

# Influence des agents de surface

sur le comportement rhéologique et la stabilité  
d'une émulsion multiple à usage topique



M. BENZAOUI <sup>(1)</sup>, I. BEKKARI <sup>(1)</sup>, C. BEKHTAOUI <sup>(1,2)</sup>, N. MOUSSAOUI-KHEDAM <sup>(1,3)</sup>,  
L. HAMMADI <sup>(4)</sup>, H. CHADER <sup>(5)</sup>, H. TOUMI <sup>(2,3)</sup>

(1) Laboratoire de pharmacie galénique. Faculté de Médecine. Université d'Oran 1

(2) Service de pharmacovigilance. Établissement Hospitalier et Universitaire d'Oran

(3) Laboratoire de recherche en développement pharmaceutique.

Faculté de Médecine d'Oran

(4) Laboratoire de rhéologie, transport et traitement des fluides complexes.

Université des Sciences et de la Technologie d'Oran

(5) Laboratoire de Pharmacologie. Faculté de Médecine. Université d'Alger 1

## Résumé

**Introduction :** Les émulsions multiples sont des systèmes prometteurs de par leurs nombreuses propriétés ; néanmoins leurs instabilités fréquentes constituent un défi majeur à considérer lors de la formulation. L'objectif de ce travail, a été de formuler une émulsion multiple renfermant de l'huile de nigelle : une substance aux vertus recherchées par les utilisateurs. **Matériels et méthodes :** Les différentes émulsions multiples ont été préparées selon le procédé en deux étapes d'émulsification. L'influence de différentes combinaisons d'agents de surface lipophiles (Span® 80, Abil® EM 90) et hydrophiles (Tween® 20, Tween® 80, Lutrol® F 127), sur les propriétés des émulsions multiples a été étudiée. La stabilité des émulsions multiples a été suivie à des intervalles de temps réguliers à travers l'observation macroscopique, les analyses granulométriques, conductimétriques et rhéologiques. La tolérance cutanée a été évaluée in vitro et in vivo. **Résultats :** En raison d'une viscosité faible, les émulsions multiples à base d'huile de nigelle n'ont pu être obtenues qu'à travers l'utilisation concomitante d'huile de paraffine. L'émulsion multiple formulée avec le couple d'agents de surface : Abil® EM 90-Tween® 80 s'est caractérisée par les meilleures propriétés technologiques et rhéologiques avec une stabilité physique relativement supérieure en comparaison aux autres formules d'émulsions multiples. Dans les conditions expérimentales adoptées, les résultats ont montré une bonne tolérance locale de l'émulsion multiple testée. **Conclusion :** A travers cette étude, il ressort que l'association de l'huile de paraffine à l'huile de nigelle avec un choix judicieux des agents de surface lipophiles et hydrophiles sont déterminants pour l'aboutissement à une émulsion multiple stable.

### >>> Mots-clés

Huile de nigelle, huile de paraffine, agents de surface, rhéologie, stabilité.

## Abstract

**Introduction:** Multiple emulsions are promising systems due to their many properties; nevertheless, their frequent instabilities are a major challenge to consider during formulation. The purpose of this work, was to formulate a multiple emulsion containing nigella oil: a natural substance with many virtues, sought by consumers. **Materials and methods:** The preparation of the various multiple emulsions was carried out by the two-step process emulsification. The influence of different combinations of lipophilic (Span® 80, Abil® EM 90) and hydrophilic (Tween® 20, Tween® 80, Lutrol® F 127) surfactants on the properties of the multiple emulsions was studied. The stability of the multiple emulsions was monitored at regular time intervals through macroscopic observation, particle size, conductivity and rheological analyses; in vitro and in vivo studies were conducted to evaluate cutaneous tolerance. **Results:** Due to low viscosity, nigella oil based multiple emulsions could only be obtained through the concomitant use of paraffin oil. The multiple emulsion formulated with the couple of surfactants: Abil® EM 90-Tween® 80 was characterized by the best technological and rheological properties with relatively higher physical stability compared to the other multiple emulsion formulations. Under the experimental conditions adopted, the results showed a good local tolerance of the multiple emulsion tested. **Conclusion:** Through this study, it appears that the combination of paraffin oil and nigella oil with a wise choice of lipophilic and hydrophilic surfactants is crucial for obtaining a stable multiple emulsion.

### >>> Key-words

Nigella oil, paraffin oil, surfactants, rheology, stability.

## Introduction

Les émulsions multiples (EM), grâce à leur structure particulière, constituent des systèmes prometteurs notamment dans les domaines cosmétique et pharmaceutique <sup>[1]</sup>.

Comparées aux émulsions simples, les EM sont des systèmes dispersés complexes, dont deux types sont possibles : les émulsions Hydrophile/Lipophile/Hydrophile (H/L/H) et les émulsions Lipophile/Hydrophile/Lipophile (L/H/L) <sup>[2]</sup>.

Les émulsions H/L/H sont constituées à la fois d'une émulsion simple H/L et d'une autre émulsion simple L/H ; en raison de la présence de deux interfaces, les EM sont des systèmes thermodynamiquement instables. Pour pallier à cette instabilité, le recours aux agents de surface (ADS) lors de leur préparation est essentiel ; un premier ADS lipophile aura pour rôle de renforcer la membrane séparant la phase aqueuse interne de la phase huileuse, le second, est un ADS hydrophile, permettra de stabiliser l'interface entre la phase huileuse et la phase aqueuse externe <sup>[3-5]</sup>.

De plus, la stabilité des EM est conditionnée entre autres, par la nature et la proportion de l'huile et des ADS utilisés, ces deux composants ont un rôle déterminant dans la réussite de la formulation <sup>[6]</sup>.

Les nouvelles formulations topiques chargées d'actifs fonctionnels naturels, font l'objet d'intenses recherches <sup>[7]</sup>.

Les composés bioactifs de l'huile végétale de *Nigella sativa*, tout en favorisant la pénétration cutanée, ces derniers présentent de nombreuses propriétés, notamment, anti-oxydantes, anti-inflammatoires et hydratantes <sup>[8]</sup>.

Cependant, comparée aux huiles habituellement utilisées pour la formulation des EM, la viscosité très faible ( $30,8 \pm 0,899$  mPas à 20°C) de l'huile de nigelle <sup>[9,10]</sup> rend d'emblée son emploi délicat dans la mise au point de ce type de systèmes.

L'objectif de ce travail, a été d'incorporer l'huile de nigelle dans une EM de type H/L/H, et d'étudier l'influence des ADS lipophiles et hydrophiles de structures chimiques différentes sur les propriétés et la stabilité dans le temps des EM lorsqu'elles sont préparées par le procédé de fabrication par émulsification en deux étapes.

## Matériels et méthodes

### a. Matières premières

Pour mener cette étude expérimentale, des huiles pures ont été utilisées pour la phase lipophile : l'huile de nigelle (Market Abu Jamel, Arabie Saoudite) et l'huile de

paraffine (Sigma-Aldrich, France) ; le cétyl diméthicone copolyol ou Abil EM 90<sup>®</sup> (Goldschmidt, France) et le mono-oléate de sorbitane ou Span<sup>®</sup> 80 (Sigma-Aldrich, Allemagne) ont été utilisés comme ADS lipophiles ; tandis que le mono-oléate de sorbitane polyoxyéthylène ou Tween<sup>®</sup>80 (Panreac, Espagne), le monolaurate de sorbitane polyoxyéthylène ou Tween<sup>®</sup> 20 (Biochem Chemopharma, France), et enfin le Poloxamer 407 ou Lutrol<sup>®</sup> F127(Ici, France) ont été utilisés comme ADS hydrophiles.

Le chlorure de sodium (Prolabo, France) encapsulé dans la phase aqueuse interne a été utilisé comme marqueur déclatement des globules huileux ; la gélatine pharmaceutique (Riedel-De-Haën, Allemagne) a été utilisée comme agent gélifiant dans la phase aqueuse externe de l'émulsion multiple, le DL-alpha-tocophérol 98% ou vitamine E (Avocado Research Chemicals, United Kingdom) a été utilisé comme antioxydant de la phase huileuse ; l'eau distillée (Saidal, Algérie) a été utilisée tout au long de cette étude.

### b. Optimisation de la formulation

Il est à noter que cette étude expérimentale a commencé par une étape d'optimisation où plusieurs formules d'émulsions multiples à base d'huile de nigelle seule et aux proportions de 30, 35, 40, 45 et 50% ont été tentées initialement (données non représentées) ; avant d'opter pour la formule définitive dans laquelle une proportion bien définie d'huile de nigelle a été inévitablement substituée par une huile minérale telle que l'huile de paraffine, cette dernière possède une viscosité de 110–230 mPas à 20°C, et se caractérise de plus par une bonne tolérance cutanée ; elle est par conséquent couramment utilisée dans les formulations pharmaceutiques topiques comme composant des crèmes et des laits dermiques <sup>[11]</sup>.

Par conséquent, dans cette étude, l'huile de paraffine a été utilisée pour améliorer la viscosité de l'huile de nigelle, dans le but d'obtenir une crème sous forme d'une émulsion multiple se caractérisant par la présence de globules huileux renfermant de nombreuses gouttelettes aqueuses. En effet, l'étape d'optimisation a permis non seulement de fixer avec précision la proportion globale (35%) du mélange « huile de nigelle – huile de paraffine », mais aussi les proportions de chacune des deux huiles susceptibles d'aboutir à la formation de l'émulsion multiple par estimation de la polydispersité au microscope optique.

Ainsi, les EM ont été mises au point selon la formule optimisée ci-dessous :

<b>Émulsion primaire</b>	
Huile de nigelle	17,5%
Huile de paraffine	17,5%
Abil® EM 90 ou Span® 80	5%
Vitamine E	0,1%
Phase aqueuse interne contenant du NaCl - QSP	100%
<b>Émulsion multiple</b>	
Émulsion primaire	60%
Tween®80 ou Tween®20 ou Lutrol®F127	1%
Gélatine	0,5%
Eau distillée - QSP	100%

### c. Préparation des émulsions multiple de type H/L/H

Les différentes EM ont été préparées selon le procédé en deux étapes d'émulsification<sup>[12]</sup> ; dans un premier temps, une émulsion primaire H/L est obtenue par dispersion progressive d'une solution aqueuse (contenant du NaCl) dans une phase lipophile contenant un mélange d'huile de nigelle et d'huile de paraffine, ainsi que l'ADS lipophile et la vitamine E.

La dispersion est soumise à une vitesse d'agitation élevée (3.000 Tours/minutes) pendant 30 minutes pour obtenir une émulsion primaire se caractérisant par de fines gouttelettes aqueuses.

Dans un second temps, l'émulsion multiple est réalisée en dispersant lentement une fraction volumique optimisée (60%) d'émulsion primaire dans une phase aqueuse externe contenant l'ADS hydrophile et la gélatine ; afin d'éviter la rupture des globules multiples au cours de leur formation, la vitesse de cisaillement adoptée a été de 600 Tr/min, l'agitation était maintenue jusqu'à formation de l'émulsion multiple, vérifiée par observation microscopique.

Afin d'éviter la dégradation de l'huile de nigelle, les deux étapes d'émulsification ont été conduites à la température de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ .

L'émulsification a été assurée par une turbine centrifète de 3 cm de diamètre intégrée dans un agitateur Turbo test 33/300P (Rayneri Groupe VMI, France).

Les compositions respectives des EM figurent dans le tableau 01.

### d. Caractérisation des émulsions multiples

• **Examen macroscopique et microscopique** : l'aspect, l'homogénéité, la texture, la couleur ainsi que l'observation au microscope optique pour estimer la polydispersité, ont été enregistrés sur les EM immédiatement après leur obtention (J0).

• **Analyse granulométrique** : un microscope optique (Leitz Wetzlar, Allemagne) équipé d'un micromètre a été utilisé. L'examen a été réalisé sous immersion, au grossissement X100. Cette analyse a permis de mesurer la taille des globules huileux à J0, puis chaque semaine, jusqu'à déstabilisation spontanée dans le temps des EM conservées à la température de  $+4 \pm 2^\circ\text{C}$ <sup>[13]</sup>.

• **Analyse conductimétrique** : pratiquée sur les EM à J0, puis chaque semaine, jusqu'à déstabilisation des systèmes au cours de leur stockage à  $+4 \pm 2^\circ\text{C}$ . Un conductimètre (Ino Lab Cond 720, Wtw GmbH, Allemagne) a été utilisé. Les essais ont été conduits sous agitation à  $20^\circ\text{C}$  sur des échantillons préalablement dilués au 1/20 dans de l'eau distillée. Toute augmentation de la conductivité au cours du temps, signifierait la libération de l'électrolyte (NaCl) dans la phase aqueuse externe suite à l'éclatement des globules<sup>[14]</sup>.

• **Mesure et suivi du pH** : effectuée à l'aide d'un pH mètre starter 3C (Ohaus, USA) à J0, puis chaque semaine, jusqu'à déstabilisation spontanée des EM conservées à  $+4 \pm 2^\circ\text{C}$ . Le pH des EM formulées ne devrait pas trop s'éloigner du pH physiologique de la peau humaine qui se situe autour de 5 et 6<sup>[15]</sup>. Lors de cette étude, la mesure du pH constituait un test in vitro d'évaluation de la tolérance cutanée des EM mises au point.

• **Analyse rhéologique** : réalisée à J1 pour l'ensemble des EM obtenues, puis à quatre semaines pour celles qui sont demeurées stables. Le but du test a été d'appréhender le comportement rhéologique des EM<sup>[16]</sup>.

Un rhéomètre à couple de rotation imposé Haake RS 600 (Thermo-Fisher, Allemagne) a été utilisé ; ce dernier est équipé d'un système cône-plan avec un plateau de 60 mm de diamètre et d'un entrefer de 0,105 mm ; l'angle du cône utilisé était de 2 degrés. L'analyse a été menée à la température de  $+20^\circ\text{C}$ .

• *Évaluation de la tolérance cutanée in vivo* : l'innocuité de l'émulsion multiple formulée, a été évaluée chez six lapins de race albinos, il s'agit du test d'irritation primaire cutanée, employé pour déterminer la capacité d'irritation primaire d'un produit <sup>[17]</sup>. Dans un premier temps, le dos et les flancs des lapins ont été tondu à l'aide d'une tondeuse électrique, puis trois scarifications parallèles sur une longueur de 03 cm espacées de 0,5 cm ont été pratiquées par un scalpel au niveau du flanc droit de chaque animal.

Vingt-quatre heures plus tard, une quantité de 0,5 g d'émulsion multiple a été appliquée sur chacun des flancs des animaux sous pansement semi-occlusif. L'échantillon de crème formulée (EM) a été laissé en

contact avec la peau durant 24 heures. Trente minutes après le retrait du pansement et 48 heures plus tard (soit environ 24 et 72 heures après l'application), l'irritation cutanée a été appréciée aux sites d'application (scarifié et non scarifié) à l'aide d'une échelle d'évaluation numérique permettant de coter les érythèmes et la formation d'œdème (tableau 2). L'indice d'irritation primaire cutanée (IP où E, Oe : Érythème, œdème) a été calculé selon l'équation (1) en additionnant les chiffres obtenus pour l'érythème et l'œdème, à 24 et 72 heures, sur les 12 zones d'application.

$$IP = \frac{24h(E,Oe)+72h(E,Oe)}{24} \quad \text{Equa. (1)}$$

Tableau 01 : Compositions des différentes émulsions multiples (% , m/m)

Émulsion multiple H/L/H						
	EM1	EM2	EM3	EM4	EM5	EM6
<b>Emulsion primaire</b>						
Huile de nigelle	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5
Huile de paraffine	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5	17,5
Span® 80	5,0	5,0	-	-	5,0	-
Abil® EM 90			5,0	5,0		5,0
Vitamine E	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Phase aqueuse	59,9	59,9	59,9	59,9	59,9	59,9
<b>Emulsion multiple</b>						
Émulsion primaire	60,0	60,0	60,0	60,0	60,0	60,0
Tween® 80	1,0	-	-	1,0	-	-
Tween® 20	-	1,0	1,0	-	-	-
Lutrol® F127	-	-	-	-	1	1
Gélatine	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Eau distillée	38,5	38,5	38,5	38,5	38,5	38,5

(-) : Champ vide

Tableau 02 : Test de tolérance cutanée : échelle numérique de lecture et classification des préparations cutanées <sup>[17]</sup>

Échelle numérique de lecture des irritations et des œdèmes				Classification des préparations cutanées en fonction de l'indice d'irritation cutanée primaire	
Érythème		Œdème		Classification	Indice d'irritation primaire
Pas d'érythème	0	Pas d'œdème	0	Non Irritant	IP < 0,5
Léger érythème	1	Très léger œdème	1	Légèrement irritant	0,5 < IP < 2
Érythème bien visible	2	Léger œdème (Gonflement apparent)	2	Irritant	2 < IP < 5
Érythème important	3	Œdème moyen (E= 1mm)	3	Très irritant	5 < IP < 8
Érythème grave avec ou sans escarres	4	Œdème grave (E= >1mm)	4		

## Résultats

**a. Observation macroscopique et analyse microscopique des émulsions multiples :** Parmi les six EM préparées, seules EM1, EM3, EM4 et EM6 se sont formées. Ces dernières, étaient de couleur blanche et présentaient un aspect homogène et crémeux. Observées au microscope optique, les quatre EM obtenues montraient clairement des globules huileux remplis de nombreuses

gouttelettes aqueuses de taille homogène (figure 1). Les caractéristiques des quatre EM fraîchement obtenues (J0) figurent dans le tableau 03.

La courbe (figure 2) illustrant l'évolution du diamètre moyen des globules des EM en cours de conservation montre que, particulièrement pour EM4 le diamètre moyen reste pratiquement identique durant une période relativement plus longue en comparaison avec les autres EM.

Tableau 3 : Principales caractéristiques des émulsions multiples fraîchement préparées(J0)

Caractéristiques des EM		EM <sub>1</sub>	EM <sub>2</sub>	EM <sub>3</sub>	EM <sub>4</sub>	EM <sub>5</sub>	EM <sub>6</sub>
Examen macroscopique	Aspect	Crémeux	(-)	Crémeux	Crémeux	(-)	Crémeux
	Texture	Onctueuse	Grumeleuse	Fluide	Veloutée	Grumeleuse	Légère
	Couleur	Blanche	(-)	Blanche	Blanche	(-)	Blanche
Taille moyenne des globules huileux (µm) (± écart type)		10 ± 4,26	(-)	7 ± 2,24	8 ± 3,04	(-)	27 ± 14,93
Analyse conductimétrique(µS/Cm)		36	(-)	9,6	8,4	(-)	19,5
Mesure du pH		5,98	(-)	6,04	5,98	(-)	5,66

(-) Émulsion multiple non formée

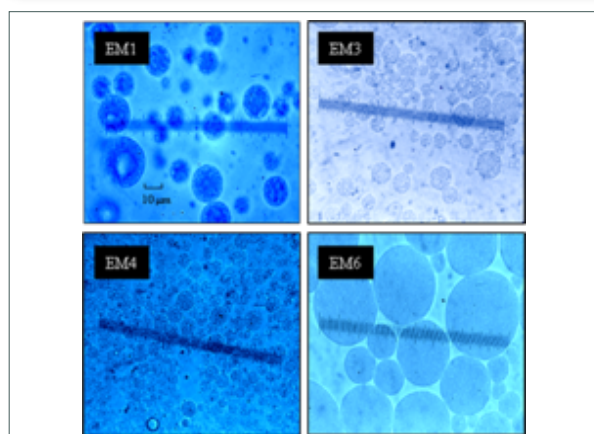


Figure 1 : Clichés comparatifs de microscopie optique des émulsions multiples fraîchement préparées (J0) (Grossissement X100)

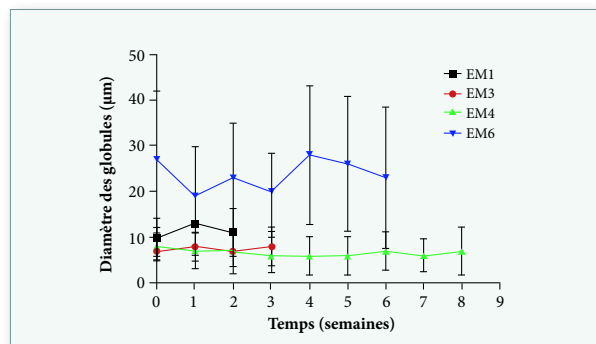


Figure 2 : Évolution du diamètre moyen des globules des émulsions multiples durant le stockage à +4 ± 2°C. *Durée de stabilité physique en semaines : EM1= 02, EM3= 03, EM4= 08, EM6= 06.*

## b. Étude conductimétrique et suivi du pH

Comparativement aux émulsions EM1 et EM6, les systèmes EM3 et EM4 présentaient initialement des valeurs de conductivité relativement faibles (tableau 03), attestant que la phase aqueuse externe de l'émulsion multiple ne renfermait pratiquement pas de traceur ce qui témoigne d'un bon rendement d'encapsulation du NaCl.

Les profils des courbes obtenus pour les quatre EM (figure 3), montrent une augmentation progressive de la conductivité au cours du temps en raison de la libération du NaCl.

Les résultats des mesures du pH au cours du temps pour les quatre EM étudiées sont illustrés par la figure 4.

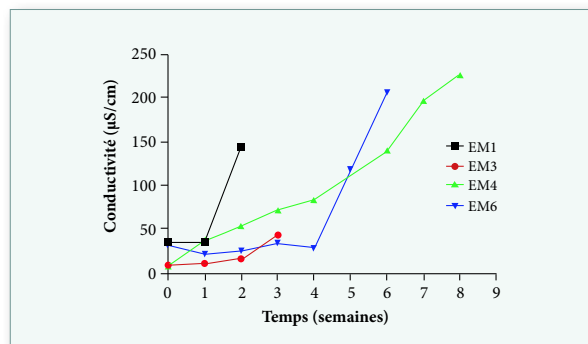


Figure 3 : Évolution de la conductivité des émulsions multiples en cours de conservation à +4 ± 2°C. *Durée de stabilité physique en semaines : EM1= 02, EM3= 03, EM4= 08, EM6= 06.*



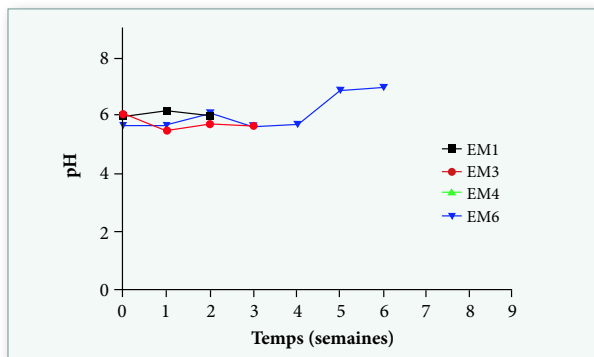


Figure 4 : Évolution du pH des émulsions multiples durant le stockage à +4 ± 2°C

### c. Analyse du comportement rhéologique des émulsions multiples

• **Analyse rhéologique en régime d'écoulement permanent** : Le rhéogramme (figure 5) représente l'évolution de la contrainte en fonction de la vitesse de cisaillement pour les différentes EM obtenues. Les courbes d'écoulement sont décrites par le modèle de Herschel Bulkey (équation 2) [18].

$$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n \quad \text{Equa. (2)}$$

- $\tau_0$  : Seuil d'écoulement (Pa)
- K : Indice de consistance (Pa.s<sup>n</sup>)
- n : Indice d'écoulement ou de comportement.
- n = 1 : fluide Newtonien ; n < 1 : fluide rhéofluidifiant ;
- n > 1 : fluide rhéopaisissant.

Les résultats obtenus à l'issue de l'étude du comportement

Tableau 04 : Résultats comparatifs des grandeurs rhéologiques caractéristiques des émulsions multiples à J1 et à quatre semaines de conservation à +4 ± 2°C. (Seuil d'écoulement  $\tau_0$ , indice de consistance K, indice d'écoulement n)

	$\tau_0$ (Pa)		K (Pa.s <sup>n</sup> )		n (-)	
	J1	S4	J1	S4	J1	S4
EM1	7,991	(-)	22,223	(-)	0,389	(-)
EM3	0,192	(-)	0,318	(-)	0,689	(-)
EM4	10,999	4,475	30,594	1,122	0,354	0,720
EM6	6,550	1,448	7,615	0,843	0,480	0,618

(-) : Analyse non effectuée, EM déstabilisées (EM1 :02 semaines, EM3 :03 semaines)  
S4 : Analyse effectuée à quatre semaines pour EM4 et EM6

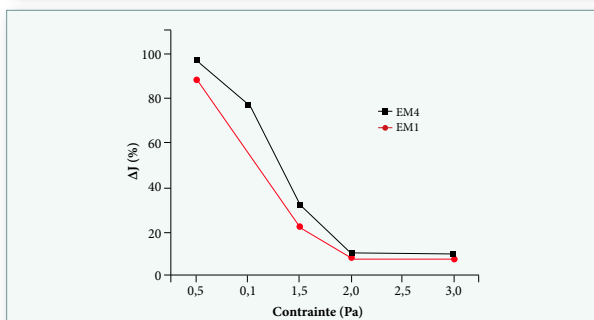


Figure 6 : Étude de la viscoélasticité à J1 : Variation du taux de recouvrance (ΔJ) en fonction de la contrainte appliquée sur les systèmes EM4 et EM1

rhéologique en régime d'écoulement permanent des EM à J1 et après 4 semaines de stockage sont représentés par le tableau 04.

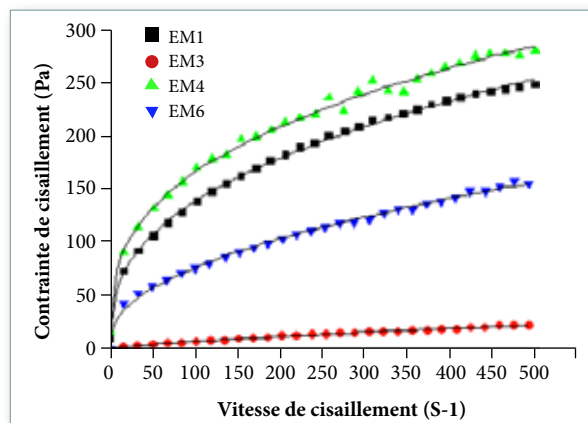


Figure 5 : Les courbes d'écoulement à J1 des systèmes EM1, EM3, EM4 et EM6

• **Étude de la viscoélasticité** : Les systèmes EM4 et EM1 ayant les indices de consistance les plus élevés à J1, ces derniers ont été sélectionnés pour l'étude de l'effet de la contrainte sur le comportement viscoélastique qui a été quantifié en calculant le taux de recouvrance ΔJ (Équation 3) atteint par l'émulsion multiple après l'annulation de la contrainte [19]. La figure 6 montre la variation de ΔJ en fonction de la contrainte appliquée.

$$\Delta J = \frac{J(180) - J(360)}{J(180)} \times 10 \quad \text{Equa. (3)}$$

### • Essai de fluage :

Cet test a été réalisé tout particulièrement sur EM4, dans le but de prédire les déformations susceptibles d'influer sur ses propriétés au cours du vieillissement ; la figure 7 montre l'évolution des courbes de fluage en fonction du temps pour différentes contraintes appliquées sur EM4.

### • Évaluation de l'innocuité in vivo

Tenant compte des caractéristiques rhéologiques avancées et une stabilité dans le temps relativement supérieure pour EM4 en comparaison aux autres EM

obtenues, c'est donc cette dernière qui a été sélectionnée pour évaluer sa tolérance cutanée ; au final, suite à son application sur la peau des lapins, la valeur obtenue pour l'indice d'irritation primaire (IP) était inférieure à 0,5.

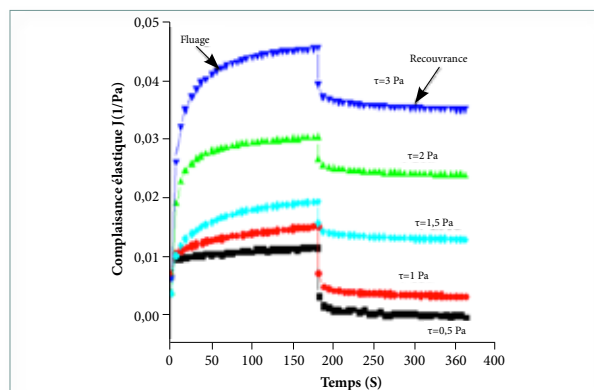


Figure 7 : Essais de fluage réalisés à J1 à différentes contraintes appliquées sur le système EM4

## Discussion

### a. Influence de la nature physico-chimique de la phase lipophile sur la formulation des émulsions multiples

Il est important de souligner que, la nature physico-chimique et la proportion de l'huile constituant la phase lipophile a une grande influence sur l'obtention et la stabilité des EM [6, 20, 21] ; en effet, lors de cette expérience, la formulation a commencé au préalable avec différentes proportions d'huile de nigelle seule, et en faisant également varier non seulement les concentrations des ADS, mais aussi la fraction volumique de l'émulsion primaire à disperser dans la phase aqueuse externe (données non représentées), néanmoins, aucune EM n'a pu être obtenue dans ces conditions. Ces résultats laissent penser qu'en raison de la faible viscosité de l'huile de nigelle [10], cette dernière formait une membrane huileuse fine autour des globules huileux qui finissaient par se détruire facilement au cours du processus d'émulsification [22].

Ce constat, nous a amenés à optimiser la formule en associant à l'huile de nigelle, une proportion bien définie d'huile de paraffine, cette dernière est dotée de meilleures propriétés physiques, notamment une viscosité élevée [11].

### b. Influence des ADS sur l'obtention et la durée de stabilité des émulsions multiples

Parmi les EM formulées avec un ADS lipophile monomérique (Span® 80), seule l'association Span® 80/Tween®

80 a permis d'obtenir une émulsion homogène (EM1) ; en revanche, EM2 (Span® 80/Tween® 20) et EM5 (Span® 80/Lutrol® F 127) formulées avec des tensioactifs hydrophiles de natures différentes, ne se sont pas formées. Le Tween® 80 est très souvent utilisé en combinaison avec le Span® 80 dans les EM de type H/L/H en raison de leurs structures chimiques similaires [23], ce qui pourrait justifier la formation du système EM1. Toutefois, la moindre stabilité de l'émulsion EM1 (02 semaines), s'expliquerait par le fait que l'huile de nigelle présente une tension superficielle élevée du fait de la longueur de sa chaîne hydrocarbonée [8, 24], dans ce cas, l'utilisation d'un tensioactif lipophile de nature monomérique tel que le Span® 80 induirait l'adsorption de ce dernier, que sur un seul point d'ancrage au niveau de l'interface ; de ce fait, lors du cisaillement il aurait tendance à se désorber facilement, ce qui accélère l'amincissement du film interfacial et la rupture des globules huileux [25].

En revanche, toutes les EM (EM3, EM4 et EM6) formulées avec un tensioactif polymérique (Abil® EM 90) se sont aisément formées, grâce à la capacité de cet ADS à former un film plus fort et plus rigide à l'interface, résistant aux forces de cisaillement par sa propriété à s'adsorber au niveau des interfaces avec de multiples points d'ancrage, diminuant ainsi la tension interfaciale, voire l'annuler [25] ; de plus, le film formé par cet ADS à l'interface H/L est décrit comme étant extensible de manière réversible [26, 27].

Il est toutefois important de noter que les caractéristiques de ces trois EM sont variables d'une émulsion à une autre en raison de la nature différente de l'ADS hydrophile entrant dans la composition de chaque formule ; en effet, pour ce qui est des systèmes EM3 et EM4, formulés respectivement avec le Tween® 20 et le Tween® 80 comme ADS monomériques hydrophiles, il a été observé des globules huileux de taille homogène et réduite, théoriquement moins susceptibles aux phénomènes de coalescence des globules [28, 29], néanmoins, avec une stabilité dans le temps supérieure pour EM4 (08 semaines) ; la moindre stabilité de EM3 (03 semaines), semblerait être due à une proportion de Tween® 20 inappropriée (1%) à la formation d'une interface L/H suffisamment solide pour éviter le transfert d'eau à travers la membrane huileuse [30].

Quant à EM6, contrairement à ce qui a été observé avec EM3 et EM4, l'analyse granulométrique a montré des globules huileux de diamètres particulièrement importants ; des résultats similaires

ont été constatés dans certains travaux de la littérature où il a été rapporté qu'une concentration plus faible de Lutrol® F 127 (<1%), n néanmoins éanmoins suffisante pour couvrir totalement la surface des globules huileux, serait favorable à l'amélioration des propriétés des EM [3, 28, 29, 31-33].

Cependant, en comparaison à EM3, malgré l'importance de la taille des globules huileux de l'émulsion EM6, contre toute attente, la durée de stabilité de cette dernière était relativement supérieure (06 semaines), cela pourrait être justifiée d'une part, par la similarité de la nature polymérique des deux ADS entrant dans sa composition (Abil® EM90/Lutrol® F 127) et d'autre part, par l'aptitude de ces deux ADS à réduire la formation de micelles inverses en raison de leurs hauts poids moléculaires réduisant par conséquent la diffusion micellaire des substances encapsulées (NaCl) [32,33].

### c. Évaluation du comportement des émulsions multiples à travers les tests rhéologiques

D'un autre côté, l'étude rhéologique a été appliquée aux EM préparées, afin d'étudier et d'appréhender leurs comportements lorsqu'elles sont soumises à différentes contraintes de cisaillement pouvant simuler les forces mécaniques exercées sur la préparation lors de l'application cutanée.

Cette étude a permis de mettre en évidence que, toutes les EM formulées, se caractérisaient par un comportement « plastique fluidifiant », on parle alors, de fluides à seuil rhéofluidifiant ( $n < 1$ ) [18].

Il apparaît clairement que le système EM4 se caractérisait par la consistance initiale la plus élevée (30,594 Pa.sn), traduisant un paramètre de qualité critique pour obtenir des EM stables [34] ; en revanche, EM3, qui présentait une granulométrie similaire à celle de EM4, son indice de consistance était très faible (0,318 Pa.sn), ce qui laisse penser que le Tween® 80 a contribué considérablement dans l'augmentation de la viscosité de la phase aqueuse externe de l'émulsion EM4 en comparaison avec le Tween® 20 entrant dans la composition de l'émulsion EM3.

Quant à EM1 qui exhibait une consistance initiale élevée (22,223 Pa.sn), s'est toutefois déstabilisée rapidement (02 semaines), probablement à cause des propriétés défavorables du Span® 80 comparativement à l'Abil® EM 90.

Par ailleurs, après 04 semaines, les résultats des tests rhéologiques ont révélé une diminution des viscosités respectives des systèmes EM4 et EM6 ; il s'agit en fait, d'une tendance tout à fait naturelle pour les EM suite à la rupture progressive des globules multiples en cours

de conservation [16] ; Ces résultats sont en accord avec ceux de l'analyse conductimétrique où les profils des courbes obtenus pour l'ensemble des EM (figure 3), montraient une augmentation progressive de la conductivité au cours du temps en raison de la libération du NaCl et un flux aqueux en direction de la phase aqueuse externe [14].

D'après l'étude de la viscoélasticité appliquée à EM4 et EM1 dont les viscosités respectives étaient les plus élevées à J1, il ressort que, pour une contrainte de 0,5 Pa, les pourcentages du taux de recouvrance ( $\Delta J$ ) sont d'environ 98% et 89% respectivement pour EM4 et EM1 : caractéristique d'un solide élastique; au-delà d'une contrainte de 2 Pa les valeurs du  $\Delta J$  ont tendance à diminuer pour ne plus varier quelle que soit la contrainte imposée, indiquant ainsi, un comportement proche de celui d'un liquide élastique [35]. Par conséquent, l'augmentation de la contrainte lors de l'application, provoque une fluidification des émulsions multiples formulées.

Par ailleurs, l'analyse de la courbe de fluage permettant d'observer l'évolution de la déformation de l'émulsion EM4, montre clairement que, l'augmentation de la contrainte provoquerait une diminution de la viscoélasticité et une augmentation de la fluidité, de la viscosité newtonienne et des viscosités retardées de l'émulsion.

### d. Appréciation de la tolérance cutanée

Le pH de la peau étant légèrement acide [15], afin de prévenir toute intolérance aux EM formulées, il est souhaitable que leurs pH respectifs soient proches de celui de la peau ; en effet, les quatre EM mises au point présentaient des valeurs initiales de pH se situant dans les limites acceptables (tableau 3).

A travers des mesures régulières dans le temps, il ressort que les valeurs de pH des EM sont demeurées pratiquement inchangées en cours de conservation.

En parallèle, dans les conditions expérimentales adoptées, les résultats obtenus à l'issue des essais de tolérance cutanée testée chez l'animal, montrent une bonne tolérance locale de l'émulsion multiple testée, ne présentant aucun risque d'irritation de la peau tenant compte de la valeur obtenue pour l'indice d'irritation primaire cutanée (IP <0,5) calculé sur la base du barème de classification préconisé par la méthode de référence [17].

## Conclusion

Dans les conditions expérimentales de cette étude, de par sa viscosité très faible, l'huile de nigelle à elle seule, ne dispose pas des propriétés requises pour aboutir à des émulsions multiples ; cependant ; cependant,



son association à l'huile de paraffine a permis formellement d'améliorer ses propriétés physiques. De plus, il ressort clairement que, la structure chimique des ADS lipophiles et hydrophiles affectent de manière considérable les caractéristiques des EM obtenues ; en effet, en comparaison avec les autres formules d'émulsions multiples, le système EM4 formulé avec le couple d'ADS : Abil® EM 90-Tween® 80 s'est caractérisée par les meilleures propriétés physico-chimiques, technologiques et rhéologiques, avec en outre, une stabilité physique dans le temps relativement supérieure (08 semaines) ;. Toutefois, hormis la gélatine, il serait intéressant de recourir à d'autres agents viscosifiants plus performants pour conférer une meilleure élasticité à l'interface Huile/Eau des émulsions multiples à base d'huile de nigelle et d'huile de paraffine, dans le but de prolonger de manière conséquente la stabilité physique à long terme.

#### Date de soumission

12 Juillet 2020.

#### Liens d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

#### Références

- Jiao J, Rhodes DG, Burgess DJ. Multiple emulsion stability: pressure balance and interfacial film strength. *J Colloid Interface Sci.* Elsevier; 2002; 250: 444-450.
- Bhatia, N., Pandit, S., Agrawal, S., & Gupta, D. (2013). A review on multiple emulsions. *International Journal of Pharmaceutical Erudition*, 3(2), 22-30.
- Schmidts T, Dobler D, Nissing C, Runkel F. Influence of hydrophilic surfactants on the properties of multiple W/O/W emulsions. *J Colloid Interface Sci.* Elsevier; 2009; 338, 184-192.
- Khan AY, Talegaonkar S, Iqbal Z, Ahmed FJ, Khar RK. Multiple emulsions: an overview. *Curr Drug Deliv.* 2006; 3: 429-443.
- Li J, Shi Y, Zhu Y, Teng C, Li X. Effects of several natural macromolecules on the stability and controlled release properties of water-in-oil-in-water emulsions. *J Agric Food Chem.* 2016; 64: 3873-3880.
- De Luca M, Rocha-filho P, Grossiord J.L., Rabaron A., Vaution C., Seiller M., Les émulsions multiples. *International Journal of Cosmetic Science* (1991) 13, 1-21.
- Cizauskaite U, Ivanauskas L, Jakštas V, Marksiene R, Jonaitiene L, Bernatoniene J. *Rosmarinus officinalis* L. extract and some of its active ingredients as potential emulsion stabilizers: a new approach to the formation of multiple (W/O/W) emulsion. *Pharm Dev Technol.* Taylor & Francis; 2016; 21: 716-724.
- Ahmad A, Husain A, Mujeeb M, Khan SA, Najmi AK, Siddique NA, et al. A review on therapeutic potential of *Nigella sativa*: a miracle herb. *Asian Pac J Trop Biomed.* Elsevier; 2013; 3: 337-352.
- Ali BH, Blunden G. Pharmacological and toxicological properties of *Nigella sativa*. *Phytother Res.* 2003; 299-305.
- Siddiqui N, Ahmad A. A study on viscosity, surface tension and volume flow rate of some edible and medicinal oils. *Int J Sci Environ Technol.* ijset.net; 2013; 2: 1318-1326.
- Rowe RC, Sheskey PJ, Owen SC, editors. *Handbook of pharmaceutical excipients*. Sixth edition; 2006: 445-447.
- Matsumoto S, Kita Y, Yonezawa D. An attempt at preparing water-in-oil-in-water multiple-phase emulsions. *J Colloid Interface Sci.* Elsevier; 1976; 57: 353-361.

- Puisieux F, Seiller M., Agents de surface et émulsions « Galenica 5 » : les systèmes dispersés, agents de surface et émulsions, vol 1. Paris: Technique et Documentation Lavoisier (1983).
- Magdassi S, Frenkel M, Garti N, On the factors affecting the yield of preparation and stability of multiple emulsions. *J Dispers. Sci. Tech.* (1984) 5, 49-59.
- Lambers H, Piessens S, Bloem A, Pronk H, Finkel P. Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *International journal of cosmetic science*; (2006); 28(5), 359-370.
- Grossiord J.L, Seiller M. Rheology of W/O/W multiple emulsions: formulation, caractérisation and breakup mechanisms. In : Grossiord J.L, Seiller M., (Eds.), *Multiple Emulsions : Structure, properties and application*. Edition de santé, Paris. (1998), 169-192.
- Arrêté du 1 février 1982. Méthode officielle d'analyse pour la détermination de l'indice d'irritation primaires cosmétiques et produits de beauté. *JORF* du 21 février 1982, numéro complémentaire page 1976.
- Courraze G, Grossiord J.L, *Initiation à la rhéologie*. Tec & Doc (éditions) (2000) 3ème édition.
- Durán J. D. G, Ramos-Tejada M. M, Arroyo F. J, Gonzalez-Caballero F. Rheological and electrokinetic properties of sodium montmorillonite suspensions: I. Rheological properties and interparticle energy of interaction. *Journal of Colloid and Interface Science*; (2000); 229(1), 107-117.
- Florence AT, Whitehill D. *Macro-and microemulsions: Theory and Applications*. ACS Symposium Series American Chemical Society, Washington. 1985.
- Garti N. Double emulsions scope, limitations and new achievements. *Colloids Surf A Physico chem. Eng Asp.* Elsevier; 1997; 123: 233-246.
- Bonnet M, Cansell M, Berkaoui A, Ropers M.H, Anton M, Leal-Calderon F, Release rate profiles of magnesium from multiple W/O/W emulsions. *Food Hydrocolloids.* 2009; 23, 92-101.
- Schmidts T, Dobler D, Guldán A-C, Paulus N, Runkel F. Multiple W/O/W emulsions using the required HLB for emulsifier evaluation. *Colloids Surf A Physico chem. Eng Asp.* 2010; 372: 48-54.
- Courraze F, Savelli M-P, Rosilio V, Bretez F, Vauthier C, Grossiord J-L, et al. Insulin-loaded W/O/W multiple emulsions: comparison of the performances of systems prepared with medium chain-triglycerides and fish oil. *Eur J Pharm Biopharm.* 2004; 58: 477- 482.
- Sela Y, Magdassi S, Garti N. Polymeric surfactants based on polysiloxanes-graft-poly (oxyethylene) for stabilization of multiple emulsions. *Colloids Surf A Physico chem. Eng Asp.* 1994; 83: 143-150.
- Kanouni M, Rosano HL, Naouli N. Preparation of a stable double emulsion (W1/O/W2): role of the interfacial films on the stability of the system. *Adv Colloid Interface Sci.* 2002; 99: 229-254.
- Kanouni M, Rosano HL. Preparation of stable multiple emulsions as delivery vehicles for consumer care products. *Delivery System Handbook for Personal Care and Cosmetic Products.* 2005. 473-497.
- Jiao J, Burgess DJ. Rheology and stability of water-in-oil-in-water multiple emulsions containing Span 83 and Tween 80. *AAPS Pharm Sci.* Springer; 2003; 5: 1-12.
- Moussaoui N, Hammadi L, Boudjenane N-E, Denine R. Development of multiple W/O/W emulsions used in pharmaceutical field: effect of additives and insulin on physicochemical and rheological stability of emulsions. *Colloid Polym Sci.* 2016; 295: 125-133.
- Sela Y, Magdassi S, Garti N. Release of markers from the inner water phase of W/O/W emulsions stabilized by silicone based polymeric surfactants. *J Control Release.* Elsevier; 1995; 33: 1-12.
- Schuch A, Gary Leal L, Schuchmann HP. Production of W/O/W double emulsions. Part I: visual observation of deformation and breakup of double emulsion drops and coalescence of the inner droplets. *Colloids Surf A Physico chem. Eng Asp.* 2014; 461: 336-343.
- Jager-Lezer N, Terrisse I, Bruneau F, Tokgoz S, Ferreira L, Clause D, et al. Influence of lipophilic surfactant on the release kinetics of water-soluble molecules entrapped in a W/O/W multiple emulsion. *J Control Release.* 1997; 45: 1-13.
- Py C, Rouviere J, Loll P, Taelman MC, Tadros Th.F. Investigation of multiple emulsion stability using rheological measurements. *Colloids Surf A Physico chem. Eng Asp.* 1994 ; 91, 215-225.
- Kovács A, Erős I, Csóka I. Optimization and development of stable w/o/w cosmetic multiple emulsions by means of the Quality by Design approach. *Int J Cosmet Sci.* 2015; 38: 128-138.
- Benchabane A, Bekkour K, Rheological properties of carboxymethyl cellulose (CMC) solutions. *Colloid and Polymer Science*; (2008); 286(10), 1173.