REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En chimie

Spécialité :
Chimie Pharmaceutique

Par :

Dahmani Romaissa

Bouferrache Fatma

Optimisation et caractérisation d'un système d'immobilisation d'une substance active

Soutenue le : 15/09 / 2020, Devant le jury composé de :

Mme. MADANI. L	MCB	UYFM	Président
Mme. ARBIA. W	MCB	UYFM	Examinateur
Mme. BOUCHERIT. N	MCA	UYFM	Encadreur

Année universitaire2019/2020

Remerciements

Ces cinq années d'études ont été l'occasion de nombreuses et collaborations, il convient de commencer ce manuscrit par des remerciements envers toutes les personnes ayant collaboré de près ou de loin à réaliser ce modeste travail.

Tout d'abord, nous tenons à remercier DIEU le tout puissant, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation de licence et pouvoir réaliser ce travail.

Ces remerciements vont au corps professionnel et administratif de la Faculté des Sciences de l'Université YAHIA FARES de Médéa, pour la richesse et la qualité de leurs enseignements et qui déploient de grands efforts pour assurer à leurs étudiants une formation actualisée.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à notre encadreur : Dr Boucherit. N, Maitre de Conférences classe A, qui nous a fourni le sujet de mémoire et nous a guidés de ses précieux conseils et suggestions, et la confiance qu'elle nous a témoignée tout au long de ce travail.

Nous tenons gratifier aussi les membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail.

On n'oublie pas nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience. Enfin, nous adressons nos sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours encouragés au cours de la réalisation de ce mémoire.

Merci à tous et à toutes

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail particulièrement :

A ma mère :

Tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour réussir.
Tout ce qui je peux s'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte.
En témoignage, je s'offre mon travail pour vous remercier pour des sacrifices et pour l'affection dont tu m'as toujours entourée.

A mon père :

L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect.
Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments, que dieu vous bénisse et vous accorde un paradis spacieux.

Je dédie aussi ce travail à :

Mes chers frères
Mes chères sœurs
Mes oncles, mes tantes et leurs familles.
A mon cher binôme : Romaissa
A mes belles amies : Radia, Amira et Habiba.
Ma petite nièce Raouane
Mes petits neveux : Abdullah et Mohamed
A mon cher fiancé, Youcef, qui m'a encouragé tout au long de cette période et ma belle-famille.
A Tous mes amis de toujours
A toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce travail, à tous mes collègues et à tous ceux que j'ai omis de citer.

Fatma

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, qui s'est sacrifié pour mon bonheur et ma réussite, à la femme qui a souffert sans me laisse souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse ***mon adorable mère.***

A l'homme, mon précieux offre d'Allah, qui doit ma vie, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, qui a veillé à me donner l'aide, à m'encourager et à me protéger, ma réussite ***mon cher père.***

A mon cher frère « ***Mohamed*** *» peu importe mon âge, tu seras toujours mon deuxième père et tu resteras la source de l'amour et de la tendresse que dieu te protège je t'aime…*

A mes chers frères « ***Aymen et Abdelbasset*** *» vous êtes l'âme de ma vie, vous êtes la sécurité et le lien, et la vie n'est pas douce sans toi qu'Allah vous succède.*

A ma chère grand-mère « habiba » que dieu prolonge ta vie

A mes grands-pèresque dieu habite au paradis

Je dédié aussi ce travail à :

Mon grand-oncle « Ahmed » et ma bonne tante « Rabia » et Les frères de ma mère « Mohamed et Ali », Mes autres oncles, tantes et leurs familles.

A tous mes enseignants et toutes mes enseignantes : je saisis cette occasion pour leur exprimer mes respects et ma considération.

A mon cher binôme « Bouferrache fatma» : je suis très contente de travailler avec toi, tu étais une sœur pour moi, qu'Allah te réalise tes rêves et te protège

A mes belles et meilleurs amies « Bouchra, Dounia, Maroua et Meriem » pour tout l'amour que me donnent

A toute mes amis et mes collègues

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

Romaissa

Résumé

ملخص

كان الهدف الأساسي من هذا العمل هو تحضير وتوصيف الكرات المجهرية للألجينات المحملة بمكون فعال باستخدام طريقة الاستحلاب /الدبق الخارجي. ولكن بسبب وباء فيروس كورونا ،فقد تم إعادة توجيه هذا الهدف حيث تعاملنا مع عمل بحثي تم إجراؤه على تغليف مادة الفوروات الديلوكسانيد (DF) باستعمال طريقة الاستحلاب/الدبق الخارجي.

العوامل التي تعتمد عليها الخصائص الفيزيوكيميائية والبيوصيدلانية للكرات المجهرية للألجينات هي: سرعة التحريك،وتركيزات: الألجينات ،كلوريد الكالسيوم ,فورات الديلوكسانيد و(span 80).

أظهرت النتائج التي حصل عليها الباحث أن أقصى كفاءة تغليف (73.82٪) قد تم تحقيقها لسرعة التحريك 1000 دورة في الدقيقة،وتركيزات :الألجينات ،كلوريد الكالسيوم , فورات الديلوكسانيد و (span 80)على التوالي: 5٪ ، 2 مول/ل، 1٪ و 1٪.

وهكذا،فقد تبين أن ألجينات الكالسيوم أخرت تحريرالفورات الديلوكسانيد عند الأس الهيدروجيني 1,2 و 4,5 ،ثم تم تحرير الأخيرعند الأس الهيدروجيني7,4.

الكلمات المفتاحية : ألجينات ،استحلاب ،تغليف ،فورات دولوكسانيد ،الدبق الخارجي،كرة دقيقة.

Résumé

L'objectif initial de ce travail était de préparer et de caractériser les microsphères d'alginate chargées d'un principe actif en utilisant la méthode d'émulsification/gélification externe. En effet, et à cause de l'épidémie du Corona virus, cet objectif a été réorienté où nous avons traité un travail de recherche réalisé sur l'encapsulation de furoate dediloxanide (DF)par la méthode d'émulsification/gélification externe.

Les paramètres dont dépend les caractéristiques physico-chimiques et biopharmaceutique des microsphères d'alginate sont : la vitesse d'agitation, les concentrations : d'alginate, de chlorure de calcium, de furoate de diloxanide et de span 80.

Les résultats obtenus par le chercheur ont montré qu'une efficacité d'encapsulation maximale (73.82%) est atteinte pour une vitesse d'agitation de 1000 tr/min, des concentrations : d'alginate, de $CaCl_2$, de FD et de span 80 de : 5%, 2 M, 1% et 1% respectivement.

Ainsi, il a été démontré que l'alginate de calcium a retardé la libération du FD aux pH 1.2 et 4.5 puis ce dernier a été libéré à pH 7.4.

Mots clés : Alginate, Emulsification, Encapsulation, Furoate de doloxanide, Gélification externe, Microsphère.

Abstract

The initial objective of this work was to prepare and characterize the alginate microspheres loaded with an active ingredient using the emulsification / external-gelation method. Indeed, and because of the Corona virus epidemic, this objective was reoriented where we dealt with a research work carried out on the encapsulation of dediloxanidefuroate (DF) by the emulsification / gelation-external method.

The parameters on which the physicochemical and biopharmaceutical characteristics of alginate microspheres depend are: stirring speed, concentrations: of alginate, calcium chloride, diloxanidefuroate and span 80.

The obtained results by the researcher have shown that a maximum of encapsulation efficiency (73.82%) was achieved for a stirring speed of 1000 rpm/min and concentrations : of alginate, $CaCl_2$, FD and span 80 of: 5%, 2 M, 1% and 1% respectively.

Thus, it was shown that calcium alginate delayed the release of FD at pH 1.2 and 4.5, then the latter was released at pH 7.4.

Keywords: Alginate, Emulsification, Encapsulation, Doloxanidefurate, External gelation, Microsphere.

Sommaire

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Abréviation et nomenclateur

Introduction générale	1

Chapitre I : Les antihistaminiques	
I. 1. Introduction	3
I. 2. Généralités	3
I. 2. 1. Définition	3
I. 2. 2. Types de maladies allergiques	3
I. 2. 3. Manifestations cliniques des allergies	4
I. 3. Médicaments antihistaminiques	7
I. 3. 1. Définitions	7
I. 3. 2. Classification	8
I. 3. 3. Mécanisme d'action	9
I. 4. Kétotifène fumarate	10
I. 4 .1. Définitions	10
I. 4 .2. Propriété physicochimiques	11
I. 4. 3. Formes galéniques	11
Chapitre II : La microencapsulation	
II. 1. Introduction	13
II. 2. Généralités	13
II. 2. 1. Définition	13
II. 2. 2. Intérêts de microencapsulation	13
II. 3. Caractérisation des microparticules	14
II. 3. 1. Classification	14

II. 3. 2. Applications de la micro-encapsulation	15
II. 3. 3. Composition	15
II. 3. 4. Caractérisation	16
II. 4. Paramètres influençant la micro-encapsulation	18
II. 5. Procèdes de microencapsulation	18
II. 5. 1. Procèdes physico-chimiques	19
II. 5. 2. Procédés chimiques	19
II. 5. 3. Procédés mécaniques	19
II. 6. Concepts de libération contrôlée d'un principe actif	21
II. 6. 1. Définition	21
II. 6. 2. Formes à libération prolongée et déclenchée	21
II. 6. 3. Mécanismes de la libération modifiée d'une substance	22
II. 6. 4. Modèles théoriques de la libration modifiée	23
II. 6. 5. Paramètres influençant la libération modifiée	24
Chapitre III : Application de l'émulsification/gélification externe	
III. 1. Introduction	25
III. 2. Définitions	25
III. 2. 1. Emulsification/gélification interne	25
III. 2. 2. Emulsification/gélification externe	27
III. 3. Applications de l'émulsification/gélification externe	27
III. 3. 1. Principe de la formulation	28
III. 3. 2. Matières encapsulées	29
III. 4. Récapitulation du travail de recherche sur le furoate de diloxanide (FD)	31
III. 4. 1. Méthodes expérimentales et techniques de caractérisation	31

III. 4. 2. Résultats et discussions	34
Chapitre IV : Partie expérimentale	
IV. 1. Introduction	39
IV. 2. Matières première	39
IV. 2. 1. Principe actif	39
IV. 2. 2. Excipients	40
IV. 3. Matériel	43
IV. 4. Méthodes expérimentales et techniques de caractérisation	44
IV. 4. 1. Caractérisations spectrales des matières premières	44
IV. 4. 2. Préparation des microsparticules	45
IV. 4. 3. Caractérisation des microsphères	47
IV. 5. Présentation de quelques résultats obtenus	49
IV. 5. 1. Formulation des émulsions Eau/Huile	49
IV. 5. 2. Gélification externe	51
Conclusion générale	53
Références bibliographiques	

Liste des Figures

Liste des figures

Chapitre I : Les antihistaminiques	
Figure I. 1. Manifestations de la dermatite atopique [19]	6
Figure I. 2. Récepteur de l'histamine H1 et action de l'anti histamine [25]	8
Figure I. 3. Structure chimique de la molécule de kétotiféne fumarate [29]	11
Figure I. 4. Organigramme schématisant les formes galéniques du médicament à base kétotiféne fumarate	12
Chapitre II : La microencapsulation	
Figure II. 1. Structure d'un liposome	14
Figure II. 2. Types de morphologie de particule et obtenu par procédés d'encapsulation [32, 33]	15
F**igure II. 3.** Photographies obtenues par MEB, (A) : microsphère : le PA dissout dans le matériau enrobant,(B) : microsphère le PA dispersé dans le matériau enrobant,(C) : microcapsule [35]	19
Figure II. 4. Les différents procédés d'encapsulation [2]	19
Figure II. 5. Principe du procédé de gélification [2]	20
Figure II. 6. Particules à libération déclenchée et prolongée [2]	21
Figure II. 7. Profils de libération par diffusion passive de différents types de microparticules [2]	22
Chapitre III : Application de l'émulsification/gélification externe	
Figure III. 1. Schéma représentant le principe de l'émulsification/gélification interne [41,42]	26
Figure III. 2. Principe de la gélification ionotropique de l'alginate de sodium [43]	27
Figure III. 3. Etapes de l'émulsification/gélification externe [43,44].	29
Figure III. 4. Microphotographies par MEB des microsphères d'alginate, (a) : sans DF, (b) : chargées de DF	35
Figure III. 5. Thermogrammes de : (a) : Furoate de diloxanide, (b) : Alginate de Na, (c) : Mélange de DF et d'alginate de Na, (d) Microsphères vierges, (e) : Microsphères chargées de FD.	36
Figure III. 6. DRX de : (a) : Furoate de diloxanide, (b) : Alginate de Na, (c) :	37

Mélange de DF, (d) : Microsphères vierges,(e) : Microsphères chargées de FD	
Figure III. 7. Effet des différents paramètres sur la cinétique de libération du FD : Concentration d'alginate de Na : A1-A4, Concentration de span 80 : B1-B4, Concentration de $CaCl_2$: C1-C4, Vitesse d'agitation : D1-D4, concentration de FD :E1-E4	38
Chapitre IV : Partie expérimentale	
Figure VI. 1. Structure chimique d'alginate de sodium [57].	41
Figure VI. 2. Structure chimique de chitosane [60].	41
Figure VI. 3. Spectrophotomètre UV-visible utilisé dans notre étude**.**	44
Figure VI. 4. Schéma du dispositif utilisé pour la préparation des microsphères d'alginate chargées de KF.	47
Figure VI. 5. Vues microscopiques de l'émulsion E/H à 20% de phase aqueuse ; a) grossissement : x 40, b) grossissement x100.	50
Figure VI. 6. Vue microscopique de l'émulsion E/H à 35% de phase aqueuse ; grossissement : x 40.	50
Figure VI. 7. Aspect des microparticules obtenues pour l'essai : 20 % phase aqueuse et 0.5 % de $CaCl_2$.	51
Figure VI. 8. Aspect des microparticules obtenues pour l'essai : 35 % phase aqueuse et 0.5 % de $CaCl_2$.	51

Liste des Tableaux

Liste des tableaux

Chapitre I : Les antihistaminiques	
Tableau I. 1. Propriétés physico-chimique de fumarate de kétotiféne [29]	11
Chapitre II : La microencapsulation	
Tableau II. 1. Application de la micro encapsulation de l'industrie [31]	16
Tableau II. 2. Modèles mathématiques régissant les mécanismes de libération	24
Chapitre III : Application de l'émulsification/gélification externe	
Tableau III. 1. Représentation de quelques travaux de recherche sur l'émulsification-gélification externe des molécules bioactives.	30
Tableau III. 2. Représentation de quelques travaux de recherche sur l'émulsification-gélification externe des principes actifs.	31
Tableau III. 3. Paramètres et niveaux étudiés pour l'encapsulation de FD	32
Tableau III. 4. Effet des paramètres étudiés sur la taille des microsphères, le rendement et l'efficacité d'encapsulation	34
Chapitre IV : Partie expérimentale	
Tableau IV. 1. Matières premières utilisées.	39
Tableau IV. 2. Caractéristiques physico-chimiques des huiles d'olives [56].	40
Tableau IV. 3. Caractéristiques physico-chimiques de l'alginate de sodium (Sigma-Aldrich)	41
Tableau IV. 4. Caractéristiques physico-chimiques du chitosane utilisé (Sigma-Aldrich)	42
Tableau IV. 5. Caractéristiques du tensioactif utilisé (Sigma-Aldrich)	42
Tableau IV. 6. Propriétés physico-chimiques des réactifs utilisés.	43
Tableau IV. 7. Matériel utilisé.	43
Tableau IV. 8. Compositions des différents essais de préparation des émulsions E/H contenant le KF (volume final d'émulsion de 100 ml).	46

Abréviations et nomenclature

Abréviations et nomenclature

Abréviation	*Signification*	*Unité*
DC	Dermatite de contact	------
DF	Furoate de Diloxanide	------
DO	Densité Optique	------
DRX	Diffractométreà rayon X	------
EE	Efficacité d'Encapsulation	%
FTIR	spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier	------
GH	Chlorhydrate de granisétron	------
HLB	Balence hydrophile lipophile	-------
IgE	Immunoglobine E	-------
KF	Fumarate de kétotiféne	-------
$\mathbf{m_1}$	masse initiale de KF	g
MEB	Microscope électronique a balayage	-------
mg	masse finale de KF	g
OMS	Organisation Mondiale de la santé	-------
PA	Principe Actif	-------
RE	Rendement d'Encapsulation	%
TA	Tensio-actif	------
TE	Taux d'encapsulation	%
TG	Taux de Gonflement	%
UV- Vis	Ultra-Violet Visible	-------

Symboles grecs

Symbole	*Signification*	*Unité*
λ	Longueur d'onde d'absorption de rayonnement électromagnétique	nm
λ_{max}	Longueur d'onde correspondante a l'absorption maximale	nm

Introduction générale

Parmi les voies les plus commandes et les plus utilisées on trouve la voie orale. Pour cela la pharmacie galénique moderne a développé de nouvelles formes de médicament afin de protéger le principe actif de la dégradation par les enzymes digestives.

Le principe actif une fois administré par la bouche, il passe rapidement à la partie gastro-intestinale. Cette voie présente quelques inconvénients lorsqu'il s'agit d'administrer des principes actifs qui sont caractérisés par une faible biodisponibilité et qui sont peu stables en milieu physiologique [1].

Pour cela, une nouvelle stratégie thérapeutique a été développée afin d'augmenter la biodisponibilité orale des médicaments de certains principes actifs. Il s'agit de l'encapsulation du principe actif dans des matériaux polymères biodégradables [2]. En général, dans l'industrie pharmaceutique, l'encapsulation vise à réduire la toxicité et les effets secondaires d'un principe actif, à augmenter sa stabilité et à favoriser une libération préconisée dans l'organisme. Elle permet ainsi de réduire l'irritation du tractus gastro-intestinal due à des médicaments administrés par voie orale [3].

De ce fait, l'encapsulation est parmi les préparations pharmaceutiques en cours d'élaboration par les grandes firmes médicamenteuses, qui consiste à encapsuler selon un procédé déterminé un principe actif dans une autre matière inactive afin d'améliorer les propriétés de conservation, de présentation et de biodisponibilité [2].

Certains polysaccharides naturellement issus de certaines variétés d'algues marines brunes comme les alginates sont utilisés dans le domaine médical. Grace à ses propriétés de biocompatibilité et de biodégradabilité, l'alginate de sodium est utilisé dans la libération contrôlée des principes actifs encapsulés [4].

C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude dont l'objectif principal était la formulation d'un système d'encapsulation à base d'un biopolymère polysaccharide, l'alginate de sodium, du principe actif 'kétotiféne fumarate' : médicament antiallergique puissant par un fort effet antagoniste sur le récepteur de l'histamine. La méthode utilisée pour la mise au point de ce système est composite : c'est l'émulsification suivie de la gélification externe.

Dans cette optique, notre mémoire est structuré en quatre chapitres :

- Le premier chapitre regroupe des généralités sur les maladies allergiques (définitions et principaux types des maladies allergiques). La molécule de kétotiféne fumarate sera prise comme exemple des principes actifs antihistaminiques ;

- Le deuxième chapitre consiste à présenter les notions de base de l'encapsulation, où les différentes méthodes d'encapsulation ainsi que les intérêts pratiques de l'encapsulation seront détaillés ;
- Dans le troisième chapitre, un aperçu sur la méthode d'émulsification-gélification sera mise en évidence, dont les principaux travaux visant à appliquer cette technique seront présentés. Ainsi, l'analyse d'un article scientifique s'articulant vers l'application de l'émulsification/gélification externe du furoate de diloxanide sera mis en détail ;
- Le quatrième chapitre incluant la partie expérimentale, il résume l'ensemble du matériel utilisé et les méthodes appliquées lors de cette étude.

Enfin ce manuscrit se termine par une conclusion générale et des perspectives pouvant être réalisées dans le futur. .

Chapitre I :

Les antihistaminiques

1. Introduction

L'allergie est une affection mondialement répondue. Elle a été présentée comme le mal du XX^{ème} siècle. En effet, le nombre des cas d'allergie est en nette et constante augmentation. Ceci est dû aux modifications de l'environnement au sens large : facteur alimentaire, écologique, mode de vie, etc. La progression exponentielle de la production, de la consommation et des transports s'est accompagné de nombreuses innovations techniques qui sont à l'origine de l'augmentation du nombre de personnes allergiques.

Les allergies, qu'elles soient cutanées (eczéma, urticaire), respiratoire (rhinite, asthme), ou oculaire (conjonctivites), concernent un grand nombre de professions et de secteurs d'activité [5].

Les manifestations allergiques sont dues à une exposition, même aux faibles niveaux, à un agent sensibilisant, pouvant être chimique ou biologique, d'origine animale ou végétale [6].

En effet, le symptôme, le plus souvent se manifestent tous d'abord localement, sur les organes ou les parties de l'organisme en contact avec cet allergène (peau, œil, nez, bronches alvéoles pulmonaire, etc.) et peuvent ensuite s'étendre à tout l'organisme.

Ces symptômes peuvent persister même après arrêt de l'exposition allergène (cause d'allergie), comme dans certains cas d'eczéma. Ils ont tendance à s'aggraver avec le temps, lorsque le contact avec l'allergène est répété, prolongé au constant [7,8].

I.2. Généralités

I.2.1. Définition

Le mot : allergie a été utilisé pour la première fois en 1906 par Clemens Vos Piquet, qui désigna ce mot comme étant composé : (Allos) et (ergos) qui signifient une : autre façon de réagir, [8].

Après, une définition du mot allergie a été précisée, il s'agit de la réactivité différente pour l'hôte rencontrant un agent pour la deuxième fois [8].

Actuellement, le terme d'allergie est utilisé pour décrire une réaction excessive à des substances de l'environnement [2], qui sont inoffensives pour la plupart des gens mais qui induisent une réaction immunitaire à l'origine de divers symptômes chez les personnes prédisposées [9].

I.2.2. Types de maladies allergiques

Parmi les réactions communément connues qui se manifestent sous une forme allergique :

a- L'asthme

L'asthme du grec asthme, elle est définie comme étant une maladie du système respiratoire touchant les voies aériennes inférieures et notamment les bronchioles, elle est classée comme étant une gêne respiratoire à l'expiration.

Une autre définition plus large de l'asthme est selon l'OMS : c'est un désordre inflammatoire chronique de voies aériennes dans lequel de nombreuses cellules et éléments cellulaires sont responsables d'une augmentation de l'hyperréactivité bronchique variable, souvent intense et généralement réversible qui se manifeste spontanément ou sous l'effet d'un traitement [10].

a. La rhinite allergique

C'est une inflammation des muqueuses nasales d'étiologie. Selon la durée de l'exposition à L'allergène, la rhinite allergique peut être classée comme chronique, saisonnière ou professionnelle. Cette affection est très souvent associée à une physiopathologie dépendante des immunes globines E. Le premier contact avec l'allergène correspond à une phase de sensibilisation, les contacts ultérieurs, dits déclenchant, induisent des manifestations souvent bi-phasiques, la phase immédiate est caractérisée par des éternuements, un prurit nasal, une rhinorrhé aqueuse et une obstruction nasale. D'autres éléments tels que la toux, les signes oculaires (picotement, larmoiement, prurit oculaire), l'irritation pharyngée et la gêne respiratoire peuvent aussi être accompagnés [11].

b. L'eczéma

L'eczéma est une dermatose prurigineuse caractérisée par une inflammation non contagieuse de la peau qui s'accompagne de rougeurs, de fines vésicules, de démangeaisons. Le mécanisme de l'eczéma est mal compris, parce qu'il touche à la fois le système immunitaire et les cellules de la peau qui agissent comme barrière pour les allergènes. L'eczéma est un signal d'un désordre de nature génétique, mais des facteurs environnement tels que la présence d'irritants chimiques ou le stress influencent son apparition.

Les personnes atteintes connaissent des périodes communément appelées poussées d'eczéma, ces poussées possèdent des durées variables, elles sont entrecoupées de périodes de réémission. L'eczéma est souvent associé à l'asthme ou aux d'autres réactions allergiques [12].

I.2.3. Manifestations cliniques des allergies

La réaction allergique se manifeste de différentes façons. A côté du choc anaphylactique qui est l'expression la plus grave de l'allergie, se positionnent les manifestations respiratoires, cutanées, muqueuses et digestives [13].

a. Les urgences allergologiques

- ***Le choc anaphylactique :*** Le choc anaphylactique est un trouble hémodynamique grave, résultant le plus souvent de l'activation des immunoglobine E présentes sur les basophiles et les mastocytes. L'efficacité du traitement dépend de sa reconnaissance rapide et de l'injection immédiate d'adrénaline, associée aux mesures de remplissage vasculaire [14].

- ***L'œdème de Quincke :*** il est lié à une hypersensibilité immédiate de type I.C'est une crise allergique dangereuse et violente, il s'agit d'un œdème du tissu sous-cutané touchant généralement le visage, il se traduit par un gonflement avec une coloration rose ou rouge pale, dyspnée et insuffisance de la circulation sanguine. Dans certains cas où l'œdème touche la gorge, des troubles respiratoires peuvent survenir et un traitement urgent est nécessaire [15].

- ***Etat mal asthmatique :***Il se caractérise par la crise sans aucune réémission au-delà de trois jours, la résistance à toutes les thérapeutiques et des signes cliniques de gravité. Trois éléments cliniques sont dominants dans le déterminisme de la détresse respiratoire aigüe de l'état de mal : l'encombrement bronchique muqueux, la thérapeutique calmante intempestive, dont la nocivité est due à la fois à la dépression respiratoire centrale et à la sédation de la toux qui entraine une aggravation de l'encombrement bronchique [15,16].

b. Les manifestations respiratoires

- ***La rhinite allergique***

La rhinite allergique représente un problème de santé publique, car la fréquence des rhinites allergiques est élevée de plus de 25 % des sujets dans les zones urbaines des pays en voie de développement. Ainsi, en 2008, plus de 500 millions de personnes souffrent de rhinite allergique En France. Elle est de plus en augmentation constante, comme l'ensemble des maladies allergiques [17].

Il est important de souligner que la rhinite allergique est considérée comme un facteur de risque pour l'asthme. Une personne souffrant de rhinite allergique est 3 fois plus exposées au développement d'un asthme qu'un patient non allergique. De manière symétrique, la quasi-totalité (70%) des sujets asthmatiques ont une rhinite associée [17].

- L'asthme allergique

L'asthme représente un problème majeur de santé publique avec une prévalence en augmentation ces 30 dernières années dans les pays industrialisés. C'est une maladie multifactorielle, présentant un large spectre de manifestations cliniques. Les phénotypes objectivement mesurables intervenant au déférent stade du processus physiologique tels

que :le taux d'immunoglobuline E, la réponse aux allergènes, le nombre d'éosinophile, les mesures de la fonction vésicatoire et de la réactivité bronchique [18].

c. Les manifestations cutaneo-muqueuses

- ***La dermatieatopique***

Les différentes réactions de la dermatite atopique sont représentées sur le schéma de la figure I.1. Ces manifestations peuvent êtres de deux formes :

- Forme allergique igE- dépendante ou eczéma atopiques, elle s'accompagne des sensibilisations vis-à-vis des allergènes alimentaires et/ou de l'environnement, d'une association avec une autre manifestation allergique.

- Forme non allergique ou eczéma non-IgE dépendante : Elle affecte les patients dont le taux sérique d'igE est faible et chez lesquels aucun allergène sensibilisant ne peut être détecté [19].

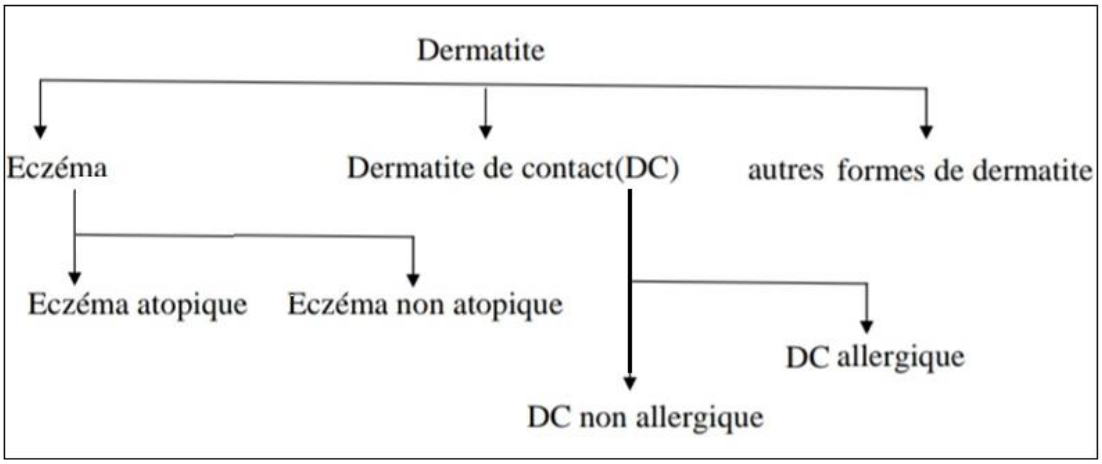


Figure I.1.Manifestations de la Dermatite atopique [19].

- L'eczéma de contact

Elle fait intervenir un processus d'hypersensibilité retardé et associé à une éruption de plaques rouges, de petites vésicules à sérosités claires et un prurit, elle se développe ensuite en des ruptures des vésicules avec formation de croûtes. Parmi les acteurs de l'eczéma de contact, une haptène qui est une substance chimique réactogène non immunogène quand elle est seule [14]. Une haptène peut devenir immunogène, après sa fixation à un porteur qui est le plus souvent une protéine. Les haptènes peuvent être d'origine très diverse : végétale (lactones, huiles essentielles. . .), animale (lanoline. . .), synthétique (certains parfums. . .), métallique (nickel. . .), médicamenteuse (aminosides, pénicillines) [20].

- L'urticaire allergique

L'urticaire est une allergie qui se manifeste au niveau de la peau par un œdème dermique. Il survient rapidement après l'ingestion d'un médicament ou d'un aliment et se manifeste par des lésions cutanées sous forme de petites papules rouges ou de plaques en relief sur la peau [16,21].

- La conjonctivite allergique

Elles sont souvent associées à d'autres manifestations de l'atopie comme la rhinite ou l'asthme. Les conjonctivites allergiques sont regroupées en cinq formes cliniques [22]:

-Les conjonctivites saisonnières et per annuelles.

-La kératoconjonctivite vernale.

-La kératoconjonctivite vernale atopique.

-La conjonctivite gigantopapillaires.

-Les réactions d'allergie de contact avec des atteintes palpébro-conjonctivales.

d. Les manifestations digestives

Elles sont observées lors d'une allergie alimentaire qui peut se traduit par des signes digestifs ou extradigestifs. Les signes sont variés, ils peuvent être des nausées, des vomissements, des troubles du transit, des douleurs abdominales, etc. [16,13].

I.3. Médicaments antihistaminiques

I.3.1. Définitions

a. L'histamine

L'histamine est un neuromédiateur largement impliqué dans les phénomènes inflammatoires et allergiques**.** Dans le corps, l'histamine est synthétisée à partir d'un acide aminé : histidine, où elle est stockée principalement dans des cellules immunitaires et **les** mastocytes, qui la libèrent lorsqu'ils sont stimulés par la présence d'un corps étranger comme un allergène. Après la libération de l'histamine, elle agit en se fixant sur des récepteurs cellulaires qui lui sont propres. Ces récepteurs existent sous deux formes :

- ***Récepteurs de type 1 (H1)*** : ils sont présents dans tout le corps, ils provoquent les symptômes allergiques et ils sont impliqués dans l'inflammation (figure I.2).
- ***Récepteurs de type 2 (H2)*** : ils sont présents au niveau de la paroi de l'estomac et sont responsables de l'acidité gastrique.

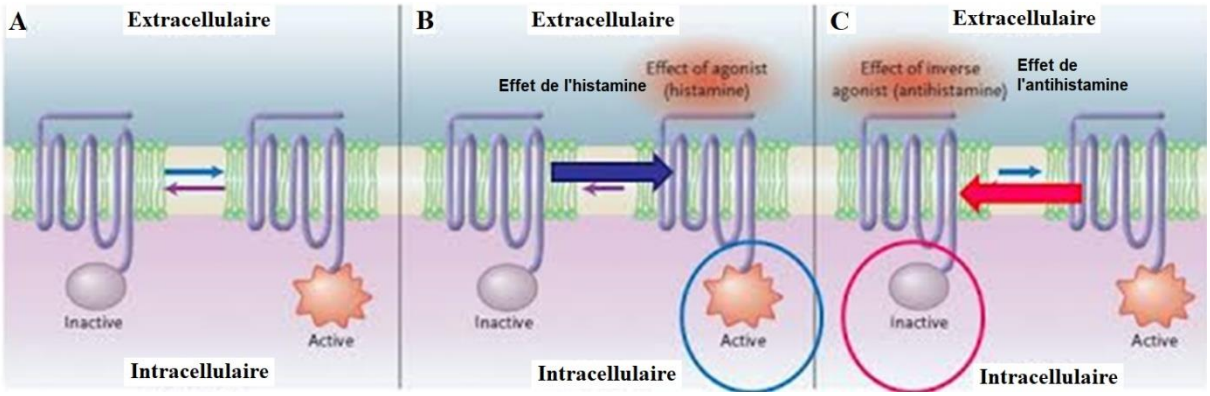


Figure I.2. Récepteur de l'histamine H1 et action de l'antihistamine [25].

b. Les antihistaminiques

Un antihistaminique est un médicament qui sert à réduire ou à éliminer les effets de l'histamine. Ce médiateur chimique endogène est libéré notamment lors de réactions allergiques. Il est impliqué dans la régulation de la vigilance et dans la sécrétion gastrique.

Les antihistaminiques sont utilisés pour leurs propriétés antagonistes de l'histamine. Ces agents antagonistes peuvent êtres des antagonistes compétiteurs des récepteurs H1, des antagonistes compétiteurs de récepteurs H2 ou d'autres types d'antagonistes [23].

I.3.2. Classification

a. Les antihistaminiquesH1

Ces antihistaminiques englobent ceux de la1^{ère}et de la 2èmegénération, ils sont des bloqueurs du récepteur H1 à l'histamine. Ils sont actifs dans les cas d'allergie comme les symptômes de rhinite (en dehors de l'obstruction nasale), de conjonctivite, sur le prurit, sur les nausées et les vomissements. Ils n'ont aucun effet significatif sur l'asthme. Les antihistaminiques H1 englobent les groupes suivants : alkyl amines, éthanol amine, Ethylène diamines, phénothiazines, pipérazines et pipéridines.

Ils sont généralement à base des sous-groupes suivants : cétirizine et loratadine. L'hydroxyzine, la dexchlorphéniramine et la prométhazine [24].

b. Les antihistaminiques H2 :

Ils agissent sur les récepteurs H2. Ils sont indiqués en cas d'ulcère de l'estomac et du duodénum, mais également en présence d'un reflux gastro-œsophagien et d'acidité

gastrique. Ils agissent de manière limitée sur les symptômes allergiques. Ces antihistaminiques peuvent prévenir les ulcères de stress survenant parfois après certaines interventions chirurgicales. Des effets indésirables de quelques antihistaminiques H2 comme la cimétidine peut être détectée, il s'agit particulièrement de la néphrite interstitielle et d'hépatite. La cimétidine retarde le métabolisme hépatique de divers médicaments, notamment des anticoagulants coumariniques, de certaines benzodiazépines, de certains β-bloquants, de la phénytoïne et de la théophylline [25].

Parmi les molécules les plus courantes : cimétidine, famotidine, nizatidine, ranitidine.

c. Autres antihistaminiques

Les autres antihistaminiques peuvent être compétitifs ou non compétitifs. Parmi ces derniers ceux les atypiques car ils empêchent la transformation de l'histidine en histamine en inhibant l'activité enzymatique de l'histidine décarboxylase.

Les antagonistes anti cholinergiques sont des inhibiteurs compétitifs. Ils sont utilisés dans le traitement de la broncho pneumopathie chronique obstructive. En cas d'asthme, ils peuvent exercer un certain effet additif et constituent une alternative thérapeutique en cas de contre-indication aux β2-mimétiques. La forme aérosol permet de réduire les effets indésirables gênants qui se manifestent lors de l'usage des anticholinergiques par voie générale (sécheresse de la bouche, troubles de l'accommodation et de la miction) [26].

I.3.3. Mécanisme d'action

a. Les antihistaminiques H1

Les caractéristiques pharmacocinétiques des antihistaminiques H1 sont peu connues en raison de l'ancienneté d'un grand nombre de molécules et de leur relative bonne tolérance.

Ces médicaments ont une biodisponibilité moyenne, une demi-vie variable (pouvant être prolongée, jusqu'à 30 heures). Ce sont des molécules lipophiles, ils passent la barrière hémato-encéphalique, expliquant leur effet sédatif, contrairement aux antihistaminiques récents.

Du point de vue pharmacodynamique, les antihistaminiques H1 présentent les effets cliniques suivants :

- *Effet anxiolytique.*
- *Effet sédatif.*
- *Effet antinaupathique.*

- *Effet anticholinergique*, certains antihistaminiques peuvent être considérés comme dépourvus d'activité anticholinergique au niveau des récepteurs muscariniques.
- *Effet adrénolytique* : cet effet est présent chez le groupe des phénotiazines qui se manifeste par une hypotension orthostatique.

En effet, autres effets pharmacologiques de ces substances est reflètent par le blocage en règle générale d'autres types de récepteurs, sérotoninergiques, adrénergiques α, muscariniques, etc. [27].

b. Les antihistaminiques H2

Les antihistaminiques H2 diminuent donc la sécrétion acide gastrique en bloquant les récepteurs de l'histamine au niveau de la cellule pariétale, sans toutefois la supprimer totalement puisqu'elle peut être provoquée par d'autres messagers. Ils réduisent donc l'acidité gastrique un peu moins que les inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) (90 % contre 100 %). De plus, leurs effets indésirables peuvent être très sévères. Ils peuvent entraîner une bradycardie (blocage des récepteurs H2 cardiaques) [26].

I.4.Kétotifène fumarate

I.4.1.Définitions

Le fumarate de kétotiféne est un médicament anti-allergique puissant. Sa molécule contient à la fois une structure tricyclique est une structure de pipéridine (figure I.3).

La molécule de fumarate de kétotiféne se caractérise par un fort effet antagoniste sur le récepteur de l'histamine H1 et par un effet inhibiteur de la libération du médiateur de la réaction allergique. Comme elle inhibe la libération de divers types de médiateurs des mastocytes, des basophile et des macrophages, y compris la libération de substances à réaction lente et d'autre substances actives [28].

La molécule de fumarate de kétotiféne appartient à la famille des antihistaminiques H1 de la 1ère génération du groupe des pipéridines. Elle est indiquée dans le traitement symptotique de l'asthme et l'atopique (prophylaxie).

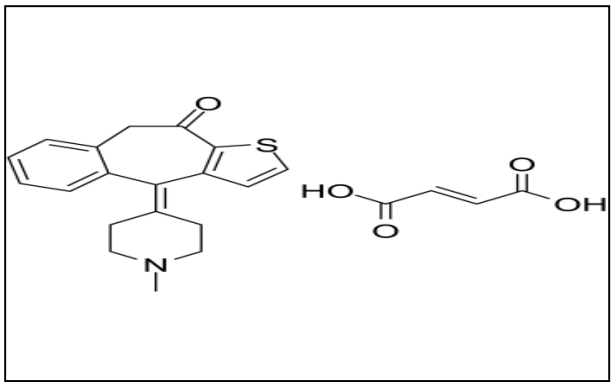


Figure I.3. Structure chimique de la molécule de fumarate de kétotifène, [29].

I.4.2. Propriétés physicochimiques

Les différentes propriétés physico-chimiques de la molécule active du fumarate kétotifène sont données sur le tableau I.1.

Tableau I.1. Propriétés physico-chimiques de kétotifène fumarate [29].

Propriété	***Résultat***
Masse moléculaire	425.5 (g/mol)
Aspect 	Poudre cristalline blanche (ou jaune clair), inodore, gout amer.
Solubilité	Eau, éthanol : peu soluble Méthanol : facilement soluble Chloroforme : très soluble Acétone : très peu soluble
pka	8.43 $\pm$0.11
Point de fusion	192 °C
pH(10g /l) à 25°C	3.0-4.0

I.4.3. Formes galéniques

Actuellement le kétotifène fumarate existe sous trois formes pharmaceutiques : sirop, comprimés pelliculées et gélules.

Ces médicaments sont destinés aux différentes catégories allant du nourrisson à l'adulte et ceci aux doses variées.

L'organigramme de la figure I.4 récapitule les différentes formes galéniques.

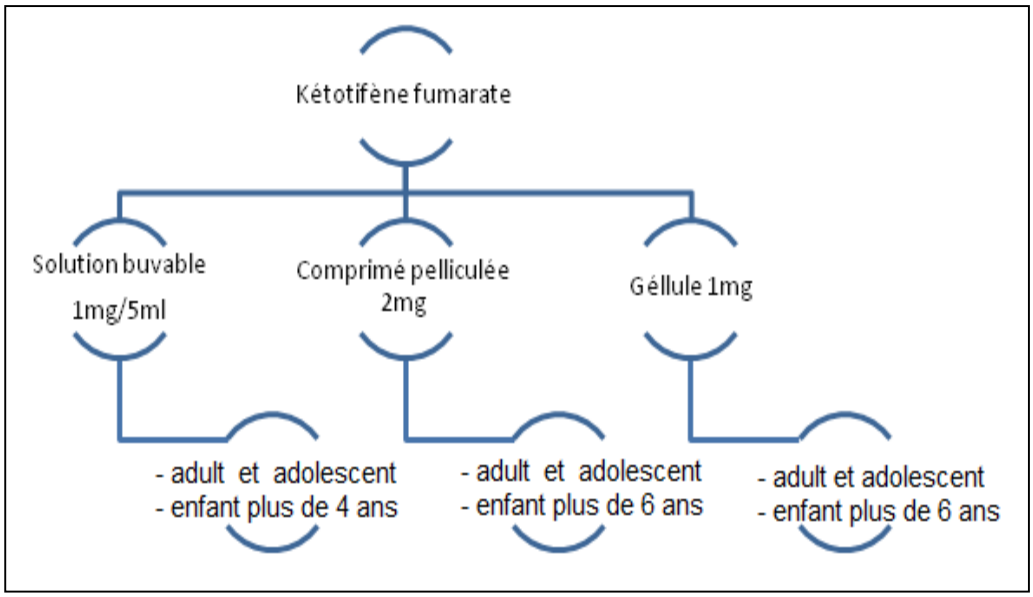


Figure I.4. Organigramme schématisant les formes galéniques du médicament à base kétotifène fumarate.

Chapitre II :

La microencapsulation

II.1.Introduction

Ces dernières années, les microparticules ont fait leurs apparitions dans nombreux domaines d'application aussi divers que l'industrie pharmaceutique, le cosmétique et l'agroalimentaire.

A côté du développement des principes actifs proprement dits, le conditionnement du produit s'avère aussi important. La recherche de la forme la plus efficace de principe actif et leur prévention contre la détérioration : c'est le but majeur de l'encapsulation.

II.2. Généralités

1I.2.1. Définition

La microencapsulation est un procédé par lequel il est possible de produire des microparticules individualisées.

C'est une technique de protection de fines particules (à l'état solide, liquide ou gazeux) appelées aussi matière actives à l'aide d'une matière enrobant par formation de particule de taille micrométrique compris entre 1µm et 1mm et contiennent typiquement entre 5 et 90 % (en masse) de matière active, [30].

II.2.2.Intérêts de la microencapsulation[31].

L'objectif de l'encapsulation est multiple :

a. Immobiliser ou isoler

Cet objectif résulte souvent du désir de vouloir limiter le contact entre certain partie d'un système. L'immobilisation est souvent utilisée pour des cellules microbiennes. En effet, leur confinement dans une membrane semi-perméable permet d'obtenir une activité optimum de par une isolation physique du milieu extérieur tout en maintenant un environnement interne hospitalier adapté pour leur croissance et leur métabolisme.

b. Protéger

De nombreux composés actifs sont fragiles et doivent être protégé du milieu extérieur. L'encapsulation permet leur protection vis-à-vis des contraintes appliquées, par exemple les vitamines et les hormones sont très sensibles sous certaines agents physiques, chimiques et biologiques.

c. Contrôle de libération

Le but de l'encapsulation n'est généralement pas l'isolement indéfiniment d'un composé. Dans la majorité de cas un profil ou processus de libération bien spécifique est recherché. Par exemple un médicament sera délivré suivant une cinétique bien définie.

d. Vectoriser

La vectorisation par l'encapsulation permet de cibler l'action du principe actif. Par exemple. L'amélioration de la pénétration cutanée vau travers du derme ou l'épiderme peut être atteinte grâce à l'encapsulation.

e. Structurer

L'encapsulation d'un composé liquide dans des microparticules solides permet d'obtenir une modification de l'état physique de l'actif qui passe de la forme liquide à solide.Cela permet par exemple une homogénéisation simplifiée du mélange de l'actif initialement liquide au sein d'une poudre.

II.3.Caractérisation des microparticules

II.3.1. Classification [32, 33]

Les microparticules sont des systèmes colloïdaux développés principalement en vue de leur utilisation thérapeutique. Selon la nature des éléments qui les constituent et leur structure, il possible de distinguer les liposomes, les microsphères, et les microcapsules.

a. Les liposomes : ce sont de petites vésicules sphériques dont la paroi est constituée par une ou plusieurs bicouches phospholipidiques délimitant une cavité centrale contient la matière active (figure II.1).

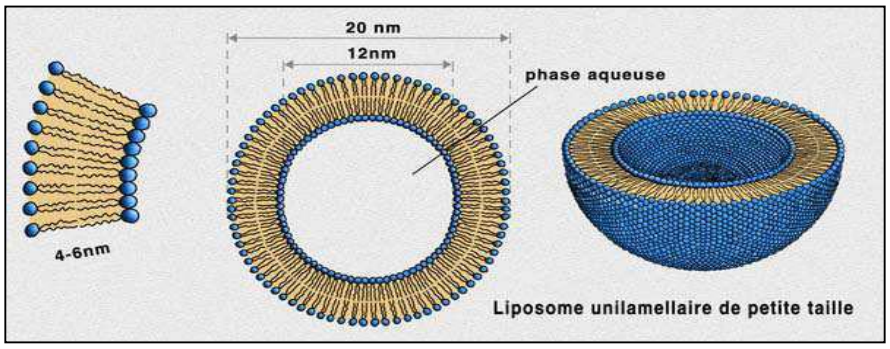


Figure II.1. Structure d'un liposome [32, 33].

***b. Les microcapsules* :** sont des particules sphériques du type-cœur étant constitué de la substance active à encapsuler, et la couronne, enveloppe solide formé par l'agent encapsulant chaque microcapsule constitue un système réservoir proprement dit, (figure II.2).

c. Les microsphères : sont constituées d'un réseau polymèrique dans lequel est dispersée la substance active à l'état moléculaire ou particulaire. Cette Structure est dite système matriciel, (figure II.2).

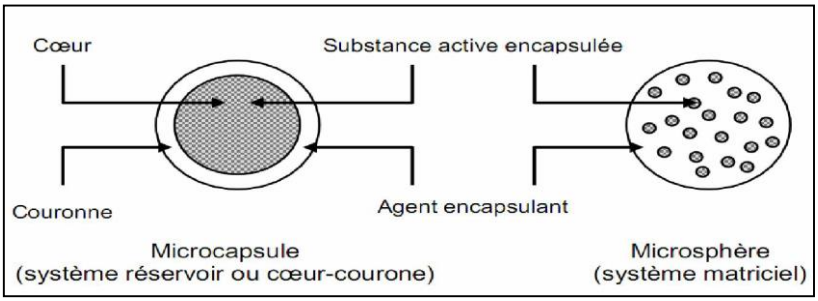


Figure II.2. Types de morphologie de particules obtenues par procédés d'encapsulations [32, 33].

II.3.2. Applications de la microencapsulation

On trouve désormais des applications de la microencapsulation dans de nombreux domaines industriels, listés dans le tableau II.1, dans lequel sont également précisés des exemples de composés encapsulés.

II.3.3.Composition

Les particules obtenues par encapsulation sont constituées de deux parties :

a. ***Les substances encapsulées*** : elles sont d'origine très variées : principe actifs pharmaceutique, actifs cosmétiques, additifs alimentaires, produits phytosanitaires, essences parfumées, micro-organismes, enzymes et hormones ;
b. ***Les matériaux enrobant*** : ils sont des polymères d'origine naturelle ou synthétique, ou lipides, ils doivent être capables de former un réseau stable avec la particule à encapsuler [2]. Ces matériaux protègent la (les) substance (s) à encapsuler et contrôlent leur libération.

La microparticule est souvent mise dans un milieu externe où elle conserve ses propriétés chimiques et physiques [34].

Tableau II.1. Applications de la microencapsulation dans l'industrie,[31].

Domaine industriel	***Exemples de composés encapsulés***
Pharmacie et médical	Antibiotique, principe actif, contraceptif, enzyme, vaccins, antigène, anticorps…
Cosmétique	Parfum, huiles essentielles, crème solaire, colorant capillaire, agents bronzants,…
Agriculture	Herbicides, insecticides, engrais, hormones végétales
Biotechnologie	Enzymes immobilisées, microorganismes, cellules vivantes, cellules artificielles,…
Détergent	Adoucissant, agent décolorant, agent moussant,…
Photographe	Pigments, colorants, composés photo-polymérisables, plastifiant,…
Electronique	Cristaux liquide, matériau semi-conducteur, agent de séchage, adhésif,…
Détergents	Adoucissant, agents décolorants, agent moussant, silicone,…
Chimie	Catalyseurs, enzymes, inhibiteurs de corrosion, agent uv protecteurs, retardateurs incendie
Traitement des déchets	Microorganisme, substrats, déchet liquides (solidification), déchets industriel à risque,…

II.3.4.Caractérisation

a. Taille

Le terme : microparticules, est utilisé pour une taille comprise entre 1 µm et 1000 µm et selon d'autres références, l'intervalle de définition des microparticules est compris entre 1 µm et 500 µm. Dans tous les cas, les particules ayant un diamètre inférieur à 1µm appartiennent au domaine des nanoparticules [35].

b. Structure interne

Deux types de structures internes de microparticule polymérique peuvent être observé,(figure II.3),[35].

✓ *Les microsphères* : elles sont constituées des réseaux matriciels de matériau enrobant dans lequel se trouve dispersé ou dissout le principe actif.

✓ *Les microcapsules* : elles sont constituées des systèmes dits « réservoirs » constitués dans cœur de principe actif entouré d'une membrane de matériau enrobant.

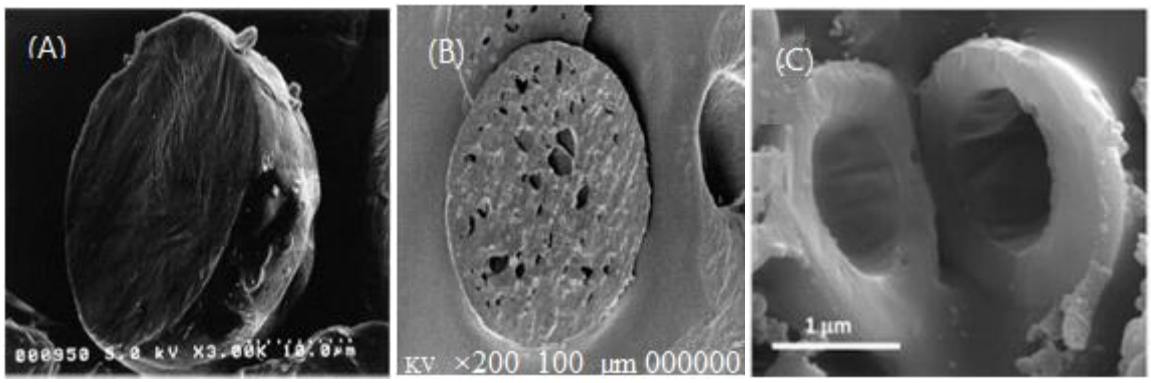


Figure II.3. Photographies obtenues par MEB, (A) : microsphère, PA dissout dans le matériau enrobant, (B) : microsphère, PA dispersé dans le matériau enrobant ; (C) : microcapsule [35].

✓ Quantification de l'actif encapsulé [35]

Le principe actif présent au sein des microparticules est caractérisé par plusieurs grandeurs : la plus commune est le rondement d'encapsulation qui a l'expression II.1 :

$$Rendement\ d'encapsulation(RE) = \frac{m_{\ microsphères\ obtenues\ (g)}}{m_{(polymère+PA)introduit(g)}} .100 \qquad (II.1)$$

Une autre expression de quantification de l'encapsulation, c'est la teneur en principe actif ou le taux d'encapsulation, elle est définie par l'expression II.2.

$$Taux\ d'encapsulation(TE) = \frac{m_{\ PA\ encapsulé\ (g)}}{m_{microparticules(g)}} .100 \qquad (II.2)$$

Enfin, l'efficacité d'encapsulation, est également un paramètre utilisé lors de la réalisation de microparticules, elle est donnée par l'expression II.3.

$$Efficacité\ d'encapsulation\ (EE) = \frac{m_{\ PA\ encapsulé\ (g)}}{m_{PA\ introduit(g)}} .100 \quad \text{(II.3)}$$

II.4. Paramètres influençant la microencapsulation

Ils existent plusieurs paramètres qui influencent le procédé de microencapsulation, tels que :

- La taille moyenne des microsphères et la largeur de distribution granulométrique.
- La teneur en matière active ou le taux d'encapsulation.
- Les contraintes de stabilité au cours du stockage et au cours de la mise en œuvre.
- La durée de conservation sous libération de matière active, ainsi que le milieu dans lequel particules seront conserve.
- Les conditions et cinétique de libération.
- Les contraintes réglementaires liées au domaine d'application et ou mode d'administration qui sont prescrites dans réglementaires qui sont prescrites dans les réglementations nationales et internationales (pharmacopée européenne par exemple)

II.5. Procèdes de microencapsulation

Il existe plusieurs manières de classification des procédés industriels d'encapsulation suivant différents critères [2] :

- L'utilisation ou non de solvant organique
- La nature de milieu dispersant : liquide, gazeux ou à l'état supercritique
- L'utilisation de polymère préformés, de lipide ou de monomère.

La figure II.4. Détaille les principaux procédés de microencapsulation.

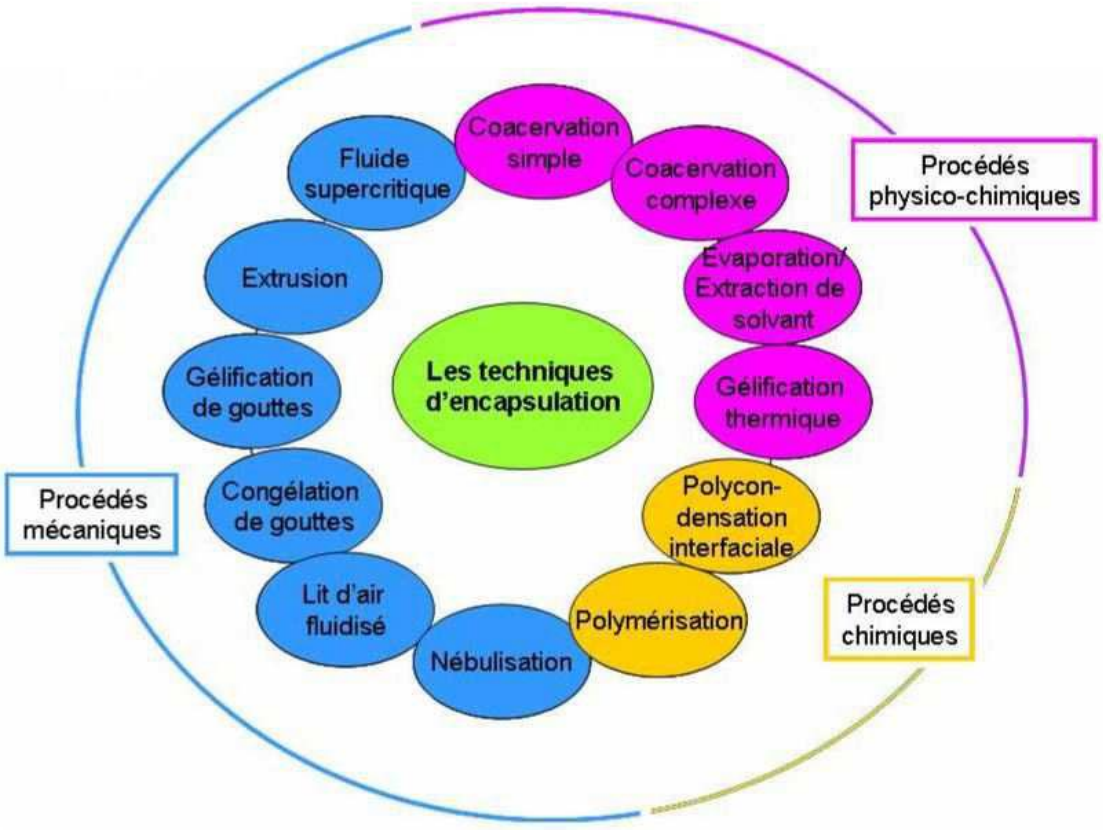


Figure II.4. Différents procédés d'encapsulation [2].

II.5.1. Procèdes physico-chimiques

Ils sont basés sur la maitrise de certains paramètres tels que la solubilité et la précipitation des polymères en fonction de l'ajout d'un non-solvant, le pH ou de la température mais aussi sur la maitrise des changements d'état (fusion, solidification) des polymères.

II.5.2. Procédés chimiques

Ils sont basés sur la formation in situ de matériau enrobant par polycondensation, polymérisation radicalaire, ou polymérisation anionique qui utilisant des matériaux enrobant préformés (polymères, lipide).

II.5.3. Procédés mécaniques

Les procédés mécaniques mettent en œuvre des techniques de pulvérisation (spray-drying, spray-coating). De formation de gouttes ou gouttelettes (prilling) et d'extrusion/sphéronisation).

a. Gélification

La gélification de gouttes est basée sur une solution, dispersion ou émulsion de matière active dans une solution aqueuse de polymère capable de former des gels sous une action extérieure physique (température) ou chimique (pH, présence d'un composé induisant la précipitation). Par exemple, une solution aqueuse d'alginate de sodium produit des gouttelettes après avoir traversée une buse vibrante. Ces gouttes se solidifient en se gélifiant dans une phase aqueuse contenant du chlorure de calcium afin d'encapsuler le principe actif dans les microsphères comme représenté la figure II.5, [2].

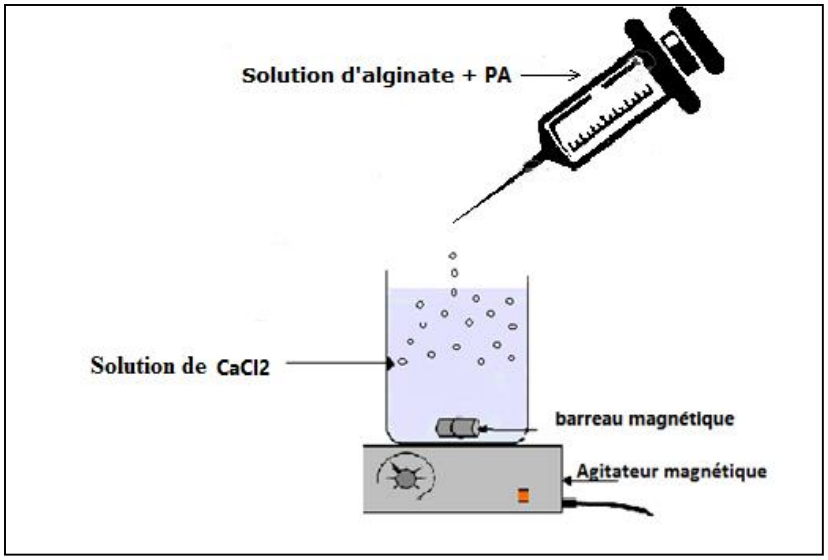


Figure II.5. Principe du procédé de gélification [2].

b. Nébulisation-séchage par atomisation [36]

La technique de nébulisation/séchage est un procédé continu en une étape permettant d'obtenir une poudre à partir d'une solution, d'une suspension liquide, ou encore d'une émulsion. Le principe de base consiste à pulvériser la formulation liquide à travers une buse d'atomisation sous forme d'un aérosol de fines gouttelettes de 5 à 500 µm dans une enceinte. Les micros gouttelettes formés sont mises en contact avec un flux d'air établi à contre-courant ou Co-courant préalablement chauffé. Grace à une surface d'échange important l'évaporation du liquide est rapide ce qui permet la formation de microparticules solide. En effet, dans le cas d'une solution, le volume liquide diminuant, la concentration du produit dissout augmente et il y a apparition du solide par précipitation.

La technique de nébulisation-séchage est largement utilisée dans les industries pharmaceutiques pour les enzymes et les hormones de croissance.

II.6.Concepts de libération contrôlée d'un principe actif

II.6.1.Définition

La libération contrôlée peut être définit comme une méthode par laquelle un ou plusieurs principe actifs ou ingrédients se rendent disponible sur un site à un moment désiré avec une teneur spécifique [2].

II.6.2. Formes à libération prolongé et déclenche

Il faut faire la distinction entre les systèmes à libération déclenchée et les systèmes à libération prolongé (figure II.6).

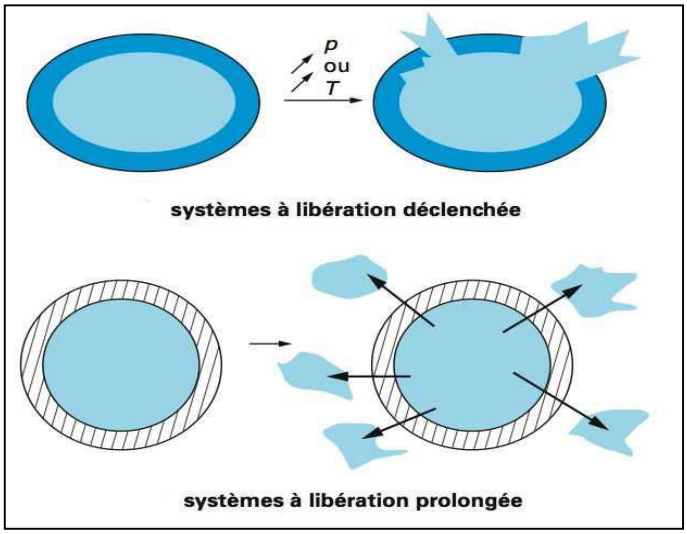


Figure II.6. Particules à libération déclenchée et prolongée [2].

a. Systèmes à libération déclenchée

Ils sont constitués d'une membrane imperméable qui peut subir une rupture sous l'effet d'une pression (osmotique ou mécanique) ou par fusion sous l'effet d'une modification de pH ou de température [2].

b. Systèmes à libération prolongée

Ils se distinguent par les mécanismes de libération mise en jeu (diffusion passive, dégradation/dissolution du matériau enrobant) et par leur structure (microcapsules ou

microsphère) qui va directement influencer la cinétique de libération prolongée sont très largement utilisées dans les domaines alimentaire et pharmaceutique [2].

II.6.3.Mécanismes de la libération modifiée d'une substance

La cinétique de libération peut être d'ordre 0 ou 1. Elle dépend principalement de l'épaisseur de la membrane ou du système matriciel, de sa porosité, de sa composition chimique et des propriétés de la substance active [2].

La figure II.7 illustre les différents profils de libération par diffusion passive à travers le matériau enrobant. A partir de microcapsules, il est possible d'obtenir des cinétiques de libération d'ordre0 ou d'ordre 1 (profil A et D), en fonction de la solubilité dans l'eau de la matière active. Les cinétiques d'ordre 0 peuvent être modifiées dans leur phase initiale : soit la vitesse de libération est exagérément marquée (*bursteffect*) en raison de la présence d'un excès de matière active dans la membrane (profil B), soit un temps de latence précède la libération, temps nécessaire par exemple pour que le principe actif diffuse à travers la membrane, avant d'atteindre le milieu extérieur (profil C) [2].

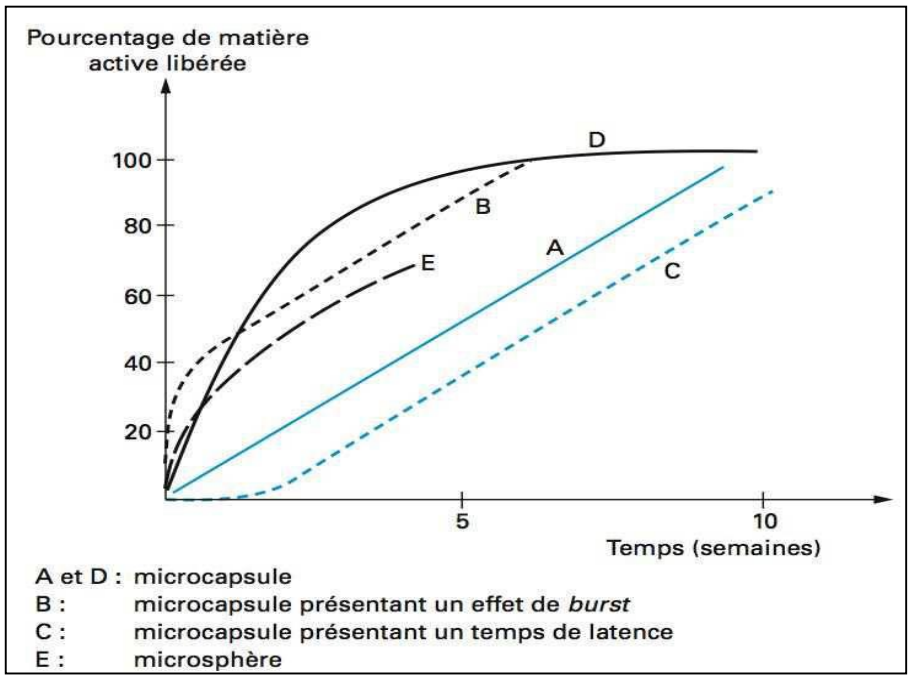


Figure II.7. Profils de libération par diffusion passive de différents types de microparticules [2]

A partir de microsphères, le phénomène de diffusion de la molécule active à travers une matrice sera décrit par une cinétique obéissant à la loi d'Higuchi (profil E). Dans sa forme simplifiée, cette loi montre que la quantité libérée de matière active est directement proportionnelle à la racine carrée du temps. Comme nous l'avons vu auparavant, il existe deux principaux types de libération, la libération contrôlée et la libération déclenché [2].

II.6.4. Modèles théoriques de la libration modifiée

Un grand nombre de modèles mathématiques, empiriques et mécanistiques sont proposés pour décrire la cinétique de libération de molécules actives à partir de systèmes générés par des procédés d'encapsulation (matriciels, réservoir) obtenus généralement à partir de polymères. Le tableau II.2 récapitule les équations des modèles les plus utilisés et la nature des mécanismes qui contrôlent la libération.

a. Ordre zéro

Quand un principe actif suit une cinétique d'ordre zéro, c'est-à-dire qu'il est libéré de façon constante au cours du temps, il s'agit véritablement d'un système à libération contrôlée. Pour étudier cette cinétique de libération, les données obtenues à partir des études de libération *in vitro* sont tracées en tant que montant cumulé de PA libéré en fonction du temps. Cette relation peut être utilisée pour décrire la dissolution du PA de plusieurs types de formes de dosage pharmaceutique à *libération modifiée,* comme dans le cas de certains systèmes transdermiques, des systèmes osmotiques, etc.… [37].

b. Premier ordre

La cinétique de premier ordre correspond à la majorité des profils observés lors de la libération de principes actifs encapsulés dans les nano/microparticules. Au début de la libération la vitesse est rapide (diffusion du principe actif encapsulé proche de la surface) puis ralentit (diffusion plus lente au travers de la matrice). Les données obtenues sont tracées entant que log du pourcentage cumulé de PA restant en fonction du temps, ceci donnerait une ligne droite avec une pente qui représente le $-K_1$. Cette relation peut être utilisée pour décrire la dissolution de PA dans des formes pharmaceutiques qui contient des PA solubles dansl'eau dans des matrices poreuses [38].

c. Higuchi

Le premier exemple d'un modèle mathématique destiné à décrire la libération du PA à partir d'un système matriciel a été proposé en 1961 par Higuchi. Initialement conçu pour les systèmes planaires, il a ensuite été étendu à différentes géométries et des systèmes poreux. Les données sont tracées en tant que pourcentage cumulatif du PA libéré par rapport à la racine carrée du temps [39].

Tableau II.2. Modèles mathématiques régissant les mécanismes de libération.

Modèle Mathématique	***Equation***	***Nature du mécanisme***
Ordre zéro	$m_t = m_0 . K_0 . t$	Vitesse de libération ***indépendante*** de la concentration du principe actif dissous
Premier ordre	$m_t = m_0 . (1-e^{-K1.t})$	Vitesse de libération ***dépendante*** de la concentration du principe actif dissous
Higuchi	$m_t = K_{Hi} . t^{(1/2)}$	Libération par ***diffusion***

m_t: Quantité du principe actif libéré dans le temps t ;

m_0: Quantité initiale du principe actif dans la forme posologique ;

K_0 : Constante cinétique du modèle d'ordre zéro (s^{-1}) ;

K_1 : Constante cinétique du modèle d'ordre 1(s^{-1}) ;

K_{Hi} : Constante de Higuchi.

II.6.5.Paramètres influençant la libération modifiée

Les caractéristiques de la particule (taille, structure, morphologie…), la localisation de principe actif et le milieu environnant constituent les paramètres majors qui influencent le profil de libération d'une matière active.

Ils existent d'autres paramètres pouvant influencer la libération d'un PA encapsuler, il s'agit de :

- Taux d'encapsulation
- Interactions chimique entre le PA et le polymère
- Solubilité du PA dans le système polymérique

Chapitre III :

Application de L’émulsification/gélification externe

III.1. Introduction

Les systèmes à libération contrôlés tels que les microsphères, les nanosphères, les liposomes et les micelles ont été mises en formulation afin de surmonter les contraintes des formes classiques de diverses voies d'administration des médicaments.

Parmi les systèmes porteurs de substances actives, les microsphères d'alginates constituent un intérêt d'importance majore qui a attiré l'intention des chercheurs depuis les dernières décennies, car elles offrent à la fois la délivrance et la libération des substances actives à la cible spécifique, comme elles reflètent un outil transitoire de protection et de stabilisation des substances thérapeutiques et bioactives. Certaines méthodes d'encapsulation faisant appel aux solvants organiques ou autres réactifs qui sont incompatibles avec de nombreuses matières biologiques encapsulées. Alternativement, d'autres méthodes sont basées sur le chauffage et/ou le refroidissement de la formulation ce qui provoque une dégradation thermique des molécules thermosensibles, ou encore l'utilisation de polymères faisant initier avec succès la gélification mais ils sont incompatibles ou non métabolisés.

En effet, l'alginate est le biopolymère le plus impliqué dans la préparation des microsphères destinées particulièrement pour la voie orale, car il s'agit d'un polymère biodégradable et biocompatible.

A cet égard, la technique d'émulsifcation/gélification a été ciblée pour la fabrication des microsphères d'alginates chargées de diverses matières actives.

En général, cette technique fait intervenir deux étapes : la formulation d'une dispersion des gouttelettes à base de polymère chargées de matière (s) active (s) et le durcissement de ces gouttelettes [40].

III.2.Définitions

Dans la méthode d'émulsifcation/gélification, cette dernière étape se produit lorsque les molécules d'alginate rencontrent les ions réticulant. A ce stade, ils se génèrent deux type de gélification : interne et externe.

III.2.1.Emulsifcation/gélification interne

Cette méthode est basée sur la libération sous l'effet d'un acide (H^+) d'ions de calcium à partir d'un sel de calcium initialement insoluble contenu dans les gouttelettes aqueuses du

système émulsifié. L'acide utilisé pour la solubilisation du sel de calcium, se partage entre la phase huileuse et la phase aqueuse dispersée en initiant la gélification de l'alginate [41].

La réaction correspondante est donnée comme suit [41] :

$$CaCO_3 + 2\ CH_3COOH \rightarrow (CH_3COO)_2Ca + H_2O + CO_2 \qquad \text{(III.1)}$$

L'organigramme de la figure III.1 schématise les différentes étapes de la méthode d'émulsif cation/gélification interne.

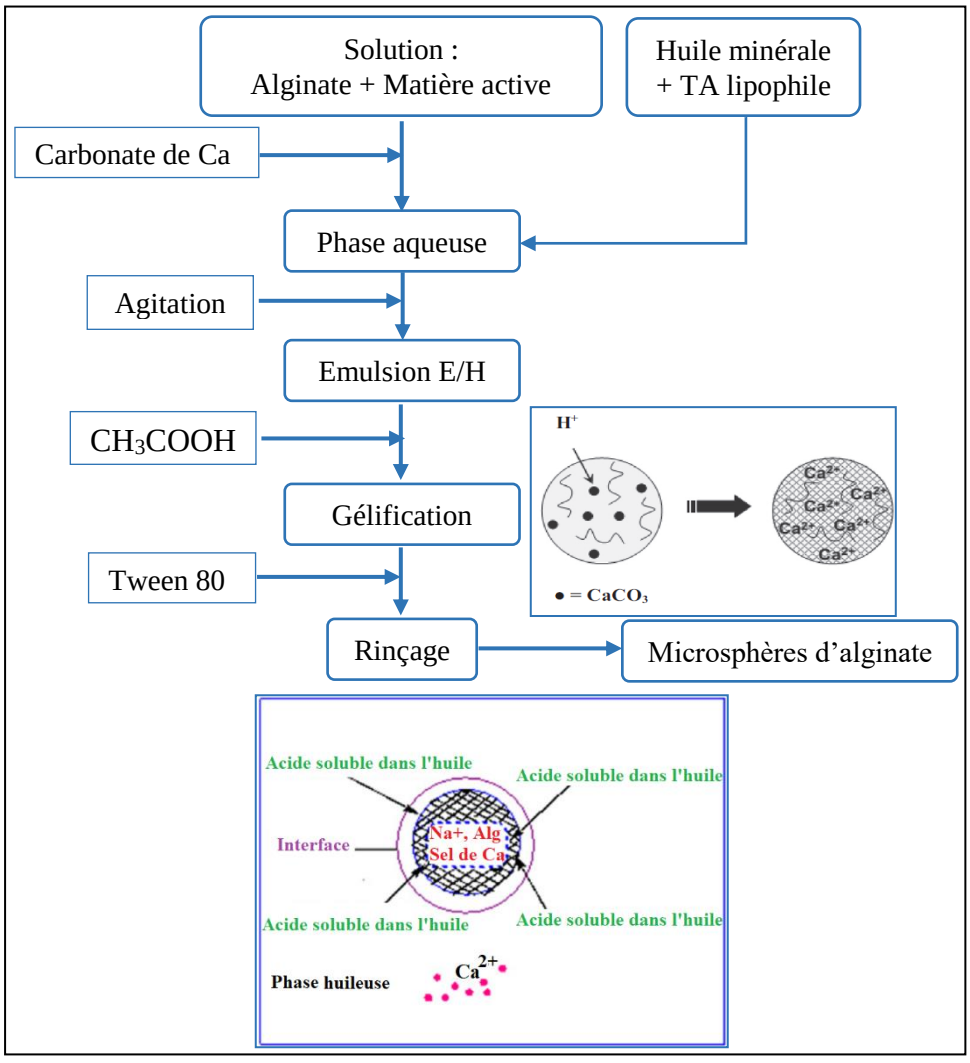


Figure III. 1. Schéma représentant le principe de l'émulsification/gélification interne [41,42]

L'efficacité et le rendement d'encapsulation ainsi que la libération d'une substance encapsulée par une telle technique dépend fortement des concentrations d'alginate, des ions de calcium, de l'acide et de l'agent émulsifiant ainsi que de la vitesse d'agitation [43].

III.2.2.Emulsifcation gélification externe

Cette technique permet d'obtenir des particules matricielles d'alginate ayant des dimensions inférieures à 100 µm (microsphères), son mécanisme est basé sur le même principe comme celui de la méthode d'extrusion : la gélification ion tropique (figure III.2) [43].

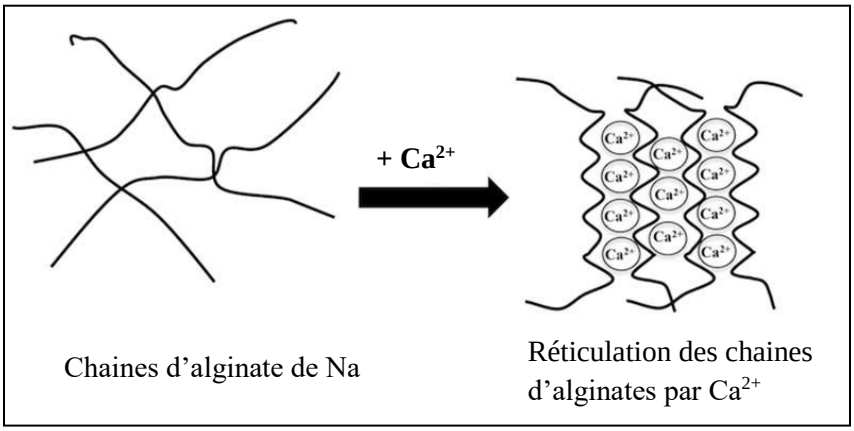


Figure III. 2. Principe de la gélification ion tropique de l'alginate de sodium [43]

Cependant, la gélification externe produit une membrane semi-solide en raison de la diffusion rapide des ions calcium au niveau de la surface ce qui provoque une surface extérieure rigide et un noyau mou [45].

En effet, cette méthode vise à être appliquée pour l'encapsulation des substances actives solubles et insolubles avec des efficacités d'encapsulation supérieures à celles obtenues avec la gélification interne [44].

III.3.Applications de l'émulsification/gélification externe

Dans ce procédé, la formation des microsphères est basée sur l'introduction des ions Ca^{2+}au-delà de l'extérieur des gouttelettes d'alginate vers l'intérieur à travers les pores interstitiels des chaines polymériques. Par conséquent, les molécules de la matière active sont enchevêtrées d'une manière aléatoire dans les matrices réticulées. Ceci rend plus facile de contrôler le profil de libération des principes actifs et des matières bioactives [43,45].

III.3.1. Principe de la formulation

En général, cette méthode est composée de deux étapes : la première est la formulation de l'émulsion eau dans l'huile, stabilisée par un agent émulsifiant lipophile. Alternativement, la phase aqueuse, est une solution homogène d'alginate contenant le (s) principe (s) à encapsuler [44].

La seconde étape consiste en l'addition progressive de l'émulsion formée à une solution de chlorure de calcium ce qui implique la gélification des gouttelettes aqueuses en particules matricielles [43].

a. Préparation de l'émulsion

C'est l'étape primordiale dans la formulation entière, car les caractéristiques de l'émulsion formée régissent les propriétés physico-chimiques et biopharmaceutiques des microsphères obtenues.

Cette étape consiste à préparer une émulsion eau dans huile dont la substance à encapsuler est dissoute ou dispersée dans la solution aqueuse d'alginate et la phase huileuse est composée d'une huile minérale ou d'un solvant organique contenant un agent émulsifiant comme les poly soubattes (span 80, span 85, …). De ce fait, la qualité de l'émulsion dépend de certains paramètres tels que : la composition des phases, la teneur en agent émulsifiant, la teneur de matière à encapsuler et la vitesse d'agitation [41].

b. Préparation des microsphères

L'obtention des microsphères résulte de l'addition de l'émulsion E/H à une solution de sel hydrosoluble d'ion bivalent (Ba^{2+}, Sr^{2+} ou Ca^{2+}), le baryum et le strontium sont des éléments toxiques, tandis que le calcium est non toxique. Lorsque les molécules d'alginate rencontrent les ions Ca^{2+}, ces derniers sont attirés vers les charges négatives des groupements carboxylates des chaines d'alginate en formant ainsi une structure solide.

Outre les paramètres dont dépend l'émulsion, les caractéristiques physico-chimiques des microsphères telles que la taille, la morphologie et la cinétique de libération dépendent fortement de la concentration des ions Ca^{2+} [44].

La figure III.3, détaille les étapes d'émulsification/gélification externe.

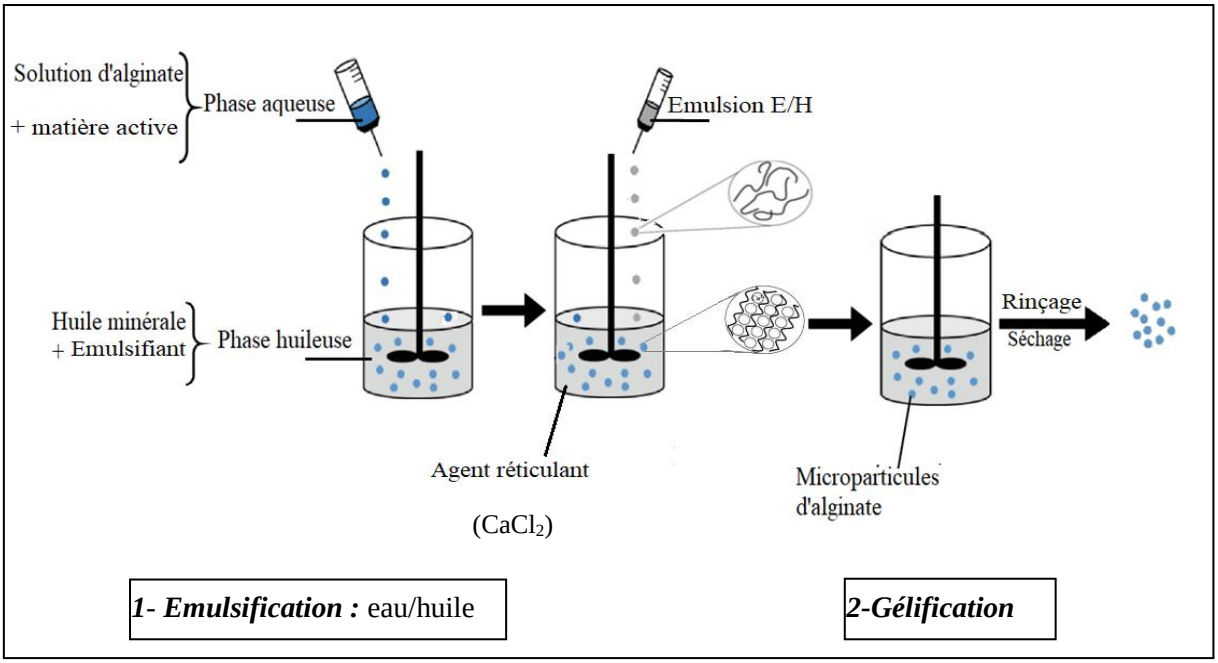


Figure III.3. Etapes de l'émulsification/gélification externe [43,44].

III.3.2.Matières encapsulées

a. Biomolécules et micro-organismes

Le piégeage des molécules biologiques que se soient de nature protéique telles que les enzymes et les hormones ou de nature nucléotidique, à l'intérieur des systèmes encapsulés a été largement étudié. Lors de la formation des microsphères, ces molécules sont souvent exposées à la chaleur, à l'agitation mécanique, à l'adsorption sur polymère matriciel, exposition aux solvants organiques, ce qui peut entraîner une détérioration moléculaire voire une dénaturation de la biomolécule [46,50].

C'est pour cette raison, la méthode d'émulsifcation-gélification a été impliquée comme outil de protection et de préservation de l'activité biologique tout en assurant la possibilité d'obtenir des particules ayant des tailles bien déterminées.

En effet, cette technique avait le l'objectif d'être appliqué par plusieurs chercheurs pour la mise en encapsulation dans des microsphères d'alginate : des protéines, des enzymes, des pro biotiques, et d'ADN plasmide. Le tableau III.1 récapitule les différents travaux réalisés.

Tableau. III.1. Représentation de quelques travaux de recherche sur l'émulsification-gélification externe des molécules bioactives.

Molécule bioactive	***Immuno-globuline (IgG)***	***Laccase***	***Levure (Y235)***	***ADNp***	***Mycobacteriumbovis (BCG)***
Concentration d'alginate (%, m/v)	5	2	1.5	3	2
Concentration de $CaCl_2$ (%, m/v)	7.55	2	0.55	1.66	1
Concentration de matière active (%, m/v)	0.9	1	NI	NI	2
Proportion de la phase huileuse (%, v/v)	76.92	82.64	83.33	96.15	60
Vitesse d'agitation (tr/min)	1300	10000	200	2500	7000
Rendement d'encapsulation ou Efficacité d'encapsulation (%)	89.4	88.12	80	92.7	NI
Référence	[46]	[47]	[48]	[49]	[50]

NI : Non iodique

b. Principes actifs

Comme dans le cas des matières biologiques, les principes actifs contenus dans les microsphères obtenues par émulsif cation-gélification externe conservent leur stabilité pendant l'encapsulation. Ces microsphères présentent une morphologie et une texture qui leurs confèrent la caractéristique d'être un moyen adéquat d'une libération ciblée et prolongée de ces principes [43,45].

Peu d'études ont été réalisées sur l'encapsulation des principes actifs par l'émulsification-gélification externe. Les principaux travaux sont cités dans le tableau III.2.

Tableau. III.2. Représentation de quelques travaux de recherche sur l'émulsif cation-gélification externe des principes actifs.

Molécule bioactive	***Mésalamine***	***Risdronate de sodium***	***Chlorhydrate de granisétron (GH)***	***diloxanide furoate***
Concentration d'alginate (%, m/v)	5	3	5	5
Concentration de $CaCl_2$ (%, m/v)	7	4	7	22.2
Concentration de matière active (%, m/v)	5	3	0.2	1
Proportion de la phase huileuse (%, v/v)	NI	95.23	NI	83.33
Vitesse d'agitation (tr/min)	1500	1800	1600	1000
EE (%)	90	62.58	92.3	73.82
Référence	[51]	[52]	[53]	[54]

NI : Non iodique

III.4. Récapitulation du travail de recherche sur le furoate de diloxanide (FD) [54]

III.4.1.Méthodes expérimentales et techniques de caractérisation

a. Protocole expérimental d'émulsification-gélification externe

La méthode de préparation des microsphères d'alginate appliquée dans ce travail est celle utilisée par Calis et al. [55] avec quelques modifications.

Le protocole expérimental consiste à étudier les paramètres dont dépend la formulation entière (voir tableau III.3) sur les propriétés physico-chimiques et biopharmaceutiques des microsphères obtenues. Pour ce faire la méthode mono-factorielle a été appliquée.

Les expériences sont divisées en trois étapes :

1. *Préparation de l'émulsion eau/huile* : elle consiste à disperser sous agitation : une phase aqueuse (de volume de 10 ml) composée d'une solution d'alginate de sodium et de

furoate de diloxanide (DF)dans une phase huileuse constituée de l'huile de paraffine et du span 80.

Tableau. III.3. Paramètres et niveaux étudiés pour l'encapsulation de FD

Paramètre	***$C_{Alginate\ Na}$ (%, m/v)***		***$C_{span\ 80}$ (%, m/v)***		***C_{CaCl2} (%, m/v), v(ml)***		***Vitesse agitation (tr/min)***		***C_{FD} (%, m/v)***	
Niveaux étudiés	A1	2	B1	0.75	C1	11.1 (1ml)	D1	750	E1	0.5
	A2	3	B2	1	C2	11.1 (2ml)	D2	1000	E2	1
	A3	4	B3	1.25	C3	22.2 (1ml)	D3	1250	E3	1.5
	A4	5	B4	1.5	C4	22.2 (2ml)	D4	1500	E4	2

2. *Préparation des microsphères* : la gélification des gouttelettes d'alginate de sodium est assurée par addition de l'émulsion eau/huile à un volume (v) de chlorure de calcium. Le système est maintenu sous agitation à une vitesse de 1000 tr/min à une température de 70°C.

3. *Récupération des microsphères* : le système a été refroidi rapidement à 15°C et la déshydratation des microsphères a été réalisée par 50 ml d'acétone. Ensuite, Les microsphères récupérées par filtration ont été rincées trois fois par 50 ml d'alcool isopropylique. Enfin, les microsphères ont été séchées à la température ambiante.

b. Caractérisation morphologique et granulométrique

Les microsphères ont été mises en suspension dans l'eau ; une goutte a été placée sur une lame de verre, recouverte d'une lamelle et vue sous le microscope optique pour examiner leur forme. La morphologie des microsphères a été observée à balayage électronique microscopie (MEB). Les échantillons pour MEB ont été préparés par saupoudrer légèrement la poudre de microsphères sur un double ruban adhésif collé à un talon en aluminium. Les talons ont ensuite été recouverts d'or sur une épaisseur d'environ 300 ° A à l'aide d'un enduit par pulvérisation. Ces échantillons étaient alors au hasard scannées et des photomicrographies ont été prises, qui sont illustré aux figures (a) et (b).

c. Quantification de DF encapsulé

100 mg de microsphère ont été prélevés et mélangés avec l'éthanol et l'eau distillée dans un ballon standard de 50 ml. La solution a ensuite été conservée pendant 12 heures, puis filtrée à travers un filtre à membrane (0.45µm). La teneur en DF a été estimée en mesurant l'absorbance à 260nm.

Les paramètres d'encapsulation de FD concernant l'efficacité et le rendement d'encapsulation sont donné par les expressions II.1 et II.3

d. Analyse thermogravimétrique

Cette analyse avait pour objectif l'identification dela structure cristalline du PA, avant et après formulation et l'évaluation de toute interaction PA-polymère. Pour ce faire, un chauffage dans un environnement azoté (débit d'azote gazeux de 20ml/min) de DF, d'alginate, de mélange : polymère et médicamentas, de microsphère d'alginate vierge et chargé de DFà 30°C à 350C à la vitesse de chauffant de 10 °C/min a été réalisée.

e. Analyse par DXR

Les échantillons de DF, d'alginate, de mélange et de formulation optimisées à blanc et chargées ont été mesuré par diffractomètre à rayon X à 5- 50°. La cristallinité a été donc déterminée à 2θ °/min. Le débit de balayage.

f. Etude de libération in vitro de médicament

Les tests de libération in vitro de DF ont été réalisés dans un fluide gastrique qui suivi le mode opératoire suivant: : 100 mg de microsphères ont été mélangéesdans900ml de milieu de dissolution. Le contenu a été agité à 10tr/min à 37 ±0.5°C. La simulation de la condition transit gastro-intestinale a été réalisé en modifiant le pH du milieu de dissolution à différente intervalle de temps

- Au début, le pH du milieu de dissolution a été maintenu à 1.2 pendant 2 heures, ensuite le pH a été ajusté à 4.5 avec NaOH 0.1 M et l'étude de libération a été pour suivi pendant 2h supplémentaire.
- Après 4 heures, le pH du milieu de dissolution a été ajusté à 7.4 avec 0.1N de NaOH êtes maintenu jusqu'à 24 heures. Le milieu a été filtré à membrane (0.45um) après 2et 4 heures et le résidu a été immédiatement ajouté au milieu suivant.

Un volume d'échantillon de 5ml a été retiré du milieu de dissolution à divers intervalles de

temps et est analysé à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis à 261 nm.

III.4.2. Résultats et discussions

a. Caractérisation morphologie et granulométrique

La taille moyenne des microsphères obtenues est donnée dans le tableau III.4.

Tableau. III.4. Effet des paramètres étudiés sur la taille des microsphères, le rendement et l'efficacité d'encapsulation.

Paramètre	***Niveaux***	***Taille moyenne des particules (µm)***	***RE (%)***	***EE (%)***
Concentration d'alginate (%, m/v)	2	-	-	-
	3	417.8±3.33	68.66±6.92	48.58±1.07
	4	424.57±3.37	87.33±5.03	47.55±0.62
	5	453.92±3.2	89.99±3.33	63.98±0.51
Concentration de span 80 (%m/v)	0.75	415.14±3.15	86.1±0.95	60.52±0.95
	1.0	409.61±2.28	87.49±0.83	63.71±0.95
	1.25	401.41±5.38	81.66±1.66	57.54±0.98
	1.5	395.80±3.22	9.16±0.83	47.62±0.98
Concentration de $CaCl_2$ (%, m/v)	11.1 (1ml)	373.71±1.58	86.83±0.67	53.58±1.12
	11.1 (2ml)	377.44±3.95	87.83±0.86	50.81±1.00
	22.2 (1ml)	381.91±1.53	88.88±1.27	71.81±1.05
	22.2 (2ml)	382.24±2.86	85.27±0.47	60.2±1.04
Vitesse d'agitation (tr/min)	750	455.92±2.2	85.94±0.67	54.82±1.21
	1000	397.58±4.49	86.66±0.83	73.08±0.48
	1250	382.91±3.38	83.88±0.96	70.89±1.45
	1500	348.24±3.50	82.49±0.83	64.77±2.05
Concentration de DF (%, m/v)	0.5	366.57±3.24	82.78±0.81	63.58±2.72
	1	364.57±2.95	87.49±0.83	73.82±1.99
	1.5	361.67±1.33	82.3±0.77	59.76±1.55
	2	359.77±3.87	77.09±0.71	51.37±1.96

D'après les résultats obtenus, il est clair que la taille moyenne des microsphères est influencée par les paramètres suivants :

- La concentration d'alginate de sodium, la taille des microsphères est directement proportionnelle à la taille des particules (elle augmente de 417.8 µm à 453 µm si la concentration d'alginate varie de 2%à 5%).
- La concentration de span 80, elle influe de manière inverse sur la taille des particules (elle diminue de 415.14µm à 395.80 µm quand la concentration de span 80 augmente de 0.75% à1.5%).
- La vitesse d'agitation, son augmentation provoque une diminution de taille des particules (455.92 µm à 348.24 avec vitesse d'agitation de 750 à 1500tr/min).
- La concentration de DF, a conduit à une diminution de la taille des microparticules (366.57 à 395 .77 µm si la concentration de DF varie de 0.5à 2%).

Comme le montre la figure III.4, les microsphères (vierge et chargées de DF) sont sphériques avec une surface lisse et aucune agrégation n'a été observée.

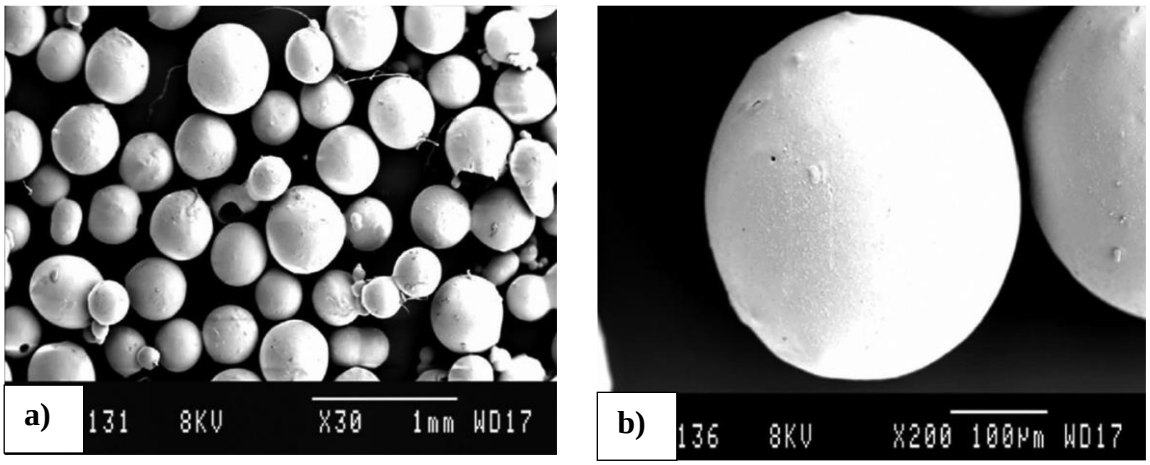


Figure III.4. Microphotographie MEB de microsphères d'alginate, (a) : sans DF, (b) : chargées de DF [54].

b. Quantification de Furoate de diloxanide

D'après le tableau III.4, les paramètres dont dépendent le rendement et l'efficacité d'encapsulation sont les suivants :

- La concentration d'alginate de sodium, si cette dernière augmente de 4 à 5%, l'efficacité d'encapsulation s'améliore de 47.55 à 63.98 %
- La concentration de chlorure de calcium, l'agent de réticulation influe significativement sur l'efficacité d'encapsulation, cette dernière augmente de 50.96 % à 71.81 %pour des concentrations de $CaCl_2$ allant de 11.1 % à 22.2.
- La concentration de furoate de diloxanide, elle a une forte influence sur l'efficacité d'encapsulation car elle s'améliore de 10 % avec la teneur de PA, puis elle diminue à cause de la saturation de la matrice polymérique par les molécules de FD.

A l'issu des résultats obtenus, les niveaux optimaux conduisant à une (EE maximale = 73.82 %) et une taille des microsphères minimale correspondent aux : 5% d'alginate de Na^+, 1% de span 80, 22.2% de $CaCl_2$, vitesse d'agitation de 1000 tr/min et 1% de furoate de diloxanide.

c. Analyse thermogravimétrique

La figure III.5, montre que le FD et l'alginate de Na purs présentent des pics de fusion endothermiques aux 115.1°C et 158 °C respectivement. Cependant, le pic du FD est absent dans le thermo gramme des microsphères chargées de PA, ce qui prouve que ce dernier existe sous forme amorphe dans la matrice polymérique.

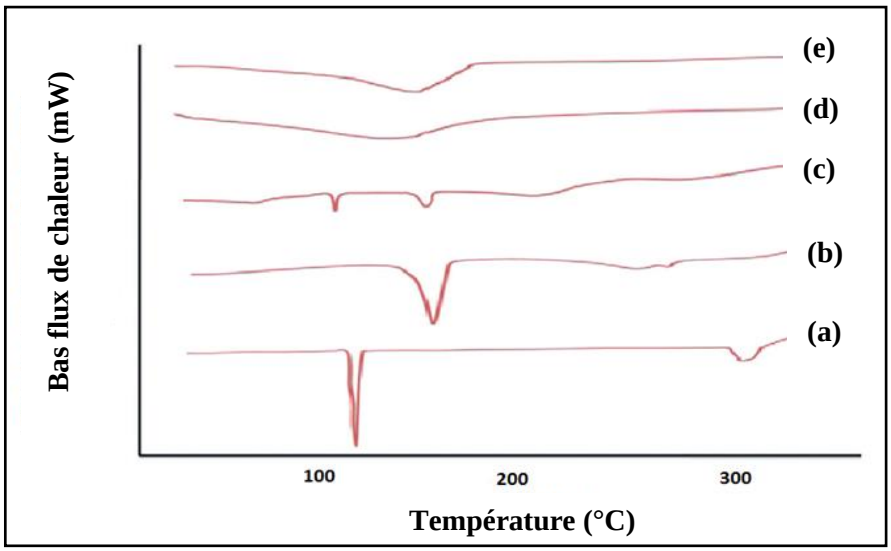


Figure III.5. Thermogrammes de : (a) : Furoate de diloxanide, (b) : Alginate de Na, (c) : Mélange de DF et d'alginate de Na, (d) : Microsphères vierges,(e) : Microsphères chargées de FD.

d. Analyse par DRX

Comme le montre la figure III.6, le FD présente sous forme cristalline tandis que l'alginate de sodium présente une structure amorphe. Ainsi, les allures DRX des microsphères que ce soient vierges ou chargées de furoate de diloxadine ne contiennent aucun pic, ce qui reflète que le polymère a encapsulé le FD en indiquant la bonne stabilité des préparations du système d'encapsulation.

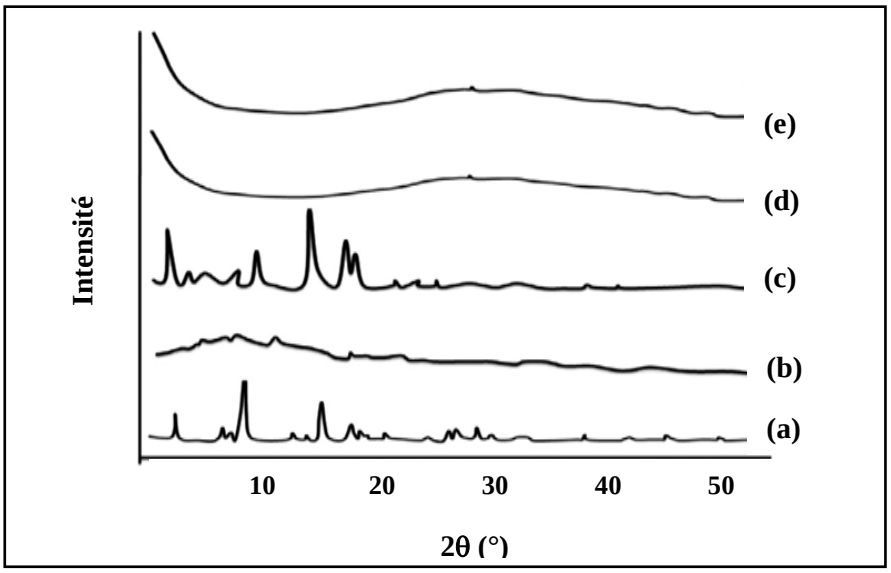


Figure III.6.DRX de : (a) : Furoate de diloxanide,(b) : Alginate de Na, (c) : Mélange de DF, (c) : Alginate de Na, (d) : Microsphères vierges, (e) : Microsphères chargées de FD.

c. Etude in vitro de la libération de furoate de diloxanide (FD)

Les profils de libération in vitro de toutes les microsphères préparées (de A1 à E4, tableau III.3) détaillés dans la figure III.7) ont montré que le pourcentage cumulé de libération de FD après les premières 4 heures variaient de 5.62 ± 0.66% à 14.41 ± 1.35%. Ainsi, la libération du PA dans le liquide simulé du colon ayant un pH de 7.4 après 4 heures d'étude, passe de 17.87 ± 0.51 % à 28.00 ± 0.97 %.

Ces profils relèvent bien que les microsphères d'alginate chargées de FD maintiennent leur intégrité dans l'environnement de l'estomac et de l'intestin grêle et que ce système n'a montré aucune dépendance de la libération du FD au pH, ceci est dû à la présence de dextranase. Bien que la présence de dextranase peut libérer sélectivement le PA dans le colon, le système

colloïdal du polymère biodégradable peut piéger le FD ce qui fournit un système d'administration ciblé de médicament. Par conséquent, les microsphères d'alginate préparées peuvent être utilisées potentiellement pour la livraison spécifique au site du médicament au niveau du colon.

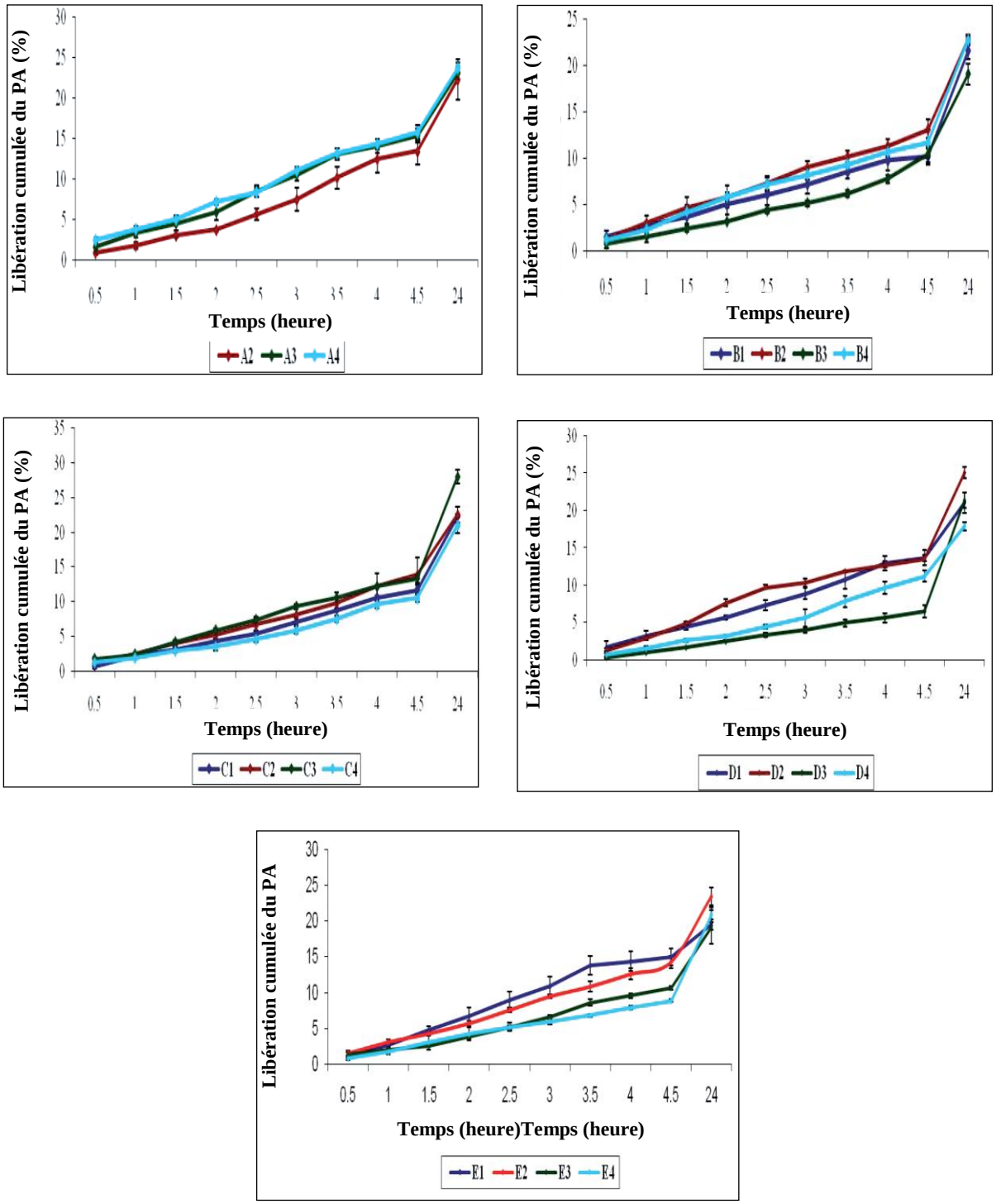


Figure III.7. Effet des différents paramètres sur la cinétique de libération du FD : Concentration d'alginate de Na : A1-A4, Concentration de span 80 : B1-B4, Concentration de $CaCl_2$: C1-C4, Vitesse d'agitation : D1-D4, Concentration de FD : E1-E4

Chapitre IV :

Partie expérimentale

IV.I. Introduction

La partie expérimentale de notre travail a été réalisée au niveau du laboratoire de Biologie de la faculté des Sciences de l'Université de Médéa.

Dans le contexte où s'inscrit notre travail, nous avons tenté d'atteindre un objectif, qui consiste à appliquer le procédé de gélification d'un bio polymère : Alginate de sodium et ceci afin de former des microsphères comportant le kétotiféne fumarate comme principe actif.

A cette fin, la partie expérimentale a été subdivisée en deux parties :

1. ***Formulation des microsphères*** **:** cette partie consiste à la mise au point de l'optimisation d'encapsulation du kétotiféne fumarate dans les microbilles d'alginate de sodium.
2. ***Caractérisations des microsphères*** **:** cette partie concerne la caractérisation physicochimique et biopharmaceutique des particules obtenues.

IV.2. Matières premières

Les matières premières utilisées sont présentées dans le tableau IV.1.

Tableau IV.1. Matières premières utilisées.

Matière première	***Rôle***
Kétotifène fumarate	Principe actif
Alginate de sodium	Polymère matriciel
Chitosane	Polymère d'enrobage
Span 80	Emulsifiant
Huile d'olive	Phase huileuse
Eau distillée	Véhicule

IV.2.1. Principe actif

Le fumarate de kétotiféne est un médicament antiallergique puissant. Sa molécule contient à la fois une structure tricyclique est une structure de pipéridine.

La molécule de fumarate de kétotiféne se caractérise par un fort effet antagoniste sur le récepteur de l'histamine H1 et par un effet inhibiteur de la libération du médiateur de la réaction allergique [28].

Les caractéristiques de kétotifène fumarate sont résumées dans le tableau I.2.

IV.2.2. Excipients

a. Huile d'olive

Est une variété d'huile alimentaire, A base de matière grasse végétale extraite des olives , elle est constituée d'hydrocarbures saturés. Son utilisation concerne les préparations pharmaceutiques, cosmétologiques et vétérinaires. Elle rentre aussi dans le graissage de matériel de l'industrie et comme auxiliaire de condensation dans l'extraction des oléagineux.
Les principales caractéristiques de l'huile d'olive sont résumées sur le tableau IV.2.

Tableau. IV.2. Caractéristiques physico-chimiques des huiles d'olives [56].

Caractéristique	***Unité***	***Description ou valeur***
Aspect	---	Très fluide
Odeur	---	Herbe
Couleur	---	Vert
Gout	---	Intense ou fruit vert
Miscibilité		Non miscible à l'eau
Viscosité	Cp	84
Masse volumique à 20°C	g/cm^3	0.914-0.918

b. Alginate de sodium

L'alginate est un polysaccharide naturel relativement abondant puisqu'il constitue le composant structurel des algues brunes marines (*Phaeophyceae*), représentant plus de 40% en masse sèche. Néanmoins, les alginates commerciaux utilisés pour des applications industrielles sont la plupart du temps issus d'algues marines brunes. Elles sont souvent liées à ses propriétés de rétention d'eau, son pouvoir viscosifiant, gélifiant ou encore stabilisant [57].
La molécule d'alginate est constituée d'unités d'acide β-d-mannuronique (M) et d'acide α-l-guluronique (G) (Figure IV.1) dont la séquence et le nombre varie selon la source.

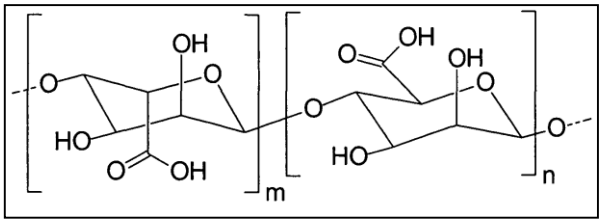


Figure IV.1. Structure chimique d'alginate de sodium [57].

Les caractéristiques de l'alginate de sodium utilisé dans cette étude sont présentées dans le tableau IV.3.

Tableau IV.3. Caractéristiques physico-chimiques de l'alginate de sodium (Sigma-Aldrich)

Caractéristique	***Unité***	***Description ou valeur***
Aspect	---	Poudre blanche-jaunâtre.
Odeur	---	Sans
Gout	---	Sans
Solubilité		- Insoluble : Ethanol, éther, chloroforme, solvants organiques, solutions aqueuses (pH < 3). - Solution colloïdale : dans l'eau.
Point de Fusion	°C	> 300
Viscosité (1g/l)	Cp	15-25

c. Chitosane

Le chitosane est un polysaccharide linéaire composé de (1-4) poly-Dglucosamine lié en β(1-4) de N-acétyl-D-glucosamine, (figure IV.2). Le chitosane a suscité un intérêt plus vif que la chitine (d'où son origine après une désacétylation chimique ou enzymatique). Etant donné le nombre important de groupes amine présents sur sa chaîne, ses applications ont été développées en pharmacologie, cosmétologie, médecine et surtout en traitement des eaux [58,59].

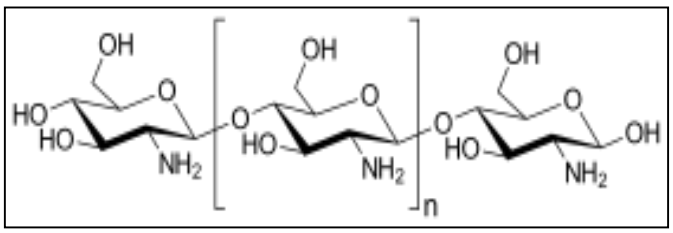


Figure IV.2. Structure chimique de chitosane [60].

Les caractéristiques du chitosane utilisé dans cette étude sont présentées dans le tableau IV.4.

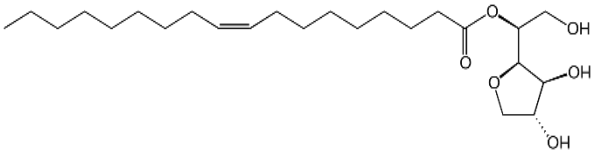
Tableau IV.4. Caractéristiques physico-chimiques du chitosane utilisé (Sigma-Aldrich)

Caractéristique	***Unité***	***Description ou valeur***
Aspect	---	Poudre amorphe de couleur beige
Odeur	---	Sans odeur
Solubilité		- Insoluble dans l'eau et les solvants organiques. - Soluble dans les acides dilués (comme l'acide acétique)
Degré de dés-acétylation	%	75-85
Poids moléculaire	KDa	190-310
Point de Fusion	°C	
Viscosité à 1% dans l'acide acétique à 1%(25°C)		200-800

d. Span 80

De la famille des esters de sorbitane (classe de tensioactifs non ionique). Il est utilisé comme émulsifiant dans la préparation des émulsions eau dans huile. Les paramètres de ce tensioactif sont décrits dans le tableau IV.5.

Tableau IV.5. Caractéristiques du tensioactif utilisé (Sigma-Aldrich)

Caractéristique	***Description ou valeur***
Nom chimique	Monooléate de sorbitane
Formule chimique	
Masse Molaire	428.61 g/mol
Densité (20°C)	0.986 g/cm^3
HLB	4.3
Miscibilité à l'eau	Non miscible

e. Autres réactifs

Tous les réactifs utilisés dans ce travail sont donnés dans le tableau IV.6.

Tableau IV.6. Propriétés physico-chimiques des réactifs utilisés.

Réactif	***Formule Brute***	***Fournisseur***	***Pureté (%)***	***Masse molaire(g/mol)***
Chlorure de Sodium	NaCl	Analarnormapur VWR	99-105	58.44
Acide chlorhydrique	HCl	Riedel-de Haën	36.5 – 38	36.46
Hydroxyde de sodium	NaOH	Panreac	98.0	40.00
Dihydrogno Phosphate de potassium	KH_2PO_4	Analarnormapur VWR	98.5–101	136.09
Tween 80	$C_{64}H_{124}O_{26}$	VWR International SAS*201	99	1310
Hydrogénophosphate de sodium	Na_2HPO_4	VWR InternationalSAS	98	141.96
Chlorure de calcium	$CaCl_2$	HUMISTORE	99	110.98

IV.3. Matériel

Les manipulations réalisées ont nécessité d'utiliser le matériel détaillé dans le tableau IV.7.

Tableau IV.7. Matériel utilisé.

Matériel	***Marque***
Balance électrique	Sartoriais
Agitateur magnétique avec plaque chauffante	SCIENTIFICA
pH-mètre	HANNA
Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier(FTIR)	SHIMADZU
Spectrophotomètre UV visible	(UV mini-1240 SHIMADZU)
Dissolu-test	SOTAX
Microscope optique	OPTIKA
Conductimètre	WTW
Pieds à coulisse	ABSOLUTE DICIMATIC

IV.4. Méthodes expérimentales et techniques de caractérisation

IV.4.1. Caractérisations spectrales des matières premières

Cette partie consiste à caractériser le kétotifène fumarate, l'alginate de sodium et le chitosane par UV-vis et FTIR.

a. Caractérisation du kétotifène fumarate par UV-vis

- ***Principe***

La spectrophotométrie ou la spectroscopie Ultraviolet-visible est une technique de spectroscopie mettant en jeu les photons dont les longueurs d'onde sont dans le domaine de l'ultraviolet (10 à 400 nm) et du visible (400 à 800 nm). Soumis à un rayonnement électromagnétique dans cette gamme de longueur d'onde, les molécules, les ions ou les complexes sont susceptibles de subir une ou plusieurs transitions électronique (s). Les substrats analysés sont le plus souvent en solution, mais ils peuvent être en phase gazeuse et plus rarement à l'état solide [60].

Le spectroscope UV-Vis utilisé dans notre étude est représenté sur la figure IV.3.



Figure IV.3. Spectrophotomètre UV-visible utilisé dans notre étude**.**

- ***Mode opératoire :*** il se résume dans la détermination de la longueur d'onde et dans l'établissement de la courbe d'étalonnage.

En premier lieu le balayage a été effectué pour des solutions aqueuses de KF de 20 mg/l aux pH 1.2, 7.4 et dans l'eau distillée. La courbe obtenue permet d'identifier la valeur de λ_{max} de la molécule de KF.

En second lieu, et à la longueur d'onde maximale identifiée, on mesure les DO pour une série de solutions aqueuses préparées aux pH 1.2, 7 et dans l'eau distillée de concentrations allant

de 5 à 50 mg/l. Les courbes d'étalonnage obtenues s'expriment par la variation de la DO en fonction de la concentration du KF.

b. Caractérisation des matières premières par FTIR

- ***Principe***

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier est une méthode d'analyse très riche car elle permet la mesure d'un grand nombre d'espèces. Cette technique repose sur l'absorption du rayonnement infrarouge compris entre 0.78 et 1000 μm liée à des transitions entre les différents états rotationnels et vibrationnels de la molécule. Le dispositif spectrométrique, placé au sein même de la cellule, permet une détection instantanée in situ de tous les composés qui absorbent les rayonnements infrarouges dont la région du moyen infrarouge 6est la plus utile du fait des informations aboutis sur les structures des composés examinés, c'est-à-dire de toutes les molécules hormis les diatomiques symétriques [60].

- ***Mode opératoire***

Les spectres FTIR ont été obtenus par préparation des pastilles de KF/KBr, alginate de sodium/KBr et chitosane/KBr avec une proportion de 1 %. La préparation des pastilles a été réalisée par broyage de la substance à analyser en présence du KBr, le mélange est ensuite comprimé sous une pusse (presse). En fin, les pastilles ont été mises pour analyse FTIR où les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la gamme de nombres d'onde comprise entre 400 et 4000 cm^{-1}.

VI.4.2. Préparation des micropaticules

a. Principe du procédé d'émulsifcation

Une émulsion est un mélange homogène de deux liquides ou phases peu ou pas miscibles. Ce mélange correspond à une dispersion de gouttelettes de l'une des phases dans l'autre. On distingue donc une phase dispersée et une phase continue.

- ***Mode opératoire***

1. *Préparation de la phase aqueuse :*

Différentes solutions aqueuses (contenant une masse de PA : kétotifene fumarate) d'alginate de sodium aux différentes concentrations sont préparées : la dissolution d'alginate se fait sous agitation magnétique.

2. *Préparation de la phase organique :*

Le span 80 est dispersé à une concentration bien déterminée dans l'huile d'olive. Le mélange est porté sous agitation magnétique.

3. *Préparation de l'émulsion E/H :*

Un volume de la phase aqueuse est ajouté à l'aide d'une seringue dans la phase huileuse. Le mélange est homogénéisé à une vitesse de 10000 tr/min pendant 5 min.

Pour obtenir la meilleure émulsion, on désire optimiser les paramètres dont dépend la formulation. Pour ce faire, nous allons appliquer la méthode de TAGUCHI, dont nous allons cibler deux paramètres à savoir : la concentration d'alginate de sodium et la proportion de la phase aqueuse, ces deux paramètres sont pris à trois niveaux.

De ce fait, le nombre d'expériences est égale à : $3^2 = 9$ essais. Les différentes conditions opératoires sont détaillées dans le tableau IV.8.

Tableau IV.8. Composition des différents essais de préparation des émulsions E/H contenant le KF (volume final d'émulsion : 100 ml).

Essai	***$C_{Alginate}$ (%, m/v)***	***Volume de la phase aqueuse (%)***
1	0.5	20
2	1	35
3	1.5	50

b. Caractérisation des formulations

Les émulsions préparées ont été caractérisée par :

- Microscopie optique
- Mesure de la conductivité électrique :elle est réalisée afin de déterminer le sens de l'émulsion.

c. Micro-encapsulation par gélification

Les étapes de gélification se résument comme suit :

1. L'émulsion E/H est ajoutée à l'aide d'une seringue à une solution de $CaCl_2$ portée sous agitation à 200 tr/min, comme l'indique la figure IV.4.

2. Le mélange : émulsion-$CaCl_2$ est filtré à l'aide d'un papier filtre. Les microsphères récupérées sont lavées avec une solution $CaCl_2$ (1mM) contenant 1% de tween 80, puis à l'eau distillée.
3. Les microsphères obtenues sont séchées à la température (25 °C) pendant 48h puis conservées dans un dessiccateur.

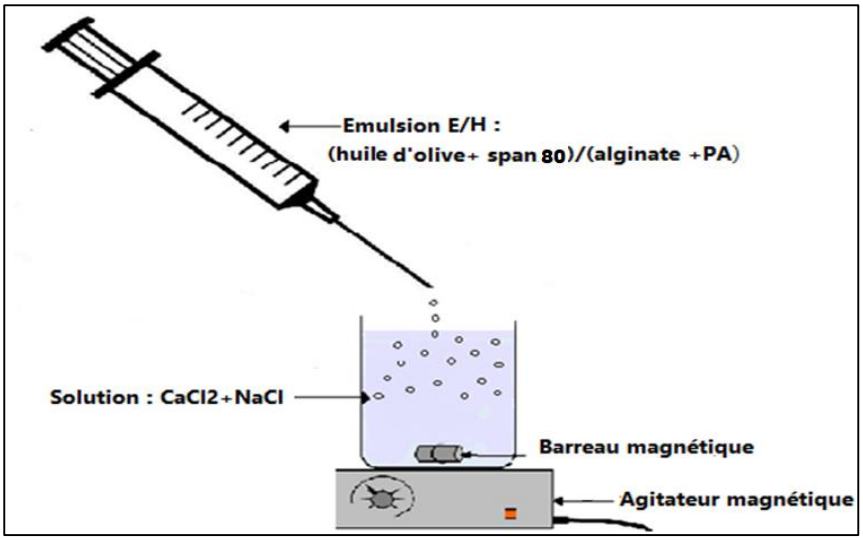


Figure IV.4. Schéma du dispositif utilisé pour la préparation des microsphères d'alginate chargées de KF.

d. Enrobage des microsphères

L'enrobage des billes formés se fait par immersion dans une solution de chitosane (1%, m/v), dilué dans une solution de HCl à 0.5 N et contenant le $CaCl_2$ à 0.5 %(m/v).

VI.4.3. Caractérisation des microsphères

a. Analyse par microscope optique

b. Analyse granulométrique

L'analyse granulométrique concerne la détermination du diamètre moyen sur 20 particules prises à l'état humide et à l'état sec.

c. Préparation des solutions tampons [61]

- *Solution tampon pH 1.2 :* Cette solution se compose de chlorure de potassium et l'acide chlorhydrique (50 ml de KCl à 0,2 N+85ml d'HCl à 0,2N) dans 200 ml d'eau distillée.

- *Solution tampon pH 7.4 :* Cette solution contient 2.315 g de sodium hydrogenophosphate de sodium anhydre (Na_2HPO_4) et 4.358 g de dihydroenophosphate de sodium anhydre (NaH_2PO_4) dans 800ml d'eau distillée. Le pH final de la solution est ajusté avec une solution

d'acide phosphorique ou une solution de NaOH à 0,1M. Le volume final de la solution est ajusté à1000 ml avec l'eau distillée.

- *Solution tampon saline pH=7.4 :* Cette solution contient 2.38 g de Na_2HPO_4 .$12H_2O$ (ou l'équivalent de Na2HPO4 anhydre), 0.19g de KH_2PO_4 et 8g de NaCl dans 1000ml l'eau distillée.

d. Etude du gonflement [29]

Cette étude permet d'établir son taux d'absorption et l'augmentation de volume des particules au cours du temps. Trois milieux de gonflement ont été testés :

Milieu 1 : solution tampon pH=1.2.

Milieu 2 : solution tampon pH=7.4.

Milieu 3 : eau distillée.

Le mode opératoire consiste à réaliser les étapes suivantes :

- Peser environ 50 mg (n fois) de particules sèches sur une balance analytique de précision.
- Incorporer ces particules dans 25ml du milieu de dissolution.
- A des intervalles de temps réguliers (15 min pendant la 1^{ere} heure puis chaque 1h jusqu'à 8h), les particules sont retirées du milieu de dissolution, posées sur du papier absorbant pour enlever l'excès de liquide ;
- Peser les capsules obtenues à l'aide d'une balance analytique de précision.

Le taux de gonflement (TG) a été calculé en utilisant la formule (IV.1):

$$TG\ (\%) = \frac{m_0 - m_i}{m_i} \times 100 \qquad \text{(IV.1)}$$

Avec

m_0 : Masse initiale de KF

m_i: Masse finale de KF

e. Quantification du PA encapsulé [35]

0.4 g de particules séchées et immergées dans 25ml de solution tampon saline (pH=7.4) dans un flacon ambré. Ce mélange est agité à 200 tr/min pendant 24h. Ensuite, la solution a été centrifugé à 5000 tr/min et le surnageant a été recueilli pour calculer la quantité de PA présente dans les billes. Le contenu de PA sera calculé à partir de l'absorbance mesurée à une longueur d'onde d'absorption maximale (λ_{max}) par spectrophotomètre UV-vis.

Les différents paramètres d'encapsulation ont été calculés en utilisant les expressions II.1 à II.3.

f. Etude de la cinétique de libération du KF encapsulé

Le mode opératoire du test de dissolution in vitro de KF est réalisé dans un dissolu-test. L'expérience consiste à utiliser un godet de 900 ml de milieu de dissolution (pH 1.2 et pH 7.4 et l'eau distillée). Pendant cet essai le dissolu test est réglé à une température de 37 ± 0,5 °C avec une agitation de 100 tr/min. Introduire 100 mg de microparticules dans le panier et le placer dans le dissolu test sous agitation pendant un intervalle de temps bien déterminé. Prélever 10 ml de milieu de dissolution et filtrer immédiatement d'un filtre seringue de porosité 0,45 µm puis remplacer le même volume prélevé avec le milieu de dissolution pour la reconstitution du volume totale du godet. Les échantillons obtenus sont analysés par spectrophotométrie UV-Vis.

g. Analyse par FTIR

Cette analyse a été réalisée sur les microparticules séchées à l'étuve à 50°C pendant 6h.

h. Analyse par MEB

Quelques billes ont été séchées à l'étuve (50°C pendant 6h) puis analysées par MEB.

i. Analyse par DRX

La diffraction des rayons X a été employée pour étudier la structure cristallographique des microparticules obtenues. D'où, cette analyse consiste à identifier l'influence de KF sur la morphologie structurale de départ des matériaux utilisés.
Le mode opératoire consiste à réaliser la DRX pour chaque substance pure (KF, alginate de sodium et de chitosane) ensuite pour l'ensemble des formulations.

IV.5. Présentation de quelques résultats obtenus

IV.5.1. Formulation des émulsions Eau/Huile

Les émulsions préparées concernent la dispersion de la phase aqueuse constituée d'alginate de sodium et de KF dans une phase huileuse composée d'huile d'olive et stabilisée par l'émulsifiant de nature lipophile : Span 80.

Dans cette partie, nous avons présenté deux formulations (constituées de 20 % et de 35 % de la phase aqueuse) sur 9 prévues être réalisées. Celles-ci sont illustrées sur les figures IV.5 et IV.6.

- Pour la formulation d'émulsion E/H à proportion 20% de phase aqueuse, les gouttelettes formées sont individualisées et possèdent des formes circulaires.
- Tandis que si la proportion de la phase aqueuse devient plus importante, les gouttelettes ont une taille plus petite et leurs formes est irrégulières.

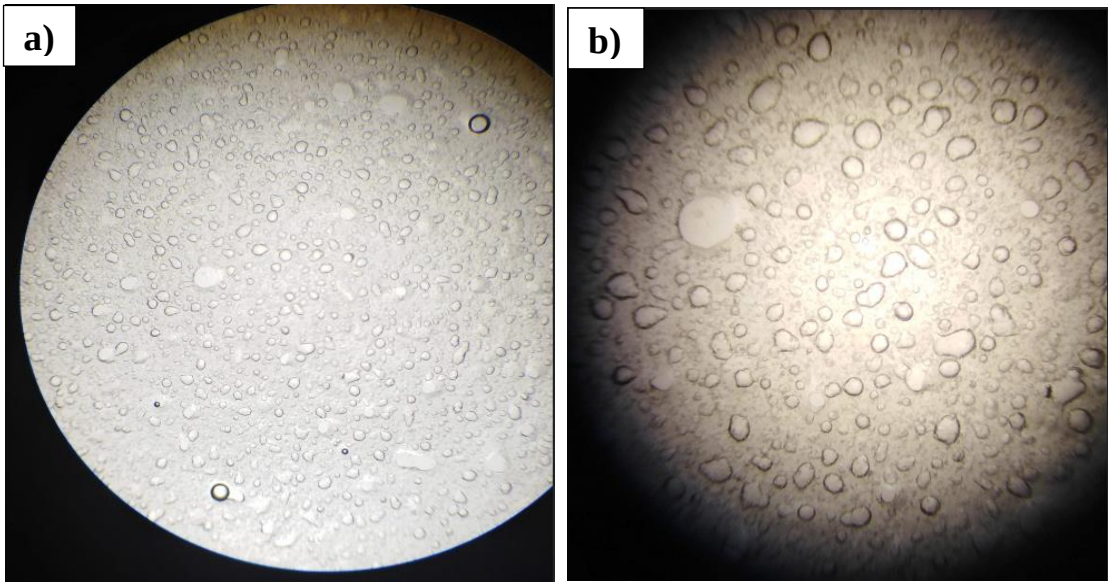


Figure VI.5. Vues microscopiques de l'émulsion E/H à 20% de phase aqueuse ; a) grossissement : x 40, b) grossissement x100.

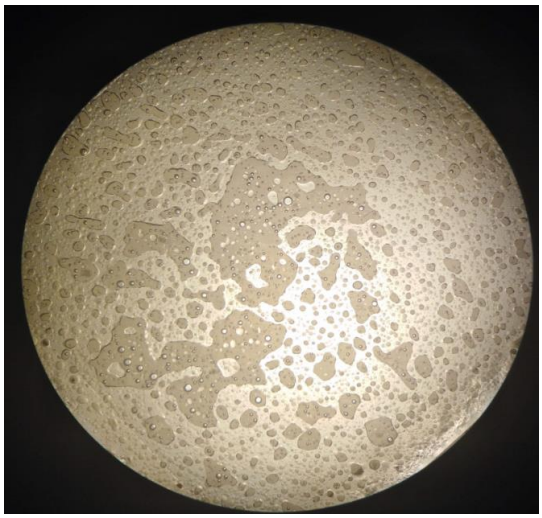


Figure VI.6. Vue microscopique de l'émulsion E/H à 35% de phase aqueuse ; grossissement : x 40.

IV.5.2. Gélification externe

Pour les deux émulsions obtenues, nous avons appliqué la gélification des gouttelettes d'alginate contenant le KF par le chlorure de calcium.

A cette étape, les essais correspondant à la concentration de chlorure de calcium de 0.5% (m/v) ont été réalisés et ceci sans passer aux étapes de séparation et de séchage.

Les formulations correspondantes sont illustrées sur les figures IV.7 à IV.8.

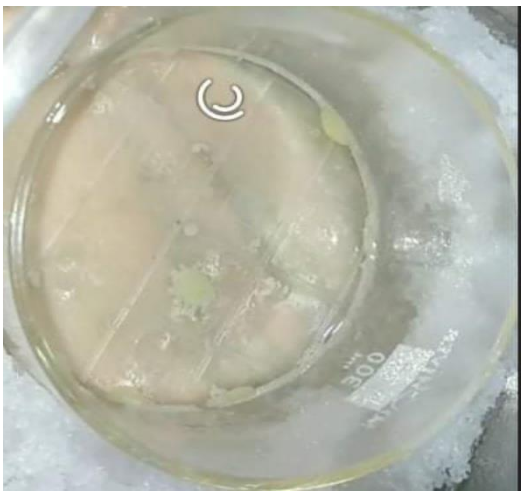


Figure IV.7. Aspect des microparticules obtenues pour l'essai : 20 % phase aqueuse et 0.5 % de $CaCl_2$.

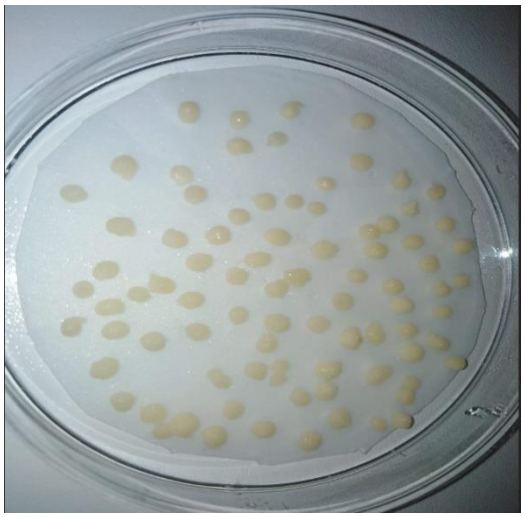


Figure IV.8. Aspect des microparticules obtenues pour l'essai : 35 % phase aqueuse et 0.5 % de $CaCl_2$.

Il est clair que pour une proportion de phase aqueuse de 20%, les gouttelettes d'alginate n'ont pas été gélifiées, tandis que pour une proportion plus importante de cette phase la gélification a conduit à la formation des sphères bien gélifiées et de forme sphérique.

Conclusion générale

L'objectif principal de notre travail consistait à la préparation et la caractérisation des microsphères d'alginate chargées de principe actif selon la méthode d'émulsification/gélification externe.

Comme il a été signalé précédemment, cet objectif a été changé d'une part vers une étude bibliographique approfondie s'articulant sur la méthode d'émulsification/gélification externe et d'autre part vers la récapitulation des principaux travaux de recherche réalisés sur l'application de cette méthode sur les principes actifs et les différentes matières biologiques.

En effet, le traitement d'un travail de recherche visant à encapsuler le furoate de diloxanide dans des microsphères d'alginate nous a permis de synthétiser les constatations suivantes :

- L'alginate constitue un biopolymére ayant des propriétés très intéressantes pour l'encapsulation des molécules à usage pharmaceutique en vue d'avoir une libération prolongée d'un principe actif. Cette encapsulation dépend fortement de la concentration d'alginate et du milieu de dissolution étudié.

- La méthode appliquée a conduit à l'obtention de microsphères de taille moyenne allant de 348.24 µm à 455.92 µm. Celle-ci dépend de la concentration d'alginate de sodium tandis qu'elle est inversement proportionnelle à la vitesse d'agitation et à la concentration du span 80 et celle du furoate de diloxanide.

- L'efficacité d'encapsulation du furoate de diloxanide est influencée fortement par les concentrations d'alginate de sodium, de chlorure de calcium et de furoate de diloxanide.

- L'analyse thermogravimétrique a montré que le furoate de diloxanide est absent dans la surface et qu'il existe à l'état amorphe dans les microsphères d'alginate.

- La diffractométrie par les rayons X a confirmé le bon piégeage du furoate de diloxanide dans la matrice polymérique d'alginate de calcium.

- Le taux de gonflement varie d'une manière progressive en fonction du temps dans les deux milieux de dissolution étudiés (pH 1.2 et pH 7.4) et ceci pour toutes les formulations testées.

- L'étude de la cinétique de libération in vitro de furoate de diloxanide relève que les microsphères d'alginate portant le DF maintiennent leurs intégrités dans le milieu gastro-

intestinal. Ainsi, il a été prouvé qu'il existe un potentiel de la libération du FD dans la région intestinale ce qui constitue une alternative à la forme galénique conventionnelle (comprimé).

En fin, nous proposons d'atteindre à venir les objectifs suivants :

- Préparation, optimisation et caractérisation des microsphères d'alginate seul ou combiné avec autres biopolymères, en utilisant la méthode d'émulsification/gélification externe.

- Etude comparative d'encapsulation de quelques matières actives en utilisant l'émulsification/gélification externe et interne.

Références bibliographiques

[1] https:/sante.journale des femmes.fr : consulté le 14 juin 2019.

[2] J. Richard, J. P. Benoit, « Microencapsulation », Technique de l'ingénieur, J 2210 (2000).

[3] D, poncelet, J. Blitz, V. Gun'kon, "Microencapsulation : Fundamentals, méthode et application, Chimie de surface dans la science biomédicale et environnementale", Springer, Pays-Bas, 23-24 (2006).

[4] E, Murano, "Use of polysccharides in the microencapsulation techniques" journal of applied Ichtyologie , 14. (1998).

[5] M.C. Jacobs, D. Tennstedt, JM. Lachapelle, "Dermatologie professionnelle et de l'environnement". Paris : Masson, (1992).

[6] S. Belsito, "Dermatite de contact allergique au glutaraldéhyde chez les travailleurs de la santé". 43(2000).

[7] P. Piirïla, U. Hodgson,T. Estlander, H. Keskinen, A. sealo, R .Voutilainen, L Kanerva, "Hypersensibilité respiratoire professionnelle chez le personnel dentaire'', International Archives Occuppation al Environmental Health, 75 (2002).

[8] F.Lavaud, F. Leynadier, F. Marmouz, "Histoire allergique", Le journal Faxé d'Allergologie (2008).

[9] M.B. Kapps, M.C.K. Kubler, G. Pauli, " Asthme Professionnel en milieu médical avec des produits contenant des ammoniums quaternaires ". Revue des Maladies Respiratoires (1995).

[10] OMS : http://www.who.int/topics/asthma/fr/index.html:consulté le 24/04/2013

[11] http://www.pharmanatur.com/Rhinite%20allergique.htm: consulté le 24/04/2013

[12] H. Malki, " prévalence de l'asthme et des manifestations allergiques chez les écoliers de la ville de Meknès", Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah (2013).

[13] N. Lahjoumri, " Les thérapeutiques de l'allergie ", Thèse de Doctorat, Faculté de Médecine et de pharmacie de Rabat (2000).

[14] A. Chiriac, P. Demoly, " Choc anaphylactique : quoi de neuf ", Revue française d'allergologie 50 (2010).

[15] M. Fadlou-Allah, " Les allergies et leurs traitements ", Thèse de Doctorat, Faculté de Médecine et de pharmacie de Rabat, (2007).

[16] F.L. Perrin, " Allergologie pratique ", Editions Masson, 3ème édition, (1998).

[17] J. Bousquet, P. Demoly, H. Dhivert, J. P. Bousquet, G. Dutau, I. Annesi-Maesanno, J.M. Klossek, J.P. Dumur, "La rhinite allergique et son impact sur l'asthme ". Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique 48 (2008).

[18] E. Bouzigon, "Asthme : du phénotype aux génotypes ", Revue française d'allergologie 50 (2010).

[19] P. Molkhou, "La dermatite atopique (DA) et l'allergie alimentaire (AA) ", Journal de pédiatrie et de puériculture 22(2008).

[20] F. Giordano-Labadie, "Eczéma de contact et dermatite atopique de l'enfant : les haptènes ", Revue française d'allergologie, 53(2013).

[21] Convention sur l'élimination de toutes les formes de discrimination à l'égard des femmes. Abrégé de dermatologie, Editions Masson, 2ème édition (2003).

[22] C. Creuzot-Garcher, " Les différentes formes cliniques de l'allergie Conjonctivale ", Journal Français d'Ophtalmologie 30(2007).

[23] http://www.futura-sciences.com/sante/definitions/medecine-antihistaminique-9279/ (2001).

[24] D. B. Richard, "Traitements de l'allergie in MB4 Pharmacologie médicale et thérapeutique générale ", Thèse de Doctorat, Service d'Hématologie-Oncologie, Hôpital Universitaire de Carémeau, Nîmes (2011).

[25] P. Pralong, " Les antihistaminiques ", Service de dermatologie, photobiologie et allergologie Hopital Universitaire Carémeau, Grenoble-Alpes, (2017).

[26] J. Dangouman, N. Moore, M. Molimard, A. fourrier-reglat, K. Latry, F. Haramburu, G. Miremont Salame, K. Titier, "Pharmacologie générale", Edition (2006).

[27] Anxiolytiques(/medicaments/par-specialites/category/anxiolytiques) :consulté le 31/05/2017

[28] www,chemicalbook.com : consulté le 02/12/2019

[29] Pharmacopée Américaine (USP 30), (2007).

[30] M.A, Augustin, y. Hemar, "Nano-et micro-structure pour l'encapsulation des ingrédients des aliments", Chemical Society Reviews, 38(2009).

[31] H.Benyahia,F. Hadbi," Microencapsulation de la poudre de l'écorce de grende (PGE) par coacervation complexe (pectine/caséine) : Essai d'incorporation dans yahourt" , Mémoire de master , Université M'hamed Bougara, Boumerdes(2006).

[32] M. Fuch, C. Turchiuli, M.Bohin, M. Ecuvellier, C. Ordonnaud, M. Bohin, M.E, Cuvellie, C. Ordonnanaud, M.N. Peyrat-Maillard, "Encapsulation Orient Last Layer dans la poudre en utilisant le séchage par pulvérisation et l'agglomération à lit fluidisé", Journal of Food Engineering, 75,27-35 (2006).

[33] S. Leclercq, C. Milo,G. Reineccius,"Effet de la réticulation de l'épaisseur de la paroi de la capsule et de l'hydrophobicité du composé sur la libération d'arôme d'une microcapsule à coacervats complexes", journal of Agricultural and foodchemistry, 57, (2009).

[34] E. A, Decker, M.C. Weless, "Emulsion-based devivery systems for lipophile », thèse de doctorat de l'université de Nantes", centre IFREMER Nantes, (2007).

[35] J. Bile, " Microencapsulation d'agent antimicrobien pour le développement de conditionnements primaires fonctionnalisés ", Thèse de Doctorat, Université Cloud Bernard-Lyon l, (2015).

[36] A. Charsallaoui, G. Roudaut, O. Chambin, A. Voilley, R. Saurel,"Application de séchage par pulvérisation dans la microencapsulation d'ingrédient alimentaire", An over view, Food Research International, 40, (2007).

[37] L. Yang, R. Fassih," Zero-order release kinetics from a self-correcting floatable asymmetric configuration drug delivrysystemxd ", Journal of Pharmceutical Sciences. 85, doi:10.1021/js950250r, (1996).

[38] B. Narisimhan, S. KMallapragada, N. A. Peppas,"Release kinetics, data interpretation, in: Encyclopedia of controlled drug Delivery", John Wiley & sons, New York, (1999).

[39] T. Haguchi, "Mechanism of sustained-action medication. Theoritical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices". Journal of Pharmaceutical Sciences, 52, doi:10.1002/jps.2600521210, (1963).

[40] M. Mishra, "Handbook of Encapsulation and Controlled Release", CRC Press (2015).

[41] C. P. Reis, R. J. Neufeld, S. Vilela, A. N. J. Ribeiro, F. Veiga, "Review and current status of emulsion/dispersion technology using an internal gelation process for the design of alginate particles", Journal of Microencapsulation, 23(3), (2006).

[42] J.C. M. Puguan, X. Yu, H. Kim, "Characterization of structure, physico-chemical properties and diffusion behavior of Ca-Alginate gel beads prepared by different gelation methods", Journal of Colloid and Interface Science 432 (2014)

[43] S. H. Ching, N. Bansal, B. Bhandari, "Alginate gel particles–A review of production techniques and physical properties", Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 57:6, (2014).

[44] N. T. T. Uyen, Z. Ain Abdul Hamid, N. X. T. Tram, N. Ahmad, "Fabrication of alginate microspheres for drug delivery: A review", International Journal of Biological Macromolecules 153 (2020)

[45] J-Yee. Leong,W-H. Lam, K-W. Ho, W-P. Voo, M. F-X. Lee, H-P.Lim, S-L.Lim, B-Ti.Tey, D. Poncelet, E-S. Chan, "Advances in fabricating spherical alginate hydrogels with controlledparticle designs by ionotropicgelationas encapsulation systems: Review", Particuology, 24, (2016).

[46] P. Zhai, X. B. Chen, D. J Schreyer, "Preparation and characterization of alginate microspheres for sustained protein delivery within tissue scaffolds", Biofabrication, 5, (2013)

[47] L. Lu, M. Zhao, Y. Wang, "Immobilization of laccase by alginate–chitosan microcapsules and its use in dye decolorization", World Journal of Microbiology and Biotechnology, 23 (2007).

[48] H. Song, W. Yu, M. Gao, X. Liu, X. Ma, "Microencapsulated probiotics using emulsification technique coupled with internal or external gelation process", Carbohydrate Polymers, 96, (2013).

[49] J-Y. Tian, X-Q.Sun, X-G. Chen, "Formation and oral administration of alginate microspheres loaded with pDNA coding for lymphocystis disease virus (LCDV) to Japanese flounder", Fish & Shellfish Immunology, 24, (2008)

[50] S. Ajdary, F. Dobakhti, M. Taghikhani, F. Riazi-Rad, S. Rafiei, M. Rafiee-Tehrani, "Oral administration of BCG encapsulated in alginate microspheres", Vaccine, 25, (2007)

[51] V. C. Patole, A. P. Pandit, "Mesalamine-loaded alginate microspheres filled in enteric coated HPMC capsules for local treatment of ulcerative colitis: in vitro and in vivo characterization", Journal of Pharmaceutical Investigation, 48, (2018)

[52] S. Gedam, P. Jadhav, S. Talele, A. Jadhav, "effect of crosslinking agent on development of gastroretentivemucoadhesive microspheres of risedronate sodium", International Journal of Applied Pharmaceutics, 10, (2018).

[53] N. H. Salunkhe, N. R. Jadhav, K. K. Mali, R. J. Dias, V. S. Ghorpade, A. V. Yadav, "Mucoadhesive microsphere based suppository containing granisetron hydrochloride for management of emesis in chemotherapy", Journal of Pharmaceutical Investigation, 44, (2014).

[54] S. Shukla, D. Jain, K. Verma, S. Verma, "Formulation and in vitro characterization of alginate microspheres loaded with diloxanidefuroate for colon- specific drug delivery", Asian Journal of Pharmaceutics, (2010).

[55] S. Calis, B. Arica, H.S. Kas, A.A. Hincal, "5-Fluorouracil-loaded alginatemicrospheres in chitosan gel for local therapy of breast cancer. In: Muzzarelli RA", Muzzarelli C, editors. Chitosan in Pharmacy and Chemistry Grottammare, Italy: Atec (2002).

[56] https//fr.m.wikipedia.org : consulté le 30/04/2020

[57] R. Haumont, " Un chimiste en cuisine ", Edition Dunod (2013).

[58] H. Fatima, " Préparation de chitosane à partir de crustacés locaux et son emploi dans la coagulation-floculation de suspensions de bentonite", Mémoire de master, université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, (2018).

[59] L. Heux, J. Brugnerotto, J. Desbrieres, M.F. Versali, M. Rinaudo,"Solide state NMR for determination of degree of acetylation of chitin and chitosane". Biomacromoles I, 746 (2000).

[60] M. Hamon, F. Pellerin, M. Guernet, G. Mahuzeir, " Chimie analytique, Méthodes spectrales et analyse organique, tome 3 ", Edition Masson, 2ème Edition, Paris, 1990.

[61] Pharmacopée Européenne ,10éme Edition, (2009)