REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de Master

En chimie

Spécialité : Normes et contrôle de qualité

Par :

MEGATELI Meriem
TORKMANE Basma

Thème :

Développement et contrôle qualité d'un système à base de biopolymères pour la libération modifiée d'un principe actif

Soutenue publiquement le : 06/06 /2017 ., Devant le jury composé de :

Dr. REBOUH Samia	Grade : MCB	Etablissement: UYFM	Présidente
Dr. GASMI Sara N	Grade : MCB	Etablissement: UYFM	Examinatrice
Dr. LEFNAOUI Sonia	Grade : MCA	Etablissement : UYFM	Encadreur
Dr. YAHOUM Madiha M	Grade : MCB	Etablissement :UYFM	Co-Encadreur

Année universitaire 2016/2017

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تطوير نظام جسيمات ميكرونية للتحريرالمتواصللديكلوفيناك الصوديوم (DS) على أساس الجينات الصوديوم (ALG)، صمغ زنتان (XS) وخليط من متعدد السكريات الايوني ، من خلال طريقة دبق الأنيونوتروبي. تعرضت الأنظمة المتحصل عليها لسلسلة من اختبارات توصيف الفيزيائية والكيميائية والبحوث الصيدلانية البيولوجية. أظهرت النتائج أن جميع الجسيمات لها حجم ميكروني يتراوح بين µm 147و µm 195 ، الحد الأقصى لنسبة تضخم حوالي 852٪ في الوسيط المعوي في درجة الحموضة 7.4 لالمجهرية على أساس 100 ٪ ALG، خلافا لسوائل المعدة في درجة الحموضة 1.2، حيث بلغ معدل التضخم متوسط 300٪ لجميع الصيغ. وسجلت معدلات التغليف مهمة تصل إلى 79.28٪ في حالة المجهرية الدقيقة ALG و63.75٪ لتلك التي تقوم على (50٪ 50 + ALG٪ XS). وأظهرت الدراسة الصيدلانية البيولوجية أن الجسيمات الميكرونية المتحصل عليها توفر تحريرممدد لديكلوفيناك الصوديوم ومعدل إطلاق أبطأ بكثير مما كانت عليه في البيئة المعوية المتوسطة حيث يتم تحرير 100٪ من DS بعد 6 ساعات من جسيمات ال ALG و7سا من الجسيمات التي تتكون من (75٪ 25 + ALG٪ XS).

الكلمات الرئيسية: صوديوم الجينات،صمغالكزنتان، ديكلوفيناك الصوديوم، التبلور، والتغليف، تمديد التحرير.

Résumé

L'objectif du présent travail est de développer un système microparticulaire en vue d'une libération prolongée du Diclofenac de sodium (DS) à base d'Alginate de sodium (ALG), de gomme xanthane (XS) et du mélange de ces deux polysaccharides anioniques, par la méthode de cristalisation ionotropique. Les systèmes formulés ont été soumis à une série de tests de caractérisation physico-chimiques et à une étude biopharmaceutique. Les résultats obtenus ont montré que toutes les particules présentent une taille micrométrique comprise entre 147 µm et 195 µm, un taux de gonflement maximal, de l'ordre de 852% en milieu milieux intestinal à pH 7,4 pour les microsphères à base de 100% d'ALG, contrairement au milieu gastrique à pH 1,2, où le taux de gonflement a atteint une moyenne de 300% pour toutes les formules. Un taux d'encapsulation important atteignant les 79,28% a été enregistré dans le cas des microparticules d'ALG et de 63,75% pour celles à base de (50%ALG+50%XS). L'étude biopharmaceutique a montré que les microparticules mises au point assurent une libération prolongée du DS et que la vitesse de libération est beaucoup moins rapide en milieu gastrique qu'en milieu intestinal où 100% du DS est libéré après 6h pour les particules d'ALG et 7h pour les particules à base de (75%ALG+25%XS).

Mots clés: Alginate de sodium, Gomme de xanthane, Diclofenac de sodium, cristalisation, encapsulation, libération prolongée.

Abstract

The aim of this work is to develop a microparticulate system for extended release of sodium diclofenac (DS) based on sodium alginate (ALG), xanthan gum (XS) and the mixture of these two Anionic polysaccharides, by the ionotropic gelation method. The formulated systems were subjected to a series of physico-chemical characterization tests and a biopharmaceutical study.The results obtained showed that all the particles have a micrometric size of between 147 µm and 195 µm, a maximum swelling rate of the order of 852% in intestinal media medium at pH 7.4 for the microspheres based on 100 % ALG, unlike the gastric medium at pH 1.2, where the swelling rate reached an average of 300% for all formulas. A high encapsulation rate of 79.28% was recorded for ALG microparticles and 63.75% for those based on (50% ALG + 50% XS). The biopharmaceutical study showed that the microparticles developed ensure extended release of DS and that the rate of release is slower in the gastric medium than in the intestinal medium where 100% of the DS is released after 6 hours for the particle particles, ALG and 7 h for the particles based on (75% ALG + 25% XS).

Key words: sodium Alginate, xanthan gum, Diclofenac sodium, gelling, encapsulation,extended-release.

Remerciement

Avant tous nos remerciements infinis sont adrssés à « Dieu le tous puissant » de nous avoir donné le courage et la sante pour achever ce travail .

Nous souhaitons remercier chaleureusement notre promotrice Dr.

KARRACHE LEFNAOUI .S, pour le temps et l'attention qu'elle nous a consacré pour le bon déroulement de ce travail, ses remarque pertinentes et son encouragement.

En premier lieu, on exprime notre profonde gratitude à notre

copromotrice Mme YAHOUM Madiha Malha de nous encadrer, ainsi que pour son soutien.

On remercier du fond du cœur Dr. GASMI Sarah Nawel pour nous avoir guidé, et pour sa gentillesse, sa modestie, et sa disponibilité et pour soutien lors des moments difficiles pour évoluer ce projet

On remercie également monsieur M. Nedjioui,mouhamed le chef de Département De génie des procédés et environnement.

On remercier aussi l'ensemble du personnel du laboratoire, contrôle qualité de la filiale ANTIBIOTICAL-Saidal de Médéa

enfin nous remercions tous les enseignants, nous leur adressons nos sincères remerciements pour leur patience et pour tout ce qu'ils nous ont offert comme enseignements et leurs conseils durant ce long cycle de formation, et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous.....

Dédicaces

Je remercie le bon dieu da m'avoir donné le courage pour réaliser ce travail et la patience pour aller jusqu au bout du parcours de mes études .

Je dédie ce modeste travail à celle qui a inséré le gout de la vie et le sens de la responsabilité ,à la lumiere de ma vie, la flamme de mon cœur, la source de ma force ma vie et mon bonheur que dieu te procure la bonne santé et longue vie à toi ***ma mére.***

A celui qui a été toujours la source d'inscription et de courage,a mon soutien moral et la source de joie et de bonheur ,mon exemple éternel, je prie pour que dieu te garde à moi ***mon Père.***

A mes fréres Missoum,fayçal, Abdekader , Fathi , Abdenour

A mes sœurs Hafidha , souhila , hadda

A belles soeurs Widad et Khayra

A mes adorables neveux et nieces Achraf ,Abdallah kaouthar, Bouchra.

A mon binom Meriem que je remercié d'avoir était présente à tout moment

Et enfin à tous mes amis de prés ou de loin.

A tous les étudiants de la promos M2 NCQ 2017.

Dédicace

Au Nom de Dieu clément et Misericordieux

C'est avec un grand plaisir je dédie ce modeste travail à la lumière de mes jours, la source de mes efforts,la flamme de mon cœur ,ma vie et mon bonheur,à la plus proche qui m'a beaucoup encouragé à poursuivre le bon chemin, qui m'a donné l'amour , la tendresse et la volonté chére Maman , merci et que Dieu te garde et bénie.

A L'homme de ma vie ,mon exemple èternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifiè pour me voir rèussir, école de mon enfance, qui a éte mon ombre durant toutes les années à mon père.

A mes fréres, Ali, hassane, hoçine et Aissa

A mes sœurs Noura et Khadidja,

A tout la famille Megateli

A mon binom basma, aux personnes qui mon toujours aidè et encouragè,qui etaient toujours à mes cotès, et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'ètudes ,mes aimables amis, collegues d'ètudes et frères et soeurs de cœur, toi Bouchra, Meriem, Feriel et Abd rahman

A mon cousin Ahmed Ben Abd Alhadi et ces fils.

A tous les étudiants de la promos M2 NCQ 2017.

Meriem MEGATELI

Sommaire

Liste des figures

Listes des tablaux

Liste des abréviations

Nomenclature

Introduction générale

Chapitre I Généralités sur les gels

I.1 Introduction et généralités sur les gels 3

I.2 Composition des gels 3

I.3 Transition sol-gel 4

I.4 Hydrogels 5

I.5 Différents types d'hydrogels formulés en galénique 6

I.5.1 Hydrogels préformés 6

I.5.2 Hydrogels formés in situ 6

I.6 Système d'étude : Alginate de sodium/Xanthane 6

I.6.1 Mélange des polymères 6

I.6.2 Alginate de sodium 8

I.6.3 Gomme de xanthane 11

Chapitre II Microencapsulation

II.1 Introduction 16

II.2 Type des microparticules 16

II.3 Composition d'une capsule 18

II.4 Quels types de systèmes peut-on encapsuler ? 18

II.5 Objectifs de l'encapsulation 18

II.5.1 Immobilisation ou isolation 19

II.5.2 Protection 19

II.5.3 Contrôler la libération d'un composant 19

II.6 Les étapes de l'encapsulation 19
II.7 Techniques de micro encapsulation 20
II.8 Procédés de microencapsulation 21
II.8.1 Procédés physico-chimiques 21
II.8.2 Procédés chimiques 26
II.8.3 Procédés mécaniques 28
II.9 Mécanisme de libération des principes actifs 29
II.9.1 La libération par diffusion 29
II.9.2 Libération par gonflement suivi d'une diffusion 30
II.9.3 Libération par dégradation 31
II.9.4 Paramètres influençant la libération d'un principe actif (PA) 32
II.9.5 Profils de libération de différents types de microparticules 32
II.10 Domaines d'application des microparticules 33
II.11 Conclusion 34

Chapitre III Partie expérimentale

III.1 Introduction 35
III.2 Matériels et produits 35
III.2.1 Matériels 35
III.2.2 Produits 36
III.3 Préformulation 36
III.3.1 Diclofenac de sodium (DS) 36
III.3.2 Matrice polymérique 44
III.4 Formulation des capsules 51
III.4.1 Principe de la formulation des capsules 52
III.5 Caractérisation physicochimique des capsules 53
III.5.1 Morphologie des capsules obtenues 53
III.5.2 Etude granulométrique 53

III.5.3 Cinétique de gonflement des capsules 55

III.5.4 Taux d'encapsulation 58

III.5.5 Libération du principe actif à partir des capsules 60

III.6 Conclusion 63

Conclcusion générale

Références bibliographiques

Chapitre Généralités sur les gels

Figure I-1 : Effet de la concentration en polymère sur la structure d'une solution polymère. De gauche à droite : solution diluée, début du recouvrement (C≈C*) et solution semi-diluée..... 4
Figure I-2 : Structure chimique des acides uroniques présents dans l'alginate 8
Figure I-3 : les différents blocs de l'alginate..... 9
Figure I-4 : Mécanisme de gélification de l'alginate « modèle de la boîte à œufs ». 10
Figure I-5 : formule développée du motif du xanthane..... 11

Chapitre II Microencapsulation

Figure II-1 : Structure d'un liposome 16
Figure II-2 : Représentation schématique d'une microcapsule (système réservoir) . 17
Figure II-3 : Représentation schématique d'une microsphère..... 18
Figure II-4 : Principe de la coacervation simple : dispersion du principe actif dans la solution de polymère : (**a)** formation des gouttelettes de coacervat, **(b)** dépôt du coacervat, **(c)** Fusion des gouttelettes de coacervat et formation d'un enrobage continu,..... 23
Figure II-5 : Schéma du principe de microencapsulation par évaporation de solvant24
Figure II-6 : Schéma de principe du procédé d'encapsulation..... 25
Figure II-7 : Procédé d'encapsulation par polycondensation interfaciale 27
Figure II-8 : Gélification de gouttes schéma de principe 28
Figure II-9 : Congélation de gouttes : schéma de principe 29
Figure II-10 : Libération par diffusion 30
Figure II-11 : Libération du principe actif à partir des systèmes à gonflement contrôlé: système réservoir, **(b)** système matriciel 31
Figure II-12 : Libération par dégradation : 32
Figure II-13 : Profils de libération obtenus à partir de différents types de microparticules 33

Chapitre III Partie expérimentale

Figure III-1 : Spectre FTIR du Diclofenac de sodium (DS)..... 39
Figure III-2 : Transitions électroniques 40

Chapitre III Partie expérimentale

Figure III-3 : Spectres d'absorption UV des solutions de DS :..... 41
Figure III-4 : Courbe d'étalonnage de DS **dans l'**UV à λ =276 nm: 43
Figure III-5 : Structure chimique de l'Alginate de sodium (ALG) 44
Figure III-6 : Structure chimique de la gomme xanthane (XS) 45
Figure III-7 : Viscosimètre rotatif (Bohlin Visco) 46
Figure III-8 : Viscosité apparente en fonction de la concentration en ALG, dans du NaCl à 0,1M. 47
Figure III-9 : Viscosité apparente en fonction de la concentration en XS, dans du NaCl à 0,1M. 48
Figure III-10 : Spectre FTIR de l'Alginate de sodium (ALG)..... 50
Figure III-11 : Spectre FTIR de la gomme de xanthane (XS) 51
Figure III-12 : Formes et aspect des capsules formulés avec A) F1, B) F2, C) F3.... 53
Figure III-13 : Mesure de la taille des capsules par un pied à coulisse digital..... 54
Figure III-14 : Evolution de taux de gonflement des capsules en fonction du temps à pH7,4. 56
Figure III-15 : Evolution de taux de gonflement des capsules en fonction du temps à pH1,2. 57
Figure III-16 : Taux de gonflement finaux des capsules. 58
Figure III-17 : Taux d'encapsulation du DS dans les capsules..... 59
Figure III-18 : Test de dissolution SOTAX. 61
Figure III-19 : Cinetique de libération du DS à pH1,2..... 62
Figure III-20 : Cinetique de libération du DS à pH7,4..... 63

Chapitre III Partie expérimentale

Tableau III-1 : Matériels utilisés 35
Tableau III-2 : Caractéristiques des produits utilisés 36
Tableau III-3 : Propriétés physico-chimiques du Diclofénac de sodium DS 37
Tableau III-4 : Résultats de l'ajustement des courbes d'étalonnage du Diclofenac de sodium 43
Tableau III-5 :Résultats des mesures du pH des solutions d'ALG 49
Tableau III-6 : Taille des capsules obtenues avant et après séchage des différentes formules 54

Liste des abréviations

AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien

ALG : Alginate de sodium

ADN: Acide désoxyribonucléique

CV : Coefficient de variation

DCI : Dénomination commune internationale

DO : Densité optique

DS : Diclofenac de Sodium

FTIR : Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier

G : Guluronate

GG : Poly-guluronate

G-G-G : Blocs homopolymères de résidus d'acide guluronique

IV : Voie intraveineuse

Log kow: mesure de la solubilité différentielle de composés chimique

M : Monomères mannuronate

MM : Polymannuronate

M-M-M : Blocs homopolymères de résidus d'acide mannuronique

M-G-M-G : Blocs de résidus d'acides mannuronique et guluronique

PA : Principe actif

PGA : Acide Polyglycolides

PHA : Polyhydroxyalcanoates

PHB : Polyhydroxybutyrates

PLA : Acide polylactique

PNA : Polysaccharides non amylacés

Rg: Rayon de giration

UV-VIS : UV-visible

XS : Gomme xanthane

Nomenclature

A :Absorbance .

C : Concentration de la substance analysée en [$mol.L^{-1}$].

C^*: Concentration critique en [$mol.L^{-1}$].

I : Intensité transmise.

I_0 : Intensité de la lumière incidente.

L : Epaisseur traversée en [cm].

Lo : Contribution intrinsèque.

Le : Contribution électrostatique.

Lp : La longueur de persistence.

M: Molarité en [$mol.cm^{-3}$].

M_g : Masse des capsules à l'état gonflé en [g].

Mi : Masse des capsules à l'état initial en [g].

T : Transmittance en [%.]

T_m : Meltingtemperature ''température de fusion'' en [°C].

λ: Longueur d'onde en [nm].

ε:Coefficient d'extinction molaire en [$L.mol^{-1}cm^{-1}$].

Introduction générale

Introduction générale

L'encapsulation est un procédé utilisé pour permettre une libération progressive du produit encapsulé sous l'effet d'une action mécanique, de chaleur, de radiations ou de la diffusion à travers une membrane poreuse. La capsule joue alors un rôle de réservoir qui isole une substance active du milieu extérieur afin d'améliorer sa stabilité et limiter sa toxicité ainsi que les incompatibilités avec le support.
Dans ces dernières années, la formulation des systèmes de libération contrôlée et les polymères utilisés pour ces systèmes sont devenu beaucoup plus sophistiqués. Beaucoup de ces systèmes sont fondés sur des polymères dont la structure n'évolue pas dans le corps humain. Les polysaccharides tels que les substances pectiques, présentes dans la plupart des plantes, pourraient être valorisés dans le domaine de la microencapsulation grâce à leur haute biodégradabilité et leur innocuité.

Les polysaccharides représentent la plus grande famille de matériaux utilisés comme agents d'encapsulation mais présentent tout de même quelques limitations qui justifient l'intérêt particulier qui s'est développé autour de la conception, l'élaboration et l'étude de systèmes à base polysaccharides modifiés ou encore des mélanges de polysaccharides.En effet, la stratégie du mélange de polymères permet de développer de nouveaux matériaux aux propriétés améliorées et est la plupart du temps plus simple à mettre en œuvre et moins couteuse que le développement de nouveaux monomères.

C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude dont l'objectif principal est la formulation d'un système d'encapsulation du diclofenac de sodium, base d'un mélange de deux biopolymères, l'un est d'origine alguaire qui est l'alginate de sodium et la gomme xanthane qui est polysaccharide d'origine microbienne produit par une bactérie appelée « *Xanthomonascampestris* ». La méthode utilisée pour la mise au point de ce système est la gélification ionotropique en présence de chlorure de calcium comme agent de réticulation. La réticulation ionique réduit non seulement la tendance du gonflement mais améliore également certaines propriétés spécifiques telles que la stabilité du principe actif.

Dans cette optique, ce mémoire est structuré en trois chapitres :

Un premier chapitre regroupant des généralités sur les gels et les biopolymères : définitions, comment sont-ils classés, leurs propriétés et quelques détails sur les biopolymères utilisés dans ce travail (Alginate et Gomme xanthane).

Le deuxième chapitre est entièrement consacré à l'encapsulation, dans lequel sont cités les différents types de microparticules, les différents procédés et méthodes d'encapsulation ainsi que les objectifs de l'encapsulation.

La partie expérimentale est présentée dans le chapitre 3, dans lequel ont d'abord été étudiés l'aspect morphologique, la taille, l'évolution du gonflement des capsules d'alginate/Xanthane et le taux d'encapsulation. Par la suite, une étude de la cinétique de libération du principe actif a été entreprise dans deux milieux de dissolution notamment le milieu gastrique ou stomacal (pH 1.2) et le milieu intestinal (pH 7.4). L'étude de la dissolution est considérée comme un outil pour une corrélation in vitro-in vivo, et les paramètres de dissolution peuvent influencer la performance de la forme posologique.Enfin, on retrouve également l'ensemble des résultats obtenus et la globalité des discussions interprétations issues d'une analyse de leur analyse.

Chapitre I Généralités sur les gels

I.1 Introduction et généralités sur les gels

Les gels sont des réseaux tridimensionnels constitués par une faible quantité (0,1 à 10 %)d'une substance dans laquelle l'eau ou un autre solvant est retenue. Ils peuvent ainsi êtreobtenus à l'aide de tensioactifs, d'émulsions, de suspensions ou de polymères. Les gels dont ilest question dans cette étude sont des hydrogels. Selon les interactions qui existent au sein du milieu, on classe les réseaux de macromoléculesen deux principales catégories **[1]**: les gels non-permanents ou réversibles et les gelspermanents ou irréversibles.Pour les gels non-permanents, les nœuds de réticulation sont des associationsintermoléculaires dues à des liaisons faibles réversibles (énergie de liaisons comprise entre 1et 40 kJ.mol-1 **[2]** : ponts d'hydrogène (ex : H-O•••H), interactions électrostatiques de typeVan der Waals, ponts ioniques (ex : COO-•••Na•••-OOC). Ces liaisons conduisent à la formation de zones de jonction ayant une structure plus ou moins ordonnée.

Les gels permanents sont produits par liaisons covalentes (énergie de liaison compriseentre 150 et 900 kJ.mol^{-1}**[2]**.entre chaînes linéaires préexistantes (vulcanisation) ou entredes unités de monomères dont certaines au moins ont une fonctionnalité supérieure à deux(polycondensation) ou encore par polymérisation en chaîne de monomères dont les groupesde réactifs sont des doubles liaisons.

I.2 Composition des gels

Généralement les composés formulant le gel sont connus, mais la composition diffère selon lestypes des gélifiants, donc on distingue trois modèles :

Les gélifiants les plus courants sont des macromolécules, d'origine biologique(polysaccharides et protéines) ou synthétiques (polyacrylates et polyacrylamides notamment).
Ces macromolécules sont gonflées par un liquide (le solvant), donc le gel a une pression osmotique. D'autre part, elles sont accrochées entre elles par des liens chimiques (doncpermanents) ou physiques (permanents dans certaines conditions, temporaires dans d'autres).

Ces connections entre macromolécule forment des chemins mécaniques qui traversent tout lesystème : par conséquent, le gel présente une résistance au cisaillement. Dans certains cas, lesmacromolécules n'ont entre elles que des

interactions répulsives, et c'est leur enchevêtrementqui assure, aux temps d'utilisation, la résistance à l'écoulement.

Il existe aussi des gélifiants formés par l'association de petites molécules qui étaient initialement dissoutes dans le liquide. Ces petites molécules peuvent être des amphiphiles, ou simplement des molécules qui forment des cristallites très anisotropes, ou encore des monomères qui réagissent entre eux pour former des polymères tridimensionnels. Les structures d'association croissent, s'enchevêtrent ou se connectent, et forment ainsi un réseau qui retient le liquide.

Enfin, on trouve aussi des gels formés par empilement d'objets (particules ou gouttes) dispersés dans un liquide. Ces objets peuvent être des particules minérales (silices, argiles), ou organiques (latex), ou encore des protéines. Dans certains gels, elles sont agrégées, et forment ainsi le réseau qui retient le liquide Dans d'autres, elles n'ont que des interactions répulsives, qui garantissent à la fois l'existence d'une pression osmotique et la résistance à l'écoulement**[3].**

I.3 Transition sol-gel

En fonction de la concentration d'une solution de polymère, différents régimes peuvent être rencontrés (Figure I-1). Une solution diluée est caractérisée par des chaînes macromoléculaires occupant un volume propre, sans interaction intermoléculaire. Lorsque la concentration augmente, on atteint une concentration critique (notée C*) à partir de laquelle les chaînes polymères commencent à se chevaucher. Enfin, pour les solutions dont la concentration est supérieure à C* (appelées solutions semi-diluées), les chaînes s'interpénètrent. Si la concentration est encore accrue, le régime concentré est finalement atteint.



Figure I-1 : Effet de la concentration en polymère sur la structure d'une solution polymère. De gauche à droite : solution diluée, début du recouvrement (C≈C*) et solution semi-diluée[3].

Si les forces attractives ne suffisent pas à compenser l'entropie de dispersion, on a affaire à un système microdispersé (un sol) et à l'inverse on observe une

floculation ou même une précipitation. Lorsque la précipitation n'a pas lieu, un réseau tridimensionnel de macromolécules se forme : c'est le phénomène de gélification. Dans une solution de polyélectrolyte (polymère chargé tel que l'alginate), des forces antagonistes sont mises en jeu : des forces attractives, essentiellement intermoléculaires, de nature polaire, complexantes ou ioniques et des forces répulsives liées à l'entropie de dispersion des chaînes polymères dues à la grande affinité des polymères pour l'eau. Dans ce cas, les transitions de régime ne sont pas seulement liées à des variations de concentration mais sont influencées par la concentration en espèces ioniques en solution.

I.4 Hydrogels

L'hydrogel est un type particulier de gel formé par un réseau tridimensionnel de polymères hydrophiles dans lequel le solvant de gonflement est de l'eau. Sa principale caractéristique est sa capacité à gonfler en présence d'eau et à se contracter lorsque celle-ci s'évapore. Cette propriété est, bien entendu, liée à la nature et la densité des chaînes constituant le réseau.

Suivant la nature des pontages mis en œuvre dans le réseau, il est possible de distinguer les hydrogels « chimiques » et les hydrogels « physiques ». Dans les hydrogels chimiques, des liaisons covalentes assurent la cohésion du gel et, l'équilibre de gonflement est, en grande partie, déterminé par le taux de réticulation. Les hydrogels « physiques » présentent, quant à eux, des pontages ioniques, des interactions de type Van der Walls ou des interactions électrostatiques. Ils sont réputés plus hétérogènes que les hydrogels chimiques à cause de la présence de larges domaines d'enchevêtrement de chaînes. Un cas particulier est celui des polyélectrolytes qui, combinés avec un ion multivalent de charge opposée, peuvent former un hydrogel physique connu sous le nom « d'hydrogel ionotropique » et dont l'alginate de calcium constitue un exemple.

Ils sont à la base de nombreuses applications industrielles dans l'agro-alimentaire, le biomédical, les cosmétiques, l'industrie pharmaceutique… Ils interviennent par exemple dans l'enrobage de médicaments, comme matrice pour immobiliser des enzymes ou comme support chromatographique. De plus, ces systèmes ont des propriétés chimiques et physiques modulables **[4].**Selon la structure moléculaire du polymère utilisé, la concentration, l'agent gélifiant… Le plus souvent, un hydrogel est formé par incorporation en milieu aqueux de polymères d'origine

semi-synthétique (dérivés cellulosique), synthétique (alcool polyvinylique, polyvinylpyrrolidone…), ou naturelle tels que les gommes, les alginates ou les carraghénanes **[5].**

Les hydrogels possèdent plusieurs propriétés qui font d'eux des matrices idéales et fournissent des réseaux efficaces lors de la libération des principes actifs **[6].**

I.5 Différents types d'hydrogels formulés en galénique

L'efficacité des hydrogels repose sur une augmentation du temps de contact avec la surface de part la présence de polymères dotés de pouvoir viscosifiant et/ou bio-adhésif. Ils sont couramment subdivisés en deux catégories, à savoir :

I.5.1 Hydrogels préformés

Ils exercent leur action sous le même état physique (gel) qu'avant administration.

I.5.2 Hydrogels formés in situ

Ils se présentent sous forme de solutions ou de suspensions qui subissent une transition sol-gel à la faveur de certaines conditions physiologiques (augmentation du pH, de la force ionique ou de la température).Cette dernière catégorie offre ainsi l'avantage d'une administration reproductible et aisée à l'instar des solutions avec une efficacité comparable à celle des hydrogels préformés.

Ainsi, les chercheurs se tournent de plus en plus vers de nouveaux véhicules pour la fabrication d'hydrogels avec une préférence très marquée pour les polymères d'origine naturelle ou semi synthétique, notamment les éthers de celluloses, les polysaccharides tels que les alginates, les carraghénanes ou les gommes **[7].**

I.6 Système d'étude : Alginate de sodium/Xanthane

I.6.1 Mélange des polymères

Le mélange de polymères s'est révélé être une méthode alternative importante et utile dans l'optique de développer de nouveaux matériaux ayant des propriétés améliorées.

L'optimisation des propriétés difficile à obtenir avec un homopolymère ou un copolymère peut être obtenue grâce aux mélanges de polymères créant une synergie des propriétés des différents polymères mélangés. La plupart des polymères étant immiscibles entre eux, il est important de porter une attention particulière au

développement de la morphologie au cours du procédé de mise en œuvre car c'est de celle-ci que vont dépendre les propriétés finales du matériau. D'une manière générale, deux polymères de natures chimiques différentes sont non miscibles entre eux. La miscibilité entre deux polymères peut être prédite grâce à la thermodynamique.

I.6.1.1 Types de mélanges

On rencontre sur le marché essentiellement deux types de mélanges :

I.6.1.1.1 Mélanges de polymères immiscibles

Les polymères des mélanges de polymères du produit fini sont des combinaisons plus ou mois favorables des propriétés des polymères constitutifs. Ces mélanges sont obtenus par mélange à l'état fondu de deux polymères et souvent d'un troisième composant jouant le rôle de compatibilisant nécessaire pour le développement d'une morphologie contrôlée permanente. On peut rencontrer des morphologies dispersées où l'un des deux constituants, le plus souvent le composant minoritaire, forme des petites gouttelettes noyées dans une phase continue de l'autre constituant ou des morphologies co-continues où les deux phases apparaissent continues et interpénétrées. Il existe également quelques mélanges de polymères miscibles [8].

I.6.1.1.2 Polymères chargés

Ils sont obtenus par dispersion lors de la phase du mélange d'agglomérats de particules solides (fibres, silices, argiles…) dans une matrice de polymère ou de mélange de polymères. Ces charges sont utilisés principalement pour leurs propriétés renforçantes, onductrices ou colorantes, mais elles peuvent également être utilisées dans un but économique pour réduire le cout d'un polymère. Selon les propriétés attendues du produit fini, on cherchera à avoir différents états de dispersion des charges (taille plus ou moins grande des agglomérats, répartition homogène des charges dans la matrice polymère ou encore formation de réseaux localisés dans un des constituants ou à l'interface) [8].

I.6.1.2 Mélange de polymères et compatibilité

Dans la plupart des cas, les polymères ne sont pas miscibles, par conséquent, leurs mélanges donnent souvent des matériaux peu résistants et cassants (fragiles).

Les faits expérimentaux infirment malheureusement cette vision simplicité car, dans la majorité des cas, la règle qui prévaut dans le domaine des polymères et celle

de l'immiscibilité des entités macromoléculaires de nature chimique différente. L'incompatibilité des polymères entre eux provoque leur démixtion et se trouve être la cause principale des propriétés médiocres qui caractérisent la plupart des mélanges de polymères. Tout au plus, peut-on attendre des mélanges incompatibles qui possèdent des propriétés intermédiaires à celles des constituants [**9-10**]

La miscibilité des composants peut être améliorée par :

- L'addition d'un « agent comptabilisant » ;
- Le mélange des composants à travers un procédé de transformation approprié,
- La modification chimique des composants du mélange ;

A l'échelle macroscopique, la compatibilité du mélange est synonyme de son homogénéité ;

I.6.2 Alginate de sodium

Durant ce projet nous avons travaillé avec l'alginate qui est un des polysaccharides naturellement anioniques les plus utilisés. Il est obtenu sous la forme d'alginate de sodium, de calcium ou de magnésium, principalement après extraction basique à partir d'une algue brune appelée *Laminaria Digitata*. C'est un copolymère linéaire de β-D-mannuronate (M) et de son épimèreC_5, le α-L-guluronate (G) (Figure I-2) associé par des liaisons α,β(1-4).



Figure I-2 : Structure chimique des acides uroniques présents dans l'alginate [11].

] Les motifs M et G sont organisés en blocs de régions homopolymères de motifs M (appelés blocs M), de motifs G (appelés blocs G) ou de régions de structure alternée (blocs MG) (Figure I-3). La proportion de ces deux monomères va influencer les propriétés physico-chimiques. Le rapport M/G se situe en général entre 0,25 et 2,25. Il peut être déterminé de la même façon que les fractions de dimères par RMN ou par chromatographie liquide échangeuse d'ions **[12**



Figure I-3 : les différents blocs de l'alginate[12].

Les propriétés physico-chimiques des solutions et des gels d'alginate (en présence de cations divalents, voir ci-après) en milieu aqueux dépendent de leur structure, de la proportion des résidus mannuronates par rapport aux résidus guluronates, ainsi que du nombre et de la longueur des blocs MM, GG et MG **[13-14**]. La solubilité des alginates en solution aqueuse dépend du degré d'ionisation des groupements carboxyliques.

Ainsi, les alginates sont parfaitement solubles dans l'eau lorsqu'ils sont sous forme carboxylate associées à des cations monovalents. Par contre, l'acide alginique est insoluble dans les solutions aqueuses. Il précipite à un pH inférieur à 3,5. Le pKa apparent de l'acide alginique varie de 3,7 à 4,2 en fonction de sa composition. Les alginates de sodium se dissolvent dans l'eau en formant des solutions colloïdales visqueuses à viscoélastiques. Les alginates ont la capacité de former des hydrogels en présence de cations divalents ou trivalents. Cette méthode de gélification, dite ionotropique, met en jeu des interactions entre les charges des cations et les fonctions carboxylate portées par les unités monomères surtout lorsqu'ils sont de type guluronate (G**) [15].** L'addition progressive de cations divalents (Ca^{2+}par exemple) provoque la formation d'un gel élastique non thermoréversible. Cette gélification est encore largement considérée selon le modèle de la «boîte à œufs» comme le montre la Figure I-4, même si ce modèle est très discuté **[16]**

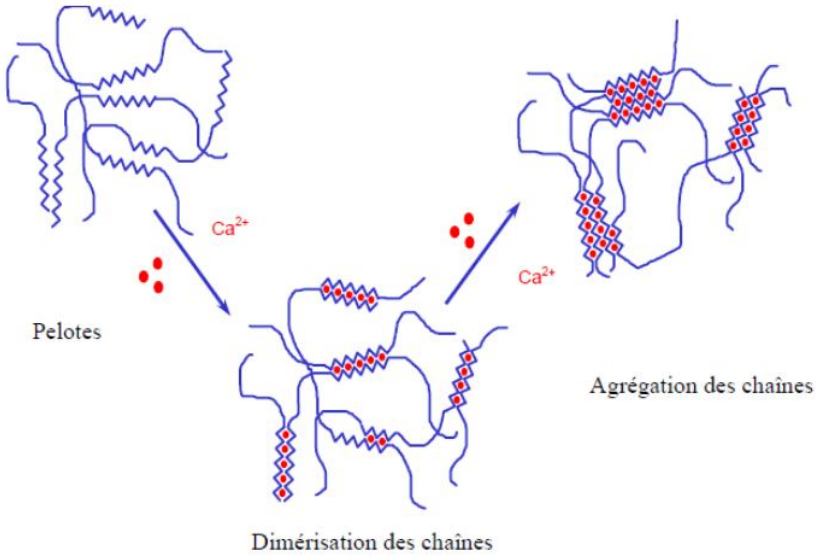


Figure I-4 : Mécanisme de gélification de l'alginate « modèle de la boîte à œufs »[16].

Le rapport M/G (Mannuronate/Guluronate) est alors un paramètre très important, les blocs G étant majoritairement responsables de la gélification (M ne gélifie pas ou peu). Les alginates les plus gélifiants sont ceux dont le rapport M/G est faible. La proportion des blocs poly-G et leur longueur dans la structure du polymère constituent ainsi les éléments déterminants du comportement rhéologique des gels d'alginate de calcium. Dans le cas de gélification avec les ions calcium, on distingue trois états différents quand la concentration en ions calcium augmente. A très faible concentration, il y a formation d'agrégats qui ne parviennent pas à se connecter pour conduire au macrogel. Puis, à partir d'une certaine concentration, une fois la percolation atteinte, les macromolécules s'organisent pour former un réseau tridimensionnel de type gel. Si la concentration en calcium augmente encore, on observe un phénomène de synérèse. Il en résulte une diminution du taux de gonflement du gel et une expulsion d'eau du réseau **[17].** Les cations Ca^{2+}sont les plus employés **[14]** mais les cations divalents Ba^{2+}, Sr^{2+}**[18],** Co^{2+}et Cu^{2+}, **[19-20**] ou les cations trivalents Al^{3+}et Fe^{3+}sont aussi utilisés**[21].** On peut noter que les cations Mg^{2+}ne permettent pas la formation d'un gel **[22].** La proportion des zones complexées (GG) et libres (MM) donnent au gel final des propriétés plus ou moins élastiques, plus ou moins résistantes mécaniquement selon les caractéristiques de l'alginate utilisé. Ce sont ces propriétés qui rendent les alginates intéressants, ils sont utilisés dans différents domaines, dans l'industrie agro-alimentaire comme épaississant, additif, stabilisateur, gélifiant, dans l'industrie textile et également en

médecine pour séquestrer des médicaments ou des substances biologiques fragiles ou encore des cellules souches. Les codes d'additifs alimentaires de l'alginate et ses dérivés varient de 'E400' à 'E405'.

I.6.3 Gomme de xanthane

Le xanthane est un polysaccharide exocellulaire produit par une bactérie appelée « Xanthomonas campestris » intervenant dans le métabolisme de certains végétaux. Il a été découvert en 1940 par des scientifiques américains cherchant la cause d'une maladie affectant les végétaux : un produit visqueux (le xanthane), secrété par ladite bactérie, obstruait les pores respiratoires de ces plantes.

De nombreuses industries exploitent les propriétés rhéologiques remarquables du xanthane. Il est utilisé comme épaississant dans l'agroalimentaire sous la dénomination E 415 (assaisonnements, sauces, crèmes, glaces). En cosmétique, il est présent dans les dentifrices, les crèmes ou les gels. Il sert d'excipient pour le relargage contrôlé de principes actifs pharmaceutiques. L'industrie pétrolière l'utilise pour la récupération assistée du pétrole en tant qu'agent viscosant. La liste des applications est encore longue(peintures, vernis, explosifs, etc…) et rend compte de l'importance de ce produit.

I.6.3.1 Structure chimique du motif

La composition chimique de référence du motif que nous utiliserons a été établie par Jansson et al. en 1975 **[23].**et confirmée par Melton et al. en 1976 [**24]**.Il existe de multiples travaux antérieurs mais l'ensemble des références plus récentes semble s'accorder sur le motif décrit par Jansson représenté sur la Figure I-5.

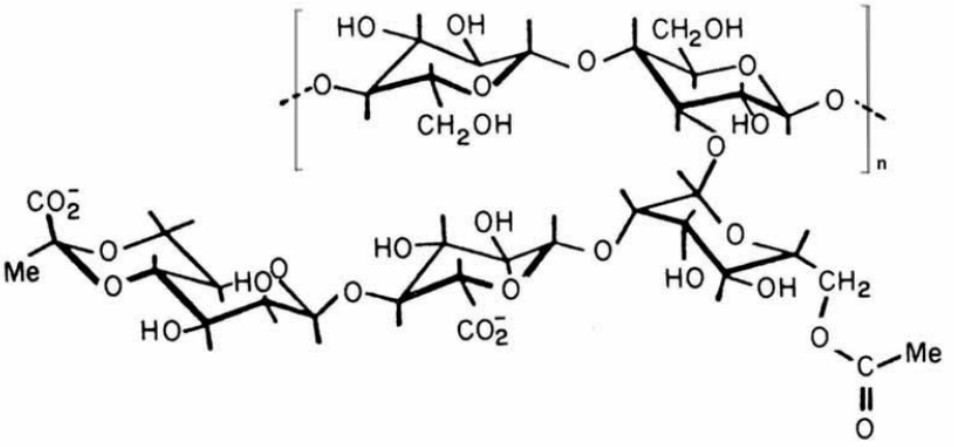


Figure I-5 :formule développée du motif du xanthane[24]

Trois fonctions apparaissent sur les cycles de la chaîne latérale du motif :

- Un groupement acétate sur le cycle le plus proche du squelette principal
- Un acide glucuronique sur le cycle intermédiaire
- Un acide pyruvique sur le cycle terminal

I.6.3.2 Organisation moléculaire du xanthane en solution

Le xanthane est une molécule à haut poids moléculaire. Les masses couramment rencontrées pour ce polymère sont supérieures à 10^6g.mol^{-1}. Les rayons de giration (Rg) déterminées par diffusion statique de la lumière pour ces molécules dépassent la centaine de nanomètres. Sato et al **[25]** mesurèrent par exemple les Rg suivants dans 0,1 M NaCl : 378 nm pour une masse de 7,4.10^6g.mol^{-1}, 257 nm pour 3,9.10^6g.mol^{-1}, 208 nm pour 2,6.10^6g.mol^{-1}, 108 nm pour 1,0.10^6g.ml^{-1}.

La longueur de persistance des molécules de xanthane est aussi très élevée. Elle est la somme de deux contributions essentielles : une contribution intrinsèque L_o liée à la chimie du motif (présence de cycles, encombrement stérique, liaisons hydrogène entre squelette principal et chaînons latéraux, etc.…), et une contribution électrostatique L_e due à la répulsion des charges de la macromolécule.

$$L_p = L_e + L_0 \quad (\mathbf{I.1})$$

$L_p$est de l'ordre de 100 nm. On conçoit ainsi que les molécules individuelles de xanthane puissent être considérées comme semi-rigides pour les plus hautes masses moléculaires et comme des bâtonnets rigides pour les molécules de faible masse.

I.6.3.3 Conformations du xanthane à l'état dilué

a. Transition ordre-désordre

Les macromolécules de xanthane en solution aqueuse subissent une transition conformationnelle au-delà d'une certaine température T_m (« melting temperature »). La valeur de T_m est fortement dépendante de la force ionique I de la solution. Milas et Rinaudo **[26]** obtiennent une variation linéaire de T_m en fonction du logarithme de la force ionique du milieu (somme de la contribution des contre-ions du polymère et de celle des ions d'un éventuel ajout de sel). T_m vaut 45°C pour une solution concentrée de xanthane (10 g.l^{-1}, M_w = 3,6.10^6g.mol^{-1}) sans addition de sel c'est-à-dire pour I = 0,01 M. Elle s'élève à 78°C si I = 0,05 M.

Au-dessous de T_m, la molécule est dans un état ordonné. Lorsque la température dépasse T_m, l'ordre conformationnel « fond ».

Ainsi, la température et la salinité des solutions déterminent la conformation des molécules de xanthane dans le solvant. Dans des conditions peu salines et/ou à des températures élevées, la conformation adoptée par la macromolécule est celle d'une pelote désordonnée, flexible. A l'inverse, si la salinité est forte et/ou si l'on se place à température ambiante, la macromolécule adoptera une conformation ordonnée, semi-rigide ou rigide.

Il a été établi par ailleurs que le degré de substitution des fonctionnalités acétate et pyruvate de la chaîne latérale affecte aussi la température de transition. Le groupement pyruvate, porteur d'une charge, déstabilise la forme ordonnée du fait des répulsions électrostatiques qu'il occasionne (il diminue T_m). Au contraire, le groupement acétate permet d'établir des liaisons hydrogène et participe donc à la stabilisation de la forme ordonnée (il augmente T_m).

De plus, cette transition semble ne pas être réversible **[27]**: un échantillon « natif » de xanthane transitera vers un état « dénaturé » au-delà de T_m (par abaissement de la force ionique ou par chauffage), puis lors du refroidissement, ne reprendra pas nécessairement sa conformation initiale et se trouvera dans un état dit « renaturé ».

- Etat « natif » :

L'état natif correspond à la conformation adoptée par la macromolécule après dissolution complète de la poudre de polymère dans l'eau à température ambiante. C'est une structure hélicoïdale (le diamètre de l'hélice est de quelques nanomètres) où les ramifications sont alignées le long du squelette principal et assurent la rigidité de la structure.

De plus, les macromolécules s'associent deux à deux en « double hélice » (à l'instar de l'ADN) pour former un état ordonné plus rigide encore. L'état ordonné peut résulter aussi de structures hybrides où une séquence ordonnée coexiste avec une séquence désordonnée au sein d'une même macromolécule.

- **Etat « dénaturé » :**

L'état dénaturé est observé à une température supérieure à T_m. Il résulte du déploiement des chaînes latérales du polymère. A température ambiante, les ramifications du polymère interagissent avec le squelette principal par des liaisons hydrogène qui créent un ordre local. L'agitation thermique (ou une baisse de force ionique) provoque la rupture de ces liaisons, permettant à la macromolécule de s'étendre. Il peut en résulter un découplage du double brin en deux simples brins. Cet état peut aussi être interprété comme une structure hybride où cette fois les portions ordonnées, rigides seraient largement minoritaires **[28]**, de manière à former globalement des ensembles plus flexibles de type pelote expansée.

- **Etat « renaturé » :**

Lors du retour à la température ambiante (ou par l'augmentation de la force ionique), la nature de la structure adoptée n'est pas clairement établie. La molécule est semi rigide et en double brin même si la conformation diffère de celle de l'état initial : l'éventualité d'un processus d'association intramoléculaire par repliement d'un simple brin (type « épingle à cheveux ») n'est pas exclue. Il est probable aussi que des agrégats (microgels) apparaissent (même en solution diluée).

I.6.3.4 Conformation à l'état concentré

En solution diluée, la dénaturation de la molécule de xanthane se traduit par une dissociation irréversible de la double hélice en deux monofilaments. Et la renaturation s'effectue probablement selon un processus intramoléculaire à masse macromoléculaire constante n'impliquant qu'un seul brin.

En solution plus concentrée, au-delà de 1 % en polymère, la dénaturation a lieu sans dissociation des deux brins de la double hélice ou avec dissociation partielle, limitée aux extrémités de chaînes **[28]**. La perte de l'ordre local par ouverture des chaînes latérales rend plus flexible l'ensemble, mais la structure de double hélice est globalement conservée. L'enchevêtrement des chaînes est cependant rendu possible par le gain en flexibilité lors de la montée en température. Parallèlement, des zones de jonctions intermoléculaires **[29]** apparaissent et créent un réseau tridimensionnel qui renforce le caractère de type « gel faible » (gel physique) de la solution. La salinité favorise la création de ces ponts intermoléculaires lors de la montée en température, et

à forte concentration en sel la forme ordonnée peut même être conservée : le sel diminue l'activité des molécules d'eau donc leur potentiel de coordination par liaisons H aux groupements latéraux.

I. 7 conclusion

Les applications des hydrogels sont grandissantes, de même que l'intérêt qu'ils suscitent. Leurs caractéristiques physico-chimiques exceptionnelles leur permettent en effet des applications pharmaceutiques et biomédicales, notamment dans l'administration de médicaments (dans des nanosphères ou nanocapsules, par voie orale ou voie transdermique…). On les retrouve également dans la lutte contre les brûlures cutanées. Ils sont aussi couramment utilisés pour une large gamme d'applications dans les essais cliniques de la médecine expérimentale comprenant : l'ingénierie tissulaire et la médecine de la régénération, le diagnostic, l'immobilisation cellulaire, la séparation de biomolécules ou de cellules, l'utilisation de matériaux "barrière" pour réglementer les adhérences biologiques.

Chapitre II Microencapsulation

II.1 Introduction

La micro encapsulation regroupe l'ensemble des techniques permettant l'obtention de particules dont la taille s'échelonne entre un micron et un millimètre contenant une substance active solide, liquide ou gazeuse. Les microparticules ainsi obtenues peuvent être classées en deux catégories selon leur microstructure : les microsphères et les microcapsules **[30].**

La plupart du temps les microparticules ont une forme sphérique ou ovoïde, mais il en existe des formes non régulières. La membrane protectrice des microparticules peut être formée d'une monocouche ou d'une multicouche quelle que soit leur microstructure **[30].**

II.2 Type des microparticules

Les microparticules synthétiques sont des systèmes colloïdaux développés principalement en vue de leur utilisation thérapeutique. Selon la nature des éléments qui les constitue et leur structure, il est possible de distinguer les liposomes, les microsphères, et les microcapsules [**30 ,31**].

- **Les liposomes :** Ce sont de petites vésicules sphériques dont la paroi est constituée par une ou plusieurs bicouches phospholipidiques délimitant une cavité centrale contenant une phase aqueuse (voir Figure II-1). Ils sont apparus il ya quarante ans grâce aux travaux de Bengham et al. (1965) et ont été les premières à être utilisés comme vecteur des médicaments **[32].**

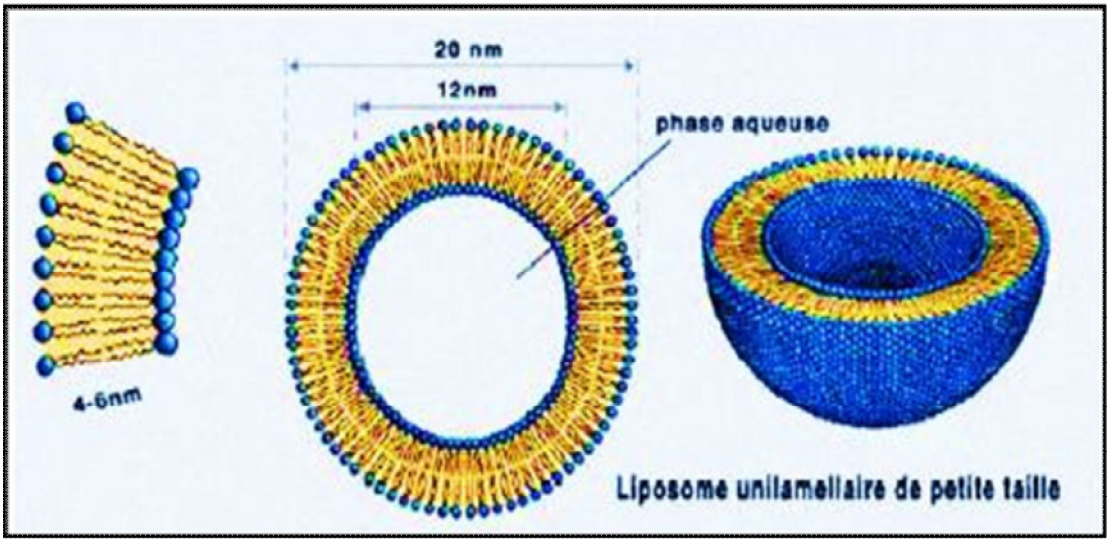


Figure II-1 : Structure d'un liposome **[32]**

▪ **Les microcapsules :** Ce sont des structures réservoirs et sphériques. Elles sont constituées d'un cœur généralement huileux entouré par une mince paroi de polymère dont l'épaisseur n'excède pas quelques nanomètres (Figure II-2). Le principe actif est généralement dissout dans le cœur huileux mais peut aussi être adsorbé à la surface des microcapsules. Dans cette géométrie les taux encapsulation peuvent être particulièrement élevés et atteindre entre 85et 90% de masse de matière active par rapport à la masse de microparticule **[33].**



Figure II-2 : Représentation schématique d'une microcapsule (système réservoir)[33]

▪ **Les microsphères :** Ce sont des structures matricielles, de forme sphérique, constituées de polymères de préférence biodégradables. Les premières microsphères ont été développées par Birrenbach et speider(1976) en utilisant le polyacrylamide réticulé, un polymère non biodégradable **[34].** Dans le cas de microsphères, le principe actif est soit incorporé à l'intérieur du réseau polymère durant la formation des microsphères (Figure II-3).

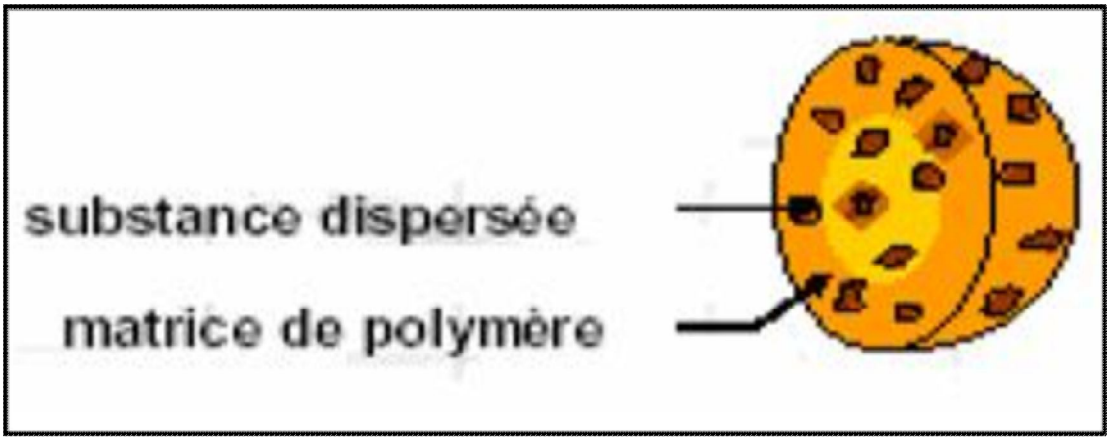


Figure II-3 : Représentation schématique d'une microsphère[34].

II.3 Composition d'une capsule

Une capsule est constituée d'une enveloppe entourant une substance à transporter (Figure 1) est composée de deux parties : des substances à encapsuler, comme des cristaux, des solutions ou des émulsions ; et une membrane qui protège les substances à encapsuler et contrôle leur libération. La capsule est souvent mise dans un milieu externe pour conserver ses propriétés chimiques et physiques. Dans cette thèse, nous nous concentrerons principalement sur la capsule à l'échelle du micromètre (microcapsule), c'est-à-dire que les capsules ont un diamètre compris entre 0,001mm et 1mm**[35].**

II.4 Quels types de systèmes peut-on encapsuler ?

L'encapsulation peut concerner une grande variété de systèmes allant des molécules très simples à très complexes (peptides, médicament, ADN…..). Il peut s'agir également de mélange de molécules ou de structures plus complexes comme des virus. Au sein des microcapsules, le principe actif pourra être sous forme d'une solution, d'une suspension ou d'une émulsion.

II.5 Objectifs de l'encapsulation

L'encapsulation peut avoir différents objectifs dont les plus importants sont les suivants :

II.5.1 Immobilisation ou isolation

L'immobilisation résulte souvent du désir de vouloir limiter le contact entre certaines parties d'un système. Par exemple deux réactif peuvent être séparés par encapsulation et n'entrer en contact que lors de la rupture de la microcapsule .Autre exemple , le piégeage d'un arôme au sein de microcapsule permet soit un effet aromatique prolongé , soit un effet retardé si l'arôme n'est libre que lors de la cuisson par exemple. Par encapsulation, il est aussi possible d'immobiliser des bactéries dans des microsphères afin de favoriser leur culture prolongée au sein de réacteurs en continu en évitant leur perte dans l'effluent.

II.5.2 Protection

De nombreux composés sont fragiles et doivent être protégés de leur milieu environnant. Par exemple, les vitamines ou les acides gras polyinsaturés sont sensibles en entrant en réaction avec beaucoup de cellule biologique.

II.5.3 Contrôler la libération d'un composant

Le but de l'encapsulation n'est généralement pas isoler indéfiniment un composé. Dans la majorité de cas, un profil ou processus de libération bien spécifique est recherché. Par exemple, un médicament sera délivré suivant une cinétique bien définie **[36].**

II.6 Les étapes de l'encapsulation

L'encapsulation se réalise généralement en trois étapes **[37] :**

a. L'incorporation du principe actif dans la matrice ou le cœur de la capsule :

- Dans le cas où le cœur est liquide, l'incorporation consistera en une dissolution ou dispersion du principe actif dans la matrice.

- Si la matrice est solide (poudre) ,l'incorporation du principe actif peut être réalisé par absorption sur les poudre ou agglomération avec la poudre. Un principe actif solide (pur ou formulé) peut aussi constituer lui même le cœur des microcapsules.

b. Une opération mécanique consistant :

- Soit à réaliser une dispersion liquide/air ou liquide / liquide (dans le cas d'une matrice liquide).

- Soit à pulvériser une solution sur les particules solides sous agitation (dans le cas d'une matrice déjà organisée en particules).

c. Stabilisation :

- Soit par un processus chimique (polymérisation).

- Soit par un processus physicochimique (gélification, coacervation).

- Soit par un processus physique (èvaporation, solidification, coalescence).

II.7 Techniques de micro encapsulation

La micro encapsulation, comme son nom l'indique, peut impliquer la formation de microcapsules, qui sont des sphères creuses remplies de liquide et dont la membrane est solide. Cependant, cette technique peut aussi consister en la formation de microsphères, qui possèdent un cœur et une membrane solides de liposomes, qui ont une membrane et un cœur liquide, ou de niosomes, qui sont similaires aux liposomes mais avec une membrane de nature synthétique **[38].**

Les techniques et les méthodes de microencapsulation sont très variées. Toutefois, en général, on peut distinguer trois étapes de microencapsulation :

1. L'inclusion du produit, la dispersion de la matrice et la stabilisation du produit de microencapsulation **[39].** L'inclusion du produit à l'intérieur de la matrice consiste à diluer, disperser, agglomérer ou adsorber la substance à encapsuler dans un autre composant, sauf quand la substance à encapsuler doit être à l'état pur **[40].**

2. La dispersion ou pulvérisation de la matrice sert à donner la taille et à séparer les particules qui formeront les microcapsules. Cette étape consiste en général en une séparation des phases liquide/liquide, liquide/air, solide/air, solide/liquide. La dispersion peut être réalisée par nébulisation ou atomisation, ce qui consiste à asperger le produit, ou par émulsification, qui consiste généralement à produire une dispersion en régime turbulent et « prilling », qui est la formation de gouttes à l'aide d'une aiguille ou d'un injecteur **[41 ,42].**

3. La stabilisation de la matrice dispersée ou pulvérisée vise la séparation des produits de microencapsulation (particules) pendant une période de temps appréciable pendant la quelle auc une énergie externe n'est appliquée afin de maintenir la

séparation; cette stabilisation est réalisée par des processus tels que la gélatinisation, la coacervation, l'émulsification ,l'évaporation, la coalescence, la polymérisation, la polycondensation, la congélation, la vitrification, la cristallisation, la solidification ou l'extraction de solvant [**40,42].**

II.8 Procédés de microencapsulation

Il existe de nombreuses méthodes d'encapsulation **[41],** pour produire des microparticules qui se différencient les unes des autres par des détails comme la solubilité du polymère formant la paroi, la taille des particules, l'épaisseur et la perméabilité de la paroi et les propriétés physiques.

Les procédés de microencapsulation sont variés, et il est nécessaire de les classer pour faire un choix approprié lorsque l'on doit résoudre un problème de formulation. Trois principaux types de procédés peuvent être distingués:

- Procédés physico-chimiques,
- Procédés mécaniques,
- Procédés chimiques.

II.8.1 Procédés physico-chimiques

Ils sont basés sur la maîtrise des variations de solubilité et de conditions de précipitation des agents enrobant. Il s'agit par exemple de la précipitation contrôlée d'un non solvant ou d'un polymère incompatible (coacervation simple), ou encore par variation de température et le pH de la solution (coacervation complexe). Ils peuvent être basés sur des changements d'état (fusion et solidification) des agents enrobant (gélification thermique d'émulsions).

II.8.1.1 La coacervation

La coacervation consiste à provoquer la précipitation d'un polymère ou de plusieurs polymères par séparation de phase. On parle alors respectivement de coacervation simple ou complexe. La coacervation peut être provoquée par un changement des conditions physicochimiques (pH, salinité …). Elle peut être réalisée par exemple à partir d'une émulsion d'huile dans une solution aqueuse de polymères, suivie d'une précipitation des coacervat (par acidification) à la surface des gouttelettes d'huile **[40].**

a. Coacervation Complexe : La formation de complexes est possible dans un système aqueux ayant deux polymères hydrophiles de charges opposées **[43].** Le procédé de formation de complexes peut être résumé comme suivant.

- Un premier biopolymère (généralement une protéine) est dissout dans l'eau,
- Le Principe actif est mélangé à la solution de biopolymère,
- L'ajout d'un deuxième biopolymère de charge opposé entraîne la neutralisation des charges du premier bio polymère et les complexes se forment.
- 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 **[44].**Ce sont ces complexes qui forment la paroi des microcapsules après isolement.

Il faut rappeler que cette formation de coacervat est influencée par plusieurs conditions dont **[45]:**

- Le pH
- La force ionique
- La concentration des polymères totaux
- La composition des polymères
- Le rapport des deux polymères

b. Coacervation simple : Une coacervation simple (Figure II-4) peut se former avec un seul type de biopolymère dans un solvant où le polymère n'est pas soluble ou par addition d'un composé (sels et alcools) ayant une affinité plus élevée pour l'eau **[43].**De cette manière, ce composé entre en compétition avec le polymère en question. Lorsque les polymères perdent la couche d'eau associée à leurs chaînes, il y a formation de coacervat entre les différentes chaînes **[44, 45].**

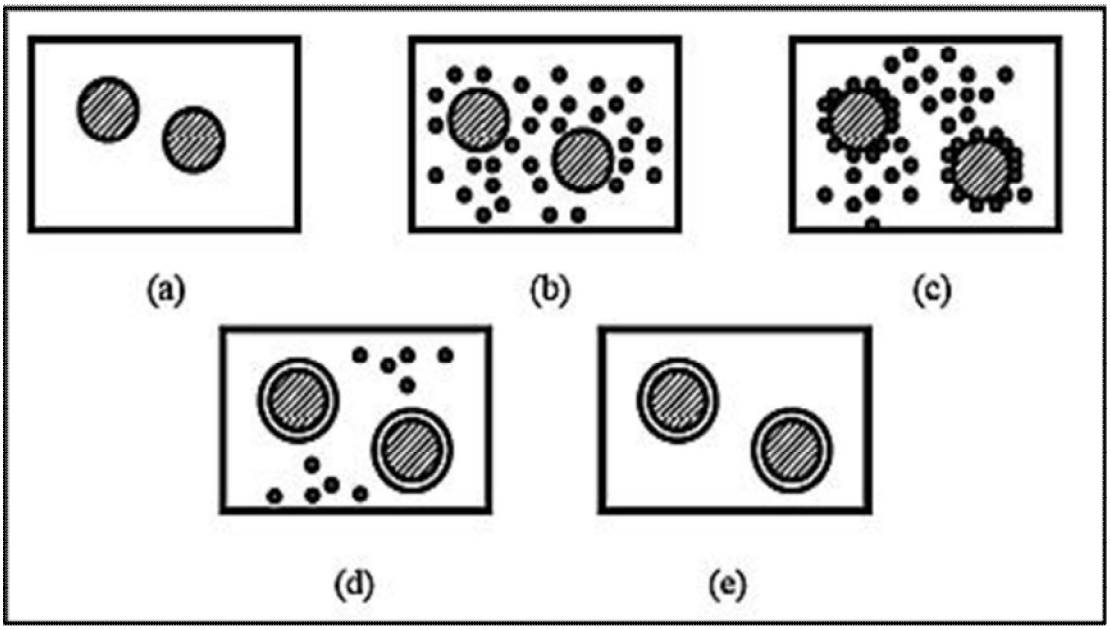


Figure II-4 : Principe de la coacervation simple : dispersion du principe actif dans la solution de polymère : (**a)** formation des gouttelettes de coacervat, **(b)** dépôt du coacervat, **(c)** Fusion des gouttelettes de coacervat et formation d'un enrobage continu,**(d)** Solidification de l'enveloppe(e) **[47].**

II.8.1.2 Emulsification et évaporation-extraction de solvant

Ce procédé est basé sur l'évaporation de la phase interne d'une émulsion donnant lieu à la précipitation du polymère d'enrobage préalablement dissous dans cette phase, sous forme de microsphères. Le mélange est émulsifié dans un grand volume d'eau contenant des tensioactifs tels que l'alcool polyvinylique, afin d'obtenir une émulsion huile-dans-eau. L'évaporation du solvant après diffusion progressive dans la phase continue est réalisée sous pression atmosphérique ou pression réduite et sous agitation lente (Figure II-5).Cette technique est à déconseiller si le principe actif est volatil ou possède une grande affinité pour la phase continue aqueuse .L'extraction consiste, elle, à transférer l'émulsion dans un grand volume d'eau contenant ou non des sur factifs et permettant la diffusion rapide du solvant.

Après élimination du solvant, les particules sont lavées, collectées par filtration ou centrifugation puis séchées ou lyophilisées .Le procédé choisi ainsi que sa vitesse de réalisation vont influencer les caractéristiques des microsphères obtenues. Une extraction de solvant, plus rapide que l'évaporation, peut par exemple, entraîner la formation de microsphères poreuses **[48].**

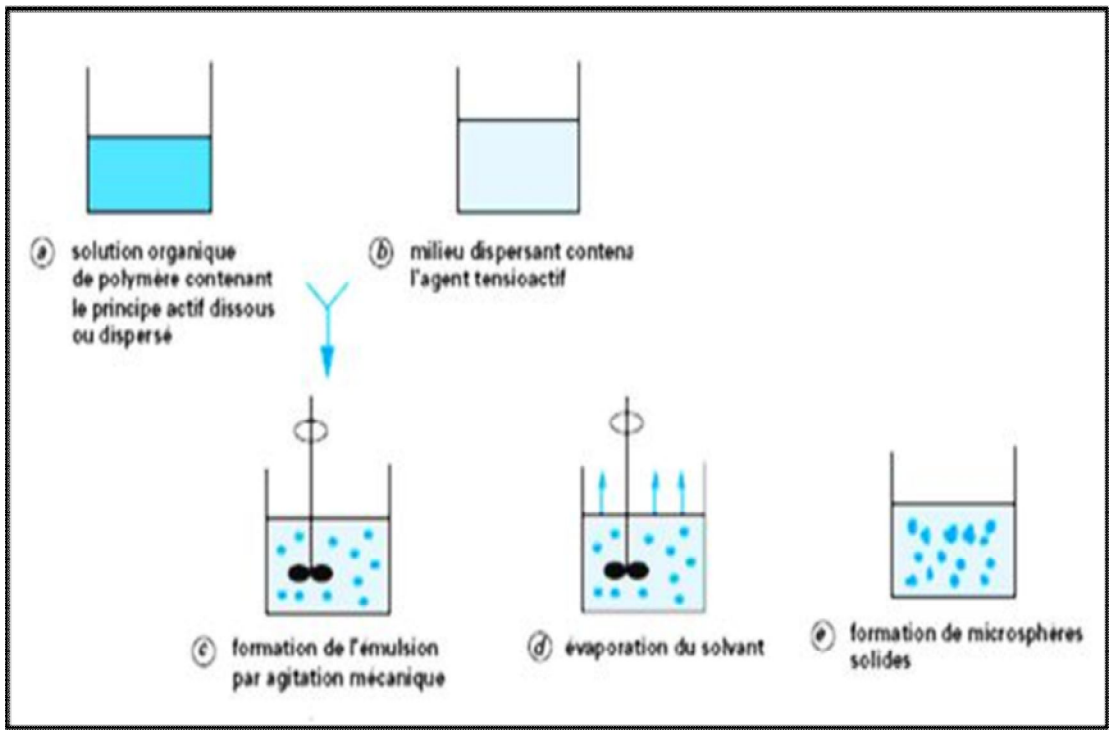


Figure II-5 : Schéma du principe de microencapsulation par évaporation de solvant **[33]**

La méthode telle que décrite ci-dessus est appropriée dans le cas de molécules actives lipophiles. Deux types de modifications peuvent être apportés pour l'encapsulation de principes actifs polaires :

1. Premièrement, l'émulsion huile dans eau peut être remplacée par une émulsion huile dans huile ,en utilisant, en phase interne, un solvant organique volatile (acétonitrile, acétone…) qui contient alors les polymères et la molécule active et, en phase continue, une huile non volatile et non miscible (minérale ou végétale) contenant un tensioactif de faible balance hydrophile lipophile (HLB).

2. L'autre possibilité est de former une émulsion multiple eau dans huile dans eau. La phase aqueuse contenant la molécule hydrophile est ajoutée à la phase organique volatile contenant les polymères sous très forte agitation (sonicateur, homogénéisateur haute pression…) pour former la première émulsion eau dans huile. Celle-ci est ensuite ajoutée sous faible agitation dans un grand volume d'eau contenant les tensioactifs.

II.8.1.3 Microencapsulation par gélification de gouttes : Gélification thermique « HOT MELT »

Le principe de ce procédé consiste à dissoudre ou disperser la matière active à encapsuler dans le matériau d'enrobage en fusion puis à émulsionner l'ensemble dans une phase dispersante à une température supérieure à la température de fusion du matériau enrobant (Figure II-6). On utilise en général, pour le matériau d'enrobage, des lipides de bas point de fusion (cire de Carnauba, alcool cétylique…).Le milieu est ensuite refroidi brutalement afin de solidifier les particules obtenues. Ce procédé permet la microencapsulation de molécules hydrophiles et lipophiles si l'on choisit une phase dispersante pour laquelle ces molécules ont peu d'affinité (huile de silicone et eau respectivement). Une technique similaire consiste à utiliser des polymères hydrophiles capables de former des gels lors du refroidissement (gélatine, agarose…) **[47].**

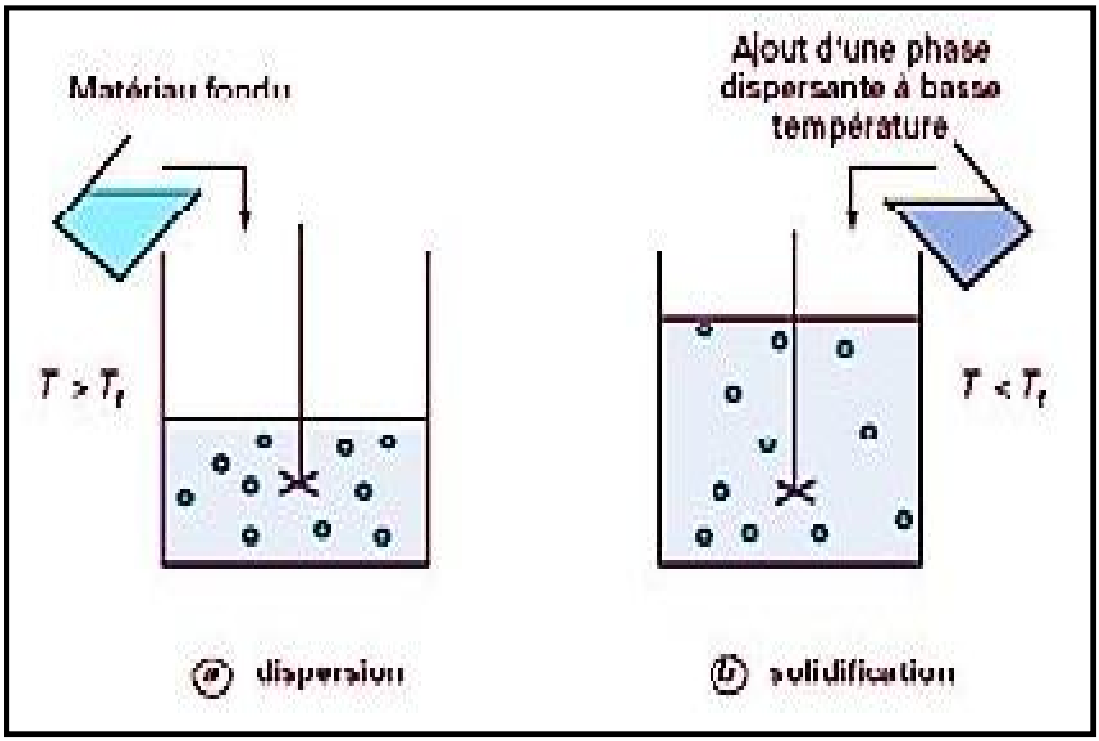


Figure II-6 : Schéma de principe du procédé d'encapsulation Par gélification thermique **[33]**

II.8.2 Procédés chimiques

II.8.2.1 Polycondensation interfaciale

Ce procédé qui appartient aux procédés chimiques d'encapsulation consiste à faire réagir deux monomères, l'un dans la phase dispersée, l'autre dans la phase dispersante, afin d'obtenir une membrane de polymère à la surface des gouttelettes formées. Dans le cas d'un principe actif lipophile, la première étape consiste à préparer une solution contenant cette molécule et un premier monomère dans un solvant organique puis de former une émulsion de cette phase organique dans une phase aqueuse contenant un tensioactif. On ajoute ensuite dans cette phase aqueuse, le second monomère hydrosoluble afin d'induire la réaction des deux monomères à l'interface huile/eau où ils auront diffusé (Figure II-7).

Pour un principe actif hydrophile, on forme une émulsion inverse (eau/huile) dans un solvant de température d'ébullition élevée, à partir d'une solution aqueuse contenant le principe actif et le monomère hydrosoluble. Puis le monomère organo-soluble est ajouté dans la phase dispersante.

La taille des microsphères obtenues est comprise entre 0,5 et 100 µm et dépend principalement de l'agitation du système, de la vitesse d'ajout des deux monomères et de la cinétique de diffusion.

La formation et les caractéristiques de la membrane vont dépendre, elles aussi, de la nature et de la concentration en monomères, tensioactifs et solvants **[47].**

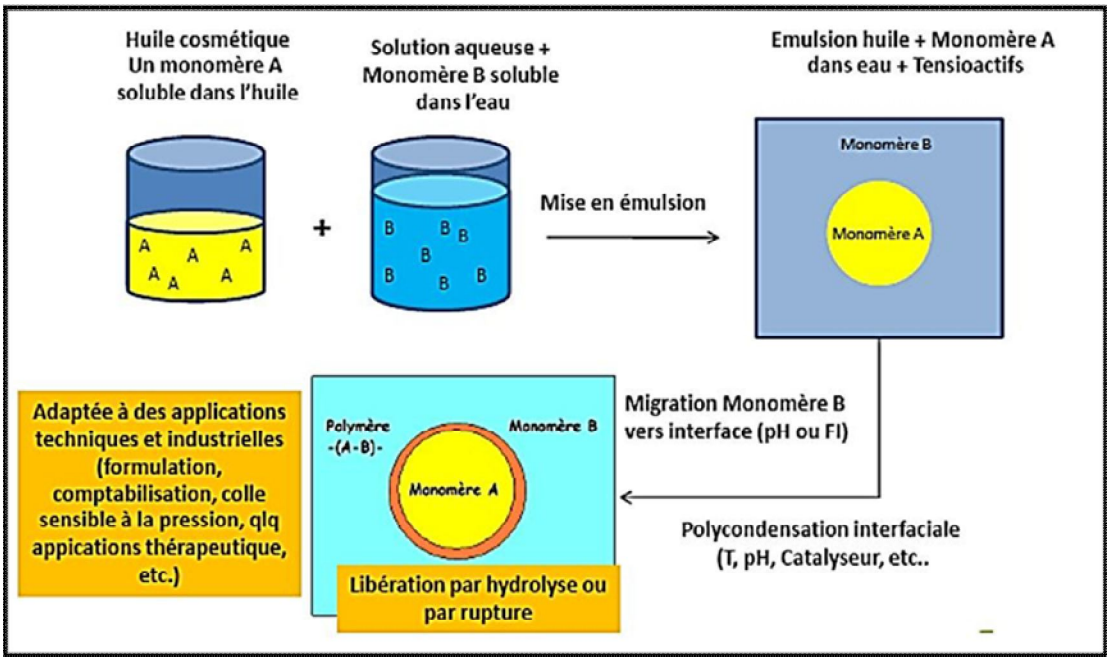


Figure II-7 : Procédé d'encapsulation par polycondensation interfaciale **[47]**

II.8.2.2 Polymérisation en milieu dispersé

Ces procédés permettent la formation de microparticules à partir de monomères synthétiques du type acrylique, vinylique ou cyanoacrylate d'alkyle. Ils mettent en jeu une phase de formation des particules appelée nucléation suivie d'une phase de croissance donnant lieu à des particules de type matriciel **[47].**

Deux mécanismes principaux sont à distinguer :

a. La polymérisation en émulsion : Dans ce cas, une émulsion des monomères en phase aqueuse est réalisée avant la polymérisation, le principe actif étant préalablement solubilisé ou dispersé dans les monomères. La réaction de polymérisation radicalaire ou anionique selon les monomères utilisés s'initie respectivement par l'ajout d'un amorceur ou par simple contact avec la phase aqueuse.

b. La polymérisation en dispersion : Dans ce cas, la nucléation se fait en phase homogène, les monomères et la matière active étant initialement solubilisés dans la phase continue. La croissance des oligomères suite à la polymérisation amorcée par un initiateur, donne lieu à leur précipitation sous forme d'agrégats stabilisés par les tensioactifs présents dans la phase continue.

La technique de polymérisation en dispersion conduit à des particules de diamètre nettement supérieur à celui des particules obtenues par polymérisation en émulsion **[47].**

Les autres procédés chimiques de microencapsulation sont des procédés basés sur la polymérisation radicalaire ou anionique en milieu dispersé. Il s'agit des procédés de polymérisation en **[33]** :

- Emulsion
- Micro suspension
- Dispersion
- Microémulsion

II.8.3 Procédés mécaniques

II.8.3.1 Gélification des gouttes

Cette technique est basée sur la formulation 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 **[33].** Dans le cas de l'alginate de sodium, les gouttelettes formées par extrusion à travers une buse vibrante, sont réceptionnées dans une phase aqueuse gélifiante contenant du chlorure de calcium **[33].**Elles se transforment instantanément en des microparticules de gel sphérique (Figure II-8).

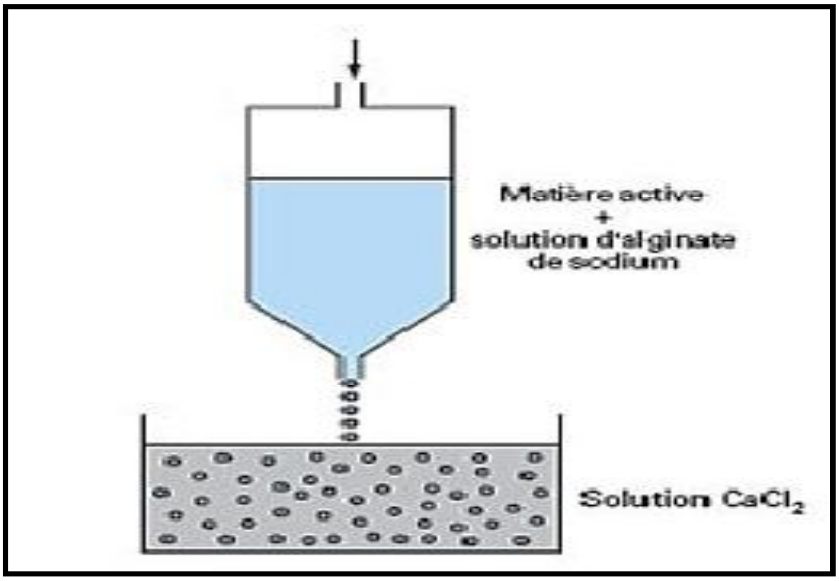


Figure II-8 : Gélification de gouttes schéma de principe **[33]**

Figure 2.8.

II.8.3.2 Congélation des gouttes

Cette technique consiste à préparer un fond d'un matériau enrobant, généralement un corps dont le point de fusion est compris entre 50 et 120°C, dans lequel la matière active est solubilisée ou dispersée soit sous forme particulière solide, soit sous forme de microgouttelettes d'émulsion inverse E/H**[33].** Cette préparation fondue et maintenue à une température supérieure à la température de fusion du matériau enrobant et extrudée sous pression à travers une buse vibrante. Le jet fondu est sectionné sous forme de gouttelettes sphériques de taille uniforme **[33].**Ces gouttelettes se refroidissent dans le milieu de chute (air froid, azote…) (Figure II-9)**.**

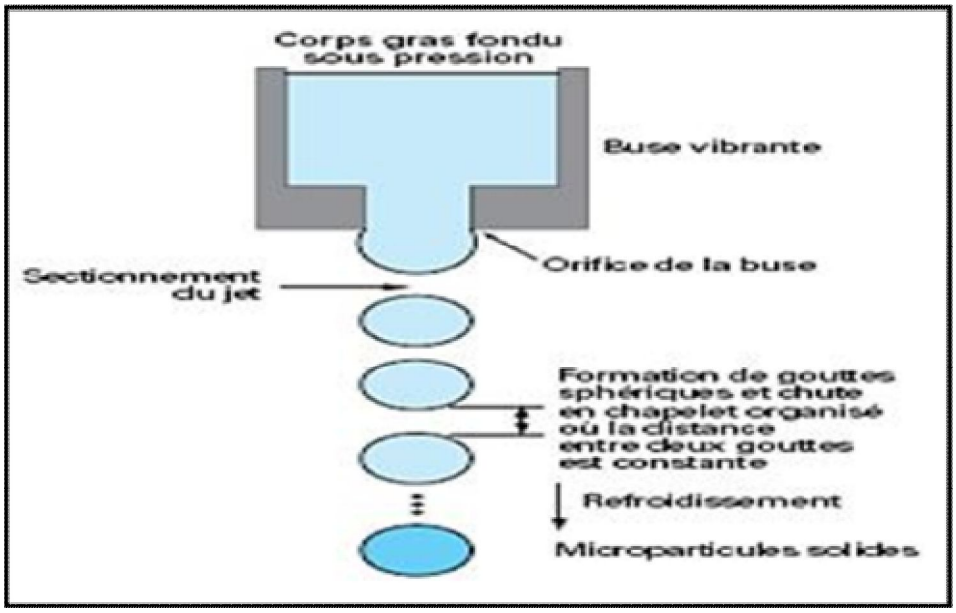


Figure II-9 : Congélation de gouttes : schéma de principe **[46]**

II.9 Mécanisme de libération des principes actifs

Il existe trois mécanismes primaires par lesquels les principes actifs peuvent être libérés d'un système de libération :

1. Libération par diffusion,

2. Libération par gonflement suivi d'une diffusion,

3. Libération par dégradation.

II.9.1 La libération par diffusion

La diffusion se produit quand un principe actif traverse le polymère qui forme le système de libération. La diffusion peut produire à l'échelle macroscopique à travers les pores dans la matrice ou à l'échelle moléculaire par le passage entre les chaines de polymères **[49].**

Les exemples de systèmes de libération par diffusion sont montrés dans la Figure II-10.Un polymère et un principe actif ont été mélangés pour former un système homogène, également désigné sous le nom d'un système matriciel **[49].** La diffusion se produit quand le principe actif passe de la matrice de polymère dans l'environnement externe **[49].** Comme le dégagement est continu, le taux diminue avec ce type de système puisque le principe actif a progressivement une distance plus longue à traverser et c'est pourquoi il a besoin d'un temps de diffusion plus long pour être libéré **[49].**

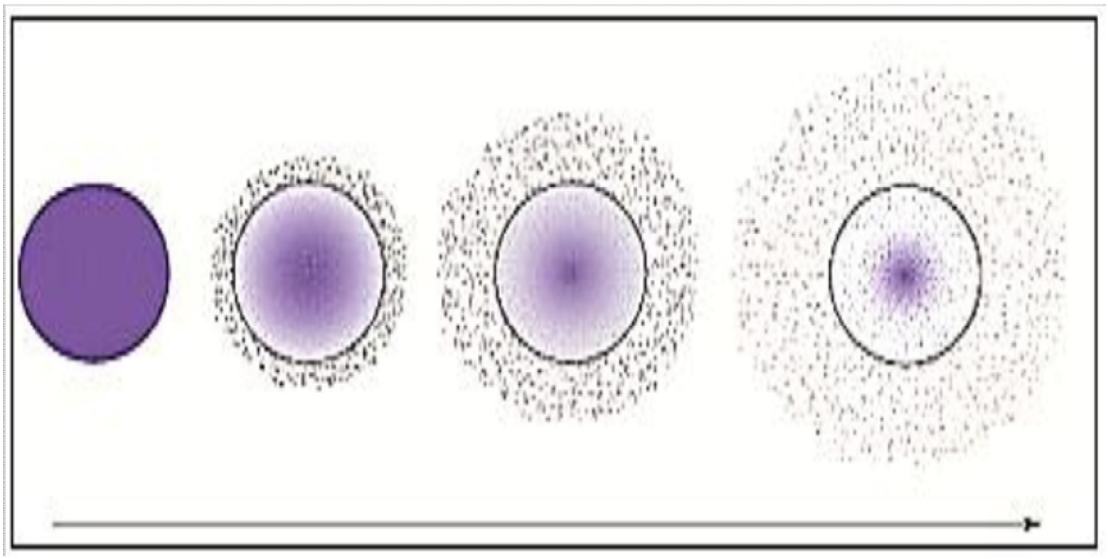


Figure II-10 : Libération par diffusion **[49]**

II.9.2 Libération par gonflement suivi d'une diffusion

Il est également possible qu'un système de libération soit conçu de sorte qu'il soit incapable de libérer son agent jusqu'à ce qu'il soit placé dans un environnement biologique approprié **[49].**

Les systèmes de libération contrôlée par gonflement sont initialement secs et quand ils sont placés dans le corps, ils absorberont l'eau ou autre fluides du corps et gonfleront. Ces systèmes permettent la diffusion du principe actif à travers le réseau gonflé dans l'environnement externe **[49].**Les exemples de ces systèmes sont (Figure II-11) :

a. Les systèmes réservoir

b. Les systèmes matriciels

La plupart des matières utilisées pour ces systèmes sont les hydrogels qui absorbent de l'eau ou autres fluides sans être dissous **[49].**

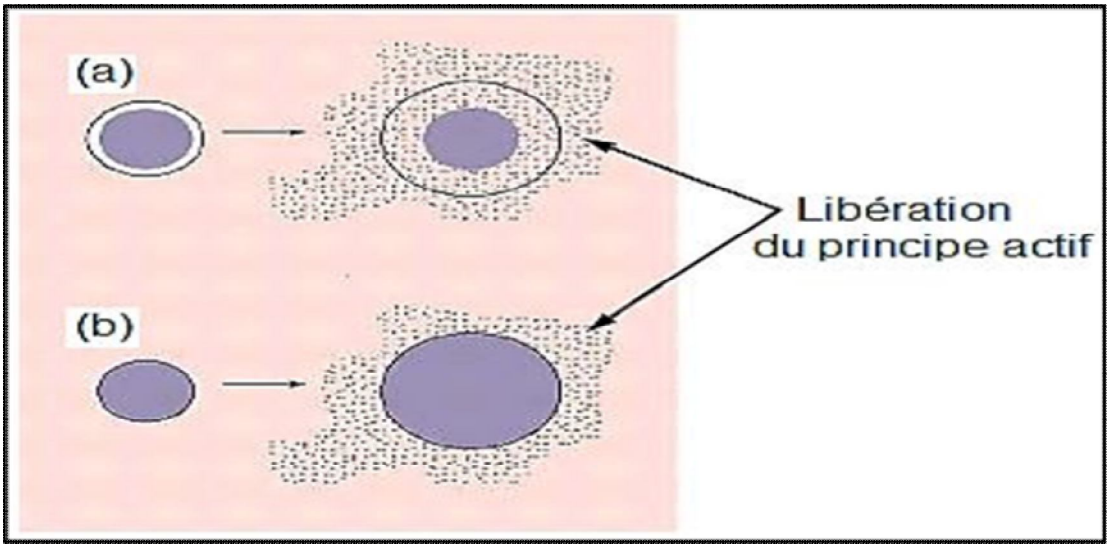


Figure II-11 : Libération du principe actif à partir des systèmes à gonflement contrôlé: système réservoir, **(b)** système matriciel **[50]**

II.9.3 Libération par dégradation

La plupart des polymères biodégradables se dégradent par hydrolyse en composés de taille de plus en plus faible biologiquement éliminable. Dans certains cas les produits de la dégradation entrent dans un processus métabolique **[49].**

La dégradation peut s'effectuer selon deux phénomènes **[49]:**

a. Une hydrolyse en masse : la dégradation est uniforme dans toute la matrice polymère).

b. Une dégradation en surface : Pour quelques polymères dégradables, notamment les polyanhydrides et les polyorthoesters, la dégradation se produit uniquement sur la surface des polymères, ayant pour résultat un taux de rejet proportionnel à la surface du système de la libération de principe actif.

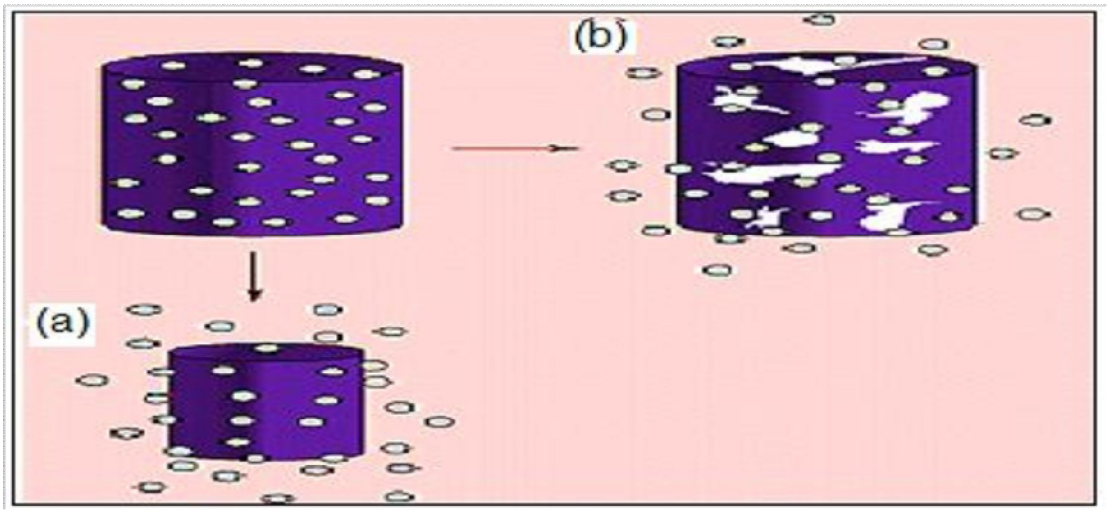


Figure II-12 : Libération par dégradation :
(a) hydrolyse en masse, (b) dégradation en surface **[49]**

II.9.4 Paramètres influençant la libération d'un principe actif (PA)

Il est à noter que les principaux paramètres influençant la libération d'un PA encapsulé

sont **[51]:**

- La solubilité du PA dans le milieu de libération et dans la paroi polymérique,
- Le taux d'encapsulation,
- Les interactions chimiques entre le PA et polymère,
- Les caractéristiques morphologique du système de libération (porosité, tortuosité, surface, forme, etc.),
- Les caractéristiques du polymère tel que poids moléculaire.

II.9.5 Profils de libération de différents types de microparticules

La diffusion du PA selon les modes de la cinétique de libération obéit à différentes allures (figure 2.13**) [33].**

Profils A et D : À partir des microcapsules, on peut obtenir des cinétiques de libération d'ordre 0(profils A) ou d'ordre 1 (profils D), en fonction de la solubilité dans l'eau de la matière active.

Profil B : Les cinétiques d'ordre 0 peuvent être modifiées dans leur phase initiale: soit la vitesse de libération est exagérément marquée en raison de la présence d'un excès de

matière active dans la membrane (Effet de Burst).

Profil C : À partir des microcapsules, on peut obtenir un temps de latence qui précède la libération, temps nécessaire par exemple pour que le principe actif diffuse à travers la membrane, avant d'atteindre le milieu extérieur.

Profil E : À partir de microsphères, la cinétique obéit à la loi d'HIGUCHI.

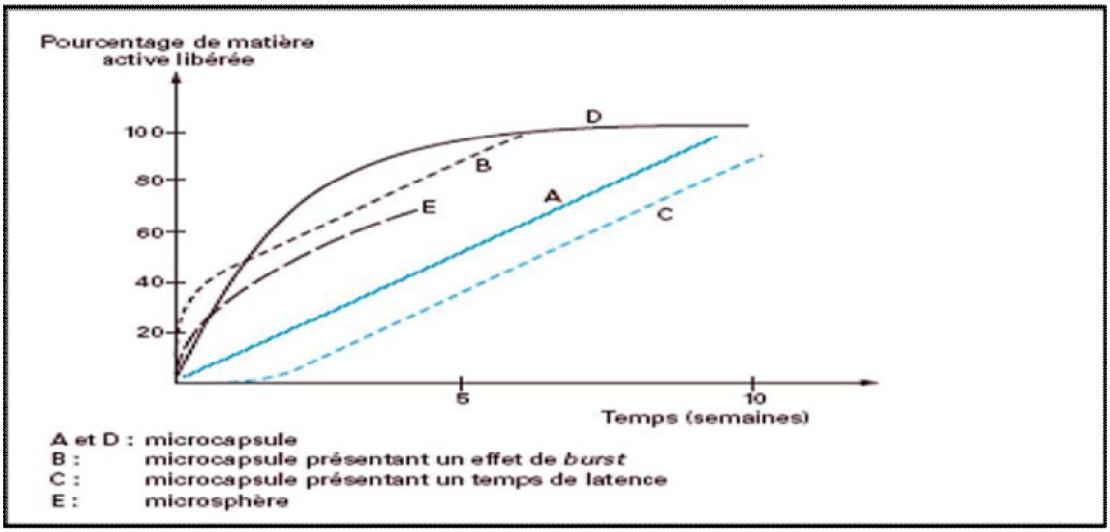


Figure II-13 : Profils de libération obtenus à partir de différents types de microparticules **[47]**

II.10Domaines d'application des microparticules

Les microparticules présentent un très large champ d'applications puisqu'il va du domaine pharmaceutique au domaine alimentaire en passant par la cosmétique, la parfumerie, les produits phytosanitaires, la chimie, le domaine biomédical, etc. **[50].**

Une des premières applications de la microencapsulation a été le papier autocopiant sans carbone à base de microcapsules d'encre sensibles à la pression **[50].**

Depuis les années80, la communication olfactive s'est développée sous forme d'encarts parfumés dans les magazines pour faire connaître un parfum ou un adoucissant. Des encres contenant des microcapsules enferment le parfum et le libèrent au moment opportun **[50].**

Récemment, le domaine du textile utilise les microparticules pour parfumer les tissus ou déposer sur la peau des actifs cosmétiques **[50].**

II.11Conclusion

L'encapsulation a donné naissance ces dernières années a de nombreux produits commerciaux. C'est une technologie très largement utilisée dans l'industrie. Le développement de méthodes d'encapsulation donne naissance à des structures innovantes permettant d'isoler, de protéger et de structurer des substances. De manière générale, l'encapsulation peut être définie comme le piégeage d'un ou plusieurs objets au sein d'un matériau en vue de son immobilisation, sa protection, le contrôle de son transfert, sa structuration et sa fonctionnalisation. L'encapsulation peut concerner une grande variété de systèmes, allant de molécules simples à des structures plus complexes comme des cellules. Au sein des microcapsules, les composés peuvent être sous forme d'une solution, d'une suspension ou d'une émulsion.

Dans l'industrie pharmaceutique, les microcapsules sont la plupart du temps utilisés comme vecteurs pour la libération contrôlées de médicaments. Dans les industries textiles, les microcapsules permettent d'encapsuler des parfums ou des teintures, ou même des composés s'ignifuges dans les textiles militaires.

Chapitre III Partie expérimentale

III.1 Introduction

Le principal objectif de ce Projet d'Etude était de nous faire découvrir le monde de la recherche. Dans ce but, au cours de ces trois mois, nous avons travaillé au niveau du hall technologique de l'université de Médéa au sein du laboratoire d'analyses physico-chimiques, ainsi qu'au niveau du laboratoire contrôle qualité de la filiale ANTIBIOTICAL-Saidal de Médéa.

Le sujet consistait donc à encapsuler un principe actif modèle (à savoir le Diclofenac de sodium (DS)) dans des microcapsules à base de deux biopolymères de nature polysaccharidique à savoir l'alginate de sodium (ALG) et le xanthane (XS).

Ainsi, ce projet s'est découpé en différentes parties. Nous avons tout d'abord procédé à la caractérisation physico-chimique des différents produits utilisés au cours de ce travail, i.e. l'alginate de sodium, le xanthane ainsi que le Diclofenac de sodium.

Une fois les résultats analysés, nous avons travaillé surla mise au point de la méthode d'encapsulation du principe actif DS par le mélange ALG-XS et la caractérisation physicochimique et biopharmaceutique des capsules obtenues.

III.2 Matériels et produits

III.2.1 Matériels

Durant ce travail nous avons employé l'équipement énuméré dans le tableau suivant :

Tableau III-1 : Matériels utilisés

Matériels	Marques
Balance électrique	KERN ALS 220-4N (d = 0.1 mg)
Agitateur magnétique	Ika-Werk
pH-mètre	Sartorius
Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)	Alpha-FTIR Bruker
Spectrophotomètre UV visible	Perkin Elmer
Viscosimètre rotatif	Bohlin visco
Dissolutest	Sotax AT 7 ID-Nr:16887
Pied de coulisse digital	MDC-25S Mitutoyo

III.2.2 Produits

Les produits utilisés au cours de ce travail sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau III-2 : Caractéristiques des produits utilisés

Produit	Formule	Masse molaire ($g.mol^{-1}$)	Fournisseur
Acide chlorhydrique	HCl	36,46	Reidel-de Haën
Chlorure de calcium	$CaCl_2$	99	Reidel-de Haën
Chlorure de potassium	KCl	99,5	Reidel-de Haën
Chlorure de sodium	NaCl	99,5	Scharlau
Disodium hydrogenophosphate dihydraté	$Na_2HPO_4.H_2O$	101	Reidel-de Haën
Hydroxyde de sodium	NaOH	98	Chem-Lab NV
Sodium dihydrogenophosphate dihydraté	$NaH_2PO_{4.2}H_2O$	98,5	Reidel-de Haën

III.3 Préformulation

La pré-formulation est l'étape de développement qui consiste à optimiser les performances d'une matière première (principe actif ou biopolymères) à travers la détermination des propriétés physiques et chimiques en vue de la formulation d'une forme stable, efficace et sûre. Le but de la pré-formulation est la préparation de l'étape de formulation. L'utilisation des méthodes d'études de criblage des facteurs est très utile pour comprendre et définir l'influence des différents facteurs, la possibilité d'existence d'interactions entre les uns et les autres, et ainsi de prendre les bons choix pour la conduite d'une bonne formulation.

III.3.1 Diclofenac de sodium (DS)

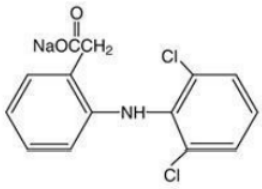
Le diclofénac est un dérivé de l'acide anilino-phénylacétique $C_{14}H_{11}NO_2$ C'est un puissant inhibiteur de cyclo-oxygénase ayant des propriétés anti-inflammatoires, analgésiques et anti-pyrétiques. La puissance inhibitrice du diclofénac vis a vis de la cyclo-oxygénase est supérieure à celle du naproxéne. Il est recommandé dans les pathologies inflammatoires chroniques telles que la polyarthrite chronique et l'arthrose, ainsi que dans le traitement des douleurs aiguës musculo-squelettiques, il est souvent prescrit dans le traitement des maladies rhumatismales et utilisé comme analgésique. Le diclofénac est contre indiqué dans l'ulcère gastrique et chez les sujets

allergiques sensibilisés par l'aspirine ou d'autres inhibiteurs de la prostaglandine synthase.

III.3.1.1 Caractéristiques du Diclofenac du sodium (DS)

Les caractéristiques physico-chimiques du DS (sollicité auprès de la filiale ANTIBIOTICAL-Saidal de Médéa) utilisé sont données dans le tableau

Tableau III-3 : Propriétés physico-chimiques du Diclofénac de sodium DS [52]

Forme chimique	Masse molaire ($g.mol^{-1}$)	Solubilité dans l'eau pure ($mg.mL^{-1}$)	pKa	λ_{max}	Log K_{ow}
$C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$ 	318,13	2,43	4,2	276±2	0,7

Log Kow, est une mesure de la solubilité différentielle de composés chimiques dans deux solvants (coefficient de partage octanol/eau). Cette valeur permet d'appréhender le caractère hydrophile ou hydrophobe (lipophile) d'une molécule. En effet, si le Log K_{ow} est positif et très élevé, cela exprime le fait que la molécule considérée est bien plus soluble dans l'octanol que dans l'eau, ce qui reflète son caractère lipophile, et inversement [53]. Le diclofénac présente un Log $K_{ow} = 0,7 < 1$, et alors on peut le considéré comme hydrophile. Son pKa signifie qu'il est un acide faible. Pratiquement il est peu soluble, on a préparé des solutions diclofénac de concentration maximale égale à $1(g.L^{-1})$.

III.3.1.2 Identification par FTIR :

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed Infra Red spectroscopy) est baséesur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau.

a) Principe

La spectroscopie IR est une technique d'analyse permettant de déterminer la nature des liaisons chimiques présentes dans un échantillon et d'en caractériser les groupements moléculaires afin d'obtenir de nombreuses informations sur la conformation et les éventuelles interactions. Dans le cas de molécules biologiques, elle permet de détecter des variations spectrales liées à différents constituants macromoléculaires comme les acides nucléiques, les lipides, les glucides ou encore les protéines présents dans le spécimen étudié, de façon qualitative et quantitative. Notons que seule une molécule ayant une variation de son moment dipolaire, peut être active en IR. La région infrarouge est localisée entre la région du spectre visible et des ondes hertziennes. Le domaine infrarouge s'étend de 0,8 µm à 1000 µm. Il comprend 3 zones : le proche infrarouge (0,8 à 2,5 µm soit 12500-4000 cm^{-1}), le moyen infrarouge (2,5 à 25 µm soit 4000-400 cm^{-1}) et le lointain infrarouge (25 à 1000 µm soit 400-10 cm^{-1}). Le spectre infrarouge représente l'absorbance « A » en fonction de la longueur d'onde « λ » qui est traditionnellement exprimée sous la forme du nombre d'onde « ν ». ν= 104 /λ en cm^{-1} Avec λ en µm. Les régions du proche IR et du lointain IR ont suscité un certain intérêt et ont été utilisé dans plusieurs études. Cependant, le moyen IR reste le plus adapté et le plus utilisé pour l'étude de la composition moléculaire d'un échantillon.

Le phénomène de réflexion est perturbé par l'existence d'une onde transversale appelée « onde évanescente » qui pénètre de quelques micromètres dans l'échantillon qui se trouve en contact avec le cristal dans lequel se produit la réflexion interne. Lorsque l'échantillon absorbe la lumière, une partie de l'énergie lumineuse est retenue par celui-ci et la réflexion totale est atténuée. Ce système permet d'analyser l'échantillon tel qu'il est sans conditionnement préalable.

b) Mode opératoire :

Les spectres FTIR ont été obtenus en disposant directement les échantillons de poudre sur le dispositif en diamant. Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la gamme de nombres d'onde comprise entre 400 et 4000 cm^{-1}, avec une résolution de 8 cm^{-1} et un nombre de scanne égale à 128.Les résultats sont donnés par la Figure III-1.

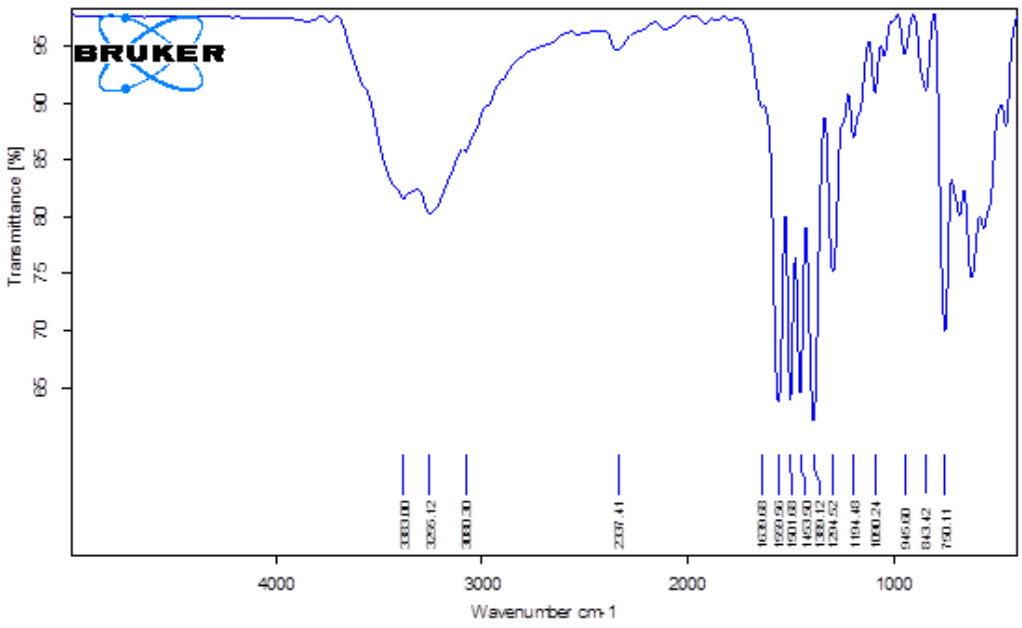


Figure III-1 : Spectre FTIR du Diclofenac de sodium (DS)

L'analyse de la Figure III-1 représente les caractéristiques de base de la molécule du DS. Les principaux pics distinctifs sont les suivants :

- La liaison NH de l'amine secondaire présentée par le pic caractéristique qui apparé à 3380,00 cm^{-1} ;
- La bande typique d'absorption autour de 1600.96 cm^{-1}correspond à la vibration asymétrique dela fonction -C = O de l'ion carboxyle ;
- La vibration symétriquede la fonction carboxyleautour de 1453,20 cm^{-1} ;
- Les bandes à 750,11 cm^{-1} sont affectées à l'élongation de la liaison C-Cl.

III.3.1.3 Dosage du diclofenac de sodium par spectroscopie UV-Visible

La spectrophotométrie UV-visible permet la mesure de la quantité de la lumière absorbée à chaque longueur d'onde des bandes ultraviolettes et visibles du spectre électromagnétique. L'absorption de la lumière fait passer des électrons d'un niveau d'énergie plus bas, état stable (correspondant à une orbitale liante σ ou π ou non liante n) à un niveau d'énergie plus élevée au état excité (celui d'une orbitale anti-liante σ* ou π*) : on peut provoquer les passages : $\sigma \rightarrow \sigma^*$, $\tau \rightarrow \tau^*$, $n \rightarrow \sigma^*$, $n \rightarrow \tau^*$.

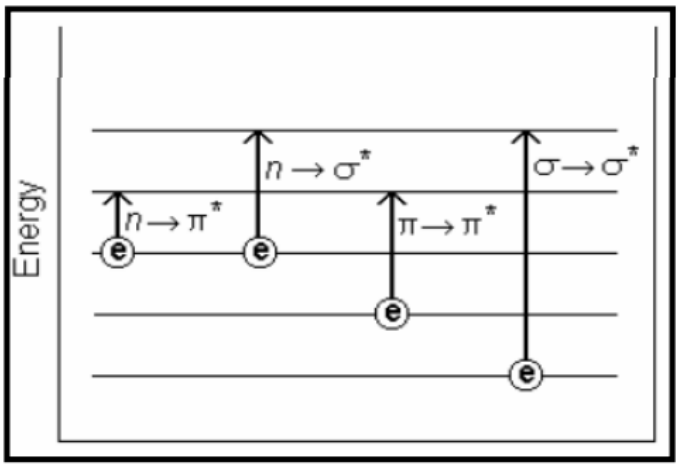


Figure III-2 : Transitions électroniques

Cette technique sert à élucider la structure des molécules organiques en indiquant la présence ou l'absence de conjugaisons dans un échantillon donné, elle sert d'avantage à déterminer les concentrations inconnues.

- **L'absorption d'un rayonnement**

En langage spectroscopique, l'absorption est un phénomène au cours du quel, une espèce chimique dans un milieu transparent atténue sélectivement l'intensité du rayonnement électromagnétique incident à certaines fréquences, selon la théorie quantique, chaque particule élémentaire (atome, ion ou molécule) possède un ensemble unique d'état énergétique. L'état dont le niveau énergétique est le plus bas est l'état fondamental à la température ambiante, l'état fondamental prédomine. Lorsqu'un photon passe au voisinage d'une particule, il peut être absorbé si (et seulement si) l'énergie du photon est exactement égale à la différence d'énergie entre l'état fondamental et un des états d'énergie plus élevées de la particule. Dans ces conditions, l'énergie du photon est transférée à l'atome, l'ion ou la molécule, qui passe à un état d'énergie plus élevée qu'on appelle un état excité.

Pour décrire commodément les propriétés absorbantes d'une espèce, on utilise son spectre d'absorption, c'est-à-dire un graphique d'une fonction de la longueur d'onde, de la fréquence ou du nombre d'onde. On emploie couramment deux termes pour mesurer l'atténuation du faisceaux : la transmittance et l'absorbance.

La transmittance T: la transmittance d'une solution et la fraction du rayonnement électromagnétique incident qui est transmise par un échantillon.

$$T = \frac{I}{I_0} \qquad (\mathbf{III.1})$$

I_0 : Intensité de la lumière incidente.

I : Intensité de la lumière transmise (I toujours inférieur de I_0).

T : Transmittance, souvent exprimée en %.

La loi de Beer-Lambert dit que l'absorption est proportionnelle à la concentration c du produit et à la longueur l du chemin optique. Elle est décrite dans l'équation.

$$A = \log \frac{I}{I_0} = \varepsilon \times l \times c \quad \textbf{(III. 2)}$$

Où ***A*** est l'absorbance ; I_0 l'intensité de la lumière incidente ; ***I*** l'intesité de la lumière sortante ; ε le coefficient d'extinction molaire en $L.mol^{-1}cm^{-1}$; ***l*** le chemin optique en cm ; ***c*** la concentration en $mol.L^{-1}$.

- **Détermination de la longueur d'onde optimale :**

Un balayage dans le domaine UV-Vis a été effectué afin de déterminer la longueur d'onde optimale λmax, correspondant à l'absorption de la molécule DS dans différents milieu de dissolution. Pour la détermination de λmax, Les solution de DS sont préparées dans les solutions tampon à pH1,2 et à pH7,4, à une concentration de 0,1 $mg.mL^{-1}$. Les résultats montrent des pic d'absorptions maximums définis à une longueur d'onde λmax= 276 nm.

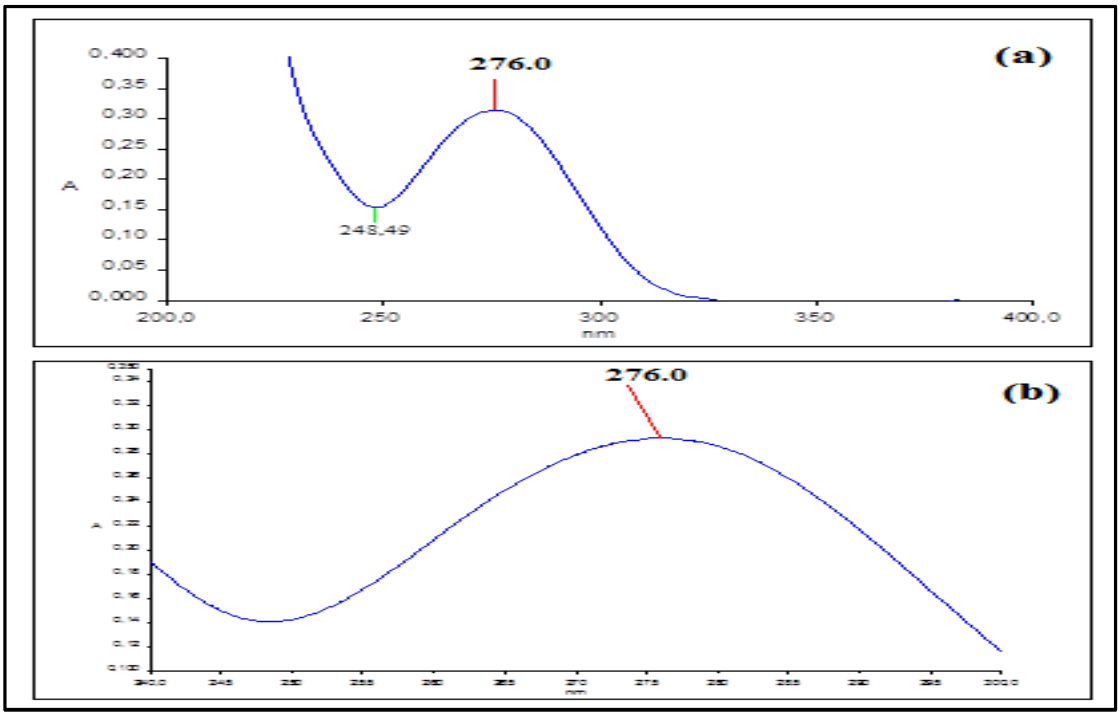


Figure III-3 : Spectres d'absorption UV des solutions de DS :
(a) dans un milieu tampon pH1,2, **(b)** dans un milieu tampon pH7,4.

- **Détermination de la courbe d'étalonnage :**

Les courbes d'étalonnage sont réalisées dans deux solutions tampons différentes qui sont le tampon gastrique pH1,2 et le tampon intestinal pH7,4. Les deux courbes d'étalonnage sont réalisées comme suivant :

- Préparer une solution mère de DS (Principe actif) à 1mg/ml en solubilisant 10mg de DS dans 100ml de la solution tampon à pH1,2 et solution tampon pH7,4.
- Préparer des solutions deDS (principe actif) pardilution de la solution mère (0,1mg.mL^{-1}) pour obtenir une gamme de concentration allant de 0,006mg et 0,03 mg.mL^{-1}.
- Mesurer la densité optique (DO) pour chaque concentration à λ =276 nm.
- Tracer la courbe d'étalonnage représentant DO = f(c).

Les résultatssont représentés dans laFigure III-4.

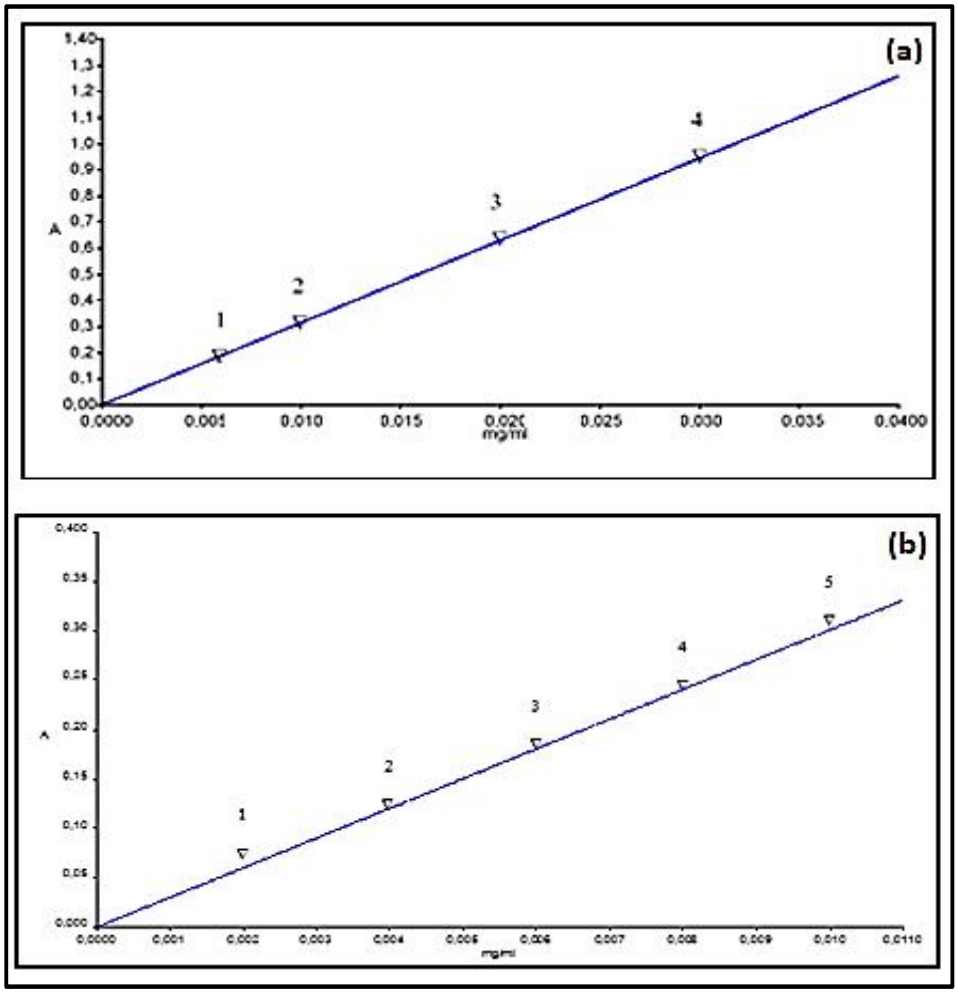


Figure III-4 : Courbe d'étalonnage de DS **dans l'**UV à λ =276 nm:
(a) dans un milieu tampon pH1,2, **(b)** dans un milieu tampon pH7,4

Les droites d'étalonnage et les coefficients de corrélation obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau III-4 :Résultats de l'ajustement des courbes d'étalonnage du Diclofenac de sodium

Milieux de dissolution	Longueur d'onde optimale (nm)	Equation de la droite d'étalonnage	Coefficients de corrélation R^2
Milieu Tampon pH 1.2	276	y=0,1 x+0,005	0,999
Milieu Tampon pH 7.4	276	y=0,1 x+0,010	0,998

Selon les résultats présentés dans le **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**, nous pouvons remarqué que les coéfficients de corrélation sont supérieurs à 0,99 ce qui représente une bonne linéarité selon la loi de Beer-Lambert. Cela nous indique que la méthode de dosage du diclofenac de sodium par spectrométrie Uv/Visible est convenable adéquate pour notre étude.

III.3.2 Matrice polymérique

Les deux biopolymères utilisés, à savoir l'alginate de sodium (ALG) et la gomme de xanthane (XS), ont été caractérisé en mésurant leur pH et leur viscosité afin de déterminer les différentes conditions opératoires adéquates pour réaliser ce travail.

III.3.2.1 Alginate de sodium

- **Formule chimique :**$(C_6H_7NaO_6)_n$
- **Synonymes :**Polymannuronate sodique, calginate
- **Dénomination commerciale :**E401
- **Masse molaire :** 380 000g.mol^{-1}
- **Point de fusion :** >300 °C
- **Aspect :**poudre blanche légèrement jaunâtre, pratiquement inodore, sans goût
- **Solubilité :**Pratiquement insoluble dans l'éthanol, l'éther, le chloroforme, les solvants organiques et les solutions acides aqueuses dont le pH est inférieur à 3. En présence d'eau, il forme une solution colloïdale.

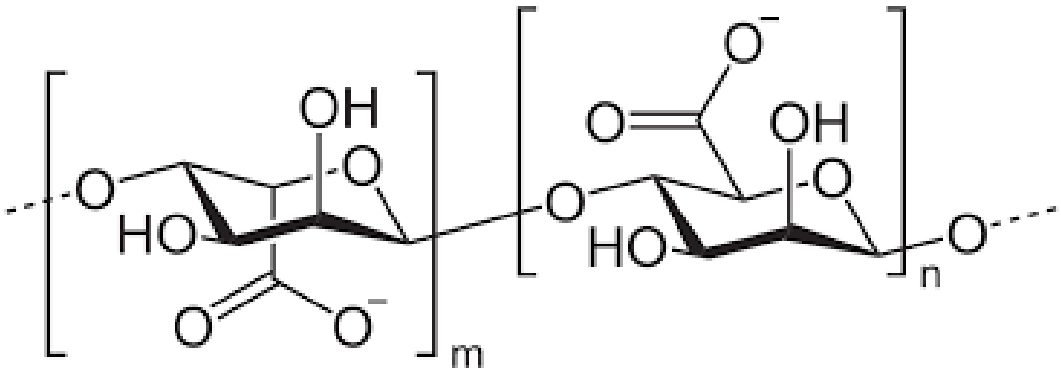


Figure III-5 : Structure chimique de l'Alginate de sodium(ALG)

III.3.2.2 Gomme de xanthane

- **Formule :** $(C_{35}H_{49}O_{29})_n$.
- **Dénomination commerciale :** E415
- **Masse molaire :** 10^6 g.mol^{-1}

- **Aspect :** Polyoside anionique se présentant sous forme de poudre blanche à blanc-jaune d'odeur caractéristique.
- **Solubilité :** Soluble dans l'eau (donnant une solution fortement visqueuse, pratiquement insoluble dans les solvants organiques).

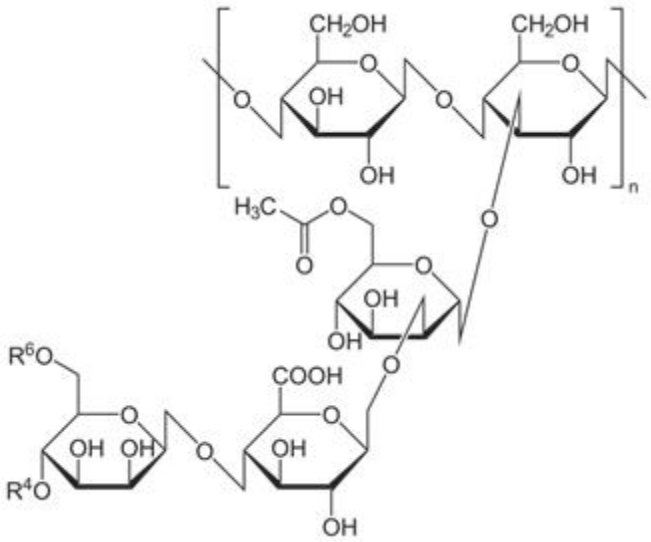


Figure III-6 : Structure chimique de la gomme xanthane (XS)

➢ **Viscosité :**

La viscosité est un des principaux paramètres mesurés lors de l'étude de l'écoulement de fluides. La viscosité intrinsèque d'un polymère est liée à sa masse moléculaire, Ce lientraduit la résistance plus grande opposée à l'écoulementdu solvant lorsque les macromolécules ont un haut poids moléculaire.

Durant ce travail, la viscosité des solutions d'alginate dans du NaCl à 0,1M à différentes concentrations (allant de 0,5% (p/v) à 3% (p/v)) a été mesurée en utilisant un viscsimètre rotatif (Figure III-7), de tige SP3à température ambiante, à unevitesse de cisaillement de 50 $tr.min^{-1}$.



Figure III-7 : Viscosimètre rotatif (Bohlin Visco)

Les résultats de la viscosité obtenus sont présentés sur la figure suivante (**Figure III-8**):

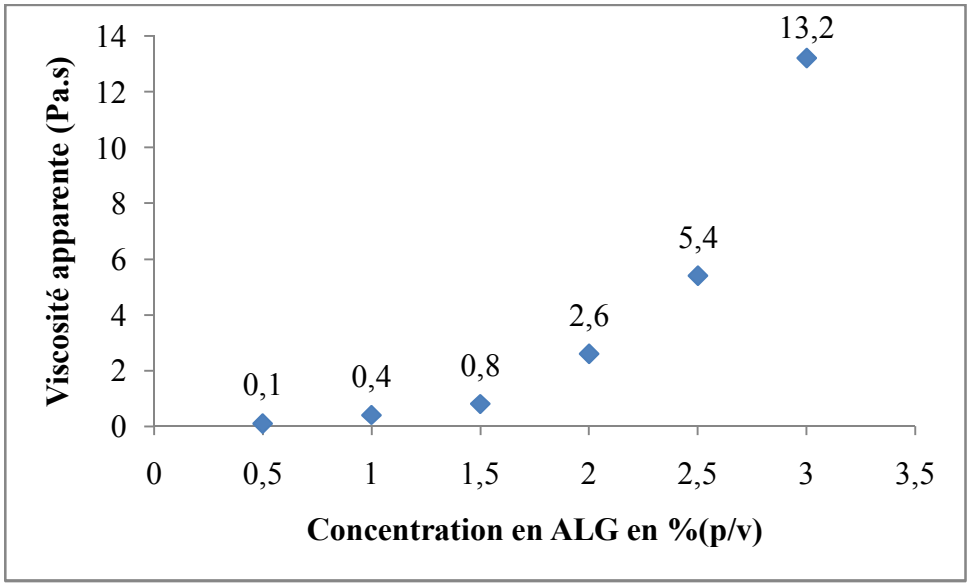


Figure III-8 : Viscosité apparente en fonction de la concentration en ALG, dans du NaCl à 0,1M.

La Figure III-8 présente la variation de la viscosité apparente en fonction de la concentration d'ALG. Nous pouvons remarqué une légère augmentation de la viscosité jusqu'à une concentration d'ALG de 2%, au-delà de cette concentration, l'augmentation de la viscosité devient beaucoup plus prononcée et les solutions d'ALG deviennet très visqueuses. C'est la raison pour laquelle, nous avons limité l'utilisation de l'ALG à des concentrations allant de 0,5% (p/v) à 2% (p/v) car l'extrusion de la solution d'ALG à des concentrions supérieure à 2% à travers la seringue pour former les capsules devient impossible.

Les memes résultats ont été observés dans le cas de la gomme de xanthane **Figure III-9**, ce qui nous a coduit à limiter aussi la concentration en xanthane à 2%.

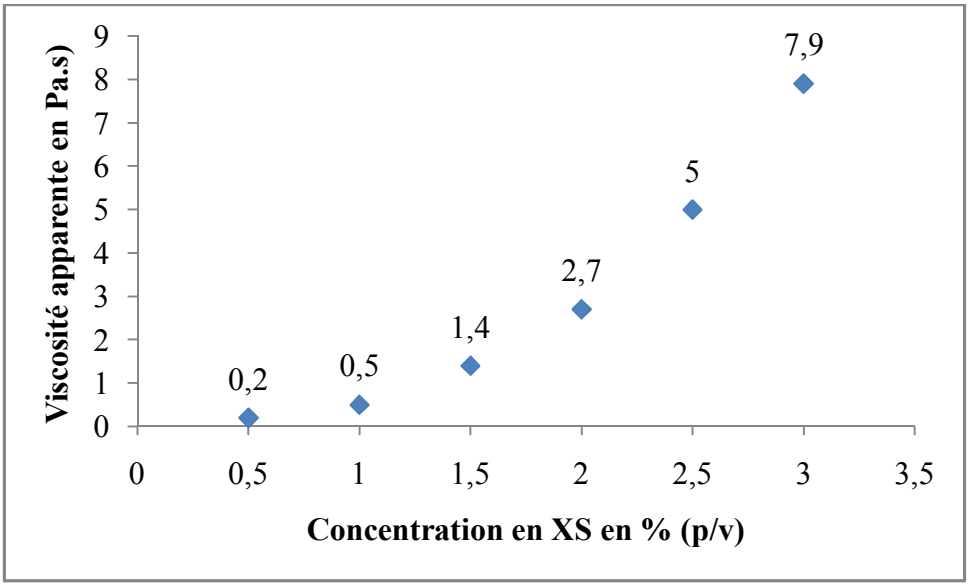


Figure III-9 : Viscosité apparente en fonction de la concentration en XS, dans du NaCl à 0,1M.

- **Détermination du pH**

La mesure du pH est nécessaire, car il peut avoir des conséquences, soit sur l'aspect technologique, soit sur l'aspect thérapeutique.

En effet, il peut avoir une influence sur la stabilité physique d'un principe actif, ou modifier les caractéristiques rhéologiques, ou être responsable d'une incompatibilité entre excipients et substances médicamenteuses.

La mesure du pH des solutions d'ALG et XS dans du NaCl à 0,1M à différentes concentrations (allant de 0,5% (p/v) à 3% (p/v)) est réalisée à température ambiante. Le pH est mesurée à l'aide d'un pH mètre (Sartorius), en suivant le protocole suivant :

- Etalonnage de l'appareil

1. Ajuster le potentiomètre température pour qu'il indique la valeur de la température ambiante.
2. Plonger la sonde dans une solution de référence (solution tampon) de pH 7 et on règlera, à l'aide du potentiomètre tarage, l'affichage digital pour que celui-ci indique 7,00.
3. Plonger ensuite la sonde dans une solution tampon de pH 4 (si on travaille en milieu acide) ou 9 (si on travaille en milieu basique) et règler, à l'aide du potentiomètre échelle, l'affichage digitale pour qu'il indique 4,00 (ou 9,00).

- Mesure du pH d'une solution

La sonde est toujours conservée dans une solution de KCl saturée. Si elle ne sert pas, la remettre à tremper dans de l'eau distillée Remarque : Les pH-mètres donne une valeur de pH à 0,05 près, on donnera alors le résultat de la mesure avec deux chiffres significatifs (ex : pH = 5,20). Sonde du pH-mètre contenant deux électrodes Un pH-mètre est muni d'un boîtier relié à une sonde. Le boîtier est un millivoltmètre qui mesure une tension entre les deux électrodes de la sonde, qui sera convertie en pH par un calculateur. Cette tension est due à un échange limité entre les ions sodium du verre de l'électrode et les ions H_3O^+ de la solution.

1. Rincer toujours la sonde à l'aide d'eau distillée, puis l'essuier. Pour une bonne mesure de pH, la solution devra être agité à l'aide d'un agitateur magnétique (assure l'homogénéité de la solution)
2. Plonger la sonde dans la solution
3. Lire la valeur du pH (faire attention à ce que l'agitateur magnétique de touche pas les électrodes, fragiles).
4. Rincer et essuier la sonde tout en mettant l'appareil en position repos.

Les résultats de pH obtenus pour les solutions d'ALG sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau III-5 :Résultats des mesures du pH des solutions d'ALG

ConcentrationenALG en % (p/v)	0,5	1	1,5	2	2,5	3
pH	7,57	7,79	7,93	8,00	8,13	8,5

Les resultats montre que le pH d'alginate de sodium varie entre 7,5 et 8,5 avec une légère augmentation en augmentant la concentration en polymère.

Les résultats de pH obtenus pour les solutions de XS sont présentés dans le tableau suivant :

Concentration en ALG en % (p/v)	0,25	0,5	0,75	1	1,25	1,5
pH	5,79	5,73	5,71	5,69	5,66	5,64

On remarque, d'après les résultats obtenus que les valeurs de pH des solutions sont autour de 5,7 quelque soit la concentration en XS dans la solution.

➢ **Identification FTIR**

Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la gamme de nombres d'onde comprise entre 400 et 4000 cm^{-1}, avec une résolution de 8 cm^{-1} et un nombre de scans égal à 128.Les résultats sont donnés par les Figure III-10 et **Figure III-11**.

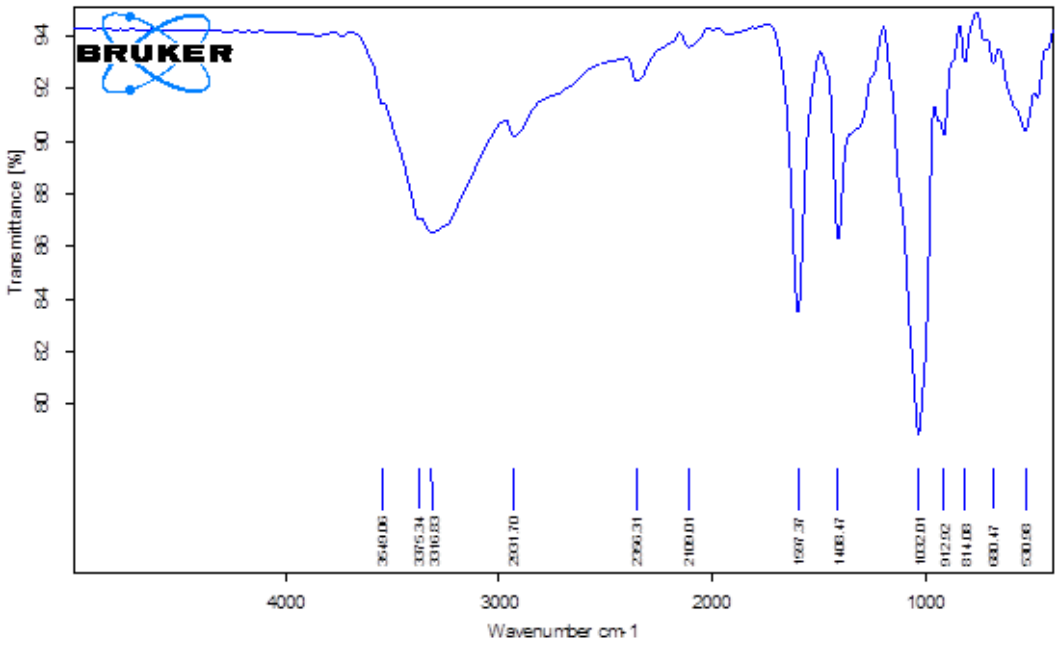


Figure III-10 : Spectre FTIR de l'Alginate de sodium (ALG)

L'analyse de la Figure III-10 représente les caractéristiques de base d'ALG. Les principaux pics distinctifs sont les suivants :

- La bonde à 3421,63 cm^{-1} due à la vibration d'élongation du groupe –OH ;
- Les deux bandes à 1610,61 cm^{-1} et 1419,66 cm^{-1} sont spécifiques des vibrations d'élongation du groupement –COOH. L'une est la vibration d'élongation symétrique (1419,66 cm^{-1}), l'autre la vibration d'élongation asymétrique (1610,61cm^{-1}) ;
- Les bandes à 1095,60 cm^{-1} et 1028,09 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'élongation du groupement –C-O des acides uroniques G et M.

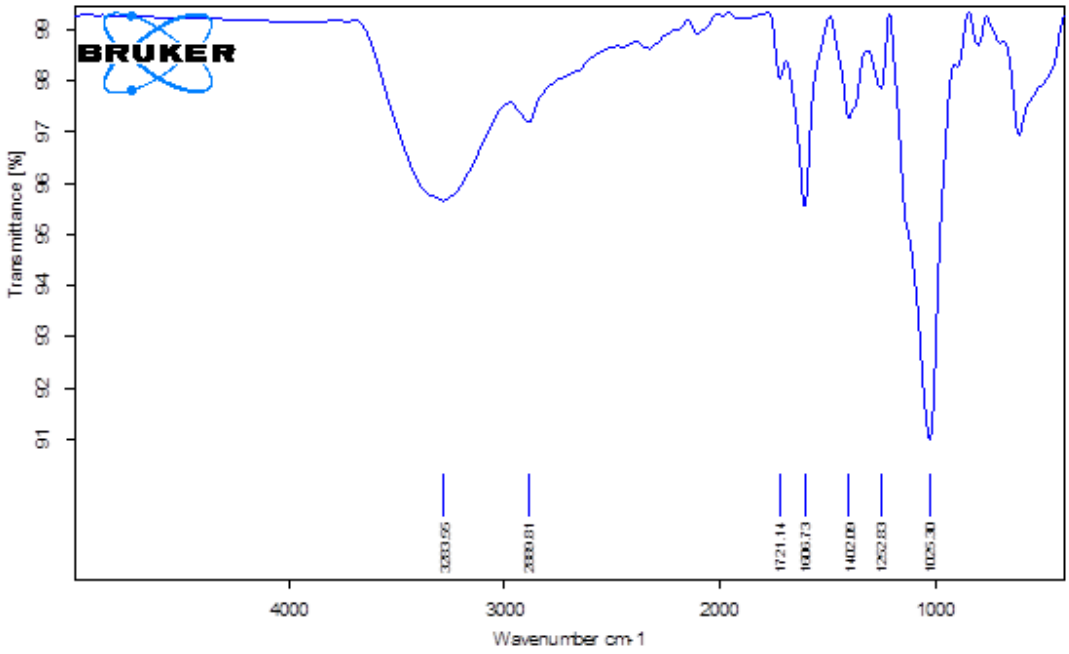


Figure III-11 : Spectre FTIR de la gomme de xanthane (XS)

L'analyse de la Figure III-11représente les caractéristiques de base du XS. Les principaux pics distinctifs sont les suivants :

Dans le spectre de GX native, des bandes caractéristiques d'absorption sont observés à 1062,81, 1411.94, 1629,9 et 1732.13 cm^{-1} correspondant respectivement à l'élongation de la fonction éther C-O-C, les liaisons C-H des groupements méthyle, et les vibrations asymétrique de COO^- et élongations des CO des esters d'alkyle. Le pic caractéristique à 3464.27 cm-1 est attribué à l'élongation des groupements hydroxyles OH.

III.4 Formulation des capsules

Cette technique consiste à enfermer des molécules d'interet dans une capsule dont la paroi estune membrane semi-perméable ou dans une matrice présentant des cavités nombreuses danslesquelles se retrouvent ces molécules.

Dans la première partie, nous avons d'abord déterminé le taux de principe actifencapsulé dans lesbilles d'alginate de calcium. Cela a été réalisé par une technique de dosage UV/Vis.

Nous avons ensuite réalisé une étude de libération de DS. Pour suivre la cinétique de libération, nous utiliserons la méthode du dissolutest à differents pH à

savoir pH 1,2 qui représente le milieu gastrique et le pH 7,4 celui du milieu intestinale.

III.4.1 Principe de la formulation des capsules

III.4.1.1 Principe de la formulation des capsules à base de melange (ALG et XS) .

Le principe consiste à faire tomber goutte à goutte la solution polymérique d'ALG et XS dans un bain ou est réalisée la gélification des gouttes, comme un exemple (Une solution de (50% à 50%)) de ALG et XS est mélangée au principe actif (DS) à encapsuler, le mélange ainsi obtenu est extrudé goutte à goutte dans le milieu gélifiant qui sera unesolution de$CaCl_2$ à 0,2Mauquel on ajoute du NaCl à une concentration de 0,1M.Pour assurer une bonne gélification, les capsules obtenues ont été maintenues dans la solutioncalcique pendant 1h à température ambiante sous une agitation lente et constante, puis filtrés et lavés avec de l'eau distillée et enfin laissés sécher à l'air libre. En générale, les capsules formés sont sphériques et de taille homogène.

III.4.1.2 Mode opératoire

1. Peser une masse de polymère sur une balance analytique de précision et la faire dissoudre dans 50mL NaCl à 0,1Mafin d'obtenir des concentrations en biopolymère allant de 1% de la gomme Xanthane (XS) et 2% d'alginate de Sodium.
2. Le taux des différents polymères utilisée pour la formation des billes seront comme suite :

Formulation	F1	F2	F3	F4	F5
Alg (%)	100	75	50	25	0
XS (%)	0	25	50	75	100

- Mettre le mélange sous agitation magnétique à 500 $tr.min^{-1}$jusqu'à dissolution complète du bio polymère.
- Introduire 0,5g de DS dans le mélange de biopolymère sous agitation magnétiqueà 500 $tr.min^{-1}$à température ambiante pendant 1 heure.
- Remplir une seringue de 10mL par la solution de biopolymère.

- Faire passer la solution précédente goutte à goutte à travers l'orifice d'une seringue de diamètre 0,8mm à une distance de 5cm d'un cristallisoir contenant une solution 2% M de $CaCl_2$auquel on ajoute du NaCl à 0,1M magnètique à 100tr.min^{-1} pendant 1heures .
- Les capsules formées sont recueillies directement dans un cristallisoir .
- Filtrer les capsules formées sur papier filtre Wattman (0,45µm).
- Laver les capsules à l'eau distillée trois fois afin d'éliminer les résidus de sels de la surface.
- Des capsules sont préparées à blanc (sans DS) en parallèle pour compléter la caractérisation.
- Laisser sécher les capsules à l'air libre pendant 24h.

III.5 Caractérisation physicochimique des capsules

III.5.1 Morphologie des capsules obtenues

Les capsules obtenues sont présentées dans la figure suivante (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**):

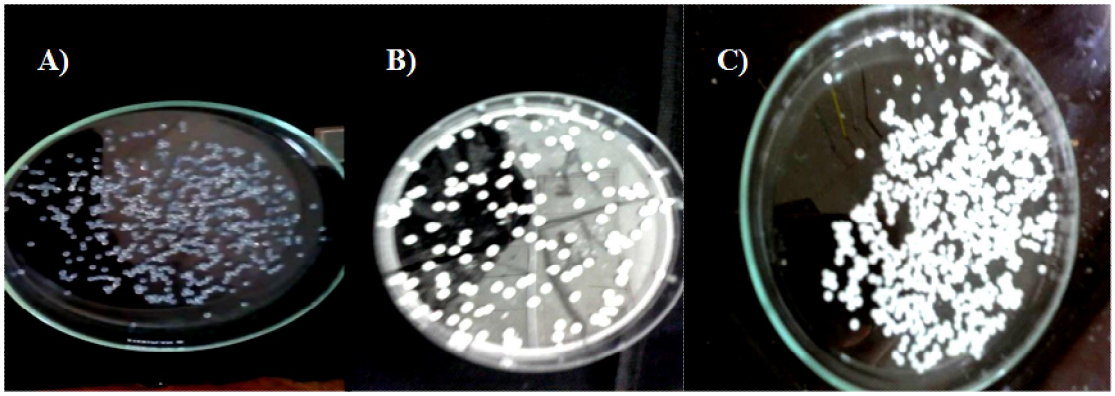


Figure III-12 : Formes et aspect des capsules formulés avec A) F1, B) F2, C) F3

Les capsules obtenues montrent une forme sphérique et homogène mais avec un aspect translucide pour la F1 et blanc dans le cas de F2 et F3. Nous n'avons pas obtenu de billes dans le cas de F4 et F5. En effet, les formules ont présenté une gélification instantanée par le $CaCl_2$ mais les capsules obtenues se dissous après quelques minutes. Ces dernières ont été exclues de notre étude.

III.5.2 Etude granulométrique

La taille des capsules obtenues est mesurée par un micromètre digital ayant une précision de 0,001mm (Figure III-13).

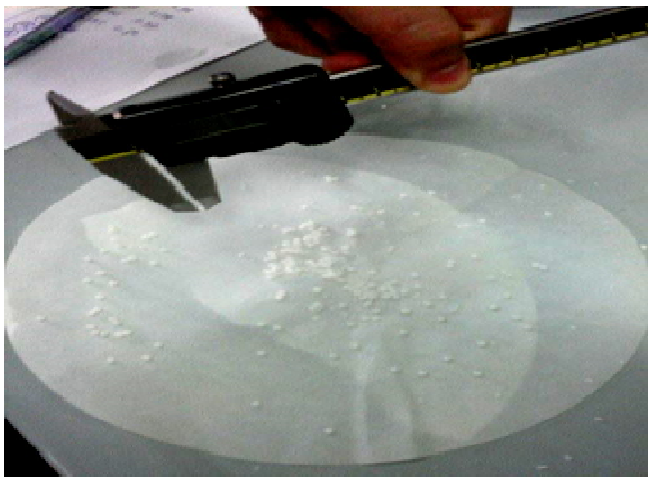


Figure III-13 : Mesure de la taille des capsules par un pied à coulisse digital

La mesure de taille de trois (03) series de capsules contenant 20 capsules choisies aux hazard à chaque analyse a ét réalisée. La moyenne et le coéfficient de variation des trois formules (F1, F2 et F3) obtenus, suite à une analyse statistique, sont présentés dans le tableau suivant (Tableau III-6) :

Tableau III-6 : Taille des capsules obtenues avant et après séchage des différentes formules

Avant séchage			
Formulation	**F1**	**F2**	**F3**
Moyenne (mm)	1,95	1,63	1,47
CV%	5,32	7,75	6,45
Après séchage			
Formulation	**F1**	**F2**	**F3**
Moyenne (mm)	0,69	0,61	0,52
CV%	9,56	9,23	6,55

Selon les resultats présentés nous pouvons remarquer que la taille des capsules formées varie selon les proportions des deux biopolymères (ALG, XS) dans le milieu. En effet, après formation, le diamètre des capsules est à 1,95 mm pour la formule F1 (100%ALG) et qui diminue à 1,47 mm pour la formule F3 (50%ALG+50%XS). La taille des capsules obtenues est donc proportionnelle à la concentration d'ALG dans le milieu. Ce phènomène peut etre expliqué par le fait que la pH du milieu est supérieur à la pKa de l'alginate qui est autour de 3,5, et les fonctions carboxyliques sur la chaine du polymère sont en forme ionique ($-COO^-$) ce qui entraine une répulsion

statique des chaines, et en augmentant la concentration de l'alginate ce phénomène est accentué en provoquent l'augmentation de la taille des billes.

Après séchage, les capsules deviennent plus petites et leurs formes est réduite avec des diamètres allant de 0,69mm pour la formule F1 (100%ALG) à 0,52mm pour la formule F3 (50%ALG+50%XS).

L'analyse statistique des données montre une variation plus ou moins uniforme de la dimension des capsules traduite par des résultats reproductible, illustré par un coefficient de variation faible qui est inférieur à 10%.

III.5.3 Cinétique de gonflement des capsules

L'étude du gonflement permet d'établir la cinétique de pénétration du milieu de dissolution dans les capsules. Cette étude permet d'établir son taux d'absorption et son augmentation de volume au cours du temps. La technique d'analyse de la cinétique de gonflement est basée sur la gravimétrie. Cette méthode consiste à mesurer la quantité de liquide absorbée par les capsules en fonction du temps jusqu'à l'équilibre. Les capsules sont pesées puis placées dans le milieu de dissolution étudié. Deux milieux de dissolution sont testés :

- Milieu 1 : solution tampon pH1,2 ;
- Milieu 2 : solution tampon pH7,4.

❖ **Mode opératoire**

- Peser environ 50mg de capsules sèche sur une balance analytique de précision.
- Incorporer les capsules soigneusement dans 25ml du milieu de dissolution.
- A des intervalles de temps réguliers, les capsules sont retirées du milieu de dissolution, posés sur du papier absorbant pour enlever l'excès de liquide,
- Peser les capsules obtenues à l'aide d'une balance analytique de précision.

Les taux de gonflement sont calculés par la formule suivante :

$$\textbf{Taux de gonflement}\ (\%) = \frac{\mathbf{m_g - m_i}}{\mathbf{m_i}} \times \mathbf{100} \qquad (\mathbf{III.3})$$

Où m_i est la masse des capsules à l'état initial (au temps t_0) et, m_g est la masse des capsules à l'état gonflé (au temps t).

Les résultats obtenus du gonflement des capsules dans les différents milieux de dissolutions sont illustrés dans les figures **Erreur ! Source du renvoi introuvable.Erreur ! Source du renvoi introuvable.** :

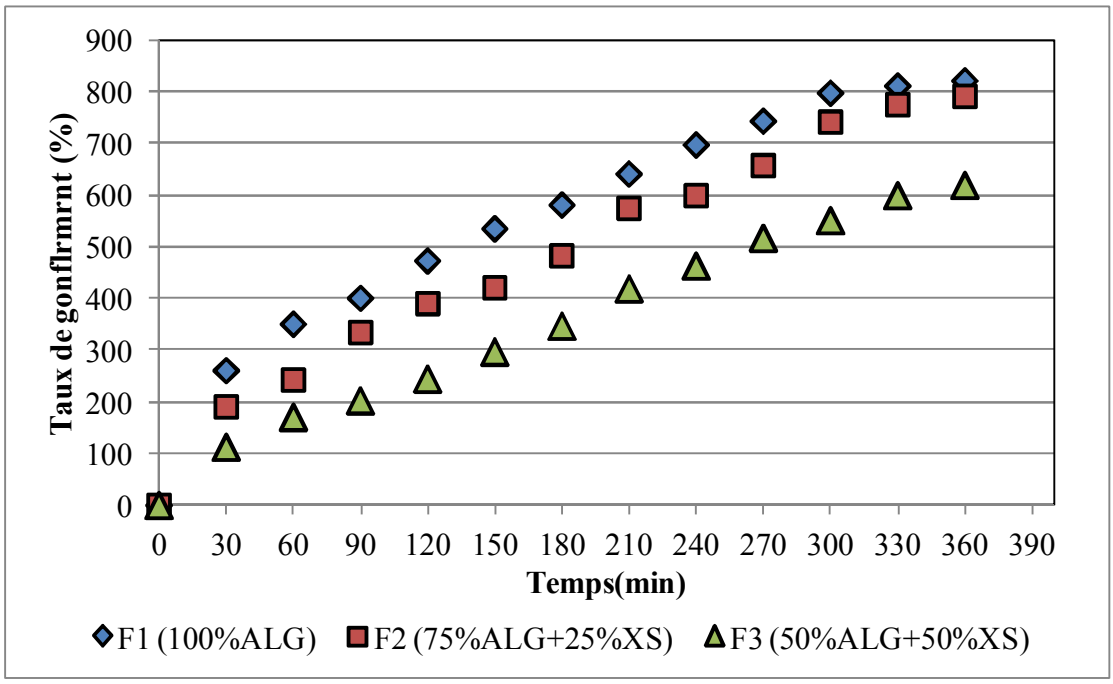


Figure III-14 : Evolution de taux de gonflement des capsules en fonction du temps à pH7,4.

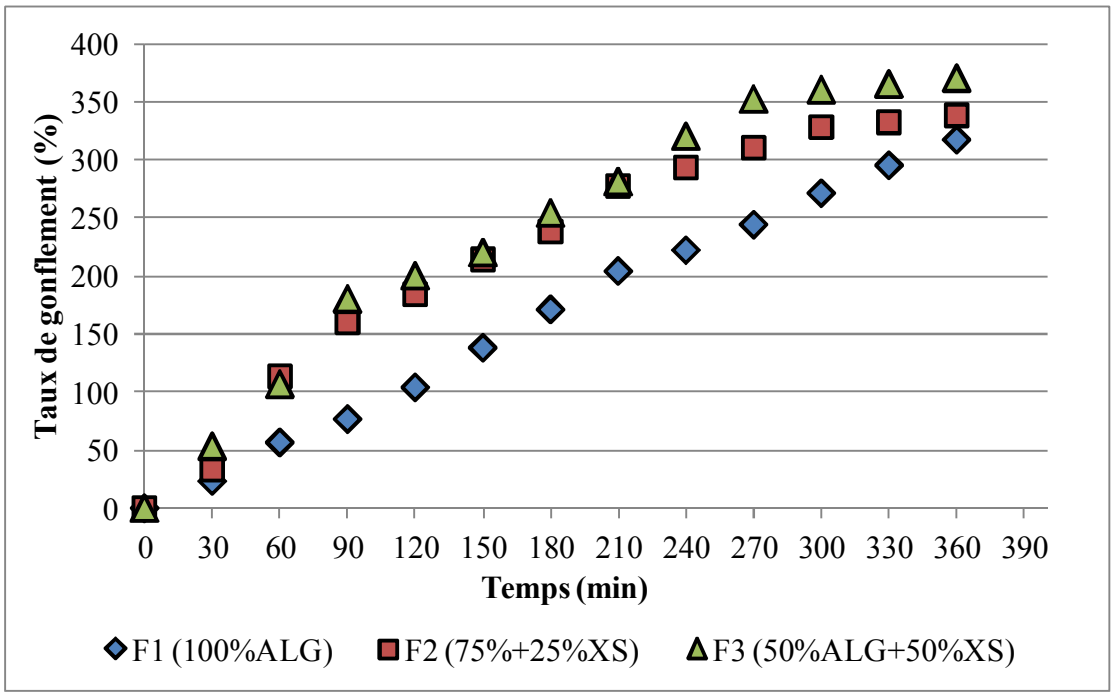


Figure III-15 : Evolution de taux de gonflement des capsules en fonction du temps à pH1,2.

Dans un premier temps, nous avons analysé nos résultats du taux de gonflement des différentes formules étudiées dans les deux milieux de dissolutions en fonction du temps. L'évolution générale du taux de gonflement montre une augmentation progressive en fonction du temps, quelque soit les proportions des biopolymères utilisés, mais à des vitesses bien différentes.

A pH 7,4, l'augmentation du taux de gonflement est très rapide pour le cas de la formule F1 avec un taux de 810% à 6heures, alors qu'elle est à 618% pour le cas de la formule F3. La Figure III-14est une bonne illustration aux commentaires de la partie **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**), où nous pouvons constater qu'en augmentant la concentration d'alginate dans le milieu nous augmentons avec le taux de charge négative issue des fonctions ($-COO^-$), ce qui entraine une répulsion électrostatique des chaines et donc un gonflement du réseau matriciel. Par contre, l'ajout du xanthane dans le milieu entraine un ralentissement du gonflement qui est due à sa taille très importante qui empêche les chaines d'ALG de s'étaler librement.

Dans le milieu pH 1,2 (Figure III-15), les taux de gonflement des capsules sont moins importants par rapport au milieu pH 7,4 quelque soit la formule étudiée. En effet, le taux de gonflement varie de 370% pour la formule F1 (100%ALG) et 317% pour la formule F3 (50%ALG+50%XS).

Le ralentissement de la cinétique de gonflement peut être expliqué par le fait que les groupements carboxyliques sont sous forme non dissociée (-COOH) à pH 1,2, ceci diminue donc nettement la répulsion électrostatique due à la neutralisation des charges et conduit à un rapprochement des chaines.

La **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** montre les taux de gonflement finaux des capsules dans les deux milieux de dissolution étudiés.

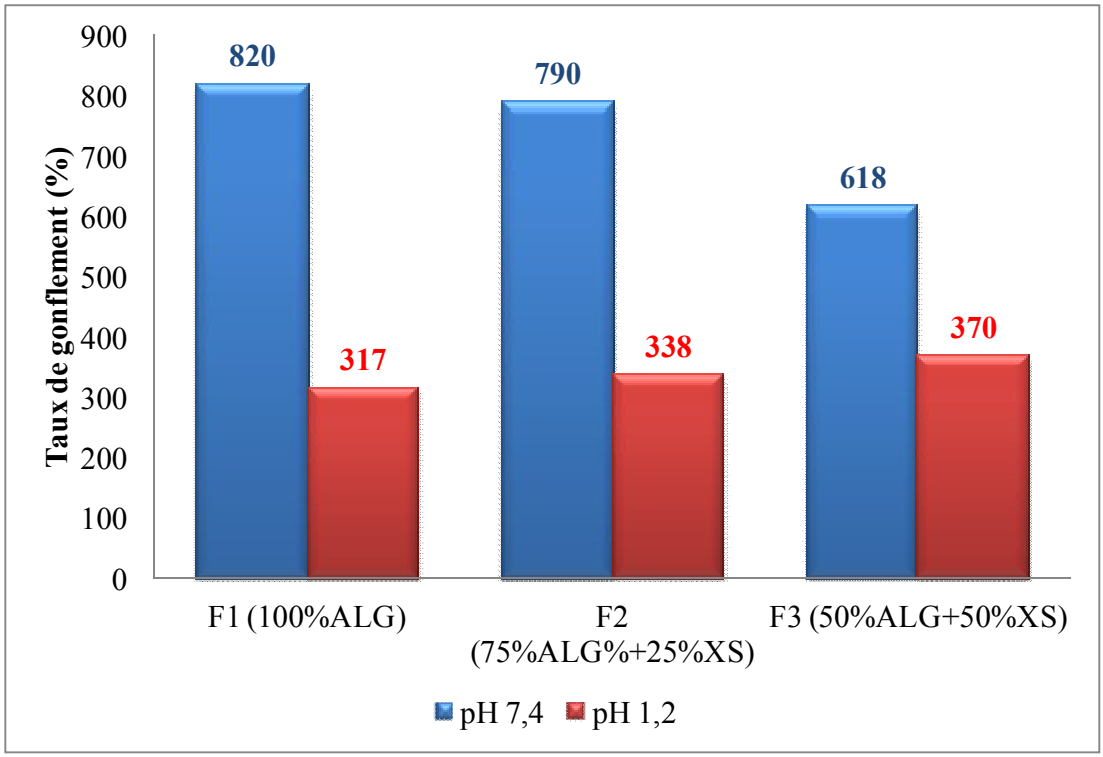


Figure III-16 : Taux de gonflement finaux des capsules.

III.5.4 Taux d'encapsulation

La quantité de principe actif (DS) introduite dans les capsules est calculée par dosage spectrophotométrie UV-Vis.

❖ **Mode opératoire**

- Peser précisément 100mg de capsules sur une balance analytique de précision.
- Disperser les capsules dans 100mL de solution tampon pH7,4, sous agitation magnétique à 1000tr.min^{-1} pendant quatre heures.
- Filtrer la solution obtenue sur filtre en papier Whatman®.

- La solution filtrée est analysée par spectrophotométrie UV-VIS à une longueur d'onde de 276nm.

Le taux d'encapsulation est calculée par la formule (III.4):

$$\textbf{Taux d'encapsulation} = \frac{\textit{Quantité de principe actif dosé aprés encapsulation}}{\textit{Quantité de principe actif réellement encapsulée}} \; \boldsymbol{X\ 100} \quad \textbf{(III. 4)}$$

La **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** présente les résultats obtenus du taux d'encapsulation du principe actif (DS) dans les différentes capsules obtenues par les différentes formules F1, F2 et F3.

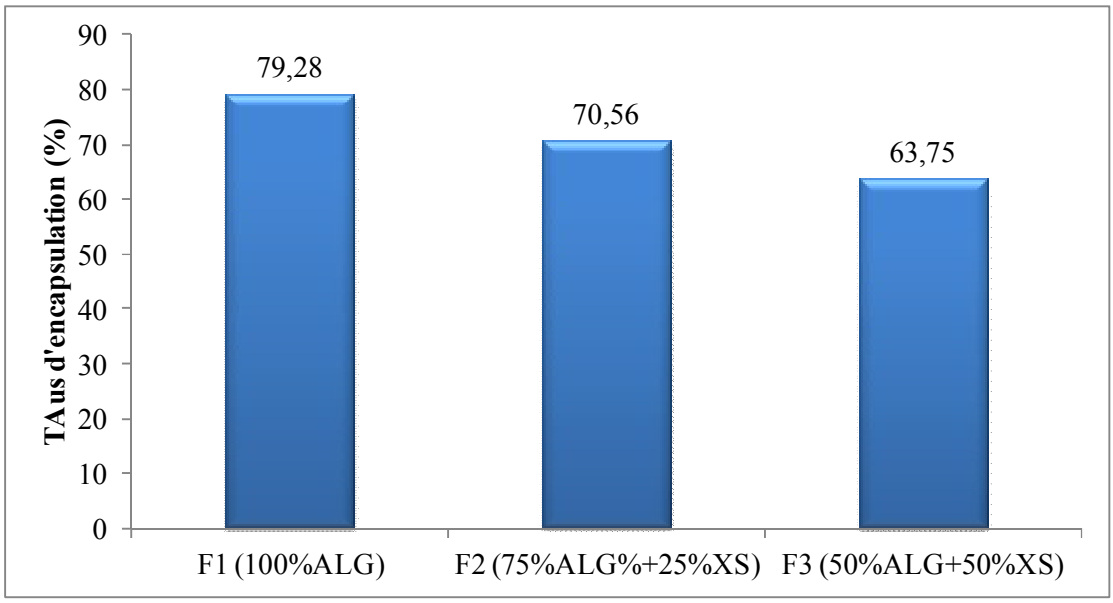


Figure III-17 : Taux d'encapsulation du DS dans les capsules

Nous pouvons constater que le taux d'encapsulation du principe actif varie entre 79,28% et 63,75% selon les formules étudiées. L'augmentation du taux d'encapsulation augmente avec la proportion d'ALG dans le milieu. Effectivement, pour la formule F1 avec 100% d'ALG présente le meilleur taux d'encapsulation qui est de 79,28%, il est à 70,56% pour la formule F2 avec 75%ALG+25%XS et atteint 63,75% pour la formule F3 avec 50%ALG+50%XS. En effet,la méthode de gélification par diffusion consiste à permettre au réticulant (Ca^{2+}) de diffuser du milieu de formation vers l'intérieur de la solution d'alginate. lorsque les ions calcium diffusent au sein de lagoutte de solution d'alginate de sodium, le pontage rapide du (Ca^{2+})entraine une cinétique de gélification rapide des capsules empêchant le principe actif de ressortir et d'être expulser vers le milieu extérieur. Les faibles concentrations en ALG conduisent à la formation de capsules dont la membrane est beaucoup plus

fine et donc la présence de pores à la surface permettent la libération précoce du DS et donc un taux d'encapsulation plus faible.

III.5.5 Libération du principe actif à partir des capsules

L'étude de la libération est destinée à déterminer la vitesse de dissolution des principes actifs à partir des formes pharmaceutiques répondant aux normes de la pharmacopée [54].

Les informations suivantes sont données pour chaque préparation qui est soumise à l'essai de dissolution in vitro :

- L'appareil à utiliser,
- La composition, le volume et la température du milieu de dissolution,
- La vitesse de rotation ou le débit du milieu de dissolution,
- L'intervalle de temps, la méthode et le volume d'échantillonnage de la solution à examiner ou les conditions d'enregistrement continu,
- La méthode d'analyse,
- La ou les quantités de principes actifs qui doivent se dissoudre dans un intervalle de temps prescrit.

Le choix de l'appareillage est déterminé par les caractéristiques physicochimiques de la forme pharmaceutique. On optera pour l'appareil à panier pour la réalisation de nos essais, étant donné qu'il offre une meilleure libération du principe actif lors de sa diffusion à partir des capsules et ce dans toutes les directions.

Toutes les parties de l'appareil qui peuvent entrer en contact avec l'échantillon ou avec le milieu de dissolution sont chimiquement inertes et n'adsorbent pas la substance à examiner, ne réagissent pas en sa présence et n'influencent pas son comportement.

Toutes les parties métalliques de l'appareil qui peuvent entrer en contact avec l'échantillon ou avec la solution de dissolution doivent être en acier inoxydable approprié ou recouvertes d'un matériau approprié pour garantir que de telles parties ne causent pas de réaction et n'influencent pas l'échantillon ou la solution de dissolution.

Aucun élément de l'appareil ni de l'assemblage dans lequel il est placé n'exerce de mouvement d'agitation ou de vibration important autre que celui de l'élément de rotation à faible régime.

Il est préférable d'utiliser un appareil en verre qui permette l'observation de la préparation à examiner et de l'élément d'agitation pendant l'essai.

Ce test permet d'obtenir les profils de dissolution traduisant la quantité de principe actif libérée en fonction du temps.

❖ ***Mode opératoire***

- Introduire dans le récipient du test de dissolution le volume de 900ml dumilieu de dissolution étudié (Solution tampon pH1,2 ou Solution tampon pH7,4) ;
- Equilibrez l'appareil Dissolutest à la température 37±0,5°C ;
- Introduire 100mg de capsules dans le dispositif à panier muni d'agitateur ;
- Mettre l'appareil en marche à 50 $tr.min^{-1}$ pendant 8heures ;
- Procédez à des prélèvements de 10 mL d'échantillons à des intervalles de temps régulier ;
- Effectuer le dosage sur chacun des échantillons prélevés, par spectroscopie UV-VIS à 276nm;
- La dissolution des capsules est réalisée pendant un temps de 07 heures dans le milieu de dissolution pH1,2 (milieu gastrique), et pendant 08 heures dans le milieu de dissolution pH7,4 (milieu intestinale).

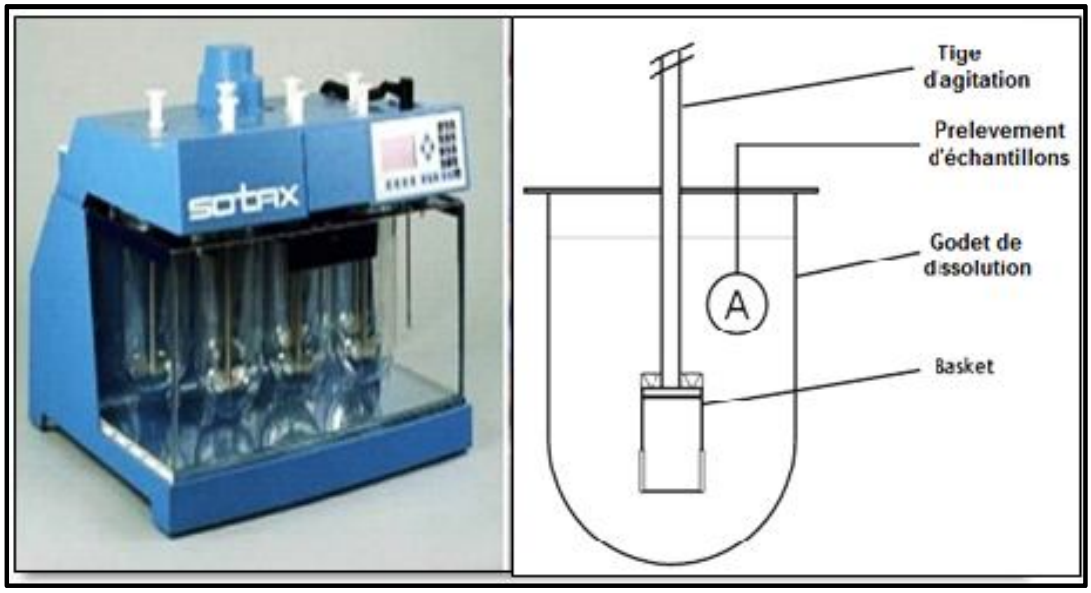


Figure III-18 : Test de dissolution SOTAX.

A pH 1,2 (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**), les résultats montrent bien une augmentation des taux de libération du principe actif en fonction du temps avec un profil non linéaire.

La vitesse de libération dans ce milieu augmente en augmentant la concentration d'ALG dans le milieu. Effectivement, Le taux de libération du DS est plus important dans la formule F1 (100%ALG) avec un taux de 39,8% et qui diminue à 37% et 25% pour les formules F2 (50%ALG+50%XS) et F (50%ALG+50%XS) respectivement. Cela est due à la neutralisation des charges le long des chaines de polymère spécialement celles d'alginate qui forme le réseau hydrogel réticulé et qui contrôle la libération du principe actif, la neutralisation des chaines conduit au rapprochement des chaines et libère le principe actif par synérèse.

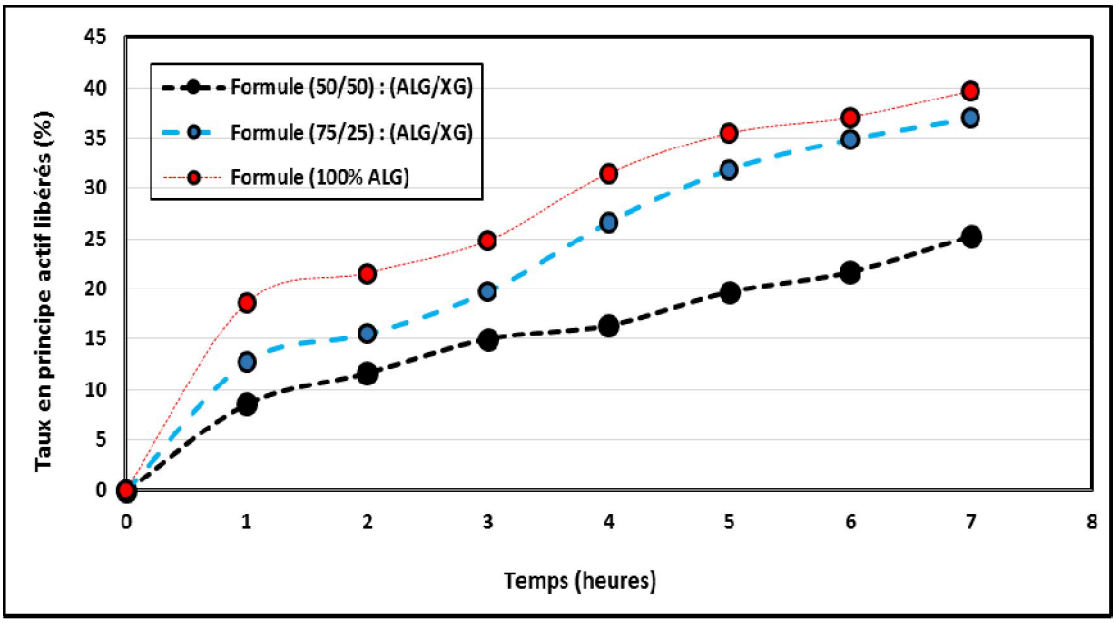


Figure III-19 : Cinetique de libération du DS à pH1,2

A pH 7,4 (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**), Les profils montrent une augmentation du taux de libération du DS en fonction du temps quelque soit la formule de capsules étudiée.

Nous pouvons remarquer que la meilleure libération du principe actif (DS) est attribuée à la formule F1 (100%ALG) avec une libération totale c.-à-d. 100%, par rapport aux F2 et F3 qui donnent un taux de libération de 95% et 83% respectivement.

Nous pouvons donc constater que plus la concentration d'ALG est élevée la libération est meilleure. Cela peut être expliqué par le fait que le gel d'alginate de calcium gonfle à pH 7,4 entrainant une libération progressive du principe actif. Quant aux formules F2 et F3 les chaines de xanthane participent à ralentir cette diffusion due à leur taille importante.

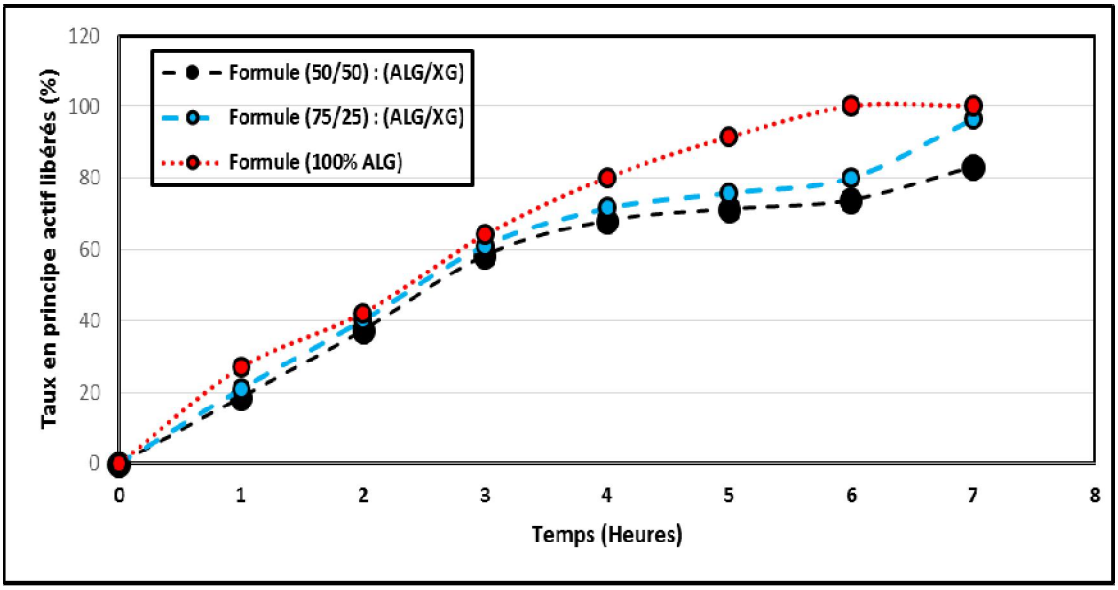


Figure III-20 : Cinetique de libération du DS à pH7,4

III.6 Conclusion

Durant ce travail, nous avons commencé par la caractérisation du diclofenac de sodium (DS) et des biopolymères utilisés (à savoir l'alginate de sodium (ALG) et la gomme de xanthane (XS)). Cela a été mené par différentes méthodes physicochimiques (FTIR, UV-Vis, viscosimètre…).

Le diclofenac de sodium (DS) a été séquestré dans des capsules obtenues par la méthode de gélification par diffusion. En effet, nous avons réussi à obtenir des capsules de tailles macrométriques qui varient en fonction des proportions des deux biopolymères dans le milieu.

Le taux d'encapsulation varie entre 79,28% et 63,75% selon les différentes formules étudiées. L'augmentation du taux d'encapsulation est proportionnelle à la proportion d'ALG dans le milieu.

L'étude de la libération du principe actif dans deux milieux différents, le mileu gastrique à pH 1,2 et le milieu intestinal à pH 7,4, a été réalisée par la méthode de dissolution répondant aux normes de la pharmacopée [54].

A pH 1,2, le taux de libération du DS est maximum pour la formule F1 (100%ALG) avec un taux de 39,8%. La vitesse de libération dans ce milieu augmente en augmentant la concentration d'ALG dans le milieu due à la neutralisation des charges qui conduit à la libération du DS par synérèse. Quant au pH 7,4, la meilleure libération du principe actif (DS) est attribuée à la formule F1 (100%ALG) avec une

libération totale c.-à-d. 100%. Donc, plus la concentration d'ALG est élevée la libération est meilleure.

Conclusion générale

Conclusion générale

L'encapsulation du principe actif est en effet un moyen bien connu pour le protéger du milieu environnant mais aussi de contrôler sa libération dans les différents milieux biologiques.

Tout au long de notre travail, nous nous sommes fixés l'objectif d'étudier la libération du Diclofenac de sodium encapsulé dans des matrices hydrogels obtenues par la gélification ionotropique d'un mélange de deux biopolymères : l'alginate de sodium (ALG) et la gomme de xanthane (XS). Le choix ces deux polysaccharides est justifié par le fait que l'ALG forme facilement deshydrogelsen présence d'ions divalents comme Ca^{2+} et pour lui apporter de nouvelles propriétéson a ajouté le xanthane qui est connu pour son poids moléculaires très important et sa conformation de chaine très complexe.

Dans cette étude, nous avons commencé par l'identification du DS et des différents polymères utilisés (ALG et XS) en utilisant des méthodes physico-chimiques telles que l'UV-Vis, FTIR, viscosimètre…

Nous avons formé des capsules par la méthode du "dropping" en utilisant des solutions d'ALG et de XS à des proportions différentes, additionnées de DS et commemilieu complexant du $CaCl_2$qui ont à leur tour été soumises à des controles physico-chimiques et une étude de la libération du principe actif dans deux milieux différents, le mileu gastrique à pH 1,2 et le milieu intestinal à pH 7,4, a été réalisée par la méthode de dissolution répondant aux normes de la pharmacopée.

Les résultats ont montré que les particules formées sont bel et bien de taille microscopique et que les microparticules à base de 100% d'ALG présentent un taux de gonflrmrnt maximal au alentours de 800% dans le milieu intestinal.

Les taux d'encapsulation varient entre 79,28% et 63,75% selon les différentes formules étudiées et que la fraction de principe actif encapsulée est proportionnelle à la quantité d'ALG dans le mélange.

A pH 1,2, le taux de libération du DS est maximum pour la formule F1 (100%ALG) avec un taux de 40%. La vitesse de libération dans ce milieu augmente en augmentant la concentration d'ALG dans le milieu due à la neutralisation des charges qui conduit à la libération du DS par synérèse. Quant au pH 7,4, la meilleure

libération du principe actif (DS) est attribuée à la formule F1 (100%ALG) avec une libération totale c.-à-d. 100%. Donc, plus la concentration d'ALG est élevée, plus la libération est meilleure.

Ce travail est loin d'être achevé et mérite d'être soumis à des études plus approfondies surtout sur le plan physico-chimique en utilisant des techniques d'analyse performantes telles que : la DSC, la Sec-Mals, la microscopie électronique à balayage…

Références bibliographiques

[1] Durand D., Les réseaux macromoléculaires et les gels, Groupe Français des Polymères,chap 5, 1990.

[2] IsraelachviliJ. N., Intermolecular and Surface forces, Academic Press (1985).

[3] CabaneB., HemonS., Liquides: Solutions, Dispersions, Emulsions, Gels, Collection, Echelle, 2004.

[4] RodriguezR., Alvarez-LorenzoC., ConcheiroA., Cationic cellulose hydrogels:kinetics of the cross-linking process and characterization as pH - / ion-sensitive drug delivery systems,Journal of Controlled Release, 86, 253–265, 2003.

[5] Ross-MurphyS.B., Formation, structure and properties of physical networks, In: Step to,R.F.ed. Polymer networks: principles of their formation, structure and properties, Blackie Academic and professional, London, 289-315, 1998.

[6] SimonetF., GarnierC., DoublierJ.L.,Partition of proteins in the aqueous guar/dextran two- phase system.Food hydrocolloids, 14 , 591-600, 2000.

[7] VervoortS., Comportement d'hydrogels gonflés de solutions de polymères sousaction mécanique, Thèse de doctorat, Science et génie des matériaux, Ecole des Mines de Paris, 2006.

[8] Hallary J.L., Monnerie, L., Techniques physico-chimiques d'étude des mélanges de polymères. Editions GFP, Strasbourg, 1986.

[9] Xanthos M., Interfacial Agents for Multiphase Polymer Systems - Recent Advances.Polymer Engineering and Science, 28, 1392-1400, 1988.

[10] Xanthos M., DagliS.S., Compatibilization of Polymer Blends by Reactive Processin,Polymer Engineering and Science,31, 929-935, 1991.

[11] Gacesa P., Alginates. Carbohydrate Polymers, 8, 161-182, 1988.

[12] Fenoradosoa T.A., Ali G., Delattre C., Laroche C., Petit E., Wadouachi A., Michaud P.,Extraction and characterization of an alginate from the brown seaweed Sargassum turbinarioides Grunow, Journal of Applied Phycology, 22, 131-137, 2010.

[13] Haug A., Larsen B., Smisrod,O.,Uronic acid sequence in alginate from different sources.Carbohydrate Research,32, 217-225, 1974.

[14] Draget K.I.; Smidsrod O.; Skjak-Braek G.,Alginates from algae. Polysaccharides and polyamides in the food industry. Properties, production and patents, 1-30, 2005.

[15] Malmsten M.; Lindman B.,Self-Assembly in Aqueous Block Copolymer Solutions. Macromolecules,25, 5440-5445, 1992.

[16] WolnikA., Albertin L., Charlier L., Mazeau K.,Probing the helical forms of Ca2+-guluronan junction zones in alginate gels by molecular dynamics 1: Duplexes : Biopolymers,99, 562-571, 2013.

[17] Rastello De Boissesson M., Léonard M., Hubert P., Marchal P., Stequert A., Castel C.,Favre E., Dellacherie E.,Physical alginate hydrogels based on hydrophobic or dual hydrophobic/ionic interactions: Bead formation, structure, and stability. Journal of Colloid and Interface Science, 273, 131-139, 2004.

[18] Morch Y. A., Donati I., Strand B. L., Skjak-Brak G., Effect of Ca^{2+}, Ba^{2+}, and Sr^{2+} on alginate microbeads. Biomacromolecules,7, 1471-1480(2006).

[19] Jang L.K., Nguyen D., Geesey G.G., Selectivity of alginate gel for Cu over Zn when acidic conditions prevail,Water Research,33, 2817-2825,1999.

[20] Rodrigues J. R., Lagoa R.,Copper ion binding in Cu-alginate gelation. Journal ofCarbohydrate Chemistry, 25, 219-232, 2006.

[21] Zouboulis A. I., Katsoyiannis I. A., Arsenic removal using iron oxide loaded alginate beads,Industrial & Engineering Chemistry Research,41, 6149-6155, 2002.

[22] Meera G., Abraham T.,Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan a review, Journal of Controlled Release, 114, 1-14, 2006.

[23] Jansson P.-E., Kenne L., Lindberg B.,Structure of the extracellular polysaccharide from Xanthomonas campestris, Carbohydrate Research, 45, 275-282, 1975.

[24] Melton L.D., Mindt L., Rees D.A., Sanderson G.R.,Covalent structure of the extracellular polysaccharide from Xanthomonas campestris : evidence from partial hydrolysis studies, Carbohydrate Research, 46, 245-257, 1976.

[25] Sato T., Norisuye T., Fujita H., Double-stranded helix of xanthan : dimensional and hydrodynamic properties in 0,1 M aqueous NaCl, Macromolecules, 17, 2696-2700, 1984.

[26] Milas M., Rinaudo M., Conformational investigation on the bacterial polysaccharide xanthan, Carbohydrate Research, 76, 189-196, 1979.

[27] Capron I., Brigand G., Muller G., About the native and renatured conformation of xanthan exopolysaccharide, Polymer, 38, 5289-5295, 1997.

[28] Liu W., Sato T., Norisuye T., Fujita H.,Thermally induced conformational change of xanthan in 0,01 M aqueous sodium chloride, Carbohydrate Research, 160, 267-281, 1987.

[29] Capron I., Traitement thermique des moûts de fermentation et organisation moléculaire du xanthane, conséquences rhéologique, Thèse de doctorat, Rouen, 1996.

[30] Andrieux k., Desmaele D., D'angelo j., Couvreur p.,Nanotechnologie drugs. Actualité chimique, 135-139, 2003.

[31] Benoit J.P., Couvreur P., Devissagu, J.P ,Ormodulated distribution Fotms .newsystems for drug administration. Journal de pharmacie de Belgique,41, 319-329, 1986.

[32] Bangham AD., Standish MM., Watkins JC., Diffusion of univalent ions across the lamellae of swollen phospholipids,.journal of molecular biology,13:238-252, 1965.

[33] Richard J ., Benoit J.P., Microencapsulation, Techniques del' Ingenieur, J 120, 2210, 2000.

[34] Ertan I., sustained-release dosage form nitrofurantoin.part1.preparation of microcapsules and in vitro release kinetics. journal of Microencapsulation, 11,127-135, 1994.

[35]Decker E.A., welss D j.*M C*., Emulsion –based deviverysystemes for lipophileèse de doctorat de l'université de Nantes, centre IFREMER Nantes ,32, 20 bioactive compionements, 2007.

[36] Thies C.,.Ashort history of micro –encapsulation technology ,microspheres , microcapsules and liposomes ,vol .L : preparation & chemical Applications .R.Arshady (ed), citus Books , London ,47-54, 1999.

[37] Wijffels R (ed.). Immobilized Cells, Springer Lab Manual ,Springer–Verlag Berlin, 2001.

[38] Boh, B., Développements et Applications Industrielles des Microcapsules, In:Vandamme,T., Poncelet, D., Subra-Paternault, P, editors. Microencapsulation des SicencesAuxTechnologies. Paris: Lavoisier; 9-22, 2007.

[39] Poncelet, D., Christelle, D., Les Méthodes de Microencapsulation de a à Z(OuPresque),In:Vandamme T, Poncelet D, Subra-Paternault P, editors.

[40] Vandamme, T ., Poncelet , D., Subra-Paternault ,P , Microencapsulation : des SciencesAux Technologies, Paris: Éditions Tec & Doc; 200.

[41] Poncelet, D., Life Is Based on a Combinaison of Biochemistry and Bioencapsulation.Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 6, 685-686, 2007.

[42] Devassine, M., La Microencapsulation : Une Nouvelle Approche. Poncelet D., Christelle D., Les Méthodes de Microencapsulation dea à Z ,CARMA, 2005.

[43] Soper, J., Utilization of Coacervated Flavors. ACS Symposium Séries,590,104-112, (1995).

[44] Dziezak,JD., Microencapsulation and encapsulated ingrédients. Food Technology, 42, 136-153, (1988).

[45]Patwardhan,SA., Das, KG.,Microencapsulation, In KG, Das Controlled-releasedtechnology 121-141, John Wiley(1983).

[46] Vandegaer, J E., Encapsulation by coacervation, In jE, Vandegaer, Microencapsulation: Processes and Applications, 21-37, 1973.

[47] Barratt,G., Colloidal drug carriers: achievements and perspectives, Cellular AndMolecular Life Sciences, 60, 21-37, 2003.

[48] Risch, SJ., Encapsulationes: Overview of uses and techniques. ACS Symposium Séries, 590,2-7, 1995.

[49] Viebke C., Piculell L., Nilsson S., On the mechanicm of gelation of helix forming biopolymers.*Macromolecules*, 1994, 27 (15), pp 4160–4166.

[50] Buri P., Puisieux F., Doelker E., Benoit J.P. forme pharmaceutique nouvelle technique et documentation (Lavoisier), (1985).

[51] Igorg, G., Mattiasson, BO., Smart polymers Applications in Biotechnology and Biomedicine , CRC Press, New york, 2eme édition, 16, 148-150, 2008.

[52] Sotelo J. L., Ovejero G., Rodriguez A., Alvarez S., Galan J., Garcia J., Competitive adsorption studies of caffeine and diclofenac aqueous solutions by activated carbon Chemical Engineering, 240 (2014) 443-453].

[53] http://www.pirika.com/ENG/TCPE/logP-Theory.html (consulté le 29.04.2017)].

[54] Pharmacopée Américaine édition 2016 (USP38-NF29)