



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique
جامعة البليدة 1
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologies

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme d'un Master Académique

Option

Biotechnologie et Pathologie Moléculaire

Thème

Optimisation d'une formulation pharmaceutique à base d'un extrait
d'Ajuga iva en vue d'un traitement de la fertilité féminine

Présenté par :

Mme Aissiou Narimane

Mme Teffahi Ryma

Devant le Jury :

<i>Mme. Djazouli Alim</i>	<i>PROFESSEUR</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Présidente</i>
<i>Mme. Mekhlouf C</i>	<i>MAITRE ASSISTANT A</i>	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>Mme. Zermane F</i>	<i>PROFESSEUR</i>	<i>Univ. Blida1-FSc</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Mr. Chader H</i>	<i>PROFESSEUR</i>	<i>Fac. Médecine Alger</i>	<i>Co-Promoteur</i>

Session 2019 / 2020

DÉDICACE

Je dédie ce travail à...

A MES CHERS PARENTS,

Autant de phrases et d'expression aussi éloquentes ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir.

A MES ADORABLES SŒURS, Hanane et Yasmina

Merci d'être toujours à mes côtés, par votre présence, votre amour et votre tendresse, pour apporter tous les ingrédients nécessaires à mon épanouissement et à ma vie. Vous êtes ce que j'ai de plus cher.

A MA BINOME, NARIMANE

Pour tout ce que tu as fait pour la réussite de ce travail.

A MES AMIS...

Merci pour votre soutien quotidien et vos témoignages d'amitié à mon égard.

TEFFAHI RYMA

DÉDICACE

A la lumière de ma vie, mes parents chéris, les deux prunelles de mes yeux, en témoignage de ma reconnaissance envers le soutien, les sacrifices et tous les efforts qu'ils ont fait pour mon éducation

A mon père pour l'effort qu'il a consenti à ma formation

A ma défunte mère qui a voulu assister à ce grand jour

A mon adorable grande sœur Yasmine

A ma famille

A Ryma, ma binôme

A mes copines et mes camarades

A tous mes enseignants que je respecte tant

Je dédie ce modeste travail, en signe de reconnaissance

et de profonde affection

AISSIOU NARIMANE

REMERCIEMENTS

Avant tout développement de notre travail qui s'est déroulé dans un cadre professionnel enrichissant nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance à Madame la Professeure Zermane, notre promotrice, pour son soutien, ses encouragements, ses conseils et sa disponibilité.

Nous remercions Monsieur le professeur Chader d'avoir bien voulu nous accueillir, nous assisté et d'avoir répondu à nos questions et nos attentes. Aussi nous le remercions vivement pour la confiance qui nous a été accordée pour que ce travail soit mener à terme.

Nos sincères remerciements vont à Madame la professeure Djazouli Alim, notre responsable de formation, de nous avoir donné la chance d'intégrer ce master qui nous a permis d'acquérir des connaissances et un savoir-faire précieux .Qu'elle soit également remercier pour la présidence de ce jury et ses contributions pour l'évaluation de notre travail.

Nos remerciements chaleureux À Madame Mekhlouf, Maitre assistante A en pharmacie, d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nos sincères remerciements vont à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, nous ont permis par leur conseils et orientations la réalisation de ce mémoire.

TABLE DES MATIÈRES

Liste des figures	i
Liste des tableaux	iii
Liste des abréviations	iv
ملخص	vi
Abstract	vii
Résumé	viii
Introduction Générale	1
1 DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES	3
1.1 Notions de base sur la phytothérapie :	4
1.1.1 Introduction :	4
1.1.2 Définition de la phytothérapie :	4
1.1.3 Différents types de la phytothérapie :	4
1.1.4 Les avantages de la phytothérapie :	5
1.1.5 Importance de l'utilisation de la phytothérapie dans le monde :	6
1.2 Généralités sur la plante <i>Ajuga iva</i> :	6
1.2.1 Description botanique d' <i>Ajuga iva</i> :	6
1.2.2 Classifications systématiques :	7
1.2.3 Distribution géographique d' <i>Ajuga iva</i> :	8
1.2.4 Les propriétés thérapeutiques et usages de la plante <i>Ajuga iva</i> :	8

1.2.5	Toxicité d' <i>Ajuga iva</i> :	10
1.2.6	Principes actifs d' <i>Ajuga iva</i> :	10
1.2.7	Les travaux réalisés sur la plante <i>Ajuga iva</i> :	14
1.3	Organisation de l'appareil génitale de la souris femelle :	15
1.3.1	Organisation de l'appareil génital :	15
1.3.2	Le cycle œstral de la souris :	16
1.4	Aperçu sur la fertilité féminine :	17
1.4.1	Introduction :	17
1.4.2	Définition :	17
1.4.3	Causes d'infertilité :	17
1.4.4	Traitements de la stérilité féminine :	19
2	MATERIELS ET METHODES	22
2.1	Introduction :	23
2.2	Présentation des sites d'accueil :	23
2.3	L'extraction d'huile essentielle :	23
2.3.1	Préparation de la plante :	23
2.3.2	Procédé d'extraction par macération :	23
2.4	Caractérisation de l'huile essentielle :	25
2.4.1	Spectrophotométrie UV-Visible :	25
2.5	Evaluation de l'activité fertilisante in vivo :	25
2.5.1	Effet de l'extrait sur les ovaires des souris sexuellement immatures :	26
2.5.2	Etude histologique des ovaires :	28
3	RÉSULTATS ET DISCUSSIONS	33
3.1	Introduction :	34
3.2	Les résultats de l'extraction :	34
3.2.1	Propriétés organoleptiques des huiles essentielles extraites :	34
3.2.2	Teneur en huile essentielle :	34
3.3	Caractérisation de l'extrait obtenu par macération :	35
3.3.1	Résultats de la spectrophotométrie UV-Vis :	35
3.4	Résultats de l'évaluation de l'activité fertilisante in vivo :	36
3.4.1	Effet de l'extrait sur les ovaires :	36
3.5	Résultat de l'étude histologique :	38
	Conclusion générale	41
	Bibliographie	42
	Annexes	46

TABLE DES FIGURES

1.1	Aspect morphologique d' <i>Ajuga iva</i>	7
1.2	Structures chimiques des principaux ecdystéroïdes.	13
1.3	Organisation du tractus génital de la souris femelle.(Turner, 1955)	15
2.1	Agitation magnétique du mélange.	24
2.2	Evaporation du mélange.	24
2.3	Chromatographie sur couche de silice.	25
2.4	Extrait final.	25
2.5	Le gavage de la souris.	26
2.6	Fixation de la souris sur la planche à dissection.	27
2.7	Le déroulement des intestins et l'observation de l'appareil génital.	27
2.8	Le gavage de la souris.	28
2.9	Bains de déshydratation (Alcool 70%, 85%, 100%).	29
2.10	Bains d'imprégnation (Xylène).	29
2.11	Inclusion à la paraffine fondue (Chauffée à 56 °).	30
2.12	Blocs de paraffine.	30
2.13	Microtomie et préparation de coupes en paraffine.	31
2.14	Coupes fines des ovaires de souris traitées.	32
2.15	Coupes fines des ovaires de souris non traitées.	32
3.1	Spectres UV-Visible d'ecdystéroïdes.	36
3.2	Histogramme montrant l'évolution pondérale des ovaires chez les deux groupes de souris.	38

3.3 Coupes transversales des ovaires de souris traitées et non traitées par l'ex- trait d'ecdysteroides.	39
---	----

LISTE DES TABLEAUX

1.1	Classification d' <i>Ajuga iva</i>	7
1.2	Évaluation de l'infertilité chez la femme.	19
3.1	Les caractéristiques organoleptiques des huiles extraites.	34
3.2	La teneur en huile essentielle.	35
3.3	Tableau récapitulatif le poids des ovaires des souris immatures traitées et non traitées par l'extrait d'ecdystéride.	37
3.4	La comparaison des moyennes par le test de Student.	38

LISTE DES ABRÉVIATIONS

OMS : Organisation mondiale de la santé

LCAT : La lécithine-cholestérol acyltransférase

DL50 : Dose létale médiane

FSH : Hormone folliculostimulante

LH : Hormone lutéinisante

AMH : Hormone antimüllérienne

AMP : Assistance médicale à la procréation

IAC : Insémination avec sperme du conjoint

FIV : Fécondation in-vitro

ICSI : Injection intracytoplasmique de spermatozoïdes

UV : Ultra-violet

MeOH : Méthanol

EtOH : Ethanol

M2CO : Acétone pure à 100%

CHCL3 : Chloroforme ou Trichlorométhane

ملخص

يستمر انتشار العقم في الزيادة بين السكان وفقاً للأدبيات العلمية. أجريت الدراسة على استغلال الأجزاء الهوائية من اجوجا ايفا لدراسة تأثيرها على علاج خصوبة المرأة.

تم استخلاص الزيت العطري باستخدام بروتوكول الاستخلاص بالنقع، وقد أعطانا هذا الأخير عائداً كبيراً إلى حد ما، في حدود 14.66٪.

قمنا بتحليل المستخلص الذي تم الحصول عليه عن طريق المسح الضوئي باستخدام القياس الطيفي للأشعة المرئية وفوق البنفسجية، وبناءً على الدراسة، وجدنا أن الإكديسترويد يتم اكتشافه بشكل عام عند طول موجي يبلغ حوالي 254 نانومتر. يتم استكشاف نشاط النبات على خصوبة الإناث أولاً من خلال مقارنة وزن مبيض الفئران غير الناضجة التي تمت معالجتها مع وزن مبيض الفئران غير المعالجة، وثانياً، من خلال تطوير دراسة نسيجية لأنسجة المبايض.

في ضوء النتائج التي تم الحصول عليها، لاحظنا أن وزن مبيض فئران ما قبل البلوغ، بعد العلاج عن طريق الفم بجرعة 13.5 ملغ من مستخلص الأكديسترويدات، يظهر زيادة معنوية بمقدار 2.5 مرة. أكبر من مبيض الفئران غير المعالجة. أظهرت نتائج الدراسة النسيجية لمبايض الفئران المعالجة بصيالات بأحجام مختلفة وبنى مختلفة.

في الختام تؤكد الدراسة التي تم إجراؤها أن الإكديسترويدات لها تأثير تسميد بفضل الاختبار الإحصائي الذي تم إجراؤه.

ABSTRACT

The prevalence of infertility continues to increase in the population according to the scientific literature. The study carried out focused on the operation of the aerial parts of *Ajuga iva* to study its effect on the treatment of female fertility.

The extraction of the essential oil was done using an extraction protocol by maceration, the latter, gave us a fairly significant yield, in the order of 14.66

We analyzed the obtained extract by scanning using UV-Vis spectrophotometry, and from the monograph we found that ecdysteroids are generally detected at a wavelength around 254 nm.

The activity of the plant on female fertility is explored first by comparing the weight of the ovaries of immature mice treated with that of the ovaries of untreated mice, and secondly, by making a histological study of the tissues. ovarians.

In view of the results obtained, we noticed that the weight of the ovaries of the pre-pubescent mice, after oral treatment of the dose of 13,5 mg of the extract of ecdysteroids, shows a significant increase of the order of 2,5 times greater than that of untreated mouse ovaries.

The results of the histological study of the mouse ovaries became follicles of varying sizes and possessing different structures.

To conclude, the study carried out confirms that ecdysteroids have a fertilizing effect thanks to the statistical test carried out.

RÉSUMÉ

La prévalence de l'infertilité ne cesse d'augmenter dans la population selon la littérature scientifique. L'étude réalisée a été portée sur l'exploitation des parties aériennes d'*Ajuga iva* afin d'étudier son effet sur le traitement de la fertilité féminine.

L'extraction de l'huile essentielle a été faite en utilisant un protocole d'extraction par macération, ce dernier, nous a donner un rendement assez significative, de l'ordre de 14,66

Nous avons analysé l'extrait obtenu par balayage en utilisant une spectrophotométrie UV-Vis, et d'après la monographie, nous avons trouvé que les ecdystéroïdes sont généralement détectés à une longueur d'onde voisine de 254 nm.

L'activité de la plante sur la fertilité féminine est explorée dans un premier temps en comparant le poids des ovaires des souris immatures traitées à celui des ovaires de souris non traitées, et dans un deuxième temps, une élaboration d'une étude histologique des tissus ovariens.

Au regard des résultats obtenus, nous avons remarqué que le poids des ovaires des souris impubères, après traitement orale de la dose de 13,5 mg de l'extrait d'ecdystéroïdes, présente une augmentation significative de l'ordre de 2,5 fois supérieure à celui des ovaires de souris non traitées.

Les résultats de l'étude histologique des ovaires de souris traitées montrent des follicules de tailles variables et possèdent différentes structures.

Pour conclure, l'étude réalisée confirme que les ecdystéroïdes présentent un effet fertilisant et ceci grâce au test statistique effectuée.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

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 utilisée dans le but de guérir. La manipulation des parties de cette plante remonte à des milliers d'années, où 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. Aujourd'hui, elles sont la base de la phytothérapie et de l'homéopathie. (Guide des plantes qui soignent, 2010)

On parle de phytothérapie clinique pour désigner le soin par les plantes. Elle est considérée comme médecine complémentaire voire alternative pour certains, et elle est souvent perçue comme moins que les médicaments issus de l'industrie chimique. Elle propose un traitement adapté à l'état endobiogénique de chaque patient, dans un but thérapeutique purement symptomatique tout en rétablissant le ou les déséquilibres diagnostiqués du terrain spécifique de l'individu, qui est à l'origine ou participant à la pathologie en cours. (Phytothérapie - Acadpharm (En ligne). Disponible : <http://dictionnaire.acadpharm.org/w/Phytoth>

Les plantes sont le réservoir de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être une grande diversité de structure chimique possédant d'éventuelles activités biologiques, l'extraction des huiles essentielles est certainement la phase la plus délicate. Elle a pour but de capter les produits les plus subtils et les plus fragiles élaborés par le végétal. (Guide des plantes qui soignent, 2010)

Il existe plusieurs techniques d'extraction des huiles essentielles à savoir l'expression à froid, l'extraction par solvant organique volatil, l'enfleurage, l'extraction par gaz liquéfié, par fluide à l'état supercritique et aussi par distillation à la vapeur d'eau. (Aromathérapie et huiles essentielles. Techniques d'extraction des huiles essentielles (En ligne). Disponible : <https://www.bio-enligne.com/aromatherapie-huile-essentielle/87-extraction.html>. (Consulté le 20 juin 2020)

Comme toutes plantes médicinales, *Ajuga iva* renferme une grande variété de composés dits secondaires ce qui explique son utilisation dans la médecine traditionnelle notamment pour améliorer la fertilité féminine par stimulation de l'ovulation chez une femme qui présente des troubles d'ovulation. (Usmanov et al., 1978)

Les hormones sexuelles féminines (œstrogène, progestérone...) qui favorisent l'ovulation appartiennent à la famille des stéroïdes hormonaux et dans la plante *Ajuga iva* les composés qui appartiennent à cette famille sont les ecdystéroïdes. (Usmanov et al., 1978)

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

- La première est relative à l'étude bibliographique où nous avons présenté des notions de base sur la phytothérapie, une description de la plante *Ajuga iva* et aussi un aperçu sur la fertilité féminine.

- Une deuxième partie expérimentale, qui est consacrée à la présentation des matériels et méthodes pour la réalisation de l'extraction des ecdystéroïdes ainsi que l'identification de l'extrait obtenue. dans cette même partie, nous avons présenté le protocole de l'évaluation de l'activité fertilisante, enfin une histologie ovarienne est réalisée.

- La troisième partie consiste à présenter l'ensemble des résultats obtenus ainsi leur discussions.

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

CHAPITRE

1

DONNÉES BIBLIOGRAPHIQUES

1.1 Notions de base sur la phytothérapie :

1.1.1 Introduction :

En Algérie les plantes occupent une place importante dans la médecine traditionnelle, qui elle-même est largement employée dans divers domaines de la santé. Dans les dernières années la phytothérapie est très répandue, des herboristes sont partout sans aucune formation spécialisée ou connaissance scientifique sur la phytothérapie, des plantes et de mélanges pour toutes les maladies : diabète, rhumatisme, minceur et même les maladies incurables ... (Carillon Alain, 2009)

1.1.2 Définition de la phytothérapie :

Étymologiquement, du grec « phyton » qui signifie plante et « therapein » qui signifie soigner. La phytothérapie est l'utilisation de plantes à des fins thérapeutiques. Ayant conjointement évoluée avec le développement scientifique et industriel, la phytothérapie revêt désormais des pratiques variées. La littérature scientifique, de même que la législation des médicaments à base de plantes distinguent, sans systématiquement les opposer, l'approche traditionnelle et l'approche scientifique de la phytothérapie. (Carillon Alain, 2009)

1.1.3 Différents types de la phytothérapie :

Il existe plusieurs types de phytothérapie :

- **L'aromathérapie** : Elle utilise les essences des plantes aussi appelées huiles essentielles. Ces substances aromatiques sont extraites par distillation. Il faut cependant utiliser l'aromathérapie avec précaution et respecter les doses prescrites. L'utilisation la plus fréquente est l'application par voie cutanée. (C. Strang, 2006)

- **La gemmothérapie** : Elle consiste à utiliser les extraits alcooliques et glycinés de jeunes pousses de végétaux ou de bourgeons. Ces extraits sont alors dilués au dixième pour pouvoir être utilisés en tant que plantes médicinales. (C. Strang, 2006)

- **L'herboristerie** : Ce type de phytothérapie est le plus classique et le plus ancien. Elle se sert de la plante fraîche ou séchée, soit entière, soit en partie. Une préparation d'herboristerie repose sur des méthodes simples, le plus souvent avec de l'eau comme les infusions, les décoctions ou les macérations. On peut aussi trouver des gélules. Le principal avantage est que cela permet de préserver les principes actifs. (C. Strang, 2006)

- **L'homéopathie** : Elle a recours aux plantes mais pas uniquement. On peut aussi trouver, en plus petites quantités, des souches d'origines animale ou minérale. Les plantes fraîches sont utilisées après une macération alcoolique. (C. Strang, 2006)

- **La phytothérapie chinoise** : Elle inclut l'acupuncture et la diététique chinoise. Elle vise à modifier les quantités et les actions des différentes énergies de l'organisme. (C. Strang, 2006)

- **La phytothérapie pharmaceutique** : Elle utilise des produits d'origine végétale, obtenus après extraction et par dilution. Cette phytothérapie consiste à se servir de doses suffisamment importantes de végétaux pour avoir une action soutenue et rapide. Les concentrations sont alors élevées, parfois proches de la limite assurant que le médicament n'est pas toxique pour l'organisme. (C. Strang, 2006)

1.1.4 Les avantages de la phytothérapie :

Les médicaments actuels classiques provoquent souvent des effets secondaires néfastes. La phytothérapie ne présente quasi pas d'effets secondaires. Contrairement aux médicaments chimiques qui peuvent être très agressifs (comme la chimiothérapie). On estime que 10 à 20% des hospitalisations sont dues aux effets secondaires des médicaments chimiques. Mais, les plantes utilisées en phytothérapie sont testées scientifiquement, ainsi, les remèdes sont plus efficaces mais aussi sans danger. Le corps humain est mieux adapté à un traitement à base de plantes qu'à une thérapie essentiellement chimique. (Huiles essentielles, Avantages et inconvénients [en ligne]. Disponible sur : <http://www.medicinesnaturelles.com/index.php?to=3&so=5&page=12>. (Consulté le 20 juin 2020))

Les plantes possèdent des principes actifs très puissants qui se trouvent soit dans les racines, l'écorce, les feuilles, les sommités fleuries, les fruits, la résine... Les parties utilisées de la plante varient d'une espèce à l'autre, ou pour une même plante selon l'effet désiré. La phytothérapie ouvre un très large champ de maladies : la grande camomille contre la migraine, le ginseng pour retrouver le tonus, la sauge contre les règles douloureuses. Les plantes médicinales sont surtout beaucoup moins chères que les médicaments de synthèse. (Huiles essentielles, Avantages et inconvénients [en ligne]. Disponible sur : <http://www.medicinesnaturelles.com/index.php?to=3&so=5&page=12>. (Consulté le 20 juin 2020))

Par son action en douceur et en profondeur, la phytothérapie apparaît d'autre part comme la réponse idéale aux "maladies" qui caractérisent nos sociétés, comme le stress, la

perte du sommeil ou la prise de poids. (Huiles essentielles, Avantages et inconvénients [en ligne]. Disponible sur :<http://www.medecinesnaturelles.com/index.php?to=3&so=5&page=12>. (Consulté le 20 juin 2020)

1.1.5 Importance de l'utilisation de la phytothérapie dans le monde :

Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), le marché mondial des plantes médicinales représente actuellement plus de 60 milliards de dollars par an. Dans la plupart des pays d'Asie, les médecines traditionnelles sont toujours en vigueur et font largement appel aux plantes. (Carillon Alain, 2009)

Bien que le monde de la phytothérapie se développe de plus en plus au niveau européen et mondial, les garanties de qualité, d'efficacité, de sécurité, de stabilité et de reproductibilité ne sont toujours pas assurées pour certains médicaments car il y a un manque de contrôle avant leur mise sur le marché par rapport aux diverses procédures qui régissent la vente des médicaments. En Afrique, jusqu'à 80 % de la population utilise la médecine traditionnelle pour répondre à ses besoins de soins de santé. De même, dans de nombreux pays asiatiques la médecine traditionnelle continue d'être largement utilisée, même si l'allopathie est facilement disponible. En Chine, l'utilisation des remèdes traditionnels représente 40 % de tous les soins de santé. En même temps, pour certains pays de l'Amérique Latine, il a été rapporté que 71 % de la population de Chili et 40 % de la population de Colombie ont utilisé la médecine traditionnelle. Ces chiffres montrent que les gens se tournent, de nouveau, vers la médecine traditionnelle et surtout vers les plantes médicinales. (Carillon Alain, 2009)

1.2 Généralités sur la plante *Ajuga iva* :

1.2.1 Description botanique d'*Ajuga iva* :

Une espèce végétale vivace de 5 à 20 cm de longueur, aromatique, de 8-20 cm, ligneuse à la base, velue-blanchâtre, à odeur de musc. A tiges vertes rampantes et veules, à feuilles vertes de 14 à 25 mm de longueur, linéaire, denses et couvertes de duvets. Les fleurs généralement violettes ou rose pâle de 20 mm de longueur. Toute la plante est velue, y compris la base de la fleur et des étamines. La base de la tige est ligneuse. Le fruit est un akène, alors que les graines sont marron (Halimi, 2004). Cette espèce est appelée par plusieurs noms vernaculaires : Ivette, Petit if, L'ivette musquée, Bugle en français et Musky Bugle en anglais. Le nom vernaculaire en Algérie est "Chendgoura". (Taleb-Senouci et al., 2009)



Figure 1.1 – Aspect morphologique d’*Ajuga iva*.

1.2.2 Classifications systématiques :

Le genre *Ajuga* appartient à la famille des Lamiacées avec plus de 301 espèces différentes (Zafar et Badiâa, 2009). D’après la nouvelle classification de (Dupont et Guignard, 2012) *Ajuga iva* est classée comme suite (tableau 1.1) :

Tableau 1.1 – Classification d’*Ajuga iva*.

Régne	plantae
Embranchement	Embryophytes
Sous Embranchement	Trachéophytes
Super Classe	Spermaphytes
Classe	Angiospermes

Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Ajuga
Espèce	Ajuga iva

1.2.3 Distribution géographique d'*Ajuga iva* :

La plante *Ajuga iva* se développe dans le sol profond des terres fraîches, la floraison de la plante est étendue d'avril à octobre, pousse à une altitude de 0 à 1600 mètres, dans les régions arides ou elle croît dans les champs. Elle est très répandue dans la région méditerranéenne, telles les pelouses et les forêts algériennes. (Baba Aissa, 2000)

Cette plante est largement distribuée dans les régions arides d'Europe, d'Asie, d'Afrique et d'Australie. En Algérie, elle est très abondante dans l'étage bioclimatique aride et semi-aride (Djelfa, Médéa...). Observée même dans une zone sub-humide à variante chaude, dans la réserve de chasse de Zéralda sur des talus caillouteux des pistes, à des altitudes variantes entre 0 à 200 m. (Baba Aissa, 2000)

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

Ajuga iva est une plante très utilisée en médecine traditionnelle pour traiter le diabète, l'hypertension, les gastralgies, la stérilité féminine, les hémorroïdes, et pour calmer les douleurs. (J. Bellakhdar, 1978 ; M. Ait Youssef, 2006)

Ajuga iva est une plante connue dans les pays du Maghreb pour leur usage en phytothérapie, plusieurs maladies infectieuses ou autres, peuvent être soignées grâce à leur utilisation. Parmi ces pathologies, on note les infections et les désordres intestinaux, les maladies cardiovasculaires, les troubles hépatiques. (J. Bellakhdar, 1978 ; M. Ait Youssef, 2006)

A. Activité hypoglycémique :

L'extrait aqueux lyophilisé des feuilles d'*Ajuga iva* est examiné pour son effet hypoglycémique sur des rats normaux et des rats diabétiques Streptozotocine-induits. L'activité hypoglycémique est expérimentalement démontrée. Des études toxicologiques ont révélé que l'extrait est sans effet toxique à des doses hypoglycémiantes. (J. El Hilaly et B. Lyoussi, 2002)

B. Activité hypotensive :

L'effet de l'extrait des feuilles d'*Ajuga iva* sur la pression artérielle est examiné in vivo. (A. Tahraoui et al., 2007)

C. Activité antioxydante :

L'effet antioxydant d'extrait aqueux d'*Ajuga iva* a été étudié sur des rats rendus diabétiques par la streptozotocine. Cette étude montre que l'extrait d'*Ajuga iva* développe une activité antioxydante en réduisant la peroxydation des lipides et l'amélioration de l'activité des enzymes anti-oxydantes dans le plasma, les érythrocytes et les tissus des rats diabétiques. (D. Taleb-Senouci et al., 2009)

D. Activité Hypotriglycéridémique :

Une étude a été réalisée pour montrer que l'injection intraveineuse continue de l'extrait aqueux lyophilisé d'*Ajuga iva* diminue rapidement les triglycérides sanguins. (A.CH. Hadichambis et al., 2007)

E. Activité Anti-hypercholestérolémie :

Des études ont montré l'efficacité de l'extrait aqueux d'*Ajuga iva* sur l'efflux du cholestérol des tissus périphériques vers le foie en augmentant l'activité de la LCAT et atténuent l'hypercholestérolémie. (S. Bouderbala et al., 2008)

F. Activité anti-hypolipidémiant :

L'extrait aqueux d'*Ajuga iva* possède un effet hypolipidémiant, il exerce une action contre la peroxydation lipidique des tissus chez les rats diabétiques. (K. Hamden et al., 2008)

G. Pouvoir sédatif :

L'extrait flavonoïdiques d'*Ajuga iva* provoque un temps d'endormissement plus long que celui observé lors du traitement de souris et des rats traités par le tranxène. (L. Bennaghmouch et al., 2001)

1.2.5 Toxicité d'*Ajuga iva* :

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 (El Hilaly et al., 2004). Par voie orale, la DL50 est supérieure à 14g/kg PC tandis que celle de la voie intra-péritonéale est d'environ 3.6g/kg PC. 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 (El Hilaly et al., 2007), 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). (Bennaghmouch et al., 2001)

1.2.6 Principes actifs d'*Ajuga iva* :

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

A. Les flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des pigments quasiment universels des végétaux. Presque toujours hydrosolubles, ils sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. Ils sont également présents dans la cuticule foliaire et dans les cellules épidermiques des feuilles, assurant ainsi la protection des tissus contre les effets nocifs du rayonnement ultraviolet. Tous les flavonoïdes possèdent le même élément structural de base : le noyau flavane qui est un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3. (J. Erdman et al., 2007 ; J. Bruneton, 2008)

B. Les polyphénols simples (les acides phénoliques) :

Le terme d'acide – phénol peut s'appliquer à tous les composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique. Les deux groupes essentiels des acides phénoliques sont les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques qui dérivent respectivement de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. (T. Budic-Leto et al., 2002 ; J. Bruneton, 2008 ; M. Wichtel et al., 2009)

C. Les principes amers (Composés terpéniques) :

Les substances qui présentent un goût amer excitent les cellules gustatives, stimulent l'appétit et augmente la sécrétion des sucs gastriques. La pharmacologie regroupe sous le nom des principes amers des substances végétales terpéniques susceptibles de libérer de l'azote, ainsi que des glucosides de diverses structures biochimiques. Ils sont aussi très utiles dans le traitement des maladies hépatiques et rénales, entre autre, les principes amers activent la circulation du sang, stimulent les globules rouges et constituent de ce fait, un excellent adjuvant dans le traitement de l'anémie. (M.L. Khetouta, 1987)

D. Les tanins :

Les tanins sont des substances constituées par un mélange de glucosides et d'acide gallique. On les rencontre, en petite quantité, dans très nombreuses plantes. Ce sont des substances phénoliques assez complexes, dotes de propriétés tannantes, elles sont également astringentes, cytostatiques et bactéricides car elles interfèrent également avec les protéines du protoplasme. Selon leurs natures chimiques ces composés sont divisés en deux classes : les tanins hydrolysables et les tanins condensés. (J. Verdrager, 1978 ; M.M. Cowan, 1999 ; D.N. Kamra et al., 2006)

E. Les saponines :

On entend par saponosides, des hétérosides naturels dont la matière est un composé soluble dans l'eau qui la rend moussante comme une eau de savon. Ils modifient la tension superficielle de l'eau. On les emploie pour la fabrication d'émulsions, dans lesquelles une substance insoluble est mise en dispersion. Elles vont entraîner un mélange plus rapide avec la fonction aqueuse, un effet de pénétration plus grand et plus rapide de la substance dans l'eau. Ces plantes à saponines facilitent la pénétration des autres substances au niveau de la peau et au niveau de l'intestin et aussi au niveau de toutes les muqueuses. (Les plantes et leurs propriétés, 1997)

F. Stéroïde :

Le terme générique « stéroïde » rend compte des caractéristiques physico-chimiques des premiers représentants de cette famille. Il s'agissait, en effet, d'alcools secondaires se singularisant par leur état solide cristallisé et fondant à des températures supérieures à 100 °C. Le nom « stérol », formé du mot grec stéréos = solide et de la désinence -ol, spécifique des alcools, traduit ces propriétés. Le premier de ces composés fut isolé, vers 1770, de calculs biliaires, par Poulletier de la Salle, puis trouvé également, en 1815, dans les graisses animales, par M. E. Chevreul. Il fut nommé « cholestérine » (du grec kholé = bile et stéréos = solide) en souvenir de la source où il avait été découvert initialement. En 1859, M. Berthelot, prenant en considération la fonction alcool, modifia le nom en cholestérol. Depuis lors, de nombreux autres composés voisins ont été isolés. (J. Verdrager, 1978 ; M.M. Cowan, 1999 ; D.N. Kamra et al., 2006)

À partir de 1936, le terme générique « stéroïde » est donné à tous les corps chimiques qui possèdent un noyau (gonane) identique ou très proche de celui des stérols, alors que la dénomination « stérol » est réservée aux seuls hydroxy-3 β stéroïdes porteurs d'une longue chaîne en 17 comme le cholestérol. (J. Verdrager, 1978 ; M.M. Cowan, 1999 ; D.N. Kamra et al., 2006)

F.1. Types de stéroïdes :**- Les stéroïdes non hormonaux :**

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

- Les stéroïdes hormonaux :

Les principaux types d'hormones stéroïdiennes en général sont les estrogènes, les androgènes, les corticostéroïdes et les ecdystéroïdes. Les principaux ecdystéroïdes sont : 20-Hydroxyecdysone, Makisterone, Cyasterone R=H, 24,25-Dehydroprecyasterone, 24-Dydromakisterone, 22-oxocyasterone, Ecdysterone.

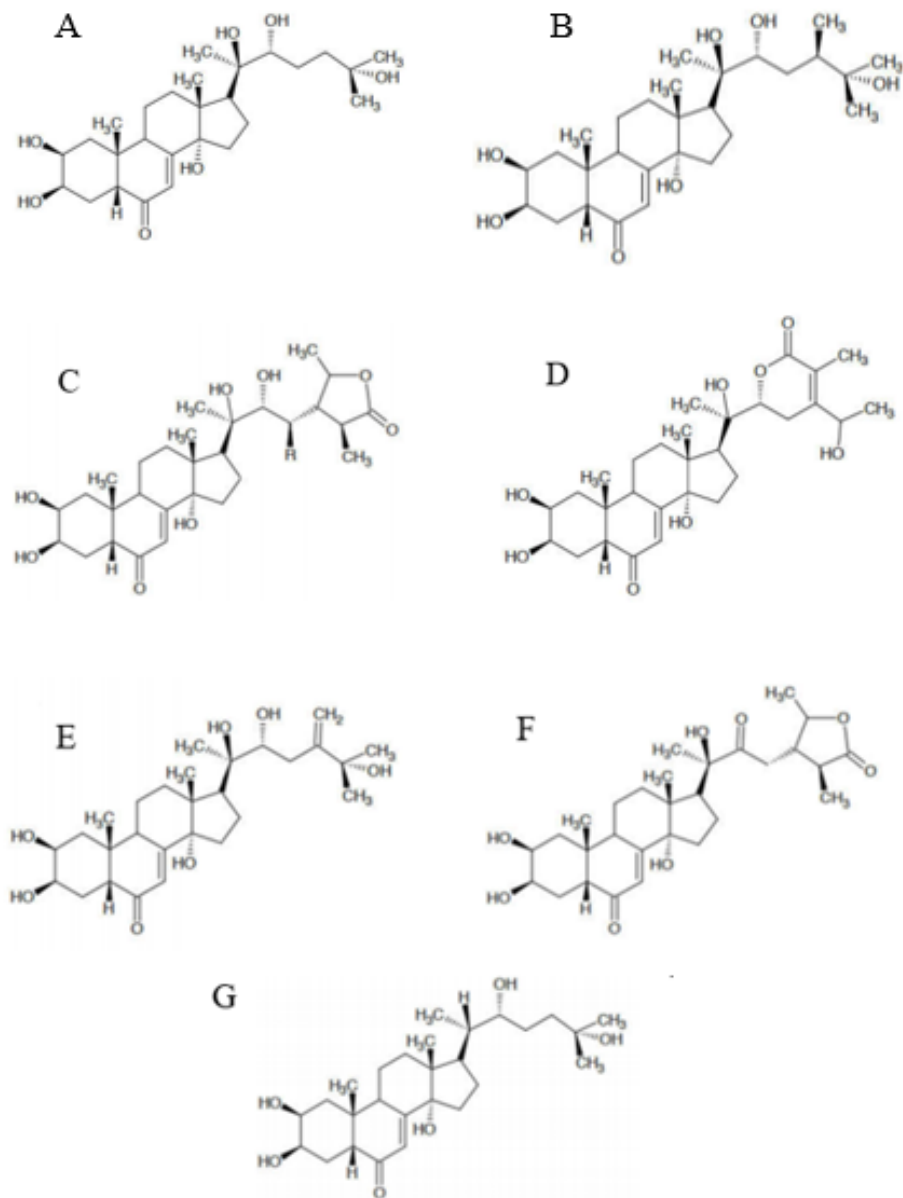


Figure 1.2 – Structures chimiques des principaux ecdystéroïdes.

A : structure chimique de 20-Hydroxyecdysone ; B : structure chimique de Makisterone ; C : structure chimique de Cyasterone R=H ; D : structure chimique de 24, 25-Dehydroprecyasterone ; E : structure chimique de 24-Dydromakisterone ; F : structure chimique de 22-Oxocyasterone ; G : structure chimique d'Ecdysterone.

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

1.2.7 Les travaux réalisés sur la plante *Ajuga iva* :

En médecine traditionnelle, *Ajuga iva* (L.) Schreber (Labiatae) est utilisée entièrement sans racines. En Algérie, elle est employée, après macération aqueuse de plusieurs jours ou en poudre, pour traiter le diabète et l'hypertension. Elle est aussi consommée en poudre sec ou avec du miel pour surmonter son goût amer, pour traiter les troubles gastro-intestinales et contre l'ulcère de l'estomac. L'infusion de 20 à 30g de Chendgoura dans un litre d'eau ; 2 ou 3 tasses par jour est indiquée contre la fièvre, la diarrhée et les gaz. L'ivette est efficace contre les maux de tête et les maux de dents (mâcher une feuille fraîche).

En usage externe, elle est souvent employée en applications locales contre les rhumatismes, et comme antiseptique et cicatrisante sur les plaies. D'autre part, la macération ou l'infusion serait utile pour débarrasser le cuir chevelu des parasites. En plus, elle a un effet antifongique et antimicrobien. Généralement, *Ajuga iva* possède toutes les propriétés de *Artemisia herba alba* et *Thymus vulgaris*.

Chenni et ses collaborateurs (2007) ont étudié l'extrait aqueux d' *Ajuga iva* qui diminue les endommagements issus du stress oxydatif chez les rats traités par des doses élevées de cholestérol. Dans le même axe, Bouderbala et al. (2008) ont montré que l'extrait aqueux lyophilisé d' *Ajuga iva* peut réduire le stress oxydant et diminuer la peroxydation lipidique chez des rats hypercholestérolémiques. Et comme les flavonoïdes et les iridoïdes ont été isolés de cette plante (Ghedira et al., 1991), il a été suggéré que la défense antioxydante chez les rats hypercholestérolémiques traités par *Ajuga iva* peut être dû à ces composés. Les résultats des recherches de El-Hilaly et Lyoussi (2002) et de El-Hilaly et ses collaborateurs (2006) suggèrent que *Ajuga iva* peut être considérée comme un agent anti-diabétique et hypolipidémique chez l'homme. En 2004, El-Hilaly et ses collaborateurs ont trouvé que l'extrait aqueux d' *Ajuga iva* a des propriétés vasodilatatrices et est donc considéré comme agent anti-hypertensif.

Les études de Pascual-Villalobos et Robledo (1998 ; 1999) ont montré que l'extrait aqueux de *Ajuga iva* inhibe la croissance de la larve *Tribolium castaneum* (70-100% de mortalité).

Son effet insecticide est aussi étudié par Simmonds et Blaney (1992) contre *Spodoptera frugiperda* et *S. littoralis*. L'ivette a une activité antibactérienne contre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* et *Pseudomonas aeruginosa* (Ben Jannet et al., 1999).

1.3 Organisation de l'appareil génitale de la souris femelle :

1.3.1 Organisation de l'appareil génital :

L'appareil génital de la souris femelle comprend deux ovaires et les voies génitales à savoir : les oviductes, l'utérus double, le vagin et la vulve (Figure 1.9). La surface de chaque ovaire est surmontée d'une membrane transparente, le sac périoovarien. Les oviductes rattachent l'utérus à l'espace périoovarien. Chaque utérus est attaché par un mesométrium qui contient une quantité considérable de tissu adipeux. Le clitoris est une petite élévation juste au-dessus de l'orifice vaginal et perforé par l'uretère. Les conduits des glandes clitoridiennes s'ouvrent ventro-latéralement de chaque côté de l'organe. A la puberté l'orifice vaginal s'ouvre et reste ainsi toute sa vie. (Turner, 1955)

L'utérus est un organe musculaire lisse situé dans la cavité pelvienne entre la vessie et le rectum. La masse musculaire est creusée d'une cavité utérine. Les cavités utérines sont tapissées par une muqueuse très particulière, L'endomètre, qui contient de nombreuses glandes sujettes à des variations histologiques au cours du cycle menstruel. L'intérieur et l'extérieur sont tapissés respectivement par un épithélium cylindrique dont la production de glycogène est modulée par le cycle œstral. (Turner, 1955)

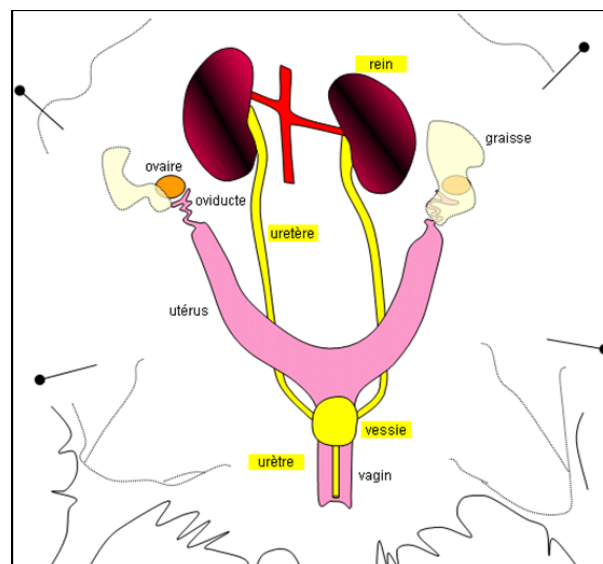


Figure 1.3 – Organisation du tractus génital de la souris femelle.(Turner, 1955)

1.3.2 Le cycle œstral de la souris :

L'activité sexuelle de la souris se traduit par des modifications cycliques au niveau des ovaires et des organes sexuels secondaires tous les quatre à cinq jours. Cette activité sexuelle est régulée par la sécrétion des gonadotrophines hypophysaires (FSH, LH, Prolactine) qui sont-elles mêmes sous le contrôle de l'hypothalamus. La synthèse ovarienne des stéroïdes sexuels (œstrogènes, progestérone...) contrôle la réceptivité des organes sexuels secondaires, utérus, oviducte et vagin. (Blandau et al., 1941 a, b).

Un frottis vaginal réalisé sur des souris cyclées, permet de distinguer les différents stades du cycle oestrien :

- Le proestrus qui se caractérise par la présence de petites cellules épithéliales, rondes et nucléées, isolées ou groupées. Les leucocytes sont presque absents. Pendant cette période, l'imbibition en eau de l'utérus augmente significativement et les contractions utérines deviennent de plus en plus fréquentes. L'épithélium vaginal devient épais et de nombreuses mitoses apparaissent. (Blandau et al., 1941 a, b).

- L'œstrus se caractérise essentiellement par la présence de cellules squamées ou cornifiées et par l'absence complète de leucocytes. L'ovulation la souris est spontanée et arrive environ 10 heures avant le début de l'œstrus. Au cours de l'œstrus, la lumière utérine est distendue bien que l'imbibition en eau diminue. Les contours de l'orifice vaginal se gonflent. (Blandau et al., 1941 a, b).

- Le metœstrus est caractérisé par la présence de cellules cornifiées et de quelques leucocytes. Pendant le metœstrus, la motilité et la vascularité de l'utérus diminuent considérablement. (Blandau et al., 1941 a, b).

- Le dioestrus est caractérisé par la présence en grand nombre de polynucléaires (Leucocytes) avec une réapparition des cellules nucléées. Pendant le dioestrus, la taille, le poids et la motilité de l'utérus sont faibles. L'épithélium vaginal et la lumière utérine sont fins et les glandes endométriales sont atrophiées. Pendant cette période les rattees n'acceptent pas la copulation. (Blandau et al., 1941 a, b). A l'œstrus, il y a la libération des ovules au niveau de l'ovaire. Les ovules se lient aux gamètes mâles et après plusieurs divisions successives donnent des blastocystes. Les blastocystes vont s'implanter au niveau de la paroi utérine pour la formation des futurs embryons. (Blandau et al., 1941 a, b).

1.4 Aperçu sur la fertilité féminine :

1.4.1 Introduction :

Dès sa naissance, un bébé de sexe féminin possède, logés à l'intérieur de ses ovaires, un à deux millions de follicules ovariens. Dès la période de maturité sexuelle (puberté), ceux-ci évolueront vers des ovules. (Dr Marie Mawet. À quels moments les femmes sont-elles fertiles ? [en ligne]. Disponible sur : <https://www.gynandco.fr/la-fertilite-feminine/>. (Consulté le 15 juin 2020).

Ces follicules sont le trésor qui permettra à la femme d'assurer sa fertilité. Leur nombre, cependant, va décroître relativement vite au fil des ans, même si la femme ne produit en principe qu'un seul ovule par mois. Dès 30 ans, la capacité reproductive féminine diminue. (Dr Marie Mawet. À quels moments les femmes sont-elles fertiles ? [en ligne]. Disponible sur : <https://www.gynandco.fr/la-fertilite-feminine/>. (Consulté le 15 juin 2020).

1.4.2 Définition :

La fertilité désigne l'aptitude à se reproduire. La fertilité féminine implique la présence d'organes sexuels sans anomalie : un utérus, des trompes et des ovaires fonctionnels, une absence d'anomalie hormonale avec des cycles menstruels apparents. (Dr Philippe Mironneau. Fertilité de la femme : les tests et examens à faire [en ligne]. Disponible sur : <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sexo-gyneco/2537018-fertilite-femme-test-examens-age/>. (Consulté le 15 juillet 2020)

La fertilité est multifactorielle, et est plus ou moins influencée par l'état psychologique, la qualité de vie, la bonne santé générale, l'alimentation ou la prise de médicaments. (Dr Philippe Mironneau. Fertilité de la femme : les tests et examens à faire [en ligne]. Disponible sur : <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sexo-gyneco/2537018-fertilite-femme-test-examens-age/>. (Consulté le 15 juillet 2020)

1.4.3 Causes d'infertilité :

Chez la femme, les principales causes d'infertilité sont les troubles de l'ovulation et les anomalies anatomiques. Des cycles menstruels de plus de 35 Jours (oligoménorrhée) ou l'arrêt des menstruations (aménorrhée) témoignent d'une dysfonction ovulatoire. Les problèmes ovulatoires sont habituellement d'origine hormonale et résultent d'un problème de communication entre l'hypothalamus et l'hypophyse. La libération des hormones sexuelles est altérée ce qui empêche le développement normal des follicules ovariens et leur maturation. Le syndrome hormonal le plus fréquent est le syndrome des ovaires polykystiques

(SOPK); il affecte 8 à 10% des femmes en âge de procréer (Thomton, Von Wald, et Hansen, 2015).

L'insuffisance ovarienne, qui se définit par une perte de la capacité des ovaires à produire de l'œstrogène, une dysfonction de la glande thyroïde et une hyperprolactinémie (sécrétion excessive de la prolactine), peuvent aussi avoir des répercussions sur la fonction ovulatoire (Managing anovulatory infertility, 2004).

Également, les maladies transmises sexuellement, l'endométriose et une ménopause précoce sont susceptibles d'avoir un impact sur la capacité de concevoir (Lindsay et Vitrikas, 2015).

Sur le plan anatomique, des problèmes au niveau des trompes de Fallope, qu'elles soient entièrement bouchées ou absentes, de la cavité pelvienne ou de l'utérus peuvent aussi empêcher la femme de devenir enceinte bien que l'ovulation soit normale (Lindsay et Vitrikas, 2015). Toutefois, dans certains cas, l'infertilité reste inexplicée.

L'évaluation de l'infertilité est indiquée pour toute femme âgée de 35 ans et moins qui essaie sans succès depuis plus de 12 mois d'avoir un enfant. Si la femme est âgée de plus de 35 ans, l'évaluation de l'infertilité est recommandée après trois ou six mois d'essais de conception selon si le cycle menstruel de la femme est régulier ou pas. Chez un couple dont la femme a plus de 40 ans ou si elle présente une condition médicale particulière (aménorrhée, syndrome des ovaires polykystiques, endométriose, etc.), l'évaluation de l'infertilité est entreprise immédiatement (Collège des médecins du Québec, 2015).

Le tableau 1.2 présente les principaux examens médicaux qui sont effectués en clinique de fertilité chez la femme.

Tableau 1.2 – Évaluation de l’infertilité chez la femme.

Conditions	Manifestations	Examens médicaux
Troubles ovulatoires	Cycles menstruels irréguliers, Hirsutisme, Perte de cheveux	Bilan hormonal (FSH, LH, AMH, progestérone, estradiol, prolactine et testostérone)
Insuffisance ovarienne	Cycles menstruels irréguliers, Symptômes de la ménopause	Bilan hormonal (FSH, AMH et estradiol) On admet que la réserve ovarienne est insuffisante si : Taux FSH élevé (10 à 20 mill/mL), taux estradiol élevé (60 à 80pg/mL) <10 follicules à l’écographie
Anomalies anatomiques	Endométriose, Présence de kystes ovariens, Anomalie de la paroi de l’utérus	Sono hystérographie, Laparoscopie

1.4.4 Traitements de la stérilité féminine :

Il existe de nombreuses solutions thérapeutiques disponibles pour soigner la stérilité féminine et augmenter les chances de procréer.

Avant de donner un traitement il faut faire un diagnostic pour déterminer l’origine de l’infertilité.

A. L’origine de la stérilité :

Les causes de l’infertilité chez la femme peuvent être variées. Le médecin va donc prescrire divers examens afin de mieux cerner la ou les causes avant d’envisager un traitement. Mais il n’est pas rare de conclure à une fertilité inexplicée. (Le grand livre de la fertilité, 2015)

Dans son premier interrogatoire, le médecin va vous poser des questions sur vos antécédents gynécologiques : régularité des règles, saignements anormaux, fausses couches

ou infections pelviennes antérieures... Cet examen initial comprend également un frottis et des dosages hormonaux afin d'évaluer la réserve ovarienne, la qualité de l'ovulation et voir si les ovaires produisent une quantité suffisante de progestérone. (Le grand livre de la fertilité, 2015)

Enfin, une échographie pelvienne peut être prescrite en début de cycle afin de vérifier qu'il n'y a pas de fibrome ou de kyste et de voir le nombre de follicules présents au niveau des ovaires (c'est rassurant quand il y en a entre 5 et 10 par ovaire). (Le grand livre de la fertilité, 2015)

En fonction des résultats, le médecin peut rechercher d'éventuelles anomalies des trompes ou de la cavité utérine en prescrivant une hystérosalpingographie (le radiologue injecte un produit de contraste dans l'utérus puis prend plusieurs clichés) ou une hystérocopie (on visualise l'intérieur de la cavité utérine à l'aide d'une fibre optique). (Le grand livre de la fertilité, 2015)

Enfin, il est parfois nécessaire d'avoir recours à une coelioscopie, un examen réalisé sous anesthésie générale qui consiste à regarder l'intérieur de la cavité abdominale à l'aide d'une petite caméra. La coelioscopie permet parfois de traiter immédiatement le problème rencontré (désobstruction des trompes, traitement des lésions de l'endomètre ou des kystes ovariens ...). (Le grand livre de la fertilité, 2015)

B. Stimulation de l'ovulation avec un traitement médicamenteux :

Les médicaments les plus couramment utilisés contre l'infertilité sont ceux qui aident à stimuler l'ovulation.

- Les anti-oestrogènes pris par voie orale (Clomid ou Pergotime) poussent le corps à fabriquer les hormones qui aideront les œufs à arriver à maturation. Ils augmentent le risque de grossesse multiple de 10%.

- Les gonadotrophines administrées en injections quotidiennes (Gonal, Puregon, Luveris...) stimulent directement la croissance des œufs dans les ovaires. Ils sont souvent prescrits quand les anti-oestrogènes n'ont pas eu d'effet. Ils augmentent le risque de grossesse multiple de 30%.

- La bromocriptine ou la cabergoline (Parlodel, Dostinex...), pris par voie orale, sont prescrits aux femmes qui souffrent d'hyperprolactinémie (un taux trop élevé de prolactine qui empêche l'ovulation). (Le grand livre de la fertilité, 2015)

C. Le traitement chirurgical de l'infertilité :

Il est réservé aux rares cas (5 %) d'intolérance aux médicaments. Mais aussi aux femmes :

- qui souffrent d'endométriose
- qui ont un fibrome
- dont les trompes de Fallope sont bouchées. Mais le taux de réussite de ce type de chirurgie reste faible et augmente ensuite le risque de grossesse extra-utérine. (Le grand livre de la fertilité, 2015)

D. L'assistance médicale à la procréation (AMP) :

Les protocoles et les traitements d'AMP sont choisis entre le couple et l'équipe médicale en fonction des traitements antérieurs et des causes d'infertilité. Les principales techniques sont :

- L'insémination avec sperme du conjoint (IAC) en cas d'infertilité inexplicée, d'échec des médicaments d'induction d'ovulation ou de problème du col de l'utérus.
- La fécondation in vitro (Fiv) avec injection intracytoplasmique de spermatozoïdes (ICSI) en cas d'infertilité inexplicée, d'échecs d'insémination, d'infertilité mixte, d'un âge maternel avancé, de trompes obstruées.
- La fécondation in vitro sans micromanipulation en cas d'endométriose, d'infertilité ovulatoire ou tubaire.
- La congélation d'ovocytes avant une chimiothérapie, une radiothérapie ou d'autres traitements stérilisants. Ou dans le cas d'un protocole de don d'ovocytes.
- La congélation d'embryons en cas d'échec de transfert d'embryons "frais" ou avant un traitement stérilisant chez une femme vivant en couple. (Le grand livre de la fertilité, 2015)

CHAPITRE

2

MATERIELS ET METHODES

2.1 Introduction :

Dans ce chapitre, nous commençons par la présentation des sites d'accueil où nous avons réalisé notre étude. Ensuite nous présentons la partie relative aux matériels et méthodes utilisés pour étudier les propriétés de la plante *Ajuga iva* en vue d'une application pharmaceutique.

2.2 Présentation des sites d'accueil :

Notre étude a été réalisée au niveau de l'agence national de contrôle des produits pharmaceutiques au laboratoire de pharmacotoxicologie, laboratoire du département de Génie des Procédés de l'université de Saad DAHLAB – BLIDA, Laboratoire d'anatomie et de cytologie pathologique Dr Zemmouchi.

2.3 L'extraction d'huile essentielle :

L'extraction de l'huile essentielle d'*Ajuga iva* consiste à :

2.3.1 Préparation de la plante :

Notre étude est portée sur la plante *Ajuga iva* sèche, récoltée durant la période de floraison (Mars, 2020). Seules les parties aériennes ont été utilisées lors de notre étude.

La plante a été broyée par un broyeur électrique ensuite tamisée pour obtenir une poudre fine et homogène. La poudre obtenue a été conservée dans un récipient en verre et stocker à l'abri de la lumière et de l'humidité.

2.3.2 Procédé d'extraction par macération :

L'extraction de l'huile essentielle été faite en utilisant le procédé de macération. Ce procédé consiste à mélanger dans un erlenmeyer de 500ml; 30g de poudre d'*Ajuga iva* avec 300ml d'éthanol, le mélange a été soumis à une agitation magnétique pendant une nuit à température ambiante ($t=25^{\circ}\text{C}$). La solution obtenue a été filtrée par centrifugation à 1500tours/min pendant 10 min puis filtrée en utilisant au papier filtre. Ensuite les solvants sont éliminés par un évaporateur rotatif. (Girault et al., 1990)

Le résidu obtenu a été traité par un mélange d'hexane-MeOH-EtOH-H₂O à différents ratios (3 :1 :1 :1). Les solvants ont été éliminés de la phase aqueuse par un évaporateur rotatif à 60 ° C. Après évaporation l'huile essentielle a été dissoute dans 20ml de MeOH, puis 50ml d'acétone. Le mélange obtenu est centrifugée à une vitesse de 5000tours/min pendant 10min. (Girault et al., 1990)

Le surnageant a été purifié par adsorption en utilisant le Celite (10gr) lors de l'évaporation rotatif. Le procédé de purification consiste à : tout d'abord, à mélanger le surnageant avec le celite, ensuite, nous avons évaporé les solvants organiques par un évaporateur rotatif. La suspension obtenue est mélangée avec 30ml de CHCl₃ (chloroforme). Cette solution est purifiée à travers une colonne de chromatographie sur couche de silice en suivant le processus de gradients progressifs de MeOH er CHCl₃. (Girault et al., 1990)

Les cinq gradients obtenus ont été mélangés ; débarrassés des solvants par un évaporateur rotatif. La suspension obtenue a été conservée puis utilisé pour les essais in-vivo sur des souris de laboratoire. (Girault et al., 1990)



Figure 2.1 – Agitation magnétique du mélange.



Figure 2.2 – Evaporation du mélange.



Figure 2.3 – Chromatographie sur couche de silice.



Figure 2.4 – Extrait final.

2.4 Caractérisation de l'huile essentielle :

L'huile essentielle obtenue est caractérisée afin d'identifier les ecdystéroïdes, leur structure, composition chimique afin d'évaluer les différentes propriétés de l'échantillon obtenu.

2.4.1 Spectrophotométrie UV-Visible :

Le spectrophotomètre utilisé dans cette étude est de type "Shimadzu 1900 Pharmaspec". Dans ces analyses, nous avons utilisé des cuves en quartz d'épaisseur ($l = 1 \text{ cm}$). La longueur d'ondes maximale d'absorption de notre principe actif est obtenue directement par balayage automatique entre 200 et 400 nm. Cette méthode rapide et reproductible permet une analyse immédiate et fiable des échantillons qui sont dosés au fur et à mesure de leurs prélèvements pour éviter toute éventuelle photodégradation. La détermination des concentrations de principe actif libéré en fonction de temps est effectuée par dosage spectrométrique UV-visible.

2.5 Evaluation de l'activité fertilisante in vivo :

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

L'activité de la plante sur la fertilité féminine est explorée dans un premier temps en comparant le poids des ovaires des souris immatures traitées et à celui des ovaires des

souris non traités ; et dans un deuxième temps, une élaboration d'une étude histologiques des tissus ovariens.

2.5.1 Effet de l'extrait sur les ovaires des souris sexuellement immatures :

Dans cette partie, nous avons utilisés des souris femelles de types balb/C, fraîchement sevrées, pesant entre 10 et 14 grammes.

A. Gavage :

6 souris femelles reçoivent pendant 5 jours (l'équivalent d'un cycle œstral chez la souris) par gavage 13.5mg (0.5ml/souris) l'extrait d'ecdystéroïdes obtenu de la plante *Ajuga Iva*. Au 6ème jour, les souris sont euthanasiées par rupture de la nuque, disséquées, les ovaires prélevés et pesés. Le lot témoin également composé de 06 souris mais ne recevant aucun traitement nous permet de comparer le poids moyen des ovaires des souris traitées à celui des ovaires des souris non traités.

Le choix de la dose administrée a été basée sur des tests de cytotoxicité qui ont été réalisés dans une étude précédente selon le protocole d'OCDE.



Figure 2.5 – Le gavage de la souris.

B. 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.
- Les ovaires après avoir procédé à leur séparation à l'aide d'une lame de bistouri ont été pesés et fixés dans du formol à 10% pour procéder à l'étude histologique.



Figure 2.6 – Fixation de la souris sur la planche à dissection.



Figure 2.7 – Le déroulement des intestins et l'observation de l'appareil génital.

2.5.2 Etude histologique des ovaires :

La technique dite standard consiste en la préparation d'un fragment d'organe pour un examen au microscope. Elle requiert plusieurs étapes successives, à savoir : Prélèvement, fixation, déshydratation, éclaircissement, imprégnation, inclusion, confection des coupes histologiques, déparaffinage, réhydratation, montage et observation microscopique.

a) Fixation :

La première étape de ce processus est le prélèvement qui consiste à obtenir les ovaires en les séparant de l'appareil génital.

Les ovaires sont analysés macroscopiquement, pesés et fixés à l'aide d'une substance chimique que l'on appelle le fixateur (formol 10%) pendant 24h, afin de les conserver dans un état proche du vivant. Les ovaires sont ensuite déposés dans des cassettes d'inclusion en plastique servant de contenant pour la suite de la manipulation.

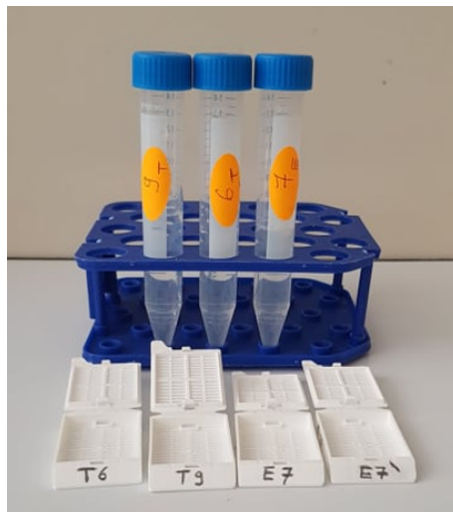


Figure 2.8 – Le gavage de la souris.

b) Déshydratation :

Cette étape permet d'extraire l'eau du tissu, par l'alcool éthylique, ce dernier miscible dans l'eau et dans l'agent clarifiant. Comme il agit assez rapidement, on évite d'y laisser les tissus trop long temps.

Les cassettes contenant les ovaires subissent une déshydratation dans une série de bains d'alcool de concentrations croissantes : 70 ° (1bain), 85 ° (1bain), 100 ° (1bain), car une trop forte concentration risque de causer la déformation, la rétraction et le durcissement des tissus. La durée de chaque bain est d'une heure.

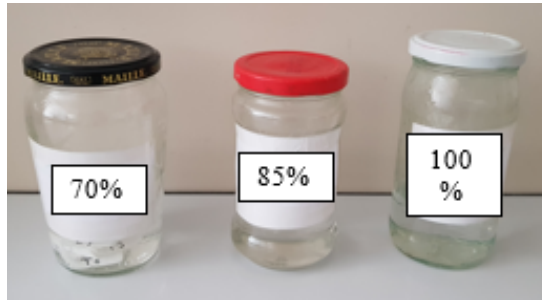


Figure 2.9 – Bains de déshydratation (Alcool 70%, 85%, 100%).

c) Eclaircissement :

Il permet de remplacer l'agent déshydratant par un produit miscible dans la solution d'imprégnation.

Se fait par immersion dans trois bains de xylène afin de rendre les pièces transparentes et éliminer l'alcool utilisé dans la déshydratation. C'est ce qui permet une miscibilité entre l'alcool et la paraffine par conséquent préparer et le tissu à l'imprégnation. La durée de chaque bain est d'une demi-heure.



Figure 2.10 – Bains d'imprégnation (Xylène).

d) Imprégnation à la paraffine :

Le milieu utilisé est le même qu'à l'étape d'inclusion, la paraffine. Elle permet de bien remplir toutes les cavités tissulaires, de donner une consistance uniforme et de fournir un support interne au tissu.

Elle s'effectue à chaud dans deux bains de paraffine liquéfiée à 56 ° C. La durée de chaque bain est de deux heures.

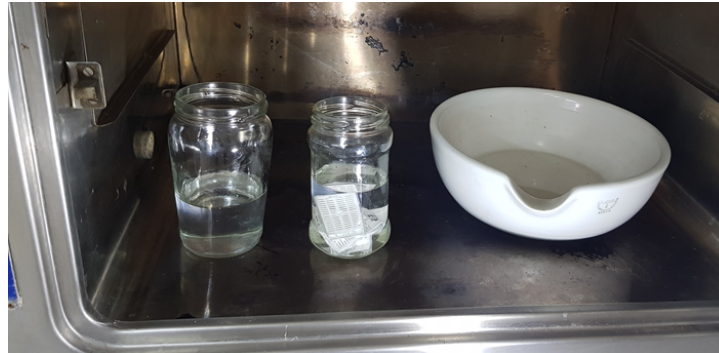


Figure 2.11 – Inclusion à la paraffine fondue (Chauffée à 56 °).

e) Inclusion et confection des blocs de paraffine :

Après 4heures d'imprégnation, la paraffine liquide est coulée dans un petit moule. Après refroidissement (dans un congélateur pendant toute une nuit), on obtient alors un bloc de paraffine, dur, avec la pièce prélevée à l'intérieur.



Figure 2.12 – Blocs de paraffine.

f) Confection des coupes histologiques :

Le microtome est un appareil muni d'une lame aiguisée qui permet d'obtenir des coupes de tissus fines, de 2 à 5 micromètres d'épaisseur. Au-delà de 5 micromètres, il est difficile d'observer correctement le prélèvement au microscope car les couches de tissus se superposent.

Les fines coupes réalisées sont ensuite déposées dans un bain marie puis sur des lames en verre et séchées afin d'adhérer parfaitement à la lame. (BMédia. Biologie cellulaire [en ligne]. Disponible sur : <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/ATP/histo.htm>. (Consulté le 27 août 2020))

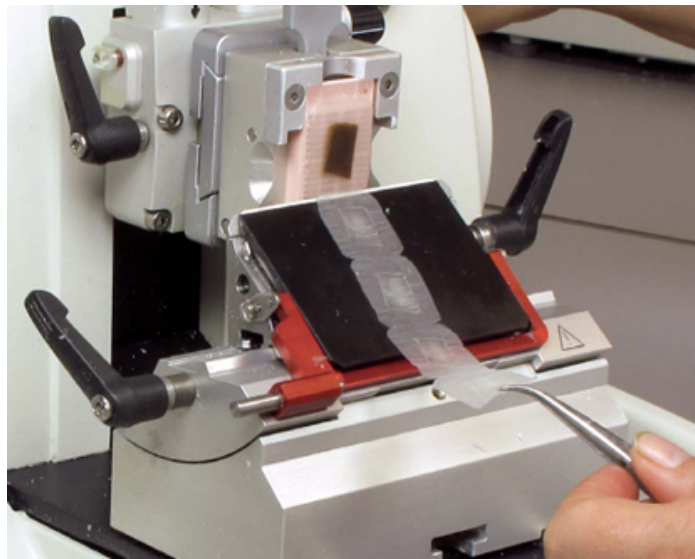


Figure 2.13 – Microtomie et préparation de coupes en paraffine.

g) Coloration et montage des lames :

L'inclusion de l'échantillon dans la paraffine implique son élimination préalablement à la coloration. En effet, la paraffine est hydrophobe tandis que les colorants sont hydrophiles. C'est pourquoi la coloration des coupes comporte une étape de déparaffinage et de réhydratation. Cette étape est assurée par une succession de bains, d'abord dans un solvant permettant l'élimination de la paraffine (xylène) puis dans des alcools de titre décroissant (100%, 85%, 70%), avant un bain dans l'eau pure assurant la réhydratation finale.

Après réhydratation, la coupe est colorée. Elle est d'abord plongée dans l'hématoxyline pendant 5 à 10 minutes, rincée par trois bains successifs dans l'eau de conduite puis dans l'eau distillée. La coupe est ensuite recouverte d'une goutte d'éosine directement sur la lame. Après deux minutes de coloration, la coupe est rincée par l'eau sous le robinet puis

dans l'eau distillée. Il faut alors procéder à la déshydratation, opération inverse de celle menée au début, avant de pouvoir faire le montage dans la résine.

La déshydratation est réalisée en plongeant successivement la lame dans trois bains d'alcool (70%, 85%, 100%) et enfin dans deux bains de xylène. À la sortie du solvant, une goutte de résine de montage est disposée sur la coupe et une lamelle est appliquée de façon à ce que la résine recouvre l'ensemble de la coupe. (BMédia. Biologie cellulaire [en ligne]. Disponible sur : <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/ATP/histo.htm>. (Consulté le 27 aout 2020)

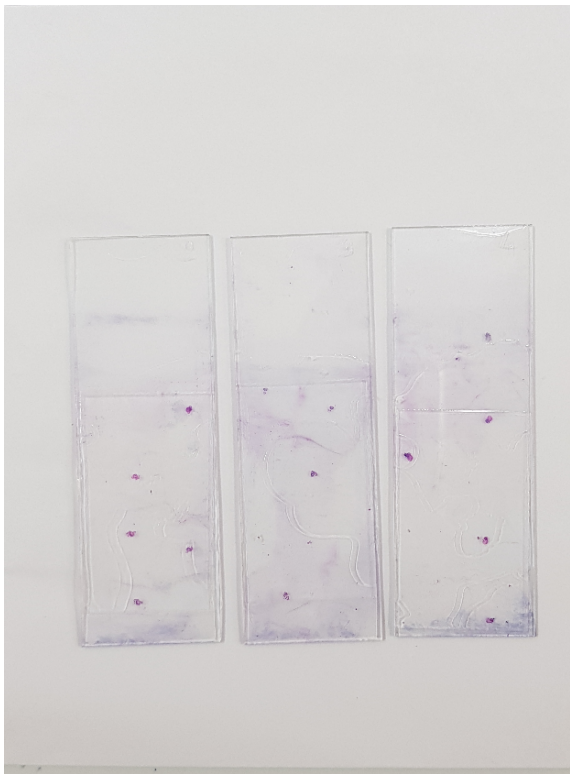


Figure 2.14 – Coupes fines des ovaires de souris traitées.



Figure 2.15 – Coupes fines des ovaires de souris non traitées.

CHAPITRE

3

RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

3.1 Introduction :

Dans ce chapitre, nous allons exposer et discuter l'essentiel des résultats expérimentaux obtenus de l'extraction, de la caractérisation et de l'évaluation de l'activité fertilisante in vivo des ecdystéroïdes, ainsi que les résultats de l'étude histologique des ovaires.

3.2 Les résultats de l'extraction :

Dans notre étude, nous avons réalisé un procédé d'extraction par macération, qui contient 3 étapes : la macération, la purification et l'isolement ; dans le but d'obtenir, à partir de la partie aérienne de la plante *Ajuga iva*, un extrait d'ecdystéroïdes qui représente la substance active responsable à améliorer la stérilité féminine.

3.2.1 Propriétés organoleptiques des huiles essentielles extraites :

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

Tableau 3.1 – Les caractéristiques organoleptiques des huiles extraites.

Procédé d'extraction	Aspect	Couleur	Odeur
Macération	Huileux	Verte	Aromatique

A la lumière des résultats organoleptiques consignés dans le tableau 3.1 ci-dessous nous constatons que l'extrait obtenu de l'extraction par macération des ecdystéroïdes présente un aspect huileux d'une couleur verdâtre et une odeur aromatique.

3.2.2 Teneur en huile essentielle :

Le rendement moyen en huile essentielle a été calculé en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante *Ajuga iva*. Le tableau 3.2 suivant regroupe les résultats des calculs.

Tableau 3.2 – La teneur en huile essentielle.

Poids végétal (g)	Poids d'HE (g)	Rendement en HE %
30	4.4	14.66

Le résultat obtenu a fourni un taux de 14,66% ; ce dernier peut être considéré très significatif comparé à l'étude réalisé précédemment, dont le taux a été de 3.36%. (Boudissa F., (2018). Optimisation d'une formulation pharmaceutique à base d'un extrait d'*Ajuga iva* en vue d'un traitement de la fertilité féminine. Université de Saad Dahleb 1, Blida. p. 73)

3.3 Caractérisation de l'extrait obtenu par macération :

3.3.1 Résultats de la spectrophotométrie UV-Vis :

Nous avons analysé l'extrait huileux obtenu par macération par balayage en utilisant une spectrophotométrie UV-VIS, le spectre d'analyse est représenté dans la figure suivante et illustré sous forme de tableau donnée en annexe.

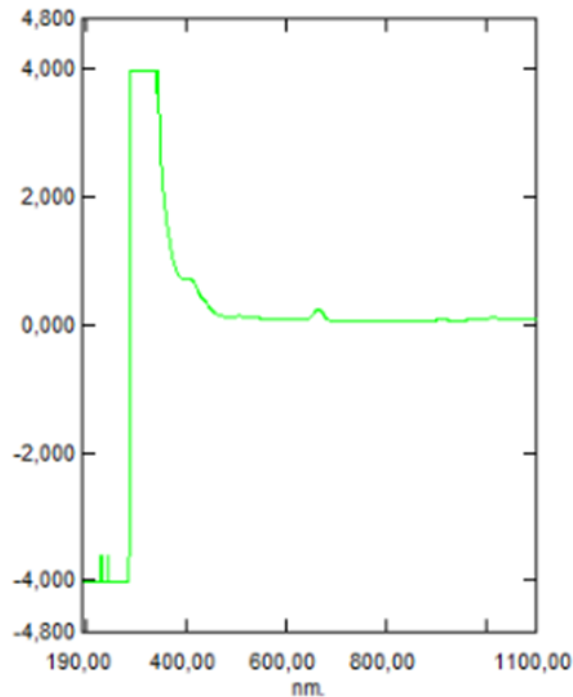


Figure 3.1 – Spectres UV-Visible d'ecdystéroïdes.

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

A partir de cette information, nous constatons que la longueur d'onde entre 255 à 300 nm correspond à la présence des ecdystéroïdes dans l'extrait obtenu. Ce même résultat est en parfait accord avec celui trouvé dans la littérature. (Mária báthori, 1998)

3.4 Résultats de l'évaluation de l'activité fertilisante *in vivo* :

3.4.1 Effet de l'extrait sur les ovaires :

Les résultats de l'effet de l'extrait sur les ovaires de souris sont regroupés dans le tableau 3.3 suivant :

Tableau 3.3 – Tableau récapitulatif du poids des ovaires des souris immatures traitées et non traitées par l'extrait d'ecdystéroïde.

Souris traitées N °	Poids de souris(g)	Poids des ovaires (mg)		Souris non traitées N °	Poids de souris(g)	Poids des ovaires (mg)
1	14.5	5.6		1	13	1
2	11.2	3.4		2	11.4	3.4
3	13.2	8.5		3	11.7	0.8
4	11.3	11.3		4	12.4	5.6
5	12	0.5		5	14.2	4.2
6	10.2	7		6	10.7	1.4
Moyenne	12.3	6.05		Moyenne	12.23	2.73

Au regard des résultats obtenus dans le tableau ci-dessus, nous remarquons une différence assez importante des moyennes, ce qui prouve l'efficacité du traitement par l'extrait d'ecdystéroïdes.

Afin de bien illustrer les résultats obtenus, nous avons présenté les résultats sous forme d'histogramme :

A. Exploitation des résultats par l'étude statistique :

Afin de d'évaluer l'applicabilité des résultats obtenus, il est judicieux de faire appel à des grandeurs statistiques et les comparés aux normes données dans la littérature. Parmi les paramètres les plus utilisés et celui de test de Student.

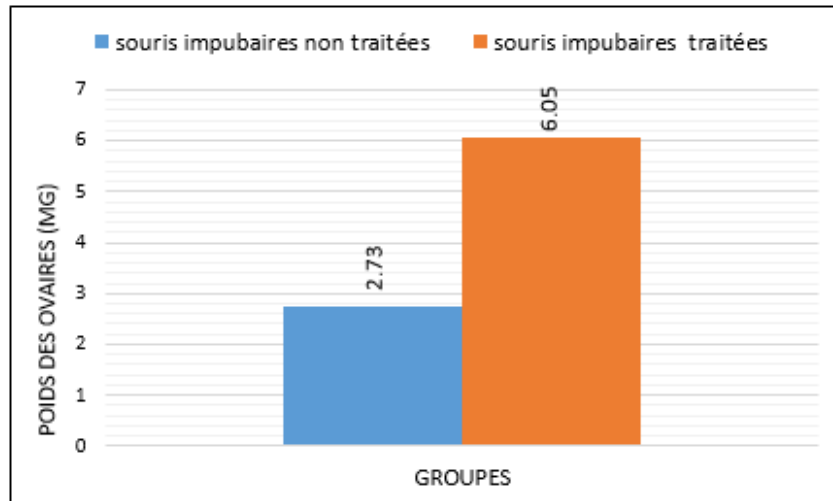


Figure 3.2 – Histogramme montrant l'évolution pondérale des ovaires chez les deux groupes de souris.

Tableau 3.4 – La comparaison des moyennes par le test de Student.

Variables	Groupes comparés	p-value	Signification statistique
Ovaires	Souris impubères traitées / Souris impubères non traitées	0.044526 < $\alpha=5\%$	Différence significative entre les poids des ovaires

Au regard des résultats obtenus, nous avons remarqué que le poids moyen des ovaires des souris âgées de 21 jours (âge pour lequel elles sont sexuellement immatures), après traitement oral à la dose de 13.5 mg/kg de poids corporel pendant une durée de 05 jours (correspondant à un cycle menstruel chez l'espèce murine) présente une augmentation significative ($p < 0.05$) de l'ordre de 2.5 fois supérieure à celui des ovaires de souris impubères non traitées.

3.5 Résultat de l'étude histologique :

Cette étude a pour but l'exploitation et l'observation des structures des ovaires des souris.

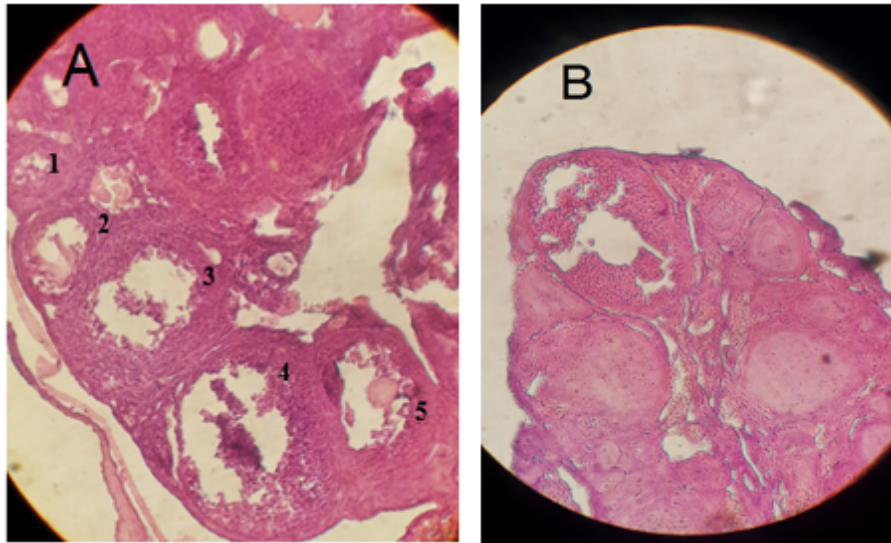


Figure 3.3 – Coupes transversales des ovaires de souris traitées et non traitées par l'extrait d'ecdysteroides.

A : Coupes transversales d'un ovaire de souris traitée par l'extrait d'ecdysteroides observée au microscope photonique grossissement 40. B : Coupes transversales d'un ovaire de souris non traitée par l'extrait d'ecdysteroides observée au microscope photonique grossissement 40.

L'observation à droite a été faite à partir d'un ovaire de souris immatures non traitées avec l'extrait d'ecdyséroides, les follicules sont tous semblables et très petits dont l'évolution est difficile à observer.

L'observation à gauche a été faite à partir d'un ovaire de souris immature traitées par l'extrait d'ecdystéroides, les follicules sont de taille variable et possèdent différentes structures. Nous constatons aussi que la taille des follicules varie en fonction de leur stade de maturation.

D'une manière générale nous pouvons dégager les conclusions suivantes :

(1) Follicule primordial; désigne un follicule dont la maturation n'est pas encore déclenchée.

(2) Follicule primaire; correspond au premier stade de maturation du follicule ou l'ovocyte.

(3) Follicule secondaire; à ce stade, plusieurs couches d'épithélium se forment autour de l'ovocyte. Ce dernier continue à croître.

(4) Follicule tertiaire; une couche de cellules se développe autour du follicule, formant la thèque folliculaire. A ce stade, l'ovocyte sécrète une substance formant une épaisse membrane, la zone pellucide. Un liquide translucide s'accumule également entre les cellules

granuleuses.

(5) Follicule de De Graaf ; le liquide accumulé entre les cellules granuleuses se regroupe et forme une cavité, l'antrum folliculaire. En continuant de se remplir de liquide, la cavité grossit pour finalement isoler l'ovocyte entouré de sa capsule cellulaire, nommée corona radiata. Lorsque le follicule atteint ses dimensions maximales, il est prêt pour l'ovulation.

CONCLUSION GÉNÉRALE

La présente étude a été portée sur l'utilisation des parties aériennes d'*Ajuga iva* pour augmenter le pronostic fertilisant chez la femme.

Dans notre étude nous nous sommes intéressées principalement sur l'extraction des ecdystéroïdes en utilisant le protocole d'extraction par macération et ceci pour les caractériser, identifier et évaluer leur activité fertilisante en réalisant des tests in-vivo.

Le protocole d'extraction par macération nous a permis d'avoir un rendement important qui est de l'ordre de 14.66%.

L'extrait obtenu au cours de cette étude a été caractérisé par UV-VISIBLE et à travers les résultats obtenus nous avons conclu qu'il s'agit des ecdystéroïdes par l'enregistrement de la longueur d'onde de 254 nm.

Suite à l'évaluation de la toxicité de l'extrait sur des souris, nous avons constaté qu'il n'y avait aucune mortalité ni morbidité tout au long de la période d'observation avec un seuil de 2000 mg/kg.

A partir des résultats obtenus de la toxicité, l'étude in vivo mené, a démontré que les ecdystéroïdes d'*Ajuga iva* présentent un effet fertilisant et ceci grâce au test statistique effectué entre les souris traitées et non traitées qui est d'une valeur de $P=0,04452$.

L'étude histologique des ovaires des souris traitées et non traitées révèle une évolution considérable des follicules des souris sexuellement immatures traitées comparées aux non traitées.

BIBLIOGRAPHIE

- Ait Youssef, M. (2006). Les plantes médicinales de kabylie ; Edition Ibis press PP 17-19
- Baba Aissa, F. (2000). Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed. Librairie modern Rouiba, 46.
- Bellakhdar, J. (1978). Médecine traditionnelle et toxicologie ouest saharienne. Ed. Nord africaines, Rabat. P : 253
- Bennaghmouch, L., Hajjaji, N., Zellou, A., Cherrah H. (2001)., Etude pharmacologique d'*Ajuga iva*. Ed : Masson. 284.
- Blandau R. J. et Soderwall A. L., 1941. Post-parturitionaL heat and the time of ovuLation in the aLbino rat. Data on parturition. Anat. Rec. 81 : 419-431.
- BMédia. Biologie cellulaire [en ligne]. Disponible sur : [http ://www.snv.jussieu.fr/bmedia/ATP/histo.htm](http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/ATP/histo.htm). (Consulté le 27 aout 2020)
- Bouderbala, S., Senhadjia, L. M., Prostb, J., Duboisc, L. M. A., Bouchenaka, M., (2008). Changes in antioxidant defense status in hypercholesterolemicrats treated with *Ajuga iva*, Phytomedicine, 15, 453–461.
- Bruneton J., (2008). Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 3éme Ed

Paris, Lavoisier Tech & Doc.

- Budic-Leto T., Lovric J., (2002). Identification of Phenolic Acids and Changes in their Content during Fermentation and Ageing of White Wines Pošip and Rukatac Food Technol and Biotechnol ; 40 (3) : 221-225.

- Carillon Alain. Place de la Phytothérapie dans les systèmes de santé au XXIème siècle. Séminaire International sur les Plantes Aromatiques et Médicinales. Djerba, Mars 2009.

- Collège des médecins du Québec. (2015). Les activités de procréation médicalement assistée démarches clinique et thérapeutique. Dépôt légal : 4e trimestre 2015. Bibliothèque et Archives nationales du Québec : Bibliothèque et Archives nationales du Canada. ISBN 978-2-9815140-5-9 (PDF).

- Cowan MM., (1999). Plant products as antimicrobial agents. Clinical microbiology reviews ; 28 : 85-95

- Dr Marie Mawet. À quels moments les femmes sont-elles fertiles ? [en ligne]. Disponible sur : <https://www.gynandco.fr/la-fertilite-feminine/>. (Consulté le 15 juillet 2020).

- Dr Philippe Mironneau. Fertilité de la femme : les tests et examens à faire [en ligne]. Disponible sur : <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-sexo-gyneco/2537018-fertilite-femme-test-examens-age/>. (Consulté le 15 juillet 2020)

- Dupont F and Guignard J. (2012). Abrégés de pharmacie. Botanique, les familles de plantes. 15 ème édition.

- El Hilaly, J., Lyoussi, B., (2002). Hypoglycemic effect of the lyophilized aqueous extract of *Ajuga iva* in normal and Streptozotocin diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology, 80,109-113

- El-Hilaly, J., Tahraoui, A., Israili, Z. H., & Lyoussi, B. (2007). Acute hypoglycemic, hypocholesterolemic and hypotriglyceridemic effects of continuous intravenous infusion of a lyophilised aqueous extract of *Ajuga iva* L. Schreber whole plant in streptozotocin-induced diabetic rats. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 20(4), 261-268.

- Erdman J., Balentine J.D., Arab L., Dwyer J.T., Folts J., Harnly., Hollman J.P., Keen L.C., Mazza G., Messina M., Scalbert A., Vita J., Williamson G., Burrowes J.,

(2007). Flavonoids and heart health : Proceeding of the ILSI North American flavonoids workshop, Washington. Journal of Nutrition 137(3 supp 1) : 718-737

- Girault, J.-P., Biithori, M., Varga, E., Szendrei, K. and Lafont, R. (1990) J. Nat. Prod. 53, 279.

- Hadichambis, A. CH., Paraskeva- Hadichambi, D., Della, A., Giusti, M.E., De Pascale, C., Lenzarini, C., Censori, E., Skoula, M., Johnson, C., Sarpaki, A., Hmamouchi M., Gonzalez-Tejero, M.R., Sanchez-Rojas, C.P., Ramiro-Gutierrez, J.M., Sarpaki A., Johri, S., El-Demerdash, M., El-zahat, M., Pieroni, A., (2007). Wild and semi-domesticated food plant consumption in seven circumMediterranean areas. International Journal of Food Science and Nutrition. 1-32.

- Halimi, A.K. (2004). Les plantes médicinales en Algérie. Editions BERTI, Alger. 156-157.

- Hamden, K., Carreau, S., Jamoussi, K., Ayadi, F., Garmazi, F., Mezgenni, N., Elfeki, A., (2008). Inhibitory effects of 1alpha, 25dihydroxyvitamin D3 and *Ajuga iva* extract on oxidative stress, toxicity and hypo-fertility in diabetic rat testes. J Physiol. Biochem. 64 (3), 231-239.

- Huiles essentielles. Avantages et inconvénients [en ligne]. Disponible sur : <http://www.medecinesnaturelles.com/index.php?to=3&so=5&page=12>. (Consulté le 27 août 2020)

- Khetouta M.L (1987). Comment se soigner par les plantes médicinales. Editions marocaines et internationales, Tanger. 311p.

- Les plantes et leurs propriétés, (1997). Algo vision CD ROM, France.

- Lindsay, T. J., et Vitrikas, K. R. (2015). Evaluation and treatment of infertility. American Family Physician, 91(5), 308-314.

- Managing anovulatory infertility. (2004). Drug And Therapeutics Bulletin, 42(4), 28-32.

- Mohamed amine BEDRANE. La plante médicinale *Ajuga iva* L [en ligne]. Disponible sur : <https://agronomie.info/fr/plante-medicinale-ajuga-iva-l/>. (Consulté le 15 avril 2020).

- Strang C. (2006). Larousse médical. Ed Larousse.

- Taleb-Senouci D., Ghomari H., Krouf D., Bouderbala S., Prost J., Lacaille-Dubois M and Bouchenak M. (2009). Antioxidant effect of *Ajuga iva* aqueous extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*. 16 : 623-631.

- Tahraoui, A., El-Hilaly, J., Israili, Z.H., Lyoussi, B., (2007). Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south-eastern Morocco (Errachidia province). *Journal of Ethnopharmacology*. 110, 105–117.

- Thornton, E. c., Von Wald, T., et Hansen, K. (2015). Polycystic Ovarian Syndrome : A Primer. *South Dakota Medicine : The Journal Of The South Dakota State Medical Association*, 68(6), 257-261.

- Turner C., D., 1955. *General endocrinology*. Philadelphia and London. 553 p

- Wichtel M., Anton R., (2009). *Plantes thérapeutiques tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. Edition LAVOISIER, Paris : 38- 41.

- Zafar H and Badiâa L. (2009). Ethnopharmacology of the plants of genus *Ajuga*. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 22(4) : 425-462.

ANNEXES

Annexe 1 : Les feuilles d'*Ajuga iva*



Figure 1 : Les feuilles d'*Ajuga iva*. A : feuilles fraîches ; B : feuilles séchées .

Annexe 2 : Caractérisation de l'huile essentielle



Figure 2 : Spectrophotomètre type "Shimadzu 1900 Pharmaspec " .

Annexe 3 : Résultats UV-Vis

No.	P/V	Wavelength nm.	Abs.	Description
1	⊕	1013.00	0.115	
2	⊕	908.00	0.101	
3	⊕	802.00	0.050	
4	⊕	789.00	0.050	
5	⊕	777.00	0.050	
6	⊕	765.00	0.051	
7	⊕	740.00	0.054	
8	⊕	728.00	0.052	