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 2**

En chimie

Spécialité : chimie macromoléculaire

Par :

Derdjaoui nesrine
Benaissa Naima

Thème :

Mise en formulation de quelques biopolymères en vue d'une application pharmaceutique

Soutenue publiquement le : /0 /20, Devant le jury composé de :

Mme. Mimi Nassiba	MCB	UYFM	Président
Mme. Arbia Wassila	MCB	UYFM	Examinateur
Mme. Boucherit Nabila	MCA	UYFM	Encadreur

Année universitaire 2020/2021

Remerciements

✍ ***Nos remerciements vont tout premièrement à DIEU tout puissant pour la volonté, la santé et la puissance qu'il nous a donné durant toutes ces années d'études.***

✍***Nous sommes très heureuses de témoigner notre profonde estime à notre encadreur <u>Madame Boucherit Nabila,</u> Maitre conférences de à l'Université de Médéa, nous lui sommes très reconnaissantes de nous avoir fait bénéficier de ces compétences scientifiques et d'avoir proposé et dirigé ce travail. Nous tenons à lui exprimer notre grand respect et notre admiration pour sa personnalité et sa générosité et nous la remercions pour sa contribution dans notre formation.***

✍***. Nous remercions vivement <u>Mme. Mimi Nassiba</u>, Maître de conférences à l'Université de Médéa, qui nous a fait l'honneur de présider notre jury et de juger notre travail ainsi que pour sa contribution dans notre formation.***

✍***Nous tenons à témoigner notre grande reconnaissance à <u>Mme. Arbia Wassila</u>, pour avoir accepté de participer à examiner notre travail malgré ses nombreuses obligations.***

✍***Nous remercions vivement Mme. Tefoura et l'ensemble du personnel du laboratoire de la faculté des sciences de l'Université Médéa, Nous remercions aussi l'ensemble du personnel du laboratoire du Hall technologique, qui ont mis à notre disposition les moyens nécessaires pour la réalisation de ce travail.***

✍***Nos remerciements vont également au chef du département Mr. Bouchachia, ainsi qu'aux tous les enseignants qui ont contribués à notre formation.***

✍ ***Enfin, on ne saurait oublier de remercier nos chers parents, qui nous ont toujours soutenus, encouragé et aidé, tout au long de notre cursus. Ils ont su nous donner toutes les chances pour réussir, sans oublier tous nos camarades, amis (es) tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à la réalisation et à l'aboutissement de ce travail.***

Dédicace

C'est avec l'aide et la grâce du Dieu que j'ai achevé ce modeste travail
Que je dédie :

A ma très chère mère

Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour
Tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

A mon très cher père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation oh mon beau professeur

A mes deux frères ***SID AHMED et YASSER***

A ma SEUR ***SARAH.***

- ***A toutes mes tentes. A tous mes oncles.***
- ***A mes grandes mères et mes grands-pères.***
- ***Tous mes cousins et cousines.***
- ***A toute ma famille.***

❖ ***Vos encouragements constants ont toujours été pour moi Les plus précieux.***

A mes amies : *ma belle binôme Naima, Sabrina, Meryem, soumia, Salma*

❖ ***A Toute le département de chimie macromoléculaire sans exception Je vous aime tous et j'espère que votre vie sera remplie de paix, de bonheur, de santé, et de réussite et de vous voir aux plus hautes range***

Sirine

Dédicace

Je dédie ce travail :

✍ *À mes chers parents qui m'ont soutenu tout au long de mes études et dans la réalisation de ce travail.* ***MAMAN****, merci d'être toujours là pour m'encourager, merci pour tout.* ***PAPA****, en qui je suis et je serais toujours reconnaissante d'avoir cru en moi, tu as toujours guidé mes pats, c'est grâce à toi que je suis la personne d'aujourd'hui ;*

✍ *À mon frère Omar et mes sœurs Mbarka, Zohra Fatima et Yamina, vous êtes mon soutien ;*

✍ *Â mes adorables amies Nesrine, Sabrina, Meryem et Soumia, merci d'etre avec moi merci pour les beaux moments*

✍ *Â tous mes cher(e)s ami(e)s et à toutes les rencontres exceptionnelles qui ont embelli mes années d'étude.*

Naima

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تحضير وتوصيف كريات ألجينات الصوديوم المجهرية باستخدام طريقة الاستحلاب / التكوّن الداخلي. تهدف دراستنا من جهة إلى تغليف كيتوتيفين فومارات من خلال دراسة تأثيرات العوامل التي تعتمد عليها التركيبة وهي: نسبة كتلة كيتوتيفين فومارات / ألجينات الصوديوم ، وتركيز كربونات الكالسيوم ونسبة مرحلة الزيت

من ناحية أخرى، تتعلق هذه الدراسة أيضًا بتطوير نموذج مصفوفة باستخدام طريقة تاقوشي

تم إجراء التوصيف الفيزيائي والكيميائي والصيدلاني الحيوي للكرات المجهرية التي تم الحصول عليها من خلال تحديد معاملات التغليف ومعدل الانتفاخ ، واختبار الإطلاق في وسائط الذوبان المختلفة.

الكلمات المفتاحية: ألجينات الصوديوم ، الاستحلاب ، الهلام الداخلي ، كيتوتيفين فومارات ، الكبسلة الدقيقة

Résumé

L'objectif de ce travail est de préparer et de caractériser les microsphères d'alginate de sodium en utilisant la méthode d'émulsification/gélification interne. Notre étude vise d'une part à encapsuler le kétotiféne fumarate en étudiant les effets des facteurs dont dépend la formulation à savoir : le rapport massique kétotifène fumarate/alginate de sodium, la concentration de carbonate de calcium et la proportion de la phase huileuse.

D'autre part, cette étude concerne aussi l'élaboration d'un modèle matricielle en utilisant la méthode de Taguchi.

La caractérisation physico-chimique et biopharmaceutique des microsphères obtenues a été réalisée en déterminant les paramètres d'encapsulation, le taux de gonflement, et le test de libération dans différents milieux de dissolution.

Mots clés : Alginate de sodium, Emulsification, Gélification interne, Kétotifène Fumarate, Microencapsulation.

Abstract

The objective of this work is to prepare and characterize sodium alginate microspheres using the internal emulsification / gelation method. Our study aims on the one hand to encapsulate ketotifen fumarate by studying the effects of the factors on which the formulation depends, namely: the ketotifen fumarate / sodium alginate mass ratio, the concentration of calcium carbonate and the proportion of the oily phase On the other hand, this study also concerns the development of a matrix model using the Taguchi method.

The physico-chemical and biopharmaceutical characterization of the microspheres obtained was carried out by determining the encapsulation parameters, the swelling rate, and the release test in different dissolution media.

Keywords: Sodium alginate, Emulsification, Internal gelation, Ketotifen Fumarate, Microencapsulation

Sommaire

Liste de figures	
Liste de tableaux	
Abréviations et nomenclateur	
Introduction générale ……1	
Chapitre I : les antihistaminiques	
I .1	Introduction……3
I .2	Généralité ……3
I .2.1	définition ……3
I .2.2	type de maladies allergique ……3
I .2.3	Manifestation clinique des allergique……4 * les urgences allergiques……5 * les manifestations respiratoires……5 * Les Manifestations cutané-muqueuse……5 * les manifestations digestives……7
I.3	Médicaments antihistaminique ……7
I.3.1	définitions ……7 a)L'histamine……8 b) Les antihistaminiques…… ……8
I.3.2	classification ……8 a)Les antihistaminiques H1……8 b) Les antihistaminiques H2……9 c)Autres antihistaminique…… 9
I.3.3	Mécanisme d'action……9
I.4	Kétotifène fumarate……10
I.4.1	définition……10
I.4.2	propriétés physico-chimique…… 11
I.4.3	forme galénique……11
Chapitre II : procédés d'encapsulation à base de biopolymère	
II.1	Introduction……13
II.2	Généralités……13
II.2.1	l'encapsulation ……13 a)Difinition……13 b) objective ……13 c)caractirisation des microparticules ……14
II.2.2	biopolymère……15 a)Difinition……15 b) caractérisation ……15 c) domaine d'application ……16
II.3	Méthodes d'encapsulation à base d'alginates……19
II.3.1	Méthodes de dispersion……20 a)Dispersions liquide-air……20 b) Dispersion liquide-liquide……20 c)Méthodes d'auto-assemblage……20
II.3.2	Méthodes de gélification……21

Sommaire

	a)Gélification externe.....22 b)Gélification interne.....22 c)Gélification inversée.....23 d) Gélification inter faciale.....24 e)Gélification en multi-étapes.....24
II.4	Applications de l'émulsification -gélification interne.....27
II.4.1	Matières actives.....27
II.4.2	Principes thérapeutiques.....28
Chapitre III: partie expérimentale	
III.1	introduction.....29
III.2	matières primaire.....29
III.2.1	principe active.....29
III.2.2	excipients.....29 a)Huile olive .....30 b)Alginate de sodium..... 30 c)Span 80.....30
III.2.3	autre réactive chimique 31
III.3	matériel 32
III.4	méthode expérimentale et technique de caractirisation 32
III.4.1	caractirisation spectrale des matières primaires .....32 a)UV–visible .....32 b) FTIR.....33
III.4.2	préparation des microparticules 34
III.4.3	caractirisation des microparticules 39
III.4.4	analyse par FTIR 41
Chapitre IV : résultat et discussion	
IV.1	introduction 42
IV.2	caractirisation des matières primaires 42
IV.2.1	analyse UV-visible 42
IV.3	Formulation des émulsions E/H.....44
IV.4	Paramètres d'encapsulation.....47
IV.5	Modélisation des taux d'encapsulation par la méthode de TAGUCH.....49
IV.5.1	les effets moyennes 49
.IV.6	les interactions entre les paramètres 51
IV.7	Expression du modèle.....53
IV.8	Détermination des taux d'encapsulation théoriques 54
IV.9	Test de gonflement des microparticules 56
IV.10	Etude de la libération 58
IV.11	Caractérisation par spectroscopie Infra-Rouge.....60
Conclusion générale .....66 ***Les références*** ***Annexe***	

....

Liste des figures

Chapitre I : Les antihistaminiques	
Figure I.1	***Manifestations de la Dermatite atopique…….....….6***
Figure I.2	***Récepteur de l'histamine H1 et action de l'antihistamine…….……8***
Figure I.3	***Structure chimique de la molécule de kétotifène fumarate.....….....11***
Figure I.4	***Organigramme schématisant les formes galéniques du médicament à base kétotifène fumarate……..12***
Chapitre II : Procédés d'encapsulation à base de biopolymère	
Figure II.1	***Morphologies d'une microcapsule (a) et d'une microsphère (b), vues par la microscopie électronique à balayage (MEB)……...14***
Figure II.2	***Structure de l'alginate de sodium de formule $(C_6H_7Na_{1/2}O_6)_n$……18***
Figure II.3	***Mécanisme de gélification inverse…….....22***
Figure II.4	***Mécanisme de gélification interfaciale…….....23***
Figure II.5	***Mécanisme de gélification externe interrompue pour la formation d'hydrogel multi membranaire……...24***
Figure II.6	***Principe de la gélification ion tropique de l'alginate de sodium…….……25***
Figure II.7	***Etapes de l'émulsification/gélification externe……....25***
Figure II.8	***Schéma représentant le principe de l'émulsification/gélification interne……...…27***
Figure II.9	***Etapes de l'émulsification/gélification interne.....….....27***
Chapitre III : Matériel et méthodes	
Figure III.1	***Schéma de principe du spectromètre FTIR .....….....33***
Chapitre IV : Résultats et discussions	
Figure IV.1	***Courbe de balayage de KF dissout dans les solutions tampons pH1.2, pH7.4 et dans l'eau distillée……...42***
Figure IV.2	***Courbe d'étalonnage de KF dans la solution tampon pH 1.2…….....43***
Figure IV.3	***Courbe d'étalonnage de KF dans la solution tampon pH 7.4……..…..43***
Figure IV.4	***Courbe d'étalonnage de KF dans l'eau distillée……....44***
Figure IV.5	***Aspect microscopique des émulsions E/H des essais 1 à 9, [X1 = 1/200], X2 = 5 à 9 % et X3 = (50%, 60%, 70%)……...45***
Figure IV.6	***Aspect microscopique des émulsions E/H des essais 10 à 18, [X1 = 1/140], X2 = 5 à 9 % et X3 = (50%, 60%, 70%)……...46***

Figure IV.7	*Aspect microscopique des émulsions E/H des essais : 19 à 27, [X1 = 1/120], X2 = 5 à 9 % et X3 = (50%, 60%, 70%)…….……47*
Figure IV.8	*Effets moyens du rapport : KF/Alg Na (X1).....….....49*
Figure IV.9	*Effets moyens de la concentration de $CaCO_3$ (X2)…….....50*
Figure IV.10	*Effets moyens de la proportion de la phase huileuse (X3)……..50*
Figure IV.11	*Interactions entre les paramètres d'encapsulation [KF/Alg Na] et C_{CaCO3}……....52*
Figure IV.12	*Interactions entre les paramètres d'encapsulation [KT/Alg Na] et % PH.....….52*
Figure IV.13	*Interaction entre les paramètres d'encapsulation : C_{CaCO3} et % PH……..53*
Figure IV.14	*Représentation graphique des TE mesurés et théoriques du KF.....….56*
Figure IV.15	*Taux de gonflement des microparticules dans les deux milieux (pH=1.2 et pH=7.4)…….….58*
Figure IV.16	*Profil de libération de kétotiféne fumarate encapsulé dans les milieux gastro-intestinaux…..59*
Figure IV.17	*Spectre infra-rouge de l'alginate de sodium……...61*
Figure IV.18	*Spectre infra-rouge du kétotiféne fumarate……....62*
Figure IV.19	*Spectre infra-rouge des microparticules chargées de kétotiféne fumarate…….....63*
Figure IV.20	*Spectre infra-rouge des microparticules vierges……64*

Liste des tableaux

Chapitre I : Les antihistaminiques	
Tableaux I.1	*Propriétés physico-chimiques de kétotifène fumarate……..11*

Chapitre II : Procédés d'encapsulation à base de biopolymères	
Tableaux II.1	*Grandes classes de biopolymères……...16*
Tableaux II.2	*Applications médicales des biopolymères……..16*
Tableaux II.3	*Applications de quelques biopolymères en emballages……....17*
Tableaux II.4	*Représentation de quelques travaux de recherche sur l'émulsification-gélification interne…….....28*

Chapitre III : Matériel et méthodes	
Tableaux III.1	*Matières premières utilisées……...29*
Tableaux III.2	*Caractéristiques physico-chimiques des huiles d'olives……...30*
Tableaux III.3	*Caractéristiques physico-chimiques de l'alginate de sodium (Sigma-Aldrich).....30*
Tableaux III.4	*Caractéristiques du tensioactif utilisé (Sigma-Aldrich).....….....31*
Tableaux III.5	*Propriétés physico-chimiques des réactifs utilisés.....….....31*
Tableaux III.6	*Matériel utilisé…….....32*
Tableaux III.7	*Paramètres et niveaux choisis pour la préparation des microsphères de KT…...36*
Tableaux III.8	*Compositions des différents essais de préparation des émulsions E/H contenant le PA……36*
Tableaux III.9	*Volumes d'AAG ajouté…….....38*

Chapitre IV : Résultats et discussions	
Tableaux IV .1	*Longueurs d'onde maximales du KF dans les trois milieux de dissolution…..…43*
Tableaux IV.2	*Equations de courbes d'étalonnage et les coefficients de corrélation correspondants…….....44*
Tableaux IV.3	*Paramètres d'encapsulation des 27 formulations réalisées……...48*
Tableaux IV.4	*Résultats des effets moyens .....….....49*

Tableaux IV.5	*Résultats d'interactions entre les paramètres…….....51*
Tableaux IV.6	*Taux d'encapsulation mesurés et théoriques du KF……55*
Tableaux IV.7	*Taux de gonflement dans le milieu 1 pH 1.2……..56*
Tableaux IV.8	*Taux de gonflement dans le milieu 2 pH=7.4……....57*
Tableaux IV.9	*Taux de libération de kétotiféne fumarate ……....59*
Tableaux IV.10	*Bandes caractéristiques du spectre FTIR d'alginate de sodium……...61*
Tableaux IV.11	*Bandes caractéristiques du spectre FTIR du kétotiféne fumarate……....62*
Tableaux IV.12	*Bandes caractéristiques du spectre FTIR des microparticules à base de kétotiféne fumarate……..63*
Tableaux IV.13	*Bandes caractéristiques du spectre FTIR des microparticules vierges ……....64*

Abréviations et nomenclature

Abréviation	Signification	Unité
pH	*Potentiel d'hydrogène*	....
µm	*Micromètre*	*µm*
mm	*Millimètre*	*mm*
nm	*nanomètre*	*nm*
MEB	*Microscope électronique à balayage*	....
ADEME	*Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie*	....
UIPAC	*union international de chimie pure et appliqué*	....
Kf	*Kétotiféne Fumarate*	....
FTIR	*Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier*	....
UV-Vis	*Ultra-Violet –Visible*	...
HLB	*Balance Hydrophile Lipophile*	....
PA	*Principe actif*	....
PH	*Phase huileux*	....
E/H	*émulsion eau dans huile*	....
AAG	*Acide acétique glacial*	....
DO	*Densité optique*	....
MG	*Moyenne Générale*	....
EAi	*Effet de A au niveau i*	....
EE	*Efficacité d'encapsulation*	*(%)*
RE	*Rendement d'encapsulation*	*(%)*
TE	*Taux d'encapsulation*	*(%)*
TG	*Taux de gonflement*	*(%)*
C_n	*Concentration du principe actif non encapsulé*	*mg/l*
C_0	*Concentration du principe actif initial*	*mg/l*
m_i	*Masse initiale de principe actif*	*mg*
m_f	*Masse finale de principe actif*	*mg*
ALG Na	*Alginate de sodium*	....

Symboles Unité	Définition	
λ	*Longueur d'onde*	*nm*
λmax	*Longueur d'onde correspondante à l'absorption maximale*	*nm*
X1	*Rapport massique de KF/AlgNa*	*mg/mg*
X2	*Concentrations de $CaCO_3$*	*mg/l*
X3	*Proportion volumique de la phase huileuse*	*(%)*
ν	*Vibration d'élongation*	....
δ	*Vibration de déformation*	....

La mise au point de nouvelles préparations médicamenteuses nécessite un temps considérable et des coûts importants. Le recours à la recherche de nouvelles préparations faciles à mettre en œuvre constitue donc un outil de choix permettant d'assurer une amélioration notable à l'échelle de la recherche et du développement pharmaceutiques. La microencapsulation, qui est un ensemble de technologies permettant l'enrobage ou le piégeage de principes actifs sous forme liquide solide ou gazeuse, au sein de particules individualisées dont la taille s'échelonne entre quelques microns et quelques millimètres, offre des solutions technologiques à une multitude de problématiques industrielles. Elle apparaît aujourd'hui comme une option de choix, lorsqu'on a pour objectif de protéger la matière active, améliorer sa présentation ou maitriser son profil de libération.
-les procédés classiques de la micro encapsulation des matières bioactives que soient mécaniques, physiques ou chimiques présentent un certain nombre d'inconvénients tels que :la dégradation de ces molécules par effet de la température, de l'agitation mécanique ainsi que par l'effet des solvants organiques [1].

Dans ce contexte, l'encapsulation par la technique d'émulsification/gélification interne a suscité l'intérêt de plusieurs chercheurs en tant que technologie en évolution continue qui non seulement a permis la mise en formulation de nouveaux systèmes de délivrance des médicaments mais aussi aux révolutions de l'ingénierie vis-à-vis la thérapie et le diagnostic de nombreuses maladies [1].

Parmi les avantages que présente cette technique est l'utilisation des biopolymères biodégradables de nature polysaccharidiques où l'alginate de sodium est le plus utilisé. Ce biopolymère peut être facilement réticulé en matière solide par addition de cations divalents. Vue ces caractéristiques, l'alginate a était très impliqué dans l'encapsulation des protéines, des virus, des hormones, des cellules et de l'ADN plasmique [2].

Dans ce manuscrit, l'objectif de notre travail s'oriente vers la préparation et la caractérisation des systèmes micro-particulaires chargés d'un principe actif (kétotiféne fumarate) en utilisant la méthode d'émulsification/gélification interne.

Pour ce faire, l'ensemble de notre manuscrit est structuré en quatre chapitres :

Le premier chapitre, consiste à donner un aperçu sur les notions et les différents types de maladies antihistaminiques.

Le deuxième chapitre, détaille les généralités sur les biopolymères et l'encapsulation avec domaine d'application en particulier l'alginate.

Le troisième chapitre récapitule la présentation des propriétés des matières premières, du matériel et des techniques prévues être utilisées en particulier le mode opératoire d'émulsification/gélification interne de l'alginate.

Le quatrième chapitre englobe tous les résultats obtenus et les discussions correspondantes.

En fin, le manuscrit s'achève par une conclusion générale et les perspectives qui peuvent être envisagées à venir.

Chapitre I :

Les antihistaminiques

I .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 [3].

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 [4].

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 [5,6].

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 [6].

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 [6].

Actuellement, le terme d'allergie est utilisé pour décrire une réaction excessive à des substances de l'environnement, qui sont inoffensives pour la plupart des gens mais qui induisent une réaction immunitaire à l'origine de divers symptômes chez les personnes prédisposées [7].

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 [8].

b) 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 [9].

c) 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 [10].

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 [11].

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 [12].
- ***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 [13].
- ***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 [13.14].

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 [15].

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 [15].

- 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 différent 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 [16].

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 [17].

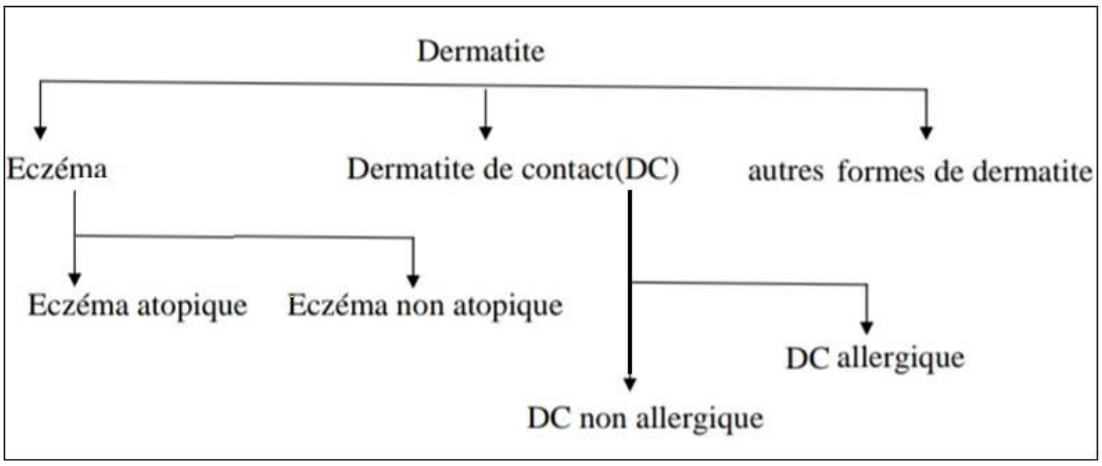


Figure .I.1.Manifestations de la Dermatite atopique [17].

- 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 [12]. 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) [18].

- 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 [14,19].

- 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 [20]:

-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 [14,11].

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.

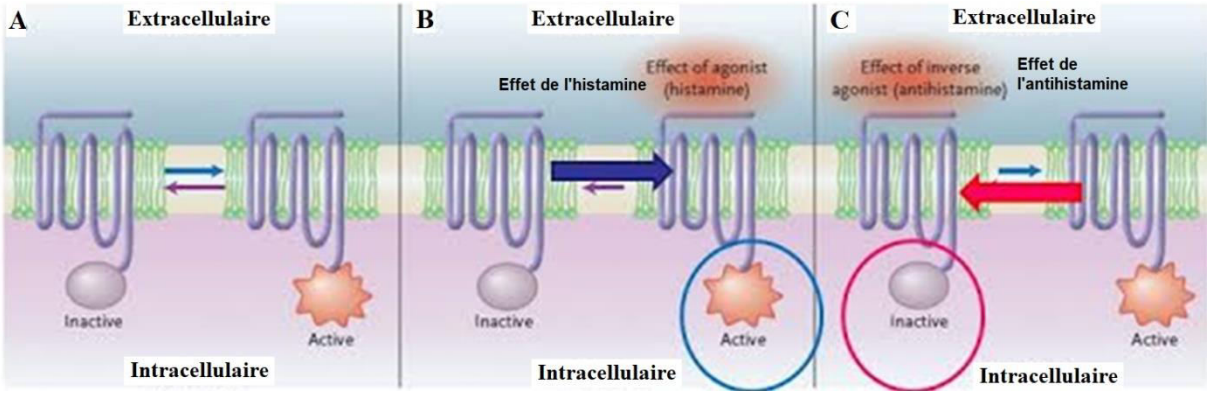


Figure I.2. Récepteur de l'histamine H1 et action de l'antihistamine [23].

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 [21].

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 [22].

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 [23].

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 antis 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) [24].

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 :

-1) ***Effet anxiolytique***.

-2) ***Effet sédatif***.

-3) ***Effet antinaupathique***.

- 4) ***Effet anticholinergique***, certains antihistaminiques peuvent être considérés comme dépourvus d'activité anticholinergique au niveau des récepteurs muscariniques.

- 5) ***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. [25].

b. Les antihistaminiques H2

Les antihistaminiques H2 diminuent donc la sécrétion de l'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) [24].

I.4 Kétotifène fumarate

I.4.1 Définitions

Le fumarate de Kétotifène 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 Kétotifène 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 [26].

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

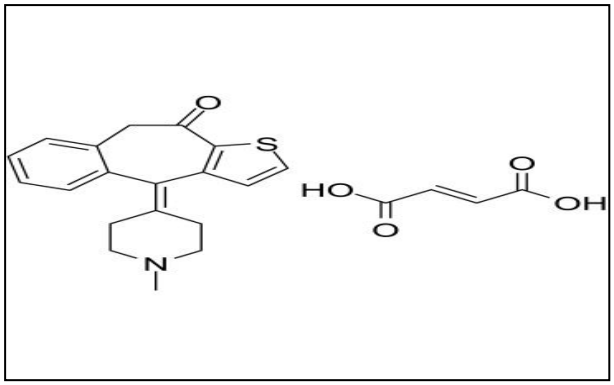


Figure I.3. Structure chimique de la molécule de kétotifène fumarate [27].

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 [27].

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 ±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.

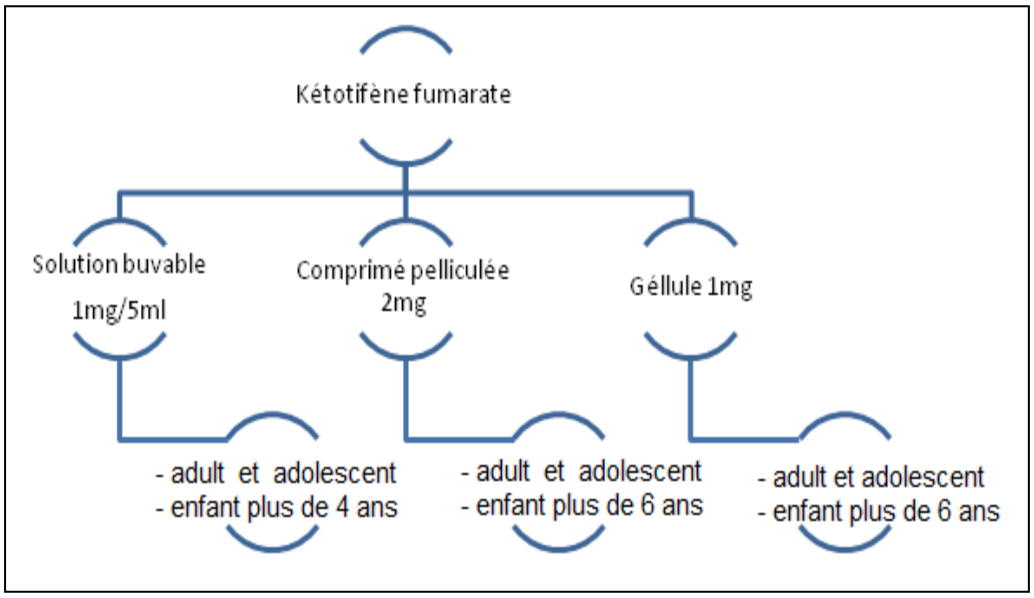


Figure I.4. Organigramme schématisant les formes galéniques du médicament à base kétotifène fumarate.

Chapitre II :

procédés d'encapsulation à base de biopolymère

II.1 Introduction

Depuis plusieurs décennies la micro encapsulation a concerné les travaux de recherches de domaines vairés, et ceci afin de protéger voire de préserver toutes les propriétés d'une substance active. Actuellement, de nouveaux procédés se développent en continu, et ceci en fonction des propriétés physiques et chimiques de la matière active, des matériaux d'encapsulation et de l'objectif de l'opération de vectorisation. Dans le domaine de vectorisation des principes médicamenteux, l'activité immense et le succès clinique des micro-thérapeutiques sont dû au développement de la micro technologie qui s'intéresse à la production des microparticules afin de maintenir des concentrations sériques efficaces d'un point de vue pharmacologique et ce pour une période de temps prolongée

II. 2 Généralités

II.2.1 L'encapsulation

a) Difinition

La microencapsulation regroupe l'ensemble des technologies qui permettent la préparation des particules individualisées, constituées d'un matériau enrobant contenant une matière active. Les microparticules présentent une taille comprise entre 1 µm et 1000 µm (1 mm) et contiennent typiquement entre 5 et 90 % (en masse) de matière active. Les matières actives sont d'origines très variées : principe actif pharmaceutique, actifs cosmétiques, additifs alimentaires, produits phytosanitaires, essences parfumées, microorganismes, cellules …etc. Les particules obtenues se divisent en trois groupes : microparticules, nanoparticules et liposomes [30].

b) Objectifs

Les principaux objectifs de la microencapsulation se résument comme suit [28, 29] :

- Obtention d'une diffusion contrôlée d'un produit, ceci est surtout valable dans les formes pharmaceutiques, afin d'obtenir des médicaments à effet retard.
- Masquage de goût et d'odeur de nombreux médicaments pour améliorer leur conformité aux patients.
- Conversion des médicaments liquides en poudres.
- Stabilisation des médicaments sensibles à l'oxygène, à l'humidité ou à la lumière.

- Eviter l'incompatibilité entre les médicaments.
- Réduction de la toxicité et de l'irritation gastro-intestinale.
- Les produits chimiques toxiques tels que les insecticides peuvent être microencapsulés pour réduire la possibilité de la sensibilisation de la personne.

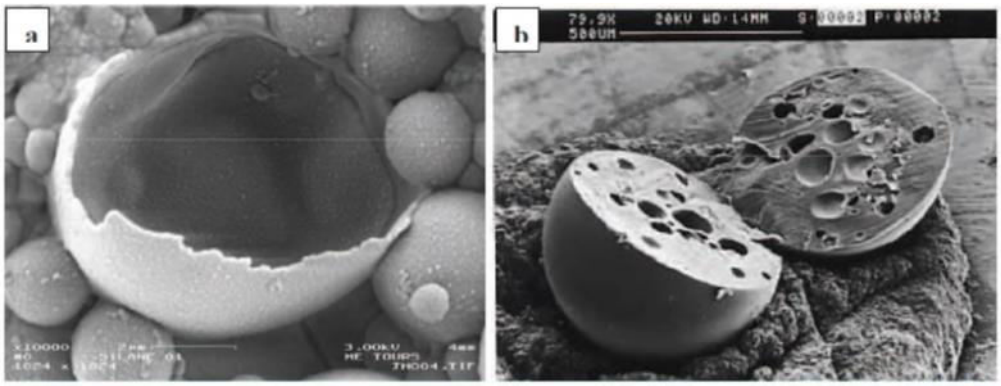
c) Caractérisation des microparticules

1. Classification

a) Les microparticules : elles sont obtenues par microencapsulation, elles peuvent se présenter sous deux types de morphologies distinctes (figure II.1) [30, 31].

➢ ***Les microsphères*** : Ce sont des particules constituées d'un réseau macromoléculaire ou lipidique continu formant une matrice dans laquelle se trouve finement dispersée la matière active. Cette dernière peut se présenter sous forme de fines particules solides ou encore de gouttelettes de solutions.

➢ ***Les microcapsules*** : Ce sont des particules réservoirs constituées d'un cœur de matière active liquide ou solide, entourées d'une enveloppe solide continue de matériau enrobant



FigureII.1. Morphologies d'une microcapsule (a) et d'une microsphère (b), vues par la microscopie électronique à balayage (MEB) [31].

b) Les nanoparticules : ce sont des systèmes colloïdaux dont la taille est comprise entre 10 et 1000 nm, elles sont à base de polymères généralement biodégradables, ou de lipides capables de retenir une ou des molécules actives par séquestration et/ou adsorption. Les nanoparticules peuvent être de type matriciel (nanosphères) où le principe actif est dispersé ou dissous dans la matrice de polymère, ou de lipides, où de type réservoir, il s'agit alors de nanocapsules, constituées d'un cœur généralement liquide entouré d'une

fine membrane de polymère généralement dont l'épaisseur ne dépasse pas quelques nanomètres.

c) Les liposomes : ce sont des petites vésicules sphériques dont la paroi est constituée par une ou plusieurs bicouches phospholipidiques délimitant une cavité centrale contenant une phase aqueuse. Ils peuvent véhiculer des principes actifs de nature hydrophile, sous forme dissoute dans la phase aqueuse centrale, ou de nature lipophile par insertion dans la bicouche [34.35].

Ⅱ.2.2 Biopolymères

a) Définitions

- ✓ Selon l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (UIPAC), les biopolymères se définissent comme étant des biomacromolécules synthétisées par des organismes vivants [37].
- ✓ Selon l'Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie (ADEME), les biopolymères sont des polymères naturels issus de ressources renouvelables : plantes, algues ou animaux. Ils peuvent être obtenus également par des procédés industriels et/ou de synthèse (polymérisation), à partir de monomères naturels ou identiques aux naturels [37].

b) Classification

Les biopolymères peuvent être classés selon leurs origines en trois familles [38] :

- Biopolymères synthétisés à partir de bio-monomères issus de ressources renouvelables.
- Biopolymères produits par des - microorganisme
- Biopolymères extraits de la biomasse

Le (tableau II.1) détaille les principales classes de biopolymères :

Tableau II.1 : Grandes classes de biopolymères [41].

Classe de biopolymère	Exemple
1) Polysaccharides *(plantes/algues)*	*Amidon, cellulose, agar, alginate, pectine, gommes, carraghénane*
2) Polysaccharides *(obtenus de la fermentation bactérienne)*	*Xanthane, dextrane, gellane, pullulane, elsinane*
3) Protéines	*Zéine, gluten, poly acide amines*
4) Polyphénols	*Lignines, taniine et autre*
5)Polyesters	*Polymère d'acide lactique (PLA)* *Polyhydroxyalcanoate (pha)*
6) Autres polymères	*Polymère synthétisés à partir d'huile* *Poly isoprènes : caoutchouc*

c) Domaines d'application

Trois grands créneaux d'applications sont identifiés par rapport aux propriétés des biopolymères : médecine, pharmacie, agriculture et secteur d'emballages [41].

- **Médecine et pharmacie**

Leurs propriétés de biocompatibilité et de biorésorbabilité associées à leur résistance mécanique sont très importantes pour assurer les fonctions attendues des biopolymères dans ce domaine [41]. Les propriétés de quelques biopolymères typiques utilisés dans des applications médicales sont données dans (le tableau II.2).

Tableau II.2 : Applications médicales des biopolymères [41].

Polymère	***Domaine d'application***
Alginate	*Encapsulation de médicaments, implantation Cellulaire*
Cellulose	*Encapsulation de médicaments, membrane d'hémodialyse*
Poly-lysine	*Encapsulation des médicaments,*
Poly yhdroxyalcanoate (PHA)	*Fil de suture, galénique, implant vasculaire, vêtement et accessoires médicaux, ostéosyntsynthèse*
Poly lactides (PLA)	*Fixation orthopédique, attache, vis et broche, Ligament et tendon artificiels, matrice de régénération de tissu, galénique.*

- **Agriculture**

Dans ce domaine, les films de paillage à base de biopolymères s'imposent progressivement aux paillis en polymère conventionnels. Leur fonction principale est de réduire l'évaporation de l'eau et d'accroître la température du sol pour favoriser la croissance des jeunes plantes au printemps. En agriculture marine, les biopolymères sont employés pour confectionner les cordes et les filets de pêche. Ils sont également utilisés comme supports pour les cultures marines [41].

- **Emballage**

Le secteur de l'emballage est un autre créneau important pour le marché des polymères biodégradables. Ces derniers apportent une solution aux problèmes de déchets mais nécessitent toutefois la mise en place d'une filière de gestion de déchets adéquate à ce type de produits [41]. Quelques applications actuelles des biopolymères dans le domaine des emballages sont données dans le tableau (II. 3).

Tableau II.3 : Applications de quelques biopolymères en emballages [41].

Polymère	Application
Amidon	*Emballages films alimentaires et produits hygiène, sacs de pomme de terre, couverts jetables, emballages de calage, plateaux de légumes, filets.*
Cellulose	*Emballages films alimentaires, emballages films diver*
Poly lactide	*Raviers et pots, bouteilles d'eau et de lait, gobelets jetables, divers emballages alimentaires, fenêtres transparentes d'emballage de pain, emballage film divers, blisters, etc.*

- **Autres applications**

Les biopolymères sont également utilisés pour des applications plus spécifiques et plus pointues comme dans le secteur de l'industrie automobile, l'électronique ou encore dans la construction [41].

d) L'alginate

- **Définition**

L'acide alginique, également appelé algine ou alginate, est un polysaccharide anionique présent naturellement dans les algues brunes, et certaines espèces de bactéries (*Azotobacter et Pseudomonas*) et contenant jusqu'à 40% du poids sec selon les espèces d'algues [39.41]. L'alginate se trouve principalement dans le mucilage intercellulaire et les cellules des algues brunes sous forme de sels de calcium, de sodium et de magnésium d'acide alginique, offrant flexibilité et résistance mécanique à la plante [42.43].

Les alginates sont des copolymères c'est à dire polymères issus de la copolymérisation d'au moins deux types de monomères chimiquement différents non ramifiés : l'acide D-mannuronique (M) et l'acide Lguluronique (G).

L'alginate est constitué de plusieurs unités de *mannuronate et de guluronate*dont le nombre varie de 100 à 3000. La liaison entre les monomères est de type β(1-4),

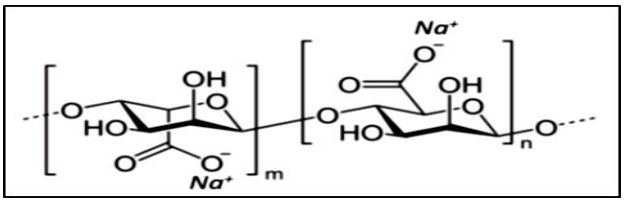


Figure II.2 : Structure de l'alginate de sodium de formule $(C_6H_7Na_{1/2}O_6)_n$ [44].

- **Propriétés physico-chimiques**

A l'état pur, l'acide alginique est une poudre blanche, inodore et sans saveur [45]. Comme tous les polymères, l'alginate est caractérisé par différents paramètres :

- ✓ **Poids moléculaire** : les alginates de sodium commercialisés ont un poids moléculaire varie entre 32 000 et 400 000 g/mol] [45].
- ✓ **Viscosité** : la viscosité des solutions d'alginate est presque constante aux pH allant de 6 et 8, elle augmente en fur et à mesure que le pH diminue jusqu'à obtention d'une viscosité maximale à pH allant de 3 à 3,5, cela est dût à la protonation des groupes carboxylates dans le squelette d'alginate, formant des liaisons hydrogènes [47,48].

- ✓ **Rapport M/G :** Ce rapport varie de 0,5 à 2,5. Ceci dépend de la source d'alginate, son emplacement, la saison de la collecte et la technique d'extraction [45, 49].
- ✓ **Stabilité :** L'alginate de sodium est hygroscopique. La poudre d'alginate de sodium pur, stockée dans un endroit sec et frais, loin de toute lumière du soleil, peut avoir une stabilité de plusieurs mois. [49, 50].
- ✓ **Solubilité** : L'alginate de sodium est soluble dans l'eau froide formant une solution colloïdale visqueuse. Il est insoluble dans l'alcool et dans les solutions hydro-alcooliques dans lesquels la teneur en alcool est supérieure à 30 % (m/m). Il est également insoluble dans les autres types de solvants organiques (chloroforme, éther…) [49].
- ✓ **Gélification** : La propriété la plus importante des alginates est leur capacité à former des hydrogels en présence de cations divalents (tels que Ca^{2+}ou $Ba^{2+)}$ qui interagissent avec les groupes carboxyliques, présents dans le squelette d'alginate pour former des réticulations ioniques [33].

II.3 Procédés d'encapsulation à base d'alginate

- Les polymères gélifiants à partir de sources naturelles représentent une classe importante de biomatériaux pour les applications d'encapsulation à cause de leur renouvelabilité, biodégradabilité, biocompatibilité et leur non toxicité. Parmi cette classe de polymères, l'alginate a reçu beaucoup d'attention dans la littérature parce qu'il peut former des hydrogels principalement par gélification ionotropique avec des ions divalents.

Les hydrogels d'alginate possèdent des propriétés physiques exceptionnelles :

- Ils sont thermiquement stables et peuvent former des gels facilement.
- Ils possèdent de bonnes propriétés mécaniques, de transport de masse et de désintégration
- Ils ont des pores de petite taille et sont hydrophiles, ce qui les rend appropriés pour encapsuler de grosses molécules ou des matériaux hydrophobes à haute efficacités, généralement supérieures à 90 %

Les procédés appliqués pour fabriquer des particules d'alginate se devisent en deux familles : les méthodes de dispersion et les méthodes de gélification [51].

II.3.1 Méthodes de dispersion

a) Dispersion liquide-air

Les méthodes liquide-air impliquent généralement la dispersion d'une solution d'alginate dans des gouttelettes liquides dans l'air à l'aide d'une buse. En fonction du débit volumétrique auquel l'alginate est extrudé, les méthodes liquide-air peuvent être divisées en trois catégories principales : l'égouttage, le jet et l'atomisation :

- ***Egouttage*** : aux faibles débits, la goutte d'alginate se détache de la buse sous forme de gouttelette quand la force gravitationnelle dépasse la tension superficielle. Les gouttelettes formées ont des tailles uniformes et supérieures à 1mm, dû à l'accumulation d'un volume d'alginate au voisinage de la buse [51]
- ***Jet*** : à des débits plus élevés, le solution d'alginate extrudé se fond dans un flux laminaire et subit une propagation sinusoïdale au cours de son trajet. Une fois l'amplitude est égale au rayon du jet, le jet liquide se brise en segments cylindriques et forme finalement des gouttelettes sphériques (avec un diamètre de 2 mm) [51].
- ***Atomisation*** : lorsque le débit augmente encore, le jet liquide subit de forts effets aérodynamiques de l'environnement au repos. Le jet liquide atomise en grosses gouttelettes qui, à leur tour, se décomposent en plus petites gouttelettes. Plusieurs techniques peuvent être appliquées dans l'atomisation, où la taille des particules s'étend de 10 à 150 µm [51].

b) Dispersion liquide-liquide

Il s'agit de la dispersion d'une solution d'alginate dans une phase continue de liquide non miscible, qui forme une émulsion eau dans huile (E/H) avant gélification. Celles-ci sont également connues sous le nom de méthodes d'émulsification. La phase huileuse est généralement une huile végétale ou minérale. La méthode d'émulsification est couramment utilisée pour produire de petites particules d'alginate, généralement avec une taille moyenne allant de (1 à 1000 µm) [51].

c) Méthodes d'auto-assemblage

Pour produire des gouttelettes plus petites, une énergie supplémentaire est nécessaire pour rompre la solution d'alginate en petits volumes. La réduction de la taille des gouttelettes à l'échelle nanométrique, dépend du dispositif de dispersion, des propriétés physiques de la solution d'alginate, et de l'énergie du dispositif de dispersion. Des études récentes dans les

phénomènes de l'interface des systèmes colloïdaux ont facilité la formation de particules d'alginate par auto-assemblage sans apport important d'énergie ni les conditions exigeante du dispositif de dispersion [51].

Trois types de procédés d'auto-assemblage ont été développées à ce jour pour produire des nanoparticules d'alginate à partir de : (i) des solutions diluées, (ii) des microémulsions, et (iii) une émulsion de Pickering modèles [51].

II.3.2 Mécanismes de gélification

Le principe général est basé sur la réticulation des chaînes polymeriques d'alginate avec des cations divalents, en formant une structure de « boîte à œufs ». A 'alginate présente des affinités variables envers différents cations, elles se décroissent pour : Pb^{2+}, Cu^{2+}, Cd^{2+}, Ba2+, Sr^{2+}, Ca^{2+}, Co^{2+}, Ni^{2+}, Zn^{2+} puis Mn^{2+}. Cependant, le calcium (Ca^{2+}) est le cation le plus couramment utilisé pour gélification de l'alginate en raison de son non toxicité par rapport aux autres cations.

Parmi les sources de calcium disponibles, le chlorure de calcium ($CaCl_2$), car il est facilement soluble dans l'eau, et les ions Ca^{2+} peuvent se réticuler avec l'alginate pour former des particules d'hydrogel.

Les sels de calcium insolubles, comme le carbonate de calcium ($CaCO_3$), peuvent également être utilisés lorsqu'une réticulation progressive ou contrôlée est souhaitée.

En revanche, les sels de calcium insolubles (par exemple, $CaCO_3$) sont généralement utilisés pour préparer des particules d'alginate par un mécanisme de gélification interne, le sel étant d'abord dispersé dans le sol d'alginate avant émulsification. Lors de l'émulsification, le processus de gélification peut être initié en solubilisant le sel si nécessaire, dans la solution d'alginate avant émulsification. Lors de l'émulsification, le processus de gélification peut être initié en solubilisant le sel si nécessaire, libérant ainsi Ca^{2+} pour la réticulation avec les chaînes polymères locales d'alginate. La libération du sel peut être initiée en réduisant le pH à l'aide d'un gélifiant initiateur tel que l'introduction d'un acide ou une irradiation UV dans le cas d'un générateur de photo-acide. Généralement, le pH est réduit en ajoutant un acide, tel que l'acide acétique glacial, à une émulsion [51].

a) Gélification inverse :

Dans ce cas, une solution aqueuse ou huileuse contenant des ions Ca^{2+} est extrudé goutte à goutte dans un bain de solution d'alginate. Au contact, les ions Ca2+ diffusent vers la périphérie externe de la gouttelette et la réticulation iono tropique avec le polymère d'alginate chaînes se fait à l'interface (FigureII.3). À la fin du processus, la gouttelette de liquide initiale

S'entoure par une membrane continue semi-perméable d'alginate de Calcium. Ce mécanisme de gélification n'est utilisé que lorsque les gouttelettes de cœur liquide (aqueux ou huileux) sont générées par les méthodes de dispersion liquide-air [51].

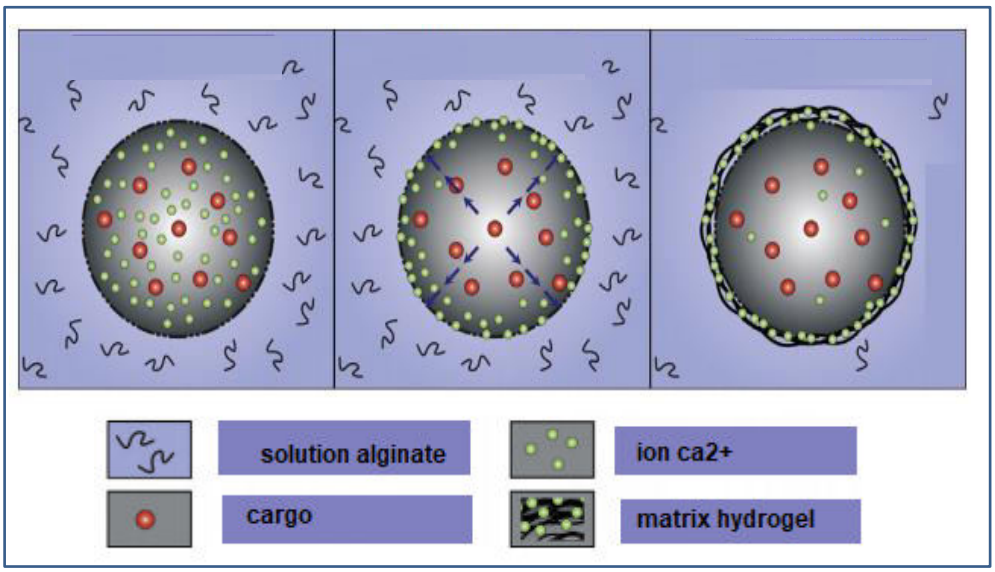


Figure II. 3. Mécanisme de gélification inverse [51].

Cependant, la membrane d'alginate de calcium formée (ayant de faibles concentrations d'alginate) peut provoquer la rupture des capsules lors de la manipulation post-production ou lors de l'application. Ainsi, la diffusion constante des ions Ca^{2+} libres des gouttelettes de liquide est difficilement contrôlable ce qui provoque une agglomération entre les capsules ou une gélification de l'ensemble de l'alginate.

Cette méthode s'applique pour encapsuler des cellules végétales, des bactéries, des protéines de lactosérum, des enzymes, des lipides et les huiles végétales [51].

b) Gélification interfaciale

C'est un nouveau mécanisme de gélification qui se produit à l'interface de liquides non miscibles. Cette gélification interfaciale est particulièrement avantageuse pour former des capsules d'alginate à noyau d'huile par rapport aux autres gélifications. Comme le montre la

(figure II.4). La phase huileuse a d'abord été émulsionnée dans une suspension aqueuse de nanoparticules de $CaCO_3$, Ces dernières s'auto-assemblent à l'interface huile-eau

L'émulsion se sépare et la couche supérieure se redisperse dans une solution d'alginate. Ensuite l'acide acétique est ajouté au système d'émulsion pour induire la libération des Ca2+ à l'interface huile/eau, ceci provoque la réticulation des chaines d'alginate afin de former une membrane contenant de l'huile [51].

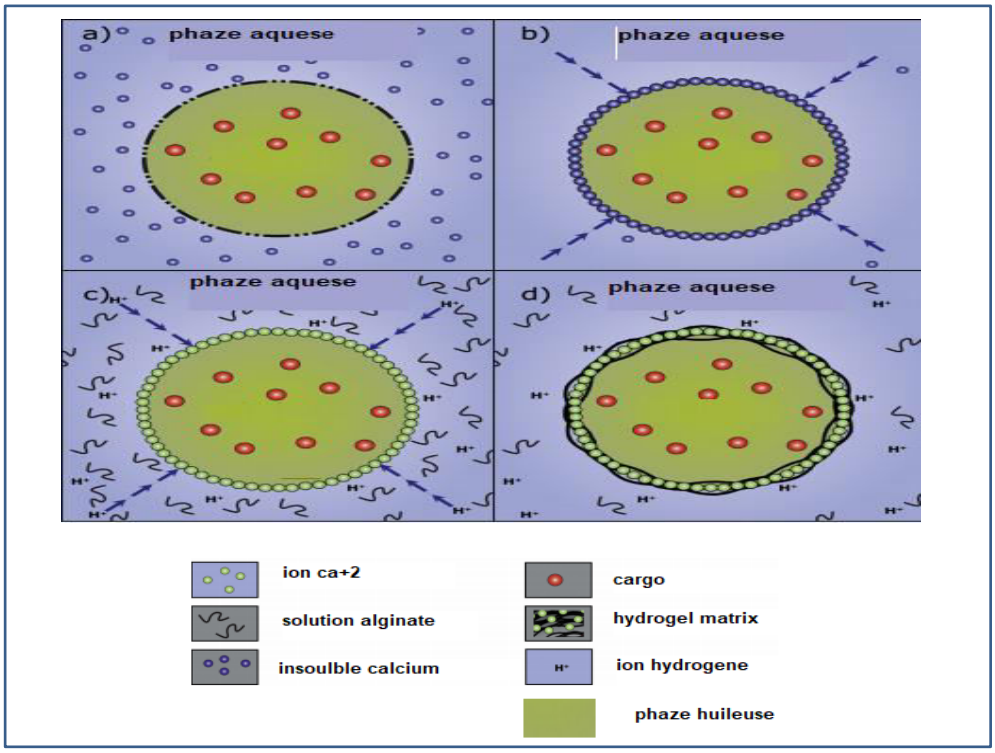


Figure II.4 : Mécanisme de gélification interfaciale [51].

La taille de la capsule d'alginate n'est pas en fonction du diamètre de la buse (contrairement à la méthode co-extrusion), mais la taille de la capsule est inversement proportionnelle à l'apport d'énergie lors de l'étape d'émulsification. Capsules d'alginate avec des diamètres de quelques à plusieurs centaines de micromètres peuvent être produit en fonction de la méthode d'émulsification [51].

c) Gélification interrompue en plusieurs étapes

Appelée gélification externe interrompue en plusieurs étapes, où « externe » indique le sens de la réticulation, c'est-à-dire à partir de l'extérieur au noyau interne. Cette structure d'hydrogel est préparée en interrompant et en répétant le mécanisme de gélification

externe dans lequel les couches membranaires sont séquentiellement formées de l'extérieur vers le noyau interne (figure II.5) [51].

Cette architecture complexe d'hydrogel présent une déviation des morphologies de particules traditionnelles, qui sont principalement limitées à l'hydrogel initial ou à la structure noyau-enveloppe. Les vides intermembranaires peuvent être bien adaptés à l'introduction de cellules ou demédicaments [51].

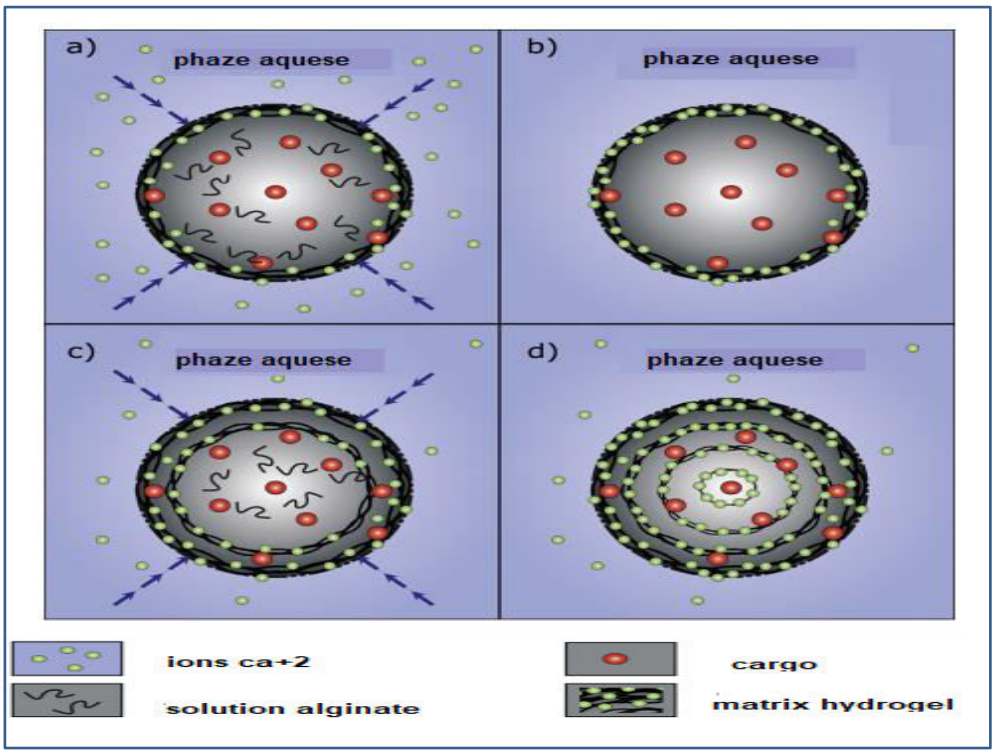


Figure II. 5 : Mécanisme de gélification externe interrompue pour la formation d'hydrogel multi membranaire [51].

d) Gélification interne /externe

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.

1) 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 (figureII.6) [55].

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 [57].

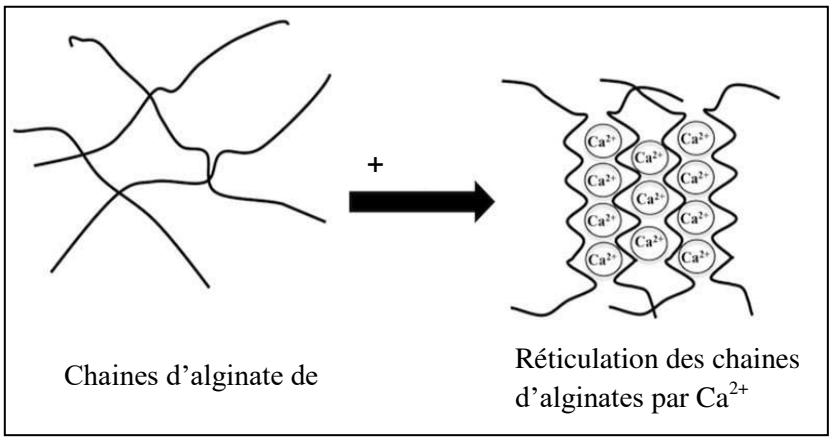


Figure II. 6. Principe de la gélification ion tropique de l'alginate de sodium [55]

- Toutes les étapes de la méthode émulsification/gélification externe résumé dans la figure (II.7)

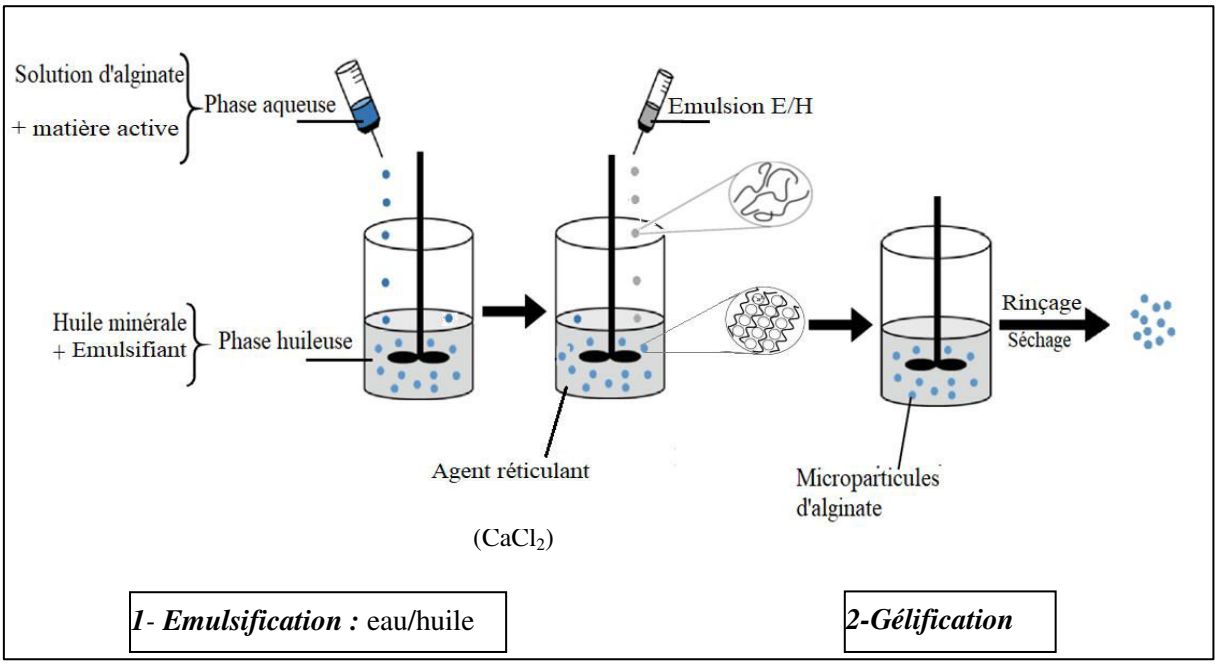


Figure II.7 : Etapes de l'émulsification/gélification externe [55.56].

2) **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 [53].

La réaction correspondante est donnée comme suit [53] :

$$CaCO_3 + 2\ CH_3COOH \rightarrow (CH_3COO)_2Ca + H_2O + CO_2 \qquad (II.8)$$

- L'organigramme de la figure (II.8) schématise le principe de la méthode d'émulsif cation/gélification interne

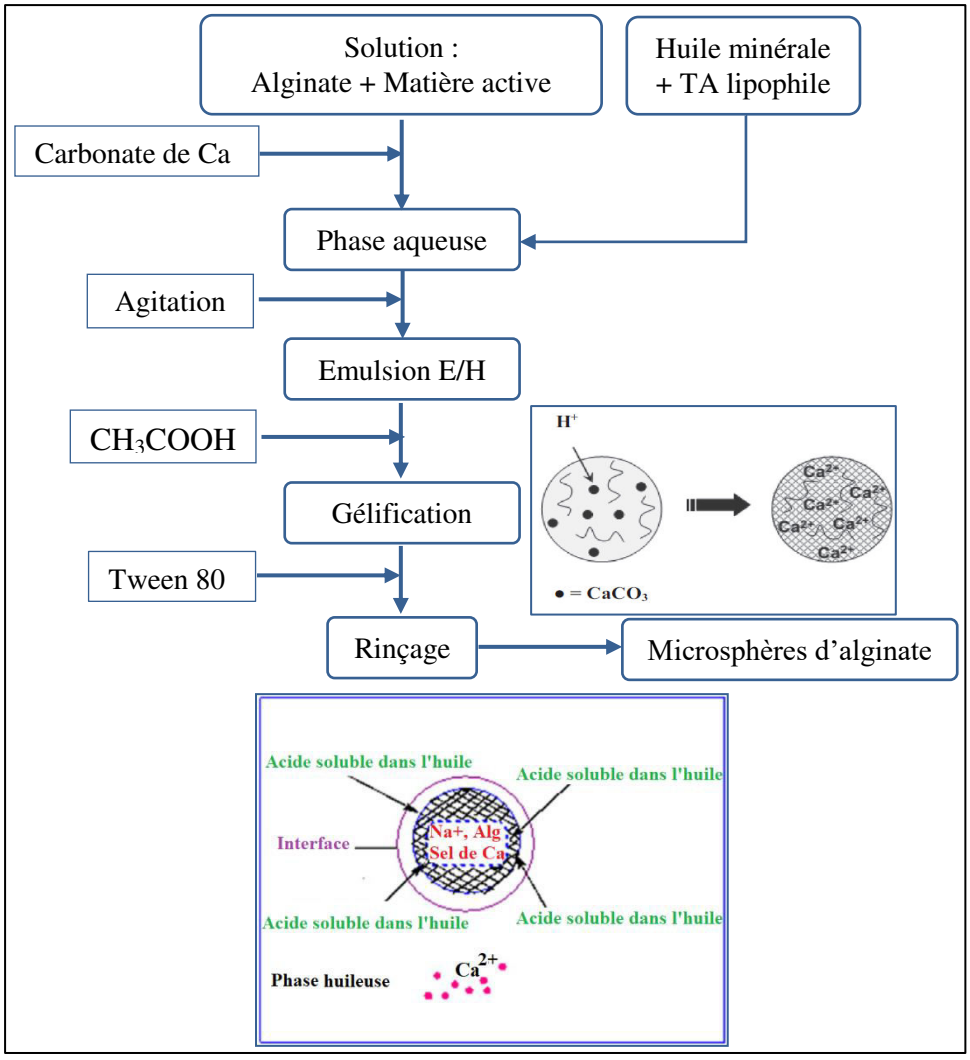


Figure II. 8 Schéma représentant le principe de l'émulsification/gélification interne [53,54].

- La figure (II.9) schématise toutes les étapes de la méthode émulsification/gélification interne.

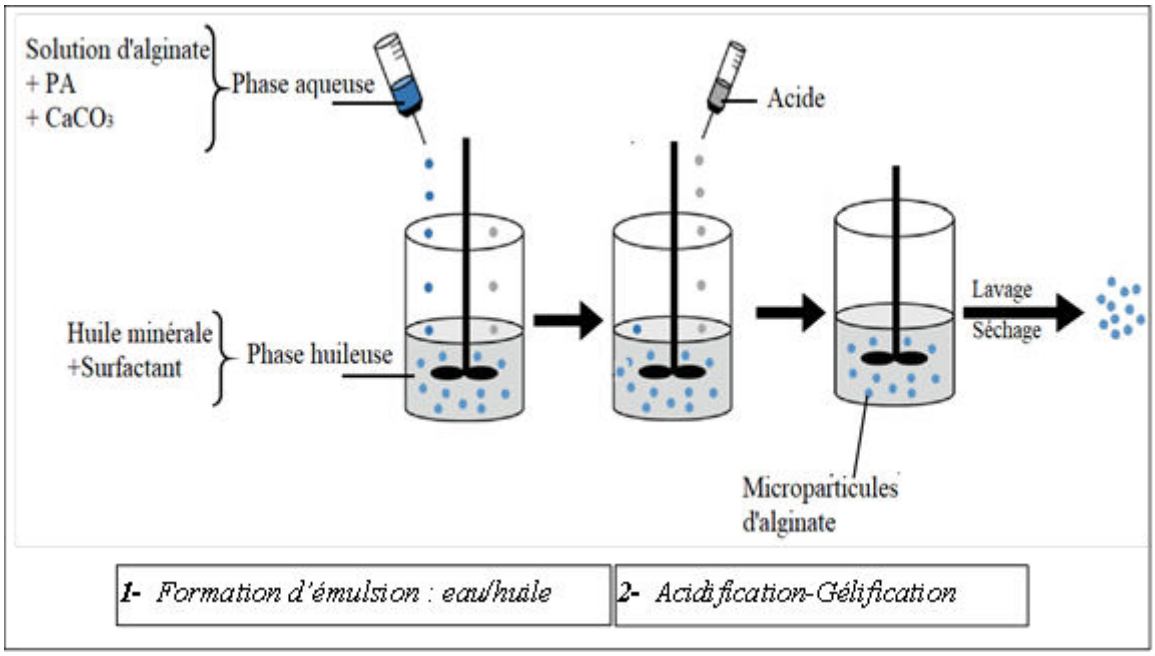


Figure II.9 : Etapes de l'émulsification/gélification interne [58].

II.4 Application de l'émulsification –gélification enterne

II.4.1 Matières encapsulées

a) Molécules et micro-organismes biologiques

Que soit dans les particules d'alginates formées par les méthodes classiques, les molécules de protéines (enzymes ou hormones) sont souvent exposées à la chaleur, à la forte agitation mécanique et à l'exposition aux solvants organiques, ce qui entraine une détérioration moléculaire de la protéine. En effet, l'utilisation de la méthode d'émulsification-gélification, qui est considérée d'une part comme technique d'encapsulation douce et d'autre part une méthode de choix de production des particules de taille déterminée [58].

Cette méthode a fait l'objet de plusieurs recherches ciblées vers l'immobilisation des molécules biologiques telles que : le sérum albumine bovin (SAB), l'insuline, le pro biotiques, et l'ADN plasmide. (Le tableau II.4) récapitule les différents travaux réalisés.

TableauII.4. Représentation de quelques travaux de recherche sur l'émulsification-gélification interne.

Molécule ou micro-organisme	***Insuline***	***SAB***	***ecdysone***	***Levure (Y235)***	***Bifidobacteriu mBB-12***	***ADN***
Concentration d'alginate (%, m/v)	2	2	2	1.5	1.5	2
Concentration de $CaCO_3$ (%, m/v)	5	0.5	5	N-I	5	0.5
Concentration de matière active (%, m/v)	0.1	25	0.5	N-I	1	0.2
Proportion de la phase huileuse (%, v/v)	70	50	80	50	80.3	N-I
Rapport molaire : acide/Ca^{2+}	3.5	0.26	3.5	N-I	3.5	3
Rendement d'encapsulation (%)	75	62.4	80.5	80	N-I	80
Référence	[58]	[59]	[60]	[61]	[62]	[63]

N-Indiqué : Non désigné.

II.4.2 Principes thérapeutiques

L'encapsulation des PA dans les systèmes micro-particulaires utilisant divers biopolymères et différentes techniques a été largement étudiée et ceci dans le but d'améliorer la perméabilité à travers les épithéliums intestinaux et de protéger ces principes contre les enzymes digestives. Comme pour l'encapsulation des matières biologiques, la préparation des microparticules en impliquant la méthode d'émulsification-gélification interne constitue un choix intéressant pour les principes médicamenteux.

Très peu d'études ont été réalisées concernant l'application de cette méthode sur l'encapsulation des principes thérapeutiques, on cite ici celle effectuée sur le kétotiféne [52] .

❖ *Chapitre III:*

Partie expérimentale

III.1. Introduction

Notre travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Biologie de la Faculté des Sciences de l'université de Médéa, et ceci afin de préparer des microparticules à base d'alginate de sodium chargé d'un principe actif (kétotifène fumarate), par la technique de gélification interne.

Pour le réaliser, nous avons utilisé le matériel et les méthodes expérimentales suivantes :

III.2 Matières premières

Les différentes matières premières utilisées sont présentées dans le tableau III.1.

Tableau III.1. Matières premières utilisées.

Matières premières	Rôle
Kétotifène Fumarate	Principe actif
Huile d'olive	Phase huileuse
Alginate de sodium	Polymère matriciel
Span 80	Agent d'émulsifiant
Eau distillé	Véhicule

III.2.1 Principe actif

Le kétotifène est une substance chimique employée comme antagoniste des récepteurs H_1 de l'histamine. Elle est utilisée dans le traitement d'allergie, de l'asthme, du rhume des foins et de l'Ang œdème. Elle est commercialisée sous forme de fumarate de kétotifène. Les différentes caractéristiques physico - chimiques sont résumées dans le tableau (I.1).

III.2.2 Excipients

- **Huile d'olive**

L'huile d'olive est une variété d'huile alimentaire, à base de matière grasse végétale extraite des olives lors de la trituration dans un moulin à huile.

Les caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'olive sont mentionnées dans le tableau suivant III.2

Tableau. III.2. Caractéristiques physico-chimiques des huiles d'olive

Caractéristiques	**Unité**	**Description ou valeur**
Aspect	---	Très fluide
Odeur	---	Sans
Couleur	---	Vert
Gout	---	Intense ou fruit vert
Miscibilité	---	Non miscible à l'eau
Viscosité	Cp	84
Masse molaire	g/cm^3	0.914-0.918

- **Alginate de sodium**

Les caractéristiques de l'alginate de sodium utilisé dans cette étude sont présentées dans le **Tableau III.3**.

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

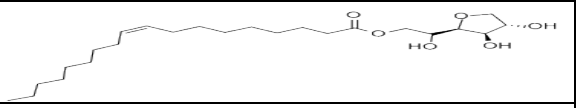
Apparence	
Aspect	Poudre fibreuse
Couleur	Blanche à jaune
Odeur	Sans
Gout	Sans
Propriétés chimiques	
Formule	$(C_6H_8O_6)_n$
Masse molaire	20000 à 240000 g/mol
Propriétés physiques	
Solubilité	Soluble dans les hydroxydes alcalins, insoluble dans l'éthanol et les autres solvants organiques
Masse volumique	$1.601 g/cm^3$

- **Span 80**

Il appartient 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 III.4.

Tableau III.4. Caractéristiques physico-chimiques du span 80 (Sigma-Aldrich)

Apparence	
Aspect	Liquide visqueux
Couleur	Jaune brunâtre
Propriétés chimiques	
Formule brute	$C_{24}H_{44}O_6$
Formule développée	
Masse molaire	428.60 g/mol
HLB	4.30
Propriétés physiques	
Point d'ébullition	>100°C
Point d'éclaire	>149°C
Solubilité	Insoluble dans l'eau

III.2.3. Autres réactifs chimiques

Tous les autres réactifs chimiques utilisés sont inclus dans le tableau III.5.

Tableau III.5. Réactifs chimiques utilisés.

Réactifs	Formule brute	Fournisseur
Acide chlorhydrique	HCl	Honeywell FLUKA
Carbonate de calcium	$CaCO_3$	LABORATOIRES ADEN
Chlorure de calcium	$CaCl_2$	BIOCHEM Chemopharma
Chlorure de potassium	KCl	VWR CHEMICALS
Acétate de sodium	CH_3COONa	BIOCHEM Chemopharma
Acide acétique glacial	$C_2H_4O_2$	RANKEM
Dihydrogyno-phosphate de potassium	KH_2PO_4	BIOCHEM Chemopharma
Dihydroyno-phosphate de sodium	NaH_2PO_4	SIGMA-ALDRICH
Tween 80	$C_{64}H_{124}O_{26}$	TITAN BIOTECH LTD
Hydrogenophosphate de sodium anhydre	Na_2HPO_4	VWR CHEMICHALS
Hydroxyde de sodium	NaOH	BIOCHEM Chemopharma

III.3 Matériel utilisé

Les manipulations réalisées ont nécessité d'utiliser le matériel détaillé dans le tableau III.6.

Tableau III.6. Matériel utilisé.

Matériel	***Marque***
Balance électrique	Sartorius
Agitateur magnétique avec plaque chauffante	SCIENTIFICA
pH-mètre	HANNA
Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	SHIMADZU
Spectrophotomètre UV-Vis	(UV mini-1240
Microscope optique	OPTIKA
Conductimètre	WTW
Incubateur agité	OPTIC IVYMEN
Agitateur mécanique	Type kmo2electronic

III.4 Méthodes expérimentales et techniques de caractérisation

III.4.1. Caractérisations spectrales des matières premières

A. Caractérisation par UV-Vis

- **Principe [64]**

La spectrométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible repose sur l'absorption du rayonnement électromagnétique par certains groupements fonctionnels des molécules (groupements chromophores) dans le domaine allant de 190 à 800 nm, ce qui correspond à l'ultraviolet (190-400nm) et au visible (400-800nm).

- **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 kétotifène fumarate (KF) de 20 mg/l aux pH 1.2, 7.4 et dans l'eau distillée. La courbe obtenue permet d'identifier les valeurs de λ_{max} de la molécule du KF.

En second lieu, et aux longueurs d'onde maximales identifiées, on mesure les densités optiques (DO) pour une série de solutions aqueuses préparées aux pH 1.2, 7,4 et dans l'eau distillée de concentrations allant de 0 à 20 mg/l. Les courbes d'étalonnage obtenues s'expriment par la variation de la DO en fonction de la concentration du KF.

B. Caractérisation par FTIR [64]

- **Généralités**

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est une technique analytique efficace pour identifier rapidement les groupements fonctionnels d'une substance**.** Généralement, pour les molécules organiques et les composés polymériques (et dans une moindre mesure, les composés inorganiques), les liaisons chimiques vibrent dans l'IR (en général le moyen IR) et produisent un spectre, qui peut être comparé à la base de données de référence étendue et la famille chimique ou l'identité réelle du composant inconnu peut être déterminée.

- **Principe**

Le principe repose sur l'absorption de la lumière par la plupart des molécules dans la région de l'infrarouge du spectre électromagnétique et en convertissant cette absorption en vibration moléculaire. Cette absorption correspond spécifiquement aux liaisons présentes dans la molécule. Avec un spectromètre, cette absorption du rayonnement infrarouge par le matériau de l'échantillon est mesurée en fonction de la longueur d'onde (les nombres d'onde, typiquement de 4000 à 600 cm^{-1}).

Le principe de fonctionnement de FTIR est schématisé sur la figure III.1

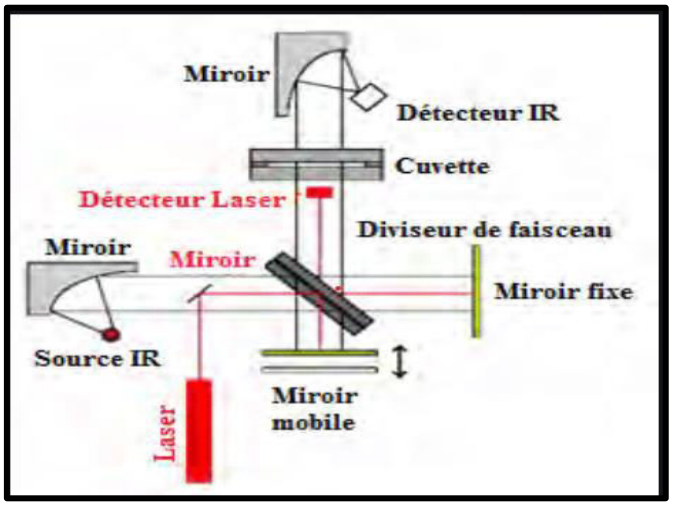


Figure III.1. Schéma de principe du spectromètre FTIR, [66]

- **Mode opératoire**

Les spectres FTIR ont été obtenus par préparation des pastilles de KF/KBr, alginate de sodium/KBr, microsphères chargés de KF/KBr et microsphères vierges /KBr avec une proportion de 1 % (masse/masse). Tous les échantillons ont été préalablement séchés à l'étuve à 50°C pendant 6 h.

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 4000 et 600 cm^{-1}.

III.4.2 Préparation des microparticules

A. Préparation des solutions tampon [65]

- ***Solution tampon acétate pH4.5*** : Dans une éprouvette graduée de 1 L, introduire 800 ml d'eau distillée et ajouter 2,99 g d'acétate de sodium puis laisser sous agitation jusqu'à dispersion totale de la poudre. (Mesurer le pH de la solution).

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

- ***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 dihydrogenophosphate 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 2.38g de Na_2HPO_4 .$12H_2O$ (ou l'équivalent de Na_2HPO_4anhydre), 0.19g de KH_2PO_4et 8g de NaCl dans 1000ml l'eau distillée. (Mesurer le pH de la solution).

B. Emulsification

L'émulsion est le mélange de deux liquides non-miscibles.

Cette expérience consiste à préparer une émulsion eau dans huile (E/H) en utilisant un agent émulsifiant de faible HLB (Span 80).

Pour ce faire, nous avons préparé des émulsions E/H en faisant varier les concentrations d'alginate, de carbonate de calcium ainsi que la proportion de la phase aqueuse.

- ***Préparation de la solution (S1) d'alginate de sodium et de PA***

Cette étape consiste à dissoudre une masse d'alginate de sodium et une masse de PA dans un volume d'eau distillée.

- ***Préparation de la suspension de carbonate de Calcium***

Une masse de carbonate de calcium est mis en suspension aqueuse afin d'assurer les ions calcium.

- ***Préparation de la phase aqueuse (S2)***

La phase aqueuse est composée de la solution S1 et de la suspension de carbonate de calcium. Le mélange a été mis sous agitation pendant 15min.

- ***Préparation de la phase huileuse***

Il s'agit de la solution d'huile d'olive à une teneur de 1.5% de Span 80.

- ***Préparation de l'émulsion***

Elle consiste à émulsifier la phase aqueuse (S1) dans la phase huileuse portée sous agitation à 1000 tr/min pendant 15min.
Plusieurs émulsions seront préparées en se basant sur la proportion du KF, de l'alginate de sodium et de la proportion de la phase huileuse.

C. Application de la méthode de TAGUCHI

En vue d'optimiser les paramètres dont dépend la qualité des microsphères, nous avons procédé à la méthode de TAGUCHI. Les paramètres ciblés sont : le rapport massique : KF/AlgNa, la concentration du carbonate de calcium et la proportion de la phase huileuse. D'où un plan d'expérience de trois paramètres à 3 niveaux qui en résulte un nombre total d'expériences de $3^3 = 27$ essais.

Les différentes conditions opératoires pour préparer un volume d'émulsion de 100 ml sont données sur le tableau III.7.

Tableau III.7. Paramètres et niveaux choisis pour la préparation des microsphères de KT

Matières / *Essais*	[KF/AlgNa](mg/mg)	$C_{\text{Carbonate de calcium}}$ (%, m/V)	Proportion de la PH (ml/100ml)
1	1000 [1/200]	5%	50
2	1250 [1/140]	7%	60
3	1500[1/120]	9%	70

Le tableau III.8 présente toutes les combinaisons pour les 27 expériences.

Tableau III.8. Compositions des différents essais de préparation des émulsions E/H contenant le PA.

Essai	[KF/Alg Na] X_1 (mg/mg)	C_{CaCO3} X_2(%)	*Volume de phase huileuse* X_3 (%)
1	1	1	1
2	1	1	2
3	1	1	3
4	1	2	1
5	1	2	2
6	1	2	3
7	1	3	1
8	1	3	2
9	1	3	3
10	2	1	1
11	2	1	2
12	2	1	3
13	2	2	1
14	2	2	2
15	2	2	3
16	2	3	1
17	2	3	2
18	2	3	3
19	3	1	1
20	3	1	2
21	3	1	3
22	3	2	1
23	3	2	2
24	3	2	3
25	3	3	1
26	3	3	2
27	3	3	3

- **Calcul des effets moyens**

Si on considère le paramètre A de niveaux i, la formule générale de calcul de l'effet moyen est donnée par l'expression (III.1) :

Effet de A au niveau i :

EAi = Moyenne des réponses lorsque A est au niveau i – Moyenne (III.1)

- **Calcul des interactions**

Les interactions, lorsqu'elles sont présentes dans un système, elles constituent les phénomènes les plusdifficiles à interpréter. Le calcul de l'interaction entre deux facteurs A et B consiste à calculer la modification apportée à la réponse du système du fait de la configuration particulière des deux facteurs A et B. L'interaction INAiBj est l'interaction qui existe lorsque A est au niveau i et B est au niveau j. Cette interaction est l'une des interactions possibles résultant des configurations AiBj.

Interaction entre le paramètre A au niveau i et le paramètre B au niveau j est donné par l'expression (III.2).

INAiBj = Moyenne des réponses lorsque (A=i, B=j) – MG – Eai – ABj (III.2)

- **Représentation graphique des interactions**

La représentation graphique des interactions entre (X1 et X2), (X1 et X3) et (X2 et X3) est effectuée en tenant en compte des effets des deux paramètres considérés aux niveaux correspondants avec l'interaction calculé pour ces deux paramètres aux mêmes niveaux.

De ce fait, le point sur le graphe se situe à la valeur calculée de l'expression III.3, et est considérée pour les paramètres X1 et X2 aux niveaux i et j respectivement.

MG + EX1(i) +EX2 (j) + INX1 (i) X2 (j) (III.3)

- **Calcul de réponse théorique**

Les résultats de calcul des effets moyens et des interactions entres les paramètres permet de calculer la réponse théorique du système, il suffit d'ajouter à la moyenne générale des réponses les effets moyens et les interactions correspondants au système. Ceci s'exprime par la formule (III.4) :

Réponse théorique (i, j, k) = MG + E X1(i) + E X2(j) + E X3(k) + IN X1(i)X2(j)
+ IN X1(i) + EX3 (k) + IN X2(j) + EX3 (k) (III.4)

Pour faciliter le calcul de la réponse théorique du système étudié, il est préférable d'écrire un modèle sous forme matriciel, tel que :

Réponse théorique (i,j,k)= MG + (EX1(1) EX1(2) EX1(3)) (X1)
+ (EX2(1) EX2(2) EX2(3)) (X2)
+ (EX3(1) EX3(2) EX3(3)) (X3)

$$+ [X1]^t \begin{bmatrix} INC\ X1(1)X2(1) & INC\ X1(1)X2(2) & INC\ X1(1)X2(3) \\ INC\ X1(2)X2(1) & INC\ X1(2)X2(2) & INC\ X1(2)X2(3) \\ INC\ X1(3)X2(1) & INC\ X1(3)X2(2) & INC\ X1(3)X2(3) \end{bmatrix} \cdot [X2] \quad \text{(III.5)}$$

$$+ [X1]^t \begin{bmatrix} INC\ X1(1)X3(1) & INC\ X1(1)X3(2) & INC\ X1(1)X3(3) \\ INC\ X1(2)X3(1) & INC\ X1(2)X3(2) & INC\ X1(2)X3(3) \\ INC\ X1(3)X3(1) & INC\ X1(3)X3(2) & INC\ X1(3)X3(3) \end{bmatrix} \cdot [X3]$$

$$+ [X2]^t \begin{bmatrix} INC\ X2(1)X3(1) & INC\ X2(1)X3(2) & INC\ X2(1)X3(3) \\ INC\ X2(2)X3(1) & INC\ X2(2)X3(2) & INC\ X2(2)X3(3) \\ INC\ X2(3)X3(1) & INC\ X2(3)X3(2) & INC\ X2(3)X3(3) \end{bmatrix} \cdot [X3]$$

Toutes les émulsions formulées ont subi une analyse par microscope optique.

D. Gélification

Elle est assurée par addition graduelle à l'aide d'une pipette, d'un volume (V) d'acide acétique glacial (V_{AAG}) qui dépend de la masse de $CaCO_3$

Les différents volumes d'AAG sont donnés sur le tableau III.9

Tableau III.9. Volumes d'AAG ajoutés

C_{CaCO3} (%)	$V_{acide\ acétique\ glaciale}$ (ml)
5%	0,5
7%	0,7
9%	0,9

E. Lavage et rinçage des microsphères

La phase huileuse a été éliminée et les microsphères obtenues contenues dans la phase aqueuse ont subi deux opérations de lavage et de rinçage :

- La première par une solution de $CaCl_2$ à 1% de tween 80, où le mélange a été porté sous agitation.
- La deuxième, et après avoir récupérés les microsphères par filtration, elle a été réalisée par une solution tampon acétate pH 4,5.

Après la filtration, nous avons mesuré la DO de tous les filtrats à la longueur d'onde maximale du KF.

F. *Séchage*

Aprés la récupération des microsphères, ces dernières ont été portées dans des boites de pétris puis séchées à l'air libre.

III.4.3 Caractérisation des microsphères

A. Quantification du KF encapsulé [65]

50 mg de microparticules séchées sont immergées dans 12,5 ml de 0.01 M solution tampon phosphate saline (pH 7,4) et mises dans un flacon ambré. Ce mélange est agité à 200 tr / min pendant 24 h. Ensuite, la solution sera centrifugée à 5000 tr / min et le surnageant sera recueilli pour calculer la quantité de PA présent 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, en utilisant une cuvette en quartz avec une longueur de trajet optique de 1cm.

Les paramètres d'encapsulation sont :

$$Rendement\ en\ capsulation(\%) = RE(\%) = \frac{m(microsphères\ obtenues)(g)}{(mpolymere + m_{PA\ introduit})(g)} \times 100 \quad \text{(III.6)}$$

$$Teneur\ en\ PA = \frac{m(actif\ encapsulé)(g)}{m(particules)(g)} \times 100 \quad \text{(III.7)}$$

$$Efficacité\ d'encapsulation(\%) = EE(\%) = \frac{masse\ d'actif encapsulé(g)}{masse\ d'actif introduit(g)} \times 100 \quad \text{(III.8)}$$

$$\text{Taux d'encapsulation}(\%) = \text{TE}(\%) = \frac{C_0 - Cn}{C_0} \times 100 \quad \text{(III.9)}$$

Avec :

C_0 : Concentration initiale de KF (mg/L).

C_n: Concentration de KF non encapsulé (mg/L) (calculé à partir de la DO mesurée préalablement).

B. Etude du gonflement des particules [65]

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

Milieu 1 : solution tampon pH=1.2.

Milieu 2 : solution tampon pH=7.4.

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 25 ml du milieu de dissolution.
- A des intervalles de temps réguliers (15 min pendant la 1erh puis chaque 1h jusqu'à 6h), les particules sont retirées du milieu de dissolution, posées sur du papier absorbant pour enlever l'excès de liquide ;
- Peser les microparticules obtenues à l'aide d'une balance analytique de précision.

Le taux de gonflement (TG) est calculé en utilisant la formule (III.10).

$$TG\ (\%) = \frac{m_f - m_i}{m_i} \times 100 \qquad \text{(III.10)}$$

Avec :

m_i : Masse initiale de PA, (mg)

m_f : Masse finale de PA, (mg)

C. Etude de la cinétique de libération du PA encapsulé [65]

Le mode opératoire du test de dissolution in *vitro* de KF a été réalisé dans un agitateur magnétique (à pale) thermostaté. L'expérience consiste à utiliser un godet de 400 ml de milieu de dissolution (pendant 2h dans le milieu pH 1.2 puis 4 h dans le milieu pH 7.4). Pendant cet essai le système est réglé à une température de 37 ± 0,5 °C et une agitation de 100 tr/min. On a introduit 44.4 mg de microparticules dans le panier et on a placé le système sous agitation en un intervalle de temps bien déterminé. Chaque un pas du temps, on a prélevé 5 ml de milieu de dissolution puis on a filtré immédiatement à l'aide d'un filtre seringue de porosité 0,45 µm tout en remplacant le même volume prélevé avec le milieu de dissolution pour la

reconstitution du volume totale du godet. Les volumes prélevés sont analysés par spectrophotométrie UV-Vis à la longueur d'onde maximale du KF.

f. Analyse par FTIR

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

❖ *Chapitre IV :*

Résultat et discussion

IV.1 Introduction

Dans cette partie nous allons récapituler et interpréter les différents résultats obtenus à l'issue de l'étude expérimentale où les contrôles physico-chimiques tels que la spectroscopie FTIR, UV-Vis et les paramètres d'encapsulation seront représentés.

IV.2 Caractérisation des matières premières

IV.2.1 Analyse par UV-Vis

Un balayage dans le domaine UV-Vis a été effectué afin de déterminer la longueur d'onde optimale λ_{max}, correspondant à l'absorption de la molécule KF dans différents milieux de dissolution.

La figure IV.1, illustre les trois courbes de balayage de la molécule de KF dans les solutions tampon pH 1.2, pH 7.4 et dans l'eau distillée.

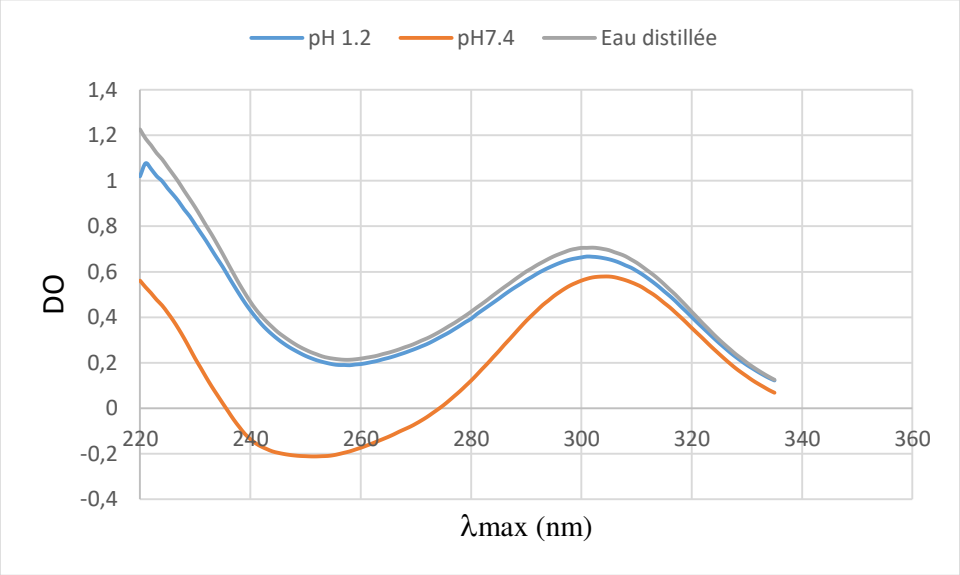


Figure IV.1. Courbe de balayage de KF dissout dans les solutions tampons pH1.2, pH7.4 et dans l'eau distillée (pH=7).

Les résultats montrent des bandes d'absorptions maximales définies aux longueurs d'onde données dans le tableau IV.1.

Tableau IV.1. Longueurs d'onde maximales du KF dans les trois milieux de dissolution

Milieu de dissolution	Solution tampon pH1.2	Solution tampon pH 7.4	Eau distillée
λ_{max2} (nm)	304	301	302

Ainsi, les courbes d'étalonnage obtenues du KF dissoute dans les milieux de dissolution : tampons pH1.2, tampon pH 7.4 et dans l'eau distillée, sont présentées sur les figures IV.2 à IV.4.

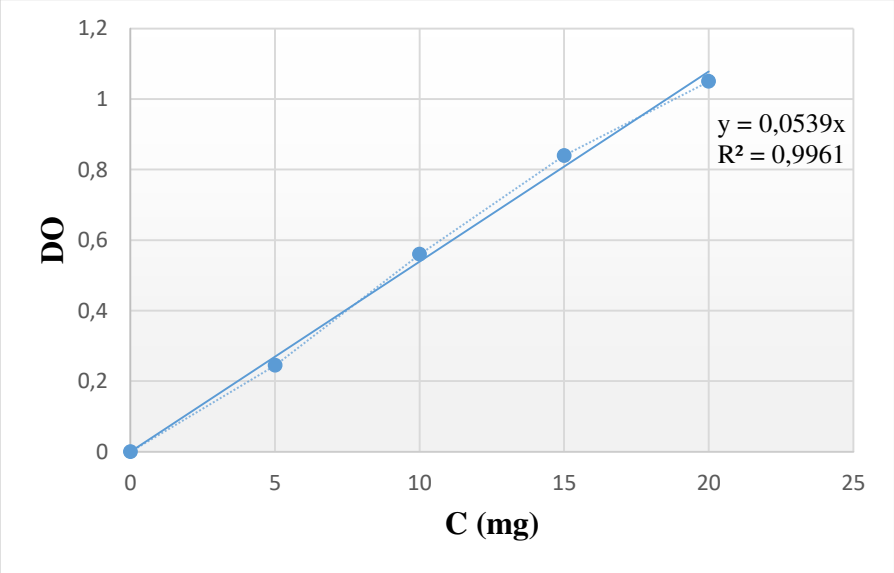


Figure IV.2 Courbe d'étalonnage de KF dans la solution tampon pH 1.2

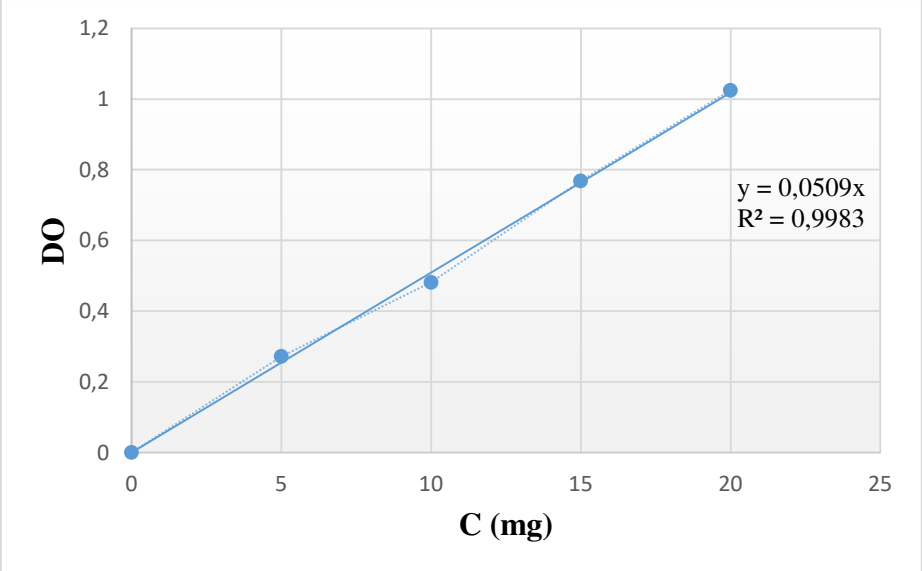


Figure IV.3 Courbe d'étalonnage de KF dans la solution tampon pH 7.4

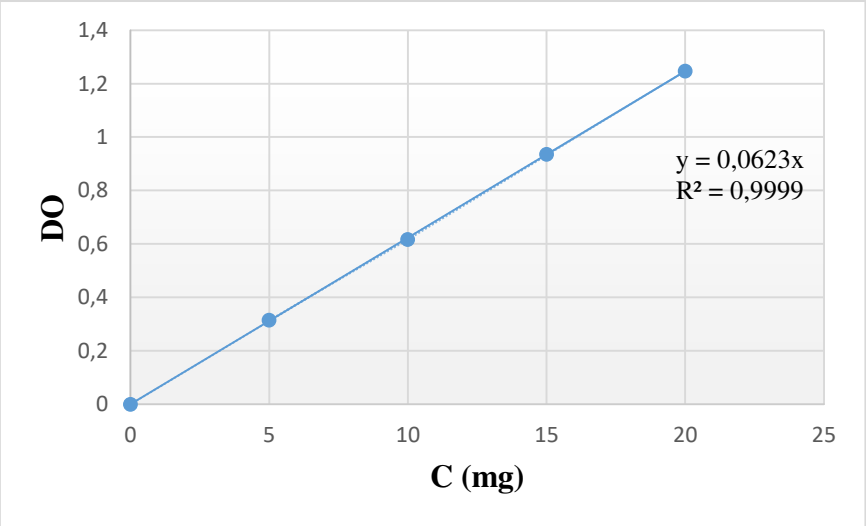


Figure IV.4 Courbe d'étalonnage de KF dans l'eau distillée

Selon les résultats obtenus, la spectrophotométrie UV-Vis est une méthode d'identification et de dosage convenable, car elle a permis une bonne analyse de la molécule du KF et ceci dans les trois milieux étudiés.

Le tableau IV.2, récapitule les différents résultats des courbes d'étalonnage obtenus y compris les équations et les coefficients de corrélations correspondant.

Tableau IV.2. Equations de courbes d'étalonnage et les coefficients de corrélation correspondant.

Milieu de dissolution	**Solution tampon pH1.2**	**Solution tampon pH7.4**	**Eau distillée**
Equation de la courbe d'étalonnage	y = 0,0509 * x	y = 0,0509 * x	0,0623 * x
Coefficient de corrélation (R^2)	0,9983	0,9983	0,9999

Ainsi, On remarque que les trois courbes d'étalonnage obtenues sont caractérisées par une bonne linéarité, ceci a été traduit par un coefficient de corrélation supérieur à 0,998.

IV.3. Formulation des émulsions E/H

Après chaque formulation une analyse microscopique a été réalisée à l'aide d'un microscope optique avec un agrandissement de 40 fois. Afin d'assurer une dispersion homogène et une bonne vue, une goutte de chaque émulsion a été étalée entre une lame et une lamelle. Les photos des figures IV.5 à IV.7 présentent les trois séries des 27 formulations.

- Série 1 :

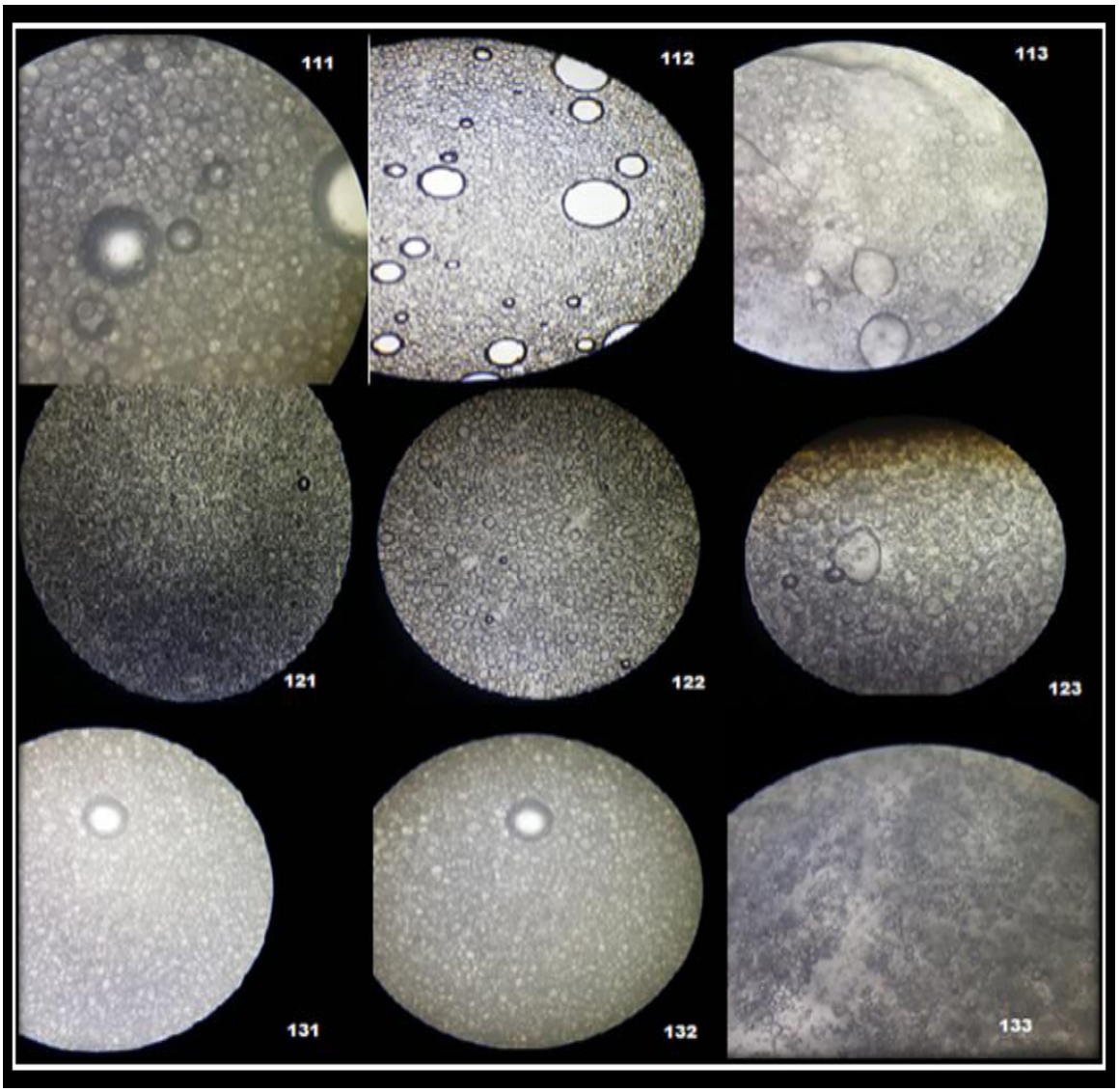


Figure IV.5. Aspect microscopique des émulsions E/H des essais 1 à 9, [X1 = 1/200], X2 = 5 à 9 % et X3 = (50%, 60%, 70%).

Pour toutes les formulations obtenues, la phase aqueuse est bien dispersée dans la phase huileuse. Cependant, pour la même concentration d'alginate, les formulations ayant des proportions de la phase huileuse allant de 1 à 3, les dimensions des gouttelettes s'accroissent avec la proportion de la phase huileuse et les gouttelettes de la phase interne n'ont pas des tailles homogènes.

- Série 2

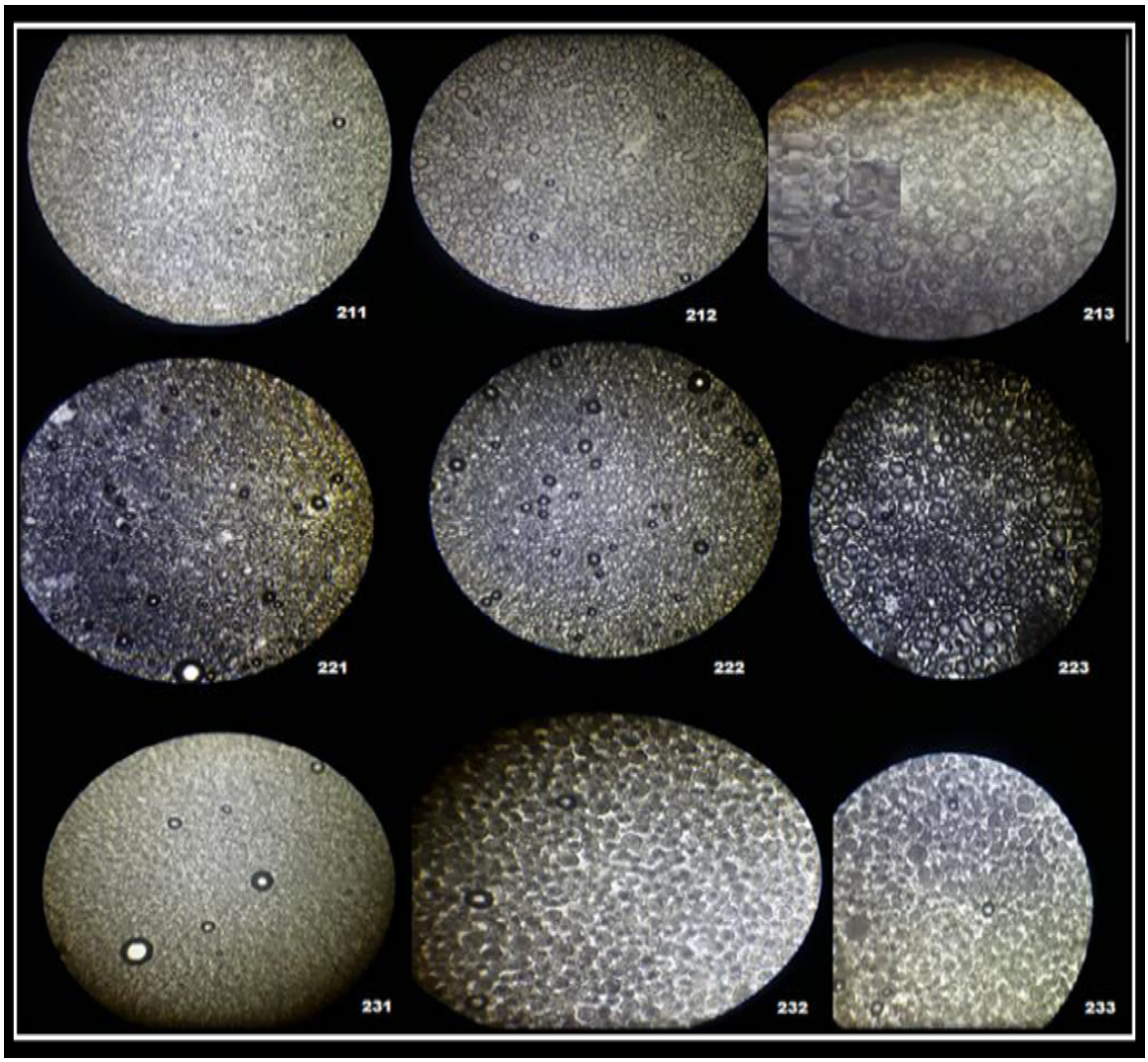


Figure IV.6. Aspect microscopique des émulsions E/H des essais 10 à 18, [X1 = 1/140], X2 = 5 à 9 % et X3 = (50%, 60%, 70%).

Pour ces formulations la concentration d'alginate est de 1.25%. De même on remarque une bonne dispersion de la phase aqueuse pour toutes les émulsions de la série 2, avec une augmentation de la taille des gouttelettes pour les proportions de la phase huileuse de 70%.

Cette constatation a été prouvée dans l'encapsulation de l'insuline par la même méthode (émusification/gélification interne), où une réduction importante de la taille des gouttelettes a été remarquée pour une teneur de la phase huileuse allant de 50 à 70%, [60].

- Série 3

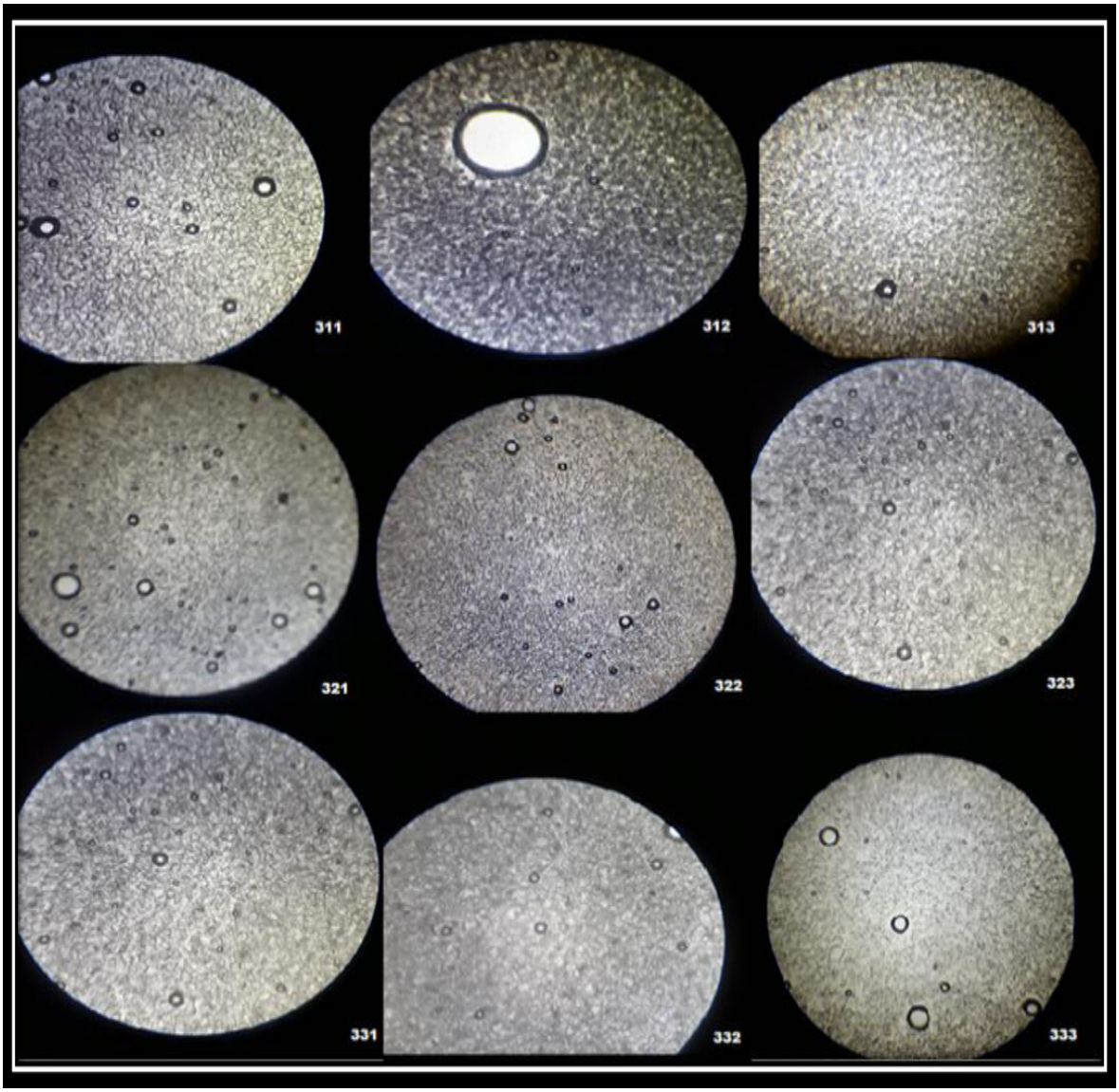


Figure IV.7. Aspect microscopique des émulsions E/H des essais : 19 à 27, [X1 = 1/120], X2 = 5 à 9 % et X3 = (50%, 60%, 70%).

Pour ces formulations, la concentration d'alginate est de 1.5%, d'où on remarque l'indépendance de la taille des gouttelettes à la proportion de la phase huileuse.

IV.4. Paramètres d'encapsulation

Les résultats des différents paramètres d'encapsulation des microsphères préparées sont résumés sur le tableau IV. 3.

Tableau IV.3. Paramètres d'encapsulation des 27 formulations réalisées

Paramètre / Essais	EE (%)	RE (%)	Teneur d'E (%)	TE(%)
1	12,745	10,29	12,745	83.306
2	14,122	9,32	14,121	99.036
3	26,587	4,95	26,587	98.394
4	2,797	46,97	2,797	92.616
5	5,099	25,79	5,099	89.406
6	24,054	5,45	24,054	89.406
7	1,835	71,58	1,835	96.147
8	9,603	13,68	9,603	96.789
9	26,581	4,95	26,581	90.369
10	3,231	57,78	3,231	61.348
11	11,155	16,75	11,156	95.325
12	33,056	5,65	33,056	97.662
13	44,594	4,19	44,594	95.865
14	18,949	9,84	18,949	77.527
15	31,189	5,99	31,189	92.269
16	3,657	51,08	3,657	87.415
17	28,778	6,49	28,777	73.033
18	57,547	3,22	57,547	96.584
19	8,3186	26,09	8,3186	92.423
20	24,928	8,70	24,928	93.065
21	63,010	3,44	63,009	91.653
22	3,528	61,57	3,528	85.361
23	41,565	5,22	41,565	85.617
24	15,398	14,09	15,398	98.715
25	6,752	32,12	6,752	93.707
26	7,732	28,00	7,732	74.574
27	39,517	5,50	39,517	78.683
MG	20,975	19,95	20,975	87,249

A l'issu des résultats obtenus, on remarque que les paramètres d'encapsulation calculés dépendent fortement des trois facteurs étudiés : le rapport KF/AlgNa, la concentration du carbonate de calcium et la proportion de la phase huileuse.

L'EE d'encapsulation atteint un maximum de 63.01% (formulation N°21), ce qui correspond aux X1 = 1/120, X2 = 5% et X3 = 70%. Ces trois paramètres ont un effet considérable sur les deux étapes dont dépend la formulation : l'émulsification et la gélification [60].

Pour le TE, ces valeurs sont comprises entre 73.033 et 99.036 % (formulations N° 17 et N°2 respectivement). Dans ce cas une concentration d'alginate de 1% et une proportion de la phase huileuse de 60% sont utilisées.

IV.5. Modélisation des taux d'encapsulation par la méthode de TAGUCH

IV.5.1. Effets moyens

Le tableau IV.4 récapitule les résultats des effets moyens des paramètres ciblés

Tableau IV.4. Effets moyens des paramètres d'encapsulation

Effet de [KF/Alg Na]			Effet de C_{CaCO3}			Effet la proportion de PH		
1	2	3	1	2	3	1	2	3
3.707	-2.785	-0.922	1.123	0.520	-1.644	-1.545	-1.969	3.515

La représentation graphique des effets moyens est illustrée sur les figures IV.8 à IV.10

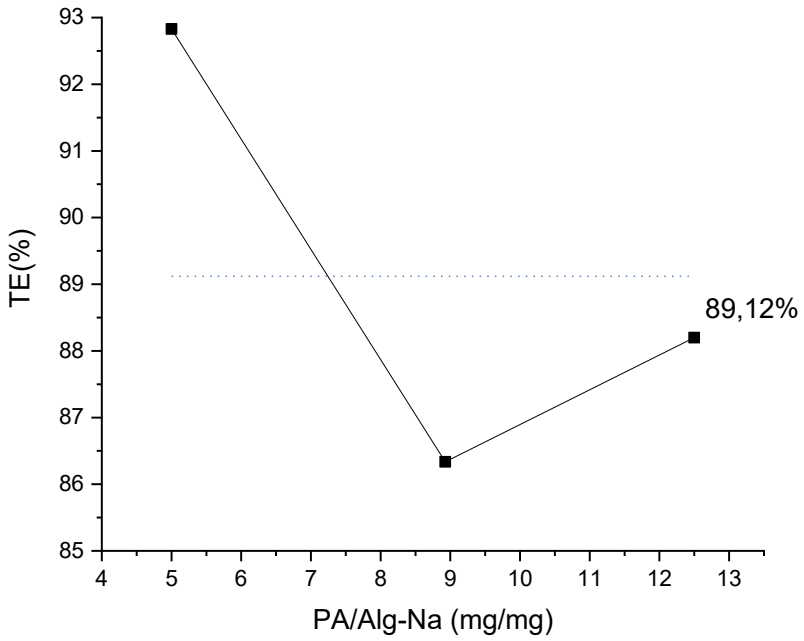


Figure IV.8 Effets moyens du rapport : KF/Alg Na (X1)

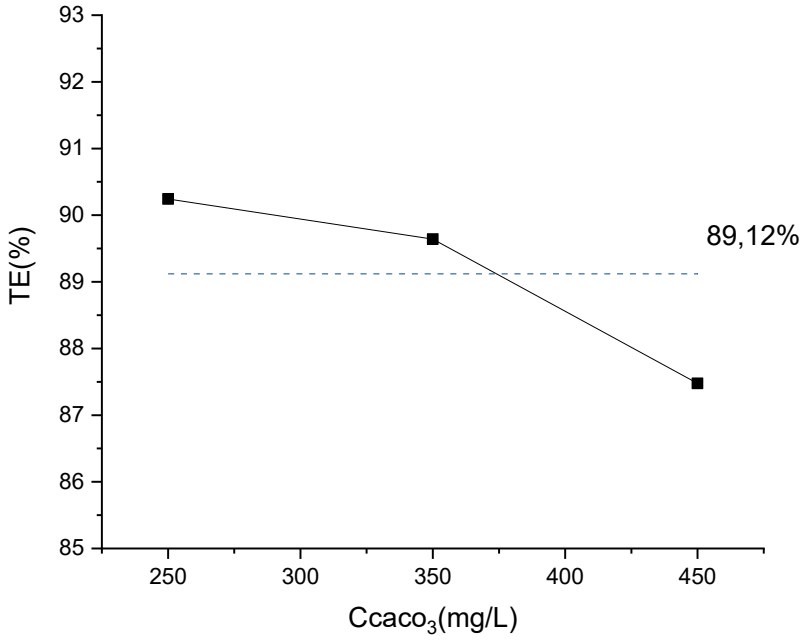


Figure IV.9 : Effets moyens de la concentration de $CaCO_3$ (X2)

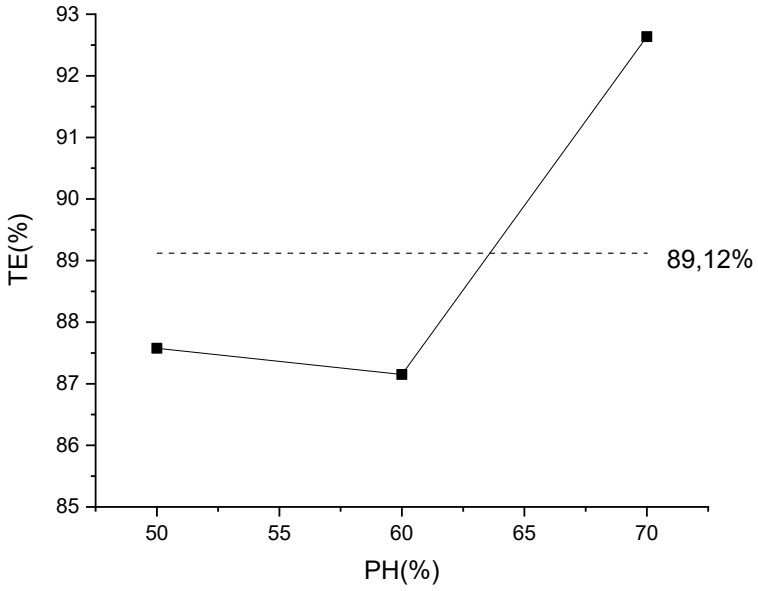


Figure IV.10 : Effets moyens de la proportion de la phase huileuse (X3)

A partir des figures illustrées, nous constatons que les trois paramètres étudiés ont des impacts comparables vis-à-vis la formulation des microparticules par la procède de gélification interne.

Selon les graphes établis, on peut dire que :

- Pour le rapport KF/Alg Na, ce dernier a plus d'effet sur l'encapsulation du KF, vue que l'alginate de sodium est le responsable du phénomène de gélification. En effet, sa concentration a un effet négatif sur le TE. Ce résultat a été constaté aussi dans l'encapsulation de l'insuline.
- Pour la concentration de $CaCO_3$, plus les cations Ca^{2+} sont présent dans le milieu plus le TE diminue, ceci peut être due au phénomène de réticulation assuré par ces cations bivalents, ce qui favorise le piégeage de molécule du KF à l'intérieur de la microparticule en empêchant sa libération dans le filtrat.
- Pour la proportion de la phase huileuse, cette dernière est responsable à la stabilité de l'émulsion, mais les résultats de son effet n'est pas important.

IV.6. Interactions entre les paramètres

Les valeurs des interactions entre les paramètres étudiés sont calculées et les résultats sont illustrés sur le tableau IV.5.

Tableau IV.5. Résultats d'interactions entre les paramètres

Interaction entre les paramètres d'encapsulation KF/Alg et carbonate MG = 89.122%			
C_{CaCO3} / [KF/Alg Na]	**Niveau 1**	**Niveau 2**	**Niveau 3**
Niveau 1	-0.374	-2.681	3.056
Niveau 2	-2.874	1.696	1.177
Niveau 3	3.249	0.984	-4.231
Interaction entre les paramètres d'encapsulation [KF/Alg Na] et % PH MG = 89.122%			
% PH / [KF/Alg Na]	**Niveau 1**	**Niveau 2**	**Niveau 3**
Niveau 1	-0.594	-3.248	3.842
Niveau 2	4.216	-2.405	-1.811
Niveau 3	-3.622	5.653	-2.031
Interaction entre les paramètres d'encapsulation : C_{CaCO3} et % PH MG = 89.122%			
% PH / C_{CaCO3}	**Niveau 1**	**Niveau 2**	**Niveau 3**
Niveau 1	-9,674	3,183	6,490
Niveau 2	7,532	-3,489	-4,043

Niveau 3	2,142	0,305	-2,447

Afin de montrer l'interaction entre les trois paramètres nous avons exploité ces résultats sous forme de graphes (figures IV.11 à IV.13).

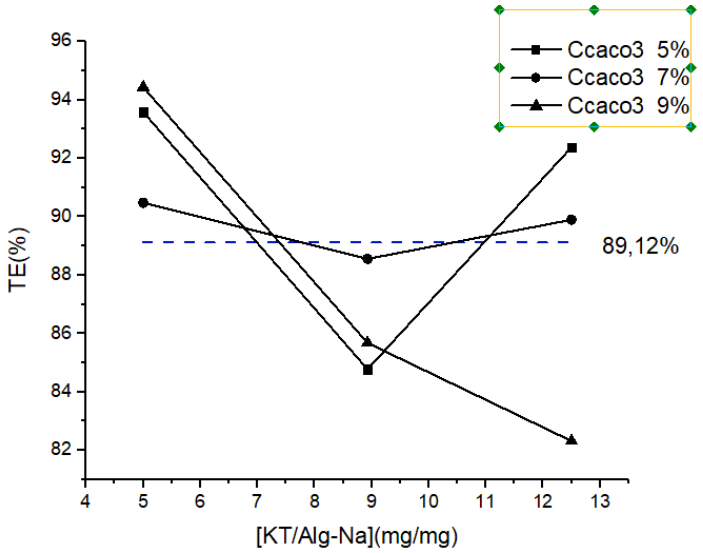


Figure IV.11 : Interactions entre les paramètres d'encapsulation [KT/Alg Na] et C_{CaCO3}

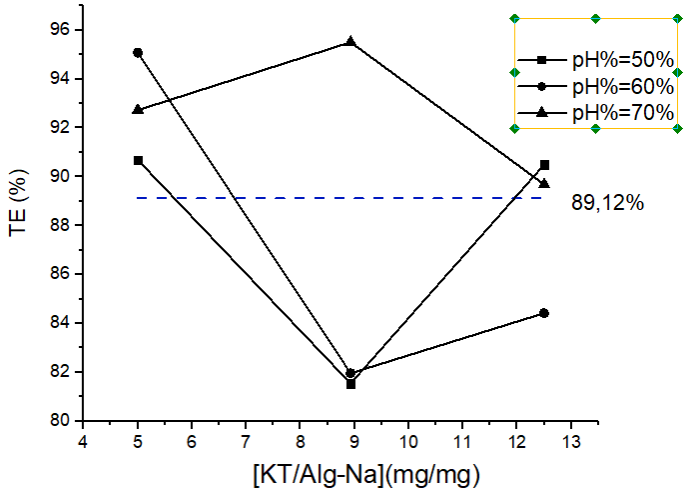


Figure IV.12 Interactions entre les paramètres d'encapsulation [KT/Alg Na] et % PH

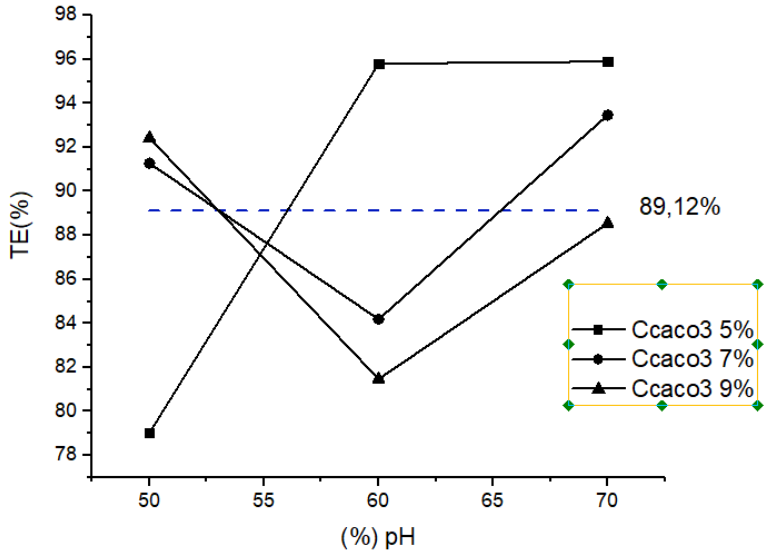


Figure IV.13 : Interaction entre les paramètres d'encapsulation : C_{CaCO3} et % PH

Résultat et discussions :

L'analyse de ces figures, nous constatons que :

Entre le KT/ALG et le carbonate : (interaction maximale 3.249%), le TE(%) décroitre légèrement avec l'augmentation de [kT/AlgNa] jusqu'à (niveaux 2), et pour le (niveaux 3) le TE(%) augmente pour des doses de $caco_3$ allant de 5% a 7%

Entre le KT/ALG et huile : en remarque que le TE(%) décroitre légèrement avec l'augmentation de [KT/AlgNa] (neveux 3), d'une manier générale la variation de concentration a peu d'effet par rapporte à celui entre les KT/Alg Na et carbonate

Entre carbonate et huile : le pourcentage d'encapsulation est amélioré fortement en fonction de l'augmentation de la phase huile (70%), en générale l'effet généré par la variation de ces teneurs réactive et plus important, dont l'interaction : -9.674%

IV.7. Expression du modèle

Afin d'évaluer les taux d'encapsulation aux niveaux étudiés et aux autres niveaux, une exécution du logiciel MATLAB 7 après l'élaboration d'un programme a été réalisée. Le modèle matriciel de TAGUCHI est donné par les expressions IV.6.

$$\begin{aligned} \textbf{TE (\%)} = {} & 89.12 + (3.707 \quad -2.785 \quad -0.922) \quad (X1) \\ & + (1.123 \quad 0.520 \quad -1.644) \quad (X2) \\ & + (-1.545 \quad -1.969 \quad 3.515) \quad (X3) \\ & + [X1]^t \begin{bmatrix} -0.374 & -2.681 & 3.056 \\ -2.874 & 1.696 & 1.177 \\ 3.249 & 0.984 & -4.231 \end{bmatrix} \cdot [X2] \end{aligned} \qquad \text{(IV.6)}$$

IV.8. Détermination des taux d'encapsulation théoriques

Le tableau IV.6 récapitule les valeurs des TE (%) mesurés et les TE (%) théoriques. Ces valeurs sont exploitées graphiquement sur la figure IV.14.

Tableau IV.6. Taux d'encapsulation mesurés et théoriques du KF.

Essais N°	$TE_{mesuré}$ (%)	$TE_{Théorique}$ (%)	Ecart : ($TE_{mesuré}$ - $TE_{Théorique}$)
1	83,3065	81,7646	1,5419
2	99,0369	99,3591	-0,3222
3	98,3948	95,6145	2,7803
4	92,6163	91,5196	1,0967
5	89,4061	89,2339	0,1722
6	89,4061	90,675	-1,2689
7	96,1476	98,7862	-2,6386
8	96,9897	92,6396	4,3501
9	90,3692	91,8806	-1,5114
10	61,3481	65,3102	-3,9621
11	95,3258	92,9369	2,3889
12	97,6629	96,0896	1,5733
13	95,8651	96,9438	-1,0787
14	77,5279	80,6902	-3,1623
15	92,2696	98,0286	-5,759
16	87,4156	87,3747	0,0409
17	73,0335	77,2601	-4,2266
18	86,5842	92,3985	-5,8143
19	92,4237	85,0034	7,4203
20	93,0658	96,1325	-3,0667
21	91,6533	96,0069	-4,3536
22	85,3611	86,3791	-1,018
23	85,6179	82,6278	2,9901
24	98,7159	94,688	4,0279
25	93,7078	91,1101	2,5977
26	74,5746	74,498	0,0766

27	*78,6838*	*81,3581*	*-2,6743*

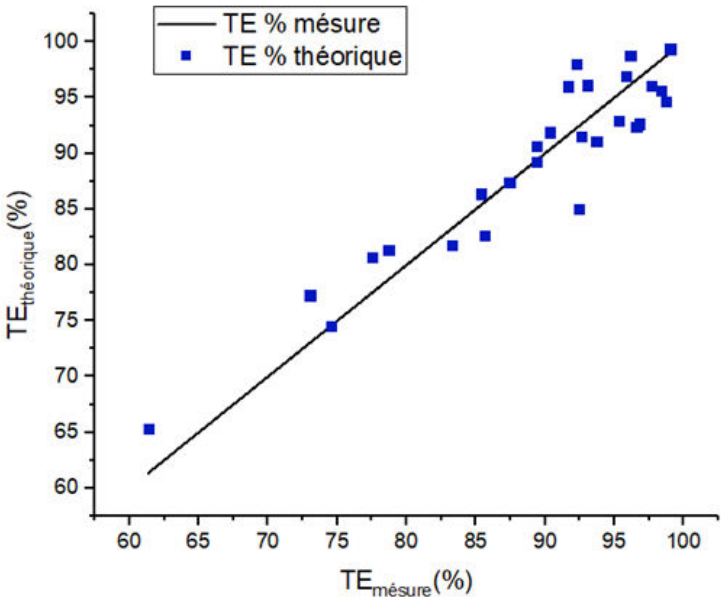


Figure IV.14 : Représentation graphique des TE mesurés et théoriques du KF

D'après les résultats obtenus (tableau (IV.6) et figure (IV.14)), nous constatons qu'il existe de faibles écarts (sauf dans le cas des essais de 15, 18 et 19) entre les TE mesurés et calculés aux niveaux considérés pour les trois paramètres étudiés. Ces différences entre les résultats mesurés et les résultats théoriques, peut être expliquée par le fait que l'encapsulation dépends aux d'autres paramètres que les concentrations du KT/ Alg Na, de la concentration de carbonate de calcium et de la proportion de la phase huileuse.

IV.9. Test de gonflement des microparticules

Ce test consiste à quantifier le liquide absorbé par les microparticules en fonction du temps jusqu'à l'équilibre.

Les résultats obtenus sont donnés dans le Tableau (IV.7) et (IV.8) et la figure (IV.15)

Solution tampon pH 1.2

Tableau IV.7 : Taux de gonflement dans le milieu pH 1.2

T (min)	*15*	*30*	*45*	*60*	*90*	*120*	*180*	*240*	*300*	*360*
m_{finale} de PA (mg)	*25.4*	*25.6*	*21.9*	*26.3*	*26.5*	*26.8*	*26.8*	*267.*	*26.5*	*26.4*
$m_{initiale}$ de PA (mg)	*25*	*25*	*25*	*25*	*25*	*25*	*25*	*25*	*25*	*25*
TG % (m/m)	*1.57*	*2.34*	*3.47*	*4.94*	*5.66*	*6.71*	*6.71*	*6.36*	*5.66*	*5.30*

Solution tompon PH=7.4

Tableaux IV.8 : taux de gonflement dans le milieu 2 (PH=7.4)

T (min)	15	30	45	60	90	120	180	240	300	360
m_{finale} de PA (mg)	65.5	101.3	104.7	108.7	114	127.5	155.3	193.2	200	197.2
$m_{initiale}$ de PA (mg)	25	25	25	25	25	25	25	25	25	25
TG (%)	61.83	75.32	76.12	77.00	78.07	80.39	83.90	87.06	87.05	87.32

Résultat et discussion

A partir des résultats obtenus lors des études de gonflement des formule de capsules étudiées, on remarque que :

- ✓ Les taux de gonflement augmentent d'une façon progressive en fonction du temps dans les deux milieux de dissolution étudiés et pour toutes les formules de capsules testées.
- ✓ Les taux de gonflement sont plus importants dans le milieu pH7.4par rapport au milieu pH1.2, pour toutes les formules étudiées.
- ✓ Les taux de gonflement sont plus importants lorsque la concentration en ALG augmente dans les capsules dans les deux milieux étudiés.
- ✓ Les taux de gonflement des capsules dans le milieu pH1.2 varient entre1.57% et atteint un maximum de 6.71%
- ✓ Les taux de gonflement des capsules dans le milieu pH7.4 varient entre 61.83% et atteint un maximum de 87.32%

- La figure IV.15 montre les taux de gonflement des capsules dans les deux milieux de dissolution étudiés

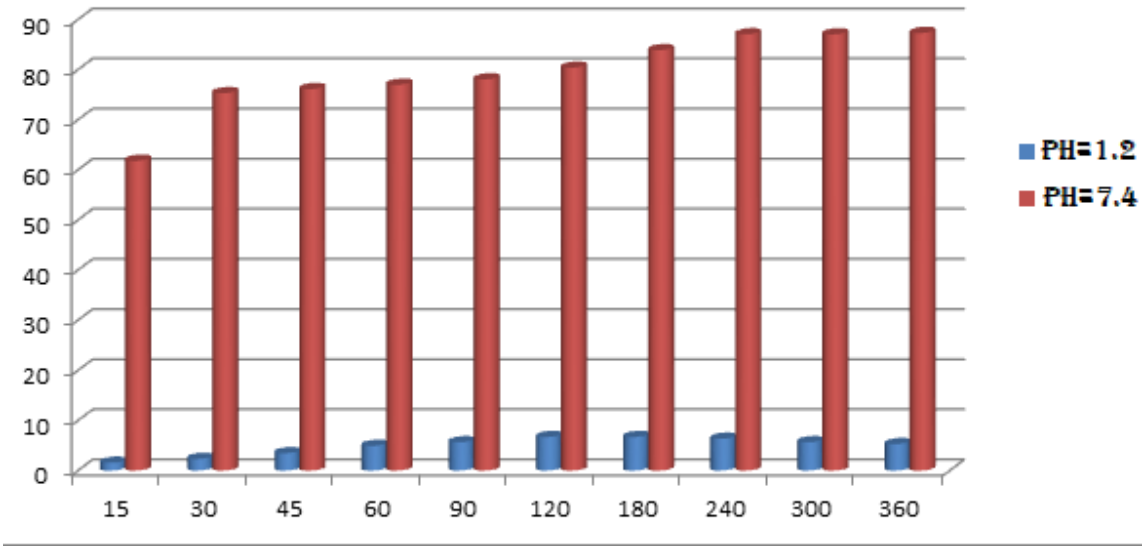


Figure IV.15 Taux de gonflement dans les deux milieux (pH=1.2 et pH=7.4)

- L'ALG est un polysaccharide de charge négative. Ces charges sont liées aux groupements – COOH des monomères G et M de la macromolécule. Ces monomères sont sous la forme non dissocié à pH1.2 < (pH3.5), les monomères sont pour la plupart sous la forme –COO-, ceci contribue à l'augmentation de la différence de pression osmotique entre les deux milieux interne de capsules et externe donc le taux de gonflement augmente considérablement, jusqu'à atteindre un état équilibre. En effet, des études ont montrées que l'ALG ayant un (Pka =3.5), est un poly électrolyte chargé négativement présentant plusieurs formes ionisées à différent pH du milieu de dissolution.

- ***Pour pH <PH 3,5*** : la neutralisation des charges conduit à un rapprochement des chaînes qui s'insolubilisent et précipitent. En dessous de pH 3 un risque d'hydrolyse des chaînes est très probable ; ce qui explique les taux de gonflement faible dans le milieu pH1.2
- ***Pour des 3,5 <PH<10*** : les fortes répulsions électrostatiques entre groupements carboxylate tendent à écarter les chaînes les unes des autres, produisant des solutions visqueuses et stables. Ces données est en accords avec les forts taux de gonflement obtenus dans le milieu pH7.4
- ***pH >PH 10*** : l'alginate précipite

IV.10 : Etude de la libération

Pour l'ensemble des essais, les prélèvements des échantillons sont réalisés sur une période de temps de 360 min à partir du milieu de dissolution (pH= 7.4) simulé au milieu intestinal et milieux de dissolution (PH=1.2) simulé au milieu gastrique, puis caractérisés par spectrophotométrie UV-Visible pour déterminer le pourcentage de kétotiféne dissous.

Le tableau IV.9 illustre les résultats du test de libération du KF dans les mileux gastro-Intestinaux.

Tableaux IV.9 : T% de libération de kétotiféne pondant 360min

T (min)	15	30	45	60	180	210	240	300	360
Taux de libération de KF (%)	3.76	7.52	11.49	15.87	13.71	19.91	25.66	29.42	48.00
pH	Milieux gastrique PH=1.2					Milieux intestinal PH=7.4			

Les résultats de la cinétique de libération de kétotiféne encapsulée dans les microsphères d'alginate aux conditions standards sont schématisés sur la figureIV.16.

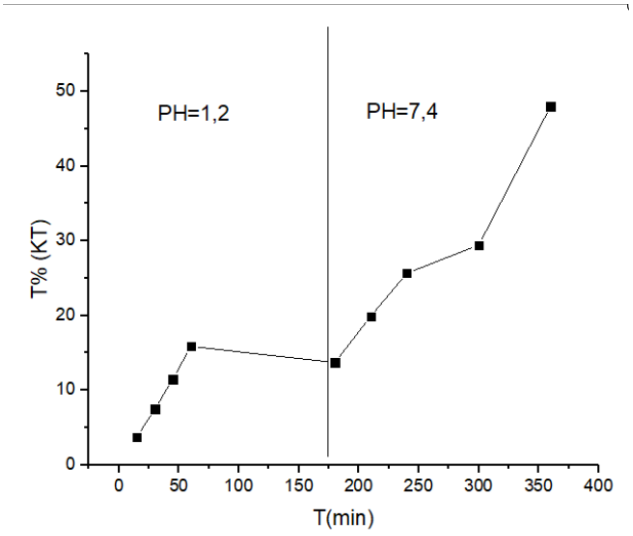


Figure IV.16 : Profil de libération de kétotiféne fumarate encapsulé dans les milieux gastro-intestinaux

- Résultat et discussion

A pH gastrique (pH=1.2) :

, la libération de kétotiféne fumarate encapsulé est rapide et presque totale, elle atteint 15.87% dès les premières 5 min, mais au-delà de cette valeur elle devient lente où elle a conduit à un pourcentage de libération totale de 13.81 % à 2h.

Au passage au pH intestinal (pH=7.4) : une dissolution rapide et complète des microsphères s'est produit ce qui permet une libération totale et immédiate de kétotiféne fumarate. Il est important de noter que l'augmentation de la concentration d'alginate a provoqué une rétention légèrement plus élevée de protéines à pH 1.2. Ainsi, la libération de kétotifène en milieu acide a diminué lorsque la concentration d'alginate augmente cependant, une dissolution complète a également été observée après le transfert des microsphères au pH intestinal. Néanmoins, en raison de la viscosité plus élevée de la solution d'alginate, la formulation devient difficile avec des concentrations supérieures

  - Ce Sont les résultats obtenus par les chercheurs

- Les travaux de recherche P. Goudanavar et al. (2010) [67] et de Mahmoud M. Ahmed et al. (2013) [68] réalisés sur l'encapsulation d'un principe active par la technique de la gélation i montrent une libération très lente du principe actif dans un milieu de dissolution acide (pH 1,2) et ce pendant deux (02) heures. Toutes les microparticules sont presque maintenues intactes sans aucun gonflement. Le taux de dissolution maximum du principe actif n'excède pas 5% et 16% pour les études de Goudanavar et al. (2010) et de Mahmoud. M Ahmed et al. (2013) respectivemen
- Les travaux antérieurs de Mahmoud M. Ahmed et al. (2013) [68] montrent que le gonflement de ce polymère peut être amélioré en présence des ions phosphate, milieu de dissolution de nos expériences. L'échange du calcium divalent impliqué dans des liaisons électrostatiques entre divers fragments de carboxylate de la chaîne d'alginate, avec le sodium monovalent conduit à une pression osmotique accrue à l'intérieur du gel, ce qui l'amène à gonfler. Le gonflement de l'alginate imprégné dans les microparticules fait augmenter leur porosité, ce qui a permis la libération rapide [68, 69]
- La comparaison de nos résultats expérimentaux obtenus dans un milieu intestinal (pH= 7.4) à ceux des travaux antérieurs réalisés par P. Goudanavar et al. (2010) [67] et de Mahmoud M. Ahmed et al. (2013) [68] dans un milieu gastrique (pH=1,2) pour le

principe actif, kétotiféne permet de conclure que le taux de dissolution est plus élevé dans le milieu intestinal sachant que nous avons atteint dans notre étude un maximum de pourcentage cumulé de 48% (PH=7.4)et de 15 % (PH=1.2)

IV.11: Caractérisation par spectroscopie Infra-Rouge :

L'analyse FTIR d'alginate de sodium, de kétotiféne fumarate des microparticules chargées et vièrges est traduite par les spectres et les principales bandes caractéristiques.

Le spectre FTIR des microparticules vierges et les bandes caractéristiques des microparticules vierges sont présentés par la figure IV.17 et le tableau IV.10.

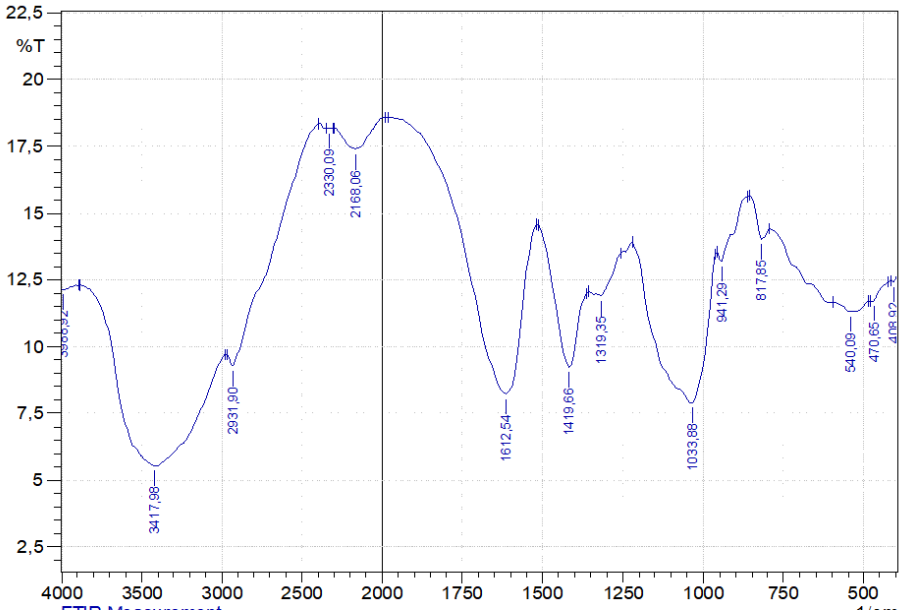


Figure IV.17 : Spectre FTIR d'alginate de sodium

Tableaux IV.10 : Bandes caractéristiques du spectre FTIR d'alginate de sodium

Nombre d'onde (cm^{-1})	**Liaison**
3417.98	ν_s **(O-H)**
1612.54	ν_s **(C=O)**
1033.81	ν_s **(C-O)**
2931.90	ν_{as} **(C-H), CH3**

Le spectre FTIR des microparticules vierges et les bandes caractéristiques des microparticules vierges sont présentés par la figure IV.18 et le tableau IV.11.

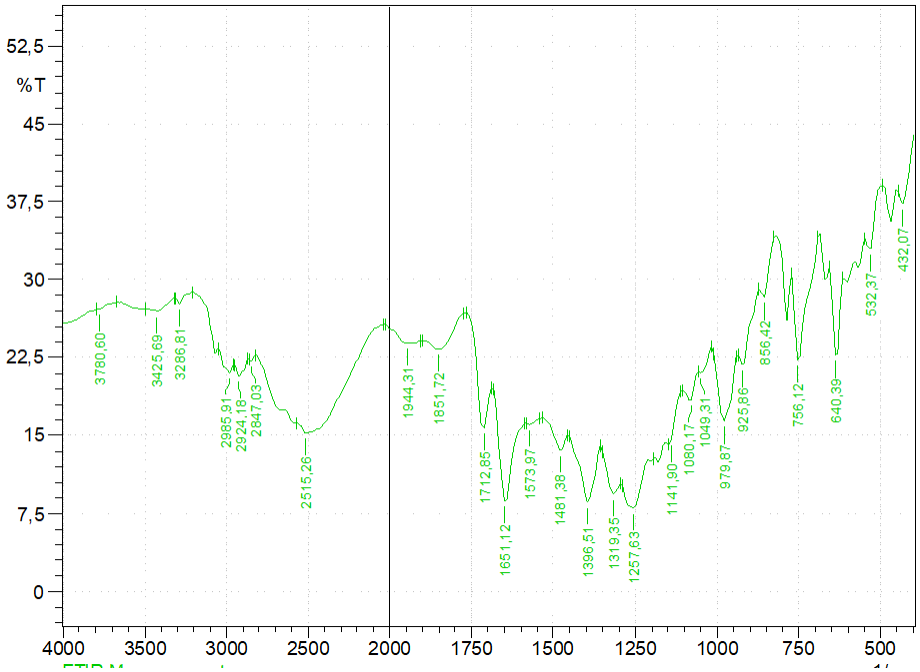


Figure IV.18: Spectre FTIR du kétotiféne fumarate

Tableaux IV.11 : Bandes caractéristiques du spectre FTIR de kétotiféne fumarate

Nombre d'onde (cm^{-1})	**Liaison**
2515.25	**ν (O-H)**
1661.12	**ν_s (C=O)**
1712.85	**ν_{as} (C=O)**
1396.51	**ν (C-O)**
1257.63	**ν_s (C-N)**
1319.36	**ν_{as} (C-N)**
1573.97	**δ_s (N-H)**

Le spectre FTIR des microparticules vierges et les bandes caractéristiques des microparticules vierges sont présentés par la figure IV.19 et le tableau IV.12.

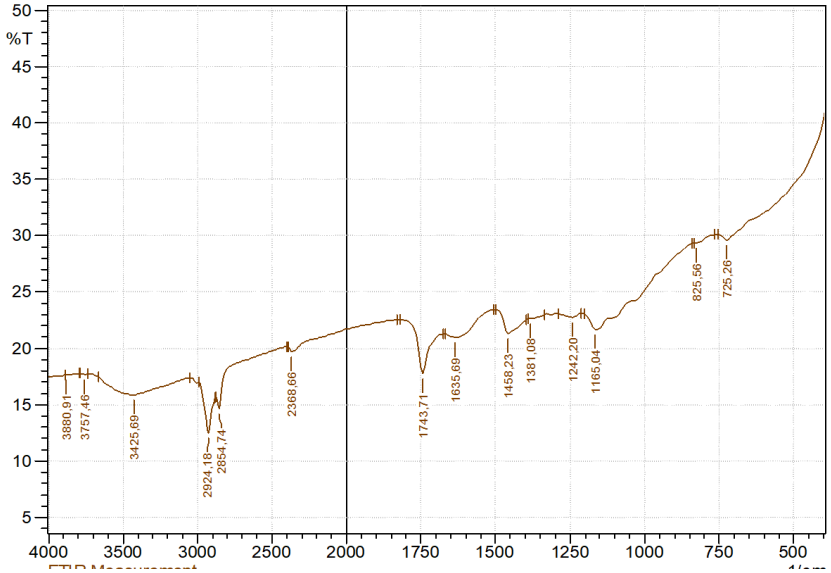


Figure IV.19 : Spectre FTIR des microparticules chargées de kétotiféne fumarate

Tableaux IV.12 : Bandes caractéristiques du spectre FTIR des microparticules chargées de kétotiféne fumarate

Nombre d'onde (cm^{-1})	Liaison
2360.95 cm^{-1}	**ν (O-H)**
2924.18cm^{-1}	**$\nu_{asymétrique}$ (C-H)**
2854.74cm^{-1}	**$\nu_{Symétrique}$ (C-H)**
1743.71	**ν (C=O)**
1165.04	**ν (C-N)**

Le spectre FTIR des microparticules vierges et les bandes caractéristiques des microparticules vierges sont présentés par la figure IV.20 et le tableau IV.13.

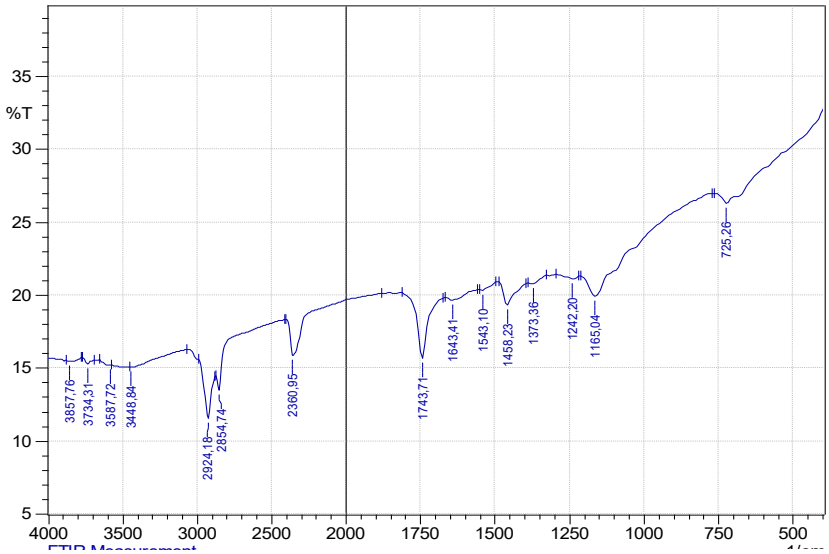


Figure IV.20 : Spectre FTIR des microparticules vierges

Tableaux IV.13 : Bandes caractéristiques du spectre FTIR des microparticules vierges

Nombre d'onde (cm^{-1})	Liaison
3448.84	**ν (O-H)**
2854.74	**$\nu_{symétrique}$ (C-H)**
2924.18	**$\nu_{asymétrique}$ (C-H)**
1453.10	**δ (C-H)**
1743.71	**ν (C=O)**
725.26	**δ (C-H)**

Discussion :

Pour l'alginate de sodium :

L'analyse de la figure IV.16nous renseigne sur les caractéristiques de base de la molécule d'ALG. Les principaux pics distinctifs sont apparents à :

- 3417.98cm-1correspondent aux vibrations d'élongation du groupe -OH
- Les deux bandes à1612.54 cm^{-1} et1419.66 cm^{-1} sont spécifiques des vibrations d'élongation du groupement –COOH. L'une est la vibration d'élongation symétrique (1419.66cm^{-1}), l'autre la vibration d'élongation asymétrique1612.54cm^{-1})
- 1033.88cm^{-1} correspondent aux vibrations d'élongation du groupement –C-O des acides uroniques
- 2931.90cm^{-1} correspondent aux vibrations d'élongation du groupement –C-H

Pour le kétotiféne fumarate :

L'analyse de la figure IV.17nous renseigne sur les caractéristiques de base de la molécule kétotiféne. Les principaux pics distinctifs sont apparents à :

- 2515.25cm^{-1}correspondent aux vibrations d'élongation du groupe –OH
- Les deux bands a 1661.12cm-1 et 1712.85cm-1 sont spécifiques des vibrations d'élongation du groupement C=O
- Les deux bands à 1257.63cm-1 et 1319.36cm-1 correspondent aux vibrations d'élongation du groupe C-N
- 1396.51cm-1 correspondent aux vibrations d'élongation du groupe C-O
- 1573.97cm-1 correspondent aux vibrations d'élongation du groupe N-H

Pour les microparticules chargées de KF:

- Présence d'un pic à 2360.95 cm^{-1}. Ce pic correspond probablement au pic du groupement fonctionnel -OH observé sur le spectre FTIR de l'alginate de sodium et le spectre FTIR de kétotiféne
- Présence de deux pics caractéristiques le spectre FTIR de l'alginate de sodium : 2924.18cm^{-1}, 2854.74cm^{-1}
- Présence d'un pic à 1743.71 cm^{-1}. Ce pic correspond probablement au pic du groupement fonctionnel –C=O observé sur le spectre FTIR du kétotiféne
- Présence d'un pic à 1165.04 cm^{-1}. Ce pic correspond probablement au pic du groupement fonctionnel C-N observé sur le spectre FTIR du kétotiféne

Pour les microparticules vierges :

- Présence d'un pic à 3448.84cm^{-1}. Ce pic correspond probablement au pic du groupement fonctionnel (-OH) observé sur le spectre FTIR de l'alginate de sodium
- Présence d'un pic à 1453.10 cm^{-1}. Ce pic correspond probablement au pic du groupement (C-H) observé sur le spectre FTIR de l'alginate de sodium
- Présence deux pic à2854.74cm^{-1} et 2924.18cm^{-1}. L'une est la vibration d'élongation symétrique (2854.74 cm^{-1}), l'autre la vibration d'élongation asymétrique2924.18cm $^{-1}$) Ce deux pic correspond probablement au pic du groupement fonctionnel (-C-H) observé sur le spectre FTIR de l'alginate de sodium
- Présence d'un pic à 725.26cm^{-1}. Ce pic correspond probablement au pic du groupement fonctionnel (-C-H) observé sur le spectre FTIR de l'alginate de sodium

- Présence d'un pic à 1743.71cm^{-1}. Ce pic correspond probablement au pic du groupement fonctionnel (-C=O) observé sur le spectre FTIR de l'alginate de sodium
    - nous notons qu'il n'y a pas de pic indiquant la présence de kétotifène donc les microparticules ne contiennent pas de kétotifène.

❖ *Conclusion générale*

Lors de cette étude l'encapsulation du kétotifène fumarate au sein des microparticules d'alginate de sodium a été menée à l'aide de la méthode de gélification interne en présence d'un agent réticulent : les cations calcium.

A travers l'étude réalisée, nous avons appliqué la méthode de TAGUCHI, qui nous a permis de cibler l'ordre d'influence des paramètres étudiés sur les propriétés d'encapsulation du kétotifène fumarate. Les interactions entre ces paramètres a été aussi mise en évidence.

La comparaison entre les taux d'encapsulation calculés et mesurés a montré qu'un faible écart a été estimé, ceci s'explique par la validité du modèle établi.

La caractérisation biopharmaceutique des microparticules d'alginate de sodium a été réalisée, en évaluant le taux de gonflement, et cinétique de libération dans les différents milieux de dissolution (pH=7.4 et pH =1.2) :

- Un taux de gonflement plus importants est atteint lorsque la concentration d'alginate de sodium augmente dans les deux milieux de dissolution étudiés. A pH 1.2, ce taux atteint un maximum de 6.71% et à pH 7.4 atteint un maximum 87.31%
- Le taux de gonflement est plus important dans le milieu pH7.4 par rapport au milieu pH1.2.
- La cinétique de libération du kétotifène fumarate est lente dans le milieu pH1.2 avec des taux de libération maximal de 15.87% dès les premières 5 min mais au-delà de cette valeur elle devient lente où elle a conduit à un pourcentage de libération totale de 13.71 % à 3h.
- La cinétique de libération du kétotifène fumarate dans le milieu pH7.4 avec des taux de libération maximum 48%

L'analyse par FTIR des matières premières et des microsphères vièrges et chargées de kétotifène fumarate, a montré l'encapsulation de ce dernier dans les particules obtenues.

En perspective, il sera intéressant de compléter l'étude par la cratérisations des microsphères obtenues par :

- Analyse granulométrique par diffractométrie Laser.
- Analyse par microscopie électronique de balayage.
- Analyse thermogravimétrique.

- Modélisation de la cinétique de libération du kétotifène fumarate pour toutes les formulations ayant le maximum d'efficacité et de taux d'encapsulation.

[1] Boh. B, Sumga. B, «Microencapsulation Technology and its applications in buidding construction materials», RMZ Materials and Geoenvironment, vol 55, N°3(2008).

[2] Boukara. K, Boukhari. H, « Caractérisation physico-chimique d'un hydrogel à base d'un bio polymère pour une application pharmaceutique», Mémoire de Master, Université de Médéa (2019).

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

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

[5] P. Piirïla, U. Hodgson,T, 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).

[6] F.Lavaud, F. Leynadier, F. Marmouz, «Histoire allergique», Le journal Faxé d'Allergologie (2008).

[7] 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).

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

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

[10] 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).

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

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

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

[14] F.L. Perrin, « Allergologie pratique », Editions Masson, 3ème édition, (1998).

[15] 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).

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

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

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

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

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

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

[22] 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).

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

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

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

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

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

[28] K. P. Sampath Kumar, Tejbe.SK, Shameem Banu, p. Naga Lakshmi, D. Bhowmik, « Microencapsulation Technologie », revue, Indian Journal of Research in Pharmacy and biotechnology, Mai, Juin 2013. .

[29] S. S. Bansode, S.K. Banarjee, D. D. Gaikwad, S .L. Jadhav, R .M. Thorat, « Microencapsulation: A review », revue, Vishal Institue of Pharmaceutical Education and Reasearch, Avril 2011.

[30] : Joël Richard, Jean-Pierre Benoît, Marie-Claire Venir Julienne « Microencapsulation », référence Internet J2210, Juin 2013.

[31] : Theron Félicie, « Conception et mise en œuvre d'un procédé intensifié continu de microencapsulation par polycondensation interfaciale », Thèse de doctorat de l'université de Toulouse, 10 Décembre 2009

[32] : Cristal Onesippe, « Etude des systèmes poly électrolytes / tensioactif en phase aqueuse et à l'interface liquide / gaz : Application à l'élaboration de microcapsules », Thèse de Doctorat, Université Montpellier II-13 Science et Techniques du Languedoc, 13 Avril 2010.

[33] : Philippe Legrand, Jean-Pierre Benoit, Stephanie Briançon, Elias Fattal, Htem Fessi, Catherine Passirani « sphéroïdes et formes vectorisées », Pharmacie Galénique : Formulation Et Technologie pharmaceutique, Maloine, 19 May 2009, page 224-229.

[34] : Marie Socha, « Apport des nanotechnologies dans le domaine des peptides et des Protéines : Application à l'absorption par voie orale et à la furtivité », Thèse de doctorat de

L'Université de Henry Poincare – Nancy 1, 15 Octobre 2008.

[35] : Sophi Rabeau, « Etude d'un procédé continu de microencapsulation basé sur un Micromélangeur », Thèse de doctorat, Ecole Nationale Supérieur des Industries Chimiques, 9 Décembre 2009.

[36] Arroudj. C, Benameur .H, « Etude d'un procédé de micro encapsulation par émulsification d'un principe actif anti-inflammatoire et caractérisation biopharmaceutique», Mémoire deMaster, Université A. Mira, Bejaia (2016)

[37] Benyahia S ; Abdallah Bouamrane.A. Encapsulation de la doxycycline et de l'aspirine : «Étude de l'effet des paramètres physicochimiques de préparation sur la stabilité des Microcapsules d'alginate». [Mémoire]. Khemis Miliana : Université Djilali Bounaâma ; 2017.

[38] Mansouri M. «Etude des propriétés thermique et mécaniques de biopolymères sous faisceau D'électrons» [Thèse]. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaid ; 2017.

[39] Aramwit.P. Introduction to biomaterials for wound healing. In: Magnus S. Wound Healing Biomaterials. Woodhead Publishing; 2016. p. 3-38.

[40] Abhilash P, Thomas D. Biopolymers for biocomposites and Chemical Sensor Applications. In: Sadasivuni KK, Ponnamma D, Kim J, Cabibihan JJ, Almaadeed MA. Biopolymer Composites in Electronics. Elsevier; 2017. p. 405-435.

[41] Hemaiswarya S, S.Carvalho I.Algal Biotechnology. In: Omics Technologies and BioEngineering; 2018.

[42] Niekraszewicz B, Niekraszewicz A.« The structure of alginate chitin, and chitosan fibres». In: Eichhorn S, Hearle JWS, Jaffe M, Kikutan T. Handbook of Textile Fibre Structure, volume2: Natural; Regenerated, Inorganic and Specialist Fibers. London: WoodheadPublishing; 2009. p. 266-304

[43] Azeem M, ul-Haq I, Batoul F. Algal-Based Biopolymers. In: Zia KM, Zuber M, Ali M.Algae Based Polymers, Blends, and Composites. Elsevier; 2017. p. 1-31

[44] François.G.J, « Nanotubes de carbone pour la délivrance transdermique électro-stimulée de substances biologiquement actives », Thèse de Doctorat, Université De Toulouse, (2017).

[45] Goujon I. «les alginates, excipients d'origine marine utilisés dans l'industrie pharmaceutique : application à la synthèse d'un gel chimique» [Thèse]. Nancy: Université Henri Poincaré ; 2004.

[46] Agarwa A, Abbott NL. « Polymeric materials for chronic wound and burn dressings». In: Farrar D. Advanced Wound Repair Therapies. Woodhead Publishing; 2011.p. 186-208.

[47] Kuen YL, Mooneye DJ. «Alginate: Properties and biomedical applications». Progress in Polymer Science 37 (2012) 106– 126.

[48] Rinaudo M. Main «properties and current applications of some polysaccharides biomaterials.Centre de recherché sure les MacromoléculesVégétales (CNRS)», affiliated with Joseph Fourier University; 2008.

[49] Ben Messaoud G. Structuration et contrôle de l'architecture de capsules à cœur liquide à base d'hydrogel d'alginate par association de biopolymères. [Thèse]. Université de Lorraine ; 2015

[50] BOUDERGA M. Adsorption du vert malachite par des composite « alginate/bentonite » [mémoire]. Tlemcen: Universite Abou Bekr Belkaid ; 2015.

[51] Leong, J. -Y., et al. «Advances in fabricating spherical alginate hydrogels with controlled particle designs by ionotropic gelationas encapsulation systems». Particuology (2015), http://dx.doi.org/10.1016/j.partic.2015.09.004

[52] D. Quong, R. J. Neufeld, G. Skjåk-Bræk, D. Poncelet, «External Versus Internal Source of Calcium During the Gelation of Alginate Beads for DNA Encapsulation», Biotechnology And Bioengineering, 57 (4), (1998)

[53] M. Ahmed, S. Abd El-Rasoul, S. H. Auda, Mohamed, A. Ibrahim, «Emulsification/internal gelation as a method for preparation of diclofenac sodium–sodium alginate micro particles», Saudi Pharmaceutical Journal, 21, (2013).

[54] D. Poncelet, R. Lencki, C. Beaulieu, J.P. Halle, R.J. Neufeld, A. Fournier, « Production of alginate beads by emulsification/internal gelation. I. Methodology". Applied Microbiology and Biotechnology, 38, (1992).

[55] L.R. Moses, K.J. Dillep, C/P. Sharma, «Beta cyclodextrin-insulin encapsulated chitosan/alginate matrix: oral delivery system». Journal of Applied Polymer Science, 75,(2000).

[56] M., Y. Anitha, C.P. Sharma, «Lipoinsulin encapsulated alginate-chitosan capsules: intestinal delivery in Diabetic rats». Journal of Micro encapsulation, 17, (2000).

[57] http//www.futura-sciences.com: consulté le 30/04/2020

[58] J. P. Paques, «Formation of Alginate nanospheres», Thèse de Doctorat, Université de Wageningen, (2014).

[59] S. H.Ching, N. Bansal, B. Bhandari, «Alginate gel particles–A review of productiontechniques and physical properties», Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 57(6), (2017).

[60] C. M. Silva, A. J. Ribeiro, I. V.Figueiredo, A. R.Gonc¸alves, F.Veiga, « Alginate microspheres prepared by internal gelation: Development and effect on insulin stability", International Journal of Pharmaceutics, 311, (2006).

[61] G. W. Vandenberg, J. De La Nouè, « Evaluation of protein release from chitosan-alginate microcapsules produced using external or Internal Gelation», Journal of microencapsulation, 18 (4), (2001).

[62] H . Guan, D. Chi, J. Yu, H. Li, «Encapsulated ecdysone by internal gelation of alginate microspheres for controlling its release and photostability », Chemical Engineering Journal, 168, (2011).

[63] H. Song, Ramdas, W. Paul, K.J. DileepW. Yu, M. Gao, X. Liu, X. Ma, «Microencapsulated probiotics using emulsification technique coupled with internal or external gelation process», Carbohydrate Polymers, 96, (2013).

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

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

[66] Synthése, elaboration et caractirisation des nanocomposite à base de magnésium pour le stockage solide d'hydrogène par Mounir sahli 2015

[67] : P. S. Goundanavar, R. S. Bagali, S. Chandrashekhara, S. M. Patli, « Desing and characterization of diclofenac sodium microbeads by ionotropique gelation », International Journal of Pharma and Bio Science, V1(2), (2010).

[68]: M. Mahmoud Ahmed, Saleh abd El-Rasoul, H. Sayed Auda, « Emulsification/internal gelation as a method for preparation of diclofenac sodium-sodium alginate microparticles », Saudi Pharmaceutical Journal, (2013).

[69]: Al-Kassas, Al-Gohary, Al-faadhel, « Controlling of systemic absorption of gliclazide through incorporation into alginate beads », Int. J. Pharm. (2007).