du CFR 21 (Code of Federal Regulations), le marquage des comprimés peut se faire à l'aide de motifs en relief (embossed tablet), de gravures (engraved tablet), ou des impressions (imprinted tablet). Pour faciliter l'administration, certains comprimés peuvent être coupés ou écrasés et il est recommandé d'utiliser des dispositifs de coupe et/ou broyage (Pill splitter/cutter) afin d'éviter les pertes. [41, 46, 47]

1.3.3. Classification des comprimés :

Les comprimés peuvent être classés en deux catégories selon le type de libération :

- Les comprimés à libération conventionnelle ;
- Les comprimés à libération modifiée. [48]

A. Comprimés à libération conventionnelle :

Les formes à libération conventionnelle (immédiate) sont des formes pour lesquelles la libération du principe actif n'a pas fait l'objet d'une modification délibérée résultant de la mise en œuvre d'une formulation particulière et/ou d'un procédé de fabrication spécial.

Le profil de dissolution du principe actif dépend essentiellement de ses propriétés intrinsèques. [48]

A.1. Les comprimés nus ou non enrobés :

Les comprimés non enrobés comprennent des comprimés à couche unique et des comprimés à couches multiples disposées parallèlement ou concentriquement. Les premiers résultent d'une seule compression, les autres de compressions successives. Ils peuvent être de formes très diverses, sécables ou non. Ils se désagrègent rapidement.

A.2. Les comprimés enrobés :

Les comprimés enrobés sont des comprimés recouverts d'une ou plusieurs couches de mélange de substances diverses telles que: résines naturelles ou synthétiques, gommes, gélatine, charges insolubles inactives, sucres, substances plastifiantes, polyols, cires, colorants autorisés par l'Autorité compétente et, parfois, aromatisants et substances actives. Quand l'enrobage est constitué d'un film polymère très mince, le comprimé est dit pelliculé. Un comprimé dragéifié, quant à lui, est enrobé avec du sucre. [48]

B. Comprimés à libération modifiée :

Les comprimés à libération modifiée sont des comprimés, enrobés ou non, qui sont préparés avec des excipients spéciaux ou par des procédés particuliers, ou les deux, visant à modifier la vitesse, le lieu ou le moment de libération de la (ou des) substance(s) active(s). Ce sont des préparations dont la vitesse de libération du (ou des) principe(s) actif(s) est inférieure ou supérieure à celle qu'assurerait la forme à libération conventionnelle administrée par la même voie. [48]

Ces comprimés sont divisés en trois catégories:

B.1. Les comprimés à libération prolongée (forme LP) :

La libération prolongée est le résultat d'une formulation particulière et/ou d'un procédé de fabrication spécial :

- Inclusion des particules de principe actif dans un excipient insoluble dans les liquides de l'organisme ;
- Enrobage de chaque particule d'un film plus ou moins perméable ;
- Des particules différemment enrobées peuvent être séparées dans des comprimés multicouches.

Il s'agit de préparations dont la vitesse de libération de la substance active est inférieure à celle qu'assurerait la forme à libération conventionnelle administrée par la même voie. La dose de principe actif total y est toujours plus élevée que dans une forme à libération conventionnelle.

La vitesse de libération plus lente a pour but d'obtenir une concentration en principe actif la plus constante possible dans l'organisme tout en diminuant le nombre d'administration. La difficulté est grande car cette concentration en principe actif doit toujours être comprise entre le seuil d'activité et le seuil de toxicité. [48]

B.2. Les comprimés à libération retardée :

Les comprimés à libération retardée sont des formes galéniques où le principe actif est libéré à un moment ou un lieu différent par rapport à la forme conventionnelle administrée par la même voie.

Ils sont généralement utilisés pour les principes actifs irritants pour l'estomac ou pour protéger certains principes actifs sensibles à l'acidité des sucs digestifs. [48]

B.3. Les comprimés à libération accélérée :

Les comprimés à libération accélérée sont des préparations dont la vitesse de libération de la substance active est plus rapide que celle de la forme à libération conventionnelle destinée à la même voie d'administration. Elles sont généralement administrées après mise en solution. [48]

- Les comprimés effervescents :

Les comprimés effervescents sont des comprimés non enrobés contenant généralement des substances acides et des carbonates ou bicarbonates qui réagissent rapidement en présence d'eau en libérant du dioxyde de carbone. Ils sont destinés à être dissous ou dispersés dans l'eau avant administration, en donnant une boisson gazeuse.

Le but de ces comprimés est de faciliter la prise ou l'absorption. Ils sont utilisés pour administrer des principes actifs dont on souhaite une action rapide. [48]

- Les comprimés solubles :

Les comprimés solubles sont des comprimés non enrobés ou des comprimés pelliculés. Ils sont destinés à être dissous dans l'eau avant administration. La solution peut être légèrement opalescente en raison de la présence d'excipients ajoutés lors de la fabrication des comprimés. [48]

- Les comprimés dispersibles :

Les comprimés dispersibles sont des comprimés non enrobés ou des comprimés pelliculés destinés à être dispersés dans de l'eau avant administration, en donnant une dispersion homogène. [48]

- Les comprimés orodispersibles :

Les comprimés orodispersibles sont des comprimés non enrobés destinés à être placés dans la bouche où ils se dispersent rapidement avant d'être avalés [48].

- **Les lyophilisats oraux :**

Les lyophilisats oraux sont des préparations solides destinées à être placées dans la bouche, soit à être dispersées (ou dissoutes) dans de l'eau avant administration. [48]

C. Comprimés à utiliser dans la cavité buccale :

Les comprimés à utiliser dans la cavité buccale sont le plus souvent des comprimés non enrobés. Leur formule est établie de façon à permettre une libération lente et une action locale de la ou des substances actives, ou la libération et l'absorption de la (ou des) substance(s) active(s) dans une partie définie de la cavité buccale. [48]

1.3.4. Procédé de fabrication des comprimés :

Les comprimés sont préparés à partir d'extraits secs ou de poudres de plantes, principalement en agglomérant par compression un volume constant de particules, sous forme de poudre ou de granules. Ceux-ci sont constitués d'un ou de plusieurs principes actifs, additionnés ou non de substances auxiliaires telles que: diluants, liants, lubrifiants, aromatisants, colorants, etc. Lorsque les particules n'offrent pas naturellement les propriétés physiques requises pour une obtention de comprimés de qualité satisfaisante, elles sont soumises à un traitement préalable approprié, comme par exemple une granulation. [49]

A. Granulation :

La granulation est une opération de densification réalisée avant l'étape de compression. Elle peut se faire par deux méthodes :

- **La granulation par voie humide :** il s'agit d'une technique d'accroissement de la taille des poudres par agitation et collision, associée à la pulvérisation d'un liquide de mouillage permettant de créer des liaisons entre les particules par des « Ponts liquides », qui, après séchage, donnent naissance à des ponts solides assurant la cohésion.
- **La granulation par voie sèche :** il s'agit d'une technique d'accroissement de la taille des poudres par compactage suivi généralement d'un broyage et d'un calibrage pour ajuster la taille des grains du produit. L'agglomération est alors le produit d'une action mécanique.

B. Compression :

Les comprimés sont classiquement fabriqués par compression, « procédé mécanique répétitif permettant d'obtenir des agglomérats de forme simple et précise par compression uniaxiale à froid d'une poudre. Le procédé de compression est également appelé sous le terme de « pastillage ». Ce procédé comprend différentes étapes : alimentation (remplissage de la matrice), arasage (élimination de l'excès de poudre à l'aide d'un sabot), compression entre deux poinçons d'un volume constant de poudre puis éjection du comprimé. Les conditions opératoires dépendent du type de machine ou presse à comprimés et il est à souligner que l'outillage (matrice et poinçons) à toute son importance dans le succès de la production de comprimés. En termes de suivi, l'instrumentation de l'équipement facilite le contrôle et l'ajustement du procédé en cas de déviation.

Le principe actif est rarement comprimé seul du fait de ses propriétés (écoulement, aptitude à la compression,...) et/ou son dosage trop faible. L'emploi d'excipients contribue à l'obtention d'un mélange adapté à la compression et formera un comprimé spécifique (notamment en termes de friabilité, désagrégation, dissolution, et coloration). Les excipients généralement employés sont définis par leur fonction. Une étape intermédiaire de granulation se révèle parfois indispensable et la compression est alors qualifiée de compression indirecte. [50 – 52]

C. Les contrôles effectués sur les comprimés :

La Pharmacopée Européenne (8ème édition, 2014) définit différents essais relatifs aux comprimés et le tableau 1.3 résume les différentes modalités d'analyse.

**Tableau 1.3 : Synthèse des essais relatifs aux comprimés décrits dans la Ph. Eur. 8.0
(2014)**

ESSAIS	NORME	PRINCIPE DE CONFORMITE
UNIFORMITE DE MASSE des comprimés nus ou pelliculés (Ph. Eur. 8.0 ; 2.9.5)	Ecart limite (% en valeur absolue) entre la masse d'un comprimé et la moyenne μ des masses individuelles : +/- 10 % si $\mu \leq 80$ mg. +/- 7,5 % si μ entre 80 et 250 mg. +/- 5 % si $\mu \geq 250$ mg.	Essai réalisé sur 20 unités. Aucune unité n'avoit une masse s'écartant du double de l'écart limite à moyenne. Au maximum 2 écarts supérieurs à l'écart limite de masse peuvent être tolérés.
FRIABILITE des comprimés non enrobés Mesure de la résistance à l'abrasion et culbutage (Ph. Eur. 8.0 ; 2.9.6.)	Absence de perte de masse. Taux d'effritement nul après 100 rotations dans un tambour à la vitesse de 25 tours/min.	Essai réalisé sur : - une masse de comprimés proche de 6,5g si la masse d'un comprimé est inférieure ou égale à 650 mg. - ou 10 comprimés entiers de masse individuelle supérieure à 650 mg.
DURETE ou résistance à la rupture ou dureté (Ph. Eur. 8.0 ; 2.9.6.)	Force nécessaire pour provoquer la rupture du comprimé par écrasement entre 2 mâchoires (N ; valeurs moyenne, minimales et maximales).	Mesure à effectuer sur 10 comprimés. « La résistance mécanique des comprimés doit être suffisante pour ne pas d'effriter ou se briser lors des manipulations ou des étapes de production ultérieures » [Ph. Eur. 8.0, 2014, p.838].
DESAGREGATION des comprimés (Ph. Eur. 8.0 ; 2.9.1.)	Temps limite : < 15 min pour les comprimés nus. < 3 min si effervescents. < 30 à min si pelliculés. < 60 min si enrobés.	Conditions opératoires (milieu de désagrégation, température, appareil de dissolution à panier ou pâle avec renouvellement du milieu ou non....) fonction du type de comprimé.
Dissolution des formes solides (Ph. Eur. 8.0 ; 2.9.3.)	Profil de dissolution = courbe en fonction du temps de la libération du principe actif dans le milieu de dissolution. Temps de prélèvement définis.	Conditions opératoires (milieu de désagrégation, température et appareil de dissolution à panier ou à pâle...) fonction du type de comprimé.
UNIFORMITE DE TENEUR des préparations unidoses (Ph. Eur. 8.0 ; 2.9.6.)	Ecart limite maximal des teneurs individuelles par rapport à la moyenne : +/- 15% sur 10 comprimés ou éventuellement +/- 25% sur 30 comprimés.	Essai sur 10 unités. Dissolution et analyse quantitative en PA. Si la teneur individuelle d'une seule unité de prise est comprise entre 75 et 125% de la moyenne, le dosage doit être réalisé sur 20 comprimés supplémentaires et une unité seulement peut alors être située entre 75 et 125% de moyenne.
SECABILITE (Ph. Eur. 8.0, .01/2014 :0478).	Masse individuelle se situant entre les limites de 85 et 115% de la masse moyenne.	Essai sur 30 fractions (provenant de 30 comprimés différents tirés au hasard). Une fraction peut éventuellement se trouver entre 75 et 125% de la masse moyenne.

CHAPITRE 2

METHODES ET MATERIELS

CHAPITRE 02

MATERIELS ET METHODES

2.1.Introduction :

Dans ce chapitre, nous commençons par la présentation des sites d'accueil où nous avons réalisé notre étude. En suite nous présentons la partie relative aux matériels et méthodes utilisés pour étudier les propriétés de la plante *Ajuga iva* en vue d'application dans une formulation pharmaceutique (comprimé à libération immédiate).

2.2.Présentation des sites d'accueil :

Notre étude a été réalisée au laboratoire du département de Génie des Procédés de l'université Saad DAHLAB de BLIDA, au Centre de Recherches et de Développements de SAIDAL – Gué de Constantine – Alger, au laboratoire national de contrôle de produits pharmaceutiques (LNCPP) et au laboratoire pharmaceutique SOPRODIM.

2.3.Protocoles d'extraction d'huile essentielle :

a. Préparation de la plante :

Notre étude est portée sur la plante d'*Ajuga iva*, récoltée dans la région (Chréa) en mars 2019. Seules les parties aériennes d'*Ajuga iva* ont été utilisées lors de la présente étude.

La plante d'*Ajuga iva* a été cueillie, puis lavée et séchée afin d'éliminer toutes traces de poussières et d'impuretés.

Une fois complètement séchée, la plante d'*Ajuga iva* a été broyée à l'aide d'un broyeur électrique, puis tamisée pour devenir une poudre fine et homogène. La poudre obtenue a été conservée dans un récipient en verre et stockée à l'abri de la lumière et de l'humidité.



Figure 2.1: Les feuilles fraîches d'*Ajuga iva*.



Figure 2.2: Les feuilles séchées d'*Ajuga iva*.

b. Procédés d'extraction :

b.1. Procédé d'extraction par macération :

L'extraction des ecdystéroïdes a été faite en utilisant le procédé de macération. Ce procédé consiste à mélanger dans un bécher de 1000 mL, 22.5 gr de la poudre d'*Ajuga iva* avec 300 mL d'éthanol, le mélange a été soumis à une agitation magnétique pendant une nuit à température ambiante ($T=25^{\circ}\text{C}$), la solution obtenue a été filtrée sous vide en utilisant un papier filtre. Après filtration, le filtrat a été évaporé pour éliminer le solvant. [53]



Figure 2.3 : L'agitation magnétique du mélange.



Figure 2.4 : La filtration du mélange.

Le résidu obtenu a été traité par un mélange d'hexane – MeOH – EtOH – H₂O (3 : 1 : 1 : 1). La phase aqueuse extraite a été évaporée dans une étuve à 60°. Après évaporation l'huile essentielle obtenue a été dissoute dans 20 ml de MeOH, puis 50 ml de M₂CO, après centrifugée à une vitesse de 5000 tours/min pendant 10 min. Le surnageant a été évaporé pour obtenir notre huile. Cette dernière a été conservée dans un flacon en verre ambré à une température ambiante pour éviter toute dégradation. [53]

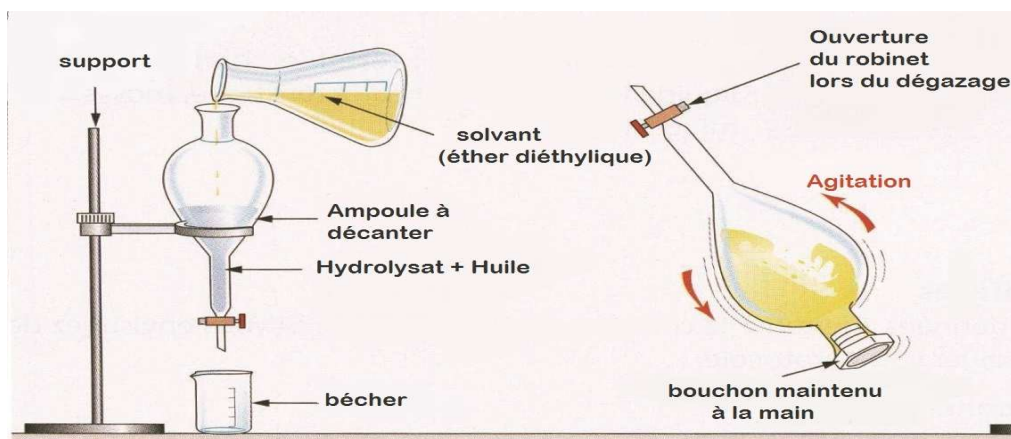
b.2. Procédé d'extraction par hydrodistillation (Clevenger):

Le procédé d'hydrodistillation consiste à mélanger dans un ballon de 2 litres une quantité de la plante *Ajuga iva* (46 gr) dans 1 litre d'eau distillée. Le mélange obtenu est porté à l'ébullition. Les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant pour séparer l'hydrolat de l'huile essentielle. [65]



Figure 2.5 : Montage d'hydrodistillation (Clevenger).

Afin de purifier l'huile essentielle de l'hydrolat, nous avons placé le mélange dans une ampoule à décanté avec un volume de 50 ml d'ether diéthylique puis bouché l'ampoule. Nous avons agité énergiquement et dégazé régulièrement l'ampoule.



Après la décantation, nous avons débouché l'ampoule et récupérer les deux phases.

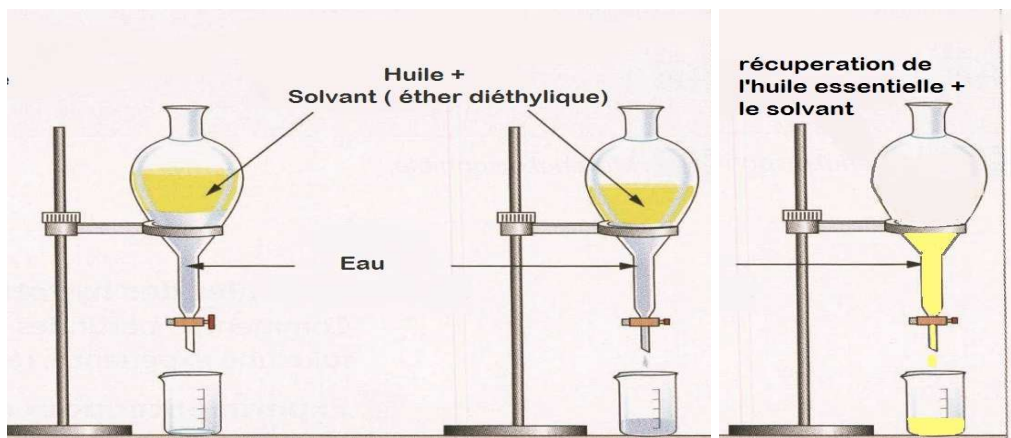


Figure 2.6: procédé de séparation de l'huile essentielle et l'hydrolat.

2.4.Caractérisation de l'huile essentielle :

L'objectif principal de la caractérisation de l'huile est de pouvoir identifier les ecdystéroïdes, leur structure, leur composition chimique. A fin d'évaluer les différentes propriétés de l'huile obtenue, plusieurs analyses ont été effectuées à savoir :

a. Spectrophotométrie d'absorption dans l'infrarouge(IRTF) :

Les spectres d'absorption ont été réalisés dans le domaine du moyen infrarouge, correspondant à des nombres d'onde ($\nu = 1/\lambda$) compris entre 400 et 4000 cm^{-1} , à l'aide d'un spectromètre infrarouge à transformée de Fourier de type "Shimadzu FTIR-8900 ".

Les mesures ont été effectuées en réflexion diffuse; la préparation de la pastille consiste à diluer l'échantillon dans du KBr pour atténuer les pertes en énergie. [54]

b. Spectrophotométrie UV-Visible :

Le spectrophotomètre utilisé dans cette étude est de type "Shimadzu 1700 Pharmaspec ".

Dans ces analyses, nous avons utilisé des cuves en quartz d'épaisseur ($l = 1 \text{ cm}$). La longueur d'ondes maximale d'absorption de notre principe actif est obtenue directement par balayage automatique entre 200 et 400 nm.

Cette méthode rapide et reproductible permet une analyse immédiate et fiable des échantillons qui sont dosés au fur et à mesure de leurs prélèvements pour éviter toute éventuelle photodégradation.

La détermination des concentrations de principe actif libéré en fonction de temps est effectuée par dosage spectrométrique UV-visible. Au préalable, une courbe d'étalonnage a été réalisée en fonction de la concentration du milieu. [54]

2.5.Evaluation de la toxicité aigüe de l'extrait obtenu:

La toxicité aigüe d'une substance peut être définie comme sa capacité de produire, après administration pendant 5 jours, des effets nocifs à un organisme vivant. Elle varie selon la dose, la fréquence, la durée d'exposition (temps de demi-vie de la substance) et le temps d'apparition des signes cliniques.

❖ Mode opératoire :

- Nous avons sélectionné trois lots de souris femelles qui pèsent environ 20 grammes. Les souris sont choisies au hasard, marquées pour permettre une identification

individuelle et gardées dans leurs cages pour les acclimater aux conditions de laboratoire pendant au moins cinq jours avant l'expérience.

- Nous les avons fait jeuner (nous avons supprimé la nourriture, mais pas l'eau) pendant 4 heures avant l'administration de la substance.
- Après la période de jeûne, nous avons pesé à nouveau les souris puis préparé la substance d'essai à administrer tout en respectant les doses suivantes :

Tableau 2.1 : La préparation de la dose administrée à partir de la dose de la substance d'essai (50-300-2000 mg/ kg/per os).

La dose de substance d'essai	Poids moyen des souris (g)	La dose administrée (mg)
50 mg/ kg/per os	17.15 g	0.86
300 mg/ kg/per os	21.15	6.34
2000 mg/ kg/per os	18.15	36.3

- La substance d'essai est administrée par voie orale en une seule dose en utilisant une sonde gastrique.
- Nous avons observé les souris de façon continue pendant les premières 30 minutes et régulièrement pendant les premières 24 heures après l'administration. Nous avons imposé une attention particulière pendant les premières 4 heures et quotidiennement pendant 14 jours après l'administration de la substance.

2.6. Evaluation de l'activité fertilisante in vivo :

Le but de notre étude est de tester l'effet de la plante *Ajuga iva* sur la fertilité féminine.

- ❖ **Principe :** L'activité de la plante sur la fertilité féminine est explorée dans un premier temps en comparant le poids des ovaires des souris traitées à celui des ovaires des souris non traitées ; et dans un deuxième temps, en appréciant le temps de latence pour la mise bas et le nombre de souriceaux par portée chez les souris femelles traitées et non traitées (témoin négatif).

A. Effet de la plante (extrait) sur les ovaires des souris sexuellement immatures :

6 souris femelles fraîchement sevrées pesant entre 14 et 18 grammes reçoivent pendant 5 jours (l'équivalent d'un cycle œstral chez la souris) par gavage l'extrait d'ecdystéroïdes obtenu de la plante *Ajuga Iva*. Au 6^{ème} jour, les souris sont euthanasiées par rupture de la nuque, disséquées, les ovaires prélevés et pesés. Le lot témoin, également composé de 06

souris, mais ne recevant aucun traitement, nous permet de comparer le poids moyen des ovaires des souris traitées à celui des ovaires des souris non traitées.

Un autre lot témoin également composé de 06 souris femelles sexuellement matures pesant entre 29 et 36 grammes mais ne recevant aucun traitement nous permet de comparer le poids moyen des ovaires des souris traitées à celui des ovaires des souris matures non traités.



Figure 2.7 : Le gavage de la souris.

❖ **Protocole de dissection :**

Pour réaliser cette dissection nous avons procédé comme suit :

- Euthanasie des souris par rupture de la nuque.
- Fixation des souris sur la planche à dissection à l'aide d'aiguilles.
- Incision de la peau au niveau de la région urogénitale et introduction de la sonde cannelée pour pouvoir pratiquer une incision longitudinale à l'aide d'une paire de ciseaux.
- Après avoir soulevé les organes du système digestif à l'aide d'une paire de pinces, l'ensemble des organes génitaux internes apparaît lequel est délicatement soulevé, prélevé et dégraissé.
- L'appareil génital prélevé est pesé ainsi que les ovaires après avoir procédé à leur séparation à l'aide d'une lame de bistouri.



Figure 2.8: Fixation de la souris sur la planche à dissection.

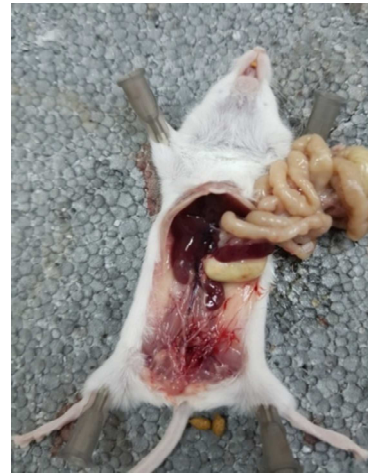


Figure 2.9 : Déroulement des intestins et l'observation de l'appareil génital.

B. Effet de la plante (extrait) sur le temps de latence pour la mise bas et le nombre de souriceaux:

6 souris femelles sexuellement matures pesant entre 28 et 32 grammes sont traitées par gavage avec l'extrait d'ecdystéroïdes obtenu de la plante *Ajuga iva* à la dose de 2000 mg/kg/per os pendant 10 jours (soit deux cycles œstrales) ; puis séparées individuellement et accouplées chacune à une souris mâle de même race au même moment et ce pour synchroniser la copulation chez toutes les souris traitées.

En parallèle, 6 souris femelles non traités sont mises individuellement en accouplement avec 6 souris males.

2.7.Préparation des comprimés à base de la plante *Ajuga iva* :

La formulation concerne « l'ensemble des opérations mises en œuvre lors du mélange, de l'association ou de la mise en forme d'ingrédients (un ou plusieurs principes actifs et des excipients) de façon à obtenir un produit commercial caractérisé par sa fonction d'usage et son aptitude à satisfaire à un cahier des charges préétabli ». La compréhension des phénomènes mis en jeu lors de la formulation facilite l'optimisation de la préparation.

Il existe différentes formes pharmaceutiques généralement classées selon la voie d'administration ou l'état physique. Chaque forme présente des avantages et des inconvénients. Il a été choisi de s'intéresser aux comprimés, forme pharmaceutique solide la plus répandue. [55 – 57]

Pour la formulation des comprimés, on a utilisé les plans d'expérience (MODDE 6.0) comme méthode de planification afin de :

- Minimiser le nombre d'essais ;
- Préciser l'erreur expérimentale ;
- Contrôler au moyen de l'analyse de variance l'erreur due à l'environnement, aux facteurs externes indépendants de l'utilisateur.

A. Construction de la matrice d'expériences :

Afin de construire la matrice d'expériences, nous avons choisi d'utiliser le logiciel statistique MODDE 6.0. En introduisant les différents facteurs et leur intervalle de variation, à savoir : la poudre d'*Ajuga iva* [10%], saccharose [30-38%], lactose [20-30%], amidon de maïs [2-10%], amidon soluble [20-15%], stéarate de magnésium [5-10%].

Compte tenu de l'objectif visé par cette étude, les réponses sont: la friabilité (%), l'écoulement (s), l'indice de carr IC (%), le tassement, l'humidité résiduelle HR et l'uniformité de masse. la stratégie de planification expérimentale la plus adéquate est l'étude de surface de réponses La matrice d'expériences répondant à cette stratégie est de type D-Optimal.

Tableau 2.2 : Matrice d'expériences en variables centrées et réduites

N°	PA	Saccharose	Lactose	Amidon de maïs	Amidon soluble	Stéarate de Mg
1	0,10	0,38	0,30	0,02	0,15	0,05
2	0,10	0,38	0,20	0,10	0,15	0,07
3	0,10	0,30	0,30	0,10	0,15	0,04
4	0,10	0,38	0,20	0,02	0,20	0,10
5	0,10	0,30	0,20	0,10	0,20	0,10
6	0,10	0,38	0,25	0,02	0,20	0,05
7	0,10	0,30	0,30	0,05	0,20	0,05
8	0,10	0,35	0,20	0,10	0,20	0,05
9	0,10	0,38	0,25	0,02	0,15	0,10
10	0,10	0,30	0,30	0,05	0,15	0,10
11	0,10	0,35	0,20	0,10	0,15	0,10
12	0,10	0,30	0,28	0,02	0,20	0,10
13	0,10	0,34	0,28	0,02	0,18	0,08
14	0,10	0,34	0,25	0,06	0,18	0,08

2.7.1. Étapes de formulation des comprimés :

A. Caractérisation du principe actif et des excipients utilisés :

- **Principe actif :**

Ajuga iva appartenant à la famille des lamiacées. Dans la région méditerranéenne et en Algérie, elle est très employée dans la médecine traditionnelle pour une variété des maladies dont la stérilité féminine.

Les études ont montrés que l'ivette contient les trois majeurs ecdystéroïdes (makisterone A, 20-hydroxyecdysone et cyasterone), en plus du 24,28-dehydromakisterone A et les deux phyto-ecdystéroïdes (22-oxocyasterone et 24,25-dehydroprecyasterone).

Dans le présent travail, nous n'avons pas trouvé les propriétés pharmacocinétiques et les spécialités de référence, ce qui confirme l'originalité du sujet, car l'*Ajuga iva* n'est pas actuellement encore utilisé sous une forme pharmaceutique. [2,3,58,59]

- **Les excipients :**

Les excipients sont des substances d'origine chimique ou naturelle qui facilitent l'utilisation du médicament mais ne présentent pas d'effet curatif ou préventif. Elles sont inactives vis à vis de la pathologie. Nous avons choisi ses excipients dans le but de faciliter l'administration et la conservation et la préservation du principe actif. [60]

- **Lactose monohydrate :**

Le lactose monohydrate ou le lactose alpha-monohydrate est un disaccharide naturel, obtenu à partir de lait, qui consiste en un galactose et un fragment glucose.

Le lactose se présente sous forme de particules cristallines ou de poudre de couleur blanche à blanc cassé, il est inodore et légèrement sucré; sa formule brute est $C_{12}H_{22}O_{11}H_2O$ et sa masse moléculaire est de 360.31 g/mol.

Lactose est largement utilisé comme agent de charge et diluant dans les comprimés et les gélules. Sa formule structurelle est donnée dans la figure suivante :

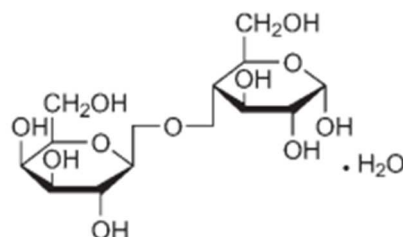


Figure 2.10: Formule structurelle de lactose alpha-monohydrate. [66]

- **Saccharose :**

Le saccharose est un sucre obtenu à partir de la canne à sucre, de la betterave à sucre et d'autres sources. Il ne contient aucune substance ajoutée.

Le saccharose se présente sous forme de cristaux incolores, de masses ou de blocs cristallins ou de poudre cristalline blanche; il est sans odeur et a un goût sucré. Sa formule brute est $C_{12}H_{22}O_{11}$ et sa masse moléculaire est de 342.30 g/mol.

Le saccharose est largement utilisé dans les formulations pharmaceutiques orales. Le sirop de saccharose est utilisé dans la fabrication de comprimés en tant que liant pour la granulation par voie humide. Sous forme de poudre, le saccharose sert de liant sec ou d'agent de charge et d'édulcorant dans les comprimés et les pastilles à mâcher. Sa formule structurelle est donnée dans la figure suivante :

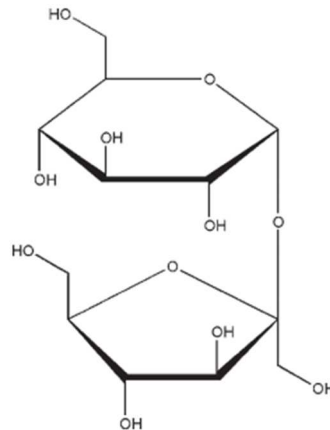


Figure 2.11: Formule structurelle de saccharose. [66]

- **Stéarate de magnésium :**

Le stéarate de magnésium est le sel de magnésium de l'acide stéarique, qui est chimiquement plus connu que l'acide octa-décanoïque.

Le stéarate de magnésium est une poudre impalpable très fine, de couleur blanche claire, précipitée ou moulue, avec un pH alcalin, solide à température ambiante, il fond vers $88^{\circ}C$ et il n'est pas soluble dans l'eau, de faible densité apparente, ayant une légère odeur d'acide stéarique et un goût caractéristique. La poudre est grasse au toucher et adhère facilement à la peau. Sa formule brute est $C_{36}H_{70}MgO_4$ et sa masse moléculaire est de 591.24 g/mol. [61]

Il est principalement utilisé comme lubrifiant dans la fabrication de capsules et de comprimés à des concentrations comprises entre 0,25% et 5,0% en poids / poids. Sa formule structurale est donnée dans la figure suivante :

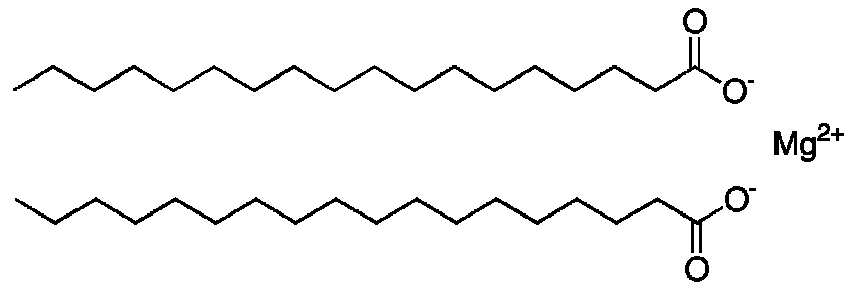


Figure 2.12: Structure de la molécule de stéarate de magnésium [61].

- Amidon de maïs :

L'amidon se présente sous la forme d'une poudre fine, blanche à blanc cassé, inodore et sans goût. Il se compose de très petits granules ou grains sphériques ou ovoïdes dont la taille et la forme sont caractéristiques pour chaque variété botanique. Sa formule brute est $(C_6H_{10}O_5)_n$ où $n = 300 - 1000$, sa masse moléculaire dépend de l'origine et de la nature de l'amidon. Il peut aller de 50 à 500 millions de Dalton, avec l'amylopectine ayant un poids moléculaire supérieur à l'amylose.

L'amidon est un excipient polyvalent utilisé principalement dans les formulations de dosage oral solides où il est utilisé comme liant, diluant et délitant.

Nous avons utilisé deux type d'amidon : amidon de maïs et amidon soluble.

Sa formule structurale est donnée dans la figure suivante :

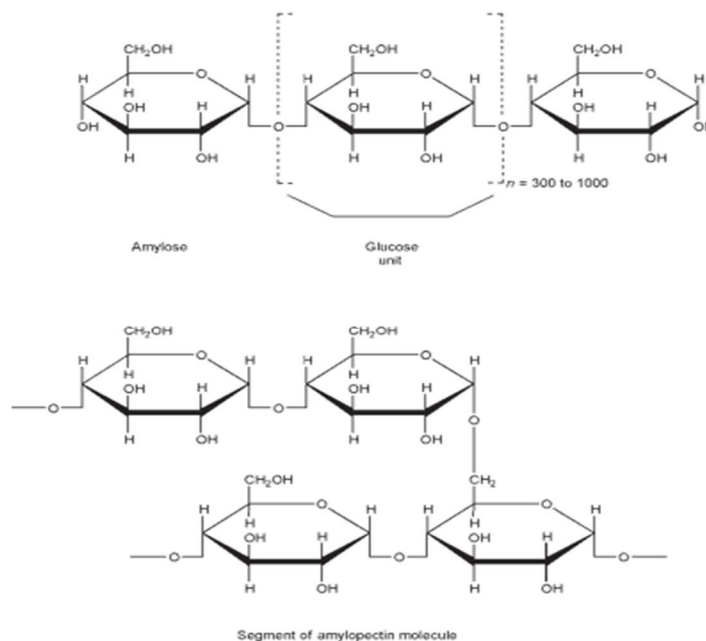


Figure 2.13: Formule structurale de l'amidon. [66]

B. Protocole de fabrication de comprimés :

B.1. Préparation du mélange de poudre :

On pèse séparément les quantités respectives des différents constituants du mélange : substance active *Ajuga iva*, diluant et agent de charge (saccharose, lactose), liant (amidon de maïs), délitant (amidon soluble) et stéarate de magnésium comme lubrifiant de compression.

Dans un récipient, on met 10 grammes de poudre d'*Ajuga iva*, les quantités respectives des excipients tamisées précédemment puis on mélange le tout dans un mélangeur/granulateur pendant 15 minutes.

B.2. Compression :

La préparation des comprimés par compression en utilisant une comprimeuse alternative FROGERAIS instrumentée. Le protocole est le suivant :

- **Alimentation** : le poinçon supérieur est relevé. Le poinçon inférieur est en position basse. Le sabot se trouve au-dessus de la chambre de compression, qui se remplit de grains par simple écoulement de la poudre.
- **Arasage** : les poinçons sont dans la même position. Le sabot se déplace horizontalement en arasant la poudre au niveau supérieur de la matrice.
- **Compression** : le poinçon inférieur ne bouge pas. Le poinçon supérieur descend brutalement et comprime avec force le grain.
- **Ejection** : le poinçon supérieur se soulève, il revient à sa position initiale. Le poinçon inférieur s'élève et amène le comprimé au niveau supérieur de la matrice. Le sabot revient à sa position de départ en déplaçant le comprimé vers une goulotte d'évacuation, et remplit simultanément la chambre de compression pour l'opération suivante. [67]

B.3. Contrôle pharmaco-techniques au cours de la fabrication :

Il existe différents contrôles pharmaco-techniques à effectuer au cours de la fabrication à savoir :

- **Écoulement** :

L'essai d'écoulement est destiné à déterminer, dans des conditions définies, l'aptitude des solides divisés (poudre, granulés,...) à s'écouler verticalement. L'essai est réalisé selon la

pharmacopée européenne dernière édition (EP.6 2010). On considère comme bon écoulement, un temps inférieur ou égal à 10 secondes.

Après avoir coulé une masse de 100 grammes de poudre dans un entonnoir normalisé. Nous avons répété l'opération 3 fois et nous avons noté le temps, puis nous avons calculé la moyenne.



Figure 2.14 : Appareil de mesure de la vitesse d'écoulement.

- Tassement :

L'essai du volume apparent est destiné à déterminer, dans des conditions définies, les volumes apparents de 100 grammes du mélange de poudre avant et après tassement, et puis de déterminer l'aptitude au tassement, ainsi que les masses volumiques apparentes des solides divisés (par exemple poudres, granulés). L'essai est réalisé selon la Pharmacopée Européenne 6^{ème} édition.

Dans une éprouvette sèche de 250 ml gradué à 2 ml, nous avons introduit sans tasser 100 g de poudre, et nous avons lit le volume apparent (V_0), puis nous avons fait subir à l'éprouvette 10 et 490 coups, et nous avons noté les volumes apparents correspondants (moyennes) $V_{10\text{ moy}}$, $V_{500\text{ moy}}$. L'aptitude au tassement se calcule comme suit:

$$V = V_{10} - V_{500} \dots 2.1$$

La réponse « Aptitude au tassement » est liée à la réponse « Indice de Carr » par la relation :

$$IC = (V_{10} - V_{500}/V_{10}) \times 100 \dots 2.2$$

C'est à dire:

$$IC = (\text{Aptitude au tassement} / V_{10}) \times 100 \dots 2.3$$



Figure 2.15 : Appareil de tassement des poudres.

- Analyse granulométrique :

Nous avons passé une quantité de 100 grammes de poudres à travers une série de tamis d'ouverture de maille compris entre 100 et 800 μm . Ensuite, nous avons mis en marche le dispositif pendant 15 minutes.



Figure 2.16: Appareil de tamisage.

- L'humidité résiduelle :

L'essai est destiné à déterminer l'humidité résiduelle d'un échantillon d'une poudre ou d'un grain, d'une façon empirique ; elle peut être appréciée au toucher mais en général il faut avoir recours à des méthodes de mesure plus précises tout en restant rapides. L'essai est réalisé avec une balance à infrarouge.

Nous avons pesé 5 g des poudres et nous les avons placés dans la balance infrarouge. [40]



Figure 2.17: Appareil de mesure d'humidité résiduelle.

C.2.4. Contrôle pharmaco-techniques en fin de production :

Ces contrôles sont des tests qu'on doit effectuer afin d'assurer que notre produit répond aux normes de la pharmacopée européenne.

- **Uniformité de masse :**

Le test d'uniformité de masse concerne les formes pharmaceutiques solides particulièrement les comprimés. Il permet d'assurer qu'au cours de la fabrication, la répartition du mélange initial de poudre ou de granulés, en unités de prises (chaque comprimé), a été suffisamment précise et uniforme pour garantir une même masse et donc une même teneur en principe actif pour l'ensemble des comprimés du même lot. [63]

L'essai est réalisé sur dix comprimés. On les pèse individuellement et on détermine la masse moyenne et l'écart-type. La pharmacopée européenne donne la spécification en fonction de la masse du comprimé comme le montre le tableau 2.3 ci-dessous :

Tableau 2.3 : Ecarts limites en fonction de la masse des comprimés. [62]

Masse moyenne (m)	Ecarts limites en pourcentage de la masse moyenne
$m < 80\text{mg}$	10%
$80\text{mg} < m < 250$	7,5%
$m \geq 250\text{mg}$	5%

- Friabilité :

Selon la monographie de la Pharmacopée Européenne, le test de friabilité est réalisé sur un échantillon de dix comprimés pesés avant et après l'essai. La perte en masse doit être inférieure à 1%.

Comme nos comprimés sont de masse unitaire de 500 mg, nous avons prélevé 13 comprimés. Puis, nous les avons placés sur un tamis et éliminé les poussières libres au moyen d'une brosse douce. Nous les avons pesés précisément et placés dans le tambour. Nous avons procédé à 100 rotations, puis nous avons sorti les comprimés du tambour. Ensuite, nous avons éliminé les poussières libres, par la suite, nous les avons pesés exactement. [40]

La friabilité est calculée par l'équation 2.4 suivante:

$$F\% = \frac{\text{masse d'échantillon avant essai} - \text{masse d'échantillon après essai}}{\text{masse d'échantillon avant essai}} \times 100 \dots 2.4$$



Figure 2.18: Appareil de mesure de friabilité.

- Dureté :

L'essai de dureté, significatif dans les procédures de contrôle de qualité et de développement des formulations. Cette analyse évalue la force requise pour écraser un comprimé » en appliquant sur celui-ci une force diamétrale. [40]

L'essai est réalisé sur 10 comprimés selon la monographie de la Pharmacopée Européenne.

Nous avons prélevé un échantillon de 10 comprimés et nous les avons placés entre deux mâchoires, le comprimé est orienté dans l'appareil horizontalement. Nous avons mesuré la force maximale nécessaire à la rupture du comprimé; cette force est exprimée en kilo-poids (Kp) à l'aide du duromètre de marque ERWEKA.

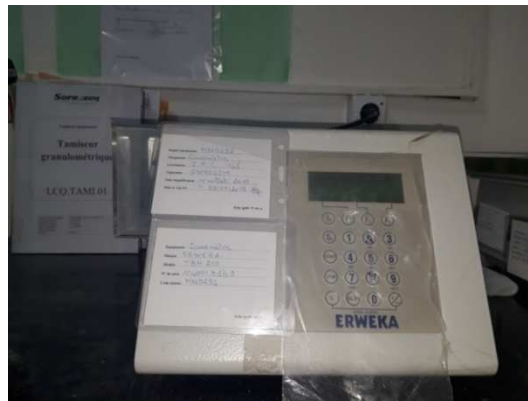


Figure 2.19: Appareil de mesure de la dureté.

- Dissolution :

Le test de dissolution in vitro appliqué aux comprimés est destiné à déterminer leur plus ou moins grande aptitude à laisser passer en solution dans un milieu déterminé, de PA. Le passage en solution est apprécié par dosage du PA dans des échantillons prélevés dans le milieu de dissolution à intervalles de temps différents. Le test de dissolution in vitro des comprimés non enrobés est le principal essai réalisé pour contrôler la «disponibilité in vitro» du PA qu'ils contiennent.

L'appareil utilisé pour la réalisation de ce test est composé de huit récipients cylindriques, à fond hémisphérique d'une contenance de 1L, qui peuvent être couverts, en matériau transparent inerte et partiellement immergé dans un bain d'eau thermostaté permet de maintenir à l'intérieur du récipient une température de $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ pendant l'essai et d'assurer un mouvement fluide et constant du milieu de dissolution; un moteur et un agitateur constitué d'une pale et d'une tige, sa rotation soit uniforme et sans oscillation significative susceptible d'affecter les résultats. La pale et la tige sont en matériau rigide et inerte. [40]

Les conditions opératoires du test de dissolution sont:

- Appareil : ERWEKA (à palettes)
- Milieu de dissolution : HCl

- pH : 1,2
- Vitesse d'agitation : 100 tr/min
- Température du milieu : 37 °C
- Volume de dissolution : 900 ml

Nous avons placé les comprimés dans les huit vases de l'appareil dans un milieu simulé au milieu gastrique avec un volume donné (900 ml), nous avons réglé la température à 37°C. Puis nous avons réalisé des prélèvements manuels de 10 ml du milieu de dissolution au niveau de chaque vase chaque 2, 4, 8, 15, 30 et 45 minutes. Nous avons fait passer les échantillons à travers un spectrophotomètre UV en fixant la longueur d'onde à 253 nanomètres pour avoir l'absorbance qu'on traduit en % dissout de principe actif à partir du tracé de la courbe d'étalonnage que l'on a obtenu en diluant différentes quantités du principe actif (2,4,8 et 10 mg) dans le milieu.



Figure 2.20: dissolutest.

CHAPITRE 3

RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE 03 RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1.Introduction :

Dans ce chapitre, nous allons exposer et discuter l'essentiel des résultats expérimentaux obtenues de l'extraction, la caractérisation et l'évaluation de l'activité fertilisante in vivo des ecdystéroïdes. Une dernière étape relative à la formulation des comprimés à base de notre plante (*Ajuga iva*).

3.2.Les résultats de l'extraction :

Dans notre étude, nous avons réalisé deux procédés d'extraction :

Le premier procédé contient 3 étapes : la macération, la purification et l'isolement; dans le but d'obtenir, à partir de la partie aérienne de la plante *Ajuga iva*, un extrait d'ecdysteroides qui représente la substance active responsable à améliorer la stérilité féminine. Le deuxième procédé consiste à obtenir par hydrodistillation l'huile essentielle de la plante *Ajuga iva*.

A. Propriétés organoleptiques des huiles essentielles extraites :

L'examen organoleptique des huiles essentielles d'*Ajuga iva* obtenues a donné les résultats suivants :

Tableau 3.1 : Les caractéristiques organoleptiques des huiles extraites.

Procédé d'extraction	Aspect	Couleur	Odeur
Macération	Huileux	Verte	Aromatique
Hydrodistillation	Huileux	Blanche	Aromatique

B. Teneur en huile essentielle :

- **Procédé par macération :** le rendement en huile essentielle est représenté dans le tableau suivant, il a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante.

Tableau 3.2 : La teneur en huile essentielle.

Poids végétal (g)	Poids d'HE (g)	Rendement en HE %
22.5	0.755	3.36

- **Procédé de l'hydrodistillation** : Après avoir réalisé plusieurs fois le procédé, nous avons obtenus une quantité négligeable d'huile essentielle, pour cette raison nous n'avons pas pu calculer son rendement.

A travers les résultats obtenus par les deux méthodes d'extraction, nous constatons que la méthode de macération donne un rendement meilleur que celui obtenu par la méthode d'hydrodistillation.

3.3.Caractérisation de l'extrait obtenu par macération:

A. Résultats de la spectrophotométrie uv-vis :

Nous avons analysé l'extrait huileux obtenu par macération par spectrophotométrie UV – VIS, le spectre d'analyse est représenté dans la figure suivante et illustré sous forme de tableaux (tableau B.1 et tableau B.2) dans la partie appendice B.

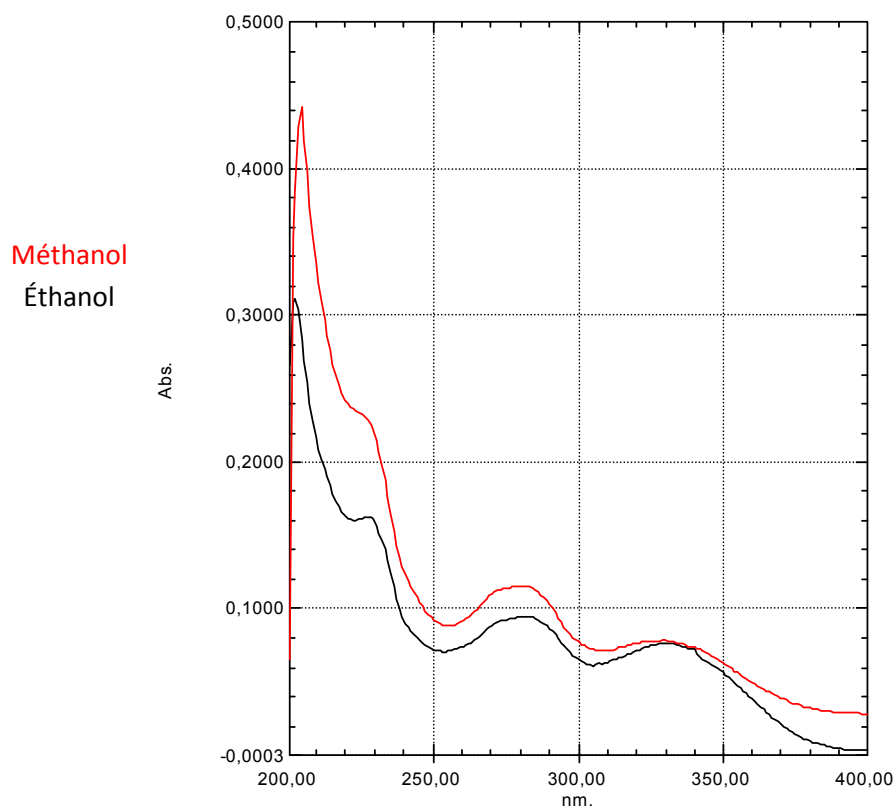


Figure 3.1: Spectres UV-Visible d'ecdystéroïdes.

D'après la monographie nous avons trouvé que les ecdystéroïdes sont généralement détecté par uv-vis à une longueur d'onde de 254 nm. [68]

A partir de cette information, nous avons conclu que la longueur d'onde 253 nm obtenu par la dilution de l'huile extraite dans l'éthanol et la longueur d'onde 255 nm obtenu par la

dilution de l'huile extraite dans le méthanol signifient la présence des ecdystéroïdes dans l'extrait. La légère différence entre les valeurs des longueurs d'onde revient aux conditions de travail et à la précision de l'appareil.

B. Résultats du spectre IR des ecdystéroïdes :

Le spectre IR illustré dans la figure suivante correspond à un extrait obtenu de la plante *Ajuga iva* par le premier procédé, il a été réalisé à des nombres d'onde compris entre 400 et 4000 cm^{-1} .

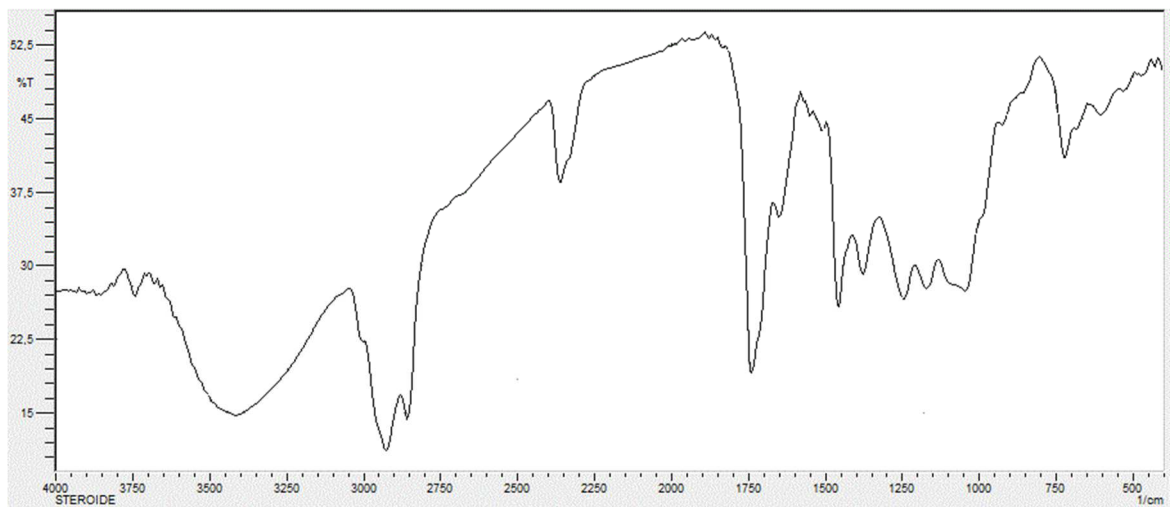


Figure 3.2 : spectre IR d'ecdystéroïde.

Le spectre IR présente des nombres d'onde correspondant aux bandes suivantes :

- 684.68 cm^{-1} correspond à la bande du cycle benzène ;
- 858.26 cm^{-1} correspond à la bande de cycle benzène para disubstitué ;
- 1170.71, 1045.35 et 1244 cm^{-1} correspondent à la bande d'élongation de la liaison ($-\text{C}-\text{C}-$: alcane) ;
- 1379.01 et 1456.16 cm^{-1} correspondent à la bande de la liaison ($-\text{CH}_3$: alcane) ;
- 1508.23 et 1550.66 cm^{-1} correspondent à la bande de la liaison ($\text{C}=\text{C}$ aromatique) ;
- 1649.02 correspond à la bande de la liaison ($=\text{CH}_2$: alcène) ;
- 1741.6 correspond à la bande de la liaison ($\text{C}=\text{O}$: cétone) ;
- 2858.31 et 2925.81 correspondent à la bande de la liaison ($-\text{CH}$: alcane) ;
- 3411.84 correspond à la bande de la liaison ($-\text{OH}$: alcool lié) ;
- 3658.71 et 3676.07 correspondent à la bande de la liaison ($-\text{OH}$: alcool libre) ;

A partir de ces résultats, nous avons remarqué que les liaisons obtenus représentent la structure d'ecdystéroïdes. Et donc la présence des ecdystéroïdes est confirmée.

3.4. Résultats de la toxicité aigue:

Tableau 3.3 : les résultats de la toxicité.

Dose Mg/kg/per os	50	300	2000
Morbidité	RAS	RAS	RAS
Mortalité	0	0	0

L'administration par voie orale d'une dose unique inférieure ou égale à 2000 mg/kg de l'extrait administré n'a pas présenté de mortalité ni de signe de morbidité sur toute la durée d'observation qui est de 14 jours. Nos résultats concordent avec les résultats des études toxicologiques menées sur les extraits de la plante *Ajuga iva* par **El Hilaly et al / 2004**. Cette étude toxicologique nous a permis de déterminer la dose à administrer pour évaluer l'activité pharmacodynamique portant sur l'effet fertilisant féminin.

3.5. Résultats de l'évaluation de l'activité fertilisante in vivo :

3.5.1. Effet de la plante (extrait) sur les ovaires des souris sexuellement immatures :

Tableau 3.4 : tableau récapitulatif le poids de l'appareil génital et des ovaires des souris immatures traités par l'extrait d'ecdystéride.

Souris N°	Poids de souris (g)	Poids de l'appareil génital (mg)	Poids des ovaires (mg)	Ratio (Poids ovaires/ Poids l'appareil génital)
1	15.9	21.5	11.8	0.549
2	19.4	52.7	32.3	0.613
3	17.5	61.3	30	0.489
4	14.8	47.7	29.4	0.616
5	17.1	44.9	31.5	0.702
6	15.5	36.2	17.8	0.492
Moyenne±σ	16,7±1,66	44,05±13,83	25,47±8,54	0,577±0,082

Tableau 3.5 : tableau récapitulant le poids de l'appareil génital et des ovaires des souris immatures non traités par l'extrait d'ecdystéride.

Souris N°	Poids de souris (g)	Poids de l'appareil génital (mg)	Poids des ovaires (mg)	Ratio (Poids ovaires/ Poids l'appareil génital)
1	16.6	36.4	11.6	0.319
2	17.1	51.9	13	0.250
3	14.1	32.6	9.7	0.297
4	14.9	15.4	4.1	0.266
5	15.6	20.8	10.3	0.495
6	15.1	24	14.2	0.592
Moyenne± σ	15,57±1,11	29,7±14,61	10,48±	0,369±0,14

Tableau 3.6 : tableau récapitulant le poids de l'appareil génital et des ovaires des souris matures non traités par l'extrait d'ecdystéride.

Souris N°	Poids des souris (g)	Poids de l'appareil génital (mg)	Poids des ovaires (mg)	Ratio (Poids ovaires/ Poids l'appareil génital)
1	36.1	170	29.3	0.172
2	32.2	281.2	25.5	0.091
3	34.2	199.9	19.6	0.098
4	29.5	152.8	24	0.157
5	32.5	64.5	16.1	0.250
6	31.2	325.2	27	0.083
Moyenne± σ	32,62±2,3	198,93±93,54	23,58±4,90	0,141±0,064

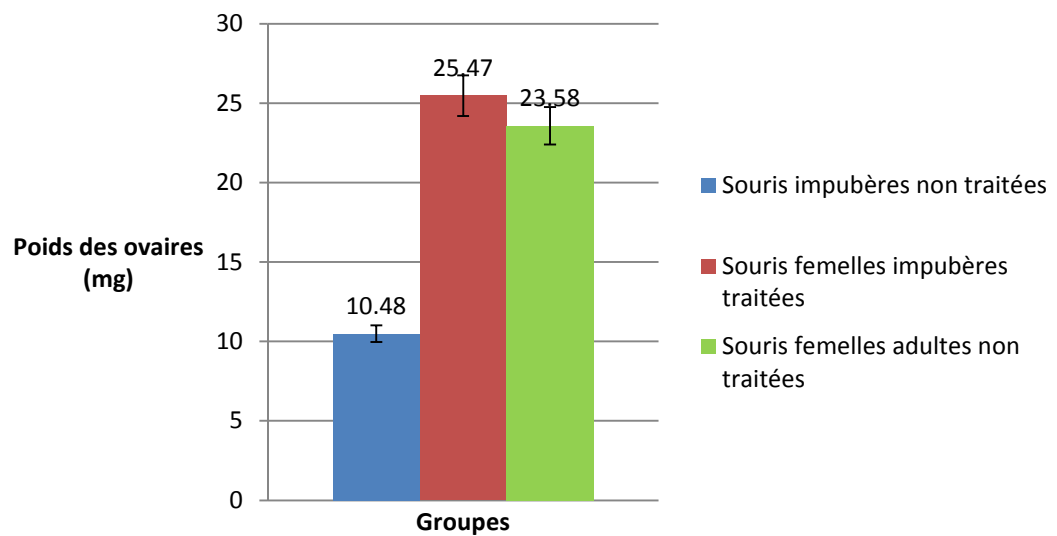


Figure 3.3 : Histogramme montrant l'évolution pondérale des ovaires chez les différents groupes de souris.

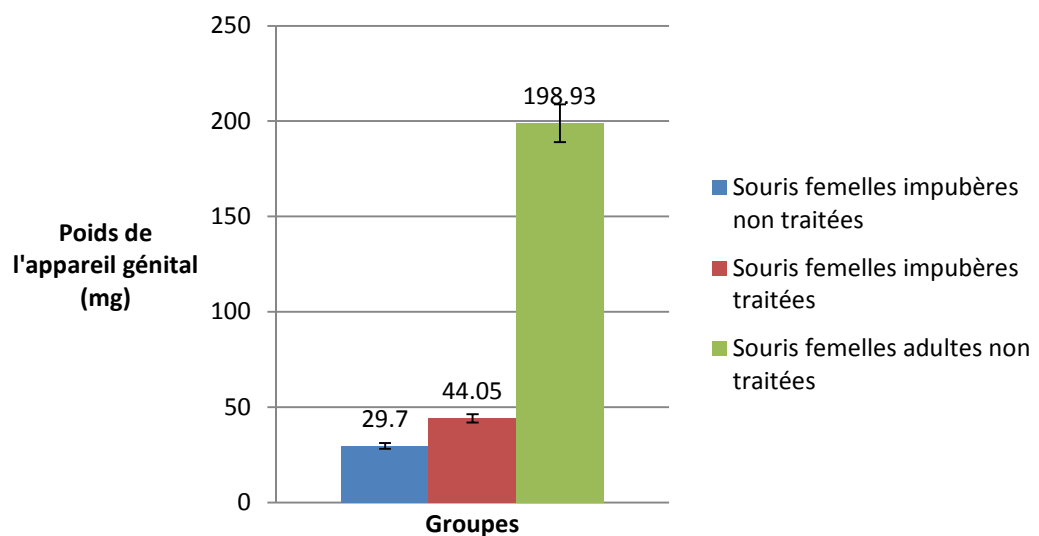


Figure 3.4 : Histogramme montrant l'évolution pondérale de l'appareil génital chez les différents groupes de souris.

Traitement statistique des résultats :

Les différents résultats obtenus ont fait l'objet d'une étude statistique en comparant les moyennes par le test de Student.

Tableau 3.7: La comparaison des moyennes par le test de Student

Variables	Groupes comparés	p-value	Signification statistique
Appareil génital complet	Souris impubères non traitées/ Souris adultes non traitées	0,0013 $< \alpha=0,01$	Différence très significative entre les poids des appareils génitaux
	Souris impubères traitées/ Souris impubères non traitées	0,105 $> \alpha=0,05$	Absence de différence entre les poids des appareils génitaux
	Souris impubères traitées/ Souris adultes non traitées	0,0025 $< \alpha=0,01$	Différence très significative entre les poids des appareils génitaux
Ovaires	Souris impubères non traitées/ Souris adultes non traitées	0,000345 $< \alpha=0,001$	Différence hautement significative entre les poids des ovaires
	Souris impubères traitées/ Souris impubères non traitées	0,002646 $< \alpha=0,01$	Différence très significative entre les poids des ovaires
	Souris impubères traitées/ Souris adultes non traitées	0,649455 $> \alpha=0,05$	Absence de différence entre les poids des ovaires

Sur le plan anatomique, le poids de l'appareil génital comme celui des ovaires sont plus importants chez les souris adultes que chez les souris impubères récemment sevrées. Nos résultats expérimentaux confirment cette différence que nous avons trouvés statistiquement très significative ($p<0.01$) pour l'appareil génital et hautement significative ($p<0.001$) pour les ovaires. Au regard des résultats obtenus, nous avons remarqué que le poids moyen des ovaires des souris âgées de 21 jours (âge pour lequel elles sont sexuellement immatures), après traitement oral à la dose de 2000 mg/kg de poids corporel pendant une durée de 05 jours (correspondant à un cycle menstruel chez l'espèce murine) présente une augmentation très significative ($p<0.01$) de l'ordre de 2.5 fois supérieure à celui des ovaires de souris impubères non traitées. Comme nous avons constaté en post-traitement, que le poids moyen des ovaires des souris impubères devient supérieur à celui des souris

femelles adultes non traitées mais sans pour autant présenter une différence statistiquement significative ($p > 0.05$). Les poids moyens de l'appareil génital ne présentent pas de différence statistiquement significative ($p > 0.05$) entre les deux groupes de souris impubères, ce qui nous renseigne sur un tropisme d'action se déroulant à grande échelle au niveau ovarien témoignant d'un effet de l'extrait d'ecdystéroïde sur les gonades féminines par stimulation de la multiplication des cellules composant le tissu ovarien au point d'atteindre un poids dépassant celui des ovaires des souris adultes non traitées. Cet effet est semblable à celui de l'hormone folliculo stimulante (FSH). L'augmentation pondérale des ovaires traités par l'extrait d'ecdystéroïde est probablement prédictive de l'effet fertilisant féminin qui reste à confirmer ultérieurement par d'autres tests d'activité appropriés.

3.5.2. Effet de la plante (extrait) sur le temps de latence pour la mise bas et le nombre de souriceaux:

Depuis le lancement des accouplements en mode monogame, faute de temps ; la durée de gestation requise n'a pas été observée.

Après avoir vérifié l'effet fertilisant de la plante *Ajuga iva*, nous avons formulé des comprimés à base de cette plante et plusieurs analyses ont été effectuées afin de vérifier la conformité de ces comprimés par rapport aux normes. A savoir :

3.6. Analyse granulométrique :

Nous avons réalisé des tests d'analyse granulométrique sur les mélanges des poudres en examinant la variation de la taille. Les histogrammes représentant la distribution granulométrique en fonction de diamètre sont donnés dans les figures suivantes (figure 3.5 à figure 3.18) et illustrés sous forme de tableaux (tableau C.1 à tableau C.14) dans la partie appendice C.

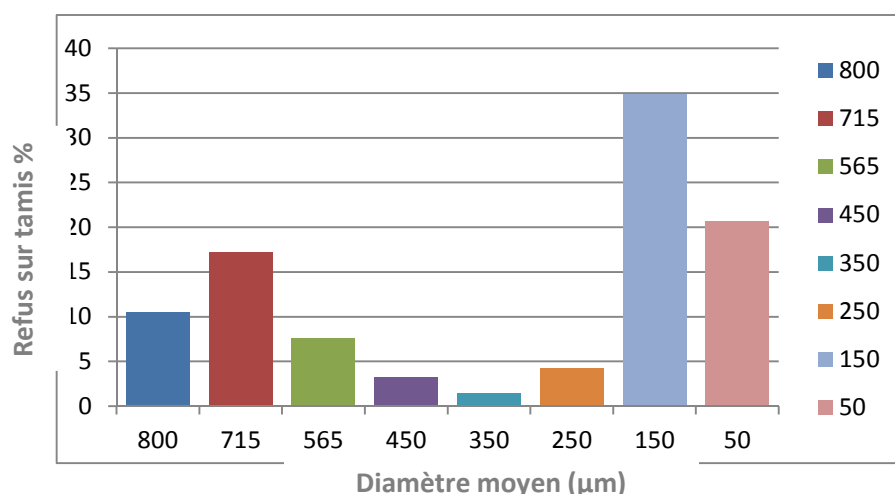


Figure 3.5: Distribution granulométrique [essai 1]

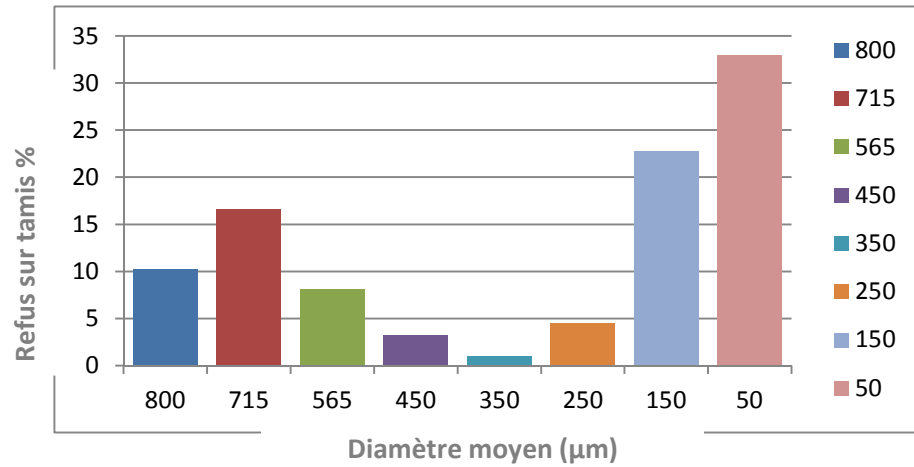


Figure 3.6: Distribution granulométrique [essai 2]

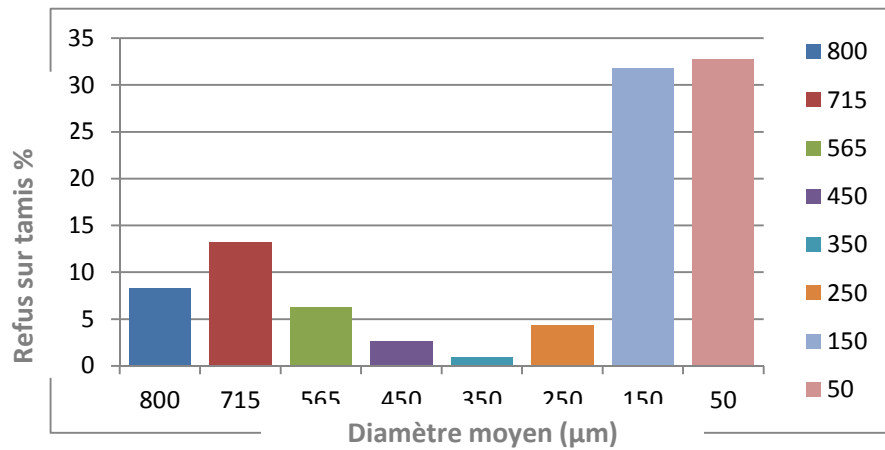


Figure 3.7: Distribution granulométrique [essai 3]

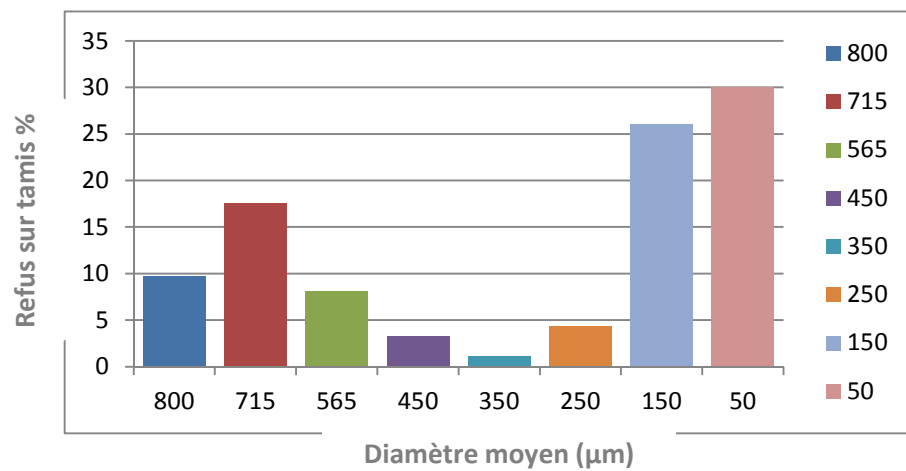


Figure 3.8: Distribution granulométrique [essai 4]

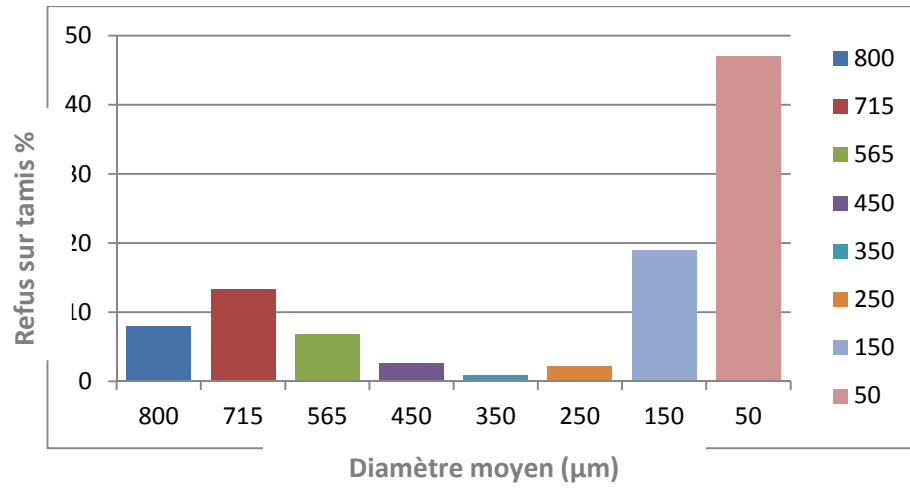


Figure 3.9: Distribution granulométrique [essai 5]

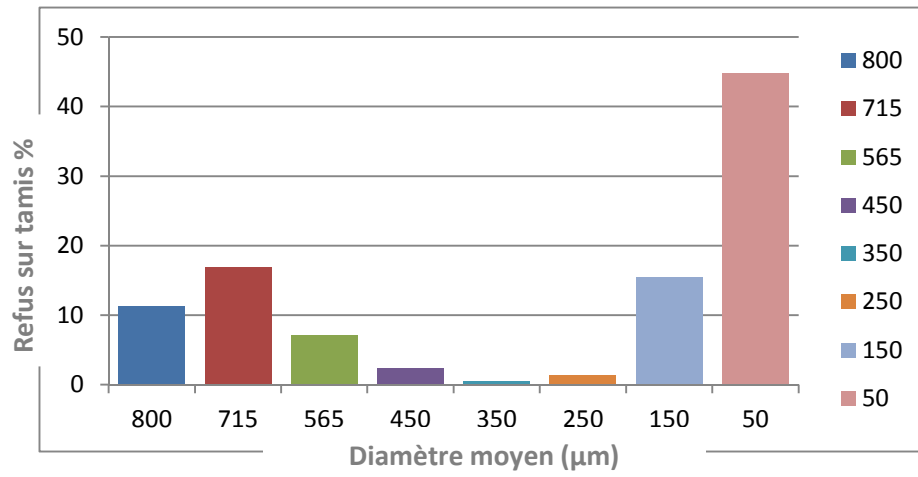


Figure 3.10: Distribution granulométrique [essai 6]

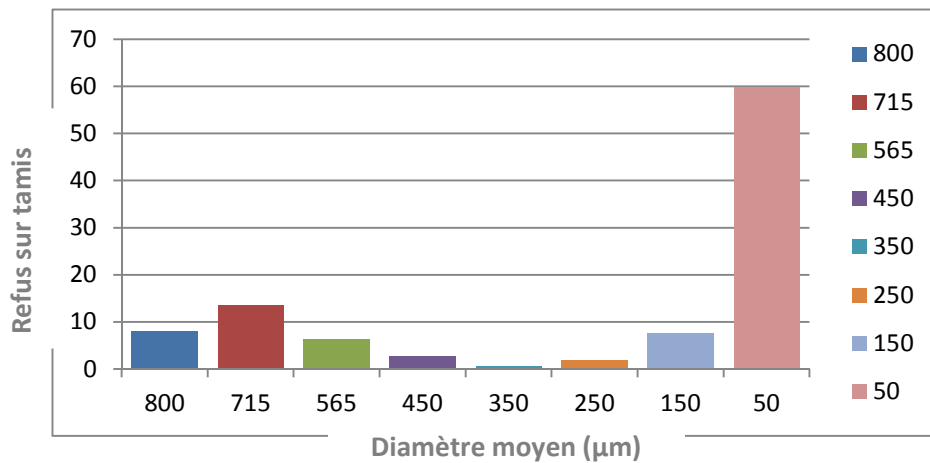


Figure 3.11: Distribution granulométrique [essai 7]

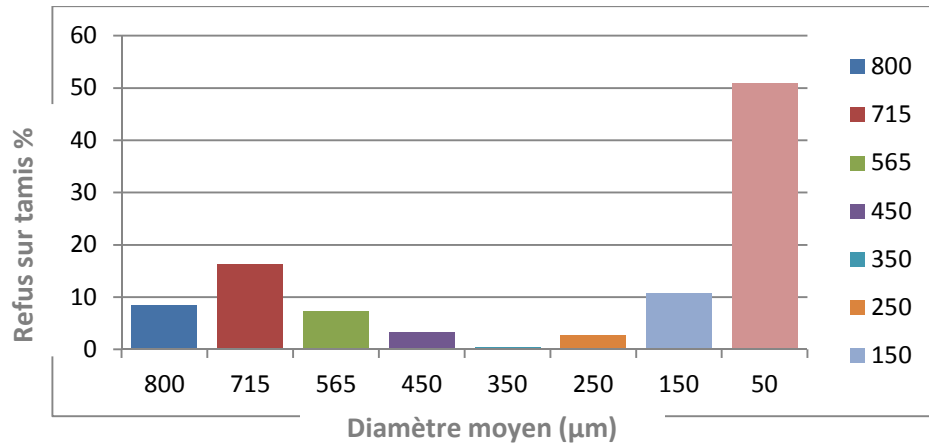


Figure 3.12: Distribution granulométrique [essai 8]

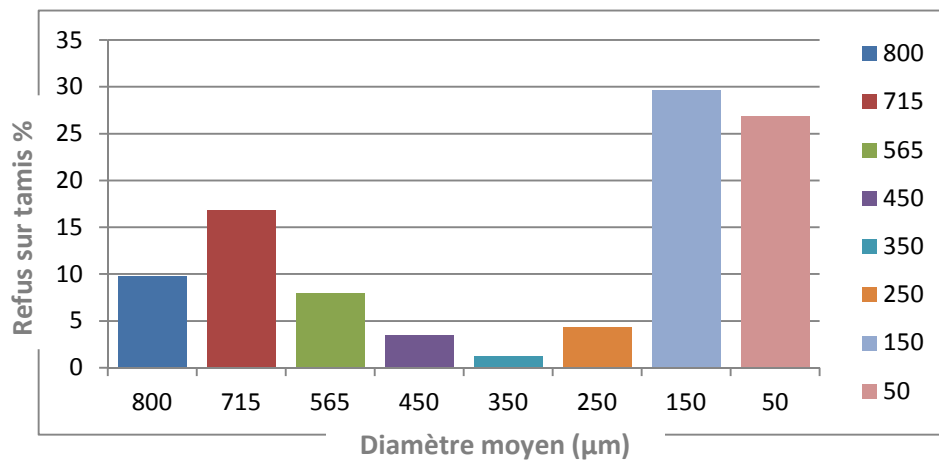


Figure 3.13: Distribution granulométrique [essai 9]

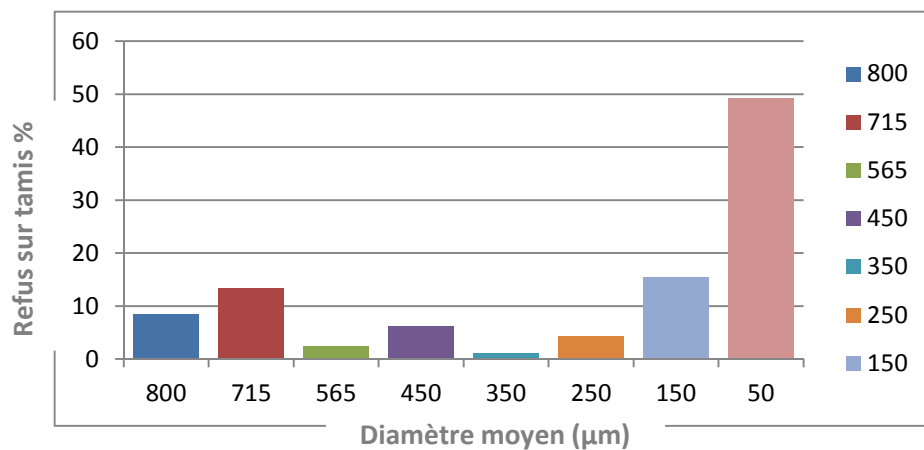


Figure 3.14: Distribution granulométrique [essai 10]

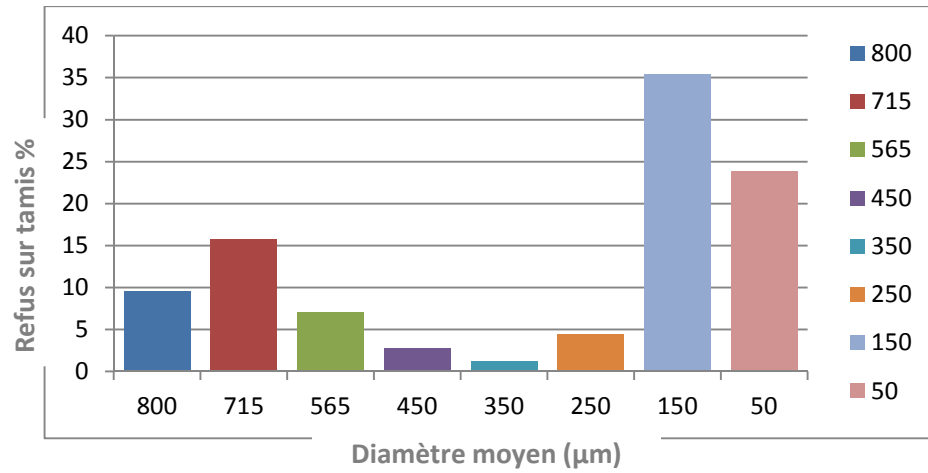


Figure 3.15: Distribution granulométrique [essai 11]

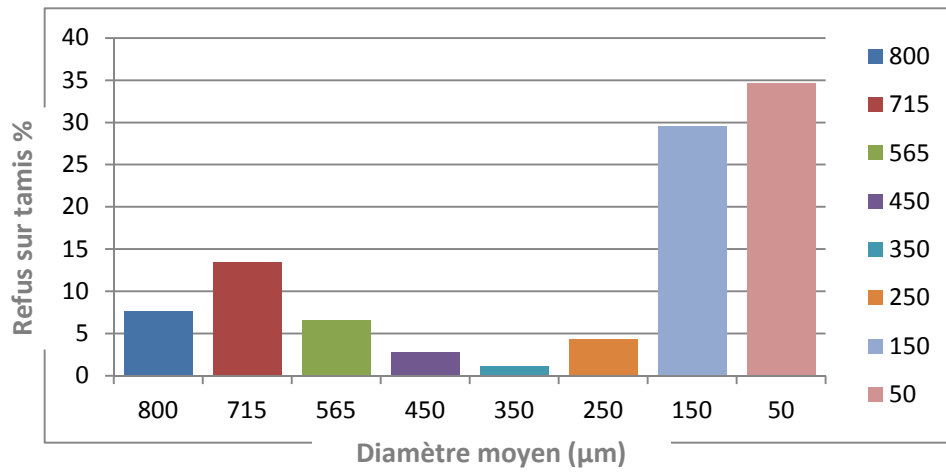


Figure 3.16: Distribution granulométrique [essai 12]

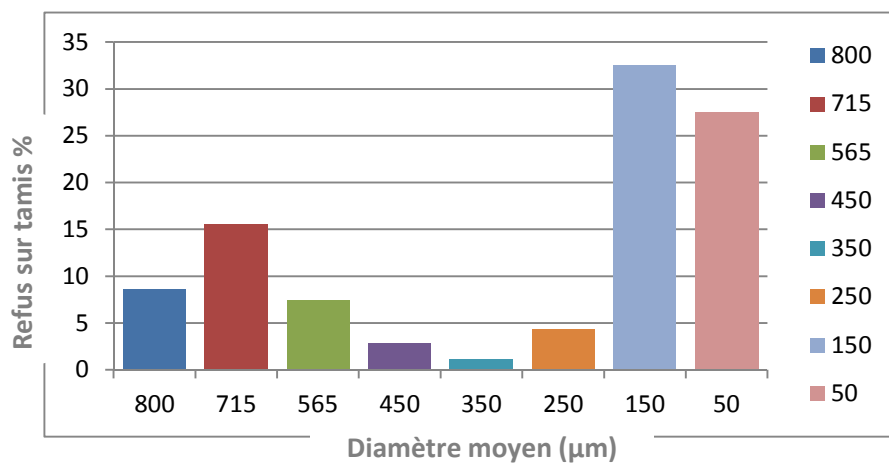


Figure 3.17: Distribution granulométrique [essai 13]

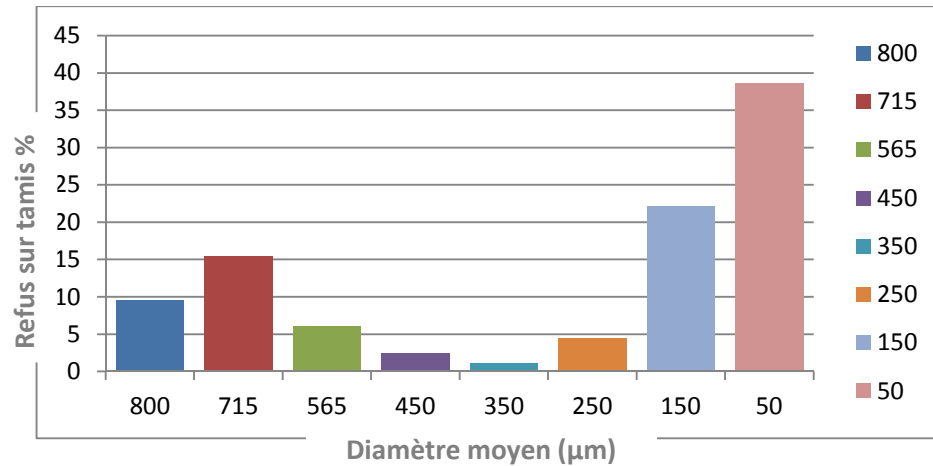


Figure 3.18: Distribution granulométrique [essai 14]

Les valeurs du médiane D_{50} , D_{moy} et D_{modal} des différents essais sont résumés dans le tableau 3.8 suivant:

Tableau 3.8 : Valeurs de D_{50} , D_{moy} et D_{modal} .

N° d'essai	D_{50} (um)	D_{moy} (um)	D_{modal} (um)
1	122.22	343.17	150
2	138.46	328.33	50
3	100	285.13	50
4	117.65	331.87	50
5	76.92	270.81	50
6	92.31	313.46	50
7	46.15	254.43	50
8	61.54	289.86	50
9	123.08	331.46	150
10	69.23	264.22	50
11	123.08	321.68	150
12	92.30	283.06	50
13	107.69	312.99	150
14	107.69	300.49	50

A la lumière des résultats présentés dans le tableau ci-dessus, nous remarquons que les valeurs de D_{50} , D_{moy} et D_{modal} pour chaque essai ne sont pas identiques, mais qui sont très proches, donc nous pouvons dire que notre distribution est une distribution homogène monomodale.

3.7. Résultats pharmaco-techniques :

Les résultats pharmaco-techniques des différents essais sont résumés dans le tableau 3.9 suivant:

Tableau 3.9: Résultats pharmaco-techniques

N° d'essai	HR	Écoulement (s)	Tassement (ml)	Dureté (Kpa)	Friabilité (%)	IC (%)	Uniformité de masse (%)
1	2.42	4.17	30	1.21	2.13	23.8	0.049
2	3.61	3.57	30	1.11	2.713	23.43	0.02088
3	1.95	3.4	32	1.51	1.426	24.24	0.0119
4	3.30	3.4	32	1.32	1.274	24.24	0.0175
5	3.58	3.37	30	1.44	2.137	23.07	0.00648
6	3.25	3.1	26	1.21	2.636	21.66	0.0166
7	3.21	3.63	30	1.41	1.911	23.8	0.01138
8	3.76	4.3	22	1.31	1.55	18.96	0.0411
9	3.04	4.4	28	1.51	1.6	22.58	0.0244
10	3.06	2.9	28	1.31	1.674	22.22	0.013
11	3.53	2.7	26	1.61	1.3	21.31	0.0542
12	2.79	3.7	26	1.51	2.016	20.96	0.00922
13	2.75	5.94	26	1.41	1.304	21.66	0.011
14	3.21	3.3	28	1.61	1.85	23.33	0.02
Normes	3-5	< 10	< 20	6-10	< 1%	18%	+/- 5%

Au regard, des résultats obtenus sur les mélanges de poudre des différents essais, nous dégagons les constatations suivantes :

Les valeurs de l'humidité résiduelle pour les essais 1, 3, 12 et 13 sont inférieures aux normes mais pour les autres essais les valeurs de ce test sont conformes aux normes.

L'écoulement des mélanges de poudre issu des différents essais est bon, puis se qu'ils s'écoulent tous en moins de 10 secondes.

Quant à leur aptitude au tassement, pour tous les essais, les valeurs trouvées dépassent 20 ml, et leurs indices de Carr sont tous supérieurs à 18% et donc ils sont supérieurs aux normes.

Concernant les résultats pharmacotechniques sur le produit fini, nous remarquons que les 14 essais possèdent une friabilité qui dépasse 1% due à des valeurs de dureté des comprimés faibles (< 6 Kp). Ceci peut être expliqué probablement à cause de la granulation par voie sèche, nous proposons dans les perspectives de ce travail de faire la granulation par voie humide pour corriger la mauvaise dureté et friabilité.

Les masses unitaires des comprimés et la masse moyenne des différents essais sont résumées dans le tableau 3.10 suivant:

Tableau 3.10 : Résultats de l'uniformité de masse

Cp N° d'essai	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	M_{moy}
1	0.471	0.420	0.537	0.437	0.476	0.532	0.486	0.594	0.480	0.457	0.4890
2	0.492	0.456	0.518	0.452	0.504	0.512	0.484	0.500	0.491	0.503	0.4912
3	0.509	0.470	0.498	0.490	0.494	0.510	0.473	0.508	0.512	0.509	0.4970
4	0.477	0.493	0.517	0.516	0.508	0.493	0.462	0.512	0.515	0.493	0.4986
5	0.492	0.490	0.498	0.496	0.500	0.488	0.486	0.477	0.497	0.492	0.4916
6	0.508	0.525	0.522	0.476	0.513	0.529	0.532	0.527	0.530	0.501	0.5160
7	0.500	0.494	0.511	0.520	0.516	0.507	0.533	0.518	0.514	0.529	0.5140
8	0.490	0.520	0.500	0.520	0.510	0.540	0.490	0.420	0.520	0.410	0.4920
9	0.540	0.460	0.520	0.540	0.510	0.500	0.520	0.480	0.520	0.530	0.5120
10	0.510	0.490	0.520	0.500	0.500	0.520	0.480	0.500	0.520	0.500	0.5040
11	0.460	0.530	0.490	0.510	0.510	0.520	0.510	0.510	0.520	0.510	0.4560
12	0.500	0.510	0.510	0.500	0.500	0.490	0.520	0.500	0.520	0.500	0.5050
13	0.540	0.520	0.550	0.540	0.530	0.530	0.540	0.510	0.540	0.530	0.5330
14	0.540	0.510	0.510	0.520	0.540	0.480	0.540	0.510	0.520	0.550	0.5220

Les résultats des masses moyennes présentent des variations qui ne peuvent être prises en compte, les variations d'une formule à une autre sont dues au réglage de la machine et pas à la formulation elle-même.

En ce qui concerne la réponse « écart type des masses », elle présente des résultats qui sont inférieurs à la limite qui est 5% sauf pour l'essai deux (11), due au réglage de la machine.

3.8.Résultats biopharmaceutiques :

La figure suivante représente la courbe d'étalonnage exprimant l'absorbance en fonction de la concentration :

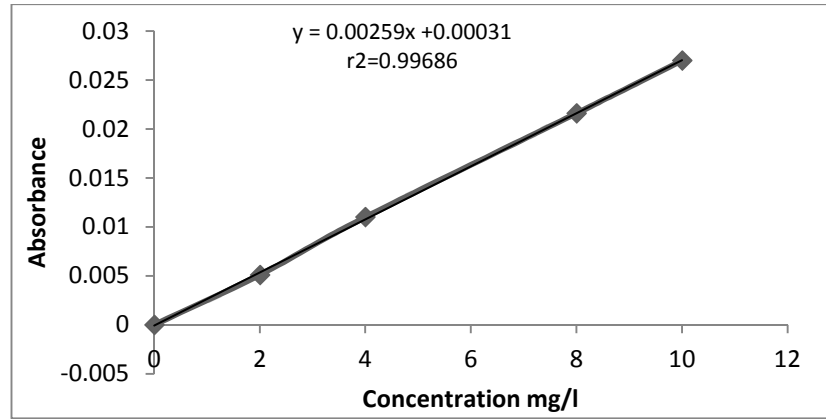
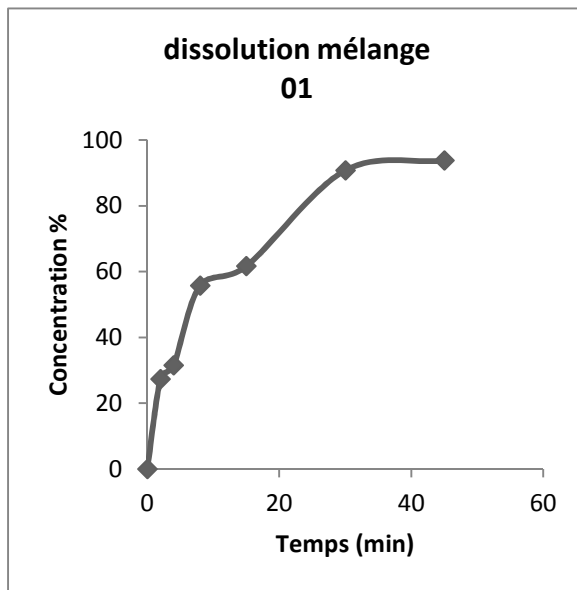
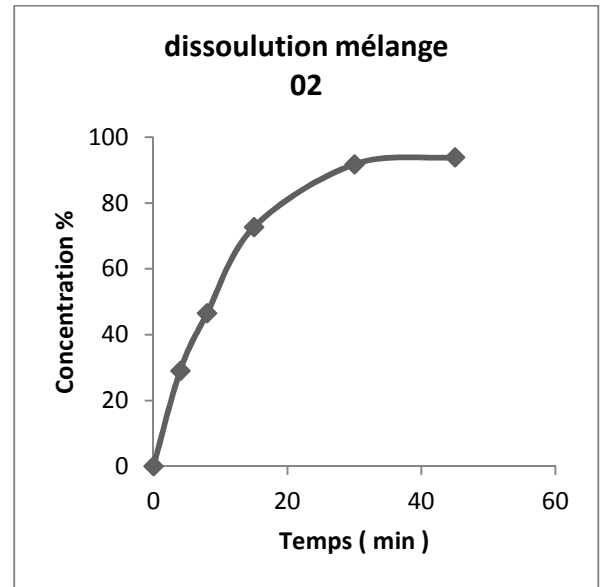


Figure 3.19 : le tracé de la courbe d'étalonnage.

Les Figures 3.20 à 3.33 représentent les résultats biopharmaceutiques des 14 essais qui sont donnés sous forme de courbes exprimant le pourcentage de la concentration en fonction du temps.



**Figure 3.20 : Profil de dissolution
[essai 1]**



**Figure 3.21: Profil de dissolution
[essai 2]**

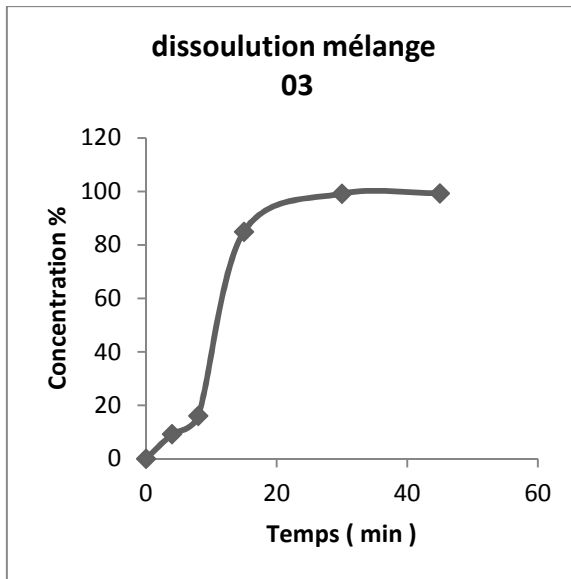


Figure 3.22 : Profil de dissolution [essai 3]

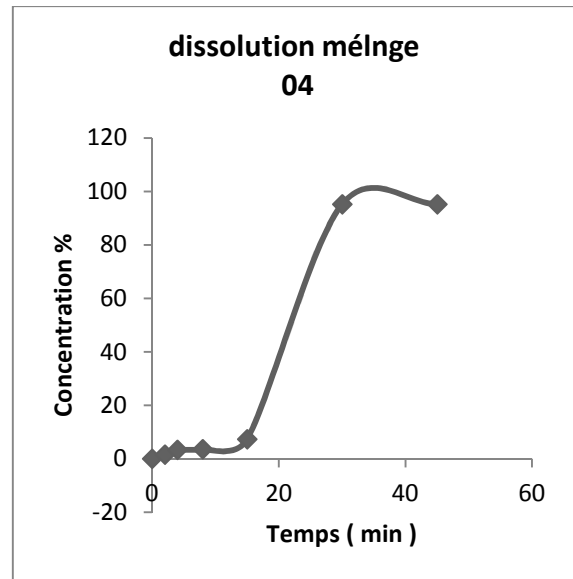


Figure 3.23 : Profil de dissolution [essai 4]

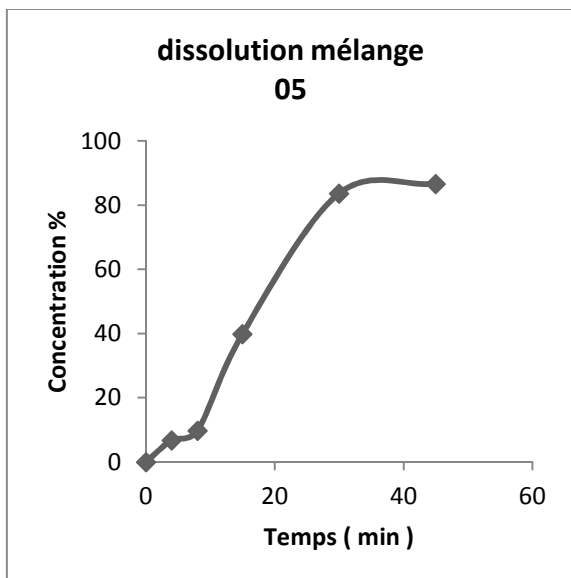


Figure 3.24 : Profil de dissolution [essai 5]

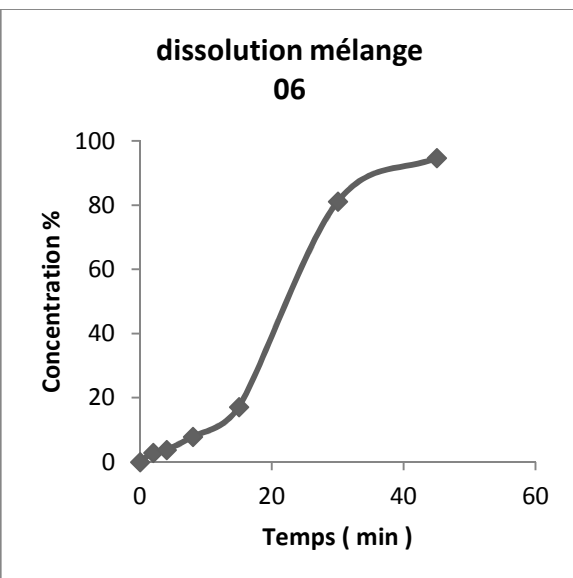


Figure 3.25 : Profil de dissolution [essai 6]

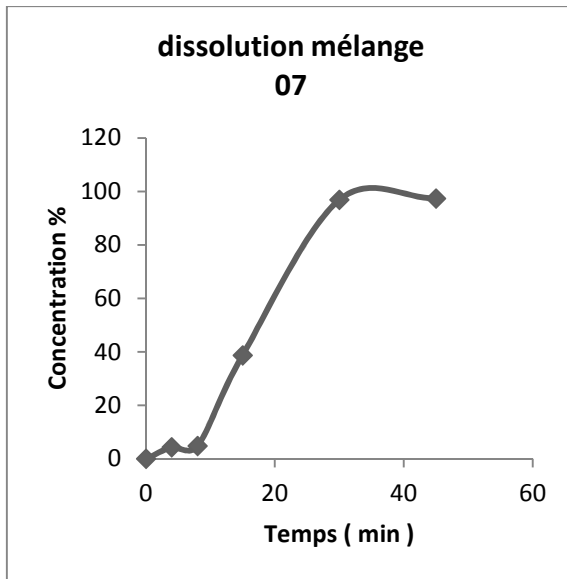


Figure 3.26 : Profil de dissolution [essai 7]

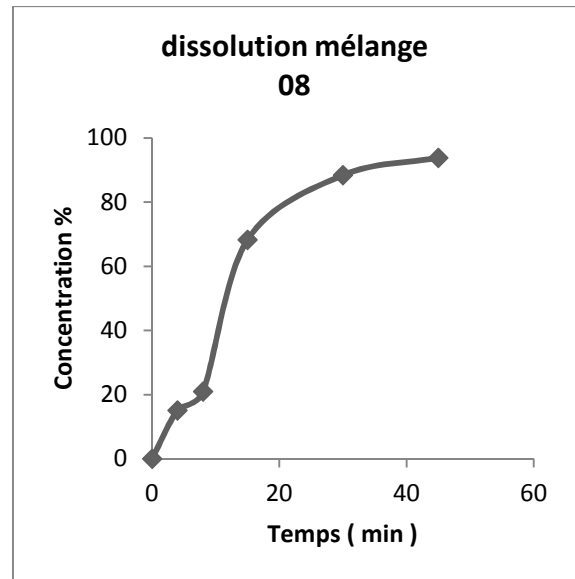


Figure 3.27 : Profil de dissolution [essai 8]

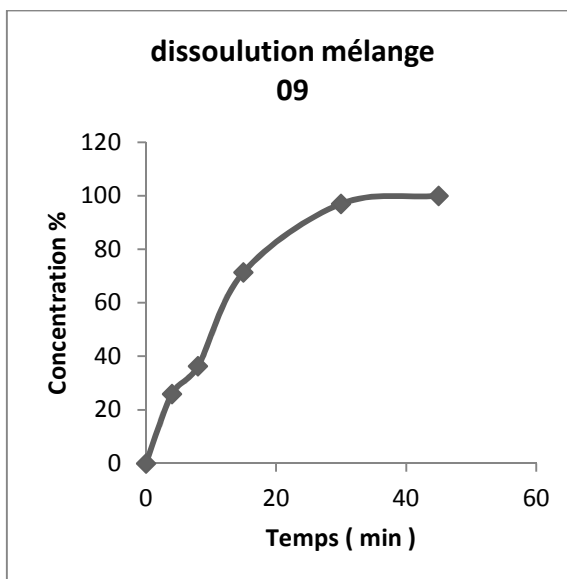


Figure 3.28 : Profil de dissolution [essai 9]

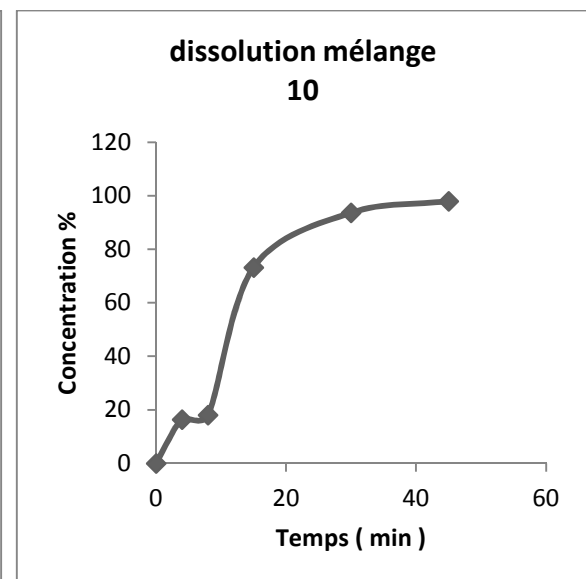
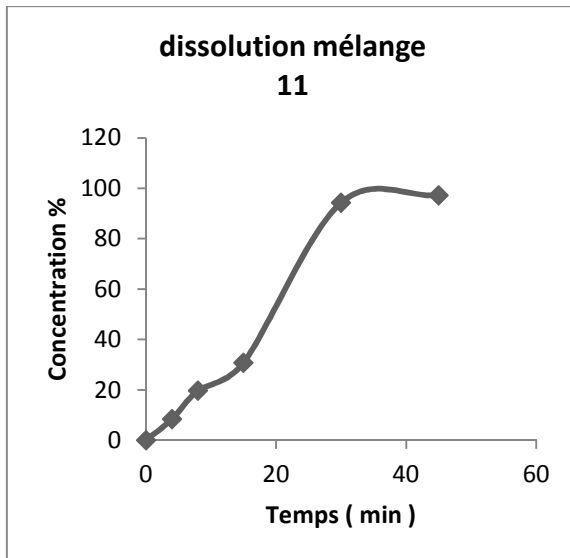
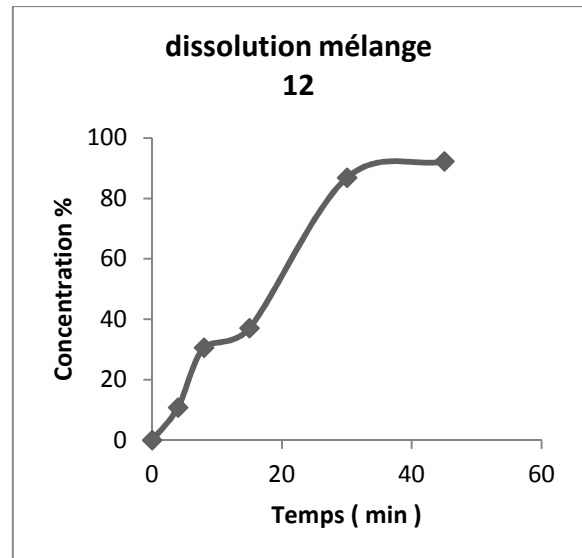


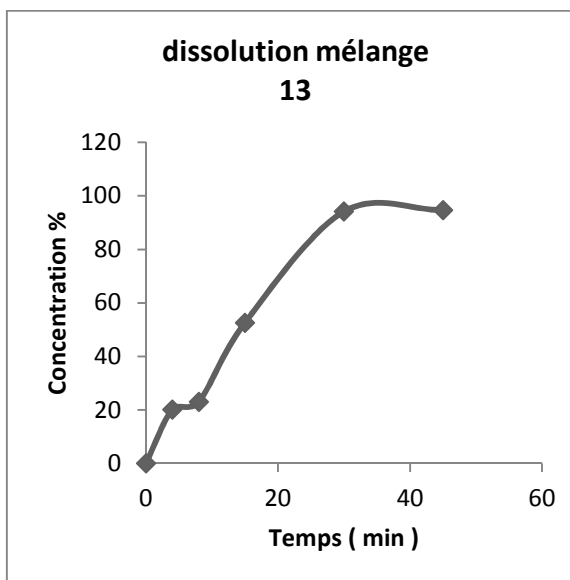
Figure 3.29 : Profil de dissolution [essai 10]



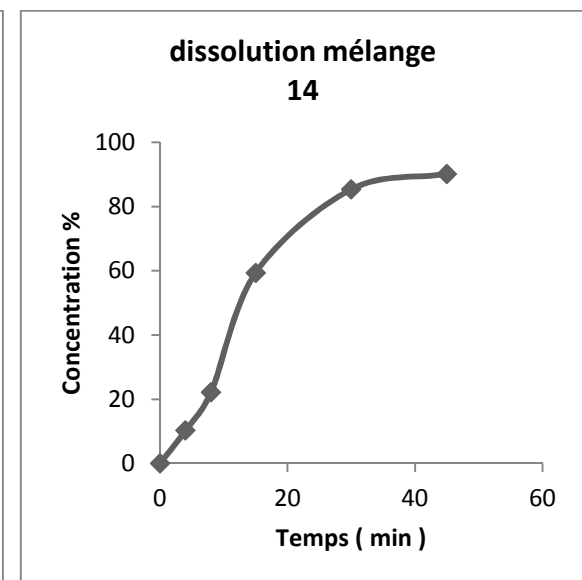
**Figure 3.30 : Profil de dissolution
[essai 11]**



**Figure 3.31 : Profil de dissolution
[essai 12]**



**Figure 3.32 : Profil de dissolution
[essai 13]**



**Figure 3.33 : Profil de dissolution
[essai 14]**

A partir des profils de dissolution, nous avons remarqué que pour tous les essais, les comprimés ont libérés [40-80%] de principe actif en 20 min.

La majorité des comprimés obtenus à l'issue des 14 essais libèrent plus de 80% de leur principe actif et cette libération commence à stabiliser au bout de 45 minutes, alors ils sont conformes aux normes.

Donc la libération de principe actif des 14 essais est une libération immédiate.

3.9. Analyse statistique :

Dans cette partie, nous avons étudié les effets des différents facteurs sur les différentes réponses.

- Les réponses sont :
 - Y_1 : Friabilité
 - Y_2 : Indice de carr
 - Y_3 : Tassement
 - Y_4 : Écoulement
 - Y_5 : Humidité résiduelle
 - Y_6 : Uniformité de masse
 - Y_7 : Dureté
- Les facteurs sont :
 - X_1 : Principe actif
 - X_2 : Saccharose
 - X_3 : Lactose
 - X_4 : Amidon de maïs
 - X_5 : Amidon soluble
 - X_6 : Stéarate de magnésium

- Friabilité :

Le modèle mathématique proposé, reliant la réponse Y_1 aux variables opératoires d'entrée a comme expression:

$$Y_1 = 1.82631X_1 + 0.0621846X_2 - 0.048376X_3 - 0.0653424X_4 + 0.0123735X_5 - 0.0925948X_6$$

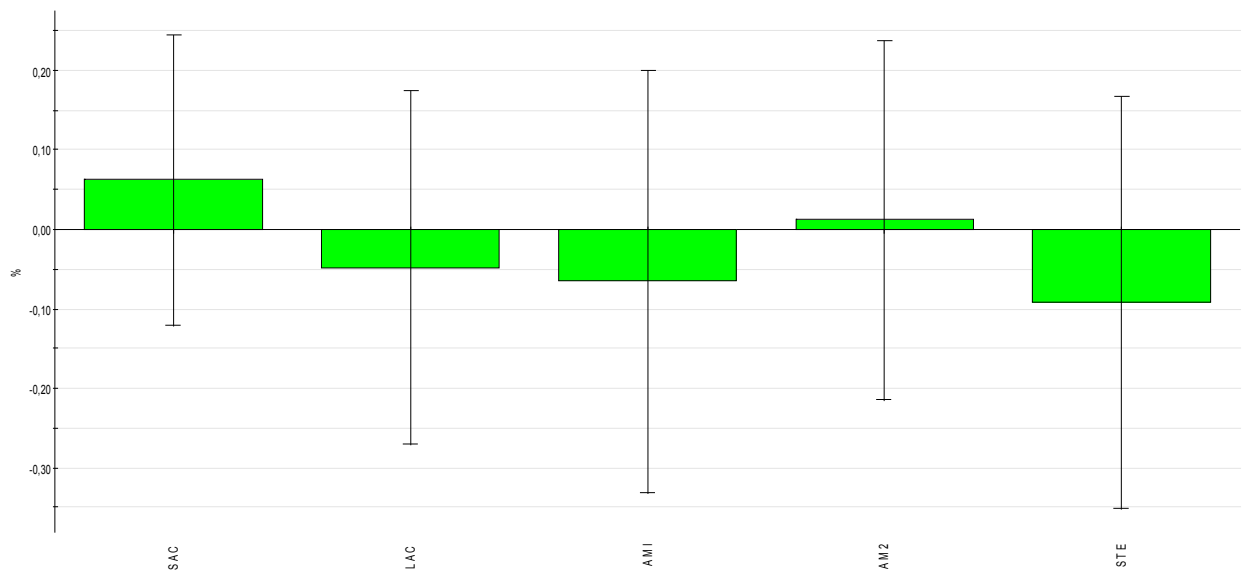


Figure 3.34 : Histogramme des effets des excipients sur la friabilité.

Le saccharose et l'amidon soluble influent positivement sur la friabilité ce qui signifie l'augmentation de cette dernière avec l'augmentation de la concentration, le lactose, l'amidon de maïs et stéarate de magnésium influent négativement sur la friabilité ce qui signifie une diminution de la friabilité avec la diminution de la concentration.

- **Indice de Carr :**

Le modèle mathématique proposé, reliant la réponse Y_2 aux variables opératoires d'entrée a comme expression :

$$Y_2 = 22.62X_1 + 0.0579743X_2 + 0.3j03008X_3 + 0.00859162X_4 - 0.300734X_5 - 0.045445X_6$$

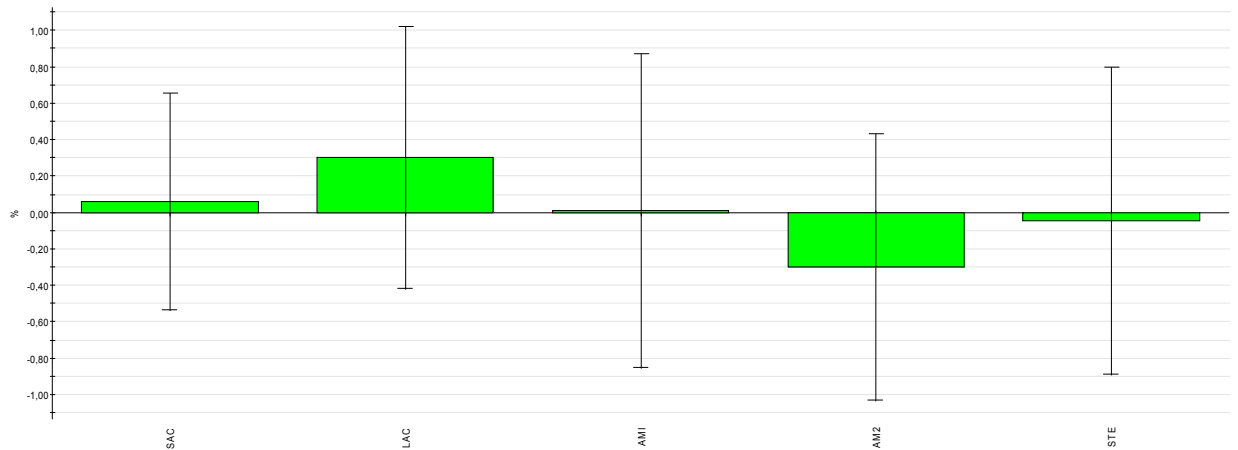


Figure 3.35 : Histogramme des effets des excipients sur l'indice de Carr.

Le saccharose et le lactose influent positivement sur les valeurs obtenus de l'indice de Carr ce qui signifie une augmentation de l'indice de Carr avec l'augmentation de la concentration, l'amidon de maïs a une faible influence positive sur l'indice de Carr, l'amidon soluble et stéarate de magnésium influent négativement sur les valeurs obtenus de l'indice de Carr ce qui signifie une diminution de l'indice de Carr avec la diminution de la concentration.

- **Tassement :**

Le modèle mathématique proposé, reliant la réponse Y_3 aux variables opératoires d'entrée a comme expression :

$$Y_3 = 28.125X_1 - 0.0245982X_2 + 0.502081X_3 + 0.184143X_4 - 0.473474X_5 + 0.141257X_6$$

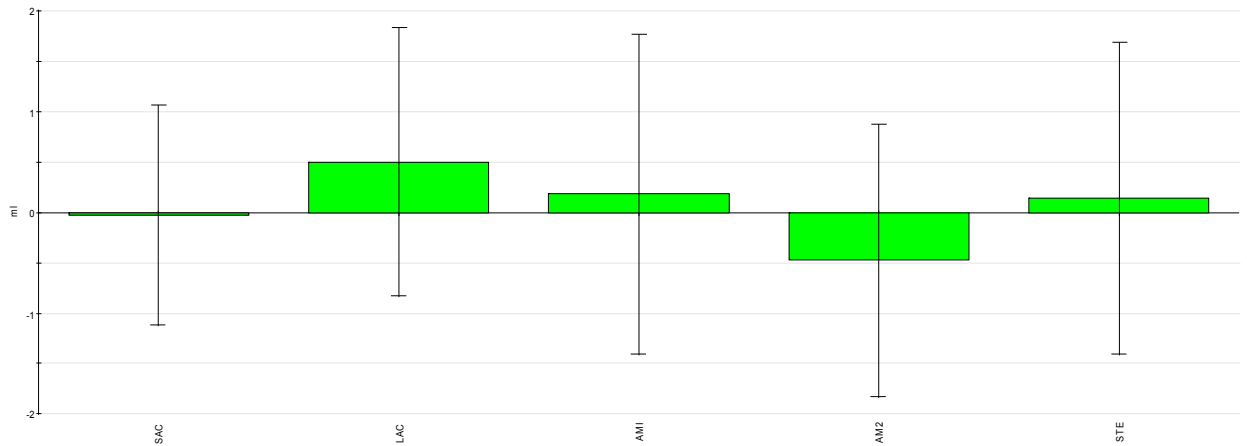


Figure 3.36 : Histogramme des effets des excipients sur le tassement.

Le saccharose a une faible influence négative alors que l'amidon soluble influe aussi négativement sur l'aptitude au tassement mais d'une manière plus importante ce qui signifie une diminution de l'aptitude au tassement avec la diminution de la concentration, le lactose, l'amidon soluble et stéarate de magnésium influent positivement sur le tassement ce qui signifie l'augmentation de l'aptitude au tassement avec l'augmentation de la concentration.

- Ecoulement :

Le modèle mathématique proposé, reliant la réponse Y_4 aux variables opératoires d'entrée a comme expression :

$$Y_4 = 3.655X_1 + 0.0408134X_2 + 0.0286933X_3 - 0.193663X_4 + 0.046968X_5 - 0.179803X_6$$

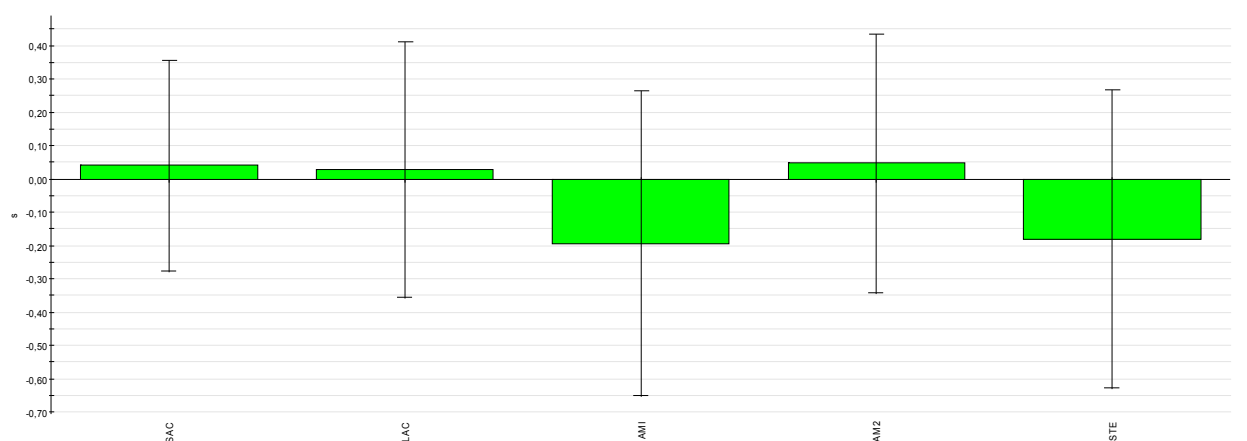


Figure 3.37 : Histogramme des effets des excipients sur l'écoulement.

L'amidon de maïs et stéarate de magnésium influent négativement sur l'écoulement ce qui signifie une diminution du temps d'écoulement avec la diminution de la concentration,

alors que le saccharose, le lactose et l'amidon soluble influent positivement sur l'écoulement ce qui signifie l'augmentation de l'écoulement avec l'augmentation de la concentration.

- **Humidité résiduelle :**

Le modèle mathématique proposé, reliant la réponse Y_5 aux variables opératoires d'entrée a comme expression :

$$Y_5 = 3.1175X_1 + 0.0383784X_2 - 0.274258X_3 + 0.0787311X_4 + 0.130943X_5 + 0.0441647X_6$$

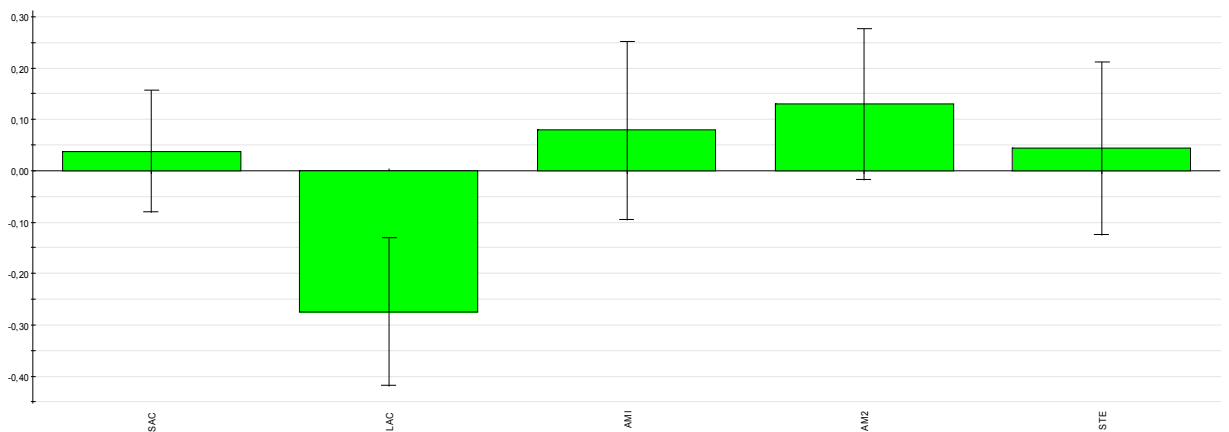


Figure 3.38 : Histogramme des effets des excipients sur l'humidité résiduelle.

Le lactose influe négativement sur l'humidité résiduelle ce qui signifie une diminution de l'humidité résiduelle avec la diminution de la concentration, le saccharose, l'amidon de maïs, l'amidon soluble et stéarate de magnésium influent positivement sur l'humidité résiduelle ce qui signifie l'augmentation de l'humidité résiduelle avec l'augmentation de la concentration.

- **Uniformité de masse :**

Le modèle mathématique proposé, reliant la réponse Y_6 aux variables opératoires d'entrée a comme expression :

$$Y_6 = 0.0216612X_1 + 0.00558943X_2 - 0.00244015X_3 + 0.00183929X_4 - 0.0047895X_5 - 0.00242025X_6$$

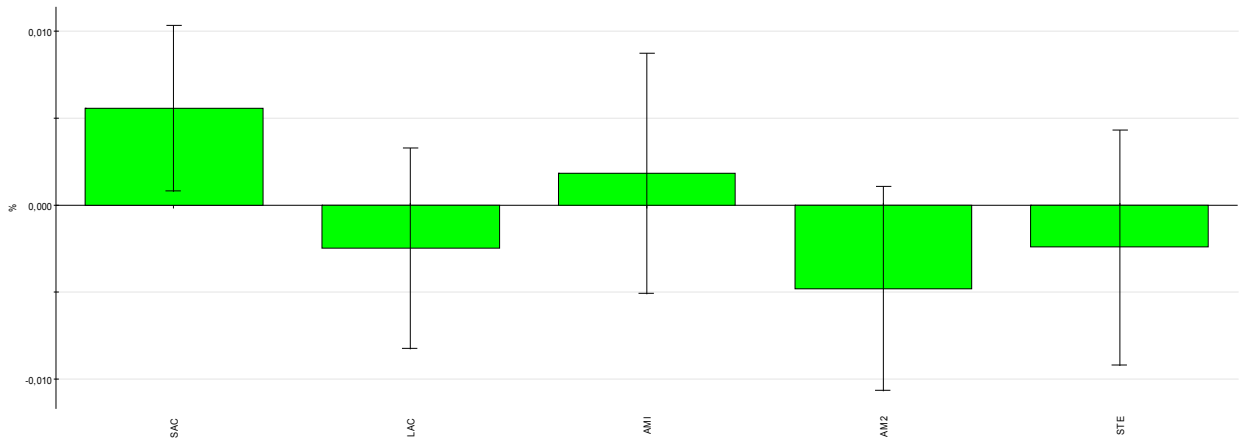


Figure 3.39 : Histogramme des effets des excipients sur l'uniformité de masse.

Le lactose, l'amidon soluble et stéarate de magnésium influent négativement sur l'uniformité de masse ce qui signifie diminution de l'uniformité de masse avec diminution de la concentration, le saccharose et l'amidon de maïs influent positivement sur l'uniformité de masse ce qui signifie l'augmentation de l'uniformité de masse avec l'augmentation de la concentration.

- Dureté :

Le modèle mathématique proposé, reliant la réponse Y_7 aux variables opératoires d'entrée a comme expression :

$$Y_7 = 1.41875X_1 - 0.0418688X_2 + 0.0249171X_3 + 0.0326429X_4 + 0.00414957X_5 + 0.0538363X_6$$

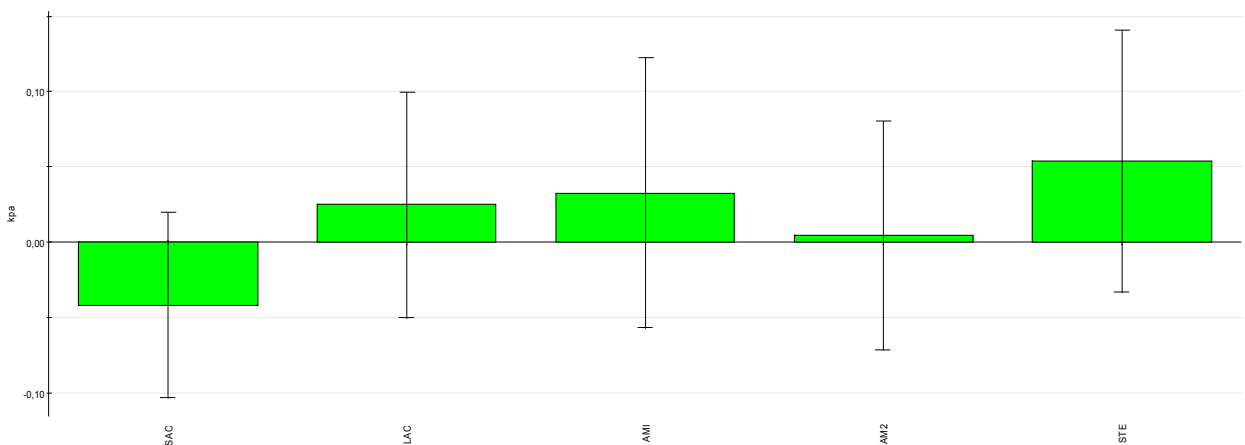


Figure 3.40 : Histogramme des effets des excipients sur la dureté.

Le saccharose influe négativement sur la dureté ce qui signifie une diminution de la dureté avec la diminution de la concentration, le lactose, l'amidon de maïs, l'amidon soluble et

stéarate de magnésium influent positivement sur la dureté ce qui signifie une augmentation de dureté avec l'augmentation de la concentration.

CONCLUSION

CONCLUSION

La présente étude a été portée sur les parties aériennes d'*Ajuga iva*, utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement de la fertilité. Dans notre étude nous sommes intéressés aux deux extractions. La première consiste à extraire l'huile essentielle de l'*Ajuga iva* en utilisant la technique d'hydrodistillation et la deuxième consiste à extraire des ecdystéroïdes, pour les caractériser, les identifier et évaluer leur activité fertilisante en réalisant des tests in vivo.

Le protocole d'extraction par hydrodistillation nous a donné un rendement négligeable. Par contre le rendement de protocole d'extraction par macération en utilisant un solvant organique est de 3.36 %.

Au cours de cette étude, l'extrait obtenu a été caractérisé par deux méthodes d'analyses à savoir : l'uv-visible et l'infrarouge. A travers les résultats de la caractérisation obtenus, nous avons conclu qu'il s'agit des ecdystéroïdes.

Après l'évaluation de la toxicité de cet extrait sur des souris, nous avons remarqué qu'il y avait aucune mortalité ni de morbidité au cours de la période d'observation.

A partir des résultats de la toxicité, les études in vivo menées, en utilisant la plus grande dose non toxique 2000 mg/kg, ont démontré que les ecdystéroïdes d'*Ajuga iva* présentent un effet fertilisant.

Il existe différentes formes pharmaceutiques généralement classées selon la voie d'administration ou l'état physique. Chaque forme présente des avantages et des inconvénients. Il a été choisi de s'intéresser aux comprimés, forme pharmaceutique solide la plus répandue, pour formuler un médicament à base de la plante *Ajuga iva*.

En perspective, il serait intéressant de donner suite à ce travail en :

- Optimisant la formulation des comprimés.
- Optant pour une formulation d'une autre forme pharmaceutique (des ovules) à partir de l'extrait obtenu.
- Effectuant d'autres tests d'activité appropriés pour confirmer l'effet fertilisant.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- [1] EL Hilaly, J., (2007). Les propriétés pharmacologiques, ethnobotaniques et phytochimiques d'*Ajuga iva*. *A Guide to Medicinal plants in North Africa*, PP 19-20
- [2] Bennaghmouch, L., Hajjaji, N., Zellou, A., Cherrah H. (2001)., Etude pharmacologique d'*Ajuga iva*. Ed : *Masson*. 284.
- [3] Taleb-Senouci, D., Ghomaria, H., Kroufa, D., Bouderbala, S., Prostb, J., Dubois, L. M. A., Bouchenaka, M., (2009). Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats, *Phytomedicine*, 16, 623–631.
- [4] Sassi, M. (2005). Les plantes médicinales. Ed: *Dar El Fiker Tunis*. Fiche 2.
- [5] Belouad, A. (2001). Les plantes médicinales d'Algérie. Ed : *Office de Publications Universitaires (OPU)*, Alger .122.
- [6] Baba Aissa F. (2000). Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed : *Librairie moderne Rouiba*.46.
- [7] Hadichambis, A. CH., Paraskeva- Hadichambi, D., Della, A., Giusti, M.E., De Pascale, C., Lenzarini, C., Censori, E., Skoula, M., Johnson, C., Sarpaki, A., Hmamouchi M., Gonzalez-Tejero, M.R., Sanchez-Rojas, C.P., Ramiro-Gutierrez, J.M., Sarpaki A., Johri, S., El-Demerdash, M., El-zahat, M., Pieroni, A., (2007). Wid and semi-domesticated food plant consumption in seven circumMediterranean areas. *Interntional Journal of Food Science and Nutriton*.1-32.
- [8] Tahraoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z.H., Lyoussi, B., (2007). Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). *Journal of Ethnopharmacology*. 110, 105–117.
- [9] Ghedira, K., Chemli, R., Richard, B., Zeches, M., Le-Men-Olivier, L., (1991). Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle de Tunisie: étude des parties aériennes d'*Ajuga iva* (L.) Schreb. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*, 25, 100-111.

- [10] Halimi, A.K. (2004). Les plantes médicinales en Algérie. 1^{ère} édition. *BERTI Edition*. Alger. PP: 156-157.
- [11] Bellakhdar, J. (1978). Médecine traditionnelle et toxicologie ouest saharienne. Ed. *Nord africaines, Rabat*. P : 253
- [12] Ait Youssef, M. (2006). Les plantes médicinales de kabylie ; *Edition Ibis press* PP 17-19
- [13] El Hilaly, J., Lyoussi, B., (2002). Hypoglycemic effect of the lyophilized aqueous extract of *Ajuga iva* in normal and Streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 80,109-113
- [14] Bouderbala, S., Senhadja, L. M., Prostb, J., Duboisc, L. M. A., Bouchenaka, M., (2008). Changes in antioxidant defense status in hypercholesterolemia rats treated with *Ajuga iva*, *Phytomedicine*, 15, 453–461
- [15] Hamden, K., Carreau, S., Jamoussi, K., Ayadi, F., Garmazi, F., Mezgenni, N., Elfeki, A., (2008). Inhibitory effects of 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ and *Ajuga iva* extract on oxidative stress, toxicity and hypo-fertility in diabetic rat testes. *J Physiol. Biochem.* 64 (3), 231-239.
- [16] Chenni, A., Ait Yahia, D., Boukortt, F.O., Prost, J., Lacaille-Dubois, M.A., Bouchak, M., (2007). Effect of aqueous extract of *Ajuga iva* supplementation on plasma lipid profile and tissue antioxidant status in rats fed a high cholesterol diet. *Journal of Ethnopharmacology*, 109, 207-213.
- [17] Sosa, M.E., ton, C.E., (2008). Plant secondary metabolites from Argentinean semiarid lands: bioactivity against insects. *Phytochem Rev*, 7,3-24.
- [18] El Hilaly, J., Zafar, H., Israili., Lyoussi B., (2004). Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga Iva* in experimental animals, *Journal of Ethnopharmacology*, 91, 43-50.
- [19] Khetouta M.L (1987). Comment se soigner par les plantes médicinales. Editions marocaines et internationales, Tanger. 311p.
- [20] References électroniques : Les plantes et leurs propriétés, (1997). Algo vision CD ROM, France.

- [21] Strang C. (2006). Larousse médical. Ed Larousse.
- [22] Iserin P, Masson M, Restellini JP, Ybert E, De Laage de Meux A, Moulard F, Zha E, De la Roque R, De la Roque O, Vican P, Deesalle – Feat T, Biaujeaud M, Ringuet J, Bloth J et Botrel A. (2001). Larousse des plantes médicinales : identification, préparation, soins. Ed Larousse. P10-12.
- [23] Anne-Laure. (2002). Phytochemical investigation of plants used in African traditional medicine : «Dioscoreasylyvatica» (Dioscoreaceae), «Urgineaaltissima» (Liliaceae), «Jamesbritteniafodina» and «J. Elegantissima» (Scrophulariaceae). Thèse de Doctorat, Université de Lausanne.
- [24] Sebai M, Boudali M. (2012). La phytothérapie entre la confiance et méfiance. Mémoire professionnel infirmier de la santé publique. P 13.
- [25] Scott Cunningham. (2000). Encyclopedia of magical herbs. 2^e. Édition.
- [26] Bouxid H. (2012). Les plantes médicinales et diabète de type 2 (à propos de 199 cas). Thèse N°001/12. Thèse du doctorat en médecine. P 28.
- [27] Cowan MM., (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*; 28: 85-95
- [28] Kamra D.N., Agarwal N., Chaudhary L.C., (2006). Inhibition of ruminal methano genesis by tropical plants containing secondary compounds. International Congress series ; 1293:156-163.
- [29] Bruneton J., (2008). Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} Ed Paris, Lavoisier Tech & Doc.
- [30] Erdman J., Balentine J.D., Arab L., Dwyer J.T., Folts J., Harnly., Hollman J.P., Keen L.C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G., Burrowes J., (2007). Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North American flavonoids workshop, Washington. *Journal of Nutrition* 137(3 supp 1): 718-737
- [31] Budic-Leto T., Lovric J., (2002). Identification of Phenolic Acids and Changes in their Content during Fermentation and Ageing of White Wines Pošip and Rukatac *Food Technol and Biotechnol*; 40 (3): 221-225.

- [32] Wichtel M., Anton R., (2009). Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique. Edition LAVOISIER, Paris: 38- 41.
- [33] Tieli B. (1997). L'herbier de santé. 1^o édition, Paris, édition VECCHI SAO, 01.206p.
- [34] Verdrager, J. (1978). Ces médicaments qui nous viennent des plantes. 1^o édition, Paris, édition Maloine S.A, vol.01, 233 p.
- [35] Organisation mondiale de la santé (2002). Stratégie de l'OMS pour ma médecine traditionnelle. Genève, WHO/EDM/TRM.1 : 1-63.
- [36] AFSSAPS. Recommandation de bonne pratique. Les inducteurs de l'ovulation, 2004.
- [37] AFSSAPS. Recommandation. Médicaments inducteurs de l'ovulation : les gonadotrophines, 2007.
- [38] Hassen abdelkader elbar, souzan muhamed baterdji ; les composants chimiques isolés à partir de la plante *Ajuga iva* ; Université El malik Abdulaziz en Arabie Saoudite,
- [39] Laila Ben Naghmouch, Najat Hajjaji & Najib Gmira, Flavonoïdes d'*Ajuga iva* (L.) Schreb (Labiée), *Acles Inst Agron.vet Maroc*2002.vol22(1) 25-30
- [40] Pharmacopée Européenne. 8^{ème} édition, 2014.
- [41] HAS (Haute Autorité de Santé). *Outils de sécurisation et d'auto-évaluation de l'administration des médicaments* [en ligne]. 2011.
- [42] Ph. Eur. 8^{ème} édition, 2014 ; p837
- [43] AHMAT N., CASTRO G.G., UGAIL H. Automatic shape optimisation of pharmaceutical tablets using Partial Differential Equations. *Comput. et Structures*, 2010, vol.130, pp.1–9
- [44] MISSAGHI S., PATEL P., TIWARI S.B, PHD; FARRELL T.P., RAJABI-SIAHBOOMI A.R. Investigation of the Influence of Tablet Shape, Geometry et Film Coating on Drug Release from Hypromellose Extended-Release Matrices [en ligne]. *Drug Delivery Technology*, 2010 ; 10(2) : 32-41.
- [45] FDA (Food and Drug Administration). *Guidance for Industry. Size, Shape, and Other Physical Attributes of Generic Tablets and Capsules* [en ligne]. Draft guidance, 2013, 11p.

- [46] ROWE R.C., SHESKEY P.J., QUINN M.E. Coloring agents. In : *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 6th ed. London : Pharmaceutical Press / Chicago : American Pharmacist Association, 2009, pp. 189-196
- [47] FDA (Food and Drug Administration). Part 206 – Imprinting of solid oral dosage form drug products for human use. In : *Code of Federal Regulations Title 21*[en ligne]. Version révisée le 1er avril 2014.
- [48] (Grenouilleau. Vincent. Modification galénique des formes orales sèches : amélioration des pratiques en gériatrie. Thèse pour l'obtention du DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE. Université Bordeaux 2 UFR DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES.2014.)
- [49] Aiache J.-M., Beyssac E., Cardot J.-M., Hoffart V., Renoux R. Initiation à la connaissance du médicament, coll. Abrégés, 5ème édition, Ed. Masson, 2008.
- [50] CASTEL B. Mise en forme des solides - Procédés et appareils. In : *Techniques de l'ingénieur* [en ligne]. J3382. Paris : Editions T.I., 1996, 26 p.
- [51] DUCHENE D. Pastillage. In : *Techniques de l'ingénieur* [en ligne]. A5760. Paris : Editions T.I., 1988, 10 p.
- [52] LE HIR A., CHAUMEIL J-C., BROSSARD D. *Pharmacie galénique : Bonnes pratiques de fabrication des médicaments*. 9ème éd. Issy-les-Moulineaux : Elsevier, Masson, 2009, 387 p. Abrégées de la Pharmacie. ISBN 978-2-2946-1204-6
- [53] MARC WESSNER BRIGIE CHAMPION, JEAN PIERREGIRAULT, NAGUIB KAOUADJI, BASSIMASAIID and RENE LAFONT ; ECDYSTEROIDS FROM AJUGA ; *Phytochemistry*, Vol. 31, No. 11, pp. 3785-3788, 199
- [54] Faiza Zermane ; thèse de doctorat en Chimie Industrielle : Développement de nouveaux matériaux pour la dépollution combinée d'effluent contenant des métaux dans une matrice organique, 2010 ; p 66, 82.
- [55] AUBRY J-M., SCHORSCH G. Formulation - Présentation générale. In : *Techniques de l'ingénieur* [en ligne]. J2110. Paris : Editions T.I., 1999, 20 p.

- [56] ROY, J. *An Introduction to Pharmaceutical Sciences, Production, Chemistry, Techniques and Technology*. 1st éd. Cambridge : Woodhead publishing, 2011, 446 p. ISBN : 978-1-9088-1804-1
- [57] PHARMACEUTICAL TECHNOLOGY. Pills Pills Pills ... [en ligne]. Pharmaceutical Technology Europe digital, Advanstar, April 2011, 4 p.
- [58] Wessner, M., Champion, B., Girault, J. P., Kaouadji, N., Saidi, B., Lafont, R., (1992). Ecdysteroids from *Ajuga iva*. *Phytochemistry*, 31, 3785-3788.
- [59] Bondi, M. L., Al-Hillo., M. R. Y., Lamara, K., Ladjel S., Bruno, M., Piozzi F., Simmonds, M. S. J., (2000). Occurrence of the antifeedant 14, 15-dihydroajugapitin in the aerial parts of *Ajuga iva* from Algeria, *Biochemical Systematics and Ecology*, 28, 1023-1025.
- [60] S.Mesellab,H.ANGOUD. « Contrôle physico-chimique, microbiologique, toxicologique d'une solution injectable, Clofenal 75 mg/3 ml »Université de Djelali Bounama, 2015, Khemis Méliana
- [61] DUPAS-LANGLLET (Marina). De la déliquescence au mottage des poudres cristallines : cas du chlorure de sodium. Thèse présentée pour l'obtention du Doctorat en Sciences de l'Ingénieur. Spécialité: Génie des Procédés Industriels. Université de Technologie de Compiègne.2013. Pages 156 et 157.
- [62] Boudandouna A.Hakim, « Méthodologie de la formulation d'une forme orale solide à libération prolongée », thèse de doctorat, Université de Toulouse, 2010.
- [63] A. Le Hir, « Pharmacie galénique », 9^{ème}édition Masson, Paris, 2009
- [64] R.A.A.Galicia, « Evaluation de potentiel d'une matrice protéique malléable de lactosérum fermenté en tant qu'excipient pharmaceutique », Inrs-Institut Armand-Frappier, 2005.
- [65] L.Ganou, Influence des ultrasons sur la qualité et la quantité des huiles, Thèse de doctorat n° 689, Institut National Polytechnique de Toulouse, 1993.

[66] ROWE (Raymond C.), SHESKEY (Paul J.) and QUINN (Marian E.). Handbook of pharmaceutical excipients. 6ième édition. London: Pharmaceutical Press, 2009. 888 pages. Pages 364, 685,703.

[67] G.CHARLOT , « Dosage absorptionométriques des éléments minéraux »,3ème édition Masson,1978.

[68] Mária báthori ; Purification and characterization of plant ecdysteroids of Silene species ; trends in analytical chemistry, vol. 17, n° 6, 1998 ; p376.

APPENDICES

APPENDICE A
LISTE DES ABRÉVIATIONS

Cm : centimètre.

Mm : millimètre.

m : mètre.

nm : nanometer.

kg : kilogramme.

g : gramme.

mg : milligramme.

ml : millilitre.

DL50 : Dose létale entraînant une mortalité de 50%.

°C : degree Celsius.

FDA: Food and Drug administration.

RCP: Résumé des caractéristiques du produit.

CFR : code of fédéral régulation.

PA : principe actif.

PH. EUR : pharmacopée européenne.

Min : minute.

HE : huile essentielle.

UV-visible : ultraviolet visible.

ISO : international organisation for standardisation.

RAS : rien a signalé.

FSH : Follicule Stimulating Hormone.

LCAT : lécithine-cholestérol acyltransférase.

HPTLC : high-performance thin-layer chromatography.

APPENDICE B
RÉSULTATS DE L'ANALYSE UV-VISIBLE

Tableau B.1 : résultats d'analyse de l'uv-visible de dilution de l'huile essentielle dans l'éthanol.

N°	Longueur d'onde	Absorbances
1	331	0,0758
2	282	0,0944
3	227	0,1625
4	394	0,0036
5	305	0,0609
6	253	0,0704
7	222	0,1602

Tableau B.2 : résultats d'analyse de l'uv-visible de dilution de l'huile essentielle dans le méthanol.

N°	Longueur d'onde	Absorbances
1	329	0,0782
2	281	0,1154
3	204	0,4421
4	308	0,0709
5	255	0,0877

APPENDICE C
RÉSULTATS D'ANALYSE GRANULOMÉTRIQUE

Tableau C.1 : Résultats d'analyse granulométrique [essai 1]

Ouverture de tamis (µm)	Diamètre moyen di (µm)	Masse retenue (g)	Refus %	Refus cumulé (%)
800	800	10.45	10.50	10.50
630	715	17.13	17.20	27.7
500	565	7.56	7.59	35.29
400	450	3.25	3.26	38.5
300	350	1.43	1.44	39.99
200	250	4.25	4.27	44.26
100	150	34.9	35.05	79.31
fond	50	20.6	20.69	100

Tableau C.2 : Résultats d'analyse granulométrique [essai 2]

Ouverture de tamis (µm)	Diamètre moyen di (µm)	Masse retenue (g)	Refus %	Refus cumulé (%)
800	800	10.29	10.33	10.33
630	715	16.61	16.68	27.01
500	565	8.08	8.11	35.12
400	450	3.23	3.24	38.36
300	350	1.06	1.06	39.42
200	250	4.57	4.59	44.01
100	150	22.76	22.85	66.86
Fond	50	33.01	33.14	100

Tableau C.3 : Résultats d'analyse granulométrique [essai 3]

Ouverture de tamis (µm)	Diamètre moyen di (µm)	Masse retenue (g)	Refus %	Refus cumulé (%)
800	800	8.25	8.27	8.27
630	715	13.10	13.14	21.41
500	565	6.25	6.27	27.68
400	450	2.63	2.64	30.32
300	350	0.84	0.84	31.16
200	250	4.32	4.33	35.49
100	150	31.64	31.73	67.22
Fond	50	32.70	32.78	100

Tableau C.4 : Résultats d'analyse granulométrique [essai 4]

Ouverture de tamis (μm)	Diamètre moyen di (μm)	Masse retenue (g)	Refus %	Refus cumulé (%)
800	800	9.67	9.69	9.69
630	715	17.53	17.57	27.26
500	565	8.04	8.06	35.32
400	450	3.21	3.22	38.54
300	350	1.13	1.13	39.67
200	250	4.28	4.29	43.96
100	150	26.01	26.06	70.02
Fond	50	29.93	29.98	100

Tableau C.5 : Résultats d'analyse granulométrique [essai 5]

Ouverture de tamis (μm)	Diamètre moyen di (μm)	Masse retenue (g)	Refus %	Refus cumulé (%)
800	800	7.95	8.03	8.03
630	715	13.27	13.40	21.43
500	565	6.74	6.81	28.24
400	450	2.60	2.63	30.87
300	350	0.85	0.85	31.72
200	250	2.13	2.15	33.87
100	150	18.88	19.06	52.93
Fond	50	46.61	47.07	100

Tableau C.6 : Résultats d'analyse granulométrique [essai 6]

Ouverture de tamis (μm)	Diamètre moyen di (μm)	Masse retenue (g)	Refus %	Refus cumulé (%)
800	800	11.25	11.27	11.27
630	715	16.88	16.9	28.17
500	565	7.13	7.14	35.31
400	450	2.46	2.46	37.77
300	350	0.48	0.49	38.26
200	250	1.46	1.46	39.72
100	150	15.52	15.54	55.26
Fond	50	44.67	44.74	100

Tableau C.7 : Résultats d'analyse granulométrique [essai 7]

Ouverture de tamis (μm)	Diamètre moyen di (μm)	Masse retenue (g)	Refus %	Refus cumulé (%)
800	800	7.92	7.93	7.93
630	715	13.49	13.50	21.43
500	565	6.19	6.19	27.62
400	450	2.65	2.65	30.27
300	350	0.54	0.55	30.82
200	250	1.77	1.77	32.59
100	150	7.60	7.61	40.2
Fond	50	59.80	59.80	100

Tableau C.8 : Résultats d'analyse granulométrique [essai 8]

Ouverture de tamis (μm)	Diamètre moyen di (μm)	Masse retenue (g)	Refus %	Refus cumulé (%)
800	800	8.37	8.48	8.48
630	715	16.08	16.29	24.77
500	565	7.21	7.3	32.07
400	450	3.16	3.2	35.27
300	350	0.52	0.53	35.8
200	250	2.61	2.64	38.44
100	150	10.56	10.69	49.13
Fond	50	50.22	50.87	100

Tableau C.9 : Résultats d'analyse granulométrique [essai 9]

Ouverture de tamis (μm)	Diamètre moyen di (μm)	Masse retenue (g)	Refus %	Refus cumulé (%)
800	800	9.69	9.72	9.72
630	715	16.74	16.79	26.51
500	565	7.97	7.99	34.5
400	450	3.41	3.42	37.92
300	350	1.23	1.24	39.16
200	250	4.32	4.34	43.5
100	150	29.58	29.67	73.17
Fond	50	26.75	26.83	100

Tableau C.10 : Résultats d'analyse granulométrique [essai 10]

Ouverture de tamis (μm)	Diamètre moyen di (μm)	Masse retenue (g)	Refus %	Refus cumulé (%)
800	800	8.29	8.32	8.32
630	715	13.28	13.33	21.65
500	565	2.32	2.32	23.97
400	450	6.05	6.07	30.04
300	350	1.01	1.02	31.06
200	250	4.19	4.20	35.26
100	150	15.42	15.47	50.73
Fond	50	49.1	49.27	100

Tableau C.11 : Résultats d'analyse granulométrique [essai 11]

Ouverture de tamis (μm)	Diamètre moyen di (μm)	Masse retenue (g)	Refus %	Refus cumulé (%)
800	800	9.51	9.55	9.55
630	715	15.68	15.74	25.29
500	565	7.07	7.10	32.39
400	450	2.76	2.77	35.16
300	350	1.19	1.19	36.35
200	250	4.39	4.41	40.76
100	150	35.28	35.41	76.17
Fond	50	23.75	23.83	100

Tableau C.12 : Résultats d'analyse granulométrique [essai 12]

Ouverture de tamis (μm)	Diamètre moyen di (μm)	Masse retenue (g)	Refus %	Refus cumulé (%)
800	800	7.63	7.68	7.68
630	715	13.31	13.40	21.08
500	565	6.52	6.57	27.65
400	450	2.74	2.76	30.41
300	350	1.11	1.12	31.53
200	250	4.25	4.28	35.81
100	150	29.35	29.55	65.36
Fond	50	34.40	34.64	100

Tableau C.13 : Résultats d'analyse granulométrique [essai 13]

Ouverture de tamis (μm)	Diamètre moyen d_i (μm)	Masse retenue (g)	Refus %	Refus cumulé (%)
800	800	8.62	8.66	8.66
630	715	15.48	15.56	24.22
500	565	7.42	7.46	31.68
400	450	2.87	2.88	34.56
300	350	1.15	1.16	35.72
200	250	4.32	4.34	40.06
100	150	32.33	32.49	72.55
Fond	50	27.32	27.45	100

Tableau C.14 : Résultats d'analyse granulométrique [essai 14]

Ouverture de tamis (μm)	Diamètre moyen d_i (μm)	Masse retenue (g)	Refus %	Refus cumulé (%)
800	800	9.52	9.63	9.63
630	715	15.27	15.45	25.08
500	565	6.05	6.12	31.2
400	450	2.41	2.44	33.64
300	350	1.07	1.08	34.72
200	250	4.37	4.42	39.14
100	150	21.94	22.19	61.33
Fond	50	38.23	38.67	100

APPENDICE D
LES PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUE DES RÉACTIFS

Tableau D.1 : Caractéristiques physico-chimiques des réactifs utilisés.

Désignation	Formule	Aspect	Pureté	Point d'ébullition
Éthanol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	Liquide incolore, inflammable, volatil	96 %	78 °C
Méthanol	$\text{H} - \text{CH}_2\text{OH}$	Liquide incolore d'odeur agréable	99.6 %	64.7 °C
Acétone	$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$	Liquide volatil incolore, d'une odeur piquante	99.5 %	56.2 °C
Hexane	C_6H_{14}	Liquide incolore, très volatil, ayant une odeur d'hydrocarbures semblable à celle des carburants	95 %	68.7 °C
Acide chlorhydrique	Hcl	Solution aqueuse claire et incolore	37 %	48 °C
Bromure de potassium	KBr	Cristaux incolores, poudre ou granulés blancs. Solution limpide incolore	99 %	1435 °C
Ether diéthylique	$\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$	Liquide limpide, incolore et très volatil, d'odeur caractéristique		35 °C