UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MATIERE

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **:**

Master En Chimie

Spécialité : Chimie Pharmaceutique

Par :
Nouali Karima

Houal Assma

Thème :

Formulation d'un système encapsulé : Optimisation et application

Soutenu publiquement le :21 /06 /2022, devant le jury composé de :

ARBIA Wassila	Grade : MCA	UYFM	Président
MIMI Nassiba	Grade : MCB	UYFM	Examinateur
BOUCHERIT Nabila	Grade :MCA	UYFM	Encadreur

Année universitaire : 2021/2022

Remerciement

En premier lieu, nous tenons à remercier ALLAH le tout Puissant qui a guidé nos pas vers le savoir et qui nous a donné la force et la volonté pour finaliser ce travail.

Ce travail, réalisé, au niveau du laboratoire pédagogique de la faculté des Sciences de l'Université Yahia Fares de Médéa, où nous exprimons nos remerciements aux personnels membres pour leur aide infini.

Nous adressons également mes plus sincères remerciements à notre promotrice, Dr. BOUCHREIT. N. Vous nous avez fait le grand honneur de nous confier ce travail et d'accepter de le diriger; merci pour tous vos judicieux conseils, au de-là de l'apprentissage, nous vous remercions aussi pour Votre exigence intellectuelle, vos encouragements et surtout votre patience et disponibilité ont été un réel atout dans notre avancement. Veuillez trouver ici Docteur un témoignage de notre gratitude et de notre profond respect.

Nous remercions très vivement les membres du jury de m'avoir fait l'honneur de juger ce travail Mme. ARBIA. W, Maître de conférences à l'Université de Médéa Nous sommes très touchées par l'honneur que vous nous faites de bien vouloir présider le jury de notre soutenance. Nous vous prions d'accepter notre profond respect, Mme. MIMI. N, pour avoir accepté de participer à examiner notre travail malgré ses nombreuses obligations.

Nous remercions chaleureusement tout le personnel administratif, les techniciens-ingénieurs, à tous ceux qui, de près ou de loin, ont apporté une aide quelconque afin de mener à bien ce projet.

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

A celle qui m'a donné la vie, qui s'est sacrifié pour mon bonheur et ma réussite, à la femme qui a souffert sans me laisse souffrir, Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites mon adorable mère.

A mon père, que dieu lui fasse miséricorde, comme j'aimerais que tu sois à mes cotés

En ce moment

A une personne très chère à mon cœur, mon cher époux et « mon équilibre », merci pour d'être à mes cotés

A mes chères sœurs Nadia et Feriel et Amina bouchekchoukh

A tout ma famille à mes grands-mères et à ma deuxième famille «AKILA ETKAMEL»

A Toute mes amis de chimie pharmaceutique et macromoléculaire

Karima



Dédicace

Je dédie Mon travail au défunt qui reste toujours dans mon Coeur

Cher papa .....

Asma

Résumé

Notre étude vise d'une part à encapsuler le kétotiféne fumarate en étudiants les effets des facteurs dont dépend la formulation à savoir : la concentration du kétotifène fumarate, d'alginate de sodium et du chlorure de calcium, en utilisant la méthode de Taguchi et d'autre part, vers la caractérisation physico-chimique et biopharmaceutique des particules obtenues.

Un meilleur taux d'encapsulation (99.83%), correspond aux concentrations d'alginate de sodium et de chlorure de calcium de 2% et de 1 mol/L respectivement. La teneur d'encapsulation maximale est de 98.65%, qui correspond aux concentrations de 2% d'alginate et 1.5 mol/L de chlorure de calcium.

Un taux de gonflement plus important est atteint lorsque la concentration d'alginate de sodium augmente dans les deux milieux de dissolution étudiés. A pH 1.2, ce taux atteint un maximum de 47.36% et à pH 7.4 il atteint un maximum 97.44%

L'analyse FTIR de l'alginate de sodium, du kétotifène fumarate, du chitosane et des particules préparées (formulation N°4), a montré l'encapsulation de ce dernier dans les particules obtenues.

Mots clés : Alginate de sodium, Encapsulation, Gélification ionotropique, Kétotifène Fumarate.

Abstract

Our study aims on the one hand to encapsulate ketotifen fumarate by studying the effects of the factors on which the formulation depends, namely: the concentration of ketotifen fumarate, sodium alginate and calcium chloride, using the Taguchi method. On the other hand, on the physico-chemical and biopharmaceutical characterization of the obtained particles.

A better encapsulation rate (99.83%) corresponds to 2% sodium alginate and 1 mol/L of calcium chloride and a maximum encapsulation yield which reaches a maximum value of 98.65%, which corresponds to concentrations of 2% alginate and 1.5 mol/L calcium chloride.

A greater swelling rate is reached when the concentration of sodium alginate increases in the two dissolution media studied. At pH 1.2, this rate reaches a maximum of 47.36% and at pH 7.4 reaches a maximum of 97.44%.

FTIR analysis of sodium alginate, ketotifen fumarate, chitosan and particles loaded with ketotifen fumarate (formulation N° 4), showed the encapsulation of this last in the obtained particles.

Keywords: Sodium alginate, Encapsulation, Entrapement gelation, Ketotifen Fumarate.

ملخص

تهدف دراستنا من جهة إلى تغليف كيتوتيفين فومارات من خلال دراسة تأثيرات العوامل التي تعتمد عليها التركيبة وهي: تركيز كيتوتيفين فوماريت ألجينات الصوديوم وكلوريد الكالسيوم باستخدام طريقة تاجوشي.

من جهة أخرى تم إجراء التوصيف الفيزيوكيميائي والصيدلاني الحيوي للجسيمات التي تم الحصول عليها. يحتوي معدل التغليف الافضل على معدل مرتفع (99.83 ٪) والتي تقابل 2 ٪ ألجينات الصوديوم و1 مول / لتر من كلوريد الكالسيوم وعائد المحتوى والذي يصل الى قيمة قصوى تبلغ 98.65 ٪ وهو ما يتوافق مع تركيزات 2٪ من الجينات الصوديوم و1.5 مول/لتر من كلوريد الكالسيوم.

تم الوصول إلى معدل انتفاخ أكبر عند زيادة تركيز ألجينات الصوديوم في الوسطين المذوبان المدروسين، وعند درجة الحموضة 1.2 يصل هذا المعدل إلى 47.36٪ كحد أقصى وعند وعند درجة الحموضة 7.4 يصل إلى 97.44٪ كحد أقصى.

أظهر تحليل FTIR لألجينات الصوديوم، كيتوتيفين فوماريت، الكيتوزان والكريات المحملة بتركيبة كيتوتيفين فومارات (رقم 4)، تغليف الأخير في الجسيمات التي تم الحصول عليها.

الكلمات المفتاحية: ألجينات الصوديوم، هلام الأيونات المدارية، كيتوتيفين فوماريت، الكبسلة

Liste de figures		
Liste de tableaux		
Abréviations et nomenclature		
Introduction générale		1
Chapitre I : Microencapsulation et procédés de gélification		
I.1	Historique	3
I.2	Généralités sur l'encapsulation	3
I.2.1	Définition	3
I.2.2	Caractérisation des microparticules	3
I.3	Intérêt de l'encapsulation	5
I.3.1	Immobilisation	5
I.3.2	Protection	5
I.3.3	Contrôle de la libération	5
I.3.4	Faciliter l'utilisation des produits liquides	6
I.3.5	Protection et stabilisation	6
I.4	Procédés de micro-encapsulation	6
I.4.1	Procédés physico-chimiques	6
I.4.2	Procédés chimiques	9
I.4.3	Procédés mécaniques	10
I.5	Procédé de gélification	11
I.5.1	Gélification ionotropique	11
I.5.2	Principe	12
I.5.3	Mécanisme de gélification	13
I.5.4	Influence des paramètres opératoires sur la forme et la taille des billes	13
I.5.5	Émulsification/gélification	15
I.6.	Alginate de sodium	16
I.6.1	Sources de l'alginate	16
I.6.2	Composition chimique	16
I.6.3	Propriétés physico-chimiques	17
I.6.4	Applications	18
Chapitre II : Les antihistaminiques		
II.1	Introduction	19
II.2	Généralités	19

II.2.1	Définition	19
II.2.2	Types des maladies allergiques	20
II.3	Manifestation cliniques des allergies	21
II.4	Médicaments antihistaminiques	23
II.4.1	Définitions	23
II.4.2	Classification	24
II.4.3	Mécanisme d'action	25
II.5	Kétotifène fumarate	26
II.5.1	Définitions	26
II.5.2	Propriétés physico-chimiques	27
II.5.3	Formes galéniques	28
II.5.4	Pharmacodynamique	29
II.5.5	Pharmacocinétique	29
II.5.6	Utilisation cliniques	29
II.5.7	Effets secondaires indésirables	30
II.5.8	Mécanisme d'action	30
Chapitre III : Matériel et méthodes		
III.1	Introduction	31
III.2	Matières premières	31
III.2.1	Principe actif	33
III.2.2	Excipients	32
III.2.3	Autres réactifs chimique	34
III.2.4	Matériel utilisé	35
III.3	Méthodes expérimentales et techniques de caractérisations	36
III.3.1	Caractérisations spectrales des matières premières	36
III.3.2	Préparation des microparticules	38
III.3.3	Gélification ionotropique	41
III.3.4	Caractérisation des billes d'alginate	44
Chapitre IV : Résultats et discussions		
VI.1	Introduction	47
IV.2	Caractérisation des matières premières	47
IV.2.1	Analyse par UV-Vis	47
IV.3	Encapsulation du KF par émulsification-gélification externe	49
IV.3.1	Formulation des émulsions E/H	49

IV.3.2	Micro-encapsulation par gélification	51
IV.4	Gélification ionotropique	53
IV.5	Analyse granulométrique des capsules	55
IV.6	Paramètres d'encapsulation	57
IV.7	Application de la méthode de TAGUCH	58
IV.7.1	Effets moyens des paramètres	58
IV.7.2	Interactions entre les paramètres	61
IV.8	Test de gonflement des microparticules	71
IV.9	Caractérisation par FTIR	68
Conclusion générale		74
Références bibliographiques		
Annexes		

Chapitre I : micro encapsulation et procédé de gélification		
Figure I .1	Morphologies d'une microcapsule (a) et d'une microsphère (b), vues par la microscopie électronique à balayage (MEB)	4
Figure I.2	Exemple de morphologie de particules obtenues par micro encapsulation	5
Figure I.3	Principe de la coacervation simple	7
Figure I.4	Fluide supercritique utilisé en tant que solvant,	8
Figure I.5	Principe polycondensation interraciale	9
Figure I.6	Principe enrobage en lit d'air fluidisé	11
Figure I.7	Principe de gélification ionotropique (Cas d'alginate de Na),	12
Figure I.8	Mécanisme de la formation du gel d'alginate de calcium	13
Figure I.9	Etapes de l'émulsification/gélification externe	16
Figure I.10	Etapes de l'émulsification/gélification interne	16
Figure I.11	Présentation de la structure d'alginate	17
Chapitre II : Les antihistaminiques		
Figure II.1	Manifestations de la Dermatite atopique L'eczéma de contact	25
Figure II.2	Récepteur de l'histamine H1 et action de l'antihistamine	27
Figure II.3	Structure chimique de la molécule de kétotifène fumarate	30
Figure II.4	Organigramme schématisant les formes galéniques du médicament à base kétotifène fumarate	32
Chapitre III : Matériel et méthodes		
Figure III.1	Spectrophotomètre UV-visible utilisé dans notre étude.	42
Figure III.2	Schéma de principe du spectromètre FTIR	43
Figure III.3	Phase aqueuse : KF+Alginate de Na	45
Figure III.4	Phase organique: huile d'olive + Span 80.	46
Figure III.5	Préparation d'émulsion eau dans huile.	46
Figure III.6	Lavage, filtration et récupération des billes.	47
Chapitre IV : résultats et discussion		
Figure IV.1	Spectre d'absorption UV-vis du KF dissout dans les solutions tampons pH1.2, pH7.4 et dans l'eau distillée.	54
Figure IV.2	Courbe d'étalonnage de KF dans la solution tampon pH 1.2.	55
Figure IV.3	Courbe d'étalonnage de KF dans la solution tampon pH 7.4	55
Figure IV.4	Courbe d'étalonnage de KF dans l'eau distillée	56
Figure IV.5	Vue microscopique des émulsions E/H.	57
Figure IV.6	Microsphères obtenues par gélification	59

Figure IV.7	Présents les billes humides obtenues après gélification des 9 formulations.	60
Figure IV.8	Présents les billes sèches obtenues après gélification des 9 formulations	61
Figure IV.9	Tailles des microparticules (avant et après séchage) pour 1% alginate.	63
Figure IV.10	Tailles des microparticules (avant et après séchage) pour 1.5% alginate.	64
Figure IV.11	Tailles des microparticules (avant et après séchage) pour 2% alginate.	64
Figure IV.12	Effets moyens du KF.	66
Figure IV.13	Effets moyens de la concentration d'Alg, Na	67
Figure IV.14	Effets moyens de la concentration de $CaCl_2$	67
Figure IV.15	Interactions entre les paramètres d'encapsulation [KT/Alg, Na]	69
Figure IV.16	Interactions entre les paramètres d'encapsulation [KT/$CaCl_2$]	69
Figure IV.17	Interactions entre les paramètres d'encapsulation [$CaCl_2$/Alg, Na]	70
Figure IV.18	Taux de gonflement dans les milieux (pH=1.2 et pH=7.4) du formule 1	71
Figure IV.19	Taux de gonflement dans les milieux (pH=1.2 et pH=7.4) de formule 2	71
Figure IV.20	Taux de gonflement dans les milieux (pH=1.2 et pH=7.4) de formule 3	72
Figure IV.21	Taux de gonflement dans les milieux (pH=1.2 et pH=7.4) de formule 4	72
Figure IV.22	Taux de gonflement dans les milieux (pH=1.2 et pH=7.4) de formule 5	73
Figure IV.23	Taux de gonflement dans les milieux (pH=1.2 et pH=7.4) de formule 6	73
Figure IV.24	Taux de gonflement dans les milieux (pH=1.2 et pH=7.4) de formule 8	74
Figure IV.25	Taux de gonflement dans les milieux (pH=1.2 et pH=7.4) de formule 9	74
Figure IV.26	Spectre FTIR d'alginate de sodium	76
Figure IV.27	Spectre FTIR du kétotifène fumarate	77
Figure IV.28	Spectre FTIR du chitosane	78
Figure IV.29	Spectre FTIR des microparticules chargées de kétotifène fumarate	79

Chapitre I : micro encapsulation et procédé de gélification	
Tableau I.1 : Classification des techniques d'encapsulation selon la nature des	7
Tableau II.2. Principales applications d'alginates	19
Chapitre II : Les antihistaminiques	
Tableau II.1. Propriétés physico-chimiques de kétotifène fumarate.	31
Tableau. II.2. Médicament contenant le PA kétotifène fumarate.	34
Chapitre III : Matériel et méthodes	
Tableau III.1. Matières premières utilisées dans le procédé d'encapsulation.	37
Tableau. III.2. Caractéristiques physico-chimiques de l'huile d'olive	38
Tableau III.3 : Caractéristiques physico-chimiques d'alginate de sodium.	38
Tableau III.4. Caractéristiques physico-chimiques du span 80 (Sigma-Aldrich)	39
Tableau III.5. Principales applications du chitosane	39
Tableau III.6 : Caractéristiques physico-chimiques du chitosane.	40
Tableau III.7 : Réactifs chimiques utilisés.	40
Tableau III.8: Equipements utilisés dans la préparation et la caractérisation des microparticules d'alginate.	41
Tableau III.9. Paramètres et niveaux choisis pour la préparation des microsphères de KT	44
Tableau III.10. Compositions des différents essais (L9)	45
Tableau III.11. Paramètres et niveaux choisis pour la préparation des microsphères	50
Tableau III.12. Compositions des différents essais (L9)	50
Chapitre IV : résultats et discussions	
Tableau IV .1. Longueurs d'onde maximales du KF dans les trois milieux de	54
Tableau. IV.2. Equations des courbes d'étalonnage et les coefficients de corrélation	56
Tableau IV.3. Diamètres moyens des billes à l'état sec et à l'état humide.	62
Tableau IV.5. Paramètres d'encapsulation des 9 formulations réalisées	65
Tableau. IV.6. Effets moyens des paramètres d'encapsulation sur le taux	66
Tableau IV.7 Résultats d'interactions entre les trois paramètres sur le TE%	68
Tableaux IV.8. Bandes caractéristiques du spectre FTIR d'alginate de sodium.	76
Tableaux IV.9: Bandes caractéristiques du spectre FTIR de kétotifène fumarate	77
Tableau. IV.10. Bandes caractéristiques du spectre FTIR de chitosane	78
Tableaux IV.11. Bandes caractéristiques du spectre FTIR des billes d'alginate de Na chargées de KF.	79

Abréviation	*Signification*	*Unité*
pH	Potentiel d'hydrogène	/
ME	Microscope électronique	/
KF	Kétotifène Fumarate	/
FTIR	Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier	/
UV-Vis	Ultra-violet –Visible	/
PA	Principe actif	/
PH	Phase Huileuse	/
E/H	Emulsion eau dans huile	/
DO	Densité optique	/
MG	Moyenne Générale	/
EAi	Effet de A au niveau i	/
EE	Efficacité d'encapsulation	/
RE	Rendement d'encapsulation	(%)
TE	Taux d'encapsulation	(%)
TG	Taux de gonflement	(%)
Cn	Concentration du principe actif non encapsulé	(%)
C	Concentration initiale du principe actif	mg/l
mi	Masse initiale de principe actif	mg/l
mf	Masse finale de principe actif	mg
Alg Na	Alginate de sodium	mg

Symboles grecs

Symbole	***Signification***	***Unité***
ε_{λ}	*Coefficient d'absorption moléculaire ou (extinction molaire)*	/
λ	*Longueur d'onde d'absorption de rayonnement électromagnétique*	nm
λmax	*Longueur d'onde correspondante a l'absorption maximale*	nm
X1	*Rapport massique de KF/AlgNa*	/
X2	*Concentrations massique de CaCl2*	/

Introduction générale

L'encapsulation regroupe l'ensemble des techniques qui permettent d'emprisonner des matières actives d'origine variée (liquide, solide, gazeuse ou même une cellule vivante) au sein d'un matériau. C'est l'exemple des principes actifs pharmaceutiques ou cosmétiques, des additifs alimentaires, des produits phytosanitaires, ou des essences parfumées [1,2], en vue de leur immobilisation, protection, structuration, fonctionnalisation, ou encore le contrôle de leur transport et de leur libération dans un environnement prédéfini [3].

L'alginate de sodium étant un bio polymère très répandu et dont l'extraction est peu couteuse est devenu l'une des matières premières les plus courantes dans l'industrie pharmaceutique. Utilisé en tant que principe actif ou qu'excipient en raison de sa capacité de gélification qui suscite un grand intérêt notamment dans la réalisation de microparticules à libération contrôlées. [4]

L'objectif principal de notre étude est laformulation d'un système d'encapsulation d'un principe actif, à savoir le 'kétotifene fumarate'.Le principe actif ciblé, est une matière classée commeantiallergique puissante, agissant comme antagoniste sur le récepteur de l'histamine. Notre procédé d'encapsulation, est à la base d'unbiopolymère polysaccharide, l'alginate de sodium où la méthode utilisée pour la mise au pointde ce système est la gélification ion tropique. Cette technique sera couronnée par une étape d'enrobage en utilisant une deuxième bio polymère qui est le chitosane.

Cependant, et en vue d'optimiser les paramètres dont dépend la qualité des particules contenant le principe actif encapsulé, nous avons procédé à la méthode de TAGUCHI oùles paramètres indépendants ciblés sont : la concentration dukétotifène fumarate, la concentration d'alginate de sodium, et la concentration de chlorure de calcium.

Ainsi, une caractérisation physico-chimique, biopharmaceutique et spectroscopique sera réalisée.

Pour ce faire, notre manuscrit se décompose en quatre chapitres, clôturé classiquement par une conclusion générale:

- Le premier chapitre se concentre vers la présentation des notions de base sur l'encapsulation, où les différentes méthodes d'encapsulation ainsi que les procèdes de gélification, seront discutés.
- Le chapitre deuxième regroupe des généralités sur les maladies allergiques (définitions et principaux types des maladies allergiques), en mettant un aperçu détaillé sur la

molécule de kétotifene fumarate, qui sera prise comme exemple des principes actifs antihistaminiques ;

- Le troisième chapitre récapitule la présentation des propriétés des matières premières, du matériel et des techniques prévues être utilisées en particulier le mode opératoire de gélification d'alginate de sodium.
- Le quatrième chapitre englobe tous les résultats obtenus et les discussions correspondantes.

Comme signalé plus haut, des perspectives seront proposées à la fin de la conclusion générale, afin poursuivre la présente étude.

Chapitre I :
Microencapsulation et procédés de gélification

I.1 Historique

Les premières publications sur la micro encapsulation et ses applications dans le domaine pharmaceutique remontent aux années 30 [5].

En 1931, les deux chimistes Bungenburg de Jong et Kass ont découvert la coacervation, un phénomène physique permettant de réaliser des systèmes colloïdaux. Ceux-ci ont permis d'effectuer les premiers essais d'encapsulation mais le développement de cette technique de l'échelle du laboratoire à la production industrielle a duré une vingtaine d'années [6].

Dans les années 60, l'encapsulation de cristaux liquides par la gélatine et la gomme d'acacia pour la production de matériaux pour écrans thermosensibles, a été décrite par Ferguson. Cette méthode d'encapsulation a permis le développement des écrans à cristaux liquides utilisés pour les structures aérospatiales [7].

Au cours des dernières années, la micro encapsulation s'est considérablement développée à l'échelle industrielle et les microparticules ont actuellement des applications très variées.

I.2. Généralités sur l'encapsulation

I.2.1. Définition

La micro encapsulation regroupe l'ensemble des technologies qui permettent la préparation des particules individualisées, constituées d'un matériau enrobant contenant une matière active. Les microparticules présentent une taille comprise entre 1 µm et 1000 µm (1 mm) et contiennent typiquement entre 5 et 90 % (en masse) de matière active. Les matières actives sont d'origines très variées : principe actif pharmaceutique, actifs cosmétiques, additifs alimentaires, produits phytosanitaires, essences parfumées, microorganismes, cellules …etc. Les particules obtenues se divisent en trois groupes : microparticules, nanoparticules et liposomes [8].

I.2.2. Caractérisation des microparticules

1. Classification

a) Les microparticules : elles sont obtenues par micro encapsulation, elles peuvent se présenter sous deux types de morphologies distinctes (figure I.1) [8, 9].

- *Les microsphères* : Ce sont des particules constituées d'un réseau macromoléculaire ou lipidique continu formant une matrice dans laquelle se trouve finement dispersée la matière active. Cette dernière peut se présenter sous forme de fines particules solides ou encore de gouttelettes de solutions.
- *Les microcapsules* : Ce sont des particules réservoirs constituées d'un cœur de matière active liquide ou solide, entourées d'une enveloppe solide continue de matériau enrobant

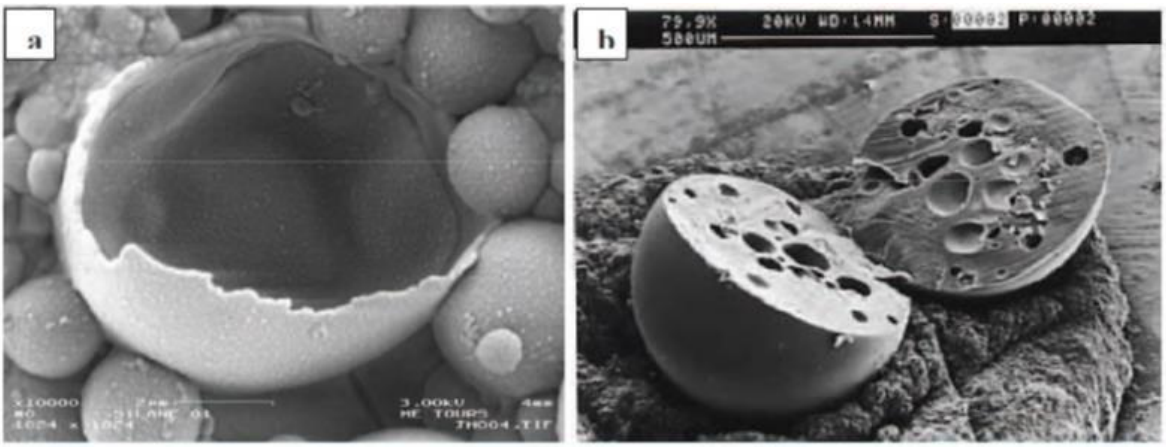


Figure I.1 Morphologies d'une microcapsule (a) et d'une microsphère (b), vues par la microscopie électronique à balayage (MEB) [9].

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

c) Les liposomes : ce sont des petites vésicules sphériques dont la paroi est constituée par une ou plusieurs bicouches phospholipidiques délimitant une cavité centrale contenant une phase aqueuse. Ils peuvent véhiculer des principes actifs de nature hydrophile, sous forme dissoute dans la phase aqueuse centrale, ou de nature lipophile par insertion dans la bicouche [10,11]

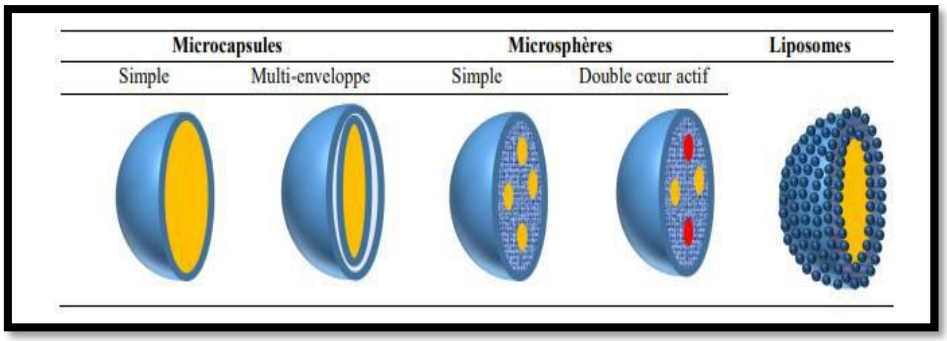


Figure I.2 Exemple de morphologie de particules obtenues par micro encapsulation [12].

I.3 Intérêt de l'encapsulation

I.3.1. Immobilisation

Cet objectif résulte souvent du désir de vouloir limiter le contact entre certaines parties d'un système. L'immobilisation est souvent utilisée pour des cellules microbiennes.

En effet, leur confinement dans une membrane semi-perméable permet d'obtenir une activité optimale de par une isolation physique du milieu extérieur tout en maintenant un environnement interne adapté pour leur croissance et leur métabolisme [13].

Ce principe a été utilisé pour la commercialisation du complément alimentaire animal. En effet, ce produit contient des bactéries encapsulées par des polymères naturels afin d'améliorer la survie bactérienne au cours de l'élaboration de l'aliment et pendant la période de conservation [14].

En outre, l'isolation apportée par l'encapsulation est très souvent utilisée pour des catalyseurs et l'utilisation de composés incompatibles [14].

I.3.2. Protection

Garantir une bonne protection de la substance encapsulée : La micro encapsulation est un procédé de fabrication de particules fermées dans lesquelles le contenu est enveloppé à l'intérieur d'un film. Elle permet non seulement d'éviter la pollution secondaire du contenu encapsulé [5] mais aussi d'assurer la protection des ingrédients sensibles contre l'oxydation et les effets de l'environnement externe tels que la chaleur, l'humidité ou le pH [7] en vue de maintenir le contenu stable pour une durée de vie plus longue.

I.3.3. Contrôle de la libération

Contrôle de la libération du contenu encapsulé : La micro encapsulation permet le transfert de masse entre l'intérieur et l'extérieur d'une capsule via le contrôle des propriétés physiques et chimiques de la membrane [5]. Une libération du contenu encapsulé est donc réalisée. Elle peut être soit prolongée par une diffusion à travers la membrane, soit déclenchée par éclatement de la membrane. En cas de diffusion, le contrôle de l'épaisseur de la membrane, de sa porosité et du gradient de concentrations des molécules spécifiques, permet de moduler la délivrance continue des principes encapsulés. En revanche, s'il y'a éclatement, tout le contenu se déverse au même moment [5]. C'est le phénomène du « dose dumping ».

I.3.4. Faciliter l'utilisation des produits liquides

La micro encapsulation permet de conditionner des produits liquides sous forme solide. Cela facilite le transport de produits d'origine liquide [5] et diminue la déperdition des matières actives volatiles [15].

I.3.5. Protection et stabilisation

Assurer la protection, la stabilisation d'une matière active dans une formulation [16] et éviter l'incompatibilité entre les médicaments [17], exemple de l'astaxanthine, un principal céto-caroténoïde encapsulé par l'alginate afin d'améliorer sa stabilité [18].

Réduire la toxicité ainsi que la sensibilité des personnes vis à vis des matières et produits toxiques [17].

I.4. Procédés de microencapsulation

Les microparticules peuvent être obtenues de plusieurs façons, suivant la taille désirée et les propriétés physico-chimiques du principe actif encapsulé [19]. On distingue trois grandes familles de procédés d'encapsulation résumées dans le tableau. I.1.

I.4.1. Procédés physico-chimiques

Ces procédés sont basés sur la maîtrise des changements d'état (fusion, solidification) des polymères en fonction de plusieurs paramètres, tels que la solubilité et la précipitation des polymères, en fonction de l'ajout ou non d'un solvant, du pH ou de la température [17].

a. Coacervation

Le terme de coacervation décrit le phénomène de désolvatation partielle d'une solution homogène de polymère en une phase riche en polymère (coacervat) et en phase pauvre en polymère (milieu de coacervation) [20]. Lorsque l'on disperse la matière active dans un milieu qui contient des coacervats, la réduction de la solvatation d'un polymère conduit à sa précipitation sur la surface de microgouttes [21]. La coacervation peut être complexe ou simple, la différence est dans la manière de séparation des phases. Dans la coacervation simple, un agent de désolvatation est ajouté tandis que dans la coacervation complexe deux ou plusieurs types de polymères de charge opposée sont impliqués [21, 20].

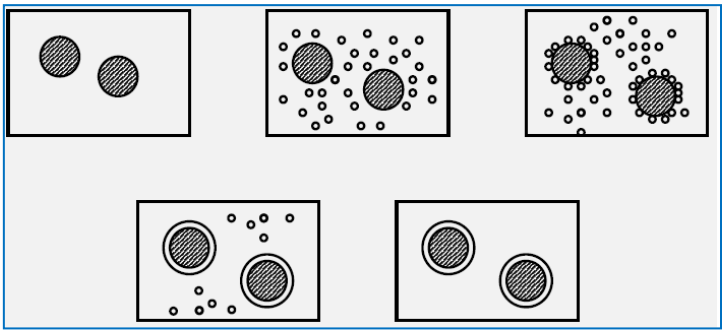


Figure I.3 Principe de la coacervation simple [22].

Tableau I.1 : Classification des techniques d'encapsulation selon la nature des procédés [7,19].

Type procédé	Mode d'encapsulation	Taille des microcapsules	Type de particule obtenue
Procédés physico-chimiques	- Coacervation	2 – 1200 µm	Microcapsules /Microsphères
	- Expansion rapide de fluides supercritiques	0,5 – 100µm	Microsphères
	- Evaporation – extraction de solvant	0,5 – 200 µm	Microsphères
	- Gélification thermique d'émulsions (hot melt)	30 – 300 µm	Microsphères
	- Gélification ionique		Microsphères
Procédés chimique	- Polycondensation Interfaciale	2 – 2000 µm	Microcapsules
	- Polymérisation en milieu dispersé par voie radicalaire ou anionique	2 – 2000 µm	Microcapsules / Microsphères
Procédés mécanique	-Nébulisation/séchage (spray drying)	1 – 200 µm	Microsphères
	-Congélation de gouttes	200 – 800 µm	Microsphères
	-Enrobageen lit fluidisé (spray-coating)	35 – 5000 µm	Microcapsules
	-Sphéronisation	≥ 200 µm	Microsphères

Ce processus s'opère dans des conditions douces (pas de solvant agressif ou organique) ; il présente donc un bon potentiel pour la micro encapsulation de cellules vivantes ou molécules labiles, lesquelles ne peuvent pas résister aux conditions dures (chaleur, solvant organique), qui accompagne les autres techniques [5].

b. Expansion rapide des fluides supercritiques

Les fluides à l'état supercritique présentent des propriétés intermédiaires entre un gaz et un liquide, les plus connus sont le CO_2, les alcanes et l'oxyde nitreux. Le CO_2 supercritique est le plus largement utilisé pour sa faible valeur de température supercritique, non toxicité, ininflammabilité et sa disponibilité [7, 20].

Selon cette technique d'encapsulation, le principe actif est dispersé dans une solution de matière enrobant dans le fluide supercritique, le mélange est maintenu à haute pression puis libéré à la pression atmosphérique par une petite buse. La chute de la pression provoque la désolvatation de la solution de polymère qui se dépose sur l'ingrédient actif et forme donc une couche d'enrobage [7, 20].

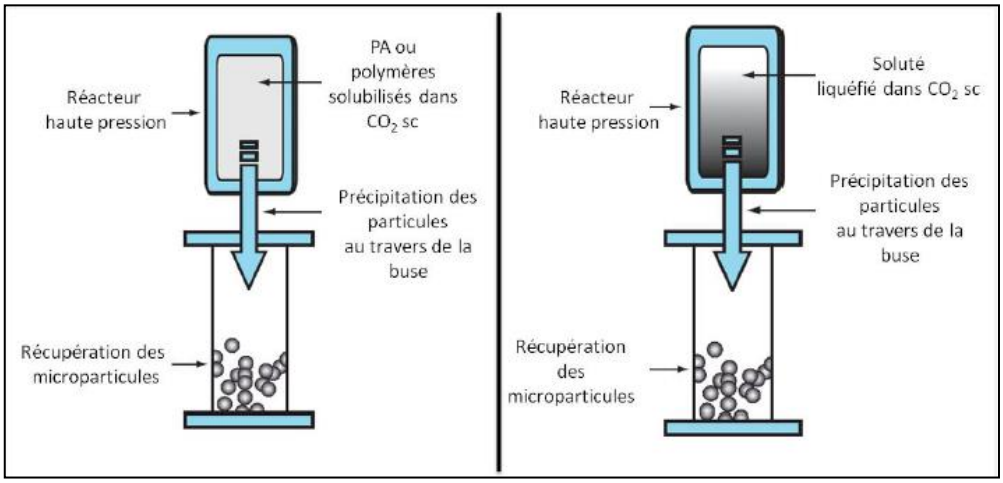


Figure I.4 Fluide supercritique utilisé en tant que solvant [22].

c. Evaporation-extraction de solvant

Le procédé d'évaporation de solvant est le plus largement développé sur de nombreux polymères et consiste en l'évaporation de la phase interne d'une émulsion sous agitation donnant lieu à la précipitation du polymère d'enrobage préalablement dissous dans cette phase sous forme de microsphères [5].

d. Gélification thermique d'émulsion

Ce procédé repose sur la dispersion ou la dissolution de la matière active à encapsuler dans un matériau d'enrobage fondu, qui est souvent les lipides ; l'ensemble est émulsionné dans une phase dispersante dont la température est maintenue supérieure à la température de fusion de l'enrobage ; il s'agit d'eau distillée lorsque le principe actif est lipophile et d'huile de silicone, par exemple, lorsqu'il est hydrosoluble. La solidification des globules dispersés est obtenue en refroidissant brutalement le milieu [7, 5].

I.4.2. Procédés chimiques

Contrairement aux autres classes de techniques qui utilisent des agents enrobant préformés tels que des polymères et des lipides [5], les procédés chimiques sont basés sur la formation in situ du matériau enrobant par polycondensation, polymérisation radicale, ou polymérisation anionique d'unité monomères [17].

a. La polycondensation interfaciale

Ou polymérisation interfaciale, elle combine une émulsification de type E/H ou H/E et une réaction chimique entre deux monomères ayant des groupes fonctionnels complémentaires, chacun soluble dans l'une des phases du système diphasique. L'encapsulation peut être réalisée par cette méthode via un protocole en deux étapes. Dans un premier temps une émulsion est

préparée, dont la phase dispersée contient l'espèce à encapsuler ainsi qu'un monomère. Puis, cette émulsion est diluée afin d'apporter le second monomère en phase continue. La réaction démarre alors à l'interface des gouttelettes. On obtient en fin de réaction une membrane polymérique à l'interface des gouttelettes qui renferment l'espèce à encapsuler [5, 21].

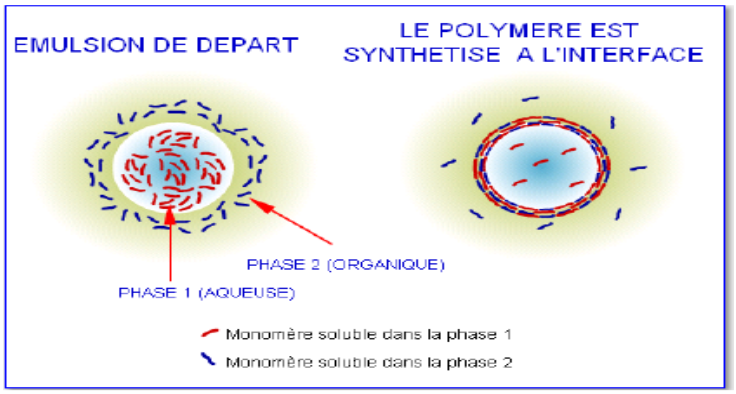


Figure I.5 Principe polycondensation interraciale [22].

b. La polymérisation en milieu dispersé

Dans ce processus, aucun agent réactif n'est ajouté au matériau du noyau, [20]. De façon générale, le monomère est solubilisé dans la phase continue d'une dispersion (émulsion, suspension), alors que le principe actif se trouve dans la phase dispersée. La voie de polymérisation peut être anionique ou radicalaire. Après amorçage de la réaction de la polymérisation, les polymères formés précipitent à partir d'une longueur de chaînes critique formant ce que l'on appelle les noyaux primaires. La précipitation des chaînes polymériques [7,15].

I.4.3. Procédés mécaniques

Le procédé mécanique met en œuvre des techniques de pulvérisation, de formation de gouttes ou de gouttelettes et d'extrusion [17].

a. Nébulisation-séchage par atomisation

Dans cette technique, une solution ou une émulsion du complexe principe actif-polymère est passée sous pression à travers un orifice de buse, conduisant à son atomisation et formation de gouttelettes uniformes. Ces gouttelettes sont finalement séchées par le gaz de séchage qui est généralement l'air, pour enfin obtenir des microparticules sèches facilement récupérables [23,24].

b. Congélation en gouttes

Les matériaux utilisés dans ce procédé sont généralement des cires, lipides ou corps gras de bas point de fusion compris entre 50°C et 120°C, permettant de solubiliser la matière active

lorsqu'ils sont à l'état fondu [5, 17]. Ce mélange fondu est extrudé à une température supérieure à celle du point de fusion à travers une buse vibrante. Le jet de sortie est sectionné sous l'effet de la vibration et les gouttelettes obtenues sont refroidies par de l'air froid ou de l'azote [17]. Ce procédé est une variante de la méthode de micro encapsulation par gélification thermique [17].

c. Enrobage en lit d'air fluidisé

Le procédé d'enrobage en lit fluidisé s'applique exclusivement à des matières actives sous forme solide (granules, cristaux), des matières liquides peuvent néanmoins être encapsulées après adsorption sur des supports particulaires poreux [7, 5]. L'encapsulation se déroule dans une chambre cylindrique verticale d'un lit fluidisé. D'abord, les particules à encapsuler sont fluidisées à l'aide d'un flux d'air, ensuite, le matériau enrobant est pulvérisé sur cette suspension fluide de particules ; les gouttelettes de la solution de polymère entrent en contact avec la surface de particules du principe actif formant une couche d'enrobage qui après plusieurs passages successifs par les zones de pulvérisation et séchage, permettant de couvrir la totalité de la surface de la particule par une couche continue et homogène, donnant aux microparticules obtenues une structure de type capsule [7,15].

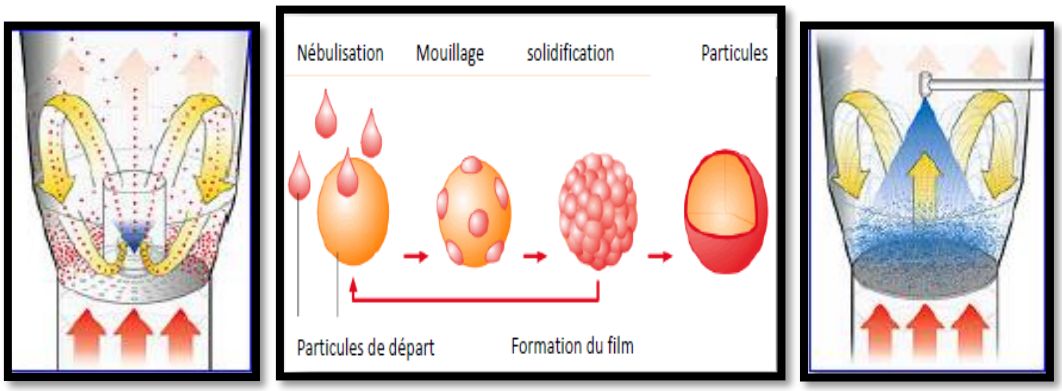


Figure I.6 Principe enrobage en lit d'air fluidisé [22].

I.5. Procédés de gélification

Les procédés de gélification sont basés sur la mise en cage de la matière active dans un réseau polymérique synthétique ou naturel par des liaisons covalentes ou non covalentes. La mise en cage de la matière active peut être réalisée par l'une des stratégies suivantes : Il existe différentes méthodes de piégeage des enzymes comme [25]:

✓ Gel de polymère (organiques, inorganiques ou hybrides) où la technique est appelée inclusion dans *g*el.

✓ Compartiments membranaires (microcapsule ou fibre) où elle est appelée micro encapsulation.

Deux techniques peuvent être utilisées pour la formation des billes de gel qui sont : l'extrusion (l'extrusion de gouttelettes dans un bain de durcissement) ou l'émulsion (système à deux phases)

I.5.1. Gélification ionotropique

Plusieurs matières (polysaccharides, protéines, polymères synthétiques, lipides) en solution peuvent former des gels par contact avec certains ions chélateurs [15]. Le procédé consiste à extruder à travers d'une aiguille de seringue ou d'une buse, une solution aqueuse de polymère dans laquelle la matière active est dissoute, dispersée ou émulsionnée. Les gouttelettes formées sont réceptionnées dans une phase liquide dispersante pour se transformer en particules de gel sphériques récupérées par filtration et séchées. C'est le cas de la gélation de l'alginate en présence du chlorure de calcium ou du chitosane dans une solution réceptrice alcaline [21, 17]. Cette technique est la plus simple et la plus largement utilisée dans la fabrication de microparticules [23].

Cette technique présente les avantages suivants [15] :

- Possibilité d'obtenir une distribution granulométrique des particules très étroite ;
- Elle peut être réalisée à des températures égales ou inférieures à la température ambiante, ce qui est intéressant lorsque la matière à encapsuler est particulièrement fragile ou volatile.

I.5.2. Principe

La gélification ionotropique avec l'alginate de sodium est basée sur la capacité de l'alginate à former un gel avec les ions multivalent (Ca^{+2}) présents dans la solution de durcissement (figure I.3). Pour avoir des microparticules la dispersion est ajoutée goutte à goutte dans la solution de durcissement [26].

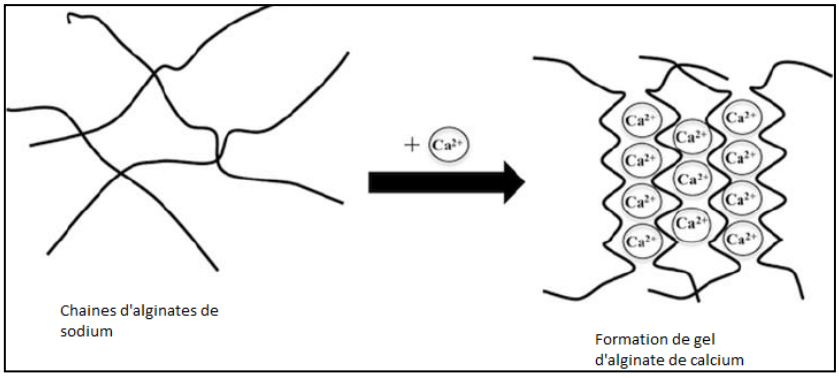


Figure I.7 Principe de gélification ionotropique (Cas d'alginate de Na) [27].

Au contact de la goutte (alginate matière à encapsuler) avec les ions divalents, on obtient des microparticules de gel contenant la matière à encapsuler. La taille de cette sphère dépend de la

taille des gouttelettes et de la viscosité de la dispersion ainsi que le diamètre de la buse d'où la goutte sort [26].

Les particules préparées par gélification ionotropique dépendent des paramètres de formulation, de la concentration des solutions et du traitement des sphères. La forme sphérique est toujours obtenue par gélification ionotropique. Cependant, la vitesse d'agitation de la solution de durcissement ainsi que la distance entre la surface cette dernière et l'aiguille à travers laquelle la goutte sort influe la forme de la goutte. Une fois les sphères formées leur séchage également joue un rôle important dans leurs formes. Le changement des paramètres étudiés auparavant modifie la taille de la particule et sa forme donc la teneur de la matière contenue à l'intérieur, d'où l'importance du contrôle rigoureux de ces paramètres [26].

I.5.3. Mécanisme de gélification

Le mécanisme de gélification (externe ou interne) influe sur la taille des pores à l'intérieur des billes. Il a été démontré que la gélification externe donnait un gel inhomogène plus resserré à la surface conduisant à une taille de pore de 12 à 16nm. Cependant, la structure du gel homogène obtenue par gélification interne entraîne la formation de pores plus grands. Cette différence de taille pourrait conduire à une différence significative dans le profil de libération [28].

Pour la méthode d'extrusion, l'uniformité des particules de gel est influencée par le débit de la solution d'alginate, l'extrusion à la main produit des particules de gel de faible uniformité, tandis que l'extrusion par une pompe produira généralement un gel de particules uniforme. Cette uniformité peut être améliorée en réduisant la tension superficielle du bain gélifiant par addition de composés tensioactifs [29]. Le schéma de la figure II.4, résume la mise en œuvre la technique d'extrusion.

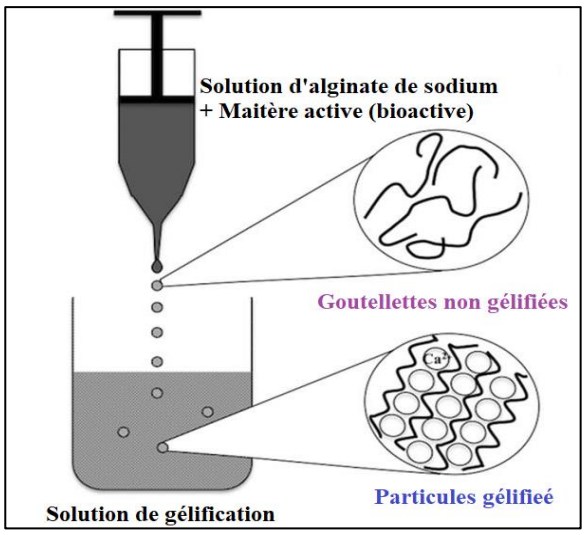


Figure I.8 Mécanisme de la formation du gel d'alginate de calcium.

I.5.4. Influence des paramètres opératoires sur la forme et la taille des billes

La forme est l'un des critères d'appréciation de la qualité des billes lors de leur préparation. L'idéal serait d'obtenir une sphéricité, permettant d'assurer un bon contact avec les liquides biologiques et de manière reproductible, elle est tributaire de plusieurs paramètres, à savoir la viscosité de la solution d'alginate, la concentration en agent réticulant
et la distance de travail. En outre, ce dernier critère permettrait de faciliter la mise en forme pharmaceutique du médicament offrant alors au patient une meilleure observance.

a. Diamètre de pointe d'extrusion

Le diamètre de la pointe d'extrusion conditionne le diamètre de la goutte formée et donc la taille de bille résultante. [30] qui ont formulé des microgels de biopolymère, en injectant les mélanges de polysaccharides dans une solution de chlorure de calcium et en utilisant un instrument d'encapsulation commercial avec une buse vibrante de 120, 150 et 300 µm avec une simple seringue à main d'une pointe de 0,6 mm de diamètre. La taille des billes produites était d'environ 2,75 fois plus grande que celle du diamètre interne de la buse, les diamètres moyens étaient de 300, 400, 800 et 1600 µm respectivement.

Il existe une relation linéaire entre le diamètre du micro gel obtenu (billes) (Dm) et le diamètre de la buse (Db), selon l'équation suivante [30] :

$$\frac{Db}{Dm} = [2,\ 75\ Db+18]\ \mu m \qquad (I.1)$$

b. pH

Les billes d'alginate de calcium ont tendance à rétrécir à faible pH, un résultat confirmé par une étude [31] où on a encapsulé des protéines dans des billes d'hydrogel d'alginate.
Cela est expliqué par la perte de charge négative sur les molécules d'alginate avec la diminution du pH lorsque les groupes carboxyle deviennent protonés (- COOH, pKa ≈ 3,5) ; ce qui peut réduire le nombre de groupes anioniques sur les molécules d'alginate disponibles pour la réticulation avec les ions calcium.

c. Temps de gélification

Généralement, le temps de réticulation n'a pas d'influence significative sur la morphologie des perles ou billes. Cependant, il a été démontré que l'augmentation du temps de gélification et la concentration de calcium augmenteraient l'épaisseur de la membrane des billes d'alginate [32]. Cela peut être dû à l'étendue de la réticulation entre les ions Ca^{2+} et les unités d'acide guluronique de l'alginate de sodium, conduisant à la formation de plus grosses particules d'alginate [23].

d. Concentration de la solution d'alginate

La concentration fait partie des facteurs les plus importants qui impactent et modifient les caractéristiques des microparticules d'alginate, tel que la morphologie, la taille ainsi que l'efficacité d'encapsulation du principe actif [33-34].

L'augmentation de la concentration en alginate induit l'augmentation de la viscosité de la solution d'alginate, ce qui augmente la tension interfaciale entre la phase huileuse et les gouttelettes d'alginate, d'où la formation de plus grosses gouttes [35, 36].

e. Concentration de la solution de réticulation

Les microsphères s'agglomèrent en présence d'une faible concentration en Ca^{2+} quand la concentration de réticulation n'est pas suffisante pour durcir les microsphères [34,37]. Il a été aussi démontré que la taille des microbilles diminuait légèrement avec l'augmentation de la concentration de $CaCl_2$ [37]. Cela peut s'expliquer par la forte réticulation qui conduit à un gonflement plus faible de la goutte d'alginate pendant le processus de gélification [34]. En augmentant la concentration d'ions divalents, plus de séquences polyguluronates sont réticulés, formant un hydrogel poreux.

I.5.5. Émulsification/gélification

a. Émulsification/gélification externe

Cette technique permet d'obtenir des particules matricielles d'alginate ayant des dimensions inférieures à 100 µm (microsphères), son mécanisme est basé sur le même principe comme celui de la méthode d'extrusion, [27]. En général, cette méthode est composée de deux étapes : la première est la formulation de l'émulsion eau dans l'huile, stabilisée par un agent émulsifiant lipophile. Alternativement, la phase aqueuse, est une solution homogène d'alginate contenant le (s) principe (s) à encapsuler [38]. La seconde étape consiste en l'addition progressive de l'émulsion formée à une solution de chlorure de calcium ce qui implique la gélification des gouttelettes aqueuses en particules matricielles [27] (Figure I.9).

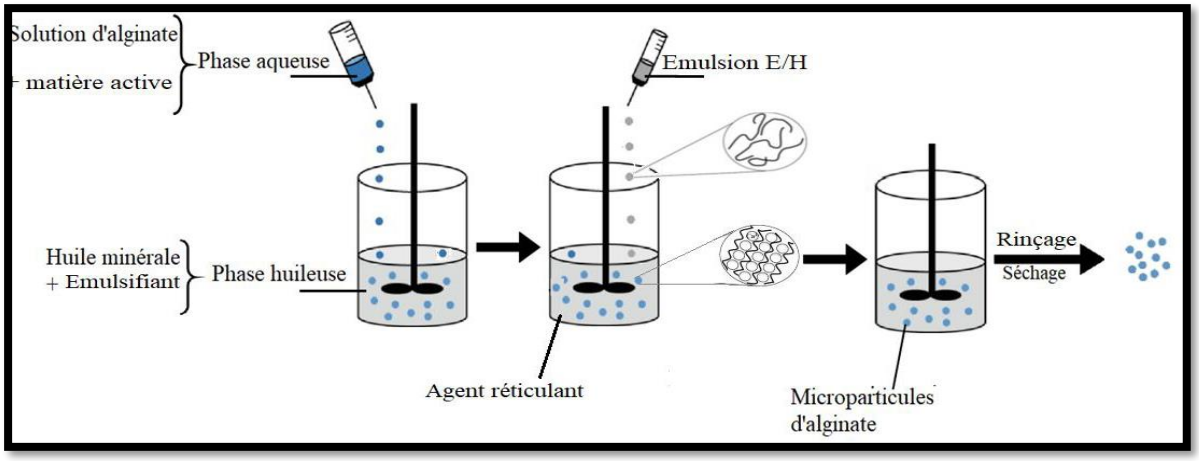


Figure I.9 Etapes de l'émulsification/gélification externe [27,38]

b. Emulsification -gélification interne

Cette méthode est basée sur la libération sous l'effet d'un acide (H^+) d'ions de calcium à partir d'un sel de calcium initialement insoluble contenu dans les gouttelettes aqueuses du système émulsifié. L'acide utilisé pour la solubilisation du sel de calcium, se partage entre la phase huileuse et la phase aqueuse dispersée en initiant la gélification de l'alginate (Figure I.10) [39].

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

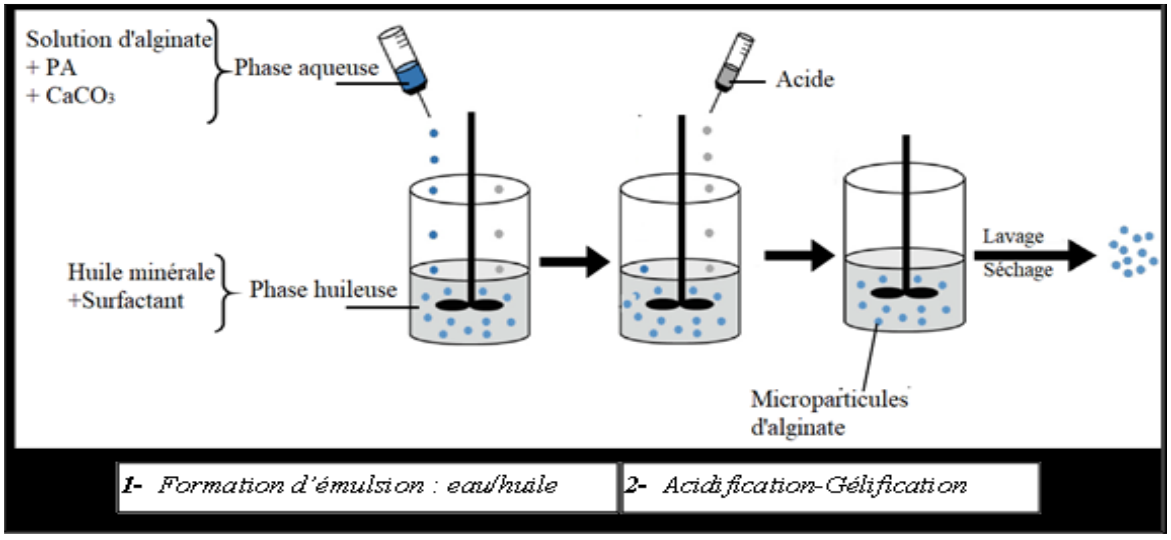


Figure I.10 Etapes de l'émulsification/gélification interne [58].

I.6. Alginate de sodium

I.6.1. Sources de l'alginate

L'acide alginique, également appelé algine ou alginate, est un polysaccharide anionique présent naturellement dans les algues brunes, et certaines espèces de bactéries (*Azotobacter* et *Pseudomonas*) et contenant jusqu'à 40% du poids sec selon les espèces d'algues [41-42].

L'alginate se trouve principalement dans le mucilage intercellulaire et les cellules des algues brunes sous forme de sels de calcium, de sodium et de magnésium d'acide alginique, offrant flexibilité et résistance mécanique à la plante [43,44].

I.6.2. Composition chimique

Les alginates sont des copolymères, linéaires, non ramifiés, formés par l'enchainement de deux types de monomères : l'acide β-D-mannuronique (M) et son épimère en C5 l'acide α-L-guluronique (G). Ces acides uroniques forment des blocs M liés par des liaisons glycosidiques de type β (1→4) (liens diéquatoriaux), des blocs G liés en α (1→4) (liaisons diaxiales) ou des zones alternées ou irrégulières GM [45,46] (figure I.11).

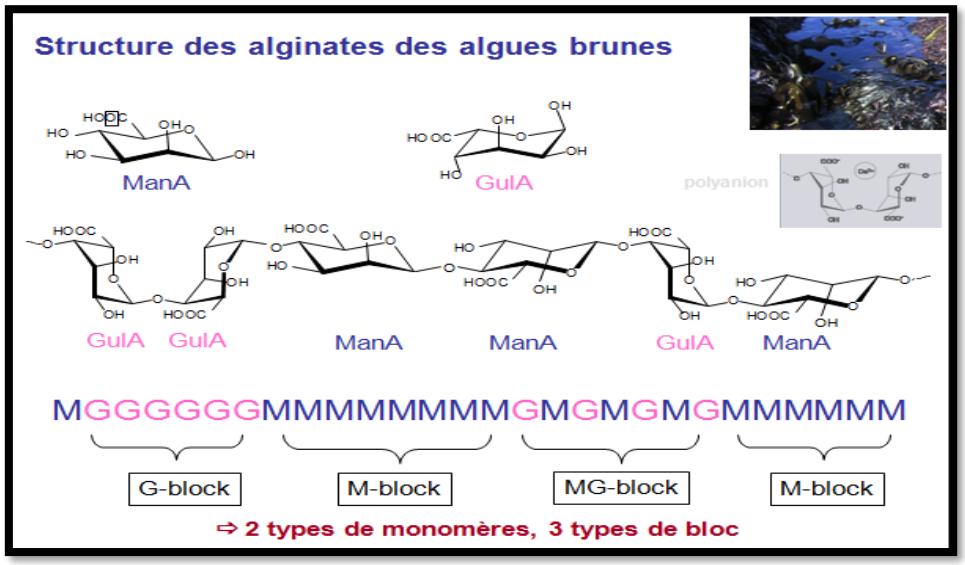


Figure I.11 Présentation de la structure d'alginate [47].

I.6.3. Propriétés physico-chimiques

a. Poids moléculaire

Le poids moléculaire des alginates de sodium commercialisés varie entre 32 000 et 400 000 g/mol [48].

b. Viscosité

La viscosité des solutions d'alginate est presque constante dans un pH compris entre 6 et 8, elle augmente en fur et à mesure que le pH diminue jusqu'à obtention d'une viscosité

maximale à pH allant de 3 à 3,5, cela est dût à la protonation des groupes carboxylates dans le squelette d'alginate, formant des liaisons hydrogènes [49, 50].

c. Rapport M/G

Le rapport acide mannuronique/acide guluronique varie de 0,5 à 2,5 [51].Ceci dépend de la source d'alginate, son emplacement**,** la saison de la collecte et la technique d'extraction [52].

d. Stabilité

L'alginate de sodium est hygroscopique ; par conséquent, la teneur en humidité s'équilibre rapidement avec l'humidité relative de l'eau [53]. La poudre d'alginate de sodium pur, stockée dans un endroit sec et frais, loin de toute lumière du soleil, peut avoir une stabilité de plusieurs mois. Tandis qu'à basse températures, elle peut être gardée plusieurs années sans réduction significative de son poids moléculaire [47].

e. Solubilité

L'alginate de sodium est soluble dans l'eau froide formant une solution colloïdale visqueuse. Il est insoluble dans l'alcool et dans les solutions hydro-alcooliques dans lesquels la teneur en alcool est supérieure à 30 % (m/m). Il est également insoluble dans les autres types de solvants organiques (chloroforme, éther…) [53].

La solubilité de l'alginate dépend fortement de pH et de la force ionique du solvant de dissolution

f. Gélification

La propriété la plus importante des alginates est leur capacité à former des hydrogels en présence de cations divalents (tels que Ca^{2+}ou Ba^{2+}) qui interagissent avec les groupes carboxyliques, présents dans le squelette d'alginate pour former des réticulations ioniques [54].

g. Pouvoir rotatoire

L'acide alginique, avec une constante de dissociation pK=20.10-5, se situe entre l'acide acétique le plus faible (pK=1,15.10-5) et l'acide monochloroacétique le plus fort (pK=l, 75.10-3). Il dérive la lumière à droite avec un angle de rotation a = -139° [51].

I.6.4. Applications

Les principales applications d'alginates sont résumées dans le tableau I.1.

Tableau I.2 : Principales applications d'alginates [55]

Domaine d'application	***Propriété***	***Exemple d'application***
Textile	Amélioration de rhéologie	Fabrication des teintures
Agro-alimentaire	Emulsifiant, gélifiant, Epaississant	Yaourt et crèmes glacées
Médical	Gélifiant - Modificateur de viscosité	- Inserts oculaires - Moulage dentaire - Remplissage vasculaire
Pharmacie	- Gélifiant, agent cicatrisant - Gélifiant, coagulant - Gélifiant, régulateur de pH	- Pansements cutanés - Pansements hydrostatiques - Pansements gastriques
Pharmaceutique	- Stabilisant, viscosifiant, liant, désintégrant	- Sirops, comprimés, capsules, crèmes, gels
Ingénierie tissulaire	- Vecteurs de délivrance	- Scaffold1
Cosmétique	- Agents adoucissant, filmogène, hydratant	- Préparation des crèmes et des parfums

Chapitre II :

Les antihistaminiques

II.1. Introduction

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

Les allergies, qu'elles soient cutanées (eczéma, urticaire), respiratoire (rhinite, asthme), ou oculaire (conjonctivites), concernent un grand nombre de professions et de secteurs d'activité [56].

Les manifestations allergiques sont dues à une exposition, même aux faibles niveaux, à un agent sensibilisant, pouvant être chimique ou biologique, d'origine animale ou végétale [57].

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

Ces symptômes peuvent persister même après arrêt de l'exposition allergène (cause d'allergie), comme dans certains cas d'eczéma. Ils ont tendance à s'aggraver avec le temps, lorsque le contact avec l'allergène est répété, prolongé au constant [58,59].

II.2. Généralités

II.2.1. Définition

Le mot: allergie a été utilisé pour la première fois en 1906 par Clemens Vos Piquet, qui désigna ce mot comme étant composé : (Allos) et (ergos) qui signifient une : autre façon de réagir, [59].

Après, une définition du mot allergie a été précisée, il s'agit de la réactivité différente pour l'hôte rencontrant un agent pour la deuxième fois [59].

Actuellement, le terme d'allergie est utilisé pour décrire une réaction excessive à des substances de l'environnement, qui sont inoffensives pour la plupart des gens mais qui induisent une réaction immunitaire à l'origine de divers symptômes chez les personnes prédisposées [60].

II.2.2. Types des maladies allergiques

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

a) L'asthme

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

Une autre définition plus large de l'asthme est selon l'OMS : c'est un désordre inflammatoire chronique de voies aériennes dans lequel de nombreuses cellules et éléments cellulaires sont responsables d'une augmentation de l'hyperréactivité bronchique variable, souvent intense et généralement réversible qui se manifeste spontanément ou sous l'effet d'un traitement [61].

b) La rhinite allergique

C'est une inflammation des muqueuses nasales d'étiologie. Selon la durée de l'exposition à l'allergène, la rhinite allergique peut être classée comme chronique, saisonnière ou professionnelle. Cette affection est très souvent associée à une physiopathologie dépendante des immunes globines E.

Le premier contact avec l'allergène correspond à une phase de sensibilisation, les contacts ultérieurs, dits déclenchant, induisent des manifestations souvent bi-phasiques, la phase immédiate est caractérisée par des éternuements, un prurit nasal, une rhinorrhé aqueuse et une obstruction nasale. D'autres éléments tels que la toux, les signes oculaires (picotement, larmoiement, prurit oculaire), l'irritation pharyngée et la gêne respiratoire peuvent aussi être accompagnés [62].

c) L'eczéma

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

Les personnes atteintes connaissent des périodes communément appelées poussées d'eczéma, ces poussées possèdent des durées variables, elles sont entrecoupées de périodes

de réémission. L'eczéma est souvent associé à l'asthme ou aux d'autres réactions allergiques [63].

II.3. Manifestations cliniques des allergies

La réaction allergique se manifeste de différentes façons. A côté du choc anaphylactique qui est l'expression la plus grave de l'allergie, se positionnent les manifestations respiratoires, cutanées, muqueuses et digestives [64].

a. Les urgences allergologiques

- ***Le choc anaphylactique :*** Le choc anaphylactique est un trouble hémodynamique grave, résultant le plus souvent de l'activation des immunoglobine E présentes sur les basophiles et les mastocytes. L'efficacité du traitement dépend de sa reconnaissance rapide et de l'injection immédiate d'adrénaline, associée aux mesures de remplissage vasculaire [65].

- ***L'oedème de Quincke :*** il est lié à une hypersensibilité immédiate de type I. C'est une crise allergique dangereuse et violente, il s'agit d'un œdème du tissu sous- cutané touchant généralement le visage, il se traduit par un gonflement avec une coloration rose ou rouge pale, dyspnée et insuffisance de la circulation sanguine. Dans certains cas où l'œdème touche la gorge, des troubles respiratoires peuvent survenir et un traitement urgent est nécessaire [66].

- ***Etat mal asthmatique :*** Il se caractérise par la crise sans aucune réémission au-delà de trois jours, la résistance à toutes les thérapeutiques et des signes cliniques de gravité.

Trois éléments cliniques sont dominants dans le déterminisme de la détresse respiratoire aigüe de l'état de mal : l'encombrement bronchique muqueux, la thérapeutique calmante intempestive, dont la nocivité est due à la fois à la dépression respiratoire centrale et à la sédation de la toux qui entraine une aggravation de l'encombrement bronchique [66, 67].

b. Les manifestations respiratoires

- ***La rhinite allergique***

La rhinite allergique représente un problème de santé publique, car la fréquence des rhinites allergiques est élevée de plus de 25 % des sujets dans les zones urbaines des pays en voie de développement. Ainsi, en 2008, plus de 500 millions de personnes souffrent de rhinite

allergique En France. Elle est de plus en augmentation constante, comme l'ensemble des maladies allergiques [68].

Il est important de souligner que la rhinite allergique est considérée comme un facteur de risque pour l'asthme. Une personne souffrant de rhinite allergique est 3 fois plus exposées au développement d'un asthme qu'un patient non allergique. De manière symétrique, la quasi-totalité (70%) des sujets asthmatiques ont une rhinite associée [68].

- ***L'asthme allergique***

L'asthme représente un problème majeur de santé publique avec une prévalence en augmentation ces 30 dernières années dans les pays industrialisés. C'est une maladie multifactorielle, présentant un large spectre de manifestations cliniques. Les phénotypes objectivement mesurables intervenant au déférent stade du processus physiologique tels que : le taux d'immunoglobuline E, la réponse aux allergènes, le nombre d'éosinophile, les mesures de la fonction vésicatoire et de la réactivité bronchique [69].

c. Les manifestations cutano-muqueuses

- ***La dermatie atopique***

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

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

- *Forme non allergique ou eczéma non-IgE dépendante* : Elle affecte les patients dont le taux sérique d'igE est faible et chez lesquels aucun allergène sensibilisant ne peut être détecté [70].

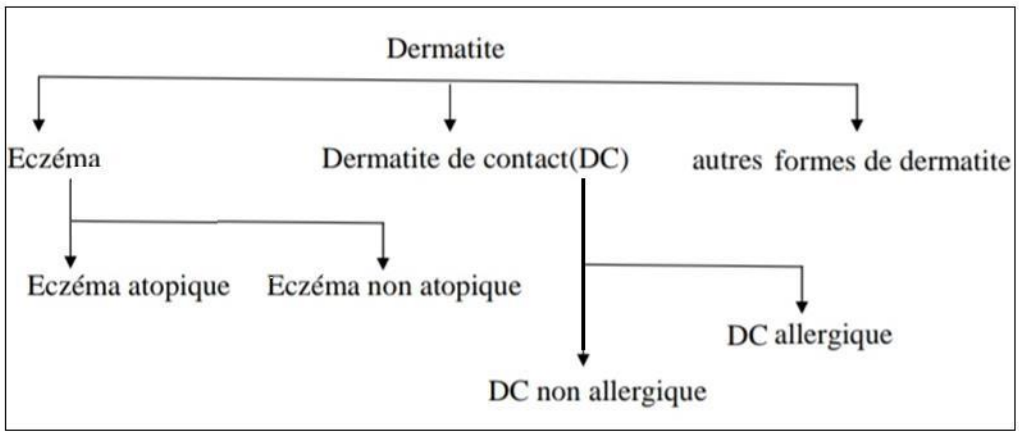


Figure II.1. Manifestations de la Dermatite atopique [70].

- ***L'eczéma de contact***

Elle fait intervenir un processus d'hypersensibilité retardé et associé à une éruption de plaques rouges, de petites vésicules à sérosités claires et un prurit, elle se développe ensuite en des ruptures des vésicules avec formation de croûtes. Parmi les acteurs de l'eczéma de contact, une haptène qui est une substance chimique réactogène non immunogène quand elle est seule [65]. Une haptène peut devenir immunogène, après sa fixation à un porteur qui est le plus souvent une protéine. Les haptènes peuvent être d'origine très diverse : végétale (lactones, huiles essentielles, etc.), animale (lanoline, etc.), synthétique (certains parfums, etc.), métallique (nickel, etc.), médicamenteuse (aminosides, pénicillines) [71].

- ***L'urticaire allergique***

L'urticaire est une allergie qui se manifeste au niveau de la peau par un œdème dermique. Il survient rapidement après l'ingestion d'un médicament ou d'un aliment et se manifeste par des lésions cutanées sous forme de petites papules rouges ou de plaques en relief sur la peau [67,72].

- ***La conjonctivite allergique***

Elles sont souvent associées à d'autres manifestations de l'atopie comme la rhinite ou l'asthme. Les conjonctivites allergiques sont regroupées en cinq formes cliniques [73]:

- Les conjonctivites saisonnières et perannuelles.
- La kératoconjonctivite vernale.
- La kératoconjonctivite vernale atopique.
- La conjonctivite giganto papillaires.
- Les réactions d'allergie de contact avec des atteintes palpébro- conjonctivales.

d. Les manifestations digestives

Elles sont observées lors d'une allergie alimentaire qui peut se traduit par des signes digestifs ou extradigestifs. Les signes sont variés, ils peuvent être des nausées, des vomissements, des troubles du transit, des douleurs abdominales, etc. [67,64].

II.4. Médicaments antihistaminiques

II.4.1 Définitions

a. L'histamine

L'histamine est un neuromédiateur largement impliqué dans les phénomènes inflammatoires et allergiques. Dans le corps, l'histamine est synthétisée à partir d'un acide aminé : histidine, où elle est stockée principalement dans des cellules immunitaires et les mastocytes, qui la libèrent lorsqu'ils sont stimulés par la présence d'un corps étranger comme un allergène.

Après la libération de l'histamine, elle agit en se fixant sur des récepteurs cellulaires qui lui sont propres. Ces récepteurs existent sous deux formes :

- ***Récepteurs de type 1 (H1)***

Ils sont présents dans tout le corps, ils provoquent les symptômes allergiques et ils sont impliqués dans l'inflammation (figure II.2).

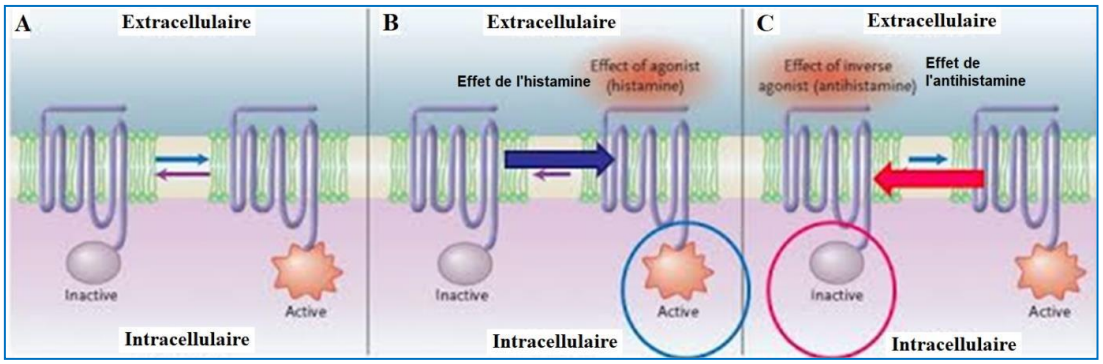


Figure. II.2. Récepteur de l'histamine H1 et action de l'antihistamine [74].

- ***Récepteurs de type 2 (H2)***

Ils sont présents au niveau de la paroi de l'estomac et sont responsables de l'acidité gastrique.

b. Les antihistaminiques

Un antihistaminique est un médicament qui sert à réduire ou à éliminer les effets de l'histamine. Ce médiateur chimique endogène est libéré notamment lors de réactions allergiques. Il est impliqué dans la régulation de la vigilance et dans la sécrétion gastrique.
Les antihistaminiques sont utilisés pour leurs propriétés antagonistes de l'histamine. Ces agents antagonistes peuvent êtres des antagonistes compétiteurs des récepteurs H1, des antagonistes compétiteurs de récepteur H2 ou d'autres types d'antagonistes [75].

II.4.2. Classification

a. Les antihistaminiquesH1

Ces antihistaminiques englobent ceux de la1^{ère} et de la 2èmegénération, ils sont des bloqueurs du récepteur H1 à l'histamine. Ils sont actifs dans les cas d'allergie comme les symptômes de rhinite (en dehors de l'obstruction nasale), de conjonctivite, sur le prurit, sur les nausées et les vomissements. Ils n'ont aucun effet significatif sur l'asthme. Les antihistaminiques H1englobent les groupes suivants : alkyl amines, éthanol amine, Ethylène diamines, phénothiazines, pipérazines et pipéridines.

Ils sont généralement à base des sous-groupes suivants : cétirizine et loratadine. l'hydroxyzine, la dexchlorphéniramine et la prométhazine [76].

b. Les antihistaminiques H2

Ils agissent sur les récepteurs H2. Ils sont indiqués en cas d'ulcère de l'estomac et du duodénum, mais également en présence d'un reflux gastro-oesophagien et d'acidité gastrique. Ils agissent de manière limitée sur les symptômes allergiques. Ces antihistaminiques peuvent prévenir les ulcères de stress survenant parfois après certaines interventions chirurgicales. Des effets indésirables de quelques antihistaminiques H2 comme la cimétidine peut être détectée, il s'agit particulièrement de la néphrite interstitielle et d'hépatite. La cimétidine retarde le métabolisme hépatique de divers médicaments, notamment des anticoagulants coumariniques, de certaines benzodiazépines, de certains β-bloquants, de la phénytoïne et de la théophylline [74].

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

c. Autres antihistaminiques

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

Les antagonistes antis cholinergiques sont des inhibiteurs compétitifs. Ils sont utilisés dans le traitement de la broncho-pneumopathiechronique obstructive. En cas d'asthme, ils peuvent exercer un certain effet additif et constituent une alternative thérapeutique en cas de contre-indication aux β2- mimétiques. La forme aérosol permet de réduire les effets indésirables gênants qui se manifestent lors de l'usage des anticholinergiques par voie générale (sécheresse de la bouche, troubles de l'accommodation et de la miction) [77].

II.4.3. Mécanisme d'action

a. Les antihistaminiques H1

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

Ces médicaments ont une biodisponibilité moyenne, une demi-vie variable (pouvant être prolongée, jusqu'à 30 heures). Ce sont des molécules lipophiles, ils passent la barrière hémato-encéphalique, expliquant leur effet sédatif, contrairement aux antihistaminiques récents. Du point de vue pharmacodynamique, les antihistaminiques H1 présentent les effets cliniques suivants :

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

En effet, autres effets pharmacologiques de ces substances est reflètent par le blocage en règle générale d'autres types de récepteurs, sérotoninergiques, adrénergiques α, muscariniques, etc. [78].

b. Les antihistaminiques H2

Les antihistaminiques H2 diminuent donc la sécrétion acide gastrique en bloquant les récepteurs de l'histamine au niveau de la cellule pariétale, sans toutefois la supprimer totalement puisqu'elle peut être provoquée par d'autres messagers.

Ils réduisent donc l'acidité gastrique un peu moins que les inhibiteurs de la pompe à protons (IPP) (90 % contre 100 %). De plus, leurs effets indésirables peuvent être très sévères. Ils peuvent entraîner une bradycardie (blocage des récepteurs H2 cardiaques) [77].

II.5. Kétotifène fumarate

II.5.1 Définitions

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

La molécule de fumarate de Kétotifène se caractérise par un fort effet antagoniste sur le récepteur de l'histamine H1 et par un effet inhibiteur de la libération du médiateur de la réaction allergique. Comme elle inhibe la libération de divers types de médiateurs des mastocytes, des basophile et des macrophages, y compris la libération de substances à réaction lente et d'autre substances actives [79].

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

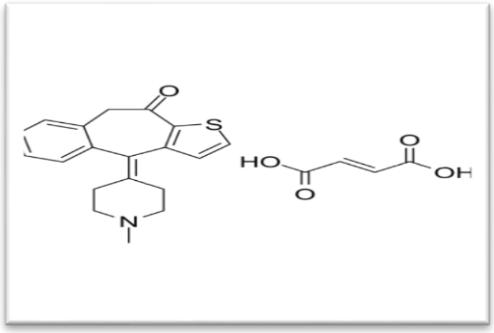


Figure.II.3 Structure chimique de la molécule de kétotifène fumarate [80].

II.5.2. Propriétés physicochimiques

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

Tableau. II.1 : Propriétés physico-chimiques de kétotifène fumarate [80, 81].

Caractéristique	**Valeur/Description**
Masse moléculaire	425.5 (g/mol)
Aspect	Poudre cristalline blanche (ou jaune claire), inodore, gout amer
Solubilité	Eau, éthanol : peu soluble Méthanol : facilement soluble très chloroforme acétone : très peu soluble
pka	8.43
Point de fusion	192° C
pH (10g/L) à 25°c	3.0 - 4.0
Propriétés spectroscopiques	
Absorption dans l'UV-vis	λ max (milieu acide) = 297 nm
	λ max (milieu basique) = 237,302 nm
Spectre IR ($\bar{\nu}$, cm^{-1})	1650, 1280, 1255, 1302, 1720, 1180

II.5.3. Formes galéniques

Actuellement le kétotifène fumarate existe sous trois formes pharmaceutiques : sirop, comprimés pelliculées et gélules. Ces médicaments sont destinés aux différentes catégories allant du nourrisson à l'adulte et ceci aux doses variées.

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

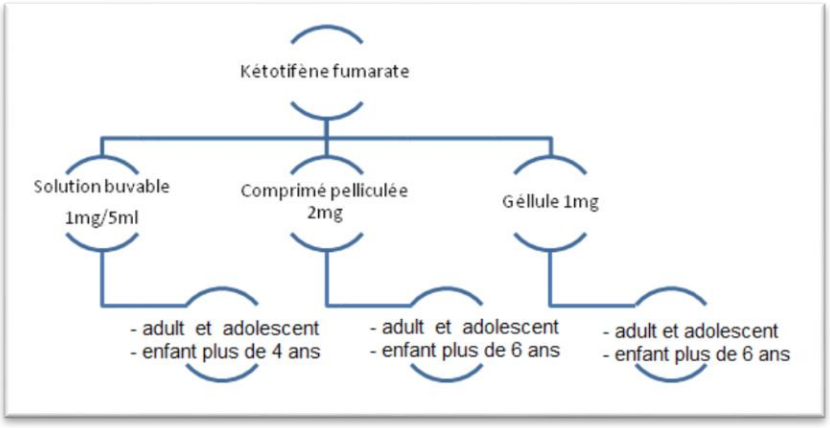


Figure.II.4 Organigramme schématisant les formes galéniques du médicament à base kétotifène fumarate.

Ainsi, les médicaments commercialisés à base de kétotifène fumarate sont listés dans le tableau II.2.

Tableau.II.2 : Médicament contenant le PA kétotifène fumarate [83].

Gammes contenant la substance KF
Ketazed
Ketotifene Thea
Monoketo
Zaditen
Zagrapa
Zalerg

II.5.4. Pharmacodynamique

Kétotifène est un antihistaminique à action inhibitrice non compétitive sur les récepteurs histaminiques H1. Le médicament a également une activité de stabilisation sur les mastocytes, empêchant la libération d'histamine, avec un effet similaire à celui de cromoglycate. Il a également des activités anti-leucotrienica Fonctionnelle et l'inhibition

de la libération de médiateurs chimiques par les mastocytes impliqués dans des réactions d'hypersensibilité, la réduction de l'activation des éosinophiles et leur flux vers le site de l'inflammation. Enfin, le médicament a une activité inhibitrice sur phosphodiestérase (Effet similaire à celui de théophylline) [82].

II.5.5. Pharmacocinétique

Après administration oral kétotifène est absorbée par tractus gastro-intestinal donc pratiquement complète. Cependant, le médicament, subit un important effet de premier passage foie, ce qui limite la biodisponibilité à environ 50%. Biodisponibilité ne semble pas être affectée par la prise concomitante d'aliments. Chez les adultes concentration plasmatique maximale du médicament est atteint entre 2 et 4 heures. Chez les enfants, le pic de concentration maximale est prévu entre 1 et 2 heures. Le médicament se lie à protéines plasmatiques la mesure de 75%.

L'élimination de kétotifène apparaît biphasée : l 'demi-vie court est d'environ 3-5 heures, qui a prolongé d'environ 21 heures. Le métabolisme du kétotifène se produit dans le foie avec les processus de déméthylation glucoronoconiugazione et qui donnent lieu respectivement aux kétotifène-N-glucuronide, inactive, et nor-kétotifène, le métabolite actif. Les 60-70% de la doseadministrée est éliminée dans l'urine, principalement sous forme de métabolites inactifs, dans les 48 heures. Un pourcentage variable de 30 à 40% de la dose est excrété dans les matières fécales [82].

II.5.6 Utilisations cliniques

Le kétotifène est utilisé dans le traitement de rhinite allergique, de rhume des foins, de l'asthme allergique, de l'urticaire idiopathique chronique, des différents types d'allergies de la peau qui causent démangeaison comme la dermatite atopique ou les piqûres d'insectes. Sous forme de gouttes pour les yeux l'utilisation est réservée au traitement de la conjonctivite allergique. Le kétotifène trouve également une utilisation dans la prophylaxie de l'asthme [82].

II.5.7. Effets secondaires indésirables

Au cours du traitement ont été signalés sédation et somnolence diurne excessive, bien que dans une moindre mesure par rapport aux antihistaminiques de première génération et en particulier au début du traitement mal de tête, vertiges, nausée, vomi, dyspepsie, brûlures d'estomac, bouche sèche, augmentation de l'appétit et le gain de poids sont d'autres effets secondaires relativement courants [82]

II.5.8. Mécanisme d'action

Le kétotifène est un antihistaminique, antagoniste des récepteurs H1 à l'histamine. Les études réalisées in vivo chez l'animal et les études réalisées in vitro suggèrent des mécanismes d'action additionnels telle la stabilisation de la membrane mastocytaire et l'inhibition de l'infiltration, de l'activation et de la granulation des éosinophiles [83].

Chapitre III :

Matériel et méthodes

III.1. Introduction

Dans l'intérêt d'une encapsulation, Le présent travail a pour but d'étudier la possibilité de concevoir et de préparer des microparticules à base d'alginate de sodium contenant du kétotifène fumarate (KF) par la technique de gélification.

Cependant, la réussite thérapeutique de ce traitement dépend de sa biodisponibilité étant donné sa faible solubilité dans l'eau et par conséquent de la solubilité du principe actif en milieux gastro-intestinal simulés, conduisant à un faible taux de dissolution et une faible absorption. L'efficacité thérapeutique pouvant alors être limitée par une étroite fenêtre d'absorption dans le tractus gastro-intestinal comme c'est le cas pour de nombreux principes actifs qui voient leur absorption limitée au début de l'intestin grêle.

Dans une première étape, nous avons tenté d'appliquer la technique d'émulsification-gélification externe, où nous avons abouti à formuler neufs (09) émulsions (eau/huile) puis une gélification des chaines d'alginates de sodium à l'aide des ions Ca^{2+}. Cependant, la préparation des microsphères contenant le KF n'a pas achevé pour des contraintes expérimentales.

Ensuite, nous avons passé aux essais de formulation par gélification iontropique, qui consiste en l'association de l'alginate de sodium et le chlorure de calcium à des concentrations variables, ensuite une étape d'enrobage par le chitosane a été effectuée afin d'améliorer la qualité des particules formulées .Ainsi, ce procédé conduisant à la formation des billes qui sont ainsi caractérisées microscopiquement. De ce fait, l'objectif principale de notre travail, est defixerle domaine expérimental dans lequel nous pouvons envisager lancerons formulations en vue d'obtenir la formule optimale.

III.2 Matières premières

La préparation des particules a nécessité l'utilisation d'un panel de matières premières citées dans le tableau III.1.

Tableau III.1 : Matières premières utilisées dans le procédé d'encapsulation.

Matière	Rôle
Alginate de sodium	Polymère matriciel
Kétotifène fumarate	Principe actif
Chitosane	Polymère d'enrobage
Eau distillé	Véhicule
Span 80	Agent d'émulsifiant
Huile de paraffine	Phase huileuse

III.2.1 Principe actif

Il s'agit de la substance présente dans le médicament qui lui confère sa propriété thérapeutique ou préventive. Cette substance n'est pas obligatoirement pure, elle peut être composée de plusieurs isomères.

Le kétotifène est une substance chimique employée comme antagoniste des récepteurs H1 de l'histamine. Elle est utilisée dans le traitement d'allergie, de l'asthme, du rhume des foins et de l'Ang œdème. Elle est commercialisée sous forme de kétotifène fumarate. Les différentes caractéristiques physico - chimique sont résumées dans le tableau II.1.

III.2.2 Excipients

a. Huile de paraffine

Huile d'origine minérale constituée d'hydrocarbures saturés. Elle est utilisée dans les Préparations pharmaceutiques, cosmétologiques et vétérinaires. Et comme graissage de matériels de l'industrie et Auxiliaire de condensation dans l'extraction des oléagineux.

Selon la pharmacopée Européenne, les principales caractéristiques de l'huile de paraffine sont résumées sur le tableau III.2.

Les caractéristiques physico-chimiques de paraffine sont mentionnées dans le tableau III.2.

Tableau. III.2 : Caractéristiques physico-chimiques de l'huile de paraffine.

Caractéristique	Unité	Description ou valeur
Aspect	---	Très fluide
Couleur	----	Incolore
Odeur	----	sans
Gout	----	Intense au fruit vert
Miscibilité	---	Non miscible a l'eau
Viscosité à 20 °C	Cp	30.8-91.4
Masse volumique à 20 °C	kg/cm^3	810-875

b. Alginate de sodium

Les alginates sont obtenus sous forme de poudre à partir des algues brunes, par une extraction alcaline en utilisant du carbonate de sodium, de l'hydroxyde de sodium ou de l'hydroxyde d'aluminium gélatineux à pH supérieur à 6,0.

L'alginate de sodium est utilisé dans les formulations galéniques à libération immédiate avec effet systémique soit comme agent de liaison soit comme désintégrant.

Le tableau III.3, récapitules les principales caractéristiques physico-chimiques de l'alginate de sodium.

Tableau III.3 : Caractéristiques physico-chimiques d'alginate de sodium.

Caractéristique	**Valeur**
Aspect	Poudre fibreuse
Couleur	Blanche à jaune
Gout	Sans
Formule	$(C_6H_8O_6)_n$
Masse molaire	20000 à 240000 g/mol
Masse volumique	1.601g/cm3
Solubilité	-Insoluble dans : éthanol, éther, chloroforme, solvants organique -solution colloïdale : l'eau
Point de fusion	300
Viscosité (1 g/l)	15-25

c. Span 80

Il appartient de la famille des esters de sorbitane (classe de tensioactifs non ionique). Il est utilisé comme émulsifiant dans la préparation des émulsions eau dans huile.

Les paramètres de ce tensioactif sont décrits dans le tableau III.4.

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

Caractéristique	Valeur
Aspect	Liquide visqueux
Couleur	Jaune brunâtre
Forme brute	$C_{24}H_{44}O_6$
Masse molaire	428.60 g/mol
HLB	4.30
Point d'ébullition	>100°C
Point d'éclair	>149°C
Miscibilité	Non miscible avec l'eau

d. Chitosane

Le chitosane est une substance dérivée de la chitine, composant principale de la carapace des insectes et des crustacés. La présence des fonctions OH et NH_2 dans le chitosane permet sa modification chimique et l'obtention d'une diversité de dérivés. Le tableau III.5, énumère les principales applications du chitosane.

Tableau III.5 : Principales applications du chitosane.

Domaine d'application	Exemple
Emballage	Production des papiers
Pharmacie	Pansements, peau artificielle réparation osseuse
Agriculture	Traitements phytopathogènes
Bio textiles	Textiles bactériostatique
Cosmétique	Hydratant, anti bactérien, cicarisant
Traitement des eaux	Coagulant

Le tableau III.6, récapitules les caractéristiques physico-chimiques du chitosane.

Tableau III.6 : Caractéristiques physico-chimiques du chitosane.

Caractéristique	Valeur
Aspect	Poudre amorphe
Odeur	Sans
couleur	beige
Solubilité	-Insoluble : dans l'eau et les solvants organique - soluble dans les acides dilués
Degré de dés- acétylation	75-85 %
Poids moléculaire	190-310 kDa
Viscosité a 1% dans l'acide acétique a 1%(25°C)	200-800 cps

III.2 .3. Autres réactifs chimiques

Tous les autres réactifs chimiques utilisés sont inclus dans le tableau III.7

Tableau III.7 : Réactifs chimiques utilisés.

Réactif	Formule	Masse molaire (g/mole)	Fournisseur
Acide acétique glacial	$C_2H_4O_2$	60	KGaA Allemange
Acide chlorhydrique	HCl	36.458	Honeywell FLUKA
Acétate de sodium	$C_2H_3NaO_2$	82.0343	VWR Chemmical
Chlorure de potassium	KCl	74.5513	VWR CHMICALS
Chlorure de calcium	$CaCl_2$	110.98	HUMISTORE
Dihydrogénophosphte de potassium	KH_2PO_4	136.086	VRW CHMICALS
Dihydrogénophosphate de sodium	$NaHPO_4$	119.98	VRW International SAS
Hydrogénophosphate de potassium	Na_2HPO_4	135.086	VRW Analrnormapur
Chlorure de sodium	NaCl	58.44	Analarnormapur VWR
Tween 80	$C_{64}H_{124}O_{26}$	----	TITAN BIOTECH LTD

III.2.4. Matériel utilisé

Il s'agit de la verrerie et des accessoires de paillasse, et les équipements sont énumérés dans le tableau III.8.

Tableau III.8: Equipements utilisés dans la préparation et la caractérisation des microparticules d'alginate.

Matériel	Marque
Balance électrique	Sartorius
Agitateur magnétique	SCIENTIFICA
Spectrophotomètre infrarouge a transformée de Fourier (FTIR)	SHIMADZU
Spectrophotomètre UV-Vis	(UV mini-1240
Microscope optique	SHIMAD
Pied à coulisse	Oiesella
pH mètre	HANNA
Conductimètre	WTW

III.3. Méthodes expérimentales et techniques de caractérisation

III.3.1. Caractérisations spectrales des matières premières

a. Caractérisation par UV-Vis

- ***Principe***

La spectroscopie UV-Visible se réalise à l'aide d'un spectrophotomètre (FigureIII.1). Lorsque la cuve contenant la solution est placée dans un spectroscope, elle reçoit un rayonnement d'intensité (I_0). Une partie de cette lumière incidente notée (I_0) est absorbée par le milieu et le reste, noté (I), est transmis. L'intensité (I) du rayonnement issu de la cuve est donc inférieure à l'intensité du rayonnement initial (I_0). La fraction de la lumière incidente absorbée par une substance de concentration C contenue dans une cuve de longueur (l) est donnée par la loi de Beer-Lambert (III.1):

$$A = \log I_0/I = \varepsilon_{\lambda}.C.\ l \qquad \text{(III.1)}$$

Avec :

A : Absorbance de la lumière monochromatique.

C : Concentration du soluté (mg/L).

l : Trajet optique (cm).

L'analyse quantitative par la spectrométrie UV-visible est très utilisée grâce à l'utilisation de la loi de Beer-Lambert.

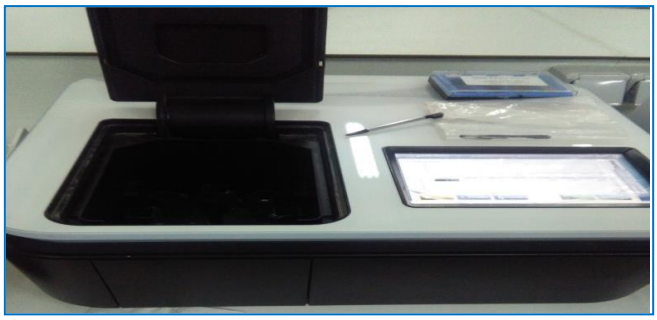


Figure III.1 Spectrophotomètre UV-visible utilisé dans notre étude**.**

- ***Mode opératoire***

Il se résume dans la détermination de la longueur d'onde et l'établissement de la courbe d'étalonnage.

Au premier lieu, le balayage a été effectué pour des solutions aqueuse de 20mg/L de PA aux pH 1.2, 7.4 et l'eau distillée. La courbe obtenue permet d'identifier la valeur de la longueur d'onde max de la molécule de PA.En seconde lieu, et aux longueur d'onde maximales identifies, on mesure les DO pour une série de solution aqueuse préparées aux pH 1.2 ,7.4 et dans l'eau distillée de concentrations allant de 10 à 50 mg/L. Les courbe d'étalonnage obtenues s'expriment par la variation de la DO en fonction de la concentration de PA.

b. Caractérisation par FTIR

- ***b.1. Principe***

La FTIR est une technique analytique efficace pour identifier rapidement la famille chimique d'une substance et de mesure basé sur l'analyse d'un rayonnement infrarouge à travers l'échantillon. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer une topographie des fonctions chimiques présente dans le matériau.

L'interaction possible entre le médicament et les polymères peut être évaluée en utilisant la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) dont le principe est donné sur la figure III.2. Les spectres FTIR sont obtenus à température ambiante par réflectance diffuse de poudre sur un spectromètre FTIR.

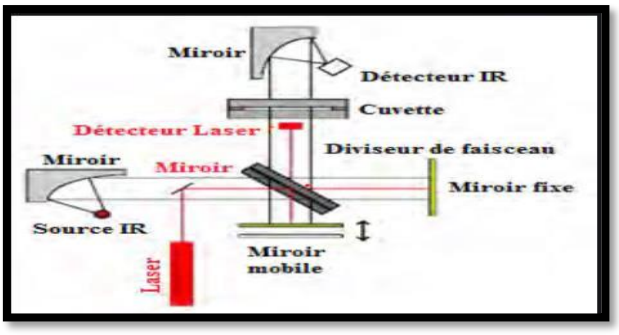


Figure III.2 Schéma de principe du spectromètre FTIR [84]

b.2. Mode opératoire

On prépare des pastilles de KT/ KBr, alginate Na/KBr et de chitosane/KBr avec une proportion de 1%(m/m). Tous les échantillons ont été préalablement séchés à l'étuve à 50°C pendant 6h. Les microparticules sont broyées à l'aide d'un pilon dans un mortier en verre, la matière broyée se mélange à l'aide du bromure de potassium (1% m/m). Les pastilles de KBr sont fabriquées en appliquant une pression de 6000 kg/cm^2 et sont ensuite analysées à l'aide d'un spectrophotomètre IR dans la plage de 400– 4000 cm^{-1}. Sur les spectres obtenus, les pics caractéristiques des groupements fonctionnels doivent être parfaitement individualisés pour chaque composé, toute autre modification est synonyme d'interactions chimiques et/ou apparition de nouveaux groupements fonctionnels.

III.3.2. Préparation des microparticules

a. Préparation des solutions tampon [85]

- ***Solution tampon acétate pH4.5*** : Dans une éprouvette graduée de 1 L, introduire 800 ml d'eau distillée et ajouter 2,99 g d'acétate de sodium puis laisser sous agitation jusqu'à dispersion totale de la poudre. (Mesurer le pH de la solution).
- ***Solution tampon pH 1.2 :*** Cette solution se compose de chlorure de potassium et l'acide chlorhydrique (50ml de KCl à 0,2 N+85ml d'HCl à 0,2N) dans 200ml d'eau distillée. (Mesurer le pH de la solution).
- ***Solution tampon pH 7.4 :*** Cette solution contient 2.315 g de sodium Hydrogénophosphate de sodium anhydre (Na_2HPO_4) et 4.358 g de dihydrogenophosphate de sodium anhydre (NaH_2PO_4) dans 800ml d'eau distillée. Le pH final de la solution est ajusté avec une solution d'acide phosphorique ou une solution de NaOH à 0,1M. Le volume final de la solution est ajusté à1000 ml avec l'eau distillée.
- ***Solution tampon saline pH7.4 :*** Cette solution contient 2.38g de Na_2HPO_4 .$12H_2O$ (ou l'équivalent de Na_2HPO_4anhydre), 0.19g de KH_2PO_4et 8g de NaCl dans 1000ml l'eau distillée. (Mesurer le pH de la solution). Une solution de NaOH à 0,1M. Le volume final de la solution est ajusté à1000 ml avec l'eau distillée.

b. Essais de développement pharmaceutique (pré-formulation)

- ***Emulsification-Gélification externe***

Dans une première étape nous avons tenté de formuler des microparticules par la technique d'émulsification-gélification externe. Nous avons appliqué pour optimiser ce procèdes, la méthode de Taguchi, pour ce faire nous avons considérés quatre paramétrés à savoir : la

concentration de kétotifène fumarate, alginate de sodium, chlorure de calcium et la proportion de phase huileuse, ces paramètres ont été pris à trois niveau (Tableaux. III.9 et III.10).

Tableau III.9 : Paramètres et niveaux choisis pour la préparation des microsphères de KF.

Matières / *Niveau*	**KF** **mg** (100 ml)	**Alg Na (%) (g/100ml)**	**Huile de paraffine, %**(v/v)	**$CaCl_2$ (mol/L)**
1	100	1.5	50	2
2	2500	2.25	65	2.5
3	400	3	80	3

Tableau III.10 : Compositions des différents essais (L9).

Essais	**KT**	**Alg Na**	**Huile de paraffine**	**$CaCl_2$**
1	1	1	1	1
2	1	2	2	2
3	1	3	3	3
4	2	1	2	3
5	2	2	3	1
6	2	3	1	2
7	3	1	3	2
8	3	2	1	3
9	3	3	2	1

- **Émulsification**

✓ **Principe du procédé d'émulsification :**

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

✓ **Mode opératoire**

1. Préparation de la phase aqueuse

Différentes solutions aqueuses (contenant une masse de PA : kétotifène fumarate) d'alginate de sodium aux différentes concentrations sont préparées : la dissolution d'alginate se fait sous agitation magnétique (Figure III.3).

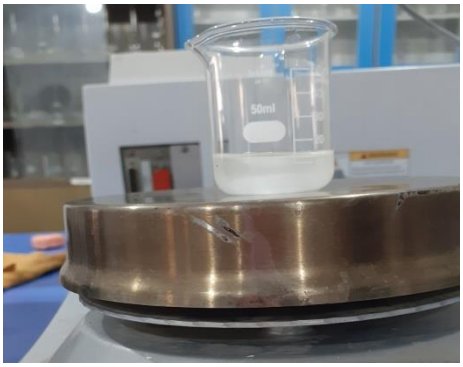


Figure III.3 Phase aqueuse : KF + Alg Na.

2. Préparation de la phase organique

Le span 80 est dispersé à une concentration bien déterminée dans l'huile d'olive. Le mélange est porté sous agitation magnétique (Figure III.4).



Figure III.4 Phase organique: huile de paraffine + Span 80.

3. Préparation de l'émulsion E/H

Un volume de la phase aqueuse est ajouté à l'aide d'une seringue dans la phase huileuse. Le mélange est homogénéisé à une vitesse de 1000 tr/min pendant 5 min (Figure III.5).

Pour obtenir la meilleure émulsion, on désire optimiser les paramètres dont dépend la formulation. Pour ce faire, nous allons appliquer la méthode de TAGUCHI, Les paramètres ciblés sont : la concentration du principe actif, alginate de sodium, chlorure de calcium et la proportion de la phase huileuse. D'où un plan d'expérience de trois paramètres à 3 niveaux qui en résulte un nombre total d'expériences égale à : L = 9 essais.



Figure III.5 Préparation d'émulsion eau dans huile.

4. Caractérisation des formulations

Les émulsions préparées ont été caractérisée par :

- Microscopie optique

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

- **Micro-encapsulation par gélification**

Les étapes de gélification se résument comme suit :

- L'émulsion E/H est ajoutée à l'aide d'une seringue à une solution de $CaCl_2$ portée sous agitation à 200 tr/min.

- Le mélange : émulsion-$CaCl_2$ est filtré à l'aide d'un papier filtre. Les microsphères récupérées sont lavées avec une solution $CaCl_2$ (1mM) contenant 1% de tween 80, puis à l'eau distillée, comme l'indique la figure III.6.

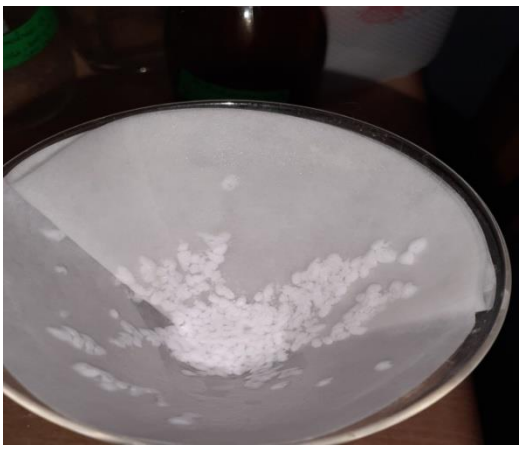


Figure III.6 Lavage, filtration et récupération des billes.

- Les microsphères obtenues sont séchées à la température (25 °C) pendant 48h puis conservées dans un dessiccateur.

6. Enrobage des microsphères

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

- ***Gélification ionotropique***

Bien que la méthode de gélification iontropique soit utilisée depuis de nombreuses années, la formation de perles d'alginate de taille souhaitée et de forme sphérique nécessite souvent quelques essais au préalable, car si les conditions ne sont pas optimales, des perles déformées ou avec une queue risquent d'être produites.

Dans cette partie, nous avons réalisé plusieurs essais en s'appuyant sur des études antérieures. Plusieurs paramètres ont été variés afin d'obtenir les perles les plus sphériques et préférentiellement de taille micrométrique.

- **Technique de formulation des billes d'alginate**

Le procédé utilisé pour la préparation des microsphères est le procédé d'extrusion goutte à goutte par une méthode de gélification ion tropique. Le choix de ce procédé repose sur des essais de faisabilité à l'échelle laboratoire, viendront d'autres critères de choix tels que la simplicité et la disponibilité du matériel nécessaire à notre niveau.

Cette méthode nous a permet de former des billes capables d'encapsuler différentes matières et substances actives. Elle doit passer par les étapes suivantes :

- Préparation de la solution d'alginate
- Préparation de la solution de chlorure de calcium
- Protocole de préparation des perles d'alginate

Tout procédé obéit à un protocole. En ce qui concerne la formation des billes, la solution d'alginate est introduite dans une seringue, munie d'une aiguille. La solution aqueuse d'alginate est ensuite versée goutte à goutte dans un bain d'une solution de chlorure de calcium, à une distance (distance entre la pointe de l'aiguille et la surface de la solution de réticulation). La gélification est instantanée et les billes qui se forment et augmentent en nombre s'accumulent au même endroit (risque de colmatage), ce qui nécessite une agitation.

Après épuisement de la solution d'alginate, une faible agitation est maintenue quelques minutes, avant de laisser le mélange (billes d'alginate dans la solution de chlorure de calcium) au repos pour un temps de maturation prédéfini, pour une gélification complète.

Après maturation, les billes sont filtrées et lavées plusieurs fois à l'eau distillée dans le but d'éliminer le calcium en excès. A la fin, elles sont toutes séchées à l'air libre (20 ± 2°C).

- ***Méthode de Taguchi***

Vient pour enrichir les méthodes de plan expériences en apportant une amélioration considérable aux plans factoriels complets et fractionnaires. Elle simplifie le protocole expérimental pour mettre en évidence les effets de facteurs sur la réponse. La méthode de Taguchi se distingue par une réduction importante du nombre d'essais, tout en gardant une bonne précision. Elle place le modèle comme un élément clef de la stratégie du plan d'expériences. L'expérimentateur choisit librement les facteurs et interaction à étudier selon le modèle qu'il propose, en étroite adéquation avec ses objectifs.

- ***Principe***

Cette partie est basée sur une optimisation des concentrations de polymère, de PA et de la concentration de $CaCl_2$, en utilisant la méthode de Taguchi pour obtenir les billes de bonne qualité (en termes de paramètres d'encapsulation), on désire optimiser les paramètres dont dépend la formulation. En appliquant cette méthode, à partir de 3 paramètres à 3 niveaux, nous avons réalisé un nombre d'expériences égales à 9 essais (L9).

Les tableaux III.11 et III.12, illustrent les niveaux des trois paramètres étudiés et les différentes combinaisons correspondantes respectivement.

Tableau III.11 Paramètres et niveaux choisis pour la préparation des microsphères de KF

Paramètre / ***Niveaux***	***KF (100 ml)***	***Alginate, Na (%) (g/100ml)***	***$CaCl_2$ (mol/L)***
1	100	1%	0.5
2	250	1.5%	1
3	400	2%	1.5

Tableau III.12 : Compositions des différents essais (L9)

Essais	**KF**	**Alg Na**	**$CaCl_2$**
1	1	1	1
2	1	2	2
3	1	3	3
4	2	1	2
5	2	2	3
6	2	3	1
7	3	1	3
8	3	2	1
9	3	3	2

- ***Calcul des effets moyens***

Si on considère le paramètre A de niveaux i, la formule générale de calcul de l'effet moyen est donnée par l'expression (III.2) :

EAi = Moyenne des repenses lorsque A est au niveau i ─ Moyenne générale (III.2)

- ***Calcul des interactions***

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

Interaction entre le paramètre A au niveau i et le paramètre B au niveau j est donné par l'expression (III.3).

INAiBj =Moyenne des réponses lorsque (A=i, B=j) – MG – Eai – ABj (III.3)

Avec :

MG : Moyenne générale des résultats obtenus

- **Représentation graphique des interactions**

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

De ce fait, le point sur le graphe se situe à la valeur calculée de l'expression III.4, et est considérée pour les paramètres X1 et X2 aux niveaux i et j respectivement.

MG + EX1(i) +EX2 (j) + INX1 (i) X2 (j) (III.4)

III.3.3. Caractérisation des billes d'alginate obtenues

a. Aspect macroscopique

Pour les différents essais de formulation réalisés, l'aspect macroscopique des microparticules (billes) obtenues est observé visuellement pour vérifier la taille, la forme, l'état de surface et la couleur des échantillons préparés (opaque ou transparent). Elles sont analysées à l'état humide et après séchage.

b. Quantification du KF encapsulé [85]

50 mg de microparticules séchées sont immergées dans 12,5 ml de 0.01 M solution tampon phosphate saline (pH 7,4) et mises dans un flacon ambré. Ce mélange est agité à 200 tr / min pendant 24 h. Ensuite, la solution sera centrifugée à 5000 tr/min et le surnageant sera recueilli pour calculer la quantité de PA présent dans les billes. Le contenu de PA sera calculé à partir de l'absorbance mesurée à une longueur d'onde d'absorption maximale (λmax) par spectrophotomètre UV-Vis, en utilisant une cuvette en quartz avec une longueur de trajet optique de 1cm.

Les paramètres d'encapsulation sont :

$$\textit{Rendement encapsulation (\%)} = \frac{m(microsphéreobtenues)(g)}{mpolymères + m_{PA}introduit(g)} \times 100 \qquad \text{(III.5)}$$

$$\textit{Teneur en PA (\%):} \text{Teneur de PA} = \frac{m\,(actifencapsulé)}{m(\,particules)} \times 100 \qquad \text{(III.6)}$$

$$\textit{Taux d'encapsulation (\%) :}\ \text{TE (\%)} = \frac{C0 - Cn}{C0} \times 100 \qquad \text{(III.7)}$$

Avec :

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

Cn: Concentration de KF non encapsulé (mg/L) (calculé à partir de la DO mesurée après filtration des particules gélifiées).

c. Etude du gonflement des particules [85]

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

Milieu 1 : solution tampon pH=1.2.

Milieu 2 : solution tampon pH=7.4.

Le mode opératoire consiste à réaliser les étapes suivantes :

- Peser environ 10 mg (n fois) de particules sèches sur une balance analytique de précision.
- Incorporer ces particules dans 5 ml du milieu de dissolution.
- A des intervalles de temps réguliers (15 min pendant la 1erh puis chaque 1h jusqu'à 6h), les particules sont retirées du milieu de dissolution, posées sur du papier absorbant pour enlever l'excès de liquide ;
- Peser les microparticules obtenues à l'aide d'une balance analytique de précision.

Le taux de gonflement (TG) est calculé en utilisant la formule de l'expression III.8 :

$$TG\ (\%) = \frac{mf - mi}{mi} \times 100 \qquad \text{(III.8)}$$

Avec :

mi : Masse initiale de PA, (mg)

mf : Masse finale de PA, (mg)

d. Analyse par FTIR

Cette analyse a été réalisée sur les microparticules, l'alginate de sodium, le KF et le chitosane après séchage à l'étuve à 50°C pendant 6h.

Chapitre IV :

Résultats et discussions

VI.1. Introduction

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

IV.2. Caractérisation des matières premières

IV.2.1 Analyse par UV-Vis

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

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

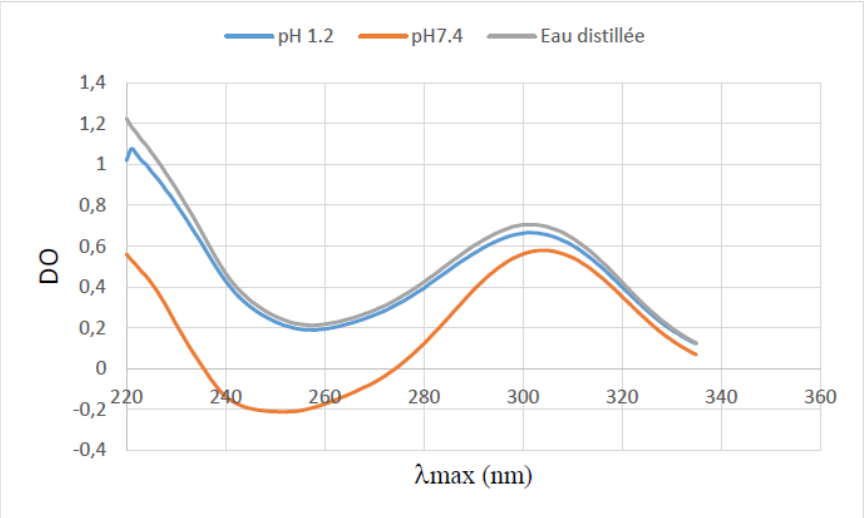


Figure IV.1 Spectre d'absorption UV-vis du KF dissout dans les solutions tampons pH1.2, pH7.4 et dans l'eau distillée.

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

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

Milieu de dissolution	Solution tampon pH1.2	Solution tampon pH 7.4	Eau distillée
λ max 1 (nm)	208	209	207
λ max 2 (nm)	303	301	305.5

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

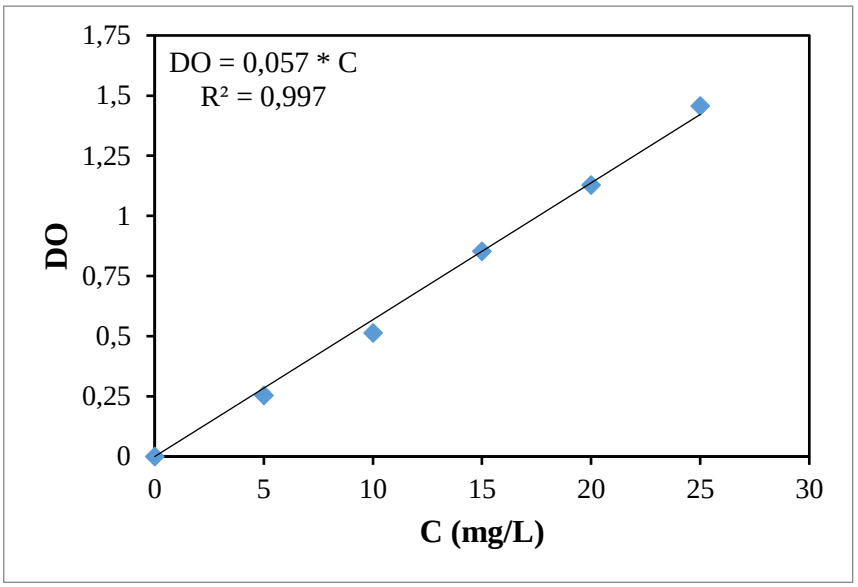


Figure. IV.2 Courbe d'étalonnage de KF dans la solution tampon pH 1.2.

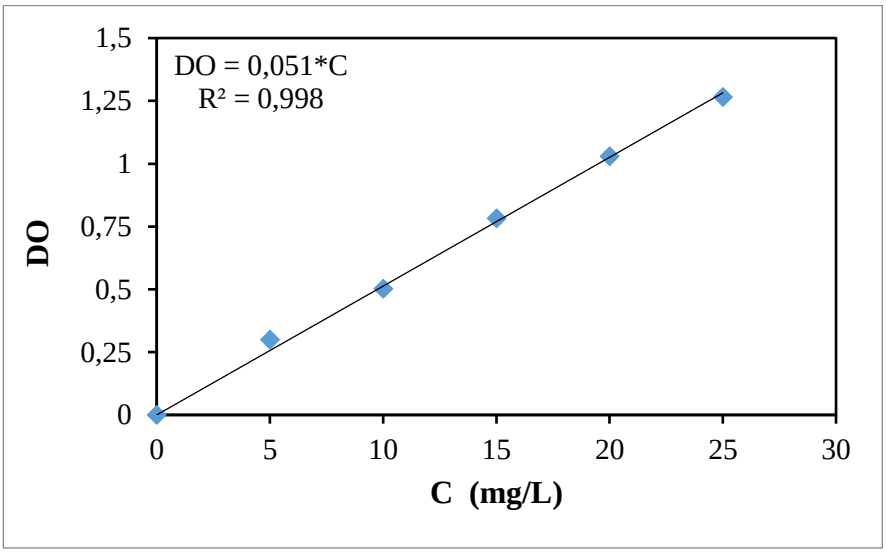


Figure. IV.3 Courbe d'étalonnage de KF dans la solution tampon pH 7.4

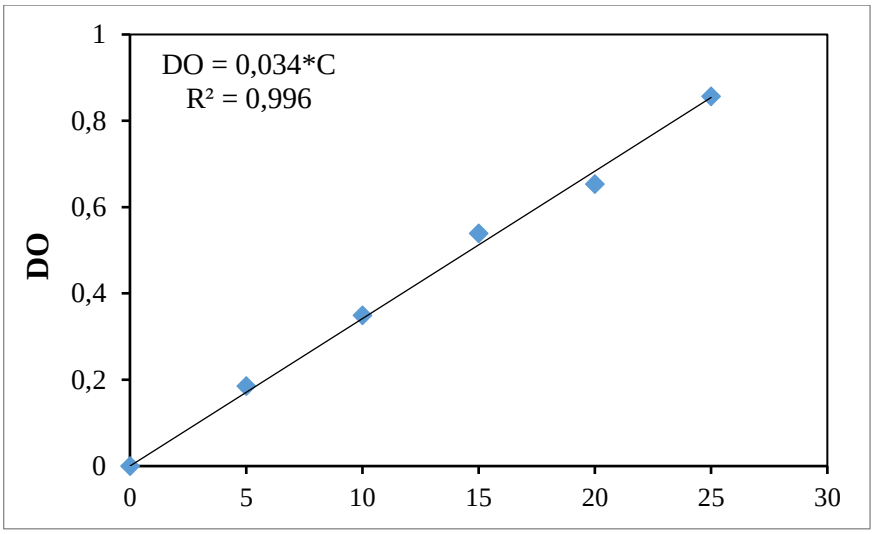


Figure. IV.4 Courbe d'étalonnage de KF dans l'eau distillée.

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

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

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

Milieu de dissolution	**Solution tampon pH1.2**	**Solution tampon pH7.4**	**Eau distillée**
Equation de la courbe d'étalonnage	DO= 0.057*C	DO=0.051*C	DO= 0.034*C
Coefficient de corrélation (R^2)	0.997	0.998	0.996

On remarque que les trois courbes d'étalonnage obtenues sont caractérisées par une bonne linéarité, ceci a été traduit par un coefficient de corrélation supérieur à 0,996.

IV.3. Encapsulation du KF par émulsification-gélification externe

IV.3.1. Formulation des émulsions E/H

Après chaque formulation, une analyse microscopique a été réalisée à l'aide d'un microscope optique avec un agrandissement de 40 fois. Une goutte de chaque émulsion a

été étalée entre une lame et une lamelle. L'aspect microscopique des 9 émulsions E/H préparées est présentésur la figure IV.5.

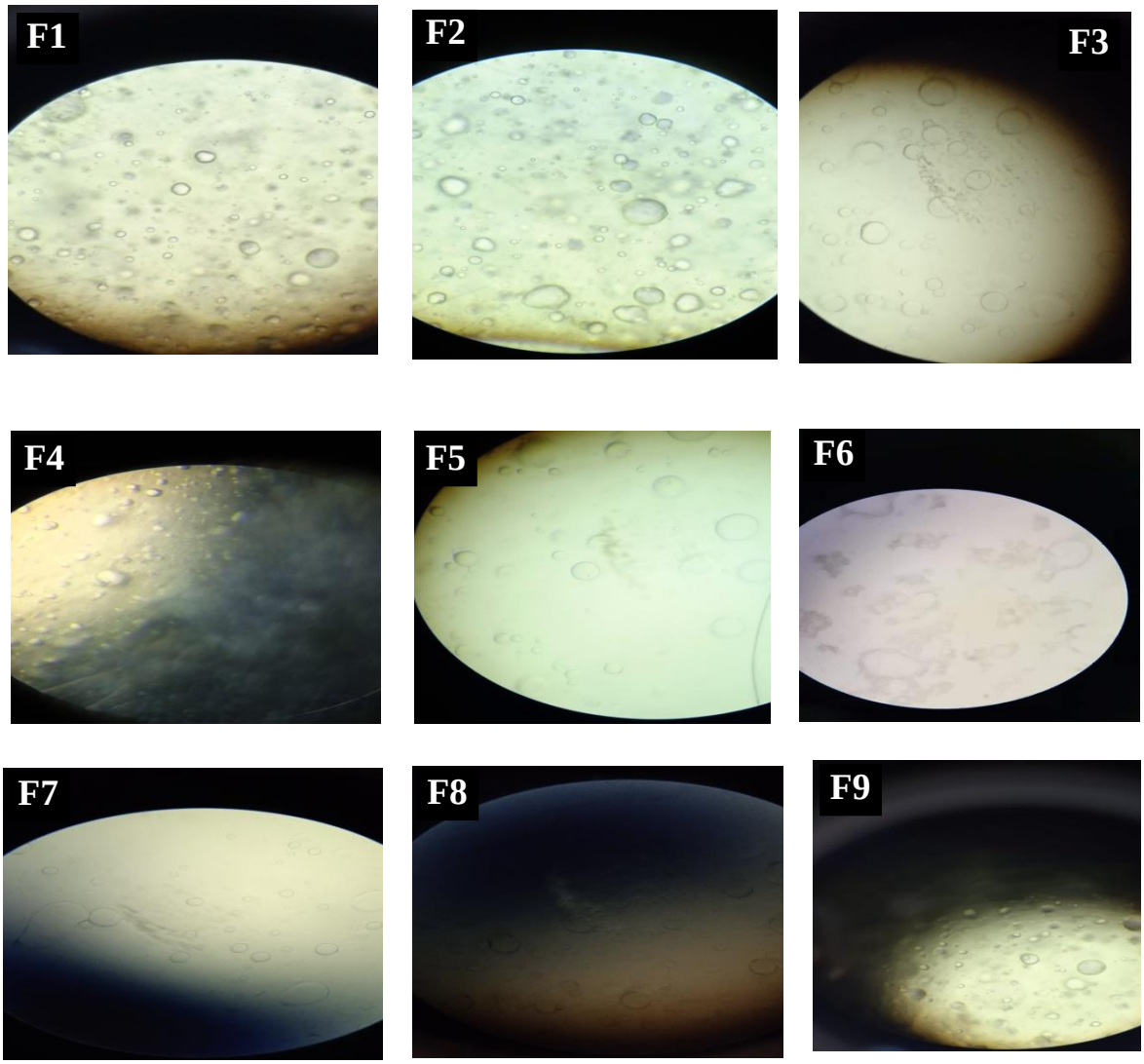


Figure IV.5 Vue microscopique des émulsions E/H.

La discussion de ces résultats se fait comme suit :

- ***Pour les formulations 1 et 2 :*** la concentration d'alginate est de 1.5 et 2.25% et la proportion de la phase huileuse est de 50 et 65%. La teneur du PA n'a pas un grand effet, tandis que la proportion de la phase huileuse influe la formulation de l'émulsion. Les émulsions obtenues sont uniformes et les gouttelettes de la phase aqueuse sont bien dispersées dans la phase organique.

- ***La formulation N°3 :*** correspond à une concentration d'alginate de 3%, une proportion de la phase huileuse de 80 % Dans ce cas, malgré la formation de l'émulsion, on remarque qu'il y a une légère dispersion de la phase aqueuse dans la phase huileuse.
- ***La formulation N°4*** : correspond à une concentration d'alginate de 1.5% et une proportion de phase huileuse de 65%. La phase aqueuse de cette émulsion est constituée de gouttelettes de petite dimension et la dispersion est uniforme.
- ***La formulation N°5*** : correspond à une masse d'alginate et 2.25 % et une proportion de la phase huileuse de 80 %, dans ce cas, l'émulsion est composée d'une phase dispersée non importante où les gouttelettes ont un diamètre uniforme.
- ***La formulation N°6*** : correspond à une proportion de la phase aqueuse de 50 % et une masse d'alginate. La distribution des gouttelettes de la phase aqueuse dans ce cas, n'est pas uniforme, certaines sont grosses alors que d'autres sont de petit diamètre.
- ***Les formulations*** N°7 et 8 : correspond à une concentration d'alginate de 1%, une proportion de la phase huileuse de 80 % Dans ce cas, l'émulsion formée est caractérisée d'une bonne dispersion de la phase aqueuse dans la phase huileuse avec une faible proportion de la phase dispersante.
- ***La formulation N°9 :*** correspond à une concentration d'alginate de 3 % et une proportion de la phase huileuse de 65 %, pour cette formulation, il est clair que l'émulsion est caractérisée par une très bonne dispersion avec une bonne distribution des tailles des gouttelettes.

IV.3.2. Micro-encapsulation par gélification

Après vue microscopique des émulsions, on passe à la gélification dans la solution de chlorure de calcium, la figure IV.6. Présente les microsphères obtenues par gélification.

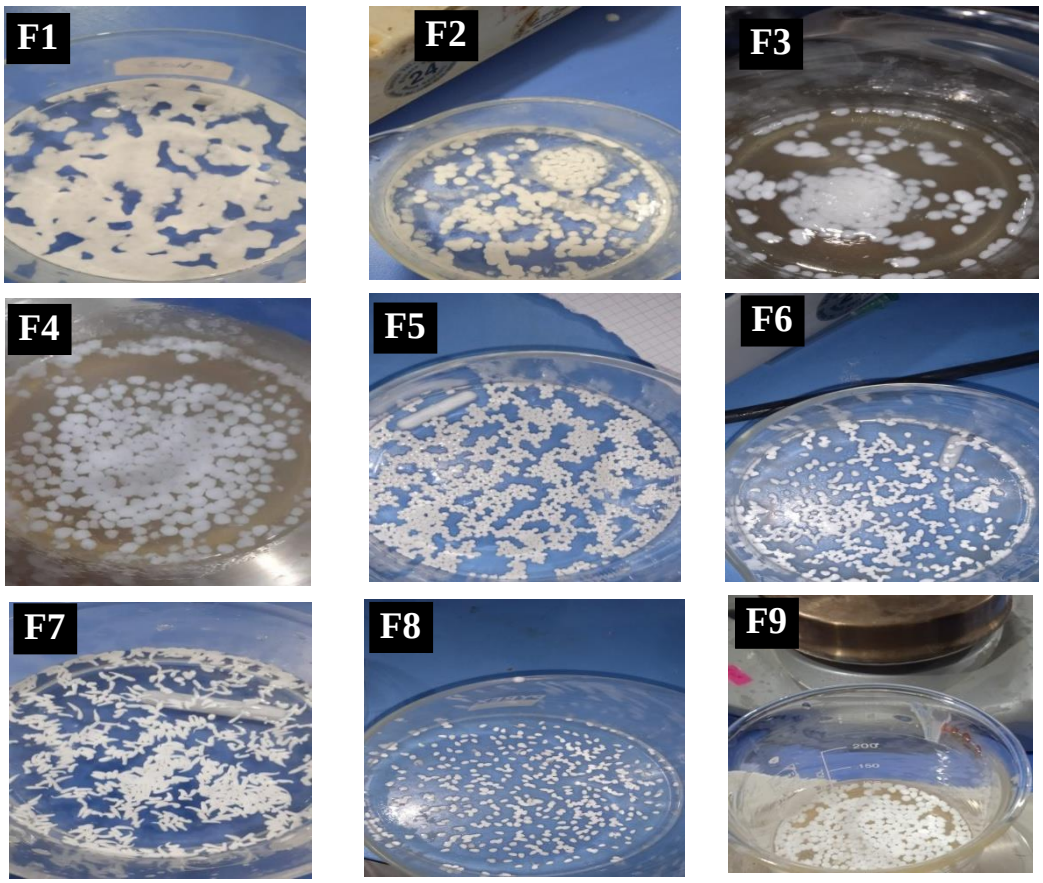


Figure IV.6 Microsphères obtenues après gélification.

Nous avons effectué des essais avec cinq paramètres : les concentrations du PA, d'alginate de sodium, de chlorure de calcium, la proportion de la phase huileuse et la vitesse d'agitation.

Les concentrations minimales proposées pour la formation des billes d'alginate n'ont pas aboutis aux objectifs tracés au départ. Cela est probablement dû aux faibles concentrations de la solution d'alginate et de la solution de $CaCl_2$. En effet, lors de leur chute les gouttes ne résistent pas au choc à la surface de la solution réticulant. Plus la viscosité d'émulsion est faible, plus la goutte se déforme rapidement, le long de son trajet avant d'être réticulée. De plus, la faible concentration de la solution de $CaCl_2$ rend la gélification lente et incomplète, en laissant parfois les formes s'agglomérer.

De leur côté, les billes formées avec les concentrations moyennes et maximales ont une forme plus ou moins sphérique présentant une queue. Les microparticules formées avec des concentrations maximales sont bien meilleures en critère de forme que celles formées avec les concentrations moyennes.

Cependant, les microsphères obtenues à l'issu de toutes les formulations effectuées ont subi une dissolution lors de l'opération de filtration, ce qui nous obliger de réorienter notre objectif d'encapsulation vers la gélification ion tropique.

IV.4. Gélification ionotropique

Le procédé utilisé pour la préparation des particules est le procédé d'extrusion goutte à goutte basée sur la gélification ionotropique. Les neuves formulations réalisées où l'aspect des billes correspondantes obtenues sont illustrés sur la figure IV.7.

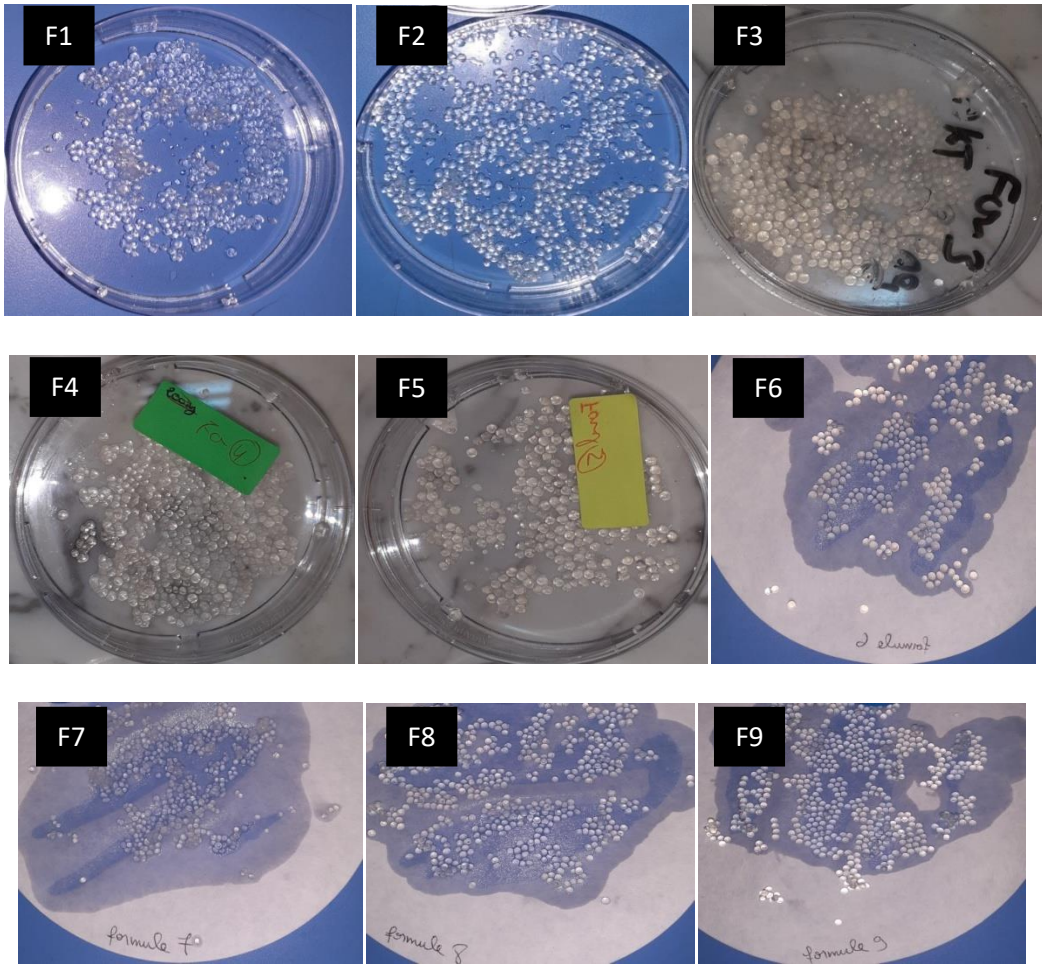


Figure VI.7 Aspect des billes humides obtenues après gélification ionotropique des 9 formulations.

L'aspect macroscopique des billes humides obtenues après la synthèse sont toutes de forme sphériques et régulières. Leurs tailles sont d'ordre millimétrique où elle augmente légèrement avec l'augmentation des concentrations d'alginate et celle de la solution

de chlorure de calcium .Ce résultat peut être expliqué par l'insuffisance de la quantité des ions calcium pour obtenir une bonne réticulation. Après séchage, l'aspect des particules obtenues est présenté sur la figure IV.8.

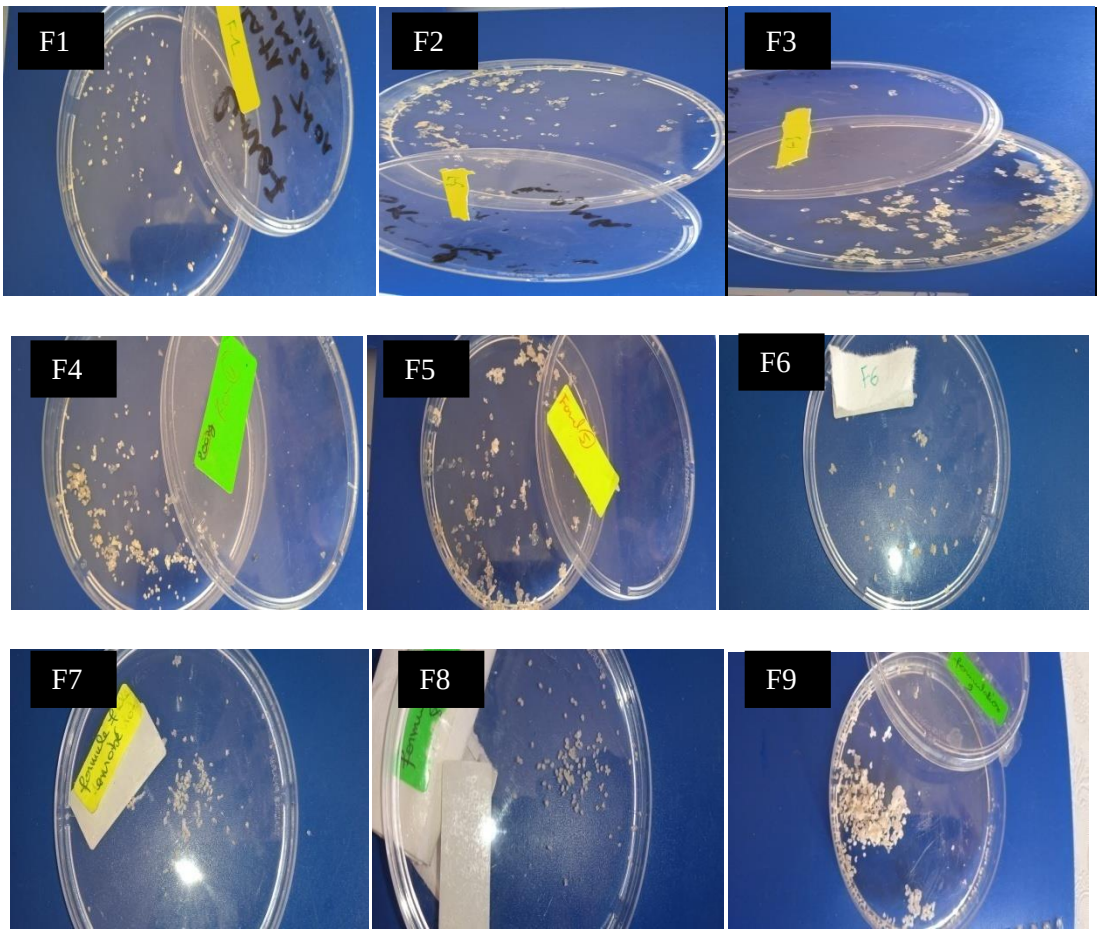


Figure VI.8 Aspect des billes sèches obtenues (pour les 9 formulations).

Les microparticules apparaissent plus au moins régulières parfois fois déformé, et elles présentent des queues et des surfaces lâches. Toutes les billes sèches se caractérisent par des tailles moyennes et plus petites par rapport celles à l'état humides. En effet, une fois séchées, les billes humides perdre énormément de leurs volumes, leurs poids et de leurs sphéricités. Cela à cause qu'elles sont dépourvues d'eau et s'allongent légèrement. Dès qu'on les remet dans un milieu aqueux, les particules regonflent et reprennent leurs formes initiales.

IV.5.Analyse granulométrique des capsules

Après maturation, les billes humides sont séchées à l'air libre pendant 24 heures. Ensuite leurs diamètres ont été mesurés. Le tableau IV.3. Présente l'ensemble des résultats obtenus.

Tableau IV.3. Diamètres moyens des billes à l'état sec et à l'état humide.

Particules avant séchage		
N° Formulation	**% ALG**	**Diamètre moyen (mm)**
1	1	2.1765
2	1.5	2.2294
3	2	2.6412
4	1	1.8882
5	1.5	2.5412
6	2	2.0118
7	1	1.6588
8	1.5	2.0000
9	2	2.0000
Particules après séchage		
1	1	0.9256
2	1.5	0.9412
3	2	1.1824
4	1	1.0176
5	1.5	1.5059
6	2	0.9412
7	1	0.9824
8	1.5	0.8824
9	2	0.9648

L'analyse des données montre des valeurs des dimensions des particules qui varient d'une formulation à l'autre selon la concentration d'alginate. En effet, le diamètre des particules lors de leurs préparations varient entre 1.658 et 2.176 mm pour les formulations : F1 à F3, composées de 1 % d'alginate de sodium, et ce diamètre moyen augmente en augmentant la concentration d'alginate. Ceci peut être expliquée par le fait que la viscosité de la solution initiale augmente avec l'augmentation de la concentration en biopolymère, ce qui entraine la formation de microparticules beaucoup plus volumineuse lors de l'extrusion à travers de la seringue. Après séchage des particules, leurs formes sont réduites et deviennent plus

petites et plus ou moins sphériques avec des diamètres allant entre 1.18 et 0.8 mm. Les figures (IV.9) à (IV.11) illustrent les diamètres des capsules avant et après séchage pour chaque concentration d'alginate.

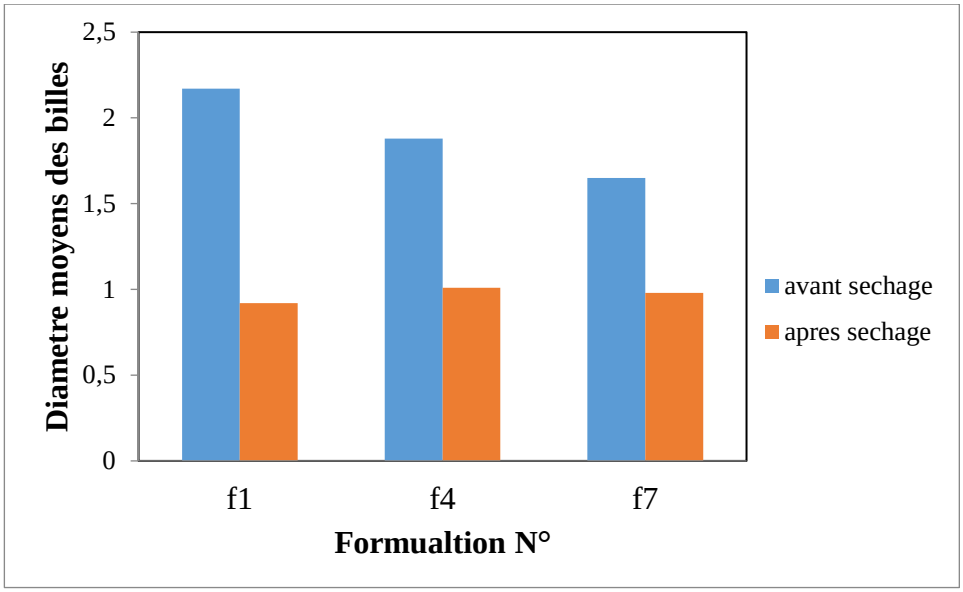


Figure IV.9 Tailles des particules (avant et après séchage) pour 1% alginate.

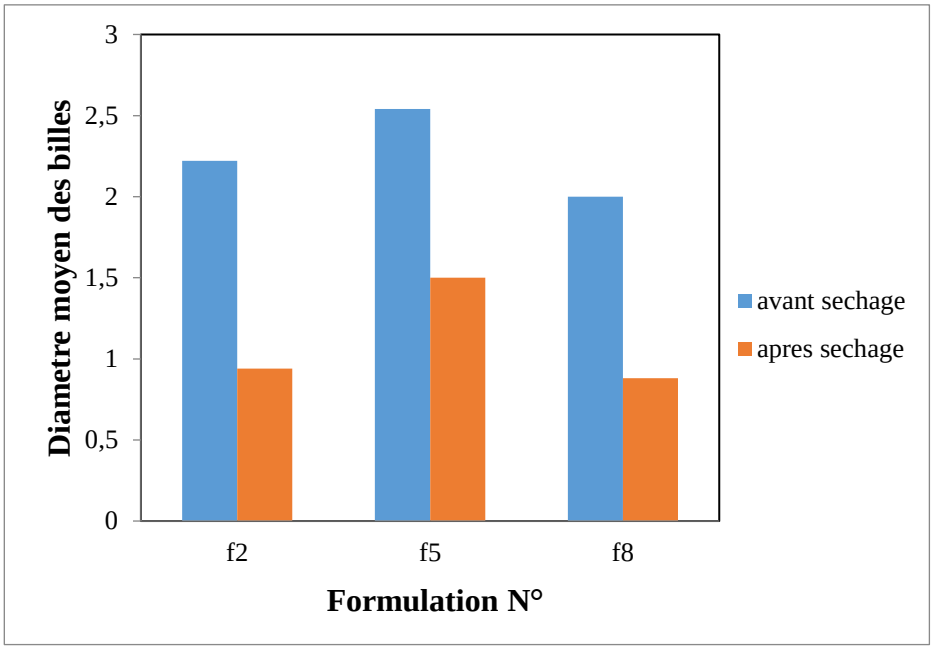


Figure. IV.10 Tailles des microparticules (avant et après séchage) pour 1.5% d'alginate.

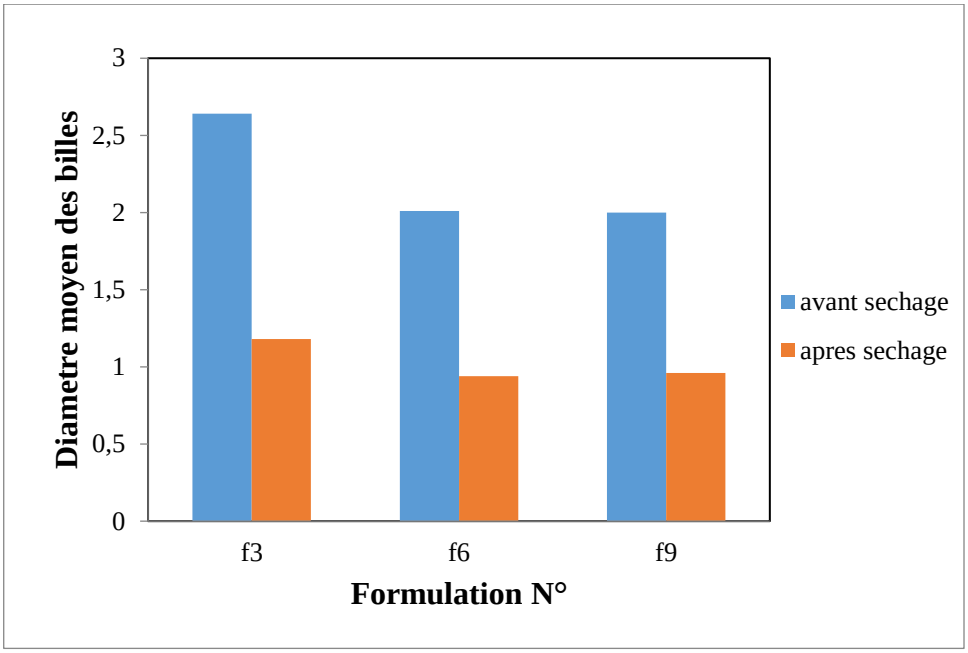


Figure. IV.11 Tailles des microparticules (avant et après séchage) pour 2% d'alginate.

IV.5.1 Paramètres d'encapsulation

Les résultats des différents paramètres d'encapsulation des microsphères préparées sont résumés sur le tableau IV.5.

Tableau IV.5 Paramètres d'encapsulation des 9 formulations réalisées.

Paramètre / Essais	RE (%)	Teneur d'E (%)	TE(%)
1	40.56	95.65	95
2	70.22	54.32	99.1
3	96.61	98.65	98.7
4	80.27	96.49	97.76
5	84.42	78.57	99.72
6	38.78	73.09	99.68
7	48.97	49.11	98.38
8	41.97	22.99	99.80
9	41.48	26.32	99.83
MG	**60.36**	**62.79**	**98.66**

A l'issu des résultats obtenus, on remarque que la teneur d'encapsulation calculés dépend fortement des facteurs étudiés : la concentration d'alginate de sodium et la concentration du chlorure de calcium. La teneur d'encapsulation atteint un maximum de 96.61% (formulation

N°3), ce qui correspond à une concentration de 2% d'alginate de sodium et 1.5 mol/L de $CaCl_2$, et une valeur minimum de 22.29% (formulation N°8) qui correspond à une concentration de 1.5% d'alginate de Na et 0.5 mol/L de $CaCl_2$. Ce résultat montre bien que pour le premier cas (teneur d'encapsulation maximal) la quantité des ions Ca^{2+} était suffisante pour réticuler toutes les chaines d'alginate, d'où un emprisonnement important des molécules de KF dans le réseau polymérique. Cependant, pour la formulation N°8, la dose en Ca^{2+}, était insuffisante pour réticuler toutes les chaines polymériques et par conséquent une quantité de PA non encapsulée importante.

Pour le taux d'encapsulation du PA, il varie entre une valeur minimale de 95 % (F1) qui correspond aux concentrations d'alginate de Na et de $CaCl_2$ de 1% et de 0.5 mol/L respectivement, et une valeur maximale de 99,83 % correspondant à une concentration de 2% d'alginate de Na et de 1mol/L de $CaCl_2$ (F9). On constate également que le taux d'encapsulation augmente avec l'augmentation de la concentration en alginate de sodium et de la solution réticulante avec un faible écart.

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

IV.5.1. Effets moyens

Le tableau IV.6 récapitule les résultats des effets moyens des paramètres ciblés sur le taux d'encapsulation.

Tableau. IV.6. Effets moyens des paramètres d'encapsulation sur le taux d'encapsulation

Effet de [KF]			Effet de [Alg Na]			Effet de [$CaCl_2$]		
1	2	3	1	2	3	1	2	3
-1.06	0.39	0.67	-1.62	0.88	0.74	-0.50	0.23	0.27

La représentation graphique des effets moyens des différents facteurs est illustrée sur les figures IV.12 à IV.14.

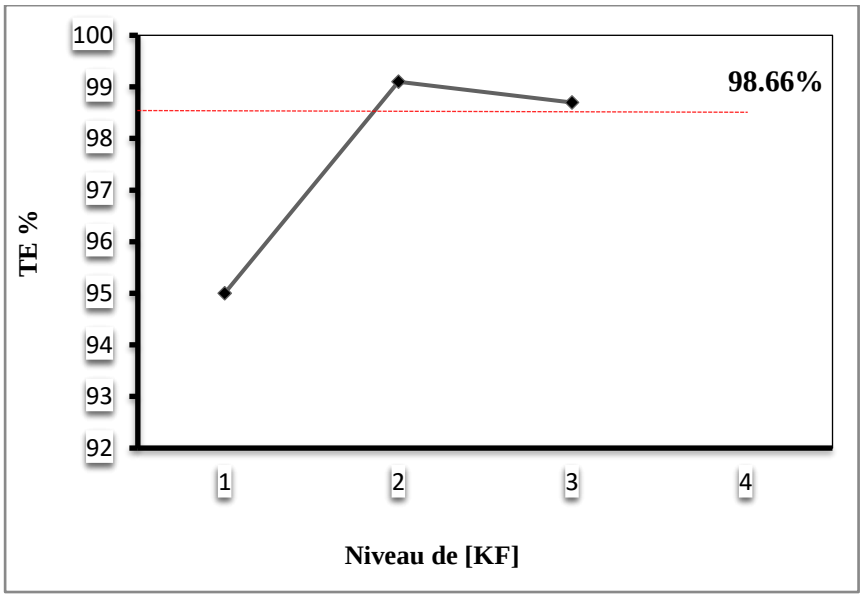


Figure. IV.12 Effet moyen de [KF]

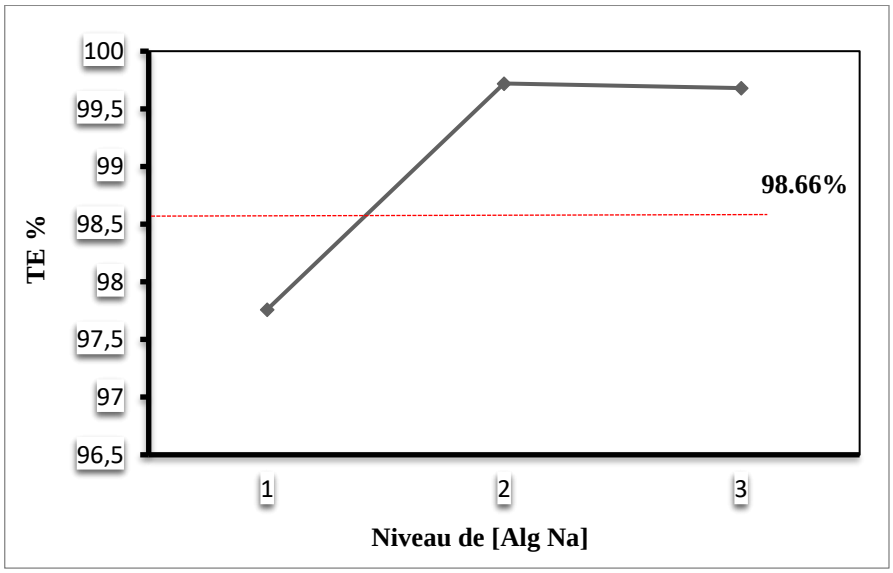


Figure. IV.13 Effets moyens de la concentration d'alginate de Na.

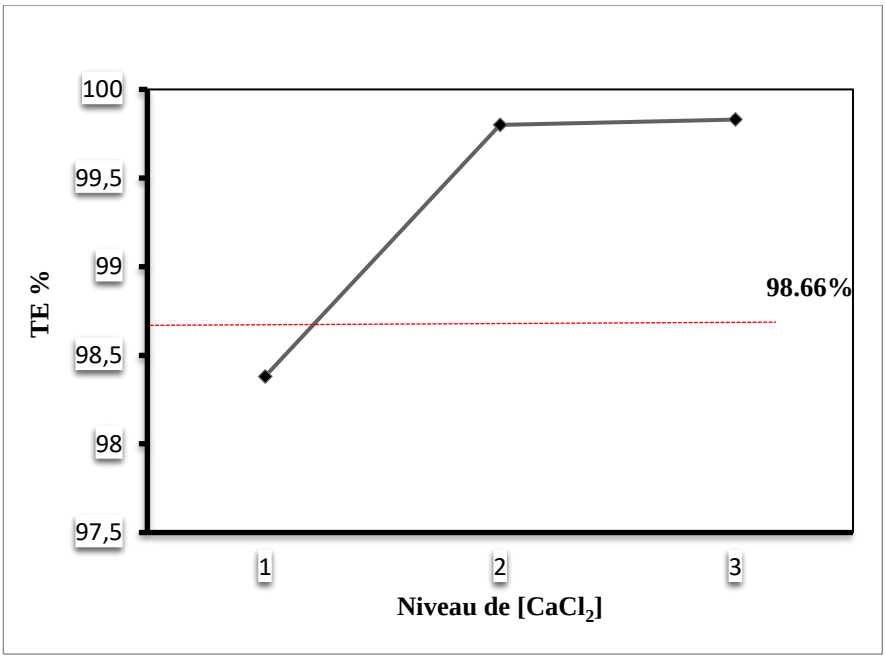


Figure. IV.14 Effets moyens de la concentration de $CaCl_2$.

Selon les graphes établis, on peut dire que :

- Pour le KF, plus sa concentration augmente, plus le taux d'encapsulation augmente, jusqu'à une valeur maximale qui correspond à la valeur moyenne (98.66%).

- Pour d'alginate de Na, on constate clairement qu'il a aussi effet positif, sur le taux d'encapsulation qui atteint une valeur maximale de plus de 99.5%.

- Pour la concentration de chlorure de calcium, plus les cations Ca^{2+} sont présent dans le milieu plus le TE augment aussi jusqu'à une valeur maximale de 99.8%.

De ces résultats, on peut conclure que la concentration en ions Ca^{2+}, agit d'une manière importante par rapport aux concentrations de KF et d'alginate de Na.

IV.5.2. Interactions entre les paramètres

Les valeurs des interactions entre les paramètres étudiés sont calculées et les résultats sont illustrés sur le tableau IV.7.

Tableau IV.7. Résultats d'interactions entre les trois paramètres sur le taux d'encapsulation.

Interaction entre les paramètres d'encapsulation [KF] et [Alg Na] ; MG =98,66 %			
[Alg Na] / [KF/]	**Niveau 1**	**Niveau 2**	**Niveau 3**
Niveau 1	-0.98	0.62	0.36
Niveau 2	0.33	-0.21	-0.11
Niveau 3	0.67	-0.41	-0.24
Interaction entre les paramètres d'encapsulation [KF] et [$CaCl_2$] ; MG =98,66 %			
[$CaCl_2$] / [KF]	**Niveau 1**	**Niveau 2**	**Niveau 3**
Niveau 1	-2.1	1.27	0.36
Niveau 2	1.13	-1.52	-0.07
Niveau 3	0.97	0.27	-0.24
Interaction entre les paramètres d'encapsulation : [Alg Na] et [$CaCl_2$] ; MG =98,66 %			
[$CaCl_2$] / [Alg Na]	**Niveau 1**	**Niveau 2**	**Niveau 3**
Niveau 1	-1.54	0.49	1.07
Niveau 2	0.76	-0.67	-0.09
Niveau 3	0.78	0.2	-0.97

Afin de montrer l'interaction entre les trois paramètres nous avons exploité ces résultats sous forme de graphes (figures IV.15 à IV.17).

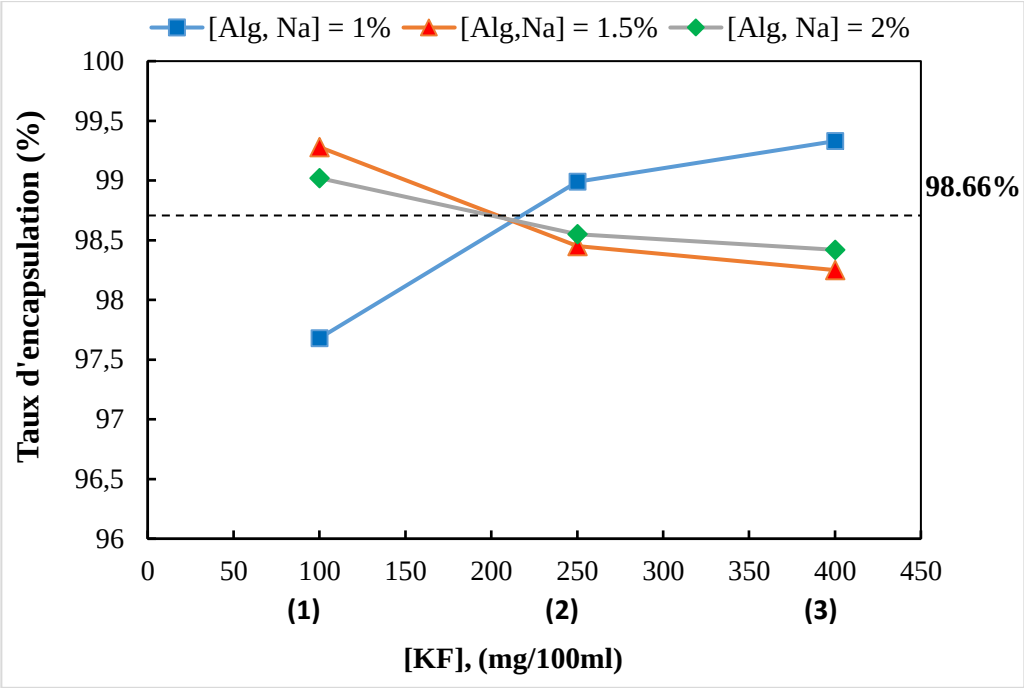


Figure IV.15 Interactions entre les paramètres d'encapsulation [KT/Alg Na].

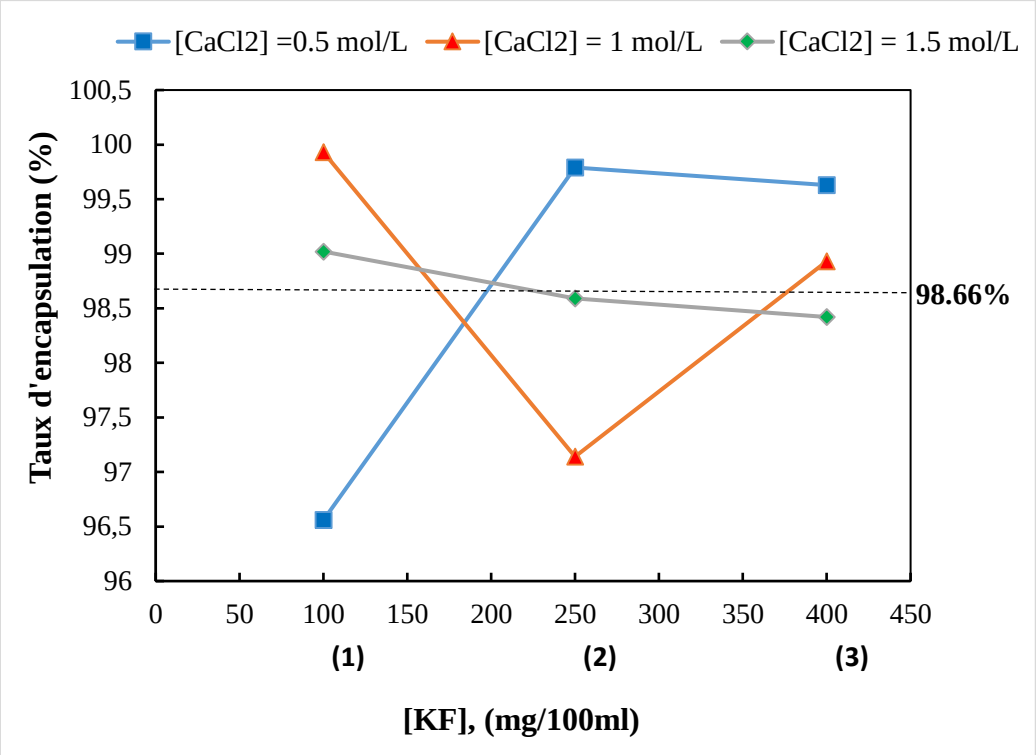


Figure IV.16 Interactions entre les paramètres d'encapsulation [KT/$CaCl_2$].

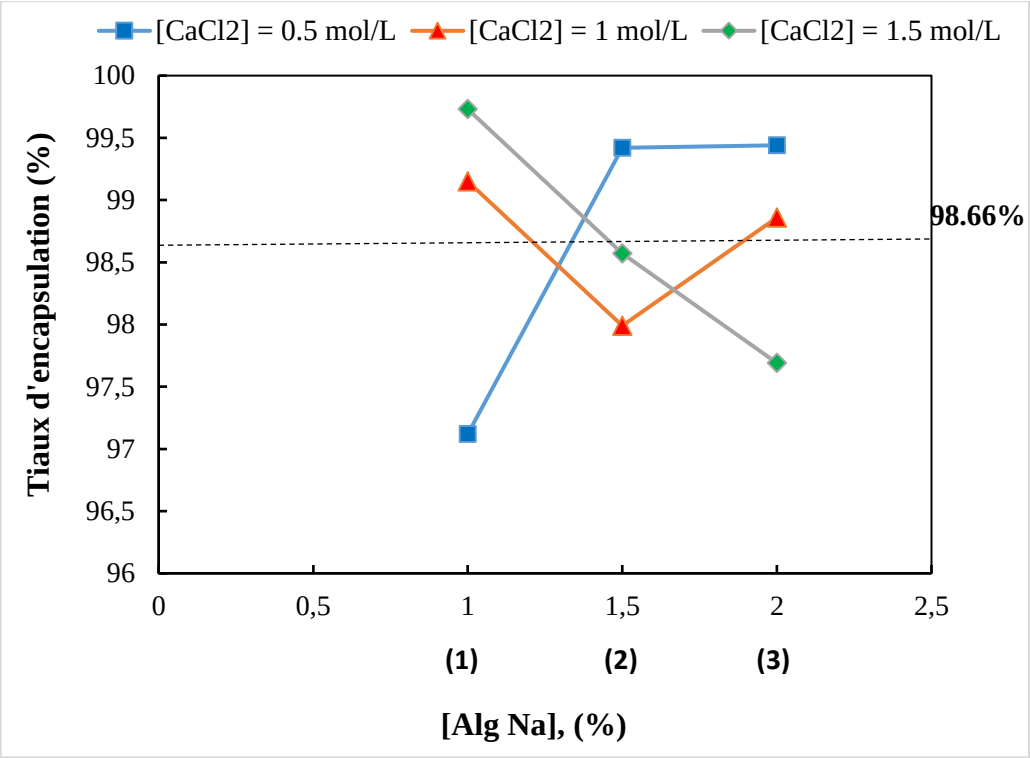


Figure IV.17 Interactions entre les paramètres d'encapsulation [Alg Na/$CaCl_2$].

L'analyse de ces figures, nous a permis de constater que :

- ***Entre : KF/Alg Na et KF :*** lorsque la concentration d'alginate de Na est de 1%, le TE augment avec l'augmentation de la concentration du KF .Tandis que pour des concentrations d'alginate de Na de 1.5% et 2%, le TE diminue légèrement avec la concentration de KF. On peut dire que ces deux paramètres interagissent pour une faible concentration d'alginate de Na, et cette interaction n'est pas importante pour des concentrations plus importantes.

- ***Entre : KF et$CaCl_2$:*** dans ce cas, pour une concentration de $CaCl_2$ est égale à 0.5 mol/L, le TE augment d'une valeur de 96.5% jusqu'à ce qu'elle une valeur de plus de 99.8% à une concentration de KF de 250 mg/100 ml, au-delà de laquelle, elle reste constante. En effet, lorsque la concentration de $CaCl_2$est de 1 mol/L, la variation du TE est importante : le TE diminue à une concentration de KF de 250 mg/100 ml, puis elle augmente. Ainsi, quand la concentration de $CaCl_2$ est de 1.5 mol/L, la variation du TE est très peu importante. Dans ce cas, ces deux paramètres interagissent quand pour des concentrations de $CaCl_2$ allant de 0.5 à 1 mol/L.

- ***Entre $CaCl_2$ et Alg Na :*** lorsque la concentration du $CaCl_2$ est de 0.5 mol/L, le TE augmente puis se stabilise à une concentration de 200mg/100ml, et quand la concentration de $CaCl_2$, est de 1 mol/L,le TE diminue lors la concentration à 1 à 1.5 en alginate puis elle

augmente de 1.5 à 2 et si la concentration du CaCl2 est 1.5mol/L, le TE diminue lorsque l'alginate augmente (i.e.) dire que les mêmes interactions entre KF et $CaCl_2$.

IV.6. Test de gonflement des microparticules

Ce test consiste à quantifier le liquide absorbé par les microparticules en fonction du temps jusqu'à l'équilibre. Les résultats obtenus sont donnés sur les figures IV.18 à IV.25

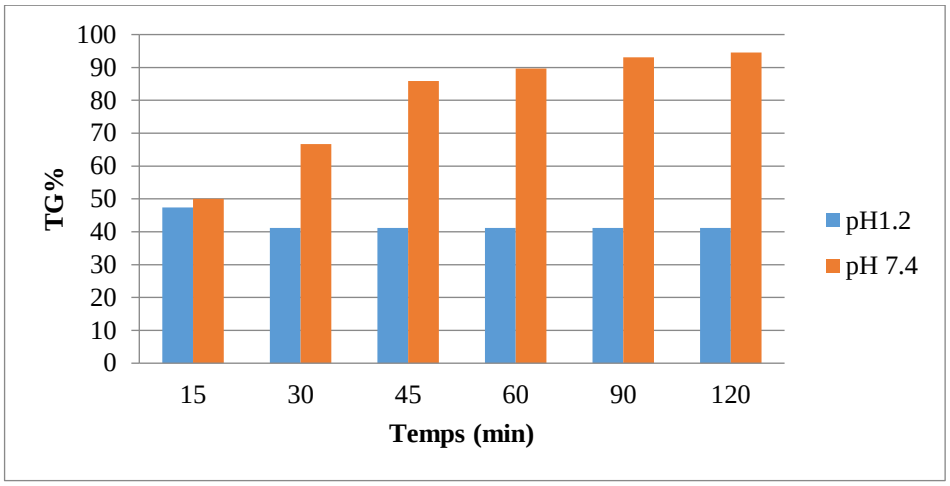


Figure IV.18 Taux de gonflement dans les deux milieux (pH=1.2 et pH=7.4, formulation N°1).

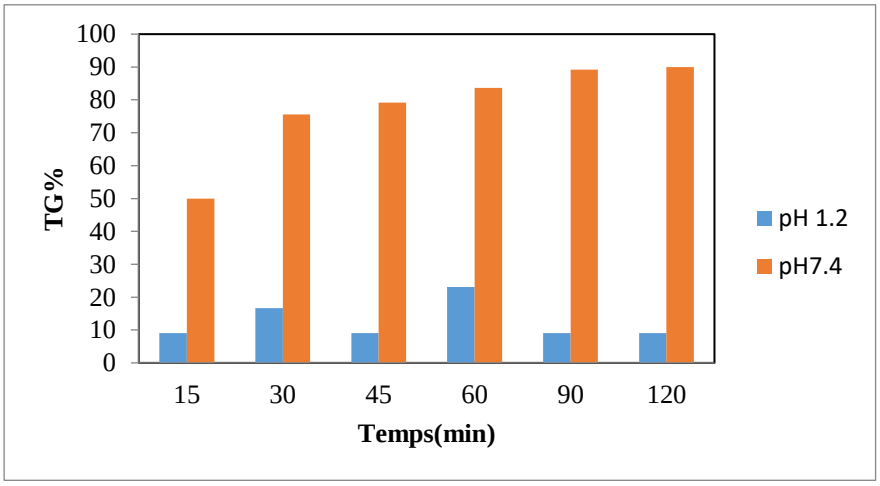


Figure IV.19 Taux de gonflement dans les deux milieux : pH=1.2 et pH=7.4, (Formulation N°2).

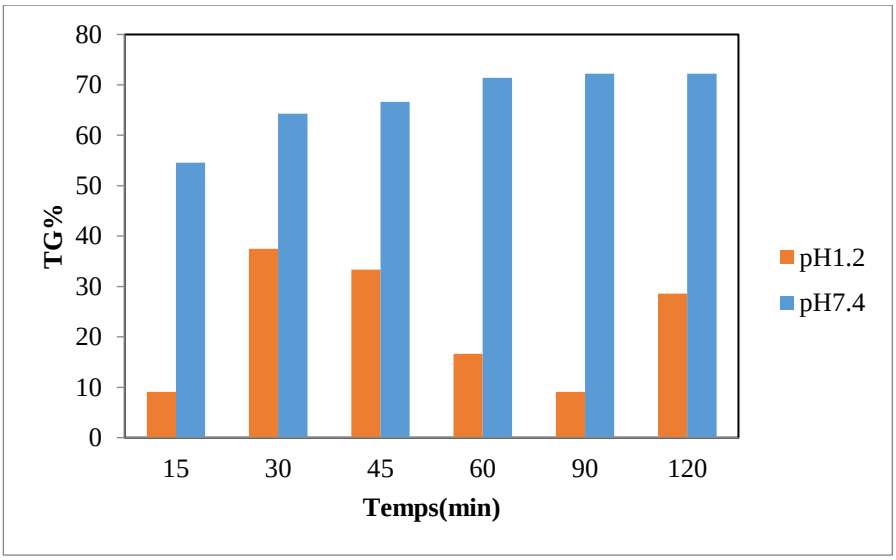


Figure IV.20 Taux de gonflement dans les deux milieux : pH=1.2 et pH=7.4, (formulation N°3).

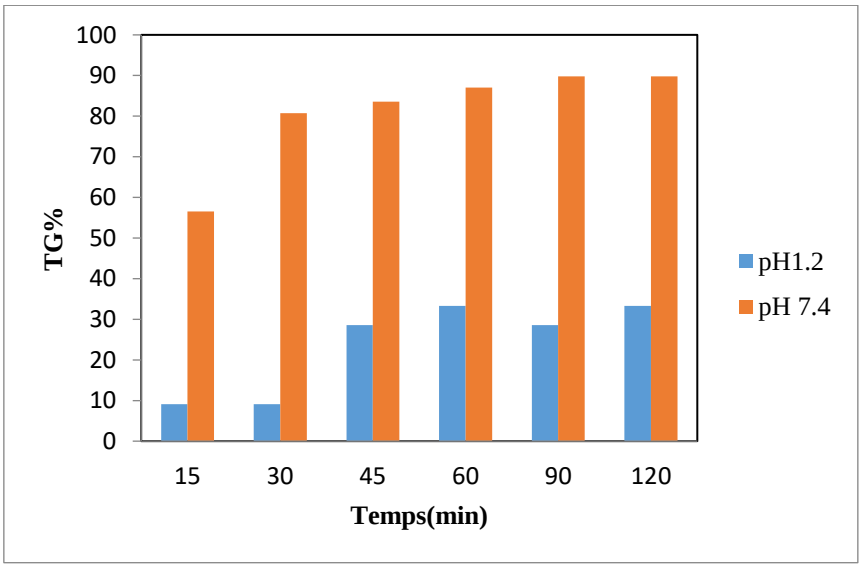


Figure IV.21 Taux de gonflement dans les deux milieux : pH=1.2 et pH=7.4, (Formulation N°4).

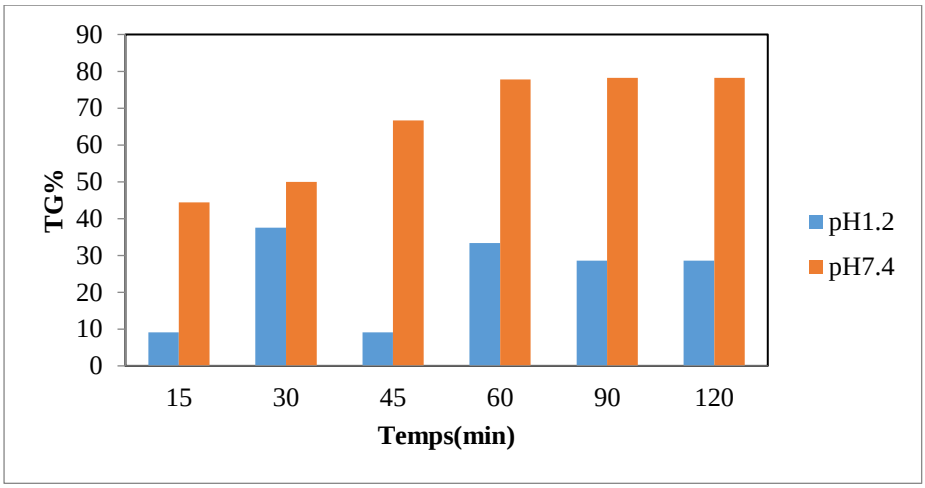


Figure. IV.22. Taux de gonflement dans les milieux : pH=1.2 et pH=7.4, (Formulation N°5).

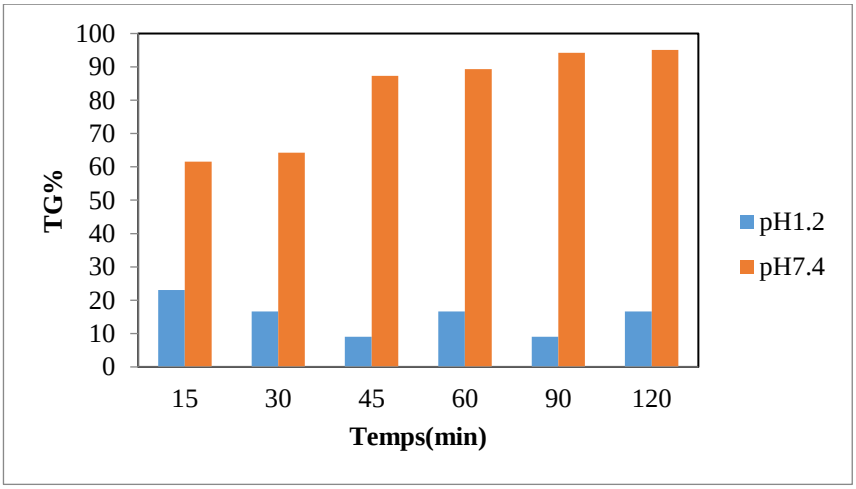


Figure IV.23. Taux de gonflement dans les milieux : pH=1.2 et pH=7.4, (Formulation N°6).

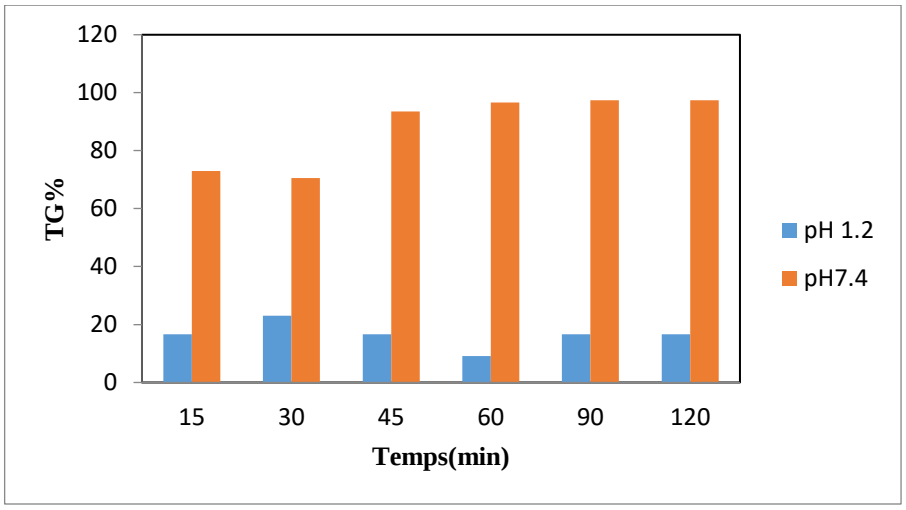


Figure IV.24. Taux de gonflement dans les milieux : pH=1.2 et pH=7.4, (Formulation N°8).

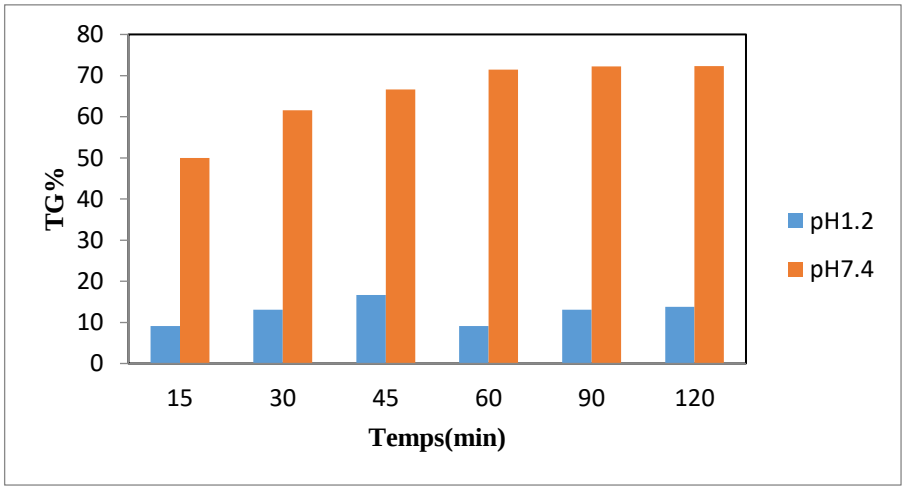


Figure IV.25. Taux de gonflement dans les milieux : pH=1.2 et pH=7.4, (Formulation N°9).

A partir des résultats obtenus lors des études de test de gonflement des particules formulées, on remarque que les taux de gonflement augmentent d'une façon progressive en fonction du temps dans les deux milieux de dissolution étudiés et pour toutes les formules des microparticules testées. Les taux de gonflement sont plus importants dans le milieu pH 7,4 par rapport au milieu pH 1,2 pour toutes les formules.

Plus la concentration d'alginate de Na augmente, le TG est devenu plus important et varié entre 9.09%, 47.36% pour pH égale à 1.2 et 44.44 %,97.45% pour le pH égale à 7.4.

Ainsi, l'alginate de sodium est un polysaccharide anionique. Ses charges sont liées aux groupements – COOH des monomères G et M de la macromolécule. Ces monomères sont sous la forme non dissocié à pH1.2 < (pH3.5), les monomères sont pour la plupart sous la

forme $-COO^-$, ceci contribue à l'augmentation de la différence de pression osmotique entre les deux milieux interne de capsules et externe donc le taux de gonflement augmente considérablement, jusqu'à atteindre un état équilibre. En effet, des études ont montrées que l'alginate de Na ayant un (pKa =3.5), est un poly électrolyte chargé négativement présentant plusieurs formes ionisées à différent pH du milieu de dissolution.

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

IV.7. Caractérisation par FTIR

Les figures IV.26 à IV.29 présentes les spectres IRTF de l'alginate de sodium, de KF, de chitosane et des billes d'alginate de Na (formulation N°4). Les tableaux IV.8 à IV.10, récapitulent l'attribution des groupements fonctionnels aux nombres d'onde correspondant de chaque substance.

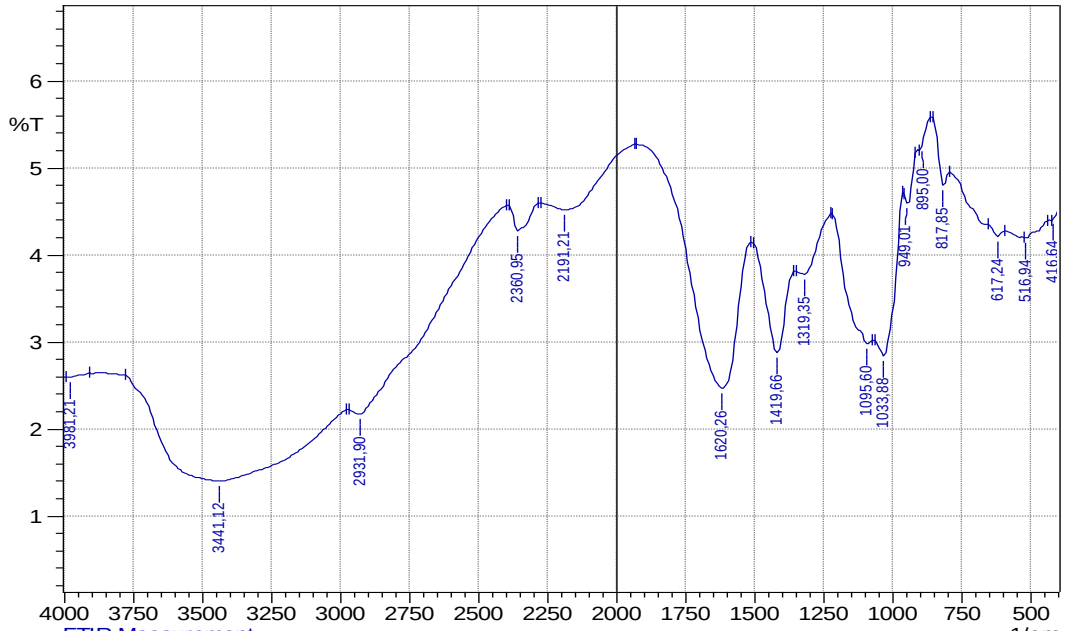


Figure IV.26 Spectre FTIR d'alginate de sodium.

Tableaux IV.8. Bandes caractéristiques du spectre FTIR d'alginate de sodium.

Nombre d'onde (cm^{-1})	Liaison
3441.12	Bande large : ν (O-H) alcool
2931.90	ν(C-H et CH_2) alcane
1620.26	ν (C=O)
1419.66	ν (C-O) alcool
1319.35	ν (C-O) acide
1095.6	ν asymétrique (C-O-C) Ether
1033.88	ν symétrique (C-O-C) Ether

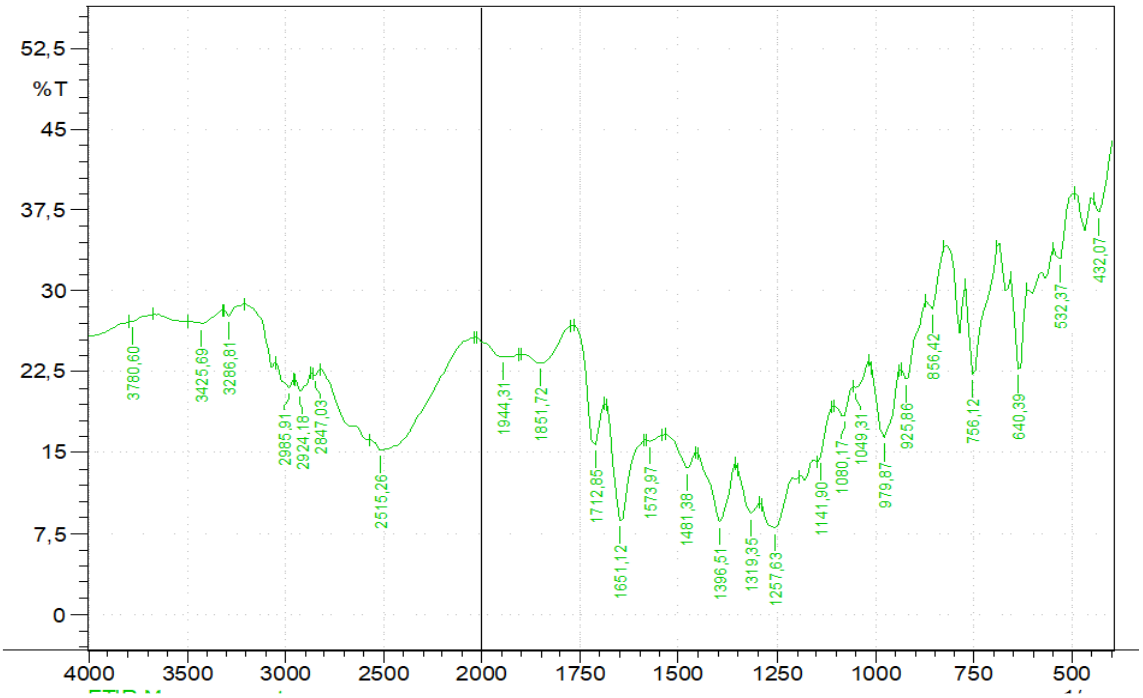


Figure.IV.27 Spectre FTIR du kétotifène fumarate

Tableaux Ⅳ.9: Bandes caractéristiques du spectre FTIR de kétotifène fumarate

Nombre d'onde (cm^{-1})	Liaison
3425.69	ν (O-H) acide
3286.81	ν (C-H) aromatique
2985.91	ν (C-H) alcène
2847.03	ν (C-H) alcane
1712.85	ν (C=O) acide
1661.12	ν (C=O) alcool
1573.97 et 1481.38	ν (C=C) aromatique
1396.51	ν (C-N)
1257.63	ν symétrique (C-O)
1319.36	ν(C-N)

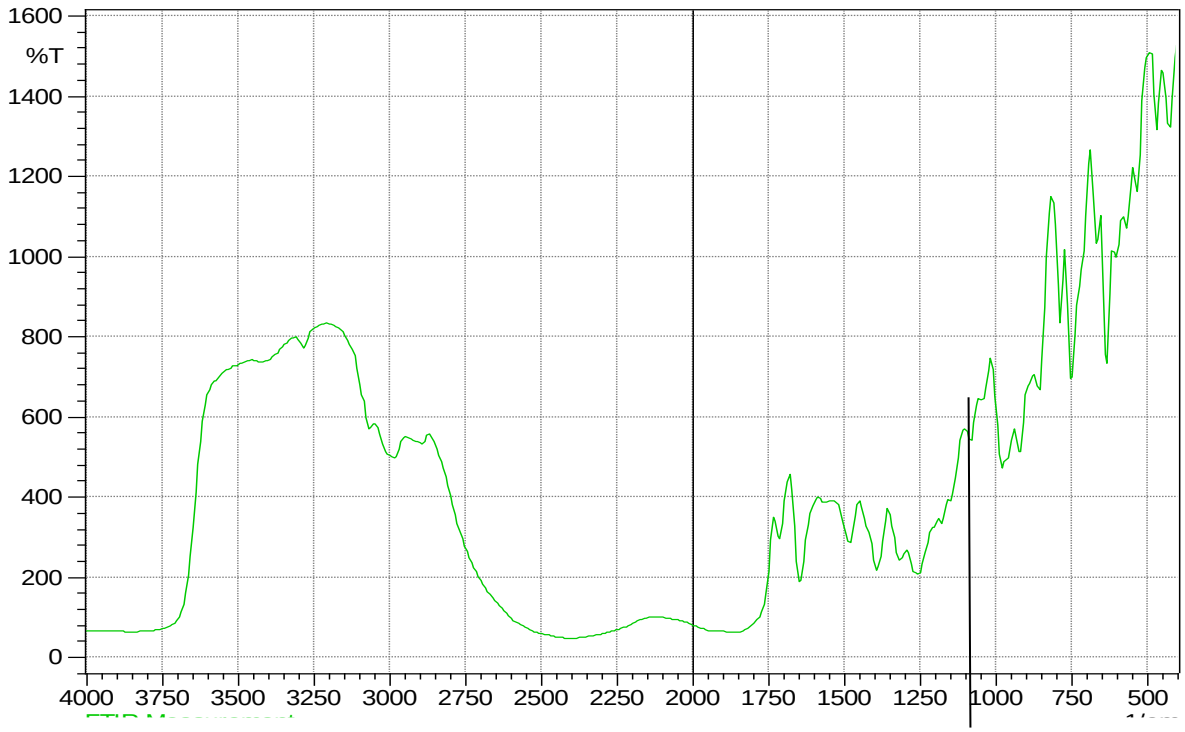


Figure. IV.28 Spectre FTIR du chitosane.

Tableau. IV.10 Bandes caractéristiques du spectre FTIR de chitosane.

Nombre d'onde (cm^{-1})	**Liaison**
3400	ν (N-H) amine
3275	ν (O-H) alcool
2970 et 2890	ν (C-H et C-H_2) alcane
1650	δ (N-H) amineN-H
1250	ν (C-O) alcool
1070	ν (C-O-C) étheoxyde

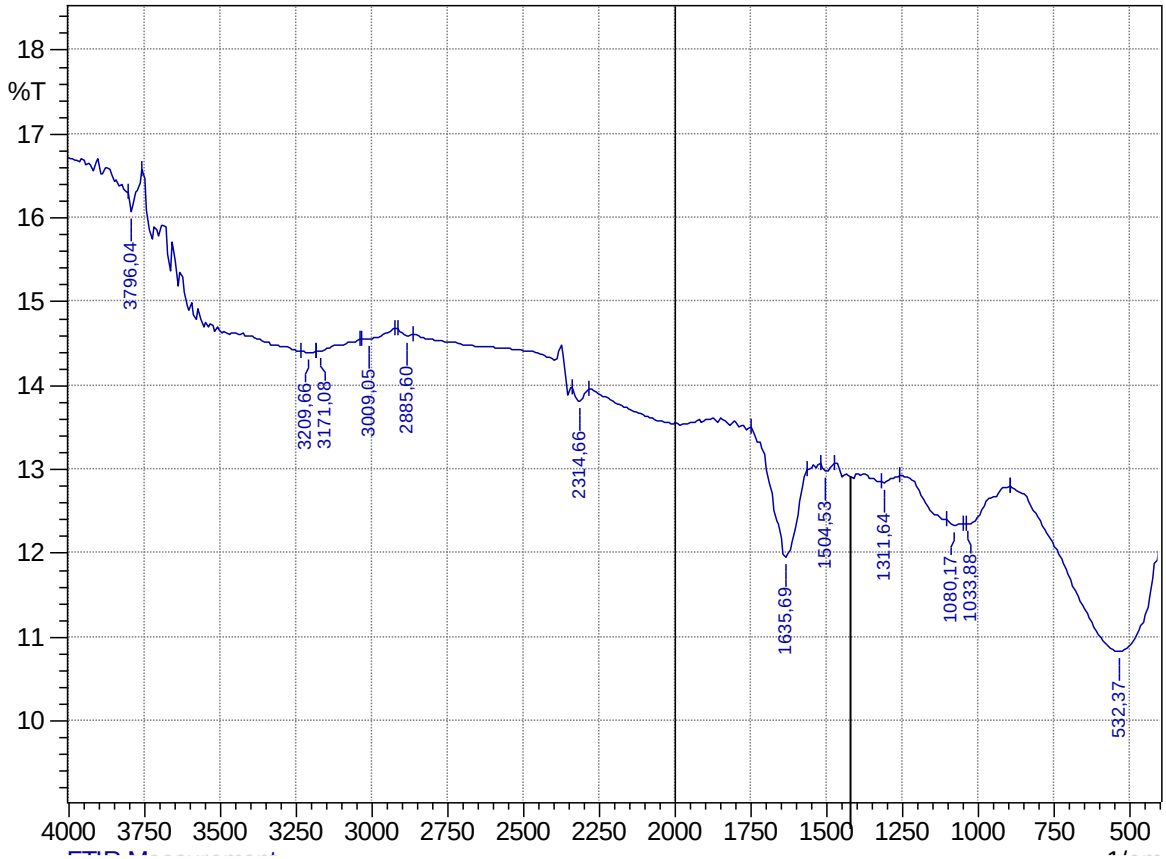


Figure Ⅳ.29 Spectre FTIR des microparticules chargées de kétotifène fumarate F4

Tableaux IV.11 : Bandes caractéristiques du spectre FTIR des billes d'alginate de Na chargées de KF.

Nombre d'onde (cm^{-1})	**Liaison**
3209.66	ν (N-H) amine
3171.08	ν (O-H) alcool
3009.05	ν (C-H) aromatique
2885.6	ν (C-H) alcane
1635.69	ν (C=O)
1504 et 1440	ν (C=C) aromatique
1410	ν (C-N) amine
1311.64	ν (C-O) alcool
1080.11	ν asymétrique (C-O-C) étheoxyde
1033.88	ν symétrique (C-O-C) étheoxyde

- ***Pour l'alginate de sodium***

Le spectre FTIR de l'alginate de sodium, montre des bandes d'absorption très Importantes, tels que les groupements fonctionnels hydroxyles, éther et les carboxylates :

- Une bande d'absorption large, qui apparait à 3441,12 cm^{-1}, elle est attribuée au mode de vibration de valence de la liaison O-H des groupements hydroxyles caractéristiques des Polysaccharides naturels.

✓ Une bande d'absorption apparait à 2931.90 cm^{-1}, elle correspond à la vibration d'élongation de la liaison CH des alcanes.

✓ Les bandes à 1620,26 cm^{-1}, correspond à la vibration d'élongation de la liaison (C=O) des acides carboxyliques.

✓ les bandes d'absorption aux nombres d'onde : 1419,66 et 1319.35 cm_{-1} sont attribuées respectivement aux élongations(C-O) des alcools et des acides.

✓ Les bandes d'absorption aux nombres d'onde : 1095.6 et 1033.88 cm^{-1} sont attribuées respectivement aux élongations asymétriques et symétriques du groupement (C-O-C).

- ***Pour le kétotifène fumarate***

L'analyse de la figure Ⅳ.17, nous renseigne sur les caractéristiques de base de la molécule kétotifène fumarate. Les principaux pics distinctifs sont apparents à :

✓ Au nombre d'onde de 3425.69cm^{-1}, il correspond à la vibration d'élongation dela liaison OH des acides carboxylique du fumarate.

✓ La bande d'absorption au nombre d'onde ayant une valeur de 3286.81 cm^{-1}, correspond à l'élongation de la liaison (C=C) des aromatiques.

✓ La bande d'absorption apparaissant à 1712.85 cm-1 et 1661.12 cm^{-1}, sont spécifiques des vibrations d'élongation du groupement (C=O) des acides et des cétones respectivement.

✓ Les deux bands à 1573.97 et 1481.38cm^{-1} correspondent aux vibrations d'élongation de la liaison (C=C) des cycles aromatiques.

✓ Les deux bands apparaissant aux nombres d'onde : 1319.36 et 1257.63cm^{-1}, correspondent aux vibrations d'élongation des liaisons :(C-O) et (C-N) respectivement.

- ***Pour le chitosane***

✓ Le spectre montre deux bandes d'absorption aux nombre d'onde ayant les valeurs de3400 et 3250 cm^{-1}, correspondant aux vibrations d'élongation des liaisons (N-H) et (O-H).

✓ Les bandes d'absorption aux nombres d'onde de 2970 et 2890 cm-1, sont attribués aux vibrations d'élongation de la liaison (C-H) des alcanes.

✓ Le pic d'absorption à 1650 cm^{-1}, correspond à la vibration de déformation dans le plan de la liaison (N-H) des amines.

✓ Les bandes d'absorption des liaisons (C-O) des alcools et (C-O-C) des éthers sortent aux nombres d'onde ayant des valeurs de 1250 et 1070 respectivement.

- ***Pour les microparticules chargées de KF***

✓ Présence d'une large bande d'absorption allant de 3000 à 3550 cm^{-1}, qui regroupe les fonctions : amine, alcool et (O-H) des acides carboxyliques. Ces groupements concernent les molécules alginate de Na, chitosane et la fonction acide de la molécule de KF.

✓ Présence des bandes caractéristiques de la vibration de valence de la liaison (C=C) des cycles aromatiques, cette fonction est caractéristique de la molécule de KF.

✓ Présence des vibrations d'élongation des liaisons (C-N) et (C-O) qui sont présentes dans les molécules : d'alginate de Na, de KF et de chitosane.

✓ Présence des vibrations de valence du groupement (C-O-C), confirme la présence des deux polymères utilisés dans le procédé d'encapsulation utilisé.

Conclusion générale

Dans notre travail, nous avons réalisé une encapsulation du kétotifène fumarate par un procédé de gélification ionotropique, grâce à un système matriciel à base d'un bio polymère qui est l'alginate de sodium et un agent réticulant le chlorure de calcium.

L'objectif principal de ce travail était de produire des microparticules d'alginate chargé kétotifène fumarate, où nous avons appliqué la méthode de TAGUCHI, qui nous a permis de cibler l'ordre d'influence des paramètres étudiés à savoir : la concentration de la solution d'alginate et de chlorure de calcium sur les propriétés d'encapsulation du kétotifène fumarate. Les interactions entre ces paramètres ont été aussi mise en évidence.

A travers cette étude nous avons constaté lors de la caractérisation des particules préparées, que la concentration d'alginate de sodium influe sur la taille et la forme :

En passant des concentrations faibles (de 1%) aux concentrations plus élevées de (2%), une concentration plus élevée de la solution d'alginate permet d'obtenir un gel plus visqueux et donc des gouttes plus résistantes et plus grandes, et encore la forme des billes devient plus sphérique.

Aussi, une augmentation légère des tailles des billes formées et plus précisément de leur diamètre qui variant entre 1.65 mm à 2.54 mm est constatée avec les mêmes concentrations de la solution d'alginate tout en augmentant celle de $CaCl_2$ de 0.5 mol/L à 1.5 mol/L.

En ce qui concerne l'agent réticulant, les formules qui présentent un meilleur taux d'encapsulation contiennent toutes un taux élevé en Ca^{2+} qui atteint une valeur maximale de 99.83% et la teneur varie entre 22.99 % et 98.65%. Tandis que la concentration d'alginate est un paramètre qui impacte très peu sur le taux d'encapsulation du kétotifène fumarate.

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

- Le taux de gonflement est plus important dans le milieu pH7.4 par rapport au milieu pH1.2.

- Un taux de gonflement plus importants est atteint lorsque la concentration d'alginate de sodium augmente dans les deux milieux de dissolution étudiés. A pH 1.2, ce taux atteint un maximum de 47.36% et à pH 7.4 atteint un maximum de 97.44%.

L'analyse par FTIR de l'alginate de sodium, de kétotifène fumarate, de chitosane et des particules chargées de kétotifène fumarate formulation (N°4), a confirmé l'encapsulation de ce dernier dans les particules obtenues.

En conclusion, dans notre étude nous avons atteint l'objectif ciblé, mais il sera intéressant de poursuivre ce travail par :

- Etude et modélisation de la cinétique de libération du kitotifène fumarate ;
- Réalisation des essais in vitro et in vivo des particules formulées ;
- Encapsulation du kitotifène fumarate en utilisant d'autres procédés, tels que : l'émulsification-gélification interne et externe en optimisant le type d'huile.

Références bibliographiques

[1] Benyahia S. Abdallah BouamraneA. « Encapsulation de la doxycycline et de l'aspirine : étude de l'effet des paramètres physicochimiques de préparation sur la stabilité des microcapsules d'alginate », Mémoire de Master, Université de Khemis Miliana, (2017).

[2] Merakchi A. « Etude de la formulation d'un principe actif (la metformine) dans des polymères biodégradables », Mémoire de Master, Université de Bejaia, (2012).

[3] Ben Messaoud G. « Structuration et contrôle de l'architecture de capsules à cœur liquide à base d'hydrogel d'alginate par association de biopolymères », Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, (2015).

[4] Ait Taleb B, Benrejdal A, Takherboucht M, Tidmimt T, « Mise en point et opimisation de microparticules à base de bio polymère : application de gélification par émulsifcation et caractérisation physico-chimique », Mémoire de Master, Université de Tizi-Ouzou, (2020).

[5] Zahaf M. « Formulation de microcapsules à libération prolongée à base de principe actif très peu soluble ou insoluble et caractérisation biopharmaceutique », Mémoire de Master, Université de Blida, (2014).

[6] Lakrid K. « Adsorption du cadmium en système continu sur la montmorillonite pontée à l'aluminium encapsulée par l'alginate de sodium », Mémoire de Master, Université de Blida, (2012).

[7] Benyahia S, Abdallah Bouamrane A. « Encapsulation de la doxycycline et de l'aspirine : étude de l'effet des paramètres physicochimiques de préparation sur la stabilité des microcapsules d'alginate», Mémoire de Master, Université de Khemis Miliana, (2017).

[8] Joël R, Jean-Pierre B, Marie-Claire V. J. « Microencapsulation », Technique de l'ingénieur, J2210, (2018).

[9] Theron F, « Conception et mise en oeuvre d'un procédé intensifié continu de microencapsulation par polycondensation interfaciale », Thèse de Doctorat, Université de Toulouse, (2009).

[10] Marie S. « Apport des nanotechnologies dans le domaine des peptides et des protéines : Application à l'absorption par voie orale et à la furtivité », Thèse de Doctorat, Université de Nancy 1, (2008).

[11] Sophi R. « Etude d'un procédé continu de microencapsulation basé sur un micromélangeur », Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Supérieur des Industries Chimiques, (2009).

[12] Tanzina Huqa C.F.b., AvikKhanc, Ried d B, Bouchardb J, Lacroixa M, "Alginate based nanocomposite for microencapsulation of probiotic: Effect of cellulose nanocrystal (CNC) and lecithin" Carbohydrate Polymers, (2017).

[13] Zhu Y. "*Immobilized cell fermentation for production of chemicals and fuels.* Bioprocessing for value-addedproductsfromrenewableresources, 2007: p. 373-396.

[14] Poe K, McQuade. *Mechanism and application of a microcapsule enabled multicatalyst reaction.* J Am Chem Soc, 2007. 129(29): p. 9216-21.

[15] Vincent E. « Les alginates et leurs applications en pharmacie et en ingénierie, application à la construction d'un biomatériau », Thèse de Doctorat, Université Nancy 1, (2010).

[16] DIBENE K, FOURAR S. « Effet du chitosane sur les propriétés des microparticules à base d'un anti-inflammatoire stéroïdien, la prednisone », Mémoire de Master, Université de Bejaia, (2016).

[17] Guendouzen H, Bousnan M. « Formulation et caractérisation des microparticules à base de biopolymères », Mémoire de Master, Université de Bejaia, (2017).

[18] LinS, ChenY.C, ChenR.N, ChenL C, HoH.O, TsungY.H, SheuM.T, LiuD.Z, "Improving the stability of astaxanthin by microencapsulation in calcium alginate beads", PloS one, 11,e0153685 (2016)

[19] Arrouj C, Hanane B. « Etude d'un procédé de microencapsulation par émulsification d'un principe actif anti-inflammatoire et caractérisation biopharmaceutique », Mémoire de Maste, Université de Bejaïa, (2016).

[20] Venkata N. J.N, Muthu P, Suhas N. S, Surya P.K, P. Seetha R, G. Y Srawa,« Microencapsulation techniques, factorsinfluencing encapsulation efficiency », Journal of Microencapsulation, 27(3), 187–197 (2010).

[21] Merakchi. A, « Etude de la formulation d'un principe actif (la metformine) dans des polymères biodégradables », Mémoire de Master, Université de Bejaïa, (2012).

[22]https://moodle.umontpellier.fr/pluginfile.php/297990/course/overviewfiles/DFG-SP2_Microencapsulation_v2016.pdf, Consulté le 24/05/2013.

[23] Nguyen ThiThanh U, Zuratul Ain Abdul H, Nguyen Xuan Thanh T, NurazreenaBinti A. Fabrication of alginate microspheres for drug delivery. A review, Journal Pre-proofs, (2019).

[24] D. Dhamecha, "Applications of alginate microspheres in therapeutics delivery and cell culture: Past, present and future", International Journal of Pharmaceutics, 569, 118-62(2019).

[25] Amrouche F. « Biodégradation du phénol par immobilisation des bactéries », Mémoire De Magister, Ecole Nationale polytechnique d'Alger, (2008).

[26]Smrdel P, Bogataj M, Mrhar A. "The Influence of Selected Parameters on the Size and Shape of Alginate Beads Prepared by Ionotropic Gelation", Scientia Pharmaceutica, 2008. 76(1) 77-90.

[27]S. H. Ching, N. Bansal, B. Bhandari, "Alginate gel particles–A review of production techniques and physical properties", Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 57(6) 1133-1152(2014).

[28]Thu B, Smidsrød O, Skja_ k-Bræk G. (1996). Alginate gels— some structure-function correlations relevant to their use as immobilization matrix for cells. Progr. Biotechnol. 11:19–30.

[29] Su Hung C, Nidhi B, Bhesh B. Alginate gel particles–A review of production techniques and physical properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 2017.

[30] Chen F. Controlled-release of antacids from biopolymer microgels under simulated gastric conditions: Impact of bead dimensions, pore size, and alginate/pectin ratio. Food Research International 106 (2018) 745–751.

[31] Zhang Z, Zhang R, Zou L, McClements D.J. Protein encapsulation in alginate hydrogel beads: Effect of pH on microgel stability, protein retention and protein release, Food Hydrocolloids (2016).

[32] Evandro M, Denis P, Ramila C R, Denis R. Oil encapsulation techniques using alginate as encapsulating agent: applications and drawbacks, Journal of Microencapsulation,(2017).

[33] Bose P.S. *Preparation and evaluation of indomethacin loaded alginate microspheres.* CeskaSlov Farm, 2016. 65(3): p. 104-110.

[34] Mali K. *Sodium alginate microspheres containing multicomponent inclusion complexes of domperidone.* Latin American Journal of Pharmacy, 2010. 29: p. 1199-1207.

[35]Shukla S. *Formulation and in vitro characterization of alginate microspheres loaded with diloxanidefuroate for colon- specific drug delivery.* Asian Journal of Pharmaceutics,(2010).

[36] Silva C.M. *Alginate microspheres prepared by internal gelation: development and effect on insulin stability.* Int J Pharm, 2006. 311(1-2): p. 1-10.

[37] Smrdel P, Bogataj M, Mrhar A.The influence of selected parameters on the size and shape of alginate beads prepared by ionotropic gelation (2008) .

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

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

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

[41]Aramwit P. Introduction to biomaterials for wound healing. In: Magnus S. Wound Healing Biomaterials. Woodhead Publishing, 3-38 (2016).

[42]Hemaiswarya S, S.CarvalhoI.Algal Biotechnology. In: Omics Technologies and Bio-Engineering ;(2018).

[43]Niekraszewicz B, Niekraszewicz A. "The structure of alginate chitin, and chitosan fibres", Handbook of Textile Fibre Structure : Natural, Regenerated, Inorganic and Specialist Fibres, 2, 266-304 (2009).

[44]Azeem M, ul-Haq I, Batoul F, "Algal-Based Biopolymers, Chapter 1", Chemistry, Biotechnology and Materials Science, 1-31(2017).

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

[46]Aravamudhan A, Sangamesh G K. Natural Polymers. In: Sangamesh G K, Cato T. Natural and Synthetic Biomedical Polymers. Elsevier , 2014. p. 67-89.

[47]Bouderga M. Adsorption du vert malachite par des composite « alginate/bentonite », Mémoire de Master,Université de Tlemcen, (2015).

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

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

[50]Rinaudo M. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials.Centre de recherches sur les MacromoléculesVégétales (CNRS), affiliated with Joseph Fourier University, (2008).

[51] Goujon I. les alginates, excipients d'origine marine utilisés dans l'industrie pharmaceutique : application a la synthèse d'un gel chimique », Thèse de Doctorat, Nancy Université, (2004).

[52] Yuri SP, Agustino MA. The Synthesis of Alginate Microparticles and Nanoparticles. Drug Des Int Prop Int J. 2019; 3suppl1, S293-327.

[53] Ben Messaoud G. « Structuration et contrôle de l'architecture de capsules à coeur liquide à base d'hydrogel d'alginate par association de biopolymères », Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, (2015).

[54] Zheng Z, Joachim K. BiodegradablePolymers. In: lazna R, Langer R. Principles of Tissue Engineering (Fifrth Edition). AcademicPress , 2014. p. 317-342.

[55] Vincent E. « Les Alginates et leurs applications en pharmacie et en ingénierie. Application à la construction d'un biomatériau », Thèse de Doctorat, Université Henri Poincare-Nancy 1, (2010).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

[81]Clarke's Isolation and Identification of Drugs, The Pharmaceutical Society of Great Britain, Second Edition.

[82] https://boowiki.info/art/antihistaminiques/ketotifen.html.consulter le 21/04/2022.

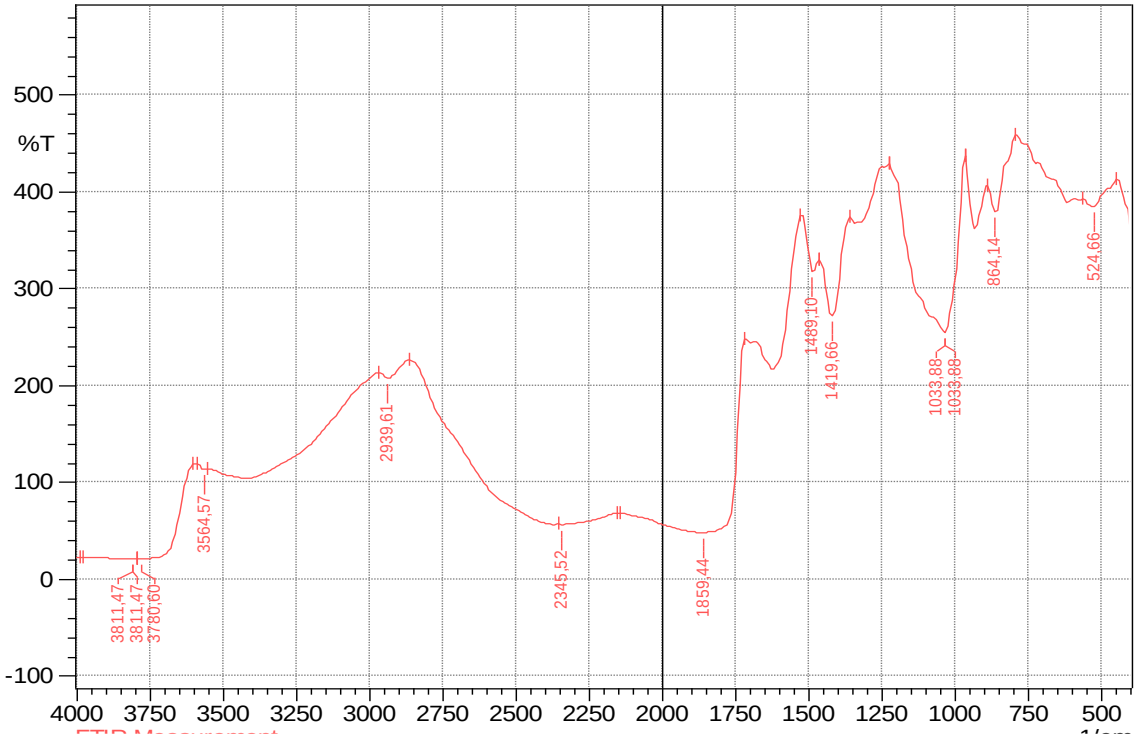
[83]https://www.vidal.fr/medicaments/substances/ketotifene-4031.html.consulter le 29/04/2022.

[84] Sahli M, « Synthèse, élaboration et caractérisation des nano composite à base de magnésium pour le stockage solide d'hydrogène », Thèse de Doctorat, Université de Constantine, (2015).

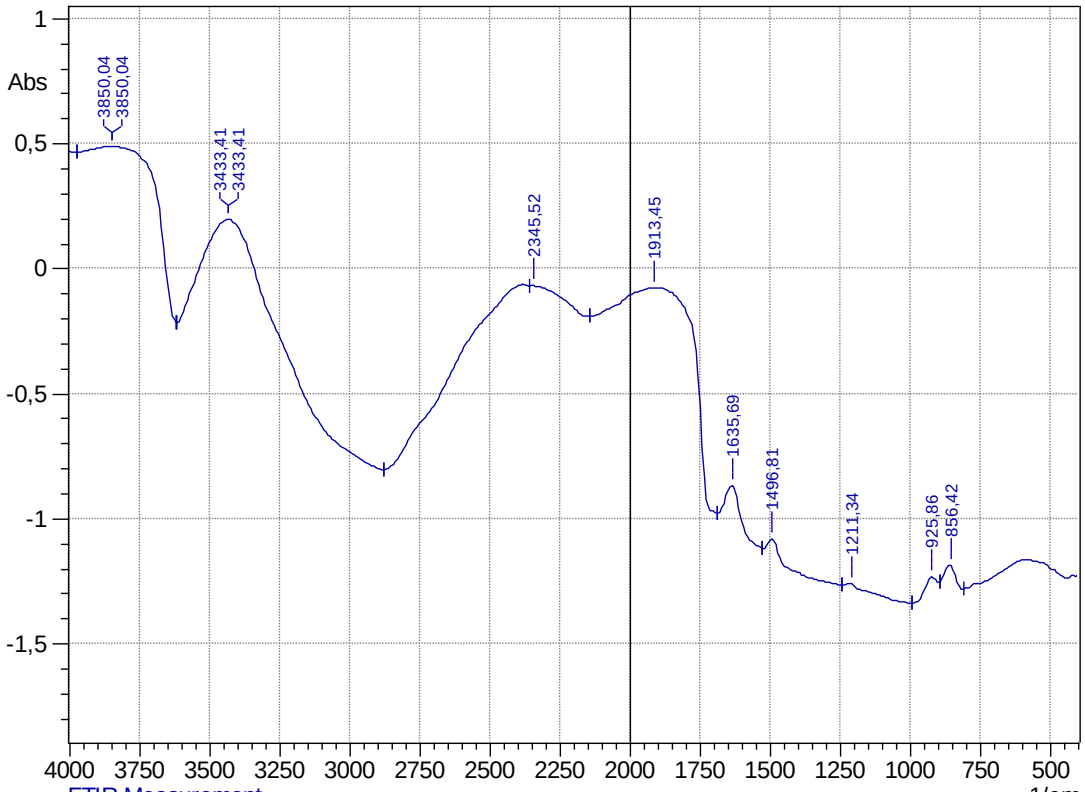
[85] Pharmacopée Européenne ,10éme Edition, (2009).

Annexes

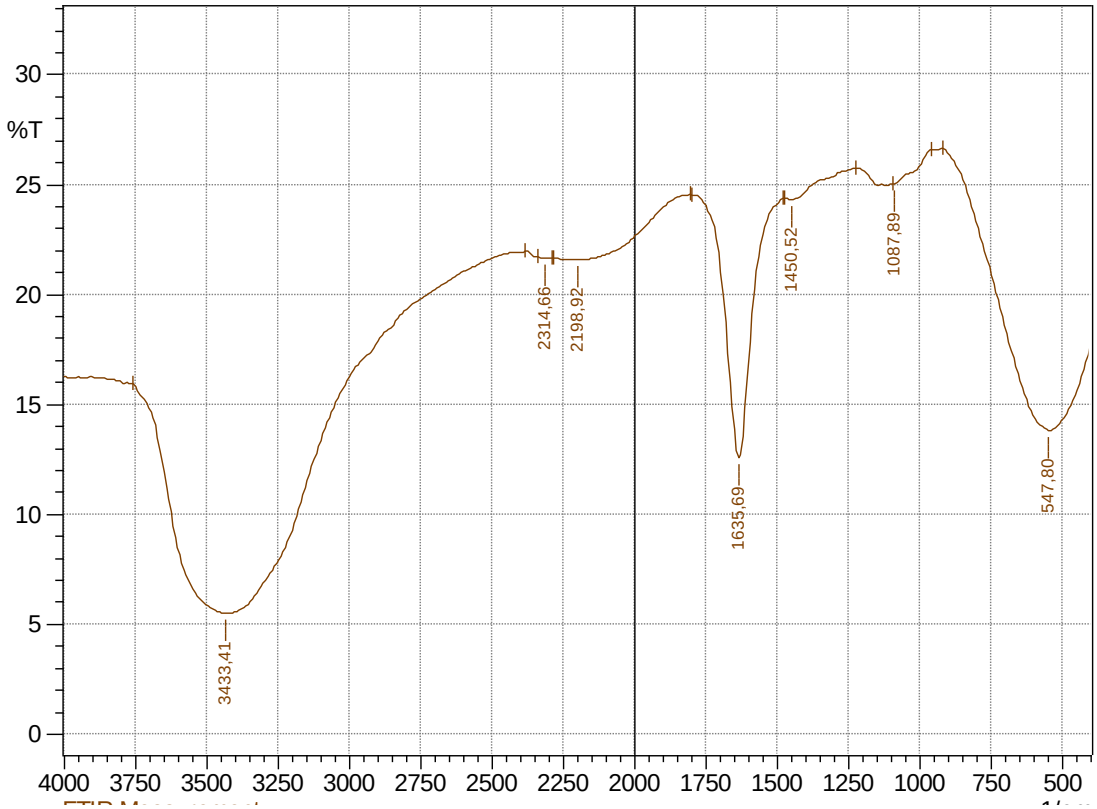
Spectres FTIR des billes d'alginates chargées de KF



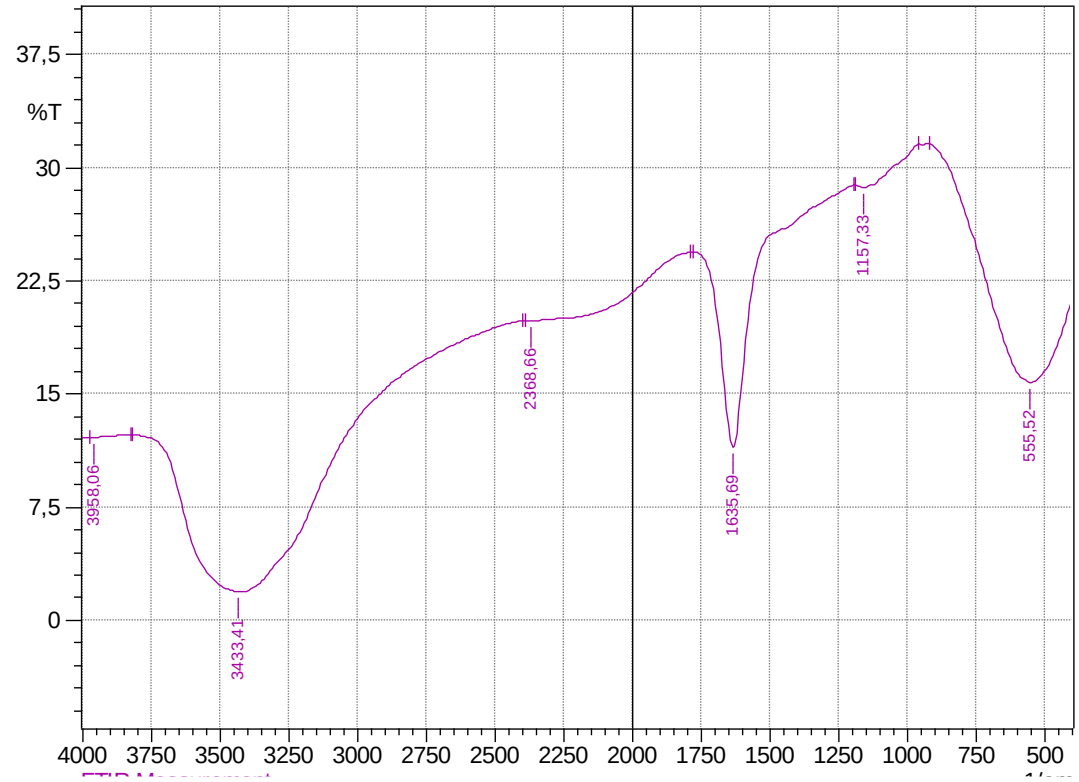
F1



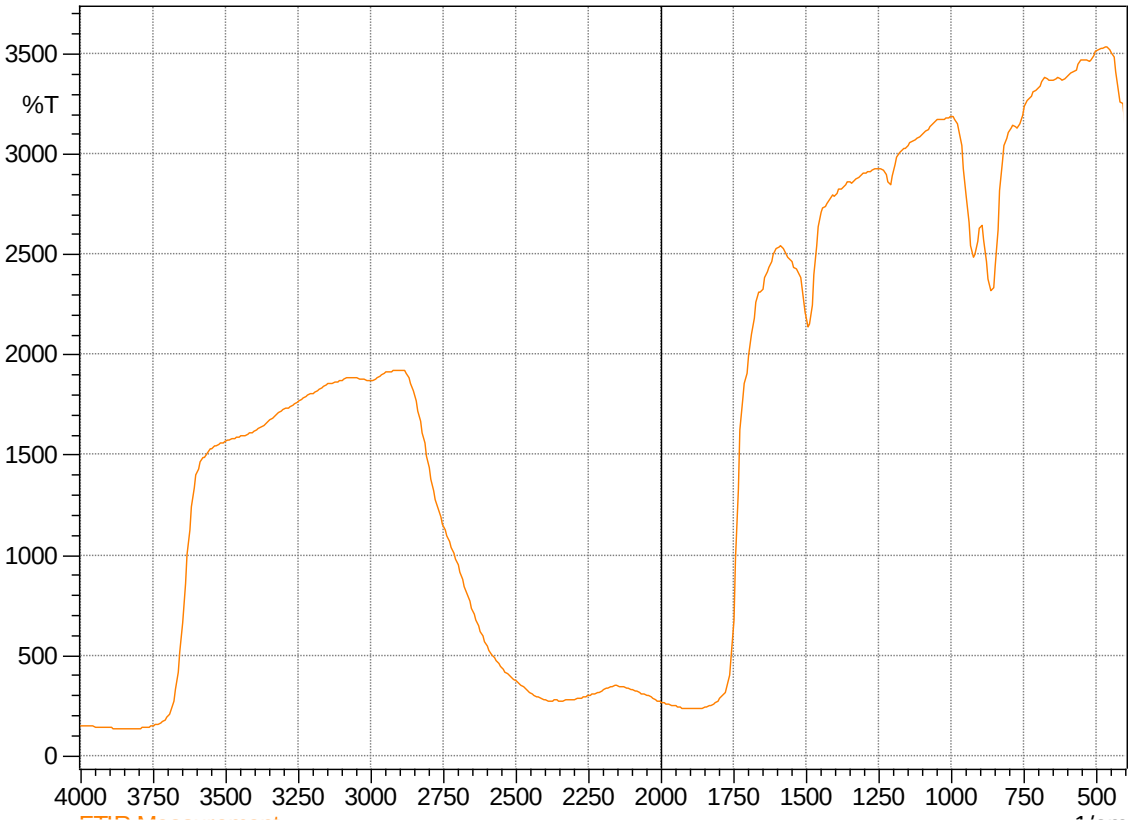
F2


30
%T
25
20
15
10
5
0
3433,41
2314,66
2198,92
1635,69
1450,52
1087,89
547,80
4000 3750 3500 3250 3000 2750 2500 2250 2000 1750 1500 1250 1000 750 500

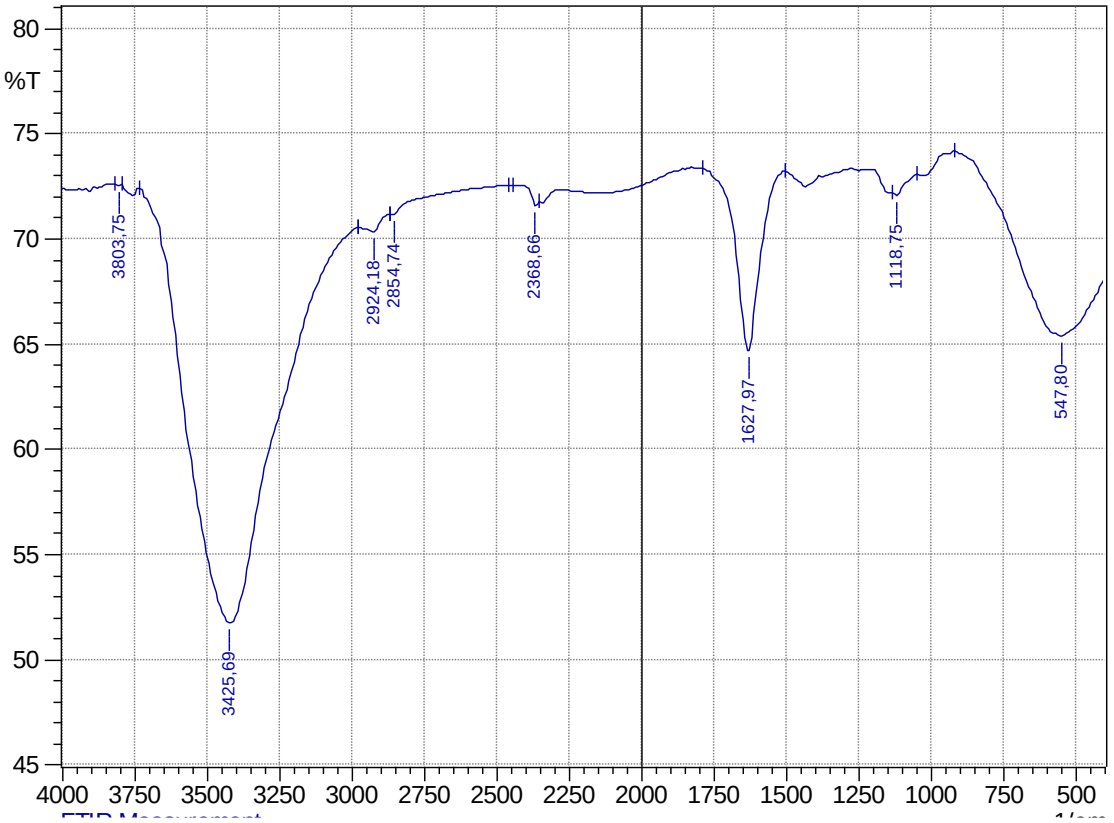
F3


37,5
%T
30
22,5
15
7,5
0
3958,06
3433,41
2368,66
1635,69
1157,33
555,52
4000 3750 3500 3250 3000 2750 2500 2250 2000 1750 1500 1250 1000 750 500

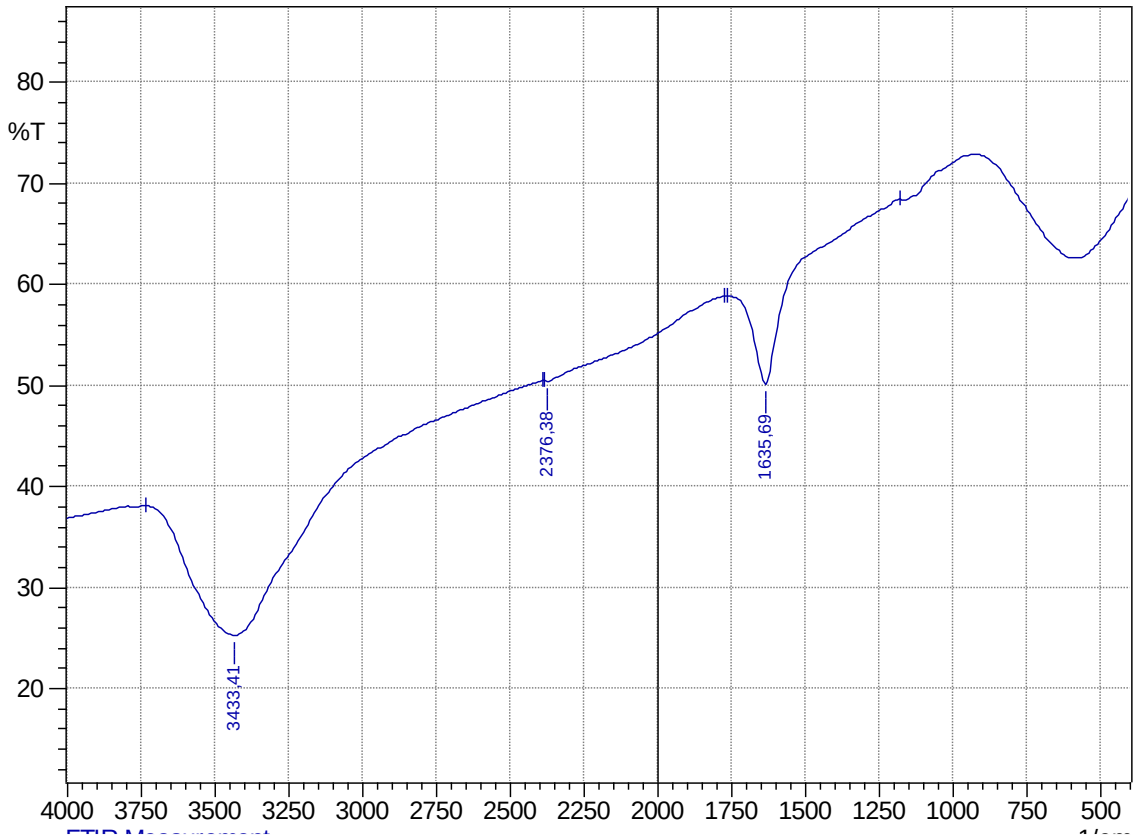
F5


3500
%T
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
4000 3750 3500 3250 3000 2750 2500 2250 2000 1750 1500 1250 1000 750 500

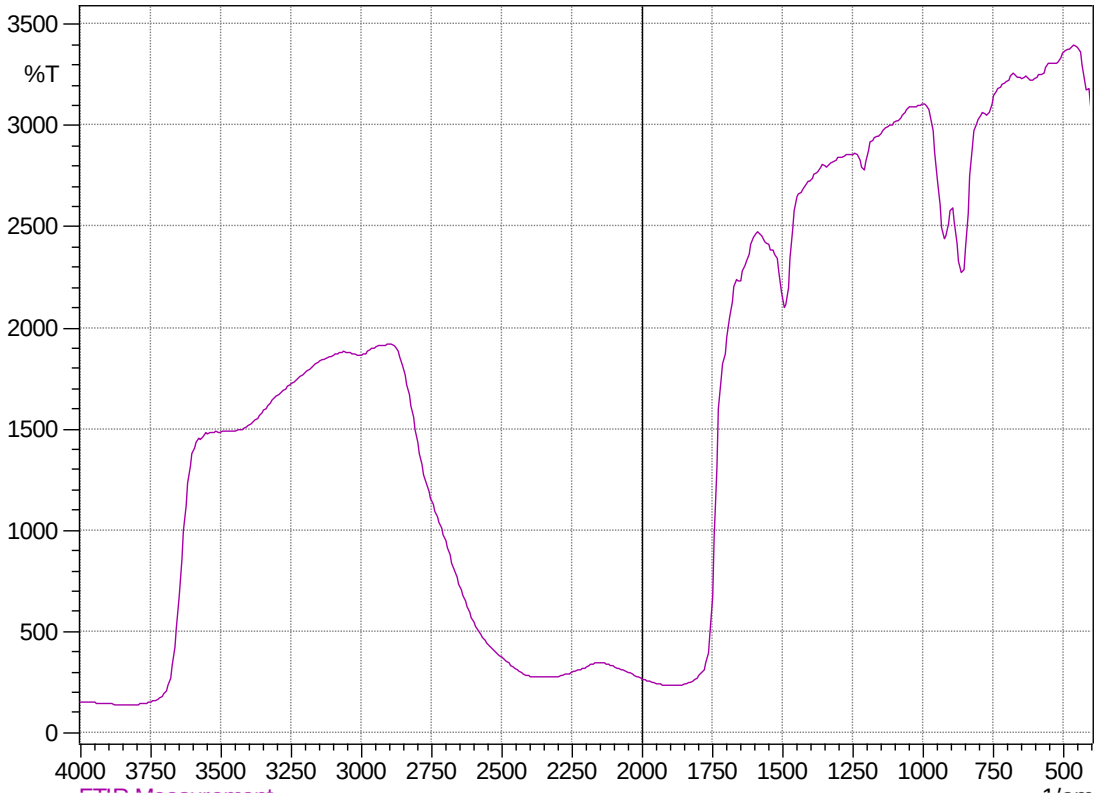
F6


80
%T
75
70
65
60
55
50
45
3803,75
3425,69
2924,18
2854,74
2368,66
1627,97
1118,75
547,80
4000 3750 3500 3250 3000 2750 2500 2250 2000 1750 1500 1250 1000 750 500

F7


%T
80
70
60
50
40
30
20
3433,41
2376,38
1635,69
4000 3750 3500 3250 3000 2750 2500 2250 2000 1750 1500 1250 1000 750 500

F8


%T
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
4000 3750 3500 3250 3000 2750 2500 2250 2000 1750 1500 1250 1000 750 500

F9