République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique

Université de Médéa

Faculté des Sciences et de la Technologie



Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de Master

En chimie

Normes et contrôle de qualité

Par :

Etudiante1 : RAHICHE Razika

Etudiante2 : BELHOUS Hanane

Thème :

Formulation et contrôle qualité de capsule à usage pharmaceutique

Soutenue publiquement le : 01 /06 /2016. Devant le jury composé de :

Membre de jury 1	*Etablissement*	*Président : Nidjioui Mohamed*
Membre de jury 2	*Etablissement*	*Examinateur : BITAM Said*
Membre de jury 3	*Etablissement*	*Examinateur :*
Membre de jury 4	*Etablissement*	*Encadreur :* LEFNAOUI Kerrache Sonia

Année universitaire 2015/2016

ملخص

الهدف من هذا العمل هو الكبسلة وفقا لعملية التهلم للمادة الفعالة (ديكلوفيناك الصوديوم) في مصفوفة بيوبوليمرية قابلة للتحلل من الجينات الصوديوم .سمحت عملية التهلم بالحصول على كبسولات ذات حجم متوسط 198.21µm.وقد وصلت كفاءة الكبسلة82.32٪ في تركيز البيوبوليمر 2٪ .دراسة الانتفاخ في الوسط المعدي (pH1.2)والمعوي (7.4) أظهرت معدل انتفاخ يصل إلى 427٪ في الوسط الحمضي و٪ 789في الوسط القاعدي .وأظهرت دراسة الانحلال للمادة الفعالة من خلال الكبسولات انحلالا كاملا وخصوصا تلك التي أعدت بالجينات الصوديوم2٪ في الوسط القاعدي بعد 8 ساعات حدا أقصى قيمتة99.56٪ .ولكنه لوحظ انحلال محدود وضئيل في الوسط الحامضي(10.43٪) .وتبين النتائج التجريبيةالمتحصل عليها انحلال وفقا للإفراز المتواصل والتحرير الممدد للمادة الفعالة.

الكلمات المفتاحية: الجينات الصوديوم، ديكلوفيناك الصوديوم،الكبسلة، التبلور، التحرير الممدد.

Résumé

L'objectif de ce travail est l'encapsulation selon le procédé de gélification d'un principe actif (Diclofenac sodique) dans une matrice polymérique biodégradable d'Alginate de sodium. Le procédé de gélification a permis l'obtention de microcapsules de tailles moyenne de 198.21µm. Le taux d'encapsulation a atteint 82.32 % à une concentration de 2% en biopolymère. L'étude de la cinétique de gonflement des capsules dans les milieux gastrique (pH1.2) et intestinal (pH7.4) a donnée des taux de gonflement atteignant 427% dans le milieu gastrique et 789% dans le milieu intestinal. L'étude biopharmaceutique a montré une libération complète du Diclofenac sodique à partir des capsules, spécialement ceux préparés à partir d'Alginate de sodium (2%), en milieu intestinal atteignant 99.56% après 8 heures. Cependant, une libération limitée et insignifiante a été observée dans le milieu gastrique avec un maximum observé de 10,43%. Les profils de dissolution montrent une cinétique de libération prolongée.

Mots clés : Alginate de sodium, Diclofenac sodique, Encapsulation, Gélification, Libération prolongée.

Abstract

The aim of this work is encapsulation according to the process of gelation of an active ingredient (sodium diclofenac) in a biodegradable polymeric matrix of sodium Alginate. The gelling process allowed obtaining beads with average sizes of 198.21µm.Encapsulation efficiency has reached 82.32% at 2% biopolymer concentration. The swelling study in gastric (pH1.2) and intestinal (pH 7.4) medium showed a swelling rate reaching 427% in gastric medium and 789% in intestinal medium. The drug release studies showed a complete sodium Diclofenac release from the beads, especially those prepared from Na-Alginate (2%), in intestinal medium after 8 hours. However, limited and insignificant drug release was observed within the gastric medium (10.43%).The dissolution profiles show a sustained release kinetics.

Keywords: sodium Alginate, sodium Diclofenac, Encapsulation, Gelling, Extended-Release.

Remerciement

Ce travail à été réalisé dans le laboratoire d'analyses physico-chimiques au niveau du Hall Technologique de l'université Dr .Yahia Fares de Médéa, ainsi qu'au niveau du laboratoire contrôle qualité de la filiale ANTIBIOTICAL-Saidal de Médéa.

Nous tenons à remercier en premier lieu Dieu "ALLAH DJELLA DJALLALOHOU" qui nous a donné le courage et la volonté tout au long de notre travail pour qu'il soit une réussite méritée.

Nous remercions le président du jury,ainsi que l'ensemble de ses membres présents aujourd'hui, d'avoir accepter d'évaluer ce modeste travail.

Nous remercions également sincèrement et de tout cœur Dr. Sonia LEFNAOUI KERRACHE Pour nous avoir guider comme promotrice, pour sa rigueur et sa disponibilité alliées à une gentillesse incomparable. Sa patience, sa serviabilité, son soutien, ses compétences et son efficacité ont fortement contribué à la réalisation et au couronnement de ce travail.

Nous remercions, notre Co-promotrice Dr. GASMI Sara Nawel pour nous avoir guidé, et pour sa gentillesse, sa modestie, et sa disponibilité.

Nous exprimons nos remerciements à toutes personnes ayant contribué de prés où de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Avec toute modestie, je dédie ce travail :

Ála lumière de mes

Yeux les plusgénéreuxmon père

et à celle qui m'a donné l'espoir, la

Fleur de mavie, ma mère qui ont toujours

eu confianceen moi.

Á mes chers frères

Mohamed ,adel , je vous souhaite

un avenir plein de réussite et de bonheur.

Á mes chères sœurs

zahia ,nassima ,zohra, nabila

les meilleures sœurs qui existe. Je vous souhaite

un avenir plein de joie.

Á tous les membres de ma famille,

Petits et grands. Et toutes mes amies.

Et mon binôme Hanane

Áma promotriceDr. Sonia LEFNAOUI

KERRACHE. Sans oublier toutes la promotion

LMD« Normes et contrôle de qualité 2016 »

Á tous ceux qui me sont chers.

RAZIKA

Dédicace

Avec toute modestie, je dédie ce travail :

À ma très chère mère

et mon très cher père, qui ont

toujours été là pour moi, ils ont tout

sacrifié pour leurs enfants. Ils m'ont donné

un magnifique modèle de labeur et de persévérance.

Je suis redevable d'une éducation irremplaçable dont

je suis fière.

Á mes chères frères

Lakhdar, azze eldine, ramzi, wail

Je te souhaite un avenir plein de réussite et de bonheur.

Á mes chères sœurs

Nadia, lilia, la vie n'aurait pas du goût sans eux

Á mon chère fiancé et toute sa famille.

Á tous les membres de ma famille, petits et .

grands. Et toutes mes amies

et mon binôme razika.

Á mon promotrice Mme LEFNAOUI Kerrache Sonia

Sans oublier toutes la promotion LMD norme et contrôle de qualité 2016Á tous ceux qui me sont chers .

HANANE

Sommaire

Nomenclature

Abréviation

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale

Chapitre I : Généralité sur les biopolymères

I.1. Introduction 4

I.2. Les polymères 4

I.3. Les biopolyméres 4

I.4. familles de biopolymères 5

I.4.1. Les polysaccharides 5

I.5. Classification des biopolymères 6

I.5.1. Biopolymères issus de la pétrochimie 6

I.5.2. Biopolymères issus de ressources renouvelables 6

I.5.3. Biopolymères du monde végétal 7

I.6. Propriétés des biopolymères 8

I.6.1. Biodégradabilité des biopolymères 8

I.6.2. Perméabilité à la vapeur d'eau des biopolymères 9

I.6.3. Biocompatibilité et biorésorbabilité 9

I.6.4. Propriétés chimiques 10

I.6.5. Autres propriétés 10

I.7. Applications des biopolymères 11

I.7.1. Applications en médecine et pharmacie 11

I.7.2. Applications en agriculture 12

I.7.3. Applications en emballage 13

I.8. L'alginate de sodium 14

I.8.1. Composition chimique de l'alginate 15

I.8.2. Propriétés physico-chimiques des alginates en solution 16

I.8.3. Mécanismes de gélification 18

a. Gel à base d'alginate 18

b. Hydrogel à base d'alginate 18

I.8.4. Formation des gels d'alginate de calcium 20

a. Gélification par diffusion 20

b. Gélification interne 21

I.8.5. Stabilité et dégradation des gels d'Alginate 21

I.8.6. Applications générales d'alginates 21

I.9. Conclusion 24

Chapitre II : La Microencapsulation

II.1. Introduction 25

II.2. Définition 25

II.3. Intérêts de la microencapsulation 25

II.4. Les Microparticules 26

II.4.1. Définition 26

II.4 .2. Types des microparticules 26

II.4.2.1. Les liposomes 26

II.4.2.2. Les microcapsules 27

II.4.2.3. Les microsphères 27

II.4.3. Modes d'action des microparticules 28

II.4.4. Caractéristiques générales des microparticules 29

II.5. Nature des matériaux enrobant 29

II.6. Techniques de microencapsulation 30

II.7. Procédés de microencapsulation 31

II.7.1. Procèdes physico-chimiques 31

II.7.1.1. Coacervation 31

a. Coacervation Complexe 32

b. Coacervation simple 32

II.7.1.2. Emulsion et évaporation-extraction de solvant 33

II.7.1.3. Microencapsulation par gélification de gouttes 35

II .7.2. Procédés chimiques 35

II.7.2.1. Polycondensation interfaciale 35

II.7.2.2. Polymérisation en milieu dispersé 37

a. La polymérisation en émulsion 37

b. La polymérisation en dispersion 37

II.7.3. Procédés mécaniques 37

II.7.3.1. Enrobage en lit d'air fluidisé (« spray-coating ») 37

II.7.3.2. Nébulisation-séchage « spray-drying » 38

II.7.3 .3. Gélification des gouttes 39

II.7.3.4. Congélation des gouttes 39

II.8. Mécanisme de libération des principes actifs 40

II.8.1. La libération par diffusion 40

II.8.2. Libération par gonflement suivi d'une diffusion 41

II.8.3. Libération par dégradation 42

II.8.4. Paramètres influençant la libération d'un PA 42

II.8.5. Profils de libération obtenus à partir de différents types de microparticules 43

II.9 Domaines d'application des microparticules 44

II.10. Conclusion 44

Chapitre III : Etude expérimentale

III.1. Introduction 45

III.2. Matériels et produits 45

III.2.1. Matériels 45

III.2.2. Produits utilisés 46

III.3. Préformulation 46

III.3.1. Le principe actif : Diclofenac de sodium (DS) 46

a. Formule chimique 47

b. Solubilité 47

c. Identification par FTIR 47

d. Dosage du principe actif par spectroscopie UV-VIS 49

III.3.2. Le Biopolymère: Alginate de Sodium (ALG) 53

a. Formule chimique 53

b. Viscosité 54

c. Détermination du pH 55

d. Identification par FTIR 57

III.4. Formulation des capsules 58

III.4.1. Principe de la formulation des capsules à base d'ALG 58

III.4.2. Caractérisation des capsules 59

III.4.2.1. Morphologie des capsules humides et sèches 59

III.4.2.2. Analyse granulométrique des capsules 61

III.4.2.3. Etude du gonflement des capsules 63

a. Mode opératoire 63

b. Résultats et discussion 64

III.4.2.4. Détermination du Taux d'encapsulation 66

a. Mode opératoire 66

b. Résultats et discussion 67

III.4.2.5. Etude de la libération du principe actif à partir des capsules 68

a. Mode opératoire 69

b. Résultats et discussion 69

III.5. Conclusion 71

Conclusion générales 74

Nomenclature

c	Concentration de la substance analysée (en mol/l).
D	Absorbance
I	Intensité transmise
I_0	Intensité de la lumière incidente
l	Epaisseur traversée (en cm).
m_g	Masse des capsules à l'état gonflé
m_i	Masse des capsules à l'état initial
T	Transmittance
λ	Longueur d'onde
ε	Coefficient d'extinction

Abréviations

AINS	Anti-inflammatoire non stéroïdiens
ALG	Alginate de sodium
CV	Coefficient de variation
DCI	Dénomination commune internationale
DO	Densité optique
DS	Diclofenac de Sodium
FTIR	Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier
G	Guluronate
GG	Poly-guluronate
G-G-G	Blocs homopolymères de résidus d'acide guluronique
IV	Voie intraveineuse
M	Monomères mannuronate
MM	Polymannuronate
M-M-M	Blocs homopolymères de résidus d'acide mannuronique
M-G-M-G	Blocs de résidus d'acides mannuronique et guluronique
PA	Principe actif
PGA	L'acide Polyglycolides
PHA	Les Polyhydroxyalcanoates
PHB	Polyhydroxybutyrates
PLA	L'acide polylactique
PNA	Polysaccharides non amylacés
Qté	Quantité
UV-VIS	UV-visible

Liste des figures

Chapitre I : Généralité sur les biopolymères

Figure 1 .1.	Classification des biopolymères.	**7**
Figure 1 .2.	De gauche à droite : *Macrocystis pyrifera (a), Laminaria hyperborea (b)* et *Laminaria digitaria (c).*	**14**
Figure 1.3.	**a.** monomères mannuronate M et guluronate G ; **b.** poly-guluronate GG et polymannuronate MM;**c.** exemple d'enchaînement des blocs GG, blocs MM ou blocs alternés MG dans une chaîne d'alginate.	**15**
Figure 1.4.	Liaisons covalentes des ions calcium avec les résidus poly-G des Polymères D'alginate.	**17**
Figure 1.5.	Rétention du calcium par un réseau tridimensionnel de segments poly-M ou poly-G définissant une structure de type "egg-box".	**17**
Figure 1.6.	Effet de l'ajout de calcium dans une solution d'alginate	**20**
Figure 1.7.	Insert oculaire contenant de l'alginate :Ocusert®	**23**
Figure 1.8.	Moulage du visage réalisé avec de l'alginate.	**23**

Chapitre II : La microencapsulation

Figure 2.1.	Structure d'un liposome	**27**
Figure 2.2.	Représentation schématique d'une microcapsule	**27**
Figure 2.3.	Représentation schématique d'une microsphère	**28**
Figure 2.4.	Principe de la coacervation simple	**33**
Figure 2.5.	Schéma du principe de microencapsulation par évaporation de solvant	**34**
Figure 2.6.	Schéma de principe du procédé d'encapsulation par	**35**

	gélification thermique	
Figure 2.7.	Procédé d'encapsulation par polycondensation interfaciale	**36**
Figure 2.8.	Gélification de gouttes :schéma de principe	**39**
Figure 2.9.	Congélation de gouttes : schéma de principe	**40**
Figure 2.10.	Libération par diffusion	**41**
Figure 2.11.	Libération par gonflement suivi d'une diffusion	**41**
Figure 2.12.	Libération par dégradation	**42**
Figure 2.13.	Profils de libération obtenus à partir de différents types de microparticules	**43**
	Chapitre III : Etude expérimentale	
Figure 3 .1.	Structure chimique du Diclofenac de sodium	**47**
Figure 3 .2.	Spectre FTIR du Diclofenac de sodium	**48**
Figure 3.3.	Spectres d'absorption UV des solutions de DS	**51**
Figure 3.4.	Courbe d'étalonnage de DS dans **l'**UV à λ =276 nm	**52**
Figure 3 .5.	Structure chimique de l'Alginate de sodium(ALG)	**53**
Figure 3.6.	Viscosimètre rotatif (Brookfield).	**54**
Figure 3.7.	Variation de la viscosité en fonction de la concentration en ALG.	**55**
Figure 3.8	pH-mètre (Sartorius)	**56**
Figure 3.9.	Spectre FTIR de l'Alginate de sodium (ALG)	**57**
Figure 3.10.	Schéma du dispositif pour la préparation des capsules	**59**
Figure 3.11.	Formes et aspect des capsules formulés à différentes concentration en ALG	**60**

Figure 3.12.	Mesure de la taille des capsules par un micromètre digital	**61**
Figure 3.13.	Tailles des capsules (avant et après séchage).	**62**
Figure3.14.	Cinétique de gonflement des capsules (pH1.2).	**64**
Figure3.15.	Cinétique de gonflement des capsules (pH7.4).	**64**
Figure3.16.	Taux de gonflement finaux des capsules.	**65**
Figure3.17.	Taux d'encapsulation du principe actif (DS).	**67**
Figure3 .18.	Test de dissolution SOTAX.	**69**
Figure3 .19.	Cinétique de dissolution in vitro des capsules dans le milieupH1.2.	**70**
Figure3 .20.	Cinétique de dissolution in vitro des capsules dans le milieu pH7.4.	**71**

Liste des tableaux

Chapitre I : Généralité sur les biopolymères

Tableau 1.1.	Grandes classes de biopolymères issus du monde végétal	**8**
Tableau 1.2.	propriétés physico-chimiques des biopolymères et les applications potentielles.	**11**
Tableau 1.3.	Applications médicales de quelques biopolymères	**12**
Tableau 1.4.	Propriétés des biopolymères impliqués dans les applications d'emballages	**13**
Tableau1 .5.	Application d'alginate dans les différents secteurs industriels	**24**

Chapitre III : Etude expérimentale

Tableau 3.1.	Matériels utilisés	**45**
Tableau 3.2.	Produit utilisés	**46**
Tableau 3.3.	Résultats de l'ajustement des courbes d'étalonnage du DS	**53**
Tableau 3.4.	Résultats des mesures de la viscosité des solutions d'ALG	**55**
Tableau 3.5.	Résultats des mesures du pH des solutions d'ALG	**56**
Tableau 3.6.	Taille des capsules obtenues à différentes concentrations en ALG	**61**
Tableau 3.7.	Résultats des taux d'encapsulation.	**66**

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

La forme pharmaceutique est une présentation du principe actif(PA) qui peut néanmoins participer à son activité thérapeutique. Les systèmes d'administration des médicaments consistent en des formulations ou des technologies permettant au PA de satisfaire aux exigences citées précédemment et d'atteindre sa cible pour y exercer son action thérapeutique. Ces systèmes d'administration sont primordiaux pour une administration efficace, sûre et pratique.

Ainsi, pour améliorer l'efficacité des PAs, des systèmes d'administration existent pour moduler leur solubilité, restreindre leur libération à un site spécifique, ou réduire leur dégradation indésirable dans l'estomac ou dans la circulation sanguine. Les systèmes d'administration peuvent également promouvoir la sécurité d'utilisation des PA sen réduisant les effets indésirables systémiques, en empêchant la libération du PA au niveau de l'estomac et par conséquent en évitant les lésions gastriques, ou au niveau des tissus sains.

De nos jours, un intérêt particulier est porté au contrôle de la vitesse et du site de libération des médicaments dans les différentes formes galéniques. La modification des technologies de libération doit être un profit pour le patient. Les mécanismes sont directement impliqués au pH du milieu ainsi qu'au temps de libération.

Les polysaccharides font partie des polymères utilisés en libération contrôlée d'un principe actif. Généralement caractérisés par des propriétés de gonflement, ils se situent dans la catégorie des hydrogels. Celluloses, chitines et chitosane, cyclodextrines et dextrans, alginates et amidons sont les polysaccharides les plus intéressants pour des applications biomédicales.

Une réponse de la recherche pharmaceutique face à ces inconvénients a été le développement de formes particulaires capables de protéger le PA et de le véhiculer in vivo. La vectorisation des médicaments a ainsi été envisagée et l'encapsulation peut s'appliquer à l'administration par voie orale de molécules instables dans le tractus gastro-intestinal, la matrice polymérique permettant de protéger le médicament d'une dégradation enzymatique et de favoriser son absorption au niveau de la barrière intestinale.

En effet, L'encapsulation est un moyen de formulation qui consiste à insérer selon un procédé déterminé un principe actif dans une autre matière inactive afin d'améliorer les propriétés de conservation, de présentation et de biodisponibilité. Récemment, les polysaccharides naturels ont gagné en importance pour l'encapsulation par gélification. Ces derniers présentent l'avantage de la non-toxicité, la biocompatibilité et la biodégradabilité. Les plus favorables en raison des conditions particulièrement douces de gélification sont les alginates, les chitosans et les carraghénanes.

Dans le cadre de cette étude, Nous nous sommes intéressés au Diclofenac de sodium (DS), un principe actif de la famille des anti-inflammatoire non stéroïdien, utilisé à long terme dans des thérapies de rhumatisme et d'arthrite. La demi-vie du DS est de 1à 2 heures, et donc requis la prise de multiple dose afin de maintenir des taux sanguins nécessaire au traitement. Les effets secondaires d'administration du DS à long terme se résument essentiellement à des perturbations gastro-intestinales, des ulcérations peptiques et des perforations gastriques.

Dans le but d'éliminer ces effets indésirables, nous nous sommes proposé de mettre au point des microcapsules de DS, une forme galénique à libération prolongée. Ce qui élimine la nécessité de multiples dosages augmentant ainsi l'observance du patient et diminuant l'apparition d'effets indésirables. Nous nous sommes intéressés en particulier à l'hydrogel d'alginate de sodium pour l'encapsulation du DS. Ce matériau présente de nombreux avantages, tels que sa biocompatibilité, son faible coût et sa transition sol-gel rapide en présence d'ions calcium. Nous présentons un procédé de mise en œuvre de l'alginate permettant de former des capsules biocompatibles millimétriques et submillimétriques à structure homogène.

Notre travail a pour objectif l'élaboration et la caractérisation de microcapsule de DS à base d'Alginate de sodium pour usage pharmaceutique. Pour ce faire, ce mémoire est structuré en deux parties :

1. Une étude bibliographique, organisée en deux chapitres :

- Le premier chapitre présente des généralités sur les biopolyméres en particulièrement l'Alginate de sodium qui est le biopolymère utilisé dans ce travail.
- Le deuxième chapitre traite toutes les techniques d'encapsulation, en particulier la technique d'encapsulation par gélification utilisée dans ce présent travail. Ce chapitre aborde également les différents modes et cinétique de libération du PA à travers des capsules.

2. Une étude expérimentale, organisée en un seul chapitre qui représente notre travail pratique relatif à la caractérisation physico-chimiques des matières premières utilisées dans notre étude, l'élaboration et la caractérisation des microcapsules de DS à base d'Alginate de sodium et finalement l'évaluation des microcapsules obtenus sur l'aspect, les dimensions, le taux d'encapsulation, le gonflement et la libération de PA in vitro dans différents milieux de dissolution.

Ce travail est, enfin, clôturé par une conclusion générale qui résume les principaux résultats obtenus.

Chapitre I :
Les Biopolymères

Chapitre I
Les Biopolymères

I.1. Introduction

La chimie des polymères est née de la connaissance des biopolymères qui sont des macromolécules constituées de plusieurs unités identiques appelées monomères. Les biopolymères sont des polymères présents dans des organismes vivants ou ils sont produits par eux même [1-2].

I.2. Les polymères

Les polymères sont parmi les produits chimiques ayant le plus d'applications industrielles. Ce sont des macromolécules obtenues par la combinaison d'un grand nombre de molécules plus petites. Les polymères ont une masse molaire très importante.

Le monomère est le nom donné à la petite molécule à partir de laquelle est formée la macromolécule, dont la réaction est une polymérisation.

Les polymères sont divisés en deux catégories :

- ✓ Les polymères d'addition, obtenus par l'enchaînement d'un grand nombre de molécules monomères. Si les molécules sont identiques on obtient un homopolymère, par contre si les monomères sont différents (en général deux) on obtient un copolymère.
- ✓ Les polymères de condensation, obtenus par la condensation d'un grand nombre de molécules. Cette réaction s'effectue avec l'élimination d'une petite molécule, en général c'est une molécule d'eau [3].

I.3.Les biopolymères

Les biopolymères sont des polymères issus de la biomasse, c'est-à-dire produits par des êtres vivants (végétaux, algaux, animaux, fongiques, etc.).La cellulose et l'amidon par exemple sont des polysaccharides et ils sont d'origine végétale.

Les biopolymères sont des macromolécules constituées de plusieurs unités identiques appelées monomères. Le nombre moyen de ces unités dans les macromolécules est le degré

de polymérisation. Si ce degré est élevé on parle de hauts polymères, lorsqu'il est faible, le polymère est dit oligomère.

Les monomères sont composés d'un petit nombre d'atomes légers, parmi lesquels, on trouve toujours le carbone et l'hydrogène, souvent l'oxygène et l'azote et parfois le chlorure et certains autres éléments. Les biopolymères peuvent être produits par les systèmes biologiques, ou être synthétisés chimiquement à partir des produits d'origine biologique [4-5]**.**

I.4.Familles de biopolymères

Les biopolymères sont regroupés en trois familles principales :

- Polysaccharides : parmi les polysaccharides, les plus connus sont la cellulose issue de la paroi des plantes, les carraghénanes extraits d'algues rouges et les alginates extraits d'algues brunes, mais aussi le chitosan extrait des carapaces de mollusques [6].

- Protéines : ce sont principalement les protéines issues de tissus animaux comme le collagène, la gélatine, et la lignine ou des produits animaux comme les caseines et des protéines issus des plantes oleagéneuses (colza, tournesol et soja), ou des protéagineux (pois, fèveroles), ou encore du son des céréales (gluten du blé).

- Elastomères hydrocarbonés : ils sont produits par les plantes comme caoutchouc naturel.

I.4.1. Les polysaccharides

Les polysaccharides sont des macromolécules constituées d'un très grand nombre de monosaccharides liés entre eux par des liaisons glycosidiques. La longueur de la chaine, le nombre et le type d'unités constitutifs influent sur les propriétés fonctionnelles comme la viscosité, la capacité de rétention d'eau et la réticulation [7]. On distingue :

* Les homo-polysaccharides dans lesquels le même résidu de sucre est répété des centaines ou des milliers de fois, conduisant à des macromolécules de masse moléculaire importante (de 10^4 à 10^6) et qui portent des noms qui dérivent de leur sucre constitutif [8].

* Les hétéro-polysaccharides présentent plusieurs types de monosaccharides.

Les polysaccharides peuvent être classés selon leurs origine (animale ou végétale) ; leur nature soit de réserve (comme l'amidon) ou structurale (comme la cellulose) ; la présence d'amidon (polysaccharides non amylacés PNA ou amylacés) ; leurs solubilités dans l'eau ou leurs digestion dans le système gastro-intestinal humain [9-10].

Les polysaccharides sont utilisés comme épaississants, stabilisants, agents de suspension, agents gélifiants, agents filmogènes, agents d'aération, floculants, liants, émulsifiants, lubrifiants, et agents texturants et de structuration[11-12].

Les polysaccharides sont principalement utilisés pour épaissir de l'eau en gel et sont souvent classés en deux groupes : épaississants et gélifiants [13].

I.5.Classification des biopolymères

Les biopolymères sont soit issus de la pétrochimie, soit totalement dérivés de ressources renouvelables [14].

I.5.1.Biopolymères issus de la pétrochimie

Ce sont des polymères issus de la pétrochimie associés à un composé naturel (amidon, cellulose…), soit des polymères biodégradables de synthèse. Dans le cas des premiers on parlera plutôt de dégradabilité, d'autant qu'ils peuvent comporter des additifs à base de métaux lourds (améliorer la dégradabilité). Les seconds peuvent être considérés comme biodégradables, et c'est le cas notamment des : polyesters aliphatiques, Opolyesters aliphatiques, (polymères biosourcés possédant une structure identique à ceux d'origine pétrochimique sont issus de canne à sucre par exemple) modifiés,….etc. [14].

I.5.2. Biopolymères issus de ressources renouvelables

Ils sont fabriqués à partir de polymères naturels d'origine agricole, microbienne ou synthétique (mais non tirés de la pétrochimie).

- Les polymères d'origine agricole sont synthétisés par des organismes vivants : végétaux, animaux et micro-organismes. Ils proviennent principalement de lignine, cellulose, amidon ou de chitine [14].
- Les polymères d'origine microbienne s'accumulent dans le cytoplasme de bactéries en état de fermentation, qui utilisent le sucre ou l'amidon pour produire des polyesters. Ici on distingue principalement : les ou poly hydroxybutyrates (PHB) ou les poly hydroxyalcanoates(PHA) [14].
- Enfin les polymères synthétiques sont également obtenus par fermentation, mais ici le résultat est un monomère qu'il faut traiter pour le transformer en polymère. C'est le cas de l'acide lactique, obtenu à partir de la fermentation de sucres (betteraves,

maïs,…), qui, une fois polymérisé, donne de l'acide poly lactique(PLA) [14]. La figure 1.1 résume les principales classes des biopolymères.

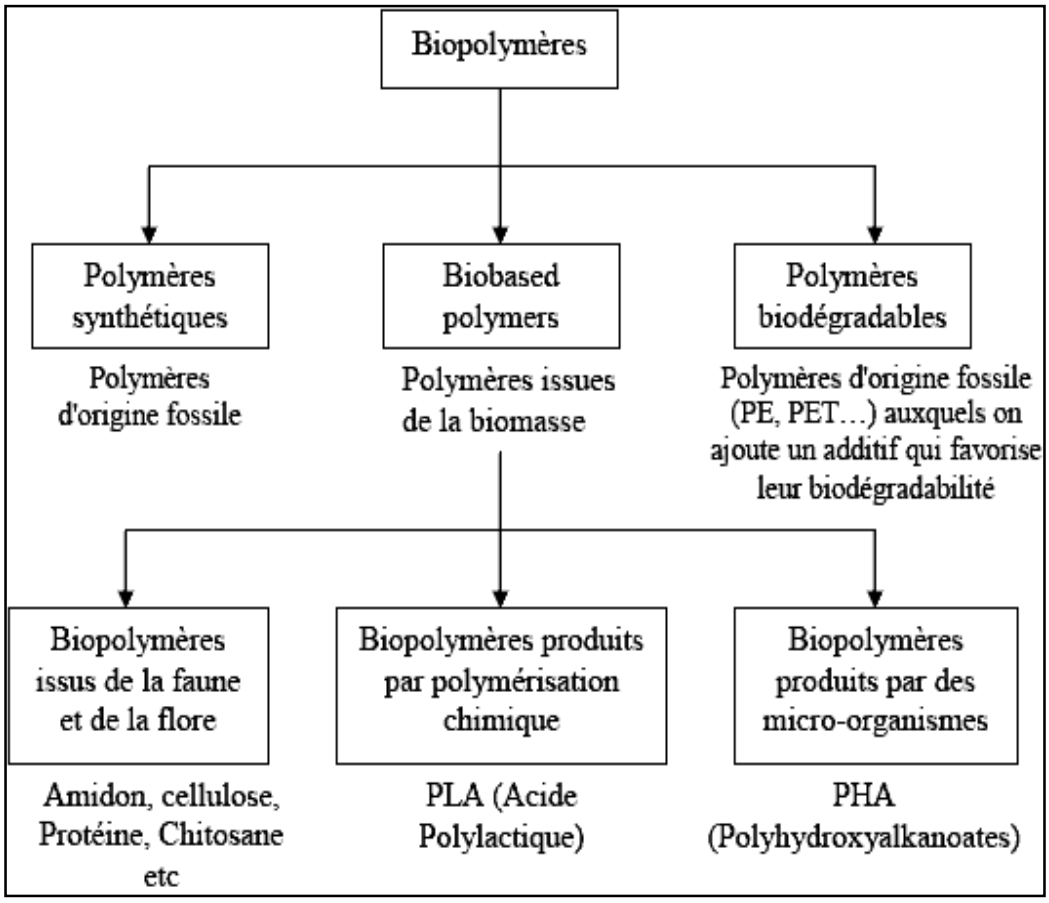


Figure 1.1. Classification des biopolymères [14].

I.5.3. Biopolymères du monde végétal

Les polymères issus des plantes ou biopolymères constituent la plupart du temps les parois cellulaires des végétaux comme la cellulose et la lignine [4-15].

Ils servent également de réserve aux plantes en vue de leur croissance [16].Des monomères simples peuvent être également obtenus à partir des plantes après transformations chimiques et/ou enzymatiques de ces molécules [17-18].Par polymérisation de ces monomères, des polymères que l'on dit issus du végétal sont obtenus.

Les microorganismes, par fermentation des molécules issues des plantes, produisent des polymères classés également comme biopolymères [19-20]. Les différentes classes de polymères issus des plantes sont reprises dans le Tableau 1.1.

Tableau 1.1. Grandes classes de biopolymères issus du monde végétal [21]

Classe des biopolyméres	Matériaux
Polysaccharides (issue des êtres vivants)	Xanthane, Dextrane, Gellane, Curdlan, Pullulane, Elsinane
Protéines	Zéine, Gluten, Polyacides aminés
Poly phénols	Lignines, Tannins, Acides humiques
Polyesters	Polymères d'acide lactiques (PLA) Polyhydroxyalcanoates (PHA)
Polysaccharides (plantes/algues)	Pectine, Gommes, Konjac, Amidon, Cellulose, Agar, Alginate, Carraghénanes
Autres polymères	Polymères synthétisés à partir d'huile (nylon), Poly isoprènes (caoutchouc)

I.6.Propriétés des biopolymères

Par leurs structures chimiques, les biopolymères présentent des propriétés particulières et intéressantes pour des applications bien spécifiques dans plusieurs industries (plastique, alimentaire…etc.) [22].

I.6.1. Biodégradabilité des biopolymères

La biodégradabilité de la plupart des biopolymères est due à la présence de liaisons facilement clivables comme les liaisons esters ou amides conduisant à la formation de molécules simples et de fragments de plus petite taille. Ces dernières sont assimilables par les microorganismes pour leur biosynthèse en libérant du CO_2 et de l'H_2O [22].

Le terme « biodégradabilité » suscite beaucoup de discussions. La définition émergeante proposée par de nombreux auteurs de la biodégradabilité se traduit par une dégradation du matériau par les microorganismes comme les bactéries, les champignons et les algues. Autrement dit, c'est une dégradation biotique qui met en jeu l'action des microorganismes par exemple, par voie enzymatique conduisant à une décomposition au niveau moléculaire et chimique.

Il en résulte alors la formation de CO_2, H_2O en présence d'oxygène (ou la formation de CH_4, CO_2 et H_2O en absence d'oxygène) et une nouvelle biomasse [22].

Grace aux enzymes, les microorganismes peuvent utiliser les polymères et leurs produits de dégradation comme source de carbone et d'énergie. Les bactéries et les champignons sont les principaux microorganismes impliqués dans la dégradation des polymères [22].

La dégradation des matériaux par les enzymes peut être le résultat d'un mécanisme radicalaire (oxydation biologique) ou d'un changement chimique (hydrolyse biologique). Dans le cas de l'oxydation biologique, les enzymes réagissent directement avec l'O_2 comme les cytochromoxidases qui sont des enzymes actives dans la chaine respiratoire. La plupart du temps, l'oxygène est incorporé directement au substrat (cas des oxygénases). Parfois, il joue le rôle d'un accepteur d'hydrogène (cas des oxydases) [22].

I.6.2. Perméabilité à la vapeur d'eau des biopolymères

La plupart des biopolymères comme l'amidon, la cellulose et les protéines sont hydrophiles, ce qui leur confère des propriétés de perméabilité à la vapeur d'eau. Ces propriétés sont dues notamment à la présence de fonction polaires hydroxyle et / ou amine qui ont une forte réactivité avec l'eau par formation de ponts hydrogènes ; ce qui leur confère aussi une propriété antistatique [22].

La perméabilité à la vapeur d'eau pourrait être un inconvénient dans certaines applications, notamment pour les emballages alimentaires. Par exemple, les viennoiseries ne peuvent pas se trouver dans un endroit trop humide pour conserver leur fraicheur. Par contre, pour certains types d'emballages, elle est avantageuse. En effet, la condensation et la durée de conservation des produits frais est allongée. Cette propriété trouve également une application dans les emballages des produits humides leurs laissant la possibilité de continuer de sécher pendant les étapes de stockage et de transport [22].

I.6.3. Biocompatibilité et biorésorbabilité

Un matériau biocompatible est un matériau qui est capable d'assurer une fonction avec une réponse appropriée et sans effets indésirables sur l'environnement biologique dans lequel il est appelé à fonctionner.

La réponse biologique d'un matériau dépend de trois facteurs :

- ses propriétés
- la caractéristique de l'hôte

- la demande fonctionnelle pour le matériau.

Les biopolymères par leur origine naturelle remplissent logiquement cette fonction. Les implants médicaux en matériau inerte comme les céramiques sont de plus en plus remplacées par des polymères d'origine naturelle [22].

En plus de la biocompatibilité, la biorésorbabilité d'un matériau est recherchée car pour une application médicale spécifique des matériaux biorésorbables, ils peuvent se décomposer tout naturellement dans l'organisme humain pour être remplacés par un tissu vivant [22].

Les biopolyméres sont dégradés naturellement dans l'organisme humain par hydrolyse (enzymatique) et libérant des molécules assimilables et non toxiques [22].

I.6.4.Propriétés chimiques

La présence de fonctions chimiques sur les molécules leur attribue des propriétés particulières qui facilitent leur réaction avec d'autres molécules. Leur réactivité est due à la présence des fonctions alcool, acide, amine ou aldéhyde qui réagissent facilement grâce à leur site nucléophile et électrophile [23-24].

La présence de certaines instaurations et des groupements hydroxyles sur les chaînes alkyles des triglycérides permet leur fonctionnalisation et conduit à la formation de polyuréthanes, polyamides ou polyesters [25-26].

I.6.5. Autres propriétés

Certains biopolymères possèdent des fonctionnalités qui leur apportent des propriétés physico-chimiques ou mécaniques particulières. On peut relever dans le Tableau 1.2. Quelques propriétés physico-chimiques intéressantes des biopolymères et les applications potentielles.

Tableau 1.2. Propriétés physico-chimiques des biopolymères et les applications potentielles.

Biopolymères	**Propriétés particulières**	**Applications ciblées**
Polymère à base d'amidon	Antistatiques, Anti condensations, toucher naturel	Emballages et sacs
Polymères à base de cellulose	Transparences, antistatiques	Emballages
Polymères à base de protéine	Comestibles, grandes diversités chimiques des acides aminés, perméabilité sélective aux gaz	Galénique, emballages Alimentaires
Polymères à base d'huile	Anti-condensations brillances, antibactériens	Peinture, vernis
Polymères de synthèse à base d'acide lactique	Anti-condensations brillances, antibactériens	Emballages, textiles
Polyesters bactériens (Polyhydroxyalcanoates)	Propriétés piézoélectriques, anti-oxydants, médical, insolubilité dans l'eau.	Emballage rigide
Caoutchouc	Élastomère	Vulcanisation

I.7. Applications des biopolymères

Trois grands créneaux d'applications sont identifiés par rapport aux propriétés des biopolymères :

- La médecine
- L'agriculture
- Les emballages

I.7.1. Applications en médecine et pharmacie

Les premières applications des biopolymères sont médicales d'autant plus que leurs coûts élevés de départ se justifient dans ces applications à haute valeur ajoutée. Leurs propriétés de biocompatibilité et biorésorbabilité associés à leur résistance mécanique sont très importantes pour assurer les fonctions attendues dans ce domaine. Les propriétés de quelques biopolymères typiques utilisés dans des applications médicales sont données dans le Tableau1.3.[22].

Tableau 1.3. Applications médicales de quelques biopolymères [22].

Biopolymères	**Applications médicales**
Polyhydroxyalcanoates (PHA)	Fil de suture, galénique, implant vasculaire, vêtement et accessoire médicaux, ostéosynthèse
Polyglycolides (PGA)	Fil de suture, agrafe et adhésif
Polylactides (PLA)	Fixation orthopédique, attache, vis et broche, ligament et tendon artificiel, galénique, matrice de régénération de tissu
Polyglactine (PLA-PGA)	Fil de suture, fixation orthopédique, vis et broche, ligament, tendon et vaisseau artificiel
Cellulose	Encapsulation de médicaments, membrane d'hémodialyse
Alginates	Encapsulation de médicaments, implantation cellulaire
Polyaspartates	Encapsulation de médicaments, fil de suture, peau artificielle
Poly-lysine	Biosenseur, bactéricides, encapsulation de médicaments

I.7.2. Applications en agriculture

En agriculture, la propriété de biodégradabilité des biopolymères est essentielle dans les applications. Dans ce domaine, les films de paillage à base de biopolymères s'imposent progressivement en remplacement aux paillis en polymères conventionnels. Leur fonction principale est de réduire l'évaporation de l'eau et d'accroitre la température du sol pour favoriser la croissance des jeunes plantes au printemps. Des travaux d'enlèvement, de nettoyage et de traitement des déchets plastiques sont dès lors indispensables par la suite.

Ainsi les paillis en polymères biodégradables évitent le ramassage et le traitement des déchets puisqu'ils se dégradent. Des gains économiques et environnementaux évidents sont obtenus. Par ailleurs, leur biodégradation rapide évite l'incinération habituelle des films de paillage conventionnels productrice d'éléments toxiques dans l'environnement et le coût de main-d'œuvre [22]. Les polymères à base d'amidon sont les plus utilisés dans le domaine de l'agriculture. Le matériau doit répondre au critère de biodégradation et une durée de vie suffisante afin de remplir sa fonction. En effet, la dégradation trop rapide d'un film de paillage pourrait entrainer, par exemple, une croissance des ravages et des dégâts sur les cultures [22].

I.7.3. Applications en emballage

Dans le domaine de la vie courante, le secteur de l'emballage est un autre créneau important pour le marché des polymères biodégradables. Ces derniers apportent une solution aux problèmes de déchets mais nécessitent toutefois la mise en place d'une filière de gestion de déchets adéquate à ce type de produits. Ainsi l'organisation d'une filière de compostage est indispensable pour assurer une valorisation optimale de ces emballages biodégradables [22]. Outre leur biodégradabilité, les biopolymères présentent d'autres propriétés intéressantes pour les applications dans le domaine d'emballage. À part leur fonction première de protection des produits, les biopolymères offrent aux emballages d'autres fonctions grâce à leurs propriétés intrinsèques. On peut citer, par exemple, leur perméabilité à la vapeur d'eau intéressante pour emballer les produits frais comme les fruits et légumes [22].

Tableau 1.4. Propriétés des biopolymères impliqués dans les applications d'emballages [22].

Propriétés des biopolymères	**Applications**
Transparence et brillance	Attrait pour les emballages de confiserie et produits de valeur
Mémoire de plis	Facilité de fermeture des emballages
Perméabilité à la vapeur d'eau	Empêche la condensation dans les emballages
Anti-condensation	Allonge la durée de conservation des aliments
Scellabilité à basse température	Fermeture des emballages
Barrière aux odeurs et aux arômes	Bonne conservation des aliments
Antistatique	Facilité d'ouverture des emballages
Résistance aux graisses	Emballage des aliments riches en graisse, il n'ya pas de solubilisation de molécules
Faible coefficient de friction	Imprimabilité

I.8.L'alginate de sodium

Par le terme alginate, sont désignés l'ensemble des polysaccharides appartenant à la famille des copolymères constitués des résidus de l'acide D-mannuronique et de l'acide L-3guluronique, dans des proportions et des arrangements séquentiels différents [27].

L'alginate de sodium est un polysaccharide linéaire, polyanionique, naturel, extrait des algues brunes. Au niveau industriel, il est essentiellement issu de certaines espèces d'algues brunes : *Macrocystis pyrifera*aux Etats-Unis, *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea*ou encore *Ascophyllumnodosum*en Europe.

L'alginate est le polysaccharide le plus abondant de ces organismes, constituant plus de 40% de leur poids sec [27].



Figure1.2. De gauche à droite : *Macrocystis pyrifera (a)*, *Laminaria hyperborea (b)* et *Laminaria digitaria (c)*[27]

Des bactéries telles que la bactérie aérobie fixatrice d'azote *Azotobacter vinelandii* et la bactérie pathogène opportuniste *Pseudomonas aeruginosa* produisent également de l'alginate. Cependant, seules les bactéries *A. vinelandii* produisent des alginates présentant des structures de type copolymères en blocs.

En présence de cations divalents, tels que le calcium, l'alginate peut former des gels dont la force et les propriétés sont notamment corrélées à la proportion et la longueur des blocs d'acide L-guluronique (blocs poly-G) de la chaîne polymère [27] .De même, ses propriétés rhéologiques sont très dépendantes de la structure de la chaîne. Copolymère [27].

L'alginate de sodium est ainsi utilisé comme gélifiant ou viscosifiant dans un large domaine d'applications industrielles. Il est fréquemment employé pour l'encapsulation des cellules ou des enzymes. On le retrouve notamment sous les appellations E400 (acide alginique) dans les glaces, E401 (alginate de sodium) et E402 (alginate de potassium) dans les desserts, les crèmes, les nappages, E403 (alginate d'ammonium) dans les charcuteries, E404 (alginate de calcium) dans les crèmes glacées et E405 (alginate de propylène glycol) dans les sauces pour accompagnement d'entremets, produits de nettoyage antimousse, anti-redéposition [27].

I.8.1. Composition chimique de l'alginate

L'acide alginique est un polysaccharide constitué de deux unités acides uroniques: l'acide D-mannuronique (M) et son épimère en C5, l'acide L-guluronique (G) liés par des liaisons glycosidiques β-(I-4) et α-(I-4), selon un enchaînement régulier de trois types de blocs [28](Fig. 1.3) :

- des blocs homopolymères de résidus d'acide mannuronique, notés –M-M-M-
- des blocs homopolymères de résidus d'acide guluronique, notés –G-G-G-
- des blocs de résidus d'acides mannuronique et guluronique, notés –M-G-M-G

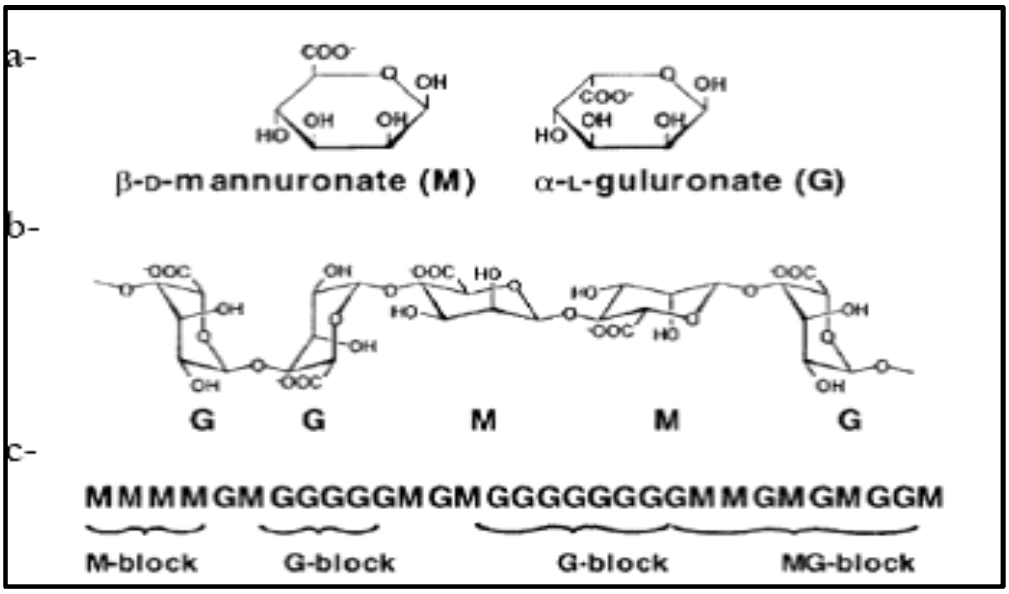


Figure 1.3.a. monomères mannuronate M et guluronate G ; **b.** poly-guluronate GG et polymannuronate MM; **c.** exemple d'enchaînement des blocs GG, blocs MM ou blocs alternés MG dans une chaîne d'alginate [28].

Ila été montré que les propriétés physiques de l'alginate dépendent de la proportion relative des 3 types de bloc[28]. La présence et la teneur en unités uroniques sont déterminées par l'origine

des algues dont l'alginate est extrait [28].Le ratio M/G peut être modifié par un traitement à l'épimérase.

Comme le montre la figure 1.4 b et c, il existe des différences structurales importantes entre les différents types de blocs. Les blocs -M-G- sont les plus flexibles et les plus solubles comparés aux deux autres types de blocs [28].

I.8.2. Propriétés physico-chimiques des alginates en solution.

Les propriétés physico-chimiques des solutions et des gels d'alginate en milieux aqueux dépendent de leur structure, c'est-à-dire de la proportion de résidus mannuronique par rapport aux résidus guluronique (rapport noté M/G) ainsi que du nombre et de la longueur des blocs MM, GG et MG[29].

La solubilité des alginates en solution aqueuse dépend du degré d'ionisation des groupements carboxyliques portés par les unités monomères. Ainsi, les alginates monovalents sont parfaitement solubles dans l'eau si on leur associe des cations alcalins monovalents car les groupements carboxyliques présents dans les molécules d'alginate sont ionisés. Par contre, l'acide alginique est insoluble dans les solutions aqueuses. Il précipite quand le pH est inférieur à 3,5.On peut parler de pKa de l'acide alginique. L'acide mannuronique a un pKa de 3,38 et l'acide guluronique un pKa de 3,65 .Le pKa apparent de l'acide alginique varie de 3,7 à 4,2 en fonction de sa composition [29] .

Les solutions aqueuses d'alginate sont très visqueuses. En effet, l'alginate est un polyélectrolyte qui contient des fragments poly (-L-guluronate) rigides. La relative rigidité de l'alginate se traduit par un rayon de giration élevé en solution. La présence de groupements chargés sur la chaîne et le rayon de giration élevé expliquent la viscosité relativement élevée de l'alginate. Cette propriété des alginates est utilisée dans l'industrie : ils servent d'épaississant, surtout dans l'industrie agro-alimentaire [29].

Les alginates de sodium se dissolvent dans l'eau en formant des solutions colloïdales visqueuses à comportement pseudoélastique et ce pour de faibles concentrations. L'addition progressive de cations divalents (Ca^{2+} par exemple) provoque la formation d'un gel élastique, non thermoréversible : les segments guluroniques à conformation plissée retiennent les ions calcium par coordination, en coopérant avec une chaîne parallèle.

Les ions calcium s'associent préférentiellement aux fragments poly-guluronate plutôt Qu'aux fragments poly-mannuronate (figure I.4). En effet, les blocs poly-guluronate, en raison de leur conformation spatiale, permettent une chélation plus énergétique des ions.

Ces derniers sont retenus dans une « cage » et interagissent avec les fonctions carboxylates et les atomes d'oxygène des fonctions hydroxyles. Les ions calcium sont beaucoup mieux retenus que par de simples liaisons ioniques.

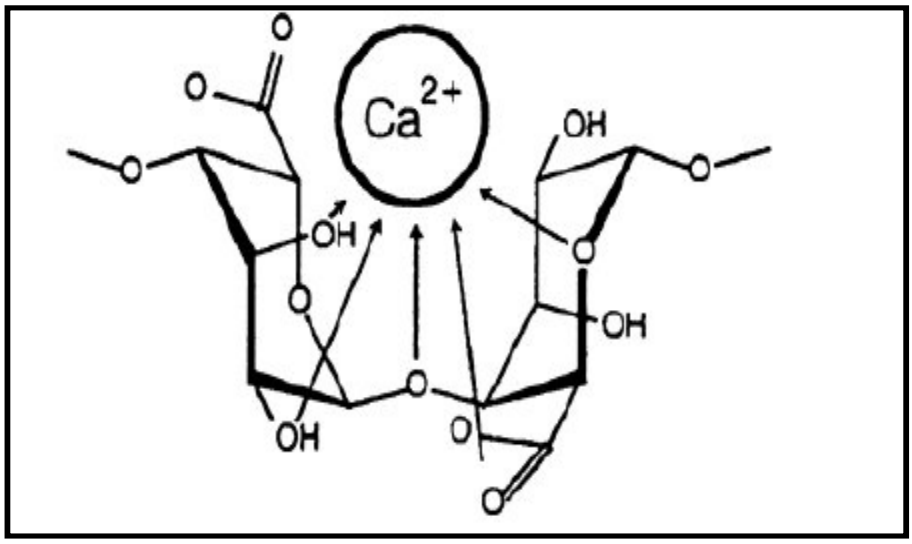


Figure 1.4. Liaisons covalentes des ions calcium avec les résidus poly-G des polymères D'alginate.

L'enchaînement régulier se reproduit périodiquement où il se forme un réseau tridimensionnel à zones organisées reliées par les segments poly-M ou poly-(M-G) de type « egg box »(figure 1.5).

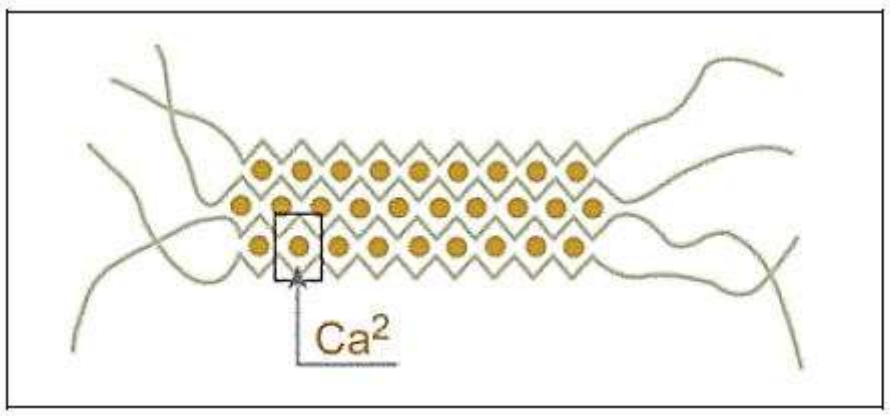


Figure 1.5.Rétention du calcium par un réseau tridimensionnel de segments poly-M ou poly-G définissant une structure de type "egg-box".

La structure du polymère est donc l'élément déterminant du comportement rhéologique des gels d'acide alginique : la proportion des blocs poly-G et leur longueur conditionnent la formation

et la force des gels obtenus en présence de calcium. On peut d'ailleurs remarquer que, *in vivo*, les tissus les plus anciens dans l'évolution et les plus résistants sont aussi les plus riches en acide L-guluronique[29].

I.8.3. Mécanismes de gélification

La gélification d'alginate se produit lorsque des ions multivalents prennent leurs places entre les blocks G des monomères guluroniques, formant des jonctions de nature électrostatique. La force de liaison varie en fonction de la nature du cation selon l'ordre suivant : Pb > Cu > Cd > Ba > Sr > Ca > Co = Ni = Zn > Mn [27]. Or, la rigidité de l'hydrogel dépend de la proportion en monomères G, plus le taux en monomère G est élevée plus le pouvoir gélifiant est élevé. En général, Le ratio M/G et le pouvoir chélatant des cations déterminent la nature de l'hydrogel formé.

La dissolution d'alginate de sodium dans l'eau, avec une quantité précise, conduit à la formation d'une solution de viscosité contrôlée. Comme l'acide alginique est insoluble dans les solutions aqueuses, il précipite à un pH inférieur à 3,5. La formation des billes d'alginates de calcium se fait dans des conditions extrêmement douces « température ambiante et pH neutre ». L'auto-ass

emblage de la phase organique et de la phase inorganique résulte la formation d'un hydrogel hybride, dont le calcium présente la partie inorganique et l'alginate présente la partie organique. Selon la méthode de séchage normale ou supercritique, on distingue deux types de billes hybrides: xérogels et aérogels. Il s'avère intéressant de faire rappeler quelques notions sur les gels et les matériaux hybrides.

a- Gel à base d'alginate

Les gels sont des états intermédiaires entre l'état solide et l'état liquide. Dans le cas de l'alginate, les gels obtenus sont appelés xérogels où la capillarité s'effondra lorsqu'on extrait le solvant par un séchage classique ou une compression. Cependant, les aérogels sont les produits d'un séchage supercritique qui repose sur un processus d'extrait du solvant sans causer l'effondrement de la capillarité et le réseau du gel, en utilisant le CO_2 à l'état supercritique qui est miscible avec le solvant d'échange [29].

b- Hydrogel à base d'alginate

Les hydrogels forment une classe spécifique de gels définis comme des systèmes à deux ou plusieurs composants, consistant en un réseau tridimensionnel de polymères hydrophiles dans lequel l'eau est le solvant de gonflement. En fonction des propriétés et de la nature du polymère utilisés, dépend sa capacité de se gonfler ou se contracter lors de l'évaporation du solvant. En général, la fraction massique de l'eau dans un hydrogel est beaucoup plus élevée que la fraction massique du polymère.

Deux classes générales d'hydrogels peuvent être définies :

 Hydrogels physiques (pseudo-gels), où les chaînes sont reliées par des forces électrostatiques, des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobes ou des enchevêtrements de chaîne. Un autre type particulier d'hydrogel physique connu sous le nom de « gel ionotropique » qui repose sur la combinaison des polyélectrolytes avec un ion multivalent de charge opposée dont l'alginate de calcium en est un exemple.

 Hydrogels chimiques avec des liaisons covalentes assurent la cohésion du gel et l'équilibre du gonflement est déterminé par le taux de réticulation [29].

Dans le cas de la gélification avec les ions calcium, il existe trois états physiques différents selon la concentration de cet élément (figure 1.6).

1. A très faible concentration, il y a formation d'agrégats (microgel) qui provoquent une diminution de la viscosité de la solution d'alginate.
2. Puis à partir d'une certaine concentration, les macromolécules se réarrangent pour former un réseau tridimensionnel (gel continu).
3. Si la concentration en calcium augmente encore, on observe un phénomène de synérèse 2 (gel continu avec démixtion) dû à une diminution du taux de gonflement des chaînes d'alginate avec expulsion d'eau hors du réseau.

Par ailleurs, certaines études ont montré que la gélification de l'alginate dans une solution ne contenant que des ions calcium conduit à la formation d'un gel non homogène.

En effet, la diffusion des ions calcium provoque une gélification de « billes » d'alginate de l'extérieur vers l'intérieur. L'alginate a alors tendance à migrer vers la zone de gélification. De ce fait, il s'établit un gradient de concentration en alginate à l'intérieur du gel. C'est un phénomène que l'on souhaite éviter, car il complique singulièrement le calcul du coefficient de diffusion [29].

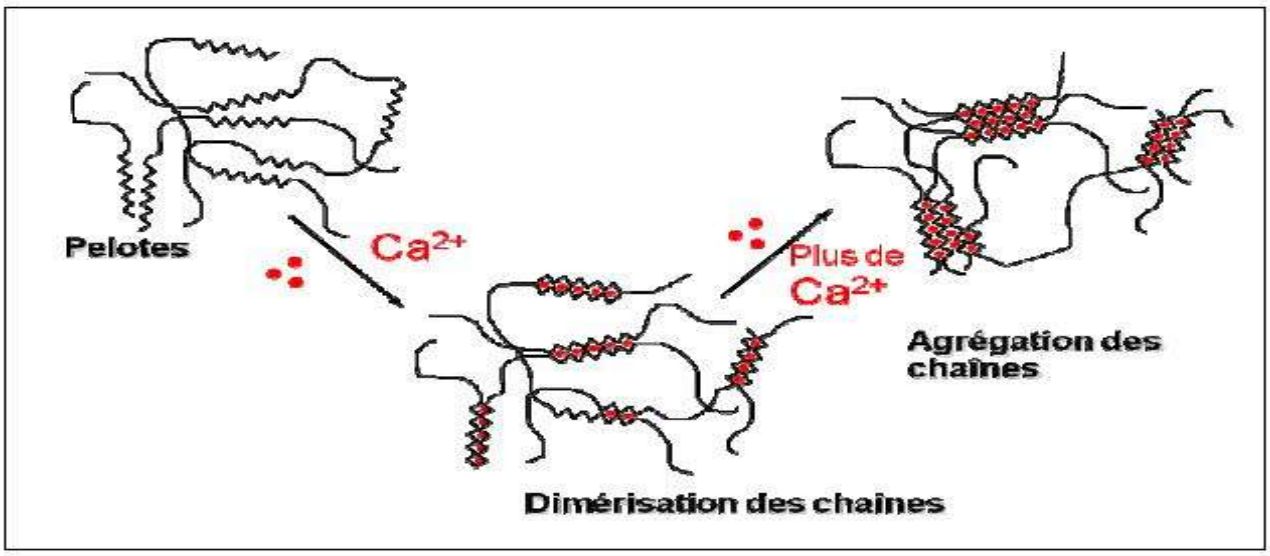


Figure 1.6. Effet de l'ajout de calcium dans une solution d'alginate : en haut à gauche les polymères poly M et poly G ne sont pas reliés. Avec l'ajout d'une concentration faible en calcium, on observe un assemblage des chaînes. En haut à droite cette figure montre que plus on ajoute de calcium, plus le réseau tridimensionnel est lié et donc rigide.

Pour obtenir un gel homogène, il faut ajouter du chlorure de sodium à la solution de chlorure de calcium qui sert à gélifier l'alginate, ainsi qu'à la solution d'alginate. Ainsi l'alginate n'a plus tendance à se déplacer vers la zone de gélification, car la présence d'ions sodium conduit à un équilibre des charges [29].

I.8.4.Formation des gels d'alginate de calcium

Il existe deux méthodes de formation d'hydrogels d'alginate de calcium possibles:

a. La gélification par diffusion

b. La gélification interne

a. ***Gélification par diffusion:*** la méthode consiste à permettre au réticulant (Ca^{2+}) de diffuser du milieu de formation vers l'intérieur de la solution d'alginate ou bien à travers une membrane de dialyse (la gélification par dialyse est utilisée pour la formation de gels de taille importante). Cette méthode est caractérisée par une cinétique de gélification rapide qui est utilisée pour le piégeage de molécules bioactives [30].

En effet, lorsque les ions calcium diffusent au sein de la goutte de solution d'alginate de sodium, le pontage rapide du Ca^{2+} formant le réseau provoque l'établissement d'un front de

gélification qui évolue depuis la périphérie vers le cœur de la bille tandis que les chaînes d'alginate progressent en sens inverse, générant une zone de déplétion au cœur de la bille.

Le gradient de concentration en polymère dans la bille résulte donc de la différence entre les vitesses de diffusion des chaînes et des ions Ca^{2+} [31]. Il a été observé que l'homogénéité du réseau tridimensionnel final d'alginate de calcium est assurée par l'utilisation des alginates de sodium à forte masse molaire et d'un taux de monomères G faible sur les chaines de polymères. Il est préférable d'avoir la présence d'un autre ion non réticulant dans le milieu de formation ainsi que dans la solution d'alginate pour équilibrer la distribution des chaines de polymère dans le gel final [31].

b. ***Gélification interne:*** Cette méthode consiste à contrôler la libération des ions calcium présents initialement sous forme de sels dans la solution d'alginate. Sa libération est assurée par la présence d'un retardateur comme libérer des ions hydrogène chélatans [32].

Généralement, l'immobilisation de protéines ou de principes actifs dans d'alginate de calcium suit les mêmes méthodes. La molécule à immobiliser est mise dans la solution d'alginate et versée goutte à goutte dans la solution contenant la mélatonine, l'héparine, l'hémoglobine d'hydrogel sous forme de billes simples ou enrobées dans des microcapsules [33,34].

I.8.5. Stabilité et dégradation des gels d'Alginate

Les gels d'alginate de calcium ne sont pas solubles dans l'eau. Toutefois cette dissolution peut s'obtenir si l'on déplace les ions calcium par un agent chélatant ou par de fortes concentrations de sodium ou de magnésium.

En effet le déplacement du calcium diminue la réticulation du gel et accroît son instabilité. Il est également possible de traiter les gels par des tampons phosphate 0,1M ou citrate 0,1M.
A l'inverse, cette dissolution peut être empêchée par la présence en solution d'ions calcium libre dans un rapport adéquat. Les gels peuvent aussi être dégradés par hydrolyse acide [29].

I.8.6.Applications générales d'alginates

De par ses diverses propriétés colloïdales, c'est-à dire la rétention d'eau, la gélification et la stabilisation des émulsions, les alginates sont employés dans de nombreux domaines.

- Ces propriétés sont utilisées dans de nombreuses industries et notamment dans le textile : l'alginate donne la rhéologie souhaitée pour les pâtes et teintures.
- L'imprimerie les emplois dans les encres pour en améliorer la viscosité mais également dans les livres où ils possèdent des propriétés anti-graisse, augmentent la résistance à l'huile, la prise d'encre et l'imprimabilité [29].
- L'alginate trouve un emploi jusque dans le domaine de la soudure. La fabrication des baguettes à souder y a recours dans l'étape de séchage et de cuisson pour apporter un effet lubrifiant et liant.
- L'industrie alimentaire est un gros consommateur d'alginates pour des emplois variés. Les additifs alimentaires sont les suivants : l'acide alginique E400, l'alginate de sodium E401, l'alginate de potassium E402, l'alginate d'ammonium E403, l'alginate de calcium E404 et l'alginate de propylène glycol E405 [29].

Ils sont retrouvés dans les laits gélifiés en vue de la préparation de desserts lactés, dans les gelées alimentaires pour leurs propriétés gélifiantes. Les glaces et les yaourts contiennent également de l'alginate pour améliorer la texture et la saveur : ces produits deviennent alors plus onctueux.

Dans les crèmes glacées et les sorbets, cet additif empêche la formation de cristaux. Par ailleurs un rôle secondaire dans cette industrie est l'effet stabilisant des alginates. Ce phénomène est notamment trouvé dans les jus de fruits [29].

Les aliments reconstitués sont également utilisateurs d'alginates pour leur grande capacité de gélification, leur stabilité à la chaleur et leur maniabilité qui permettent de former le produit final facilement (exemples : poissons panés, jambons, cordons bleus). Dans la bière, l'alginate permet de maintenir un taux de mousse suffisant [29].

- Le milieu médical fait aussi partie des consommateurs d'alginates. Des inserts oculaires sont été mis au point à base d'alginate. Ils sont constitués d'un réservoir central chargé en pilocarpine dans une matrice d'acide alginique : ce sont les Ocusert® (figure 1.7). Ces implants permettent le traitement du glaucome.

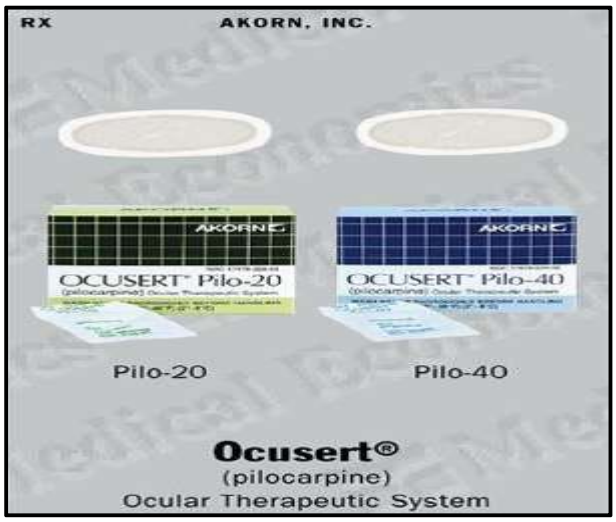


Figure 1.7. Insert oculaire contenant de l'alginate : Ocusert®

D'autres applications dans le domaine du remplissage vasculaire utilisent l'alginate comme modificateur de la viscosité des préparations. Les chirurgiens-dentistes se servent de l'alginate pour effectuer des moulages dentaires en vue de la prise d'empreintes.

L'avantage de ce produit est qu'il est hypoallergénique. Cette même propriété est appliquée pour les moulages des parties du corps au cinéma afin créer des effets spéciaux (figure 1.8) [29].

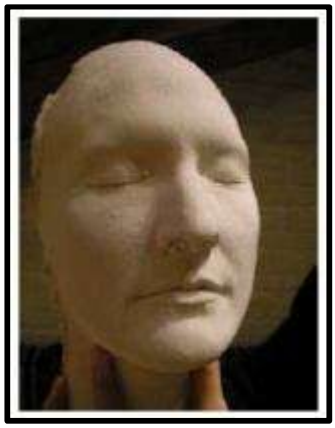


Figure 1.8. Moulage du visage réalisé avec de l'alginate.

Le tableau 1.5 regroupe les principales applications d'alginates dans les différents secteurs industriels.

Tableau 1.5: Application d'alginate dans les différents secteurs industriels [29].

Secteurs industriels	Application des alginates
Industrie pharmaceutique et biotechnologies	Encapsuler et contrôler la diffusion et la libération des principes actifs et d'autres produits chimiques. Epaissir des pommades. Gélifiant dans les pâtes à empreinte dentaire. Stabilisateur d'émulsion. Agglomérant dans les comprimés.
Industrie agroalimentaire	Agent texturant (épaississant ou gélifiant) : confitures, jus de fruits, sauces (moutarde, mayonnaise), potages, produits laitiers, stabilisateur dans les crèmes glacées (empêche la formation de cristaux).
Industrie du papier	Agents filmogènes (freinent l'évaporation de l'eau à la surface). Amélioration de l'uniformité de surface. Améliorer la prise d'encre et d'imprimabilité.
Industrie textile	Epaissir la pâte qui contient le colorant. Fixation des colorants, inerte, bons contrastes et couleurs des motifs imprimés.
Industrie cosmétique	Soin de visage, dentifrice.

I.9.Conclusion

Les polymères naturels utilisés pour des applications pharmaceutiques incluent principalement deux catégories de molécules : les polysaccharides comme l'alginate, le chitosane ou encore certains dérivés de la cellulose ainsi que des protéines telles que le collagène et la gélatine.

Dans cette présente étude, une attention particulière a été portée à l'alginate de sodium, principal biopolymère de notre travail.

Les alginates, peu connus du grand public, sont pourtant des produits aujourd'hui utilisés dans de nombreux domaines. Les emplois des alginates sont nombreux et concernent de multiples industries. Ils sont utilisés dans l'industrie textile, alimentaire, pharmaceutique, dans l'imprimerie,… Toutes ces industries y trouvent une propriété commune : la capacité de gélification de ce produit naturel, une spécification qui est très recherchée actuellement, particulièrement dans l'industrie pharmaceutique.

Chapitre II :
La microencapsulation

Chapitre II
La microencapsulation

II.1. Introduction

L'encapsulation peut être utilisée pour protéger un principe actif sensible et l'isoler de son environnement (humidité, chaleur, oxygène, lumière…). Une des principales applications reste le contrôle de la libération ultérieure du principe actif pour laquelle deux voies principales sont envisagées : libération différée ou libération prolongée dans le temps avec la définition d'une cinétique [35]**.**

II.2.Définition

La microencapsulation regroupe l'ensemble des technologies qui permettent la préparation des microparticules individualisées constituées d'un matériau enrobant contenant une matière active. La micro-encapsulation permet aux principes actifs d'atteindre dans les meilleures conditions possibles les points cibles où leur efficacité sera maximale. Dans cette perspective de protection et d'aide à la vectorisation, la micro-encapsulation se présente comme une réponse à la fois logique et performante .Elle consiste à encapsuler à l'intérieur d'une enveloppe le contenu que l'on souhaite protéger et dont on veut maitriser la libération (principe actif) [36]**.**

La micro-encapsulation, par son effet barrière, isole le produit actif du milieu environnant et le protège efficacement de tout facteur dégradant : radiation lumineuse ou thermique, agression chimique, incompatibilité avec d'autres produits [36].

II.3. Intérêts de la microencapsulation

La nature des produits encapsulés peut être hydrophile ou lipophile et avoir des propriétés diverses. On peut citer rapidement des propriétés anti- oxydantes, odorantes, colorantes, pharmacologiques. Les microparticules peuvent avoir différents rôles selon l'application pour la quelle elles sont conçues :

- Préserver un principe actif ou une substance du milieu extérieur lors de la fabrication d'un produit. La substance encapsulée peut alors sans dégradation subir divers procédés de fabrication comme des cuissons, des extrusions, des stérilisations...,

- Transformer un liquide en solide. En effet, lors de l'encapsulation d'un produit liquide, celui-ci est transformé en poudre de granulométrie plus ou moins fine ; on obtient alors un pseudo-solide,
- Diminuer la volatilité d'un produit possédant une forte tension de vapeur. Ceci est valable par exemple pour les arômes dans les préparations culinaires,
- Obtenir une diffusion contrôlée d'un produit actif. Ceci est surtout valable dans les formes pharmaceutiques, afin d'obtenir des médicaments à effet retard,
- Séparer deux produits incompatibles devant se trouver dans un même mélange. De cette façon, on peut faire coexister deux produits réactifs.

II.4. Les Microparticules

II.4.1. Définition

La microencapsulation regroupe l'ensemble des techniques permettant l'obtention de particules dont la taille s'échelonne entre un micron et un millimètre contenant une substance active solide, liquide ou gazeuse. Les microparticules ainsi obtenues peuvent être classées en deux catégories selon leur microstructure : les microsphères et les microcapsules [3].

La plupart du temps les microparticules ont une forme sphérique ou ovoïde, mais il en existe des formes non régulières. La membrane protectrice des microparticules peut être formée d'une monocouche ou d'une multicouche quelle que soit leur microstructure [3].

II.4.2. Types des microparticules

Les microparticules synthétiques sont des systèmes colloïdaux développés principalement en vue de leur utilisation thérapeutique. Selon la nature des éléments qui les constitue et leur structure, il est possible de distinguer les liposomes, les microsphères, et les microcapsules [37,38].

II.4.2.1. Les liposomes

Ce sont de petites vésicules sphériques dont la paroi est constituée par une ou plusieurs bicouches phospholipidiques délimitant une cavité centrale contenant une phase aqueuse (voir figure 2.1). Ils sont apparus il ya quarante ans grâce aux travaux de Bengham et al. (1965) et ont été les premières à être utilisés comme vecteur des médicaments [39].

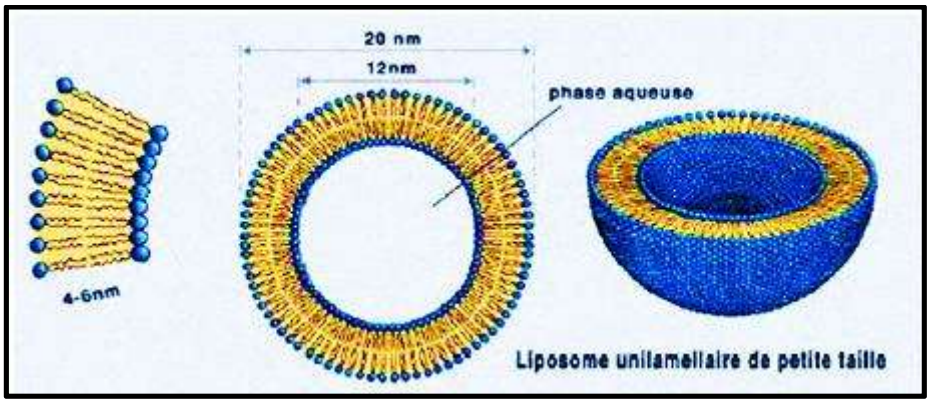


Figure 2.1. Structure d'un liposome [39]

II.4.2.2. Les microcapsules

Ce sont des structures réservoirs et sphériques. Elles sont constituées d'un coeur généralement huileux entouré par une mince paroi de polymère dont l'épaisseur n'excède pas quelques nanomètres (Figure 2.2). Le principe actif est généralement dissout dans le coeur huileux mais peut aussi être adsorbé à la surface des microcapsules. Dans cette géométrie les taux encapsulation peuvent être particulièrement élevés et atteindre entre 85et 90% de masse de matière active par rapport à la masse de microparticule [40].Chaque microcapsule constitue un système réservoir proprement dit.

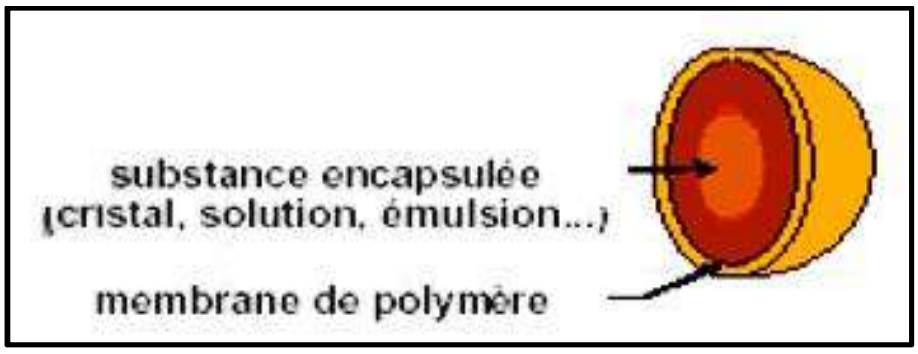


Figure 2.2. Représentation schématique d'une microcapsule (système réservoir)

II.4.2.3. Les microsphères

Ce sont des structures matricielles, de forme sphérique, constituées de polymères de préférence biodégradables. Les premières microsphères ont été développées par Birrenbach et speider (1976) en utilisant le polyacrylamide réticulé, un polymère non biodégradable [41]. Dans le cas de microsphères, le principe actif est soit incorporé à l'intérieur du réseau polymère durant la formation des microsphères (figure 2.3), soit adsorbé à leur surface par l'intermédiaire de liaisons de type hydrophobe, électrostatique ou covalente. Il est libéré par simple diffusion ou à la suite de la biodégradation du polymère dans l'organisme. Dans ce

cas, les teneurs en matière active sont moindres, de l'ordre de 20 à 35% mais parfois ce taux peut atteindre 50% [40].

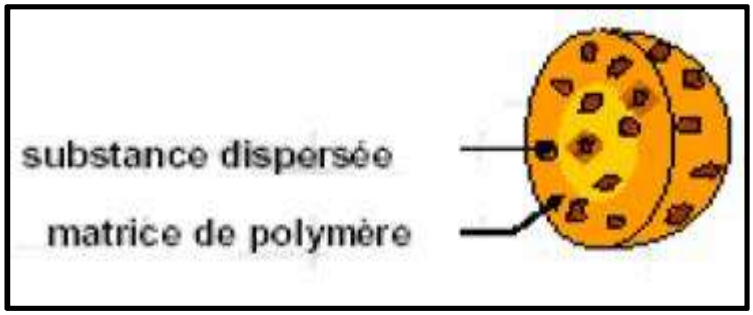


Figure 2.3. Représentation schématique d'une microsphère

II.4.3. Modes d'action des microparticules

Les microparticules contiennent de manière très variable entre 1 et 90% en masse de matière active. Les taux d'encapsulation sont généralement plus élevés au sein des réservoirs formés par les microcapsules [41].

Différents facteurs physicochimiques tels que la charge électrique de surface, la mouillabilité, la porosité et le degré de gonflement des microparticules, ainsi que la nature des polymères utilisés (caractérisés par analyse calorimétrique différentielle ou chromatographie d'exclusion stérique) peuvent influencer la libération du principe actif encapsulé [41].

L'état physique du principe actif est également un facteur à connaître. En effet, une dispersion moléculaire de la matière active encapsulée ne se libérera pas de la même manière que des cristaux et n'aura pas non plus la même stabilité au sein du système [41].

Certaines particules fabriquées pour l'encapsulation de cellules, d'enzymes ou de bactéries sont destinées à garder leur contenu. D'autres doivent le libérer de manière brutale. Dans ce cas, la membrane doit être étanche et la libération se fera par éclatement ou fusion de la particule sous les effets respectifs de la pression ou de la température [41].

Lorsque la libération du principe actif doit être prolongée, deux mécanismes principaux existent et peuvent cohabiter : diffusion passive et dégradation ou dissolution du matériau enrobant. Les cinétiques de libération obtenues par diffusion passive pour des microcapsules suivent logiquement les lois de Fick et sont généralement d'ordre 0 ou 1[41].

Dans ce dernier cas, la vitesse initiale de libération peut être soit accélérée, si une grande concentration du principe actif se trouve à la surface de la particule, soit retardée si au

contraire, un temps minimum est nécessaire pour que le principe actif imprègne la membrane de la microcapsule, étape indispensable à sa libération dans le milieu extérieur [41].

II.4.4. Caractéristiques générales des microparticules

Sur le plan physicochimique, un certain nombre de facteurs 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…etc. [42].

Pour les microcapsules l'épaisseur de la membrane peut également être déterminée. Dans le cas des microsphères, l'état physique de la matière active dispersée dans une matrice polymère ou lipidique est important à déterminer, car il peut influer sur sa cinétique de libération ou encore sur sastabilité au sein du système [42].

La production de microparticules s'accompagne fréquemment d'une certaine polydispersité en taille. Seules les techniques basées sur la formation de gouttelettes ou sur la polymérisation en milieu dispersé permettent l'obtention de microparticules proches de la monodispersité. La taille moyenne et la distribution granulométrique sont en relation directe avec la surface spécifique des microparticules, ces paramètres vont influer sur des propriétés telles que la libération de la matière active dans le milieu environnant [42].

La teneur en matière active (ou taux d'encapsulation) peut être très élevée dans les microcapsules, de l'ordre de 85 à 90 ٪, au contraires les teneurs habituellement rencontrées dans les microsphères sont plus faibles de l'ordre de 20 à 35 ٪, même si, dans certains cas, on peut atteindre des teneurs de 50 ٪ [42].

En termes de contenance, le système microcapsule est bien sûr beaucoup plus intéressant que la microsphère .Lorsque l'on considère les interactions matière active/milieu extérieure, les microparticules peuvent être classés en deux catégories :

- Celles qui ne doivent pas libérer leur contenu telles que les « les microsphères » contenant des enzymes ou des bactéries,
- Celles qui sont formulées de façon à libérer la matière active encapsulée.

Dans ce dernier cas, il faut distinguer les systèmes à libération déclenchée et des systèmes à libération prolongée [42].

II.5. Nature des matériaux enrobant

Les polymères formant le matériau enrobant peuvent être d'origine naturelle (gélatine, chitosane, pectine, alginate de sodium, agarose…), hémi-synthétiques (dérivés de la

cellulose…) ou synthétique comme les copolymères des acides lactique et glycolique couramment utilisés [41,42].

Selon le domaine d'application des microparticules, des propriétés de biocompatibilité et/ou de biodégradabilité seront requises. Les lipides (acides gras, alcools gras, glycérides, cholestérol…) seront plutôt utilisés sous forme solide, de même que les cires naturelles ou minérales. L'ensemble des composés va intervenir dans le profil de libération de la matière active.

II.6. Techniques de microencapsulation

La microencapsulation, comme son nom l'indique, peut impliquer la formation de microcapsules, qui sont des sphères creuses remplies de liquide et dont la membrane est solide, cependant, cette technique peut aussi consister en la formation de microsphères, qui possèdent un coeur et une membrane solides, de liposomes, qui ont une membrane et un cœur liquide, ou de niosomes, qui sont similaires aux liposomes mais avec une membrane de nature synthétique [43].

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

1. L'inclusion du produit, la dispersion de la matrice et la stabilisation du produit de microencapsulation [44]. L'inclusion du produit à l'intérieur de la matrice consiste à diluer, disperser, agglomérer ou adsorber la substance à encapsuler dans un autre composant, sauf quand la substance à encapsuler doit être à l'état pur [45].

2. La dispersion ou pulvérisation de la matrice sert à donner la taille et à séparer les particules qui formeront les microcapsules. Cette étape consiste en général en une séparation des phases liquide/liquide, liquide/air, solide/air, solide/liquide. La dispersion peut être réalisée par nébulisation ou atomisation, ce qui consiste à asperger le produit, ou par émulsification, qui consiste généralement à produire une dispersion

en régime turbulent et « prilling », qui est la formation de gouttes à l'aide d'une aiguille ou d'un injecteur [46 ,47].

3. La stabilisation de la matrice dispersée ou pulvérisée vise la séparation des produits de microencapsulation (particules) pendant une période de temps appréciable pendant la quelle aucune énergie externe n'est appliquée afin de maintenir la séparation; cette stabilisation est réalisée par des processus tels que la gélatinisation, la coacervation ,l'émulsification, l'évaporation, la coalescence, la polymérisation, la polycondensation ,la congélation, la vitrification, la cristallisation, la solidification ou l'extraction de solvant [45 ,47].

La microencapsulation est donc le résultat de la combinaison de ces trois étapes .Le choix des techniques dépend de la nature de la matière première à encapsuler et des contraintes du produit final [45].

II.7. Procédés de microencapsulation

Il existe de nombreuses méthodes d'encapsulation [46]. Pour produire des microparticules qui se différencient les unes des autres par des détails comme la solubilité du polymère formant la paroi, la taille des particules, l'épaisseur et la perméabilité de la paroi et les propriétés physiques.

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

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

II.7.1. Procèdes physico-chimiques

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

II.7.1.1. Coacervation

La coacervation consiste à provoquer la précipitation d'un polymère ou de plusieurs polymères par séparation de phase .On parle alors respectivement de coacervation simple ou complexe .La coacervation peut être provoquée par un changement des conditions physicochimiques (pH, salinité …) ,par l'addition d'un non-solvant ou d'un polymère incompatible , ou encore par la mise en contact de polymère de charges opposées .Elle peut être réalisée par exemple à partir d'une émulsion d'huile dans une solution aqueuse de

polymères (un mélange de gélatine/gomme d'acacia par exemple), suivie d'une précipitation des coacervat (par acidification) à la surface des gouttelettes d'huile[45].

a. ***Coacervation Complexe :*** La formation de complexes est possible dans un système aqueux ayant deux polymères hydrophiles de charges opposées [48]. Le procédé de formation de complexes peut être résumé comme suivant.

- Un premier biopolymère (généralement une protéine) est dissout dans l'eau,
- Le principe actif est mélangé à la solution de biopolymère,
- L'ajout d'un deuxième biopolymère de charge opposé entraîne la neutralisation des charges du premier biopolymère et les complexes se forment.
- La formation de complexes diminue la solubilité des biopolymères dans l'eau, entraînant une séparation de phases avec une phase riche en complexes de biopolymères contenant l'ingrédient actif et une autre phase presque dépourvue de biopolymère mais riche en solvant [51].Ce sont ces complexes qui forment la paroi des microcapsules après isolement.

Il faut rappeler que cette formation de coacervat est influencée par plusieurs conditions dont [50]:

- le pH ;
- la force ionique ;
- la concentration des polymères totaux ;
- la composition des polymères ;
- le rapport des deux polymères ;

b. ***Coacervation simple :*** Une coacervation simple (figure 2.4) peut se former avec un seul type de biopolymère dans un solvant où le polymère n'est pas soluble ou par addition d'un composé (sels et alcools) ayant une affinité plus élevée pour l'eau [48].

De cette manière, ce composé entre en compétition avec le polymère en question. Lors que les polymères perdent la couche d'eau associée à leurs chaînes, il y a formation de coacervat entre les différentes chaînes [51, 52].

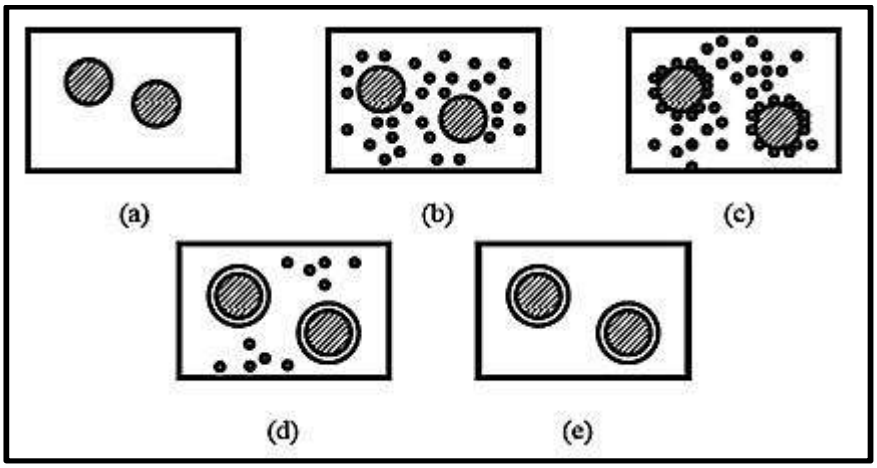


Figure 2.4. Principe de la coacervation simple :dispersion du principe actif dans la solution de polymère (a), formation des gouttelettes de coacervat (b), dépôt du coacervat (c), Fusion des gouttelettes de coacervat et formation d'un enrobage continu (d), Solidification de l'enveloppe(e) [42].

II.7.1.2.Emulsion et évaporation-extraction de solvant

Ce procédé est basé sur l'évaporation de la phase interne d'une émulsion donnant lieu à la précipitation du polymère d'enrobage préalablement dissous dans cette phase, sous forme de microsphères. Les polymères généralement hydrophobes sont tout d'abord dissous dans un solvant organique peu miscible avec l'eau comme le dichlorométhane. Puis, le principe actif est dissous ou dispersé dans la solution de polymère.

Le mélange est émulsifié dans un grand volume d'eau contenant des tensioactifs tels que l'alcool polyvinylique, afin d'obtenir une émulsion huile-dans-eau. L'évaporation du solvant après diffusion progressive dans la phase continue est réalisée sous pression atmosphérique ou pression réduite et sous agitation lente (Figure 2.5).

Cette technique est à déconseiller si le principe actif est volatil ou possède une grande affinité pour la phase continue aqueuse.

L'extraction consiste, elle, à transférer l'émulsion dans un grand volume d'eau contenant ou non des sur factifs et permettant la diffusion rapide du solvant.

Après élimination du solvant, les particules sont lavées, collectées par filtration ou centrifugation puis séchées ou lyophilisées.

Le procédé choisi ainsi que sa vitesse de réalisation vont influencer les caractéristiques des microsphères obtenues. Une extraction de solvant, plus rapide que l'évaporation, peut par exemple, entraîner la formation de microsphères poreuses [53].

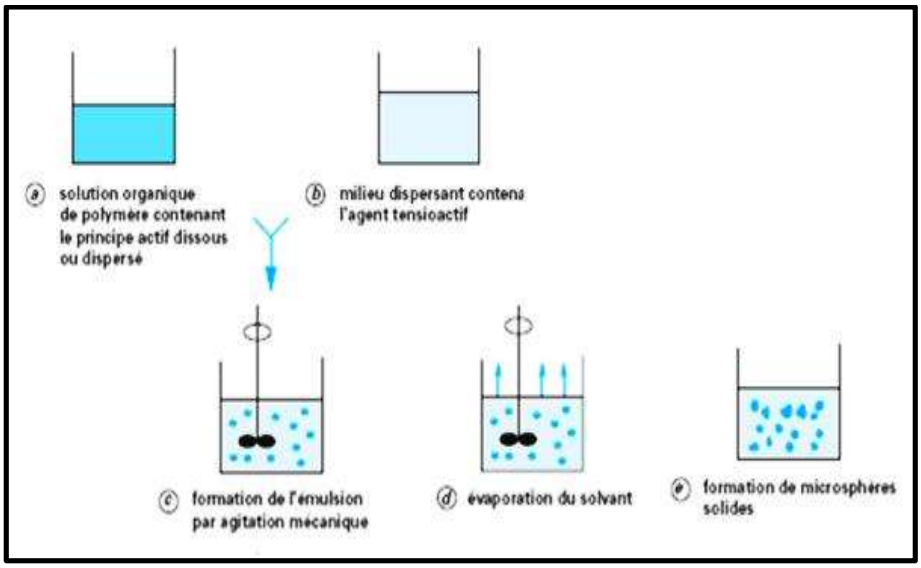


Figure 2.5. Schéma du principe de microencapsulation par évaporation de solvant**[40]**

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

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

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

Le solvant organique est évaporé ou extrait comme précédemment décrit et les microsphères, lavées, collectées et séchées ou lyophilisées.

Cette méthode dite de double émulsion permet d'obtenir de très forts rendements d'encapsulation de molécules hydrophiles telles que les protéines, par exemple. Elle nécessite cependant un contrôle strict, à toutes les étapes, de la température et de la viscosité de l'émulsion interne et n'est appropriée que pour de faibles quantités de matière active à encapsuler [42].

II.7.1.3. Microencapsulation par gélification de gouttes : Gélification thermique « HOT MELT »

Le principe de ce procédé consiste à dissoudre ou disperser la matière active à encapsuler dans le matériau d'enrobage en fusion puis à émulsionner l'ensemble dans une phase dispersante à une température supérieure à la température de fusion du matériau enrobant (Figure 2.6). On utilise en général, pour le matériau d'enrobage, des lipides de bas point de fusion (cire de Carnauba, alcool cétylique…).Le milieu est ensuite refroidi brutalement afin de solidifier les particules obtenues. Ce procédé permet la microencapsulation de molécules hydrophiles et lipophiles si l'on choisit une phase dispersante pour laquelle ces molécules ont peu d'affinité (huile de silicone et eau respectivement). Une technique similaire consiste à utiliser des polymères hydrophiles capables de former des gels lors du refroidissement(gélatine, agarose…) [42].

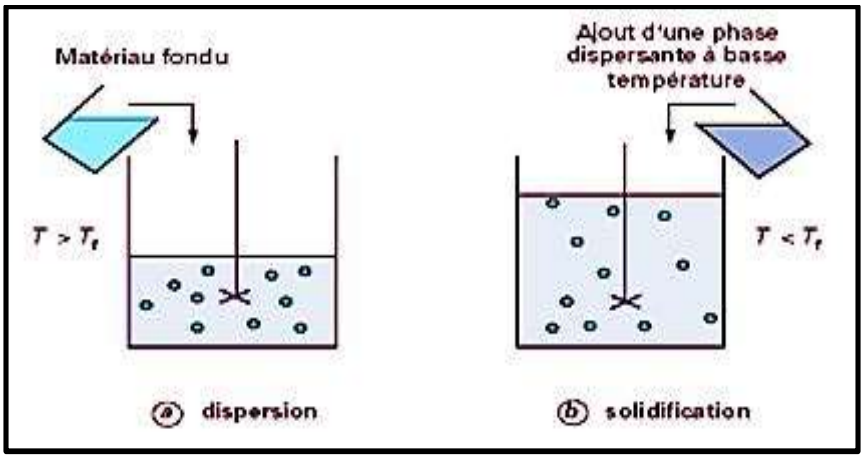


Figure 2.6. Schéma de principe du procédé d'encapsulation par gélification thermique **[40]**

II.7.2.Procédés chimiques

II.7.2.1. Polycondensation interfaciale

Ce procédé qui appartient aux procédés chimiques d'encapsulation consiste à faire réagir deux monomères, l'un dans la phase dispersée, l'autre dans la phase dispersante, afin d'obtenir une membrane de polymère à la surface des gouttelettes formées. Dans le cas d'un principe actif lipophile, la première étape consiste à préparer une solution contenant cette molécule et un premier monomère dans un solvant organique puis de former une émulsion de cette phase organique dans une phase aqueuse contenant un tensioactif.

On ajoute ensuite dans cette phase aqueuse, le second monomère hydrosoluble afin d'induire la réaction des deux monomères à l'interface huile/eau où ils auront diffusé (figure 2.7). Les monomères les plus couramment utilisés dans ce cas sont des chlorures d'acide ou des disocyanates couplés à des diamines conduisant respectivement à des membranes de polyamide ou de polyurée.

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

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

La formation et les caractéristiques de la membrane vont dépendre, elles aussi, de la nature et de la concentration en monomères, tensioactifs et solvants [42].

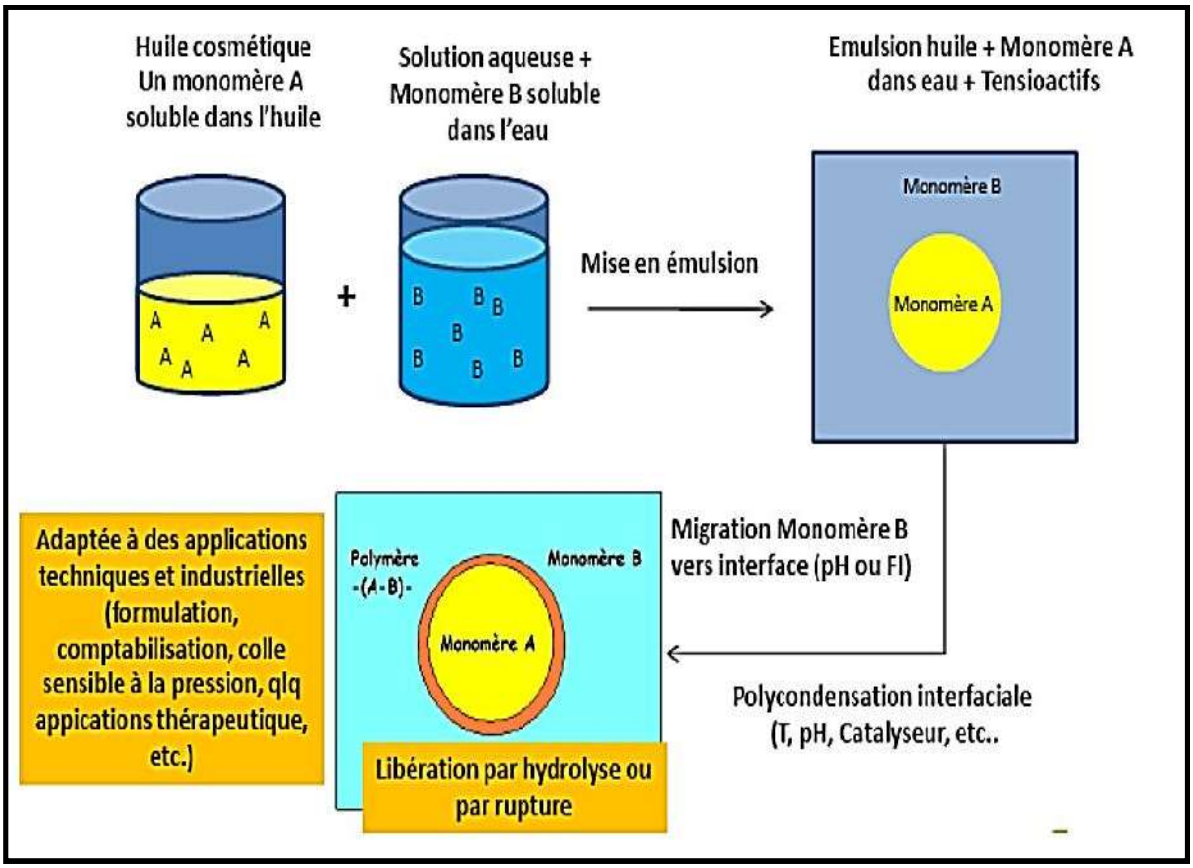


Figure2.7. Procédé d'encapsulation par polycondensation interfaciale

II.7.2.2. Polymérisation en milieu dispersé

Ces procédés permettent la formation de microparticules à partir de monomères synthétiques du type acrylique, vinylique ou cyanoacrylate d'alkyle. Ils mettent en jeu une phase de formation des particules appelée nucléation suivie d'une phase de croissance donnant lieu à des particules de type matriciel [42].

Deux mécanismes principaux sont à distinguer :

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

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

La technique de polymérisation en dispersion conduit à des particules de diamètre nettement supérieur à celui des particules obtenues par polymérisation en émulsion (respectivement 1 à 15 µm et 100 nm à5µm) [42].

Les autres procédés chimiques de microencapsulation sont des procédés basés sur la polymérisation radicalaire ou anionique en milieu dispersé. Il s'agit des procédés de polymérisation en [40] :

- Emulsion
- Microsuspension
- Dispersion
- Miniemulsion
- Microémulsion

II.7.3. Procédés mécaniques

II.7.3.1.Enrobage en lit d'air fluidisé : « spray-coating »

La première étape de cette technique de microencapsulation consiste à fluidiser une poudre des particules de principe actif (granulés, cristaux…) dans une colonne placée sous un courant d'air ascendant (chambre cylindrique verticale).

Cette fluidisation permet d'assurer un mélange constant des particules avec un transfert de chaleur optimal entre l'air et la surface des particules. Puis, une buse de pulvérisation placée au sommet ou à la base de la suspension fluide permet de disperser, sous forme de fines gouttelettes, le matériau enrobant à la surface des particules. Un enrobage continu et homogène s'obtient suite à des passages successifs et cycliques des particules dans la zone de pulvérisation et dans la zone d'expansion où a lieu le séchage.

La formation du film d'enrobage s'effectue au contact des particules après des étapes successives de mouillage, étalement puis séchage par évaporation du solvant contenant les gouttelettes de matériau enrobant. Celui-ci est constitué en général de solutions organiques ou dispersions aqueuses de polymères (dérivés cellulosiques ou acryliques) qui peuvent contenir des plastifiants afin de favoriser la formation du film d'enrobage à la température de séchage ainsi que des additifs (anti-mottant, lubrifiants…). Des corps gras ou des cires peuvent également être utilisés.

L'obtention d'un bon enrobage va dépendre à la fois des paramètres de pulvérisation(concentration de la formulation, débit, taille des gouttelettes) et des paramètres de séchage(volume d'air de fluidisation, température de l'air, degré d'humidité).

L'épaisseur des films d'enrobage déposés sur les particules est généralement comprise entre quelques micromètres et 20 μm et doit être suffisante pour masquer les défauts de surface [42].

II.7.3.2.Nébulisation-séchage « spray-drying »

La technique d'encapsulation par atomisation est la technique la plus utilisée dans l'industrie alimentaire [50,53].Grâce à ses nombreux avantages. Cette technique a été utilisée pour l'encapsulation des flaveurs pour la première fois dans les années trente avec de la gomme d'acacia comme matrice protectrice [50].

Cette technique comporte d'abord une étape de préparation de la dispersion d'ingrédients actifs dans une solution de biopolymères protecteurs qui peuvent être de la maltodextrine, de l'amidon modifié, une gomme, ou une combinaison de biopolymères[54] .Ensuite, la dispersion est homogénéisée pour réduire la taille des particules, puis séchée par atomisation dans une chambre à air chaud soufflé[54].

La taille moyenne des microparticules obtenues par nébulisation-séchage est typiquement comprise entre environ 01μm et 200μm et le taux d'encapsulation est limité à environ 40٪.Les microparticules sont des microsphères, avec une forme sphérique quelque

fois perturbée par la présence de défauts ou déformations tels que des caractères ou des structures spongieuses [40].

II.7.3.3. Gélification des gouttes

Cette technique est basée sur la formulation d'une solution, dispersion ou émulsion de matière active dans une solution aqueuse de polymères capables de former des gels sous une action extérieure, physique ou chimique [40]. Dans le cas de l'alginate de sodium, les gouttelettes formées par extrusion à travers une buse vibrante, sont réceptionnées dans une phase aqueuse gélifiante contenant du chlorure de calcium [40].Elles se transforment instantanément en des microparticules de gel sphérique (figure 2.8).

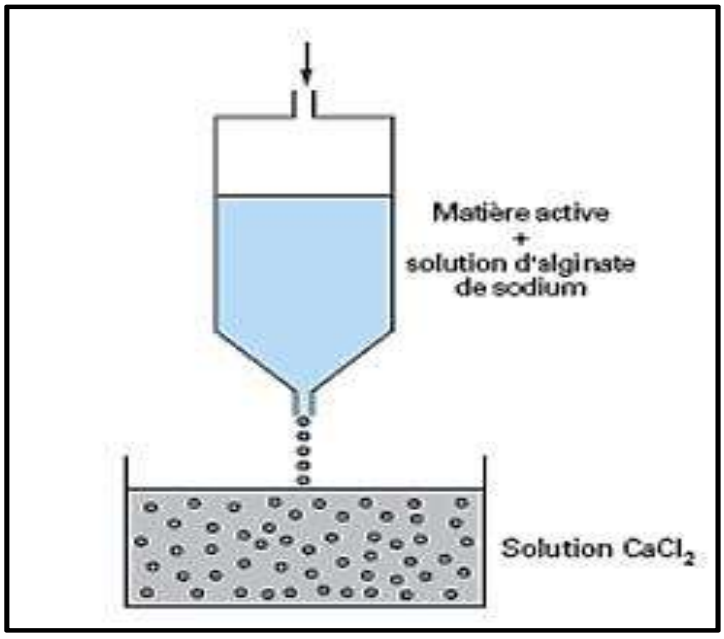


Figure 2.8.Gélification de gouttes schéma de principe [40]

II.7.3.4. Congélation des gouttes

Cette technique consiste à préparer un fond d'un matériau enrobant, généralement un corps dont le point de fusion est compris entre 50 et 120°C, dans lequel la matière active est solubilisée ou dispersée soit sous forme particulière solide, soit sous forme de microgouttelettes d'émulsion inverse E/H**[40]**. Cette préparation fondue et maintenue à une température supérieure à la température de fusion du matériau enrobant et extrudée sous pression à travers une buse vibrante. Le jet fondu est sectionné sous forme de gouttelettes sphériques de taille uniforme **[40]**.Ces gouttelettes se refroidissent dans le milieu de chute (air froid, azote…) (figure 2.9)**.**

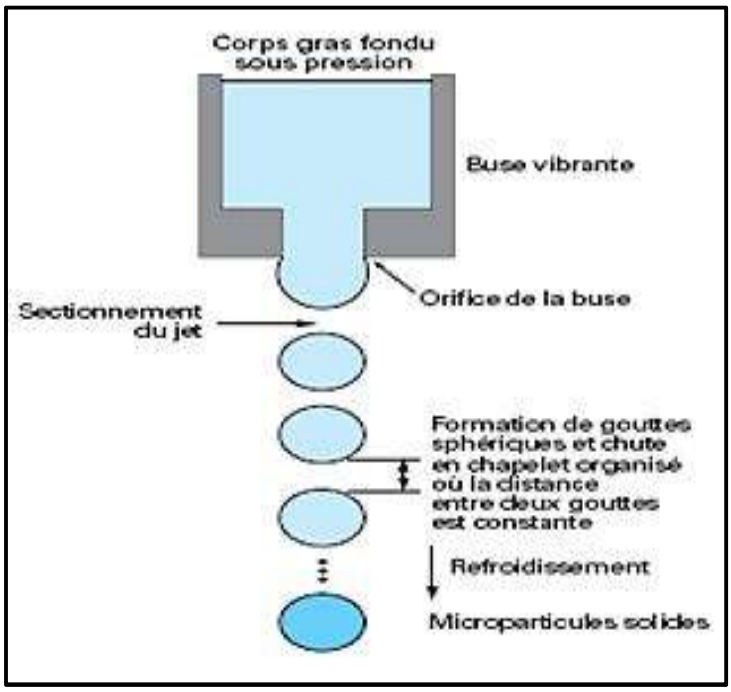


Figure 2.9. Congélation de gouttes : schéma de principe **[40]**

II.8. Mécanisme de libération des principes actifs

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

1. Libération par diffusion,
2. Libération par gonflement suivi d'une diffusion,
3. Libération par dégradation.

II.8.1. La libération par diffusion

La diffusion se produit quand un principe actif traverse le polymère qui forme le système de libération. La diffusion peut produire à l'échelle macroscopique à travers les pores dans la matrice ou à l'échelle moléculaire par le passage entre les chaines de polymères [55].

Les exemples de systèmes de libération par diffusion sont montrés dans la figure 2.10. Un polymère et un principe actif ont été mélangés pour former un système homogène, également désigné sous le nom d'un système matriciel [55]. La diffusion se produit quand le principe actif passe de la matrice de polymère dans l'environnement externe [55]. Comme le dégagement est continu, le taux diminue avec ce type de système puisque le principe actif a progressivement une distance plus longue à traverser et c'est pourquoi il a besoin d'un temps de diffusion plus long pour être libéré [55].

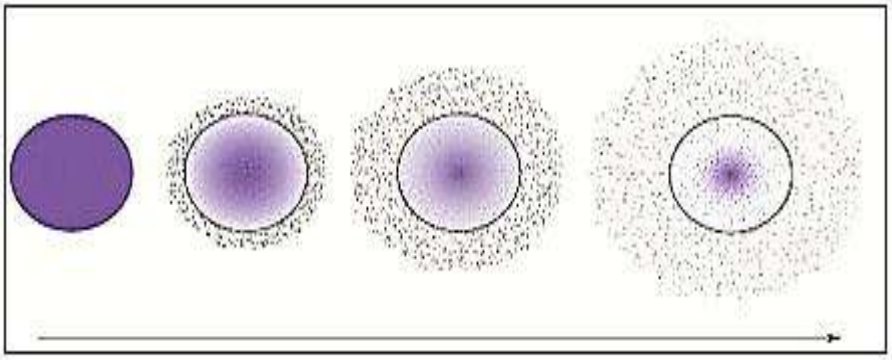


Figure 2.10. Libération par diffusion [55]

II.8.2. Libération par gonflement suivi d'une diffusion

Il est également possible qu'un système de libération soit conçu de sorte qu'il soit incapable de libérer son agent jusqu'à ce qu'il soit placé dans un environnement biologique approprié [55].

Les systèmes de libération contrôlée par gonflement sont initialement secs et quand ils sont placés dans le corps, ils absorberont l'eau ou autre fluides du corps et gonfleront. Ces systèmes permettent la diffusion du principe actif à travers le réseau gonflé dans l'environnement externe [55].

Les exemples de ces systèmes sont (figure 2.11) :

a. Les systèmes réservoir

b. Les systèmes matriciels

La plupart des matières utilisées pour ces systèmes sont les hydrogels qui absorbent de l'eau ou autres fluides sans être dissous [55].

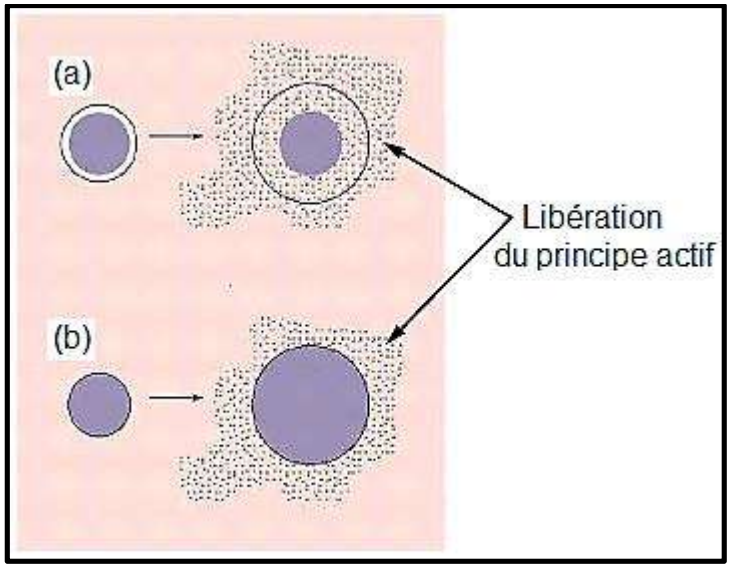


Figure 2.11. Libération du principe actif à partir des systèmes à gonflement contrôlé : (a) système réservoir, (b)système matriciel [57]

II.8.3. Libération par dégradation

La plupart des polymères biodégradables se dégradent par hydrolyse en composés de taille de plus en plus faible biologiquement éliminable. Dans certains cas les produits de la dégradation entrent dans un processus métabolique [55].

La dégradation peut s'effectuer selon deux phénomènes [55]:

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

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

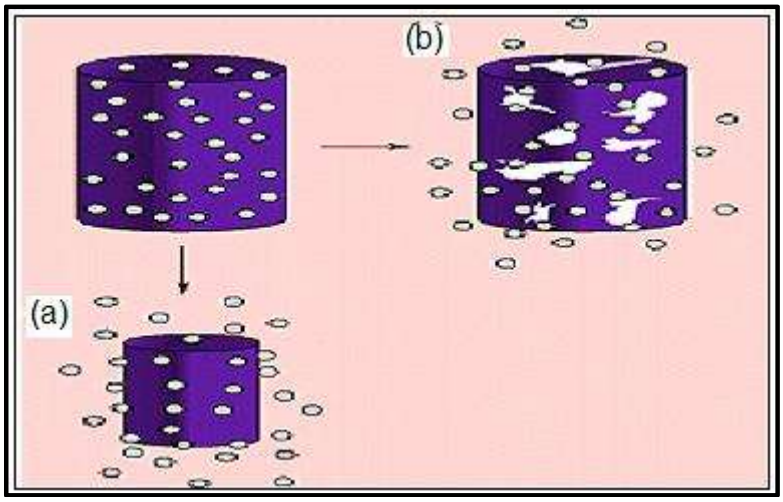


Figure 2.12. Libération par dégradation :
(a) hydrolyse en masse, (b) dégradation en surface [55]

II.8.4. Paramètres influençant la libération d'un PA

Il est à noter que les principaux paramètres influençant la libération d'un PA encapsulé sont [56]:

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

II.8.5. Profils de libération de différents types de microparticules

La diffusion du PA selon les modes de la cinétique de libération obéit à différentes allures (figure 2.13)[40].

- **Profils A et D :**À partir des microcapsules, on peut obtenir des cinétiques de libération d'ordre 0(profils A) ou d'ordre 1 (profils D), en fonction de la solubilité dans l'eau de la matière active.
- **Profil B** : Les cinétiques d'ordre 0 peuvent être modifiées dans leur phase initiale: soit la vitesse de libération est exagérément marquée en raison de la présence d'un excès de matière active dans la membrane (Effet de Burst).
- **Profil C** : À partir des microcapsules, on peut obtenir un temps de latence qui précède la libération, temps nécessaire par exemple pour que le principe actif diffuse à travers la membrane, avant d'atteindre le milieu extérieur.
- **Profil E** : À partir de microsphères, la cinétique obéit à la loi d'HIGUCHI.

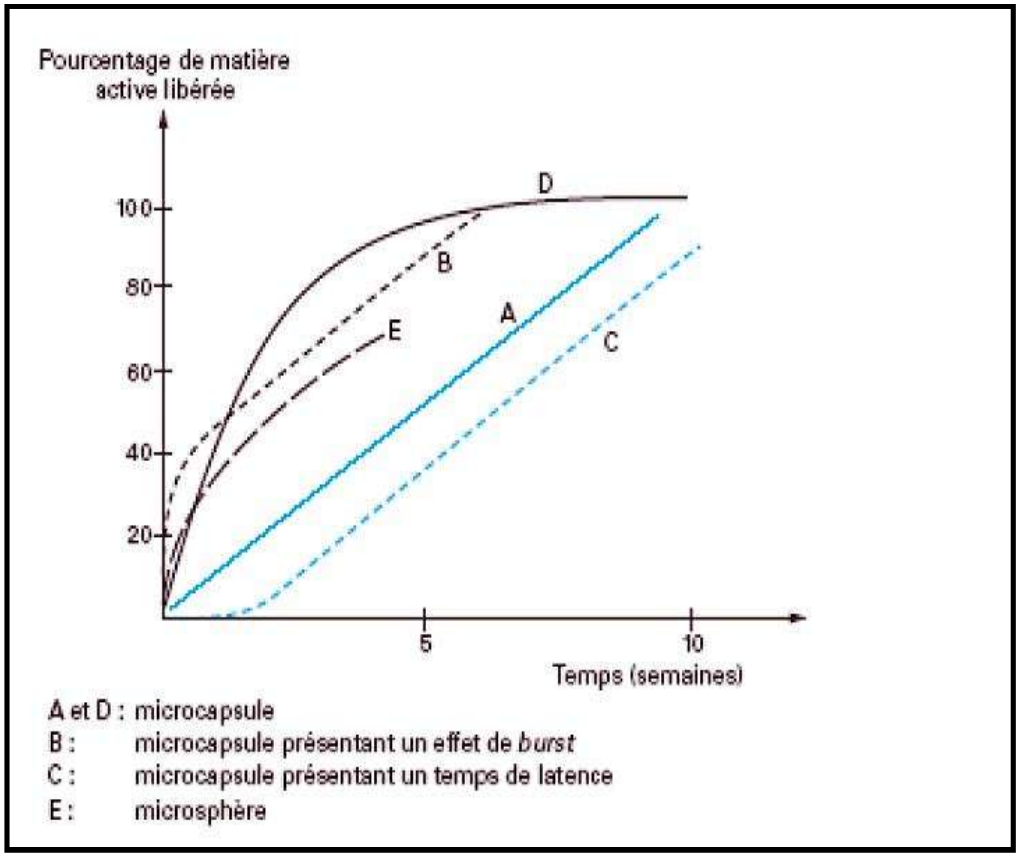


Figure 2.13. Profils de libération obtenus à partir de différents types de microparticules [40]

II.9. Domaines d'application des microparticules

Les microparticules présentent un très large champ d'applications puisqu'il va du domaine pharmaceutique au domaine alimentaire en passant par la cosmétique, la parfumerie, les produits phytosanitaires, la chimie, le domaine biomédical, etc… [57].

Une des premières applications de la microencapsulation a été le papier autocopiant sans carbone à base de microcapsules d'encre sensibles à la pression [57].Depuis les années 80, la communication olfactive s'est développée sous forme d'encarts parfumés dans les magazines pour faire connaître un parfum ou un adoucissant. Des encres contenant des microcapsules enferment le parfum et le libèrent au moment opportun [57].

Récemment, le domaine du textile utilise les microparticules pour parfumer les tissus ou déposer sur la peau des actifs cosmétiques [57].D'autres applications sont à l'étude comme les répulsifs pour insectes, les colorants, les vitamines, les antimicrobiens ou encore les cristaux liquides. Dans le domaine pharmaceutique, certaines stratégies de délivrance sur site telles que la chimio-embolisation ou l'implantation intracrânienne sont spécifiques aux microparticules [57].

II.10. Conclusion

L'encapsulation a donné naissance ces dernières années a de nombreux produits commerciaux. C'est une technologie très largement utilisée dans l'industrie. Le développement de méthodes d'encapsulation donne naissance à des structures innovantes permettant d'isoler, de protéger et de structurer des substances.

De manière générale, l'encapsulation peut être définie comme le piégeage d'un ou plusieurs objets au sein d'un matériau en vue de son immobilisation, sa protection, le contrôle de son transfert, sa structuration et sa fonctionnalisation. L'encapsulation peut concerner une grande variété de systèmes, allant de molécules simples à des structures plus complexes comme des cellules. Au sein des microcapsules, les composés peuvent être sous forme d'une solution, d'une suspension ou d'une émulsion.

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

Chapitre III :
Etude expérimentale

Les taux d'encapsulation du DS varient entre 58.67% et 82.32%, selon les différentes formules étudiées. Ce taux augmente avec l'augmentation de la concentration en ALG formant les capsules étudiées atteignant un maximum à des concentrations de 2% en ALG (F4).

L'augmentation de la concentration du biopolymère entraine une réticulation plus importante de ce dernier par les ions Ca^{+2}qui induit un durcissement plus rapide des capsules empêchant le principe actif d'être expulser vers le milieu extérieur.

Les faibles concentrations en ALG conduisent à la formation de capsules dont la membrane est beaucoup plus fine et donc la présence de pores à la surface permettent la libération précoce du DS et donc un taux d'encapsulation plus faible.

L'étude a montré également des taux de gonflement plus importants lorsque la concentration en ALG augmente dans les capsules dans les deux milieux étudiés. A pH1.2, ce taux atteint un maximum de 427%, et 789% à pH7.4 à des concentrations en ALG de 2.0% (F4),

La concentration d'ALG dans les capsules influence également la cinétique de libération du DS. En effet, en augmentant la concentration du biopolymère dans les capsules, la cinétique de libération du DS est très faible dans le milieu pH1.2, avec des taux plus important pour la formule F1 (0.5 d'ALG%) d'une valeur de 32.76% en 2.0 heures alors que ce taux diminue en augmentant la concentration en ALG.

A pH7.4, la cinétique de libération du principe actif est plus prolongée dans le temps avec des taux de libération maximum de 99.56% au bout de 8.0 heures trouvé dans la formule F4 (2.0 % d'ALG).

Les profils de dissolution avec une libération prolongée du DS peuvent être attribué à la l'augmentation de la concentration en ALG, mais également à l''ionisation du biopolymère dans le milieu pH7.4 induisant une réticulation des chaines d'ALG avec une libération complète du DS progressivement dans le temps.

Ces résultats indiquent qu'avec l'augmentation de la concentration en biopolymère, la matrice hydrophile formant les capsules d'ALG est plus résistante à la libération du DS.

On remarque que le DS est libérée de façon plus lente en augmentant la concentration du biopolymère dans les capsules.

Une libération prolongée de DS peut être attribué à la différence de concentration en ALG dans les différentes formule de capsules mais également à l''ionisation du biopolymère dans le milieu pH7.4 induisant une réticulation des chaines de l'ALG avec une libération complète du DS progressivement dans le temps [69-70].

La figure 3.20 représente la cinétique de dissolution in vitro des capsules dans le milieu pH7.4.

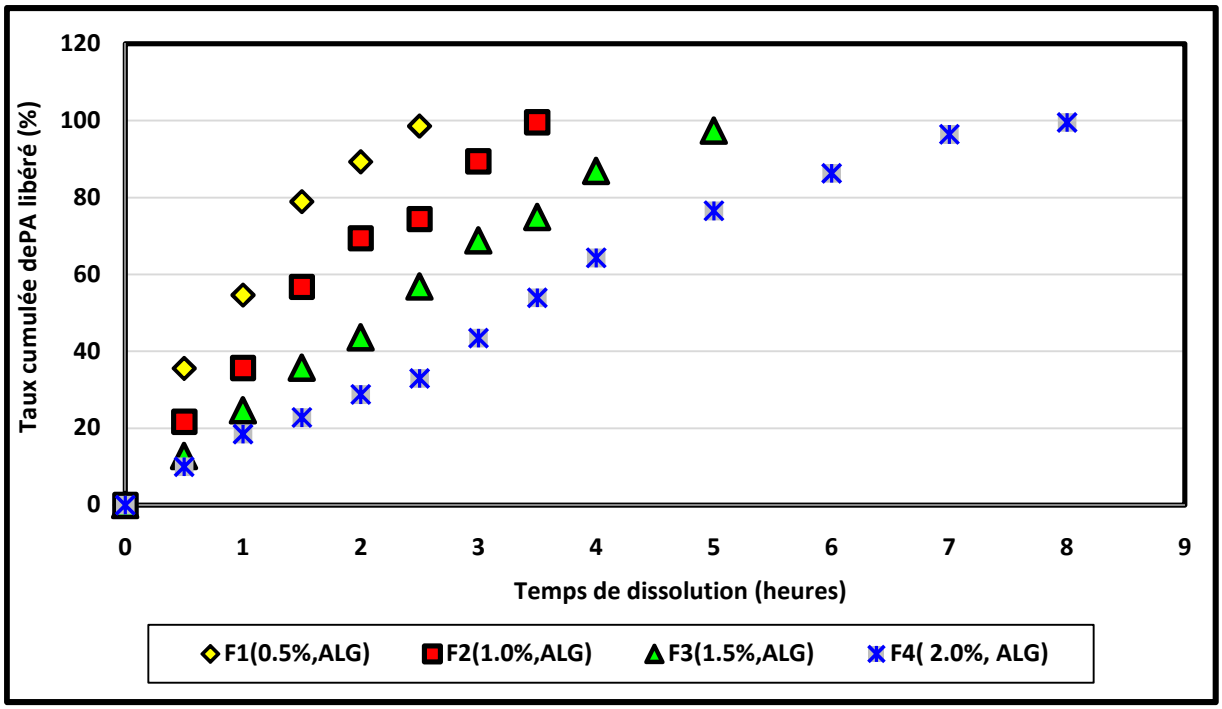


Figure 3 .20. Cinétique de dissolution in vitro des capsules dans le milieu pH7.4.

III.5. Conclusion

Lors de cette étude, une caractérisation du principe actif DS et du biopolymère ALG a été mené par différentes méthodes physicochimiques (FTIR, UV-VIS, Viscosimètre,….).

L'encapsulation du DS au sein de capsules d'ALG a été menée avec succès à l'aide de la méthode de gélification en présence d'un agent réticulent. En effet, ce travail nous a permis l'obtention de capsules de taille micrométriques qui varient en fonction de la concentration en biopolymère.

La caractérisation des capsules d'ALG a été réalisée du point de vue, taux de gonflement, taux d'encapsulation et cinétique de libération à différents milieux de dissolution.

En effet, les taux de libération du DS sont respectivement de 21.56%, 14.43%, et 10.43%, correspondant à F2 (1.0% d'ALG),F3 (1.5 %d'ALG) etF4 (2.0 % d'ALG) respectivement.

Ces résultats indiquent qu'avec l'augmentation de la concentration en biopolymère, la matrice hydrophile formant les capsules d'ALG est plus résistante à la libération du DS.

Ceci peut être attribué au nombre et au volume des pores qui sont réduits avec l'augmentation de la concentration en ALG[69].

La figure 3.19 représente la cinétique de dissolution in vitro des capsules dans le milieu pH1.2.

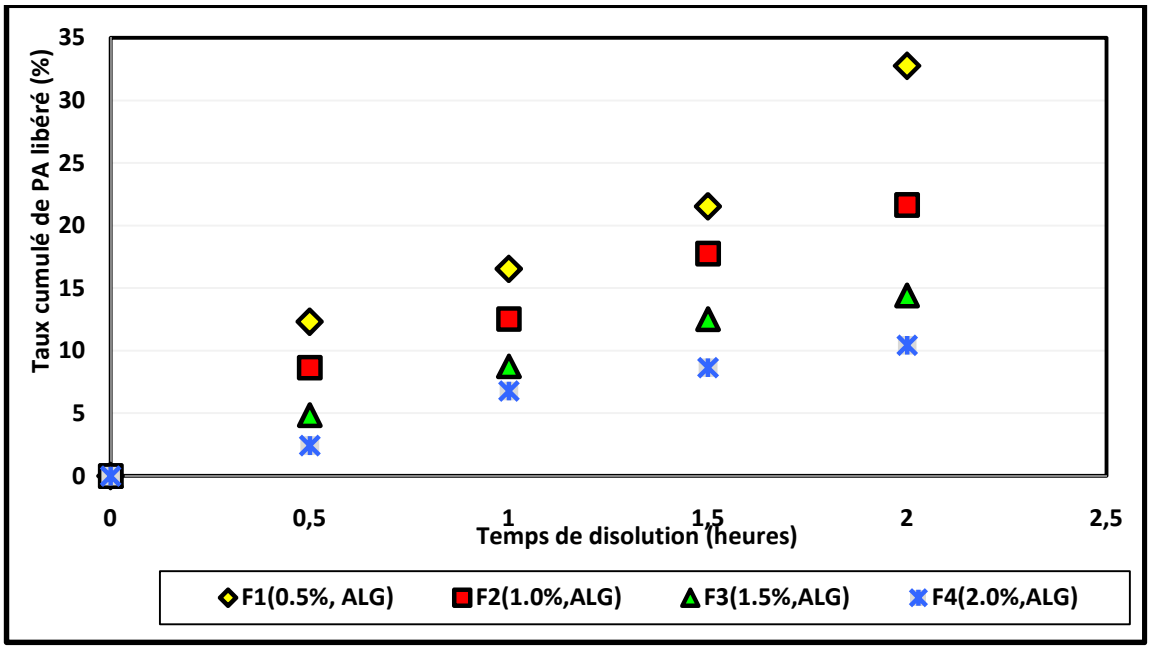


Figure 3 .19. Cinétique de dissolution in vitro des capsules dans le milieu pH1.2.

- ***Libération du DS dans le milieu pH7.4 :*** les profils de dissolution montrent une libération progressive et continue de DS en fonction du temps.

On remarque que les taux maximums de libération du DS atteignent un libération totale et complète pour toutes les formules étudiées et cela à différents temps de dissolution.

est plus important dans les formule F1 (0.5 d'ALG %) avec une valeur de 32.76% en 2.0 heures alors que ce taux diminue en augmentant la concentration en ALG.

En effet, les taux de libération du DS sont respectivement de 98.65%au bout de 2.5heures dans les formule F1 (0.5 d'ALG %), 99.65% au bout de 3.5heures dans les formule F2 (1.0% d'ALG),97.45%,au bout de 5.0heures dans les formule F3 (1.5 % d'ALG) et enfin un taux de 99.56% au bout de 8.0heures dans les formule F4 (2.0 % d'ALG).

a. Mode opératoire

- Introduire dans le récipient du test de dissolution le volume de 900ml du milieu de dissolution étudié (Solution tampon pH1.2 ou Solution tampon pH7.4).
- Equilibrez l'appareil Dissolutest à la température 37±0.5°C.
- Introduire 100mg de capsules dans le dispositif à panier muni d'agitateur.
- Mettre l'appareil en marche à 50 tr /min pendant 8heures.
- Procédez à des prélèvements de 10 ml d'échantillons à des intervalles de temps régulier
- Effectuer le dosage sur chacun des échantillons prélevés, par spectroscopie UV-VIS à 276nm [65].
- La dissolution des capsules est réalisée pendant un temps de 02 heures dans le milieu de dissolution pH1.2 (milieu gastrique), et pendant 08 heures dans le milieu de dissolution pH7.4 (milieu intestinale) [58].

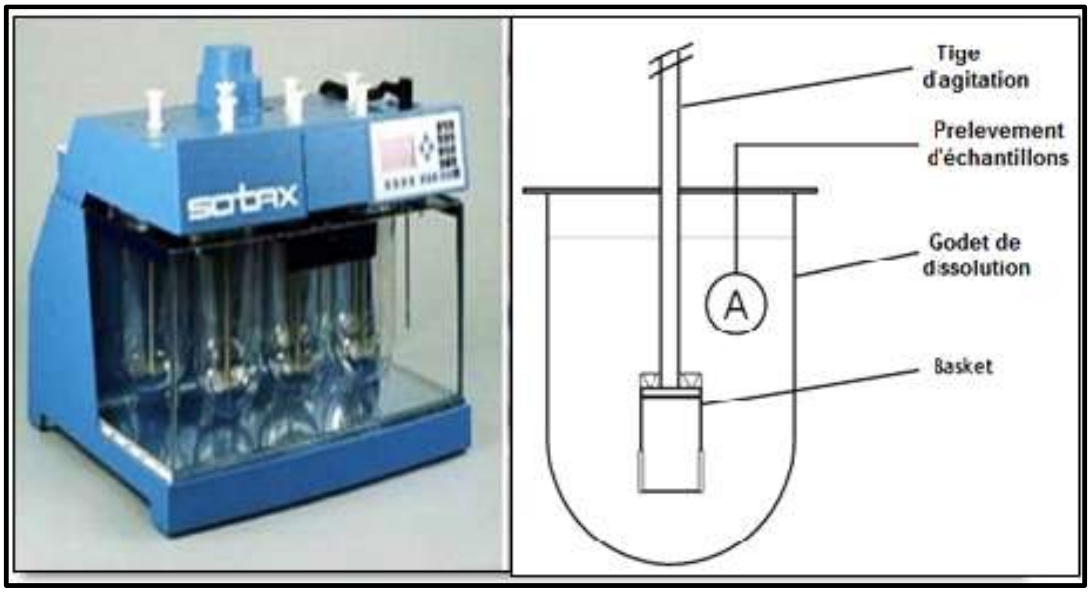


Figure 3 .18. Test de dissolution SOTAX.

b. Résultats et discussion

- ***Libération du DS dans le milieu pH1.2 :*** les profils de dissolution montrent une augmentation des taux de DS libéré en fonction du temps selon une fonction non linéaire.

On observe que les taux maximums de libération du DS est plus important dans les formule F1 (0.5 d'ALG%) avec une valeur de 32.76% en 2.0 heures alors que ce taux diminue en augmentant la concentration en ALG.

III.4.2.5. Etude de la libération du principe actif à partir des capsules

L'étude de la libération est destinée à déterminer la vitesse de dissolution des principes actifs à partir des formes pharmaceutiques répondant aux normes de la pharmacopée [68].

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

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

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

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

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

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

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

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

b. Résultats et discussion

D'après les résultats obtenus dans le tableau 3.3, on remarque que les taux d'encapsulation du DS varient entre 58.67% et 82.32%, selon les différentes formules étudiées. On remarque également que le taux d'encapsulation augmente avec l'augmentation de la concentration en ALG formant les capsules étudiées. En effet, lorsque le concentration en ALG est de 0.5% (F1), le taux d'encapsulation est de 58.67%, ce taux atteint 62.54% lorsque la concentration en ALG est de 1.0% (F2), et passe à 72.89% lorsque la concentration en ALG est de 1.5% (F3), et enfin atteint un maximum de 82.32% à des concentrations de 2% en ALG (F4).

Ceci peut être expliqué par le fait que l'augmentation de la concentration du biopolymère entraine une réticulation plus importante de ce dernier par les ions Ca^{+2} contenue dans la solution de réticulation. Ceci entraine un durcissement plus rapide des capsules empêchant le principe actif de ressortir et d'être expulser vers le milieu extérieur. Les faibles concentrations en ALG conduisent à la formation de capsules dont la membrane est beaucoup plus fine et donc la présence de pores à la surface permettent la libération précoce du DS et donc un taux d'encapsulation plus faible [67].

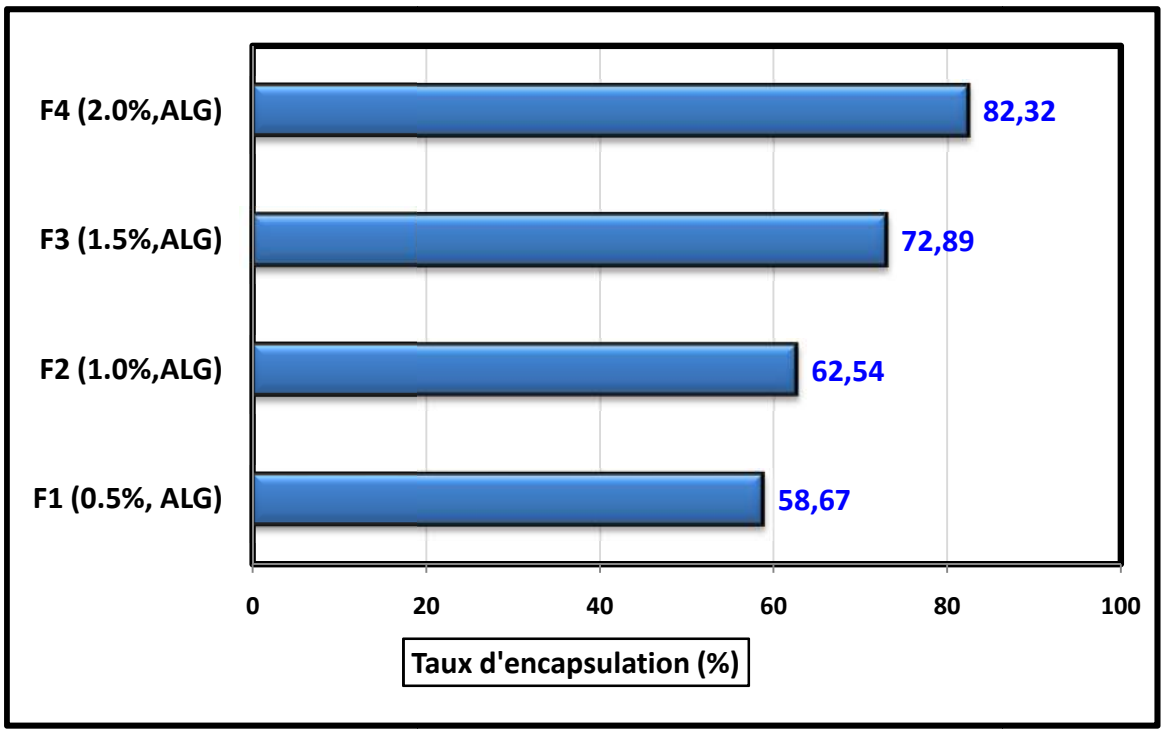


Figure 3.17. Taux d'encapsulation du principe actif (DS).

capsules et externe donc le taux de gonflement augmente considérablement, jusqu'à atteindre un état équilibre. En effet, des études ont montrées que l'ALG ayant un PKa de 3.5, est un polyélectrolyte chargé négativement présentant plusieurs formes ionisées à différent pH du milieu de dissolution. A un pH légèrement inférieur à 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 [66]. Pour des pH compris entre 3,5 et 10, les fortes répulsions électrostatiques entre groupements carboxylate tendent à écarter les chaînes les unes des autres, produisant des solutions visqueuses et stables [66]. Ces données est en accords avec les forts taux de gonflement obtenus dans le milieu pH7.4. Pour des pH supérieurs à 10, l'alginate précipite [66].

III.4.2.4. Détermination du Taux d'encapsulation

La quantité de principe actif (DS) introduite dans les capsules est calculée par dosage spectrophotométrie UV-Vis[67].

a. Mode opératoire

- Peser précisément 100mg de capsules sur une balance analytique de précision.
- Disperser les capsules dans 100ml de solution tampon pH7.4, sous agitation magnétique à 1000tr/min pendant quatre heures.
- Filtrer la solution obtenue sur filtre en papier Whatman®.
- La solution filtrée est analysée par spectrophotométrie UV-VIS à une longueur d'onde de 276nm.

Le taux d'encapsulation est calculée par la formule (3.2):

$$\textbf{Taux d'encapsulation} = \frac{\textit{Quantité de principe actif dosé après encapsulation}}{\textit{Quantité de principe actif réellement encapsulée}} \; \boldsymbol{X\ 100} \quad (\mathbf{3.2})$$

Tableau 3.7. Résultats des taux d'encapsulation.

Formule	Qté DS Encapsulé (mg)	Qté DS Après encapsulation (mg)	Taux d'encapsulation(%)
F1(0.5%, ALG)	45.54	26.72	58.67
F2(1.0%, ALG)	55.87	34.94	62.54
F3(1.5%, ALG)	64.98	47.37	72.89
F4(2.0%, ALG)	78.65	64.75	82.32

- Les taux de gonflement sont plus importants dans le milieu pH7.4par rapport au milieu pH1.2, pour toutes les formules étudiées.
- Les taux de gonflement sont plus importants lorsque la concentration en ALG augmente dans les capsules dans les deux milieux étudiés.
- Les taux de gonflement des capsules dans le milieu pH1.2 varient entre 268% lorsque la concentration en ALG est de 0.5% (F1), et atteint un maximum de 427% lorsque la concentration en ALG est de 2.0% (F4).
- Les taux de gonflement des capsules dans le milieu pH7.4 varient entre 532% lorsque la concentration en ALG est de 0.5% (F1), et atteint un maximum de 789% lorsque la concentration en ALG est de 2.0% (F4).

La figure 3.16montre les taux de gonflement finaux des capsules dans les deux milieux de dissolution étudiés.

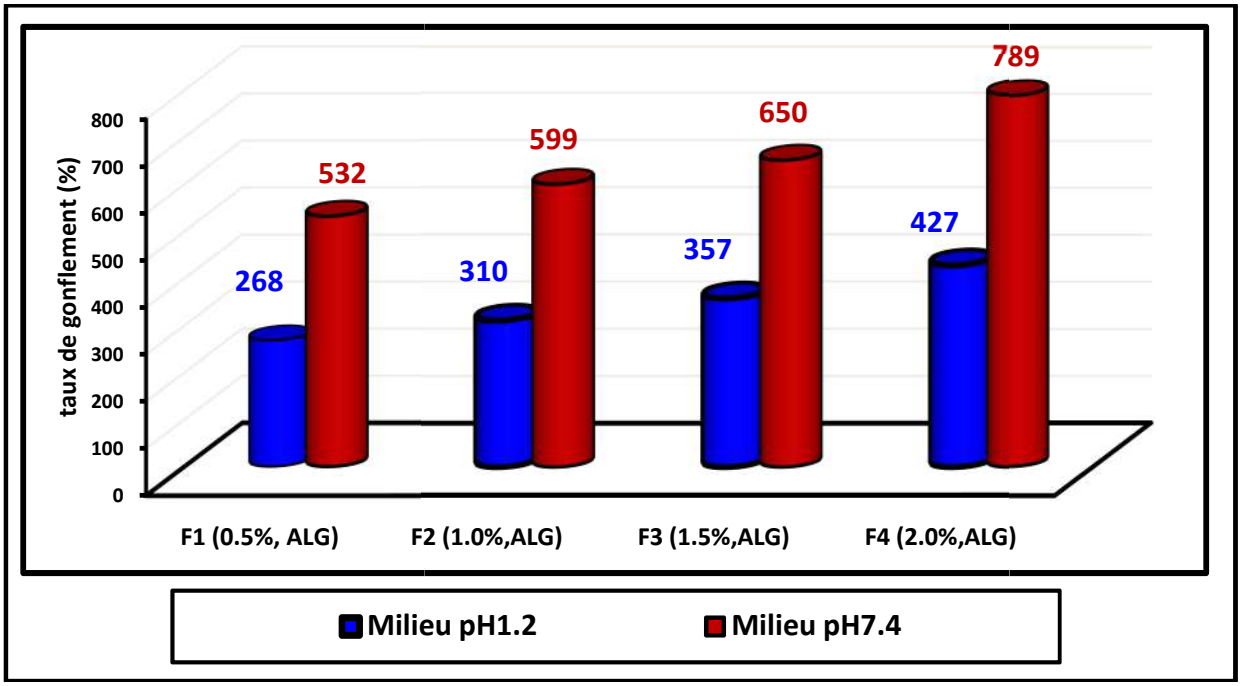


Figure 3.16. Taux de gonflement finaux des capsules.

L'ALG est un polysaccharide de charge négative. Ces charges sont liées aux groupements –COOH des monomères G et M de la macromolécule. Ces monomères sont sous la forme non dissocié à pH1.2 (pH<3.5), donc la molécule d'ALG ne présente pas un taux de gonflement a cette zone de pH. Par contre, à pH7.4 (pH>3.5), 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 des

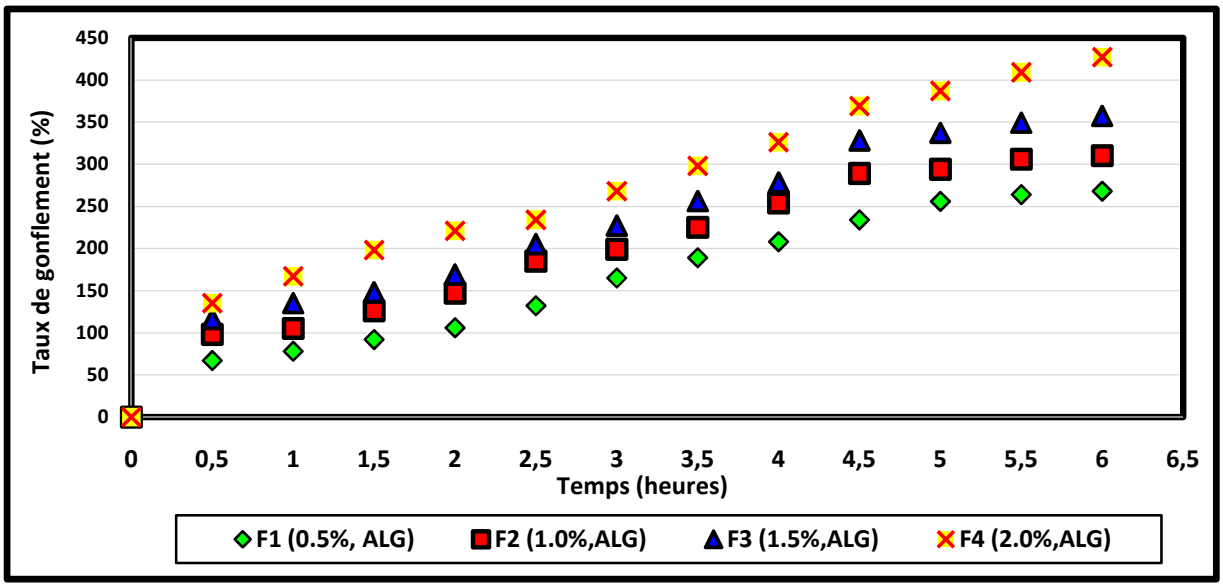


Figure 3.14. Cinétique de gonflement des capsules(pH1.2).

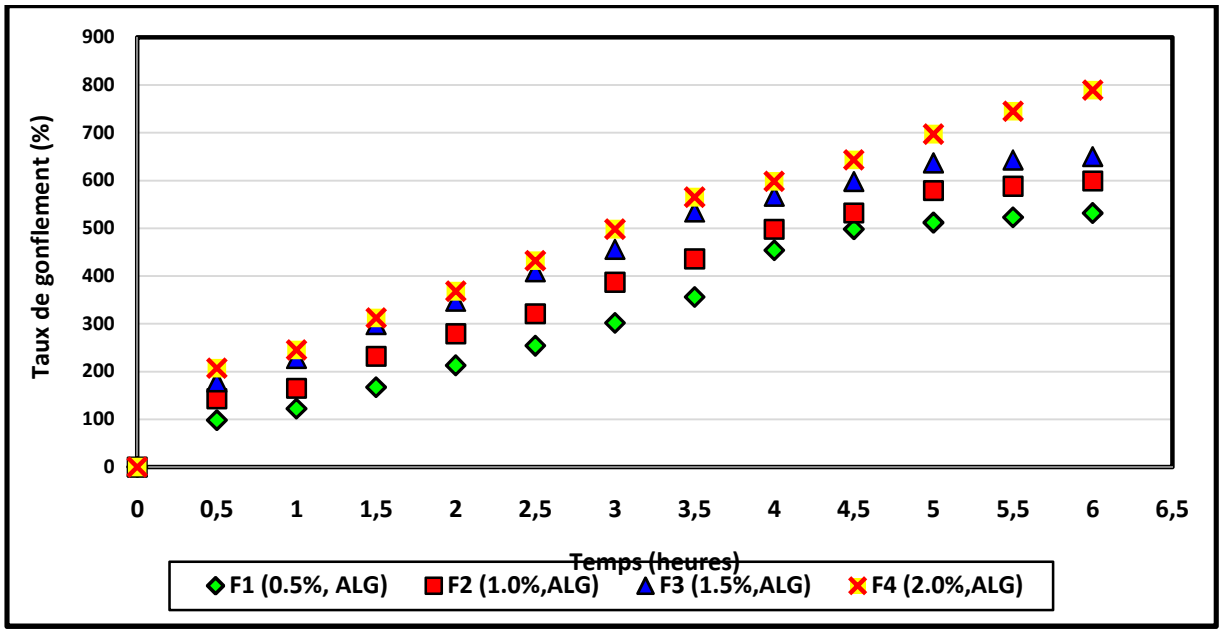


Figure 3.15. Cinétique de gonflement des capsules(pH7.4).

b. Résultats et discussion

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

- Les taux de gonflement augmentent d'une façon progressive en fonction du temps dans les deux milieux de dissolution étudiés et pour toutes les formules de capsules testées.

III.4.2.3. Etude du gonflement des capsules

L'étude du gonflement permet d'établir la cinétique de pénétration du milieu de dissolution dans les capsules. Cette étude permet d'établir son taux d'absorption et son augmentation de volume au cours du temps. La technique d'analyse de la cinétique de gonflement est basée sur la gravimétrie [65]. Cette méthode consiste à mesurer la quantité de liquide absorbée par les capsules en fonction du temps jusqu'à l'équilibre. Les capsules sont pesées puis placées dans le milieu de dissolution étudié. Deux milieux de dissolution sont testés : Milieu 1 : solution tampon pH1.2 ; Milieu 2 : solution tampon pH7.4

a. Mode opératoire

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

Les taux de gonflement sont calculés par la formule suivante :

$$\textbf{Taux de gonflement}\,(\%) = \frac{m_g - m_i}{m_i} \times 100 \qquad (3.1)$$

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

Les résultats du test de gonflement des capsules dans les différents milieux de dissolution sont représentés sur les figure 3.14 et 3.15.

L'analyse des données montre des valeurs de la dimension des capsules qui varie d'une formule à l'autre selon la concentration en ALG. En effet, le diamètre des capsules lors de leurs préparations est de l'ordre de 267.87µm pour la formule F1, composée de 0.5% d'ALG, et ce diamètre moyen augmente en augmentant la concentration en ALG, et enfin atteint une valeur de 301.09µm pour la F4 composée de 2% d'ALG. Ceci peut être expliquée par le fait que la viscosité de la solution initiale augmente avec l'augmentation de la concentration en biopolymère, ceci entraine la formation de capsule beaucoup plus volumineuse lors de l'extrusion à travers de la seringue.

Après séchage des capsule, leurs formes est réduite et devient plus petites et plus ou moins sphériques avec des diamètres allant de 135.65µm pour la formule F1(0.5% d'ALG) à 198.21µm pour la formule F4 (2% d'ALG). La figure 3.13illustre les diamètres des capsules avant et après leur séchage.

L'analyse statistique des données montre une variation uniforme de la dimension des capsules traduite par des résultats reproductible, illustré par un coefficient de variation très petit (<5%).

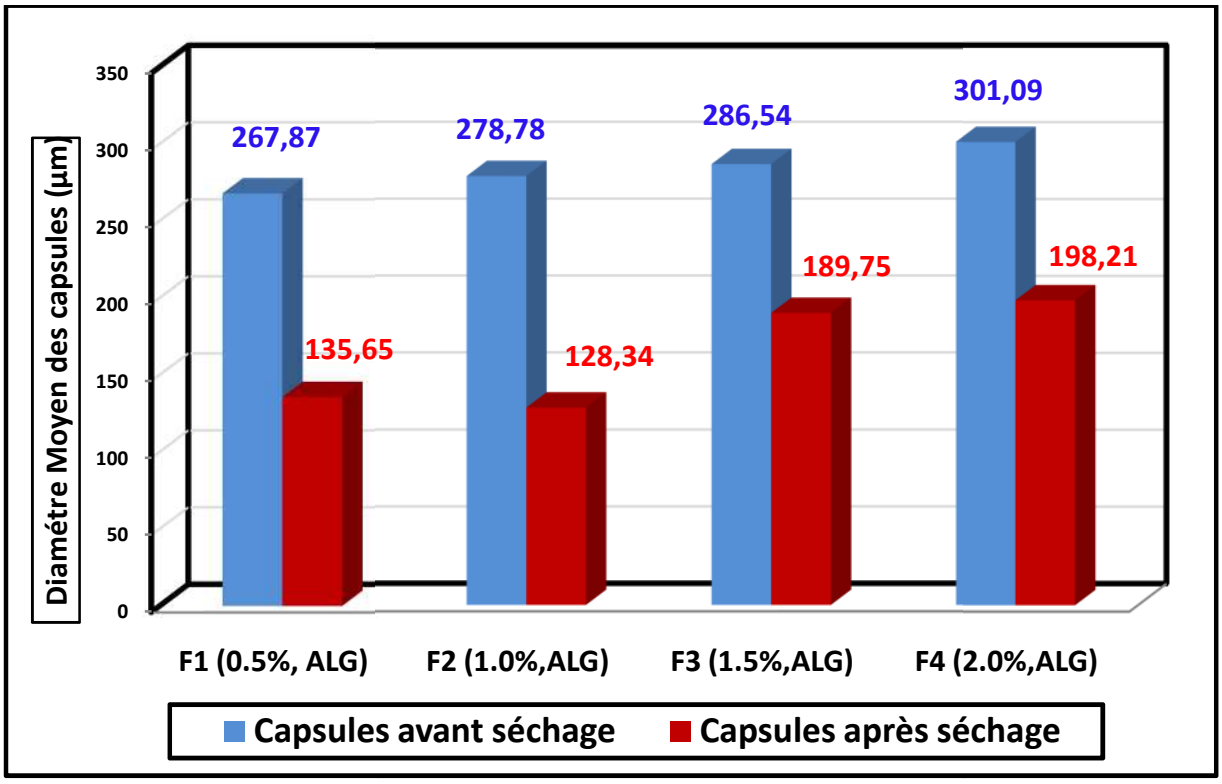


Figure 3.13. Tailles des capsules(avant et après séchage).

III.4.2.2. Analyse granulométrique des capsules

La taille des capsules obtenues est mesurée par un micromètre digital ayant une précision de 0.001mm [64]. Un choix au hasard de trois (03) séries de capsules contenant 20 capsules à chaque analyse est réalisé. Une analyse statistique de la moyenne et du coefficient de variation sont effectués sur chaque série d'analyse effectuée.

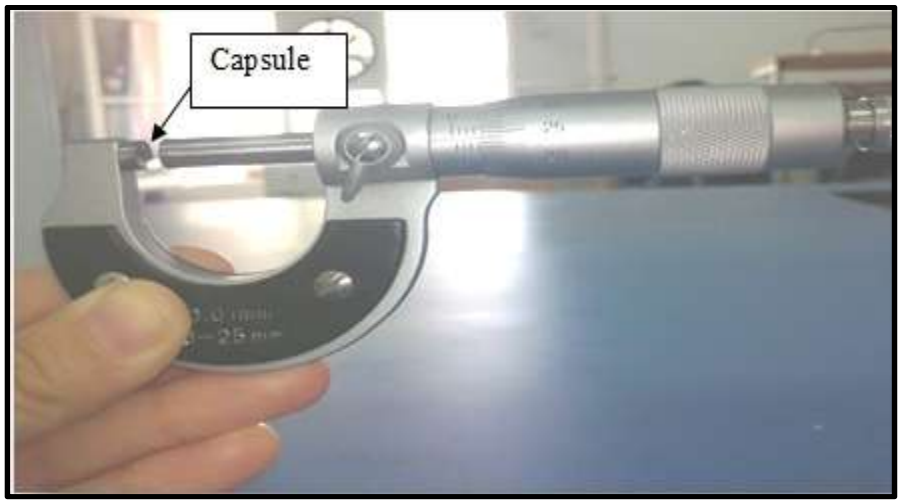


Figure 3.12. Mesure de la taille des capsules par un micromètre digital (MDC-25S Mitutoyo, Tokyo,Japan)

Les résultats de mesures obtenus sont résumés dans le tableau 3.6 :

Tableau 3.6. Taille des capsules obtenues à différentes concentrations en ALG.

Capsules avant séchage			
N° Formule	**% ALG (p/v)**	**Diamètre moyen (µm)**	**CV*(%)**
F1	0.5	267.87	3.23
F2	1	278.78	2.87
F3	1.5	286.54	3.65
F4	2	301.09	4.78
Capsules après séchage			
N° Formule	**% ALG (p/v)**	**Diamètre moyen (µm)**	**CV*(%)**
F1	0.5	135.65	2.87
F2	1	128.34	1.18
F3	1.5	189.75	3.76
F4	2	198.21	2.65

* CV : coefficient de variation.

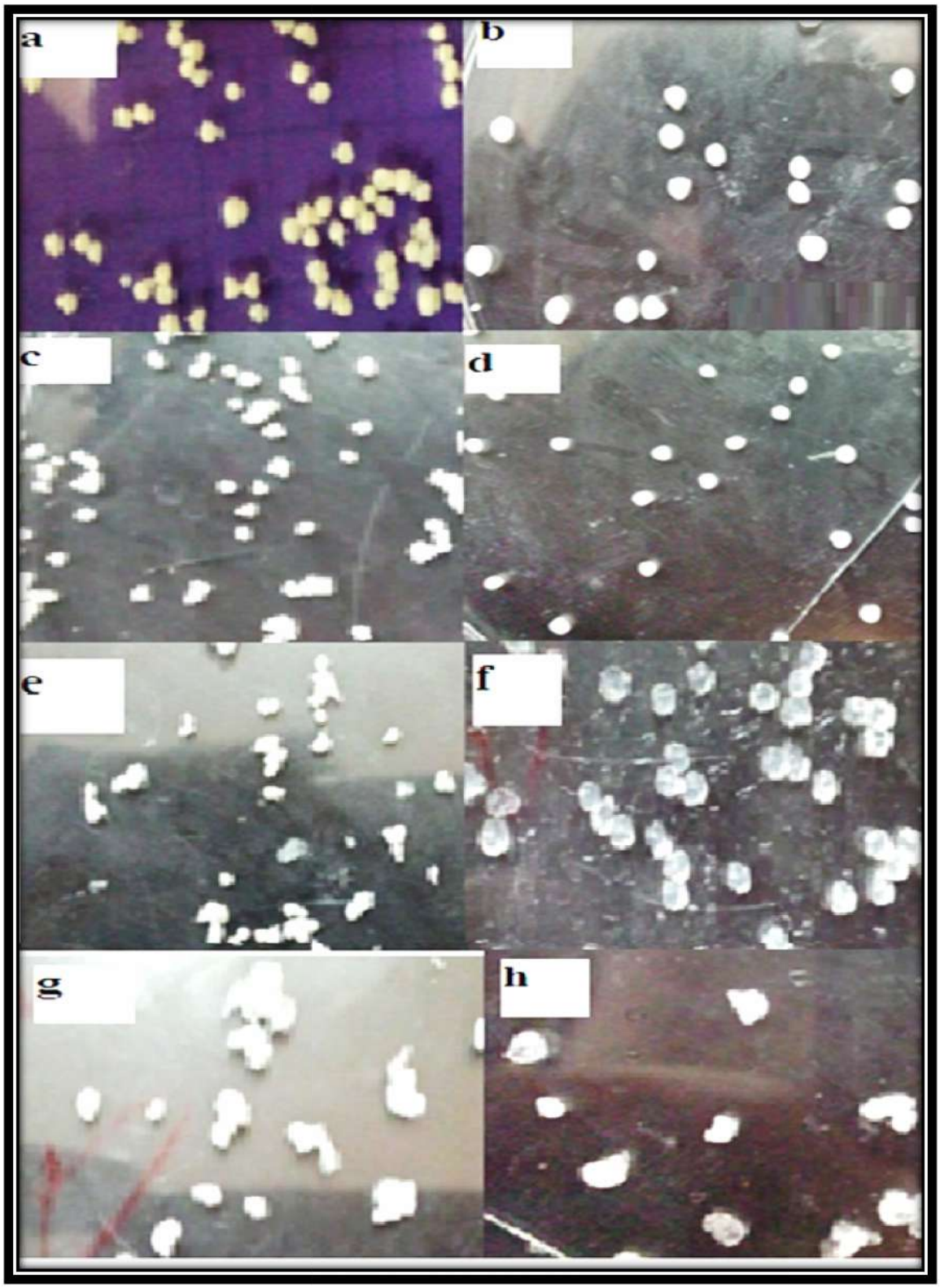


Figure 3.11. Formes et aspect des capsules formulés à différentes concentration en ALG :
a ,b: capsules à2% (p /v) sèche et humide respectivement**, d**: capsules à1.5% (p /v) sèche et humide respectivement , **e ,f**: capsules à1% (p /v) sèche et humide respectivement,
g ,h: capsules à0.5% (p /v) sèche et humide respectivement.

- Les capsules formées sont recueillies directement dans un cristallisoir contenant une solution de $CaCl_2$ à 0.54M et NaCl à 0.1M sous agitation magnétique à 100tr/min pendant 1heures.
- Filtrer les capsules formées sur papier filtre Wattman (0.45µm).
- Laver les capsules à l'eau distillée trois fois afin d'éliminer les résidus de sels de la surface.
- Des capsules sont préparées à blanc (sans DS) en parallèle pour compléter la caractérisation.
- Laisser sécher les capsules à l'air libre pendant 24h.

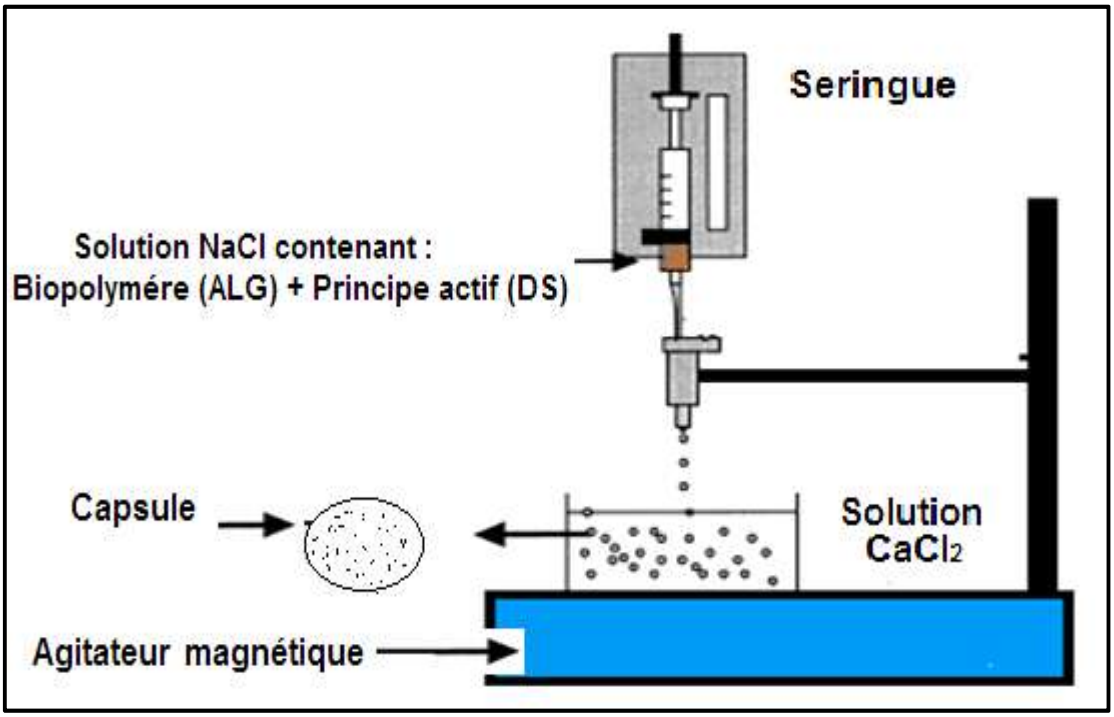


Figure 3.10. Schéma du dispositif pour la préparation des capsules.

III.4.2.Caractérisation des capsules

III.4.2.1. Morphologie des capsules humides et sèches

Les capsules obtenue ont une forme sphérique a l'état humide, mais après le séchage les capsules sont dépourvue d'eau et s'allonge légèrement. Dès qu'on les remet dans un milieu aqueux, les capsules regonflent et reprennent leurs formes initiales (Figure 3.11)

(1610.61cm^{-1}) [62]. Les bandes à 1095.60 cm^{-1} et 1028.09 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'élongation du groupement –C-O des acides uroniques G et M[62].

III.4.Formulation des capsules

La formulation est l'art de sélectionner qualitativement et quantitativement les principes actifs et les excipients (nature chimique, état physique, caractères organoleptiques)en fonction de la forme galénique et des opérations pharmaceutiques y conduisant.

Un produit formulé est obtenu par association et mélange de diverses matières premières d'origine synthétique ou naturelle parmi lesquelles on distingue généralement les matières actives qui remplissent la fonction principale recherchée et les auxiliaires de formulation qui assurent les fonctions secondaires, facilitent la préparation ou la mise en œuvre du produit commercial, ou prolongent sa durée de vie.

III.4.1.Principe de la formulation des capsules à base d'ALG

Le principe consiste à faire tomber goutte à goutte la solution polymérique d'ALG dans un bain ou est réalisée la gélification des gouttes. Une solution de 0.5 à 2% de ALG est mélangée au principe actif (DS) à encapsuler, le mélange ainsi obtenu est extrudé goutte à goutte dans une solution de $CaCl_2$ à 0.54M[63].Les capsules obtenus sont laissés dans la solution de $CaCl_2$ pendant 1heure, puis filtrés et lavés avec de l'eau distillée et enfin laissés sécher à l'air libre. En générale, les capsules formés sont sphériques et de taille homogène. Leur taille peut varier selon l'évolution de la technique de 100µm à 300µm.

- ***Mode opératoire***

- Peser une masse d'ALG sur une balance analytique de précision et la faire dissoudre dans 100ml de NaCl à 0.1Mafin d'obtenir des concentrations en biopolymère allant de 0.5% à 2%.
- Mettre le mélange sous agitation magnétique à 500 tr/min jusqu'à dissolution complète du bio polymère.
- Introduire 1g de DS dans le mélange de biopolymère sous agitation magnétique à 500 tr/min à température ambiante pendant 1 heure.
- Remplir une seringue de 10ml par la solution de biopolymère.
- Faire passer la solution précédente goutte à goutte à travers l'orifice d'une seringue de diamètre 0.8mm à une distance de 5cm d'un cristallisoir à une vitesse de 0.5ml/min.

On remarque, d'après les résultats obtenus que les valeurs de pH des solutions d'ALG varient entre 6.50 et 6.98, avec une légère augmentation en fonction de l'augmentation de la concentration en ALG.

d. Identification par FTIR : Les spectres FTIR ont été obtenus pour des pastilles d'ALG/ KBr, la proportion de DS étant de 1 %. Pour produire les pastilles, l'ALG est broyée en présence du KBr, le mélange est ensuite comprimé sous une pusse (presse) Perkin-Elmer. Des pastilles translucides ont été obtenues.

Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la gamme de nombres d'onde comprise entre 400 et 4000 cm^{-1}, avec une résolution de 8 cm^{-1} et un nombre de scanne égale à 128.Les résultats sont donnés par la figure 3.9.

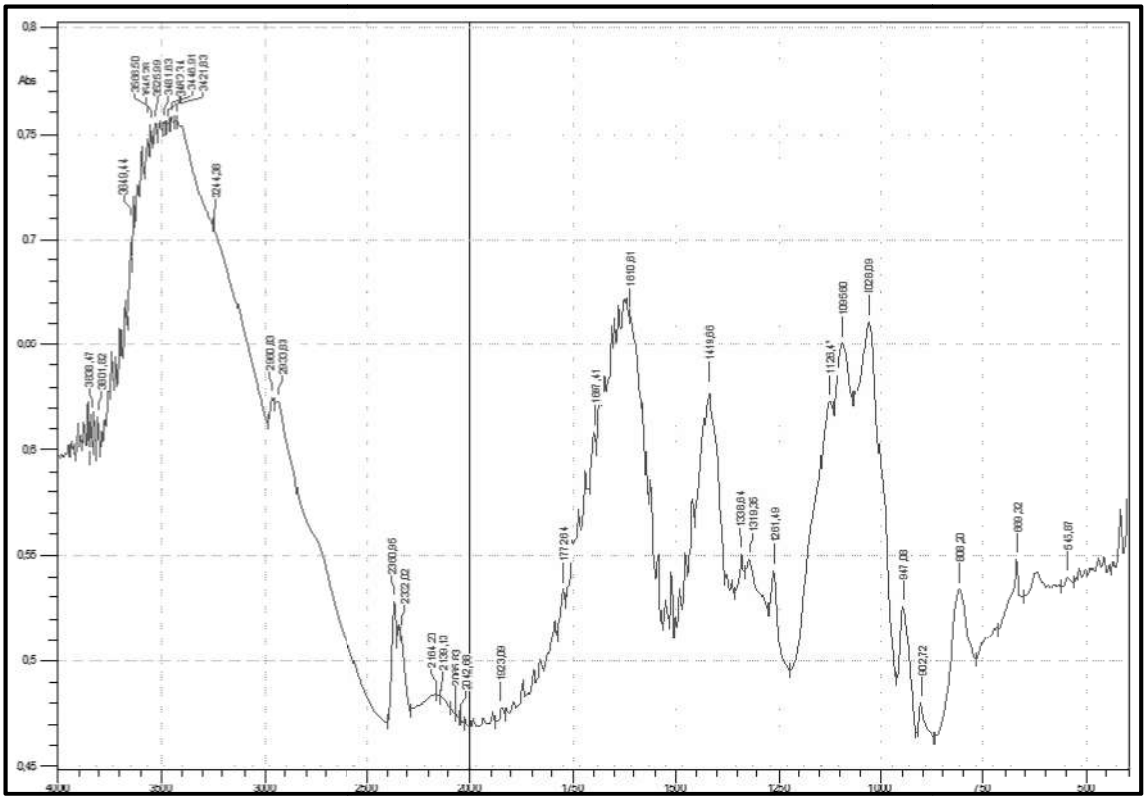


Figure 3.9. Spectre FTIR de l'Alginate de sodium (ALG)

L'analyse de la figure 3.9nous renseigne sur les caractéristiques de base de la molécule d'ALG. Les principaux pics distinctifs sont apparents à 3421.63 cm^{-1} due à la vibration d'élongation du groupe -OH [62]. Les deux bandes à 1610.61 cm^{-1} et 1419.66 cm^{-1} sont spécifiques des vibrations d'élongation du groupement –COOH. L'une est la vibration d'élongation symétrique (1419.66 cm^{-1}), l'autre la vibration d'élongation asymétrique



Figure 3.8. pH-mètre (Sartorius)

- ***Mode opératoire :*** La mesure du pH des solutions d'ALG dans l'eau distillée à différentes concentrations (allant de 0,5% (p/v) à 3% (p/v)) est réalisée à température ambiante. Le pH est mesurée à l'aide d'un pH mètre (Sartorius), en suivant les étapes suivantes :
  - ❖ Rincer l'électrode du pH mètre avec de l'eau distillée.
  - ❖ Calibrer l'appareil avec les solutions tampons de pH différents.
  - ❖ Rincer l'électrode du pH mètre avec de l'eau distillée.
  - ❖ Plonger l'électrode dans la solution à examiner et effectuer la lecture dans les mêmes conditions que pour les solutions tampons.
  - ❖ Effectuer toutes les mesures à la même température (20 °C à 25 °C).
  - ❖ Lire la valeur du pH indiquée dans l'écran du pH mètre.
  - ❖ Rincer l'électrode et plonger la dans la solution de garde (solution de KCI à 1%).

Les valeurs de pH obtenues sont représentées dans le tableau :

Tableau 3.5. Résultats des mesures du pH des solutions d'ALG

Concentration en ALG en % (p/v)	0,5	1	1,5	2	2,5	3
pH	6.50	6,68	6,73	6,80	6,85	6,98

Les résultats des mesures de la viscosité des solutions d'ALG sont représentés dans le tableau 3.4.

Tableau 3.4. Résultats des mesures de la viscosité des solutions d'ALG

Concentration en ALG en %(p/v)	0.5	1	1.5	2	2.5	3
Viscosité (Pa.s)	0.08	0.45	1.7	3.6	6.7	9.2

Les résultats obtenus (Figure 3.7) montrent que la viscosité apparente augmente en fonction de la concentration. Ces résultats nous ont conduits à limiter l'utilisation de l'ALG à des concentrations allant de 0,5% (p/v) à 2% (p/v), car au-delà de cette concentration, la solution d'ALG devient hautement visqueuse et donc l'obtention de capsules dans notre travail antérieur se révélera impossible. En effet, à l'extrusion de la solution d'ALG au travers une seringue à des concentrations supérieure à 2% est impossible à réaliser.

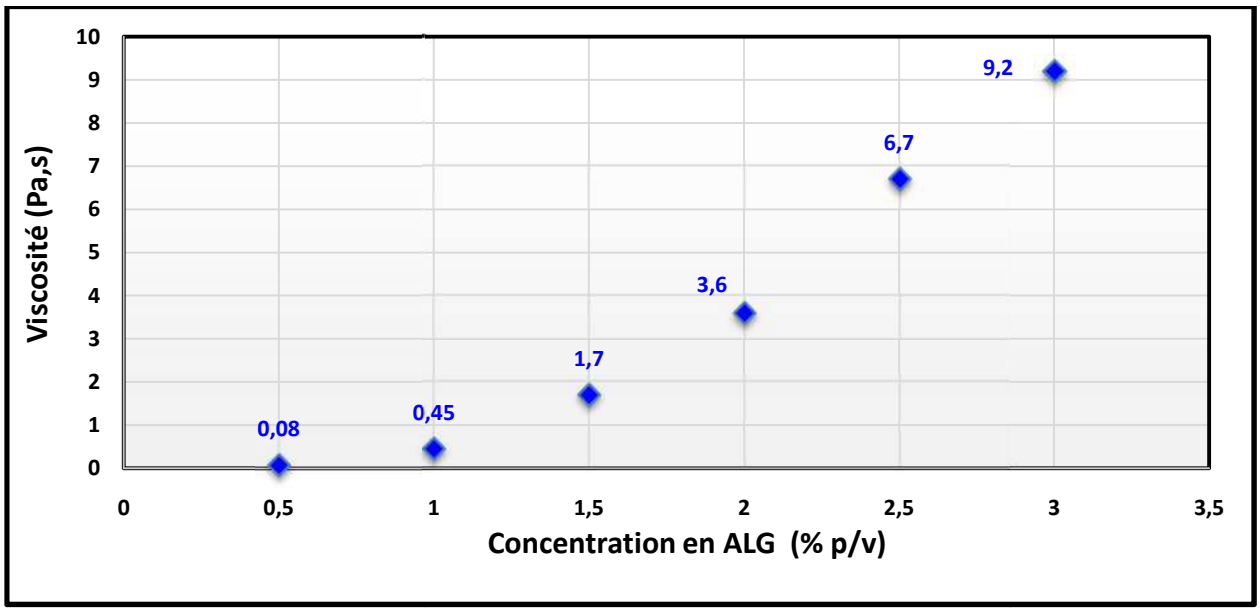


Figure 3.7. Variation de la viscosité en fonction de la concentration en ALG.

c. Détermination du pH

Le pH est un nombre qui représente conventionnellement la concentration en ions hydrogène ou hydronium d'une solution aqueuse. La détermination potentiométrique du pH est effectuée par mesure de la différence de potentiel entre 2 électrodes plongeant dans la solution à examiner ; l'une de celles-ci est une électrode sensible aux ions hydrogène (le plus souvent, une électrode en verre) et l'autre une électrode de comparaison (de référence).

- **Données sécurité-toxicité :** L'ALG est décrite comme non toxique, cependant une consommation excessive par voie orale peut devenir dangereuse. De plus une inhalation trop importante peut conduire à des problèmes respiratoires.

  La dose létale 50 chez le rat par voie orale est de : plus de 5 g/kg ; chez le rat par voie intraveineuse (IV) : 1 g/kg ; chez le lapin par voie IV : 0,1 g/kg ; chez la souris par voie IV : 0,2 g/kg ; chez le chat par voie IV : 0,25 g/kg.

b. Viscosité : La viscosité d'une solution d'alginate dépend essentiellement du volume hydrodynamique des chaines polymères. Ainsi, elle varie fortement en fonction de la longueur moyenne des chaines (masse molaire) et des conditions opératoires (solvant, température, force ionique) qui ont une influence à la fois sur la conformation et la flexibilité des chaines.

Les mesures de la viscosité des solutions d'ALG dans l'eau distillée à différentes concentrations (allant de 0,5% (p/v) à 3% (p/v)) ont été réalisées par un viscosimètre rotatif (figure 3.6), de tige SP3à température ambiante, à une vitesse de cisaillement de60 tr/min. Ce test consiste à étudier la variation de la viscosité en fonction de différentes concentrations d'alginate.

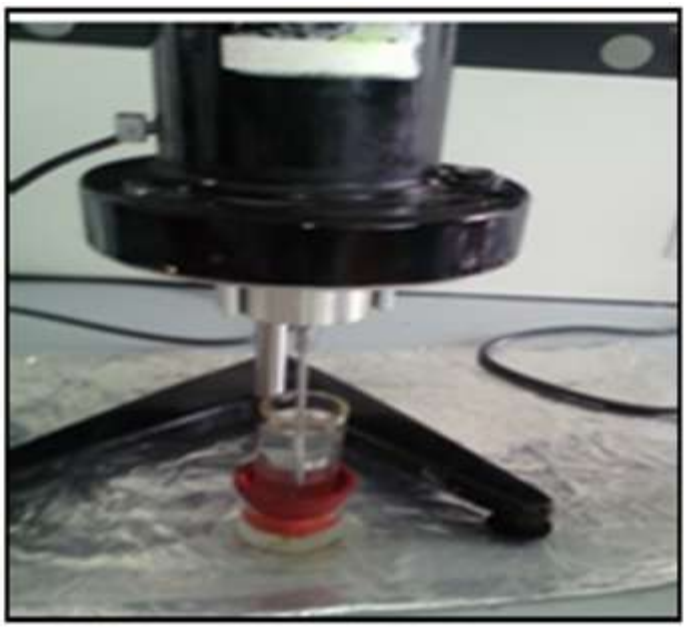


Figure 3.6. Viscosimètre rotatif (Brookfield).

Le Tableau 3.3 résume les résultats obtenus des courbes d'étalonnage à savoir les équations des droites d'étalonnage et les coefficients de corrélation correspondants.

Tableau 3.3. Résultats de l'ajustement des courbes d'étalonnage du Diclofenac de sodium

Milieux de dissolution	Longueur d'onde optimale (nm)	Equation de la droite d'étalonnage	Coefficients de corrélation R^2
Milieu Tampon pH 1.2	276	y=0.1 x+0,005	0,999
Milieu Tampon pH 7.4	276	y=0.1 x+0,010	0,998

D'après les résultats obtenus, il apparait que la méthode de dosage du DS est convenable pour notre étude étant donné qu'elle offre une bonne spécificité pour la détection et le dosage du principe actif recherché ainsi qu'une bonne linéarité suivant la loi de Lamber-Beer se traduisant par des coefficients de corrélation supérieur à 0.99 pour les deux milieux étudiés.

III.3.2.Le Biopolymère : Alginate de Sodium (ALG)

a. Formule chimique : $(C_6H_7NaO_6)_n$

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

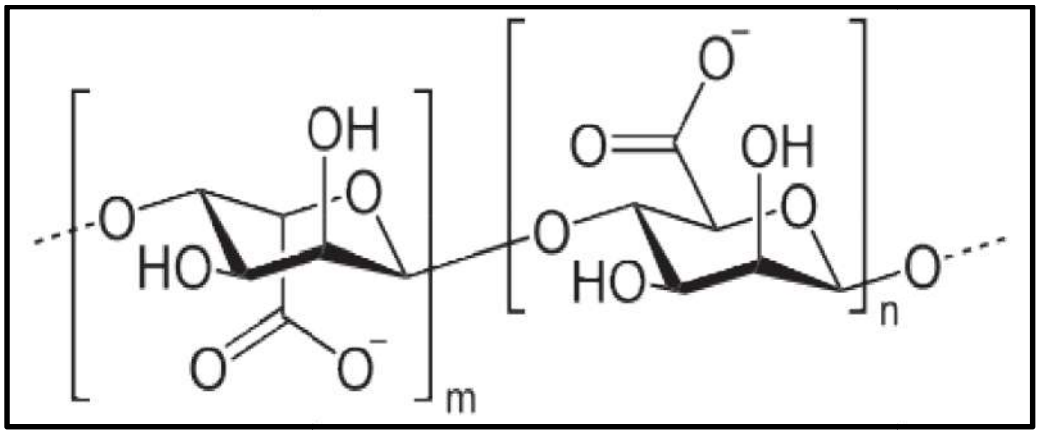


Figure 3 .5. Structure chimique de l'Alginate de sodium(ALG)

- ***Préparation des solutions tampons :***

▪ ***Préparation de solution tampon pH=1,2 à base de KCl 0.2M et HCl 0.2M :***25ml de la solution de chlorure de potassium à 0.2 M sont mélangés avec 42.5ml de la solution d'acide chlorhydrique à 0.2M, puis on ajoute de l'eau distillée jusqu'à 200 mL. On ajuste le pH à l'aide d'un pH mètre jusqu'à la valeur de 1.2[58].

▪ ***Préparation de solution tampon pH 7.4 :*** Dissoudre2.3156 g de sodium dihydrogeno phosphateanhydreet4.3582 g de disodium hydrogenophosphateanhydre, dans 800 ml d'eau distillée. Compléter le volume à 1000ml à l'aide d'eau distillée. Le pH de la solution finale est ajusté avec une solution d'acide phosphorique ou une solution de NaOH à 0.1M[58].

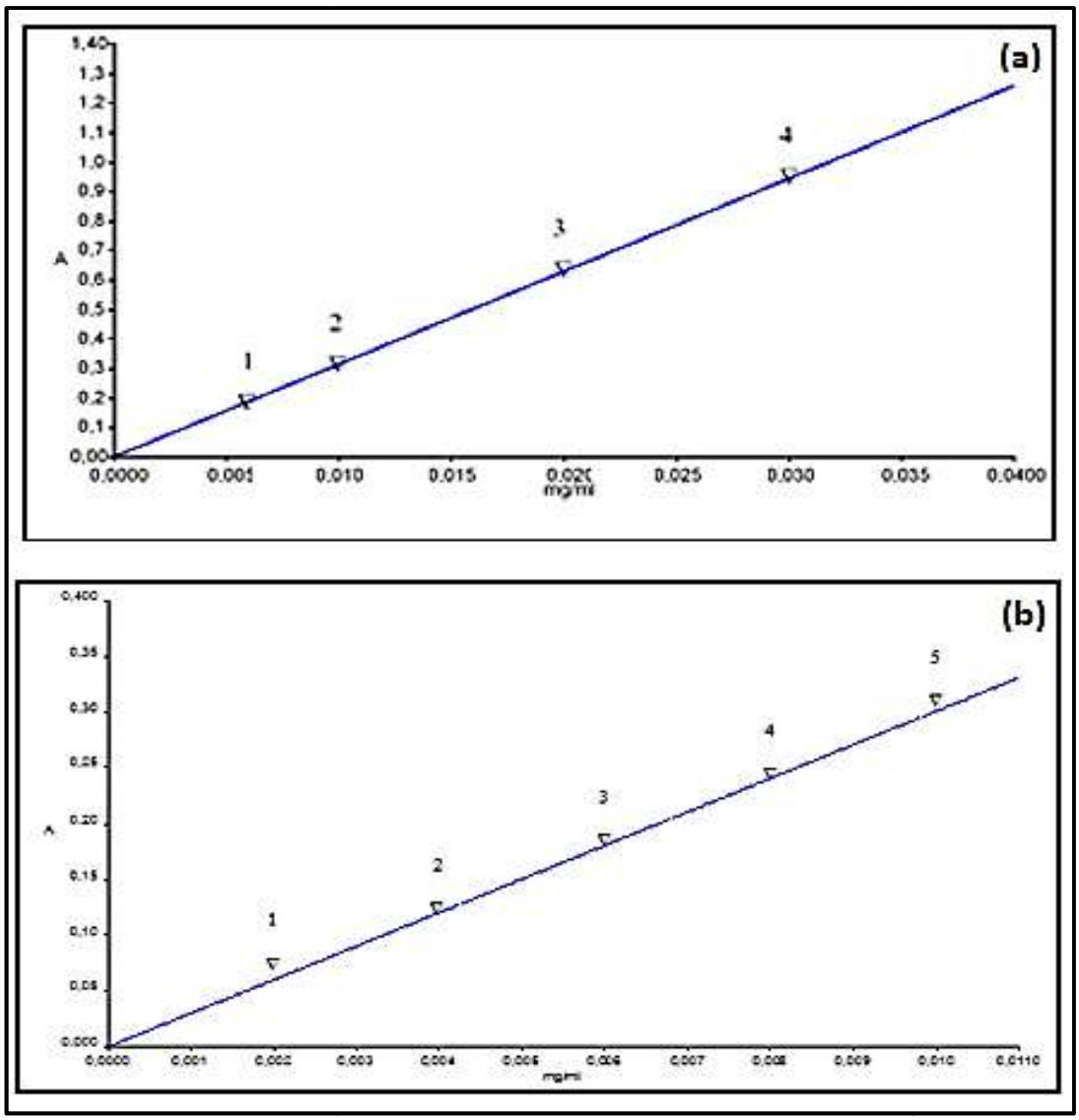


Figure 3.4. Courbe d'étalonnage de DS **dans l'**UV à λ =276 nm:
(a) dans un milieu tampon pH1.2, **(b)** dans un milieu tampon pH7.4

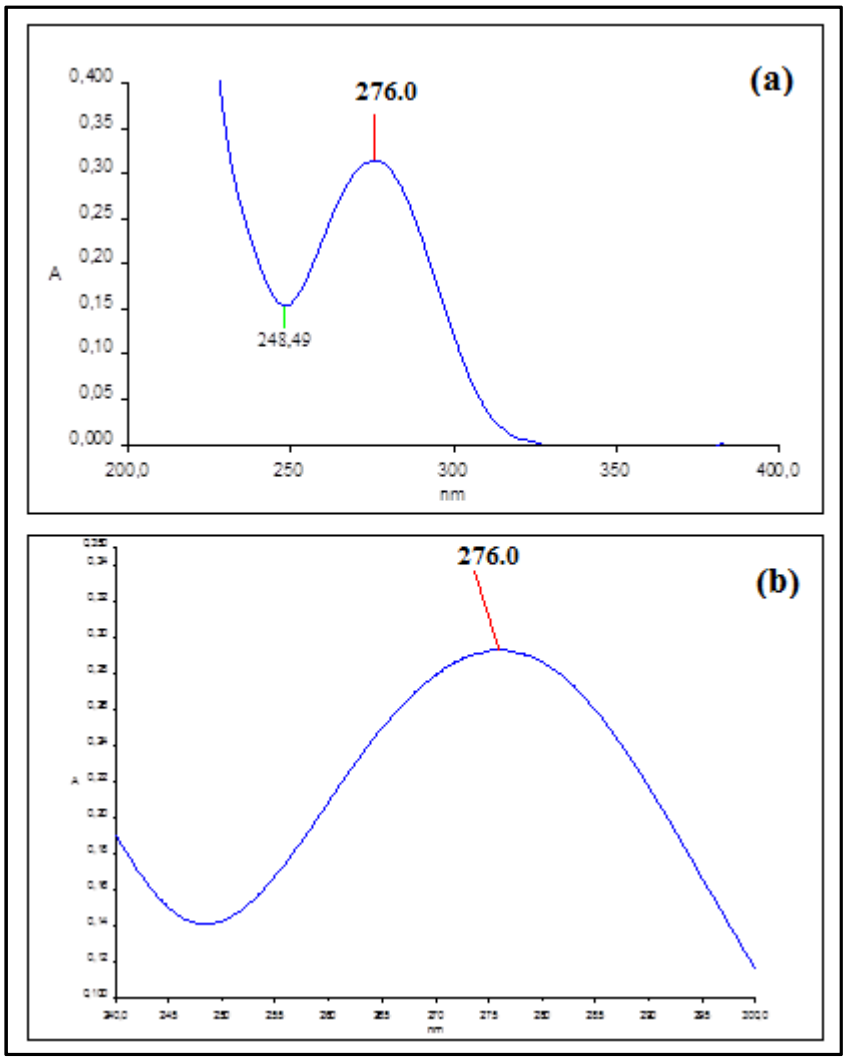


Figure 3.3. Spectres d'absorption UV des solutions de DS :
(a) dans un milieu tampon pH1.2, **(b)** dans un milieu tampon pH7.4

- ***Détermination de la courbe d'étalonnage :***Les courbes d'étalonnage sont réalisées dans deux solutions tampons différentes qui sont le tampon gastrique pH1.2 et le tampon intestinal pH7.4. Les deux courbes d'étalonnage sont réalisées comme suivant :

- Préparer une solution mère de DS (Principe actif) à 1mg/ml en solubilisant 10mg de DS dans 100ml de la solution tampon à pH1.2 et solution tampon pH7.4.

- Préparer des solutions de DS(principe actif) par dilution de la solution mère (0.1mg/ml) pour obtenir une gamme de concentration allant de 0.006mg et 0.03 mg/ml.

- Mesurer la densité optique (DO) pour chaque concentration à λ =276 nm.

- Tracer la courbe d'étalonnage représentant DO = f(c).

Les résultats sont représentés dans la figure 3.4.

ε : coefficient d'extinction dépendant de la nature de la substance et de la longueur d'onde de la radiation.

c : concentration de la substance analysée (en mol/l).

l : épaisseur traversée (en cm).

T : Transmittance.

D = -log T.

D : absorbance (ou densité optique).

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

L'analyse de la figure 3.2 nous renseigne sur les caractéristiques de base de la molécule du DS. Les principaux pics distinctifs sont apparents à 3387,11 cm^{-1}caractéristiques de la liaison NH de l'amine secondaire[60]. La bande typique d'absorption autour de 1573.97 cm^{-1}correspond à la vibration asymétrique de la fonction -C = O de l'ion carboxyle et autour de 1400,37 cm^{-1}correspond à la vibration symétrique de la fonction carboxyle[60]. Les bandes à 746.48 cm^{-1} sont affectées à l'élongation de la liaison C-Cl[60].

d. Dosage du principe actif par spectroscopie UV-VIS : La spectroscopie UV-visible est basée sur la capacité des molécules d'absorber une radiation électromagnétique. En pratique, la spectroscopie UV-visible est largement utilisée pour diverses applications dont la détermination des concentrations par utilisation d'une courbe d'étalonnage est la plus connue.

- ***Principe de la spectroscopie UV-VIS :***La spectrométrie d'absorption moléculaire dans le domaine ultraviolet (UV), de 185 à 380 nm environ, et visible (VIS), de 380 à 800 nm environ, est une technique courante de contrôle et d'analyse de composés chimiques. Elle s'applique à des groupements d'atomes (ex : molécules, ions, polymères) qui absorbent le rayonnement électromagnétique dans le domaine UV-VIS.

L'absorption de la lumière UV-VIS par les molécules se produit, comme pour les atomes, du fait de transitions électroniques entre différents niveaux d'énergie. Un électron à l'état fondamental absorbe des radiations d'une énergie E suffisante pour l'élever à un niveau d'énergie supérieur, l'état excité.

Les longueurs d'onde d'absorption d'une molécule organique dépendent de l'énergie de liaison de ses différents électrons [61].

- La substance à analyser est exposée à une radiation lumineuse de longueur d'onde «λ» déterminée ou variable. Une partie de cette lumière (I_0) est absorbée par cette substance, provoquant de ce fait des changements dans la molécule ; l'autre partie de la lumière est transmise (I). L'absorption de cette radiation est déterminée par la loi de Beer-Lambert donnée par la relation suivante :

$$T = \frac{I}{I_0} = e^{\varepsilon.c.l} \qquad (3.1)$$

Avec :

I_0 : intensité de la lumière incidente.

I : intensité transmise.

molécules. Toutes les vibrations ne donnent pas lieu à une absorption, cela va dépendre aussi de la géométrie de la molécule et en particulier de sa symétrie. Pour une géométrie donnée on peut déterminer les modes de vibration actifs en infrarouge grâce à la Théorie des Groupes [59].

La position de ces bandes d'absorption va dépendre en particulier de la différence d'électronégativité des atomes et de leur masse. Par conséquent à un matériau de composition chimique et de structure donnée va correspondre un ensemble de bandes d'absorption caractéristiques permettant d'identifier le matériau.

L'analyse s'effectue à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier qui envoie sur l'échantillon un rayonnement infrarouge et mesure les longueurs d'onde auxquelles le matériau absorbe les intensités de l'absorption [59].

- ***Mode opératoire :***Les spectres FTIR ont été obtenus pour des pastilles de DS / KBr, la proportion de DS étant de 1 %. Pour produire les pastilles, le principe actif est broyée en présence du KBr, le mélange est ensuite comprimé sous une pusse (presse) Perkin-Elmer. Des pastilles translucides ont été obtenues. Les spectres d'absorption infrarouge ont été enregistrés dans la gamme de nombres d'onde comprise entre 400 et 4000 cm^{-1}, avec une résolution de 8 cm^{-1} et un nombre de scanne égale à 128.Les résultats sont donnés par la figure 3.2.

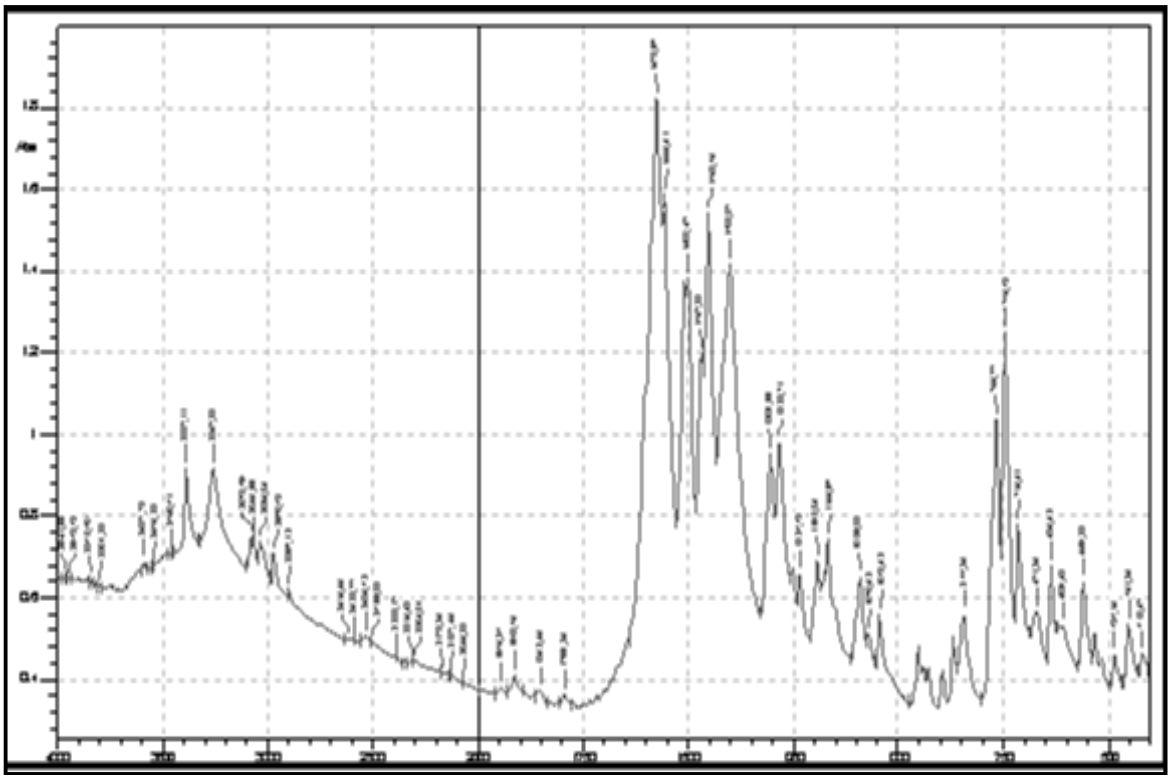


Figure 3 .2. Spectre FTIR du Diclofenac de sodium (DS)

propriétés analgésiques, antipyrétiques et anti-inflammatoires. Il réduit la douleur, la fièvre et l'inflammation. La demi-vie du DS est de 1-2 heures, et donc requis la prise de multiple dose afin de maintenir des taux sanguins nécessaire au traitement.

Les effets secondaires d'administration du DS à long terme se résument essentiellement à des perturbations gastro-intestinales, des ulcérations peptiques et des perforations gastriques.

a. Formule chimique : $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$, M=318.13

- **Dénomination commune internationale (DCI) :** Sodium 2-[(2,6-dichlorophenyl) aminophényl] acétate.
- **Point de fusion :** 280°C avec décomposition

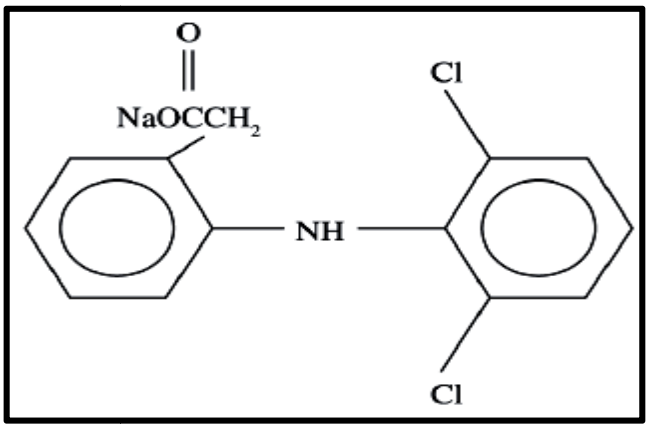


Figure 3 .1. Structure chimique du Diclofenac de sodium (DS) [58]

b. Solubilité : C'est une poudre cristalline blanche à légèrement jaunâtre, peu hygroscopique, peu soluble dans l'eau, très soluble dans le méthanol, soluble dans l'éthanol, légèrement soluble dans l'acétone. Le DS est peu soluble en milieu acide mais il est très soluble en milieu basique.

c. Identification par FTIR : La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed Infra Red spectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé.

Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau [59].

- ***Principe :***Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est voisine de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et on enregistrera une diminution de l'intensité réfléchie ou transmise [59]. Le domaine infrarouge entre 4000 cm-1 et 400 cm-1 (2.5 – 25 μm) correspond au domaine d'énergie de vibration des

III.2.2. Produits utilisés

Tous les réactifs utilisés lors de cette étude sont identifiés par la formule brute, l'origine, et la pureté et résumés dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2. Caractéristiques des réactifs utilisés

Produit	**Formule**	**Fournisseur**	**Pureté (%)**	**Masse Molaire (g/mol)**
Acide chlorhydrique	HCl	Riedel-de Haën	36.5 – 38	36.46
Disodiumhydrogeno phosphateanhydre	$Na_2HPO_4.2H_2O$	Riedel-de Haën	98.5–101	177.99
Chlorure de calcium	$CaCl_2$	Riedel-de Haën	99	110,984
Chlorure de Sodium	NaCl	Scharlau	99.5	58.44
Chlorure de potassium	KCl	Riedel-de Haën	99.5	74.55
Acide phosphorique	H_3PO_4	PROLabo	85	98
Hydroxyde de sodium	NaOH	Chem-Lab NV	98	40
Sodiumdihydrogeno phosphateanhydre	$NaH_2PO_4.2H_2O$	Riedel-de Haën	98.5	156.01

III.3. Préformulation

Cette étape est considérée comme essentielle, elle doit être consacrée à une connaissance parfaite des matières premières utilisée (DS et ALG). Avant d'entreprendre la mise au point des capsules, il est nécessaire de rassembler un certain nombre de données préalables qui constitueront les bases du développement et guideront les choix ultérieurs. Ces études d'orientation sont particulièrement importantes lors du développement des formes galéniques particulières car la libération du PA est lié autant à des paramètres d'ordre physiologique qu'à des paramètres physico-chimiques prédéterminés.

III.3.1. Le principe actif : Diclofenac de sodium (DS)[58]

Le Diclofenac de sodium (DS) est un dérivé arylacétique, qui entre dans la classe des anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS). C'est un principe actif ayant des

Chapitre III

Etude expérimentale

III.1. Introduction

La partie expérimentale a été réalisée au niveau du hall technologique de l'université de Médéa au sein du laboratoire d'analyses physico-chimiques, ainsi qu'au niveau du laboratoire contrôle qualité de la filiale ANTIBIOTICAL-Saidal de Médéa.

Dans le contexte où s'inscrit notre travail, nous avons tenté d'atteindre un objectif, qui consiste à appliquer le procédé de gélification d'un biopolymère qui est l'Alginate de sodium (ALG) pour former de microcapsules comportant le Diclofenac de sodium comme principe actif (PA).

A cette fin, la partie expérimentale est subdivisée en deux (02) parties :

1. **Préformulation :** Cette partie du travail traite la caractérisation physico-chimique des matières premières utilisées à savoir le biopolymère : Alginate de sodium (ALG) et le principe actif : Diclofenac de Sodium (DS).
2. **Formulation et caractérisation des capsules :** cette partie du travail expérimental a pour objectif la mise au point de la méthode d'encapsulation du principe actif DS par l'ALG et la caractérisation physicochimique et biopharmaceutique des capsules obtenues.

III.2. Matériels et produits

III.2.1. Matériels

Toutes les manipulations ont été réalisées en utilisant des équipements résumés dans le Tableau 3.1.

Tableau 3.1. Matériels utilisés

Matériels	**Marques**
Balance électrique	KERN ALS 220-4N (d = 0.1 mg)
Agitateur magnétique avec plaque chauffante	OVAN MCG15E
pH-mètre	Sartorius
Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier(FTIR)	FTIR-8400 SHUMADZU
Spectrophotomètre UV visible	PerkinElmer
Viscosimètre rotatif	Brookfield
Dissolutest	Sotax AT 7 ID-Nr:16887
Micromètre digital	MDC-25S Mitutoyo

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

L'objectif de ce travail était l'encapsulation selon le procédé de gélification d'un principe actif (Diclofenac sodique, DS) dans une matrice polymérique biodégradable d'alginate de sodium (ALG).

Dans un premier lieu, une étude de Préformulation a été réalisée pour la caractérisation du principe actif DS et du biopolymère ALG par différentes méthodes physicochimiques (FTIR, UV-VIS, Viscosimétrie,….).

Par la suite, l'encapsulation du DS au sein de capsules d'ALG a été menée avec succès à l'aide de la méthode de gélification en présence d'un agent réticulent.

En effet, la mise au point d'une microencapsulation par un tel procédé permet d'obtenir des billes de tailles moyennes de 198.21µm où le PA est dispersé dans la matrice hydrophile d'ALG, dont le taux d'encapsulation a atteint 82.32 % à une concentration de 2% en biopolymère.

D'autre part, l'étude du gonflement dans les milieux gastrique (pH1.2) et intestinale (pH7.4) a permis de voir que les capsules présentaient des taux de gonflement atteignant 427% dans le milieu pH1.2 et 789 % dans le milieu pH7.4.

Les taux de gonflement sont plus importants dans le milieu pH 7.4 par rapport au milieu pH1.2, pour toutes les formules étudiées. Ces taux de gonflement sont plus importants lorsque la concentration en ALG augmente dans les capsules dans les deux milieux étudiés.

L'analyse des cinétiques de libération du DS mène à dire que les conditions opératoires telles que le pH du milieu de dissolution et la concentration en ALG peuvent influencer d'une manière notable les taux de libération du DS dans le temps.

Par ailleurs, des profils de libération prolongée ont été obtenus dans le milieu intestinal pH7.4 avec des taux de libération de 99.56% en DS au bout de 8 heures, alors que des taux maximums de 10.43% ont été obtenus dans le milieu gastrique pH1.2. Ces résultats confirme une libération prolongée du principe actif au travers les capsules d'ALG.

Enfin, nous pouvons conclure que l'ALG est un biopolymère ayant des propriétés très intéressantes pour l'encapsulation des principes actifs en vue d'avoir une libération prolongée d'un PA.

[65] Patel, YL., The effect of drug concentration and curing time on processing and properties of calcium alginate beads containing Metronidazole by response surface methodology, AAPS Pharm Sci Tech 2006,7(4): 86.

[67] Lannuccelli, V., Coppi, G., Bernabel. MT., Cameroni,R., Air compartment multiple-unit system for prolonged gastric residence, Part I: Formulation study, Int, J, Pharm., 2009,174, 47-54 ,1998.

[68] Lehir, A., Pharmacie Galénique , Bonne pratique de fabrication des médicaments, 8èmeédition, Masson, Paris, 2001.

[69] Anandrao, R ., Controlled release of diclofenac sodium from sodium alginate beads cross linked with Glutaraldehyde, Pharm Act Helv,74: 29-36, 1999.

[70] Das, MK., Senapati, PC., Evaluation of furosemide-loaded alginate microspheres prepared by ionotropic External gelation technique. ActaPoloniaePharmaceutica Drug Res, b64,253-262.2007.

Technologies. Paris: Lavoisier; 2007, p : 9-22 .

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

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

[46] Poncelet, D., Life Is Based on a Combinaison of Biochemistry and Bioencapsulation. Tropical Journal of Pharmaceutical Research,007;6(2):685-6.

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

[48] Soper, J., Utilization of Coacervated Flavors. ACS Symposium Séries,590,104-112. 1 ,1995.

[49] Versic,RJ., Flavor encapsulation, ACS Symposium Séries, 370, 1-6,1988.

[50] Dziezak,JD., Microencapsulation and encapsulated ingrédients. Food Technology, 42,136 153,1988.

[51] Patwardhan,SA., Das, KG., Microencapsulation, In KG, Das Controlled-released technology pp: 121-141, John Wiley,1983.

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

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

[54] Gibbs, BF., Kermasha, S., Alli, L., Mulligan, CN., Encapsulation in the food industry: a review. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 50, 213-224, 1999.

[55] Viebek, C., et al On the mechanicm of gelation of helix forming biopolymers. Macromolecules ,P:4160-4166,1994.

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

[57] forme pharmaceutique nouvelle thecnique et documentation (lavosier) ,1985.

[58] British Pharmacopeia, 5éme edition,2007.

[59] Sandler, SR., Karo, W., Bonesteel, J., Pearce, EM., Polymers synthesis characterization, San Diego: Academic Press,1998.

[60] Patricia, B., Aieloa, Felipe, A., Borgesa, Karoline, M., Evaluation of Sodium Diclofenac Release Using Natural Rubber Latex as Carrier, Materials Research. 2014; 17(Suppl. 1): 146-152.

[61] Dibeedetto, D, Breuil, P, Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible, 3éme Éditions TI, 2007.

[62] Fertah,M, Belfkira,Ah, El montassir,D., Taourirte,M, Extraction and characterization of sodium alginate from Moroccan Laminaria digitata brown seaweed, Arabian Journal of Chemistry,2014.

[63] Dhanaraju, MD., Sundar, VD., NandhaKumar, S., and Bhaskar, K., Development and evaluation of sustained delivery of diclofenac sodium from hydrophilic polymeric beads, J ,Young Pharmaceutics,2009,1, 301-304.

[64] Grant, GT., Morris, ER., Rees, DA., Smith, PJC., Thom, D., Biological interactions between Polysaccharides and Divalent cations the: eggbox model, FEBS Letters,32: 195,1993.

[22] Rabtafika, HN, Paquot, M, Dubois, P, Les polymères issus du Végétal : Matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique ,Biotechnol, Environ-1053, 185-196, 2006 .

[23] Kumar, R., Choudhary, V., Mishra ,S., Varma, IK., Mattiason, B., Adhesives and plastics based on soy protein products. Ind. Crop Prod, 16, p: 155–172, 2002.

[24] Vandam,JEG., deKlerk-Engels, B., Struik,PC., Rabbinge,R., Securing renewable resource supplies for changing market demands in a bio-based economy, Ind, Crop Prod, 21, p: 129–1, 2005.

[25] Okada, M., Chemical syntheses of biodegradable polymers, Prog,Polym, Sci, 27, p: 87 133, 2002.

[26] Warwel,S., Bruse,F., Demes ,C., Kunz, M., Klaas, MRG., Polymers and surfactants on the basis of renewable resources, Chemosphere 43, p:39–48, 2001.

[27] Mazens ,D , Etude du transfert diffusionnel de solutés macromoléculaires dans les hydrogels d'alginate de calcium ,P :15, 2005.

[28] GASMI, SN, Action d'une hydrolase dans des hydrogels à base d'alginate et d'alginate fonctionnalisé

[29] Smidsrød,O., Skjåk-Bræk,G., Alginate as immobilization matrix for cells, Trends biotechnol, vol, 8, pp :71–78, 1990.

[30] Skjåk-Bræk, G.,Grasdalen,H., Smidsrød,O .,Inhomogeneous polysaccharide ionic gels, Carbohydr, Polym, vol 10, pp : 31–54, 1989.

[31] Draget, KI., Skjåk-Bræk ,G.., Smidsrød ,O, Alginate based new materials, Int, J.Biol. Macromol, vol, 21, pp: 47–55, 1997.

[32] Lee, BJ., Min, GH., Oral controlled release of melatonin using polymer reinforced and coated alginate beads, Int, J,Pharm, vol, 144, pp: 37–46, 1996.

[33] Romalde, J., Luzardo-Alvárez, LA., Ravelo, C., Toranzo, A E, and ,Blanco-Méndez, Oral immunization using alginate microparticles as a useful strategy for booster vaccination against fish *lactoccocosis*, *Aquaculture*, vol, 236, pp:119–129, 2004.

[34] Vincent ,E, les alginates et leurs applications en pharmacie et en ingénieri application a la construction d'un biomatériau ,à Saint-Dié (88) ,19 février 1987.

[35] Negar, M, Mirhosseini, H, Badlishah, S, effect of pH on physicochemical properties and stability of sodium caseinate pectin stabilized emulsion. journal of food, agriculture & environment ,2011.

[36] Benoit , JP .,Richard ,J., Technique de l'ingenieur,5TRéférence 2210 ,2000 .

[37] Andrieux, k., Desmaele,D., D'angelo , j, et couvreur ,p .,Nanotechnologies and new drugs. Actualité chimique,135-139,2003.

[38] Benoit, Jp., couvreur, p., devissagu, jp , ormodulated distribution fotms.newsystems for drug administration. Journal de pharmacie de Belgique,41(5):319-29 ,1986.

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

[40] Richard, J ., Benoit, JP., Microencapsulation, Techniques del'Ingenieur, J 2210, 1 – 20. 2000.

[41] Ertan,I., et al.sustained-release dosage form of nitrofurantoin.part1.preparation of microcapsules and in vitro release kinetics. journal of Microencapsulation Vol.11,No,2,P :127-135,1994.

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

[43] Boh, B., Développements et Applications Industrielles des Microcapsules, In: Vandamme, T., Poncelet, D., Subra-Paternault, P, editors. Microencapsulation des Sicences Aux

Références bibliographiques

[1] Ram. A, Fundamentals of polymer engineering, Ed plenum pression, New York, 1997.

[2] Mercier .JP, Chimie des polymères : synthèse, réaction, dégradation, Ed Lavoisier, PARIS, 1993.

[3] Mazoun, KH, Djouat.S, Formulation des systèmes de libération des principes actifs à bases des biopolymères, 2015.

[4] Paster, M., Pellegrino, JL., Carole, TM., Industrial bioproducts: today and tomorrow. Report prepared for the US Department of Energy, Washington, DC, 2003.

[5] Chakar, F., Ragauskas, AJ., Review of current and future softwood kraftlignin process chemistry, Ind, Crop Prod, 20, p:131–141,2004.

[6] Nodal, L'industrie française des matériaux composites des enjeux prioritaires pour un dévelopment durable, Etude stratégique Consultant pour le comte de la DiGITIP/SIM, mai 2002.

[7] Phillips, GO., Williams, PA., Biochimie 2emeédition de Boek, P: 362-363, 2004.

[8] Robet, D., Vian,B., Science de la vie, 3emeédition, 2004.

[9] Voet, D., Voet ,JG., Biochimie, 2emeédition de Boek, P : 363,2005.

[10] Izydorczyk ,M., Food carbohydrates :Chemical and physical properties and applications.P:165, 2005.

[11] Whistler,RL., BeMiller,JN., Industrial Gums, 3emeedition , Academic Press, New York, 1993 .

[12] Glickman, M., Origines et classification des hydrocolloides alimentaires, Florida, P : 1,3-18,1982.

[13] Rees, DA., La forme des molécules des polymères : glucides, P :57 ,1967.

[14] Stauder, F., Fiche technique agro-industrie : biopolymères et bioplastique, fiche N°17, Ed Mai 2006.

[15] Reddy, N., Yang, Y., Biofibers from Agricultural byproducts for industrial applications. Trends Biotechnol, 23 (1), p: 22–27. 2005.

[16] Tester, RF., Karkalas, J., Starch, In Vandamme, EJ., De Baets, S., Steinbüchel, A., eds Biopolymers, Vol. 6, Polysaccharides II, Weinheim, Germany: Wiley-VCH, p: 381–438. 2002.

[17 Ahmad, S., Ashraf, SM., Sharmin, E., Zafar, F., Hasnat, A., Studies onambient cured polyurethane modified epoxy coatings synthesized from asustainable resource, Prog, Cryst,Growth Character, Mater,45 (1), p:83–88, 2002.

[18] Mecking, S., Nature or petrochemistry .Biologically degradable materials. Angew. Chem. Int. Ed. 43, p: 1078– 1085, 2004.

[19] Akiyama, M., Tsuge, T., Doi, Y., Environmental life cycle comparison of Polyhydro-xyalcanoates produced from renewable carbon resources by bacterial fermentation, Polym, Degrad, Stab, 80, p. 183–194, 2003.

[20] Ruan,W., Chen, J., Lun,S., Production of biodegradable polymer by A.eutrophus using volatile fatty acids from acidified waste water, Process Biochem,39 (3), p: 295–299. 2003.

[21] Rabetafika, HN., Paquot,M., Dubois, P., and Commercial Products, Weinheim, Germany: Wiley-VCH, p:129–177.