REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En chimie

Spécialité : Chimie Pharmaceutique

Par :

Lamia Télaiti

Sabah Aicha

Thème :

Étude des Profils de libération de l'insuline à partir des microcapsules préparées à base du polyéthylène glycol

Soutenue publiquement le : 29/05 /2018. Devant le jury composé de :

Dr.Yahoum Madiha Melha	MCA	U. Médéa	Présidente
Dr. Lefnaoui Sonia	MCB	U. Médéa	Examinatrice
Dr. Rebouh Samia	MCB	U. Médéa	Encadreur

Année universitaire : 2017/2018

Remerciements

Nous remercions en premier lieu ALLAH le tous puissant de nous avoir illuminé et ouvert les portes de savoir, et de nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce travail.

Nos profonds remerciements s'adressent en premier lieu à notre encadreur ***Dr. Rebouh Samia*** *pour avoir accepté de diriger ce travail, pour son aide, ses encouragements, ses précieux conseils, sa confiance, sa patience,… tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

Nous tenons à exprimer nos sentiments de profonde gratitude. avec tout nos respects à vous ***Dr. Yahoum Madiha Melha****, d'avoir accepté de présider le jury.*

Nos sincères remerciements à ***Dr. Lefnaoui Sonia*** *d'avoir accepter d'examiner ce travail.*

Nous tenons à remercier également toute l'equipe du laboratoire de physicochimie du groupe antibiotical "Saidal" de Médea.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

À MES CHĔRS PARENTS

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutient permanent venu de toi.

À ma sœur ***AMINA ET SON MARIE.***

À mon frère ***WALID.***

À Ma chère tante ***MOUNI .***

Vos encouragements constants ont toujours été pour moi les plus Précieux

À mes amies : ***FAHIMA , NABILA , MINA, ET SABAH***

Lamia

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

A mes parents .Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour Dont ils ne cessent de me combler. Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.

A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet: mon fiancé ***BILAL*** *, et bien sur A mes soeurs* ***NOURA, ZOHRA, AMINA, NADJET,***

et mon frére ***AHMED*** *que j'aime.*

A toute ma famille, et mes amis, qui sont plus proche de mon cœurs islem, amina et ines.

A mon binôme ***LAMIA*** *. Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin ce projet soit possible,*

je vous dis merci.

Sabah

ملخص

الهدف من هذا العمل هو اعداد كبسولات صغيره استنادا على صوديوم ألجيناتي من أجل تعبئة جزيء الانسولين من أجل ضمان الإفراج المراقب عن هذا الأخير وهذا في شكل دواء عن طريق الفم. وقد استخدمت غليكول البولي اثيلين لتحسين هيكل الشبكية لهذه الكبسولات الصغيرة وإعطاءها مزيدا من الاستقرار. وقد درست حركيه الإفراج عن الانسولين في بيئة تحاكي المسالك الهضمية. من ناحية أخرى، أجري تمييز للمواد بالأشعة تحت الحمراء بواسطة تحويل فورييه خلال مراحل التغليف لفهم التفاعلات التي يمكن ان تحدث بين الانسولين والمصفوفة البوليمري ،الافراج الاقصى في الوسط المعدي المعوي يكون في الوقت حوالي 120 دقيقة بنسبة لكبسولات الجينات النقية و 240 دقيقة لكبسولات الجينات مع غليكول البولي اثيلين ، آلية الافراج في كلتا الحالتين يتبع حركية النظام الصفري .

الكلمات المفتاحية : ميكروانكبسيلاسيون ، الجينات الصوديوم ، بولي اثيلين جلايكول ، انسولين .

Abstract

The aim of this work is the preparation of microcapsules based on sodium alginate in order to immobilize the insulin molecule where the objective is to ensure a controlled release of the latter in a form of oral administration. Polyethylene glycol has been used to improve the insulin release were studied in a simulated gastrointestinal environment. On the other hand, a FT-IR characterization of materials during the encapsulation stages was conducted to understand the interactions that can be involved between insulin and the polymeric matrix, a maximum release in gastrointestinal medium at a time of about t = 120 min and t = 240 min for the microcapsules of pure alginate and those of alginate-PEG, the release mechanism in both cases follows a kinetics of Zero order.

Key words : microencapsulation, sodium alginate, polyethylene glycol, insulin.

Résumé

L'objectif de ce travail est la préparation des microcapsules à base d'alginate de sodium en vue d'immobiliser la molécule d'insuline dans l'objectif est d'assurer une libération contrôlé de cette dernière sous une forme à administration orale. Le polyéthylène glycol a été utilisé pour améliorer la structure réticulée de ces microcapsules et leur donner plus de stabilité. La cinétique de libération de l'insuline a été étudiée en milieu gastro-intestinal simulé. D'autre part une caractérisation par FT-IR des matériaux au cours des étapes d'encapsulation a été menée pour comprendre les interactions pouvant être mises en jeu entre l'insuline et la matrice polymérique, une libération maximale en milieu gastro intestinale à un temps d'environ t= 120 min et t=240 min pour les microcapsules d'alginate pur et celles d'alginate-PEG ,le mécanisme de libération dans les deux cas suit une cinétique d'ordre Zéro .

Mots clés : micro encapsulation, alginate de sodium ,polyéthylène glycol, insuline

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumé

Liste des figures……*i*

Liste des tableaux……*ii*

Liste des abréviation……*iii*

Introduction générale……1

Chapitre I :L'encapsulation

I.1 Introduction ……3

I.2. Généralité sur les Microcapsules et microsphères…… 3

I.2.1 Historique ……3

I.2.2 La classification des microparticules……3

I.3 Composition des microcapsules ……4

I.3.1 Matériaux enrobant utilisé dans la microencapsulation……4

I.3.2 Les molécules encapsulées – la matière active……6

I.4 Objectifs de l'encapsulation ……7

I.5 Procédés de micro encapsulation ……7

I.5.1 Procédés physico-chimique ……8

I.5.1.1 Procédés basés sur la séparation de phase …… 8

I.5.1.2 Procédé par coacervation complexe …… 9

I.5.1.3 La coacervation simple…… 10

I.5.2 Polymères utilisés dans la coacervation……10

I.5.2.1 Définition des polymères ……10

I.5.2.2 Caractéristiques des polymères……11

A. Le degré de polymérisation ……11

B. La structure……11

I.6 Application de la micro encapsulation……11

Chapitre II : L' insuline

I.1 Introduction.....13

II.2 L'insuline.....13

II.2.1 La structure de l'insuline 14

II.2.2 Les différentes voies d'administration de l'insuline.....15

II.2.3 Comparaison des différentes voies d'administration.....15

II.3 Administration de l'insuline par voie orale.....17

II.4 Différents types d'insuline utilisés dans le traitement du diabète.....18

II.4.1 Les analogues rapides.....18

II.4.2 Les analogues lents 19

II.4.3 Les analogues intermédiaire et remix.....19

Chapitre III: Partie expérimentale

III .1 Introduction 20

III.2 Matériel et méthodes.....20

III.2.1 Les matériels utilisés.....20

III.2.2 Les produits utilisés.....20

III.2.2.1.Aspect générale de l'Alginate de sodium 21

III .2.2.2 Aspect générale de polyéthylène glycol 22

III .2.2.3 Aspect générale de l'insuline.....25

III.2.3 Méthodes d'analyse.....25

III.2.3.1 Spectroscopie FTIR.....25

III.2.3.2 la spectrophotométrie UV- VISIBLE 26

III.3.3 Méthode de Préparation des microcapsules.....27

III.3.3.1 Les microcapsules d'alginate pur.....27

III. 3.3.2 Les microcapsules d'alginate - PEG.....27

III.3 Résultats et discussion.....28

III.3.1 Caractérisation qualitative par FT-IR.....28

III.3.2 Évaluation du taux d'encapsulation *33*

III.3.2.1 Détermination de la longueur d'onde (λ_{max}**)**.....33

III.3.2.2 Établissement de la courbe d'étalonnage……..34

III.3.2.3 Étude de concentration de l'insuline dans les microcapsules……..35

III.3.3 Détermination le diamètre de sphère ……..38

III.3.4 Étude de la libération d'insuline in vitro……..38

III.3.4.1 Cas d'alginate pur……..38

III.3.4.2 Cas d'alginate-PEG……39

III.3.5 Illustration des microcapsules préparées……..41

III.3.5.1 Les microcapsules d'alginate pur……41

III.3.5.2 Les microcapsules d'alginate-PEG……..41

III.3.6 Étude du mécanisme de libération : modélisation de la cinétique de libération d'insuline in vitro……42

III.3.6.1 Calcul de l'ordre cinétique……43

III.3.6.2 Application des modèles correspondants……44

III.4 Conclusion……45

Conclusion générale……46

Référence bibliographique

..Liste des figures

Figure I.1 Types de microparticule…….. 4
Figure I.2 Comportement d'un coacervat (3) vis-à-vis une phase Liquide non miscible (1)…….9
Figure I.3 Schéma de principe du procédé de micro encapsulation par coacervation complexe……..10
Figure. II.1 Double rôle du pancréas au sein de l'organisme……13
Figure. II.2 Régulation de la glycémie par l'insuline et le glucagon……14
Figure. II.3 La structure de l'insuline……15
Figure. II.4 Différentes voies d'administration……15
Figure. II.5 Schématisation de la formation de monomères pour les analogues de l'insuline et l'insuline humaine……18
Figure. II.6 Schématisation de la formation de l'insuline après assemblage de plusieurs chaine d'hexamères d'insuline et modification de certains acides aminés……19
Figure III.1 Photo représentatif de l'aspect général de l'alginate de sodium……...21
Figure III.2 *(a) (*1 4)α-L-guluronate, (b) (1 4) β-D-mannuronate ……....22
Figure III.3 Photo représentatif de l'aspect général de polyéthylène glycol……22
Figure III.4 photo représentatif de l'aspect générale de l'insuline ……..25
Figure III.5 Schéma du protocole expérimental de l'encapsulation de l'insuline par coacervation de l'alginate de sodium et le PEG……..28
Figure III.6 Broyage des billes ……28
Figure III.7 Spectre FTIR de l'alginate de sodium……29
Figure III.8 Spectre FTIR de l'insuline……29
Figure III.9 Spectre FTIR des billes d'alginate contenant l'insuline……...30
Figure III.10 Spectre FTIR du PEG……31
Figure III.11 Spectre FTIR d'alginate-PEG……32
Figure III.12 Schéma montrant la liaison hydrogène dans la structure du copolymère d'alginate-PEG……32
Figure III.13 Variation de la D.O en fonction de la longueur d'onde……34
Figure III.14 Courbe d'étalonnage de l'insuline……35
Figure III.15 Dispositif de lavage et de filtration……36
Figure III.16 Détermination le diamètre de sphère par le pied à coulisse……38
Figure III.17 Le profil de libération d'insuline à partir des microcapsules d'alginate pur……39
Figure III.18 Le profil de libération d'insuline à partir des microcapsules d'alginate-PEG……40
Figure III.19 Photo des microcapsules d'alginate pur……41
Figure III.20 Photo des microcapsules d'alginate-PEG……41
Figure III.21 Images des microcapsules (a) d'alginate (b) d'alginate-PEG obtenues par microscopes à photo……42

Liste des tableaux

Tableau I.1 Principaux matériaux enrobant utilisés dans les différents procédés De la micro encapsulation. ……5
Tableau I.2 Application de la micro encapsulation dans l'industrie……..12
Tableau II.1 voies d'administration possible de l'insuline ……16
Tableau II.2 Avantages et inconvénients des différentes voies d'administration d'insuline……..17
Tableau III.1 Propriétés de l'alginate de sodium ……21
Tableau III.2 Propriétés physiques de PEG……23
Tableau III.3 Propriétés de l'insuline……25
Tableau III.4 Lecture de la densité optique en fonction des concentrations définies de la solution d'insuline……..34
Tableau III.5 Mesure des densités optique des produits présents en solution avec l'insuline (Le cas d'alginate pur)……...36
Tableau III.6 Mesure des densités optique des produits présents en solution avec l'insuline (Le cas alginate – PEG) ……37
Tableau III.7 Les modèles mathématiques……43

Tableau III.8 Les coefficients de corrélation (R2) et les paramètres d'ajustement obtenus à partir de modèles mathématiques de Zéro-ordre, Higuchi, Hixson-Crowell et Korsmeyer-Peppas pour la libération de l'insuline à partir des microcapsules élaborés……...44

Liste des abréviations:

d : diamètre

DEG: diéthylène glycol

DO: Densité Optique

FTIR : Fourier Transformed InfraRed spectroscopy (infrarouges à transformée de Fourier)

$\mathbf{m_T}$**:** masse totale

moy: moyen

MEG: mono éthylène glycol

nbr: nombre

PEG : poly éthylène glycol

TGI : tractus gastro intestinal

UV : ultra violet

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

Ce travail de thèse, qui porte sur la micro encapsulation pour la délivrance d'insuline, s'inscrit dans la perspective d'amélioration du traitement du diabète de type I, tant sur le plan de la qualité de vie des patients en allégeant les contraintes liées au contrôle de glycémie et aux injections pluriquotidiennes d'insuline, que sur le plan thérapeutique, avec un contrôle plus précis de la glycémie. La prise en charge de la population des patients atteints de cette insuffisance partielle ou totale en insuline représente un enjeu majeur et un défi de la médecine pour le siècle à venir alors que les projections placent cette maladie au quatrième rang des pandémies mondiales. [1]

L'objectif de notre travail consiste à trouver des modes de délivrance de l'insuline «in vivo» en boucle fermée. L'une des solutions envisagées réside en une nouvelle forme orale d'insuline permettant une libération contrôlée d'insuline.

La voie de recherche que nous avons choisie s'appuie sur les propriétés de délivrance des hydrogels en forme de microcapsules. Les hydrogels sont des réseaux de polymères gonflés en solution aqueuse. [1] Plus proche de nos intérêts, les hydrogels peuvent être appréhendés comme des édifices polymériques, tridimensionnels, réticulés et non solubles qui présentent la particularité de gonfler et de pouvoir absorber de larges quantités d'eau ou de fluides biologiques (de 10% à plusieurs milliers de fois leur masse sèche)[1]. Leur taux de gonflement dépendra des conditions environnementales. Ainsi, un changement de l'environnement du gel peut induire une variation brutale de ses propriétés de gonflement à l'origine d'un changement de ses propriétés physiques. De nombreux hydrogels sont connus pour leur sensibilité à la température et au pH.

Dans le cadre de ce travail, nous nous sommes intéressés à l'alginate et au polyéthylène glycol (PEG) en tant que vecteur de l'insuline. En effet, du fait de leur porosité, les microcapsules d'alginate et d'alginate-PEG peuvent servir de vecteurs pour l'insuline servant à la fois de réservoir de stockage et de transporteur.

Au fil de ce manuscrit nous nous intéresserons d'abord dans un premier chapitre au procédé d'encapsulation, ses classifications, ses différentes techniques ainsi nous présenterons les différents matériaux utilisés dans l'encapsulation et plus précisément les polymères et nous finissons par des applications globales de l'encapsulation. Le deuxième chapitre de ce manuscrit été consacré pour l'étude de l'insuline utilisé comme principe actif modèle à faible solubilité dans l'eau, elle sera premièrement présentée sur le plan structure et propriétés puis les modes d'administration sont discutés. Le dernier chapitre présente le cœur de notre étude à travers la synthèse et la caractérisation des microcapsules d'alginate dans des conditions physiologiques, leur potentiel pour l'immobilisation et la libération d'insuline en milieu gastro-intestinal simulé., leur amélioration tant sur les plans de leur structure que de leur composition par l'ajout du PEG et cela pour répondre mieux au profile de libération de l'insuline le plus adapté. Et enfin, les cinétiques de libération obtenues ont été modélisées afin d'émettre des hypothèses sur le mécanisme de libération de l'actif et sur le rôle joué par le cœur et la membrane des capsules.

Dans la dernière partie, en tenant compte de notre objectif, seront présentées les conclusions de nos études et les perspectives d'amélioration des résultats ici présentés.

CHAPITRE I :

L'ENCAPSULATION

I.1 Introduction :

La micro encapsulation regroupe l'ensemble des technologies qui permettent la préparation de micro particule individualisées, constitue d'un matériau contenant une matière active.

Les microparticules présentent une taille comprise entre 1µm est 1mm et contiennent typiquement entre 5 et 90 % (en masse) de matière actives qui sont

d'origine très variée : principe actif pharmaceutique, actifs cosmétiques etc. [2]

I.2. Généralité sur les Microcapsules et microsphères

Le terme "microcapsule" est défini comme particule sphérique avec la taille changeant entre 50 nm à 2 millimètres contenant une substance de noyau.[2]

I.2.1 Historique

La première application industrielle de microparticules date des années 1950 quand Green et Schleicher ont encapsulé des particules de pigments dans des polymères naturels (protéine/gélatine et polysaccharide/gomme arabique) par coacervation complexe. Cette stratégie, utilisée pour la production de papier "carbone", permet la duplication d'un texte ou d'une figure sous l'effet d'une faible pression en encapsulant des colorants. [4]

I.2.2 La classification des microparticules

Les procédés de micro encapsulation permettent de préparer des microparticules de deux types :

- Les microcapsules, la particule réservoir est constituée d'un cœur de matière active liquide (plus ou moins visqueux) ou solide, entourée d'une écorce solide continue de matériau enrobant. Les microcapsules ne sont pas nécessairement sphériques ;
- Les microsphères, un réseau macromoléculaire ou lipidique continu formant une matrice dans laquelle se trouve la matière active finement dispersée, à l'état de molécules, de fines particules solides ou encore de gouttelettes de solutions

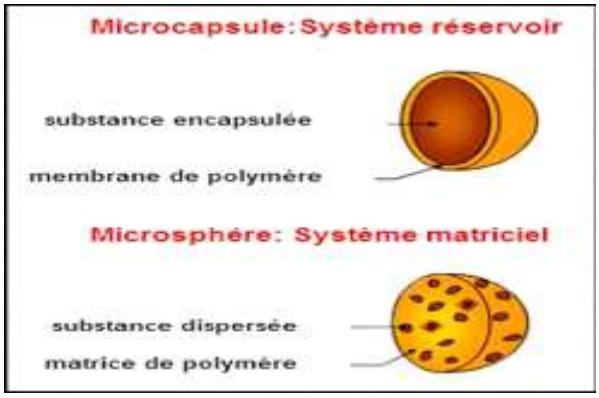


Figure I.1 Types de microparticule[5]

Un certain nombre de facteurs physico-chimiques, permettent de caractériser la membrane d'une microcapsule ou la matrice d'une microsphère :

- Charge électrique de surface ;
- Mouillabilité ;
- Porosité ;
- Tortuosité des pores ;
- Degré de gonflement.

Le taux d'encapsulation (ou la teneur en matière active) peut être très élevée dans les microcapsules, de l'ordre de 85 à 90 % (rapport massique). Comparés à ceux rencontrées dans les microsphères qui sont plus faibles, de l'ordre de 20 à 35 %.

I.3 Composition des microcapsules

Les constituants principaux d'une particule obtenue par micro encapsulation sont la matière enrobante et la matière active.

I.3.1 Matériaux enrobant utilisé dans la micro encapsulation

Les matériaux enrobant utilisés dans les procédés physico-chimiques et mécaniques sont récapitulés dans le Tableau suivant :

i

Tableau I.1 : Principaux matériaux enrobant utilisés dans les différents procédés de la micro encapsulation.[6]

Principaux matériaux enrobant	Procédés mis en œuvre	Exemples de domaines d'application
Polymères d'origine naturelle		
Alginate de sodium	Coacervation Complexe Priling	• Biomédicale : encapsulation • des cellules • Aromes • Cosmétiques • Parfums • Phytosanitaire
Chitosane	Coacervation complexePrilling Spray drying Spray coating	• Pharmacie • Administration orale • Libération gastrique • Masquage de gout
Amidon	Spray-drying	**Alimentaire :** encapsulation d'arômes, d'huiles essentielles ou aromatiques, de vitamines et d'épices
Gélatine	Coacervation complexe Coacervation simple	• Arômes • Parfums • Pharmacie • Autocopiants
Polymères cellulosiques		
Ethyle cellulose (EC)	Coacervation simple	• Pharmacie
Hydroxypropylcellulose (HPC)		
Hydroxypropylméthylcellulose (HPMC)	Spray coating Spray-drying Evaporation-extraction de solvant	• Masquage de gout • Administration orale • Libération prolongée ou déclenchée (entérique)
Esters de cellulose entérosolubles		
Phtalate d'Hydroxypropylméthylcellulose		

Polymères synthétiques		
Copolymères acryliques et Méthacryliques	Spray-drying Spray-coating Extraction-Evaporation de solvant	• Pharmacie • Libération orale • Libération gastrique • Libération prolongée
Polymères synthétiques		
Copolymères acryliques et méthacryliques	Spray-drying Spray-coating Evaporation – Extraction de solvent	• Pharmacie • Administration orale • Libération gastrique • Libération entérique • Libération prolongée • Masquage de goût
Polyoléfines	Co-) extrusion – Sphéronisation Évaporation de solvant	• Chimie • Biomédical • Phytosanitaire • Libération prolongée ou déclenchée par élévation de température
Copolymères vinyliques		
Homopolymères et copolymères d'acide lactique et d'acide glycolique (PLA, PLGA, PEG)	Coacervation simple Spray-drying Évaporation Extraction de solvant	• Pharmacie • Libération prolongée • Administration parentérale de peptides
Lipides solides		
Corps gras solides (esters, alcools, acides gras)	Procédé par rupture de jet (prilling) Solidification d'émulsion (hot melt) Spray-coating Procédé de coacervation en milieu supercritique	• Cosmétique • Chimie • Pharmacie • Libération prolongée ou déclenchée par élévation de température Stabilisation de matières actives • Masquage de goût
Glycérides		
Cires (d'abeilles, de Carnauba, de Candelilla...)		

I.3.2 Les molécules encapsulées – la matière active

La matière active est la partie qui détermine l'utilisation suivante des microparticules produites. La nature des substances actives utilisées dans la micro encapsulation est très variable. Parmi les ingrédients que l'on peut protéger et isoler se trouvent [7]:

- Des arômes, des huiles essentielles et des substances aromatisantes volatiles

- Des vitamines, comme l'acide ascorbique (vitamine C), le β-carotène (vitamine A)-tocophérol (vitamine E) ;
- Des lipides sensibles à l'oxydation tels que des acides gras polyinsaturés ;
- Des acides et bases alimentaires (acide citrique, bicarbonate de sodium) ;
- Des additifs alimentaires (colorants, conservateurs) ;
- Des bactéries et des enzymes ;
- Des principes actifs pour l'industrie pharmaceutique ;
- Des principes actifs cosmétiques ;
- Des minéraux (sels du calcium ou du fer)

I.4 Objectifs de l'encapsulation

L'encapsulation répond à quatre grands objectifs pouvant être combinés.[7]

➢ **Immobilisation :**

• Composés volatiles (e.g. fragances, arômes)
• Procédés de bioconversion en continu (e.g. enzymes, microorganismes)

➢ **Protection / Stabilisation :**

• Stabiliser et protéger le composé actif vis-à-vis de son environnement (e.g. O2 , lumière, T°C, H2 0, pH)
• Protéger le manipulateur ou le consommateur (e.g. protéases dans les détergents, pesticides)

➢ **Libération contrôlée (à un temps donné, sous l'action d'un déclencheur) :**

• Diffusion, réhydratation, dégradation, rupture
• Libération déclenchée par une condition prédéterminée (chimique, physique, mécanique) : température, pH, humidité, pression…
• Libération prolongée avec un profil cinétique déterminé (e.g. vitamines, arômes, pesticides)

➢ **Structuration / Fonctionnalisation :**

• Conversion d'un liquide ou d'un gaz en solide
• Masquage de goût, d'odeur ou de couleur
• Propriétés de surface et rhéologique des poudres ; absence de fines
• Aspect visuel et concept marketing

I.5 Procédés de micro encapsulation

Avant de procéder une préparation d'une micro encapsulation, il faut tenir en compte [8]:

- La taille moyenne et la largeur de distribution granulométrique ;
- La teneur en matière active ou taux d'encapsulation ;
- La forme finale : dispersion de microparticules en phase aqueuse ou en phase solvant, poudre sèche ;
- Les contraintes de stabilité au cours du stockage et au cours de la mise en œuvre ;

- La durée de conservation sans libération de matière active, ainsi que le milieu dans lequel les particules seront conservées ;
- Les conditions de libération et la cinétique de libération. Si l'on souhaite une libération déclenchée, il devra en particulier être précisé quel est le paramètre de déclenchement : pression ou cisaillement mécanique, variation de température, variation de pH, dégradation enzymatique. Pour une libération prolongée, la durée souhaitée de la période de libération sera une des données du problème ;
- Les contraintes réglementaires liées au domaine d'application et au mode d'administration qui sont prescrites dans les réglementations nationales et internationales (Pharmacopée Européenne ou USP par exemple, pour le domaine de la pharmacie).

Les choix du procédé et de la formulation déterminent les caractéristiques finales de microparticules.

I.5.1 Procédés physico-chimique

I.5.1.1 Procédés basés sur la séparation de phase

Le terme conservation décrit le phénomène des sonates en de macromolécules conduisant à une séparation de face au sein du solution .tout facteur tendant à réduire l'assaut vacation d'un polymère en affectant des propriétés du solvant ou la charge de la macromoléculaire va induire ce phénomène. À l'issue de la conservation, de faces seront en présence dans le milieu :

- L'une Riche en polymères et pauvres en solvant, le cours à savoir.
- l'autre pauvre en polymères et riches en solvant, le surnageant.

Si dans le même temps, une matière active est dispersée dans ce milieu , sous forme de gouttelettes par exemple le coiffé avoir formé pourra l'encapsuler si les conditions d'étalement des faces en présence sont respectées

La figure I.2 représente trois situations possible Cas où une encapsulation complète aura lieu, partielle, ou pas d'encapsulation, (l'encapsulation est complète si le coacervat mouille spontanément la surface de la matière active, c'est-à-dire lorsque **S3** > 0, **S2** < 0 et **S1** <1

Comme la tension inter faciale entre le quoi savoir que les lieus surnageant est faible (de l'ordre de 0 ,1 à 0,5 Mn .M^{-1}) , il s'agit que la tension inter faciale y_{12} soit supérieur à y_{13} soit positif , définissant ainsi de bonnes conditions d'encapsulation.[9]

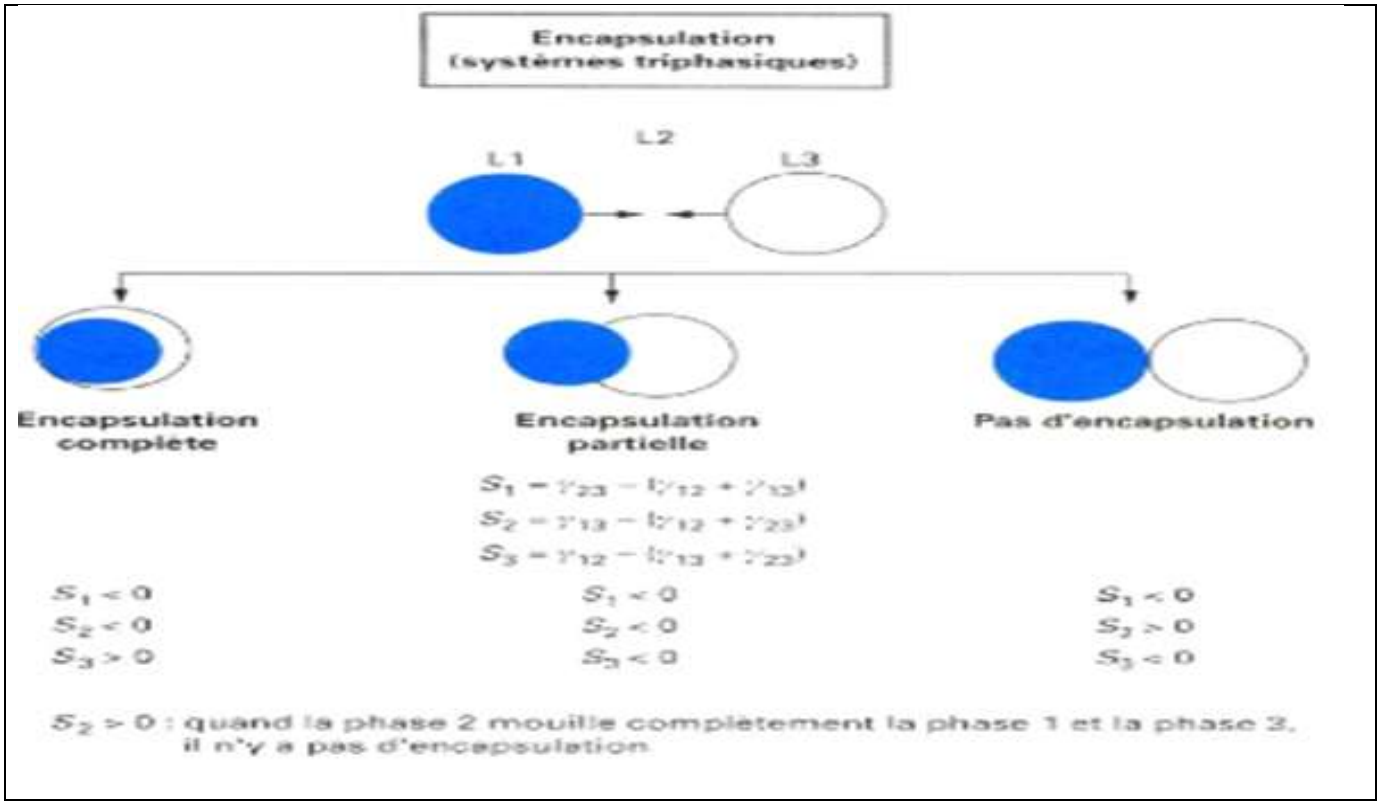


Figure I.2 Comportement d'un coacervat (3) vis-à-vis une phase Liquide non miscible (1).[10]

I.5.1.2 Procédé par coacervation complexe

En effet, la structure du quoi faire voir les complexes puisqu'elle comprend de polymères, par opposition à la coacervation simple qui génère des gouttelettes de coacervat constituées d'un seul polymère [11]. Le procédé de micro encapsulation par coacervation complexes se déroule de la façon suivante :

Dans un premier temps, le produit a encapsulé (sous forme liquide ou solides) est dispersé dans une solution aqueuse contenant les deux polymères (phase a) .Dans un deuxième temps, la coacervation est induite par un ajustement du pH de la solution , de façon que les charges positives du premier polymère équilibrent les charges négatives du second (phase b) . L'attraction électrostatique des deux poly électrolytes provoque l'apparition d'un coacervat mixte. Dans un troisième temps, les gouttelettes de coacervat formé viennent s'adsorber (phase c) à la surface de la matière active à encapsuler et former un enrobage continu (phase d). Finalement, cet enrobage est consolidé par réticulation (phase e) des macromolécules constitutives du coacervat.

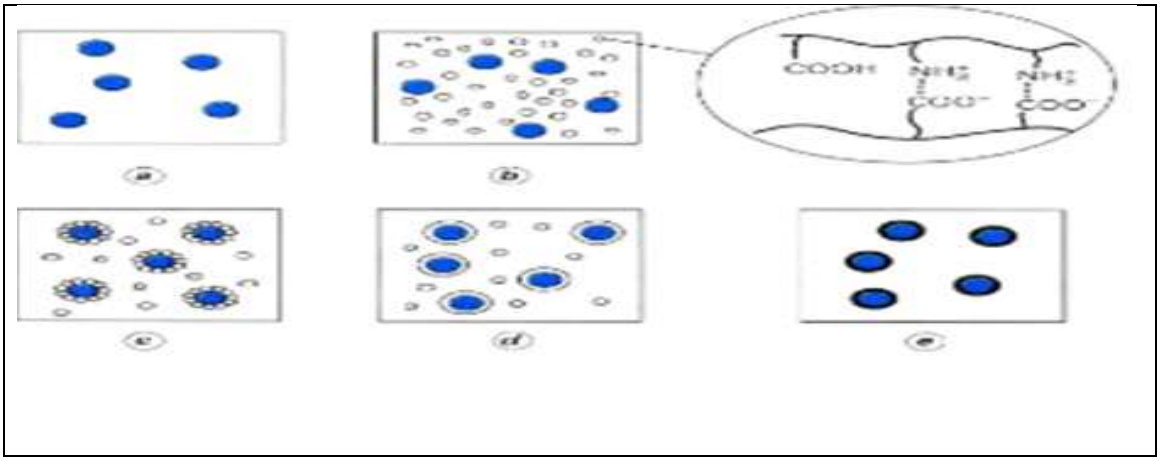


Figure I.3 Schéma de principe du procédé de micro encapsulation par coacervation complexe.[11]

I.5.1.3 La coacervation simple

La coacervation simple se rapporte aux procédés faisant intervenir la dé solvatation d'un seul polymère par l'un des facteurs suivants : abaissement de température, addition d'un non solvant, addition d'électrolytes, addition d'un deuxième polymère incompatible. Ce phénomène peut se dérouler en milieu aqueux ou organique. Les étapes du procédé sont en tous points identiques à celles décrites pour la coacervation complexe.[12]

Les particules obtenues sont généralement des microcapsules. Toutefois, dans certains cas, le procédé par coacervation simple permet d'obtenir des microsphères. C'est le cas lorsque la proportion de substance active est faible par rapport au volume du coacervat.

La taille des microparticules obtenues ainsi que la teneur en matière active sont semblables à celles résultant du procédé par coacervation complexe.

I.5.2 Polymères utilisés dans la coacervation

L'utilisation des biomatériaux ne s'arrête plus à la simple fonction de biomécanique qu'on a bien voulu leur donner initialement. Toutes sortes de matériaux ont été testées comme substituts biologiques sous la forme de prothèse ou de matériaux de comblement pour remplacer une partie manquante mécanique restauratrices de manière passive et inerte. Ces substances ont-à cet effet- une importance commerciale, ainsi qu'ils présentent un programme d'études principales de plusieurs sciences et ingénierie.[13]

I.5.2.1 Définition des polymères

Un polymère est un ensemble de macromolécules issues de l'assemblage covalent de motifs identiques appelés monomères.

- **Monomère :** molécule de base qui réagit par des réactions dites de polymérisation. Le monomère peut être un composé organique insaturé, un composé organique comportant une ou des fonctions réactives...[14]

I.5.2.2 Caractéristiques des polymères

Un polymère donné n'est pas un corps pur, mais un mélange de macromolécules de différentes tailles, et de composition variées, si l'on a plusieurs monomères différents .pour caractériser un polymère, on les données statistiques(masse moléculaire moyenne, degré de polymérisation, structure,...etc.

A. Le degré de polymérisation

Le degré de polymères est le nombre des unités constitues contenues dans une macromolécule.[15]

B. La structure

Au niveau microscopique, les polymères forment des ensembles dont la structure est désignée par le terme "morphologie" ,dont il existe deux structures distincts du polymère; les polymères amorphes et les polymères cristallisés.

B.1 Les polymères amorphes

Ce sont les polymères qui ne peuvent pas cristalliser du fait d'irrégularité de la position des substituant le long de la chaine, ils n'ont pas une température de fusion précise.

B.2 Les polymères cristallins

À l'opposées pour des polymères particuliers, il est possible d'obtenir une cristallisation analogue à celle qui observée chez les molécules simple Or, beaucoup de polymères réguliers par la nature (polyéthylène ou le polysoprène) , ou régulier par la préparation chimique ,peuvent cristalliser plus ou moins complètement, ils ont une structure constituée de cristallites ordonnées , reliée dans une matrice amorphes .Il ont une température de fusion précise, le taux de cristal limité l'importance de la structure cristalline, dans l'ensemble de la matière.[15]

Dans cette étude nous allons étudier la coacervation complexe (Priling) de l'insuline par le biais de l'alginate de sodium additionnée de polyéthylène glycol.

I.6 Application de la micro encapsulation

On trouve désormais des applications de la micro encapsulation dans de nombreux domaines industriels, listés dans le tableau suivant, dans lequel sont également précisés des exemples de composés encapsulés.

Tableau I.2 Application de la micro encapsulation dans l'industrie [16.17.18.19]

Domaine industriel	**Exemples de composés encapsulés**
Pharmacie et médical	Antibiotiques, contraceptifs, enzymes, vaccins, bactéries, vitamines, minéraux, antigènes, anticorps…
Cosmétique	Parfums, huiles essentielles, anti transpirants, agents bronzants, crèmes solaires, colorants capillaires, baumes démêlants, mousses à raser…
Alimentaire	Huiles essentielles, graisses, épices, arômes, vitamines, minéraux, colorants, enzymes, levures, microorganismes…
Agriculture	Herbicides, insecticides, engrais, répulsifs, hormones végétales…
Biotechnologie	Enzymes immobilisées, microorganismes, cellules vivantes, cellules artificielles, cultures tissulaires, composés nutritionnels…
Chimie	Catalyseurs, enzymes, additifs pour plastiques, eau (plâtre et béton), inhibiteurs de corrosion, retardateurs d'incendie, colorants et pigments, agents UV protecteurs, parfums, huiles essentielles, agents lubrifiants…
Détergent	Adoucissants, antistatiques, agents décolorants, agents moussants, silicones, cires, détachants…
Textile	Colorants, parfums, pigments, bactéricides, fongicides, répulsifs d'insectes, agents antistatiques, retardateurs d'incendie, agents imperméabilisants, adhésifs, composés bioactifs médicaux, composés bioactifs cosmétiques
Graphisme et impression	Colorants, pigments, parfums, révélateurs, cristaux liquides, toners, composés photosensibles…
Photographie	Halogénures d'argent, pigments, colorants, composés photo-polymérisables, révélateurs pour photographies couleurs, plastifiants…
Électronique	Cristaux liquides, matériaux semi-conducteurs, adhésifs, agents de séchage, retardateurs de flammes, antistatiques…
Traitement des déchets	Microorganismes, substrats, détoxifiants, déchets liquides (solidification), déchets industriels à risques, déchets radioactifs…

CHAPITRE II :

L'INSULINE

II.I Introduction

Le diabète est considère de nos jours comme ne pandémie grandissante. Le nombre de diabétique est en croissante continuelle, et devrait atteindre les 550 millions en 2030 à travers le monde. L'insuline est systématiquement prescrite aux personnes atteintes d'un diabète insulino- dépendant, le diabétique de type1(manque de production d'insuline par le pancréas)et à de nombreux diabétiques de type2(une sensibilité abaissées à l'insuline).

Le traitement consiste en des injections pluriquotidiennes d'insuline. Malgré l'efficacité des insulines actuelles et l'amélioration des modes d'administration, l'insulinothérapie reste contraignante .Ainsi, afin d'améliorer la qualité de vie du patient diabétique, l'insulinothérapie doit aujourd'hui être simple d'utilisation, avec une efficacité similaire ou améliorée, et une action plus physiologique. L'administration d'insuline par voie orale répond à tous ces critères. Cependant, la nature même de l'insuline et son instabilité dans le tractus digestif sont des limites majeures à la délivrance de l'hormone par voie orale .La protection de l'insuline est donc primordiale. C'est dans ce contexte que se sont développés les vecteurs pharmaceutiques complexes permettant une administration d'insuline simple et physiologique. [20]

II.2 L'insuline

L'insuline, nécessaire à la régulation de la glycémie, est la seule hormone hypoglycémiante. Elle est sécrétée par les ilots de Langerhans du pancréas. Celui – ci présente une double fonction. En effet, glande vitale pour l'organisme, le pancréas participe d'une part à la digestion des aliments en fabriquant des enzymes déversées dans le tube digestif, et d'autre part à la fabrication d'insuline et de glucagon (hormone hyperglycémiant) qui sont déversés dans le sang pour normaliser la glycémie. Ces deux hormone antagonistes ont pour rôle de maintenir la glycémie à des valeurs normales comprise entre 0,8 et 1,2 g /L à jeun. [21]

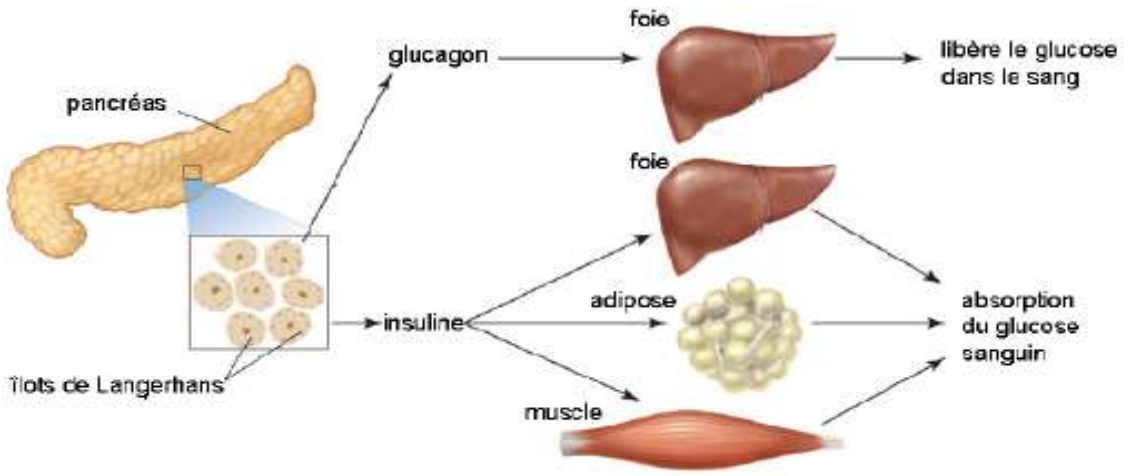


Figure. II.1 Double rôle du pancréas au sein de l'organisme [21]

Le rôle d'insuline est indispensable dans le métabolisme. Sa fonction et de maintenir l'équilibre du taux de glucose sanguin, en le faisant consommer par les tissus de l'organisme (muscles, tissus graisseux, etc. ….) et en diminuant sa production par le fois. L'insuline agit sur la grande majorité des cellules de l'organisme, à l'exception de certaines cellules comme les cellules nerveuses. La fixation de l'insuline aboutit à la consommation du glucose par les cellules cible .Au niveau des organes de stockage du glucose (la fois et les muscles) cette hormone stimule la synthèse de glycogène. Elle stimule aussi la synthèse le lipide dans les tissus adipeux. [22]

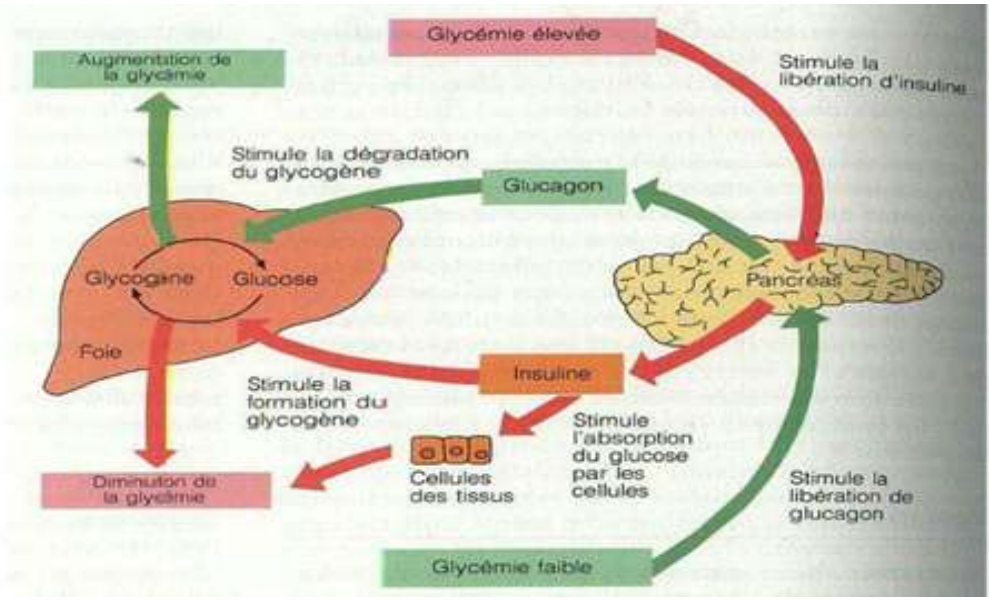


Figure. II.2 Régulation de la glycémie par l'insuline et le glucagon [22]

II.2.1 La structure de l'insuline

L'insuline est un polypeptide de poids moléculaire de 5.8 KDa , Elle est constituée de 2 chaine polypeptidiques , la chaine α de 21 acide aminés et la chaîne de 30 acide aminés, reliées entre -elle par des ponts disulfures(Figue II.3).

Le gène de l'insuline, situé sur le chromosome 11, encode la synthèse d'une séquence de 110 acides aminés correspondant à la pré-insuline.Cette synthèse est réalisée dans le réticulum endoplasmique des cellules β pancréatiques. La séquence signal de la pré- pro-insuline est transportée dans le cis-Golgi, puis dans le tans- Golgi ou elle va être maturée par clivage, donnant l'insuline et le C- peptide. [23]

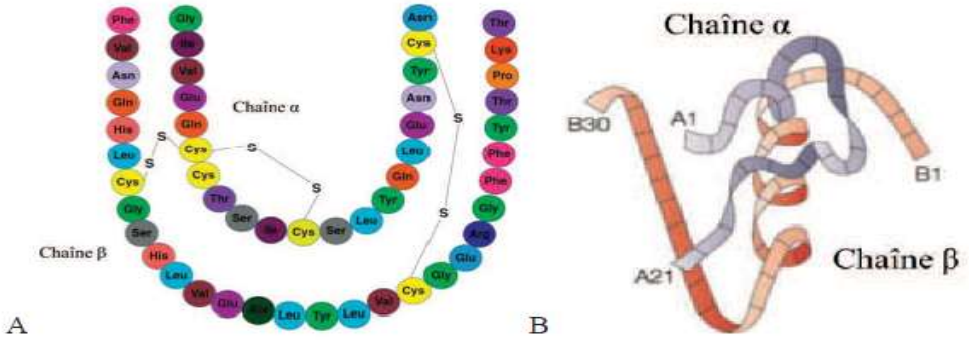


Figure. II.3. La structure de l'insuline (A : structure primaire) ; (B : structure tri-dimensionnelle) [23].

II.2.2 Les différentes voies d'administration de l'insuline

Contraignantes pour le mode de vie, l'insulinothérapie par injection n'est pas le traitement le plus confortable pour les patients. Elle nécessite un contrôle strict de leur glycémie, de leur alimentation et de leur exercice physique. De plus, chaque diabète étant différents, le patient doit lui –même adapter son traitement et son propre cas. C'est pourquoi depuis nombreuses années, les différentes voies d'administration sont proposées(Figure II.4).

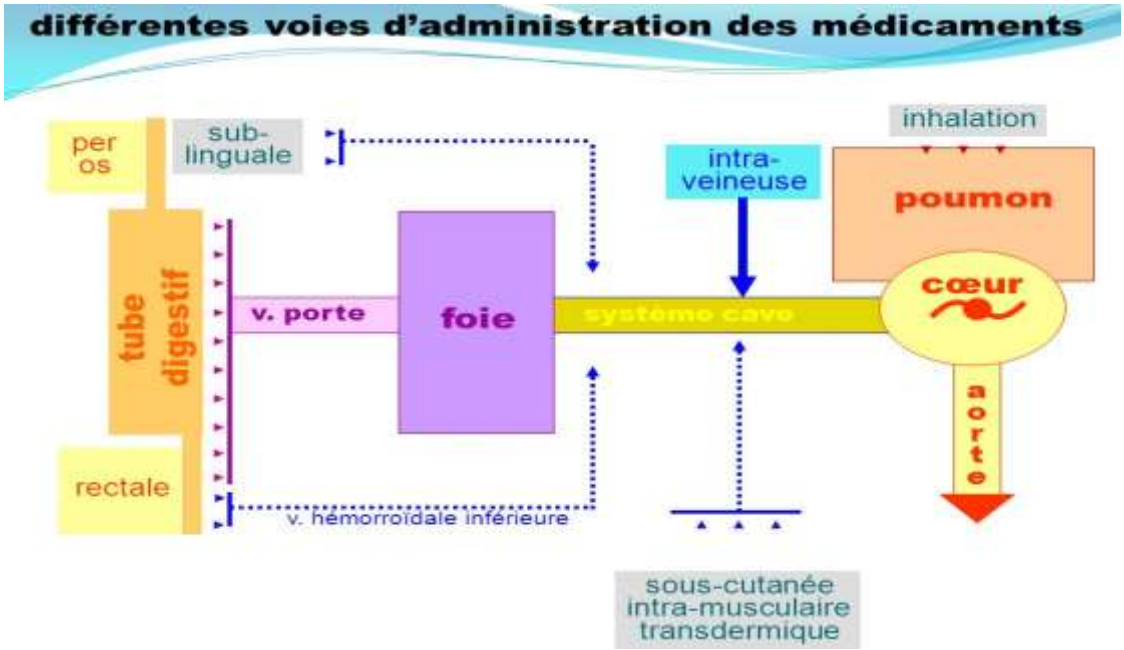


Figure. II.4. Différentes voies d'administration [24].

II.2.3 Comparaison des différentes voies d'administration

Si l'on compare les différentes voies d'administration de l'insuline, on observe qu'elles présentent toutes à la fois des avantages et des inconvénients résumés dans le tableau II.1.

Tableau II.1 Différentes voies d'administration possible de l'insuline [25]

	Avantages	**Limites**
Voie buccale/sublinguale	Aucune dégradation (PH neutre, absence d'enzyme)	Faible perméabilité, faible surface d'absorption
Voie nasale	Boone perméabilité des membranes	Faible temps de contact, irritation rapide des muqueuses
Voie pulmonaire	Large surface de contacts avec les alvéoles vascularisées = réponse rapide	Dose absorbée aléatoire, inhalateur couteux et technique à maitriser
Voie oculaire	Facile d'accès	Faible perméabilité, faible temps de contacte → faible biodisponibilité
Voie rectale	Site d'absorption intéressent → absence d'enzyme	Faible perméabilité, inconfortable si quotidienne
Voie transdermique	Large surface d'échange, facile d'accès	Faible perméabilité aux molécules hydrophiles
Voie orale	**Libération directe dans le sang (contrôle hépatique)**	**Nombreuse contraintes -physico –chimiques**

Néanmoins, l'utilisation et le choix d'une nouvelle voie d'administration repose sur des critères prédéfinis visant le traitement et à améliorer la qualité de vie des patients diabétiques via un meilleur contrôle de la glycémie et un autocontrôle moins contraignant .Si l'on compare les diverses voies d'administration possibles de l'insuline selon les critères précédents, on observe que la voie orale est celle qui remplit ces conditions. En effet, elle est notamment une des seules à remplir la condition de premier passage hépatique (Tableau II.2)

Tableau II.2 Avantages et inconvénients des différentes voies d'administration d'insuline[25].

Caractéristiques / **Voie**	Utilisation simple, rapide et discrète	Pas de piqure	Premier passage Hépatique	Limitation des hypo-glycémies sévères	Pas de Matériel
Voie Buccale/sublinguale	✓	✓	✓		
Voie nasale	✓	✓			
Voie pulmonaire	✓	✓			
Voie oculaire	✓	✓			
Voie rectale		✓	✓		✓
Voie transdermique	✓	✓			
Voie orale	✓	✓	✓	✓	✓

L'insuline orale permettrait donc de reproduire la sécrétion physiologique d'insuline par le pancréas via son passage par la veine porte, manant directement au fois et représentent un avantage physiologique thérapeutique indéniable dans la gestion du traitement du diabète. Le paragraphe suivant porte sur l'étude détaillée de l'administration par voie orale .

II.3 Administration de l'insuline par voie orale

Le tractus gastro-intestinal (TGI) est une voie d'administration de choix pour l'administration de la plupart des principes actifs médicamenteux, indépendamment de leur structure qu'à très peu d'exigence en termes de stérilité, de pyrogénicité et de contamination particulaire [26].

l'insuline possède une importante dans les thérapies de traitement du diabète insulinodépendant (type 1) et pour certain diabétiques de type 2 cependant .elle est encore administrée par l'intermédiaire d'injection .il serait fortement avantageux que l'insuline soit administrer oralement ,permettant ainsi de mimer la délivrance physiologique et de fournir un meilleur contrôle de la glycémie. Cette voie d'administration permettrait de meilleur de la glycémie. Cette d'administration permettrait également de diminuer l'incidence des hyper-insulinémies périphériques conduisant aux complication connues (neuropathie ,rétino-endopathie,etc...)de nombreuse tièdes évaluent le devenir de l'insuline dans le TGI . Les principaux défis rapportés via le TGI [27] .En effet, les contraintes liées à l'administration orale de l'insuline sont principalement de nature chimique, biochimique et physique.

II.4 Différents types d'insuline utilisée dans le traitement du diabète

Voici les grands types d'insuline :

II.4.1 Les analogues rapides

Les insulines à action rapide sont préférentiellement administrées au patient 30 minutes avant le repas de manière à prévenir l'augmentation post-prandiale de la glycémie .les insulines rapides, comme l'insuline lispro, asprat ou glulisine ,proviennent de la modification d'un ou plusieurs acides aminés sur la chaine β de l'insuline .La rapidité d'action de ces analogues est due à la résorption de l'insuline qui est plus rapide . En effet, l'insuline normale est formée à partir d'hexamères, qui doivent se dissocier en dimères puis en monomères pour être efficace. Dans le cas des analogues rapides de l'insuline, la dissociation de ces hexamères est plus rapide (Brange et volund,1999) (Figure II.5)[28].

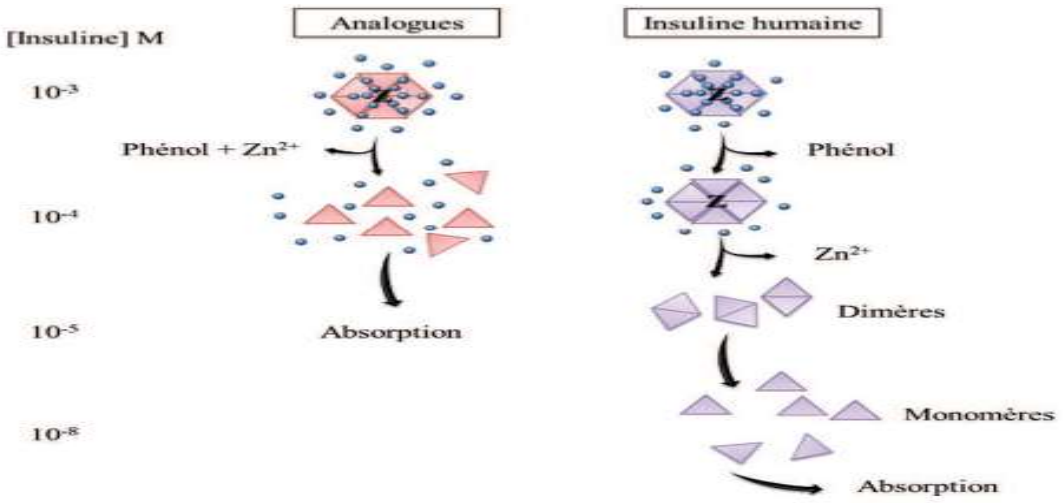


Figure. II.5. Schématisation de la formation de monomères pour les analogues de l'insuline et l'insuline humaine [28].

Le changement des chaines d'acides aminés intervient dans cette dissociation plus rapide. La découverte de la structure de linsuline a permis de définir les 51 acides aminés la composant

et de déterminer les résidus impliquès dans l'auto-association des monomères en hexamères. Le changement d'un ou plusieurs de ces acides aminés peut alors engendrer des modification dans la cinétique de la formation de monomères, et donc la rapidité d'action des analogues .Comme pour toutes les insulines, la stabilisation de cette structure nécessite la présence de zinc et de phénol.

II.4.2 Les analogues lents

Ces analogues de l'insuline ont fait leur apparition après la découverte de la structure de l'insline .Hans Christian Hagerdon a mis au point la première insuline modifiée en la combinant à la protamine et obtenue l'insuline lente, par subtitution de certains acides aminés, ont permis de crées d'autres analogues lents de l'insuline . Ces analogues ont pour but de mimer la sécrétion basale d'insuline et éviter les hyperglycémies nocturnes ,ils sont généralement administrés une fois par jours,et préférentiellement le soir.

une nouvelle insuline ultra-lente est en voie de commercialisation aux Etats -Unis , et a obtenu une autorisation de mise sur le marché en janvier2013 par la commission européenne.Cette insuline nommée Tresibe® (Novo Nordisk,Danemark)est une insuline dégludec ,obtenue après assemblage de plusieurs chaine d'hexamères d'insuline et modification de certains acides aminés (Figure II.6). Cette modification permet à l'insuline d'avoir une demi-vie de plus de 24h et une action hypoglycémiante au moins égale .[29]



Figure. II.6. Schématisation de la formation de l'insuline après assemblage de plusieurs chaines d'hexamères d'insuline et modification de certains acides aminés [29].

II.4.3 Les analogues intermédiaire et remix

Afin de diminuer au maximum le nombre d'injection d'insuline ,des analogues intermédiaire et des remix ont été mis au point .Les analogues intermédiaire sont obtenu après modification de la structure de l'insuline pour obtenir une rapidité d'action entre les analogues rapides et lents .pour les remix , un simple mélange entre analogues rapides et lents effectué.[29]

CHAPITRE III :

PARTIE EXPÉRIMENTALE

III .1 Introduction

Les enjeux de l'encapsulation sont multiples et ont donné naissance à un grand nombre de produits pharmaceutiques. De ce fait, nous avons choisi une technique d'encapsulation pour développer une forme pharmaceutique pour l'administration orale de l'insuline. L'alginate de sodium est utilisé comme polymère de base pour la préparation des microcapsules d'insuline, ainsi le polyéthylène glycol a été introduit dans la formulation de ces microcapsules pour améliorer la structure et donner plus de stabilité à ces microsphères. D'autre part, les microcapsules synthétisées ont subi plusieurs analyses et caractérisations pour comprendre les mécanismes de la micro encapsulation et pour suivre le profil de libération de l'insuline dans le milieu digestive simulé par des tampons appropriés.

III.2 Matériel et méthodes

III.2.1 Les matériels utilisés

- Béchers
- Récipient
- Seringue
- Pipettes
- Agitateur magnétique
- Spectrophotomètre UV
- Papier filtre
- Spectromètre infrarouge
- Balance
- Des erlenmeyers
- pH mètre
- Bain marie
- Fioles jaugées de 10 ml

III.2.2 Les produits utilisés

- Alginate de sodium
- L'insuline
- PEG 8000
- Acide acétique
- Acide chlorhydrique (H Cl)
- EDTA
- Chlorure de calcium ($Ca\ Cl_2$)
- Solution tampon phosphate
- Eau distillée(H_2O)
- Acétate de sodium
- Chlorure de sodium

III.2.2.1.Aspect générale de l'Alginate de sodium

- **Formule moléculaire :** $(C_6H_7NaO_6)_n$



Figure III.1 Photo représentatif de l'aspect général de l'alginate de sodium

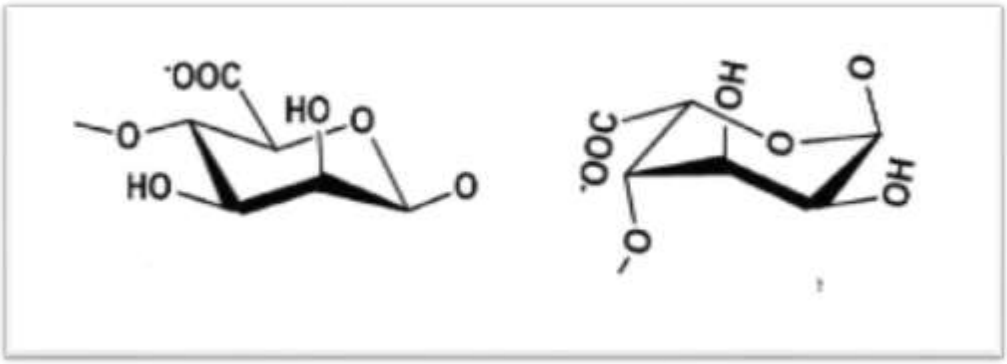
- **Propriétés**

L'**alginate de sodium** ou **polymannuronate sodique** est un additif alimentaire (E401), utilisé dans les boissons, constitué d'alginate et de sodium. Il se présente sous forme de poudre blanche à blanc crème, inodore et sans saveur, très soluble dans l'eau. Il s'agit d'une longue molécule synthétisée à partir de l'acide alginique, extraite d'algues brunes, constituée d'unités glucidiques formant une chaîne.

Tableau III.1 Propriétés de l'alginate de sodium

Humidité	= 15
PH	7,5 de 6.0
Calcium content(%)	=0,3
Teneur En cendres De sulfate(%)	20 .0 de 24.0
Substance insoluble(%)	=0 ,6
Masse molaire	=198,1059 ± 0,0071 g/mol
T° fusion	>300 °C
Solubilité	Soluble dans l'eau

Les alginates qui s'en des copolymères de deux monomères liés en 1et 4. Ses monomères sont des Alpha - acide glucoronique [G] et des Beta - acide mannuroniques [M]. Les deux unités sont des épiméres caractérisés par une position stéréochimique différente des groupements carboxylique en C5.



(a) (b)

Figure III.2 *(a) (*1 4)α-L-guluronate, (b) (1 4) β-D-mannuronate [30].

Sur une plus grande échelle, les monomères M,G s'unissent pour former une chaine polymérique linéaire.[30]

L'alginate était un polymère naturel de la famille des polysaccarides, dans les applications multiples à et varier et ne cessent de se développer. En effet se polymères pour faites de nombreuses propriétés physico-chimique et biologique intéressantes (biocompatibilité, propriétés cicatrisantes).[30]

III.2.2.2 Aspect générale de polyéthylène glycol



Figure III.3 Photo représentatif de l'aspect général de polyéthylène glycol

- **Formule moléculaire** : $(C_2H_4O)_n$
- **Propriétés :**

On appelle polyéthylène glycol ou PEG des polyéthers linéaires de masse molaire inférieure à 20 000 g·mol^{-1} fabriqués à partir de monomères d'éthylène glycol. Leurs propriétés hydrosolubles et liposolubles en font des produits utilisés dans de nombreux secteurs de l'industrie. Il sert par exemple comme épaississant ou gélifiant à la base de nombreux produits cosmétiques (savons liquides, crèmes hydratantes, shampoings, etc.) et paramédicaux (gels hydro alcooliques, lubrifiants intimes, etc.). Il est également utilisé

comme solvant dans les encres pour imprimantes ou pour fabriquer des billes de paint-ball, ou bien comme additif alimentaire.

Les PEG représentent une classe de composés dont la masse moléculaire varie de 200 à plus de 10 000 $g.mol^{-1}$. Les PEG et dérivés ayant des poids moléculaires moyens allant jusqu'à 600 g.mol sont des liquides visqueux incolores à température ambiante .Les PEG de poids moléculaire plus élevés sont des solides blancs cireux.

Le PEG est un problème linéaire neutre chimiquement dont certain propriétés chimiques et physiques provenant de différentes sources sont rassemblées dans le tableau suivant :

Tableau III.2 Propriétés physiques de PEG[31][32][33]:

Propriétés/ Nom du PEG	**PEG200 PEG-4**	**PEG400 PEG-8**	**PEG600 PEG-12**	**PEG1500 PEG-32**	**PEG4000 PEG-90**	**PEG6000 PEG-135**	**PEG8000 PEG-180**
Aspect produit pur à 23 °C	Liquide limpide incolore	Liquide limpide incolore	Liquide limpide incolore	Ecailles limpide blanches	Ecailles limpide blanches	Ecailles limpide blanches	Ecailles limpide blanches
Valeur Moy du poids moléculaire en $g.mol^{-1}$	190-210	380-420	570-630	1300-1600	3000-3700	5400-6600	7000-9000
Température de fusion (°C)	/	4 -8	20-25	44-48	54-58	56-63	58-64
Masse Volumique à25°C en $g.cm^3$	1.127	1.128	1.128	1.210	1.212	1.213	1.214
Viscosité dynamique à 20°C (sol, à 50%) mm^2	/	/	/	31-46	102-158	185-250	240-472
Viscosité à 100°C $mm^2.s^{-1}$	5.4-6.4	6.8-8.0	9.9-11.3	/	/	/	/
Température d'auto inflammation	Environ 360 °C						
Point éclair en °C		223-245		266	270	270	270
pH(solution à (5%)	4.5 -7.0						

Indice d'hydroxyle (mg KOH/g)	356-394	270-291	178-197	70-80	25-32	17-21	12-16
Teneur en MEG + DEG	≤ 0.20 %						
Acidité en acide acétique	≤ 0.015 %						
Teneur en eau	≤ 0.5 %						
Teneur en dioxane	≤5 ppm						
Oxyde d'éthylène	≤1 ppm						
Métaux lourds (Pb)	≤5 ppm						

Le PEG est soluble dans l'eau, tous les PEG sont facilement miscibles à l'eau, mais les PEG solides le sont un peu moins (la solubilité diminue à mesure que le poids moléculaire augmente). Le PEG de faible masse moléculaire peut être utilisé comme solvant avec ou sans ajout d'eau. Il a la capacité à dissoudre des molécules organiques mais également des sels inorganiques par complexassions (l'oxygène jouant le rôle de ligand). Le PEG dans l'eau peut être considéré comme un Co-solvant de l'eau qui fait baisser la polarité de la solution pour permettre une meilleure solubilité des produits organiques. Ce sont des substances hygroscopiques qui humectent la peau car ils sont capables de fixer des molécules d'eau. Le PEG est également soluble dans un grand nombre de solvants organiques tels que le toluène, le dichlorométhane, le méthanol, l'éthanol, l'acétone et l'acétonitrile mais n'est pas soluble dans les hydrocarbures aliphatiques comme l'hexane, le cyclohexane ou le diéthyléther, l'éthanol à froid, l'isopropanol et dans l'eau à température élevée. Le PEG est stable aux acides et bases, aux oxydants et réducteurs bien qu'une oxydation de l'hydroxyle terminal soit possible dans certains système comme H_2O_2.

III.2.2.3 Aspect générale de l'insuline



Figure III 4 . Photo représentatif de l'aspect général d'insuline [34]

- **Formule moléculaire :** $C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$
- **Propriétés :**

L'**insuline** (du latin : *insula* « île ») est une hormone protéique sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans dans le pancréas, ainsi que dans le corps de Brockmann **(en)** chez certains poissons téléostéens . Elle a un effet important sur le métabolisme des glucides, des lipides et des protéines en favorisant l'absorption du glucose présent dans le sang par les cellules adipeuses, les cellules du foie et celles des muscles squelettiques.

Tableau III.3 Propriétés de l'insuline [35]

Masse molaire ù :	5 807,57 ± 0,299 g/mol
T° fusion	81 °C

III.2.3 Méthodes d'analyse

III.2.3.1 Spectroscopie FTIR

L'FTIR est une méthode simultanée en ce sens qu'elle traite le signale de manière globale, chaque point du spectre a été calculé a partir de toutes les données.

La spectrométrie infrarouge est l'un des outils les plus utilisés pour la caractérisation et l'identification des molécules organiques. Est une méthode de caractérisation rapide et sensible de la plupart des molécules existantes.

- **Le principe :**

La spectrométrie infrarouge est la mesure de la diminution de l'intensité du rayonnement qui traverse un échantillon en fonction de la fréquence de vibration de la liaison chimique dans une molécule. Le rayonnement infrarouge dispense suffisamment d'énergie pour stimuler les vibrations moléculaires à des niveaux d'énergie supérieurs. Elle est utilisée principalement pour l'analyse qualitative d'une molécule, en mettant en évidence la présence de liaisons entre les atomes (fonctions et groupements). La majorité des applications se situe entre 2,5 et 25 µm soit en nombre d'ondes de 4000 cm -1 400 cm-1 (IR moyen).

III.2.3.2 la spectrophotométrie UV- VISIBLE

La spectrophotométrie UV- visible, sont basées sur la capacité des molécules d'absorber une radiation électromagnétique. En pratique, on peut utiliser tous les domaines du spectre électromagnétique.

Cette méthode est utilisée pour diverses application, dont :

- la détermination des concentrations(par utilisation d'une courbe d'étalonnage).
- la détermination de la structure des composés (et avec d'autres méthodes physique d'analyse).
- Le dosage de composés dans des solutions.
- Le calcul du coefficient d'extinction molaire (par application de la loi de Lambert–Beer).[36]

- **+Le principe :**

La substance à analyser est exposée à une radiation lumineuse de longueur d'onde «ʎ» déterminée ou variable .une partie de cette lumière incidente (I_0) est absorbe par cette substance, provoque de ce fait des changements dans la molécule. L'autre partie de la lumière est transmise (*I)*.

L'absorption de cette radiation déterminée par la loi de Beer- Lambert :

$$\mathbf{I_o \setminus I = e^{\varepsilon.c.l} ou\ log(I_o \setminus I) = \varepsilon.c.l = D\ (ou\ A)} \quad \text{..... (III.1)}$$

Avec :

C : concentration molaire de la solution en mol. L -1

ε : coefficient d'absorptivité molaire (mol-1 .L.cm-1) spécifique à la substance dans milieu donné.

I: intension transmise

L : épaisseur traversée (en cm)

D : absorbance (ou densité optique)

I_0 : intensité de la lumière incidente

III.3.3 Méthode de Préparation des microcapsules

III.3.3.1 Les microcapsules d'alginate pur

Le protocole d'immobilisation de l'enzyme dans l'alginate de calcium schématisé sur la figure (III.4) décrit comme suit :

1. Dissoudre 0,15 g de l'alginate de sodium dans 10ml de la solution de l'insuline (1.5 ml de suspension compléter à 10 et laisser le mélange insuline / alginate de sodium sous agitation jusqu'à l'obtention d'une solution homogène.
2. Laisser le mélange reposer pendant 30 min pour éviter les bulles d'air qui peuvent causer la flottation des billes à la surface de la solution de $CaCl_2$.
3. Préparer les billes d'alginate/insuline, en faisant verser le mélange insuline / alginate, goutte à goutte à l'aide d'une seringue, dans 50ml de la solution de $CaCl_2$ à 0,1M sous agitation.
4. Les billes instantanément obtenues, sont de diamètre moyen à d_{moy}=4,0 mm.
5. Laisser les billes sous agitation dans la solution de chlorure de calcium pendant deux heures pour solidification).
6. Rincer les billes avec de l'eau distillée, filtrées par centrifugation et conservées à 4°C dans une solution tampon pH 6,0.

Le schéma présenté dans la figure III.5 récapitule tous les étapes d'immobilisation.

III. 3.3.2 Les microcapsules d'alginate - PEG

La préparation schématique le processus de microsphères d'alginate – PEG est :

1. Dissoudre 0,15 g de l'alginate de sodium dans 10ml (1mg d'insuline) de la solution de l'insuline et laisser le mélange insuline / alginate de sodium sous agitation jusqu'à l'obtention d'une solution homogène.
2. Laisser le mélange reposer pendant 30 min pour éviter les bulles d'air qui peuvent causer la flottation des billes à la surface de la solution de CaCl2.
3. Préparer les billes d'alginate/insuline, en faisant verser le mélange insuline / alginate, goutte à goutte à l'aide d'une seringue, dans 50ml de la solution de CaCl2 à 0,1M sous agitation.
4. Les billes instantanément obtenues, sont de diamètre moyen à d_{moy}=4,0 mm (à vous de calculer par pied de coulisse).
5. Laisser les billes sous agitation dans la solution de chlorure de calcium pendant deux heures pour solidification).

6. Rincer les billes avec de l'eau distillée, filtrées par centrifugation et conservées à 4°C dans une solution tampon pH 6,0(Figure III.5)
7. Dispersés la microcapsule (billes) dans 0,1 mg de PEG plus 0.5mg d'insuline (même volume de solution d'insuline ajouter dans la première étape de solidification) qui ont été dissoute dans 50 ml de tampon (0,1 N acétate de sodium ajusté à pH 4,6 avec de l'acide acétique, 0,3 M de chlorure de sodium et 1 mm EDTA) pendant 1h sous agitation de 300 tr/mn comme deuxième étape de solidification.
8. Enfin, les microsphères alginate – PEG doivent être lavées deux fois avec 1 WT% d'acide acétique aqueux pour enlever le PEG résiduel à la surface, puis séché.

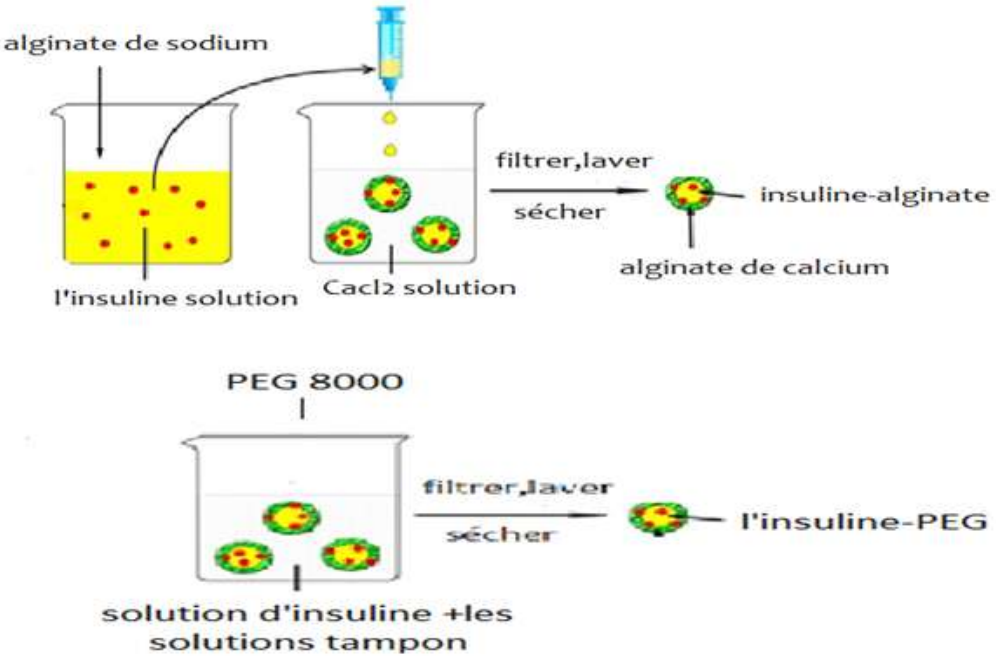


Figure III.5 Schéma du protocole expérimental de l'encapsulation de l'insuline par coacervation de l'alginate de sodium et le PEG.

III.3 Résultats et discussion

III.3.1 Caractérisation qualitative par FT-IR

La caractérisation par FTIR consiste à une analyse spectrale qualitative des microcapsules ainsi obtenues pour étudier les interactions probablement mises en jeu lors de leur mise en forme. Avant d'effectuer l'analyse, les capsules sont séchées et broyées comme illustré selon dans la figure III.6



Figure III.6 Broyage des billes

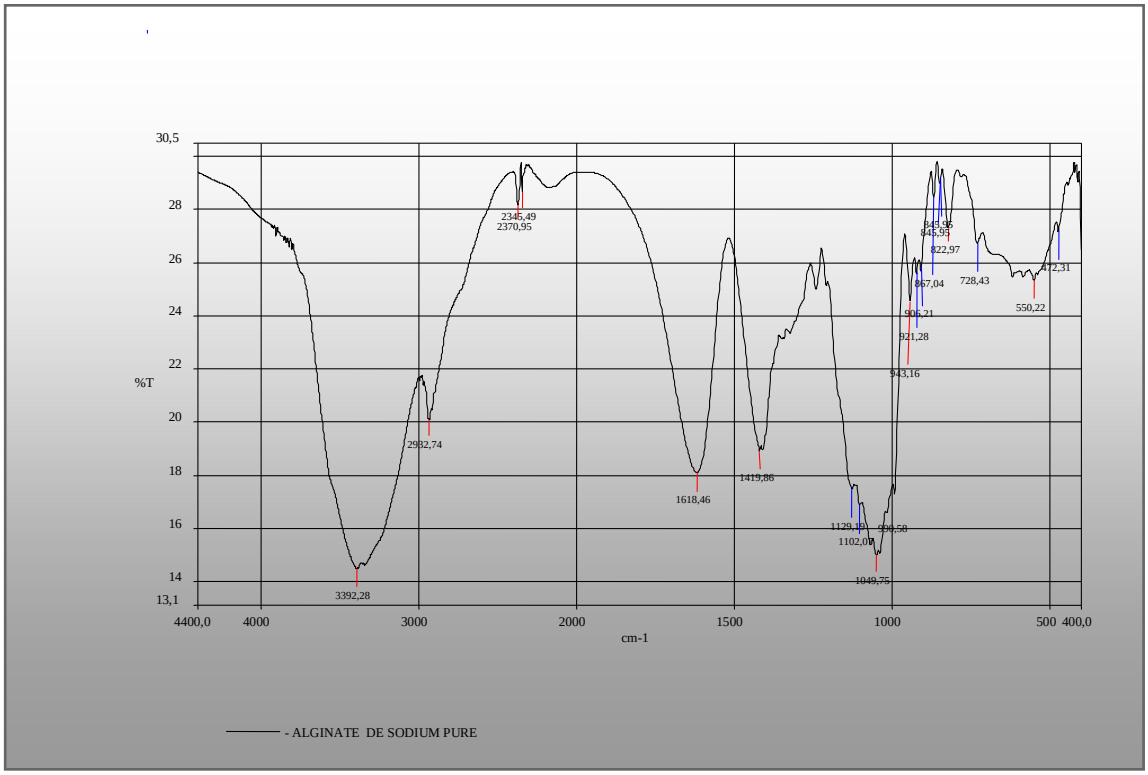


Figure III.7 Spectre FTIR de l'alginate de sodium

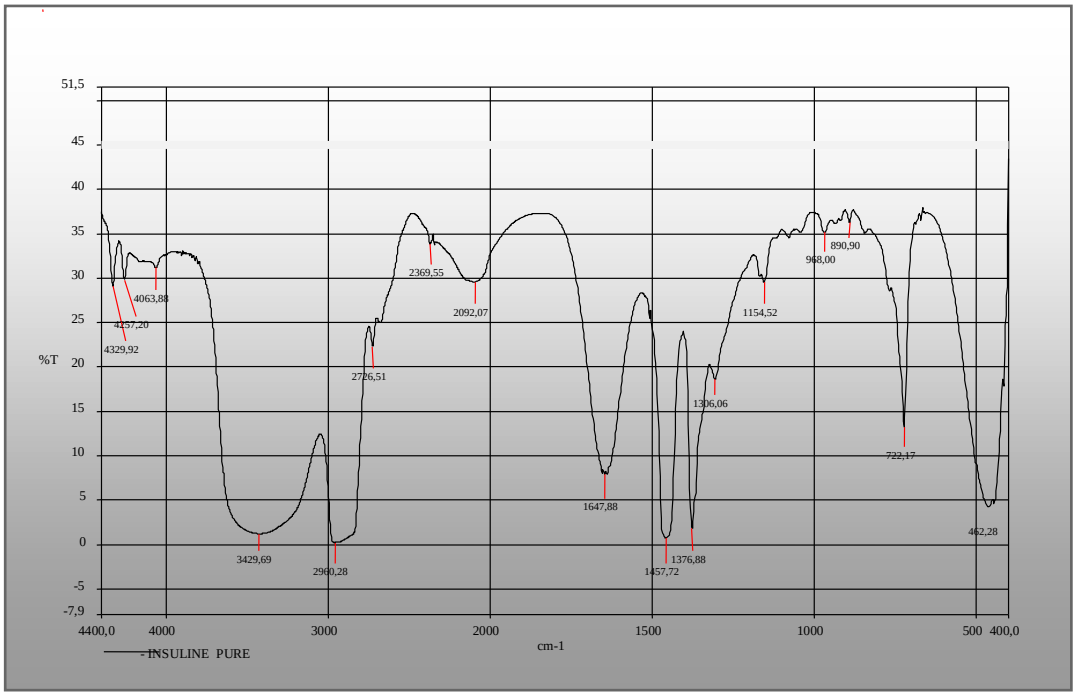


Figure III.8 Spectre FTIR de l'insuline

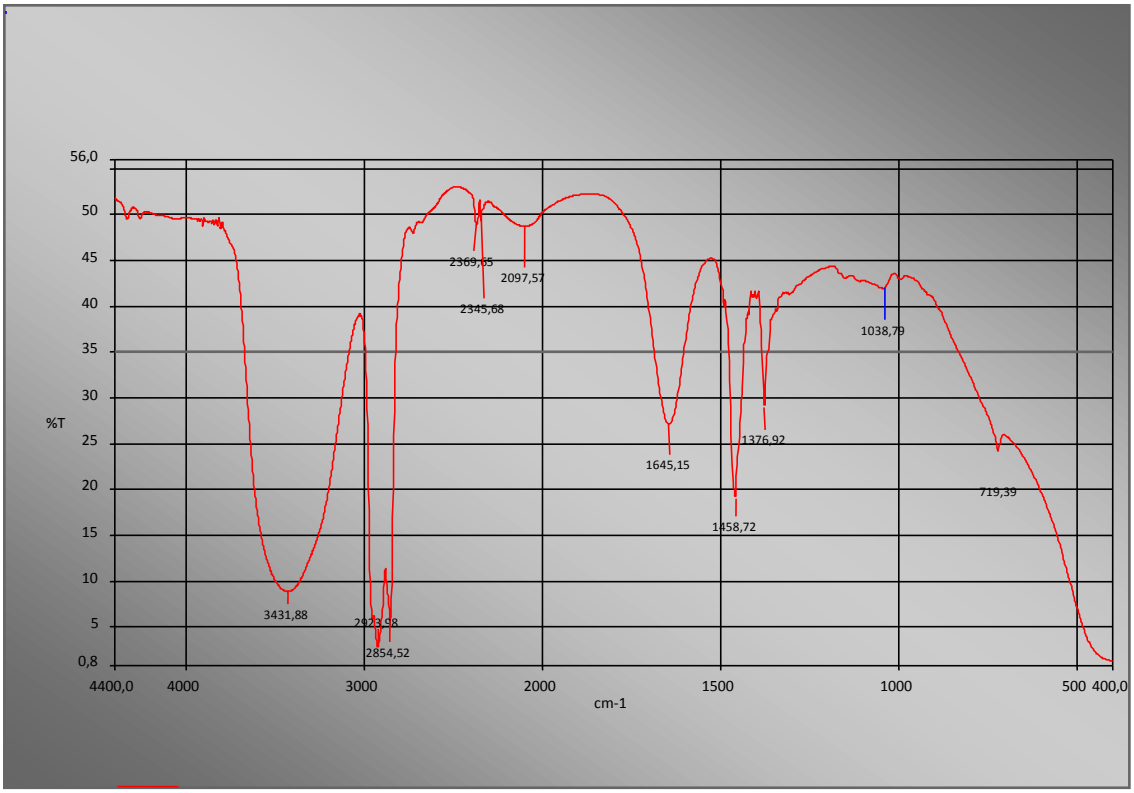


Figure III.9 Spectre FTIR des billes d'alginate contenant l'insuline

Afin d'examiner la relation entre les composants des systèmes de nanoparticules, des préoccupations préliminaires ont été prises sur les interactions des polyélectrolytes et l'emprisonnement à l'insuline. Le monomère d'insuline contient de nombreux groupes ionisants, en raison de six résidus d'acides aminés capables d'atteindre une charge positive et 10 résidus d'acides aminés capables d'attacher une charge négative. Il est bien établi que le groupe carboxyle (– COO) du polymère anionique de l'alginate peut interagir avec le groupe amino de l'insuline et former un complexe ionique entre les deux composés. Par conséquent, il y a des changements dans les spectres FTIR dans les bandes d'absorption des groupes aminés et des groupes carboxyle.

Les Figures III.7, III.8 et III. 9 représentent les spectres FTIR de l'alginate, de l'insuline et des microcapsules d'alginate-insuline pure.

Nous pouvons voir des pics d'alginate carboxyle près de 1618,46 cm-1 (COO symétrique de l'étirement des vibrations) et 1419,86 cm-1 (asymétrique COO stretching vibration) élargir et légèrement décalé de 1618,46 à 1645,15 et 1419,86 à 1458,72 après la complexassions avec l'insuline. Ceci peut être attribué à une interaction ionique entre le groupe carbonyle de l'alginate et le groupe amino de l'insuline.

Après les spectres représentés par les figures, on peut tirer les interprétations suivantes :

1- Le spectre du l'insuline présente quelques bandes d'absorption équivalentes à sel des capsules et si on prend en considération seulement les valeurs exactes de λ , on ne trouve aucune valeurs appartienne à l'ensemble d'intersection entre les deux , mais si on prend les valeurs approximativement sont égaux , on trouve sept valeurs :

(719 ≈722,17) ; (1376,88 ≈1376,97) ; (1457,72 ≈1458,72),
(1645,15 ≈1647,88) ; (2092,07 ≈ 2097 ,57) ; (2369,55 ≈ 2369 ,65)
(3429,69 ≈ 3431 ,88)

2- si on compare le spectre de l'alginate de sodium avec sel de billes et si on prend en considération seulement les valeurs exactes de λ, on ne trouve aucune valeurs appartienne à l'ensemble d'intersection entre les deux , mais si on prend les valeurs approximativement sont égaux , on trouve trois valeurs : (1038,49≈ 1049,75) ; (2345,49 ≈ 2345,68) ;

(2932,74 ≈ 2923,98)

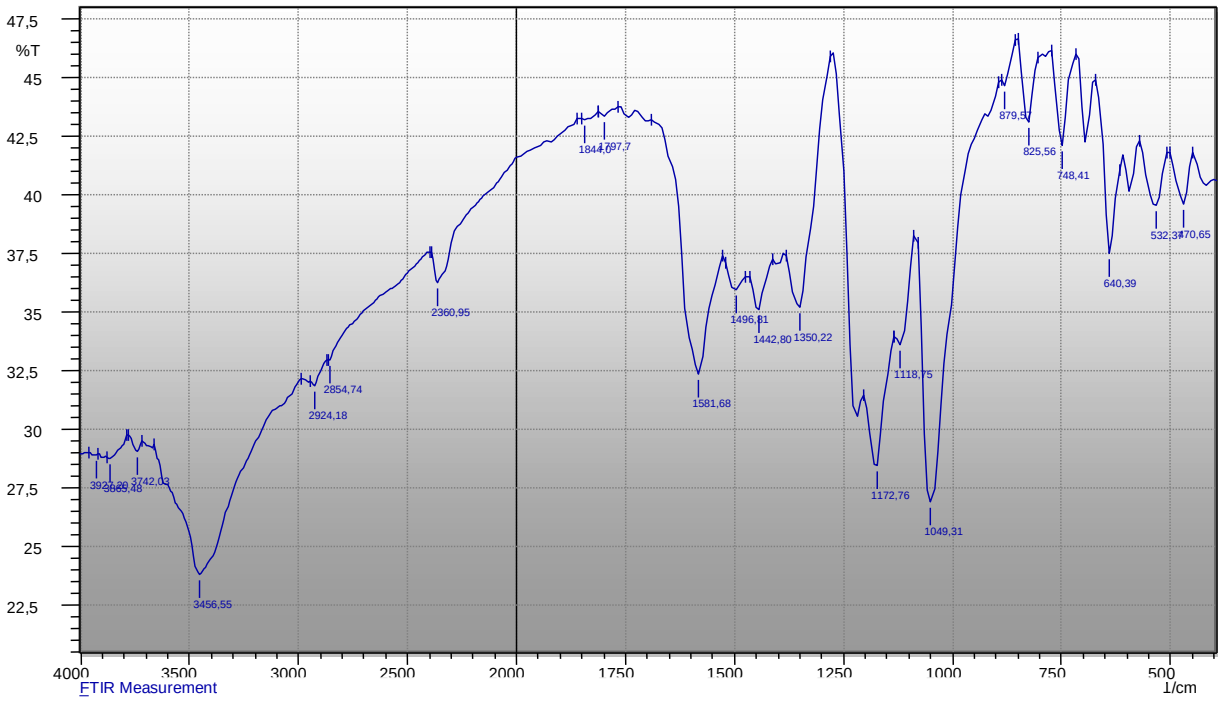


Figure III.10 Spectre FTIR du PEG

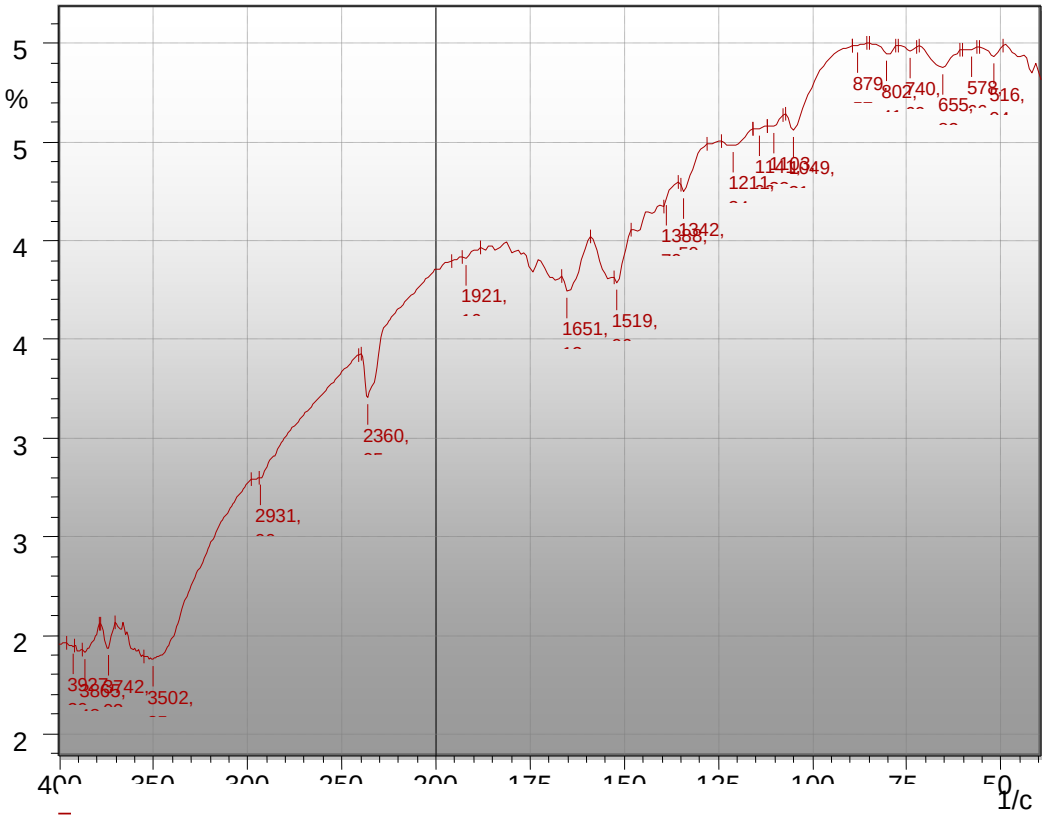


Figure III.11 Spectre FTIR d'alginate-PEG

Les deux figures III.10 et III.11 montrent clairement l'atténuation et la disparition du plusieurs bandes caractéristiques dans la molécule de polyéthylène glycol. Cela est due aux interactions de type liaisons hydrogènes établies entre l'alginate et le PEG illustré dans le schéma suivant :

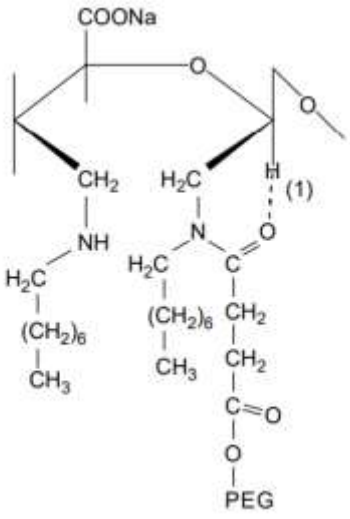


Figure III.12 Schéma montrant la liaison hydrogène dans la structure du copolymère d'alginate-PEG.[37]

Après les spectres représentés par les figures, on peut tirer les interprétations suivantes :

1- Le spectre du PEG présente quelques bandes d'absorption équivalentes à sel des capsules et si on prend en considération seulement les valeurs exactes de λ, on trouve les cinq valeurs suivantes : [1342,50, 2360,95, 1103,32, 1049,31 879,79]

2- Si on compare le spectre de l'alginate de sodium avec sel de billes et si on prend en considération seulement les valeurs exactes de λ ,on ne trouve aucune valeurs appartienne à l'ensemble d'intersection entre les deux , mais si on prend les valeurs approximativement sont égaux , on trouve trois valeurs suivantes : (550,22≈ 578,66) ; (2932,74 ≈ 2931,9);(822,97≈802,41)

3- Si on compare le spectre d'insuline avec sel de billes et si on prend en considération seulement les valeurs exactes de λ, on ne trouve aucune valeurs appartienne à l'ensemble d'intersection entre les deux, mais si on prend les valeurs approximativement sont égaux, on trouve sept valeurs suivantes :

(740,69 ≈ 722,17) ; (1154,52 ≈ 1141,03) ; (1376,88 ≈ 1388,79) ;

(1457,72 ≈1519,96) ; (1647,88 ≈1651,12) ; (1921,16 ≈2092,07) ;

(3429,69≈3502,85)

III.3.2 Évaluation du taux d'encapsulation

Avant d'entamer l'étude du taux d'encapsulation, il faut trouver la courbe d'étalonnage de l'insuline mais après qu'on y trouve la longueur d'onde d'absorption maximale (λ_{max}).

III.3.2.1 Détermination de la longueur d'onde (λ_{max})

On dispersés 1mg d'insuline dans 10 ml d'eau distillée (fiole de 10 ml) et faire agitation, on prend une solution de concentration de 0,1 mg/ml et on fait un balayage par le spectromètre **d'ultraviolet** et on note la variation de D.O en fonction de la longueur d'onde.

D'après le balayage, on peut tracer le graphe suivant :

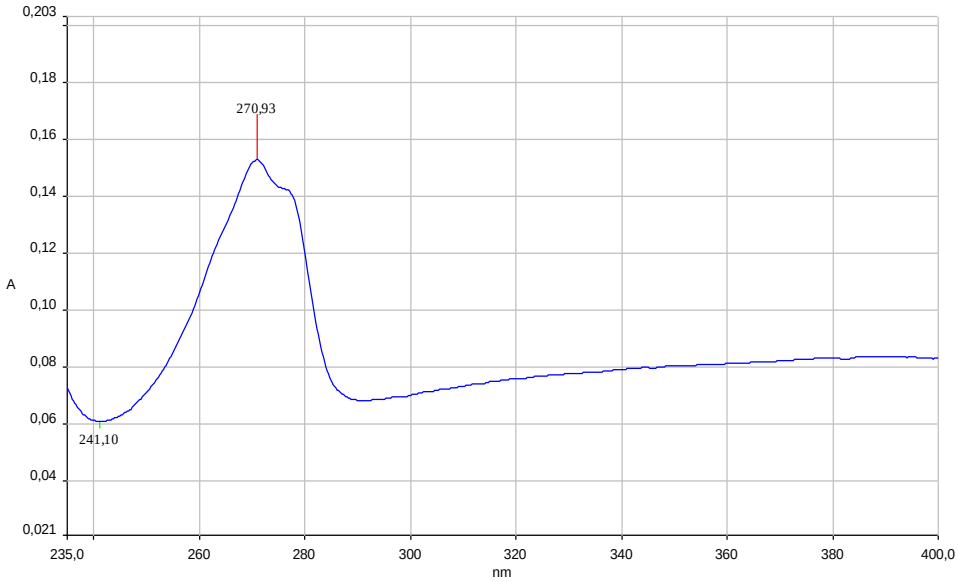


Figure III.13 Variation de la D.O en fonction de la longueur d'onde

À partir du graphe précédent, et par la projection de la D.O maximale sur l'axe des abscisses, on peut déduire la valeur de la longueur d'onde équivalente à l'absorbance maximale **:** λ_{max}**= 271 nm**

III.3.2.2 Établissement de la courbe d'étalonnage

Pour l'instant, nous avons la longueurλ_{max}, alors on peut tracer la courbe d'étalonnage faisons les étapes suivantes :

Nous préparons les différentes dilutions à partir de la solution mère du l'insuline (la solution préparée précédemment) pour obtenir des solutions avec des concentrations connus, et mesurer le D.O correspondante à chaque concentration par le spectrophotomètre UV-VISIBLE.

Après les mesures, on peut tracer la courbe d'étalonnage suivante :

Tableau III.4 Lecture de la densité optique en fonction des concentrations définies de la solution d'insuline.

λ_{max}	**Concentration (µg/ml)**	**D.O**
271,0	4,3700	0,0854
	8,7500	0,1746
	13,125	0,2910
	17,500	0,3376
	21,857	0,4276

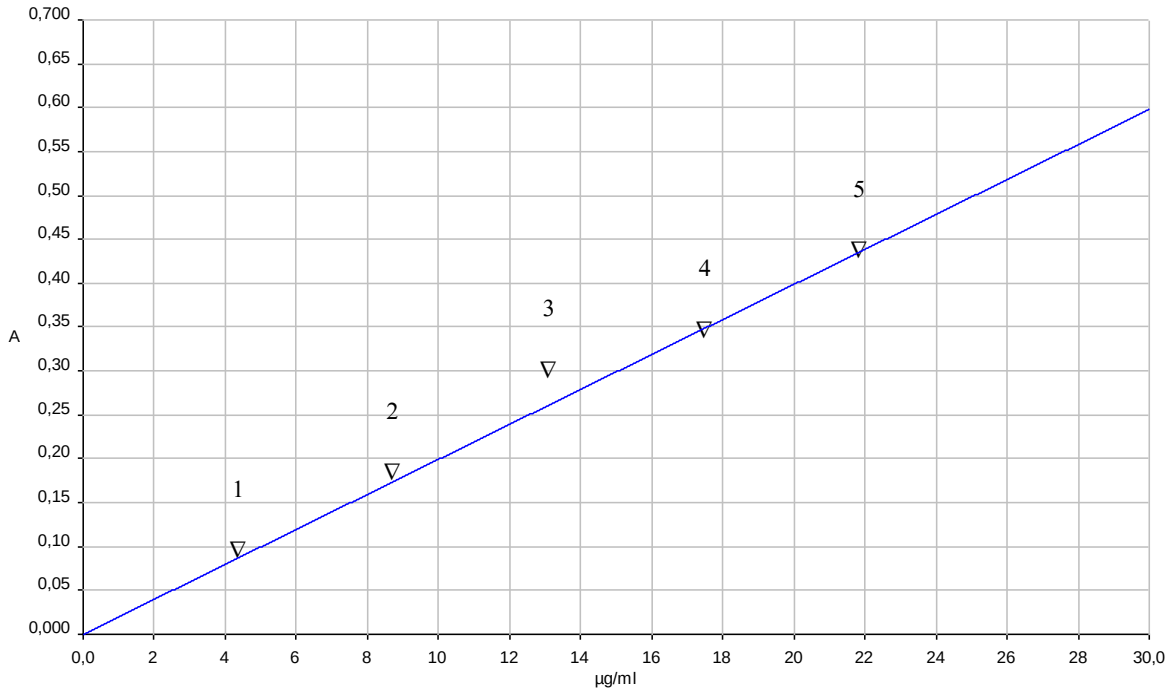


Figure III.14 Courbe d'étalonnage de l'insuline

Equation: $A = 1.993144 * 10^{-2}$***C**
Y=0.084 + 0.009 R^2**= 0.986**

- **L'analyse du graphe :**

Si on considère les erreurs au cours des dilutions et de la lecture surtout les erreurs humaines, on peut dire que notre courbe est une droite passe par l'origine.

III.3.2.3 Étude de concentration de l'insuline dans les microcapsules

- On filtre le contenu avec un papier filtre de taille 0.45µm et on récupère le filtrat (comme le montre le dispositif de la filtration en dessous) pour mesurer D.O de filtrat $CaCl_2$.
- On lave les billes par 100ml de l'eau distillée et on récupère le filtrat et on mesure le D.O de filtrat obtenu.

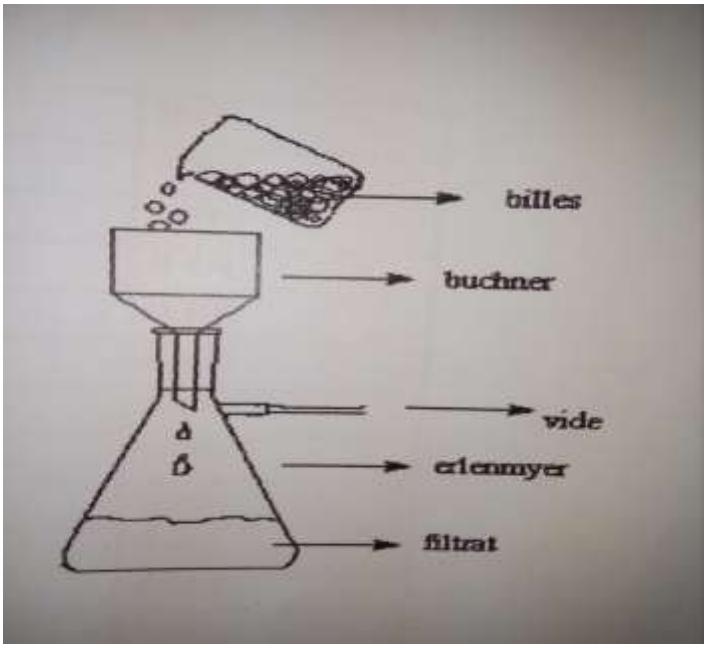


Figure III.15 Dispositif de lavage et de filtration

Les résultats sont donnés dans les tableaux ci-après :

Tableau III.5 Mesure des densités optique des produits présents en solution avec l'insuline

(Le cas d'alginate pur)

DO d'insuline dans($CaCl_2$)	**C d'insuline dans ($CaCl_2$)**	**m d'insuline dans ($CaCl_2$)**
0.5569	0.5569/1.993144*10^⁻²=27.94 µg/ml	27.94*50= 1.39 mg
DO d'insuline dans (eau)	**C d'insuline dans (eau)**	**m d'insuline dans (eau)**
0.015	0.015/1.993144*10^⁻²= 0.75 µg/ml	0.75*100=0.075mg

D'après le tableau on peut calculer la masse d'insuline dans chaque sphère :

Avec : le Nbr (sphères)=313 sphères

m_T= (1.5*3.5) - 1.39 - 0.075=3.775 mg

- la masse d'insuline par sphère:

m= m_T/nbr = 3.775/313 = 0.012 mg

Tableau III.6 Mesure des densités optique des produits présents en solution avec l'insuline

(Le cas alginate – PEG)

DO d'insuline dans ($CaCl_2$)	C d'insuline dans ($CaCl_2$)	m d'insuline dans ($CaCl_2$)
0.5813	0.5813/1.993144*10^$^{-2}$=29.164 µg/ml	29.164*50= 1.45 mg
DO d'insuline dans (eau)	**C d'insuline dans (eau)**	**m d'insuline dans (eau)**
0.1360	0.1360/1.993144*10^$^{-2}$= 6.823 µg/ml	6.823*100=0.682mg
DO d'insuline dans (acide acétique)	**C d'insuline dans (acide acétique)**	**m d'insuline dans (acide acétique)**
0.0486	0.0486/1.993144*10^$^{-2}$= 2.438 µg/ml	2.438*100=0.2438mg

Avec: le Nbr (sphère)=330 sphères

m_T = (1.5*3.5)- 1.45- 0.682 - 0.243 = 2.874 mg

- la masse d'insuline par sphère:

m= m_T/nbr = 2.874/330=0.009 mg

on peut calculer le taux de l'encapsulation dans les deux teste selon la formule suivante : $\mathbf{T = X_t/X_i \times 100\ \%}$

Avec: $\mathbf{X_t}$ la quantité totale d'insuline chargée dans les microsphères et

$\mathbf{X_i}$ Représente la quantité initiale d'insuline ajoutée dans la préparation des microsphères.

T le taux de l'encapsulation

$\mathbf{X_i = 5.25\ mg.}$

Les résultats présentés ci-dessus montrent que le taux d'encapsulation de l'insuline par l'alginate pure est de 72% et le taux d'encapsulation par l'alginate-PEG est égale 55%.

III.3.3 Détermination le diamètre de sphère

A l'aide d'un pied à coulisse nous avons mesuré les diamètres des sphères élaborées.





Figure III.16: Détermination le diamètre de sphère par le pied à coulisse

On trouve que le diamètre moyen des sphères est **: $\mathbf{d_{moy}}$ ≈ 4 mm**

III.3.4 Étude de la libération d'insuline in vitro

En vue d'élucider le mécanisme de libération de l'insuline à partir des microcapsules, les profils de libération à partir des deux différentes formulations en conditions gastro-intestinales ont été suivis, et les résultats sont présentés ci-après.

III.3.4.1 Cas d'alginate pur

A. <u>Libération à pH faible (1.2)/ pH gastrique</u>

Temps (min)	30	60	90	120
Absorbance	0.175	0.143	0.105	0.131
%	5.49	18.23	30.49	41.20

B. Libération à pH proche neutre (6.8)/ pH intestinal

Temps (min)	150	180	210
Absorbance	0.427	0.361	0.303
%	62.77	89.5	95.8

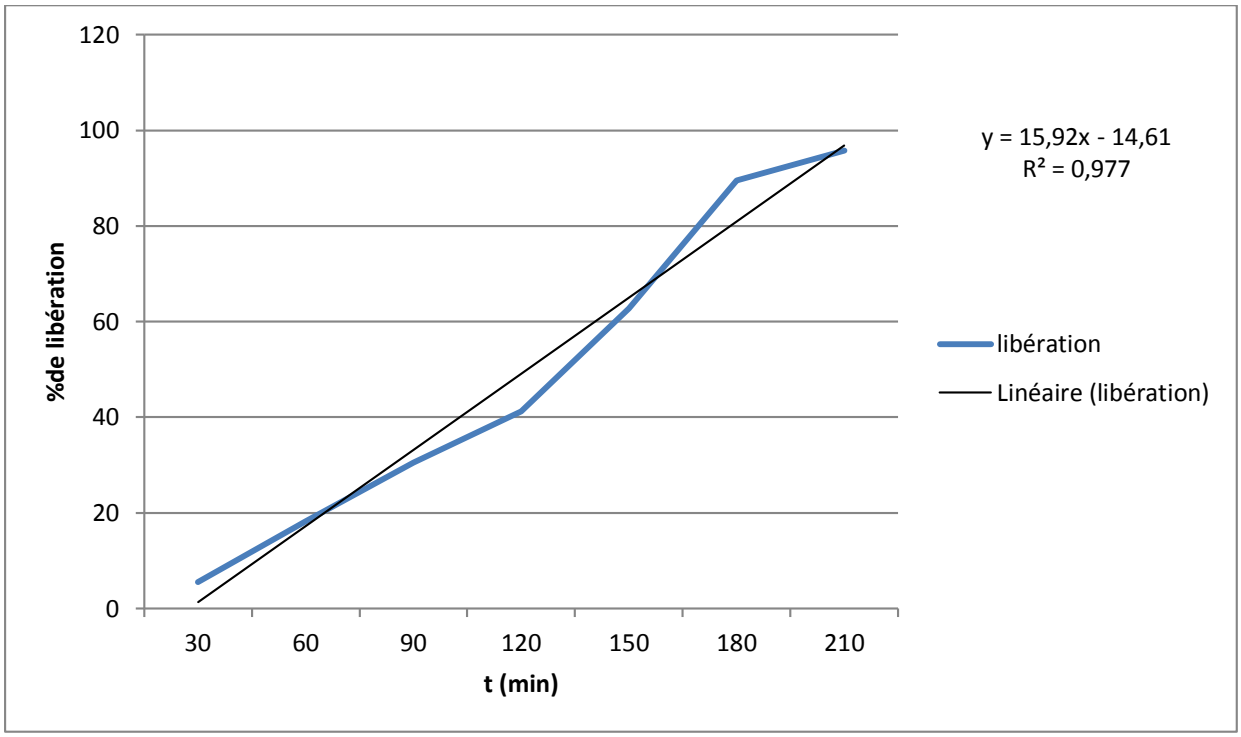


Figure III.17 Le profil de libération d'insuline à partir des microcapsules d'alginate pur

III.3.4.2 Cas d'alginate-PEG

Les résultats du profile cinétique de la libération de l'insuline à partir des microcapsules d'alginate renforcées de polyéthylène glycol sont donnés dans le tableau ci-après :

A. Libération à PH faible (1.2)

Temps (min)	30	60	90	120
Absorbance	0.078	0.108	0.087	0.076
%	2.41	9.45	17.87	24.84

B. Libération à PH proche neutre (6.8)

Temps (min)	150	180	210	240
Absorbance	0.216	0.211	0.195	0.173
%	35.10	53	70	85.8

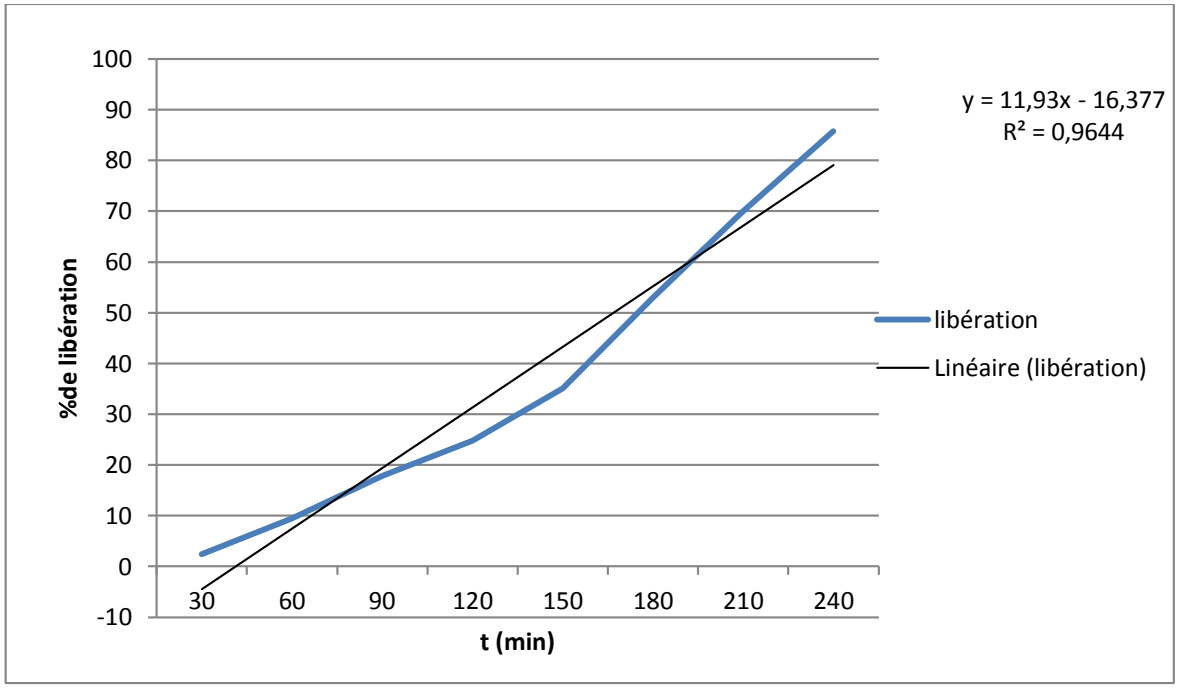


Figure III.18 Le profil de libération d'insuline à partir des microcapsules d'alginate-PEG

L'ensemble des résultats de cette étude de dissolution nous dévoile la capacité des microcapsules à contrôler les cinétiques de relargage de l'insuline en fonction de leur composition et du pH du milieu. Une modification morphologique apportée par la présence du polyéthylène glycol pourrait donc avoir un impact sur la structure du réseau des microcapsules et, par conséquence, sur sa capacité de 'piéger' ou' libérer' la molécule d'insuline. On pourrait s'attendre à un ralentissement de la libération plus marquée à partir des microcapsules combinant l'alginate au PEG, ce qui est démontré par la diminution de la pente du graphique obtenu dans l'étude de profile de libération après l'incorporation du PEG dans la formulation. Effectivement, la membrane exerce un rôle important de protection du noyau gélifié surtout à pH acide. En conditions gastriques simulées, la membrane d'alginate et celle d'alginate-PEG se rétractent, permettant un arrangement moléculaire plus compact au sein du réseau de la coquille, en raison des fortes interactions hydrogène ou de réactions intermoléculaires. Il en résulte un changement de porosité de la membrane qui ralentit significativement la sortie de l'insuline.

III.3.5 Illustration des microcapsules préparées

III.3.5.1 Les microcapsules d'alginate pur

Dans un premier temps nous observons, par l'oïl nu, la forme et la texture des microcapsules obtenus par coacervation de l'alginate de sodium. Cette analyse révèle une forme sphérique avec une distribution de taille très homogène d'environ 4 mm, comme le montre la Figure III.19



Figure III.19 Photo des microcapsules d'alginate pur

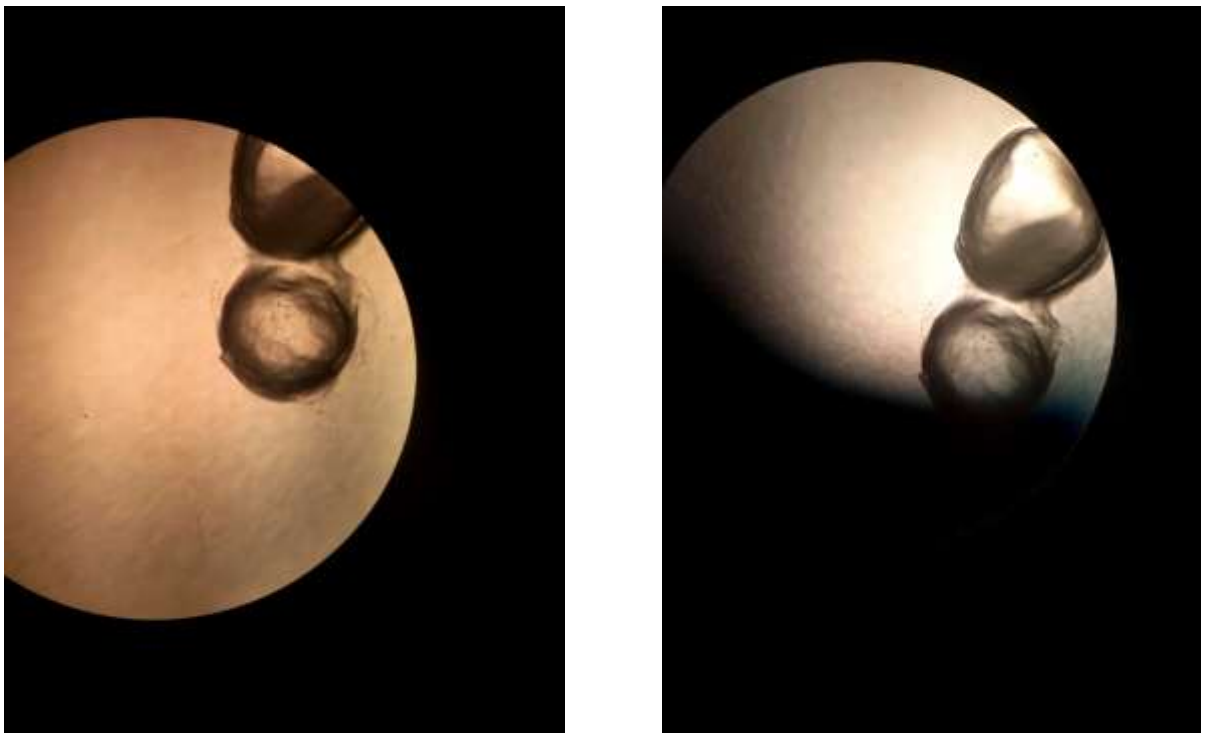
III.3.5.2 Les microcapsules d'alginate-PEG

Toujours à partir d'une observation des billes obtenues en rajoutant du polyéthylène glycol dans la formulation des microcapsules, nous avons pu comparer la couleur et la surface des billes obtenues comme le montre la Figure III.20.
Sur cette figure on observe une couleur encore plus jaunâtre et éventuellement une structure très dense d'organisation plus fibrillaire. Les billes contenant que l'alginate de sodium n'avaient pas assez de tenue mécanique par rapport à celles d'alginate-PEG ainsi préparées.



Figure III.20 Photo des microcapsules d'alginate-PEG

Ce changement physique est encore plus confirmé dans les images agrandisses par microscope données dans la figure III.21.



(a) (b)

Figure III.21 Images des microcapsules (a) d'alginate (b) d'alginate-PEG obtenues par microscopes à photo

Ce changement morphologique peut avoir un impact important sur les propriétés de piégeage/relargage de l'insuline introduite dans les deux types de microcapsules. En effet, l'importance de la distribution de taille des mailles du réseau tridimensionnel des deux hydrogels sur la vitesse de libération de certains principes actifs a déjà été soulignée dans la littérature. En plus la couleur foncée observée et dominante dans le cas des microcapsules d'alginate pur, peut être attribuée à la présence d'une quantité d'insuline plus important 72% contre 55% dans le cas des microcapsules d'alginate-PEG.

III.3.6 Étude du mécanisme de libération : modélisation de la cinétique de libération d'insuline in vitro

La modélisation mathématique est intéressante pour comprendre comment un type particulier de formulation à libération contrôlée fonctionne et quel est l'impact de la formulation et des paramètres du procédé sur le taux de libération du P.A .

Ainsi, le temps et les coûts nécessaires pour l'optimisation du produit peuvent être considérablement réduits. La libération in vitro du principe actif peut aider à prédire son profil et sa cinétique de libération.

III.3.6.1 Calcul de l'ordre cinétique

La variation de la concentration du principe actif en solution en fonction du temps peut être obtenue en intégrant l'équation différentielle donnant la loi de vitesse.

A. ***Ordre zéro :*** $V = -d[A]/dt = k$; $d[A] = -kdt$ …… (III.2)

L'intégration entre 0 et t donne : $[A]_t = [A]_o - kt$ (t = temps) …… (III.3)

où $[A]_o$ est la concentration de A au temps t = 0

$[A]_t$ est la concentration de A au temps t.

Une réaction d'ordre zéro est caractérisée par une dépendance linéaire de la concentration : [A] en fonction du temps.

La constante k est mesurée en [$M.s^{-1}$].

B. ***Premier ordre :*** $V = -d[A]/dt = k[A]$; $d[A]/[A] = -kdt$ …… (III.4)

L'intégration donne : $\ln [A]_t - \ln [A]_o = -kt$ …… (III.5)

Ainsi une réaction de premier ordre est caractérisée par une dépendance linéaire de ln[A] en fonction du temps.

La constante k est mesurée en [s^{-1}].

C. ***Deuxième ordre :*** $V = -d[A]/dt = k[A]^2$ $d[A]/[A]^2 = -kdt$…….. (III.6)

Après intégration on trouve : $1/[A]_t - 1/[A]_o = kt$…….. (III.7)

Une réaction de deuxième ordre est caractérisée par une dépendance linéaire de 1/[A] en fonction du temps. La constante est mesurée en [$M^{-1}\ s^{-1}$].

Tableau III.7 Les modèles mathématiques

Modèle mathématique	Equation
Higuchi	Mt = $K_{Hi}\ .t^{0.5}$
Hixson-Crowell	$(1 - Mt/Mo)^{1/3}$ =K_{HC} .t
Korsmeyer-Peppas	Mt /M∞=$K_{Kp}\ .t^{n}$

Mt: quantité du principe actif libéré dans le temps t.

Mo: quantité initiale du principe actif dans la forme posologique .

M∞: quantité total du principe actif libéré lorsque la forme posologique est épuisé.

K_{Hi} est la constante dans le modèle de Higuchi (Higuchi, 1963) .

K_{HC}est la constante dans le modèle de Hixson-Crowell (Hixson and Crowell, 1931).

K_{Kp}est la constante de libération incorporant les caractéristiques structurelles et géométriques de la forme posologique .

n est l'exposant diffusionnel indiquant le mécanisme de libération du principe actif (Korsmeyer et al., 1983

III.3.6.2 Application des modèles correspondants

Lors de cette analyse de données, nous avons testé différents modèles (d'Ordre zéro, Higuchi, Hixson- Crowell et Korsmeyer-Peppas) pour les profils cinétiques à différents pH. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau III.8.

Tableau III.8 Les coefficients de corrélation (R2) et les paramètres d'ajustement obtenus à partir de modèles mathématiques de Zéro-ordre, Higuchi, Hixson-Crowell et Korsmeyer-Peppas pour la libération de l'insuline à partir des microcapsules élaborés

Type de microcapsule	Modèle cinétique								
	Ordre Zéro		Higuchi		Hixson-Crowell		Korsmeyer-Peppas		
	R^2	K_0 (10^2. h^{-1})	R^2	K_H (10^2. $h^{1/2}$)	R^2	K_{HC} (10^2. h^{-1})	R^2	K_{HP} (10^2. h^{-n})	N
Alginate pur	**0,9770**	0,1592	0,8631	25,33	0,8015	4,54	**0,9465**	11,31	1,221
Alginate-PEG	**0,9651**	0,1195	0,8894	26,53	**0,9883**	5,61	0,9685	12,96	1,025

L'analyse des résultats concernant la cinétique de libération de l'insuline s'appuie sur des modèles mathématiques décrits dans la littérature pour interpréter le mécanisme de libération.

Le mécanisme de libération de l'insuline à partir des microcapsules d'alginate peut être décrit par le modèle de Korsmeyer-Peppas avec un R^2= 0,9465, soit un cas de transport contrôlé par la relaxation du réseau de polymère présent dans la membrane d'alginate de sodium. En revanche, le modèle de Hixson-Crowell décrit la libération de la substance active à partir des microcapsules d'alginate-PEG par un mécanisme d'érosion/dissolution de la structure entraînant un changement de la surface de billes.

La libération dans les deux cas suit une cinétique d'ordre Zéro, dépendante de la quantité de la substance dissoute et ça selon les deux équations présentes sur les deux graphes du profile cinétique.

III.4 Conclusion

Cette partie a été consacrée à l'étude des microcapsules élaborées par coacervation des hydrogels d'alginate et de polyéthylène glycol. Nous avons fabriqué des capsules à partir de deux formulations différentes : alginate pur et alginate-PEG pour des conditions fixes du procédé de coacervation. Ces capsules ont été incubées dans des milieux tampons de compositions différentes pour étudier leur comportement cinétique de relargage de la molécule encapsulée qui est l'insuline. Les capsules ont été aussi analysées par des techniques de caractérisation (taille, aspect et analyse spectrale par FT-IR). Enfin, une modélisation de la cinétique de libération de l'insuline les microcapsules ainsi préparées, a été effectuée pour comprendre le mécanisme de celle-ci.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Conclusion générale

Dans cette thèse, nous avons élaboré et caractérisé les propriétés physiques et fonctionnelles des microcapsules à base d'hydrogel d'alginate pur et d'alginate-PEG. Ces structures ont été obtenues par fragmentation d'un jet composé par coacervation (prilling) dans une solution $CaCl_2$. Ceci a permis la fabrication de capsules millimétriques dont la membrane d'alginate possède une épaisseur d'un millimètre environ, et dont le diamètre global est de 4mm. De ce fait la mise au point des paramètres de formulation et de caractérisation a été l'objectif de ce travail de thèse, qui constitue une étude préliminaire des potentialités de ces systèmes dans le domaine pharmaceutique.

Nous nous sommes attachés à leur application pour l'encapsulation d'un principe actif peu soluble dans l'eau celui de l'insuline utilisé dans la pharmacothérapie du diabète, et cela pour une administration par voie orale.

Notre étude a été menée en trois étapes : la première a consisté à formuler les deux types de microcapsules (alginate pur et alginate-PEG) contenant l'insuline par technique d'immobilisation par inclusion, la seconde à les caractériser physiquement et par FT-IR, avant d'étudier leur aptitude à libérer l'insuline.

Les résultats de libération en milieu gastro intestinal simulé montrent :

- une érosion à pH 1,2 d'autant plus importante que 41.20% pour les microcapsules d'alginate pur et 24.84% pour celles d'alginate-PEG ;
- une libération maximale à un temps d'environ t= 120 min et t=240 min pour les microcapsules d'alginate pur et celles d'alginate-PEG respectivement ;

La comparaison des deux types de microcapsules a montré une plus grande fragilité des matrices obtenues exclusivement par alginate de sodium par rapport à celles ou le PEG a été incorporé dans la formulation. Par conséquent, la libération de l'insuline à partir des microcapsules d'alginate pur est plus rapide car le réseau hydrogel est moins dense. La présence du PEG dans la structure des microcapsules donne moins d'érosion de la matrice, aboutissant à une libération moindre et plus lente de l'insuline. En effet, dans ce cas le réseau du complexe d'hydrogel présente des mailles plus resserrées et en conséquence un réseau de porosité plus faible, ralentissant la diffusion de l'insuline.

La technologie de coacervation est apparue comme une méthodologie assez robuste pour la génération de particules sphériques avec une distribution étroite de la taille, et de la morphologie, quoique les méthodes de caractérisation par FT-IR n'aient pas pu identifier en exactitude l'effet de ces différences, en fait, son effet ne peut être vraiment notable que sur des analyses microscopiques avancées.

En revanche, ces différences de structuration entre les capsules ont abouti à des différences plus ou moins notables du profil de dissolution apparent de l'insuline encapsulé dans le gel d'alginate et celui combinant l'alginate au PEG. La présence de la membrane d'hydrogel de PEG autour de celui de l'alginate joue un rôle clé ; elle réduit significativement la libération de l'insuline pendant son séjour en conditions gastriques. Une fois en conditions intestinales,

la membrane d'alginate de calcium se désintègre progressivement, la libération du principe actif sur les dernières demi-heures étant régulée par le réseau d'alginate uniquement. Cette hypothèse semble confirmée par les modèles mathématiques testés sur nos résultats, on peut dire selon les modèles représentatifs qu'en conditions gastriques le mécanisme de libération serait basé sur la pH-sensibilité du réseau d'hydrogel, puis en conditions intestinales sur la combinaison de mécanismes d'érosion et/ou de diffusion.

Idéalement, des essais in vivo seraient nécessaires pour la détermination d'une possible augmentation de la biodisponibilité de l'insuline à partir de microcapsules.

Références bibliographiques

[1] A.Chistophe ,"Microgels sensible au Glucose pour la délivrance d'insuline", thèse de doctorat, Ecole doctoral des sciences chimique ,**2010** [consulter le 17 décembre 2010].

[2] Maurice nivoc Guy samlias, 1998, technique de l'ingénieur AM 3658

[3] Maurice nivoc Guy samalias,1998, technique de l'ingénieur AM 3658

[4] Yong Y.H., Yamaguchi S. and Matsumura Y, (2006) : Affects of enzymatic dimidiation by proteinglutaminase on structure and functional properties of wheat gluten. J. Agric. Food Chem., 54, 6034-6040, p1 –20.

[5] Richard J., Benoit J.P., (2000), Micro encapsulation, Technique de l'Ingénieur. J 2210, p1 –20.

[6] Richard J., Benoit J.P.,(2000), Microencapsulation, Technique de l'Ingénieure . J 2210, p1–20.

[7] Nesterenko A., (2012) : Étude et fonctionnalisation de protéines végétales en vue de leur application en microencapsulation. Thèse de doctorat, Université de Toulouse.

[8] **Richard J., Benoit J.P.,(2000),** Micro encapsulation, Technique de l'Ingénieure . J 2210

[9] Jeaan pierre Bennoit , Joël Richard Marie -Claire veiner - julienne,**2013**, technique ingénieur , J2210.

[10] Bruno vergnes ,Marc chapet ,2001, Technique ingénieur AM 3653.

[11] Jean pierre Benoit, Joël Richard Marie-Claire veiner – julienne, **2013**, technique ingénieur, J2210.

[12] Rudy Koopmans, 2002, Technique ingénieur AM 3657

[13] A. FATIMI, "comportement rhéologique de biomatériaux pour l'ingénierie ostéoarticulaire et dentaire : matrice extracellulaire synthétiques et suspension phosphocalcique, thèse de doctorat, école doctorale de biologie – santé ,NANTES ,**2008.** [Consulté le 27 octobre 2008].

[14] F. Michel , chime et physico-chimie des polymers ,Edition, vol 6,paris, Editeur **,2013** ,P 5-6

[15] A. Rudin , the elements of polymer science and engineering .Edition1996

[16] Finch C.A, Bodmeier R, (2000): Microencapsulation, in: Ullman's Encyclopedia of. Industrial Chemistry, Electronic Release, 6th ed, Wiley-VCH, Weinheim 7.

[17] Vandamme T., Poncelet D., Subra-Paternault, (2007) : Microencapsulation : des sciences aux technologies, Tech et Doc, Paris.

[**18] Bernard F.G., Selim K., Inteaz A., et al, (1999):** Encapsulation in the food industry: a review. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 50, 213-217.

[19] Madene A., Jacquot M., Scher J., Desorby S., (2006) : Flavour encapsulation and controlled release – a review, International Journal of Food Science and Technology, Vol. 41,1 - 21

[20] G .Pauline , "Délivrance orale d'insuline par double encapsulation :développement et évaluation de d'efficacité et de la sécurité des systèmes entériques et nanoparticulaire", Thèse de doctorat, Ecole doctorale des sciences de la vie et de la santé, centre européen d'étude du diabète **,2013** [Consulté le 20octobre 2013].

[21] C. Adeline ," Administration orale de l'insuline par double encapsulation :développement du système nanoparticulaire par coacervation complexe insuline /chitosane" ,Thèse de doctorat , université de Strasbourg, **2010.**[consulté le 30septembre 2010].

[22] C. Adeline ," Administration orale de l'insuline par double encapsulation :développement du système nanoparticulaire par coacervation complexe insuline /chitosane" ,Thèse de doctorat , université de Strasbourg, **2010**.[consulté le 30septembre 2010].

[23] Sonia .T.A et Sharma C.P. (**2012**).«An overiew of natural polymers for oral insulin delivery »Drug Discovery Today , Vol .17,n°13-14,pp.784-792.

[24] G'Omez - Pérez,f.j.and Rull ,J.A.,*Insulin therapy* : Current A lternatives ,Archives of Medical Researcg,2005.**36 (3);p.258-272.**

[25] C. Adeline ," Administration orale de l'insuline par double encapsulation :développement du système nanoparticulaire par coacervation complexe insuline /chitosane" ,Thèse de doctorat , université de Strasbourg, **2010**.[consulté le 30septembre 2010].

[26] Khafagy , E.-S, et al , curent challenges in non-invasive insulin delivery systems : A comparative review. Adverced Drug Delivery Reviews , 2007.**59** (15) :p 1521-1546.

[27] Hamman , J.H, Ensulin , G.M., and kotzé, A.F , Oral Delivery of peptide drugs : Barriers and developements .2005.**19**(3):P 165-177.

[28] Brange J , et Volund A .(1999),«Insulin analys wih improved pharmacokinetic profiles »,Advances Drug Delivery Reviews, Vol .35,n°2-3,pp.307-335.

[29] Zinman B.(2013), «Newer insulin analogs : advances in basal insulin replacement » Diabetes ,Obesity & metabolism , Vol.15 Suppl 1,pp 6-10.

[30] D. Le Yhuelic ,"plastiques,, composites et elastomères dans les industries agroalimentaires "Edition **1996**

[31] CIR. Final Report on the Safety Assessment of Polyethylene Glycols (PEGs) -6, -8,-32, -75, -150, -14M, - 20M. J. of the American College of technologies. **1993**, Vol. 12, 429-457.

[32] INTERCIM. Fiche technique Polyethylene glycol, **2005.**

[33] CIR. Final Report on the safety Assessment of Triethylene Glycol and PEG-4, **2005.**

[34] Copyright 2018 MIMIS spte.Ltd.All right reserved.

[35] wiki pedia.org/wiki/insulin.

[**36] E. Dickinson** «les colloïdes alimentaires » Edition Masson **1996.**

[37] eorge M, Abraham TE. Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs. J Controlled Release. **2006**;114:1–14