REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA
FACULTE DES SCIENCES

Département des sciences de la matière

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de

Master en chimie

Spécialité : **Chimie macromoléculaire**

Par :

Etudiante 1 : **ZOUAK Hafsa**

Etudiante 2 : **KEFAIFI Sarah**

Thème :

Effet des paramètres du procédé de microencapsulation par coacervation complexe

Le jury est composé de :

Dr. Lefnaoui Sonia	Grade : MCA	Etablissement : UYFM	Présidente
Dr. Yahoum Madiha M	Grade : MCA	Etablissement : UYFM	Examinatrice
Dr. Rebouh Samia	Grade : MCA	Etablissement : UYFM	Encadreur
M^{me}. Ghennam Asma	Grade : Doctorante	Etablissement : UYFM	Co-encadreur

Année universitaire : 2020/2021

REMERCIMENTS

Avant tout, on remercie, Dieu, le tout puissant de nous avoir donné le courage, la force, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.

Au début, on souhaite adresser nos remerciements les Plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.

On tient à remercier tout particulièrement nos encadrantes : M^me^ Rebouh. S et M^me^ Ghennam. A pour nous avoir suivis et conseillés tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

A celle qui a attendu avec patience les fruites de sa bonne éducation et de ses dévouements.

A ma source de vie, d'amour et d'affection.

A ma chère mère.

A celui qui s'est changé la nuit en jour pour m'assurer la bonne condition.

A mon cher père.

A toute ma famille, source d'espoir et de motivation, qui m'a toujours soutenue.

A toute personne qui porte le nom "Zouak"

A toutes mes collègues et mes amies de promotion de 2éme Master en chimie macromoléculaire,

A toute personne qui occupe une place dans mon cœur.

Je dédie ce travail à tous ceux qui ont participé à ma réussite.

A mes très chèrs sœurs et frères en particulier hanane et kamel.

A mes professeures qui ont toujours m'encouragé Dr. Rebouh S, madame Ghennam A et Madame wahiba.

A tous ceux que j'aime.

Zouak Hafsa

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mes parents,

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, son amour, son soutien, tous les

Sacrifices consente et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa

Présence dans ma vie.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de

Sacrifices et de privation pour m'aider à avancer dans la vie.

Mon frère Islam qui m'a beaucoup soutenu et aidé.

A mes sœurs Imane et Asmaa et toue la famille Kefaifi.

Mes amis.

Mon binôme hafsa et sa famille.

A tous ceux que j'aime.

Kefaifi Sarra

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة فائدة نظام الجيلاتين صمغ زانثان كغلاف لمكون صيدلاني نشط الايبوبروفان (مضاد للالتهاب) عن طريق الفم وبشكل خاص كمرشح لتطوير أشكال تذوق الطعام وتأثير المعلمات التغليف على الكبسولات الدقيقة. وتميزت الكبسولات الدقيقة التي تم الحصول عليها من حيث الهيكل الخارجي وتوزيع حجم الجسيمات المادية المغلفة والقدرة على الإفراج في بيئة محاكاة المعدة والأمعاء. جعلت النتائج التي تم الحصول عليها من الممكن التحقق من صحة اهتمام الكبسولات الدقيقة لتعديل حركية إطلاق المكونات النشطة الكارهة للماء سمح للحصول على حركية إطلاق الإيبوبروفين تباطأ في الحموضة (المعدة) وتسارع في حموضة الأمعاء. نتائج هذا العمل تثبت أن الجيلاتين / صمغ زانثان يمكن استخدامها كغلاف في الشكل المقاوم للمعدة.

الكلمات المفتاحية: الكبسلة الدقيقة، الجيلاتين، صمغ الزانثان، الطريق الفموي، الشكل المقاوم للمعدة، الاطلاق المتأخر، الجسيمات الدقيقة، الايبوبروفين.

Résumé

L'objectif de ce travail était d'étudier l'intérêt du système : gélatine/gomme de xanthane en tant que matériau enrobant d'un principe actif pharmaceutique l'ibuprofène (un anti-inflammatoire) destinés à la voie orale, et plus particulièrement en tant que candidat pour l'élaboration de formes gastrorésistantes, et l'effet des paramètres d'encapsulation sur les microcapsules. Les microcapsules obtenues ont été caractérisées en termes de morphologie, distribution de tailles des particules, état physique du PA encapsulé et capacité de libération en milieu gastrique et intestinal simulé. Les résultats obtenus ont permis de valider l'intérêt des microcapsules pour moduler les cinétiques de libération de principes actifs hydrophobes : ont permis de l'obtention de cinétiques de libération d'ibuprofène ralenties à pH acide (gastrique) et accélérée à pH intestinal. Les résultats de ce travail démontrent que le système gélatine/gomme de xanthane peut être utilisé comme enrobage dans les formes gastrorésistantes.

Mots-clefs : micro-encapsulation, gélatine, gomme de xanthane, voie orale, forme gastrorésistante, libération retardée, microparticules, ibuprofène.

Abstract

The aim of this work was to study the interest of the system: gelatin / xanthan gum as a material coating an active pharmaceutical ingredient, the Ibuprofen (anti-inflammatory) for the oral route, and more particularly as a candidate for the development of gastroresistant forms, and the effect of encapsulation parameters on microcapsules. The microcapsules obtained were characterized in terms of morphology, particle size distribution, physical state of encapsulated PA and release capacity in simulated gastric and intestinal environment. The results obtained

made it possible to validate the interest of microcapsules to modulate the kinetics of release of hydrophobic active ingredients: allowed to obtain kinetics of release of ibuprofen slowed at acidic pH (gastric) and accelerated at intestinal pH. The results of this work demonstrate that the gelatin/xanthan gum system can be used as a coating in gastroresistant forms.

Keywords: microencapsulation, gelatin, xanthan gum, oral, gastroresistant form, delayed release, microparticles, ibuprofen.

Sommaire

REMERCIMENTS.....I
Dédicace.....III
RESUME.....V
Sommaire.....XI
Liste des tableaux.....XI
Liste des figures.....XII
Introduction générale.....1
I.Chapitre I : La microencapsulation.....3
I.1.Historique.....3
I.2.Définition.....3
I.3.Classification des microparticules.....4
I.3.1.Les nanoparticules.....4
I.3.2.Les liposomes.....4
I.3.3.Les microparticules.....5
I.4.Intérêts de la micro-encapsulation.....5
I.4.1.Les principaux intérêts de la microencapsulation dans le domaine de la santé sont.....6
I.5.Domaine d'utilisation de la micro-encapsulation.....7
I.5.1.La micro-encapsulation dans le domaine pharmaceutique.....8
I.6.Critères de choix de la formulation et du procédé.....8
I.7.Procédés d'encapsulation.....8
I.7.1.Procédé physico-chimique.....9
I.7.1.1.Coacervation.....9
I.7.1.2.Evaporation-extraction de solvant.....10
I.7.1.3.Gélification thermique « hot melt ».....10
I.7.2.Procédés chimiques.....11
I.7.2.1.Polycondensation interfaciale.....11
I.7.2.2.Polymérisation interfaciale.....12
I.7.3.Procédés mécaniques.....12
I.7.3.1.Procédé de nébulisation-séchage.....12
I.7.3.2.Procédé d'enrobage en lit fluidise.....13
I.7.3.3.Gélification de gouttes.....13
I.7.3.4.Congélation de gouttes (spray-congealing).....13
I.7.3.5.Extrusion-sphéronisation.....14
I.8.Principaux matériaux et procédé d'encapsulation.....14
II.Chapitre II : Voie orale et formes à libération différée.....16
II.1.Généralités sur la voie orale.....16

II.2.Avantages et inconvénients de cette voie 17
II.3.Moyens d'amélioration de la biodisponibilité des PA 18
II.4.Formes à libération retardée ou différée pour la voie orale 19
II.4.1.Définition des différents types de libération du PA à partir des formes pharmaceutiques : 19
II.4.2.Les formes à libération retardée pour la voie orale 20
II.4.2.1.Les différentes stratégies d'obtention de formes à libération retardée pour la voie orale 20
III.Chapitre III : Rappels théoriques sur les complexes protéine-polysaccharides 22
III.1.Généralités sur les polyélectrolytes 22
III.2.Origine des polyélectrolytes 22
III.2.1.Polyélectrolytes synthétiques 23
III.2.2.Polyélectrolytes semi-naturels 23
III.2.3.Polyélectrolytes naturels : 23
III.2.3.1.Polysaccharides : 23
III.2.3.2.Protéines : 26
III.3.Comportement des mélanges de biopolymères : 33
III.4.Principaux paramètres physico-chimiques influençant la formation de complexes protéines-polysaccharides 33
III.4.1.Influence du pH 33
III.4.2.Influence de la force ionique 34
III.4.3.Influence de sucres 34
III.4.4.Influence de la densité de charge des macromolécules : 34
III.4.5.Influence de la masse moléculaire des biopolymères : 35
III.4.6.Influence du ratio massique protéine : polysaccharide : 35
III.4.7.Influence de la concentration totale en biopolymères 35
III.5.Influence des paramètres physiques sur la formation de complexes protéines-polysaccharides 35
III.5.1.Température 35
III.5.2.Agitation et temps d'agitation 36
III.6.Intérêt des complexes protéines-polysaccharides 36
IV.CHAPITRE IV : Partie expérimentale 37
IV.1.Introduction 37
IV.2.Matériels et Méthodes 37
IV.2.1.Matériels 37
IV.2.1.1.Principe actif 37
IV.2.1.2.Solvants et réactifs 38
IV.2.2.Méthode de caractérisation 38
IV.2.2.1.Spectroscopie infrarouge (IR-TF) 38

IV.2.2.2.Microscopie optique : 38
IV.2.2.3.UV- visible : 39
IV.2.2.4.Matériels de préparation 39
IV.3.Mode opératoire 39
IV.3.1.Caractérisation et analyse de la matière enrobante et du principe actif 39
IV.3.2.Procédés de microencapsulation : 41
IV.3.2.1.Préparation de la solution protéique : 41
IV.3.2.2.Préparation de la solution de polysaccharide : 41
IV.3.2.3.Préparation des solutions avec l'ibuprofène : 42
IV.3.2.4.Préparation de la solution de $CaCl_2$: 42
IV.3.2.5.Préparation des microcapsules : 42
IV.4.Résultats et discussion 43
IV.4.1.Analyse microscopique : 43
IV.4.2.Analyse Spectroscopie infrarouge (IR-TF) : 45
IV.4.3.Interprétions des résultats : 45
IV.5.Etude cinétique 46
IV.5.1.Cinétique de libération de l'Ibuprofène 46
IV.5.1.1.Dans le milieu gastrique 46
IV.5.1.2.Dans le milieu intestinal 47
IV.5.2.Interprétions des résultats et conclusion 48
CONCLUSION GENERALE 49
REFERENCES 50

Liste des tableaux

Tableau I.1: Matériaux et procédés de microencapsulation les plus couramment utilisés dans le domaine de la santé..... 15
Tableau III.1: Applications alimentaires et non-alimentaires du xanthane..... 25
Tableau III.2: Différentes fractions en acides aminés entrant dans la composition de la gélatine30
Tableau III.3: Caractéristiques des gélatines..... 32
Tableau IV.1: Caractéristique des réactifs utilisés..... 38
Tableau IV.2: Plan d'expériences..... 43

Liste des figures

Figure I.1: Représentation schématique de nanoparticules. a : nano sphères (NS), b : nanosphères + principe actif adsorbe, c, d : nano capsules principe actif dissous (c) ou disperse (d) 4
Figure I.2: Structure d'un liposome 4
Figure I.3: Morphologie des microparticules 5
Figure I.4: Intérêts de l'encapsulation dans le domaine de la santé 7
Figure I.5: Les différentes applications de la micro-encapsulation 7
Figure I.6: Les différents procédés d'encapsulation 9
Figure I.7: Réticulation interfaciale des microcapsules par coacervation complexe 10
Figure I.8: Schéma de principe du procédé d'encapsulation par gélification thermique 10
Figure I.9: Mécanisme de la polycondensation interfaciale 11
Figure I.10: Mécanisme de formation des microparticules par polymérisation interfaciale 12
Figure I.11: Schéma de principe de la gélification de gouttes 13
Figure I.12: Schéma de principe de congélation de gouttes 14
Figure II.1: Représentation schématique du devenir d'un principe actif dans l'organisme après administration orale 16
Figure II.2: L'anatomie du tractus gastro-intestinal et ses particularités (variations de pH et nature des enzymes présentes le long du TGI) 17
Figure II.3: Profil des concentrations plasmatiques obtenues dans le cas d'une forme à libération immédiate (I et II), ralentie (III et IV) et différée (VI) 19
Figure II.4: Comprimés MUPS (Multiple Unit Pellet System) de Nexium® 21
Figure II.5: Exemples de gélules contenant des pellets enrobés 21
Figure III.1: Structures chimiques de polycations et de polyanions synthétiques utilisés 24
Figure III.2: Structure de l'unité répétitive de la gomme xanthane 26
Figure III.3: Schéma représentatif des différentes structures d'une protéine 28
Figure III.4: Equilibre de charges au point isoélectrique 31
Figure III.5: Comportement des protéines-polysaccharides 33
Figure III.6: Représentation schématique de différentes étapes de complexation entre protéines et polysaccharides de charges opposées en fonction du pH. Les cercles bleus représentent la protéine, les lignes courbes représentent le polysaccharide. pHc : pH critique, ... 34
Figure IV.1: Spectre FTIR de gélatine (% Absorbance) 39

Figure IV.2: Spectre FTIR de gélatine (% transmittance).....40
Figure IV.3: Spectre FTIR de xanthane (% Absorbance) 40
Figure IV.4: Spectre FTIR de xanthane (% transmittance).....40
Figure IV.5: Spectre FTIR d'ibuprofène (%Absorbance).....41
Figure IV.6: Spectre FTIR de Ibuprofène (% transmittance).....41
Figure IV.7: Image de microscopie optique des microcapsules de l'Ibuprofène (1 : 1 après ET avant $CaCl_2$).....43
Figure IV.8: Image de microscopie optique des microcapsules de l'Ibuprofène (1 : 2) après et avant l'ajout du $CaCl_2$.....44
Figure IV.9: Image de microscopie optique des microcapsules de l'Ibuprofène (2 : 1) après et avant l'ajout du $CaCl_2$.....44
Figure IV.10: Image de microscopie optique des microcapsules de l'Ibuprofène (3 : 1) après et avant $CaCl_2$ 44
Figure IV.11: Spectre FTIR de X/GE (% Absorbance).....45
Figure IV.12: Spectre FTIR de X/GE/PA (% transmittance).....45
Figure IV.13: Courbe d'étalonnage de l'ibuprofène libéré dans milieu gastrique 47
Figure IV.14: Courbe de la variation de la concentration de l'ibuprofène libéré en fonction du temps dans un milieu gastrique.....47
Figure IV.15: Courbe d'étalonnage de l'ibuprofène libéré dans le milieu intestinal 48
Figure IV.16: Courbe de la variation de la concentration de l'ibuprofène libéré en fonction du temps dans un milieu intestinale.....48

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

La voie orale est la voie d'administration de principes actifs la plus répandue et une des mieux acceptée par les patients, notamment lorsqu'un traitement prolongé est nécessaire. Cependant, ce mode d'administration pose un problème pour de nombreux composés actifs, notamment ceux présentant une faible solubilité, une faible perméabilité et/ou une instabilité dans l'environnement gastro-intestinal. Leur microencapsulation dans des matrices polymériques peut permettre d'envisager la voie orale pour de tels actifs, à condition que les microparticules générées résistent aux environnements rencontrés dans le tractus gastro-intestinal et/ou jouent alors un rôle protecteur, tant pour le principe actif que pour les muqueuses rencontrées [1].

La microencapsulation peut être définie comme une technique permettant d'emprisonner des liquides ou des solides dans une enveloppe qui les isole du milieu externe permettant de les protéger ou de maîtriser leur libération. Elle regroupe l'ensemble des technologies qui permettent la préparation de microparticules individualisées, constituées d'un matériau enrobant contenant une matière active [2]. La formation de complexes diminue la solubilité des biopolymères dans l'eau, entraînant une séparation de phases avec une phase riche en complexes de biopolymères contenant l'ingrédient actif et une autre phase presque dépourvue de biopolymère mais riche en solvant [3]. Ce sont ces complexes qui forment la paroi des microcapsules après isolement. Cette formation est influencée par plusieurs conditions parmi lesquels : le pH, la force ionique, la concentration de polymères totaux, la composition de polymères, ainsi que le ratio des deux polymères, la nature de l'agent réticulant, ...

De manière générale, les mélanges de biopolymères (protéines et les polysaccharides) en solution aqueuse sont caractérisés par une instabilité due à une prévalence des contributions entropiques sur les contributions enthalpiques, du fait de la masse moléculaire élevée de ces macromolécules. Cette instabilité se traduit macroscopiquement par une séparation de phase et conduit, en fonction de l'équilibre entre les différents types d'interactions solvant-solvant, solvant-biopolymère ou biopolymère-biopolymère, à deux phénomènes bien distincts [4].

En plus de leur abondance et leur biodégradabilité ; c'est dans ce contexte que nous avons choisi de travailler sur un système modèle, composé d'un mélange protéine (la gélatine) /polysaccharide anionique (la gomme de xanthane).

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont connus pour leur effet toxique au niveau de la muqueuse gastrique et du duodénum [5]. Les AINS sont largement utilisés pour le traitement du rhumatisme articulaire chez les personnes âgées [6]. Dans cette étude,

l'Ibuprofène est utilisé comme un modèle de molécule lipophile, dont l'effet indésirable le plus fréquent est l'apparition de troubles digestifs pouvant aller jusqu'à la formation d'ulcères.

L'objectif de ce travail est d'étudier l'intérêt du système gélatine/xanthane en tant que matériau enrobant de principes actifs pharmaceutiques destinés à la voie orale de forme gastrorésistante et d'évaluer l'effet de certains paramètres de formulation et de procédé sur la qualité des microcapsules Ceci serait particulièrement adapté pour des principes actifs dont le site d'absorption préférentiel est situé au niveau intestinal et présentant une potentielle toxicité au niveau œsophagien ou gastrique.

Ce manuscrit est composé de quatre chapitres :

Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographique présentant des généralités sur la microencapsulation, les aspects généraux de la microencapsulation, les différents procédés de microencapsulation utilisés dans le domaine pharmaceutique.

Le deuxième chapitre comprend voie orale et formes à libération différée.

Ainsi, le troisième chapitre débute par des rappels sur les polyéléctrolytes et leur origine, ainsi qu'une revue générale sur les connaissances acquises sur les biopolymères à l'étude telles que la gélatine et la gomme xanthane qui ont été évoquées et détaillées dans ce dernier volet de ce chapitre.

Le dernier chapitre est consacré à l'ensemble des résultats obtenus à partir des différents tests effectués et la discussion de ceux-ci à la lumière des données bibliographiques disponibles.

CHAPITRE I :

La Microencapsulation

I. Chapitre I : La microencapsulation

I.1. Historique

Les premières technologies de microencapsulation mécanique ont été développées dans les années 1800, alors que les premiers essais de microencapsulation par coacervation datent de 1931, lorsque deux chercheurs, Bungenburg de Jong et Kaas ont découvert ce phénomène physique qui permet de réaliser des systèmes colloïdaux [7].

Cette technique est ensuite adaptée et modernisée, jusqu'aux années 1950 où elle est brevetée par Green et Schleider, et donne lieu à la première application industrielle de microencapsulation pour la production de papier « carbone ». Des pigments sont encapsulés dans des polymères naturels par coacervation complexe et incorporé dans les feuilles de papier. Ils sont ensuite libérés sous l'effet d'une faible pression, permettant ainsi la duplication d'un texte ou d'une figure.

Aujourd'hui, la microencapsulation permet l'immobilisation, la protection ainsi que la libération prolongée voire contrôlée de nombreux principes actifs, mais aussi l'amélioration ou la modification des propriétés fonctionnelles de ces molécules. Elle est ainsi devenue une technologie incontournable dans des applications très variées, allant de la pharmacie à l'agriculture durable, du traitement médical à l'industrie textile, en passant par la cosmétique, l'électronique et de nombreux autres domaines d'applications [8].

I.2. Définition

La microencapsulation est une des techniques de conservation de la qualité des substances sensibles et une méthode pour la production des matériaux avec de nouvelles propriétés intéressantes constituées d'un matériau enrobant contenant une matière active. La microencapsulation est un procède qui consiste à enfermer des particules micrométriques dans une coquille de polymère, qui a son tour les isole et les protège de l'environnement extérieur. Le produit obtenu par ce procédé est appelé les microparticules qui sont différencies par leur morphologie et leur structure [9].

Les objectifs de la microencapsulation sont donc divers, mais les principales motivations sont les suivantes :

- L'augmentation de la stabilité d'actifs sensibles (à l'oxydation, à la température, à l'humidité…);
- La conversion de formes liquides en formes solides, en poudres fluides ;
- Le masquage d'odeur et/ou de goût des molécules encapsulées ;
- La réduction de l'évaporation de matières actives volatiles ;

- La formulation de principes actifs utilisés en quantités minimes ;
- La libération modifiée et/ou contrôlée de principes actifs [1]

I.3. Classification des microparticules

I.3.1. Les nanoparticules

Les nanoparticules sont des systèmes colloïdaux dont la taille est comprise entre 10 et 1000 nm, 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, le principe actif est dispersé ou dissous dans la matrice de polymère, ou de lipides, on parle alors de nano sphères. Les nanoparticules peuvent aussi être de type réservoir, il s'agit alors de nano capsules,
Constituées d'un cœur généralement liquide entoure d'une fine membrane de polymère généralement dont l'épaisseur ne dépasse pas quelques nanomètres (figure 3) [10].

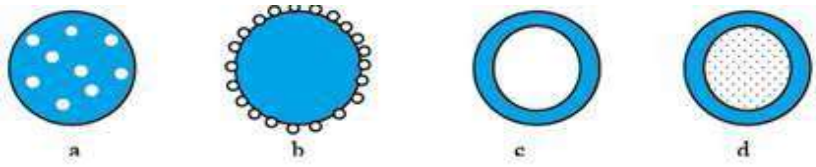


Figure I.1: Représentation schématique de nanoparticules. a : nano sphères (NS), b : nanosphères + principe actif adsorbe, c, d : nano capsules principe actif dissous (c) ou disperse (d)

I.3.2. Les liposomes

Les liposomes sont des structures vésiculaires constituées de bicouches de molécules amphiphiles qui délimitent deux compartiments aqueux : un compartiment aqueux interne ou cavité aqueuse et un compartiment aqueux externe dans lequel les vésicules se trouvent en suspension. Les méthodes de préparation des liposomes sont nombreuses et peuvent aboutir à la formation de plusieurs types de vésicules différentes par leur taille, leur structure et leur capacite d'encapsulation. (Figure 4) [9].

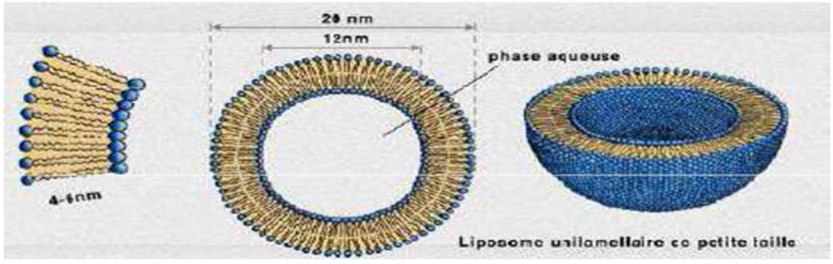


Figure I.2: Structure d'un liposome

I.3.3. Les microparticules

Les microparticules présentent une taille comprise entre environ 1 µm et 1 mm et contiennent typiquement entre 5 et 90 % (en masse) de matière active.

Les matières actives sont d'origines très variées : principes actifs pharmaceutiques, actifs cosmétiques, additifs alimentaires, produits phytosanitaires, essences parfumées, microorganismes, cellules, ou encore catalyseurs de réaction chimique. Les matériaux enrobant sont des polymères d'origine naturelle ou synthétique, ou des lipides. Les microparticules obtenues présentent deux types de morphologies (figure 5) [8].

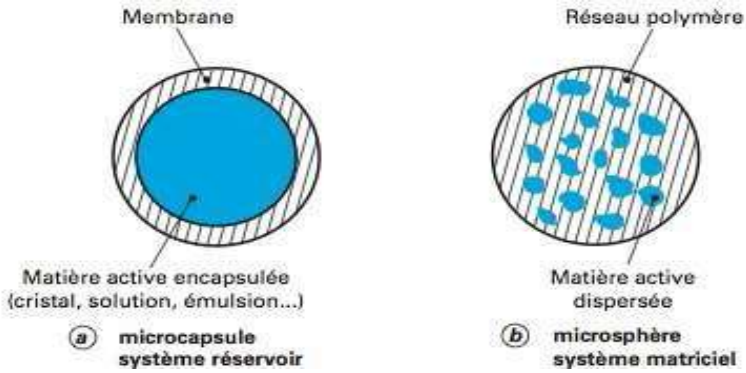


Figure I.3: Morphologie des microparticules

Les microcapsules sont des structures réservoirs et sphériques, elles sont constituées d'un cœur généralement huileux entoure par une mince paroi de polymère dont l'épaisseur n'excède pas quelques nanomètres, le principe actif est généralement dissous dans le cœur huileux, mais peut aussi être adsorbe sur la surface des microcapsules .Dans cette géométrie, les taux d'encapsulation peuvent être particulièrement élevées: entre 85% et 90% de masse de matière active par rapport a la masse de microparticules [10].

Les microsphères sont des structures matricielles, de forme sphérique, constituées de polymères de référence (bio) dégradable. Dans le cas de microsphères, le principe actif est soit incorpore à l'intérieur d'un réseau polymères durant la formation des microsphères. Dans ce cas, les teneurs en matière active sont moindres : de l'ordre de 20% à 35% mais parfois ce taux atteindre 50% [10].

I.4. Intérêts de la micro-encapsulation

Au fil des décennies, l'industrie pharmaceutique s'est appuyée sur le développement de différentes stratégies et technologies permettant d'obtenir la libération contrôlée de PA, dont la microencapsulation [11].

I.4.1. Les principaux intérêts de la microencapsulation dans le domaine de la santé sont

Sur le plan industriel, la micro-encapsulation est mise en œuvre pour remplir les objectifs suivants : assurer la protection, la compatibilité et la stabilisation d'une matière active dans une formulation, réaliser une mise en forme adaptée, améliorer la présentation d'un produit, masquer un gout ou une odeur, modifier et maitriser le profil de libération d'une matière active pour obtenir, par exemple, un effet prolonge ou déclenché [9].

La microencapsulation a nombreux avantages, parmi les majeurs avantages de cette Technique on trouve :

- **La micro-encapsulation garantit une bonne protection de la substance encapsulée**

La micro-encapsulation est un procédé de fabrication de particules fermées dans lesquelles le contenu a été enveloppé à l'intérieur d'un film. La micro-encapsulation permet non seulement d'éviter la pollution secondaire du contenu encapsule, mais permet aussi une fonction d'isolation de matériaux fonctionnels sensibles à la lumière ou à l'oxygène d'un environnement extérieur, ce qui maintient le contenu encapsule stable sur une durée de vie plus longue [12].

- **La micro-encapsulation permet de contrôler la cinétique de libération de la substance encapsulée :**

La microencapsulation permet le transfert de masse entre l'intérieur et l'extérieur d'une capsule via le contrôle des propriétés physiques et chimiques de la membrane.

Normalement, il y a deux types de processus pour atteindre ce but : soit la diffusion à travers la membrane, soit l'éclatement de la membrane. Au niveau de la diffusion, le contrôle de la taille des pores de la membrane, l'épaisseur de la membrane, et le gradient de concentration des molécules spécifiques, permettent de contrôler la délivrance continue des principes encapsules Par exemple, un arome encapsule fonctionne beaucoup plus longtemps qu'un arome libre du fait d'une diffusion lente et continue. Au niveau de l'éclatement de la membrane, toute la matière encapsulée est libérée en même temps.

- **La micro-encapsulation facilite l'utilisation des produits d'origine liquide :**

La microencapsulation permet de conditionner des produits liquides sous une forme solide. Ce processus facilite le transport des produits d'origine liquide, qui peuvent fuir ou s'évaporer du récipient. Pour chaque capsule, le dosage est contrôlé par le volume de la capsule. Les capsules pourront donc être apportées séparément selon le dosage dont on a besoin [12].

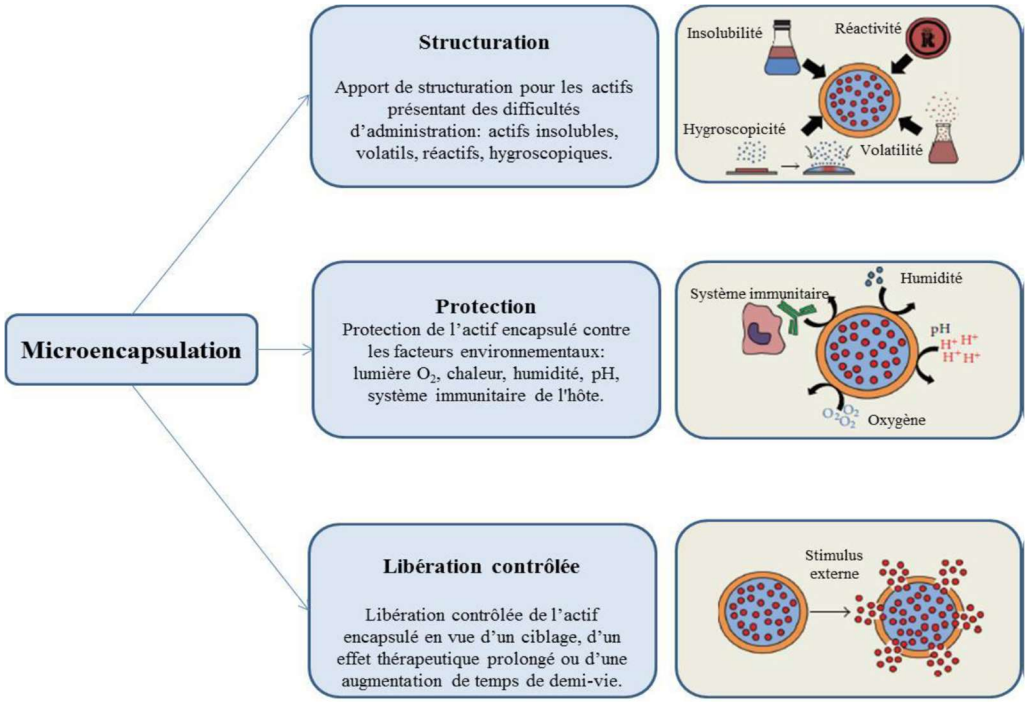


Figure I.4: Intérêts de l'encapsulation dans le domaine de la santé [13]

I.5. Domaine d'utilisation de la micro-encapsulation

La microencapsulation présente un très large champ d'applications puisqu'elle va du domaine pharmaceutique au domaine alimentaire en passant par la cosmétique, la parfumerie, les produits phytosanitaires, la chimie, la construction, et le domaine biomédical…. Une des premières applications de la micro-encapsulation a été le papier autocopiant sans carbone à base de microcapsules d'encre sensibles à la pression.

Récemment, le domaine du textile utilise les microparticules pour parfumer les tissus ou déposer sur la peau des actifs cosmétiques. D'autres applications sont à l'étude comme les répulsifs pour insectes, les colorants, les vitamines, les antimicrobiens ou encore les cristaux liquides.

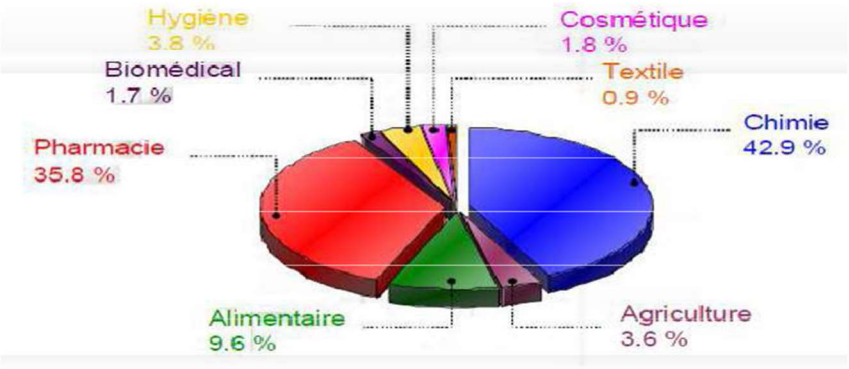


Figure I.5: Les différentes applications de la micro-encapsulation

I.5.1. La micro-encapsulation dans le domaine pharmaceutique

Dans le domaine pharmaceutique, des microcapsules contenant des médicaments sont utilisées par voie orale ou par injection interne dans le muscle. Les microcapsules sont principalement conçues pour contrôler la durée de la libération du principe actif. Les microcapsules sont véhiculées dans le corps. Puis par la dispersion et l'infiltration du médicament vers l'endroit cible, une concentration propre et une durée spécifique de la libération permettent de donner pleinement les effets du médicament.

I.6. Critères de choix de la formulation et du procédé

Selon le type souhaite de microcapsules, le formulateur devra tenir compte de plusieurs critères [15] :

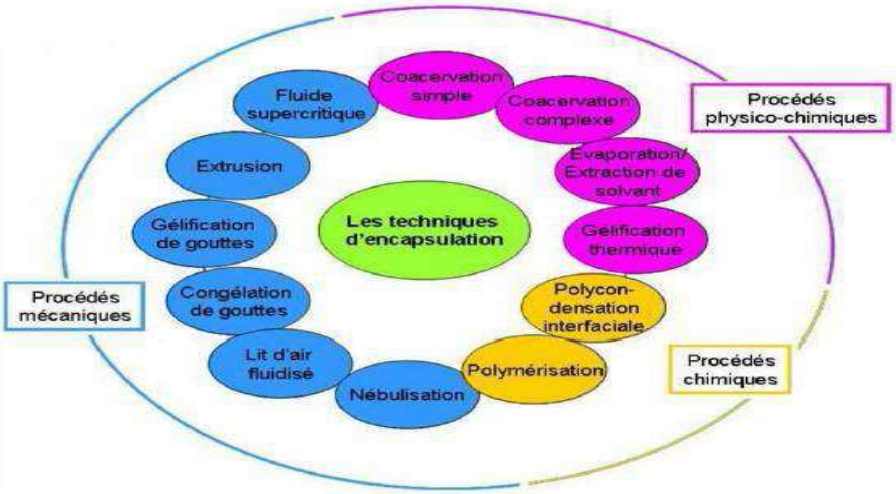
- La taille moyenne et la largeur de distribution granulométrique.
- La teneur en matière active ou taux d'encapsulation ;
- La forme finale : dispersion de microparticules en phase aqueuse ou en phase solvant, poudre sèche.
- Les contraintes de stabilité au cours du stockage et au cours de la mise en œuvre. La durée de conservation sans libération de matière active devra être précisée ainsi que le milieu dans lequel les particules seront conservées.
- Les conditions de libération et la cinétique de libération. Si l'on souhaite une libération déclenchée, il devra en particulier être précise quel est le paramètre de déclenchement : pression ou cisaillement mécanique, variation de température, variation de pH, dégradation enzymatique…
- Les contraintes règlementaires liées au domaine d'application (pharmacie, cosmétique, alimentaire) et au mode d'administration (voie orale, topique, parentérale…a), qui sont prescrites dans les réglementations nationales et internationales [9].

I.7. Procédés d'encapsulation

Les procédés de micro-encapsulation sont variés, et il est nécessaire de les classer pour faire un choix approprie lorsque l'on doit résoudre un problème de formulation dans ce domaine. Plusieurs classifications existent, toutes aussi valables les unes que les autres. Une classification intéressante tenant compte du principe de la Micro-encapsulation, permet de repartir les procédés de micro-encapsulation en trois groupes [9] :

- Procédés physico-chimiques.

- Procédés mécaniques.
- Procédés chimiques.



Les différents procédés d'encapsulation

Figure I.6: Les différents procédés d'encapsulation

I.7.1. Procédé physico-chimique

Les procédés physico-chimiques sont bases sur la maîtrise :

- De variations de solubilité et de conditions de précipitation des agents enrobant.

  Il s'agit, par exemple, de la précipitation contrôlée d'un polymère en solution, par ajout d'un non-solvant ou d'un polymère incompatible (coacervation simple), ou encore par variation de température et de pH de la solution (coacervation complexe).

- De changements d'état (fusion et solidification
-) des agents enrobant (gélification thermique d'émulsions) [9].

I.7.1.1. Coacervation

Les processus de coacervation s'opèrent dans des conditions douces (pas de solvant agressif, organique, ...) ; par conséquent, ces méthodes sont un bon potentiel pour la micro-encapsulation de cellules vivantes et de molécules labiles, lesquelles ne peuvent pas résister aux conditions dures (chaleur, solvants organiques) qui accompagnent les autres procédés de microencapsulation [15].

a- Coacervation simple :

Le procédé de coacervation consiste à abaisser la solubilité d'un polymère (coacervation simple) initialement solubilise dans un solvant organique ou en milieu la température ou par

ajout d'un électrolyte, d'un non de coacervation). Il se formera deux phases liquides : l'une riche en polymère (coacervat) et l'autre pauvre en polymère [9].

b- Coacervation complexe :

En effet, la structure du coacervat est « complexe » puisqu'elle comprend deux polymères, par opposition a la coacervation simple qui génère des gouttelettes de coacervat constitue d'un seul polymère. La réticulation des microcapsules obtenues se fait par ajout de glutaraldéhyde ou d'acide tannique, ce qui permet de solidifier les particules [16].

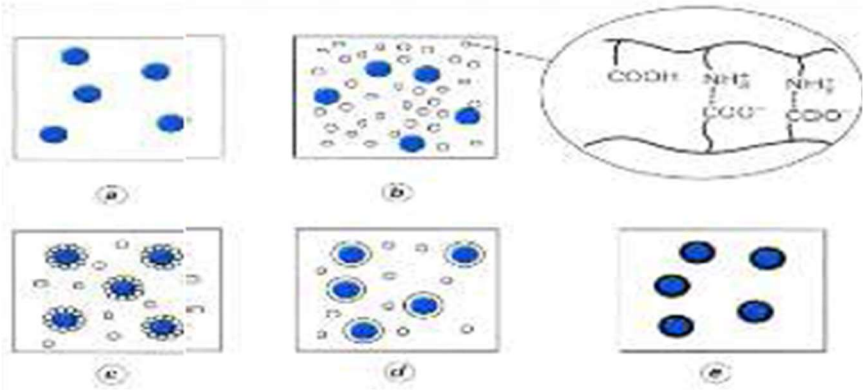


Figure I.7: Réticulation interfaciale des microcapsules par coacervation complexe

I.7.1.2. Evaporation-extraction de solvant

Cette technique est la plus largement développée sur de nombreux polymères. Elle se base sur l'évaporation de la phase interne d'une émulsion sous agitation donnant lieu à la précipitation du polymère d'enrobage préalablement dissous dans cette phase sous forme de Microsphère [9].

I.7.1.3. Gélification thermique « hot melt »

Ce procédé repose sur la fusion du matériau d'enrobage. La matière active a encapsulé est dissoute ou dispersée dans ce matériau fondu. L'ensemble est émulsionné dans une phase dispersante, dont la température est maintenue supérieure a la température de fusion de L'enrobage (Tf) et pour laquelle la matière active n'a aucune affinité : il s'agit d'eau distillée lorsque la substance a encapsulé est lipophile, et d'huile de silicone, par exemple, lorsqu'elle est hydrosoluble. La solidification des globules disperses est obtenue en refroidissant brutalement le milieu (figure 9) [9].

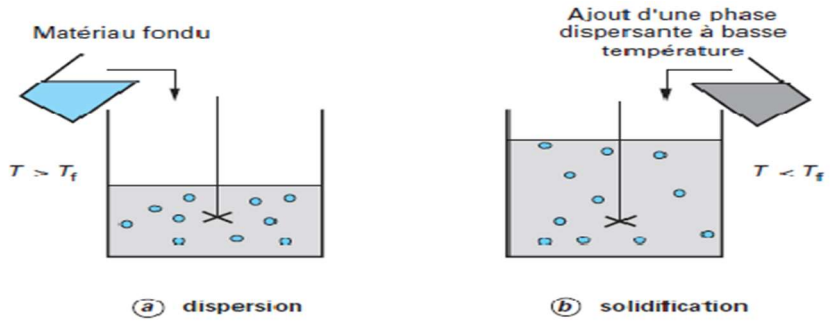


Figure I.8: Schéma de principe du procédé d'encapsulation par gélification thermique

I.7.2. Procédés chimiques

Contrairement aux deux autres classes de techniques qui utilisent des agents enrobant préformes tels que des polymères ou des lipides, les procèdes d'encapsulation « chimiques » reposent sur la formation in situ du matériau enrobant. Les composes de base sont des Monomères [16].

I.7.2.1. Polycondensation interfaciale

La polycondensation interfaciale met en jeu 2 monomères ayant des groupes fonctionnels complémentaires (A et B) (figure 10), chacun soluble dans une des phases d'un système diphasique. L'encapsulation de principes actifs peut être réalisée par cette méthode via un protocole en deux étapes. Dans un premier temps une émulsion est préparée, la phase dispersée contenant l'espèce a encapsulé ainsi qu'un monomère. Puis cette émulsion est diluée afin d'apporter le second monomère en phase continue. La réaction démarre alors à l'interface des gouttelettes. On obtient en fin de réaction une membrane à l'interface des gouttelettes qui renferment l'espèce à encapsule [16].

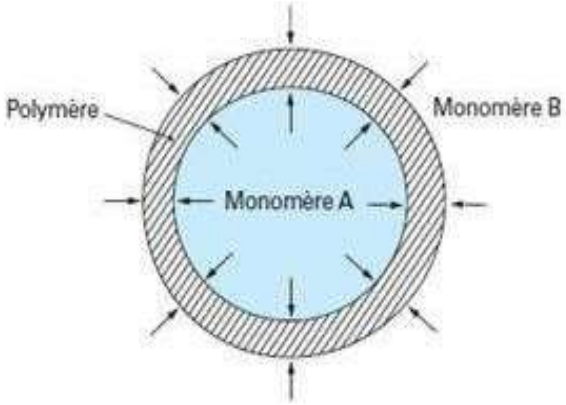


Figure I.9: Mécanisme de la polycondensation interfaciale

I.7.2.2. Polymérisation interfaciale

Cette technique, combine une émulsion eau dans huile (E/H) ou huile dans eau (H/E) et une réaction chimique entre deux réactifs à l'interface de la phase dispersée. La phase dispersée contient un solvant, un principe actif et le monomère A. Elle peut être soit aqueuse, soit organique. La phase continue est constituée d'un solvant et d'un monomère B.

Le déroulement d'une polymérisation interfaciale appliquée a la formation de microparticules est schématise à la figure 11. Au départ l'émulsion se fait en l'absence du monomère B. Ce dernier n'est introduit qu'à partir du moment où l'émulsion est stabilisée.

La réaction de polymérisation peut ensuite débuter (figure 11) [17].

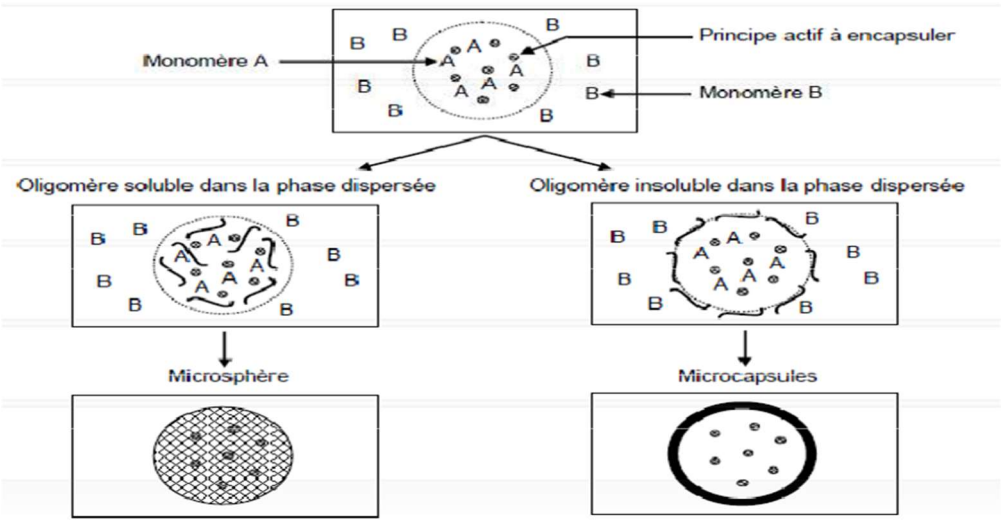


Figure I.10: Mécanisme de formation des microparticules par polymérisation interfaciale

I.7.3. Procédés mécaniques

Le procédé mécanique repose sur la nébulisation de la formulation, ou l'enrobage de microparticules suspendant en lit fluidise, ou l'extrusion du mélange de matière active et l'agent enrobant. La formulation des matières sera pulvérisée de sorte que la matière active soit encapsulée [12].

I.7.3.1. Procédé de nébulisation-séchage

Le procédé de nébulisation-séchage est un procédé continu en une seule étape qui permet de transformer une formulation liquide initiale en une forme micro-particulaire sèche.

Ce procédé comprend les 4 étapes séquentielles suivantes :

1. Nébulisation de la formulation liquide initiale pour former un aérosol ;
2. Mise en contact de l'aérosol avec un flux d'air, porte à une température contrôlée ;

3. Séchage rapide de l'aérosol pour former des microparticules solides ;
4. Séparation de la poudre de microparticules et de l'air contenant le solvant vaporise [9].

I.7.3.2. Procédé d'enrobage en lit fluidise

Le procédé d'enrobage en lit fluidise s'applique exclusivement à des matières actives constituées de particules solides (granules, cristaux). Des matières actives liquides peuvent néanmoins être encapsulées après absorption par des supports particulaires poreux. Le mouvement aléatoire des particules assure un recouvrement satisfaisant des particules. C'est une méthode qui permet de contrôler la température et l'humidité durant l'encapsulation.
Cependant, un mauvais contrôle de ces paramètres peut entrainer l'enrobage partiel des particules. Parmi les inconvénients de ce procédé on peut citer l'agglomération des particules encapsulées et le temps mis pour l'encapsulation pouvant atteindre plusieurs heures [17].

I.7.3.3. Gélification de gouttes

La gélification de gouttes est basée sur la formation d'une solution, dispersion ou émulsion de matière active dans une solution aqueuse de polymères capables de former des gels sous une action extérieure, physique ou chimique. Il s'agit, par exemple, de l'alginate de sodium, du chitosane ou de l'agarose (figure 12) [9].

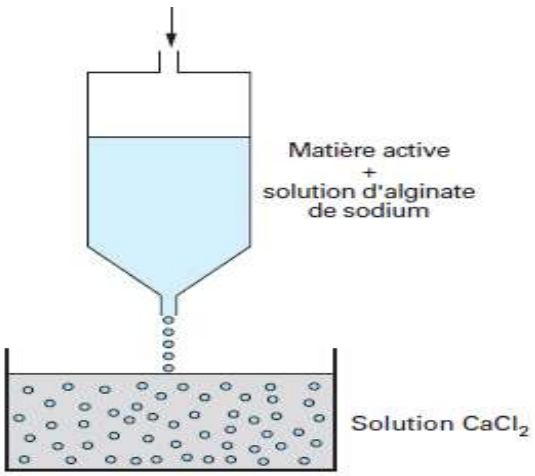


Figure I.11: Schéma de principe de la gélification de gouttes

I.7.3.4. Congélation de gouttes (spray-congealing)

Elle Fait intervenir un matériau enrobant de type corps gras, glycéride ou cire a point de fusion relativement bas, compris entre 50 °C et 120 °C. Elle consiste à préparer un fondu de ce matériau enrobant dans lequel la matière active est solubilisée ou dispersée soit sous forme

particulaire solide, soit sous forme de microgouttelettes d'émulsion inverse (eau dans huile) (figure 13) [9].

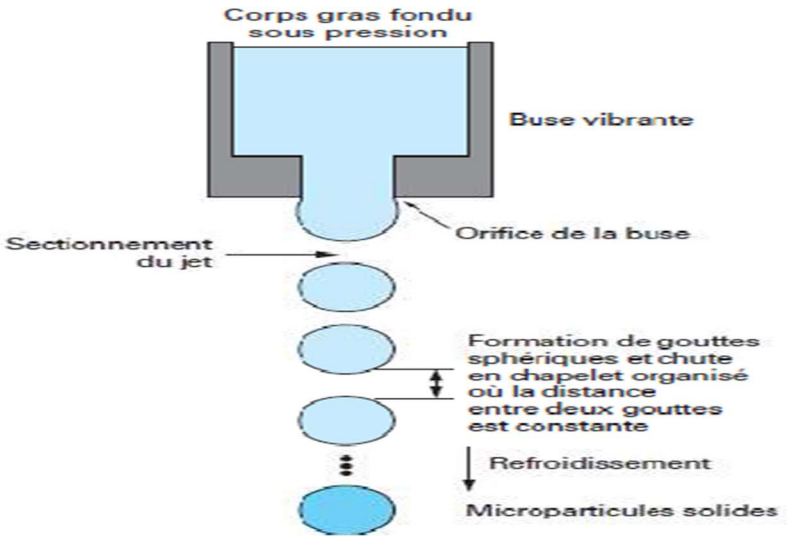


Figure I.12: Schéma de principe de congélation de gouttes

I.7.3.5. Extrusion-sphéronisation

La technique d'extrusion-sphéronisation peut être utilisée pour l'encapsulation de poudres de matières actives dans des polymères thermoplastiques, dont la viscosité a l'état fluide permet de préparer des micro cylindres homogènes et réguliers [9].

I.8. Principaux matériaux et procédé d'encapsulation

Le tableau suivant présente les matériaux et les procédés d'encapsulation les plus répondus :

Tableau I.1: Matériaux et procédés de microencapsulation les plus couramment utilisés dans le domaine de la santé
[18].

Matériaux enrobants	Procédés	Applications Principales
Homopolymères et copolymères des acides lactique et glycolique (PLA, PLGA)	Évaporation-extraction de solvant. Milieu supercritique Atomisation Coacervation simple Extrusion-broyage-sphéronisation	Libération prolongée de petites molécules ou de peptides par voie parentérale
Copolymères acryliques	Évaporation-extraction de solvant Atomisation, Spray-coating	Libération prolongée, gastrique, entérique et masquage de goût par voie orale
Éthylcellulose Hydroxypropyméthyl-cellulose Esters de cellulose	Coacervation simple Atomisation, Spray coating Évaporation-extraction de solvant	Masquage de goût et libération prolongée par voie orale
Gélatine / Polysaccharides	Coacervation complexe	Pharmacie – Parfums – Arômes
Chitosane	Coacervation complexe Gélification ionique Atomisation, Spray-coating (enrobage)	Libération gastrique et masquage de goût pour la voie orale
Alginate de sodium	Coacervation complexe Gélification ionique	Encapsulation de cellules et levures Parfums – Arômes Cosmétiques – Agro-alimentaire
Cires	Milieu supercritique Spray-coating	Masquage de goût Chimie-Cosmétique
Corps gras solides (esters, alcools, acides gras)	Milieu supercritique Congélation de gouttes	Masquage de goût Chimie-Cosmétique
Glycérides	Gélification thermique (Hot melt)	Masquage de goût Chimie-Cosmétique
Amidon	Atomisation	Ferments – Épices – Huiles – Vitamines
Polyurée (diamine + diisocyanate)	Polycondensation interfaciale	Phytosanitaire

CHAPITRE II. :

Voie orale et formes à libération différée

II. Chapitre II : Voie orale et formes à libération différée

II.1. Généralités sur la voie orale

La voie orale (VO) constitue la voie d'administration de choix pour l'administration de la plupart des principes actifs (PA) médicamenteux, indépendamment de leur structure ou poids moléculaire.

De nombreux avantages sont liés à l'administration de médicaments par cette voie : c'est une voie aisée, bien acceptée par le patient car il s'agit d'un mouvement et d'un geste habituel [19] ; et de fortes doses de substances actives peuvent être administrées dans un volume restreint, en une seule fois [1].

Après ingestion, le devenir du médicament dans l'organisme comporte trois phases distinctes : les phases biopharmaceutique, pharmacocinétique et pharmacodynamique présentées sur la Figure 1. On le représente généralement par le système LADMER, condensé de

Libération, Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion et Réponse [1].

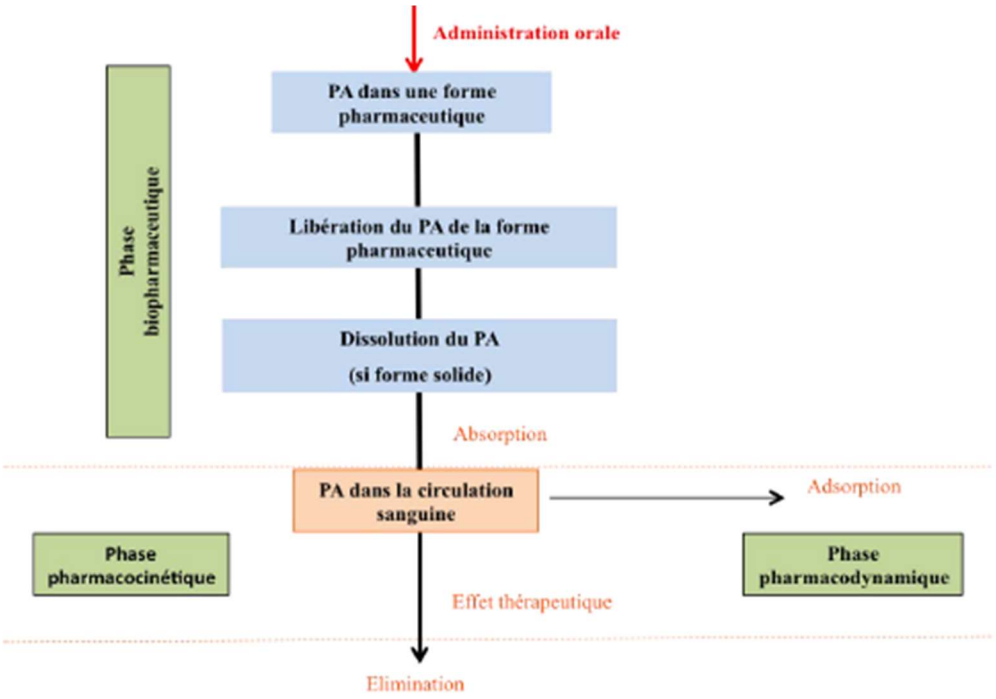


Figure II.1: Représentation schématique du devenir d'un principe actif dans l'organisme après administration orale

[20]

II.2. Avantages et inconvénients de cette voie

L'administration par VO présente un certain nombre de limitations ou d'inconvénients ; ce sont notamment :

- La possibilité d'altération des PA par contact avec les sécrétions du tube digestif, de pH divers et contenant aussi des enzymes (Figure 2) ;
- La possibilité d'irritation du TGI par certaines substances (salicylates, anti-inflammatoires non stéroïdiens, antituberculeux…), ce qui impose la préparation de formes galéniques particulières (formes gastrorésistantes) ;
- Le problème de la flaveur de certains médicaments (goût et odeur) qui peut nécessiter une correction ou une modification (enrobage/aromatisation) ;
- Le problème de l'absorption des PA qui peut varier en fonction :

- Des caractéristiques intrinsèques du PA : certains ne peuvent être absorbés par VO (comme les sulfamides ou sels métalliques) et vont exercer un effet local ;
- De la forme pharmaceutique administrée qui peut retarder l'effet thérapeutique (cas des formes gastrorésistantes et à libération retardée) ;
- De l'heure de prise médicamenteuse (rôle de la chronobiologie) ;
- De la présence ou non de substances alimentaires dans le TGI (l'administration peut être préconisée à jeun, avant, pendant ou après les repas) et de leur composition (en lipides, glucides, protéines) [21-24]

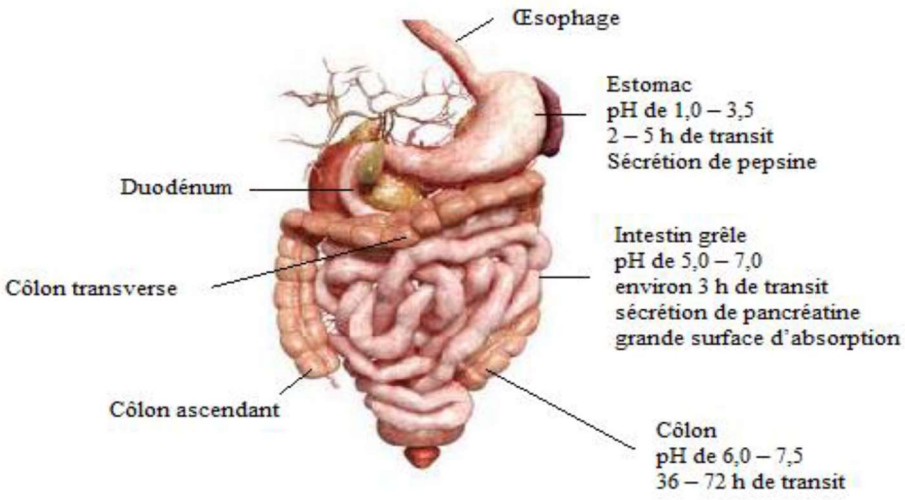


Figure II.2: L'anatomie du tractus gastro-intestinal et ses particularités (variations de pH et nature des enzymes présentes le long du TGI)

[20]

De ce fait les facteurs physiologiques du tractus gastro-intestinal: pH, mobilité et durée du transit, l'état physiologique du patient (âge, sexe, maladie…) et la présence de nourriture sont des facteurs importants à prendre en compte [1].

Le PA, quant à lui, doit donc présenter des propriétés physico-chimiques particulières lui permettant de rester stable en milieu gastro-intestinal, présenter un profil de dissolution reproductible et une balance hydrophile/lipophile adéquate pour passer l'épithélium intestinal [25]

II.3. Moyens d'amélioration de la biodisponibilité des PA

La biodisponibilité décrit comment un principe actif devient disponible dans l'organisme pour produire son action thérapeutique. Elle est caractérisée par des données de pharmacocinétique c'est-à-dire par la quantité de principe actif disponible (qui atteint le sang) et la vitesse de ce processus [26]. La biodisponibilité est donc une propriété du médicament qui rend compte à la fois du taux de PA qui atteint la circulation générale et de la vitesse à laquelle il y parvient.

Lors d'une administration par voie orale, deux étapes majeures peuvent limiter le passage systémique des PA. Dans un premier temps, le composé doit se dissoudre dans les liquides du TGI. Une fois dissous, le PA doit ensuite traverser la muqueuse intestinale afin de rejoindre la circulation sanguine. Si le PA est peu soluble mais facilement absorbable, il sera absorbé dès sa dissolution, disparaîtra du milieu, permettant ainsi la dissolution d'une nouvelle fraction facilement absorbable. Néanmoins, la vitesse de dissolution sera un des facteurs essentiels de son absorption.[1]

Différentes approches pour accroitre la vitesse de dissolution des substances actives de classe II BCS peuvent être développées, comprenant des modifications chimiques, physiques et des stratégies galéniques [27].

Parmi les stratégies galéniques susceptibles d'être employées, nous ne citerons que celles utilisées au cours de ce travail de thèse :

- les procédés de mise en forme multi-particulaires : ils permettent d'augmenter la surface de contact (A) comparativement à des formes monolithiques (comme par exemple les comprimés) et ainsi d'augmenter la vitesse de dissolution du PA. La microencapsulation est une des stratégies actuellement utilisées pour pallier à la réduction drastique de biodisponibilité des PA administrés par VO [28,29]. Les procédés permettant d'aboutir à ce type de formes seront développés dans la partie suivante ;
- L'amorphisation : de façon générale, la solubilité des substances actives amorphes est plus grande que celle des formes cristallines correspondantes. La formulation de systèmes

amorphes stables peut être obtenue par des techniques de dispersions solides. Le terme dispersion solide se réfère à la dispersion d'un ou de plusieurs ingrédients actifs dans un polymère solide inerte souvent préparés par fusion, évaporation de solvant ou la combinaison des deux. Ces techniques comprennent la précipitation rapide par lyophilisation, l'utilisation de fluides supercritiques, l'extrusion et le séchage par pulvérisation en présence de polymères hydrophiles amorphes. L'atomisation ou spray-drying participe de cette dernière catégorie.

II.4. Formes à libération retardée ou différée pour la voie orale

II.4.1.Définition des différents types de libération du PA à partir des formes pharmaceutiques :

La Pharmacopée Européenne (9.5) distingue deux grands types de libération : les formes à libération conventionnelle et les formes à libération modifiée (Figure 3). On parle de libération conventionnelle ou immédiate lorsque la libération du PA n'a pas fait l'objet d'une modification délibérée résultant de la mise en oeuvre d'une formulation particulière et/ou d'un procédé de fabrication spécial. Le profil de libération du PA dépend alors essentiellement de ses propriétés intrinsèques [1].

Au contraire, le terme de libération modifiée est employé lorsqu'on souhaite moduler la vitesse de libération du PA grâce à l'utilisation d'une technologie particulière de préparation, en employant soit des excipients spéciaux, soit tout autre artifice permettant l'augmentation ou la diminution de la vitesse de dissolution de la substance active dans les liquides de l'organisme. On obtient alors une forme dans laquelle la vitesse de libération du PA et/ou son lieu de libération font l'objet d'une modification délibérée résultant d'une formulation particulière et/ou d'un procédé de fabrication spécial, et sont différents de ceux qu'assureraient la forme à libération conventionnelle administrée par la même voie. Les formes à libération modifiée comprennent : les formes à libération accélérée, les formes à libération prolongée (ou ralentie), les formes à libération retardée et les formes à libération séquentielle [1].

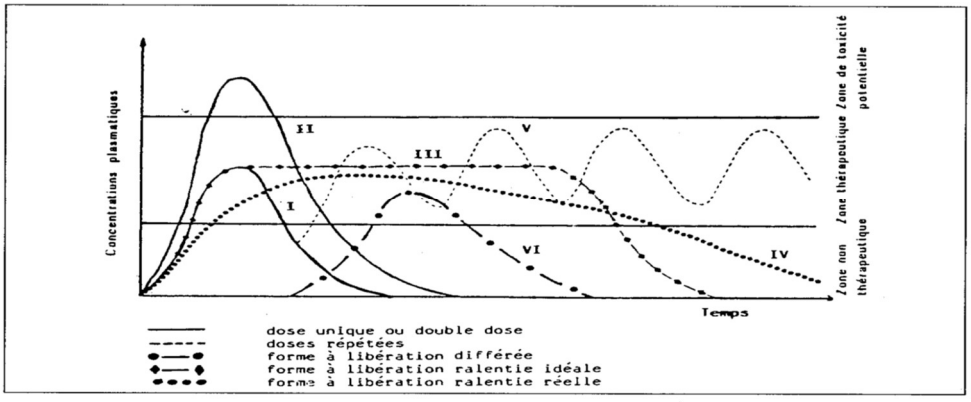


Figure II.3: Profil des concentrations plasmatiques obtenues dans le cas d'une forme à libération immédiate (I et II), ralentie (III et IV) et différée (VI)

[27].

II.4.2.Les formes à libération retardée pour la voie orale

Les formes à libération retardée constituent donc un cas particulier de forme à libération modifiée se traduisant par une libération différée du ou des PA. Ces formes comprennent les préparations gastrorésistantes, qui sont des formes pharmaceutiques solides particulières, administrées par VO. Ces préparations sont destinées à résister au suc gastrique et à libérer le ou les PA dans le suc intestinal. Ces propriétés sont obtenues en recouvrant la forme d'un enrobage gastrorésistant (forme entérique) ou par tout autre moyen approprié.

L'intérêt des formes gastrorésistantes est double : il peut permettre :

- La protection du principe actif contre une dégradation par les acides de l'estomac. C'est le cas par exemple des inhibiteurs de pompe à protons (comme l'ésoméprazole dans la spécialité Nexium®).
- La protection de la muqueuse gastrique contre une irritation par le principe actif. C'est le cas par exemple de certains anti-inflammatoires non stéroïdiens (comme l'acide acétylsalicylique dans la spécialité Aspirine Protect®).

Ces formes peuvent aussi être employées en cas d'interférence du PA avec le métabolisme gastrique, ou en cas de spécificité de site d'action ou d'absorption du PA (fenêtre d'absorption) [1].

II.4.2.1. Les différentes stratégies d'obtention de formes à libération retardée pour la voie orale

Différentes stratégies peuvent être utilisées pour obtenir des formes gastrorésistantes. La Pharmacopée Européenne en recense trois types principaux : les granulés, les comprimés et les gélules gastrorésistants.

Les granulés gastrorésistants sont principalement obtenus après enrobage, on les dit alors « entériques ». Ils sont rarement administrés directement, mais servent plutôt d'étape à l'obtention de gélules ou comprimés gastrorésistants. On trouve toutefois 2 spécialités granulés gastrorésistants sur le marché français, présentées sous forme de sachets ou de flacon (pancréas d'origine porcine, spécialité Eurobiol® et acide para-aminosalicylique, spécialité Granupas®).

Les comprimés gastrorésistants sont généralement préparés en recouvrant les comprimés d'une enveloppe gastrorésistante, ce qui est le cas le plus fréquent (comprimés entériques), ou plus rarement à partir de granulés ou de particules (microgranules, microsphères, microbilles) déjà recouverts d'un enrobage gastrorésistant.

Les capsules gastrorésistantes sont des capsules à enveloppe dure (gélules) ou molle, dont l'enveloppe ou le contenu sont gastrorésistants. Leur contenu peut être le ou les PA

accompagnés ou non d'excipients, mais aussi des formes à libération retardée comme des microgranules, microsphères, petits comprimés ou petites capsules.

Ainsi, une libération différée du PA dans l'intestin peut être obtenue soit en enrobant la forme d'un film gastrorésistant, soit par des technologies pharmaceutiques plus sophistiquées, telles que les MUPS et les capsules contenant des granules gastrorésistants.

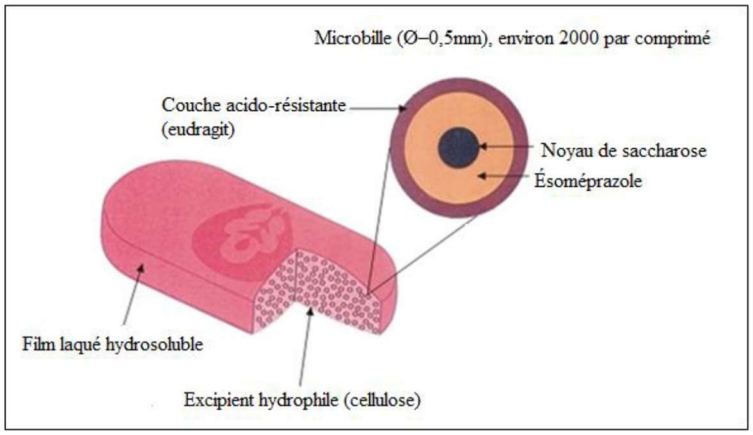


Figure II.4: Comprimés MUPS (Multiple Unit Pellet System) de Nexium® [30]



Figure II.5: Exemples de gélules contenant des pellets enrobés

- **Le mode d'obtention conventionnel de formes gastrorésistantes : l'enrobage**

Le pelliculage par film, introduit de manière industrielle par les laboratoires Abott en 1954, est actuellement considéré comme la principale technique de macro-enrobage pratiquée dans l'industrie pharmaceutique. Il peut être défini comme un procédé permettant de déposer sur un support solide (cristaux, grains, minigranules, comprimés…) une mince pellicule de film à base de polymère. Pour l'obtention de formes gastrorésistantes on utilisera des polymères dit entérosolubles ou gastrorésistants, dont les films sont insolubles en milieu très acide (estomac), mais solubles en milieu légèrement acide, neutre ou alcalin (intestin, pH 5 à 7,5) [1].

CHAPITRE III :

Rappels théoriques sur les complexes protéine-polysaccharides

III. Rappels théoriques sur les complexes protéine-polysaccharides

III.1. Généralités sur les polyélectrolytes

Les polymères sont des molécules composées d'un très grand nombre de maillons élémentaires appelés monomères. Lorsque ces monomères sont chargés, on parle de polyélectrolytes. On peut les considérer comme étant des polymères ioniques comportant un grand nombre de sites ioniques et ayant une continuité des régions d'interactions ioniques. Leur présence leur confère la possibilité de faire partie de notre quotidien. On les trouve dans nos produits cosmétiques, au sein de notre nourriture ou entrent dans la composition ou le métabolisme des organismes (ADN, hyaluronane…) [31].

Les polyélectrolytes se caractérisent par leurs groupements ionisés et/ou ionisables qui se dissocient et sont généralement solvatés dans des solvants polaires. La plupart de ces polyélectrolytes sont donc solubles dans des solvants polaires comme l'eau, le polymère se dissocie, et apparaissent ensuite des charges sur son squelette et des contre-ions en solution. La charge est dépendante des groupements chimiques présents et parfois du pH de la solution [32].

Ces composés macromoléculaires peuvent être classés selon leur fonctions ionisées et/ou ionisables sous différentes catégories :

- Selon leurs origines (synthétique, semi-naturelle et naturelle);
- Selon la nature de leurs charges (positives ou négatives, permanentes ou modulables) ;
- Selon leurs interactions avec le solvant (hydrophile, amphiphile, hydrophobe) [34].

III.2. Origine des polyélectrolytes

Les polyélectrolytes peuvent être synthétiques, semi-naturels ou naturels. Les polyélectrolytes synthétiques ont l'avantage d'être produits en grande quantité, de présenter une grande régularité dans l'enchaînement des monomères ou d'avoir une haute pureté.
Une autre catégorie dite intermédiaire, les polyélectrolytes semi-naturels qui sont issus de la modification chimique de polymères naturels.

Il existe également les polyélectrolytes naturels qui doivent être extraits puis purifiés. Ils peuvent présenter des structures chimiques assez complexes (par exemple la structure rigide du xanthane) [33] et sont souvent polymoléculaires et parfois assez ramifiés. Ils sont néanmoins très utilisés dans des applications spécifiques grâce à leur biocompatibilité et/ou leur biodégradabilité. Ils sont de plus en plus employés dans l'élaboration de nouveaux matériaux destinés à des applications médicales et cosmétiques par exemple [34].

III.2.1. Polyélectrolytes synthétiques

Les polyélectrolytes naturels se trouvent souvent en petite quantité et leur extraction demande de grands efforts de purification. Par ailleurs, leur structure chimique est souvent très complexe et peu régulière (polydispersité, ramifications). C'est pourquoi la majorité des polyélectrolytes utilisés sont des polyélectrolytes synthétiques. Ces derniers sont obtenus principalement par polymérisation en étapes (polycondensation) ou par polymérisation en chaîne (polymérisation ionique, radicalaire) [35-36]. Leur structure chimique respective est présentée dans la **Figure III.1**.

III.2.2. Polyélectrolytes semi-naturels

De nombreux polysaccharides neutres sont modifiés afin de devenir des polyélectrolytes. Ces polyélectrolytes semi-naturels peuvent également être modifiés au niveau de leur amphiphilie par incorporation de groupes apolaires ouvrant la voie aux systèmes associatifs d'origine naturelle à l'instar des polyélectrolytes associatifs d'origine synthétiques. Un exemple peut être cité est la carboxymethylcellulose (CMC) qui peut être hydrophobisée [37].

III.2.3. Polyélectrolytes naturels :

Les polysaccharides, les protéines et les polynucléotides sont à nos jours les polymères naturels les plus présents et les plus connus. La gélatine, protéine animale très utilisée dans l'industrie alimentaire, est un exemple de polyélectrolyte cationique pour des pH inférieurs à 8. Elle peut se complexer à plusieurs polysaccharides, notamment au sodium dodecylsulfate[38]. Les polyélectrolytes sont principalement anioniques. L'alginate et l'acide hyaluronique en sont des exemples. L'acide hyaluronique est très étudié en cosmétologie et également en oncologie par son implication dans les tumeurs cancéreuses [39].

III.2.3.1. Polysaccharides :

Sachant que les polysaccharides sont considérés comme étant des polyelectrolytes naturels, ils possèdent une variété infinie de propriétés, parmi celles-ci est leur capacité à entrer en interaction avec d'autres matériaux. C'est un processus assez connu dans les systèmes macromoléculaires. Les polysaccharides peuvent interagir avec les protéines fibreuses et globulaires pour former des complexes solubles et insolubles qui sont principalement stabilisés par des interactions électrostatiques, ions-dipôles ou hydrophobes d'une part.

D'autre part, on peut considérer que la vie sur terre telle qu'on la connait repose sur la coexistence d'eau et de molécules organiques possédant un squelette carbone. Les molécules de base qui assurent l'association d'atomes de carbone avec des molécules d'eau sont les glucides qu'on peut formellement noter Cn (H2O) p [40].

Les polysaccharides sont des substrats solides qui se présentent sous forme de fibres, de granules ou de gels dont les propriétés physico-chimiques et structurales sont intimement liées à leurs structures chimiques et, par conséquent, à leurs biosynthèses.

Les polysaccharides fortement utilisés dans l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique, pour leurs propriétés technologiques, physiologiques et pharmaceutiques, ont un rôle primordial dans l'économie mondiale [41].

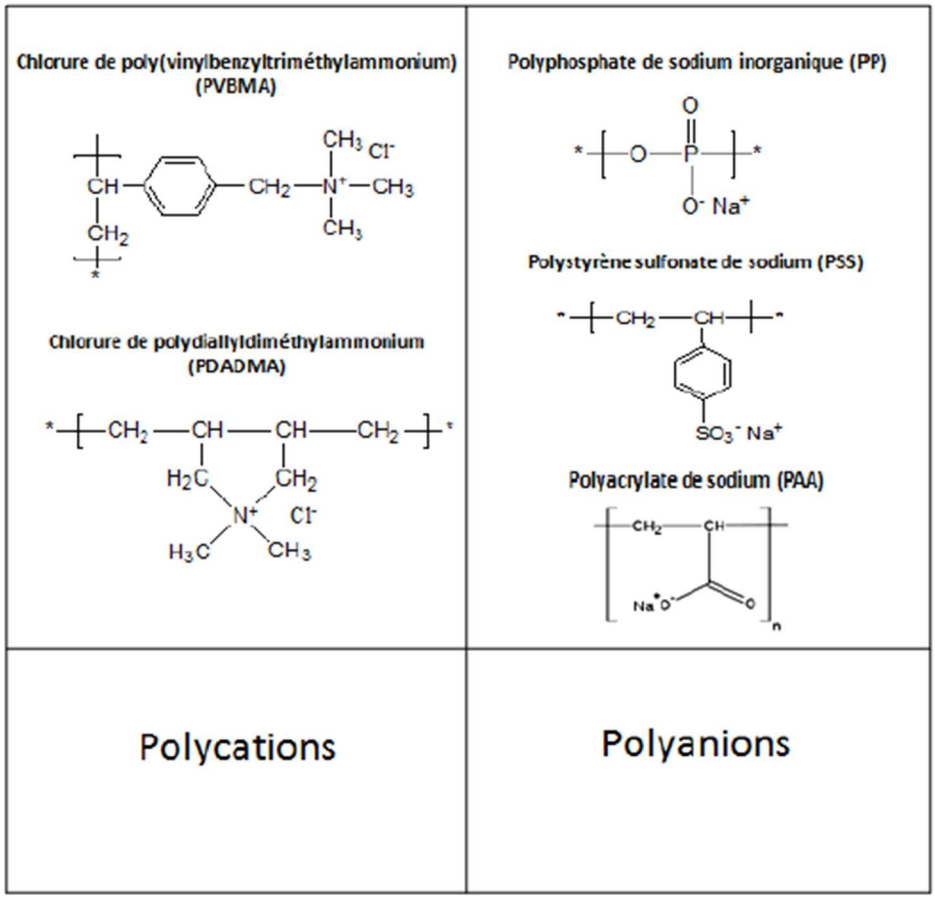


Figure III.1: Structures chimiques de polycations et de polyanions synthétiques utilisés [42]

- **La gomme xanthane :**

Propriétés :

Au-delà des caractéristiques économiques (prix de vente, qualité reproductible, etc.), les propriétés chimiques et physiques du xanthane en font un produit extrêmement utilisé, dont la principale caractéristique est de modifier les propriétés rhéologiques des solutions aqueuses [43] :

- Bonne dissolution dans l'eau chaude et l'eau froide,
- Viscosité élevée à faible cisaillement, même à faible concentration,

- Viscosité constante et indépendante du pH (pour des pH compris entre 1 et Il) et de la température (jusqu'à 120°C),
- Pseudoplasticité et thixotropie,
- Récupération instantanée de la viscosité après l'application d'un cisaillement,
- Compatibilité avec un grand nombre de substances,
- Synergie avec des polysaccharides végétaux comme les galactomannanes de guar.

Les industries chimiques, pétrochimiques, alimentaires et pharmaceutiques sont les principaux utilisateurs [44] (Tableau III.2). Les qualités exceptionnelles, décrites ci-dessus, rendent le xanthane irremplaçable pour certaine applications alimentaires, sans dose limite. Il favorise la libération rapide des arômes, offre une bonne impression gustative, est neutre en goût, est non digestible, et est compatible avec d'autres ingrédients (protéines, lipides et polysaccharides) [45].

Dès son introduction sur le marché commercial, la gomme xanthane a présenté un vif intérêt dans des domaines aussi variés que l'alimentaire, la chimie et la récupération assistée du pétrole [46]. Mais, c'est dans ce dernier secteur que le potentiel du xanthane a été le plus exploité dans les premiers temps, correspondant aux périodes de crises pétrolières. Désormais, le domaine alimentaire connaît un essor important. En effet, environ 60% du xanthane produit est de qualité alimentaire [47], et le marché continue de progresser, notamment aux Etats-Unis, où les habitudes alimentaires entraînent le développement de la gomme xanthane. De même, le marché de la cosmétique contribue fortement à l'essor de la gomme. En particulier, les gels douches, les crèmes et les pâtes dentifrice garantissent l'obtention de produits dont la texture satisfait aux exigences du consommateur.

Tableau III.1: Applications alimentaires et non-alimentaires du xanthane

Propriétés et domaine d'application		Exemples d'application
Agent stabilisant	Alimentaire	Sauces salades
		Desserts multiphasiques ou multicouches
		Boisssons aux fruits ou chocolatées
		Potages
		Plats cuisinés
		Crèmes glacées
	Chimie	Peintures
		Vernis
		Savons
		Teinture de textile
		Agrochimie (herbicides, fertilisants)
Agent viscosant	Alimentaire	Préparation et acheminement de produits alimentaires (Potages, sauces salades, crèmes glacées, etc.)
		Substitution des graisses texturantes dans les aliments basses calories
	Pétrole et BTP	Récupération assistée du pétrole
		Mélange de ciments et mortiers
	Cosmétique	Pâtes dentifrice
	Chimie	Agents lavants (lave-glaces, gels WC)

Structure :

La gomme xanthane est constituée d'un enchaînement d'unités répétées penta saccharidiques. Le poids moléculaire de la gomme xanthane est considéré comme un facteur important de qualité puisque les caractéristiques de la gomme dépendent en partie de ce paramètre.

Cependant, des valeurs très variables (de 0,9 à 47 x 10_6 Daltons) ont été obtenues en fonction des techniques d'analyse et des conditions de culture. En effet, l'estimation du poids moléculaire est rendue difficile par la formation d'agrégats de plusieurs « chaînes » qui peuvent être elles-mêmes sous forme d'hélice mono ou dimérique [48].

D'une condition de culture à une autre, le poids moléculaire est différent et le nombre d'unités pentasaccharidiques peut varier entre 2000 et 4500. De plus, en cours de production, l'apparition d'une limitation en oxygène peut entraîner une diminution linéaire du poids moléculaire avec le taux de consommation d'oxygène [49-51]. De même, des variations du poids moléculaire ont été observées en fonction de la température de production. A titre d'exemple, des molécules de xanthane produites à 25°C présentent un poids moléculaire moyen supérieur à celui de molécules produites à plus hautes températures [52].

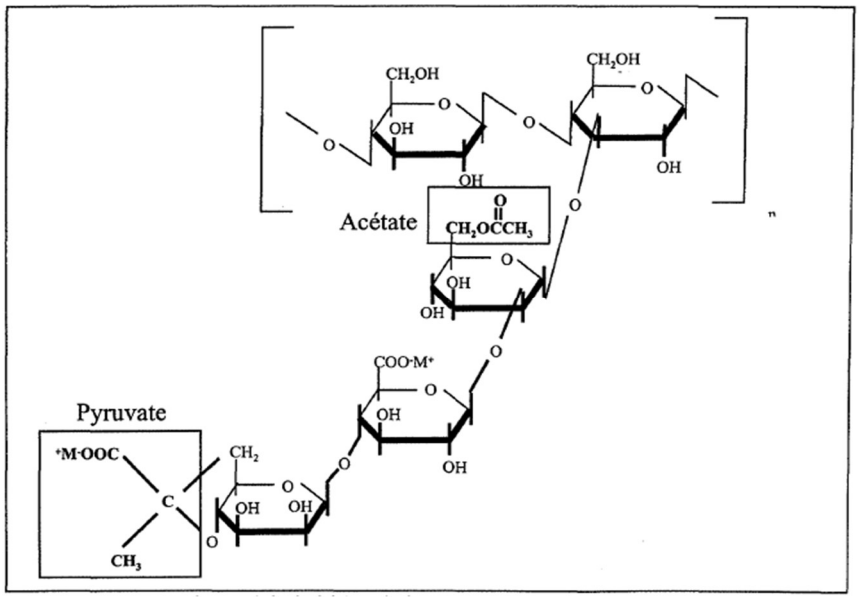


Figure III.2: Structure de l'unité répétitive de la gomme xanthane

III.2.3.2. Protéines :

- **Constitution des protéines:**

Ce sont des polymères organiques résultant de la condensation d'acides aminés par formation de liaisons peptidiques. Les acides aminés constitutifs sont appelés résidus. Le radical R présent sur le résidu est appelé chaîne alkyle [53].

Deux acides aminés peuvent s'associer de façon covalente pour former un dipeptide. La liaison ainsi établie est la liaison peptidique, qui résulte de la combinaison entre le groupement carboxyle (COOH) d'un acide aminé et le groupement amine (NH_2) de l'autre, avec perte d'une

molécule d'eau. La répétition de cette réaction n fois, permet ainsi d'obtenir un peptide (n < 100) ou une protéine (n > 100) [54].

La séquence d'acides aminés, ou structure primaire, détermine presque à elle seule les propriétés physico-chimiques et structurales des protéines, en particulier ses interactions avec l'eau. Les protéines interagissent avec l'eau par leurs liaisons peptidiques (interactions dipôle dipôle ou liaison hydrogène) ou par les chaînes latérales (interactions avec les groupements polaires, ionisés et même non polaires) [53].

- **Conformation des protéines:**

Chaque protéine est caractérisée par sa conformation, c'est-à-dire son organisation tridimensionnelle : les protéines fibreuses comme la gélatine, sont composées de chaines polypeptidiques assemblées le long de l'axe commun (collagène, kératine…). Les protéines globulaires sont formées de chaînes enroulées sur elles-mêmes engendrant des formes sphériques ou ellipsoïdales (sérum albumine). Le rôle biologique de ces protéines ne peut être maintenu que si l'organisation tridimensionnelle est respectée. Il existe quatre niveaux structuraux chez les protéines, de la structure primaire à la structure quaternaire **(Figure III.3)** [55].

- **Structure primaire**

La structure primaire est la séquence peptidique. C'est la seule structure parmi les autres structures à être codée génétiquement, elle détermine les trois autres niveaux structuraux.

La conformation privilégiée de la liaison peptidique entre les résidus est en *trans*. Cette conformation est généralement plus stable car elle positionne les chaînes latérales loin l'une de l'autre [55].

- **Structure secondaire**

C'est le premier stade de l'organisation dans l'espace d'une chaîne peptidique. Ce sont des structures qui sont stabilisées par la présence de nombreuses liaisons hydrogène entre les groupements C=O et NH du squelette [55].

On distingue : les hélices α, les feuillets β, les coudes β.

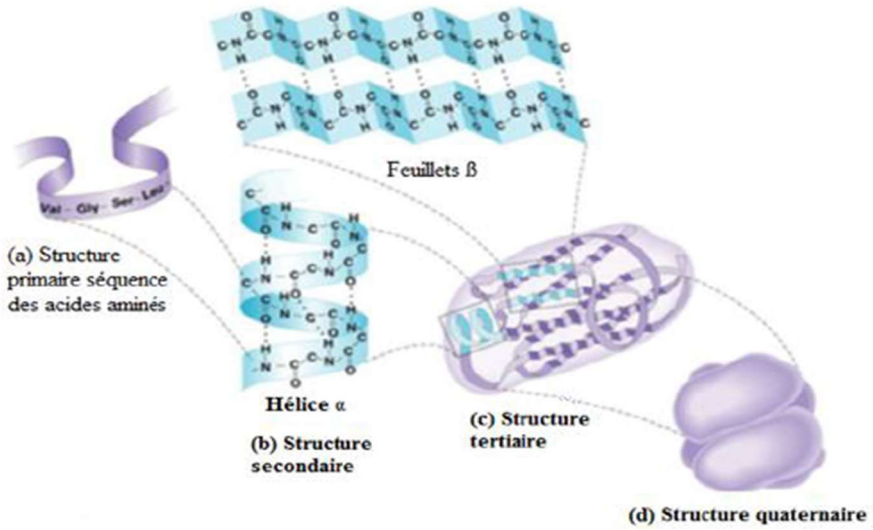


Figure III.3: Schéma représentatif des différentes structures d'une protéine [55]

- **Structure tertiaire**

La structure tertiaire d'une protéine est sa disposition tridimensionnelle : c'est la donnée de l'agencement des structures secondaires et de l'organisation spatiale des chaînes latérales [56].

- **Structure quaternaire :**

La structure quaternaire est le niveau le plus élevé d'organisation des protéines. Elle concerne les protéines constituées de plusieurs chaînes polypeptidiques et détermine l'arrangement spatial des différentes sous-unités entre elles [56].

➢ **La Gélatine :**

Le choix de la gélatine, s'explique pour plusieurs raisons. Il s'agit tout d'abord d'une protéine très largement utilisée comme ingrédient alimentaire du fait de ses propriétés tensio-actives et gélifiantes.

L'intérêt pour cette macromolécule a été croissant surtout ces dernières années, tant les avantages sont importants dans la consommation courante : pas de toxicité, quantité abondante et disponible de matières premières, choix de différentes qualités pour chaque application, etc. Ses propriétés fonctionnelles uniques font de la gélatine un des ingrédients importants à savoir dans l'industrie alimentaire, photographique, cosmétique et pharmaceutique [57].

La gélatine alimentaire a une longue histoire. Dans les temps anciens, elle était utilisée comme une « colle biologique », et au cours du temps, son industrialisation, a amené à l'utiliser dans de nombreuses applications.

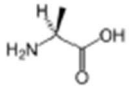
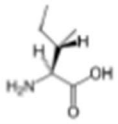
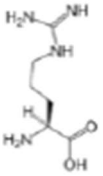
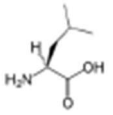
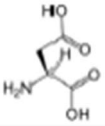
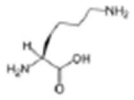
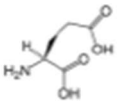
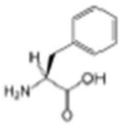
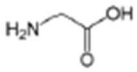
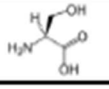
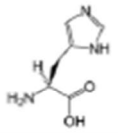
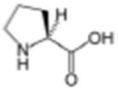
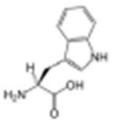
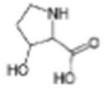
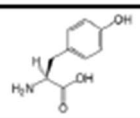
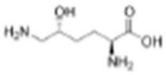
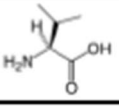
La production de la gélatine a eu lieu aux Etats-Unis vers 1850 (fabrication de desserts sous forme de gelées et de capsules à usage pharmaceutique) et après 1878 (premières émulsions photographiques), puis vers 1930 en Europe, quand la source des peaux de porcs fraîches est venue s'ajouter aux matières premières traditionnelles. Depuis lors, la production de gélatine est destinée à de multiples usages. Néanmoins trois secteurs se distinguent dans l'utilisation de celle-ci : les industries alimentaire, pharmaceutique et photographique [57].

À nos jours la gélatine est devenue un produit de consommation très utilisé. Elle trouve sa place tout aussi bien dans les industries non alimentaires qu'alimentaires. De plus, par sa nature protéique spécifique, elle peut être ajoutée aux préparations alimentaires sans être considérée comme un additif ce qui explique son utilisation si répandue. L'intérêt de la gélatine ne sera pas seulement limité aux applications classiques. De nouvelles utilisations dans les soins médicaux et dans les domaines techniques spécialisés se distingueront par l'utilisation de gélatine et d'hydrolysats de gélatine [57].

- **Structure**

La gélatine contient un total de 18 acides aminés en différentes concentrations. La liaison de ces acides aminés forme des chaînes polypeptidiques. Chaque chaîne contient environ mille acides aminés. La structure globale de la gélatine est une molécule en forme de baguette se composant des structures hélicoïdales primaire, secondaire et tertiaire **(Tableau III.2)** [58].

Tableau III.2: Différentes fractions en acides aminés entrant dans la composition de la gélatine
[58].

Teneur en acides aminés exprimée en grammes pour 100g de gélatine pure.		structures	Teneur en acides aminés exprimée en grammes pour 100g de gélatine pure.		structures
Alanine	11,3		Isoleucine	1,6	
Arginine	9,0		Leucine	3,5	
Acide aspartique	6,7		Lysine	4,4	
Acide glutamique	11,6		Phénylalanine	2,5	
Glycine	27,2		Serine	3,7	
Histidine	0,7		Thréonine	2,4	
Proline	15,2		Tryptophane	0,0	
Hydroxyproline	13,3		Tyrosine	0,2	
Hydroxylysine	0,8		Valine	2,8	

- **Tests de contrôle qualité du produit fini :**

Les tests qui servent à vérifier les paramètres technologiques du produit fini sont décrits ci-dessous.

✓ **La force en gel (Bloom) :**

La force en gel, ou Bloom, exprimée en gramme, est liée à l'élasticité mécanique du gel de gélatine. Elle permet la classification des gélatines. La mesure standardisée consiste à déterminer la force maximale mesurée lors de la pénétration d'un cylindre standardisé de ½

pouce de diamètre à une profondeur de 4mm et avec une vitesse de 1mm/seconde dans un gel à 6,67% maturé pendant 18 heures à 10°C dans un flacon spécifique [53].

- ✓ **La viscosité :**

La mesure de la viscosité fait partie des paramètres « clé » de la gélatine, ce résultat est souvent de première importance. Elle dépend de trois paramètres : la concentration, la température et le pH. On la détermine à l'aide d'un viscosimètre capillaire. Elle est déterminée en mesurant le temps d'écoulement de 100 ml d'une solution à 6.67% de gélatine dans l'eau à 60°C. Les viscosités des solutions varient suivant l'extraction et l'origine de la gélatine [53].

- ✓ **Le pH et le point isoélectrique (pIE) :**

La mesure standardisée s'effectue sur des solutions à 6.67%. Toutes les solutions de gélatine ont un pH qui varie en fonction du traitement subi par les matières premières et qui est compris entre pH 4 et pH 6.5, donc légèrement acide.

La gélatine est un exemple de polymère amphotère, présentant des propriétés cationiques en milieu acide et des propriétés anioniques dans un environnement alcalin. Elle se caractérise donc par le point isoélectrique (pIE) qui joue sur son aptitude au mélange avec d'autres hydrocolloïdes, c'est à dire par le pH auquel elle est globalement neutre (autant de charges positives que négatives) [58] .A cette valeur de point isoélectrique, on a l'équilibre suivant **(Figure III.5)**:

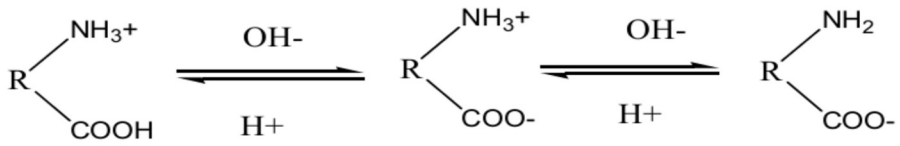


Figure III.4: Equilibre de charges au point isoélectrique [59].

On constate que les gélatines de type A se distinguent du type B par :

- Leur point isoélectrique (toujours supérieur à 6,5 pour le type A et voisin de 5 pour le type B),
- Une viscosité plus faible pour un même degré Bloom [60].

Le **tableau III.3** représente les caractéristiques de quatre types de gélatine.

Tableau III.3: Caractéristiques des gélatines
[60]

Type	A		B	
Origine	Couennes de porc	Os	Os	Peaux de bovins
pI	7,5-9	6,5–8	4,8–5,2	4,8–5,2
Bloom (g)	60–300	60–300	60–280	60–260
Viscosité (m Pa.s)	1,8–5,5	1,8-4	2-7	2–7

- **Gélatine en solution:**

La gélatine se présente sous forme de grains, qui une fois mis dans l'eau se mettent à gonfler. Pour que la gélatine soit solubilisée, il est nécessaire de la chauffer à des températures supérieures à 40°C.

Pour des températures supérieures à 40°C, la gélatine présente une structure dite désordonnée, dans laquelle on retrouve en solution, un mélange de différentes fractions α, β, γ en conformation de pelotes statiques. Le système ainsi obtenu est une solution de gélatine, on dira également que la gélatine est à l'état sol [61].

Si l'on refroidit une solution de gélatine, un phénomène de gélification se met alors en place. Il s'agit là d'une des principales raisons de l'utilisation de la gélatine par les industriels. La gélification traduit une transition conformationnelle, c'est-à-dire le passage de l'état désordonné (pelote statistique) à l'état ordonné (hélice gauche). Il peut être suivi par la mesure du pouvoir rotatoire qui détecte l'apparition ou la disparition des hélices gauches.

Le phénomène de gélification se traduit par une renaturation partielle des triples hélices de collagène, dépendant de la concentration initiale en gélatine et de la vitesse de refroidissement. Pour de très faibles concentrations (C~0,01% en poids), la transition pelote-hélice se fait par repliement de la chaîne sur elle-même due à une prédominance de liaisons intramoléculaires. A des concentrations supérieures à 0,1%, la transition implique une agrégation des chaînes par formation de triples hélices interchaînes [62].

Concernant la température, plus les solutions sont refroidies brutalement, plus le pourcentage de boucles et de repliement des chaînes serait important [63].

- **Applications de la gélatine dans l'industrie pharmaceutique :**

Dans l'industrie pharmaceutique, la gélatine est utilisée pour la fabrication des gélules et des capsules. Elle protège les médicaments des effets néfastes de la lumière et de l'oxygène. Les gélules sont essentiellement employées pour les médicaments liquides, alors que les capsules sont utilisées pour les poudres. La gélatine permet de lier les principes actifs du médicament et de prolonger leur durée de conservation. Grâce à une sélection et un dosage

rigoureux, la gélatine peut même influer sur la vitesse de libération des principes actifs, soit en l'accélérant, soit en la ralentissant (effet « retard »). Les comprimés enrobés de gélatine représentent un nouveau progrès technologique, l'enrobage de gélatine facilitant l'ingestion du comprimé par les patients [64].

III.3. Comportement des mélanges de biopolymères :

Les mélanges de biopolymères en solution aqueuse présentent soit une instabilité thermodynamique se traduisant macroscopiquement par une séparation de phase, soit, dans des cas plus rares, par une miscibilité des biopolymères dans des solutions diluées (interactions biopolymère-biopolymère égale à celles biopolymère-solvant et solvant-solvant) [65].

La compatibilité ou l'incompatibilité entre les biopolymères proviennent de la faible entropie de mélange des composés macromoléculaires, qui ne peut compenser des valeurs même très faiblement positives de l'enthalpie de mélange, défavorables à la stabilité de ce dernier [66].

Lorsque la concentration des biopolymères augmente et dépasse une certaine valeur critique, la co-solubilité devient limitée entre les deux biopolymères et conduit à une séparation de phase [65]. La séparation de phase peut être soit de type ségrégatif soit de type associatif **(Figure III.6)**.

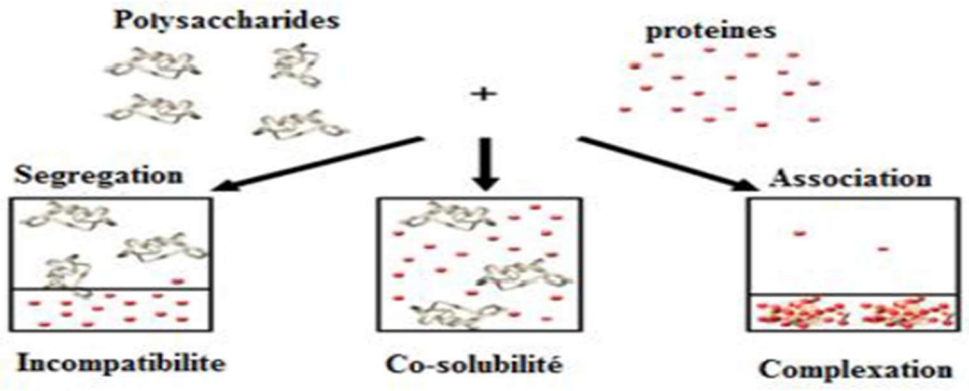


Figure III.5: Comportement des protéines-polysaccharides

III.4. Principaux paramètres physico-chimiques influençant la formation de complexes protéines-polysaccharides

III.4.1. Influence du pH

Le pH joue un rôle très important dans le processus de formation de complexes entre les protéines et les polysaccharides. En effet, le pH est responsable de l'ionisation des macromolécules afin que des interactions électrostatiques puissent s'effectuer. Plus précisément, le pH contrôle l'ionisation des groupements des chaînes latérales, des groupements

aminés et carboxyliques des protéines et des groupements carboxyliques des polysaccharides [67].

III.4.2. Influence de la force ionique

Parmi les trois types d'équilibre qu'on trouve dans une solution binaire protéine/polysaccharide, la miscibilité est apparente généralement à des forces ioniques plus faibles que l'incompatibilité et la séparation de phases associative [68]. Le nombre d'ions présents dans un mélange de biopolymères est un facteur très important affectant le phénomène de complexation car il intervient dans les composantes entropiques et enthalpiques de l'énergie libre de mélange [69].

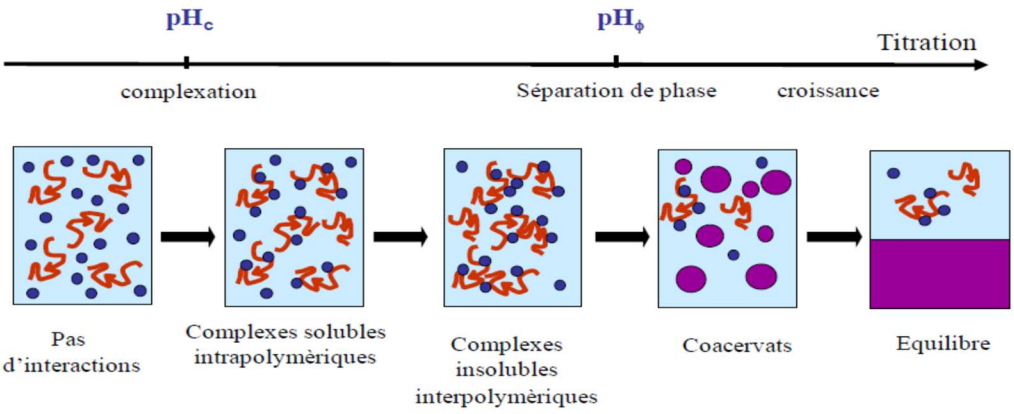


Figure III.6: Représentation schématique de différentes étapes de complexation entre protéines et polysaccharides de charges opposées en fonction du pH. Les cercles bleus représentent la protéine, les lignes courbes représentent le polysaccharide. pHc : pH critique, [70].

III.4.3. Influence de sucres

La présence de sucres tel le lactose, le glucose, le galactose et le sorbitol atténue l'effet d'un traitement thermique en diminuant les interactions entre les protéines. La dénaturation des protéines est cependant favorisée en présence de sucres réducteurs pouvant être impliqués dans la réaction de Maillard [71].

III.4.4. Influence de la densité de charge des macromolécules :

La formation de complexes est principalement influencée par un autre facteur qui est la densité des charges qui se localise sur les macromolécules. La densité de charges des biopolymères peut être définie comme le nombre de charges par unité de longueur. De plus, la charge nette des complexes influence la solubilité de ceux-ci dans leur milieu. Par exemple, si un polymère possède un excès de charge par rapport à un deuxième polymère, les complexes formés auront tendance à interagir avec le solvant. Par contre si les charges des deux polymères sont nulles, à ce moment on aura formation de complexes qui seront insolubles. Ces complexes peuvent être à nouveau solubles par titration acide ou par ajout de sels. Un autre facteur important qui influence la densité de charges des macromolécules, est la conformation des

polymères. Une protéine globulaire sera limitée dans son interaction avec le polysaccharide par rapport à une protéine fibreuse de structure plus désordonnée (gélatine, caséine), qui donne aux sites chargés la possibilité d'interagir avec le polysaccharide [72].

III.4.5. Influence de la masse moléculaire des biopolymères :

L'effet de la masse moléculaire des biopolymères sur la séparation de phase d'un système ternaire intervient au niveau du volume occupé par les molécules. Cette séparation de phase est obtenue plus facilement lorsque la masse moléculaire des biopolymères est grande. Toutefois, afin de tenir compte de l'influence de ce paramètre, deux cas limites sont proposés. Si la masse moléculaire des biopolymères est trop faible, l'interaction se fera plutôt par simple pontage ionique plutôt que par formation de complexes électrostatique intermoléculaires. Au contraire, si les masses moléculaires sont trop élevées, l'interaction conduira à la formation de précipités plutôt que de coacervats [73].

III.4.6. Influence du ratio massique protéine : polysaccharide :

Le ratio massique protéine : polysaccharide (Pr : Ps) est un autre facteur influençant la charge nette et les propriétés des complexes obtenus. Il en résulte une influence sur la solubilité des complexes et plus particulièrement sur le phénomène de séparation de phase par coacervation complexe. En effet, à un pH et à une force ionique donnés, le ratio massique Pr : Ps va conditionner la neutralisation des charges entre les deux macromolécules [74]. Si les complexes sont de type stœchiométrique, c'est à dire que la neutralisation est obtenue pour des ratios de 1 : 1, tout ratio supérieur ou inférieur aura pour effet de solubiliser ces complexes et donc de diminuer la formation de coacervats [75].

III.4.7. Influence de la concentration totale en biopolymères

La concentration totale en biopolymère est aussi un paramètre important dans le phénomène de complexation. Une concentration totale dépassant un seuil critique peut causer la suppression de la coacervation. Le système n'évolue plus vers une séparation de phase associative mais ségrégative [76].

III.5. Influence des paramètres physiques sur la formation de complexes protéines-polysaccharides

III.5.1. Température

La température influence les interactions non coulombiennes. La séparation de phases associative dans un système protéine/polysaccharide est donc favorisée par une diminution de la température permettant l'établissement de liaisons hydrogène. L'augmentation de la température peut aussi être indirectement bénéfique à la séparation de phases associative [77].

III.5.2. Agitation et temps d'agitation

L'effet de l'agitation ou de la vitesse d'agitation sur la formation de complexes macromoléculaires et de coacervats ont été mis en évidence dans plusieurs études, qui ont donné lieu à des résultats pour le moins contradictoires [78].

III.6. Intérêt des complexes protéines-polysaccharides

La complexation entre protéines et polysaccharides est un moyen d'améliorer les propriétés fonctionnelles de chaque biopolymère. Ces propriétés peuvent être modulées en contrôlant les conditions physico-chimiques de formation des complexes (pH, force ionique, température…). Ces propriétés (hydratation, structures, et interfaces) sont connues et certaines applications industrielles en découlent.

L'encapsulation permet également d'assurer une libération contrôlée d'arômes avant ou pendant la consommation de certains aliments ou même de masquer le mauvais goût de certains matériaux biologiquement actifs [79].

CHAPITRE IV :
Partie expérimentale

IV. CHAPITRE IV : Partie expérimentale

IV.1. Introduction

Les objectifs principaux de ce travail sont de mettre l'accent sur les paramètres susceptibles d'influencer la microencapsulation de l'ibuprofène et les interactions entre les deux biopolymères utilisés dans leur formation. Dans cette perspective nous cherchons à déterminer la concentration et le ratio optimum pour lesquels les interactions sont à leurs maximums entre la gélatine et le xanthane.

Notre objectif est de minimiser au maximum les changements de structure pour maintenir la gélatine plus stable et la protéger contre la dénaturation qui se manifeste durant les procédés de transformation au cours de la coacervation complexe établie entre elle et le xanthane.

Dans le but d'étudier la nature des interactions et d'évaluer les propriétés des microcapsules élaborées plusieurs techniques ont été utilisées à savoir l'UV-Visible pour établir le profil de libération de l'ibuprofène à partir des microcapsules dans des milieux gastrique et intestinale simulés, la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) et enfin une étude morphologique par le microscope à photo.

IV.2. Matériels et Méthodes

IV.2.1. Matériels

Matière enrobante

- Gélatine : C'est une poudre cristalline inodore de couleur blanc jaunâtre et de qualité alimentaire.
- Gomme de xanthane : Poudre inodore de couleur blanche et aussi de qualité alimentaire.

IV.2.1.1. Principe actif

Ibuprofène, nom UICPA : acide (RS)-2-(4-(2-méthylpropyl) phényl) propanoïque, poudre cristalline, grade pharmaceutique.

IV.2.1.2. Solvants et réactifs

L'eau déminéralisée est utilisée pour la préparation de toutes les solutions. Les autres produits utilisés sont cités dans le tableau suivant :

Tableau IV.1: Caractéristique des réactifs utilisés

Produit	**Formule chimique**	**Masse molaire g / mol**	**Pureté**	**Fournisseur**
Acide chlorohydrique	HCl	36.46	33%	Honey well FLUKA
Hydroxyde de sodium	NaOH	40	99%	PANREAC
Calcium chloride anhydrous	$CaCl_2$	10.99	96%	
Huile de parafine	C_nH_{2n+2}	275et 600	99%	Isopharm Algérie

IV.2.2. Méthode de caractérisation

IV.2.2.1. Spectroscopie infrarouge (IR-TF)

Principe

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) est une technique d'analyse physico-chimique qui sonde les liaisons entre les noyaux atomiques et leurs arrangements. Cette méthode permet d'accéder directement à l'information moléculaire, à la nature chimique et à l'organisation conformationnelle et structurale des matériaux analysés.

Les mesures par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) sont réalisées avec un spectrophotomètre infrarouge à transformée de fourrier (IR-TF). Chaque spectre a été enregistré entre 500 cm^{-1} et 4000 cm^{-1}.

IV.2.2.2. Microscopie optique :

Principe :

C'est un microscope optique muni d'un appareil photo et de lentilles d'agrandissement qui permettent de grossir l'image, cette technique permet d'évaluer la présence, la forme, l'état de dispersion et la taille des microcapsules dans la phase continue.

IV.2.2.3. UV- visible :

Principe :

La technique de spectrophotométrie est basée sur la propriété de la matière, et plus particulièrement de certaines molécules, d'absorber certaines longueurs d'ondes du spectre UV-visible. Elle permet de réaliser des dosages grâce à la loi de Beer-Lambert **(A= ε l C)**, qui montre une relation de proportionnalité entre l'absorbance et la concentration, aussi bien qu'une étude structurale des complexes par l'étude des spectres d'absorption. Cette méthode est basée sur l'utilisation d'un spectrophotomètre qui détermine l'absorption d'une solution pour une longueur d'onde donnée ou pour une plage de longueurs d'ondes judicieusement choisie.

IV.2.2.4. Matériels de préparation

- Balance électrique.
- Agitateur magnétique.
- Plaque chauffante.
- pH mètre.
- Thermomètre.
- Verreries (fioles, béchers, erlenmeyer, …)

IV.3. Mode opératoire

IV.3.1. Caractérisation et analyse de la matière enrobante et du principe actif

La cartérisation est réalisée par la technique de Spectroscopie infrarouge (IR-TF)**Gélatine :**

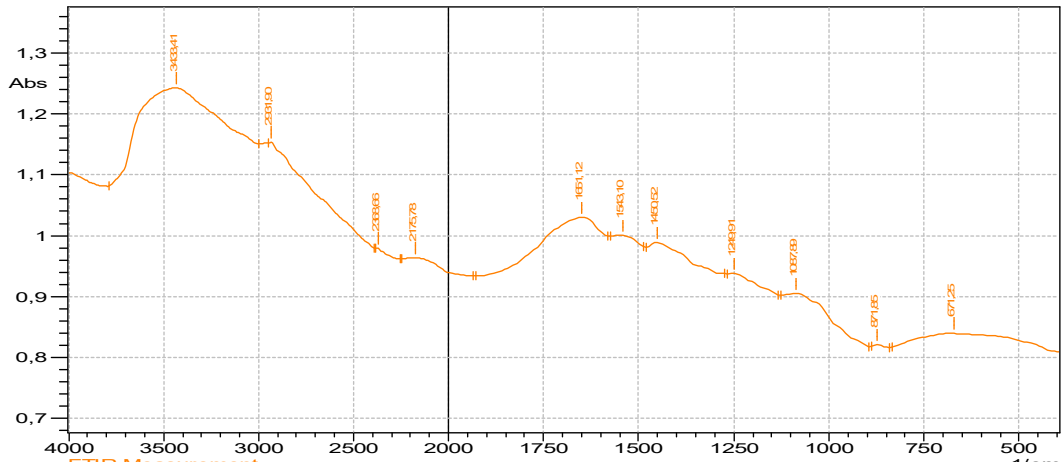


Figure IV.1: Spectre FTIR de gélatine (% Absorbance)

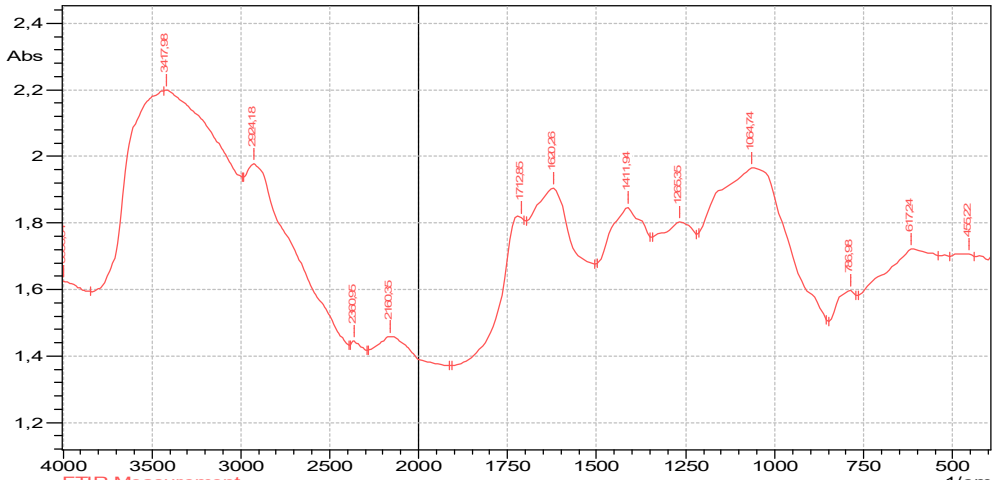


Figure IV.2: Spectre FTIR de gélatine (% transmittance)

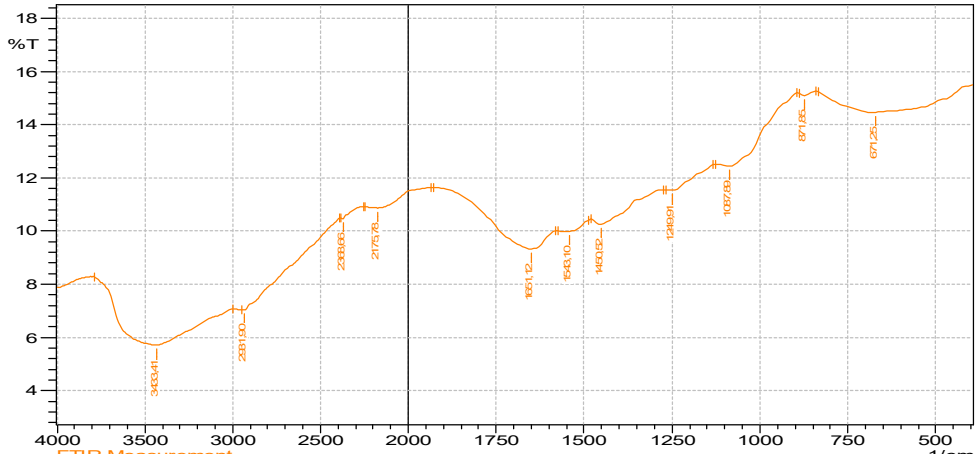


Figure IV.3: Spectre FTIR de xanthane (% Absorbance)

- **Gomme de xanthane :**

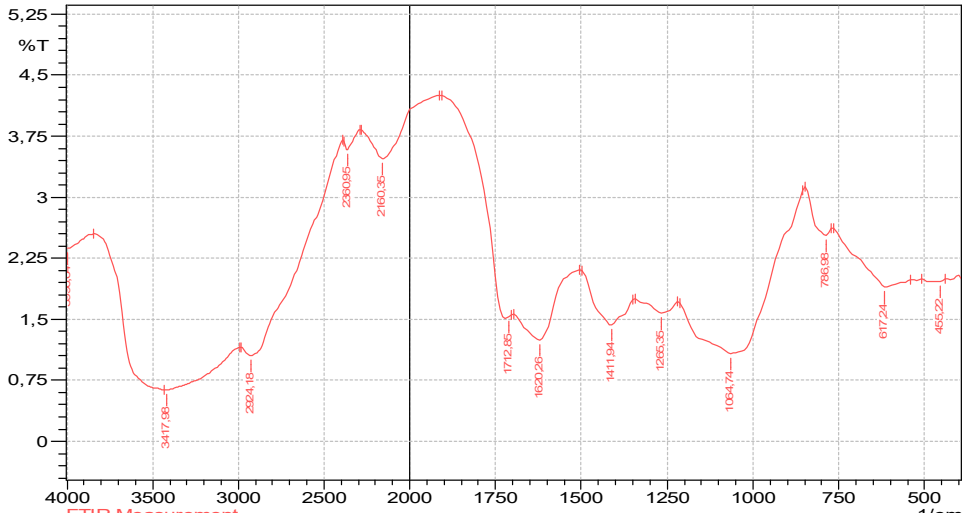


Figure IV.4: Spectre FTIR de xanthane (% transmittance)

- **Ibuprofène :**

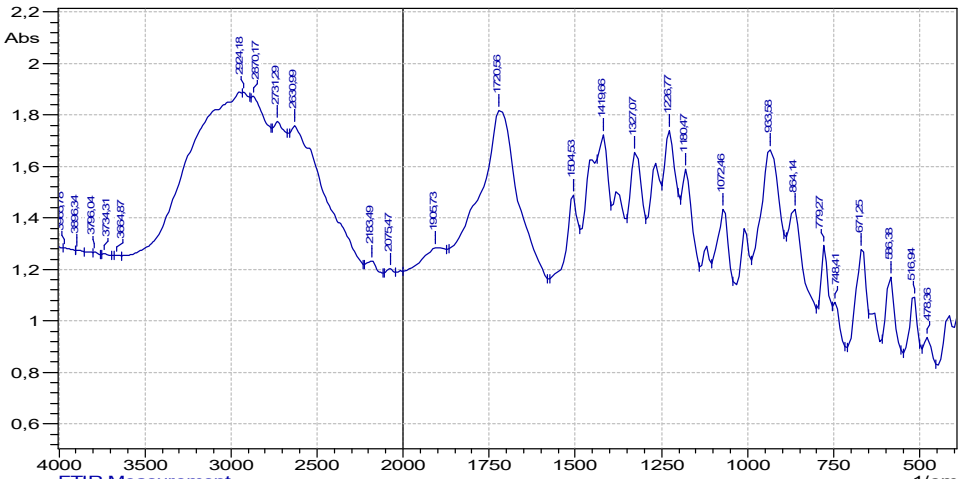


Figure IV.5: Spectre FTIR d'ibuprofène (%Absorbance)

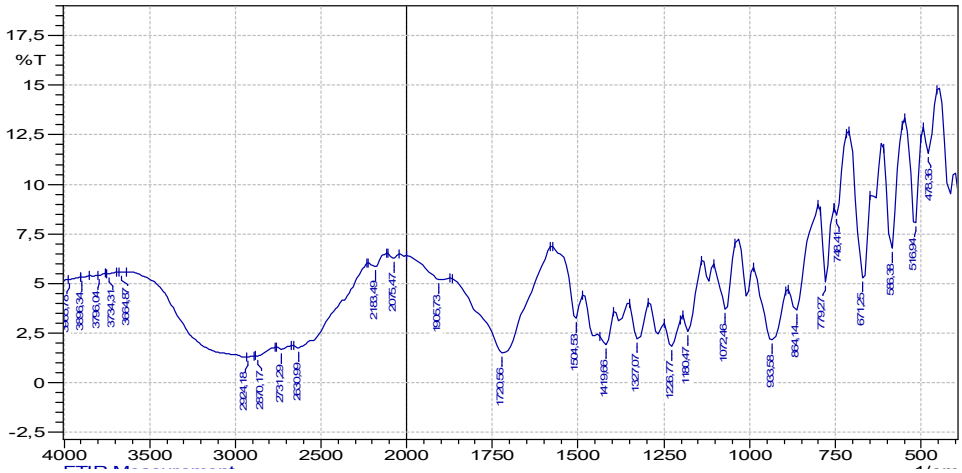


Figure IV.6: Spectre FTIR de Ibuprofène (% transmittance)

IV.3.2. Procédés de microencapsulation :

IV.3.2.1. Préparation de la solution protéique :

Les solutions de gélatine sont préparées dans l'eau à une concentration massique de 7%, w/w. Les solutions sont agitées à l'aide d'un agitateur mécanique (environ 500 tr/min) à température 40°C pendant 15min.

IV.3.2.2. Préparation de la solution de polysaccharide :

Une quantité spécifique de xanthane (0.35g) est dispersée dans l'eau distillée (50 ml) à température ambiante, sous une forte agitation pendant au moins 1 h. La solution est laissée à température ambiante pendant 18 h heures pour assurer une bonne hydratation des macromolécules de xanthane. La solution était claire et ne démontrait aucun précipité.

Préparation des solutions avec l'ibuprofène :

La préparation est réalisée à température ambiante. 0.35 g de gélatine est solubilisée dans 50 g d'eau déminéralisée selon le protocole décrit précédemment. A la fin du temps d'agitation de la solution protéique, la quantité nécessaire d'IBU est ajoutée sous agitation mécanique. La solution est maintenue sous agitation mécanique durant 30min.

IV.3.2.3. Préparation de la solution de $CaCl_2$:

A température ambiante, on fait dissoudre la quantité de $CaCl_2$ (5g) dans l'eau distillée afin d'obtenir une solution de 5% (w/w) et on maintient l'agitation jusqu'avoir une solution homogène.

IV.3.2.4. Préparation des microcapsules :

La méthode de microencapsulation utilisée dans la présente étude est basée essentiellement sur la procédure décrite dans le chapitre I. La désolvatation simultanée de deux polymères de type polyélectrolytes hydrosolubles de charge opposée (GE et GX) est provoquée, suite à une modification du pH du milieu réactionnel et à l'attraction électrostatique induite des deux polymères. Une fois le coacervat formé et déposé autour de l'Ibuprofène (principe actif lipophile), on ajoute le réticulant. La réticulation des microcapsules obtenues se fait par ajout de la solution de $CaCl_2$, ce qui permet de solidifier les particules. La méthode comprend les étapes suivantes :

- Dispersion de 1g de l'Ibuprofène dans une solution de GE à 7 % à une température ambiante.
- Mélange sous agitation magnétique pendant 15 minutes.
- Addition de la solution de la solution de GX à différentes concentrations et à température ambiante sous agitation.
- Mesure du pH, et ajustement si nécessaire pour enclencher la coacervation.
- Préparation de la phase huileuse (pour chaque 50 ml de l'huile de paraffine on ajoute 1 ml de tween 80).
- Dispersion du mélange précédant (phase aqueuse) dans la phase continue (phase huileuse) sous agitation.
- Addition de différentes quantités de l'agent de réticulation (solution de $CaCl_2$).
- Agitation magnétique pendant différents temps de réticulation.
- Filtration de la solution.

Le plan d'expérience est détaillé dans le tableau qui suit :

Tableau IV.2: Plan d'expériences

Essai	Ratio GE/GX	$CaCl_2$ (ml)	Temps de réticulations (min)
Effet du ratio gélatine/xanthane			
1	1 : 1	2	60
2	1 : 2	2	60
3	2 : 1	2	60
4	1 : 3	2	60
5	3 : 1	2	60
Effet da la quantité de CaCl2			
6	1 : 1	1	60
7	1 : 1	2	60
8	1 : 1	5	60
Effet du temps de réticulation			
9	1 : 1	2	30
10	1 : 1	2	60
11	1 : 1	2	90

IV.4. Résultats et discussion

IV.4.1. Analyse microscopique :

L'analyse morphologique par microscopie optique des microparticules obtenues, est représentée par les figures suivantes. L'analyse est faite avant et après avoir mis le réticulant afin de bien voir son effet sur la paroi des microcapsules.

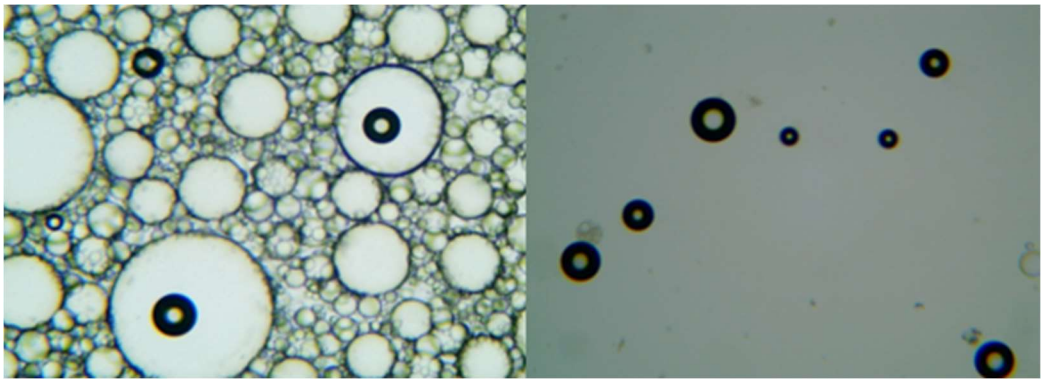


Figure IV.7: Image de microscopie optique des microcapsules de l'Ibuprofène (1 : 1 après ET avant $CaCl_2$)

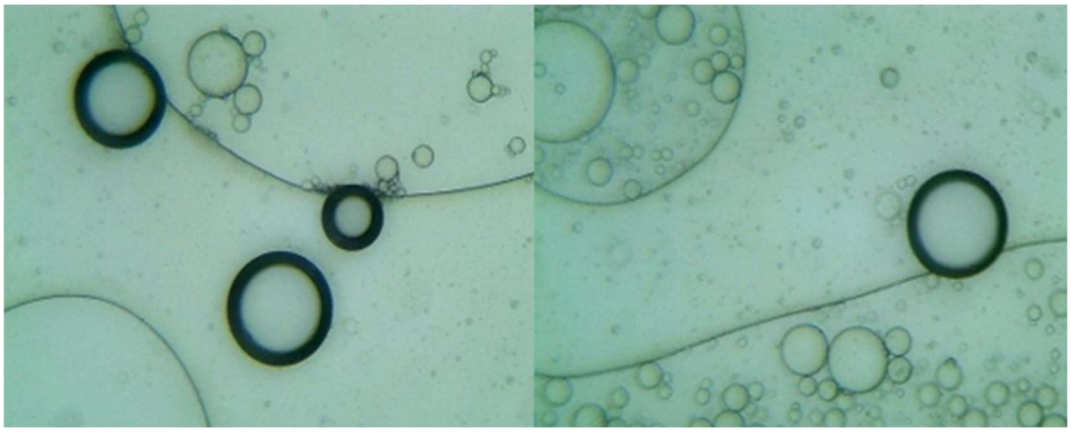


Figure IV.8: Image de microscopie optique des microcapsules de l'Ibuprofène (1 : 2) après et avant l'ajout du $CaCl_2$

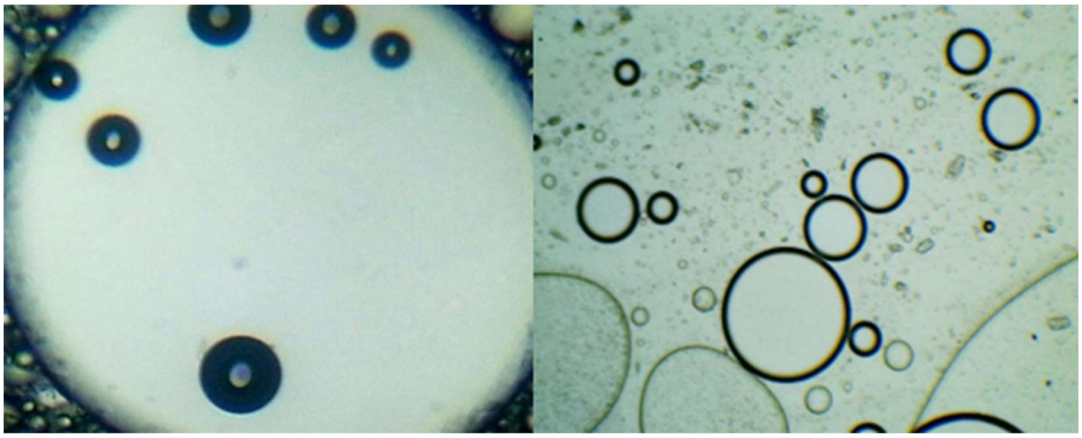


Figure IV.9: Image de microscopie optique des microcapsules de l'Ibuprofène (2 : 1) après et avant l'ajout du $CaCl_2$

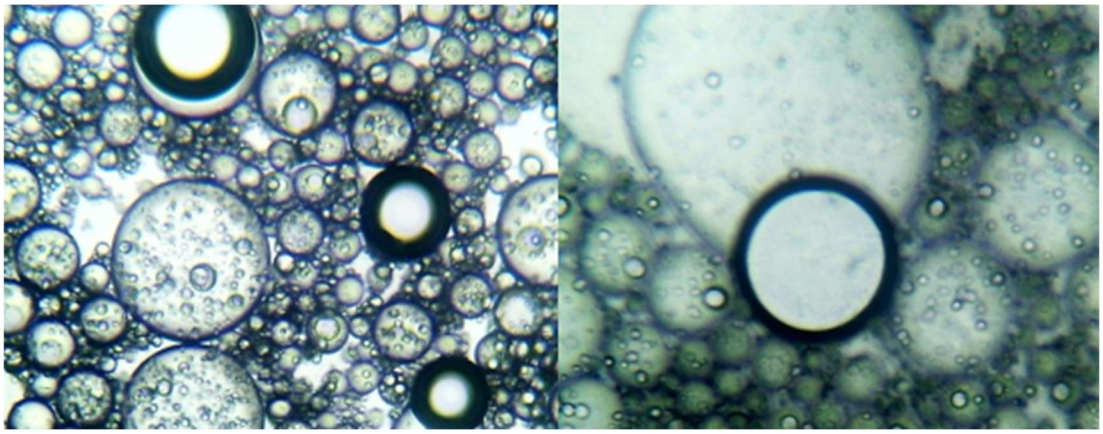


Figure IV.10: Image de microscopie optique des microcapsules de l'Ibuprofène (3 : 1) après et avant $CaCl_2$

IV.4.2. Analyse Spectroscopie infrarouge (IR-TF) :

X/GE/PA

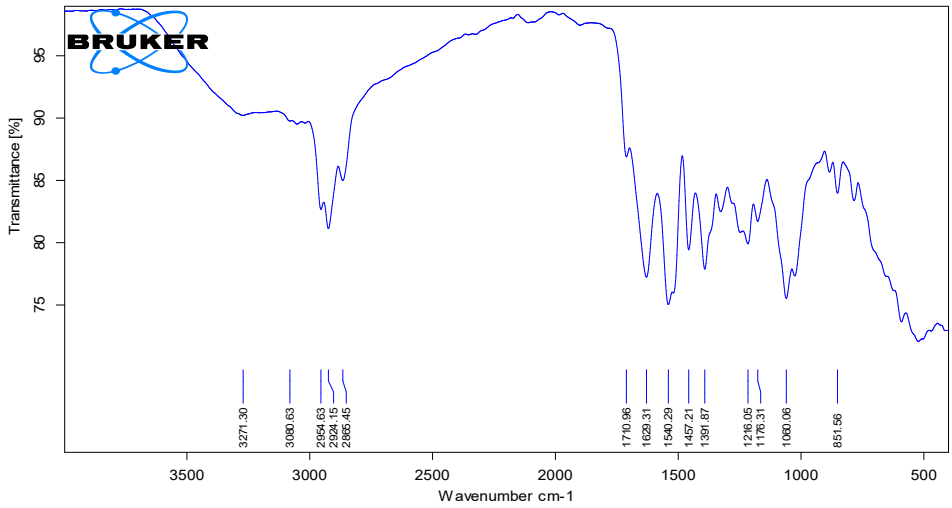


Figure IV.11: Spectre FTIR de X/GE (% Absorbance)

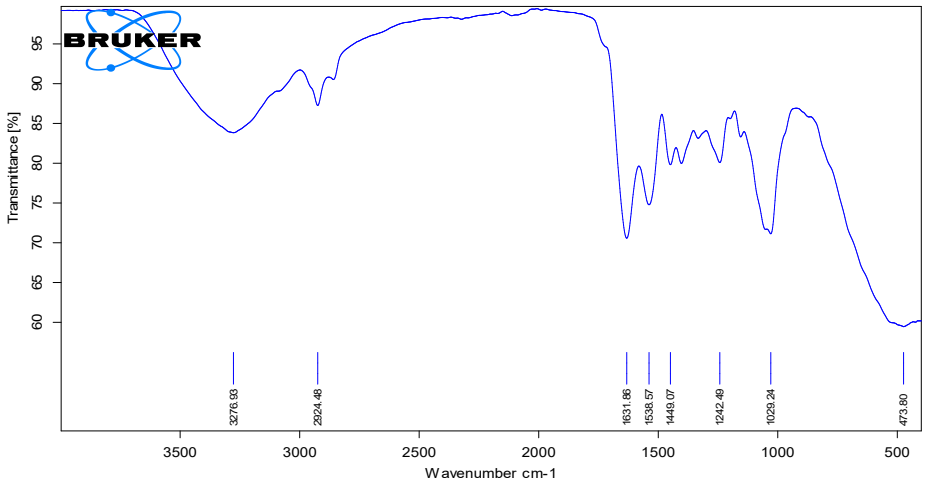


Figure IV.12: Spectre FTIR de X/GE/PA (% transmittance)

IV.4.3. Interprétions des résultats :

Plusieurs constatations se dégagent de cette analyse :

- Les microparticules ont une forme sphérique avec une membrane de polymère et une cavité interne ; de cette observation, nous pouvons conclure que les particules formulées sont des microcapsules.

- Le ratio massique protéine/polysaccharide (Pr/Ps) a une très grande importance sur le phénomène de séparation de phase

- L'effet de la quantité de l'agent de réticulation ajouté est évalué pour les trois niveaux (1, 2 et 5 ml). Arés la comparaison des images par microscopie optique, on constate que la microencasulation semble ne pas être affecté par la variation de l'agent de réticulation, et un faible effet sur la morphologie des microparticules (aspect physique).

- L'effet du temps de réticulation des microcapsules formées est évalué pour les 30, 60 et 90 minutes. Par observation un temps de 60 min est suffisant pour avoir une microcapsule épaisse et solide.

- Il est clair que les microcapsules présentent une paroi épaisse après l'ajout de $CaCl_2$, ce qui met en considération son effet de réticulation sur la paroi.

- Des études FTIR ont également été effectué pour une confirmation supplémentaire de la semi-compatibilité du mélange, de la gomme xanthane, de la gélatine et des différentes compositions de mélange. Le groupe change (1650-1643) cm^{-1} a confirmé l'implication des groupes carboxyliques du xanthane et fragments de liaisons peptidiques de la gélatine, mais il n'y a pas de changement dans la composition du mélange (Fig III.12).

- Le spectre FTIR prend en charge les résultats de la viscosité et de la nature semi-compatibilité du mélange considéré

IV.5. Etude cinétique

IV.5.1. Cinétique de libération de l'Ibuprofène

L'étude de la cinétique de libération a été effectuée sur l'échantillon n°10 (tableau) en deux parties :

- La première dans un milieu considéré comme milieu gastrique avec un pH = 3 et de température de (37°C ± 0.5).
- La deuxième partie dans un milieu similaire au milieu intestinal avec un pH = 8.2 et de température de (37°C ± 0.5).

La technique utilisée dans cette étude est la spectroscopie UV-visible. La libération d'IBU a été suivie par prélèvement de 1ml de milieu de dissolution à des différents intervalles.

IV.5.1.1. Dans le milieu gastrique

Pour déterminer les valeurs de concentration de l'Ibuprofène libéré par les microcapsules, on trace la courbe d'étalonnage :

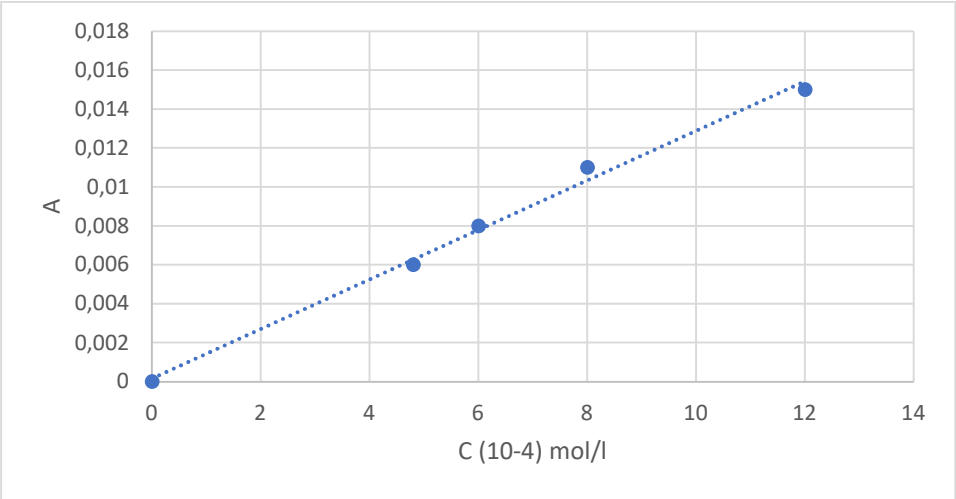


Figure IV.13: Courbe d'étalonnage de l'ibuprofène libéré dans milieu gastrique

La droite d'étalonnage nous permet de déduire les valeurs de la concentration C (mol/l) et de tracer la variation de la concentration de l'Ibuprofène libéré en fonction du temps de libération C = f (t).

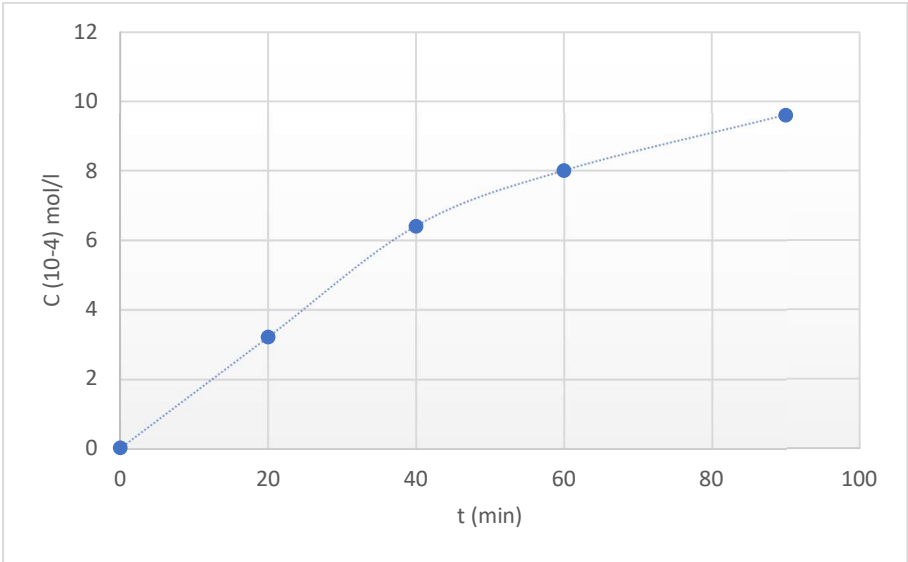


Figure IV.14: Courbe de la variation de la concentration de l'ibuprofène libéré en fonction du temps dans un milieu gastrique

IV.5.1.2. Dans le milieu intestinal

Le même échantillon a été mis une nouvelle fois dans un milieu similaire à celui du milieu intestinal, et les mêmes étapes ont été suivies.

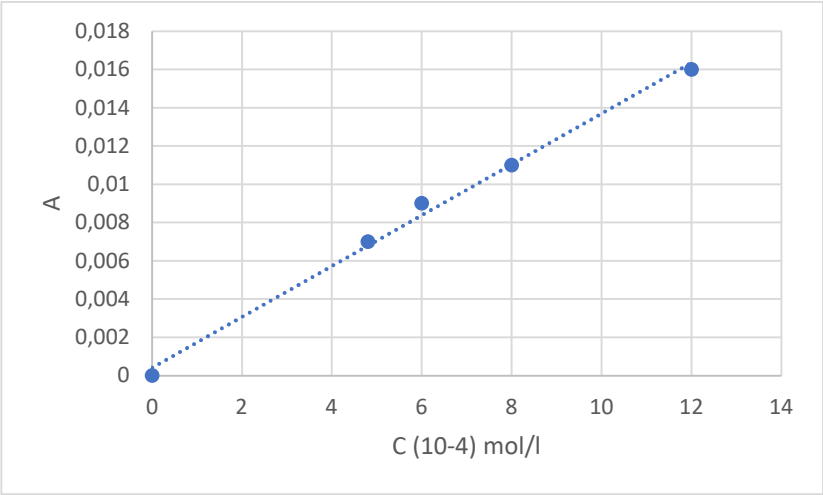


Figure IV.15: Courbe d'étalonnage de l'ibuprofène libéré dans le milieu intestinal

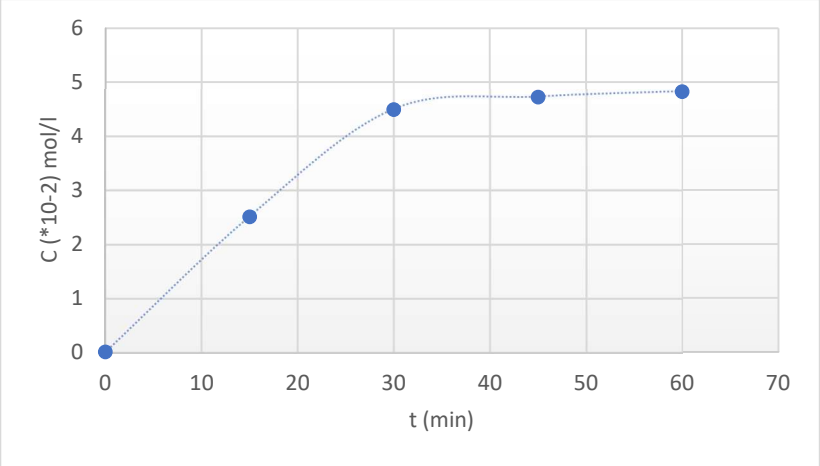


Figure IV.16: Courbe de la variation de la concentration de l'ibuprofène libéré en fonction du temps dans un milieu intestinale

IV.5.2. Interprétions des résultats et conclusion

L'analyse statistique des résultats révèle une différence entre les cinétiques obtenues à partir des microcapsules.

Les résultats obtenus résultent de l'influence de la présence de la gélatine dans les formulations, qui se traduit par une libération ralentie à pH 3 proche du point isoélectrique de la protéine.

La quantité de PA libéré est très faible à pH 3, ce qui permet de dire que cette formulation peut être considérer comme formules gastrorésistante.

Et c'est à pH 8.1 que la majeure partie de l'Ibuprofène est libéré, de manière un peu accélérée (la stabilité est remarquable à partir de la minute 30).

Les résultats obtenus démontrent l'intérêt de la paroi gélatine/gomme xanthane comme excipient pour la formulation des microcapsules à libération retardée, voire même prolongée.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

L'objectif de ce travail était d'étudier les effets des paramètres d'encapsulation du système gélatine/gomme xanthane en tant que matériau enrobant de principes actifs pharmaceutiques destinés à la voie orale, et plus particulièrement en tant que candidat pour l'élaboration de formes gastrorésistantes. Pour cela nous avons fait le choix de moduler le ratio (Pr:Ps), le temps de réticulation et le volume de l'agent réticulant. L'ibuprofène : anti-inflammatoire non stéroïdien, a été choisi comme molécule modèle du fait de sa faible solubilité nécessitant une amélioration de sa biodisponibilité, et de ses effets indésirables gastriques nécessitant une mise en forme entérique.

Les résultats que nous avons obtenus nous ont permis de valider l'intérêt de la paroi gélatine/xanthane pour l'application pharmaceutique visée.

L'effet des paramètres de formulation [ratio gélatine/gomme xanthane, quantité de l'agent réticulant et du procédé (temps de réticulation des microcapsules)] sur la qualité des microcapsules obtenues est évalué. Les résultats de la caractérisation les plus intéressant sont montré que les microcapsules formulées présentent une forme sphérique, un rendement d'encapsulation intéressant, une bonne stabilité des suspensions de coacervats et une bonne efficacité d'encapsulation pour les conditions optimums suivants : ratio gélatine/xanthane (1/1), une quantité de 2 ml d'agent de réticulation et un temps de réticulation de 60 minutes.

Les résultats expérimentaux ont en effet permis de :

- Choisir les conditions opératoires optimales permettant d'avoir les meilleurs taux de microencapsulation.
- Obtenir des microparticules chargées en ibuprofène, Ces microsphères contribuent notamment à une libération prolongée de l'ibuprofène.
- Mettre en évidence les conséquences de cette microencapsulation sur le relargage de l'ibuprofène en milieux digestifs gastrique et intestinal simulés. Des cinétiques ralenties à pH acide, et rapides à pH neutre ont été obtenues.

Les résultats obtenus ouvrent de nombreuses voies de recherche et de développement concernant l'intérêt de gélatine/xanthane et plus largement des électrolytes naturels pour des applications pharmaceutiques, notamment pour la voie orale.

Concernant l'intérêt du système étudié, les résultats que nous avons obtenus montrent qu'elles sont particulièrement intéressantes pour la mise en place de cinétiques de libération d'actif différées. Ces polymères se dégradent une fois atteint un site particulier de l'organisme (intestin). Ce qui propose une alternative verte aux polymères synthétiques, et présentent des propriétés complémentaires.

REFERENCES

References

[1] Maria Antonieta Anaya Castro. Optimisation de la pH-sensibilité de protéines végétales en vue d'améliorer leurs capacités d'encapsulation de principes actifs destinés à la voie orale. Thèse de doctorat

[2] Lamoudi L, et al. Effet des paramètres du procédé de microencapsulation du piroxicam par coacervation complexe. Ann Pharm Fr (2014), http://dx.doi.org/10.1016/j.pharma.2014.05.006

[3] Versic RJ. Flavor encapsulation. ACS Symp Ser 1988;370:1—6.

[4] Schmitt, C. (2000). Etude de la coacervation complexe entre la β- lactoglobuline et la gomme d'acacia en solution aqueuse. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine, France.

[5] Brune K, Dietzel K, Nurnberg B, Schneider HT. Recent insightinto the mechanism of gastrointestinal tract ulceration. Eur JRheumatol Inflamm 1987;9:8—14.

[6] Heynen G. Toleration and safety of piroxicam. Eur J RheumatolInflamm 1987;8:86—93.

[7]. BOH, B. 2007. Developements et applications industrielles des microcapsules. Microencapsulation: des sciences aux technologies. Paris: Lavoisier, 9-22.

[8] PAULO, F. & SANTOS, L. 2017. Design of experiments for microencapsulation applications: A review. Materials Science and Engineering: C, 77, 1327-1340.

[9]. J.Richard, J.Bentoit, Techniques de l'Ingenieur, traite Génie des procèdes.

[10]. J.P.Benoit, S.Briancon, E.Fattal, H.Fessi, P. Legrand, C.Passirani, Spheroides et formes vectorisees. P 13, 23.

[11] GUPTA, A. & DEY, B. 2013. Microencapsulation for controlled drug delivery: a comprehensive review. Sunsari Technical College Journal, 1, 7.

[04]. S.Rabeau (2009), Etude d'un procède continu d'une microencapsulation basée sur un micromelangeur, Mémoire de Doctorat, Université Nancy (France).

[12]. D.Barthes-Biesel, E.Leclerc (2009), Conception et réalisation d'un système micro fluidique pour la production de gouttes calibrées et leur encapsulation, Memoire de Doctorat, Universite de Technologie de Compiegne.

[13] TOMARO-DUCHESNEAU, C., SAHA, S., MALHOTRA, M., KAHOULI, I. & PRAKASH, S. 2012. Microencapsulation for the therapeutic delivery of drugs, live mammalian and bacterial cells, and other biopharmaceutics: current status and future directions. Journal of pharmaceutics, 2013

[14]. RICHARD J., BENOIT J.P., 2000, Micro-encapsulation, 7E-FLEqDE-UGE-l'UKTEDrEGRF, j 2210, P1-18

[15]. M. Perino (2009), Energy conservation in building and community systems programme, international Energy Agency.

[16]. T.Felicie (2009), Conception et mise en Œuvre d'un procédé intensifie continu de microencapsulation par polycondensation interfaciale, Mémoire de Doctorat, Université de Toulouse (France).

[17]. K.Bedie (2008), Microencapsulation de composes nutraceutiques dans des complexes proteines-polysaccharides, Memoire de Doctorat, Universite Laval.

[18] WEHRLÉ, P. 2012. Pharmacie galénique : formulation et technologie pharmaceutique, Maloine.

[19] CHEN, H. & LANGER, R. 1998. Oral particulate delivery: status and future trends. Advanced drug delivery reviews, 34, 339-350.

[20] PEREIRA CAMELO, S. R. 2015. Encapsulation de molécules hydrophobes par des structures bi-gels générées par prilling: relation structure-propriétés. Ecole nationale des Mines d'Albi-Carmaux

[21] KLAUSNER, E. A., LAVY, E., FRIEDMAN, M. & HOFFMAN, A. 2003. Expandable gastroretentive dosage forms. Journal of controlled release, 90, 143-162.

[22] IGLESIAS, T., LÓPEZ DE CERAIN, A., IRACHE, J. M., MARTÍN-ARBELLA, N., WILCOX, M., PEARSON, J. & AZQUETA, A. 2017. Evaluation of the cytotoxicity, genotoxicity and mucus permeation capacity of several surface modified poly(anhydride) nanoparticles designed for oral drug delivery. International Journal of Pharmaceutics, 517, 67-79.

[23] CHOONARA, B. F., CHOONARA, Y. E., KUMAR, P., BIJUKUMAR, D., DU TOIT, L. C. & PILLAY, V. 2014. A review of advanced oral drug delivery technologies.

[24] BALA, R., PAWAR, P., KHANNA, S. & ARORA, S. 2013. Orally dissolving strips: A new approach to oral drug delivery system. International Journal of Pharmaceutical Investigation, 3, 67-76.

[25] ZHANG, Y., CHAN, H. F. & LEONG, K. W. 2013. Advanced materials and processing for drug delivery: The past and the future. Advanced Drug Delivery Reviews, 65, 104-120.

[26] ANSM 2017. Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé. Glossaire - B. France: Publié au: http://ansm.sante.fr/Glossaire/(filter)/B.

[27] LEBLANC, P.-P. 1997. Traité de biopharmacie et pharmacocinétique, Paris, Editions Vigot.

[28] CAILLARD, R., PETIT, A. & SUBIRADE, M. 2009. Design and evaluation of succinylated soy protein tablets as delayed drug delivery systems. International Journal of Biological Macromolecules, 45, 414-420.

[29] DAEIHAMED, M., DADASHZADEH, S., HAERI, A. & FAGHIH AKHLAGHI, M. 2017. Potential of Liposomes for Enhancement of Oral Drug Absorption. Current Drug Delivery, 14, 289-303.

[30] OZARDE, Y., SARVI, S., POLSHETTIWAR, S. & KUCHEKAR, B. 2012. Multiple-Unit-Pellet System (MUPS): A Novel Approach for Drug Delivery. Drug Invention Today, 4.

[31] Onesippe, H. (**2005)**. Etude des systèmes polyelectrolyte/tensioactif en phase aqueuse et à l'interface liquide/Gaz : application à l'élaboration de micro-capsules, Thèse de Doctorat de L'université Montpellier II.

[32] Baigl, D. **(2003)**. Etude expérimentale de polyélectrolyte hydrophobe modèle, Thèse de Doctorat de l'université de Paris.

[33] Bejenariu, A., Popa, M., Dulong, V., Picton, L., and Le Cerf, D. **(2009)**. Trisodium trimetaphosphate crosslinked xanthan networks: synthesis, swelling, loading and releasing behaviour. *Polymer Bulletin*, 62, 525-538.

[34] BOUSBA-BAZID Sihem. ETUDES SPECTRALE ET MICROSCOPIQUE DU SYSTEME GELATINE/CARBOXYMETHYLCELLULOSE SODIQUE EN ABSENCE ET EN PRESENCE DE NaCl, CaCl2 et DU GLUCOSE DANS LE DOMAINE ALIMENTAIRE , thèse de doctorat 6-20.

[35] Hamano, T., Suzuki, H., Teramoto, A., Iizuka, E., and Abe, K. (1998). Functional culture of human periodontal ligament fibroblast (HPLF) on polyelectrolyte complex (PEC). Journal of Macromolecular Science-Pure and Applied Chemistry, A35, 439-455.

[36] Petzold, G., Nebel, A., Buchhammer, H. M., and Lunkwitz, K. (1998). Preparation and characterization of different polyelectrolyte complexes and their application as flocculants. Colloid and Polymer Science, 276, 125-130.

[37] Charpentier, D., Mocanu, G., Carpov, A., Chapelle, S., Merle, L., and Muller, G. (1997). New hydrophobically modified carboxymethylcellulose derivatives. Carbohydrate Polymers, 33, 177-186.

[38] Buron, C., Filiatre, C., Membrey, F., Foissy, A., and Argillier, J. F. **(2004)**. Interactions between gelatin and sodium dodecyl sulphate: binding isotherm and solution properties. *Colloid and Polymer Science*, 282, 446 - 453.

[39] Stern, R. (2005). Hyaluronan metabolism: a major paradox in cancer biology. Pathologie Biologie, 53, 372-382.

[40] Berand, J. **(2001)**. Le technicien d'analyses biologiques; guide théorie et pratique, 2ème édition, Tec & Doc, Paris, 177 p.

[41] Nyström, B., Kjoniksen, A.-L., and Iversen, C. **(1999)**. Characterization of association phenomena in aqueous systems of chitosan of different hydrophobicity. *Adv. in colloids and Interface Sci*., 79, 81-103.

[42] Pépin, A. S. **(2010)**. Nouveaux complexes polyelectrolytes à amphiphilie controlée à base de polysaccarides modifiés, Thèse de doctorat, Université de Rouen, France.

[43] Sutherland I.W. and Ellwood D.C. (1979). Microbial exopolysaccharides : industrial polymers of CUITent and future potential. In: *Microbial technology: current state, future prospects,* Bull AT.,Ellwood D.C. and Ratledge C. Eds, Cambridge, UK, 107-150.

[44] Yalpani M. and Sandford P.A. (1987). Commercial polysaccharides: recent trends and developments. In: *Industrial polysaccharides: genetic engineering, structure/property relations and applications.* Yalpani M. Ed, Amsterdam, NL. 311-335.

[45] Morris (1987). Organoleptic properties of food polysaccharides in thickened systems. In: *Industrial polysaccharides: genetic engineering, structure/property relations and applications.* YalpaniM. Ed, Amsterdam, NL. 225-238.

[46] Linton J.D. (1991). Microbial polysaccharides. In: *Biomaterials,* Byron D. Ed, Basingstoke, U.K. 217-261.

[47] Sutherland I.W. (1993). Xanthan. In: *Xanthomonas.* Swing lG.and Civerolo E.L. Eds, London, UK, 363-388.

[48] Kang K.S. and Pettit D.J. (1993). Xanthan, gellan, wellan, and rhamsan. In: *Industrial Gums,* 3rd ed., Whistler R.L. and Bemiller J.N. Eds., USA, 341-397.

[49] Herbst H., Peters H.U., Shu I.S., Schumpe A. and Deckwer W.D. (1988). Monitoring xanthan quality during fermentation by size exclusion chromatography. *Biotechnol. Tech.* 2: 101-104.

[50] Suh I.S., Herbst H., Schumpe A. and Deckwer W.-D. (1990). The molecular weight of xanthan polysaccharide produced under oxygen limitation. *Biotechnol. Lett.* 12 : 201-206.

[51] Flores F., Torres L.G. and Galindo E. (1994). Effect of the dissolved oxygen tension during cultivation of *Xanthomonas campestris* on the production and quality of xanthan gum. *J. Biotechnol.* 34: 164-173.

[52] Casas J.A., Santos V.E. and Garcia-Ochoa F. (2000). Xanthan gum production under several operational conditions: molecular structure and rheological properties. *Enzyme Microb. Technol.*26: 282-291.

[53] Rbii, K. **(2010)**. Formation d'agrégats de hauts poids moléculaires dans la gélatine et comportement en solution aqueuse, Thèse de Doctorat de l'université de Toulouse.

[54] Baigl, D. **(2003)**. Etude expérimentale de polyélectrolyte hydrophobe modèle, Thèse de Doctorat de l'université de Paris.

[55] Chevalier, C. **(2005)**. Biochimie structurale : les protides, *Cours biochimie Protides IFTAB*.

[56] Soury-Lavergne Navizet, I. **(2004)**. Modélisation et analyse des propriétés mécaniques des protéines, Thèse de Doctorat de l'université Paris.

[57] Schrieber, R., and Gareis, H. **(2007)**. *Gelatin Handbook: Theory and Industrial Practice*.Wiley-VCH.

[58] Karim, A., and Bhat R. **(2008)**. Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects, *Journal of Trends in food Science &Technologie*, 19, 644-656.

[59] Merveille, C. N. D. **(2011)**. Etude structurale et rhéologique des systèmes mixtes caséinates/carraghénanes, Thèse de Doctorat de l'université du Maine faculté des Science.

[60] Chene, C. **(2002)**. La gélatine. Journal de L'Adrianor, Agro-Jonction, 24, Fontanille, M., and gnanou, Y. Chimie et physico-chimie des polymères: 2 et 3 Cycles, (Eds), Dunod, Paris, pp 223 - 466 - 473.

[61] Bigi, A., Panzavolta, S., and Rubini, K. **(2004)**. Relationship between triple-helix content and mechanical properties of gelatin films. *Biomaterials*, 25, 5675-5680.

[62] Djabourov, M., Maquet, J., Theveneau, H., Leblond, J., and Papon, P. **(1985)**. Kinetics of gelation of aqueous gelatin solutions. *British Polymer Journal*, 17 (2), 169-174.

[63] Harrington, W.F., & Rao, N.V. **(1970)**. Collagen structure in solution. I. Kinetics of helix regeneration in single-chain gelatins. *Biochemistry,* 9 (19), 3714-3724.

[64] Meyer, M. C., Straughn, A. B., Mhatre, R. M., Hussain, A., Shah, V. P., Bottom, C. B., Cole, E.T., Lesko, L. L., Mallinowski, H., and Williams, R. L. **(2000)**. The effect of gelatin cross-linkingon the bioequivalence of hard and soft gelatin acetaminophen capsules. *Pharmaceutical Research*, 17 (8), 962-966.

[65] Turgeon, S.L., Schmitt, C., and Sanchez, C. **(2007)**. Protein-polysaccharide complexes and coacervates. *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 12, 166-178.

[66] Frugier, D., and Audebert, R. **(1994)**. Interaction between oppositely charged low ionic density polyelectolytes : complex formation or simple mixture? Dans Dubin, P. L., Bock, J.,

Davis, R., Schultz, D. N., & Thies, C. (Eds), Macromolecular Complexes in Chemistry and Biology, pp135-149, Berlin : Springer Verlag.

[67] Schmitt, C. **(2000)**. Etude de la coacervation complexe entre la β- lactoglobuline et la gomme d'acacia en solution aqueuse. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Lorraine, France.

[68] Dickinson, E. **(2003)**. Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed Systems. *Food Hydrocolloids,* 17, 25-39.

[69] Tolstoguzov, V. B. **(1997)**. Protein-polysaccharide interactions. Dans S. Damodaran et A. Paraf (Eds), Food Proteins and Their Applications, pp. 171-198, New York: Marcel Dekker, Inc.

[70] Aberkane, L., Jasniewski, J., Gaiani, C., Scher, J., and Sanchez, C. **(2010)**. Thermodynamic characterization of Acacia gum-β-lactoglobuline complex coacervation. *Langmuir*, 26 (15), 12523-2533.

[71] Morr, C.V., and Ha, E.Y.W. **(1993)**. Whey protein concentrates and isolates: processing and functional properties. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 33*,* 431-476.

[72] Mattison, K.W., Brittain, I.J., and Dubin, P.L. **(1995)**. Protein-Polyelectrolyte Phase Boundaries. *Biotechnol. Prog.,* 11, 632-637.

[73] Veis, A., Bodor, E., and Mussell, S. **(1967)**. Molecular Weight Fractionation and the Self-Suppression of Complex Coacervation. *Biopolymers*, 5, 37-59.

[74] Xia, J., and Dubin, P. L. **(1994)**. Protein-polyelectrolyte complexes. Dans P. L. Dubin, J. Bock, R. Davis, D. N. Schulz et C. Thies (Eds), Macromolecular Complexes in Chemistry and Biology, pp. 247-271, Berlin : Springer Verlag.

[75] Kaibara, K., Okazaki, T., Bohidar, H. B., and Dubin, P. L. **(2000b)**. pH-Induced Coacervation in Complexes of Bovine Serum Albumin and Cationic Polyelectrolytes. *Biomacromolecules*, 1, 100-107.

[76] Tolstoguzov, V. B. **(1986)**. Functional properties of protein-polysaccharide mixtures. Dans J. R. Mitchell and D. A. Ledward (Eds), Functional properties of macromolecules, pp. 385-415, Londres : Elsevier Applied Science.

[77] Schmitt, C., Sanchez, C., Desobry-Banon, S., and Hardy, J. **(1998)**. Structure and technofunctional properties of protein-polysaccharide complexes. *A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition,* 38, 8, 689-753.

[78] Tirkkonen, S., Turakka, L., and Paronen, P. **(1994)**. Microencapsulation of indomethacin by gelatin-acacia complex coacervation in presence of surfactants. *J. Microencapsulation*, 11, 615-626.

[79] Gouin, S. **(2004)**. Microencapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food Science and Technology*, 15, 330-347.