

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

UNIVERSITÉ de BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER

MASTER EN GENIE DES PROCEDES

Spécialité : PHARMACIE INDUSTRIELLE

**DEVELOPPEMENT D'UNE FORME
PHARMACEUTIQUE A BASE D'IVETTE
MUSQUEE POUR UNE ACTIVITE
THERAPEUTIQUE**

Présenté par :

Mlle CHAIB Boutaina.

Mlle GASMI Malika.

Mlle TOURECHE Hadjer.

Encadré par :

Pr ZERMANE Faiza

Pr CHADER.

Mme SALEM Zineb

Année universitaire 2021/2022

ملخص

في إطار تطوير شكل صيدلاني يعتمد على النباتات الطبية، قمنا بدراسة نبات «شندقورة». في المرحلة الأولى تم تخصيص العمل لدراسة فعالية المادة الموجودة في نبات إيفيت المسك. بدءا من استخراج هذه المركبات من خلال نقع نبات «شندقورة» ومن أجل التعرف على المواد النشطة للنبات استخدمنا تقنيات التحليل، وهي الأشعة فوق البنفسجية المرئية والأشعة تحت الحمراء، بالإضافة إلى تقييم النشاط الخصوبي لهذه المركبات النشطة المستخرجة. من ناحية أخرى، تمت صياغة نوعين من المستحلبات (المستحلب الدقيق والمستحلب النانوي) بناء على هذا المستخلص، وتم تحسينه وتميزه بعدة تقنيات مثل ت ض د. المراقبة العيانية والمجهرية لدراسة استقرار التركيبات التي حصلنا عليها.

الكلمات الدالة: مسك القبور، مستخلص، نانو مستحلب، مستحلب دقيق، ت ض د، مثبت.

RESUME

Dans le cadre du développement d'une forme pharmaceutique à base des plantes médicinales, nous nous sommes intéressés à l'étude de la plante « Ivette Musquée ». Ce travail est consacré dans un premier temps à étudier l'activité thérapeutique fertilisante de la plante Ivette Musquée. L'étude commence par une extraction par macération de la plante Ivette Musquée afin de pouvoir identifier les substances actives de la plante par plusieurs méthodes d'analyse à savoir UV-Visible et infrarouge. Ainsi qu'une évaluation par une étude in-vivo a été effectué dans le but de prouver l'efficacité de cette matière active extraite. D'autre part la formulation de deux types d'émulsions a été réalisée (Micro-émulsion & Nano-émulsion) a base de cet extrait, optimisée et caractérisée par plusieurs techniques comme la DLS, l'observation macroscopique et microscopique pour étudier la stabilité de nos formulations obtenues.

Mots clés : ivette musqué, extraction, nano-émulsion, microémulsion, DLS, stabilité.

Abstract

As part of the development of a pharmaceutical form based on medicinal plants, we were interested in the study of the plant "Musk Ivette". This work is dedicated in a first time to study the fertilizing therapeutic activity of the Musk Ivette plant. The study begins with an extraction by the maceration of the Musk Ivette plant in order to be able to identify the active substances of the plant by several methods of analysis, namely UV-Visible and infrared. As well as an evaluation of an in-vivo study was carried out in order to prove the effectiveness of this active ingredient extracted. On the other hand, the formulation of two types of emulsions was carried out (Microemulsion & Nanoemulsion) based on this extract, optimized and characterized by several techniques such as DLS. Macroscopic and microscopic observation to study the stability of our obtained formulations.

Key words : Musky ivette, extraction, nanoemulsion, microemulsion, DLS, stabilité.

Dédicaces

A mon cher père CHAIB Slimene et mon aimable mère BENZIANI Hassina pour tous leurs sacrifices, amour, tendresse, soutien et prières tout au long de mon parcours universitaire,

A mes chères sœurs Amina, Khaoula et Chaima, et mon frère Abdelwahab pour leurs encouragements permanent,

A mes chères nièces Maria, Mélina et Elena et mes chers neveux,

A ma promotrice Madame ZERMANE et à ma co-promotrice Madame SALEM Zineb.

A mes chers amis pour leur soutien et patience durant tout au long la réalisation de ce pfe Benhamida Aymen, Guerfa Mostapha,

A mon collègue Cheurfa Tarek Ali pour son aide permenant,

Sans oublier mes copines Loubna et Hadil pour leur soutien morale et amour durant 12ans.

Merci !

CHAIB Boutaina

Dédicaces

A celle qui a attendu avec impatience le fruit de sa bonne éducation et de ces dévouements à ma chère mère SAIDANI Nadia

A celui qui s'est changé la nuit en jour pour m'assurer les bonnes conditions à mon cher père GASMI Omar

A ceux qui m'ont toujours soutenue même dans les pires décisions à mes chers frères Nassim et Amayes Ayoub

A ma partenaire in crime, a celle avec qui j'ai passé des journées de folie, de stress, de pression à ma chère et unique TOURECHE Hadjer

A La personne très chère à mon cœur, qui est toujours présente avec son énergie et sa patience à mon chère ZIRARI yassin

A mon bras droit, celle qui a été présente dans les pires moments de ma vie et qui ma soutenue à ma meilleure BENCHERHALI Ahlem

A la meilleure Doctorante au monde SALEM Zineb qui a été toujours là pour nous durant cette période

Et enfin à madame ZERMANE l'une des meilleurs professeurs avec qui j'ai eu la chance de travailler

Sans oublier mon collègue CHERFA Sidali qui a contribué de sa part à la réalisation de notre thèse

GASMI Malika

Dédicaces

Avec un très grand amour et beaucoup de respect, je dédie le fruit de ce travail :

*En premier lieu à ma Directrice de thèse et mon guide le professeur M^{me}
ZERMANE Faiza et M^{me} SALEM Zineb qui a contribué énormément à la
réalisation de notre projet.*

*Je voudrai aussi exprimer ma gratitude à mes parents, mes sœurs : Inès, Aicha
Dhikra, Djihène et son mari Houssam sans oublier mon frère Mohamed et sa femme
ainsi, que mes neveux et ma nièce « SADJA » à la famille TOURECHE
spécialement mes feux oncles Lakhidar, Amar et son fils Hedi ainsi qu'à ma tante
Aldjia.*

*A ma grand-mère Yamena et à toute la famille GUERNINA, mon oncle Boudia à
toutes mes tantes spécialement Hafidha et Djamila*

A mon brat droit SAKRI Tahar et sa sœur Lamia

*A mes amis ceux de l'association Nagham plus précisément le président BELACEL
Islam, MEKARI Lamine, GASMI Malika, CHEURFA Sid Ali, SAHRAOUI
Naïl, SAADOUNI Rania, BENZINA Assia ET MEBARKIA Rofaida.*

TOURECHE Hadjer

REMERCIEMENTS

« Aucun travail ne s’accomplit sans l’aide de Dieu »

« Louange à Allah Seigneur de l’univers, le tout Puissant, nous lui rend grâce »

Tout d’abord, nous tenons à remercier notre Professeur Promotrice M^{me}.ZERMANE Faiza & Pr. CHADER pour leur soutien et leur engagement très professionnel, ainsi que la doctorante M^{me}.SALEM Zineb qui a été généreuse à partager son expérience et ses connaissances qui ont grandement contribué à l’élaboration de ce travail.

Nous remercions nos familles qui ont été le secret de cette persévérance de toutes ces années

Nous remercions Dr. DJELOULI et Dr. NABI du laboratoire de pharmacologie, département de pharmacie, nous adressons notre reconnaissance à toutes les personnes qui ont bien voulu apporter leurs appuis dans la réalisation de ce travail au sein du centre de recherche SAIDAL et CRAPC.

Un chaleureux remerciement à toute l’équipe de l’université SAAD DAHLAB qui nous a ouvert ses portes afin de bénéficier de cette bonne formation.

Merci à tous

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|-----|
| RESUME | II |
| REMERCIEMENTS | VI |
| TABLE DES MATIERES | VII |
| LISTE DES FIGURES | IX |
| LISTE DES TABLEAUX | 1 |
| LISTE DES ABRÉVIATIONS..... | 2 |
| INTRODUCTION GENERALE..... | 3 |
| CHAPITRE I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE | 6 |
| I. Introduction | 6 |
| I.2. Généralités sur la plante | 6 |
| I.2.1. Description de la plante | 6 |
| I.2.2. Distribution de la plante Ajuga Iva en Algérie | 8 |
| I.2.3. Propriétés pharmacologique et biologique d’Ajuga Iva | 8 |
| I.2.4. Toxicité d’Ajuga iva..... | 10 |
| I.2.5. Métabolites secondaires isolés de l’Ajuga Iva..... | 10 |
| I.2.6. Travaux réalisés sur la plante Ajuga iva..... | 15 |
| I.3. Aperçu sur les formes pharmaceutiques innovantes..... | 18 |
| I.3.1. Encapsulation | 18 |
| I.3.2. Liposomes | 18 |
| I.3.4. Nanoparticules..... | 19 |
| I.4. Emulsions | 20 |
| I.4.1. Notion d’émulsification | 21 |
| I.4.2. Classification des émulsions | 22 |
| I.4.3. Stabilité des émulsions | 23 |
| I.4.4. Les agents émulsifiants..... | 25 |
| I.4.5. La formulation des émulsions | 26 |
| I.4.6. Les microémulsions..... | 27 |
| I.4.7. Les nano-émulsions | 29 |

| | |
|--|----|
| CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES..... | 33 |
| II.1. Introduction..... | 33 |
| II.2. Présentation des lieux d'accueil..... | 33 |
| III.3.1. Présentation de la plante :..... | 33 |
| II.3.2. Procédé d'extraction..... | 34 |
| II.4. Caractérisation de l'huile essentielle..... | 36 |
| II.5. Formulation des Nanoparticules, Microémulsions et Nano-émulsions..... | 37 |
| II.5.1. Procédé de Synthèse des Nanoparticules | 37 |
| II.5.2. Formulation des microémulsions..... | 37 |
| II.5.3. Formulation des nano-émulsions | 39 |
| CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSIONS | 46 |
| III.1. Introduction | 46 |
| III.2. Les résultats de l'extraction..... | 46 |
| III.2.1. Propriétés organoleptiques de l'extrait..... | 46 |
| III.2.2. Teneur en extrait : | 46 |
| III.3. Caractérisation de l'extrait : | 46 |
| III.4. Formulation des Nanoparticules, Microémulsions, et Nanoémulsions :..... | 49 |
| III.4.1. Synthèse des Nanoparticules :..... | 49 |
| III.4.2. Formulation des microémulsions :..... | 49 |
| III.4.3. Formulation des nanoémulsions..... | 51 |
| III.4.4. L'optimisation des nano-émulsions..... | 54 |
| III.4.5. Caractérisations des nano-émulsion | 57 |
| CONCLUSION GENERALE..... | 61 |
| BIBLIOGRAPHIE | 63 |
| ANNAXES | 71 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|--|-------------------------------------|
| Figure I.1. Les différentes parties d'Ajuga iva. | 7 |
| Figure I.2. Quelques photographies d'Ajuga iva. | 8 |
| Figure I.3. Structure chimique de 20-Hydroxyecdysone..... | 14 |
| Figure I.4. Structure chimique de Makisterone A. | 14 |
| Figure I.5. Structure de Cyasterone R=H. | 14 |
| Figure I.6. 24,25-Dehydroprecyasteron..... | 14 |
| Figure I.7. Structure chimique de 24(28)-Dydromakisterone A. | 14 |
| Figure I.8. Structure chimique de 22-Oxocyasterone..... | 14 |
| Figure I.9. Structure chimique d'Ecdysterone | 15 |
| Figure I.10. Constitution d'un liposome..... | 19 |
| Figure I.11. Phénomène de coalescence. | 23 |
| Figure I.12 Phénomène de sédimentation et de crémage. | 24 |
| Figure I.13. Micelle d'un tensioactif..... | 24 |
| Figure I.14. Organisation de tensioactifs en solution. | 26 |
| Figure II.1. La plante Ajuga Iva..... | 34 |
| Figure II.2. La plante Ajuga Iva Poudre..... | 34 |
| Figure II.3. Pesée de la plante en poudre..... | 34 |
| Figure II.4. Ajout de l'Ethanol à la poudre pesée. | 34 |
| Figure II.5. Mélange hydroéthanolique au sein du bain ultrasonique. | 35 |
| Figure II.6. Filtration | 35 |
| Figure II.7. Rota-vape durant l'élimination des solvants | 35 |
| Figure II.12. Dissection des souris | 37 |
| Figure II.13. Gavage des souris..... | 37 |
| Figure II.14. Agitation magnétique des deux phases H/E. | 40 |
| Figure II.15. Homogénéisation des Nano-émulsions. | 40 |
| Figure III.1. Spectre UV- visible d'Ajuga iva. | 47 |
| Figure III.2. Spectre d'absorption IR d'extrait d'Ajuga iva. | Error! Bookmark not defined. |
| Figure III.3. Histogramme montrant l'évolution pondérale des ovaires chez les différents groupes de souris. | 48 |
| Figures III.4. Observation microscopique (grossissement *1000)..... | 50 |
| Figure III.5. Test d'écoulement de la formulation F1 | 51 |
| Figure III.6. Essais préliminaires | 52 |
| Figure III.7. Distribution des diamètres des nanogouttelettes de la formule sélectionnée à l'issue des essais préliminaires..... | 54 |
| Figures III.8. Observation microscopique optique (grossissement *1000) | 54 |

| | |
|--|-------------------------------------|
| Figure III.9. Test d'écoulement de la formulation F10 | Error! Bookmark not defined. |
| Figure III.10. Comportement viscoélastique de la formulation10 pour une fréquence de 1Hz. | Error! Bookmark not defined. |
| Figure III.11. Représentation groupée des coefficients normalisés pour l'analyse de surface de réponses. | 56 |
| Figure III.12. Histogrammes de l'influence des coefficients sur la transparence. | 56 |
| Figure III.13. Histogrammes de l'influence des coefficients sur l'épaisseur du gel. | 57 |
| Figure III.14. Observation microscopique (grossissement *1000). | 58 |
| Figure III.15. Test d'écoulement de la formulation E5 | 59 |
| Figure III.16. Test de viscoélasticité..... | 60 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|-------------------------------------|
| Tableau I.1. Encapsulation par les capsules et les spheres | 18 |
| Tableau I.2. Avantages et inconvénients des microémulsions | 29 |
| Tableau I.3. Avantages et inconvénients des nano émulsions | 31 |
| Tableau II.1. Facteurs et leur intervalle de variation de la matrice d'expérience | 38 |
| Tableau II.2. Réponses de la matrice d'expérience..... | 38 |
| Tableau II.3. Matrice d'expérience en variables centrées et réduites | 38 |
| Tableau II.4. Récapitulatif des premiers essais d'orientation..... | 40 |
| Tableau II.5. Présentation des variables de l'étude et caractéristiques. | 42 |
| Tableau II.6. Caractéristiques des réponses enregistrées par le formulateur..... | 42 |
| Tableau II.7. Présentation de la matrice du plan composite centré pour l'étude des surfaces de réponses en vue de l'optimisation de la formule lors des essais préliminaires..... | 42 |
| Tableau III.1. Caractéristiques organoleptiques de l'extrait. | 46 |
| Tableau III.2. Rendement de l'extrait..... | 46 |
| Tableau III.3. Correspondance des bandes d'absorption..... | Error! Bookmark not defined. |
| Tableau III.4. Tableau récapitulatif le poids des ovaires des souris traitées par l'extrait. | 47 |
| Tableau III.5. Tableau récapitulatif le poids des ovaires des souris matures non traités par l'extrait..... | 48 |
| Tableau III.6. Caractérisations des microémulsions. | 49 |
| Tableau III.7. Récapitulatif des premiers essais d'orientation..... | 51 |
| Tableau III.8. Matrice du plan composite centré cubique et réponses enregistrées..... | 55 |
| Tableau III.9. Caractérisation physicochimique. | 58 |

LISTE DES ABRÉVIATIONS

A.iva : Ajuga iva

A. Remota : Ajuga Remota

PA : Principe Actif

GR : Globules rouges

HC : Hypercholestérolémique

TC : Tanins condensés

DL50 : Median lethal dose

NP : Nanoparticule

ME : Microémulsion

NE : Nanoémulsion

DLS : Dynamic Light Scattering

UV : Ultra-Violet

IR : Infra Rouge

INTRODUCTION GENERALE

Depuis plusieurs années les plantes médicinales sont utilisées de façon préventive ou curative sur l'organisme, car elles ont la capacité de modifier. On peut les utiliser dans un but thérapeutique pendant un certain temps, afin de mieux profiter de leurs effets. De plus, la phytothérapie connaît un nouvel essor ces dernières années.

Une plante médicinale est une plante utilisée pour ses propriétés thérapeutiques. Cela signifie qu'une de ses parties (feuille, bulbe, racine, graines, fruits, fleurs) peut être employée dans le but de guérir. Leur utilisation remonte à des milliers d'années, lorsque l'homme utilisait les plantes pour se soigner. A l'époque, le choix des plantes se faisait instinctivement, ce qui a permis de déceler petit à petit celles qui pouvaient être utilisées, et celles qui s'avéraient toxiques [1]. Aujourd'hui, elles sont la base de la phytothérapie. Il existerait plusieurs centaines de milliers d'espèces différentes, que l'on peut cueillir ou récolter. En effet, les plantes médicinales étant issues de la nature, il est possible d'en croiser tous les jours. De plus, on distingue les plantes herboristes qui sont utilisées telles quelles, de manière « traditionnelle », et les plantes qui constituent une matière première pour l'industrie pharmaceutique. Enfin, il faut savoir que la matière principale de la pharmacopée est restée végétale [2].

Un médicament est le résultat de nombreuses années de recherche de la chimie, en passant par les essais pré-cliniques sur les animaux (in-vivo) puis l'homme. Le processus qui permet de parvenir à la commercialisation d'un nouveau traitement est long et difficile. Le parcours est également semé d'embûches réglementaires. Il existe sous formes de suspensions buvables, suppositoires, comprimés, sachets et gélules. Ils servent généralement à soulager les douleurs.

La production des médicaments est soumise à de nombreuses exigences, notamment en matière de qualité. Pour maîtriser cette qualité, l'industrie pharmaceutique doit avoir un système d'assurance qualité performant qui permet de garantir l'efficacité et la sécurité des produits mis sur le marché comme elle est un élément important des systèmes de santé dans le monde d'entier.

Pour avoir une mise en forme pharmaceutique on a les principes actifs qui sont transformés en médicament avant d'être distribués ou administrés à l'humain ou à l'animal. Ils

sont mélangés à des adjuvants appropriés notamment les liants, supports, aromatisants, diluants conservateurs, colorants et antioxydants.

L'objectif de notre travail présenté dans ce mémoire traite l'extraction d'une plante médicinale de la famille des lamiaceae (ivette musquée), puis une formulation pharmaceutique et des études in vivo sur des souris de l'extrait traité et formulé.

Le premier chapitre de l'étude renferme une synthèse bibliographique qui inclut, une brève description de la plante *Ajuga reptans*, sa classification botanique, sa composition chimique, sa répartition géographique et enfin ses activités pharmacologiques, thérapeutiques et biologiques.

Ensuite une présentation générale des différentes formes pharmaceutiques innovantes ainsi que les émulsions, leurs méthodes de formulation avec leurs avantages et inconvénients.

Dans le deuxième chapitre, nous détaillerons les techniques d'extraction et les procédés de formulation d'ivette musquée. Ces techniques seront utilisées ultérieurement dans ce rapport.

Finalement le troisième chapitre comporte les résultats obtenus sur l'extrait de la plante, la formulation et les études in-vivo sur les souris.

CHAPITRE I.
REVUE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Introduction

Après plusieurs recherches et innovations dans le domaine pharmaceutique, aujourd'hui l'industrie pharmaceutique s'oriente plus vers la médecine naturelle « phytothérapie » tout en prouvant le pouvoir thérapeutique de la nature.

Dans ce premier chapitre, nous décrivons la plante choisie pour réaliser cette recherche, ainsi que les formes pharmaceutiques innovantes, nous exposons aussi des généralités sur les émulsions avec leurs différents types notamment la formulation de ces derniers.

I.2. Généralités sur la plante

I.2.1. Description de la plante

Ajuga Iva ou Ivette musquée est une plante qui appartient à la famille des **lamiacées**, en fait le mot Ajuga dérive du mot Latin: jugum, joug corolle sans lèvre supérieure développée. C'est une petite plante, herbacée, vivace, ordinairement velue-blanchâtre, souvent à odeur musquée, de 6 à 20 Cm de hauteur. Ses fleurs purpurines de 15 mm à deux lèvres et tubulaire, et surtout bleu, violet ou de couleur jaune s'épanouissent depuis le mois de Mai jusqu'au mois de Juin. Les tiges sont étalées, rameuses, ligneuses à la base, à rameaux couchés et redressés. Les feuilles, qui sont de 5 à 10 fois plus longues que larges, sont denses, très serrées, opposées elles sont sessiles: leur forme est étroite, persistante, Linéaires-Lancéolées enroulées aux bords, entières ou en dentées au sommet. [3]

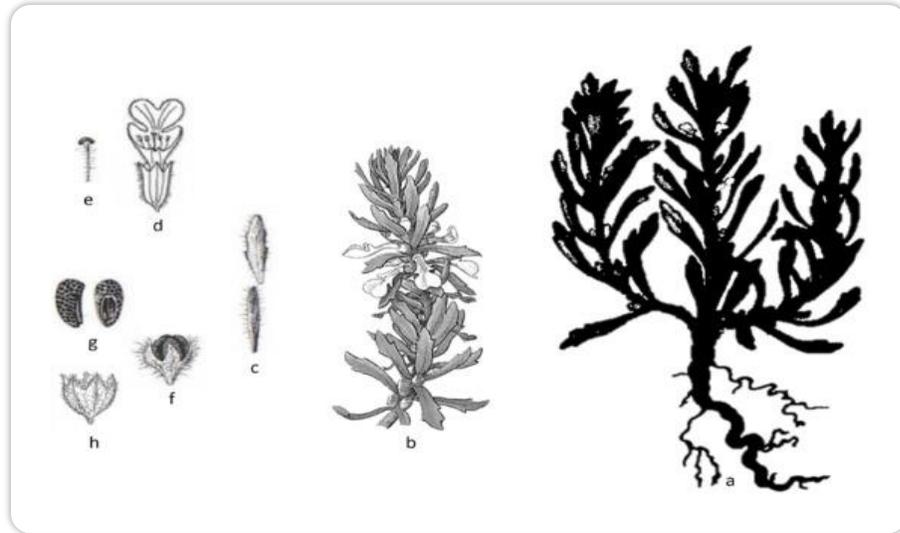


Figure I.1. Les différentes parties d'*Ajuga iva*.

Description de la figure : a) Plante *Ajuga Iva*; b) Branche fleurie; c) Feuille; d) Corolle; e) Etamine; f) Fruit tétranucléaire; g) Nucule; h) Calice fructifère [4]

a. Dénomination de l'espèce *Ajuga Iva* :

L'*Ajuga* a plusieurs dénominations à titre d'exemple:

- Nom local arabe: Chengoura;
- Nom local berbère: Touf et-toulba;
- Nom Scientifique: *Ajuga Iva*;
- Synonyme: *Teucrium Iva* L.;
- Nom vernaculaire: en Français: petit if, ivette musquée, Ivette-de-narbonne, Arthétique. En Anglais: Herob-Ivy, Musky Bugle, Herb-Ive. En Italien: Iva, Iva moscata.

b. Classification botanique de l'espèce *Ajuga Iva* :

L'*Ajuga iva* est classifiée comme suit:

- Grade: Lamiidées (Euastéridées I);
- Classe: magnoliopsida;
- Ordre: Lamiales;

- Famille: Lamiaceae;
- Sous-famille: Ajugoidea;
- Genre: Ajuga;
- Espèce: Ajuga iva;
- Sous-Espèce: Ajuga Ivassppseudovia.



Figure I.2. Quelques photographies d'Ajuga iva [5].

I.2.2. Distribution de la plante Ajuga Iva en Algérie

D'après un itinéraire d'un voyage botanique en Algérie, exécuté en 1856 dans le sud des provinces d'Oran et d'Alger, Ernest Cosson a cité Ajuga Iva parmi la liste de plantes observées aux environs de Djelfa et dans les montagnes voisines.

Quelques années plus tard, Bénédicte Pierre Georges Hochreutener a cité Ajuga Iva comme circumméditerranéen dans son livre.

En fait cette plante ne s'élève pas à une grande altitude sur les montagnes, elle est trouvée en région méditerranéenne, au sud de l'Europe, en Afrique du nord et aux Iles Canaries. [6-9]

I.2.3. Propriétés pharmacologique et biologique d'Ajuga Iva

Ajuga iva est une plante très utilisée en médecine traditionnelle pour traiter : le Diabète, l'Hypertension, le Cancer, L'asthme, les troubles gastro-intestinaux pour calmer les douleurs rhumatismales.

Ajuga Iva est une plante connue dans les pays du Maghreb pour son usage en phytothérapie, plusieurs maladies infectieuses, cardiovasculaires et les troubles hépatiques. [10]

A. Activité Hypoglycémiant

L'extrait aqueux lyophilisé des feuilles d'Ajuga Iva a montré une activité hypoglycémiant, qui a été examiné sur des rats normaux et des rats diabétiques Streptozotocine-induits. Des études toxicologiques ont révélé que l'extrait est sans effet toxique à des doses hypoglycémique. [11]

Cette recherche a été réalisée par El Hilaly suite à des études in vivo de l'extrait aqueux d'Ajuga Iva par laquelle il a examiné l'activité vasculaire chez des rats Wistar normotendus. [12]

B. Activité hypotriglycéridémie

Une étude a été faite pour montrer que l'extrait aqueux lyophilisé, administré par injection intraveineuse, diminue les teneurs en triacylglycérol. [13]

C. Activité antioxydante

Bouderbala a examiné l'effet d'un extrait aqueux d'Ajuga Iva sur la peroxydation lipidique sérique et tissulaire ainsi que sur les activités des enzymes antioxydantes dans les globules rouges (GR) et les tissus chez des rat hypercholestérolémiques (HC). [14]

D. Activité hypolipidémiant

Une étude a été réalisée sur des rats hypercholestérolémiques pour montrer l'activité hypolipidémiant, cette activité est exercée sur la peroxydation lipidique sérique et tissulaire chez ces rats. [14]

E. Activité hypocholestérolémiant

L'extrait aqueux lyophilisé de Globularia alypum sur les teneurs en lipides plasmatiques et hépatiques a été utilisé pour étudier l'activité hypocholestérolémiques d'Ajuga iva. [15]

F. Activité antimicrobienne

L'étude réalisée in vitro de l'extrait aqueux des parties aériennes qui a été évaluée à l'aide de la méthode standard de la diffusion.

L'extrait aqueux a été déterminé par la présence d'une zone d'inhibition et en comparant son diamètre avec celui des antimicrobiens de référence. [16]

G. Activité analgésique :

Une recherche comparative sur des souris montre que l'extrait aqueux à 0,4g/ L de cette plante induit une diminution du nombre de crampes abdominales dans le test de writhing provoqué par l'acide acétique à 1% d'Ajuga iva a un effet analgésique plus efficace que celui de l'ibuprofène. [17]

Dans le test de torsion induit par l'acide acétique, l'acide acétique a provoqué une réaction nociceptive moyenne dans le groupe témoin, contorsions abdominales. L'extrait aqueux d'A.iva a réduit de manière significative le nombre de contorsions abdominales chez les souris. [18]

H. Activité antifongique :

Une étude comparative a été réalisée sur l'activité antifongique des extraits méthanoliques de la tige, la feuille et la racine d'Ajuga iva, cette dernière a été évaluée vis-à-vis de Candida albicans. A.iva a montré l'efficacité antifongique contre Candida albicans. Les extraits méthanoliques de la feuille et la tige, ont la capacité de tuer ou d'inhiber la croissance des champignons. [19]

I.2.4. Toxicité d'Ajuga iva

Les études réalisées n'ont révélé aucune toxicité d'Ajuga Iva. Aucune morbidité n'a été observée chez les souris traitées par (dosage précis). La consommation de l'ivette par des personnes normales; n'aboutit pas à la réduction de leurs glycémies, alors qu'elle a un effet hypoglycémiant chez les personnes diabétiques. Par voie orale, la DL50 est supérieure à 14g/kg PC tandis que celle de la voie intrapéritonéale est d'environ 3.6g/kg Poids corporel. Quant au traitement chronique (jusqu'à 600 mg/Kg PC) n'occasionne aucun effet néfaste sur les paramètres biochimiques et hématologiques. L'analyse histologiques des organes vitaux reflète des structures anatomomorphologiques normales, les DL50 montrent que les flavonoïdes d'Ajuga iva ne sont pas toxiques du fait de leurs valeurs élevées (3600 mg/kg pour les souris et 4800 mg/kg pour les rats). [10]

I.2.5. Métabolites secondaires isolés de l'Ajuga Iva

Les études effectuées sur la plante Ajuga Iva ont permis d'isoler plusieurs composés, polyphénoliques. Les flavonoïdes, les tanins, tri-terpènes et les huiles essentielles se trouvent en grande quantité dans l'Ajuga iva. Elle contient aussi les anthocyanes, les acides phénoliques, les néo-clérodane diterpénoides comme l'ajugarine et d'autres substances. Les études ont montré que

l'ivette contient le 24,28- dehydromakisterone A ainsi que les phytoecdystéroïdes (ajugasterone C, cyasterone, cyasterone diglycerides, 24,25-dehydrocyasterone, 24-dehydroprecyasterone, ecdysone, ecdysterone, 23-hydroxycyasterone, 20-hydroxyecdysone, makisterone A, 22-oxocyasterone, polypodine B). Elle contient aussi le 2-deoxy-20-hydroxyecdysone, et le 14,15-dihydroajugapitine et Withanolides. [20-25]

Ben Jannet et al ont isolé les ivaïdes d'Ajuga iva. Les cicatrisants (externes), les diterpénoides neo-clérodane diterpénoides (14,15-dihydroajugapitin, Ivain I, II, III & IV), les iridoïdes (harpagide, 8-O-acetylharpagide), Ivaïdes A (1,3- di-(R)- β -hydroxy-glycérade glycérol), des saponosides, diacylglycerides, l'acide palmitique et l'acide myristique sont aussi des composés chimiques que les chercheurs trouvent dans l'Ajuga iva, elle est très riche en fer. [26-27]

1. Les flavonoïdes :

La quercétine (flavonol), la lutéoline, la chrysoériol, la 5,5'-dihydroxy 4',7-diméthoxy flavone, la 5,7-dihydroxy 4',5'- diméthoxy flavone, l'apigénine (flavones), la naringénine (flavanone) et le néohespéridoside sont les flavonoïdes isolés à partir de Ajuga iva. [28-29]

2. Les tanins :

Les tanins condensés (TC) sont des produits végétaux secondaires polyphénoliques très répandus dans le règne végétal. Par définition, les TC se lient aux protéines et sont considérés comme des composés "antinutritionnels" qui réduisent la digestibilité des protéines. Les variations de la chimie des TC modifient les capacités de liaison aux protéines entre les polymères provenant de différentes espèces végétales et de différents stades de développement. [30]

3. Les polyphénols simples :

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tanins. [31]

4. Les saponines :

Les saponines sont les principaux constituants de nombreuses plantes médicinales, les saponines doivent leur nom au fait que, comme le savon, elles produisent de la mousse quand on les plonge dans l'eau. Les saponines existent sous deux formes, les stéroïdes et les tnterpenoïdes. [32]

5. Les stéroïdes :

Le terme générique « stéroïde » rend compte des caractéristiques physico-chimiques des premiers représentants de cette famille.

Les hytoecdystéroïdes sont connus pour être des métabolites secondaires de plantes assez répandus. Il s'est avéré que ces composés, ayant en général une similarité structurale avec la molécule d' α -ecdysone (1) (la principale hormone des invertébrés en mue), sont caractérisés par une variabilité des structures chimiques beaucoup plus grande que les hytoecdystéroïdes.

A ce jour, plus de 500 structures différentes de phytoecdystéroïdes ont été identifiées. Il est pratiquement impossible d'établir des limites absolues pour ce groupe de composés, puisqu'ils forment une sorte d'ensemble de molécules, et une série continue avec d'autres stéroïdes de plantes ayant une structure chimique similaire : brassinostéroïdes, vitanolides, glycosides stéroïdiens, etc. Les ecdystéroïdes sont très diversifiés dans leur structure. Ainsi, le nombre total de carbone dans une structure peut être de 27, 28, 29 ou 30 pour les composés ayant une chaîne latérale complète, ou de 24, 21 et 30 pour les composés ayant une chaîne latérale incomplète, ou 24, 21 et 19 pour les composés ayant une rupture de chaîne latérale dans les positions C24-C25, C20-22, et C17-C20 [33].

Les ecdystéroïdes peuvent contenir :

1. Des groupes 3β -OH, 3α -OH ou 3-oxo ;
2. Les groupes OH dans le noyau stéroïde peuvent être localisés aux positions C1, C2, C5, C11, C19 ;
3. Les groupes OH en positions C20, C22, C23, C24, C25, et C26-27 pour les composés ayant une chaîne latérale ;

-
4. Des liaisons insaturées supplémentaires n° 9-11, n° 24-25, n° 25-26, ou n° 24-28 ;
 5. Des cycles lactone à 5 ou 6 chaînons.

Les ecdystéroïdes peuvent former des conjugués aux positions C2, C3, C20, C22, ou C25 avec des acides inorganiques (phosphates), des acides organiques (acétates, cinnamates, benzoates, palmitates, p-coumarrates), des sucres (galactosides, glucosides) ou de l'acétone (acétonides 2,3 et 20,22). Puisqu'une combinaison de n'importe quelle modification individuelle peut avoir lieu, on peut théoriquement s'attendre à l'existence de plus d'un type de modification, on peut s'attendre à l'existence de plus de 1000 structures différentes, on peut supposer que les phytoecdystéroïdes identifiés à ce jour ne représentent qu'une petite fraction de ces composés qui existent dans la nature [34-35].

De nombreuses modifications trouvées dans les phytoecdystéroïdes se retrouvent également dans d'autres classes de triterpénoïdes végétaux (par exemple, les brassinostéroïdes, les stérols).

Les phytoecdystéroïdes sont synthétisées chez les plantes à partir de l'acide mévalonique via le cholestérol et/ou le lanostérol.

Ainsi, les plantes sont capables de synthétiser de nouveau les ecdystéroïdes à partir de leurs précurseurs (ex, l'acide mévalonique) par la formation de stérols en tant que précurseurs métaboliques les plus proches, ce qui a été démontré dans un certain nombre d'expériences utilisant du cholestérol et du mévalonate marqués peu après la découverte de l'acide mévalonique.

En outre, on peut supposer que dans plantes produisant des ecdystéroïdes C28 et C29, les ecdystéroïdes C27 ordinaires (par exemple, 20-hydroxyecdysone) peuvent être d'origine secondaire par désalkylation des ecdystéroïdes en C28 et C29. [36-37]

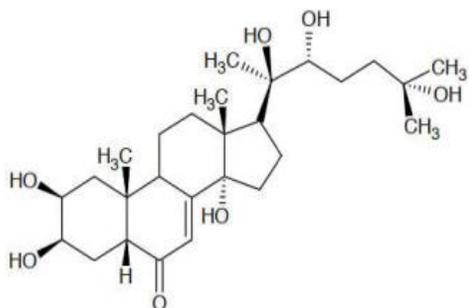


Figure I.3. Structure chimique de 20-Hydroxyecdysone.

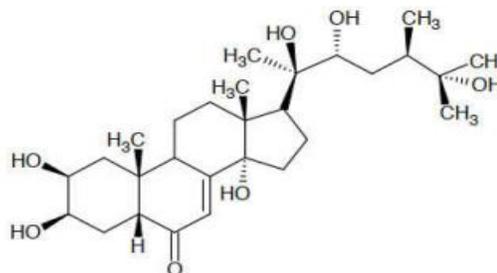


Figure I.4. Structure chimique de Makisterone A.

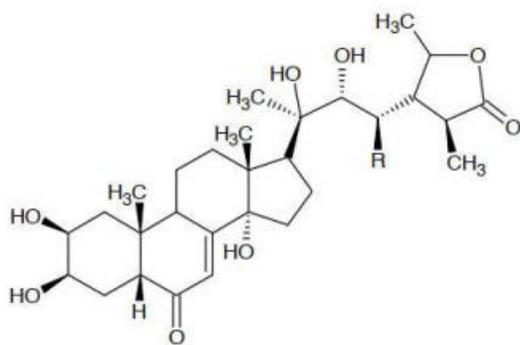


Figure I.5. Structure de Cyasterone R=H.

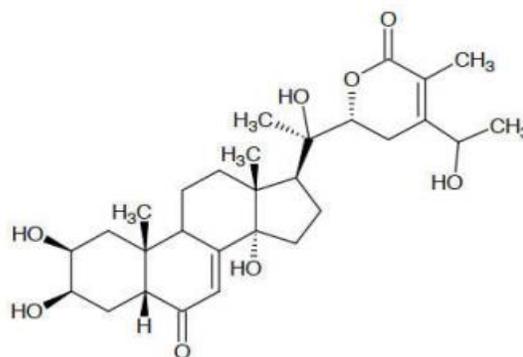


Figure I.6. 24,25-Dehydroprecyasteron.

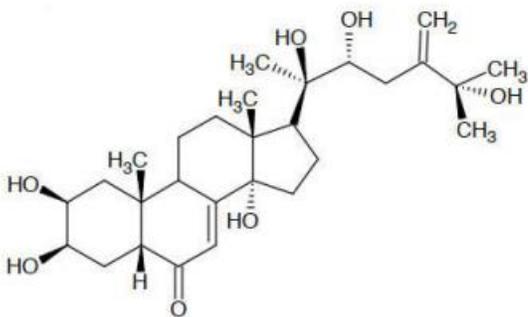


Figure I.7. Structure chimique de 24(28)-Dydromakisterone A.

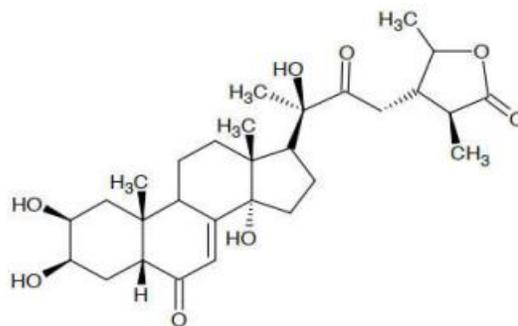


Figure I.8. Structure chimique de 22-Oxocyasterone.

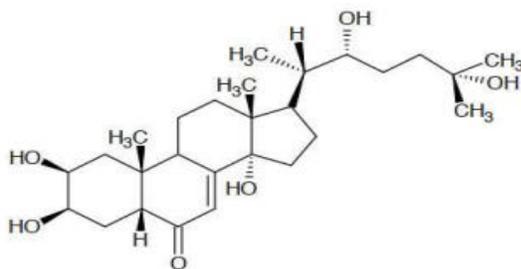


Figure I.9. Structure chimique d'Ecdysterone [38-39]

I.2.6. Travaux réalisés sur la plante *Ajuga iva*

L'ensemble des travaux sur la plante *Ajuga iva* par ordre chronologique :

- En 1991, Ghedira et Al, ont suggéré que la défense antioxydante chez les rats hypercholestérolémiques traités par *Ajuga-iva* peut être due aux flavonoïdes et les irodoïdes qui ont été isolés de cette plante. [40]
- En 1992, Breschi, M.C et Al, ont trouvé l'activité vasoconstrictrice du 8-O-acétylharpagide de l'*Ajuga reptans*. [41]
- En 1994, Aliotta. G et Pollio. A, ont démontré que la plante est utile dans la thérapie rénale selon Pliny the elder. [42]
- En (1998-1999), les études de Pascual Villalobos et Robledo, ont montré que l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* inhibe la croissance de la larve *tribolium lasteneum* (70-100% de mortalité). [43]
- En 1999, Ben jannet et Al, ont trouvé que l'ivette a une activité antibactérienne contre *Escherichia coli*, *staphylococcus aureus*, *salmonella typhimurium* et *pseudomonas aeruginosa*. [44]
- En 2002, El Hilaly et Lyoussi, ont trouvé l'effet hypoglycémique de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Ajuga-iva* chez des rats normaux et diabétiques à la streptozotocine. [45]
- En 2004, El Hilaly et ses collaborateurs ont trouvé que l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* a des propriétés vasodilatrices et donc, considéré comme agent anti-hypertensif. [46]
- En 2006, El Hilaly et ses collaborateurs, suggèrent que l'*Ajuga iva* peut être considéré comme un agent anti-diabétique et hypolipidémique. [47]

-
- En 2007, Chenni et ses collaborateurs 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. [48]
 - En 2008, Bouderbala et Al ont montré que l'extrait aqueux lyophilisé d'*Ajuga iva* peut réduire le stress oxydant et diminuer la peroxydation lipidique chez les rats hypercholestérolémiques. [49]
 - En 2009, D. Taleb Senouci et ses collaborateurs ont montré que l'*Ajuga iva* a un effet antioxydant (antioxydant de l'extrait aqueux d'*ajuga-iva* chez les rats diabétiques induits par la streptozotocine). [50]
 - En 2010, F. El Amrani et Al, ont fait une étude ethnopharmacologique de quelques plantes utilisées dans le traitement de diabète dans la région de Meknès-Tafilalet Maroc parmi ses plantes l'*Ajuga iva*. [51]
 - En 2011, Radi Aly et ses collaborateurs ont fait une étude sur l'activité biologique des phytoecdystéroïdes naturels d'*Ajuga iva* contre l'aleurode de la patate douce *Bemisia tabaci* et l'acarien du perce olignon *ychus perseae*. [52]
 - En 2012, A. Rouibi et ses collaborateurs ont fait l'étude pharmacologique de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* sur des animaux pour évaluer son activité analgésique. [53]
 - En 2013, D. Chabane et ses collaborateurs ont fait une étude pour évaluer l'activité hypoglycémique de l'extrait aqueux de la partie aérienne de cette plante sur un modèle animal. [54]
 - En 2014, A. Kemassi et ses collaborateurs, ont montré qu'il ressort 33 espèces à caractère médicinal utilisées par les autochtones de la vallée de M'Zab pour le traitement de l'hyperglycémie parmi ces plantes l'*Ajuga iva*. [55]
 - En 2014, Ahmed Bakrim et ses collaborateurs ont fait une comparaison entre deux profils ecdystéroïdes de deux espèces d'*ajuga*, *A. iva* et *A. remota* pour identifier les phytoecdystéroïdes. [56]
 - En 2015, M. Hachi a montré que plusieurs espèces sont utilisées pour le traitement digestif et parmi eux l'*Ajuga iva*. [57]
 - En 2015, H. Orch et Al, ont fait une étude sur les plantes médicinales utilisées pour le diabète et l'hypertension artérielle dont l'*Ajuga iva*. [58]

-
- En 2015, Amel Boudjelal, a fait une étude sur l'effet thérapeutique des infusions aqueuses d'artemisia herba-alba et d'Ajuga iva sur des rats diabétiques. [59]
 - En 2016, Amal El Hamsas El Youbi et Al, ont déterminé le profil thérapeutique naturel utilisé dans la médecine populaire marocaine pour traiter dix maladies liées directement ou indirectement à un dysfonctionnement du système immunitaire et ont démontré que l'Ajuga iva a un effet thérapeutique sur l'allergie. [60]
 - En 2017, M. Barkaoui et Al, ont fait un inventaire des espèces végétales utilisées en médecine populaire pour la prise en charge du diabète dans les provinces de Chtouka Ait Baha et Tiznit, parmi les espèces les plus utilisées les Lamiacées. [61]
 - En 2017, Chouitah et Al, ont préparé l'extrait de l'Ajuga iva, donné la composition chimique et démontré que cette dernière a une activité antimicrobienne. [62]
 - En 2018, S. Mouheb, M. Khali, A. Rouibi et F. Saidi, ont étudié l'effet antimicrobien et analgésique de l'extrait d'Ajuga iva. [63]
 - En 2019, S. Fettach et Al, ont fait l'étude de la teneur en composés phénoliques de l'activité antioxydante de l'Ajuga iva. [64]
 - En 2020, Abdelhakim Bouyahya et ses collaborateurs, ont mis en évidence les rapports précédents sur A.iva, y compris ses utilisations ethnopharmacologiques, la chimie de ses métabolites secondaires, ses propriétés pharmacologiques in vitro et in vivo et les preuves toxicologiques. [65]
 - En 2020, Souad Senhadji et ses collaborateurs, ont démontré que l'Ajuga iva a un contenu phénolique et des propriétés antioxydantes et organiques dans l'extrait aqueux. [66]
 - En 2021, Abdelhakim Bouyahya et ses collaborateurs, ont visé à identifier les composés volatiles des huiles essentielles d'Ajuga iva (AIEO) à trois périodes de développement, et à évaluer leurs propriétés pharmacologiques. [67]
 - En 2021, Karima Ounaissia, a montré que l'Ajuga-iva a une activité antifongique, d'après l'évaluation qui a été faite vis-à-vis de candida albicans. [68]

I.3. Aperçu sur les formes pharmaceutiques innovantes

Les formulations galéniques, actuellement considérées comme l'un des défis du développement de médicaments innovants, sont conçues pour assurer la stabilité du principe actif à la concentration optimale afin d'assurer le meilleur effet thérapeutique avec la plus faible dose, optimiser la biodisponibilité, améliorer la tolérance, rationaliser la production et réduire les étapes et les coûts.

I.3.1. Encapsulation

L'Encapsulation est utilisée pour piéger un principe actif (PA) solide / liquide dans une matrice polymérique sous une forme membrane / dispersée dans le réseau. [69]

Tableau I.1. Encapsulation par les capsules et les spheres

| Les Capsules | Les Sphères |
|--|--|
| Le système réservoir est constitué d'un cœur contenant la matière active SOLIDE / LIQUIDE entourée d'une enveloppe solide continue de matériau enrobant. Les capsules ne sont pas nécessairement de forme sphérique. | Elles sont constituées d'un réseau macromoléculaire formé d'une matrice dans laquelle la matière active est finement divisée ou dispersée. |

I.3.2. Liposomes

Les liposomes sont de petites vésicules artificielles de forme sphérique qui peuvent être créées à partir de cholestérol et de phospholipides naturels non toxiques. En raison de leur taille et de leur caractère hydrophobe et hydrophile (en plus de leur biocompatibilité), les liposomes sont des systèmes prometteurs pour l'administration de médicaments. [70]

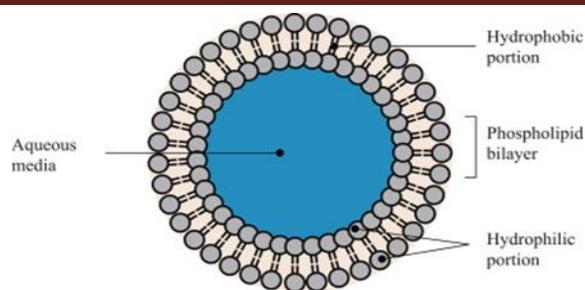


Figure I.10. Constitution d'un liposome [71].

I.3.3. Implants

D'après la pharmacopée européenne, ce sont des préparations solides stériles de tailles et formes appropriées destinées à l'implantation pour assurer une libération du principe actif pendant une longue durée.

Les implants sont généralement administrés par voie sous-cutanée au niveau du bras, de l'abdomen ou de la cuisse, à l'aide d'une seringue pré-remplie ou incision chirurgicale.

Les implants sont classés en deux types :

a. Implants polymérique : La plupart des implants sont de nature polymérique soit sous forme de capsule ou de sphère. Les polymères peuvent être : Biodégradables /non-biodégradable [72]

b. Les Pompes : C'est une forme innovante des implants qui a été mise au point ces dernières années, elle est basée sur le principe de la pression osmotique. C'est un implant miniature constitué d'un cylindre creux en titane pour protéger le PA, ce dernier va être placé dans le compartiment, après l'implantation, l'eau des tissus pénètre par une extrémité à travers une membrane semi-perméable dans une chambre osmotique qui se met à gonfler pour pousser un petit piston en direction du compartiment contenant le PA.

I.3.4. Nanoparticules

Les nanoparticules sont définies comme des particules solides dont la taille est comprise entre 10 et 1000 nm. Le médicament est dissous, piégé, encapsulé ou attaché à une matrice nanoparticulaire.

Les propriétés physiques et chimiques de ces nano-objets diffèrent de celles des matériaux classiques. Elles couvrent un large domaine de développement en industrie pharmaceutique elles peuvent être classées en deux grands groupes :

1. Les **NP organiques** (liposomes, NP polymères, nanotubes de carbone, fullerènes)
2. Les **NP inorganiques** (boîtes quantiques, NP magnétiques, sondes Raman).

La NP peut être conçue pour agir comme un système d'administration des médicaments (thérapeutique), une sonde d'imagerie (diagnostique) ou les deux (théranostique). [73]

1. Classification des nanoparticules :

Selon la méthode de préparation, on obtient :

- **Des nanoparticules** : Ces dernières années, les nanoparticules polymères biodégradables, en particulier celles recouvertes d'un polymère hydrophile tel que le polyéthylène glycol (PEG) connues sous le nom de particules à longue circulation, ont été utilisées comme dispositifs potentiels d'administration de médicaments.
- **Des nanosphères** : sont des systèmes matrice dans laquelle le médicament est physiquement et dispersé de manière uniforme.
- **Des nanocapsules** : sont des systèmes dans lesquels le médicament est confiné dans une cavité entourée d'une membrane unique en polymère unique. [74-78]

2. Préparation des nanoparticules :

Les nanoparticules sont préparées par trois méthodes :

- 1- Dispersion de polymères préformés.
- 2- Polymérisation de monomères.
- 3- Gélification ou coacervation ionique de polymères hydrophiles. [79]

I.4. Emulsions

Depuis plusieurs décennies, l'émulsion présente une forme de dosage lipidique et un système

populaire d'administration attrayante pour les molécules de médicaments hydrophobes. Jour après jour son application pharmaceutique s'élargit et son développement prend une importance dans ce domaine. [80]

1. Définition :

Selon les définitions courantes, une émulsion est composée par un système de deux liquides non miscibles dont l'un est finement divisé en gouttelettes dans l'autre.

- La phase dispersée est encore appelée phase interne, dispersé ou discontinue.
- La phase dispersante est aussi appelée phase externe, dispersante ou continue.

Selon la **Pharmacopée Française**, les émulsions dans lesquelles la phase dispersée est lipophile (*L*), huile végétale ou minérale par exemple, et la phase dispersante hydrophile (*H*), eau par exemple, sont dites de type aqueux *L/H* (anciennement *H/E* : huile dans eau) et les émulsions dans lesquelles la phase dispersée est hydrophile et la phase dispersante lipophile sont dites de type huileux *H/L* (anciennement *E/H* : eau dans huile).

Il existe aussi des émulsions dites multiples, par exemple *H/L/H* (anciennement *E/H/E* : eau dans huile dans eau).

I.4.1. Notion d'émulsification

L'émulsion est présente dans des nombreuses applications industrielles ; des formulations pharmaceutiques font appel à ce genre de dispersion d'un liquide dans un autre liquide non-miscible, conduisant à des applications pharmaceutiques avec l'encapsulation d'un PA. Pour ce, il existe une variété de techniques permettant la formation des émulsions en citant dans le cas d'émulsification simple les méthodes suivantes :

A. Méthode de la gomme sèche : Triturer le mélange d'émulsifiant et d'huile en ajoutant de l'eau pour former une émulsion primaire. Ajouter ensuite de l'eau pour diluer et mélanger continuellement pour former l'émulsion.

B. Méthode de la gomme humide : Dans un premier temps, triturer l'huile avec de l'eau, puis avec

l'émulsifiant pour former une émulsion primaire. Ajouter ensuite de l'eau, diluer et mélanger pour former une émulsion.

C. Méthode in situ : Prenez de l'huile et de l'eau de chaux (solution d'hydroxyde de calcium). Mélanger en agitant pour former une émulsion.

D. Méthode mécanique : Prendre de l'huile, de l'eau et un émulsifiant, bien mélanger et remuer à la machine pour former une émulsion.

E. Emulsification par membre (membranaire) : Elle consiste à former le passage de la phase dispersée vers la phase continue à travers les pores d'une membrane.

I.4.2. Classification des émulsions

a) Emulsions simples : Elles sont composées d'une phase lipophile, d'une phase hydrophile et d'un émulsifiant. Suivant que la phase continue est lipophile ou hydrophile, on définit deux types d'émulsions simples :

1. Emulsion huile dans eau (H/E) (émulsion aqueuse), (émulsion à eau externe)

- Phase dispersée : lipophile.
- Phase dispersante : hydrophile.

2. Emulsion eau dans huile (E/H) est une émulsion de type huileux étant les moins courantes, elles sont parfois appelées : Emulsions inverses ou à huile externe

- Phase dispersée : hydrophile.
- Phase dispersante : lipophile.

En fonction de la taille moyenne des gouttelettes on distingue des émulsions plutôt grossières, appelées macroémulsions et des émulsions plus fines, submicroniques, appelées mini ou nanoémulsions.

b) Les émulsions multiples : Les émulsions multiples sont utilisées dans le domaine pharmaceutique sauf que leur formulation est plus complexe que celle des émulsions simples.

Il s'agit d'émulsion / dispersion d'une émulsion dans une phase dispersante :

- La dispersion d'une émulsion H/L dans une phase aqueuse (H) donne une émulsion H/L/H ou E/H/E.
- A l'inverse, la dispersion d'une émulsion L/H dans une phase huileuse (L) donne une émulsion L/H/L.

Ces deux exemples correspondent au cas le plus simple d'émulsions multiples : les émulsions doubles.

Nous avons deux autres classifications les nano émulsion et microémulsion.

I.4.3. Stabilité des émulsions

Les émulsions présentent un souci d'instabilité, c'est-à-dire. les deux phases qui forment l'émulsion, se séparent d'une façon plus au moins rapide, ce qu'on l'appelle un système Hors équilibre (thermodynamiquement instable).

Une émulsion se rompt :

- Soit par coalescence des globules de liquide dispersés et séparation complète des phases.

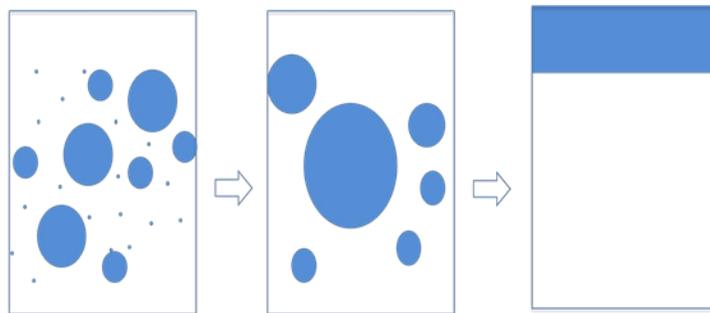


Figure I.11. Phénomène de coalescence [80].

- Soit par crémage ou sédimentation, c'est-à-dire par rassemblement de tous les globules à la surface ou au fond du liquide dispersant selon que le liquide dispersé est

plus léger ou plus lourd que le liquide dispersant.

- Soit par coalescence et crémage ou sédimentation à la fois.

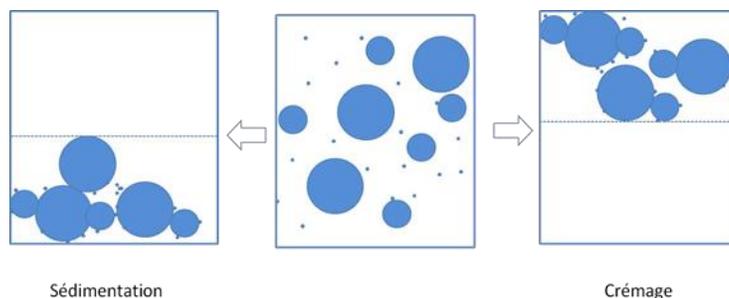


Figure I.12 Phénomène de sédimentation et de crémage [80].

Pour ces raisons, les émulsions doivent souvent comporter des émulsifiants, émulsionnants qui forment un film interfacial mince, une membrane interfaciale, autour des globules de la phase dispersée. Ces derniers ont de l'affinité pour la phase hydrophile et hydrophobe de l'émulsion, ce qui rend l'émulsion à pouvoir présenter une stabilité importante dans le temps.

Les émulsionnants, émulsifiants sont souvent de petites molécules amphiphiles appelées tensioactifs, surfactifs, surfactants, agents de surface qui se caractérisent par un pôle hydrophile et un pôle hydrophobe.

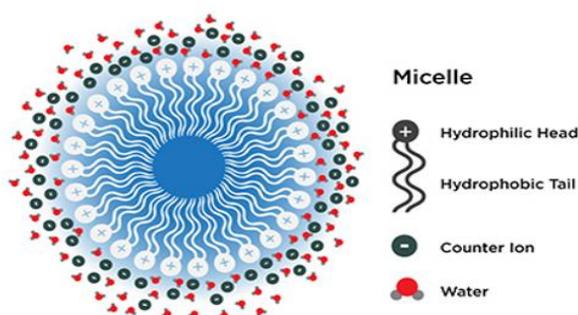


Figure I.13. Micelle d'un tensioactif [80].

Ils peuvent agir sur la stabilité d'une émulsion de trois façons :

1. Soit en diminuant la tension inter-faciale, c'est le cas des surfactifs dont les molécules deviennent un film à l'interface, une extrémité de chaque molécule se dépose dans l'eau et l'autre dans l'huile.
2. Soit en améliorant la viscosité de la préparation : cas des gommages par exemple.
3. Soit aussi en agissant à la fois sur la tension inter-faciale et sur la viscosité.

Donc pour assurer la stabilité des émulsions, il est nécessaire de recourir à ces molécules permettant de les stabiliser comme :

a. Bio-polymère amphiphile : grâce à leur interaction avec les surfactants hydrophobes, ce qui forme un film qui améliore la résistance mécanique et diminue les phénomènes de coalescence par l'encombrement stérique des molécules en prenant l'exemple **des protéines** (La dénaturation des protéines favorise leur pouvoir stabilisant), **les polyholosides** (qui sont naturellement hydrophiles mais elles peuvent être greffées avec des composés hydrophobes).

b. Les Solides finement divisés : Il est possible d'utiliser des poudres insolubles dans les deux phases comme émulsifiant. Les particules vont se positionner à l'interface et ainsi limiter le phénomène de coalescence. Les émulsions stabilisées de cette technique sont appelées émulsions de pickering.

c. Les Additifs de viscosité : La stabilisation de l'émulsion peut également être obtenue par augmentation de la viscosité de la phase continue. Le choix de l'additif dépend de la nature de cette phase.

I.4.4. Les agents émulsifiants

Les tensioactifs (également appelés surfactants ou agents de surface) sont les molécules émulsifiantes les plus utilisées pour la stabilité des émulsions. Elles sont classées par leurs propriétés chimiques ou physicochimiques dont la nature des tensioactifs aide à déterminer la stabilité des émulsions.

Ces tensioactifs peuvent être :

Non-ioniques/ Anioniques/ Cationiques/ Zwitterioniques.

➤ **Leurs rôles dans la stabilisation des émulsions :**

Les tensioactifs sont de petites molécules amphiphiles ayant des propriétés émulsifiantes. Ces molécules se placent à l'interface entre les phases de l'émulsion. Du côté hydrophile de l'interface, le tensioactif établit des liaisons hydrogènes et des liaisons ioniques avec la phase aqueuse. Du côté lipophile, la molécule établit des liaisons de Van der Waals et des interactions hydrophobes avec la phase grasse. Cette disposition permet de diminuer la tension interfaciale du système, ce qui favorise l'émulsification (diminution de l'énergie à apporter) et stabilise l'émulsion.

La quantité du tensioactif employé dépend de la taille des gouttelettes que l'on souhaite obtenir, de la stabilité voulue et de l'efficacité du procédé d'émulsification. (Dans le cas des émulsions fines et notamment des microémulsions, il est nécessaire de travailler avec des couples de tensioactifs), les micelles inverses et les bicouches (Figure I-14).

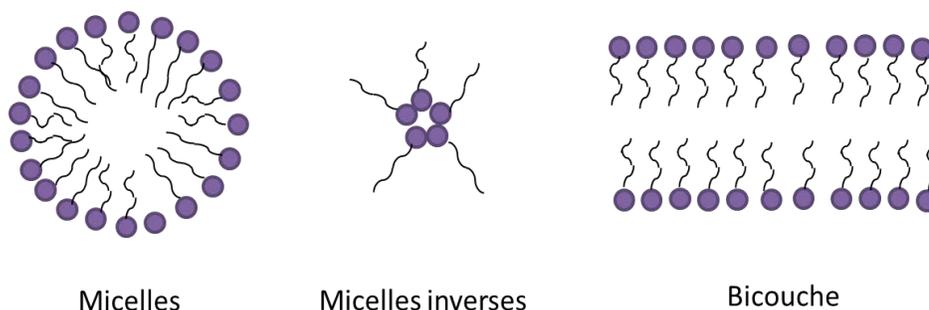


Figure I.14. Organisation de tensioactifs en solution [80].

I.4.5. La formulation des émulsions

La formulation des émulsions passe par des étapes structurées ;

- **La 1ère étape :** consiste à choisir les différentes phases de l'émulsion (La phase hydrophile qui est toujours aqueuse et la phase Grasse qui est variable).
- **La 2ème étape :** consiste à choisir les émulsifiants appropriés pour obtenir une stabilité optimale.

Méthode de formulation des émulsions sont comme suit :

a. Règle de Bancroft : cette règle énoncée en 1913 permet de prévoir le sens d'une émulsion en fonction de l'affinité du tensioactif employé comme émulsion ; d'après cette règle la phase dispersante sera celle ayant le plus d'affinité avec le tensioactif.

b. Méthode HLB : cette méthode est basée sur la classification mise au point en 1949 par Griffin elle permet d'orienter le choix des tensioactifs pour déterminer la formulation la plus stable sans avoir réalisé un nombre trop important d'essais.

c. Rapport R de Winsor : En 1954, Winsor synthétisa ses travaux sur les systèmes comportant des tensioactifs. Il explique que le comportement des systèmes eau/huile/surfactant peut être prédit par le calcul du rapport R : c'est un rapport qui compare les interactions eau-surfactant aux interactions huile-surfactant.

d. Méthode HLD (déviation hydrophile-Lipophile) : ce concept a été développé par Salager en 2001 pour compléter le concept de formulation des émulsions, HLD est un nombre sans dimension pouvant s'exprimer de manière différente en fonction du type de tensioactif. Ce concept permet de comparer de manière quantitative l'influence des différents paramètres.

I.4.6. Les microémulsions

1. Définition : L'UICPA définit la micro-émulsion comme une dispersion composée d'eau, d'huile et de tensioactif(s) qui est un système isotrope et thermodynamiquement stable dont le diamètre des domaines dispersés varie approximativement de 1 à 100 nm, généralement de 10 à 50 nm.

2. Composition :

Les principaux composants du système de micro-émulsion sont les suivants :

- Phase huileuse.
- Tensioactif (tensioactif primaire).
- Co-surfactant (surfactant secondaire)
- Co-solvant

3. Les types des microémulsions :

Selon Winsor, il existe quatre types de phases de microémulsion en équilibre, ces phases sont appelées phases de Winsor.

-
- Winsor I (système biphasé) : la couche d'huile supérieure existe en équilibre avec la phase inférieure de microémulsion (huile/eau).
 - Winsor II (système biphasé) : la microémulsion supérieure (eau/huile) existe en équilibre avec l'excès d'eau inférieur.
 - Winsor III (système triphasé) : la phase intermédiaire bicontinue (huile/eau et eau/huile) existe en équilibre avec la phase supérieure d'huile et la phase inférieure d'eau.
 - Winsor IV (système monophasé) : il forme un mélange homogène d'huile, d'eau et d'agent de surface. [81-85]

4. Méthodes de préparation

➤ Méthode de titrage de phase :

La préparation d'une microémulsion se fait en dispersant la quantité requise de médicament dans une quantité appropriée d'huile, nécessaire à la solubilisation du médicament.

Le mélange doit être homogénéisé et une quantité précise des mélanges de tensioactifs et de co-tensioactifs est ajoutée en petites portions tout en agitant.

Les mélanges vont être soigneusement mélangés à l'aide d'un agitateur magnétique et de l'eau distillée double s'ajoutera à la goutte à goutte avec une agitation continue pendant 10 minutes. L'optimisation de la vitesse d'agitation est en fonction de la taille des particules.

➤ Méthode de température d'inversion de phase (PIT) :

L'inversion de phase des microémulsions signifie la conversion d'un système H/E en E/H en ajoutant un excès de phase dispersée ou d'eau doublement distillée.

L'ajout d'un excès de la phase dispersée ou par l'augmentation de la température lorsque des tensioactifs non ioniques sont utilisés pour modifier la courbure spontanée du tensioactif, ce qui rapproche le système d'une tension superficielle minimale en formant des gouttelettes d'huile finement dispersées.

Cette méthode montre des changements extrêmes dans la taille des particules, ce qui conduit à des changements dans le modèle de libération des médicaments in vivo et in vitro. [86-97]

5. Avantages et inconvénient : [98-102]

Tableau I.2. Avantages et inconvénients des microémulsions.

| Avantages | Inconvénients |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> - Il est très facile à préparer et à mettre à l'échelle en raison de sa capacité de formation spontanée. - C'est un très bon système pour augmenter le taux d'absorption ainsi que la biodisponibilité en éliminant les variations interférentes. - Il est capable d'améliorer la solubilité des médicaments lipophiles. - C'est un système thermodynamiquement plus stable que le système conventionnel et donc adapté à une utilisation à long terme. - Il peut être préféré pour développer des systèmes de médicaments à libération prolongée et contrôlée. | <ul style="list-style-type: none"> - L'utilisation supplémentaire d'une quantité excessive de tensioactifs et de co-tensioactifs augmente le coût. - Une concentration excessive de tensioactifs peut entraîner une toxicité pour les muqueuses. |

I.4.7. Les nano-émulsions

A. Définition : Elles sont très similaires aux microémulsions qui sont des dispersions de particules à l'échelle nanométrique mais obtenues par une force mécanique contrairement aux microémulsions qui se forment spontanément. [103-104]

B. Types des nano émulsions :

- Huile dans l'eau (H/E)
- Eau dans l'huile (E/H)
- Huile-dans-eau-dans-huile (H/E/H)
- Eau-dans-huile-dans-eau (E/H/E). [105-106]

C. Les méthodes de formation des nano émulsions : Il existe une variété de techniques qui permettent la formation des nano émulsions :

1. Méthode d'émulsification à haute énergie : Ultra-sonication et homogénéisation à haute pression.

2. Émulsification à faible énergie : Méthode d'inversion de phase par la température, méthode de déplacement du solvant et méthode d'inversion de phase par la composition.

3. Homogénéisation à haute pression : Un instrument d'homogénéisation à haute pression spécialement conçu est utilisé pour produire des particules de taille nanométrique. A très haute pression de (500 à 5000 PSI), la phase huileuse et la phase aqueuse peuvent être forcées à travers un petit orifice d'entrée. Des particules de taille extrêmement petites sont donc créées en raison de la forte turbulence et du cisaillement hydraulique. Mais cette méthode nécessite une température et une énergie élevées. La pression et les cycles d'homogénéisation sont directement responsables de la taille des particules. Plus la pression et les cycles d'homogénéisation sont élevés, plus la taille des particules est petite. Cette méthode est facile à mettre à l'échelle. [107-108]

4. Ultrasonication : Lorsque l'émulsion est dans un champ ultrasonique et que la pression externe augmente, le seuil de cavitation augmente également jusqu'à la limite où des fines particules de taille nanométrique sont formées. [109]

5. Microfluidisation : Dans cette méthode, un dispositif spécialement conçu appelé Microfluidiseur est utilisé pour créer une haute pression (500 à 20000 PSI). Initialement, on prépare une émulsion grossière en mélangeant l'huile et la phase aqueuse. Ce dispositif consiste en une chambre d'interaction composée de petits micro-canaux à travers lesquels l'émulsion grossière est forcée vers une zone d'impact pour former des particules fines de taille nanométrique, suivie d'une filtration pour obtenir des particules uniformes. [110-111]

6. Technique d'évaporation du solvant : Dans cette technique, on commence par mélanger le médicament avec un solvant organique en utilisant un tensioactif approprié et on prépare une émulsion H/E en mélangeant la phase continue. Ensuite, on évapore le solvant organique sous-vide, par chauffage ou dans des conditions atmosphériques pour obtenir des demi-sphères chargées de médicament, puis on les centrifuge ou on les filtre. [112]

7. Méthode des hydrogels : Cette méthode présente des similitudes avec la méthode d'évaporation du solvant. Des forces de cisaillement élevées sont utilisées pour former une nanoémulsion de médicament et de solvant qui est miscible avec l'anti-solvant. [113]

8. Emulsification spontanée (auto-émulsification) : Cette simple méthode utilise une composition de solvants organiques volatiles composés d'huile, d'eau, de tensioactifs lipophiles et hydrophiles. On laisse cette composition se mélanger d'une façon homogène en l'agitant magnétiquement, puis on évapore le solvant miscible à l'eau sous vide pour obtenir une nano émulsion. [114]

9. Méthode d'inversion de phase : Cette méthode utilise le principe de la température d'inversion de phase qui est la température à laquelle la transition de phase se produit. Une température basse favorise les émulsions H/E et une température élevée favorise les émulsions E/H. Des cycles rapides de refroidissement et de chauffage produisent de fines particules. Les tensioactifs non ioniques comme le polyoxyéthylène deviennent lipophiles à haute température et hydrophiles à basse température en raison de la déshydratation de la chaîne polymère. [115]

D. Les avantages et inconvénients des nano émulsions [116-117]

Tableau I.3. Avantages et inconvénients des nano émulsions

| Avantages | Inconvénients |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> - Il est utilisé pour améliorer la solubilité dans l'eau et la biodisponibilité finale des médicaments lipophiles. - C'est la forme de dosage préférée pour incorporer des médicaments actifs provoquant une irritation du tube digestif. - Les problèmes de stabilité comme le crémage, la floculation, la coalescence et la sédimentation sont rarement observés dans les nano émulsions. | <ul style="list-style-type: none"> - Le principal inconvénient est le coût de fabrication de la nano émulsion qui est très élevé. - La maturation d'Ostwald est le problème majeur des nano émulsions. |

***CHAPITRE II : MATERIELS
ET METHODES***

CHAPITRE II. MATERIELS ET METHODES

II.1. Introduction

Dans ce chapitre, nous exposons d'abord, les sites d'accueil où notre étude a été réalisée, ensuite nous présentons la partie relative aux matériels et méthodes pour étudier l'extraction de notre matière active de la plante *Ajuga Iva* en vue d'application dans une formulation pharmaceutique (nanoparticules, microémulsions et nanoémulsions).

II.2. Présentation des lieux d'accueil

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire de recherche de chimie, physique des interfaces des matériaux appliqués à l'environnement (PIMAE) de l'université de Saad Dahleb-Blida 1 ainsi que le centre de recherche et de développement de SAIDAL-Gué de Constantine Alger et le centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimiques (CRAPC).

III.3.1. Présentation de la plante :

Notre étude est portée sur la plante d'*Ajuga iva*, récoltée dans la région d'Aflou (Laghouat) en mars 2022. La plante a été cueillis, 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 et stockée à l'abri de la lumière et de l'humidité.



Figure II.1. La plante Ajuga Iva



Figure II.2. La plante Ajuga Iva Poudre

II.3.2. Procédé d'extraction

Pour extraire la matière active qui représente l'élément responsable de l'activité thérapeutique (activité fertilisante) qu'on a étudié, on a choisi l'extraction par macération comme un procédé adéquat pour effectuer cette étape. Ce procédé consiste à mélanger dans un erlenmeyer 500 ml d'éthanol, avec la poudre d'Ajuga iva.

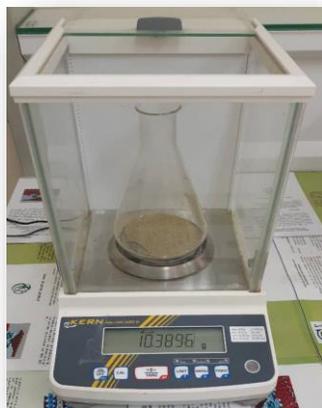


Figure II.3. Pesée de la plante en poudre



Figure II.4. Ajout de l'Ethanol à la poudre pesée.

Le mélange a été soumis à des vibrations ultrasonique, la solution obtenue a été filtrée sous vide. Ensuite le filtrat a été évaporé pour éliminer le solvant.



Figure II.5. Mélange hydroéthanolique au sein du bain ultrasonique.



Figure II.6. Filtration

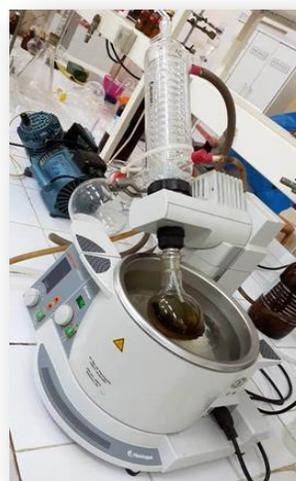


Figure II.7. Rota-vape durant l'élimination des solvants

Le résidu obtenu a été traité par un mélange d'hexane – méthanol – éthanol – eau distillée. L'extrait a été évaporée et conservée dans un flacon en verre ambré à une température de 4 °C pour éviter toute dégradation.

II.4. Caractérisation de l'huile essentielle

L'objectif principal de la caractérisation de l'huile est de pouvoir identifier la matière active, leur structure et leur composition chimique. Afin d'évaluer les différentes propriétés de l'huile obtenue, nous avons procédé à différentes analyses :

a) 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 ($l = 1$ cm). La longueur d'onde 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 photo-dégradation. La détermination des concentrations de principe actif libéré en fonction du temps est effectuée par dosage spectrométrique UV-visible. Au préalable, une courbe d'étalonnage a été réalisée en fonction de la concentration du milieu. [118]

C) Etude in-vivo de l'activité fertilisante chez les souris :

C-1) Protocole du Gavage:

Dans cette partie, nous avons utilisé deux lots de 03 souris femelles matures pesant entre 18 et 22 g reçoivent pendant 6 jours (l'équivalent d'un cycle oestral chez la souris) par gavage de l'extrait obtenu de la plante. Au 7^{ème} jour, les souris sont euthanasiées par rupture de la nuque, disséquées, les ovaires prélevés et pesés. Le lot témoin également composé de 03 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.

C-2) 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 II.8. Dissection des souris



Figure II.9. Gavage des souris

II.5. Formulation des Nanoparticules, Microémulsions et Nano-émulsions

II.5.1. Procédé de Synthèse des Nanoparticules

Les nanoparticules d'argent ont été synthésies à l'aide de l'extrait d'Ajuga iva à base d'éthanol, selon la méthode de Gauthami, avec certaines modifications. Brièvement, 5 ml d'extrait d'éthanol d'Ajuga iva ont été ajoutés à 200 ml d'argent de 1 M nitrate d'argent (AgNO_3). Le mélange est ensuite agité et stocké dans un endroit sombre pendant 72 heures. La formation d'AgNPs a été prédite par le changement de couleur en brun foncé. Enfin, le mélange a été pénétré et la suspension a été lavée 5 fois, à plusieurs reprises. [119-120]

II.5.2. Formulation des microémulsions

L'élaboration des microémulsions est basée sur l'utilisation de la méthodologie « des plans d'expériences » qu'il s'agit d'optimiser la formule qualitative et quantitative de la microémulsion, ainsi que sa caractérisation. 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.

Tableau II.1. Les facteurs et leur intervalle de variation de la matrice d'expérience

| Facteurs | Extrait d'Ajuga Iva | SW | Phase aqueuse |
|----------------|---------------------|-------|---------------|
| Intervalle (%) | 2 | 20-90 | QSP |

Compte tenu de l'objectif visé par cette étude, les réponses sont comme suit:

Tableau II.2. Les réponses de la matrice d'expérience

| Réponses | Conductivité | Taille des particules D32 |
|----------|--------------|---------------------------|
| Unité | mS/cm | nm |

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. [119-124].

Tableau II.3. Matrice d'expérience en variables centrées et réduites

| Formule | PA | SM (Excipient 1 :2) | Eau distillée |
|---------|------|---------------------|---------------|
| 1 | 0.05 | (1.5 :1) | Qsp |
| 2 | 0.05 | (1.5 :1) | Qsp |
| 3 | 0.05 | (1.5 :1) | Qsp |
| 4 | 0.05 | (1.5 :1) | Qsp |
| 5 | 0.05 | (1.5 :1) | Qsp |
| 6 | 0.05 | (1.5 :1) | Qsp |
| 7 | 0.05 | (1.5 :1) | Qsp |
| 8 | 0.05 | (1.5 :1) | Qsp |
| 9 | 0.05 | (1.5 :1) | Qsp |
| 10 | 0.05 | (1.5 :1) | Qsp |
| 11 | 0.05 | (1.5 :1) | Qsp |

A) Protocole de formulation :

Après avoir arrêté la matrice d'expériences, nous avons réalisé la préparation de l'émulsion E/H par mélange de la phase aqueuse et la phase huileuse qui contient 2% de l'extrait d'Ajuga iva dissous dans le SW en utilisant un agitateur magnétique à 300 tr/min pendant 30-45min jusqu'à la dissolution complète de l'extrait. Les deux phases ont été mélangées en utilisant un agitateur magnétique à 350 tr/min. Les microémulsions ont été préparées par homogénéisation du mélange (phase aqueuse et huileuse) pendant 30 min à une vitesse de 600 Rpm. [119-124]

II.5.3. Formulation des nano-émulsions

La formulation des nano-émulsions s'articule dans un premier temps à faire une présélection des excipients potentiellement compatibles et de définir le procédé de nanoémulsification à travers des essais d'orientation et d'optimiser la formule qualitative et quantitative de la nano-émulsion dans un deuxième temps.

A) Méthodes de préparation :

Procédé n°1: Le tension actif et l'huile sont mélangés à 450 trs/min pendant 40 minutes. L'ajout de la phase aqueuse se fait gouttes à gouttes. L'homogénéisation est faite à l'ultra-Turrax®

Procédé n°2: La phase organique est préparée en mélangeant l'extrait, le solvant organique et le tensioactif. Cette dernière est ensuite introduite dans la phase aqueuse sous agitation.

B) Essais d'orientation :

Afin de réussir une formulation de nanoémulsion stable, transparente et de savoir choisir un procédé de préparation adéquat, une série d'expériences préliminaires a été réalisée selon le tableau suivant:

| | | | | | | | | | | |
|-------------------|----|----|----|----|---|---|---|---|---|---|
| Smix Ratio | NA | NA | NA | NA | A | A | A | A | A | A |
| Procédé | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |

● Composant inclus. × Composant non-inclus

NA: Non-Applicable. A: Applicable

1 : Procédé n°1. 2 : Procédé n°2

Afin de dégager la formulation la plus stable, nous avons pris comme réponse (critère choix) l'épaisseur du gel et la transparence.

C) Optimisation de la formulation des nanoémulsions

Après avoir prouvé la faisabilité de la préparation des nanoémulsions, nous poursuivons les autres essais d'optimisation.

La conduite d'expériences se fait sur la base des plans d'expérience, nous allons travailler s'inspirant des conditions déjà optimisés dans les études d'orientation.

D) Plan des expériences

Notre objectif étant l'optimisation autour de la formulation 10 qui nous permettra de revoir les valeurs et ensuite délimiter la zone des expériences dont laquelle nous pouvons produire des NEs stables et transparentes.

Nous avons choisi un plan composite centré cubique qui est un plan factoriel réduit présenté dans le (Tableau II.7.).

La stabilité de la NE dépend de plusieurs facteurs (Tableau II.5.), tels que le rapport massique, du mode de préparation et surtout de la nature et de la concentration du tensioactif entrant dans sa composition. Le facteur nouvellement introduit dans cette phase de développement est R, le rapport co-surfactif : polymère. Un autre composant important présent dans la formulation, est Le co-surfactif qui est un tensioactif anionique connu pour être également stabilisant. L'influence de ces composants sur les attributs qualité de la NE a été globalement appréciée au cours des essais d'orientation.

Dans le (Tableau II.6.) les facteurs étudiés sont exprimés en valeurs centrées réduites, codées (-1 désignant le niveau bas, 0 le niveau moyen, et +1 le niveau haut), telles que fournies par le logiciel MODDE 06. Seul le procédé de préparation est fixe, il correspond à celui appliqué au formule 10 (Procédé 2).

Tableau II.5. Présentation des variables de l'étude et caractéristiques.

| Facteurs | Unité | L'intervale |
|--------------|----------|-----------------|
| Co-surfactif | G | 0.1-1 |
| H/S | % | 0.2- 0.4 |
| R | % | 3-4 |
| SOR | % | 1-3.33 |
| H/E | % | 10-30 |

Tableau II.6. Caractéristiques des réponses enregistrées par le formulateur.

| Réponses | Unité de mesure | Description |
|------------------|--------------------------------------|--|
| Epaisseur de gel | Cm | Hauteur de sédimentation |
| Transparence | Observation macroscopique | Aspect (Translucide ou pas) |

Tableau II.7. Présentation de la matrice du plan composite centré pour l'étude des surfaces de réponses en vue de l'optimisation de la formule lors des essais préliminaires.

| Formule | H/E | SOR | R | H/S | Co-surfactif |
|---------|-----|-----|----|-----|--------------|
| 1 | -1 | -1 | -1 | -1 | 1 |
| 2 | 1 | -1 | -1 | -1 | -1 |
| 3 | -1 | -1 | 1 | -1 | -1 |
| 4 | 1 | -1 | 1 | -1 | 1 |
| 5 | -1 | 1 | 1 | -1 | 1 |
| 6 | 1 | 1 | 1 | -1 | -1 |
| 7 | -1 | -1 | -1 | 1 | -1 |
| 8 | 1 | -1 | -1 | 1 | 1 |
| 9 | -1 | -1 | 1 | 1 | 1 |
| 10 | 1 | -1 | 1 | 1 | -1 |
| 12 | -1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 13 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 14 | 0 | -1 | 0 | 0 | 0 |
| 15 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| 16 | 0 | 0 | 0 | -1 | 0 |
| 17 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| 18 | 0 | 0 | 0 | 0 | -1 |
| 19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

| | | | | | |
|----|---|---|---|---|---|
| 21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 22 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 23 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

E) Méthodes de caractérisation des microémulsions et des nanoémulsions :

a. Observation macroscopique :

Pour voir la transparence et la couleur des MEs et NEs, et l'épaisseur du gel pour les NEs.

b. Observation microscopique :

Pour montrer l'aspect de la dispersion à l'aide d'un microscope optique.

c. Mesure de la distribution granulométrique des MEs, NEs :

Le but de notre analyse est de mesurer la taille des gouttelettes, indice de polydispersité et potentiel zêta en utilisant DLS.

La diffusion dynamique de la lumière, appelée aussi « Dynamic Light scattering » (DLS en abréviation anglo-saxonne), sert à mesurer la taille des particules et des molécules. Cette technique mesure la diffusion des particules soumises au mouvement brownien et calcule une distribution de taille des particules. Nous introduisons dans une cellule un volume défini de ME sans aucune dilution ni filtration, en prenant la précaution d'éviter la génération de bulles d'air. Nous tapotons légèrement la cellule avant de mettre le couvercle. Nous placerons ensuite cette cellule dans le sens indiqué sur l'appareil et lancer la mesure. On doit veiller à bien rincer la cellule après chaque mesure. En ce qui concerne le potentiel zêta, un autre type de cellule est utilisée tandis que la procédure reste la même. Observer 15 minutes de repos après retournement des tubes et avant chaque mesure. Il est impératif de travailler dans les mêmes conditions à chaque fois et par le même opérateur. Les mesures sont répétées trois fois.

Chaque échantillon est soumis à une dilution de 1% dans de l'eau distillée et injecté dans l'appareil à l'aide d'une seringue propre sans filtration. Les mesures sont répétées trois fois.

d. La taille des gouttelettes, indice de polydispersité et potentiel zêta :

DLS a permis de déterminer non seulement la taille des particules, mais aussi le degré de stabilité et d'homogénéité dans les différents milieux, grâce au pourcentage de polydispersité (P_i) et indique à la fin le type de distribution.

Mesure du potentiel zéta fournir des informations utiles sur la stabilité des MEs et donner des indications sur les phénomènes d'instabilité tels que la précipitation ou la floculation.

e. Analyse rhéologique :

Afin de mesure de la viscosité des microémulsions, on a eu recours à des analyses Rhéologiques.

Une mesure de la viscosité, le suivi de son évolution dans le temps et l'examen de son Comportement rhéologique, montre si l'émulsion est suffisamment visqueuse « collable » ou Facile à étaler, selon l'usage envisagé.

Il est clair que plus le fluide est épais, plus la viscosité est importante, plus il est liquide, plus la viscosité est faible. En générale, les émulsions les plus visqueuses ont tendance à avoir une meilleure stabilité dans le temps.

- Test d'écoulement
- Test de viscoélasticité

***CHAPITRE III : RESULTATS
ET DISSCUSION***

CHAPITRE III. RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1. Introduction

Dans ce chapitre, nous allons exposer et discuter l'essentiel des résultats expérimentaux obtenus de l'extraction, la caractérisation et l'évaluation de l'activité fertilisante in vivo de notre extrait. Une dernière étape relative à la formulation des nanoparticules, nano-émulsion et microémulsion à base de notre plante (*Ajuga iva*) ainsi leurs caractérisations.

III.2. Les résultats de l'extraction

Dans notre étude, nous avons réalisé une extraction par macération, l'extrait obtenu est caractérisé par UV-VIS pour but l'identifier et évaluer l'activité fertilisante.

III.2.1. Propriétés organoleptiques de l'extrait

L'examen organoleptique de l'extrait d'*Ajuga iva* obtenues a donné les résultats présente comme suit :

Tableau III.1. Caractéristiques organoleptiques de l'extrait.

| Paramètre | Aspect | Couleur | Odeur |
|-------------|---------|---------|-------|
| Observation | Huileux | Verte | Douce |

III.2.2. Teneur en extrait :

Le rendement en extrait est représenté dans le tableau suivant, il a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la plante.

Tableau III.2. Rendement de l'extrait.

| Poids Végétal (g) | Poids d'extrait (g) | Rendement en EX (%) |
|-------------------|---------------------|---------------------|
| 10 g | 2.253 g | 22.53 |

III.3. Caractérisation de l'extrait :

A) Résultats de la spectrophotométrie UV-Visible :

Nous avons analysé l'extrait obtenu par spectrophotométrie UV-VIS, le spectre d'analyse est représenté dans la figure suivante :

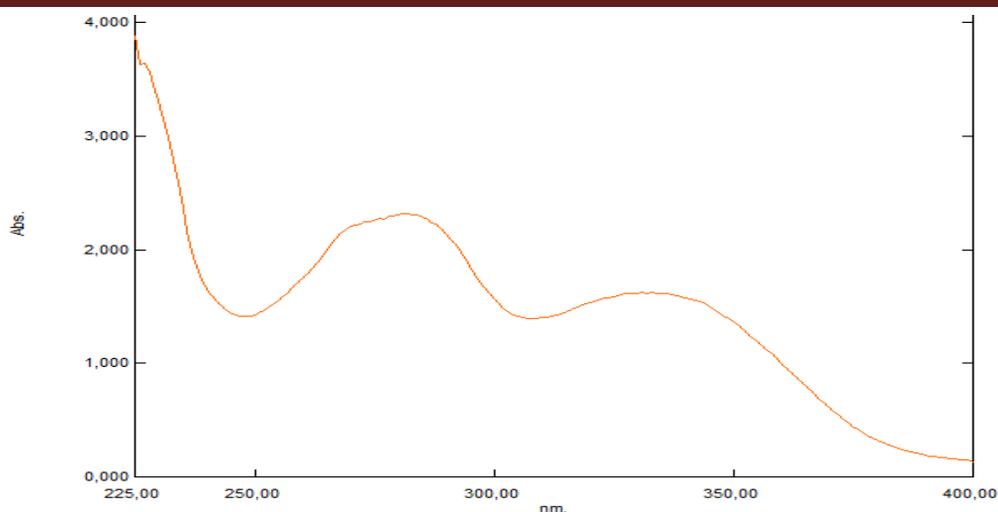


Figure III.1. Spectre UV- visible d'Ajuga iva.

D'après la monographie nous avons trouvé que les phytostéroïdes sont généralement détecté par UV-Vis à une longueur d'onde de 243 nm. Et les flavonoides sont détectés en deux bandes de longueur d'onde de 330 nm et 280nm. [125]

A partir de cette information, nous avons conclu que la longueur d'onde 249 nm obtenu par la dilution de l'extrait dans le méthanol signifie la présence des phyecdystéroïdes dans l'extrait, et que les deux pics d'absorption à 330 et 282 nm liés aux groupes des flavonoïdes.

La légère différence entre les valeurs des longueurs d'onde revient aux conditions de travail et la précision de l'appareil.

B) Résultats de l'évaluation de l'activité fertilisante in-vivo

Afin d'évaluer l'activité fertilisante, nous avons étudié l'effet de l'extrait de la plante Ivette Musquée sur les ovaires des souris matures de poids de 18g à 22g, les résultats obtenus sont décrits dans les tableaux suivants :

Tableau III.3. Tableau récapitulant le poids des ovaires des souris traitées par l'extrait.

| Souris N° | Poids de souris (g) | Poids des ovaires (mg) |
|---------------------------------------|---------------------|------------------------|
| 1 | 18,2 | 40 |
| 2 | 19,3 | 62,65 |
| 3 | 22,3 | 78,8 |
| Moyenne $\pm\sigma$ | 19,93 \pm 2,12 | 60,48 \pm 19,49 |

Tableau III.4. Tableau récapitulant le poids des ovaires des souris matures non traités par l'extrait.

| Souris N° | Poids de souris (g) | Poids des ovaires (mg) |
|---------------------------------------|---------------------|------------------------|
| 1 | 21,3 | 30,45 |
| 2 | 19,3 | 27,5 |
| 3 | 20,8 | 24,95 |
| Moyenne $\pm\sigma$ | 20,47 \pm 1,04 | 27,63 \pm 2,75 |

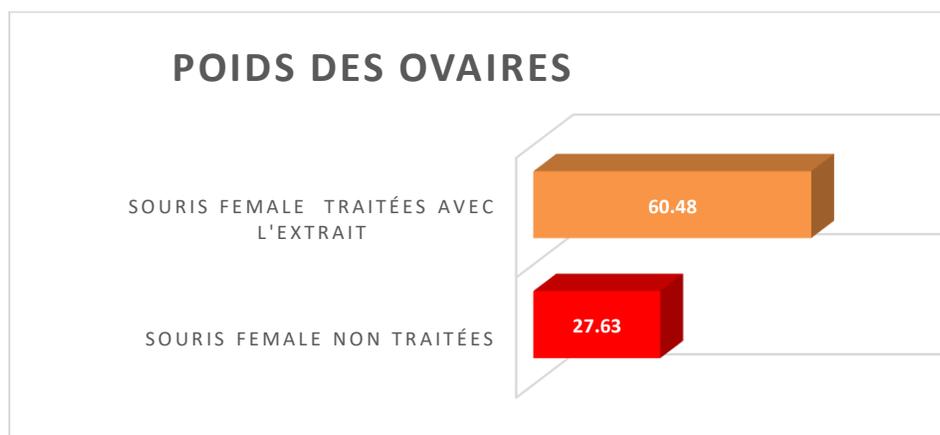


Figure III.2. Histogramme montrant l'évolution pondérale des ovaires chez les différents groupes de souris.

Au regard des résultats obtenus, nous avons remarqué que le poids moyen des ovaires des souris matures après traitement oral à la dose de 500 mg pendant une durée de 06 jours (correspondant à un cycle menstruel chez l'espèce murine) présente une augmentation très significative de l'ordre de 2 fois supérieure à celui des ovaires de souris non traitées. Ce qui nous renseigne une action qui se déroule au niveau ovarien témoignant d'un effet de l'extrait d'Ajuga Iva, L'effet fertilisant féminin qui reste à confirmer ultérieurement par d'autres tests d'activité approprié.

III.4. Formulation des Nanoparticules, Microémulsions, et Nanoémulsions :

III.4.1. Synthèse des Nanoparticules :

Après avoir synthétisé des nanoparticules d'Ag plusieurs fois, nous avons obtenus une quantité négligeable d'AgNPs, pour cette raison nous n'avons pas pu les caractériser.

III.4.2. Formulation des microémulsions :

Après avoir réalisé les formulations des microémulsions, le tableau suivant résume les résultats des caractérisations obtenues.

Tableau III.5. Les caractérisations des microémulsions.

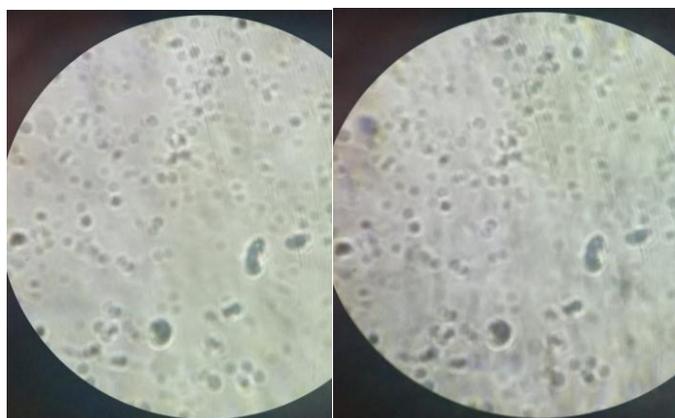
| Formule | PA (%) | SM (excipient 1:2) (%) | Eau distillée | Conductivité (mS/cm) | D32 (nm) | Potential zeta (mV) | Pi | Observation macroscopique |
|---------|--------|------------------------|---------------|----------------------|----------|---------------------|-------|-----------------------------|
| 1 | 0.05 | (1.5 :1) | QSP | 0.226 | 9.8 | -28 | 0.216 | Transparent, Fluide, stable |
| 2 | 0.05 | (1.5 :1) | QSP | 0.230 | 10 | -22.6 | 0.185 | Transparent, Fluide, stable |
| 3 | 0.05 | (1.5 :1) | QSP | 0.243 | 11.6 | -24 | 0.240 | Transparent, Fluide, stable |
| 4 | 0.05 | (1.5 :1) | QSP | 0.240 | 253 | -22.4 | 0.185 | Transparent, Fluide, stable |
| 5 | 0.05 | (1.5 :1) | QSP | 0.224 | 10.3 | -24.4 | 0.200 | Transparent, Fluide, stable |

| | | | | | | | | |
|-----------|------|----------|-----|-------|------|-------|-------|--------------------------------|
| 6 | 0.05 | (1.5 :1) | QSP | 0.264 | 9.9 | -18.9 | 0,359 | Transparent, Fluide, stable |
| 7 | 0.05 | (1.5 :1) | QSP | 0.253 | 11.3 | -21.4 | 0.231 | Transparent, Fluide, stable |
| 8 | 0.05 | (1.5 :1) | QSP | 0.232 | 10.2 | -23.9 | 0.169 | Transparent, Fluide, stable |
| 9 | 0.05 | (1.5 :1) | QSP | 0.228 | 10.2 | -13.6 | 0.185 | Transparent, Fluide, stable |
| 10 | 0.05 | (1.5 :1) | QSP | 0.255 | 10.2 | -21.2 | 0.185 | Transparent, Fluide, stable |
| 11 | 0.05 | (1.5 :1) | QSP | 0.232 | 10.3 | -27.7 | 0.185 | Transparent, Fluide, stable |

A la lumière des résultats obtenus de la formulation des microémulsions des différents essais, nous constatons qu'il s'agit des nanoémulsion et non pas des microémulsions et nous concluons que la formulation 1 est l'optimum qui possède un potentiel zêta très satisfaisant (≈ 30 mV) et une charge libre des gouttelettes négative de même elle présente, un aspect transparent et une bonne stabilité physique, avec une distribution monomodale ($P_i < 1$).

A) Observation microscopique :

La morphologie des gouttelettes dispersées des nanoémulsions peut être observée qu'avec la microscopie électronique à transmission, les images suivantes sont obtenues au microscope optique type « Leica » montrent l'aspect des dispersions qui montre une dispersion dans une phase aqueuse des gouttelettes huileuses de l'extrait de la plante A. Iva



Figures III.3. Observation microscopique (grossissement *1000)

B) Analyse rhéologique :

▪ Test d'écoulement :

Dans le but de définir le type de fluide et le comportement rhéologique des nanoémulsions, des mesures de la viscosité apparente (μ) et de contrainte de cisaillement (τ) en fonction des vitesses de cisaillement ont été également réalisé et sont représentées sur la figure III.5.

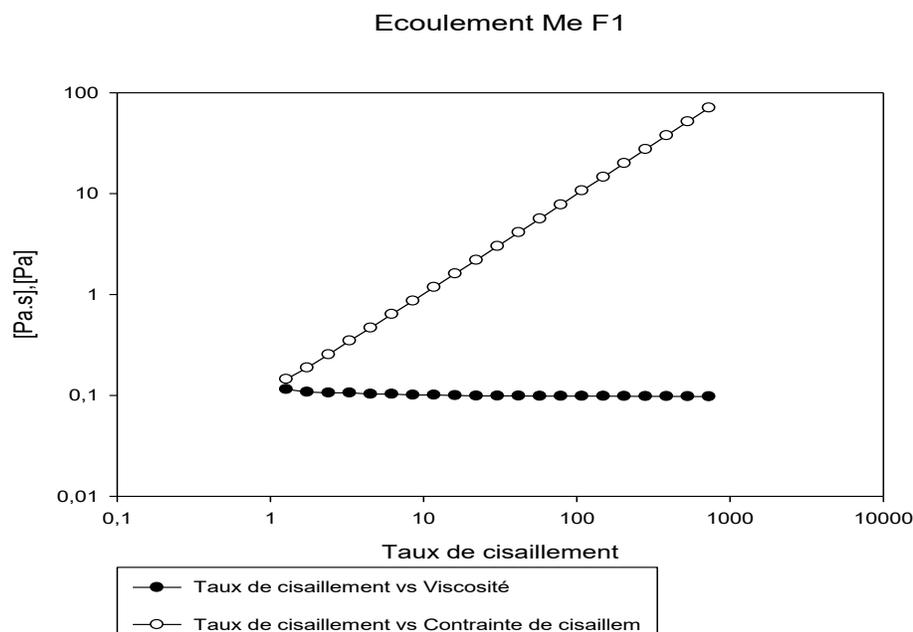


Figure III.4. Test d'écoulement de la formulation F1

Figure III.5. Montre que la contrainte de cisaillement augmente avec la vitesse de cisaillement et la viscosité apparente reste constante avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement. De ce fait nous pouvons conclure que les MEs obtenues sont de type fluide newtonien d'un comportement rhéofluidifiant.

III.4.3. Formulation des nanoémulsions

Les résultats des essais préliminaires sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau III.6. Récapitulatif des premiers essais d'orientation.

| Paramètres | F1 | F2 | F3 | F4 | F5 | F6 | F7 | F8 | F9 | F10 |
|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|
| Aspect | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + | ++ | - |
| Consistance | * | * | * | * | * | * | * | * | * | * |
| Stabilité | ● | ○ | ● | ● | ○ | ○ | ● | ● | ○ | ● |
| Décision | Rejeté | Retenue |

***indice**

Aspect : Translucide (-), Légèrement Trouble (+), Trouble(++)

Contrasistance : Fluide (*), Consistante (*), Moins constitante (*)

Satabilité : Stable (●), Non-stable ○

Suite aux résultats décrits dans le tableau, nous reprenons la formule sélectionnée, la formule 10 sur la base de leur stabilité physique et leur aspect pour mesurer le potentiel Zeta, DLS, image microscopique et rhéologie comme des critères de sélection ultime afin de delimitier les valeurs des variables de composition et procédé.



Figure III.5. Essais préliminaires.

A. Mesures de potentiel zêta :

Le potentiel zêta d'une émulsion est un indicateur de stabilité. Plus la valeur absolue du résultat obtenu est élevée, plus l'émulsion est stable. En effet, le potentiel zêta représente la distance entre le plan de mouvement d'une particule dispersée et le plan de neutralité de cette dernière. Plus cette distance est élevée, plus les particules se repoussent, on note alors des forces d'attraction très faibles.

Généralement, dans le cas des NEs stables, les valeurs du potentiel zêta avoisinent au moins en valeur absolue 30 mV.

La mesure de potentiel zêta est réalisée en phase aqueuse et nécessite un milieu relativement non turbide. Aussi, la mesure est réalisée sur une émulsion très diluées obtenues par mélange de 1 mL de nanoémulsion dans 100mL d'eau. Le potentiel zeta a été déterminé en utilisant un Zetasizer. D'après le résultat de la zétamétrie obtenue (-28.7 mV), en remarquant que sa charge est négative, ce qui désigne que la charge libre des gouttelettes est négative ainsi le potentiel zeta obtenu est avoisine de la valeur absolue 30mV, (28.7mV \approx 30 mV) ce qui signifie que notre NEs est stable.

B. Mesure de la distribution de taille des nanoémulsions :

La mesure a été effectuée en utilisant la technique de la diffusion dynamique de la lumière, appelée aussi « dynamic light scattering » DLS, sert à mesurer le diamètre moyen des particules (Z-average) et l'indice de polydispersité), Cette technique mesure la diffusion des particules soumises au mouvement brownien et calcule une distribution de taille des particules.

Les résultats confirment qu'il s'agit bien d'une nanoémulsion avec une taille des gouttelettes de 8.4 nm qui est en accord avec les données de la littérature. [126]

La distribution de taille des gouttelettes dispersées, est déterminée grâce au pourcentage de polydispersité (Pi) de notre cas est inférieur à 1 de valeur de 0.417, ce qui indique que notre distribution est monodispersée. Cette dernière fait apparaître un seul pic et montre que la majeure partie de la population des particules dispersées possède une taille qui est au tour de 10 nm.

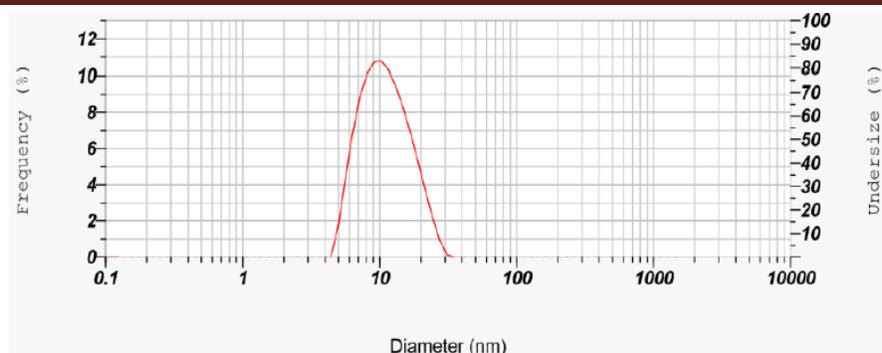
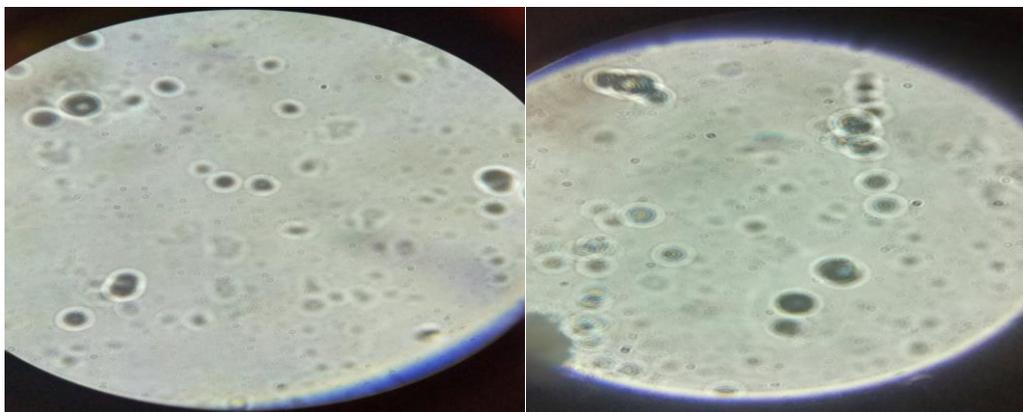


Figure III.6. Distribution des diamètres des nanogouttelettes de la formule sélectionnée à l'issue des essais préliminaires.

C. Observation microscopique :

La morphologie des gouttelettes dispersées des NEs peut être observée qu'avec la microscopie électronique à transmission, les images suivantes sont obtenues au microscope optique type « Leica » montrent l'aspect des dispersions qui montre une dispersion dans une phase aqueuse et organisation du tensif actif, co-surfactif et du polymère autour des gouttelettes huileuses de l'extrait de la plante A. Iva ce qu'indique une encapsulation de notre principe actif.



Figures III.7. Observation microscopique optique (grossissement *1000)

III.4.4. L'optimisation des nano-émulsions

Dans cette étape d'optimisation de la formule, le nombre de facteurs se résume à quatre (H/E, SOR, R et H/S). La matrice du plan composite centré cubique ainsi que les réponses enregistrées sont présentées dans le tableau III.8. La caractérisation est faite après 12j de repos.

Tableau III.7. Matrice du plan composite centré cubique et réponses enregistrées.

| Formule | H/E | SOR | R | H/S | Co-surfactif | Y1 | Y2 |
|---------|-----|-----|----|-----|--------------|-----|----|
| 1 | -1 | -1 | -1 | -1 | 1 | 0 | 2 |
| 2 | 1 | -1 | -1 | -1 | -1 | 0.3 | 3 |
| 3 | -1 | -1 | 1 | -1 | -1 | 0 | 2 |
| 4 | 1 | -1 | 1 | -1 | 1 | 0 | 2 |
| 5 | -1 | 1 | 1 | -1 | 1 | 0 | 1 |
| 6 | 1 | 1 | 1 | -1 | -1 | 0 | 2 |
| 7 | -1 | -1 | -1 | 1 | -1 | 0.3 | 3 |
| 8 | 1 | -1 | -1 | 1 | 1 | 0 | 2 |
| 9 | -1 | -1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 |
| 10 | 1 | -1 | 1 | 1 | -1 | 0 | 2 |
| 12 | -1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| 13 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| 14 | 0 | -1 | 0 | 0 | 0 | 0.4 | 3 |
| 15 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0.1 | 3 |
| 16 | 0 | 0 | 0 | -1 | 0 | 0 | 2 |
| 17 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0.1 | 3 |
| 18 | 0 | 0 | 0 | 0 | -1 | 0.1 | 3 |
| 19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0,6 | 3 |
| 20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.8 | 3 |
| 21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.3 | 3 |
| 22 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.2 | 3 |
| 23 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.2 | 3 |

*indice de transparence : 1) transparente, 2) légèrement trouble, 3) trouble

La **figure III.11**. Montre l'effet des facteurs (H/E, SOR, R et H/S) sur les réponses : l'épaisseur du gel et transparence.

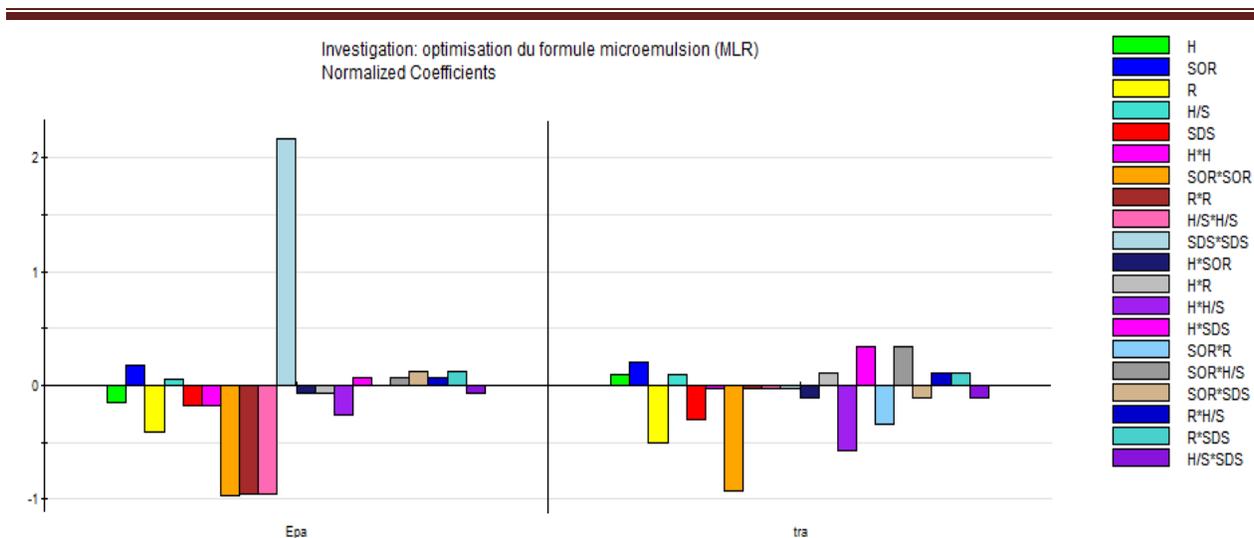


Figure III.8. Représentation groupée des coefficients normalisés pour l'analyse de surface de réponses.

Le facteur H/E agit positivement sur l'épaisseur du gel et négativement sur la transparence, alors que les facteurs SOR et le H/S agissent positivement sur l'épaisseur du gel et la transparence. Et le R agit négativement sur l'épaisseur du gel et la transparence. En revanche, plus le SDS est élevé, plus l'épaisseur de gel est élevée.

Par ailleurs, l'interaction SOR*SOR présente une influence non négligeable sur Y1 et Y2. De même pour les interactions suivantes concernant Y1, citons R*R et H/S*H/S.

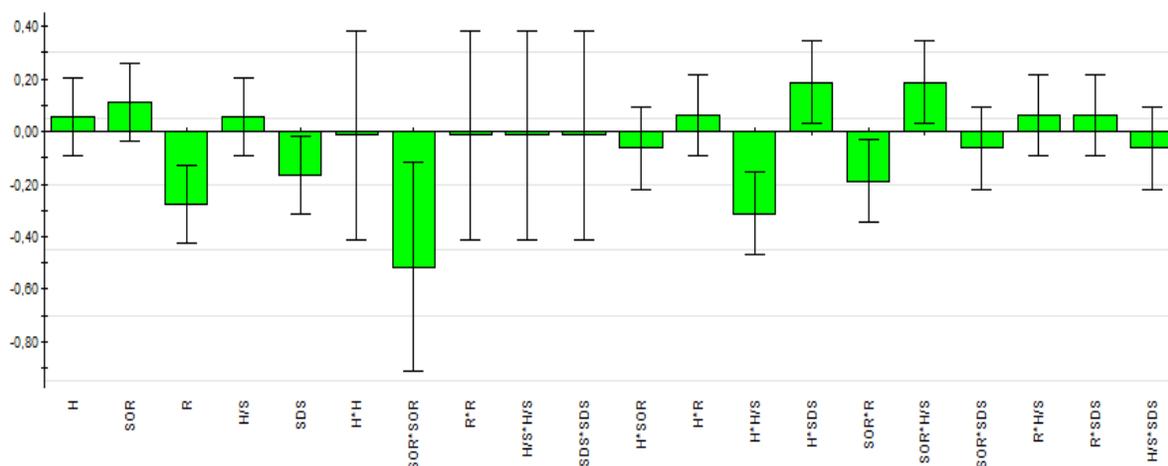


Figure III.9. Histogrammes de l'influence des coefficients sur la transparence.

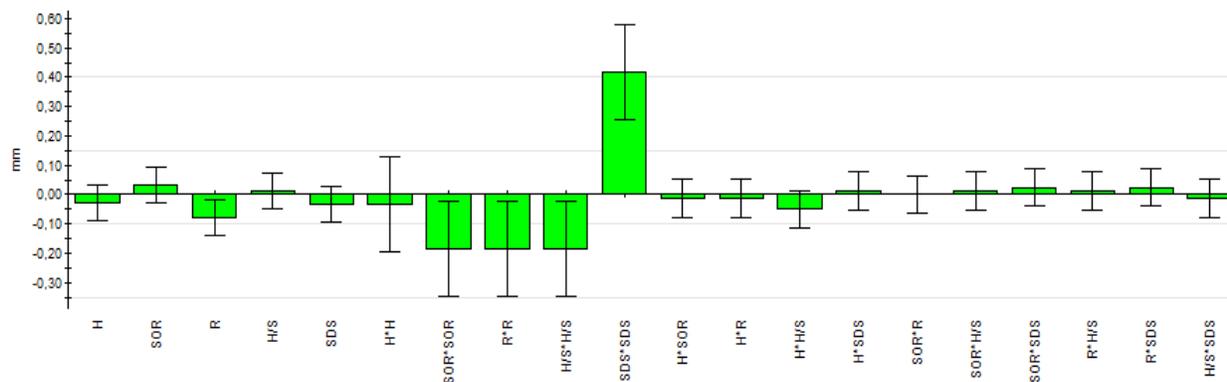


Figure III.10. Histogrammes de l'influence des coefficients sur l'épaisseur du gel.

En effet, les Figure III.12 & Figure III.13 montrent clairement les effets de chaque facteur sur chacune des réponses épaisseur de gel et la transparence.

Ces données confirment l'influence du rapport R sur l'apparition du gel. Et lorsque le rapport H/S élevé entraîne la formation d'une NE moins transparente, tandis qu'un rapport R élevé minimise l'apparition du gel, c'est-à-dire qu'un polymère en excès entraîne inévitablement l'apparition du phénomène de désolvatation.

De la même manière, la transparence de la préparation est influencée par plusieurs facteurs à savoir H/E, SOR et H/S, à travers leurs termes linéaires mais également les termes quadratiques (SOR^2 et H/S^2), ainsi que certaines de leur interactions, telles que $H/E*SOR$, $H/E*H/S$ et $SOR*H/S$ (figure III.8). Selon la littérature, dans une NE contenant la tension active utilisé, lorsque son rapport à sa phase huileuse est élevé, l'émulsion gagne en transparence. Aussi, les émulsions les plus transparentes sont celles dont la fraction huileuse est importante dans la phase organique. Les données récoltées dans notre étude sont en accord avec les études précédentes.

III.4.5. Caractérisations des nano-émulsion

Au regard, des résultats obtenus sur la formulation des nano-émulsions des différents essais, nous dégagons que la formulation ? est la plus stable qui présente un aspect transparent et une bonne stabilité physique.

La formulation 5 ? retenue subir une caractérisation physicochimique (taille des particules, PDI et potentiel zêta) ainsi qu'une observation au microscope optique.

Les principales caractérisations physicochimiques effectuées sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau III.8. Caractérisation physicochimique.

| Formule | Diamètre (nm) | Potentiel zeta (mV) | PdI | PH |
|---------|---------------|---------------------|-------|------|
| 5 | 100.1 nm | -28 | 0,206 | 6,02 |

Les résultats de la caractérisation confirme qu'il s'agit bien d'une nano émulsion stable avec un potentiel zêta satisfaisant (± 30 mV) et une distribution monomodale ($P_i < 1$), de même un diamètre avec une valeur acceptable en raison des problèmes techniques rencontré lors de leur préparation.

A) Observation microscopique :

La figure suivante montre des images d'observation microscopique avec grossissement de 1000.

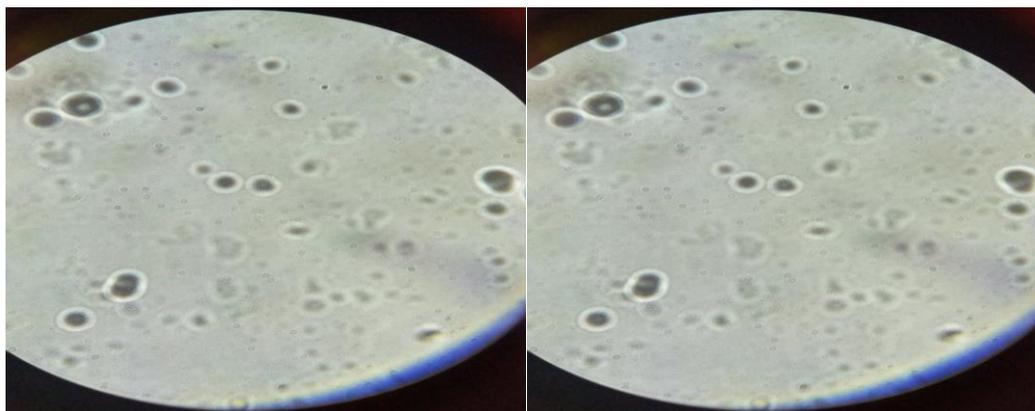


Figure III.11. Observation microscopique (grossissement *1000).

Les images suivantes montrent la formation d'un réseau autour des gouttelettes grace au tention active et la combinaison du couple polymère-co-tensionactif qui permettra de les stabiliser, ce qu'indique une encapsulation de notre principe actif.

B) Analyse rhéologique

▪ Test d'écoulement :

Le résultat obtenu montre que la viscosité apparente est constante avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement et la contrainte de cisaillement va en croître avec la vitesse de cisaillement. De ce fait nous pouvons conclure que les NEs obtenues sont de type fluide newtonien d'un comportement rhéofluidifiant.

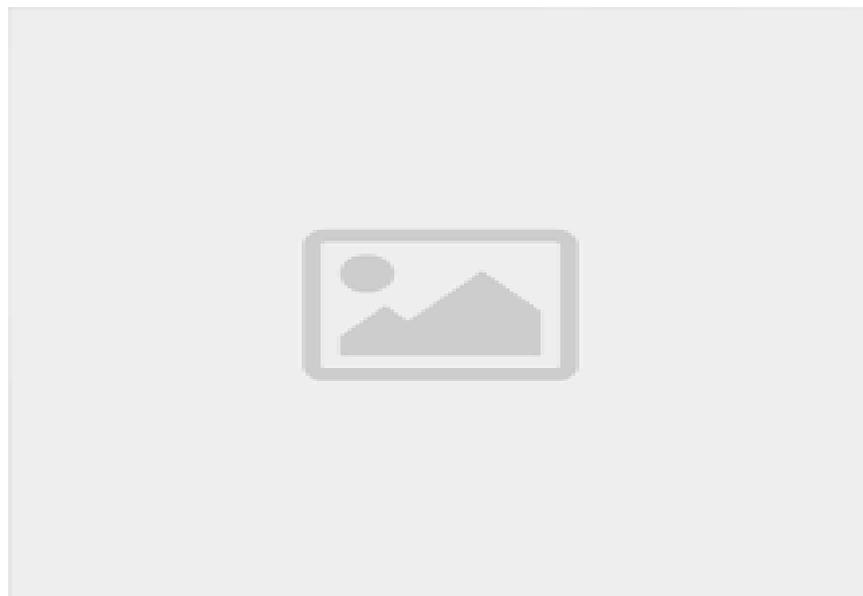


Figure III.12. Test d'écoulement de la formulation E5

▪ Test de viscoélasticité

Afin de déterminer les modules G' et G'' à basse fréquence caractéristique d'émulsion, on établit la dépendance de ces modules en fonction du taux de déformation en %. Les résultats obtenus sont représentés sur la Figure III.16.

- Lorsque le module élastique G' est au-delà du module visqueux G'' dans la zone LVE donc notre dispersion est viscoélastique.
- Au point de croisement $G'=G''$, la valeur de déformation ou contrainte seuil représente une valeur de déformation suffisante pour désorganiser les particules et modifier le réseau de particules connectée et obtenir un comportement d'un liquide.
- La valeur de contrainte seuil γ est alors égale à 2.75 Pa à 1% au de cette valeur et pour des déformations élevées, le comportement liquide domine, le module visqueux G'' est plus élevé que le module élastique G' .

Donc on conclut que le caractère viscoélastique est un comportement non-Newtonien très important et très fréquent dans les solutions de polymères. La réponse du fluide à une déformation présente à la fois un aspect élastique.



Figure III.13. Test de viscoélasticité

CONCLUSION GENERALE

La présente étude a été portée sur la plante d'ivette musquée, utilisées en médecine traditionnelle dans le traitement de la fertilité. Dans notre étude nous nous sommes intéressés à étudier l'efficacité de l'extrait de la plante

Ivette Musqué obtenue par le procédé d'extraction par macération pour traiter l'infertilité. Au cours de cette étude, Le protocole d'extraction par macération nous a donné un rendement de 22.53%.

L'extrait obtenu a été caractérisé afin d'identifier la substance active qui est responsable de l'activité thérapeutique en utilisant plusieurs méthodes d'analyse, à savoir : UV Visible et IR. A travers ces résultats de la caractérisation obtenus, nous avons conclu qu'il s'agit des phytoecdysteroides et les flavonoïdes.

Après la réalisation de l'étude in-vivo sur les souris femelles matures, l'évaluation de l'ovulation a prouvé que notre extrait présente une activité fertilisante, reste a confirmer par d'autres tests. Au cours de cette étude, trois formulations ont été réalisés, nanoparticule, nanoémulsion et microémulsion a base de cet extrait obtenu.

La synthèse des nanoparticules d'argent a été réalisé, et en raison de leurs faibles rendements, on n'a pas pu les caractérisés.

L'élaboration des microémulsions est basée sur l'utilisation des plans d'expériences, qu'il s'agit d'optimiser la formule qualitative et quantitative de la microémulsion, ainsi que sa caractérisation. Après avoir formulé nous avons constatés que l'essai 1 est l'optimum qui possédé une bonne stabilité physique et aspect transparent.

Les nano émulsions ont été formulés suite à des essais préliminaires et en se basant sur des critères de choix (épaisseur de gel et transparence). Une des formulations a été sélectionnée sur la base de leur stabilité physique et leur aspect. Des critères de sélection ultime ont été réalisées à savoir : DLS, Zeta métrie, rhéologie et une observation microscopique afin de délimiter les valeurs des variables de composition et procédé. La formule 10 est sélectionné comme la formulation la plus stable et transparente qui possède un diamètre de 8.4nm et une distribution monodispersé avec une charge de potentiel Zeta -28.7mV . L'observation microscopique a montré une dispersion dans la phase aqueuse et une organisation au tour des gouttelettes huileuses (substance active) ce

qu'indique leur encapsulation.

L'analyse rhéologique prouve que les nanoémulsions préparées sont de type de fluide newtonien d'un comportement rhéofluidifiant.

Suite à ces résultats obtenus, une étape d'optimisation de formulation des nanoémulsions a été réalisée. L'essai optimal sélectionnée c'est la formulation ? qui présente un aspect transparent et une bonne stabilité physique avec un potentiel Zeta -28mV, une distribution monodispersé et un diamètre de ?0.4 nm en raison des problèmes techniques rencontré lors de leur préparation.

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

- Optant pour une formulation d'une autre forme pharmaceutique (des ovules, injectables) à partir de l'extrait obtenu.
- Effectuant d'autres tests d'activité appropriés pour confirmer l'effet fertilisant (bilan hormonale, étude histologique).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Historical review of medicinal plants' usage. Biljana Bauer Petrovska.
- [2] National Institutes of Health. (January 2012). Doi : 10.4103/0973-7847.95849 Traité pratique de la phytothérapie. Dr Jean-Michel Moral. Editions Grancher.
- [3] Oudini Abdelatif, Maaloul Youcef, Etude phytochimique et activités biologique des extraits aqueux et hydroéthanolique des feuilles d'*Ajuga iva* L chez les rats diabétique, 2020-2021
- [4] Bouyahya, A, et Al. 2020, Ethnomedicinal use, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of *Ajuga iva* (L.) schreb. Journal of Ethnopharmacology, ELSEVIER. 258,20.
- [5] El Gator - Andalucía - Alt. 367 - 22/04/2017, NIKON D800/ Conil de la Frontera - Andalucía - Alt. 11 - 24/04/2017 NIKON D800, floreAlpes
- [6] G. bonnief, R. Dowin, la grande flore en couleur, 4^{ème} édition Belin, 2004, 669.
- [7] Centre for mediterranean Coopération, Internationnal Union For conservation of nature and natural Resources, A guide to medicinal plants in north Africa, 2005,256.
- [8] Ernest Cosson, Itinéraire d'un voyage botanique en Algérie, société botanique de France, 1857,107.
- [9] Benedict Pierre George Hochrentiner, Le sud-Oranais : etudes Floristiques et phytogéographiques faites au cours d'une exploration dans le Sud-Ouest de l'Algérie, 1904.
- [10] MESSAOUDI Khoukha Les flavonoïdes d'*Ajuga iva* et de *Rhamnus alaternus*: Etude de leur effet antioxydant et sur l'alpha glucosidase,2011
- [11] Jaoud El Hilaly, Hypoglycaemic effect of the lyophilised aqueous extract of *Ajuga iva* in normal and streptozotocin diabetic rats, Journal of Ethnopharmacology, Volume 80, Issues 2-3, May 2002, Pages 109-113
- [12] Jaoud El Hilaly, Vasorelaxant effect of the aqueous extract of *Ajuga iva* in rat aorta, Journal of Ethnopharmacology volume 93, Issue 1, July 2004, Pages 69-74
- [13] A. Chenni, 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 volume 109, Issue 2, 19 January 2007, Pages 207-213
- [14] S. Bouderbala, Changes in antioxidant defense status in hypercholesterolemic rats treated with *Ajuga iva*, Phytomedicine Volume 15, Issues 6-7, 20 June 2008, Pages 453-461
- [15] Latifa Bouhaous, Effet d'un extrait aqueux lyophilisé de *Globularia alypum* sur les teneurs en lipides plasmatiques et hépatiques et le statut redox, chez des rats rendus hypercholestérolémique, Université de Oran 2012.
- [16] Bouabdelli F. Djelloul A. Kaid-Omar Z. Semmoud A. Addou A. (2012). Antimicrobial Activity of 22 Plants Used in Urolithiasis Medicine in Western Algeria. Asian Pacific Journal of Tropical Disease.
- [17] A, Rouibi et Al, comparative de l'activité antispasmodique de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* L. et de l'ibuprofène chez les souris, Afrique science 2013.

- [18] S Mouheb, ANTIMICROBIAL AND ANALGESIC ACTIVITY OF AQUEOUS EXTRACT OF ALGERIAN AJUGA IVA (L.) SCHREB (LAMIACEAE), 2018
- [19] Karima Ounaissia, ANTICANDIDOSIC ACTIVITY OF LEAF, STEM AND ROOT EXTRACTS OF *Ajuga iva* L. FROM ALGERIA, 2021
- [20] Rice-Evans C.A. Miller N.J. and Paganga G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Plant Science*.
- [21] El Hilaly J. Zafar H. Israili. Lyoussi B. (2004). Acute and chronic toxicological studies of *Ajuga iva* in experimental animals. *Journal of Ethnopharmacology*. P: 43– 50.
- [22] Halimi A.K. (2004). *Les plantes médicinales en Algérie*. 1ère édition. BERTI Editions, Alger. P: 156-157
- [23] Coll J. Yudelsy A. Tandron. (2008). neo-Clerodane diterpenoids from *Ajuga*: structural elucidation and biological activity. *Phytochem Rev*. P: 25–49
- [24] Wessner M. Champion B. Girault J. P. Kaouadji N. Saidi B. and Lafont R. (1992). Ecdysteroids from *Ajuga iva*. *Phytochemistry-Oxford*. P: 3785-3788
- [25] Bondi M.L. Al-Hillo M.R.Y. Lamara K. Ladjel S. Bruno M. Piozzi F. and 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* P: 1023-1025.
- [26] Ben Jannet H. Al Mourabit A. Gateau-Olesker A. Marazano C. and Mighri Z. (1999). Enantioselective synthesis of natural biologically active ivaide A: 1, 3-di-(R)- α -hydroxyglyceride glycerol. *Tetrahedron Asymmetry* P: 2381-2386.
- [27] Ben Jannet H., Harzallah-skhir F., Mighri Z., Simmonds M.S. and Blaney W.M. (2000). Responses of *Spodoptera littoralis* larvae to Tunisian plant extracts and to neoclerodane diterpenoids isolated from *Ajuga pseudoiva* leaves. *Fitoterapia* P: 105-112
- [28] Bennaghmouch L. Hajjaji N. Gmira N. (2002). Flavonoïdes d'*Ajuga iva* (L.) Schreb (Labiée). *Actes Inst. Agron. Vet. (Maroc)*. Vol.22, P: 25-30
- [29] Ghedira K. Chemli R. Richard B. Zeches M. and 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*. Page: 100-111
- [30] L.R, McMahon A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle, July 2000.
- [31] N. Boizot , j. Charpentier, méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier, 2006.
- [32] La Rousse, Encyclopédie des plantes médicinales, Page 15, 2001.
- [33] Bajguz A, Bakala I, Talarek M (2015) Ecdysteroids in plants and their pharmacological effects in vertebrates and humans. *Stud Nat Prod Chem* 45:121–145.
- [34] Barbier M (1978) Introduction to chemical ecology. World, p 232

- [35] Chaubey MK (2018) Role of phytoecdysteroids in insect pest management: a review. *J Agron* 17(1):1–10. <https://doi.org/10.3923/JA.2018.1.10>
- [36] Lafont R, Ho R, Raharivelomanana P, Dinan L (2011) Ecdysteroids in ferns: distribution, diversity, biosynthesis, and functions. In: Kumar A, Fernández H, Revilla M (eds) *Working with ferns*. Springer, New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7162-3_22
- [37] Phytoecdysteroids Properties, Biological Activity and Applications, Yusufvna, U et al.
- [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] Ghedira K. Chemli R. Richard B. Zeches M. and 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 Medicinales et Phytothérapie*.
- [41] Breschi, M.C et al, *journal of natural products (Lloydia)* 55, 1145-1148
- [42] Alliotto. G et Pollio.A, *American journal of nephrology* 14, 399-411
- [43] Pascual Villalobos et Robledo, Screening for anti-insect activity in Mediterranean plants, *Industrial Crops and Products*, Volume 8, Issue 3, September 1998
- [44] Ben Jannet H. Al Mourabit A. Gateau-Olesker A. Marazano C. and Mighri Z. (1999). Enantioselective synthesis of natural biologically active ivaide A: 1, 3-di-(R) hydroxyglyceride glycerol. *Tetrahedron Asymmetry*
- [45] El Hilaly J. Lyoussi B. (2002). Hypoglycaemic effect of the lyophilised aqueous extract of *Ajuga iva* in normal and streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*
- [46] El Hilaly J. Lyoussi B. Wibo M. and Morel N. (2004). Vasorelaxant effect of the aqueous extract of *Ajuga iva* in rat aorta. *Journal of Ethnopharmacology*.
- [47] El-Hilaly J. Tahraoui A. Zafar H. Israili. Lyoussi B. (2006). Hypolipidemic effects of acute and sub-chronic administration of an aqueous extract of *Ajuga iva* L. whole plant in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*.
- [48] Chenni A. Ait Yahia D. Boukortt F. O. Prost J. Lacaille-Dubois M. A. Bouchenak M. (2007).
- [49] Bouderbala S. Lamri-Senhadjji M. Prost J. Lacaille-Dubois M. A. Bouchenak M. (2008).
- [50] Taleb Senouci et Al, *livre phytomedecine* volume 16, issues 6-7, june 2009, page 623-631
- [51] F El Amrani et al, *article de synthèse, phytothérapie* volume 8, page 161-165 (2010)

- [52] Radi Aly, 2011, pest management science Volume 67, issue 12, page 1439-1498, biological activity of naturel phytoecdysteroids from ajuga-iva against the sweetpotato whitefly Bemisia tabaci and the perseae mite oligonychus perseae
- [53] A Rouibi et al, étude comparative de l'activité antispasmodique de l'extrait aqueux d'ajuga iva L. et de l'ibuprofène chez les souris, Afrique science : revue internationale des sciences et technologies, vol 8 no 2(2012)
- [54] D Chabane, F Saidi, A Rouibi, K Azine, activité hypoglycémique de l'extrait aqueux d'ajuga-iva L. Schreber chez les rats diabétiques induite par l'alloxane, Afrique science : revue internationale des sciences et technologies, Vol 9 no 1 (2013)
- [55] Kemassi Abdallah, recherche et identification de quelques plantes médicinales à caractère hypoglycémiant de la pharmacopée traditionnelle des communautés de la vallée du M'Zab (sahara septentrional Est algérien), 2014
- [56] Ahmed Bakrim, les phytoecdystéroïdes sont des analogues végétaux des hormones de mue des insectes, 2014
- [57] M Hachi, contribution to the study and floristic ethnobotany flora medicinal use 2015, of the central middle atlas region (morocco)
- [58] H Orch et al, étude ethnobotanique des plantes médicinales utilisées dans le traitement du diabète, et des maladies cardiaques dans la région d'Izaréne (nord du Maroc) 2015
- [59] Amel Boudjelal et al, effets antidiabétiques des infusions aqueuses d'Artemisia herba-alba et d'ajuga-iva chez des rats diabétiques induits par l'alloxan, 2015
- [60] El Youbi et al, ethnopharmacological survey of plants used for immunological diseases in four region of Morocco, European journal of medicinal plants 13(1) : 1-24, 2016, article no.EJMP.12946, 3 march 2016
- [61] M Barkaoui ethnobotanical servey of medecinal plants used in the traditional treatment of diabetes in Chtouka Ait Baha and Tiznit (western anti-Atlas), Marocco, journal of ethnopharmacology volume 198, 23 february 2014, pages 338-350
- [62] O Chouitah, essential oil from the leaves of ajuga-iva : chemical composition ans antimicrobial oil bearing plants volume 20, 2017
- [63] S Mouheb et ses collaborateurs, Activité antimicrobienne et analgésique de l'extrait aqueux d'ajuga iva (L.) Schreb (Lamiaceae) d'Algerie-agroBiologia 2018, Université de blida 1 Saad dahleb
- [64] S, Fettach, phenolic content, acute toxicity of ajuga-iva extracts ans assessment of their antioxidant and carbohydrate digestive e,zyme inhibitory effects, south african journal of Botony volume 125, septembre 2019, pages 381-385

- [65] Abdelhakim Bouyahya, ethnomedicinal use, phytochemistry, pharmacology, and toxicology of *Ajuga reptans* (L.) Schreb, *Journal of Ethnopharmacology* volume 258, 10 August 2020, 112875
- [66] Souad Senhadji et al, phenolic contents and Antioxidant properties of aqueous and organic extracts of a Moroccan *Ajuga reptans* subsp. *pseudoajuga*, *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* volume 26, 2020- issue 3
- [67] Abdelhakim Bouyahya, Pharmacological investigation of *Ajuga-reptans* essential oils collected at three phenological stages, *Flavour and Fragrance Journal* volume 36, issues 1 pages 75-83 first published : 17 September 2020 (2021)
- [68] Karima Ounaissia ANTICANDIDOSIC ACTIVITY OF LEAF, STEM AND ROOT EXTRACTS OF *Ajuga-reptans* L. FROM ALGERIA, 2021
- [69] L'encapsulation par les capsules et les sphères, Rajput et al 2012; Gasmi 2015; Dubey et al 2009.
- [70] Lee M, Kim SW. Polyethylene glycol-conjugated copolymers for plasmid DNA delivery. *Pharm Res* 2005; 22: 1-10.
- [71] Riaz M : méthode de préparation des liposomes. *Pak J Pharm Sci* 1996, 9(1):65–77.
- [72] Liposomes comme vecteurs de médicaments. *IJPLS* 2011, 2(7):945–951.
- [73] Les nanoparticules, *Médecine Nucléaire* 2010
- [80] Langer R. Biomaterials in drug delivery and tissue engineering: one laboratory's experience. *Acc Chem Res* 2000; 33: 94-101.
- [81] Bhadra D, Bhadra S, Jain P, Jain NK. Pegnology: a review of PEG-ylated systems. *Pharmazie* 2002; 57: 5-29.
- [82] Reverchon E, Adami R. Nanomaterials and supercritical fluids. *The Journal of Supercritical Fluids* 2006; 37: 1-22.
- [83] Cours 'les implants' de Dr.Hadj Ziane, Département de génie des procédés Saad Dahlab.
- [84] Fanny STAUFFER, La préparation d'émulsions doubles par un système microfluidique, 26 Mars 2014
- [85] Tenjarla S. Microemulsions : an overview and pharmaceutical applications. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst.* 1999;461-521
- [86] Lawrence MJ, Rees GD. Micro emulsion-based media as novel drug delivery systems. *Adv Drug Deliv Rev.* 2000.
- [87] Vandamme TF. Microemulsions as ocular drug delivery systems : recent developments and future challenges. *Prog Retin Eye Res.* 2002.

- [88] Flanagan J, Singh H. Microemulsions : a potential delivery system for bioactives in food. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2006;221.
- [89] Ghosh PK, Murthy RS. Micro émulsions : un système potentiel d'administration de médicaments. *Curr Drug Deliv.* 2006; 167.
- [90] Jadhav KR, Shaikh IM, Ambade KW, Kadam VJ. Applications of micro emulsion based drug delivery system. *Curr Drug Deliv.* 2006; 267.
- [91] Spornath A, Aserin A. Microemulsions as carriers for drugs and nutraceuticals. *Adv Colloid Interface Sci.* 2006;128-130.
- [92] Boonme P. Applications of micro emulsions in cosmetics. *J Cosmet Dermatol.* 2007;223.
- [93] Narang AS, Delmarre D, Gao D. Stable drug encapsulation in micelles and microemulsions. *Int J Pharm.* 2007;345(1-2).
- [94] Santos P, Watkinson AC, Hadgraft J, Lane ME. Application de micro-émulsions dans l'administration dermique et transdermique de médicaments. *Skin Pharmacol Physiol.* 2008;246.
- [95] Azeem A, Rizwan M, Ahmad FJ, Khan ZI, Khar RK, Aqil M, et al. Emerging role of micro emulsions in cosmetics. *Recent Pat Drug Deliv Formul.* 2008;275. Review.
- [96] Karasulu HY. Microemulsions as novel drug carriers : the formation, stability, applications and toxicity. *Expert Opin Drug Deliv.* 2008;119.
- [97] Gasco MR, Priano L, Zara GP. Chapitre 10 - Nanoparticules et microémulsions de lipides solides pour l'administration de médicaments dans le SNC. *Prog Brain Res.* 2009;180:181.
- [98] Azeem A, Khan ZI, Aqil M, Ahmad FJ, Khar RK, Talegaonkar S. Micro emulsions as a surrogate carrier for dermal drug delivery. *Drug Dev Ind Pharm.* 2009; 525.
- [99] Patel D, Sawant KK. Self micro-emulsifying drug delivery system : formulation development and biopharmaceutical evaluation of lipophilic drugs. *Curr Drug Deliv.* 2009; 419.
- [100] Mehta SK, Kaur G. Microemulsions as carriers for therapeutic molecules. *Recent Pat Drug Deliv Formul.* 2010;35-48.
- [101] Zoumpantoti M, Stamatis H, Xenakis A. Microemulsion-based organogels matrices pour l'immobilisation de la lipase. *Biotechnol Adv.* 2010; 395-406.
- [102] Russell-Jones G, Himes R. Water-in-oil microemulsions for effective transdermal delivery of proteins. *Expert Opin Drug Deliv.* 2011; 537-46
- [103] Furlanetto S, Cirri M, Piepel G, Mennini N, Mura P. Mixture experiment method in the development and optimization of micro emulsion formulations. *J Pharm Biomed Anal.* 2011;610-7.

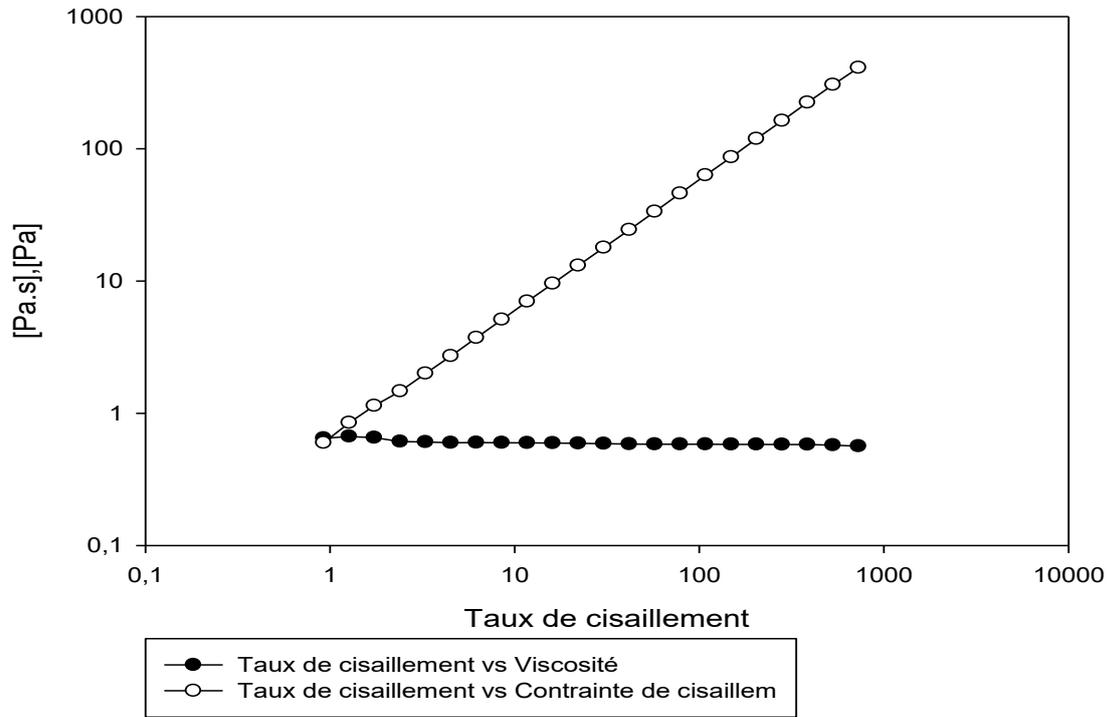
- [104] Hathout RM, Woodman TJ. Applications de la RMN dans la caractérisation des micro-émulsions pharmaceutiques. *J Control Release*. 2012; 62-72
- [105] Hörmann K, Zimmer A. Drug delivery and drug targeting with parenteral lip- idnano emulsions - A review. *J Control Release*. 2016;223:85-98.
- [106] Fonseca-Santos B, Gremião MP, Chorilli M. Nanotechnology-based drug de- livery systems for the treatment of Alzheimer's disease. *Int J Nanomedicine*. 2015;10:4981-5003.
- [107] Yukuyama MN, Ghisleni DD, Pinto TJ, Bou-Chacra NA. Nano émulsion : pro- cess selection and application in cosmetics - a review. *Int J Cosmet Sci*. 2016;38(1):13-24.
- [108] Thukral DK, Dumoga S, Mishra AK. Nanoparticules lipidiques solides : nanovecteurs thera- peutiques prometteurs pour l'administration de médicaments. *Curr Drug Deliv*. 2014 ;11(6) :771-91.
- [109] Cerpnjak K, Zvonar A, Gašperlin M, Vrečer F. Les systèmes à base de lipides comme une approche prometteuse pour améliorer la biodisponibilité des médicaments peu hydrosolubles. *Acta Pharm*. 2013;63(4):427-45.
- [110] Pawar KR, Babu RJ. Matériaux lipidiques pour l'administration topique et transdermique de nano-émulsions. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*. 2014;31(5):429-58.
- [111] Ganta S, Talekar M, Singh A, Coleman TP, Amiji MM. Nano émulsions dans la recherche transla- tionnelle-opportunités et défis dans la thérapie ciblée du cancer. *AAPS Pharm Sci Tech*. 2014;15(3):694-708.
- [112] Mc Clements DJ. Nano emulsion-based oral delivery systems for lipophil- ic bioactive components : nutraceuticals and pharmaceuticals. *Ther Deliv*. 2013;4(7):841-57.
- [113] Systematic Reviews in pharmacy. une revue à facettes multiples dans le domaine de la pharmacie-Emulsion Micro Emulsion et Nano Emulsion (Une revue). 2017;8(1):39-47
- [114] Odriozola-Serrano I, Oms-Oliu G, Martín-Belloso O. Nano emulsion-based de- livery systems to improve functionality of lipophilic components. *Front Nutr*. 2014;5(1):24.
- [115] Systematic Reviews in pharmacy. une revue à facettes multiples dans le domaine de la pharmacie-Emulsion Micro Emulsion et Nano Emulsion (Une revue). 2017;8(1):39-47
- [116] Wu Y, Li YH, Gao XH, Chen HD. The application of nano emulsion in dermatol- ogy : an overview. *J Drug Target*. 2013;21(4):321-7.
- [117] Kotta S, Khan AW, Pramod K, Ansari SH, Sharma RK, Ali J. Exploring oral nano emulsions for bioavailability enhancement of poorly water-soluble drugs. *Expert Opin Drug Deliv*. 2012;9(5):585-98.

- [118] Rajpoot P, Pathak K, Bali V. Therapeutic applications of nano emulsion based drug delivery systems : a review of patents in last two decades. *Recent Pat Drug Deliv Formula*. 2011;5(2):163-72.
- [119] Sarker DK. Ingénierie des nanoémulsions pour l'administration de médicaments. *Curr Drug De- liv*. 2005 ;2(4) :297-310.
- [118] 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 ; 66,82.
- [121] Gauthami M, Srinivasan N, Goud NM, Boopalan K, Thirumurugan K. Synthesis of silver nanoparticles using *Cinnamomum zeylanicum* bark extract and its antioxidant activity. *Nanosci Nanotechnol - Asia*. 2015;5(1):2-7
- [122] Ghosh PK, Murthy RS. Micro emulsions: a potential drug delivery system. *Curr Drug Deliv*. 2006;3(2):167-80. <http://dx.doi.org/10.2174/156720106776359168;PMid:16611003>.
- [123] Jadhav KR, Shaikh IM, Ambade KW, Kadam VJ. Applications of micro emulsion based drug delivery system. *Curr Drug Deliv*. 2006;3(3):267-73. <http://dx.doi.org/10.2174/15672010677731118;PMid:16848728>.
- [124] Spornath A, Aserin A. Microemulsions as carriers for drugs and nutraceuticals. *Adv Colloid Interface Sci*. 2006;128-130:47-64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2006.11.016;PMid:17229398>.
- [125] Boonme P. Applications of micro emulsions in cosmetics. *J Cosmet Dermatol*. 2007;6(4):223-8. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1473-2165.2007.00337.x;PMid:18047605>.
- [126] Narang AS, Delmarre D, Gao D. Stable drug encapsulation in micelles and microemulsions. *Int J Pharm*. 2007;345(1-2):9-25. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.08.057;PMid:17945446>.
- [127] Santos P, Watkinson AC, Hadgraft J, Lane ME. Application of micro emulsions in dermal and transdermal drug delivery. *Skin Pharmacol Physiol*. 2008;21(5):246-59. <http://dx.doi.org/10.1159/000140228;PMid:18562799>

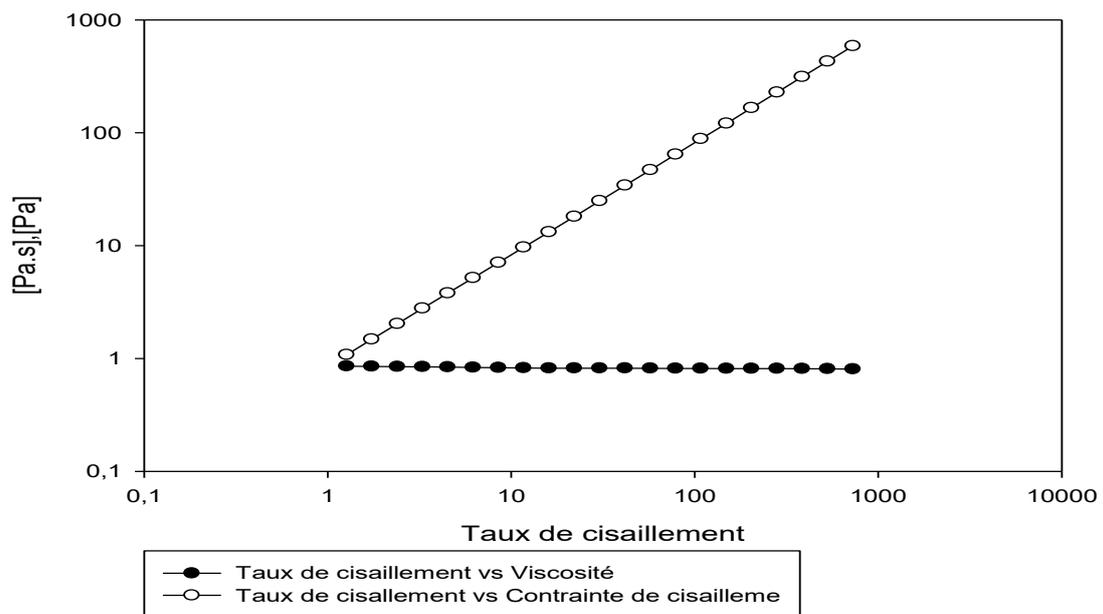
ANNAXES

Les graphes suivantes sont le test d'écoulement de la matrice d'optimisation des Microémulsions:

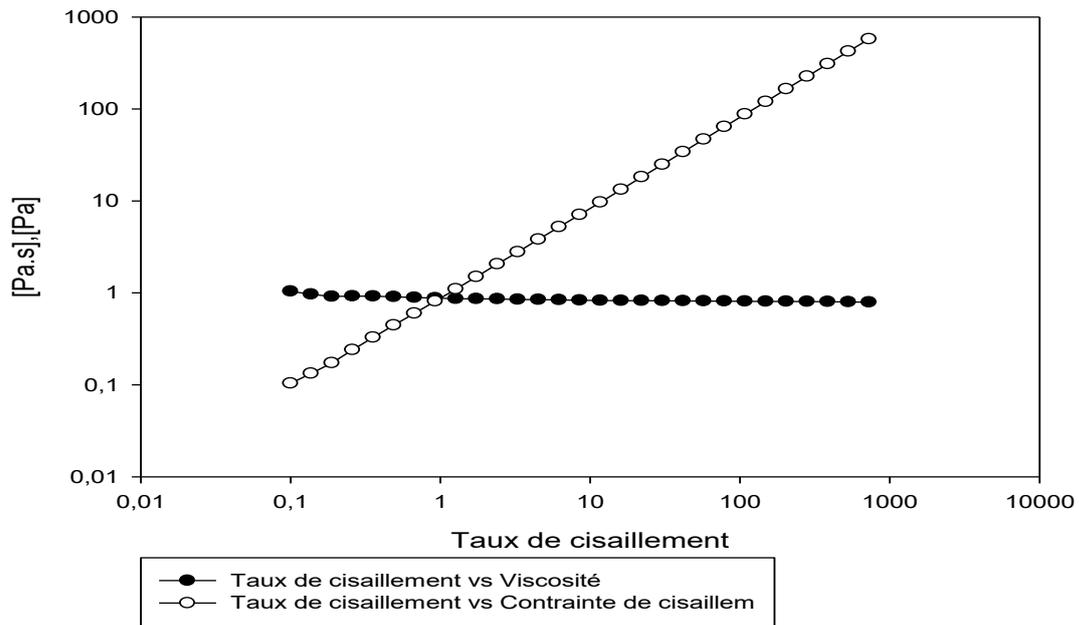
Écoulement Me F6



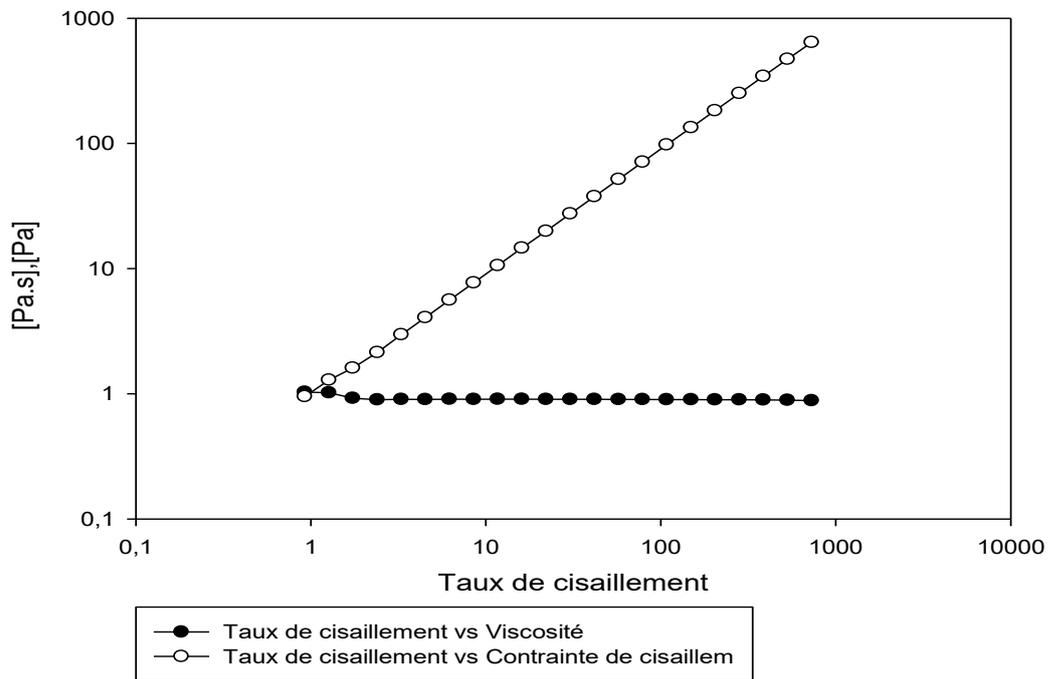
Écoulement Me F9



Écoulement Me F8



Écoulement ME F11



Les graphes montrent que la contrainte de cisaillement augmente avec la vitesse de cisaillement et la viscosité apparente reste constante avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement. De ce fait nous pouvons conclure que les MEs obtenues sont de type fluide newtonien d'un comportement rhéofluidifiant.