

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE & POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR & DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DJILLALI LIABES DE SIDI BEL-ABBES  
FACULTE DES SCIENCES EXACTES  
DEPARTEMENT DE CHIMIE

# THESE DOCTORAT EN SCIENCES

Présentée par

Mme ABDELMALEK Ilham (épouse TEMMAM)

Spécialité : chimie

Option : polymères biodégradables à usage pharmaceutique

Intitulée

*Etude de la libération de principes actifs aux pH physiologiques à partir de microparticules préparées et caractérisées. Tests biologiques.*

Soutenue le.....18/12/2017.Devant le jury composé de :

**Président :**

M BENGHALEM Abderrezzak    Professeur    Université Djillali LIABES    Sidi Bel Abbes

**Examineurs :**

M. MANSRI ALI    Professeur    Université Abou Baker BELKAID    Tlemcen

M. MEGHABAR Rachid    Professeur    Université d'Oran1    Oran

M. ABBOUNI Bouziane    Professeur    Université Djillali LIABES    Sidi Bel Abbes

**Directeur de thèse :**

M. MESLI Abderrezzak    Professeur    Université Djillali LIABES    Sidi Bel Abbes

**Co-Directeur de thèse :**

M. SIMONNEAUX Gérard    DR1-CNRS    Université de Rennes1    FRANCE

Année universitaire :

2016/2017

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*A la mémoire de mon beau frère HAMLAT Youcef*

*A ma très chère maman pour l'affection qu'elle m'a toujours portée et le réconfort moral que j'ai toujours trouvé auprès d'elle.*

*A mon père (que Dieu lui accorde Sa Miséricorde) qui m'a toujours encouragée à poursuivre mes études et m'a souhaité le succès.*

*A mes frères et sœurs.*

*A mon mari*

*A ma petite princesse Aya*

*A tous ceux qui me sont chers*

*A toute ma famille.*

## REMERCIEMENTS

*Ce travail de recherche a été réalisé au laboratoire de Chimie Organique Physique et Macromoléculaire (LCOPM) de la Faculté des Sciences Exactes de l'Université « Djilali LIABES » de Sidi Bel-Abbés sous la direction de Monsieur le Professeur **A. MESLI**.*

*Il m'est particulièrement agréable, avant la présentation de la présente étude, d'exprimer ma reconnaissance et mes sincères remerciements à Monsieur **A. MESLI**, Professeur à l'Université " Djilali LIABES ", pour m'avoir encadré, guidé et éclairé dans mon travail, Je le salue respectueusement pour son dévouement ainsi que pour l'apport précieux qu'il m'a prodigué.*

*Mes sincères remerciements vont à Monsieur **A. BENGHALEM**, Professeur à la Faculté des Sciences Exactes de l'Université "Djilali LIABES", de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.*

*Je remercie Monsieur **A. MANSRI** professeur de l'Université "Abou Bakr BELKAID" de m'avoir fait l'honneur de juger ce travail.*

*Je tiens également à remercier Monsieur **R. MEGHABAR**, Professeur à l'Université d'Oran qui a accepté de juger ce travail. Je lui exprime mon profond respect.*

*Mes remerciements vont également à Monsieur **B. ABBOUNI**, professeur à la Faculté des Sciences de vie et de la Nature de l'Université "Djilali LIABES" qui a eu l'amabilité de participer à ce jury et de juger ce travail.*

*Un grand merci à Monsieur **G. SIMONNEAUX**, Directeur de Recherche au CNRS à l'Université de Rennes1(France) pour son aide technique, pour sa collaboration dans ce travail et de venir de si loin pour faire partie de mon jury de thèse.*

*Je tiens aussi à exprimer toute ma reconnaissance à Mlle **I.SVHAN**, Ingénieure du centre d'Imagerie de Bordeaux pour les caractérisations MEB.*

*Je remercie également Mr **S. MESLI** pour son aide dans la caractérisation MEB de nos produits et les références bibliographiques fournies.*

*Je tiens également à remercier :*

- *Mme **F. Debab** Maître de Conférences Professeur à la Faculté des Sciences Exactes de l'Université "Djilali LIABES", pour son aide dans la partie expérimentale.*



*Laboratoire de Chimie Organique de la Faculté des Sciences Exactes pour leur disponibilité, et pour les analyses UV-VIS réalisées.*

- *Mlle **K. GUENAOUI**, Doctorante et Ingénieure du laboratoire de la Microbiologie Moléculaire, Protéomique et Santé de la Faculté des Sciences Exactes de l'Université D. LIABES de Sidi Bel-Abbes pour son aide dans les tests biologiques.*

- *Mr **A. BECHAKAT** Chef de Département de Chimie de l'Ecole Militaire Polytechnique pour la réalisation de quelques caractérisations IR et l'apport de quelques produits.*

*Je remercie également Madame **N. DOUWAR** Responsable du Centre de Mesures (CMFS) et Monsieur **M.DAHAOUI** Ingénieur du Laboratoire Chimie Organique Physique et Macromoléculaire (LCOPM) de la Faculté des Sciences de Sidi Bel-Abbes pour son aide et ses encouragements.*

*Il va de soi que j'adresse, à cette occasion un vibrant hommage à mes Enseignants qui m'ont permis de me former, grâce à leurs compétences et à leurs dévouement sans limite.*

*J'exprime toute mon amitié à mes ami(e)s et mes collègues pour leur sympathie et encouragements au cours de ce travail.*

*Enfin, j'exprime ma gratitude à ma mère, à mon frère Abderrahmane et à mon mari qui m'ont encouragée au cours de ma recherche : je les remercie pour leur disponibilité et leur soutien pendant les moments difficiles.*

*Table des matières*

INTRODUCTION GENERALE.....	1
<b>Chapitre I : Etude bibliographique</b> .....	
I.I. Introduction.....	4
I.II. Rappel bibliographique sur la libération contrôlée .....	4
I. II-1. Description des formes galéniques à libération contrôlée.....	4
I.II.1.1. Formes à libération " retardée " ou " différée " .....	5
I.II.1.2. Formes à libération "prolongée " ou "progressive".....	5
I.II.1.3. Formes à libération "soutenue" ou "constante".....	5
I.II.1.4. Formes à libération "répétée".....	5
I.II.2. Classification des systèmes de délivrance de médicaments.....	6
I.II.2.1. Systèmes « réservoirs ».....	6
I.II.2.2. Systèmes « matriciels ».....	7
I.II.2.3. Systèmes « hybrides ».....	8
I.II.3. Développement des polymères dans les systèmes à libération contrôlée .....	8
I.III. Généralités sur la microencapsulation.....	11
I.III.1. Introduction.....	11
I.III.2. Domaines d'application .....	12
I.III.3. Etapes de la microencapsulation.....	13
I.III.4. Matériaux d'encapsulation.....	15
I.III.5. Procédés de la microencapsulation.....	16
I.III.5.1. Procédés chimiques .....	17
I.III.5.2. Le procédés mécaniques .....	19
I.III.5.3. Procédés physico-chimiques .....	24
I.IV. L'émulsion .....	27
I.IV.1. Le tensioactif (surfactant).....	27
I.IV.2. Classification des tensioactifs.....	28
I.IV.3. Comportement du tensioactif en solution .....	29
I.IV.4. Emulsions et émulsions multiples .....	31
I.IV.5. Microémulsions.....	32
I.IV.6. Granulométrie .....	32

I.IV.7. Emulsification .....	34
I.IV.7.1. Déformation et rupture des gouttes.....	34
I.IV.7.2. Rôle du tensioactif sur l'interface et la rupture de gouttes .....	37
I.IV.7.3. Régimes d'écoulements .....	38
I.IV.7.4. Puissance consommée en cuve agitée .....	40
I.IV.8. Crémage et sédimentation.....	41
I.IV.9. Floculation.....	42
I.IV.10. Coalescence.....	42
I.V. Microencapsulation par coacervation complexe .....	44
I.V.1. Rappel bibliographique sur la microencapsulation par coacervation complexe.....	44
I.V.2. Les paramètres influençant la microencapsulation par évaporation de solvant..	49
I.VI. Microencapsulation par évaporation de solvant .....	51
I.VI.1. Rappel bibliographique sur la microencapsulation par évaporation de solvant.....	51
I.VI.2. Les paramètres influençant la microencapsulation par évaporation de solvant.....	54
I.VII. Libération des principes actifs encapsulés.....	57
I.VII.1. Introduction .....	57
I.VII.2. Mécanismes de la libération contrôlée.....	58
I.VII.3. Paramètres influençant la libération d'un principe actif encapsulé	61
I.VII.4. Polymères utilisés pour la libération contrôlée de principes actifs encapsulés.....	61
I.VII.5. Cinétiques de libération.....	63
I.VII.6. Mathématiques.....	65
I.VII.7. Traitement mathématique du modèle de diffusion.....	66
I.VII.8. Modélisation des cinétiques de relargage du principe actif selon les équations d'Higuchi et de Korsmeyer-Peppas.....	69
<b>Chapitre II : Partie Expérimentale</b> .....	
II.I. Généralités sur les produits encapsulés.....	71
II.I.1. L'ampicilline et l'amoxicilline .....	71
II.I.1.a. L'ampicilline .....	72
II.I.1.b. L'amoxicilline .....	73
II.I.2. La Procaine.....	74
II.I.3. Le Trans-cinnamaldéhyde.....	74
II.I.4. Monomère type amide.....	75

II.I. 4. a. Mode opératoire .....	76
II.I. 4. b. Caractérisation de l'amide synthétisé .....	77
II.I. 5. Le tétra phenyl porphyrine.....	81
II.I.5.a. Mode opératoire .....	81
II.I.5.b. Caractérisation du TPP.....	82
II.II. Matériaux d'enrobage.....	85
II.II.1. La gomme arabique .....	85
II.II.2. La gélatine .....	86
II.II.3. L'éthylcellulose.....	89
II.II.4. Le polycaprolactone.....	90
II.II.4.a. Mode opératoire .....	92
II.II.4.b. Caractérisation du PCL .....	92
II.III. Préparation des microparticules .....	97
II.III.1. Synthèse des microcapsules.....	97
II.III.2. Synthèse des microsphères .....	104
II.IV. Techniques de caractérisation des microparticules .....	108
II.IV. 1. Détermination de la quantité de principes actifs encapsulés .....	108
II.IV. 2. Distribution en taille .....	109
II.IV. 2.a. Détermination de la taille des microparticules par microscopie optique...	110
II.IV. 2.b. Exemple de calcul .....	111
II.IV. 2.c. Résultats granulométriques .....	111
II.IV. 3. Microscopie électronique à balayage "MEB" .....	113
II.IV. 4. Caractérisation des microparticules par spectroscopie Infrarouge .....	113
II.IV. 5. Caractérisation par DSC .....	113
II.IV. 6. Caractérisation par DRX .....	114
II.V. Processus de la libération de l'agent actif .....	114
II.V. 1. Dispositif expérimental .....	114
II.V. 2. Préparation des milieux d'étude .....	115
II.V. 3. Facteurs influençant les transferts de matières .....	116
II.V. 4. Analyse des principes actifs libérés .....	118
II. VI. Tests biologiques .....	122
II. VI.1. Introduction .....	122
II. VI.2. Préparation des milieux de culture .....	125

II. VI.3. Préparation des souches bactériennes .....	125
II. VI.4. Calcul des Concentrations Micellaires Inhibitrices (CMI) .....	127
II. VI.5. Etude de l'effet des microsphères sur la croissance des bactéries .....	128
I.VII. Caractérisations des microparticules .....	131
II.VI.1. Caractérisation des microcapsules préparées par le "procédé par coacervation complexe" .....	131
II.VI.1. a. Le taux d'encapsulation .....	132
II.VI.1. b. Morphologie des microparticules .....	132
II.VI.1. c. Distribution en taille .....	134
II.VI.1. d. Caractérisation des microcapsules par spectroscopie Infrarouge.....	135
II.VI.1. e. Observation au microscope optique.....	137
II.VI.1. f. Observation en microscope électronique à balayage (MEB) .....	138
II.VI.1. g. Interprétation de résultats.....	139
II.VI.2. Caractérisation des microsphères préparées par le procédé par évaporation de solvant .....	142
II.VI.2. a. Le taux d'encapsulation et la distribution en taille .....	143
II.VI.2. b. Caractérisation des microsphères par IR .....	144
II.VI.2. c. Morphologie des microparticules .....	147
II.VI.2.d. Caractérisation des microsphères préparées par MEB.....	148
II.VI.2.e. Caractérisation des microsphères par DSC .....	159
II.VI.2.f. Caractérisation des microsphères par DRX .....	160
II.VI.1. Interprétation des résultats de la formulation des microparticules .....	165
II.VI.1.a. Interprétation des résultats de la formulation des microcapsules .....	165
II.VI.1. b. Interprétation des résultats de la formulation des microsphères .....	168
<b>Chapitre III : Etude de la libération des principes actifs dans des milieux reconstitués à T=37°C.</b>	
III.I. Recherche de l'espèce prédominante des principes actifs aux pH d'étude 1,2 et 7,7.....	173
III.I.1.Étude à pH=1,2.....	174
III.I.2.Étude à pH=7,7.....	175
III.II. Analyse des quantités transférées.....	176
III.II.1.Introduction .....	176
III.II.2. Calcul de la quantité du principe actif libéré au cours du temps .....	176
III.II.3. Exemple de calcul .....	177
III.III. Cinétiques de relargage des principes actifs libérés par les microsphères.....	180

III.III. 1. Cinétiques de libération dans le pH=1,2 .....	181
III.III.1.a. Libération d'ampicilline (AM) .....	181
III.III.1.b. Libération de l'amoxicilline .....	182
III.III.1.c. Libération de la procaïne (PR) .....	185
III.III.1.c. Libération de la p-aminoacétophénone (AN).....	186
III.III. 2. Cinétiques de libération dans le pH=7,7 .....	187
III.III.3. Modélisation des cinétiques.....	190
III.III.3.a. Calcul de $m_{\infty}$ .....	192
III.III.3.b. Calcul des diffusivités .....	195
III.III.3.c. Modélisation des cinétiques de relargage des principes actifs selon les équations d'Higuchi et de Korsmeyer-Peppas .....	198
III.IV. Cinétique de relargage du cinnamaldehyde libéré par les microcapsules.....	201
III.IV.1.Cinétique de la libération des microcapsules références AGG01.....	201
III.IV.2.Cinétique de la libération des microcapsules AGG02-AGG09.....	202
III.V. Interprétation des résultats de libération des PA .....	209
III.V.1. Interprétation des résultats de la libération des PA à partir des microsphères .....	209
III.V.2.Interprétation des résultats de la libération des PA à partir des microcapsules .....	212
III.V.3.Caractérisation des microsphères après libération .....	214
III.VI.Tests biologiques.....	217
III.VI.1. Introduction .....	217
III.VI.2. Détermination des CMI .....	217
III.VI.3.Courbe de croissance.....	219
Conclusion générale.....	222
Références.....	224
Liste des tableaux.....	236
Liste des figures.....	238
Publications et communications.....	243
Annexe	

Liste des symboles

Abs	absorbance
AC	acétone
AM	ampicilline
AMO	amoxicilline
AN	p-aminoacétophénone
C	concentration
Cd	concentration de la fraction diluée (Mole/L).
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CN	cinnamaldehyde
Cp	concentration de la fraction prélevée (Mole/L).
d <sub>10</sub>	diamètre moyen en nombre
d <sub>32</sub>	Diamètre de Sauter
d <sub>43</sub>	diamètre moyen en masse
"D"	dispersion
D	coefficient de Diffusion (cm <sup>2</sup> .sec <sup>-1</sup> ).
DCM	Dichlorométhane
di	centre de classe
DO	densité Optique
EC	ethylcellulose
E.C	escherichia coli
ε <sub>max</sub>	coefficient d'absorption spécifique (L.cm <sup>-1</sup> .mole <sup>-1</sup> ).
v	fréquence.
GE	gélatine
I <sub>max</sub> /I <sub>0</sub>	la transmittance.
K	Klebsiella
l	largeur de la cellule en quartz (l=1cm)
LB	Luria Bertani
μ	taux de croissance
M	masse molaire moyenne.
mi	masse initiale du principe actif (t=0).
MH	Muller-Hinton
Mpa	masse molaire du principe actif.
MS	NH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> COCH <sub>3</sub>
mt	masse du principe actif libéré à l'instant « t ».
m∞	masse à l'équilibre.
ni	effectif
P	pseudomonas
Pa	principe actif.
PCL	ε-polycaprolactone
PLP	Protéines Liant les Pénicillines

## Liste des symboles

---

ppm	partie par million.
PR	procaïne
q.s.p	quantité suffisante pour.
Rdt	rendement
rpm	rotation par minute.
S	Staphylococcus
SD	Solution Diluée
SDS	dodécylsulfate de sodium
SE	Solution Extraite
T20	Tween20
T80	Tween80
t	temps
t <sub>t,c</sub>	temps courts
t <sub>t,l</sub>	Temps longs
TPP	tétraphényl-porphyrine
V <sub>2</sub>	présente le volume prélevé du milieuensemencé dilué à 5mL
Vd	volume de dilution.
Vf	volume du flacon.
Vp	volume du liquide prélevé.
X	DO déterminée du milieu de culture.



## *Introduction Générale*

De nos jours les microsciences et les microtechnologies sont un secteur stratégique essentiel, en croissance rapide avec une énorme recherche scientifique. Ce secteur est en effet porteur d'une évolution industrielle majeure qui permet d'organiser la matière à l'échelle des molécules. Les applications sont considérables dans tous les domaines : santé, matériaux, agroalimentaire... Dans le domaine de la santé, le développement de systèmes médicamenteux complexes de taille micrométrique (des microparticules qui permettent la délivrance de médicaments à des doses moins toxiques en raison de leur ciblage privilégié) fait appel à la pharmacie galénique qui est la science et l'art de préparer, de conserver, et de présenter les médicaments. Actuellement, ce terme concerne la totalité des médicaments contenant un principe actif qui nécessite une mise en forme galénique pour son administration. Cette forme existait sous plusieurs présentations mises sur le marché **(1)**.

L'objectif de l'industrie pharmaceutique est l'amélioration des propriétés des médicaments produits ce qui reflète l'importance de ces derniers pour la santé publique. Il est à noter que le développement et la création de nouvelles préparations médicamenteuses, dépendent de plusieurs paramètres y compris les propriétés du principe actif, cette molécule doit - par conséquent- conserver ses propriétés thérapeutiques pendant la cascade : depuis la mise du point jusqu' à la cible **(1)**.

L'encapsulation est parmi les préparations pharmaceutiques en cours d'élaboration par les grandes firmes médicamenteuses, qui consiste à encapsuler selon un procédé déterminé un principe actif dans une autre matière inactive afin d'améliorer les propriétés de conservation, de présentation et de biodisponibilité **(2, 3)**.

Les recherches développées dans ce domaine sont essentiellement basées sur l'étude expérimentale des procédés d'encapsulation (procédés conduisant à l'inclusion de substances au sein d'un matériau support). Une partie de ces recherches consiste en la mise au point de techniques de caractérisation de ces systèmes (taille, forme, état de surface, stabilité,...) et une autre partie consacre sur les phénomènes de libération des agents encapsulés.

Aucun médicament ne peut exercer une activité thérapeutique si la molécule biologiquement active qu'il renferme n'est pas capable de franchir les barrières biologiques qui séparent le site d'administration du site d'action. Les barrières à traverser sont des systèmes très complexes faisant intervenir plusieurs éléments (épithélium, endothélium, membrane cellulaire) et plusieurs composantes (barrières mécaniques ou physico-chimiques et barrières enzymatiques). Certaines molécules sont inefficaces car elles ne diffusent pas spontanément à l'intérieur de la cellule alors que leur cible thérapeutique est à localisation intracellulaire.

Ainsi, la vectorisation des médicaments est aujourd'hui un axe important de recherche dans le domaine pharmaceutique. Il s'agit donc de transporter des molécules biologiquement actives jusqu'à leur cible biologique (4).

Cette connaissance accrue permettrait de bien maîtriser les procédés de synthèse et d'améliorer la qualité des produits. Les procédés choisis dans cette étude sont les procédés de microencapsulation par coacervation complexe et par évaporation de solvant, des techniques les plus utilisées au niveau industriel et présentant un intérêt particulier pour le domaine pharmaceutique.

Le but précis de cette thèse de doctorat est de préparer différentes formulations à base des molécules médicamenteuses (l'ampicilline, l'amoxicilline et la procaïne) et trois molécules modèles (le p-aminoacétophénone, la tétra phényl porphyrine et le cinnamaldehyde); ainsi l'étude de leur libération à partir des différents systèmes microparticulaires obtenus selon le modèle d'Higuchi et de Korsmeyer-Peppas.

Le compte rendu de ces recherches sera présenté dans ce manuscrit en trois grandes chapitres :

- Le chapitre 1 sera consacré à la présentation d'un rappel bibliographique sur les systèmes des libérations contrôlées, sur les phénomènes d'émulsion et des principaux systèmes d'encapsulation, leurs propriétés ainsi que l'intérêt qu'ils représentent au niveau industriel.
- Nous commençons dans le chapitre deux par un rappel sur les principes actifs et les polymères utilisés suivie par une étude expérimentale des procédés de la microencapsulation afin d'étudier les paramètres influant sur les deux types de

préparations de microparticules que nous proposons. Les systèmes obtenus sont ensuite caractérisés par IR, Microscopie (Optique et électronique), DSC et DRX. Et on termine cette partie par des tests biologiques vérifiant l'efficacité des systèmes microparticulaires préparés.

- Dans le chapitre trois nous présentons l'étude de la libération des principes actifs à partir des microparticules préparées et les modèles de transfert de matière. Nous discutons enfin les résultats des tests biologiques réalisés.

- Une conclusion générale résumera les principaux résultats obtenus et dressera les propriétés d'avenir qui découlent du présent travail.

## **I.I. Introduction :**

Il y a quelques décennies, le souci principal de la pharmacie, était de mettre au point des formes galéniques qui permettent une bonne observance du traitement en diminuant le nombre de prises. Ceci assure un certain confort au patient et une meilleure biodisponibilité des médicaments (5). En effet, il est difficile pour le patient de suivre sans erreur ou sans oubli, une prescription comportant 3 ou 4 prises quotidiennes. La tâche devient encore plus difficile chez les sujets âgés caractérisés par des polyopathologies qui nécessitent des polymédications.

Les formes galéniques à libération modifiée sont des systèmes vecteurs de molécules actives qui permettent de diminuer le nombre de prises, de limiter les effets secondaires éventuels et d'améliorer le confort des patients (6). Ces systèmes consistent à transporter un principe actif vers la cible à atteindre, en gardant des taux sanguins efficaces, sans déborder vers les concentrations inefficaces ou toxiques, au moyen d'un vecteur soluble ou insoluble dans l'eau, inactif du point de vue thérapeutique. Cette vectorisation permet d'une part d'éviter l'administration directe du médicament dans le corps humain et d'autre part d'améliorer les caractéristiques pharmacocinétiques du principe actif vectorisé. Ce sont alors les propriétés du vecteur et non celles du principe actif qui détermineront le sort du système in vivo.

De nombreux systèmes à vocation thérapeutique sont, à ce jour, formulés pour provoquer une cinétique contrôlée de libération d'un principe actif. Les structures assurant cette propriété sont formulées de telle façon que cette libération soit réalisée suivant différents mécanismes dont les lois cinétiques sont connues (7) : dissolution, diffusion, perméation, échanges osmotiques.

## **I.II. Rappel bibliographique sur la libération contrôlée :**

### **I.II.1. Description des formes galéniques à libération contrôlée :**

Les premières études concernaient surtout les formes galéniques sphériques où les flux de matières (eau et principe actif libéré) sont de type radial et sont régis par la

première loi de Fick qui permet de relier le flux de matière transféré au gradient de concentration(8).

Lorsque les formes galéniques ont des formes différentes de la sphère, les calculs des transferts sont plus complexes. Selon le type de libération, les formes galéniques à libération modifiée ont été classées en quatre principales catégories (9-12) :

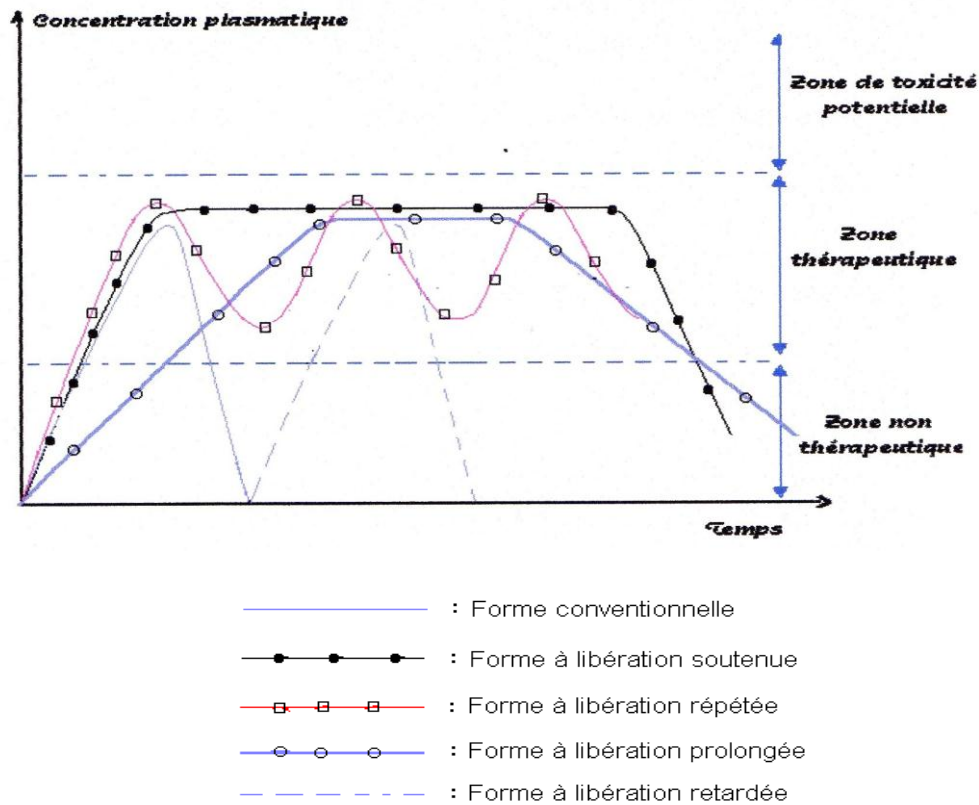
**I.II.1.1. Formes à libération " retardée " ou " différée " :** Le début du processus de libération présente un temps de latence par rapport à la forme conventionnelle. Ce sont des formes gastro-résistantes ou entériques qui sont destinées à éviter la libération de l'agent actif dans l'estomac.

**I.II.1.2. Formes à libération "prolongée " ou "progressive":** Elles assurent une concentration plasmatique efficace pendant une durée de temps très longue comparée à des formes classiques, toutefois, on observe une diminution de la concentration après un passage par un palier maximum.

**I.II.1.3. Formes à libération "soutenue" ou "constante" :** Elles sont appelées aussi formes à libération d'ordre cinétique zéro. Elles offrent une vitesse de libération indépendante du temps, et une concentration plasmatique efficace constante pendant une durée de temps très longue. Ce qui correspond au cas « idéal ».

**I.II.1.4. Formes à libération "répétée":** La libération obtenue avec une seule prise par ces formes est pareille à celle des prises répétées d'une forme conventionnelle. Leur avantage est d'éviter l'accroissement des effets indésirables causés par des administrations suivies.

Sur la **Figure 1** ci-dessous sont représentés les profils des concentrations plasmatiques en principe actif obtenus à partir des différentes formes à libération «modifiée» (10).



**Figure 1 :** Profil des concentrations plasmatiques obtenues à partir des différentes formes à libération modifiée.

### I.II.2. Classification des systèmes de délivrance de médicaments :

Selon la manière d'enrober les médicaments, ces formes galéniques sont classées en trois systèmes :

#### I.II.2.1. Systèmes « réservoirs » :

Dans les systèmes réservoirs (10) , le principe actif est enveloppé par une membrane polymérique (film de polymère gonflant ou non gonflant). La libération du médicament est réalisée par diffusion à travers cette membrane.

Il existe plusieurs agents d'enrobage comme les silicones, les hydrogels, l'éthyl cellulose, l'acétate de cellulose et l'éthylène- vinyl - acétate. Ces agents d'enrobage sont classés en :

- Matériaux poreux : ils retiennent l'agent actif dans leurs pores.
- Matériaux subissant une érosion chimique ou biologique, **exemple** : la Gélucire.
- Matériaux semi-perméables qui engendrent la formation de gradients osmotiques.

La vitesse de libération dépend alors :

- des concentrations du principe actif contenu à l'intérieur et à l'extérieur du réservoir.
- de l'épaisseur de la membrane.
- de la nature du polymère et la diffusivité du principe actif à travers le polymère.
- des interactions chimiques entre le polymère et le principe actif.
- de la masse moléculaire du principe actif.
- de la dureté du polymère.

Leur principal avantage est de pouvoir assurer une cinétique d'ordre zéro, mais peuvent entraîner de graves conséquences : problème de toxicité inhérent au poids moléculaire du polymère d'enrobage, et leur fabrication reste difficile et coûteuse.

### I.II.2.2. Systèmes « matriciels » :

Dans ces systèmes, le principe actif est dispersé dans le polymère « matrice » d'une façon homogène (13-15) On peut rencontrer plusieurs types :

- Les matrices minérales (formes inchangées).
- Les matrices inertes (formes inchangées).
- Les matrices lipidiques (érosion partielle).
- Les matrices hydrophiles (gonflement par hydratation)
- Les matrices mixtes : Inertes **hydrophiles** et Inertes **lipidiques**.

La diffusion du principe actif, à travers la matrice, est le résultat soit de sa dissociation par le liquide environnant qui pénètre dans le système, soit de la dégradation progressive de la matrice. Ces systèmes peuvent contrôler la libération du médicament et prolonger son action thérapeutique.

### **I.II.2.3. Systèmes « hybrides » :**

Ces systèmes englobent les deux autres systèmes. Ils sont constitués d'une membrane enveloppant l'agent actif, lui-même dans une matrice polymère.

De tels systèmes ont une grande résistance mécanique et offrent une cinétique de libération d'ordre zéro.

### **I.II.3. Développement des polymères dans les systèmes à libération contrôlée :**

Les polymères naturels et de synthèse ont été très utilisés depuis déjà quelques décennies dans l'élaboration de systèmes permettant la libération contrôlée de divers principes actifs (**16-18**). Le succès rencontré dans l'utilisation des polymères est surtout dû aux possibilités offertes par ces derniers, dont les propriétés physico-chimiques et mécaniques peuvent être modifiées aisément selon les profils de libération souhaités, compatibles avec l'effet thérapeutique recherché. Les polymères doués de propriétés pharmacologiques peuvent se ranger dans deux grandes familles :

- Polymères ayant un effet pharmacologique global dû aux propriétés chimiques de l'ensemble de la macromolécule (**19, 20**).
- Polymères biologiquement inertes utilisés soit comme supports sur lesquels sont fixés les médicaments par une liaison simple (**21, 22**) ou double (**23-26**) hydrolysable et un groupe espaceur soit comme simple matrice, type Eudragit, où sont dispersés les médicaments solides (**27-29**).

L'accrochage chimique du médicament sur la chaîne polymère sera réalisé selon les recommandations de Ringsdorf (**30**) : la liaison chimique de fixation du médicament devra pouvoir être hydrolysée dans les conditions physiologiques de température (37°C) et de pH compatibles avec l'action thérapeutique recherchée. Le



médicament est fixé en général à la chaîne linéaire du polymère à l'aide d'un groupe « espaceur » avec lequel il forme un groupe « pendant ». L'eau accédera plus facilement à ce dernier pour libérer le médicament par l'hydrolyse de la liaison « médicament-espaceur ». Le type de liaison chimique entre le médicament et l'espaceur-polymère va dépendre de la nature du médicament et de celle de l'espaceur. C'est ainsi que les liaisons ester (**31**), carbonate (**32**), acétate ou imine (**33**) ont été souvent utilisées comme fonctions d'accrochage de médicaments sur des polymères.

Les monomères éthyléniques porteurs du groupe « pendant » pré-formé contenant le médicament ont été largement mis à contribution pour la mise au point de médicaments retardés à base de polymères (**34-37**). Plusieurs médicaments ont été greffés sur des polymères comme l'aspirine (**37**), la procaine (**38, 39**), l'atropine (**40**) par exemple.

La fonction imine  $-CH=N-$  par exemple a permis de fixer de nombreuses amines primaires modèles ou principes actifs sur le vinylbenzaldéhyde (VBA) seul monomère éthylénique portant une fonction aldéhyde (**25**) (**41, 42**). La fonction amide permet aussi de greffer des amines primaires modèles sur le chlorure de méthacryloyl copolymérisé avec d'autres comonomères (**21, 22**) (**43**).

Les polymères supports prévus pour être administrés par voie orale devront répondre à des critères sévères de pureté, être donc non toxiques, non immunogènes, biocompatibles, solubles dans l'eau et de masses inférieures à  $30.000 \text{ g.mol}^{-1}$  (**44**). En effet les hautes masses molaires sont toxiques à cause de leur accumulation dans les tissus lipidiques. Ces critères sont en fait rarement atteints en totalité. Dans leurs efforts, pour réunir l'ensemble de ces critères dans un même système de relargage, des chercheurs sont parvenus ces dernières années à proposer des procédés innovants nouveaux. La conception actuelle des nouveaux systèmes particuliers pour le contrôle de la libération de divers agents thérapeutiques (médicament, gènes, enzymes...) fait appel majoritairement à l'encapsulation (**45-47**).

L'utilisation des microparticules en tant que systèmes à libération contrôlée offre d'importants avantages (**45, 46**) tels que :

1. la possibilité de contrôler de manière précise le taux de libération d'un principe actif incorporé,
2. la facilité d'administration,
3. l'utilisation des matrices biodégradables facilite le dégagement de ces derniers du corps humains après la libération complète du principe actif.

Ce type de système est utilisé pour le traitement de plusieurs maladies comme celle du système nerveux central (SNC) (45). En raison de la barrière hémato-encéphalique (BHE), seules des molécules lipidiques de faibles poids moléculaires et quelques peptides et éléments nutritionnels peuvent franchir cette barrière de manière significative, soit par diffusion passive ou par des mécanismes de transport spécifiques. Ainsi, il est difficile pour la plupart des principes actifs d'atteindre des concentrations d'ordre thérapeutique dans le tissu cérébral (49). De plus, des principes actifs puissants (anticancéreux et facteurs neurotropes) pouvant nécessiter d'être délivrés dans des régions spécifiques du SNC, sont fréquemment à l'origine d'effets secondaires sérieux dans d'autres parties du corps humain surtout si de fortes concentrations plasmatiques sont nécessaires afin d'assurer un taux suffisant de principe actif au tissu cible.

Petitti M et al. (49) ont développé un modèle théorique pour décrire la libération du principe actif solide microencapsulé : le processus de diffusion a été modélisé en détail et l'évolution du profil de la concentration du médicament a été évaluée dans la coquille polymère de l'enveloppe et dans la solution encapsulée. L'eau diffuse à travers l'enveloppe polymère et dissout le cœur solide formé de la substance active. Ils ont mené une analyse sensible pour étudier l'influence de certaines caractéristiques et des conditions opératoires sur le temps retard, sur le temps de dissolution du corps solide et sur la courbe de relargage. L'un des avantages importants de ces nouveaux dispositifs est le contrôle du temps d'établissement du flux stationnaire du médicament et de la vitesse de libération désirée (50).

Chan J M et al. (51) ont réalisé des nanoparticules polymériques « cœur-coquille » biodégradables encapsulant les médicaments de chimiothérapie Doxil/Caely et le Genexol-PM pour des thérapeutiques approuvées cliniquement. Les nanoparticules « cœur-coquille » utilisées par ces auteurs se composent d'un cœur hydrolysable formé d'un poly (D,L-lactide-co-glycolide), d'une monocouche de lécithine de Soja et d'une

coquille en poly (éthylène glycol). Elles ont été préparées par une méthode de nano-précipitation modifiée combinée avec une technique d'auto-assemblage.

Un autre exemple est donné par l'effet thérapeutique de l'architecture macromoléculaire de polyuréthanes biodégradables sur la libération contrôlée du corticoïde « acétate de dexaméthasone » incorporé à ces polymères non-toxiques sur l'uvéite maladie des yeux démontré par Rodrigues da Silva et al. (52). Le système libère dans l'œil une concentration constante en corticoïde pendant 53 semaines.

Le but de ce travail est d'étudier les paramètres clés permettant de maîtriser la microencapsulation de quelques principes actifs (Un monomère amide synthétisé, le tétraphenyl-porphyrine synthétisé, la procaïne, l'amoxicilline, et l'ampicilline) par évaporation de solvant et la microencapsulation du cinnamyldehyde par coacervation complexe. Il a été nécessaire de passer par un rappel bibliographique sur ces procédés d'encapsulation et par les notions d'émulsions.

### **I.III. Généralités sur la microencapsulation :**

#### **I.III.1. Introduction :**

La microencapsulation regroupe l'ensemble des technologies qui permettent la préparation de microparticules individualisées, constituées d'un matériau enrobant contenant un principe actif. Les microparticules présentent une taille comprise entre environ 1 et 1000  $\mu\text{m}$  et contiennent typiquement entre 5 et 90 % (en masse) de matières actives (45) (53).

Les principes actifs sont d'origines très variées : médicaments, parfums, additifs alimentaires, produits phytosanitaires, micro-organismes, cellules, et catalyseurs de réaction chimique (54).

Cette encapsulation consiste à créer une membrane de type polymérique d'origine naturelle (55, 56) ou synthétique (57, 58), ou de type lipidique (59), qui isole le principe actif du milieu environnant et le protège ainsi efficacement de tout facteur dégradant tels que: la

radiation lumineuse ou thermique, l'agression chimique et l'incompatibilité avec d'autres produits et permet d'avoir un effet retard pour les formes pharmaceutiques à libération prolongée (45).

### **I.III.2. Domaines d'application :**

La microencapsulation est actuellement très développée pour de nombreuses applications : élaborations des médicaments, en agro-alimentaire et dans la préparation des produits phytosanitaires.... Dans le tableau 1 suivant, on donne les domaines d'application de la microencapsulation (45).

<i>Domaine d'application</i>	<i>Produits encapsulés</i>
Agriculture	Herbicides, Fongicides, Microéléments, Insecticides...
Industrie alimentaire	Aromes, huiles essentielles, Colorants, Extraits de plantes, Antioxydants, Conservateurs, Agents antigels, Vitamines, Levures, Enzymes, Microorganismes...
Cosmétiques	Parfums, Huiles essentielles, Agents humectants, Extraits de plantes, Antiseptiques, Dissolvant pour vernis à ongles, Mousses à raser
Industrie pharmaceutiques et médicales	Antibiotiques, Insuline, Hydrocortisones, Vaccins, Vitamines, Anticorps, Antigènes, Cellules vivantes, Alcaloïdes, Enzymes, Analgésiques, Sédatifs, Contraceptifs, Interférons, Sulfonamides..
Electronique	Cristaux liquides, Matériaux à changements de phases, Aimants micromagnétiques, Matériaux semi conducteurs, Adhésifs, Agents de séchage...
Traitement de déchet	Microorganismes, Substrats, Enzymes catalyseurs, Déchets liquides,

	Déchets radioactifs...
Photographie	Halogénures d'argent, Pigments colorants, Composés photopolymérisables, Révélateurs pour photographie...
Industrie textiles	Matériaux à changements de phases, Colorants pigments, Parfums, Agents à effet mouchette, Stabilisants couleurs...
Industrie des détergents	Parfums, Agents décolorants, Enzymes, Antistatiques, Détachants, Silicones, Cires, Abrasifs...
Industrie Chimique	Catalyseurs et enzymes, Agents oxydants et réducteurs, Inhibiteurs de cohésions, Agent de séchage, Agents UV protecteurs, Matériaux chromatographiques, Agents lubrifiants, Agents de gonflement...
Biotechnologie	Enzymes immobilisées, Complexes multienzymatiques, Cellules artificielles, Cellules vivantes, Microorganismes, Composés nutritionnels, Produits radio-diagnostiques, Adsorbants...
Graphisme et peinture	Colorants, Révélateurs, Pigments, Adhésifs, Composés sensibles à la chaleur, Cristaux liquides.

**Tableau1** : Présentation des différents domaines d'applications de la microencapsulation.

### **I.III.3. Etapes de la microencapsulation :**

La microencapsulation se réalise généralement en trois étapes (54) :

1. *La première étape* consiste en l'incorporation du principe actif dans la matrice ou le cœur de la microparticule.

Dans le cas où l'enveloppe est liquide, l'incorporation consistera en une dissolution ou dispersion du principe actif dans la matrice. Si la matrice est un solide (poudre), l'incorporation du principe actif peut être réalisée par absorption dans la poudre ou

agglomération avec la poudre. Un principe actif solide (pur ou formulé) peut aussi constituer lui-même l'enveloppe des microparticules.

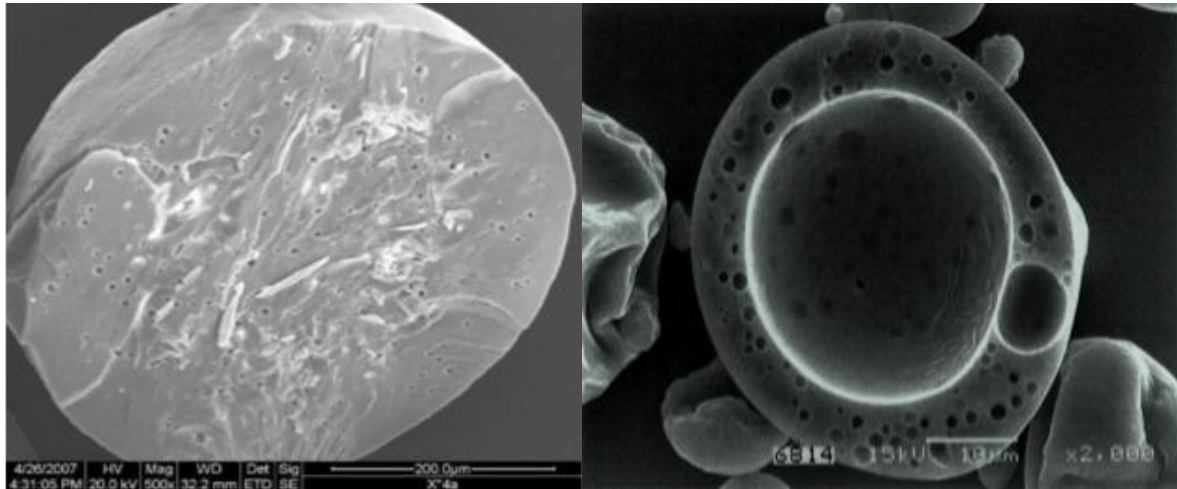
2. *La deuxième étape* est une opération mécanique consistant :

- soit à réaliser une dispersion liquide/air ou liquide/liquide dans le cas d'une matrice liquide.
- soit à pulvériser une solution sur les particules solides sous agitation dans le cas d'une matrice déjà organisé en particules.

3. *La dernière étape* consiste en une stabilisation par un processus chimique (polymérisation) physicochimique (gélification, coacervation) ou physique (évaporation, solidification, coalescence).

Les microparticules obtenues par microencapsulation peuvent se présenter sous deux types de morphologies distinctes (45, 46) :

- **Les microsphères** qui sont des particules constituées d'un réseau macromoléculaire ou lipidique continu formant une matrice dans laquelle se trouve finement dispersée la matière active. Cette dernière peut se présenter sous forme de fines particules solides ou encore de gouttelettes de solutions (Figure 2 à gauche).
- **Les microcapsules** qui sont des particules réservoirs constituées d'un cœur de matière active liquide ou solide, entourées d'une enveloppe solide continue de matériau enrobant (Figure 2 à droite).



**Figure 2 :** Morphologies des Microparticules.

#### **I.III.4. Matériaux d'encapsulation :**

Les matériaux (polymères et lipides) utilisés pour obtenir ces structures sont nombreux et variés. Le tableau 2 suivant donne les principaux polymères utilisés pour obtenir ces structures.

<i>Type de polymère</i>	<i>Nom Chimique</i>
Polymères naturels	Chitosane (60), Alginate (61, 62), Gélatine (63) (64), Gomme Arabique (65).
Polymère synthétiques	Poly lactide (66), poly epsilon-caprolactone (67) Polypropylène (68) ,
Copolymères	Poly (lactide -co- glycolide) (69, 70) Poly (Styrene-co- Methyl methacrylate) (71) Poly (melamine-urea-formaldehyde) (62)
Lipides et cires minérales	Corps gras solides, glycérides, cire (d'abeille, de carnauba..., cire minérales (45)

**Tableau 2:** Principaux polymères utilisés pour obtenir des structures microparticulaires.

**I.III.5. Procédés de la microencapsulation :**

Il existe plusieurs manières de classer les procédés de la microencapsulation selon différents critères (2) :

- ✓ L'utilisation ou non de solvant,
- ✓ La nature du milieu dispersant : liquide, gazeux ou à l'état supercritique,
- ✓ L'utilisation des polymères préformés, de lipides ou de monomères,
- ✓ Le procédé utilisé pour réaliser la microencapsulation.

Cette dernière classe est la plus couramment utilisée. Nous distinguons trois grandes familles classés dans le tableau suivant (73).

<b>Les procédés de la microencapsulation</b>	<b>Les techniques</b>	<b>Références</b>
Procédés physico-chimiques	Coacervation (simple ou complexe)	(65), (74)
	Evaporation/extraction de solvant	(57), (75)
	Gélification thermique	(45)
Procédés chimiques	Polymérisation interfaciale	(68), (76)
	Polymérisation en milieu dispersé	(77)
	Polymérisation radicalaire ou anionique	(77)
Procédés mécaniques	Procédé basé sur la technologie fluide supercritique	(78)
	Spray drying	(79, 80)
	Gélification ou Congélation de gouttes	(81)
	Enrobage en lit fluidisé	(45)
	Extrusion	(45)

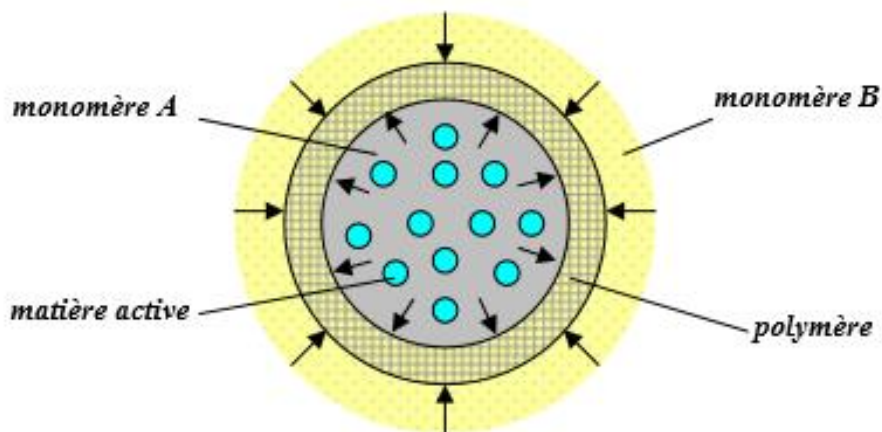
**Tableau 3 :** Les Procédés de la microencapsulation.



### I.III.5.1. Procédés chimiques :

Il consiste en la polymérisation autour de la matière active d'un ou de plusieurs monomères conduisant à la formation in situ d'une membrane de protection. Plusieurs types de polymérisation peuvent être envisagés : polycondensation, polymérisation radicalaire ou anionique.

- ✚ **Polymérisation interfaciale** : L'encapsulation par la polymérisation (polycondensation) interfaciale nécessite la formation d'une émulsion, où deux monomères sont solubles dans les phases de l'émulsion. Le principe actif se trouve dans la phase dispersée (82). La réaction de polymérisation se déroule à l'interface des gouttelettes contenant la matière active créant des parois des microcapsules (83) (Figure 3).



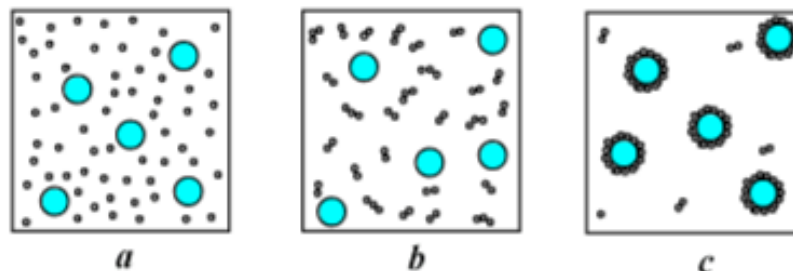
**Figure 3 :** Représentation du procédé de microencapsulation par polymérisation (polymérisation) interfaciale.

Ce procédé s'applique à des principes actifs liposolubles que solubles (84). La voie de polymérisation généralement utilisée est la polycondensation. Les particules obtenues par cette technique ont des tailles comprises entre quelques  $\mu\text{m}$  et une centaine de  $\mu\text{m}$ .

Les principales limitations du procédé de polymérisation interfaciale sont liées aux possibilités de réaction chimique entre la matière active et les monomères utilisés pour la formation de la membrane, ainsi que la solubilité de la matière active dans le solvant de la

phase continue qui peut entraîner sa migration et limiter le taux d'encapsulation. Les solvants organiques utilisés dans ce procédé sont généralement : le cyclohexane, le chloroforme, l'éthylènediamine et le dichlorométhane (85).

✚ **Polymérisation en milieu dispersé** : Le procédé chimique de microencapsulation en milieu dispersé peut avoir lieu en dispersion, en émulsion ou en microsuspension (2). La voie de polymérisation peut être anionique ou radicalaire. Le monomère est solubilisé dans la phase continue et le principe actif se trouve dans la phase dispersée. Après l'amorçage de la réaction de la polymérisation, les polymères formés précipitent à partir d'une longueur de chaînes critique formant ce que l'on appelle les noyaux primaires (**figure 4b**). La précipitation des chaînes polymériques autour du principe actif permet la formation d'une particule finale de type microcapsule (**figure 4c**). Dans ce procédé, un tensioactif peut être dans la phase continue pour stabiliser les agrégats de polymères et aider leur précipitation autour des gouttelettes contenant le principe actif.



**Figure 4 :** Principe du procédé de microencapsulation par polymérisation en milieu dispersé : (a) matière active dispersé dans la solution de polymère, (b): formation des noyaux du polymère et (c) formation des microcapsules.

Dans ce procédé, les conditions d'étalement entre les différentes phases doivent être respectées pour assurer une encapsulation efficace, il est impérativement nécessaire d'avoir une tension interfaciale entre la matière active et la phase continue supérieure à celle entre la phase continue et le coacervat.

Les principaux paramètres du procédé déterminant les caractéristiques finales des microcapsules sont :

- L'agitation (mode d'agitation, vitesse, temps) qui conditionne le diamètre moyen et la distribution en taille des particules.
- La concentration de la solution de polymère qui détermine l'homogénéité de la membrane d'enrobage et la distribution des masses moléculaires de cette membrane.
- Dans le cas de l'utilisation d'un tensioactif, sa nature et la concentration dans le milieu ont une influence sur le diamètre des microcapsules.

Cette technique est utilisée pour enrober les nanoparticules solides, notamment le dioxyde de titane, la silice, l'oxyde de fer et l'argent (86).

Les polymères formés au cours de l'encapsulation sont le polyacrylate, le polystyrène et le polyacrylamide. Les solvants utilisés dans la réaction de polymérisation peuvent être l'éthanol/eau, le méthanol et le cyclohexane.

Les tailles des particules obtenues par microencapsulation par polymérisation en milieu dispersé varient entre quelques dizaines de nm et quelques  $\mu\text{m}$ .

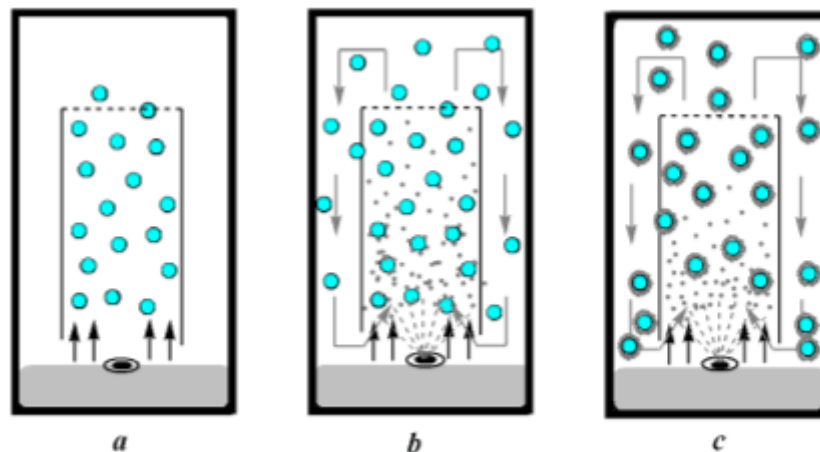
**I.III.5.2. Le procédés mécaniques :** mettant en jeu des techniques de pulvérisation, de formation de gouttes ou de gouttelettes et d'extrusion. On citera dans ce groupe les méthodes suivantes :

- ✚ ***Enrobage en lit fluidisé :*** Le procédé d'enrobage en lit fluidisé s'applique à des matières actives sous forme solide. Durant le procédé d'enrobage, il y a formation d'une couche de matrice homogène autour du principe actif donnant aux microparticules obtenus une structure de type capsule (87).

L'encapsulation se déroule dans une chambre cylindrique verticale d'un lit fluidisé. Initialement, les particules à encapsuler sont "fluidisées" à l'aide d'un flux d'air (Figure 5a). Ensuite, le matériau enrobant est pulvérisé sur cette suspension fluide de particules. Les gouttelettes de la solution de polymère entrent en contact avec la surface de particules du principe actif et si les conditions d'étalement sont respectées, le polymère

s'adsorbe à la surface des particules (**Figure 5b**). La couche d'enrobage se forme après plusieurs passages par les zones de pulvérisation et séchage permettant d'envelopper la particule par une couche continue et homogène (**Figure 5c**).

L'épaisseur de la couche de polymère formée varie de quelques  $\mu\text{m}$  à une vingtaine de  $\mu\text{m}$  (2).



**Figure 5 :** Représentation schématique de microencapsulation par méthode d'enrobage en lit fluidisé : (a) matière active "fluidisée", (b) pulvérisation de la solution de matière polymérique et (c) formation des microparticules.

La taille des microparticules préparées par le procédé d'enrobage en lit fluidisé peut aller de quelques dizaines de  $\mu\text{m}$  jusqu'à  $600\mu\text{m}$  et le taux d'encapsulation est compris entre 60% et 90% (2).

✚ **Extrusion:** La technique d'extrusion peut être utilisée pour l'encapsulation de matière active dans des polymères thermoplastiques, dont la viscosité à l'état fluide permet de préparer des microcylindres homogènes et réguliers (2).

Le produit à encapsuler et le matériau enrobant sont préalablement mélangés. Ensuite, ce mélange est passé à travers une extrudeuse dans laquelle il subit un certain nombre d'opérations : mélange, malaxage, mise en pression, échauffement, et détente.

Après extrusion, la matière obtenue est découpée en microparticules cylindriques, qui sont ensuite érodées mécaniquement pour rendre leur forme voisine celle de microsphères (45).

Les principaux avantages de cette méthode sont les suivants :

- des coûts de transformation faibles et des rendements élevés.
- les microparticules préparées ont une morphologie dense et sont peu poreuses.

Ce procédé est utilisé pour les matières enrobées résistantes à des températures élevées (environ 200°C). La taille des microsphères préparées par cette méthode est supérieure à 200 µm et le taux d'encapsulation peut atteindre les 50%.

✚ **Procédé basé sur la technologie de CO<sub>2</sub> supercritique** : Plusieurs travaux sont basés sur ce procédé d'encapsulation (88-90). A l'état supercritique, le fluide a des propriétés intermédiaires entre un gaz et un liquide.

Dans cette méthode, le principe actif est dispersé dans une solution de matière enrobante dans le fluide supercritique. L'élimination du dioxyde du carbone permet alors de précipiter les polymères de leur solution et créer un enrobage continu (90).

L'utilisation du CO<sub>2</sub> supercritique, qui est non toxique, non inflammable et recyclable dans le domaine de la microencapsulation donne la possibilité d'obtenir des microparticules par une méthode simple. La limite dans cette technique est la solubilité de la matière enrobante dans le CO<sub>2</sub> fluidisé dont la polarité est proche de celle de l'hexane.

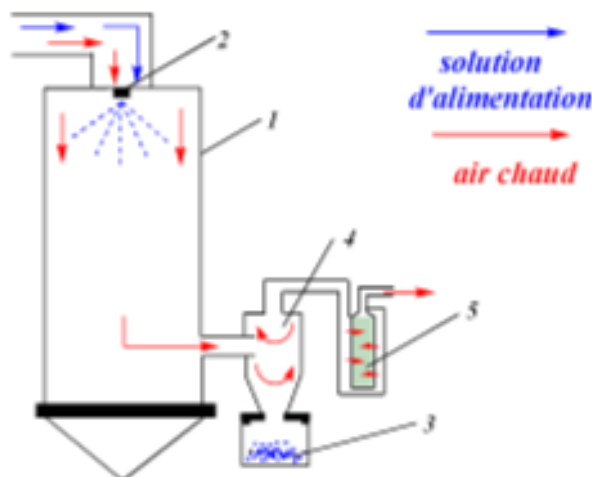
Les polymères couramment utilisés sont des polymères synthétisés tels que les polylactides, les polyacrylates et les polyéthers (88, 90-92). Les particules obtenues sont généralement des microsphères de taille 1 à 100 µm et de taux d'encapsulation de 10-40%.

✚ **Atomisation (spray-drying)** : Ce procédé permet la transformation de préparations liquides en poudres sèches.

Plusieurs formes de liquides initiales peuvent être utilisées en microencapsulation par atomisation (90-92):

- L'émulsion : La matière active est émulsionnée dans une solution contenant le matériau enrobant.
- La solution : la matière active et le matériau enrobant sont solubilisés dans le même solvant.
- La dispersion : des particules solides de matière active sont dispersées dans la solution de la matière enrobante.

L'étape initiale de cette technique est la préparation de la forme liquide nommée solution d'alimentation, homogène et stable dans le solvant adapté. Le procédé se base sur la pulvérisation et le séchage de cette solution à l'aide d'un atomiseur (**Figure 6**).



**Figure 6 :** Représentation schématique de l'atomiseur.

1 : chambre d'atomisation, 2 : une buse d'atomisation, 3 : le récipient de récupération, 4 : un cyclone, 5 : un filtre

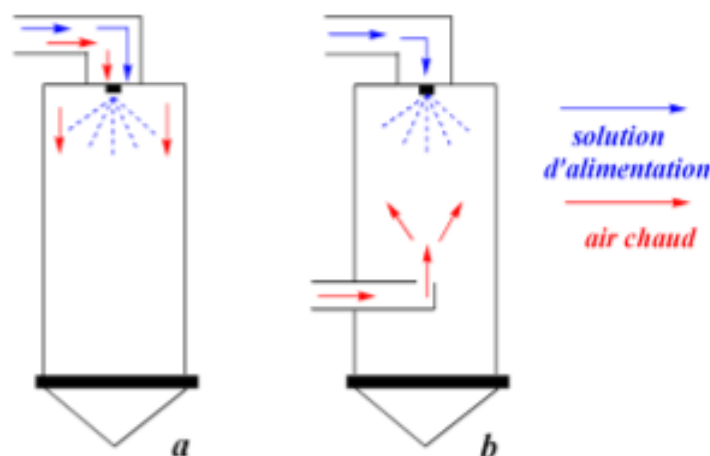
L'atomiseur est généralement constitué d'une haute tour (chambre d'atomisation), au sommet de laquelle la formulation liquide initiale est injectée à l'aide d'une buse d'atomisation. Après le contact des microgouttes de la solution liquide avec un flux d'air chaud, le solvant (généralement l'eau) s'évapore. En effet, un transfert de chaleur depuis l'air vers la phase aqueuse se produit à cause de la différence de température et de la pression entre

la phase liquide et la phase gazeuse qui permet le transfert des molécules de solvant du produit vers l'air chaud. La vitesse de diffusion du solvant du cœur de la microgoutte à sa surface est constante et égale à la vitesse d'évaporation à la surface. Finalement, quand la quantité de solvant dans la gouttelette atteinte est niveau critique, l'enveloppe sèche est formée. La vitesse d'évaporation diminue et devient dépendante de la vitesse de diffusion de l'eau à travers la surface. Le séchage est terminé quand la température de la particule devient égale à celle de l'air dans la chambre d'atomisation (88).

Les microparticules formées sont collectées dans le récipient de récupération après une séparation du flux d'air par passage dans un cyclone. L'air humide est évacué vers la sortie par passage à travers le filtre.

Le séchage peut être effectué suivant deux régimes différents :

- ✓ Quand la solution est pulvérisée dans le même sens que le flux d'air chauffé, l'appareil fonctionne à co-courant (**Figure 7a**)
- ✓ Lorsque les microgouttes pulvérisées présentent initialement une trajectoire opposée au flux d'air chaud, l'appareil fonctionne à contre-courant (**Figure 7b**)



**Figure 7 :** Schéma de principe d'un appareillage d'atomisation :

(a) à co-courant et (b) à contre-courant.

La taille moyenne des microparticules obtenue par procédé d'atomisation varie entre 1 µm et 100 µm pour le séchage à co-courant et entre 50 µm et 200 µm pour le séchage à contre-courant où l'agrégation des petites microparticules avec les grandes est plus fréquente.

La morphologie des particules est de type microsphère, avec une forme sphérique, et une surface lisse ou parfois fripée.

Les paramètres qui peuvent influencer l'efficacité de ce procédé sont **(88)** :

- La viscosité et la température de la préparation du liquide de départ.
- La température de l'entrée et de la sortie de l'appareil.
- La nature et la concentration de la matière active et de la matière enrobante.

**I.III.5.3. Procédés physico-chimiques** : Ils sont basés sur les variations de solubilité et les conditions de précipitation des agents enrobants. Il s'agit par exemple de la précipitation contrôlée d'un polymère en solution, par ajout d'un non solvant ou d'un polymère incompatible (coacervation). Les autres méthodes se basent sur la variation de température de la solution (évaporation de solvant) ou sur le changement d'état, comme solidification, des agents enrobants (gélification thermique d'émulsions).

✚ **Gélification** : Plusieurs matières (polysaccharides, protéines, polymères synthétiques, lipides) en solution peuvent former des gels soit par refroidissement **(93)**, soit par contact avec certains ions chélateurs **(94)**.

Le procédé de gélification se base sur l'encapsulation d'une matière active dissoute ou dispersée dans une solution de matière enrobante ou dans un matériau fondu. L'ensemble est émulsionné soit dans une phase dispersante où la température est maintenue supérieure à la température de fusion d'enrobage (gélification thermique), soit dans une solution contenant des ions chélateurs qui provoquent la gélification. Les microparticules de gel formé peuvent être ensuite récupérées par filtration et séchées.



Les avantages que peut apporter ce procédé sont les suivant :

- La possibilité d'obtenir une distribution granulométrique des particules très étroite.
- Lorsque des polymères hydrosolubles sont utilisés comme l'alginate de sodium (95), l'encapsulation peut être réalisée à des températures égales ou inférieures à la température ambiante, ce qui est intéressant lorsque la matière à encapsuler est particulièrement fragile ou volatile.
- La taille des particules obtenues varie entre quelques dizaines et quelques centaines de  $\mu\text{m}$  et le chargement des microparticules en matière active est autour de 20% (2).

✚ **Coacervation** : Le terme de coacervation décrit le phénomène de désolvation de macromolécules conduisant à une séparation de phases au sein d'une solution.

A l'issue de la coacervation deux phases seront en présence dans le milieu :

- Le coacervat : riche en polymère et pauvre en solvant.
- Le surnageant : pauvre en polymère et riche en solvant.

La microencapsulation par coacervation consiste à provoquer la précipitation de la matière enrobante par séparation de phase autour de la matière active. Une microcapsule est alors formée.

Quand la quantité de matière active dans le milieu est très faible par rapport au coacervat, les particules peuvent s'agréger et donc former une microsphère.

Deux types de coacervation sont connus : la coacervation complexe quand la structure du coacervat comprend plusieurs polymères et la coacervation simple quand la matrice est formée d'un seul polymère.

✚ **Coacervation complexe** : La coacervation complexe consiste en l'utilisation de deux polyélectrolytes hydrosolubles portant des charges opposées, provoquée par une modification du pH du milieu aqueux (96, 97). Cette méthode sera beaucoup plus détaillée ci dessous.

✚ **Coacervation simple** : la coacervation simple consiste en des répulsions polaires et apolaires entre deux solutés dont l'un doit être un polymère (98). Elle

est provoquée par une désolvatation directe du polymère qui a lieu après changement du pH ou de la température, par addition d'un non solvant ou d'un électrolyte.

Le principal avantage de la coacervation est qu'il est possible d'utiliser aussi bien des polymères hydrophobes que les polymères hydrophiles (**99**), car le coacervat peut se former en milieu organique ou aqueux. Les tailles des particules obtenues par la coacervation vont de quelques  $\mu\text{m}$  à quelques centaines de  $\mu\text{m}$  et le taux d'encapsulation peut atteindre les 90%.

✚ **Evaporation de solvant** : La méthode de microencapsulation par évaporation de solvant (**100**) repose sur l'évaporation de la phase interne d'une émulsion sous agitation. Cette technique est le plus souvent utilisée dans le domaine de la pharmacie pour la production et la libération contrôlée de médicament. Cette méthode est décrite en détail dans la suite de ce mémoire.

Les principaux facteurs affectant le diamètre moyen et la morphologie des microparticules sont la composition et le procédé de leur fabrication (**2**) :

Les paramètres de composition sont :

- la proportion de solide dans la phase organique,
- la nature et le volume de solvant ajouté,
- la viscosité de la phase organique et de la phase aqueuse,
- le type et la concentration de tensioactif,
- la quantité de phase organique et de phase aqueuse,
- la concentration initiale en monomère ou en polymère.

Les paramètres physico-chimiques du procédé sont :

- le profil de température et de pH pendant la production,
- la configuration du réacteur,
- le type d'agitateur,
- la vitesse et la puissance d'agitation,
- la technique de fabrication.

Dans la suite, nous allons nous concentrer sur la notion d'émulsion et sur la formulation des microparticules par coacervation complexe et par évaporation de solvant.

#### **I.IV. L'émulsion :**

L'émulsion signifie un système contenant au moins deux liquides non miscibles, dont l'un est dispersé dans l'autre. On distingue donc une phase dispersée et une phase continue. Si la phase continue est une phase huileuse, c'est une émulsion eau dans huile (W/O, type inverse). Si la phase continue est constituée d'un liquide polaire associé, c'est une émulsion huile dans eau (O/W, type directe) (101).

En général pour préparer une émulsion, il est nécessaire d'avoir au moins une phase aqueuse, une phase huileuse et un tensioactif. Par un apport d'énergie mécanique, la mise en commun des différents composants conduit à la formation d'une dispersion appelée émulsion.

Une émulsion est un système thermodynamique instable, qui tend à terme, vers la séparation de phases (demixion). Le tensioactif ralentit les mécanismes physiques qui conduisent à la séparation de phases et permet une « stabilité » cinétique du système.

Le rôle du tensioactif dans la préparation d'une émulsion est de diminuer la tension interfaciale, et par conséquent de diminuer l'énergie nécessaire pour rompre les gouttes. L'adsorption du tensioactif à l'interface des gouttes permet d'augmenter la « stabilité » du système.

##### **I.IV.1. Le tensioactif (surfactant):**

Les molécules de tensioactifs comportent deux parties de polarités différentes : une partie apolaire, hydrophobe, lipophile, présentant une affinité pour les huiles et une partie polaire, hydrophile, présentant une affinité pour l'eau. La partie lipophile est constituée par une ou plusieurs chaînes hydrocarbonée(s) aliphatique(s), linéaire(s) ou ramifiée(s), aromatique(s) ou encore alkylaromatique(s). Le caractère hydrophobe de la partie hydrocarbonée varie avec le nombre d'atomes de carbone, le nombre d'insaturations et les ramifications. En règle générale, le caractère hydrophobe croît avec le nombre d'atomes de carbone et diminue avec le nombre d'insaturations. La partie hydrophile, ou tête polaire, est constituée par un ou plusieurs groupements polaires (s), ionique (s) ou non ioniques (s).



**Figure 8 :** Molécule d'un tensioactif.

Ce caractère double leur permet de se placer aux interfaces eau-huile, et de diminuer la tension interfaciale, stabilisant ainsi les gouttes contre la coalescence. Les émulsions sont utilisées comme véhicules de conditionnement mixtes aquo-organiques de produits divers comme les peintures, les bitumes, les denrées alimentaires, les médicaments, les composés cosmétiques et les produits d'hygiène (102).

#### **I.IV.2. Classification des tensioactifs :**

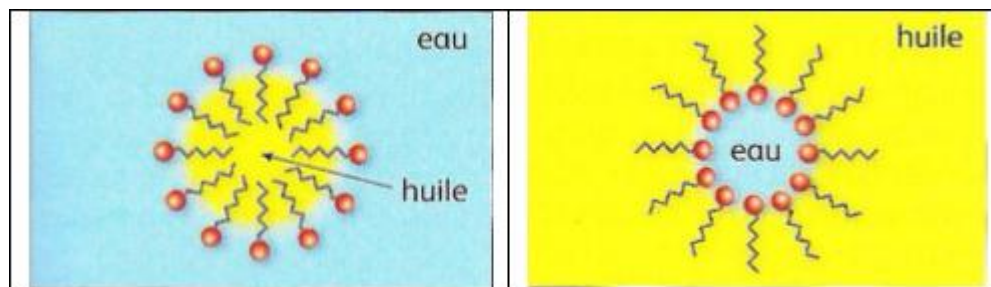
Les tensioactifs sont classés en quatre groupes selon la nature de la tête polaire : anioniques, cationiques, non ioniques et zwitterioniques (103, 104).

- Anioniques : pour ce type de tensioactif les groupes polaires courants sont des carboxylates, sulfates, sulfonates ou phosphates.
- Cationiques : la plupart des tensioactifs cationiques sont à base d'atomes d'azote, en particulier ammoniums quaternaires.
- Non ioniques : les composés tensioactifs non ioniques sont le plus souvent polyfonctionnels ; polyéthers (tensioactifs polyéthoxylés) ou polyols. Les polyéthers ont typiquement un groupe polaire constitué de 4 à 10 unités d'oxyde d'éthylène. Les tensioactifs à base de polyols les plus courants sont les esters de sorbitane, les alkyl glucosides et les polyglycérols esters. Les tensioactifs non ioniques, les plus utilisés dans les industries alimentaires et pharmaceutiques sont les esters de sorbitane, aussi appelés Span et Tween.

- Zwitterioniques : ils comportent deux groupements ioniques de charges opposées. Ils sont par conséquent parfois classés comme non ioniques. Les composés tensioactifs zwitterioniques les plus répandus sont les bétaines et les sulfobétaines. La charge positive est typiquement un ammonium, et la charge négative la plus commune est un carboxylate.

### **I.IV.3. Comportement du tensioactif en solution :**

Les tensioactifs ont la capacité de former en solution des Systèmes Moléculaires Organisés (SMO) thermodynamiquement stables, des micelles directes ou inverses (**figure8**) et des cristaux liquides. La concentration en solution aqueuse à partir de laquelle un composé tensioactif forme une micelle est appelée concentration micellaire critique (CMC). La valeur de la concentration micellaire critique dépend de la nature chimique du tensioactif (longueur de la chaîne lipophile et nature de la tête polaire), et également d'autres paramètres tels que la concentration en électrolytes ou la température.



**Figure 9 :** Les types de micelles.

Le Système Moléculaire Organisé (SMO) se base sur trois paramètres du tensioactif : la surface par tête polaire [ $a_t (\mu\text{m}^2)$ ], le volume de la chaîne alkyle [ $v_c (\mu\text{m}^3)$ ], et la longueur de la chaîne alkyle [ $l_c (\mu\text{m})$ ](105).

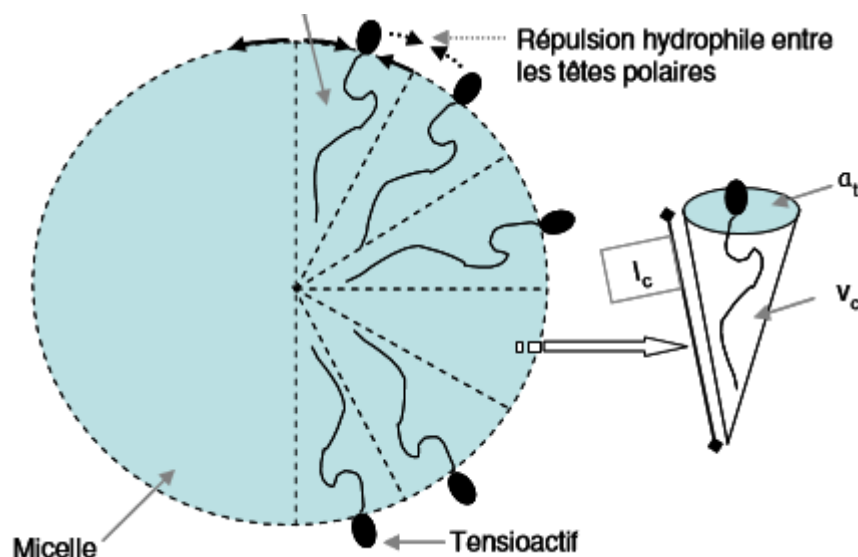
A partir de ces paramètres, il est possible de définir le paramètre d'empilement (P) établi par le rapport entre  $v_c$ ,  $a_t$  et  $l_c$  selon :

$$P = v_c / a_t * l_c \quad [1]$$

Pour des valeurs de  $P$  inférieures à  $1/3$ , les micelles directes sont favorisées, tandis que pour des valeurs supérieures à  $1$ , la formation de micelles inverses est préférée.

Il existe quelques règles générales pour modifier la valeur de  $P$  (105) :

- en changeant la surface de la tête polaire ( $a_t$ ) par augmentation ou diminution de la concentration en électrolyte (tensioactifs ioniques),
- par modification du pH du système (tensioactifs ioniques)
- changement de la température (tensioactifs non ioniques).
- en modifiant le rapport  $v_c/l_c$ , par l'augmentation du nombre de groupes alkyles de la chaîne hydrocarbonée du tensioactif en utilisant des chaînes insaturées ou ramifiées,
- en changeant le degré d'éthoxylation de la tête polaire pour les tensioactifs polyéthoxylés.



**Figure 10 :** Paramètres Géométriques d'un tensioactif.

Les tensioactifs jouent un rôle très important dans la formation et la conservation des émulsions. Leur structure les pousse à se réunir sur les limites interfaciales entre les liquides polaire et non polaire.

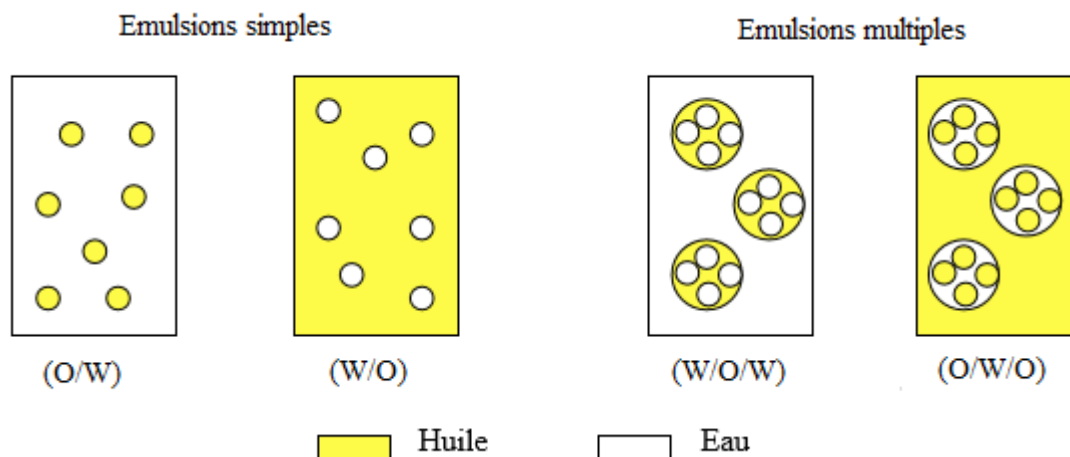
**I.IV.4. Emulsions et émulsions multiples :**

Les surfactants changent les propriétés de l'interface ce qui joue un rôle important dans la stabilité des émulsions, inversement, lors de la conception de systèmes émulsionnés, le procédé de fabrication et les proportions relatives des phases lipophiles et hydrophiles sont des facteurs moins importants (106).

La phase dispersée (ou la phase interne) est présente sous forme de fines gouttelettes dans la phase continue (ou phase externe). Les principales émulsions utilisées en pharmacie sont des mélanges de solutions aqueuse et huileuse. Selon les cas, on distingue :

- Des émulsions huile dans l'eau, appelées lipophile/hydrophile (O/W) et formées de gouttelettes d'huiles dispersées dans une phase aqueuse continue externe.
- Des émulsions d'eau dans l'huile encore appelées hydrophile/lipophile (W/O) et formées de gouttelettes d'eau dispersées dans une phase huileuse continue externe.

Les émulsions O/W sont préparées par l'émulsification d'agents qui sont plus solubles dans la phase aqueuse que dans la phase huileuse alors que les émulsions W/O sont préparées par l'émulsification d'agents qui sont plus solubles dans la phase lipophile. De ce fait, il est possible, dans des conditions opératoires bien précises de former des émulsions multiples.



**Figure 11 :** Représentations schématiques des différents types d'émulsion.

#### **I.IV.5. Microémulsions :**

Le terme de micro-émulsion a été introduit en 1959 par Schulman (106) pour décrire des émulsions transparentes. Le plus souvent, les microémulsions sont décrites comme des systèmes biphasiques composés de gouttelettes très fines (10-200 nm), d'où leur aspect (lié au fait que les diamètres des gouttelettes sont inférieurs aux longueurs d'onde de la lumière visible). Mais une autre description en a été faite comme systèmes monophasiques obtenus grâce à un émulsifiant permettant la coexistence des molécules de la phase aqueuse et de la phase huileuse sous forme de microdomaines d'une dizaine de nanomètres : « Les microémulsions sont des mélanges d'eau, d'huile et d'amphiphile qui forment une phase unique à l'équilibre thermodynamique, au lieu de se séparer en une phase aqueuse et une phase huileuse » (107-108). La description la plus satisfaisante admet plusieurs structures en équilibre : une structure de type biphasique, avec des micro- gouttelettes dispersées, et une structure dite bicontinue (109).



**Figure 12 :** Structure bicontinue des microemulsions.

#### **I.IV.6. Granulométrie :**

La granulométrie correspond à la taille des gouttelettes de la phase dispersée : *distribution de taille et diamètre moyen* (110).

Si la distribution de taille des gouttelettes ou distribution granulométrique est généralement monomodale (les diamètres se distribuent en un pic unique), dans certains cas,



on observe des distributions bimodales. Si la distribution est resserrée, on parle d'émulsion homogène ou monodisperse, sinon d'émulsion hétérogène ou polydisperse.

La taille des gouttelettes d'une émulsion se distribue de façon continue des plus petites aux plus grosses. Généralement les données brutes concernant la taille, données sous forme de diamètres, sont réparties en catégories discrètes ou classes granulométriques avec mention du nombre de gouttelettes ( $n_i$ ) pour chaque catégorie.

La distribution de taille des gouttelettes ou distribution granulométrique peut être représentée par la fréquence en nombre ( $f_i$ ) des gouttelettes dans chaque catégorie de taille :

$$f_i = n_i / N \quad [2]$$

$n_i$  nombre de gouttelettes de la classe  $i$ ,  $N$  nombre total de gouttelettes.

On parle dans ce cas de distribution granulométrique en nombre.

Les distributions granulométriques sont modélisables par une loi log-normale (ce qui signifie que si les abscisses sont en coordonnées logarithmiques, l'allure de la distribution est normale : distribution gaussienne). De fait, les représentations de distribution granulométrique se font sur des repères semi-logarithmiques. D'autres paramètres sont utilisés pour représenter la granulométrie d'une émulsion : le pourcentage en surface ou le pourcentage en volume.

Des calculs de pourcentages en surface et en volume peuvent être effectués sur toute une population. Dans une distribution en surface (ou aire), on calcule pour chaque classe granulométrique le pourcentage de la surface des gouttelettes de la classe considérée par rapport à l'aire de l'ensemble des gouttelettes de toutes les classes :

$$A_i = a_i / A_N \quad [3]$$

$A_i$  : pourcentage de la surface des gouttelettes de la classe  $i$ ,

$a_i$  : surface des gouttelettes de la classe  $i$ ,

$A_N$  : surface de l'ensemble des gouttelettes analysées.

La surface ( $a_i$ ) de l'ensemble des gouttelettes de cette classe est obtenue en multipliant la surface d'une goutte [ $4\pi r_i^2 = 4\pi (d_i/2)^2$ ] par le nombre de gouttes de la classe considérée ( $n_i$ ) :

$$a_i = n_i * 4 * \pi * r_i = n_i * 4 * \pi * (d_i/2)^2 \quad [4]$$

De même, pour une distribution volumique, le volume ( $v_i$ ) de l'ensemble des gouttes d'une classe  $i$  s'exprime par :

$$v_i = n_i * 4/3 * \pi * r_i^3 = n_i * 4/3 * \pi * (d_i/2)^3 \quad [5]$$

Le pourcentage en volume ( $V_i$ ) des gouttes de la classe  $i$  correspond au rapport :

$$V_i = v_i / V_N \quad [6]$$

$v_i$  : Volume des gouttelettes dans la classe granulométrique  $i$ ,

$V_N$  : Volume total de toutes les gouttelettes.

### **I.IV.7. Emulsification :**

Une émulsion nécessite l'apport d'une certaine énergie fournie par un système d'agitation. Cette énergie permet de déformer et de rompre les gouttes. La rupture des gouttes et les propriétés de l'émulsion sont conditionnées par le procédé choisi (géométrie du système d'agitation, type d'agitateur, vitesse d'agitation, temps d'émulsification) et par des conditions de formulation (nature et concentration d'huile, nature et concentration du tensioactif, concentration en électrolyte).

#### **I.IV.7.1. Déformation et rupture des gouttes**

Si l'on considère une goutte isolée de phase dispersée dans la phase continue, l'augmentation de la surface totale par rupture des gouttes nécessite l'apport d'énergie à la solution par le système d'agitation puisque la déformation d'une unité de surface de  $1\text{m}^2$  correspond à la tension interfaciale **(111)**.

Les forces capillaires qui s'exercent au contact entre les deux phases non miscibles et qui induisent une différence de pression entre les phases (pression de Laplace  $\Delta P_L$ ), laquelle tend à maintenir la forme de la goutte:

$$\Delta P_L = \frac{2\gamma}{Rg} \quad [7]$$

Où :

$\Delta P_L$ : Pression de Laplace (Pa)

$\gamma$  Tension interfaciale (N/m) ou (Joule/m<sup>2</sup>)

$Rg$  Rayon d'une goutte (m)

Les nombres adimensionnels qui permettent de représenter le rapport entre les différentes forces pendant l'émulsification sont :

**1- Le nombre de Reynolds**, qui quantifie le rapport entre les forces de viscosité et les forces d'inertie.

$$Re = \frac{\rho N (Da)^2}{\eta} \quad [8]$$

Re Nombre de Reynolds

$\rho$  Masse volumique (kg/m<sup>3</sup>)

N Vitesse d'agitation (tr/s)

Da Diamètre de l'agitateur (m)

$\eta$  Viscosité (Pa.s)

La masse volumique ( $\rho$ ) et la viscosité ( $\eta$ ) correspondent en général aux propriétés physiques de la phase continue, mais elles peuvent être considérablement modifiées quand la fraction volumique de la phase dispersée ( $\varphi_v$ ) est élevée ( $\varphi_v > 0.5$ ). On prend alors, par exemple la viscosité de l'émulsion.

**2. Le nombre Capillaire et le nombre de Weber**, lesquels quantifient le rapport entre les contraintes mécaniques appliquées sur la goutte par l'écoulement externe et la demi-pression de Laplace. On utilise le nombre capillaire pour les contraintes visqueuses, ou le nombre de Weber pour les contraintes inertielles :

$$Ca = \left( \frac{\eta \dot{\gamma} d}{2\gamma} \right) \quad [9]$$

$$We = \left( \frac{\rho N^2 d}{2\gamma} \right) \quad [10]$$

Où :

Ca : Nombre capillaire

We : Nombre de Weber

$\dot{\gamma}$  : Vitesse de cisaillement (1/s)

d : Diamètre de la goutte (m)

$\gamma$  : Tension interfaciale (N/m) ou (Joule/m<sup>2</sup>)

Selon que le régime d'écoulement est laminaire ou turbulent, c'est le nombre capillaire ou le nombre de Weber qui gouverne les processus de dispersion mécanique.

**3. Le rapport des viscosités** permet de prendre en compte la transmission des déformations ou des contraintes de la phase continue vers la phase dispersée (seulement en régime laminaire)

$$R_v = \frac{\eta_d}{\eta_c} \quad [11]$$

Où :

$R_v$  Rapport de viscosités entre la phase dispersée et la phase continue

$\eta_c$  Viscosité de la phase continue (Pa.s)

$\eta_d$  Viscosité de la phase dispersée (Pa.s)

**I.IV.7.2. Rôle du tensioactif sur l'interface et la rupture de gouttes :**

Au cours de l'émulsification, le rôle le plus important des tensioactifs consiste à abaisser la tension interfaciale eau/huile pour diminuer la pression de surface ( $\Pi$ ) (112) :

$$\Pi = \gamma_0 - \gamma \quad [12]$$

Où :

$\Pi$  Pression de surface (N/m)

$\gamma_0$  Tension interfaciale sans tensioactif (N/m)

$\gamma$  Tension interfaciale avec le tensioactif (N/m)

Le transfert du tensioactif dans un procédé d'émulsification peut s'effectuer selon deux mécanismes, la migration vers l'interface eau/huile et la diffusion à la même l'interface.

- *Migration vers l'interface*

La migration du tensioactif vers la goutte est principalement établie par convection et dépend du type de régime d'écoulement. Par exemple, pour un écoulement en régime laminaire le temps caractéristique d'adsorption est donné par l'équation suivante (113):

$$\tau_{ads} = \frac{6\pi\Gamma}{CMC\dot{\gamma}} \quad [13]$$

Où :

$\tau_{ads}$  Temps d'adsorption du tensioactif (s)

$\Gamma$  Surface en excès (quantité de tensioactif adsorbé) (mg/m<sup>2</sup>)

CMC Concentration micellaire critique (mg/m<sup>3</sup>)

$\dot{\gamma}$  Vitesse de cisaillement (1/s)

d Diamètre de la goutte (m)

- *Diffusion à l'interface*

Pendant la déformation d'une goutte, l'aire interfaciale augmente et le tensioactif adsorbé est redistribué au sein de l'interface. Le mécanisme qui gouverne cette distribution est la diffusion et le coefficient de diffusion ( $D_f$ ) associé à ce phénomène dépend de plusieurs paramètres, dont un des plus importants est la viscosité ( $\eta_{pv}$ ) de la phase la plus visqueuse. Le temps caractéristique lié à la diffusion du tensioactif dans l'aire interfaciale est donné par l'équation suivante (114) :

$$\tau_{dif} = \frac{d^2}{D_f} ; \text{ Si } D_f > 10^{12} d^2 \eta_{pv} \quad [14]$$

Où :

$\tau_{dif}$  Temps de diffusion (s)

$D_f$  Coefficient de diffusion ( $m^2/s$ )

$d$  Diamètre de la goutte (m)

$\eta_{pv}$  Viscosité de la phase la plus visqueuse (Pa.s)

### I.IV.7.3. Régimes d'écoulements :

L'agitation des deux phases dans un procédé d'émulsification doit permettre à la fois le cisaillement pour déformer et rompre les gouttes et l'homogénéisation dans toute la cuve.

- *Écoulement laminaire*


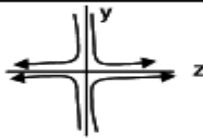

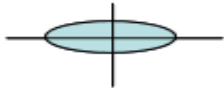
Dans un procédé d'émulsification, les principaux types d'écoulement sont l'écoulement de cisaillement simple et l'écoulement hyperbolique (écoulement élongationnel) (105).

Dans un écoulement de cisaillement simple, la goutte se déforme en ellipsoïde, et le fractionnement de la goutte se produit si le nombre capillaire (Ca) est suffisamment grand. Au cours de l'émulsification, Ca décroît, et si la valeur de celui-ci devient inférieure à une valeur critique ( $Ca_{crit}$ ), la goutte ne peut plus se diviser. Le nombre capillaire critique

correspond au diamètre maximal de la goutte, qui peut donc ne plus être fractionnée par des contraintes extérieures, et celui-ci dépend du rapport des viscosités ( $R_v$ ) :

- ❖  $R_v < 0.2$ , la goutte se déforme initialement en ellipsoïde, et la rupture de la goutte génère de petites gouttelettes satellites.
- ❖  $R_v \sim 1$ , il y a d'abord une déformation initiale de la goutte en ellipsoïde, ensuite formation d'une surface en forme de vague, et finalement la rupture en gouttelettes et gouttelettes satellites.
- ❖  $1 < R_v < 3.8$ , il existe une déformation initiale en ellipsoïde, après laquelle il y a formation d'une surface en forme de vague, et finalement la rupture de la goutte en deux gouttes plus petites.
- ❖  $R > 3.8$ , il existe une déformation de la goutte en ellipsoïde, mais la viscosité de la phase dispersée est beaucoup plus élevée que la viscosité de la phase continue, et la rupture de la goutte est très difficile à obtenir.

*L'écoulement hyperbolique* génère également une déformation de la goutte sous forme d'ellipsoïde, dont le grand axe est aligné dans le sens de l'écoulement.

Écoulement → ↓	Cisaillement simple	Hyperbolique
Lignes d'écoulement		
Forme de la goutte		

**Figure 13 :** Différents types d'écoulements bidimensionnels et leurs effets sur la déformation d'une goutte (115).

- ***Écoulement Turbulent***

La théorie de Hinze-Kolmogorov (116) établit que la rupture des gouttes dans un écoulement turbulent est due aux forces inertielles. Ces forces sont liées aux fluctuations de la pression dans les régions voisines des tourbillons et la différence de pression s'écrit (105) :

$$\Delta p_{(x)} = \varepsilon^{2/3} x^{2/3} \rho^{1/3} \quad [15]$$

Où :

$\varepsilon$  Taux de dissipation de l'énergie cinétique turbulente (W/m<sup>3</sup>)

$\rho$  Masse volumique de la phase continue (kg/m<sup>3</sup>)

$\Delta p_{(x)}$  Différence de pression (Pa)

$x$  Longueur du tourbillon (m)

Si  $\Delta p_{(x)}$  est plus élevée que la pression de Laplace ( $\Delta PL$ ) à proximité d'un tourbillon, la rupture de la goutte est possible. Cette rupture peut être plus efficace si le diamètre de la goutte est égal à la taille du tourbillon. En égalant les deux équations précédentes, on obtient une expression du diamètre maximum ( $d_{\max}$ ) des gouttes qui ne sont pas fractionnées dans un écoulement turbulent, parce qu'elles sont très grandes par rapport à la taille des tourbillons.

$$d_{\max} = \varepsilon^{-2/5} \gamma^{3/5} \rho^{-1/5} \quad [16]$$

Où :

$d_{\max}$  Diamètre maximum des gouttes qui ne sont pas fractionnées (m)

$\gamma$  Tension interfaciale (N/m)

#### **I.IV.7.4. Puissance consommée en cuve agitée :**

L'énergie éparpillée pendant une opération d'agitation ou d'homogénéisation dépend de la géométrie de la cuve et du type de fluide. Elle se détermine via la consommation de puissance qui est exprimée à l'aide d'un nombre adimensionnel appelé nombre de puissance ( $N_p$ ) (117) :



$$N_p = \frac{\omega C}{D_a^5 N^3 \rho} \quad [17]$$

Où :

$N_p$  Nombre de puissance

$\omega$  Vitesse angulaire de rotation de l'agitateur (rad/s)

$C$  Couple mesuré sur l'arbre d'agitation (N.m)

$D_a$  Diamètre de l'agitateur (m)

$\rho$  Masse volumique ( $\text{kg/m}^3$ )

L'application des principes de conservation de masse et de quantité de mouvement permet, via l'analogie dimensionnelle, de montrer qu'il existe, dans des cuves agitées, une validation fonctionnelle simple entre le nombre de puissance et le nombre de Reynolds, si  $\eta$  est la viscosité du fluide agité, supposé newtonien. Cette relation est :

$$N_p = N_p(\text{Re}) \quad [18]$$

Elle définit pour chaque type d'agitateur une relation spécifique représentée par ce qu'il est convenu d'appeler une courbe de puissance. En régime laminaire :

$$N_p = \frac{K_p}{\text{Re}} \quad [19]$$

Où  $K_p$  est un facteur géométrique, caractéristique du système cuve-agitateur, en fait un facteur de forme.

#### **I.IV.7.5. Stabilité des émulsions :**

La stabilité des émulsions est liée à la capacité qu'a la formulation à ralentir les mécanismes physiques suivants : la sédimentation ou le crémage (réversible), la floculation (réversible), le mûrissement d'Ostwald (irréversible) et la coalescence (irréversible). Chacun de ces phénomènes sera présenté séparément tout en sachant qu'un phénomène peut en déclencher un autre. Par exemple, quand le crémage se produit, le mouvement du système

augmente la vitesse à laquelle les gouttes se rencontrent ce qui influence le taux de floculation et de coalescence du système (103, 118).

#### **I.IV.8. Crémage et sédimentation :**

Les phénomènes de crémage et sédimentation se produisent quand il existe une différence de densité entre les phases. Sous l'influence de la pesanteur, la phase la plus dense se dirige vers le bas et l'autre vers le haut. On peut considérer que, dans une émulsion très diluée les gouttes sont très éloignées les unes des autres. La vitesse de crémage/sédimentation est établie à partir de la loi de Stokes (119):

$$V_c = \frac{\Delta\rho d^2 g}{18\eta} \quad [20]$$

$V_c$  Vitesse de crémage/sédimentation (m/s)

$g$  Accélération de la pesanteur ( $m/s^2$ )

$d$  Diamètre de la goutte (m)

$\Delta\rho$  Différence de masse volumique ( $kg/m^3$ )

$\eta$  Viscosité (Pa.s)

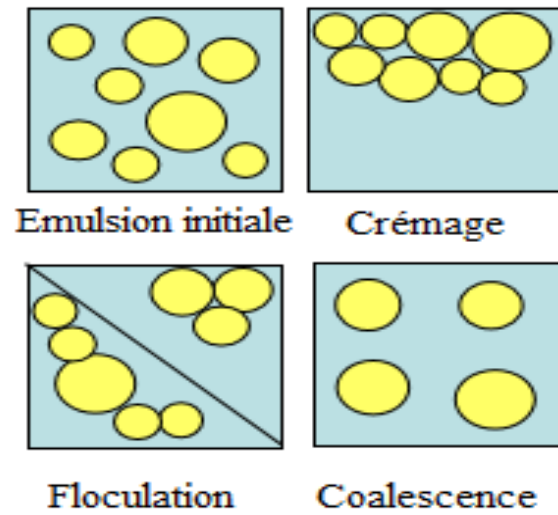
Quand la fraction volumique de la phase dispersée ( $\phi_v$ ) est élevée, cette analyse n'est pas correcte, parce qu'elle ne tient pas compte de l'interaction entre les gouttes.

#### **I.IV.9. Floculation :**

La floculation est un phénomène de formation d'agglomérats, générés par les forces d'attraction entre les gouttes.

#### **I.IV.10. Coalescence :**

Pendant la coalescence, deux ou plusieurs gouttes vont fusionner pour former une goutte plus grosse. La cause de ce phénomène est la tendance du système à diminuer la surface totale des gouttes. La nouvelle goutte formée par la coalescence a une surface plus petite que les deux gouttes initiales.



**Figure 14 :** Stabilité des émulsions.

**I.V. Microencapsulation par coacervation complexe :****I.V.1. Rappel bibliographique sur la coacervation complexe :**

La coacervation : est un phénomène colloïdal qui implique la diminution de solubilité d'un polymère dans un solvant par addition de quantité importante de différents composés : un alcool, un deuxième polymère plus soluble ou un sel (sulfate de sodium) (120).

Les molécules de polymère qui sont désolvatées coalescent et forment des gouttelettes, dites gouttelettes de coacervat. Si la coacervation se fait dans un milieu où il y a deux phases, les gouttelettes de coacervat se regroupent à l'interface créant ainsi une membrane. Il suffit alors de durcir la membrane, de la rendre plus résistante par des réactions de crosslinking entre les molécules de polymère (121).

La microencapsulation par coacervation consiste à disperser une substance (médicament, parfum, herbicide...) à encapsuler dans un milieu. Ce milieu doit solvater les macromolécules qui vont constituer l'enveloppe (45). La microparticule se forme lors de la désolvatation de ces macromolécules qui viennent s'adsorber sur la surface du matériau à encapsuler.

La désolvatation sera réalisée d'une action chimique ou physique comme : un abaissement de la température, une modification de pH (coacervation complexe), ou l'addition d'un non-solvant (coacervation simple).

Le caractère amphiphile des biopolymères influe sur le type de coacervation (simple ou complexe) et sur le couplage ionique-gélification par abaissement de température et du pH. Sur les tableaux suivants sont donnés quelques exemples de biopolymères en coacervation simple et complexe (45, 122).

<i>Biopolymères utilisés en solvant aqueux</i>	
<i>Polymères hydrophiles</i>	<i>Agent de coacervation</i>
Gélatine	Ethanol Sels de Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> ou NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (sulfate, citrate, tartrate)
Méthylcellulose	Acétone
Pectine	Isopropanol
Acétophtalate de cellulose	Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>

**Tableau 4 :** Quelques exemples de biopolymères utilisés en solvant aqueux dans la coacervation simple.

<i>Biopolymères utilisés en solvant non aqueux</i>		
<i>Polymères hydrophiles</i>	<i>Solvant</i>	<i>Agent de coacervation</i>
Ethylcellulose	Cyclohexane (80°C)	Abaissement de T Ajout polymère incompatible (polyéthylène, polyisobutylène) et abaissement de T.
Ethylcellulose	Dichlorométhane	Addition d'un non solvant (n-hexane)
Carboxy-méthylcellulose	Acétate d'ethyle	Addition d'un solvant incompatible (éther éthylique)

**Tableau 5 :** Quelques exemples de biopolymères utilisés en solvant non aqueux dans la coacervation simple.

<i>Biopolymères anioniques</i>	<i>Biopolymères cationiques</i>	<i>Agent de coacervation</i>
Gomme arabique	Gélatine	Abaissement de pH
Sulfate de cellulose	Polyamine quaternaire	
Carboxy-méthylcellulose	Gélatine	

**Tableau 6 :** Quelques exemples de biopolymères utilisés en coacervation complexe.

Les colloïdes de type polysaccharides sont largement utilisés dans le domaine de la microencapsulation et ont fait leurs preuves dans de nombreux domaines tels que : la pharmacie, les cosmétiques, les textiles et en agroalimentaire.

Les opportunités de formulation des microcapsules par coacervation complexe à base des biopolymères sont très nombreuses. En effet de nombreuses sources de protéines existent pour lesquelles les caractéristiques de charges opposées conduit à la formation de coacervats qui peuvent être stabilisés en jouant sur la physicochimie de la complexation comme le rapport protéine/polysaccharide et la concentration totale (123).

Les dérivés de la cellulose, sont très largement valorisés en microencapsulation par coacervation complexe. Le greffage des groupes chimiques tels que les méthyles, hydroxyéthyle, ou carboxyméthyle a comme fonction de rendre le polymère soluble et dans d'autres cas pour limiter le gonflement et la désintégration des microparticules dans les milieux physiologiques.

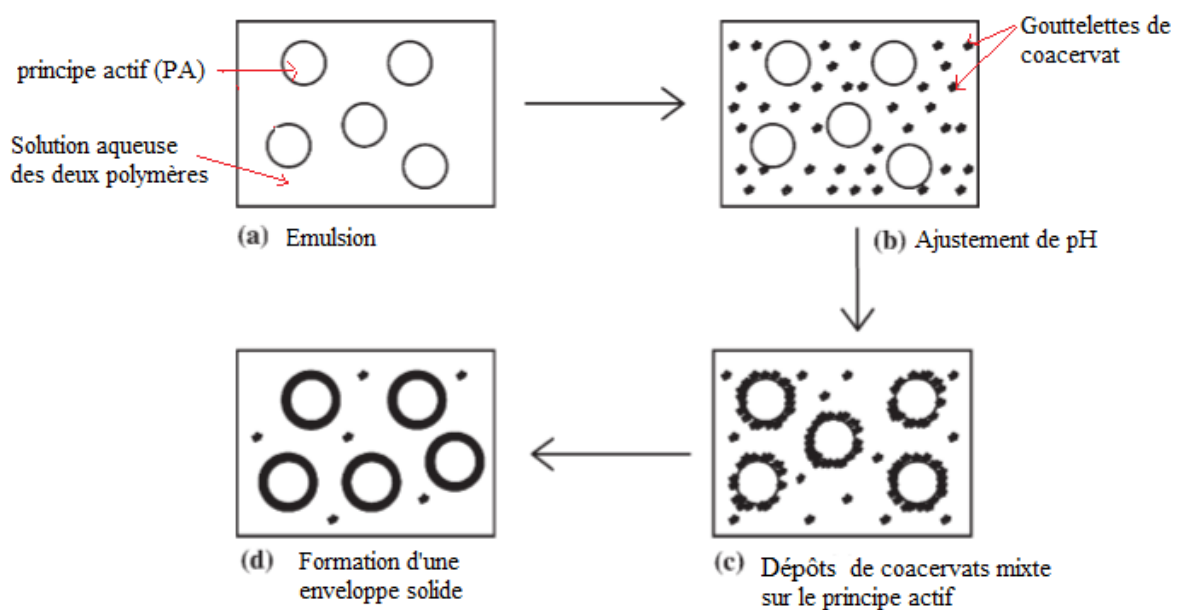
La coacervation se produit par interaction directe ou indirecte. Dans la première situation, les interactions mises en jeu entre les macromolécules sont de nature hydrogène, hydrophobe ou électrostatique. Il y a une compression des macromolécules sur la surface du colloïde ou des gouttelettes et la succession de dépôt des coacervats à la surface provient de la quantité de non solvant ajouté (coacervation simple) ou l'abaissement du pH (coacervation complexe) (122, 123).

On discerne deux types de coacervation selon le mode de désolvation :

- ❖ **La coacervation simple** : Le principe actif est émulsionné dans une solution aqueuse de polymère. La désolvation des macromolécules est induite par un agent ayant une grande affinité pour l'eau et aucune affinité pour le polymère. Les non-solvants couramment utilisés sont l'éthanol et l'acétone (122).
- ❖ **La coacervation complexe** : La coacervation complexe met en jeu la désolvation simultanée de deux colloïdes. L'huile est émulsionnée dans une solution contenant deux polymères. L'un des deux polymères à un pH isoélectrique 4,8 comme la Gélatine et l'autre polymère est anionique comme le carraghénane ou la gomme arabique. Par modification du pH, les deux polymères, l'un négatif, l'autre positif, vont former le coacervat qui enrobe les

gouttelettes d'huile. L'ajustement du pH de coacervation est fonction des colloïdes employés (123 - 126).

Lorsque la désolvatation simultanée de deux polyélectrolytes hydrosolubles portant des charges opposées est provoquée par une modification de pH du milieu, on parle de coacervation complexe (127). La structure du coacervat est complexe puisqu'elle comprend deux polymères, par opposition à la coacervation simple qui génère des gouttelettes de coacervats constitués d'un seul polymère. Le procédé d'encapsulation par coacervation complexe se déroule selon le schéma de la figure suivante (126) :



**Figure 15** : Schéma du principe d'encapsulation par coacervation complexe.

Dans la première étape le principe actif à encapsuler (sous forme liquide ou solide) est dispersé dans une solution aqueuse contenant les deux polymères. Dans la deuxième étape, la coacervation est réalisée par un ajustement du pH de la solution pour que les charges positives du premier polymère équilibrent les charges négatives du second polymère. L'attraction électrostatique des deux polyélectrolytes provoque l'apparition d'un coacervat mixte. Dans une troisième étape, les gouttelettes de coacervat formées viennent s'adsorber à la surface du principe actif à encapsuler pour former une enveloppe continue.

Finalement, cette enveloppe est consolidée par réticulation des macromolécules constitutives du coacervat (127).

Dans cette méthode, on utilise des solutions de polymères très diluées (concentration inférieure à 3%), pour que le phénomène de coacervation puisse se produire. La membrane des coacervats peut ensuite être éventuellement réticulée par un agent réticulant tel que le glutaraldéhyde ou l'acide tannique. Finalement on peut isoler et sécher les microparticules.

La réticulation chimique ou physique des microcapsules est souvent indispensable afin d'assurer l'intégrité du matériau au cours des étapes du procédé de formulation faisant intervenir la température, le cisaillement et la pression. Le glutaraldéhyde fut pendant longtemps l'agent chimique privilégié pour la réticulation mais son utilisation sera limitée pour des raisons de santé.

Des alternatives sont apparues avec l'utilisation de tannins et de phénols végétaux pour précipiter les protéines aux interfaces. De plus, la présence de groupements chimiques réactionnels dans le cas des protéines et polysaccharides autorise la réticulation des microcapsules. En effet, la présence de groupement  $\text{COO}^-$  et  $\text{NH}_4^+$  dans le cas des protéines et quelques hétéropolysaccharides permet facilement la réticulation thermique à des  $T > 50^\circ\text{C}$  ou par le biais d'agents chimiques incluant les dialdéhydes, les chlorures de diacides et les carbodiimides.

L'efficacité de réticulation à l'aide du glutaraldéhyde est obtenue dans le cas des protéines végétales préalablement précipité à l'aide d'un surfactant. Tout agent de réticulation résiduel ou ayant partiellement réagi peut être éliminé par traitement des microcapsules avec un excès d'éthanol dans le cas des polysaccharides ou un excès d'acides aminés dans le cas des protéines (45).

Les particules obtenues sont des capsules, leur taille varie de quelques micromètres à quelques dizaines de nanomètres. Elle dépend essentiellement de la taille initiale de principe active dispersé dans l'étape de l'émulsion. La taille des microcapsules pourra être modifiée en agissant sur la vitesse d'agitation.

Les taux d'encapsulation sont très élevés, de l'ordre de 80%. Les rendements de formulation sont aussi très élevés. Un des inconvénients du procédé concerne le choix limité



de matériaux d'enrobage puisque seulement deux polyélectrolytes portant des charges opposées peuvent être utiles. Seules les matières actives lipophiles peuvent être encapsulées selon ce procédé : huiles végétales ou minérales, huiles essentielles...

Pour réaliser l'optimum de coacervation, on doit avoir un pH pour lequel l'écart d'ionisation est maximal, ainsi que les proportions respectives des polymères à employer.

### **I.V.2. Les paramètres influençant la microencapsulation par coacervation complexe :**

La réaction de coacervation est donc influencée par divers facteurs comme (45, 126, 127) :

❖ Le pH :

Le pH joue un rôle important dans le processus de la coacervation complexe. Il permet le contrôle du degré d'ionisation des groupements libres des deux chaînes macromoléculaires polysaccharide et protéine nécessaires à cette méthode.

La coacervation entre ces deux types de chaînes est obtenue aux pH inférieurs au  $pH_i$  isoélectrique de la protéine. Aux  $pH=pH_i$ , on atteint le point d'équivalence où le nombre des groupements positifs est égal à celui des groupements négatifs. Aux pH inférieurs au  $pH_i$ , la protéine sera chargée positivement et les interactions électrostatiques interchaînes pourront avoir lieu conduisant aux coacervats (124).

❖ La force ionique et la densité de charge des macromolécules :

La force ionique a une influence importante sur la valeur du pH de formation du coacervats. Les fortes concentrations salines peuvent produire un effet inverse et éliminent la coacervation complexe. Si la densité de charge des biopolymères (nombre moyen de charges par unité de longueur) est trop faible, l'interaction électrostatique sera insuffisante pour la séparation de phase.

❖ Le rapport des biopolymères :

Pour la neutralisation entre les deux biopolymères, le rapport de ces derniers devient un facteur important. Si les biopolymères sont de type stœchiométrique, la neutralisation sera obtenue pour des rapports de 1/1 (128).

❖ L'agent réticulant :

Les agents réticulants jouent un rôle important pour la stabilisation des microparticules. La recherche montre que les microparticules préparées en présence d'un agent réticulant présentent un taux d'encapsulation élevé et une libération prolongée (129).

❖ La température :

La température possède un effet important sur la coacervation complexe, elle influence la formation de complexes en favorisant les interactions hydrophobes à haute température et les liaisons hydrogène à basse température.

❖ La vitesse et le mode d'agitation :

La vitesse d'agitation utilisée a une grande influence sur la taille des microparticules. Les recherches montrent qu'en augmentant la vitesse d'agitation, on obtient de petites microparticules (45).

L'encapsulation par coacervation complexe est largement utilisée dans de nombreux domaines industriels alimentaires et pharmaceutiques. A. Bhattacharyya et J-F Argillier (123) ont utilisé la gomme arabique et la gélatine comme couple polymérique pour l'encapsulation de la paraffine par coacervation complexe sans et avec la présence d'un surfactant cationique. La présence de ce dernier augmente le taux d'encapsulation de 35% à 80%.

Alvim et Grosso (124) ont encapsulé l'huile de soybean par coacervation complexe utilisant le couple électrolyte "la gomme arabique et la gélatine" comme matrice d'enrobage. Dans ce travail ils ont étudié l'influence de différents agents réticulants (le glutaraldehyde et le transglutaminase) et de leurs concentrations sur le taux de la libération du principe actif, le taux d'encapsulation de ce dernier et la taille des microparticules correspondantes. Ils ont montré que le taux d'encapsulation dans les différents cas avec ou

sans agent réticulant est supérieur à 93%, alors que le taux de libération du cœur encapsulé est grande dans les microcapsules préparées sans agent réticulant. Ce même taux est faible lorsque les microcapsules sont préparées à des concentrations élevées en agent réticulant.

D'autres travaux ont été réalisés par Xiao Jun-xia et al (128) pour trouver le pH de coacervation et la détermination du rapport convenable entre les deux polymères choisis, gélatine et la protéine de soybean pour encapsuler l'huile d'orange. Ils ont montré que le point d'équivalence électrique pour la coacervation de ces deux polymères est à pH=4.0 et le rapport 1:1 présente l'optimum des quantités relatives aux meilleures conditions.

D'autres expériences ont été réalisées par Xiao-ying Qv et al (74) pour l'optimisation des conditions opératoires (rapport des polymères, pH et température) de la coacervation entre la gélatine et la gomme arabique. Les conditions optimales du processus déterminées sont : le rapport massique gélatine/gomme arabique (1,25:1) mélangées à 40,5°C au pH=4,2. Ces conditions donnent un taux d'encapsulation de l'ordre de 86% et des tailles microparticulaires de 10 à 20 µm. La stabilité des microcapsules à la lumière et à la température a été ainsi démontrée.

Lee-Fong et Ong (130) ont montré que le rapport (cœur/enveloppe : 6/1) donne un rendement et un taux d'encapsulation élevés dans la coacervation du système (cœur/enveloppe : huile garlique/ gomme arabique-gélatine) à pH= 4,5.

## **I.VI. Microencapsulation par évaporation de solvant :**

### **I.VI.1. Rappel bibliographique sur la microencapsulation par évaporation de solvant :**

La microencapsulation par évaporation de solvant est une méthode largement utilisée depuis de nombreuses années (131), elle a été développée pour toutes sortes d'applications. Elle permet de contrôler la vitesse de libération, d'éviter l'évaporation et la dégradation du principe actif encapsulé, de limiter les pertes...

Cette méthode repose sur l'évaporation de la phase interne d'une émulsion sous agitation. Cette technique est la plus souvent utilisée dans le domaine de la pharmacie pour la production de médicaments à libération prolongée ou contrôlée (132).

Initialement, le matériau d'enrobage est généralement un polymère hydrophobe, dissout dans un solvant organique volatil. Ensuite la substance active à encapsuler est dissoute ou dispersée dans la solution organique, Cette dernière est dispersée dans le milieu aqueux contenant un agent tensioactif sous agitation. Dès que le solvant organique entre en contact avec la phase aqueuse externe, il migre à la surface de l'émulsion où il s'évapore par diffusion. La concentration du solvant organique dans la phase intermédiaire diminue au cours du temps et le polymère commence à précipiter encapsulant le principe actif. Les microparticules sont séparées par filtration et desséchées.

Les microparticules obtenues sont généralement de type matriciel (microsphères). Ce procédé présente quelques limites, car les microsphères fabriquées peuvent contenir des traces du solvant organique.

Le taux de la matière active dans les microparticules obtenues par évaporation de solvant est compris entre 30% et 40% (46), et le rendement d'encapsulation peut atteindre plus de 90%. La taille des microsphères produites est de 0,5 à 400 $\mu$ m.

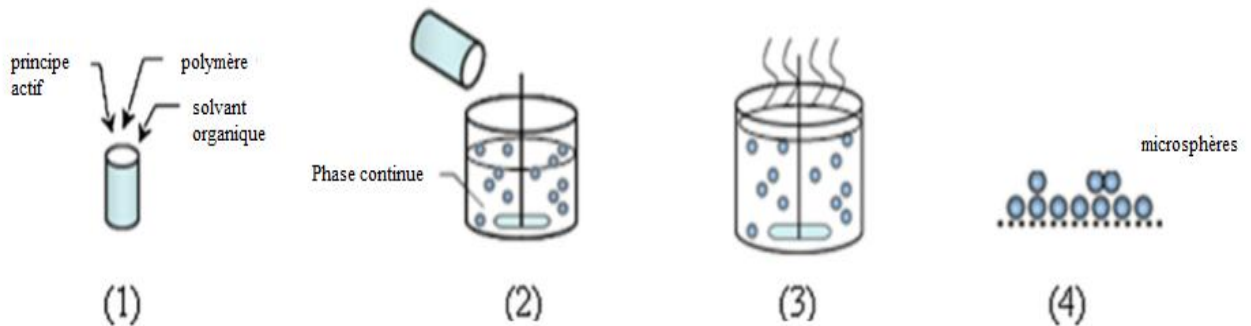
Plusieurs polymères ont été utilisés comme matrice dans cette technique, tels que l'alginate, la cellulose et ses dérivés, l'amidon, PLGA, PCL et le chitosan. Les polymères utilisés doivent être non toxiques, biodégradables et biocompatibles.

Cette technique a été développée sur de nombreux polymères. Tetty Kemala et al (133) ont préparé des microsphères à base du poly acide lactique et poly  $\epsilon$ -caprolactone sur lesquelles ils ont étudié l'effet de la concentration d'émulsifiant (Poly vinylalcohol: PVA) sur la morphologie des microparticules. Ils ont démontré qu'à la concentration 2,5% en PVA, les microsphères sont uniformes de taille d'ordre 70 $\mu$ m.

Un autre travail de recherche a été élaboré sur le même polymère (poly  $\epsilon$ -caprolactone) encapsulant le 2-phénylimidazole (134), les microcapsules préparées dans cette étude ont été uniformes, et la perméabilité a été mesurée dans l'éthanol. Le taux de libération du leur 2-phénylimidazole a été trouvé faible pour les grandes masses de ce polymère.

SK Basu et al (135) ont préparé des microparticules à base d'Eudragit RL100 chargés de Nitrendipine par évaporation de solvant. La taille des particules est influencée par la variation du rapport massique principe actif/polymère et la concentration d'émulsifiant. La stabilité du principe actif dans les microparticules a été vérifiée par DRX et sa libération a été

réalisée au pH=1,2 suivant le modèle d'Higuchi où elle été influencée surtout par la variation de la quantité du polymère.



**Figure 16 :** Les étapes principales de la microencapsulation par évaporation de solvant.

L'Ethylcellulose a été utilisée par plusieurs chercheurs pour l'encapsulation de différents principes actifs par évaporation de solvant tels que 5-Fluro uracil (**136**), la Procaine (**137**), l'acide Méfenamique (**138**), le Flurbiprofène (**139**), l'Ampicilline et l'Amoxicilline (**140**).

Banus S Zolnik et al (**141**) ont préparé par évaporation de solvant des microsphères chargées de dexaméthasone avec différentes masses de polymère PLGA pour déterminer la masse qui donne une meilleure cohérence avec les tests in vitro et in vivo. Les résultats montrent que la libération du principe actif présente un effet burst dans les premiers instants.

Le chitosan de masse de  $10^6$  a été utilisé pour l'encapsulation d'ampicilline par évaporation de solvant (**142**). Les tests in vitro et in vivo ont été réalisés et la stabilité des microsphères dans des milieux enzymatiques SGF a été confirmée. L'influence du tensioactif tripolyphosphate sur le taux de libération a été étudiée. Les résultats montrent que la libération d'ampicilline se termine entre 4 à 8h avec les microparticules préparées sans tripolyphosphate mais prolongée de plus de 24h en présence de tripolyphosphate.

Des microparticules contenant l'estolate d'erythromycine ont été préparées à base du polycaprolactone par évaporation de solvant. Plusieurs paramètres ont été étudiés dans cette étude comme la vitesse de rotation et le pourcentage d'émulsifiant. Fan Long Jin et al (143) ont montré qu'en augmentant le pourcentage d'émulsifiant on obtient un taux d'encapsulation élevé. Ils ont prouvé aussi que le pourcentage du principe actif libéré augmente avec l'augmentation du pourcentage d'émulsifiant.

La méthode d'encapsulation par évaporation de solvant utilise des solvants organiques volatils, tels que le dichlorométhane, l'acétone, le chloroforme, et des couples de solvants comme l'éthanol/toluène (1/4) (144) et l'isopropanol/toluène (1/3) (45). La phase continue est généralement une solution aqueuse de tensioactif ou plus rarement des huiles minérales insolubles dans le solvant de la phase organique.

Le dichlorométhane malgré sa toxicité est le solvant le plus utilisé, car il présente une température d'ébullition faible (39,8°C). Ce solvant a une solubilité importante dans l'eau (1-3% en masse à 20-25°C) mais la solubilité de l'eau dans le dichlorométhane est de 0.2% en masse à 20-25°C, ce qui limite la diffusion de l'eau dans les microparticules pendant la formulation (45, 140, 145-146).

#### **I.VI.2. Les paramètres influençant la microencapsulation par évaporation de solvant :**

Plusieurs paramètres influençant les caractéristiques des microparticules (la taille et la distribution en tailles, la porosité et la taille des pores, la teneur en principe actif) préparées par évaporation de solvant ont été déterminés. On donnera ci-dessous quelques exemples décrits dans les littératures (132, 144) :

##### ❖ Effet du polymère :

Différents polymères ont été utilisés pour ce type d'encapsulation. En effet, le polymère choisi dépend du domaine d'utilisation des microparticules. Les polymères utilisés dans la microencapsulation dans le domaine pharmaceutique sont :

- Les protéines naturelles comme l'albumine, le collagène, la gélatine, la fibrine, le fibrinogène, et la caséine (147, 147).
- Les polysaccharides naturels comme la dextrine, l'acide alginique, la chitine et le chitosan (148).

- Les polysaccharides comme l'éthylcellulose, l'hydroxyléthylcellulose, l'hydroxyl propyléthylcellulose, la méthylcellulose...
- Les polymères synthétiques comme : le poly acide lactique, le poly (acide glycolique/ acide lactique), le poly ( $\epsilon$ -caprolactone), et différents types d'Eudragit (149).

La masse moléculaire des polymères utilisés dans la microencapsulation par évaporation de solvant est un paramètre très important. En effet, l'augmentation de la masse molaire du polymère conduit à l'accroissement de la viscosité de la phase dispersée et de la taille des microsphères, comme montré dans quelques travaux (45, 144, 149).

❖ Effet du rapport principe actif/ polymère :

Le rapport principe actif/ polymère (PA/Pol) peut influencer la qualité des microparticules préparées par évaporation de solvant. La littérature montre l'augmentation du taux d'encapsulation avec celle du rapport (PA/Pol) (127).

❖ Effet du solvant organique :

Des travaux de recherche réalisés pour étudier l'effet du solvant sur le taux d'encapsulation montrent que les meilleurs rendements sont obtenus avec la précipitation rapide du polymère et la concentration élevée du polymère dans la phase organique (144).

❖ Effet de l'interaction entre le principe actif et le polymère :

L'interaction entre le principe actif encapsulé et le polymère peut changer le taux d'encapsulation. L'interaction entre le polymère et le principe actif peut être due à des interactions hydrophobes ou hydrophiles. Dans le cas où il existe des interactions ioniques ou hydrophiles, le principe actif sera encapsulé avec un taux important dans les polymères contenant des groupements carboxyliques libres. Dans le cas des interactions hydrophobes, les polymères utilisés donnent des taux d'encapsulation très élevés (132, 144).

❖ Effet de la vitesse de rotation :

Durant la formation des gouttelettes, la vitesse de rotation des pales influe sur la taille des microparticules. Généralement, en augmentant la vitesse de

rotation, la taille des microparticules diminue. Cela peut être expliqué par l'énergie dissipée pour la rupture des gouttelettes qui conduit à la diminution de la taille des gouttelettes **(150)**.

❖ Influence de la concentration du tensioactif :

L'augmentation de la concentration du tensioactif conduit à la diminution de la taille des microparticules, due au fait de l'affaiblissement de la tension interfaciale "gouttelettes organiques / phase aqueuse continue" et à la stabilisation de l'émulsion **(131)**.

❖ Influence de la température :

La viscosité de la phase organique et l'évaporation de solvant sont très influencées par la température. En augmentant la température, la viscosité diminue et la taille des gouttelettes tend à diminuer. A partir d'une certaine température, le solvant s'évapore plus rapidement en entraînant, à l'inverse, l'augmentation de la viscosité de la phase dispersée **(151)**.

La microencapsulation par évaporation de solvant est largement utilisée pour l'encapsulation de différents produits pharmaceutiques **(152)**. L'efficacité de ce processus dépend de plusieurs paramètres dont les solvants utilisés, le rapport principe actif/polymère, la vitesse d'agitation, la solubilité du principe actif et la masse molaire du polymère. Ces paramètres doivent être pris en considération pour développer des systèmes polymériques chargés de principe actif à libération retardée.



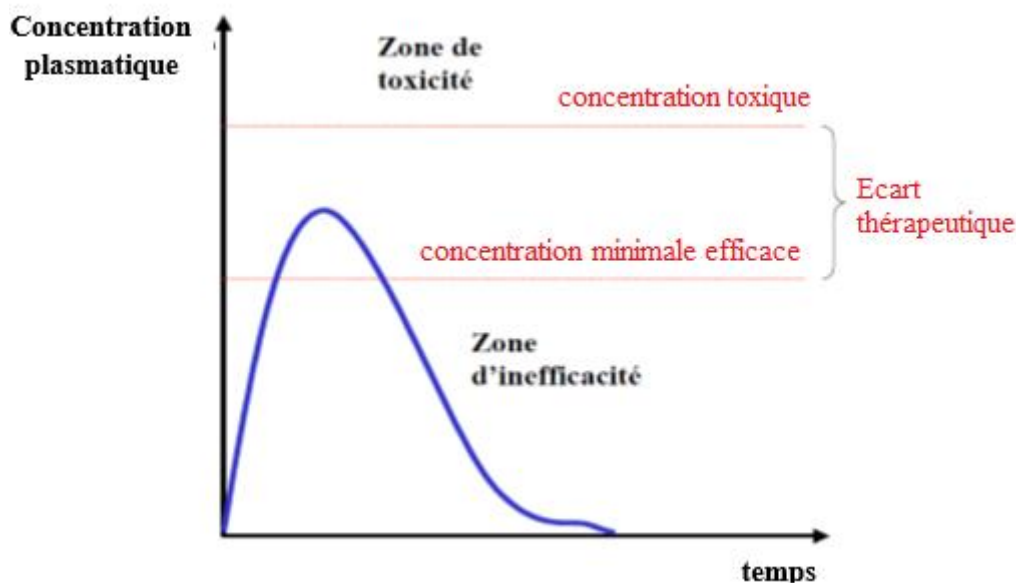
**I.VII. Libération des principes actifs encapsulés :****I.VII.1. Introduction :**

Les principaux objectifs de la microencapsulation de principes actifs sont :

- Le contrôle de la distribution d'une molécule active dans un système à libération contrôlée vers un site particulier de l'organisme.
- Le contrôle de la libération de la molécule active à partir du système d'administration.
- La diminution de la fréquence de prises.
- Le choix de la voie d'administration la plus fréquente.

Pour atteindre l'effet thérapeutique recherché, il faut que le principe actif parvienne au niveau plasmatique à des concentrations comprises dans un écart dit thérapeutique correspondant aux concentrations données dans la figure suivante (153, 154) :

- La limite inférieure représentant la concentration minimale efficace pour éviter une inefficacité ou une activité insuffisante,
- La limite supérieure représentant la concentration maximale toxique à partir de laquelle existe le risque d'effets indésirables voire de toxicité.



**Figure 17 :** Représentation des limites de l'écart thérapeutique délimité par la concentration minimale efficace et la concentration toxique.

La partie la plus importante c'est l'étude du devenir d'une substance après son introduction dans un organisme vivant en fonction du temps. Cette voie comporte essentiellement quatre phases : l'absorption, la distribution, les biotransformations ou métabolismes, et l'élimination, qui peuvent être, en partie ou en totalité, fonction de la voie d'administration et de la forme sous laquelle elle est administrée (155).

Ces facteurs conditionnent la quantité du produit pouvant atteindre les cibles biologiques et produire une modification, à l'origine de l'effet thérapeutique.

Après avoir pénétrer le système porteur de principe actif dans l'organisme, le principe actif traverse un nombre variable de barrières pour aboutir dans la circulation sanguine. Au niveau du tube digestif, et en particulier de l'intestin, la résorption est facilitée par la très grande surface de contact avec le contenu intestinal. La voie orale est donc la plus utilisée, même si elle n'est pas adaptée à toutes les situations(155).

### **I.VII.2. Mécanismes de la libération contrôlée :**

Par définition, le rôle d'un système à libération contrôlée est de délivrer la bonne quantité d'un principe actif, au bon endroit et au bon moment.

Les systèmes à libération contrôlée possèdent des exigences particulières aux matériaux impliqués, qui sont de nature polymérique sous forme de matériau plein ou d'une membrane (156).

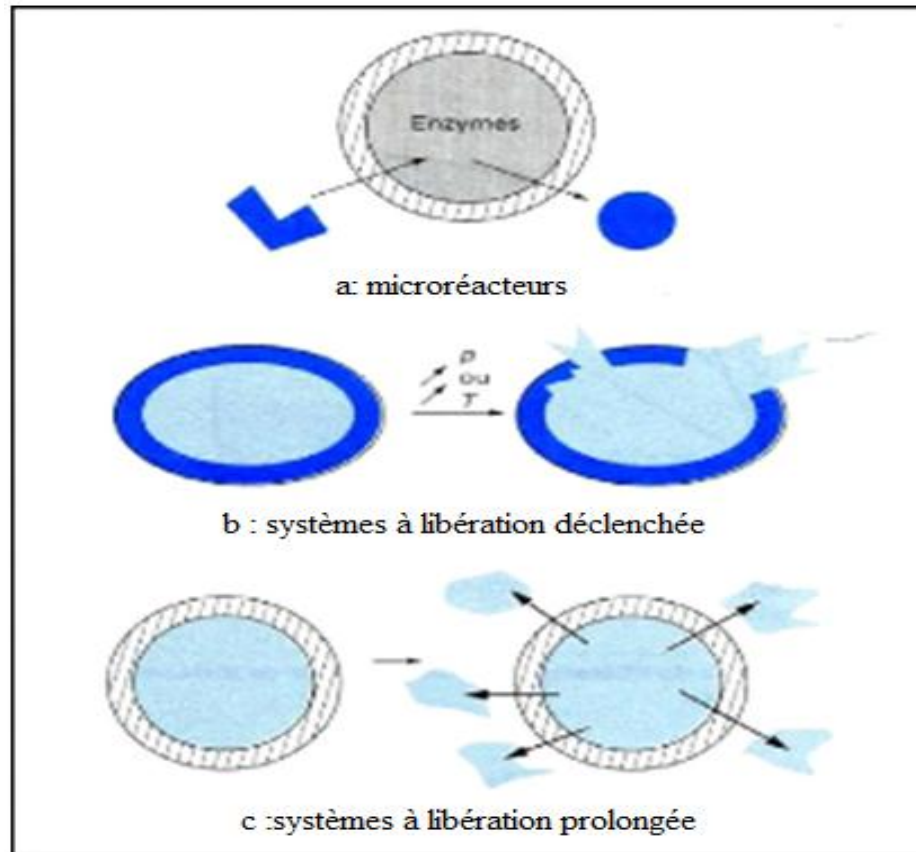
#### ***A) Systèmes à libération déclenchée :***

Ils sont généralement des microcapsules formées d'une membrane de faible perméabilité, qui vont libérer brutalement leur contenu.

Les mécanismes de la libération connus dans ce cas sont (156) :

> ***Mécanismes de libération par éclatement*** : sous l'effet d'une pression (mécanique ou osmotique) ;

> ***Mécanismes de libération par fusion*** : sous l'effet de la température.



**Figure 18 :** Systèmes à libération déclenchée et prolongée.

### B) Systèmes à libération prolongée :

Ils sont majoritairement des microsphères (157) Les mécanismes mis en jeu sont :

> **Mécanismes de libération par dégradation** : La plupart des polymères biodégradables se dégradent par hydrolyse en composés de taille de plus en plus faibles, biologiquement éliminables, dont certains métabolisables.

La dégradation peut s'effectuer selon une hydrolyse en masse. Elle est uniforme dans toute la matrice polymère ou bien se produire uniquement sur la surface du polymère.

> **Mécanisme de libération par diffusion uniquement** : La diffusion se produit quand un principe actif traverse le polymère qui forme le système de libération.

La diffusion peut se produire à l'échelle macroscopique à travers les pores dans la matrice ou à l'échelle moléculaire par le passage entre les chaînes de polymères (lois de FICK).

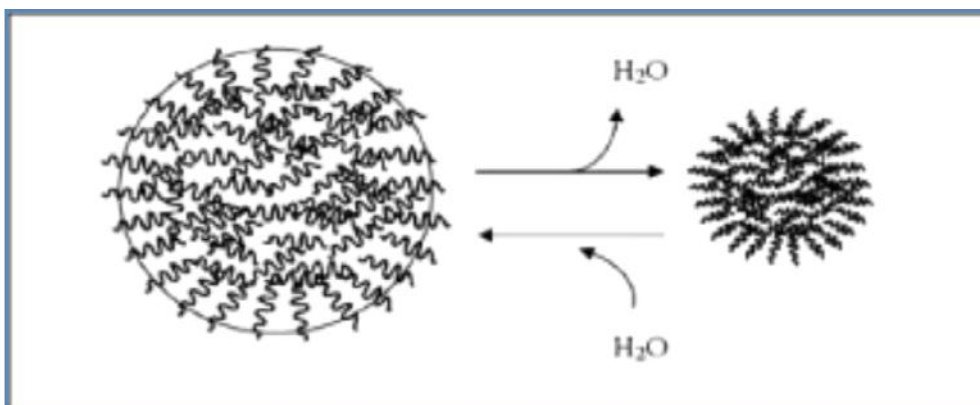
> *Mécanismes de libération par gonflement suivi d'une diffusion* : La compréhension des mécanismes de gonflement des polymères dans l'organisme est importante pour permettre de concevoir le système particulier de libération contrôlée et permet d'expliquer les comportements cinétiques de libération. Le principe actif est dissout ou dispersé au sein d'une matrice polymérique biocompatible.

Le polymère ne subit aucune modification chimique, il n'est pas dégradé, l'eau diffuse simplement à l'intérieur du réseau polymère, le gonfle, ce qui permet aux médicaments piégés à l'intérieur de se libérer.

Ces systèmes permettent la diffusion du PA à travers : le réseau gonflé dans l'environnement externe .La plupart des matières utilisées dans ces systèmes sont les hydrogels (absorbant de l'eau ou autres fluides sans se dissoudre).

La capacité du gonflement de polymère se manifeste quand le gonflement peut être déclenché par un changement de l'environnement entourant le système de la libération. Le changement environnemental peut impliquer le pH, la température, ou la force ionique, et le système peut se rétrécir ou gonfler sur un changement de n'importe lequel de ces facteurs environnementaux.

La figure 19 illustre les changements de bases de la structure de ce système sensibles. De nouveau, pour ce type de système, le dégagement du principe actif s'accomplit seulement quand le polymère gonfle (158).



**Figure 19** : Processus de gonflement d'un hydrogel.

**I.VII.3. Paramètres influençant la libération d'un principe actif encapsulé :**

Il est à noter que les paramètres (159) influençant la libération d'un PA encapsulé sont :

- Solubilité du PA dans le milieu de libération et dans la paroi polymérique ;
- Taux d'encapsulation ;
- Interactions chimiques entre le principe actif et polymère ;
- Caractéristiques morphologiques du système de libération (porosité, tortuosité, surface, forme) ;
- Caractéristiques du polymère tel que le poids moléculaire. Ainsi les polymères de faibles poids moléculaires présentent une porosité plus élevée que d'autres, donc une libération plus élevée de principe actif.

Les techniques de microencapsulation ont permis de préparer des microparticules de différentes caractéristiques. De plus, les matériaux d'enrobage utilisés peuvent influencer et modifier les modes de libération de l'agent encapsulé.

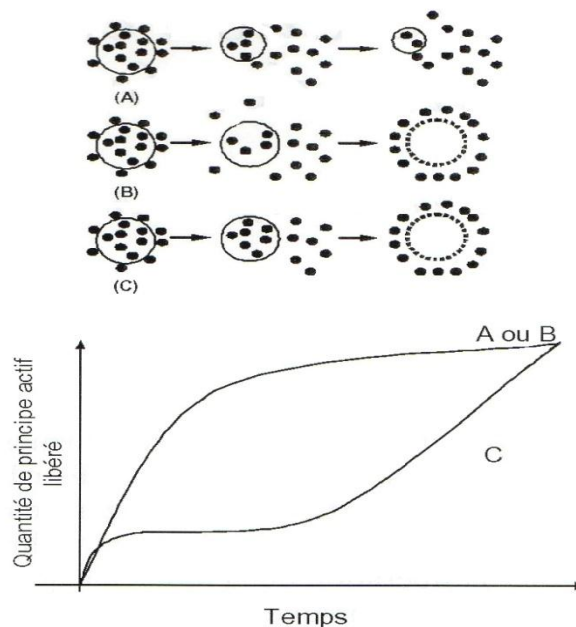
On distingue des formes à libération prolongée pour lesquelles la libération peut s'effectuer sur plusieurs jours, ou plusieurs semaines et les systèmes programmés pour libérer le principe actif sous l'effet de l'environnement biologique.

**I.VII.4. Polymères utilisés pour la libération contrôlée de principes actifs encapsulés :**

Les microparticules pour la libération prolongée sont le plus souvent constituées de polymères biodégradables ou bioérodibles, car les produits de dégradation ou d'érosion doivent être éliminés par l'organisme sans introduire une toxicité (45).

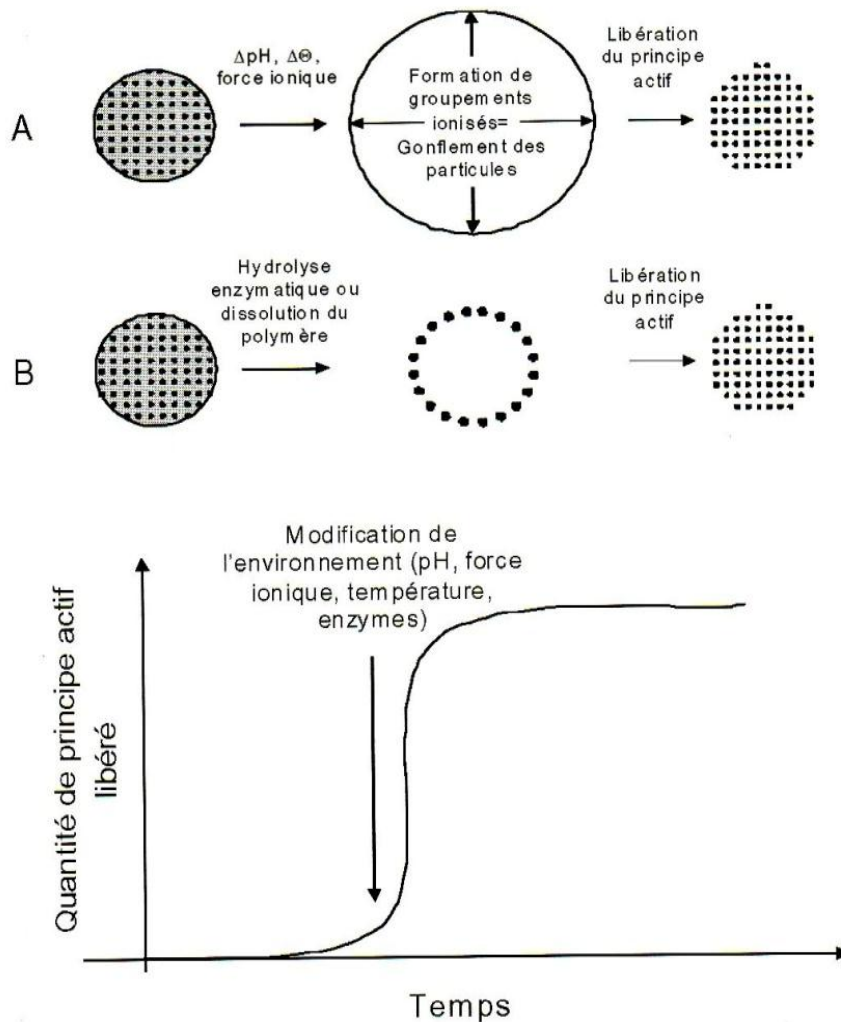
- Dans le cas des systèmes bioérodibles, un phénomène d'hydrolyse intervient à la surface entre la particule et le milieu environnant. La libération du principe actif et des produits de dégradation s'accomplit au fur et à mesure que la particule s'érode. Si les masses moléculaires du polymère sont faibles et les microparticules poreuses, le principe actif peut être libéré par diffusion.

- Dans le cas des systèmes biodégradables, les polymères utilisés sont dégradés dans leur masse (bulk) au sein de la microparticule et monomères, et principes actifs encapsulés sont libérés dans le milieu environnant. Si le principe actif est incapable de diffuser à travers la barrière polymère, seules les molécules proches de la surface seront libérées dans un premier temps. Il faudra attendre que le polymère se dégrade complètement pour que la libération totale du principe actif se produise.



**Figure 20 :** Cinétique de libération à partir de microparticules bioérodibles (A) /biodégradables (B et C) pour la libération prolongée.

Les polymères pour la libération programmée peuvent être biodégradables ou non. Il s'agit donc de polymères qui, gonflent où se dissolvent ou encore se dégradent une fois ayant atteint un site particulier de l'organisme.



**Figure 21 :** Microparticules à libération programmée.

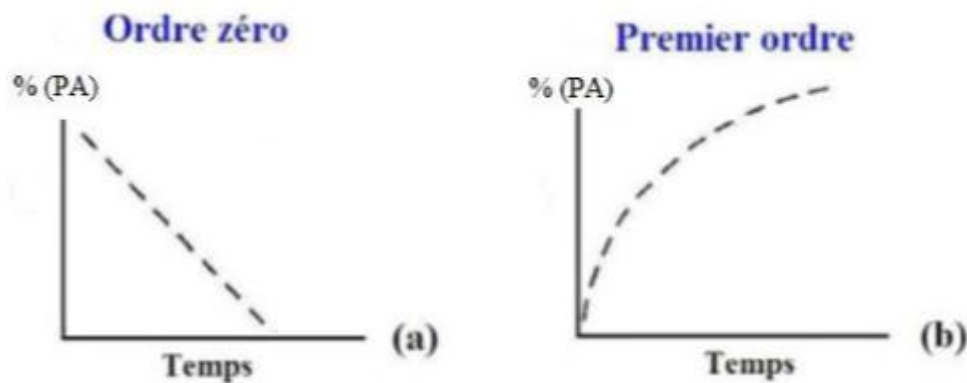
### I.VII.5. Cinétiques de libération :

Le système idéal voudrait que l'on obtienne une cinétique de libération d'ordre zéro. Or ce n'est pratiquement jamais le cas car les conditions de diffusion varient généralement au cours du temps avec l'apparition de phénomènes d'érosion, de gonflement ou la création de canaux engendrés par la dissolution progressive du principe actif à l'intérieur de la matrice ou à la surface de l'enrobage (159).

Lorsque la quantité de l'agent actif diffusant à travers la matrice est directement proportionnelle au gradient de concentration, la libération est régie par un ordre 1. Si la diffusion devient indépendante du gradient de concentration, la cinétique peut évoluer vers un ordre 0. Lorsqu'apparaissent les phénomènes de relaxation liés à l'érosion et/ou au

démantèlement des chaînes de polymère, la libération est régie par une loi exponentielle non-Fickienne (160, 161).

Dans certains cas, la libération initiale ne suit jamais une cinétique d'ordre 1.

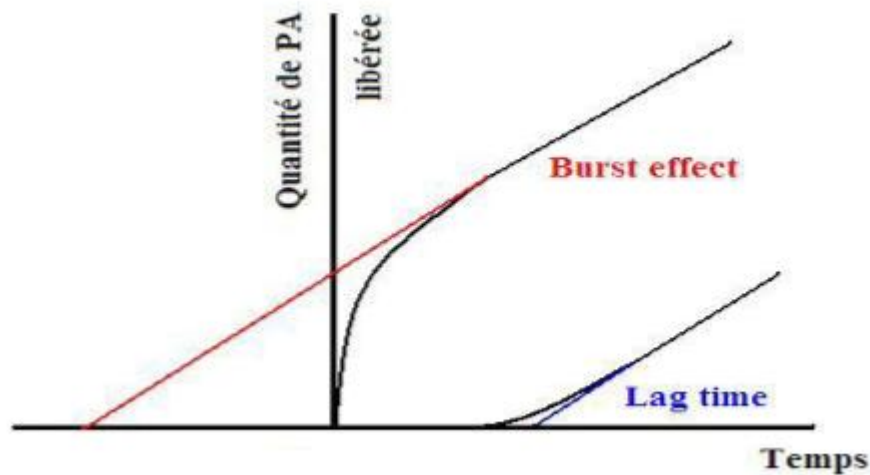


**Figure 22 :** Cinétiques de libération d'ordre 0 (a) et d'ordre 1 (b) après administration orale d'une forme à libération prolongée.

Comme illustré à la **figure 23**, il arrive qu'une importante quantité de principe actif soit libérée dès que la forme entre en contact avec le liquide de dissolution. Cette importante libération initiale est alors suivie d'une diffusion prolongée du principe actif.

Ce phénomène s'appelle le « burst effect ». Se produisant essentiellement en présence des formes matricielles, il peut être à l'origine d'un échec lors du développement d'une forme à libération prolongée. Même si ce phénomène reste difficilement contrôlable, il est possible de réduire ses effets en augmentant, par exemple, la force de compression, en incorporant des corps gras, des polymères gélifiants de haut poids moléculaire ou en évitant l'utilisation d'agents désintégrant.





**Figure 23 :** Représentations graphiques du « Burst effect » et du « Lag time », délai de libération.

Les causes provoquant un burst effect peuvent être attribuées à de nombreux phénomènes physicochimiques :

- Conditions de fabrication : le principe actif peut se concentrer en surface lors de la fabrication ou du stockage de la forme matricielle, surtout lorsqu'il est incorporé en concentration importante. Dans le cas des formes enrobées, de mauvaises conditions de préparation peuvent conduire à une non homogénéité de l'enrobage,
- Manque de cohésion de la matrice : force de compression trop faible, teneur en agent liant insuffisante,
- Hétérogénéité de la matrice : un burst effect peut apparaître si des pores ou des fissures apparaissent à l'intérieur et/ou en surface de la matrice lors de la fabrication.

#### **I.VII.6. Mathématiques :**

Notre travail a porté sur la réalisation de systèmes microparticulaires. Dans ce type de systèmes, la libération est souvent contrôlée par une étape d'ordre diffusionnel suivant les lois fondamentales de Fick portant sur la diffusion de la matière. Nous avons modélisé nos résultats expérimentaux par des modèles qui utilisent les solutions analytiques ou numériques

décrites par Cranck (162) et permettent de calculer aisément les diffusivités selon les deux cas :

- ***Cas simple où la diffusivité est constante :***

Dans ce cas, l'équation de transfert, en régime transitoire, admet une solution analytique en tenant compte d'une condition particulière limite qui est : « l'équilibre des concentrations est atteint à la surface dès que le processus de diffusion démarre ».

L'application de cette solution permet de calculer la masse du liquide transférée et la concentration en tout point de la matière et à tout instant  $t$ , en fonction des paramètres caractérisant le phénomène : le rayon de la microparticule, la diffusivité et la capacité d'absorption du liquide par le copolymère matriciel.

- ***Cas complexe où la diffusivité est variable :***

Dans ce cas, il n'existe pas de solutions analytiques car le coefficient de diffusion varie en fonction de la concentration. Pour résoudre ce type de phénomène, on fait appel aux solutions numériques, comme par exemple, celles utilisant une méthode de calcul aux différences finies.

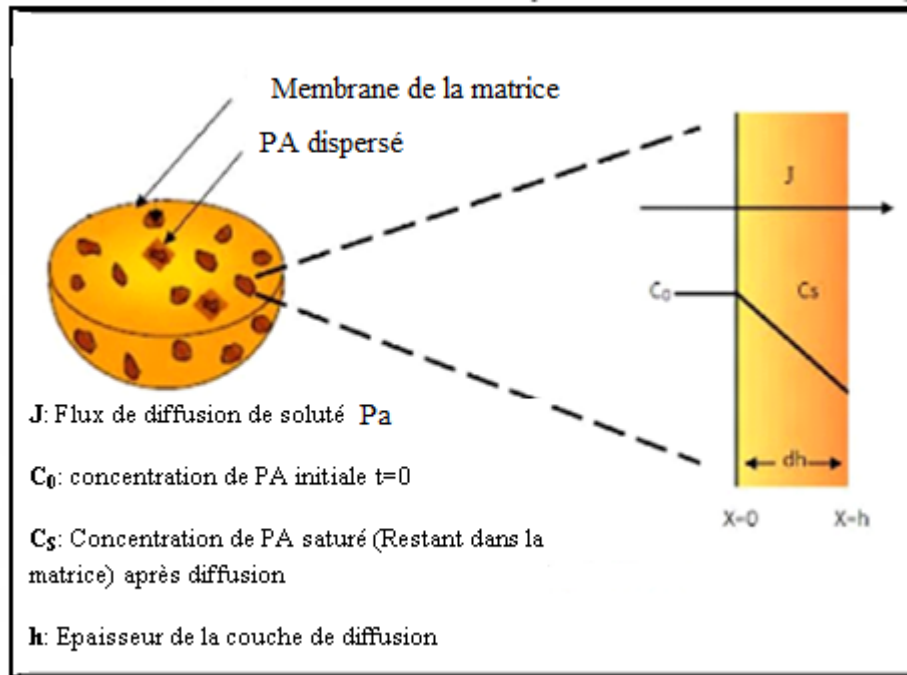
Dans ce cas, tous les paramètres intervenant dans le processus de transfert de matières entrent en considération dans la résolution des différentes équations proposées par Cranck (162). Pour cela, et quel que soit le cas, il est nécessaire de faire un petit rappel théorique des lois de Fick. Ce modèle nous a permis de calculer et d'évaluer les différents coefficients de diffusion des principes actifs étudiés.

#### **I.VII.7. Traitement mathématique du modèle de diffusion :**

Selon Fick, la diffusion de la matière dans un milieu isotrope est basée sur l'hypothèse que le flux de matière est proportionnel au gradient de concentration. La première loi de Fick est alors énoncée comme suit (163) :

$$\Phi = -D.S. \frac{\partial C}{\partial X} \quad [21]$$

$\phi$  est le flux de matière diffusante,  $C$  : la concentration de la matière diffusante,  $X$  : la distance de transfert normale à la section considérée,  $S$  : la surface totale de transfert et  $D$  : le coefficient de diffusion (Diffusivité).



**Figure 24 :** Représentation schématique d'une paroi matricielle.

La densité de flux  $J_s$  est donnée par l'équation suivante :

$$J_s = -D \frac{\partial C}{\partial X} \quad [22]$$

La deuxième loi de Fick relie la vitesse de diffusion au gradient de concentration :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left( D \frac{\partial C}{\partial x} \right) \quad [23]$$

Appliquons ces deux lois pour les microparticules. La diffusion dans un disque est décrite selon les solutions proposées par Crank pour la résolution des équations de Fick [22] et [23].

Pour les microparticules, le transfert de matière est décrit comme suit :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left( D \frac{\partial C}{\partial x} \right) \quad [24]$$

La solution de l'équation (**2ème loi de Fick**) est donnée par l'équation [25] :

$$\frac{C - C_1}{C_0 - C_1} = 1 - \frac{4}{\pi} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{2n+1} \cos \frac{(2n+1)\pi r}{h} \exp \left( -\frac{(2n+1)^2 \pi^2 D t}{h^2} \right) \quad [25]$$

Où  $C_0$  est la concentration finale à l'équilibre supposée atteinte à la surface des microparticules dès l'instant où ces dernières sont en contact avec le liquide diffusant. La diffusion dans les temps courts, si «  $M_t / M_\infty < 10\%$  », est exprimée par :

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 4 \left( \frac{Dt}{h^2} \right)^{1/2} \left\{ \pi^{-1/2} + 2 \sum_{n=1}^{\infty} (-1)^n \operatorname{ierfc} \frac{nh}{2\sqrt{Dt}} \right\} \quad [26]$$

L'équation [26] est encore simplifiée au premier terme dans les temps les plus courts de la cinétique :

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 4 \left( \frac{Dt}{\pi h^2} \right)^{1/2} \quad [27]$$

Cette équation simplifiée permet de déterminer le coefficient de diffusion ( $D_{t,c}$ ). Il est alors calculé à partir de la pente P de la droite  $M_t/M_\infty = f(\sqrt{t})$  :

$$D_{t,c} = \frac{P^2 h^2 \pi}{16} \quad [28]$$

### I.VII.8.Modélisation des cinétiques de relargage du principe actif selon les équations d'Higuchi et de Korsmeyer-Peppas :

Les modèles mathématiques utilisés pour décrire la libération des principes actifs ne sont pas toujours précis et sont des approximations de la libération réelle, car les paramètres changent durant la libération ; par exemple, le gonflement de la matrice cause un changement dans la porosité et la tortuosité, tout comme la distance de diffusion du PA change avec le gonflement et l'érosion de la matrice.

Les modèles mathématiques les plus utilisés par les pharmaciens pour décrire la libération des principes actifs des systèmes matriciels sont ceux de Higuchi et Peppas (164-168).

➤ *Modèle d'Higuchi :*

Higuchi a développé des modèles décrivant la libération des principes actifs solubles et peu solubles incorporés dans des matrices solides. L'équation [29] ci-dessous résume le modèle d'Higuchi et elle est connue comme le modèle simplifié d'Higuchi. Selon lui, la libération de médicament dépend de la racine carrée du temps en obéissant à la loi de Fick qui décrit la diffusion.

Cette approche est utilisée pour plusieurs formes pharmaceutiques dont les matrices contenant des principes actifs solubles (169).

$$Q_t = k_H t^{1/2} \quad [29]$$

$Q_t$  : quantité de médicament libéré au temps  $t$ .

$k_H$  : constante de libération d'Higuchi.

C'est un modèle qui permet de calculer la constante de libération d'Higuchi et de comparer la vitesse de libération du principe actif à partir des formulations étudiées.

➤ *Modèle de Korsmeyer-Peppas:*

En 1983, Korsmeyer et al (170) donnent une relation simple qui décrit la libération du médicament à partir du système polymère. Ce modèle permet d'attribuer aux cinétiques de libération le type de diffusion sur la base de la valeur de l'exposant n selon l'équation suivante :

$$M_t/M_\infty = k t^n \quad [30]$$

$M_t/M_\infty$  : fraction de médicament libérée au temps t.

k: constante de vitesse de libération.

n : exposant de libération.

Dans ce modèle, la valeur de n caractérise le mécanisme de libération du médicament. Les valeurs donnant le type de mécanisme sont citées (171, 172) :

$n \leq 0,45$  correspond à un mécanisme de diffusion Fickien,

$0,45 < n < 0,89$  transport matière non Fickien,

$n = 0,89$  Cas II (Relaxation) de transport,

$n > 0,89$  Super-Cas II de transport.

## **II.I. Généralités sur les produits encapsulés :**

Dans le cadre de notre travail, on a envisagé d'étudier d'une part des molécules modèles "le p-aminoacétophénone, le tétra phényl porphyrine et le cinnamaldehyde" et d'autre part des principes actifs possédants des propriétés pharmacologiques : l'ampicilline, l'amoxicilline et la procaine.

Le travail a été abordé par l'étude de l'encapsulation des molécules choisies selon leurs propriétés physico-chimiques suivie par l'étude cinétique de la libération de ces molécules dans des milieux reconstitués. Nous consacrons cette partie à la présentation des produits utilisés lors de la formulation des microparticules.

### **II.I.1. L'ampicilline et l'amoxicilline :**

Les antibiotiques sont définis comme toute substance chimique produite par un micro-organisme, champignon ou bactérie ou obtenue par synthèse ou par héli-synthèse agissant spécifiquement sur une étape essentielle du métabolisme des bactéries (173). Ils présentent un mode d'action commun, mais se distinguent par le spectre, la sensibilité aux mécanismes de résistance, la pharmacocinétique ou la tolérance.

Tous les antibiotiques ont le même mécanisme d'action : ils bloquent la synthèse du peptidoglycane (ou mucopeptide, ou muréine), qui est le polymère majeur spécifique de la paroi des bactéries à Gram négatif et à Gram positif. Ce blocage intervient par inhibition de certaines enzymes responsables de la transpeptidation, étape essentielle de la synthèse du peptidoglycane. Ces enzymes, collectivement appelées PLP (protéines liant la pénicilline), sont introduites dans la partie externe de la membrane cytoplasmique bactérienne. Ces enzymes (transglycosylases et transpeptidases) sont indispensables à la synthèse du peptidoglycane.

Les antibiotiques actuels sont groupés en plusieurs familles et sous familles possédant un certain nombre de caractères communs : Composition chimique ou origine apparentée, spectre d'action similaire, mécanisme d'action identique, comportement pharmacologique souvent similaire, résistance croisée, effets secondaires rapprochés...etc.

La stabilité des antibiotiques dépend de leur état physique (les pénicillines et les tétracyclines sont plus stables à l'état solide qu'en solution), du pH de la solution, de la température, de la présence des réactifs, du temps de stockage et de leur durée d'action (174).

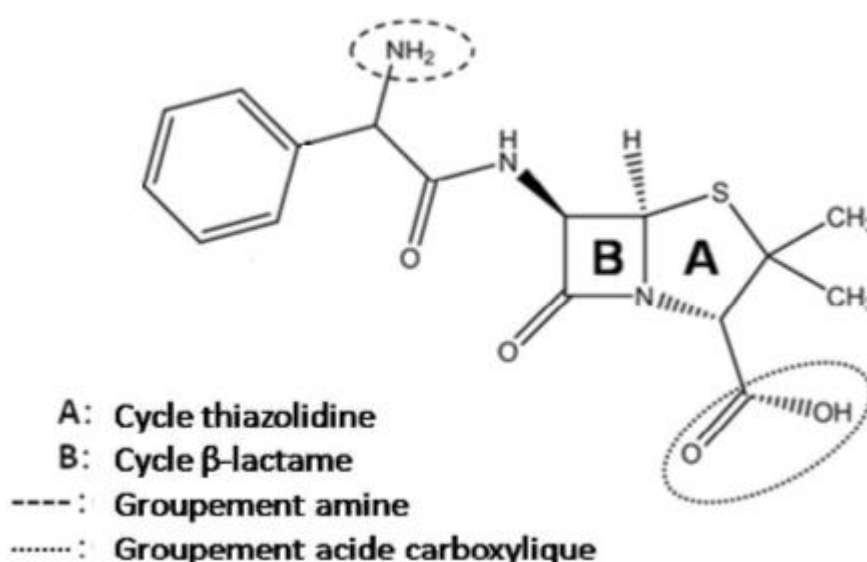
### II.I.1. a. L'ampicilline :

L'ampicilline est un antibiotique semi-synthétique de la famille des  $\beta$ -lactamines, il est largement utilisé en médecine, en vétérinaire et en agriculture, pour le traitement des infections bactériennes.

L'ampicilline possède un large spectre d'activité bactéricide contre une vaste gamme de bactéries aérobies et anaérobies Gram positif et Gram négatif y compris: Streptococcus, Staphylococcus, Pasteurella, Bacillus anthracis , Bordetella , Brucella , Clostridium, Corynebacterium, E. coli , Haemophilus, Proteus, Shigella.

Son action est attribuable à l'inhibition de la biosynthèse du mucopeptide de la paroi bactérienne pendant la phase de multiplication active. Son absorption après administration par voie orale est aussi bonne.

L'ampicilline a une masse moléculaire de 349,4 g/mole. Comme elle est présentée sur la figure ci-dessous, elle possède deux groupements ionisables : le groupement acide carboxylique COOH sur le cycle thiazolidine, et le groupement amine primaire sur la chaîne latérale du cycle  $\beta$ -lactame.



**Figure 25 :** Structure semi-développée de l'ampicilline.

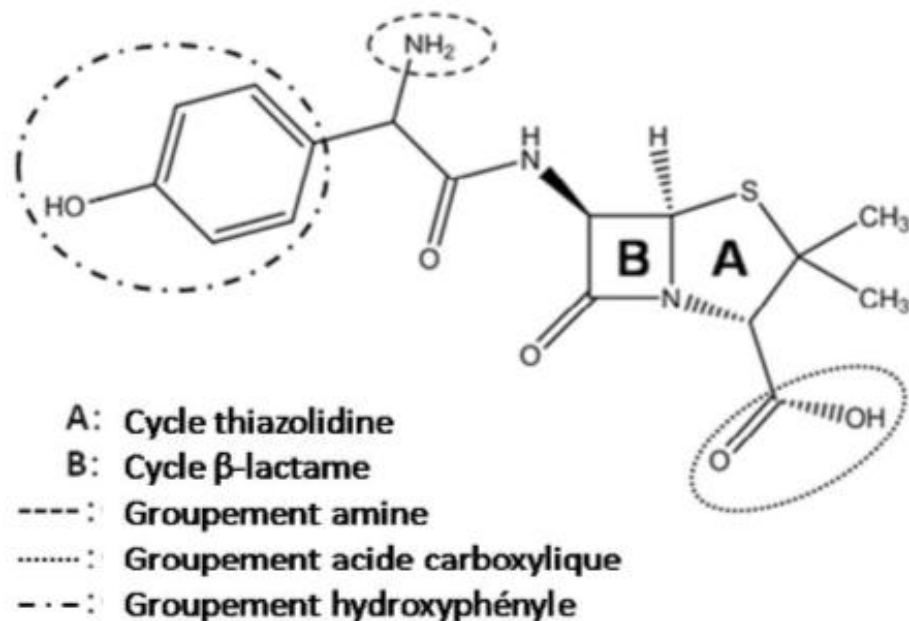


**II.I.1. b. L'amoxicilline :**

L'amoxicilline est un médicament semi synthétique qui appartient à une classe d'antibiotique nommé « **les pénicillines** » (antibiotique lactame) ; il est efficace contre une grande variété d'infections provoquées par une large game de bactéries pour les humains et les animaux.

L'amoxicilline ( $\alpha$ -amino-p-hydroxybenzyle-penicillin) est le plus utilisé dans le traitement des infections spécialement pour les bactéries gram + et gram -, y compris Escherichia coli, Salmonella, Shigella, Haemophilus et Neeisseria gonorrhée .Elle a un large spectre, une activité élevée, et une absorbance stable qui inhibe la synthèse du peptidoglycane, composant essentiel de la paroi bactérienne.

L'amoxicilline est une molécule dont la masse moléculaire est de 365,4 g/mole. Telle qu'illustrée à la figure ci-dessous, elle possède trois groupements ionisables : le groupement acide carboxylique COOH sur le cycle thiazolidine, le groupement hydroxyle OH du cycle para-hydroxyphényle et le groupement amine primaire sur la chaîne latérale du cycle  $\beta$ -lactame.



**Figure 26 :** Structure semi-développée de l'amoxicilline.

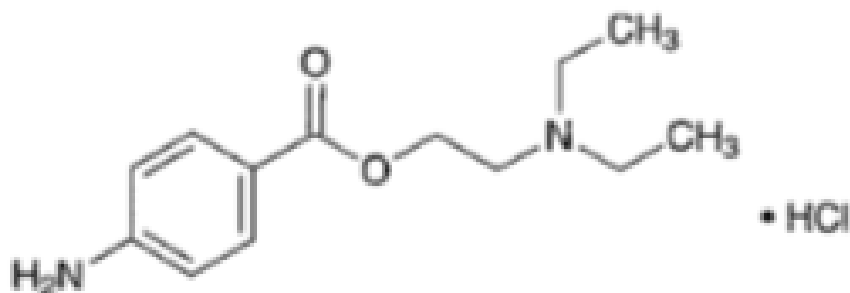
### II.I. 2. La Procaine :

La procaine est un anesthésique local de la famille des amino-esters. De formule brute  $C_{13}H_{20}N_2O_2$ , elle est très soluble dans l'eau, et peu soluble dans l'éthanol.

Elle a été utilisée pendant de nombreuses années comme simple anesthésique. Entre 1930 et 1951 ont été publiés 165 articles décrivant ses autres effets thérapeutiques sur l'arthrite, la neurologie, la démangeaison, l'ulcère gastroduodéal, l'asthme, et l'hypertension (175).

Le chlorhydrate de procaine a été synthétisé pour la première fois en 1905 par A. Einhorn (175), il a pour formule  $C_{13}H_{20}N_2O_2 \cdot HCl$ .

Le chlorhydrate de procaine est actuellement une simple combinaison entre deux vitamines B: PAPA (p-acide benzoïque) et DEAE (Diethylaminoethanol) tamponné et stabilisé avec de l'acide chlorhydrique.

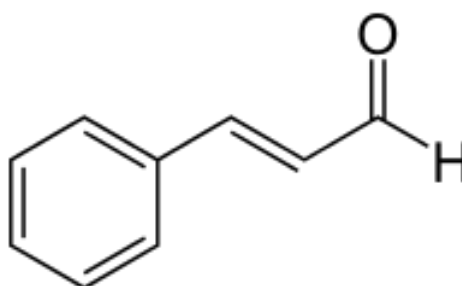


**Figure 27 :** Structure chimique de chlorhydrate de procaine.

### II.I. 3. Le Trans-cinnamaldéhyde :

L'aldéhyde cinnamique ou le trans-cinnamaldéhyde est un produit de formule  $C_9H_8O$ . Il est obtenu par synthèse à partir du benzaldéhyde  $C_6H_5CHO$  et d'acétaldéhyde  $CH_3CHO$  ou par réduction de l'acide cinnamique. C'est un exemple d'aldéhyde parfumé. Il est présent dans l'alimentation quotidienne de l'humain (176). Le cinnamaldéhyde a des utilisations diverses :

- Alimentation : arômes pour chewing-gum, crèmes glacées, bonbons et boissons diverses.
- Parfumerie : principe odorant des parfums à senteur fruitée ou orientale : amandes, abricot, caramel au beurre.
- Agriculture : Appliqué à la racine des plantes, le cinnamaldéhyde s'est montré un fongicide efficace et d'un emploi sans danger dans les récoltes agricoles. Il est aussi utilisé comme insecticide et son odeur éloigne les animaux comme chats et chiens.
- Industrie : le cinnamaldéhyde empêche la corrosion de l'acier et d'autres alliages à base de fer soumis à l'action des fluides corrosifs.



**Figure 28 :** Structure chimique du cinnamaldéhyde.

#### **II.I. 4. Monomère type amide :**

La fonction amide est omniprésente en chimie organique et en biochimie. Elle fait partie des grandes fonctions rencontrées dans les substances naturelles et synthétiques à activités biologiques et thérapeutiques (177-178).

Les amides sont aussi importantes par leur présence dans les formulations pharmaceutiques et agronomiques (179). La fonction amide est souvent utilisée comme groupe protecteur en synthèse organique du fait de leur grande stabilité.

Les amines primaires et secondaires réagissent facilement avec les halogénures d'acide RCOX pour donner des amides. La réaction implique l'attaque nucléophile de l'azote sur le carbone du C=O de RCOX, suivie de l'élimination d'hydracide HX. L'amide est bien moins basique que l'amine, par suite des effets électroattracteurs cumulés, inductifs et mésomères du C=O. Il s'ensuit qu'une amine ne peut être acylée qu'une fois.

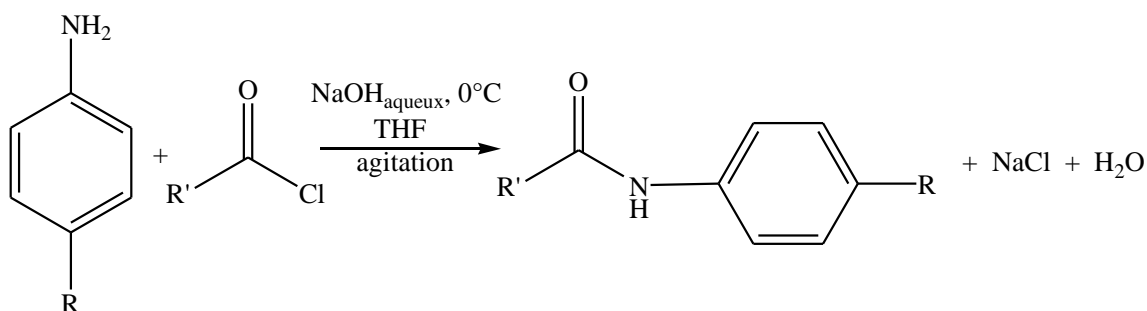
La réaction de Schotten-Baumann (180-181) est une méthode simple d'acylation permettant de transformer quantitativement les amines primaires et secondaires en amides correspondantes. On agite un mélange d'amine, de base (NaOH ou mieux  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) aqueuse froide, de  $\text{RCOX}$  dans un solvant inerte tel le THF. La base aqueuse permet l'élimination de l'acide fort HX. L'amine qu'est un très bon nucléophile concurrence efficacement l'ion hydroxyle de  $\text{RCOX}$ .

On peut aussi utiliser une amine tertiaire telle la triéthylamine (TEA) ou la pyridine pour neutraliser HX formé. Les amines tertiaires ne réagissent pas avec  $\text{RCOX}$  et sont récupérées intactes après la réaction par traitement avec les bases fortes aqueuses.

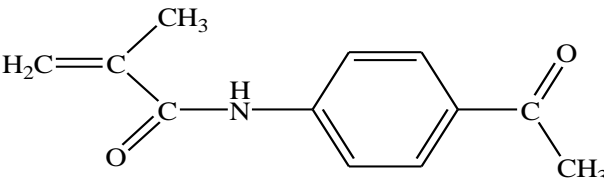
#### **II.1.4. a. Mode opératoire :**

A une solution de 0,035 mole d'amine  $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{COCH}_3$  dans 25mL de THF, on ajoute goutte à goutte 0,035 mole de chlorure de méthacryloyle dans 25mL de THF en première étape. En deuxième étape, on ajoute 25 mL de la solution de soude préparée (0,035 mole). La solution est refroidie à l'aide d'un bain de glace +sel. Le mélange réactionnel est ensuite agité pendant 02 heures. Deux phases sont formées (aqueuse et organique). On récupère la phase organique et on récupère l'amide formée.

La purification de cette amide se fait par solubilisation dans le THF et précipitation par l'heptane.



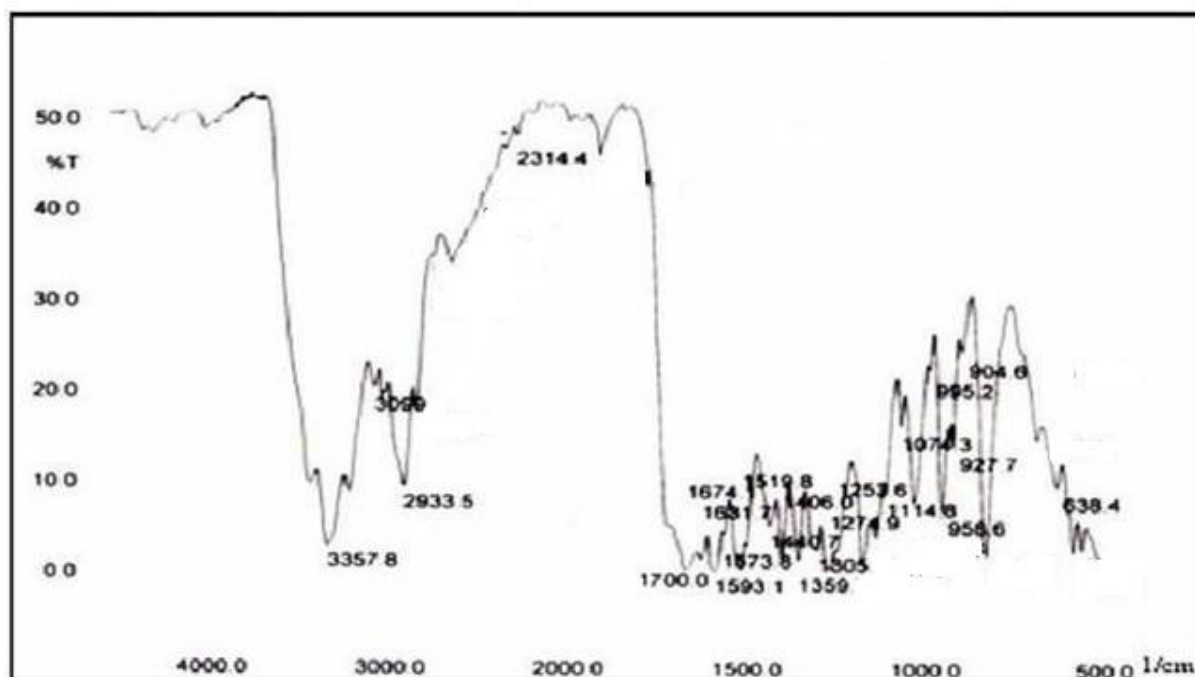
**Figure 29 :** Mécanisme réactionnel pour la synthèse de l'amide.

Amine	Rendement	Amide	Aspect
p-aminoacétophénone	58%		poudre jaune point de fusion 110°C.

**Tableau 7 :** Résultats de la synthèse de Schotten-Baumann.

#### II.1. 4. b. Caractérisation de l'amide synthétisée :

- ✚ **Infrarouge:** Les spectres IR ont été enregistrés sur l'appareil FTIR-8300, SCHIMADZU du Centre de Mesure de la Faculté des Sciences Exactes de l'Université Djillali LIABES de Sidi Bel Abbas.



**Figure 30 :** Spectre FTIR de l'amide.

A partir du spectre IR, on tire les bandes caractéristiques en  $\text{cm}^{-1}$  de l'amide préparée :

2933: =C-H,

995,2 et 927,7: vibrations « hors plan »  $\text{CH}_2=\text{C}$ ,

3357 :  $\text{cm}^{-1}$  NH amide,

1700: C=O acétone,

1674 : C=O Carbonyle amide,

1631: double liaison vinylique,

1593: double liaison aromatique.

### RMN $^1\text{H}$ :

Les spectres RMN  $^1\text{H}$  ont été enregistrés dans la DMSO deutériée par rapport au TMS comme référence interne, sur l'appareil Brücker AVANCE 500 MHz de l'Université de RENNES 1 (France).

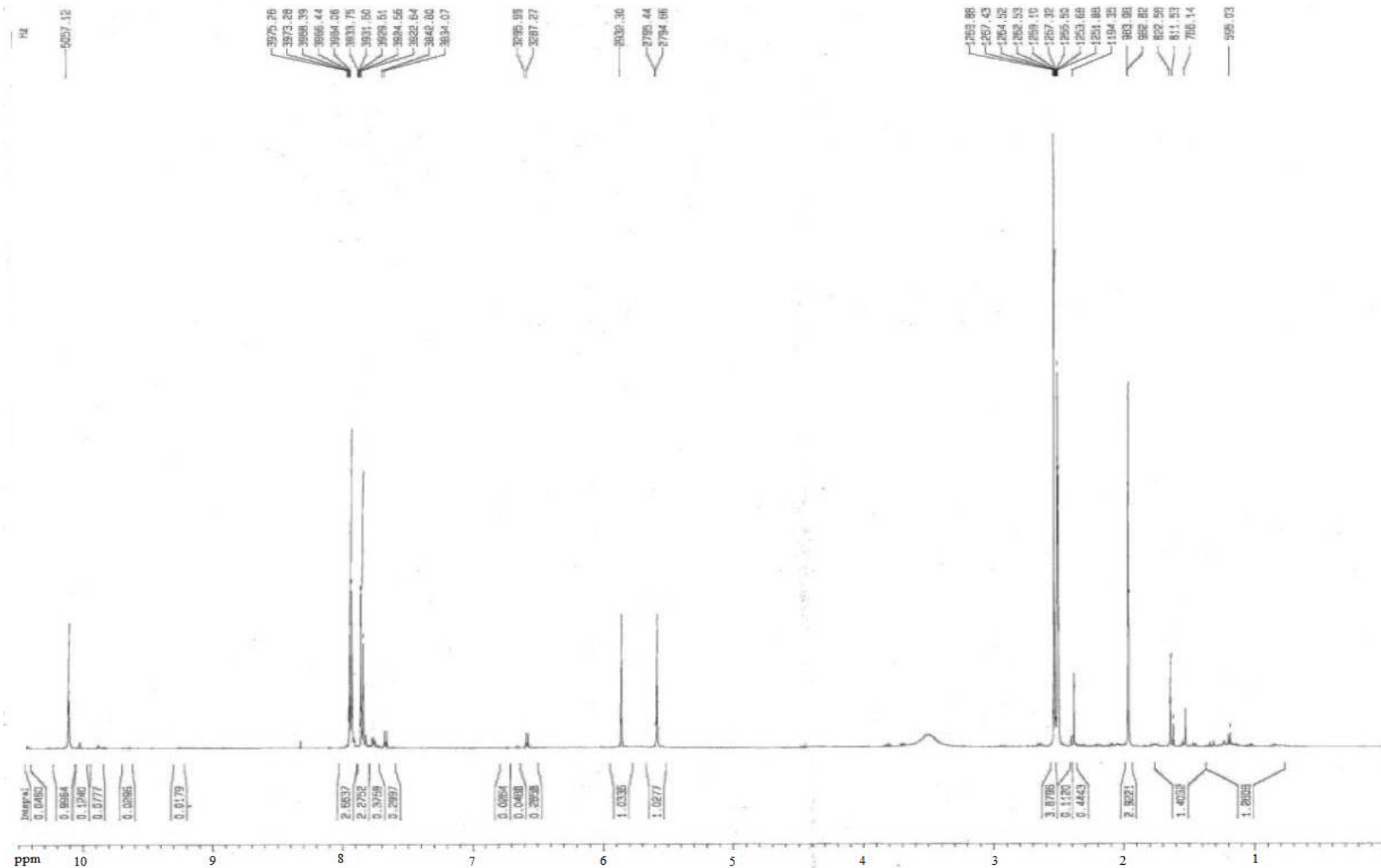
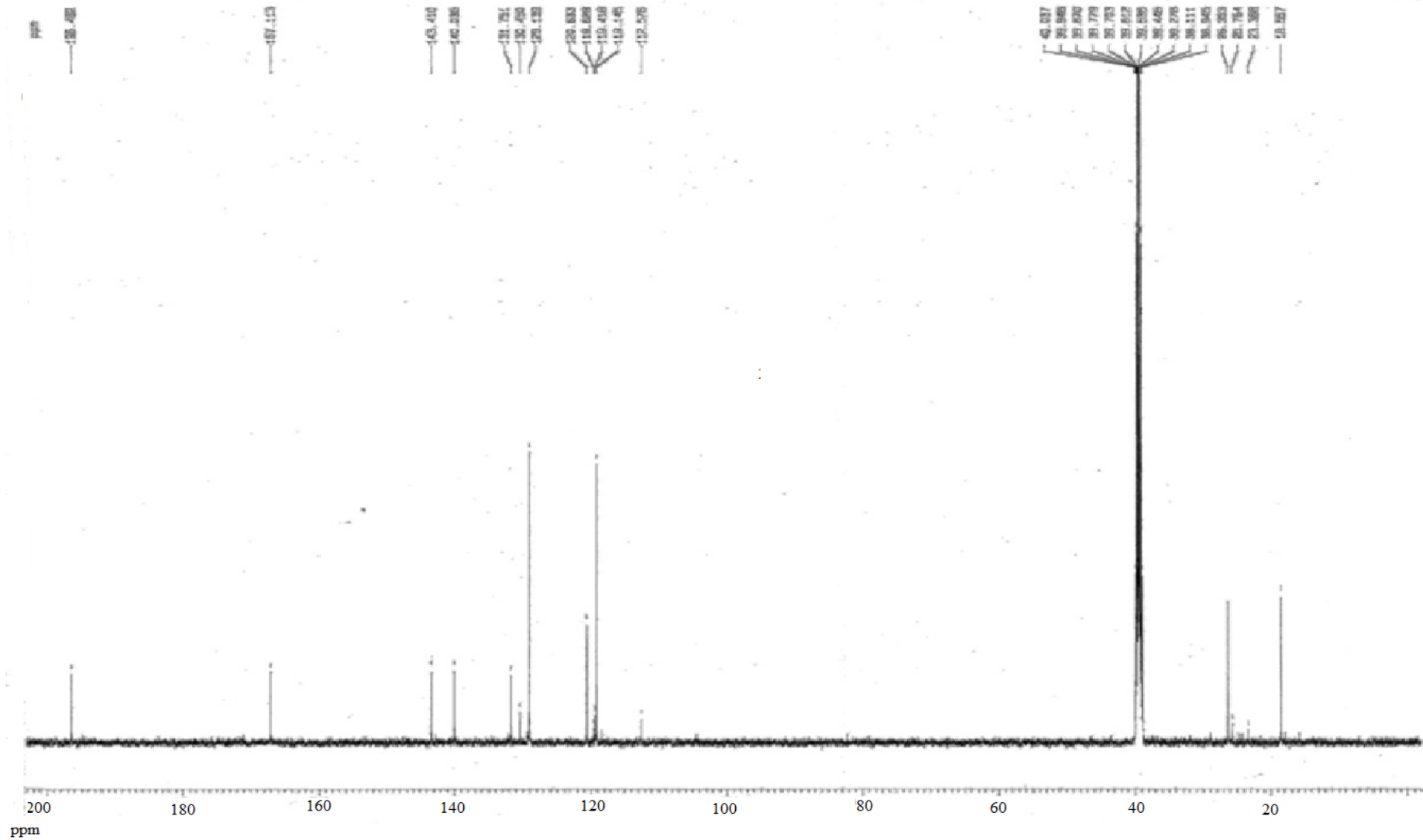


Figure 31 : Spectre RMN <sup>1</sup>H de l'amide.



**Figure 32 :** Spectre RMN  $^{13}\text{C}$  de l'amide.



A partir du spectre RMN  $H^1$  (**figure 31**), on relève les déplacements chimiques en ppm suivants:

C- $\underline{C}H_3$ : 1,64, Singulet

CO- $\underline{C}H_3$ : 1,9, Singulet

$\underline{C}H_2=C$ : 5,61-5,88, deux doublets

H aromatique:  $H_o$ : 7,83,  $H_m$ : 7,89, deux doublets

-NH : 10,1. Singulet

A partir de la figure 32, On relève les déplacements chimiques en  $^{13}C$  en ppm suivants des carbones de l'amide:

C de phényle :  $C_o$ : 119,  $C_m$ : 121,  $C_p$ : 129, C lié à la fonction amide : 132,

$H_2C=C-\underline{C}H_3$ : 18,

CO- $\underline{C}H_3$ : 26,5,

$\underline{C}H_2=C$ : 140,

$CH_2=\underline{C}$ : 143,

C=O acetone: 167,

C=O amide: 197.

**II.I.5. La tétra phenyl porphyrine :**

Les porphyrines sont des molécules très présentes dans la nature. On trouve dans cette grande famille l'hémoglobine, la chlorophylle, la cyanocobalamine...Diverses porphyrines ont été synthétisées depuis 1935, en faisant réagir un aldéhyde avec du pyrrole dans de la pyridine à des températures variant de 140 à 220°C pendant 24 à 48 heures avec des rendements maximums d'une dizaine de pourcents. Les conditions très dures limitent le choix des réactifs et donc le développement de cette réaction (**183-184**).

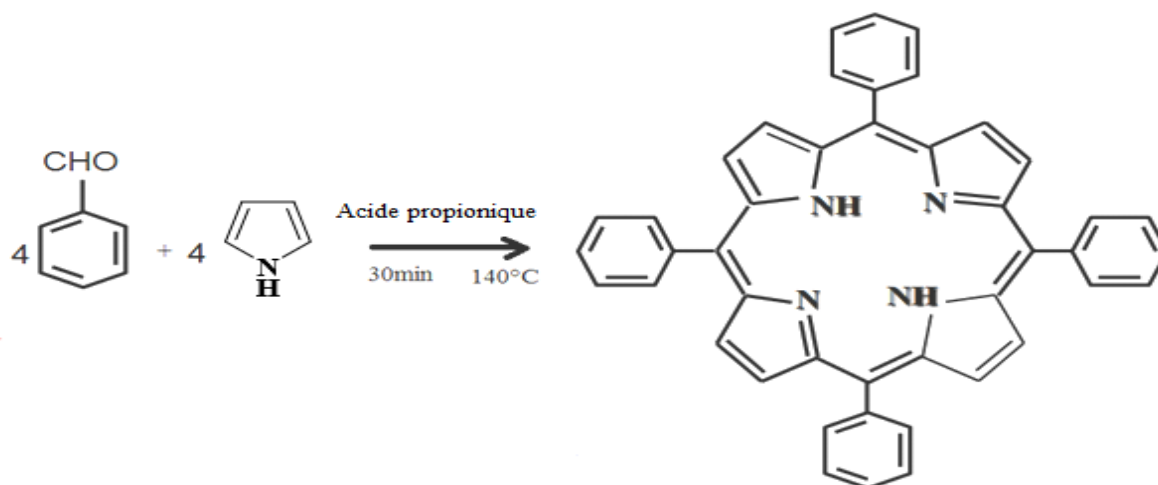
Alder et Longo (**185**) améliorent nettement la méthode précédente en proposant de faire réagir un aldéhyde et du pyrrole à reflux de l'acide propionique. La tétraphénylporphyrine est obtenue avec des rendements de 20%.

**II.I. 5.a. Mode opératoire :**

On mélange à l'instant initial 4 mL de benzaldéhyde avec 150 mL d'acide propionique dans un ballon de 250 mL. Le mélange est chauffé à reflux à T = 135°C sous agitation.

On ajoute 2,8 mL de pyrrole dès le début de l'ébullition de l'acide propionique. On laisse ensuite le mélange à reflux pendant 30 minutes. On laisse enfin le milieu revenir à température ambiante.

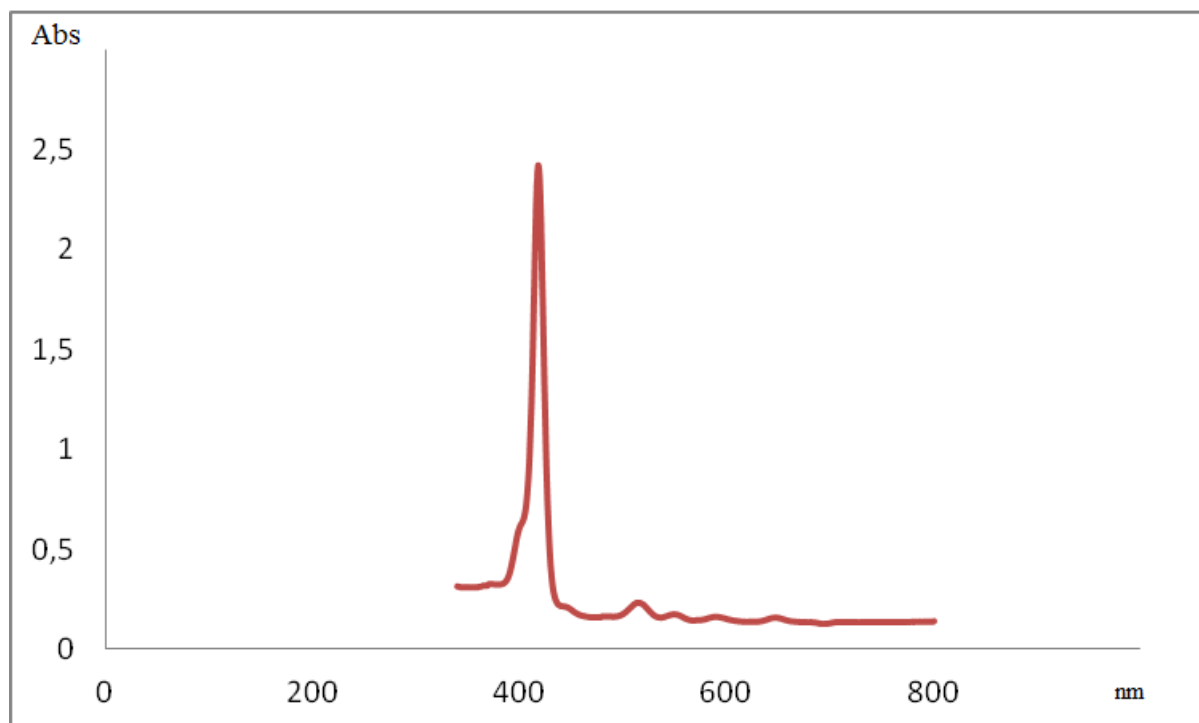
On filtre sur verre fritté et le précipité isolé est rincé abondamment avec de l'alcool méthylique. Le précipité est une poudre violette que l'on laisse sécher à l'air libre.



**Figure 33 :** Réaction de la synthèse de la tétraphénylporphyrine.

**II.I. 5.b. Caractérisation du TPP :**

✚ **UV-Vis :** Le spectre UV-VIS a été enregistré dans l'acétone, sur l'appareil Uvikon CFR21 de l'Université de RENNES 1 (France).



**Figure 34 :** Spectre UV-VIS de la tétraphénylporphyrine dans l'acétone.

A partir du spectre UV-VIS, on tire les bandes caractéristiques des porphyrines :

*Bande B ou bande de Soret (185)*

$\lambda = 417\text{nm}$

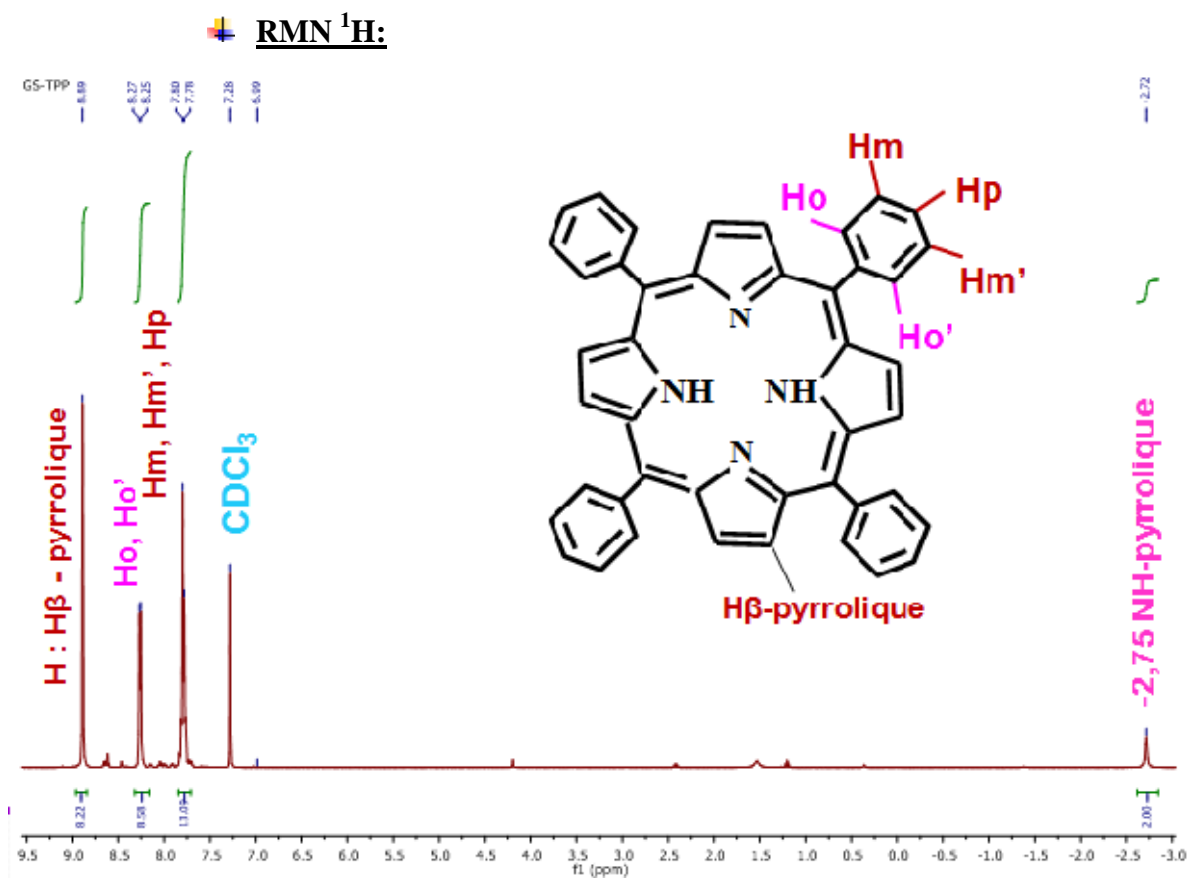
Bandes Q ou ( $\alpha$  et  $\beta$ )

$Q_I ; \lambda = 648\text{ nm}$

$Q_{II} ; \lambda = 591\text{ nm}$

$Q_{III} ; \lambda = 550\text{ nm}$

$Q_{IV} ; \lambda = 514\text{ nm}$



**Figure 35 :** Spectre RMN  $\text{H}^1$  de la tétraphénylporphyrine.

A partir de la figure 35, on relève les déplacements chimiques en ppm suivants :

$\text{H}_m, \text{H}_m', \text{H}_p$  : 7,61; 7,77

$\text{H}_o, \text{H}_o'$  : 8,25

$\text{H}_\beta$  pyrrolique : 8,9

NH-pyrrolique : - 2,75

### **II.II.1. Matériaux d'enrobage :**

Le principe actif à encapsuler est piégé ou enrobé dans une membrane qui l'isole du milieu extérieur. Dans un tel système, le principe actif peut être entouré par une membrane d'épaisseur uniforme ou non uniforme (186).

Il existe un nombre important de matériaux qui peuvent être utilisés dans la microencapsulation comprenant principalement les polymères. Le choix des matériaux d'enrobage dépend d'un certain nombre de facteurs liés aux objectifs et aux conditions d'utilisation du principe actif, à la nature du polymère, au procédé d'encapsulation et au coût d'utilisation.

Pour l'encapsulation des composés pharmaceutiques, le polymère d'encapsulation doit satisfaire à certaines exigences telles que :

- la non réactivité avec le principe actif ;
- présenter une forme facile à manipuler ;
- avoir une faible viscosité à des concentrations élevées afin de permettre une élimination complète du solvant pour le processus ayant besoin d'une phase de désolvation ;
- apporter à la substance active une protection maximale contre les facteurs externes indésirables ;
- assurer de bonnes propriétés d'émulsification ;
- et avoir un comportement de redispersion afin d'assurer une libération contrôlée du principe actif (186).

### **II.II.1. La gomme arabique :**

Les hydrocolloïdes peuvent influencer la libération des principes actifs en retardant leur diffusion, ceci est dû notamment à leur effet sur sa viscosité (187). En effet, la concentration des molécules volatiles dans la phase gazeuse diminue quand la viscosité augmente.

La gomme arabique est la gomme la plus utilisée dans l'encapsulation (188). Elle consiste en un exsudat de sève obtenu par incision du tronc et des branches de certains acacias dont principalement l'acacia du Sénégal. Elle est récoltée principalement en Afrique saharienne.

La gomme arabique est un hydrocolloïde fortement ramifié. Sa structure typique consiste en trois fractions :

- Fraction arabinogalactane correspondant à 90% de la molécule, fraction à faible poids moléculaire (300 000) et faible teneur en protéine (0,5 %);
- Fraction arabinogalactoprotéine correspondant à 9% de la molécule, son poids moléculaire est élevé (1,5 millions) avec une forte teneur en protéine (50 %);
- Fraction glycoprotéique ne représentant que 1% de la molécule.

La fraction protéique assure la liaison entre les différents monomères d'arabinogalactane. Après hydrolyse en milieu acide, la gomme est dégradée en arabinose, galactose, rhamnose et acide glucuronique.

La gomme arabique est recherchée principalement pour ses propriétés émulsifiantes et filmogènes. Elle est conviente à l'encapsulation grâce à sa solubilité, sa basse viscosité, ces caractéristiques d'émulsification et sa bonne conservation des composés volatils, la rendent très souple pour la plupart des méthodes d'encapsulation.

Krishan et al ont montré que pour l'encapsulation d'oléorésine de cardamome, la gomme arabique s'avère le meilleur matériau d'enrobage en comparaison avec les maltodextrines et l'amidon modifié (189).

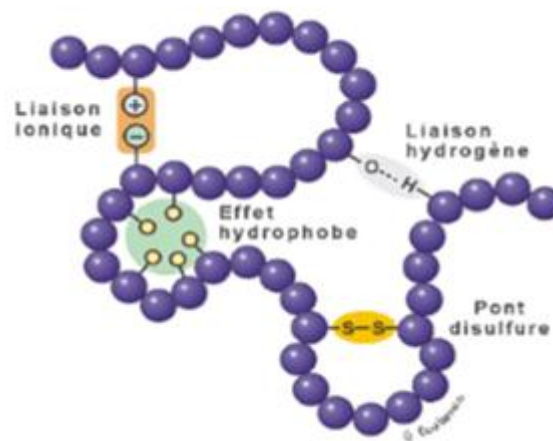
### **II.II.2. La gélatine :**

Une protéine est un polymère organique résultant de la condensation d'acides aminés par formation de liaisons peptidiques. Les acides aminés constitutifs sont appelés résidus. Le radical R présent sur le résidu est appelé chaîne alkyl(190).

Les protéines ont des structures complexes au sein desquelles on distingue quatre niveaux d'organisation (190):

- Structure primaire : elle caractérise la séquence des acides aminés au sein de la chaîne principale de la protéine
- Structure secondaire : elle est représentative de la forme spatiale de certaines parties de la chaîne selon un axe principal (hélice  $\alpha$ , feuillet  $\beta$ , ...).
- Structure tertiaire : elle indique l'organisation spatiale générale propre à chaque protéine, c'est à dire le positionnement respectif des différentes chaînes. Elle est fortement dépendante des conditions régnant dans le milieu environnant (nature du solvant, viscosité, température, pH)
- Structure quaternaire : elle rend compte de l'état d'association des protéines par liaisons hydrogène, hydrophobes ou disulfure.

La figure suivante présente les divers types de liaisons susceptibles de se former dans une molécule de protéine entre les différentes chaînes



**Figure 36 :** Types de liaisons susceptibles de se former entre les différentes chaînes d'une molécule de protéine.

Il existe deux types de gélatines différant par l'origine de la matière première et par le procédé de fabrication utilisé :

- les gélatines de type A obtenues par un traitement acide de peaux de porcs et d'os,
- les gélatines de type B obtenues par un traitement alcalin de peaux de bovins et d'os.

Les gélatines de type A se distinguent du type B par leur point isoélectrique (toujours supérieur à 6,5 pour le type A et voisin de 5 pour le type B) et une viscosité plus faible pour un même degré bloom. Le bloom définit la force en gel de la gélatine ; il correspond à la rigidité du gel obtenu avec cette gélatine dans des conditions normalisées. Ce paramètre dépend de la concentration en gélatine, du pH, de la température et du temps **(191)**.

La gélatine que nous avons utilisée dans cette étude est de type A. Elle fait partie de la famille des hydrocolloïdes dont les fonctions principales sont d'épaissir, de gélifier et de stabiliser. La propriété « gélifiante » de la gélatine est la plus connue et la plus utile. Son avantage est qu'elle forme un gel thermoréversible qui fond à un degré voisin de celui de la température du corps humain, sans modifier la qualité gustative du produit dans lequel elle entre **(192)**.

Elle est utile dans plusieurs domaines :

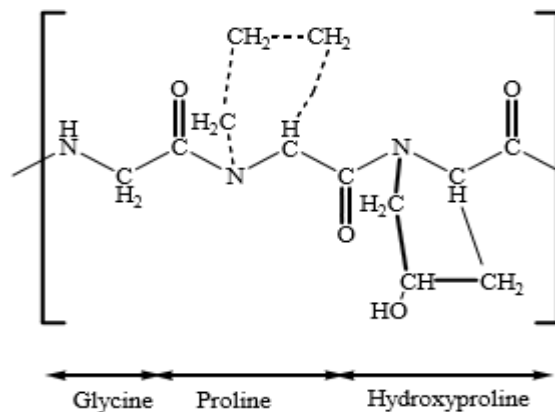
- l'industrie de la confiserie,
- l'industrie de la viande, des poissons et crustacés, de la diététique, de la santé
- l'industrie pharmaceutique (production des capsules/gélules, comprimés),
- l'industrie photographique,
- applications diverses (clarification des boissons, électrolyse, polymérisation des matières plastiques).

Elle est semblable à celle du collagène. La chaîne macromoléculaire contient environ 27% de glycine et environ 27% de proline et d'hydroxyproline. La représentation monomérique de ce biopolymère est  $-(\text{Gly} - \text{X} - \text{Y})_n$ . La molécule ne contient ni tryptophane, ni cystéine ; l'absence de ce dernier acide aminé explique l'absence de pont disulfure dans la molécule. Les enchaînements Glycine – Proline – Hydroxyproline soient  $-(\text{Gly} - \text{Pro} - \text{Hyp})_n$  - sont les plus fréquents. Ces séquences apolaires sont séparées par des séquences polaires composées principalement de résidus d'acide glutamique, arginine, acide aspartique, lysine ou sérine. La gélatine est donc composée de certains acides aminés hydrophobes (proline, leucine) et d'acides aminés hydrophiles (sérine, arginine,...). C'est



donc une protéine globalement hydrophile présentant un caractère hydrophile – hydrophobe (amphiphile) mais de faibles propriétés de surface(193).

L'encombrement stérique des noyaux pyrrolidone de la proline et de l'hydroxyproline impose à la chaîne polypeptidique une structure hélicoïdale de type polyproline dans laquelle il n'existe pas de pont hydrogène interne. Par conséquent ce noyau est un facteur important dans le maintien de la configuration moléculaire et de sa stabilité à l'état natif. Trois chaînes de ce type peuvent s'enrouler en triple hélice et établir entre elles de nombreuses liaisons hydrogène qui assurent la stabilité de l'ensemble. En solution, la structure primaire de la gélatine est conservée mais la structure secondaire peut être détruite sous certaines conditions de pH, température ou de composition. Dans les cas limites, les macromolécules adoptent une conformation de pelote statistique sans orientation spécifique des différents groupements d'une même chaîne.

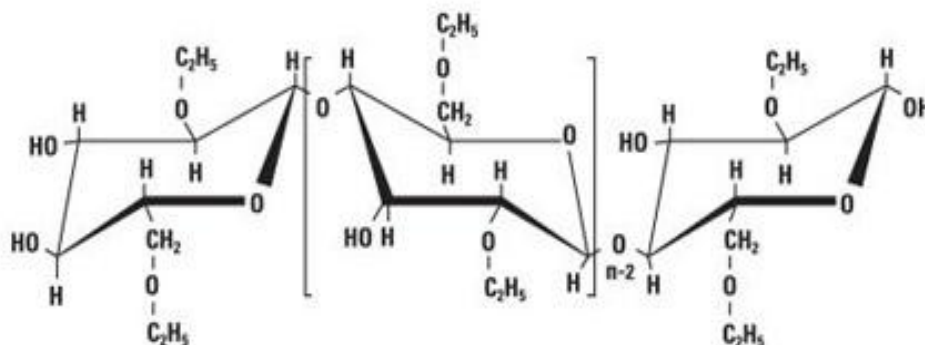


**Figure 37 :** Structure primaire de la gélatine.

### II.II.3. L'éthylcellulose :

Les polymères naturels d'origine animale, végétale ou encore bactérienne, possèdent de nombreux groupements réactifs (hydroxyle, acide carboxylique, amine) qui peuvent servir de base à une fonctionnalisation dont le but est de conférer de nouvelles propriétés. La cellulose est le polymère naturel le plus abondant (194).

L'éthylcellulose est un dérivé de la cellulose dans lequel une partie des groupes hydroxyle des unités glucosiques ont été convertis en groupes éthyloxy. Elle est fabriquée à partir de cellulose végétale, partiellement étherifiée, après un traitement alcalin, par réaction avec du chloroéthane. Elle est pratiquement insoluble dans l'eau.



**Figure 38** : Structure chimique de l'éthylcellulose.

L'éthylcellulose est un polymère biocompatible et non-biodégradable, elle est utilisée pour libérer des principes actifs à partir des formes orales par la formation d'une matrice ou film perméable. Elle est largement utilisée dans la préparation des microparticules pour contrôler les odeurs, protéger les médicaments contre l'oxydation et la volatilité, modifier la solubilité, et suivre la libération des principes actifs.

#### **II.II.4. Le polycaprolactone:**

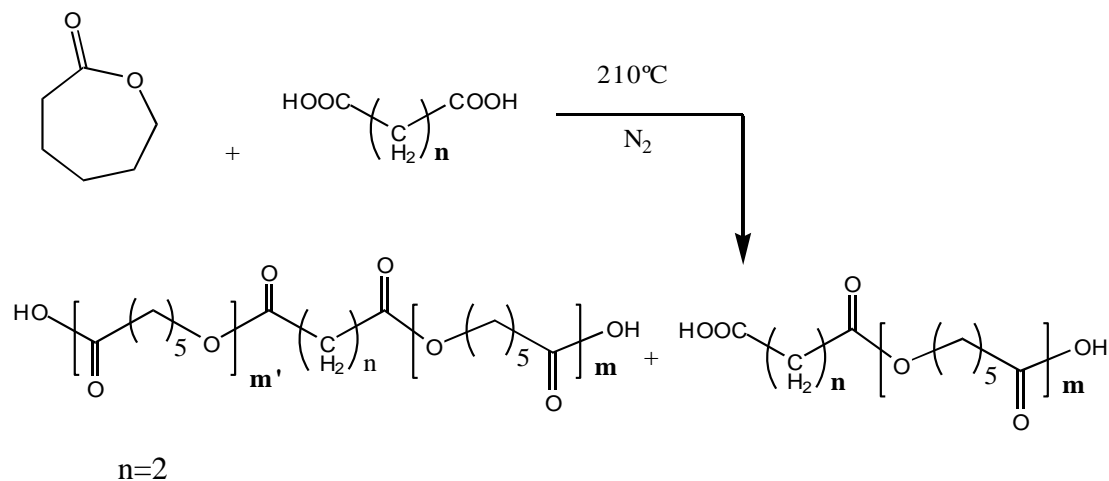
Les polyesters aliphatiques appartiennent à la famille des polymères biodégradables et même bioassimilables car les produits de leur dégradation sont compatibles et métabolisés par l'organisme. C'est grâce à ces propriétés que l'utilisation de ces polymères connaît un essor croissant depuis les trente dernières années. Ils sont en effet couramment utilisés comme matériaux chirurgicaux à usage temporaire (sutures, plaques, vis...) mais aussi comme matrices permettant d'encapsuler et de libérer des principes actifs dans le corps humain (195).

La synthèse de ces polyesters s'effectue selon deux voies principales :

- Polymérisation par polycondensation.
- Polyaddition par ouverture de cycle (Ring- Opening Polymerization ou ROP).

La condensation présente beaucoup d'inconvénients : les temps de réactions sont longs, les polymères de hauts poids moléculaires sont difficiles d'accès et les polymolécularités sont importantes. A l'inverse la polymérisation d'ouverture de cycle est bien plus efficace d'un point de vue thermodynamique, elle permet de contrôler correctement l'architecture des polymères, leur masse molaire et d'ajuster les propriétés physico-chimiques de chaque matériau aux applications envisagées (196).

La polycaprolactone est un polyester aliphatique synthétique, hydrophobe et biodégradable. C'est un polymère semi-cristallin, non toxique, obtenu par polymérisation d'ouverture de cycle du monomère  $\epsilon$ -caprolactone (197). Le polymère utilisé dans notre travail a été synthétisé dans notre laboratoire (LCOPM- UDL) selon la réaction chimique suivante :



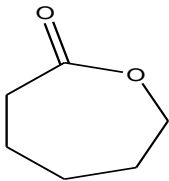
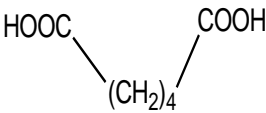
**Figure 39 :** Réaction de polymérisation de l'  $\epsilon$ -caprolactone.

**II.II.4.a. Mode opératoire :**

La polymérisation de l' $\epsilon$ -caprolactone a été réalisée par ouverture de cycle en présence de l'acide adipique sous agitation magnétique, où l' $\epsilon$ -caprolactone et le diacide sont mélangés respectivement dans un rapport molaire de  $\frac{1}{4}$  et le mélange réactionnel est porté à une température de  $210\text{C}^\circ$  sous atmosphère inerte d'azote.

La réaction a été arrêtée au bout de 40 mn et le polymère obtenu a été solubilisé dans THF puis purifié par précipitation dans le méthanol. Une filtration et un séchage sous vide ont donné un produit d'aspect poudreux et de couleur blanche.

Les produits utilisés dans cette synthèse sont les suivants :

Les Réactifs	Caractéristiques et références
$\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_2$ $\epsilon$ caprolactone 	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Densité= 1.076</li> <li>• Masse molaire :114.15 g/mole</li> <li>• Point ébullition : 98-99<math>\text{C}^\circ</math></li> <li>• Référence :FLUKA-Chemica</li> <li>• Solubilité : soluble dans l'eau en toutes proportions et dans la majorité des solvants organiques</li> </ul>
L'acide Adipique $\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_4$ 	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Masse molaire :146.14g/mol</li> <li>• Point fusion :151-154<math>\text{C}^\circ</math></li> <li>• Référence : Prolabo ,99.9%</li> <li>• Solubilité : 1gr/10ml de méthanol</li> </ul>

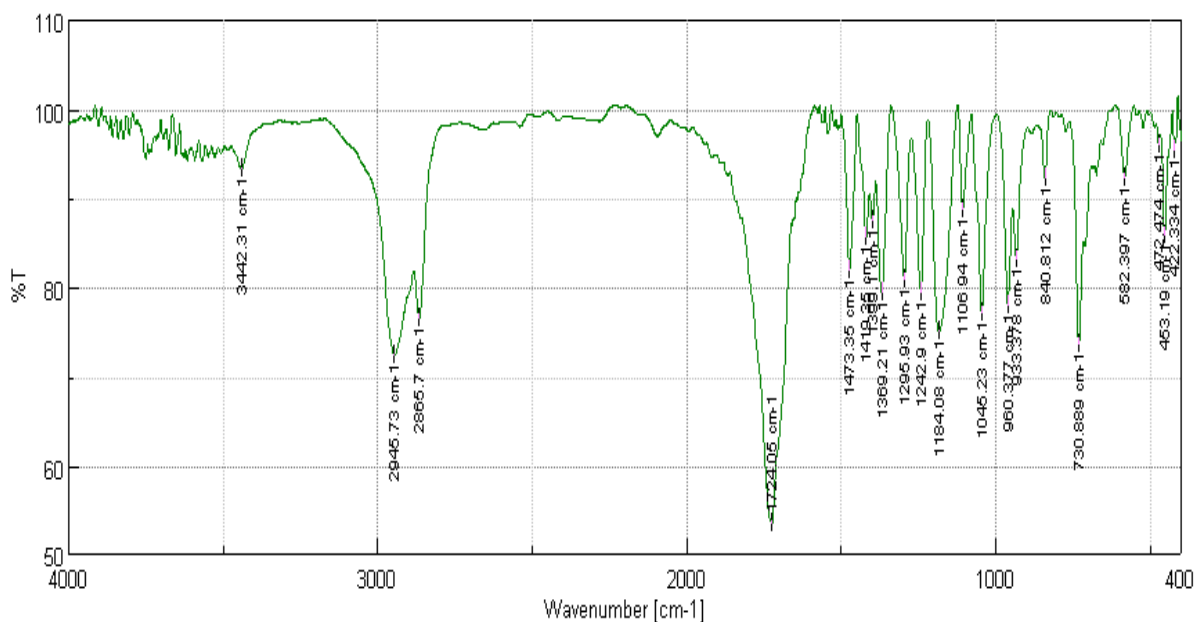
**Tableau 8 :** Caractéristiques des réactifs utilisés pour la synthèse du poly  $\epsilon$ -caprolactone.

**II.II.4.b. Caractérisation du PCL :**

**Spectroscopie IR :** Le polycaprolactone (PCL) a été examiné en mode FTIR. L'analyse infra rouge démontre la présence d'une bande d'absorption de vibration à  $1724,06\text{ cm}^{-1}$  caractérisant le groupement  $\text{C}=\text{O}$  de la fonction ester linéaire. Les fonctions OH des

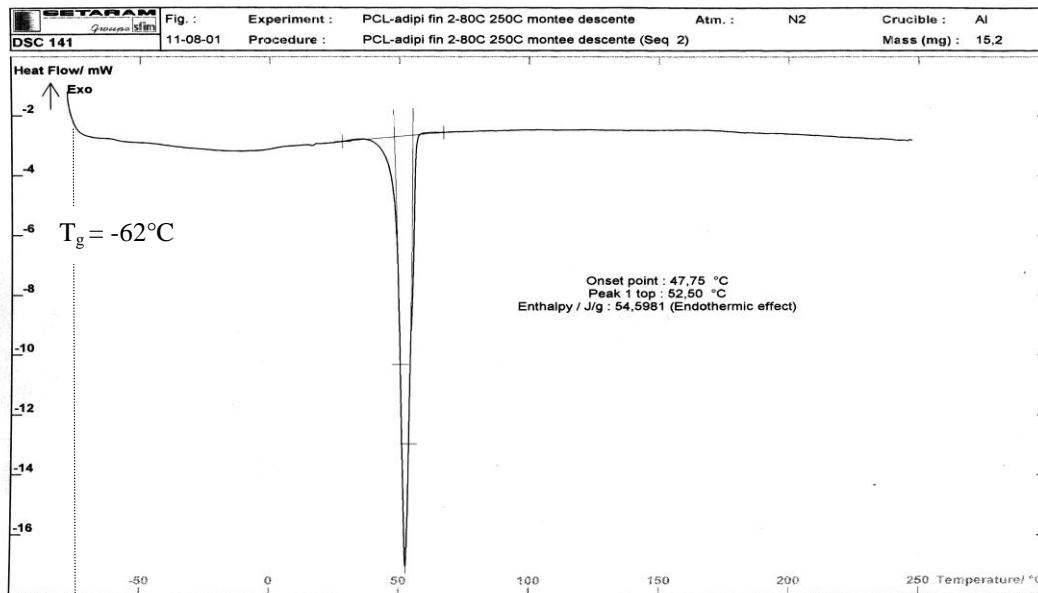
groupements carboxyles du polycaprolactone apparaissent aux alentours de  $2865,7 - 2945,73 \text{ cm}^{-1}$ . On remarque aussi une bande fine à une fréquence de  $1473 \text{ cm}^{-1}$  ; confirmant l'existence de la fonction carboxyle terminale dans la structure chimique du polycaprolactone .

On constate l'apparition respective de deux bandes de déformations hors plan à  $960,37 \text{ cm}^{-1}$  de la fonction acide et à  $1106,94 \text{ cm}^{-1}$  de la fonction  $\text{C}=\text{O}$  des groupements carboxyles.



**Figure 40 :** Spectre infrarouge du polycaprolactone (PCL).

**Analyse calorimétrique différentielle DSC :** Les analyses sont faites sur un appareil DSC-7 PERKIN-ELMER à l'université de Rennes1. Les échantillons sont soumis au cycle de température (-60 à 200°C): le produit pesé (environ 15 mg) est introduit dans une capsule DSC en aluminium de 40µl.



**Figure 41** : Spectre DSC du polycaprolactone.

Le polymère conçu présente un domaine de fusion important ( $T_f = 52^\circ\text{C}$ ), et une température de transition vitreuse proche de  $T_g = -62^\circ\text{C}$ .

**Masse viscosimétrique** : Les mesures viscosimétriques  $\bar{M}_v$  ont été effectuées à l'aide d'un viscosimètre capillaire type Ubbelohde de diamètre ( $d = 0,63\text{mm}$ ) thermostaté à  $30 \pm 0,1^\circ\text{C}$ .

La masse viscosimétrique est ensuite déduite de la relation de Mark-Houwink :

$$[\eta] = KM_v^a \quad [31]$$

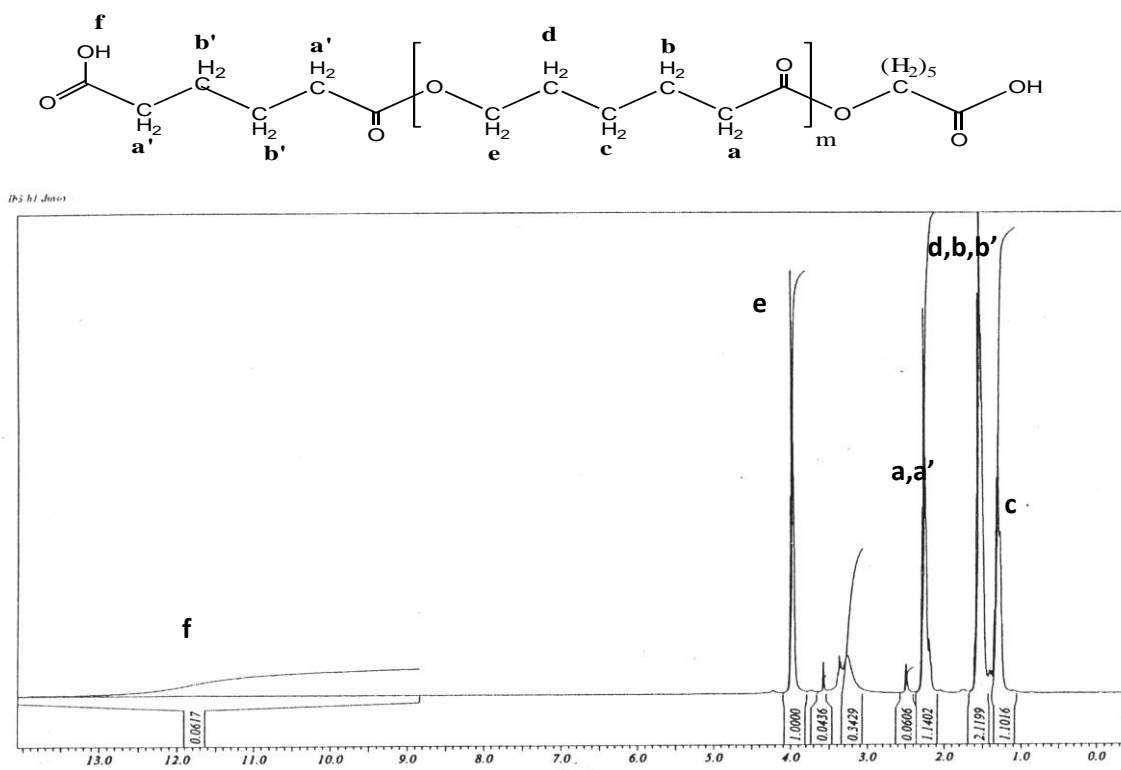
Les constantes de Mark-Houwink  $\mathbf{K}$  et  $\mathbf{a}$  déterminées dans le dichlorométhane à  $30^\circ\text{C}$  sont  $17 \cdot 10^{-3} \text{ml/g}$  et  $0,71$  respectivement (198).

La masse viscosimétrique du polycaprolactone (PCL) : **16829,33 gr /mole.**

Concentration (g/ml)	temps d'écoulement(sec)	$\eta_{rel}=t/t_0$ (ml/g)	$\eta_{spec}=(t/t_0)-1$ (ml/gr)	$\eta_{red}=(t/t_0)-1/C$ (ml/g)	$[\eta]_{int}(mL/g)$
0,0050	53,55	1,030	0,030	5,922	<b>17,625</b>
0,0042	52,86	1,016	0,016	3,891	
0,0036	53,18	1,022	0,022	6,249	
0,0025	52,97	1,018	0,018	7,383	
0,0017	53,45	1,028	0,028	16,286	
0,0013	52,93	1,018	0,018	13,607	
Masse viscosimétrique du polycaprolactone (PCL) : <b>16829,33 g /mole</b>					

**Tableau 9 :** Résultats de l'étude viscosimétrique du polycaprolactone.

**Spectroscopie RMN de résonance magnétique nucléaire  $RMN^1H$  :** Les signaux présentés par le PCL sont attribués par comparaison avec les spectres  $RMN^1H$  de nos réactifs de départ et de celui d'un autre (PCL) obtenu par une autre méthode décrite dans la littérature (199).



**Figure 42 :** Spectre  $RMN^1H$  de PCL dans  $CDCl_3$  à 25°C.

Les attributions des différents signaux sont résumées dans le tableau suivant :

<i>Protons</i>	Déplacements chimiques en ppm	Allure des signaux
<sup>c</sup> CH <sub>2</sub>	1,25	<i>Multiplet</i>
<sup>c'</sup> CH <sub>2</sub>	-	<i>Multiplet</i>
<sup>d</sup> CH <sub>2</sub>	1,47	<i>Multiplet</i>
<sup>b</sup> CH <sub>2</sub>	1,47	<i>Multiplet</i>
<sup>b'</sup> CH <sub>2</sub>	1,50	<i>Multiplet</i>
<sup>a</sup> CH <sub>2</sub>	2,14	Triplet
<sup>a'</sup> CH <sub>2</sub>	2,21	Triplet
<sup>e</sup> CH <sub>2</sub>	4,00	Triplet
<sup>t</sup> OH	11,80	Singulet

**Tableau 10 :** Déplacements chimiques des signaux en RMN<sup>1</sup>H du PCL.

L'analyse du spectre RMN<sup>1</sup>H du polycaprolactone montre la présence d'un triplet vers 4 ppm caractérisant les protons méthylènes <sup>e</sup>CH<sub>2</sub> du cycle caprolactone ouvert.



### II.III. Préparation des microparticules :

#### II.III.1. Synthèse des microcapsules :

Dans cette partie, on procède à la microencapsulation du cinnamaldehyde par la technique de la coacervation complexe du couple Gélatine-gomme arabique, pour obtenir aux conditions optimales de fabrication de microgouttelettes de cinnamaldehyde totalement enveloppées par une membrane gélatine-gomme arabique.

Plusieurs expériences sont faites pour déterminer les meilleures conditions d'une totale encapsulation de cet agent actif. Ce travail est alors poursuivi dans le but d'améliorer la conservation de microcapsules obtenues en procédant à une réticulation dans un milieu acide et étudier l'influence de quelques paramètres sur les propriétés de ces microcapsules (taille et épaisseur de la membrane) et la libération de l'agent actif.

La microencapsulation par coacervation complexe a été conduite dans un cylindrique avec un couvercle (volume du réacteur = 1000 mL, diamètre externe = 80 mm). L'agitation est assurée par un agitateur mécanique (type : IKA RW20 digital, UK), muni d'un mobile d'agitation avec 4 pales (longueur de la pale = 50 mm, largeur de la pale = 08 mm).

On a préparé des microcapsules considérées comme référence et nommées **AGG01**, les autres microcapsules fabriquées par modification des paramètres de préparation seront comparées à l'échantillon pris comme référence.

Les différentes étapes du protocole de **AGG01** et les observations obtenues lors de la préparation sont les suivantes :

- On prépare les solutions :
  - 40g de solution de gomme d'acacia à 1%.
  - 40g de solution de gélatine à 1%.
  - Peser dans un erlenmeyer 20g de cinnamaldehyde.

On note que le rapport entre les deux polymères est de 1/1 et que la fraction volumique de cinnamaldehyde est de 0,2.

On introduit les deux erlenmeyers contenant la solution de gomme d'acacia et la gélatine dans un bain thermostaté à 40°C qui est la température optimale de dissolution de la

gélatine. Les deux solutions sont sous agitation pendant 1heure. L'erenmeyer du cinnamaldehyde est aussi dans le bain thermostaté à 40°C.

Le réacteur est introduit dans un bain thermostaté à 40°C. Au cours de toutes les manipulations la longueur de la tige est réglée de telle sorte que les pales de la tige se situent à 1/3 de la hauteur du bac où le réacteur est plongé.



$V_T$ : Volume total du liquide 100mL; H: Hauteur du liquide; D: Diamètre interne du liquide 60mm; d: Diamètre du mobile d'agitation: 50 mm; w: Epaisseur des pales d'agitation: 08 mm; l: Longueur des pales:12 mm; p: Nombre de pales: 4; Y: Hauteur du mobile par rapport au fond de la cuve.

**Figure 43 :** Dispositif expérimental de l'encapsulation par coacervation complexe.



**Figure 44 :** Turbine d'agitation.

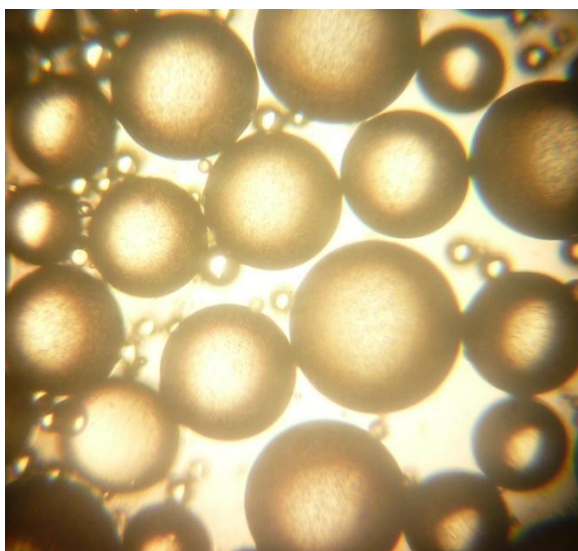
Les étapes de préparation des microcapsules sont :

➤ *L'émulsion :*

On introduit dans le réacteur à 40°C la solution de gomme d'acacia puis on ajoute la solution de gélatine et on laisse le mélange sous agitation de 500 rpm.

Après 15 min, on ajoute petit à petit le cinnamaldehyde dans le réacteur, le milieu devient trouble.

On fait un prélèvement du milieu réactionnel, on le dépose sur une lamelle en verre et on fait une observation au microscope optique (**figure 45**).



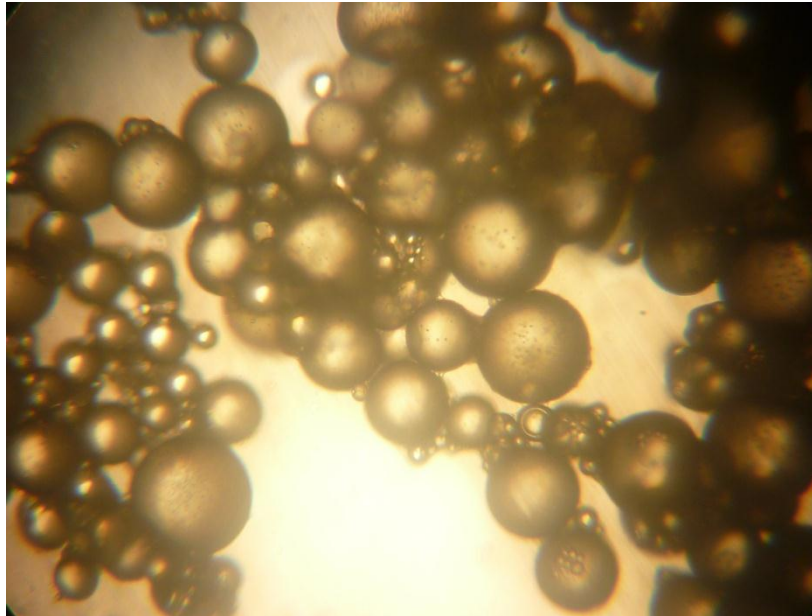
**Figure 45 :** l'étape de l'émulsion à T=40°C.

On remarque la présence des gouttelettes sphériques du cinnamaldehyde qui dispersé dans la phase polymérique aqueuse.

➤ *La coacervation :*

Après 30 mn: on diminue le pH de 6,2 à 3,9, en introduisant goutte à goutte 2,4 mL d'une solution molaire de  $\text{CH}_3\text{COOH}$ . Lors de la goutte à goutte, on réduit la vitesse d'agitation à 250 rpm.

A la fin de la goutte à goutte, on fait une autre observation par microscopie (**figure 46**).



**Figure 46 :** L'étape de la coacervation à pH=3,9, T=40°C.

On remarque qu'il y a formation de fines gouttelettes riches en polymères qui sont les coacervats et des regroupements recouverts par une membrane fine avec présence d'auréoles sur les microcapsules ce qui veut dire qu'elles ne sont pas totalement recouvertes : c'est la coacervation.

On note que l'introduction de l'acide acétique provoque la coacervation.

#### ➤ *La Consolidation*

Après 45 min, on introduit 0,08 mL de glutaraldéhyde à 25% pour consolider les membranes par réticulation.

Tout de suite après, on siphonne l'eau du bain, on le remplit de glace et on laisse refroidir durant 45 min pour que le milieu réactionnel atteigne une température égale à 5°C qui est la température optimale de gélification de la gélatine.

On laisse le mélange sous agitation à 5°C pendant 1 heure.

On fait une observation au microscope (**figure 47**).



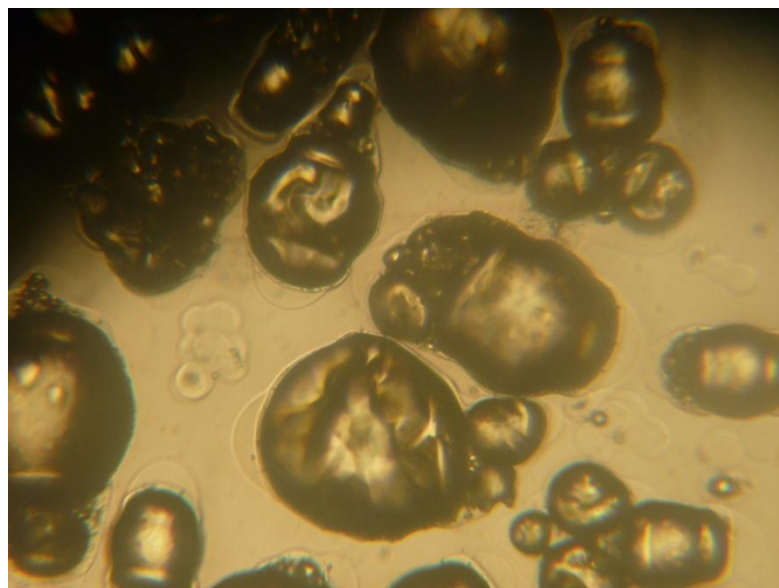
**Figure 47 :** L'étape de la consolidation pH=3,9, T=5°C.

On constate que les microcapsules sont individualisées avec beaucoup moins de coacervats et absence d'auréoles sur les microcapsules.

➤ *Alcalinisation :*

Après une heure à 5°C, on améliore la réticulation par alcalinisation du milieu réactionnel à pH=8,9, en ajoutant goutte à goutte 2,6 mL d'une solution molaire de soude ensuite on augmente la température à 40°C sans arrêter l'agitation.

On fait un autre prélèvement (**figure 48**).

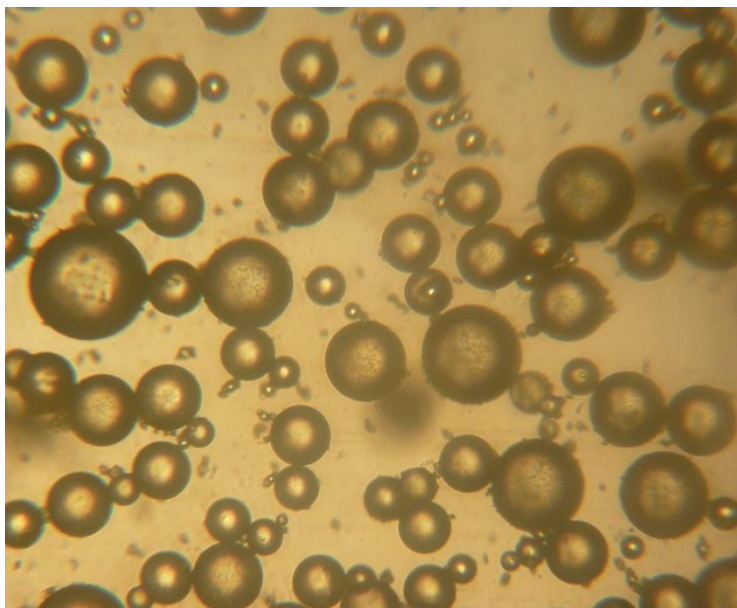


**Figure 48 :** L'étape de l'alcalinisation pH=8,9; T=40°C.



On remarque que les microcapsules ne sont plus sphériques et elles sont ridées.

Après 15 heures, on baisse le pH de 8,9 à 4,5 pour dériver les microcapsules, on ajoutant 4,7 mL de solution acide acétique 1M. On fait un dernier prélèvement (**figure 49**).



**Figure 49 :** Observation des microcapsules AGG01 par microscope optique.

Les autres formulations sont effectuées en suivant le même protocole mais en modifiant quelques paramètres de fabrication pour voir leur effet sur la morphologie des microcapsules ainsi que la libération du principe actif à partir de ces microcapsules, ses images prises par microscope optique sont classées en annexe.

➤ **Modification des paramètres de fabrication :**

**1. Modification de la vitesse de refroidissement :**

**✚ AGG02 :**

Ce sont des microcapsules qui ont été synthétisées de la même manière que les microcapsules nommées AGG01 avec les variantes suivantes :

- La diminution de la température de 40°C à 25°C se fait en remplissant le bain avec de l'eau de robinet pour fixer la température à 25°C au lieu de mettre la glace.

- A 25°C, on siphonne l'eau du bain, on introduit dans le réacteur toutes les minutes environ 4 mL d'eau permutée à 3°C. La masse totale d'eau introduite dans le réacteur est 100 g.

- On met de la glace dans le bain pour atteindre les 5°C, et pour le reste de la manipulation, on suit le protocole de production de AGG01.

#### **AGG03 :**

C'est le même protocole que celui des microcapsules AGG02 mais l'ajout de l'eau à 3°C se fait toutes les 2 minutes au lieu d'une minute.

#### **AGG04 :**

C'est le même protocole que celui des microcapsules AGG03 mais après la deuxième dilution avec l'eau, on augmente la vitesse d'agitation à 500 rpm au lieu de 250 rpm.

#### **AGG05 :**

Même protocole que AGG03 mais la dilution se fait avec 100g d'une solution PEG et de pH 3,9.

Le tableau suivant regroupe les différentes vitesses de refroidissement.

<i>Echantillon</i>	<i>AGG01</i>	<i>AGG02</i>	<i>AGG03</i>	<i>AGG04</i>	<i>AGG05</i>
$\Delta T / \Delta t$ : entre 25°C et 15°C °C/min	1,200	0,340	0,180	0,148	0,156

**Tableau 11 :** Vitesses de l'abaissement de température de différents échantillons.

## **2. Modification du temps d'émulsion :**

#### **AGG06 :**

Les modifications faites par rapport à AGG01 :

- Le temps de l'émulsion a été modifié de 30mn à 10mn, et on suit le même protocole décrit en AGG01.

### 3. *Modification de la durée de coacervation :*

#### AGG07 :

C'est le même protocole que celui AGG06 mais la durée de coacervation est seulement de 10 mn au lieu qu'elle soit 45 mn et l'abaissement de température de 40°C à 25°C se fait à eau courante dans le bac.

### 4. *Modification des concentrations des polymères :*

#### AGG08 :

Les paramètres modifiés sont :

- 20 g solution gomme arabique à 4% au lieu 40 g à 1%
- 20 g de gélatine à 4% au lieu de 40 g à 4%
- Juste avant de faire baisser le pH avec 2,4 mL de CH<sub>3</sub>COOH 1M, on dilue le milieu réactionnel avec 100g d'eau permutée à 40°C, ensuite on procède de la même manière que pour AGG07.

#### AGG09 :

Même protocole que celui de AGG08 mais à 25°C la dilution se fait d'une solution à 0,25% 1% de Tween 20.

### II.III.2. Synthèse des microsphères :

Dans cette deuxième partie, on prépare des microparticules par l'évaporation de solvant d'un ensemble des principes actifs : La procaine (PR), l'amoxicilline (AMO) et l'ampicilline (AM). D'autres produits synthétisés **amide** : NH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>COCH<sub>3</sub> : **MS** et le **tétraphényl-porphyrine** : **TPP** sont aussi encapsulés par cette méthode.

Plusieurs paramètres ont été modifiés, pour déterminer les meilleures conditions d'une totale encapsulation de l'agent actif et étudier l'influence de ces paramètres sur les propriétés de ces microsphères (taille, porosité et morphologie de la surface) et la libération de l'agent actif.

La microencapsulation par évaporation de solvant a été conduite dans le même réacteur déjà décrit ci-dessus. Il est utilisé sans son couvercle pour faciliter l'évaporation de



solvant. L'agitation est assurée par le même agitateur mécanique (type : IKA RW20 digital, UK), muni d'un mobile d'agitation avec 4 pales (longueur de la pale = 50 mm, largeur de la pale = 08 mm).



**Figure 50 :** Réacteur de la formulation par évaporation de solvant.

Le mode opératoire utilisé pour la préparation des microsphères chargées en principe actif se déroule comme suit :

- **Préparation de la phase continue** : Une quantité de tensioactif est dissoute dans 50g d'eau fraîchement permutée, sous forte agitation et chauffage.
- **Préparation de la phase dispersée (organique)** : Cette solution est préparée par dissolution sous chauffage à reflux (30-35°C) et agitation du polymère matrice dans un solvant organique contenant le principe actif à encapsuler à des quantités connues.

La solution organique est introduite dans le réacteur d'encapsulation contenant la solution aqueuse préalablement agitée mécaniquement et placée sous hotte aspirante.

L'agitation est maintenue tout au long de l'évaporation du solvant afin de maintenir les microparticules en suspension et activer l'évaporation de solvant. Le temps d'évaporation de solvant est contrôlé par l'évolution de la taille des microsphères observées sous microscope optique. Cette durée varie selon les paramètres choisis et la composition du milieu.

Les microsphères sont alors récupérées par filtration sous vide à l'aide de la trompe à eau et séchées dans un dessiccateur sous vide statique et en présence de  $\text{CaCl}_2$ , jusqu'à poids constant. Les microsphères sont stockées dans des flacons bien fermés.

Dans l'ensemble des expériences d'encapsulation réalisées, plusieurs paramètres physico-chimiques ont été étudiés. La composition du milieu d'encapsulation a été modifiée par les paramètres cités ci-après :

- Nature du polymère matrice : les différents polymères utilisés comme matrices d'enrobage dans cette technique sont l'ethylcellulose (EC) et le poly- $\epsilon$ -caprolactone synthétisé (PCL).
- La vitesse d'agitation pendant l'émulsion : Les vitesses choisies sont : 200, 400 et 600 rpm.
- Le tensioactif : les différents tensioactifs utilisés sont : Tween20 (T20), Tween80 (T80), Gélatine (GE) et dodécylsulfate de sodium SDS.
- La concentration du tensioactif : différentes concentrations sont choisies pour chaque émulsifiant.
- Le rapport principe actif/polymère : quelques formulations sont réalisées avec les rapports suivants : 33,33%, 50% et 66,66%.
- Le solvant de la phase organique : deux solvants ont été utilisés pour la préparation de la phase organique, le Dichlorométhane (DCM) ou des mélanges de Dichlorométhane/ Acétone à (DCM / AC) : (80/20) et (50/50).
- Le ratio phase dispersée/ phase aqueuse : trois ratios sont choisis (phase dispersée/ phase aqueuse) (1/1), (1/2) et (1/3).

L'influence de ces paramètres sur les caractéristiques des microsphères et sur la vitesse de libération de l'agent actif dans le milieu d'étude a été étudiée.

L'ensemble des expériences réalisées et leurs paramètres sont classées dans le tableau suivant :

<i>Code</i>	<i>Phase dispersée</i>			<i>Phase aqueuse</i>		<i>Vitesse d'agitation (rpm)</i>
	<i>Principe actif (g)</i>	<i>Polymère(g)</i>	<i>Solvant (mL)</i>	<i>Tensioactif (%)</i>	<i>Eau permutée (mL)</i>	
<b>TA01</b>	<b>AM (0,6*)</b>	<i>EC (1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<i>T20 (1)</i>	50	<b>200</b>
<b>TA02</b>	<i>AM (0,6)</i>	<i>EC (1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<i>T20 (1)</i>	50	<b>400</b>
<b>TA03</b>	<i>AM (0,6)</i>	<i>EC (1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<b>T20 (1)*/*</b>	50	<b>600</b>
<b>TA04</b>	<i>AM (0,6)</i>	<i>EC (1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<b>T20 (0,5)</b>	50	600
<b>TA05</b>	<i>AM (0,6)</i>	<i>EC (1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<b>T20 (1,5)</b>	50	600
<b>TA06</b>	<i>AM (0,6)</i>	<i>EC (1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<b>T80 (1)*/*</b>	50	600
<b>TAT1</b>	<b>PR(0,4)</b>	<i>EC(1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<i>T20 (1)</i>	50	600
<b>TAT2</b>	<b>PR (0,6*)</b>	<i>EC(1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<b>T20 (1)*</b>	50	600
<b>TAT3</b>	<b>PR(0,8)</b>	<i>EC(1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<i>T20 (1)</i>	50	600
<b>TAT4</b>	<i>PR(0,6)</i>	<i>EC(1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<b>T80 (1)*</b>	50	600
<b>TAT5</b>	<i>PR(0,6)</i>	<i>EC(1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<b>T80 (2)</b>	50	600
<b>TAT6</b>	<i>PR(0,6)</i>	<i>EC(1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<b>T80 (4)</b>	50	600
<b>TAS</b>	<i>AMO(0,6)</i>	<i>EC(1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<b>SDS(1)</b>	50	600
<b>TAG</b>	<i>AMO(0,6)</i>	<i>EC(1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<b>GE(1)</b>	50	600
<b>TAV1</b>	<b>AMO(0,6*)</b>	<b>EC(1,2)**</b>	<i>DCM (50)</i>	<b>T80 (1)</b>	<b>50</b>	600
<b>TAV2</b>	<i>AMO (0,6)</i>	<i>EC(1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<i>T80 (1)</i>	<b>100</b>	600
<b>TAV3</b>	<i>AMO (0,6)</i>	<i>EC(1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<i>T80 (1)</i>	<b>150</b>	600
<b>TAP</b>	<i>AMO (0,6)</i>	<b>PCL (1,2)**</b>	<i>DCM (50)</i>	<i>T80 (1)</i>	50	600
<b>TA8</b>	<i>AMO (0,6)</i>	<i>EC(1,2)</i>	<b>DCM/AC (80/20)</b>	<i>T80 (1)</i>	50	600
<b>TA9</b>	<i>AMO (0,6)</i>	<i>EC(1,2)</i>	<b>DCM/AC (50/50)</b>	<i>T80 (1)</i>	50	600
<b>TAM</b>	<b>MS (0,6*)</b>	<i>EC(1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<i>T80 (1)</i>	50	600
<b>TATP</b>	<b>TPP (0,6*)</b>	<i>EC(1,2)</i>	<i>DCM (50)</i>	<i>T80 (1)</i>	50	600

(X\*) variation de principe actif, \*\*: variation de polymère, \*/\* variation de tensioactif pour le même principe actif, les autres variation (tensioactif , solvant , vitesse ) sont notées en gras

**Tableau 12 :** Les paramètres modifiés dans les formulations par évaporation de solvant.

**II.IV. Techniques de caractérisation des microparticules :****II.IV. 1. Détermination de la quantité de principes actifs encapsulés :**

La quantité de principe actif contenue dans les microparticules préparées a été déterminée par la technique d'extraction dans des solvants adéquats. Compte tenu de la polydispersité de ces microparticules, on a effectué les extractions trois fois. Après un temps suffisant de solubilité du principe actif dans le solvant, la solution obtenue est analysée par spectrophotométrie UV-Vis afin de déterminer la masse de principe actif extrait des microparticules.

Le rendement (Rdt) de la microencapsulation est défini par le rapport de la quantité de principe actif (Pa) déterminée par extraction sur la quantité introduite initialement pour encapsulation.

$$\text{Rdt \%} = \left( \frac{\text{masse de Pa extrait}}{\text{masse de Pa initiale}} \right) \times 100 \quad [32]$$

La teneur en principe actif est calculée par :

$$\text{Teneur \%} = \left( \frac{\text{masse de Pa extrait}}{\text{masse des microparticules}} \right) \times 100 \quad [33]$$

➤ ***Extraction de principe actif à partir des microcapsules :***

Pour déterminer le rendement et la teneur en CN contenu dans les microcapsules, on a procédé à l'extraction dans le montage Soxhlet utilisant l'isopropanol comme solvant d'extraction. Le protocole d'extraction est réalisé de la manière suivante : on pèse 1g de microcapsules égouttées et séchées sur une toile qu'on introduit dans une cartouche de Soxhlet. On procède à l'extraction avec 200 mL d'isopropanol sous reflux pendant 6 heures (le chauffage est fixé de façon à obtenir 7 cycles/heure). A la fin du chauffage, on trempe l'échantillon dans l'isopropanol, et on le laisse dans le bain du solvant pendant une nuit. On récupère la totalité de la solution et on réalise le dosage par UV-Vis sur un prélèvement de 0,1 mL dilué avec l'isopropanol.

➤ *Extraction de principe actif à partir des microsphères :*

Pour déterminer le rendement et la teneur en principe actif contenu dans les microsphères, on suit la méthode suivante : 0.1 g de microsphère a été broyée, et immergé dans 100 mL de pH =1,2 dans un flacon bouché. Cette solution a été mise dans une forte agitation avec chauffage à 40°C pendant 24h. L'extraction du TTP a été réalisée dans le méthanol. Un prélèvement de 1mL a été analysé par UV-Vis à  $\lambda_{\max}$  du produit, après filtration de la solution sur papier filtre puis dilution 100 fois dans le pH=1,2. La quantité déterminée par ce dosage représente la quantité réelle en principe actif encapsulé.

**II.IV. 2. Distribution en taille :**

Les microcapsules obtenues n'ont pas la même taille, et comme elle a une influence sur la libération, il est nécessaire de calculer les diamètres moyens et la dispersion "D".

Pour calculer cette distribution, on utilise le microscope optique (OPTIKA 4083 B1). Ce microscope nous permet de déterminer la taille des microcapsules individuelles.

On détermine les diamètres moyens d'un échantillon qui contient au moins 500 microparticules et ceci en prélevant 1à 2 gouttes des microcapsules préparés, puis on place l'échantillon sur une lamelle. Pour une meilleure observation, on fait une dilution et on compte le nombre de microcapsules qui ont la même taille.

Chaque analyse a été faite en Triple. Une fois l'analyse terminée, on calcule les diamètres moyens en nombre, en surface et en volume ainsi que la dispersion qui est définie comme suit (200) :

*Le diamètre moyen en nombre* est calculé à partir du dénombrement des particules de même diamètre, mathématiquement, il est défini par :

$$d_{10} = \sum n_i d_i / \sum n_i \quad [34]$$

*Le diamètre moyen en surface (Diamètre de Sauter)* est calculé à partir du dénombrement des particules de même surface, mathématiquement, il est défini par :

$$d_{32} = \sum n_i d_i^3 / \sum n_i d_i^2 \quad [35]$$

*Le diamètre moyen en masse* est calculé à partir du dénombrement des particules de même masse, mathématiquement, il est défini par :

$$d_{43} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad [36]$$

La polydispersité d'un système de microparticules est définie par le rapport du diamètre moyen en masse sur le diamètre moyen en nombre :

$$\text{Dispersion} = d_{43}/d_{10} \quad [37]$$

Un système monodisperse correspond à une dispersion égale à 1 ; plus on s'éloigne de l'unité, plus le système devient polydispersé.

#### **II.IV. 2.a. Détermination de la taille des microparticules par microscopie optique :**

On opté d'utiliser la microscopie optique pour la mesure de la taille des particules, car elle évite le comptage des agrégats qui peuvent altérer la taille moyenne des particules.

On a utilisé deux microscopes optiques pour l'observation de nos particules et la détermination de la taille de nos microparticules :

- Microscope type Vickers Instruments M14/2 équipé d'un oculaire 10x et muni de quatre objectifs : x10, x40, x60, x100.
- Microscope optique (OPTIKA 4083. B1), doté d'une caméra relié à un ordinateur.

Pour établir une distribution en taille d'un lot de microparticules, l'observation et la mesure se font sur une population de plus de 500 microparticules. Cette population est divisée en classes de microparticules de diamètres  $d_i$  qui correspond au centre de la classe ; le domaine de la classe varie selon la taille des microparticules.

On dénombre alors l'effectif dans chaque classe puis on réalise le calcul statistique à l'aide d'un tableur Excel ; les fréquences sont calculées pour chaque classe ce qui nous permet de tirer les diamètres moyens : en nombre  $d_{10}$ , en surface  $d_{32}$  et en masse  $d_{43}$ , ainsi que la polydispersité "D" du lot de microparticules exprimée par  $d_{43}/d_{10}$ .

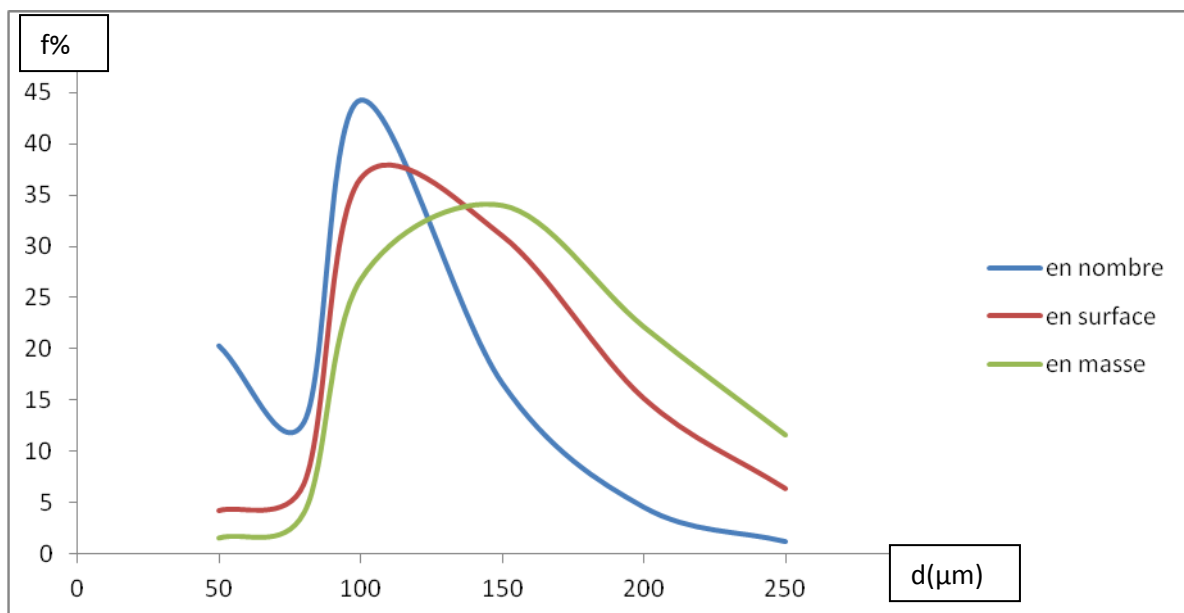
**II.IV. 2.b. Exemple de calcul :**

La feuille de calcul suivante est celle d'un lot des microcapsules AGG01 fabriquées avec le couple Gélatine-Gomme arabique.

Pour ce lot on a distingué six classes de microcapsules de diamètres différents, on compte alors le nombre de microcapsules de chaque classe puis on établit le calcul présenté sur la feuille ci-après.

**II.IV. 2.c. Résultats granulométriques :**

Le résultat donné dans la page suivante est tracé sous forme de courbe plus présentatif de la distribution en taille des microparticules.



**Figure 51** : Les courbes de distribution en taille de microcapsules AGG01.

Centre de classe $d_i$ ( $\mu m$ )	effectif $n_i$	$n_i * d_i$	fréquence en nombre %	$n_i * d_i^2$	Fréquence en surface %	$n_i * d_i^3$	Fréquence en masse %	$n_i * d_i^4$
50	430	21500	20,33096927	1075000	4,193763581	53750000	1,53411924	2687500000
80	272	21760	12,86052009	1740800	6,791166178	139264000	3,974838732	1,1141E+10
100	937	93700	44,30260047	9370000	36,55401372	937000000	26,74362284	9,37E+10
150	353	52950	16,69030733	7942500	30,98508581	1191375000	34,00393134	1,7871E+11
200	97	19400	4,586288416	3880000	15,13656065	776000000	22,14840056	1,552E+11
250	26	6500	1,229314421	1625000	6,339410064	406250000	11,59508728	1,0156E+11
somme	2115	215810	100	25633300	100	3503639000	100	5,43E+11

**DIAMETRES MOYENS ( $\mu m$ ) ET DISPERSION "D":**

Diamètre moyen en nombre

$$d_{10} = 118,78$$

Diamètre moyen en surface

$$d_{32} = 136,68$$

Diamètre moyen en volume

$$d_{43} = 154,98$$

Dispersion "D" =  $d_{43}/d_{10}$

$$"D" = 1,30$$

**Tableau 13** : Résultat granulométrique de AGG01



### **II.IV. 3. Microscopie électronique à balayage "MEB" :**

La caractérisation de la surface et la morphologie des microparticules ont été effectuées par microscopie électronique à balayage. Nous avons utilisé deux appareils MEB :

- MEB JEOL 5800 au Laboratoire d'Elaboration et Caractérisation des Matériaux à la Faculté de Technologie à l'Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes. On réalise une métallisation par l'argan sur un support métallique sur lequel le produit sera collé.
- Quanta 200 (FEI, France) au Centre d'Imagerie de Bordeaux, à l'Université de Bordeaux-1, Les échantillons sont déposés sur les stubs (supports d'observation) et maintenus grâce à des pastilles autocollantes carbone et observés tels quels (pas de métallisation) en utilisant le mode Low Vacuum du microscope avec les paramètres suivants : Pression dans la chambre = 50 Pa + envoi de vapeur d'eau, Tension d'accélération 6 à 7 Kv. Les images sont obtenues en électrons secondaires via un détecteur spécifique (Large Field Detector).

### **II.IV. 4. Caractérisation des microparticules par spectroscopie Infrarouge :**

L'étude comparative des spectres IR des produits de départ et des microparticules effectuée sur l'appareil FTIR Shimadzu (Université d'Oran) a permis d'en déduire la présence de l'agent encapsulé dans les microparticules. Les spectres ont été établis sur des pastilles composées du produit à analyser dispersé dans le bromure de potassium "KBr" parfaitement sec (pour les solides) et sur le produit pur étalé dans une cellule NaCl pour les liquides (le cas de cinnamaldehyde).

### **II.IV. 5. Caractérisation par DSC :**

Les températures de transition vitreuse  $T_g$  °C de quelques microparticules ont été déterminées sur un appareil DSC de type Sétaram à l'Université de Rennes-1 (Service Pr J.F Carpentier-UMR 6226 CNRS).

Les  $T_g$  °C ont été déterminées sur les courbes de chauffage entre 30 et 310 °C sur des échantillons de 5 à 10 mg. Le chauffage a été réalisé par des vitesses de +10°C/mn.

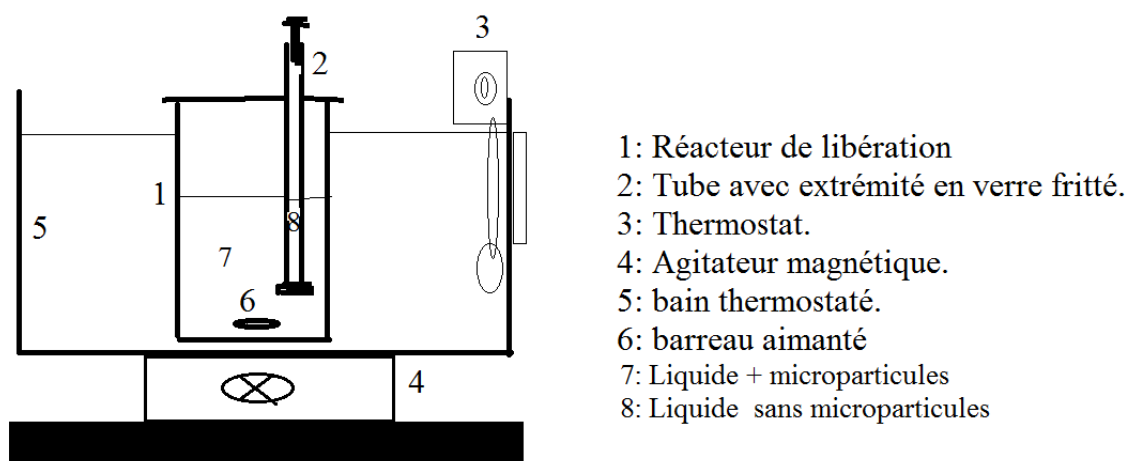
### II.IV. 6. Caractérisation par DRX :

L'appareil utilisé est un diffractomètre à poudre BRUKER D8 Advance à Université Es-Senia, Oran. Les diffractogramme DRX de l'agent actif pure, de l'Ethylcellulose et des microsphères ont été réalisées.

### II.V. Processus de la libération de l'agent actif :

#### II.V.1. Dispositif expérimental :

Les cinétiques de libération de l'agent actif à partir des microparticules ont été effectuées dans un réacteur spécial de volume de 500mL disposant d'un tube immergé dans la solution pour réaliser les prélèvements. Ce tube a une extrémité en verre fritté qui empêche l'ascension des microparticules lors du prélèvement. Ce dispositif est immergé dans un bain thermostaté à une température de 37°C pour les microparticules et de 25°C pour les microcapsules. Le dispositif est décrit dans le schéma ci-dessous :



**Figure 52 :** Dispositif expérimental de libération.

Ce dispositif expérimental a été adopté à l'ensemble de nos cinétiques. Nous devons maintenir constantes les conditions opératoires dans lesquelles sont effectuées nos différentes cinétiques.

Les microparticules chargées de principe actif «**100 mg**» sont immergées dans un milieu physiologique de pH=1,2 ou pH= 7,7 (pour les microsphères) ou dans un mélange éthanol/eau (pour les microcapsules).

Le réacteur «1» est muni d'une agitation magnétique contrôlée (500 r.p.m) et chauffé par un agitateur chauffant à la température «37°C ou 25°C» mesurée à l'aide d'un thermomètre.

Le réacteur est bien fermé afin d'éviter toute évaporation du milieu 7. Ce dernier passe le tube 2 à travers le verre fritté sans les microparticules jusqu'à égalisation des niveaux liquides. Ce montage décrit par El Bahri et al (145) permet le prélèvement du volume  $V_p$  à l'aide d'une seringue dont l'analyse UV-Vis permet l'accès au pourcentage de principe actif libéré.

Le volume prélevé est dilué par un volume  $V_d$  du même milieu d'étude. La Densité Optique (D.O) ou l'Absorbance est ensuite déterminée par UV-Vis pour chaque prélèvement.

### **II.V. 2. Préparation des milieux d'étude :**

On a choisi deux milieux physiologiques reconstitués de pH=1,2 (gastrique) et pH=7,7 (intestinal) pour l'étude de la libération à partir des microsphères.

Les quantités nécessaires à la reconstitution des deux milieux physiologiques sont les suivantes :

➤ Milieu gastrique stomacal de **pH=1,2** composé de :

- HCl 1N : 80 mL
- NaCl : 02 grammes.
- Eau distillée q.s.p 1000 mL.

➤ Milieu physiologique de **pH=7.7** composé de :

- HCl 0,1N : 200mL
- Borax 0,025N : 500ml
- Eau distillée q.s.p 1000 mL.

Ces compositions sont conformes aux normes décrites par la pharmacopée Américaine U.S. P (201).

Ces milieux correspondent aux temps de séjours les plus importants le long du tractus digestif (202) (Figure 53) :

Position	pH moyens	Temps de séjour moyens
Bouche Oesophage	6,7 à 7	2 à 10 secondes selon la consistance.
Estomac	1 à 2 = 3 pdt les repas	Petit volume de liquide à jeun : 10 mn à 1 h. Repas : 1 à 8 h. Premiers passages en quelques minutes.
Duodénum	4 à 6	5 à 15 minutes
Jéjunum	6 à 7	2 à 3 h 30 mn
Iléon	7 à 8	3 à 6 h (Stagnation assez longue avant le passage dans le caecum).
Colon	7 à 8	Caecum et colon ascendant : 1 h. Colon transverse : 3 à 4 h Colon descendant : 3 h Le colon pelvien est atteint en 18 h environ.

**Figure 53 :** pH et temps de séjour des matières solides le long du tractus digestif.

Pour l'étude de la libération de cinnamaldehyde à partir des microcapsules, nous avons choisi le milieu composé de 70 mL d'eau et de 30 mL d'éthanol, pour raison d'insolubilité de cinnamaldehyde dans l'eau.

### **II.V. 3. Facteurs influençant les transferts de matières :**

Dans la cinétique de libération des principes actifs dans les milieux d'étude choisis, il existe plusieurs facteurs influençant les transferts de matières. On les citera ci après:

#### **➤ L'agitation du milieu :**

La concentration de la solution devrait être uniforme en tout point de la solution, et cette uniformité est maintenue grâce à l'action d'un agitateur magnétique dans le flacon (vitesse de rotation fixée à 500 rpm pour toutes les expériences), puisque la non agitation du milieu réactionnel entraînera la formation d'un gradient de concentration

à l'intérieur de la solution, donc source d'erreur lors des analyses en spectrophotométrie U.V.

➤ **La température du milieu :**

L'influence de la température est très importante dans les phénomènes de diffusion (intervient dans la solubilité du principe actif et facilite la diffusion). Les cinétiques des principes actifs solubles dans les milieux physiologiques ont été effectuées à température constante 37°C (température du corps humain), (les cinétiques de libération du cinnamaldehyde sont effectuées à température 25°C).

➤ **La nature du milieu, son pH et son volume :**

- ❖ La nature du milieu, comme la température, intervient sur la solubilité de l'agent actif, laquelle influera sur la diffusion.
- ❖ Le pH du milieu influe sur la vitesse d'hydrolyse et sur la solubilité du principe actif.
- ❖ Le volume du milieu influe d'une part sur la solubilité de l'agent actif, et d'autre part sur sa masse libérée au temps infini (temps à l'équilibre).

Cette influence du volume du liquide conduit à deux méthodes expérimentales :

- Méthode "**no-sink**" : où le volume choisi (100 mL) est utilisé pour toute l'expérience. La concentration du principe actif augmente au cours de l'expérience.
- Méthode "**sink**" : le volume est constamment renouvelé par du liquide vierge, le volume utilisé est donc plus grand.

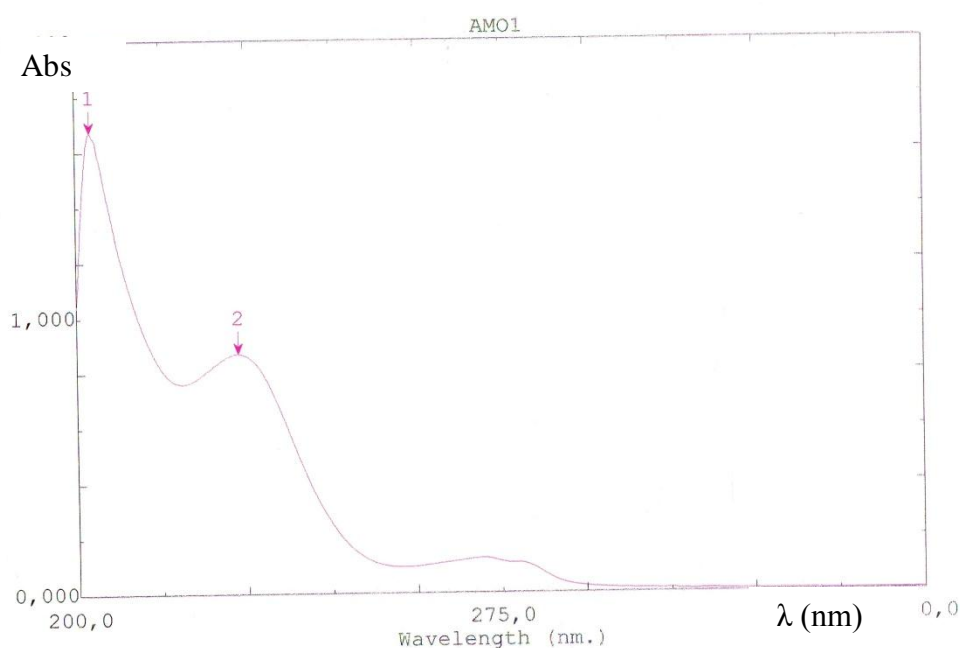
La première méthode (no-sink) est beaucoup plus facile à réaliser, et c'est cette méthode que nous avons utilisée dans toutes nos expériences.

**II.V. 4. Analyse des principes actifs libérés :**

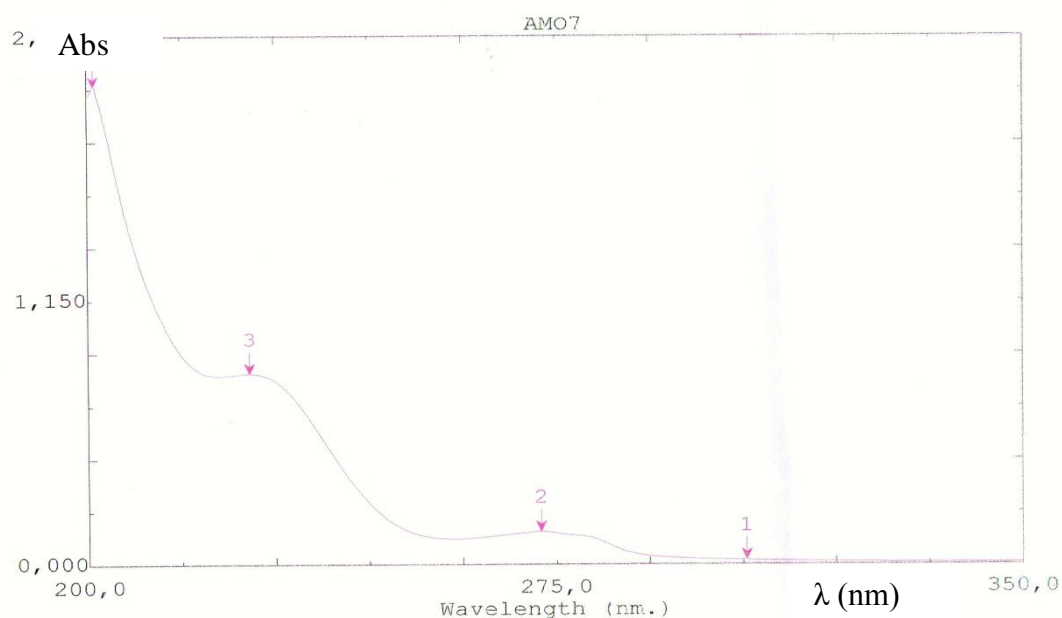
Les mesures sont effectuées à l'aide d'un appareil UV. VIS calibré à une longueur d'onde fixe propre au principe actif étudié.

**➤ Recherche de  $\lambda_{\max}$  :**

Les valeurs des longueurs d'ondes sont déterminées en faisant les spectres U.V des solutions à concentrations connues ( $10^{-4}$ - $10^{-5}$  mole. Litre<sup>-1</sup>) de principe actif. On donne ci-dessous les spectres UV-Vis et les courbes d'étalonnage d'amoxicilline dans les milieux d'étude (pH=1,2 et pH= 7,7) (**figures 54 et 55**). Les autres courbes spectrales d'absorption des autres agents actifs sont classées dans l'annexe.



**Figure 54** : Le spectre d'absorption d'amoxicilline dans le milieu pH=1.2.



**Figure 55 :** Le spectre d'absorption d'amoxicilline dans le milieu pH=7,7.

<i>Principe actif</i>	<i>Milieux d'étude de libération des agents actifs</i>		
	<i>pH = 1,2</i>	<i>pH = 7,7</i>	<i>(EtOH/H<sub>2</sub>O) (30/70)</i>
<b>Ampicilline (AM)</b>	203	203	/
<b>Amoxicilline (AMO)</b>	228	273	/
<b>Procaine (PR)</b>	227	290	/
<b>p-aminoacétophénone greffé (AN)*</b>	285	309	/
<b>Trans Cinnamaldehyde (CN)</b>	/	/	305

\* libéré par hydrolyse de la fonction amide

**Tableau 14 :** Valeurs de  $\lambda_{\max}$  des principes actifs dans les milieux d'étude.

Les valeurs de  $\lambda_{\max}$  ainsi trouvées sont maintenues constantes pour suivre le relargage du principe actif étudié.

### ➤ Droites d'étalonnage et Calcul de $\epsilon_{\max}$ :

La Densité Optique (D.O) ou l'Absorbance (A) et la concentration (mole/litre) sont liées par la loi de Beer- Lambert :

$$(D.O)_{\max} = \log (I_{\max}/I_0) = \epsilon_{\max} \cdot l \cdot C \quad , \quad [38]$$

$$(D.O)_{\max} = \epsilon_{\max} \cdot l \cdot C \quad ,$$

où:

\*  $I_{\max}/I_0$  : est la transmittance.

\*  $\epsilon_{\max}$  : le coefficient d'absorption spécifique ( $L \cdot cm^{-1} \cdot mole^{-1}$ ).

\*  $C$  : la concentration en mole/l de la solution.

\*  $l$  : la longueur de la cellule en quartz (1cm).

A partir de 5 solutions de concentrations connues, il est possible de tracer les «Droites d'Etalonnage », permettant de déterminer les valeurs de  $\epsilon_{\max}$  des principes actifs.

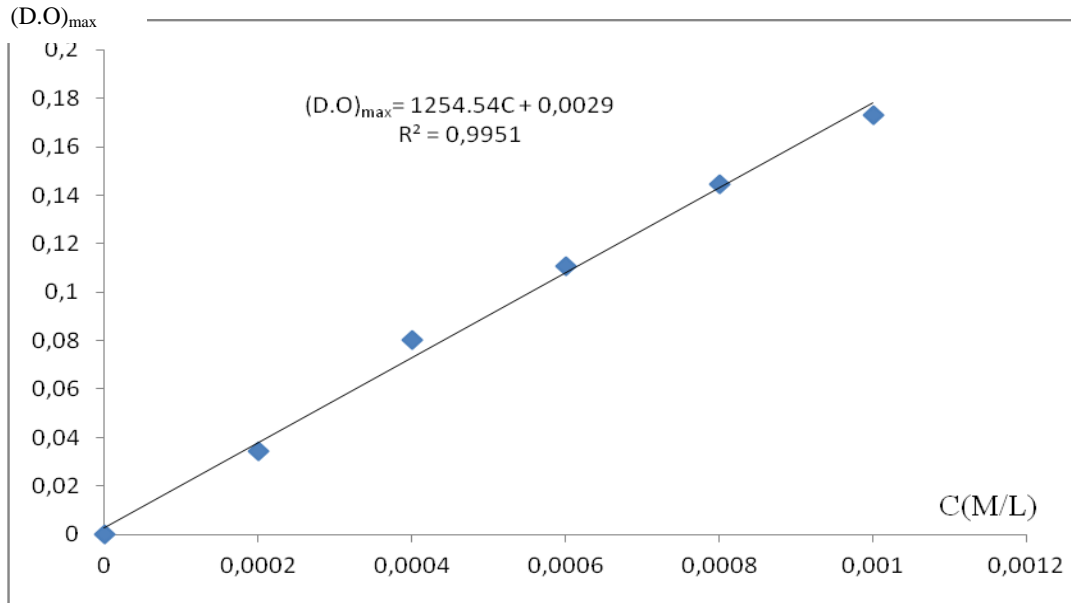
La valeur de  $\epsilon_{\max}$  correspond à la valeur de la tangente de la droite  $(D.O)_{\max}=f(C)$ . Les valeurs des coefficients d'absorption spécifiques trouvées sont données dans le tableau suivant:

<i>Principe actif</i>	<i>Milieux d'étude de libération des agents actifs</i>		
	<i>pH = 1,2</i>	<i>pH = 7,7</i>	<i>(EtOH/H<sub>2</sub>O)(30/70)</i>
<b>AM</b>	3873,7	2788,4	/
<b>AMO</b>	1254,54	3895,54	/
<b>PR</b>	12299	19263	/
<b>AN</b>	1592,4	2327,1	/
<b>CN</b>	/	/	1934,3

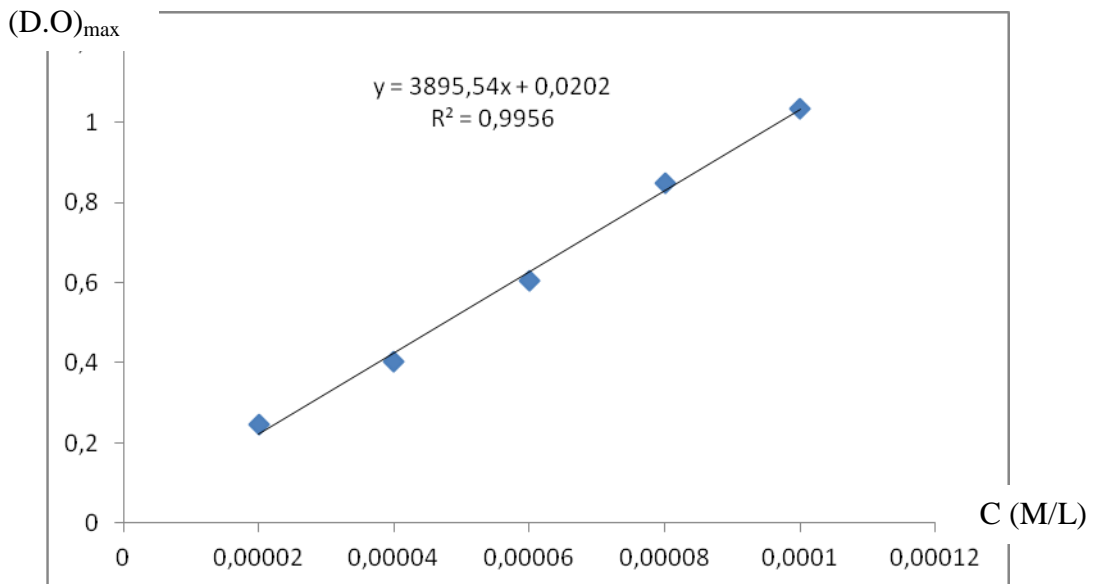
**Tableau 15 :** Valeurs  $\epsilon_{\max}$  des principes actifs dans le milieu et la température d'étude.



On donne ci-dessous les droites d'étalonnage d'amoxicilline dans les pH=1,2 et pH=7,7 à T=37°C, les autres courbes sont classées en annexe.



**Figure 56 :** Courbe d'étalonnage d'amoxicilline à pH=1,2 et T =37°C.



**Figure 57 :** Courbe d'étalonnage d'amoxicilline à pH=7,7 et T = 37°C.

### II. VI. Tests biologiques :

#### II. VI.1. Introduction :

Les antibiotiques sont des médicaments qui permettent de traiter les infections causées par les quelques cent espèces bactériennes causant les maladies. Ce type de médicament empêche la multiplication des bactéries (bactériostatique) ou entraîne leur destruction (bactéricide) par une action au niveau d'une ou plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie (203).

Ce mécanisme d'action est général pour toutes les molécules de la famille des  $\beta$ -Lactamines. Les antibiotiques sont des inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne (synthèse de peptidoglycane) par une inactivation des principes enzymes impliquées dans cette construction et regroupées sous le terme de PLP (Protéines Liant les Pénicillines) :

- Transpeptidases
- Endo-peptidases
- Carboxypeptidases.

L'affinité est variable en fonction de la molécule et des PLP cibles ce qui explique les différences de Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des différentes  $\beta$ -lactamines pour une même bactérie.

Les  $\beta$ -Lactamines sont actives sur des bactéries en phase de croissance bactérienne car les protéines cibles sont impliquées dans le renouvellement constant de la paroi bactérienne. C'est ainsi que des bactéries placées dans un environnement qui favorise une quiescence ne permet pas une activité optimale de cette classe d'antibiotique (température basse, sporulation, manque d'oxygène pour des bactéries aérobies préférentielles...) (203).

La conséquence pour les germes après inhibition de certaines de leur PLP, est l'obtention de formes bactériennes dysmorphiques (filamenteuses, circulaires, coccoides...), formes qui traduisent l'altération des processus de croissance et de division bactérienne. I

Il y a en effet blocage de la synthèse du peptidoglycane, polymère majeur de la paroi des bactéries. Cette dernière confère à la bactérie, sa forme et sa rigidité ce qui lui permet de résister en temps normal à la forte pression osmotique intra-cytoplasmique(204).

La liaison des  $\beta$ -Lactamines aux PLP cause l'arrêt de la croissance bactérienne (bactériostatisme) et ne suffit pas à engendrer la mort cellulaire. La bactéricidie des  $\beta$ -Lactamines résulte de l'activation d'enzymes lytiques bactériennes (autolysines) suite à l'altération du peptidoglycane. Pour qu'il y ait mort cellulaire, il faut la coopération active de la bactérie qui utilise sa propre machinerie enzymatique suicide : les peptidoglycanes-hydrolases dites "autolysines".

L'inhibition des PLP conduit à la rupture de l'équilibre dynamique entre la construction du peptidoglycane et son réarrangement par les autolysines. L'équilibre va se faire en faveur des autolysines qui détruisent la bactérie.

Les  $\beta$ -Lactamines sont des antibiotiques bactéricides temps-dépendants car leur activité disparaît au fur à mesure que leur concentration décroît au niveau de leur cible. Pour obtenir une efficacité maximale, il faut que la concentration au site de l'infection soit maintenue le plus longtemps possible au-dessus de la CMI de la bactérie cible. Pour cela, il y a trois possibilités (205) :

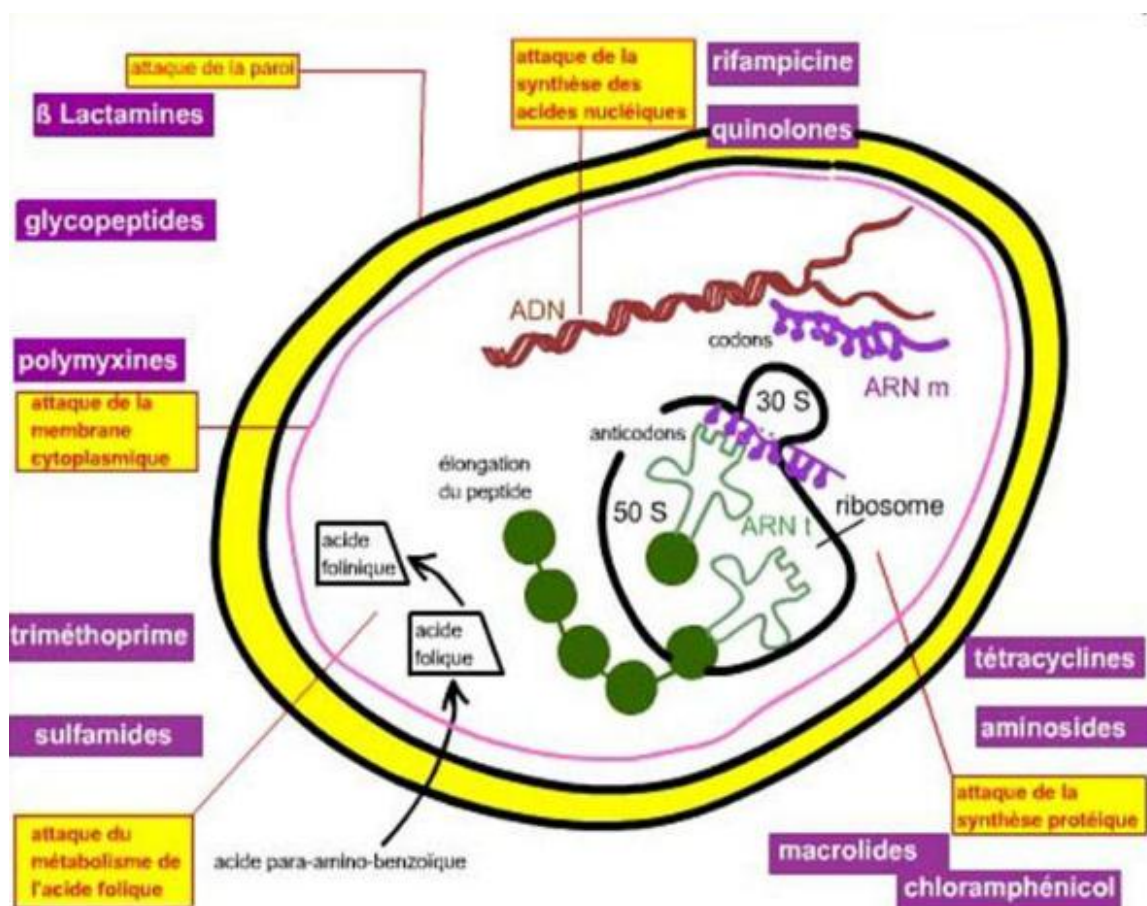
- Choisir les molécules aux  $t_{1/2}$  les plus longues.
- Fractionner la dose journalière et multiplier le nombre de prise.
- Pour les formes injectables, administrer en continue par seringue électrique.

Les  $\beta$ -Lactamines doivent pénétrer dans la paroi de la bactérie pour agir. Cette pénétration est facile chez les bactéries à Gram+ dont le peptidoglycane est relativement perméable aux  $\beta$ -Lactamines par contre chez les bactéries à Gram-, les Porines sont le moyen de passage préférentiel des  $\beta$ -Lactamines hydrophiles de taille modérée ou faible. Un passage marginal par voie lipophile est possible.

Le paramètre le plus souvent utilisé pour évaluer l'effet d'un antibiotique est la CMI. Elle correspond à la concentration minimale d'antibiotique qui inhibe la croissance visible du germe en 24H.

La CMI explore donc l'effet bactériostatique seulement, ce qui n'est pas limitatif sachant qu'en bactériologie clinique, le but le plus souvent recherché est l'inhibition de la prolifération bactérienne, dans la mesure où l'organisme est capable de se défendre contre les bactéries (notons que son emploi n'est pas justifié chez un malade immunodéprimé).

On note de bonnes corrélations biologico-cliniques de l'emploi de la CMI, qui, après plusieurs dizaines d'années d'expérience s'avère être un bon prédicateur de l'efficacité de la thérapeutique antibiotique. Quand elle excède une certaine valeur l'échec thérapeutique est habituel : quand elle est inférieure à une autre valeur le succès est pratiquement assuré. Entre les deux valeurs précédentes, la prédiction est impossible (205).



**Figure 58 :** Résumé des différents modes d'action.

Dans l'étude biologique, on va déterminer dans la première partie les CMI des antibiotiques (ampicilline et amoxicilline) pour quatre bactéries (Klebsiella (K), Staphylococcus (S), Escherichia coli (E.C) et Pseudomonas (P)) dans deux milieux différents: Muller-Hinton (MH) et Luria Bertani (LB).

Dans la deuxième étape, on va faire une étude comparative entre deux milieuxensemencés avec la bactérie Pseudomonas, d'où on ajoute dans l'un de ces milieux des microsphères au temps de croissance de la bactérie.

### II. VI.2. Préparation des milieux de culture :

Un milieu de culture est une préparation au sein de laquelle des micro-organismes peuvent se multiplier. Il doit donc satisfaire aux exigences nutritives du micro-organisme étudié ce qui implique :

- Couvrir les besoins en ion minéraux, en facteurs de croissance, apporter la source de carbone et d'énergie.
- Présenter un pH voisin du pH optimal
- Présenter une force ionique optimale (le milieu peut être isotonique mais cela n'est pas obligatoire).

Dans notre étude, deux milieux de culture ont été choisis (**205**) :

- **Muller-Hinton (MH)** : c'est un milieu liquide standard pour les tests sensibilisés aux antibiotiques ; il est préparé avec les composants suivants : Extrait de bœuf 2 g, hydrolyse acide de caséine 17.5 g, amidon 1.5 g pour un volume de 1 L.

- **Luria Bertani (LB)** : c'est un milieu de culture nutritif liquide permet la multiplication des bactéries transformées lors du clonage moléculaire in vitro. Il est composé de bacto-tryptone 10g, bacto-yeast extract 10g, NaCl 5g et on complète jusqu'à 1L.

Les milieux d'étude préparés ont été stérilisés à l'autoclave pendant 20min

### II. VI.3. Préparation des souches bactériennes :

Des pré-cultures des souches bactériennes pures référencées (Klebsiella (K), Staphylococcus (S), Escherichia coli (E.C) et Pseudomonas (P)) sont fournies par le laboratoire de la Microbiologie Moléculaire, Protéomique et Santé de la Faculté des Sciences Exactes de l'Université D. LIABES de Sidi Bel Abbès. Pour réaliser chacune des pré-cultures fournies, une colonie a été prélevée, mise en suspension dans 10 mL de chaque milieu de culture (MH et LB), les pré-cultures sont bien agitées et mis à 37°C pendant 24 heures.

Après 24h, on mesure les densités des milieux pré-culturés, et on prépare des séries de 6 de tubes à essais de façon d'avoir des dépôts d'environ  $10^5$  bactéries dans chaque tube. Les calculs des quantités bactériennes sont faits en tenant compte de la relation suivante:  
 1,5 Mac Ferlan  $\rightarrow$  DO =0,08  $\approx$  0,1  $\rightarrow$  quantité approximative =  $10^6$  UFC

Les inoculums des différentes souches à tester sont réalisés dans différents tubes à essais à 5 mL. L'inoculum standard est un dépôt de  $10^5$  bactéries (à partir d'une suspension ajustée) pour toutes les souches. Les volumes prélevés des milieux pré-culturés dilués à 5mL sont calculés par la loi de dilution.

Un exemple de calcul est donné :

$$0,1 \rightarrow 10^6$$

$$x \rightarrow 10^5 \quad x = (10^5 * 0,1) / 10^6 = 0,01,$$

x : la densité optique équivalente à  $10^5$  bactéries

$$C_1 V_1 = C_2 V_2,$$

$$x V_1 = X V_2$$

Sachant que :

$$V_1 = 5 \text{ mL},$$

$V_2$  présente le volume prélevé du milieuensemencé dilué à 5mL

X : DO déterminée du milieu de culture.

$$V_2 = x V_1 / X \rightarrow V_2 = 0,01 * 5 / X$$

$$X = 1,2 \rightarrow V_2 = 0,01 * 5 / 1,2 = 0,0416.$$

Les valeurs  $V_2$  sont classées dans le **tableau 16** :

	LB		MH	
	DO	V (mL)	DO	V (mL)
Klebsiella (K)	0,99	0,050	0,47	0,106
Staphylococcus (S)	0,90	0,055	0,48	0,111
Escherichia coli (E.C)	1,72	0,029	0,50	0,100
Pseudomonas (P)	1,12	0,042	1,08	0,046

**Tableau 16 :** Valeurs de DO et de  $V_2$  prélevé du milieuensemencé.

### II. VI.4. Calcul des Concentrations Micellaires Inhibitrices (CMI) :

La méthode de dilution en milieu liquide consiste à incorporer l'antibiotique encapsulé à des concentrations bien déterminées dans les tubes riches en bactéries. Pour vérifier l'efficacité des principes actifs utilisés (ampicilline et amoxicilline) après encapsulation :

- On a réalisé l'extraction de ces antibiotiques à partir d'1g de microsphères dans 100 mL de pH=7,7. L'analyse de ces quantités a été faite par UV-visible à  $\lambda_{\max}$  de chaque principe actif.
- On prépare par la suite cinq solutions diluées à partir de la solution extraite.
- On introduit 1 mL de chaque solution dans chaque série de tubes inoculums.
- Incubation pendant 24 heures à 37°C.
- On mesure les densités optiques de chaque tube.

Les concentrations en antibiotiques sont classées dans le tableau suivant :

Solution extraite et solutions diluées	SE: 1(mol/L)	SD:2 (mol/L)	SD:3 (mol/L)	SD:4 (mol/L)	SD:5 (mol/L)	SD:6 (mol/L)
Ampicilline	$6,66 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$8 \cdot 10^{-6}$	$6 \cdot 10^{-6}$	$4 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-6}$
Amoxicilline	$6,62 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$8 \cdot 10^{-6}$	$6 \cdot 10^{-6}$	$4 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-6}$

SE: Solution Extraite, SD: Solution Diluée

**Tableau 17** : Les solutions préparées des antibiotiques extraits des microsphères.

La lecture est alors effectuée à  $\lambda_{\max} = 600 \text{ nm}$  : il s'agit de repérer l'emplacement de chaque souche et de noter une croissance visible ou une absence de croissance visible. CMI (concentration minimale inhibitrice) = concentration minimale en antibiotique inhibant la croissance macroscopique visible d'une souche donnée dans le standard de mesure.

	Numéro de tube	LB		MH	
		AM	AMO	AM	AMO
<b>K</b>	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0	0	0	0
	5	0	0	0	0
	6	0	0,07	0	0
<b>S</b>	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0,36	0	0,92	0
	4	0,55	0,45	0,92	0,27
	5	0,56	0,54	0,92	0,48
	6	0,75	0,64	0,92	0,69
<b>E.C</b>	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	0,12	0	0	0
	5	0,28	0,19	0,07	0
	6	0,41	0,37	0,37	0,28
<b>P</b>	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0,18	0,28	0,06	0
	4	0,47	0,37	0,31	0,19
	5	0,70	0,65	0,41	0,34
	6	0,81	0,74	0,47	0,45

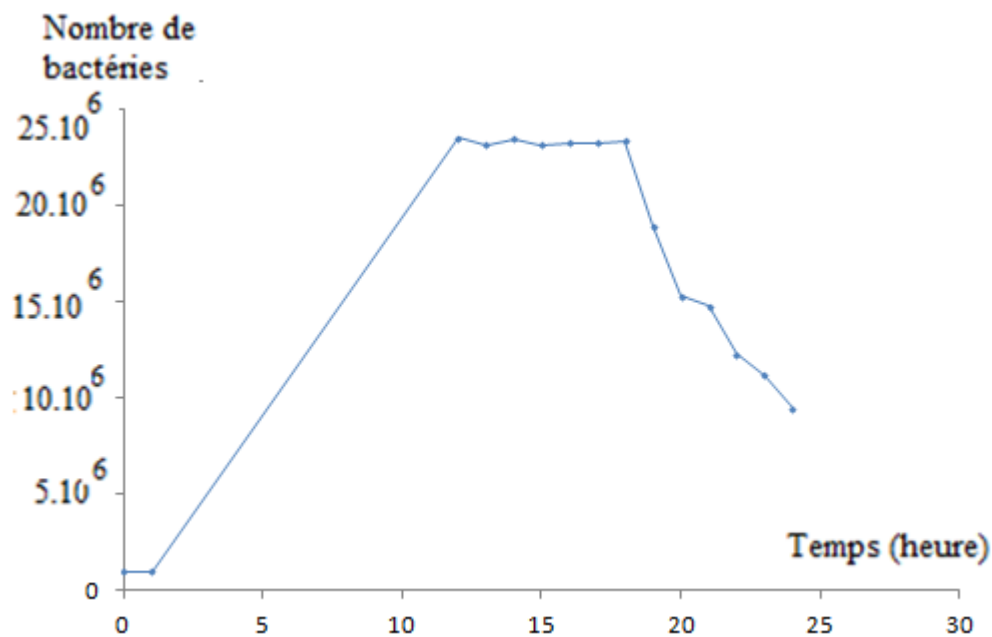
**Tableau 18 :** Les densités optiques mesurées après incubation.

### **II. VI.5. Etude de l'effet des microsphères sur la croissance des bactéries :**

Dans cette deuxième partie, on étudie l'effet des microsphères contenant l'antibiotique sur la croissance des bactéries. Pour cela, on suit l'évolution de  $10^5$  bactéries



d'Echerichia coli dans 50mL de milieu de culture (MH) pendant 24h, On incube l'erlen à une température de 37°C. Chaque 1h, on réalise un prélèvement de 1mL, sur lequel on mesure la densité optique à 600 nm. La cinétique de croissance de cette bactérie est représentée sur la courbe de la Figure 59 :



**Figure 59 :** Courbe de croissance bactérienne d'Echerichia coli dans MH à 37°C pendant 24h.

La croissance d'une bactérie s'étudie en milieu liquide, contient six phases dont l'ensemble constitue la courbe de croissance (206) :

**Phase de latence :** le taux de croissance nul ( $\mu=0$ ), la durée de cette phase dépend de l'âge des bactéries et de la composition du milieu. C'est le temps nécessaire à la bactérie pour synthétiser les enzymes adaptés au nouveau substrat.

**Phase de d'accélération ;** il se produit une augmentation de la vitesse de croissance.

**Croissance exponentielle :** le taux de croissance atteint un maximum ( $\mu=\max$ ). Cette phase dure tant que la vitesse de croissance est constante. Le temps de doublement des bactéries est le plus court. La masse cellulaire est représentée par des cellules viables (mortalité nulle).

**Phase de ralentissement :** la vitesse de croissance régresse. Il y a un épuisement du milieu de culture et une accumulation des déchets. Il existe un début d'autolyse des bactéries.

**Phase maximale stationnaire :** le taux de croissance devient nul ( $\mu = 0$ ). Les bactéries qui se multiplient compensent celles qui meurent.

**Phase de déclin :** Le taux de croissance est négatif ( $\mu < 0$ ). Toutes les ressources nutritives sont épuisées. Il y a accumulation de métabolites toxiques. Il se produit une diminution d'organismes viables et une lyse cellulaire sous l'action des enzymes protéolytiques endogènes. Cependant, il persiste une croissance par libération de substances libérées lors de la lyse (croissance cryptique).

Dans notre étude, on n'observe que quatre phases : phase de latence (0-2h), phase d'accélération (3-12h), phase maximale stationnaire (12-18h) et la phase de déclin (18-24h). On remarque l'absence des phases exponentielle et de ralentissement, ce qui implique que l'on a raté ces phases pendant la nuit où il n'y pas eu de prélèvements.

L'étude de l'effet des microsphères sur la croissance des bactéries se fait par l'introduction de 1g de microparticules au début de la phase maximale stationnaire (après 11h). Il a été préparé deux erlens selon les conditions précédentes, où étaient introduits dans le premier 1g de microsphères TA03 (contient l'ampicilline) et dans le deuxième 1g de microsphères TAV1 (contient l'amoxicilline).

## **II.VII. Caractérisation des microparticules :**

Les avancées dans le domaine de la microencapsulation sont très prometteuses mais la caractérisation des microparticules et la stabilité des principes actifs encapsulés ont besoin d'être améliorées et spécifiés pour chaque application. Nous nous sommes plus particulièrement intéressés à l'optimisation des caractéristiques microparticulaires appliquées en pharmacie, pour cela, on se base sur l'IR, la Microscope Optique, la MEB, et la DSC, suivies de la libération des agents actifs et des tests biologiques sur la stabilité des principes actifs utilisés.

### **II.VI.1. Caractérisation des microcapsules préparées par le "procédé par coacervation complexe" :**

Dans cette partie, nous décrivons les principaux paramètres physico-chimiques influençant la formation des microparticules préparées à base de macromolécules biopolymériques, pour arriver aux meilleures conditions opératoires optimales pour la formulation des microgouttelettes totalement enrobées par la membrane gélatine-gomme arabique, Nous avons réalisé plusieurs expérience pour étudier l'influence de certains paramètres sur les propriétés des microparticules obtenues (morphologie, taille, dispersité et taux de libération).

La coacervation complexe n'est pas le cas le plus fréquemment rencontré dans les mélanges protéine-polysaccharide car elle requiert des conditions strictes de compatibilité entre les macromolécules, permettant alors la formation de complexes macromoléculaires. Ceux-ci interagissent ensuite pour former des gouttelettes concentrées appelées coacervats. Les interactions protéine-polysaccharide rencontrées dans la coacervation complexe sont majoritairement de nature électrostatique si bien que de nombreux paramètres physico- chimiques (pH, force ionique, densité de charge de biopolymères, ratio de mélange protéine- polysaccharide, concentration totale en biopolymères) et physiques (pression, température, agitation) influencent la formation des complexes macromoléculaires et des coacervats.

La coacervation complexe, la compréhension des mécanismes de formation des coacervats dans différentes conditions de milieu est essentielle si l'on veut prévoir et améliorer les propriétés des coacervats. La coacervation complexe est à l'heure actuelle décrite comme un mécanisme de séparation de phase liquide-liquide résultant de la formation de complexes électrostatiques intramolécules entre des macromolécules.

L'agrégation de ces complexes, initialement solubles, conduit à la formation de complexes intermoléculaires insolubles, qui après floculation et coalescence forment des gouttelettes liquides appelées coacervats. En effet, il faut alors tenir compte de l'effet de la polydispersité des biopolymères, de leur concentration totale dans le milieu et de l'effet combiné de ces deux variables sur la formation et la stabilité des coacervats.

### **II.VI.1. a. Le taux d'encapsulation :**

Le taux d'encapsulation (Le rendement Rdt%) est représenté par la quantité de principe actif contenu dans les microcapsules préparées. La masse désirée a été déterminé par les techniques d'extraction dans des solvants adéquats. Les extractions ont été répétées trois fois du au polydispersité des microcapsules. L'analyse de ces quantités a été réalisée par spectrophotométrie UV-Vis à  $\lambda_{\max}$  de chaque principe actif correspondant.

Les résultats trouvés sont classés dans le tableau suivant :

<i>Nom d'échantillon</i>	<i>Le rendement % (Rdt)</i>
<i>AGG01</i>	92 ± 0,85
<i>AGG02</i>	93 ± 1,25
<i>AGG03</i>	92 ± 1,12
<i>AGG04</i>	92 ± 0,97
<i>AGG05</i>	93 ± 0,25
<i>AGG06</i>	90 ± 1,45
<i>AGG07</i>	89 ± 0,43
<i>AGG08</i>	88 ± 0,95
<i>AGG09</i>	96 ± 1,03

**Tableau 19 :** Rendements des formulations des microcapsules.

**II.VI.1. b. Morphologie des microparticules :** Nous décrivons dans le **tableau 20** suivant la morphologie des microcapsules (forme des microcapsules, forme de la membrane et pourcentage d'agrégats et de coacervats) obtenus par le procédé de la coacervation complexe, Ces remarques ont été faites lors des observations par microscopie optique :

<i>Nom</i>	<i>Morphologie</i>
<b>AGG01</b>	Microcapsules sphériques, individuelles avec une belle membrane Pourcentage d'agrégats : 01%
<b>AGG02</b>	Microcapsules sphériques, individuelles avec une membrane bien visible Pourcentage d'agrégats : 0%
<b>AGG03</b>	Microcapsules agrégées Pourcentage d'agrégats : 35%
<b>AGG04</b>	Microcapsules agrégées Pourcentage d'agrégats : 05%
<b>AGG05</b>	Microcapsules sphériques, individuelles avec une membrane mince. Pourcentage d'agrégats : 0%
<b>AGG06</b>	Belles microcapsules sphériques avec une membrane épaisse. Pourcentage d'agrégats : 0%
<b>AGG07</b>	Microcapsules sphériques, individuelles avec une membrane visible. les toutes petites microcapsules sont agrégées. Pourcentage d'agrégats : 0%
<b>AGG08</b>	Très petites microcapsules sont agrégées. Pourcentage d'agrégats : 60%
<b>AGG09</b>	Les microcapsules sont très petites et individuelles avec une membrane mince. Pourcentage d'agrégats : 01%

**Tableau 20 :** Morphologie des microcapsules.

De ces différents résultats, on remarque :

- Si la vitesse d'abaissement de la température diminue, on obtient des microcapsules avec une membrane bien visible (AGG02 ;  $\Delta T/\Delta t=1,2^\circ\text{C}/\text{min}$ ).
- Si  $\Delta T/\Delta t$  est trop faible (autour de  $0,18^\circ\text{C}/\text{min}$ ), les microcapsules s'agrègent (AGG03).
- Si  $\Delta T/\Delta t$  est trop faible même si on augmente la vitesse dans l'étape de gélification les microcapsules s'agrègent (AGG04).
- Pour un  $\Delta T/\Delta t$  trop faible, en augmentant la vitesse d'agitation dans l'étape de gélification et en présence de PEG à 10%, les microcapsules s'individualisent et ont une membrane mince (AGG05).

- Si  $\Delta T/\Delta t$  est faible avec ajout du réticulant après gélification et si on augmente la vitesse dans cette étape, on obtient des particules individuelles avec une membrane épaisse et très peu de coacervats (AGG06).
- Pour un  $\Delta T/\Delta t$  faible, un durée de coacervation de 10 min, un ajout de réticulant après gélification et une augmentation de vitesse d'agitation dans l'étape de gélification, on obtient des microcapsules individuelles mais les plus petites s'agrègent et il y a beaucoup de coacervats (AGG07).
- Pour un volume total d'émulsion petit, un  $\Delta T/\Delta t$  faible et une vitesse d'agitation élevée dans l'étape de gélification, on obtient des petites microcapsules agrégées (AGG08), en présence de Tween 20 à 0,25% les microcapsules sont individuelles (AGG09).

#### **II.VI.1. c. Distribution en taille :**

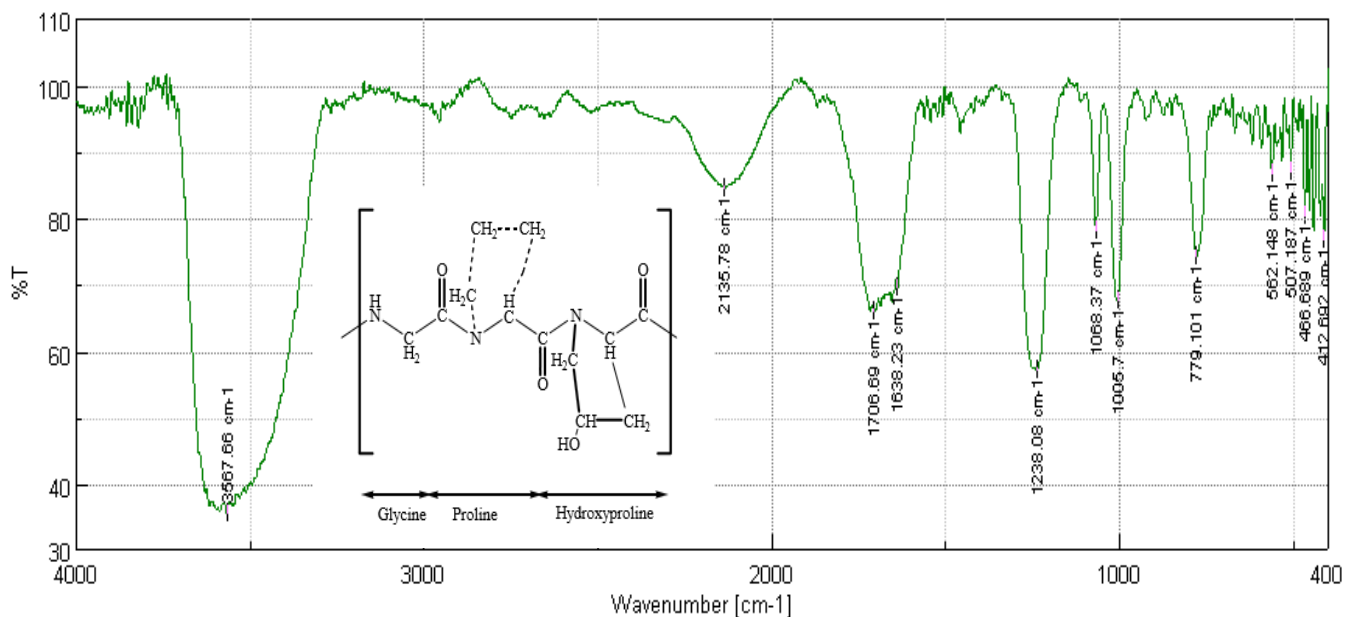
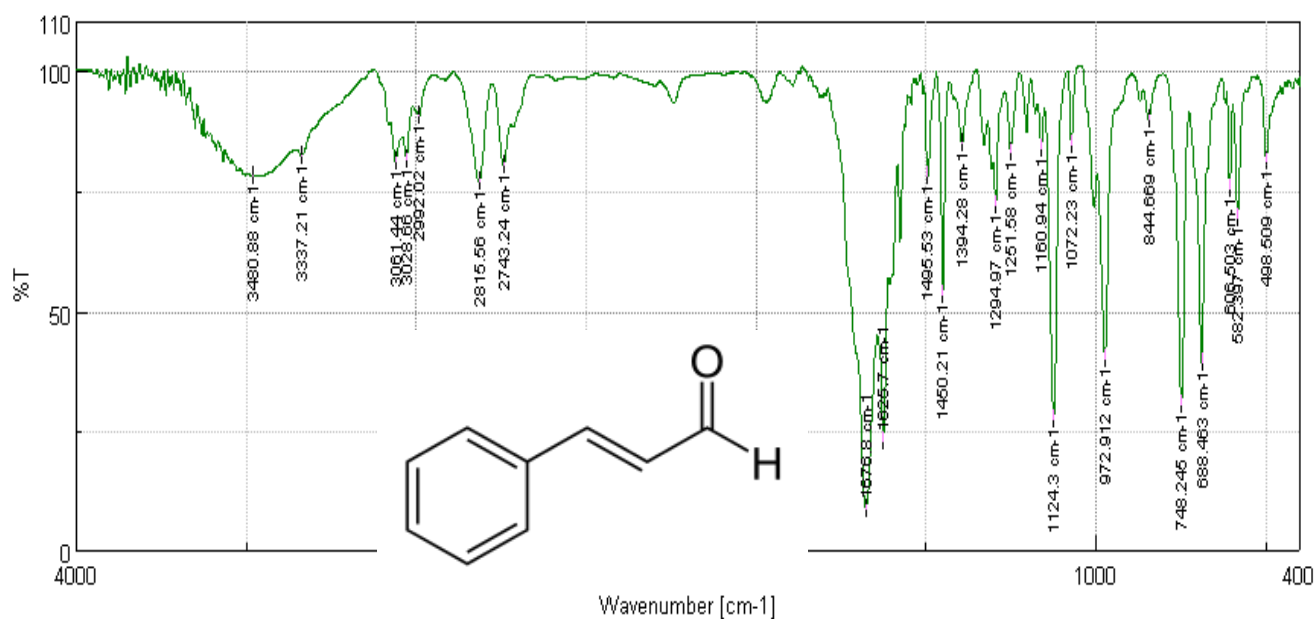
A la fin de chaque formulation, il est établi la distribution en taille de chaque échantillon, les graphes sont donnés en annexe et les résultats reportés dans le **tableau 21** donnent les différents diamètres moyens des échantillons préparés.

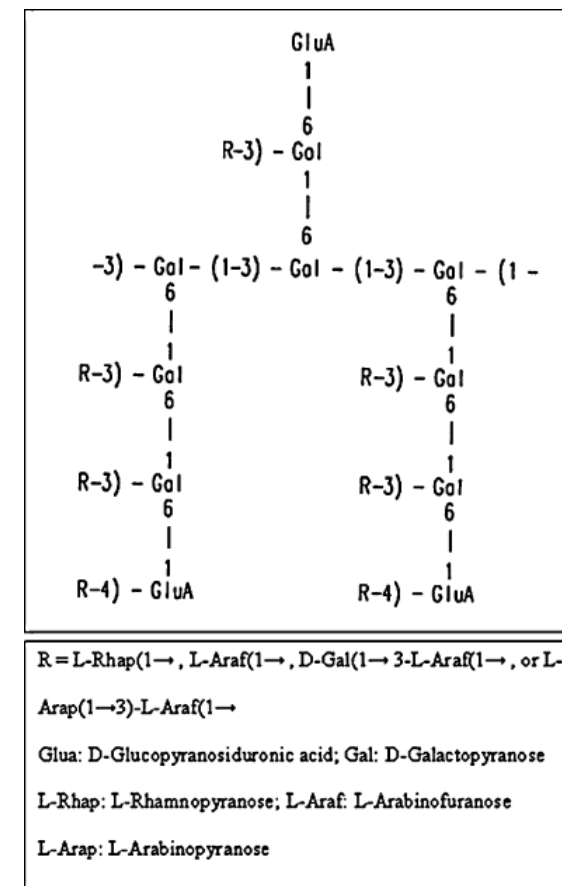
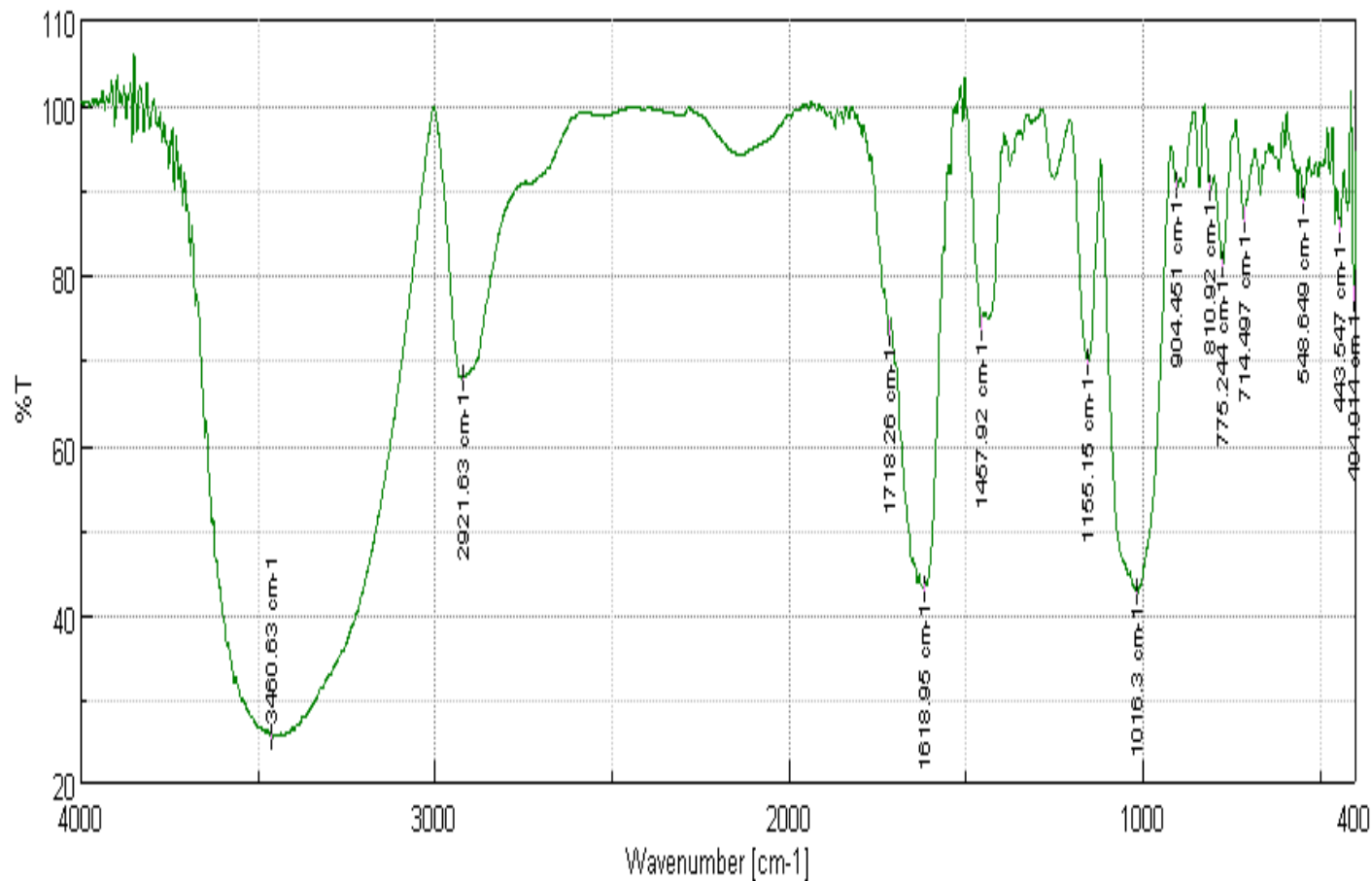
<i>Nom</i>	<i>d<sub>10</sub> μm</i>	<i>d<sub>32</sub> μm</i>	<i>d<sub>43</sub> μm</i>	<i>Dispersion</i>
<b>AGG01</b>	118,78	136,68	154,98	1,30
<b>AGG02</b>	120,68	168,56	188,37	1,56
<b>AGG03</b>	121,17	151,40	172,06	1,41
<b>AGG04</b>	119,53	128,07	136,83	1,14
<b>AGG05</b>	115,28	194,24	223,54	1,93
<b>AGG06</b>	149,50	186,53	213,74	1,42
<b>AGG07</b>	154,92	196,60	227,86	1,47
<b>AGG08</b>	177,28	199,09	212,69	1,20
<b>AGG09</b>	98,30	123,58	164,58	1,68

**Tableau 21 :** Distribution en taille des échantillons préparés.

**II.VI.1. d. Caractérisation des microcapsules par spectroscopie Infrarouge :**

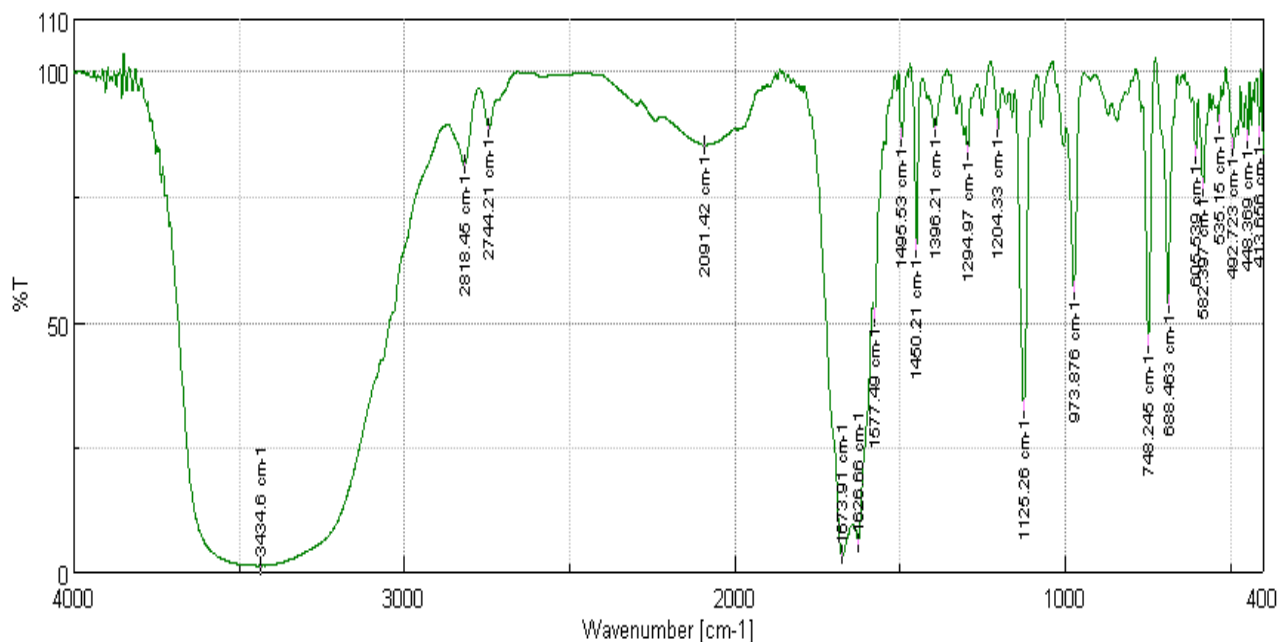
Les spectres IR de la gélatine, de la gomme arabique, du cinnamaldehyde et des microcapsules préparées ont été enregistrés sur l'appareil FTIR Schimadzu de Université d'Oran), la comparaison nous a permis d'en déduire la présence de l'agent encapsulé dans les microcapsules. Les spectres sont donnés sur les figures (60 à 63). Les spectres IR des autres échantillons sont classés dans l'annexe.

**Figure 60 :** Spectre IR de la gélatine.**Figure 61 :** Spectre IR de cinnamaldehyde.



**Figure 62:** Spectre IR de la gomme arabique.





**Figure 63 :** Spectre IR des microcapsules (AGG01).

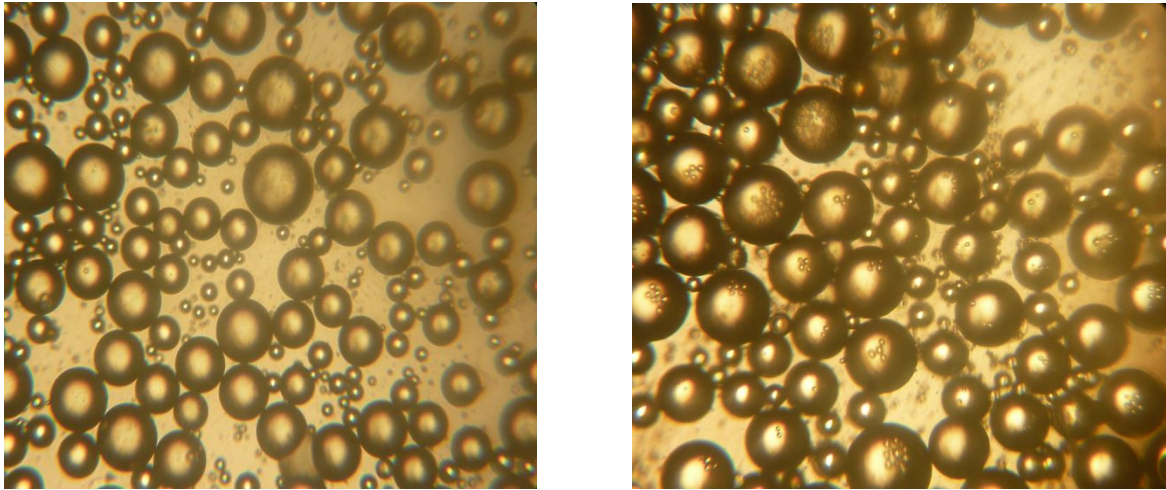
Sur le spectre des microcapsules AGG01, on retrouve les bandes caractéristiques de la gélatine et celles de la gomme arabique :

- Pour la gélatine on trouve, la bande OH=3300  $\text{cm}^{-1}$  et la bande C=O =1625  $\text{cm}^{-1}$ .
- Pour la gomme arabique, la bande OH =3300  $\text{cm}^{-1}$  et la bande C-OH =972  $\text{cm}^{-1}$ .

Et, On détermine aussi les bandes caractéristiques du CN : La bande C=O aldéhyde à 1671  $\text{cm}^{-1}$  et la bande C-H aldéhyde à 2748  $\text{cm}^{-1}$ . 1121  $\text{cm}^{-1}$ .

#### **II.VI.1. e. Observation au microscope optique :**

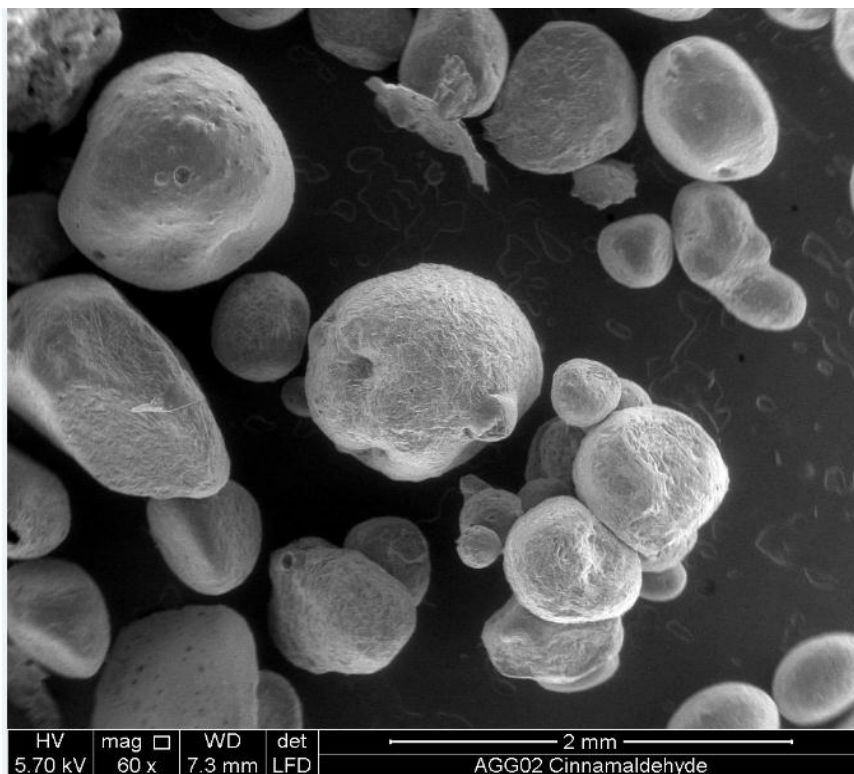
La forme et la taille des microcapsules ont été déterminées par microscope optique (OPTIKA 4083. B1). L'analyse au microscope optique montre la forme sphérique des microcapsules, et la variété de leurs tailles. La figure suivante représente l'observation par microscope optique des échantillons AGG01 et AGG02, les autres formulations sont reportées dans l'annexe.



**Figure 64 :** Observation des microcapsules par microscope optique (AGG01 à gauche et AGG02 à droite).

**II.VI.1. f. Observation en microscope électronique à balayage (MEB) :**

La morphologie des microcapsules a été caractérisée par Microscopie Electronique à Balayage (MEB) Quanta 200 (FEI, France) du Centre d'Imagerie de l'Université de Bordeaux -1. Un échantillon a été lyophilisé (AGG02) au niveau du laboratoire de biologie de l'Université de Sidi Bel Abbes dans le but de le caractériser par MEB.



**Figure 65 :** Observation des microcapsules (AGG02) par MEB.

L'observation par microscopie électronique à balayage des microcapsules lyophilisées montre que ces dernières ont une forme ovoïde, et la matrice "gomme arabique-gélatine" entoure bien l'agent encapsulé "le cinnamaldehyde". La membrane paraît ridée et ne contient pas de pores.

#### **II.VI.1. g. Interprétation des résultats :**

Dans le but de préparer des systèmes réservoirs chargés de cinnamaldéhyde, on a effectué la formulation par coacervation complexe dans la gélatine et la gomme arabique. Le pourcentage en polymère permettant l'enrobage complet de cinnamaldehyde est de 1%. Ce pourcentage a été choisi selon le travail de Xiao J-X et al (128) qui ont fait une étude sur l'effet du pourcentage en polymère sur le taux d'encapsulation. Ils ont montré le pourcentage de 1%, permet l'encapsulation totale de l'agent actif.

Les microcapsules obtenues au cours ce travail sont fragiles. Il est difficile d'autre part de les isoler à l'état solide. Par ailleurs, nous avons étudié les paramètres suivants tels que la vitesse d'agitation, la vitesse d'abaissement de température, l'ajout d'un réticulant, l'ajout d'un polymère. Les résultats de l'influence de ces paramètres sur la synthèse des microcapsules sont décrits ci dessous :

##### ***Influence de la vitesse de refroidissement***

D'une façon générale, nous remarquons que ce paramètre n'a pas d'influence notable sur la taille des microparticules ni sur la teneur en cinnamaldehyde. Les microcapsules gardent la même taille moyenne en variant la vitesse de refroidissement. Nous pouvons suggérer que le dépôt des matrices sur les microgouttelettes de cinnamaldehyde est limité par la formation complète de l'enveloppe.

##### ***Influence de la vitesse d'agitation***

Cette méthode d'encapsulation est basée sur deux étapes qui sont la formation des microgouttelettes dans la solution polymérique et la formation des coacervats de polymères dans le milieu. Dans l'étape de l'émulsion, nous avons maintenu la vitesse d'agitation constante "500rpm" pour tous les échantillons, et dans la deuxième étape, nous avons fait varier la vitesse de 250 rpm à 500 rpm.

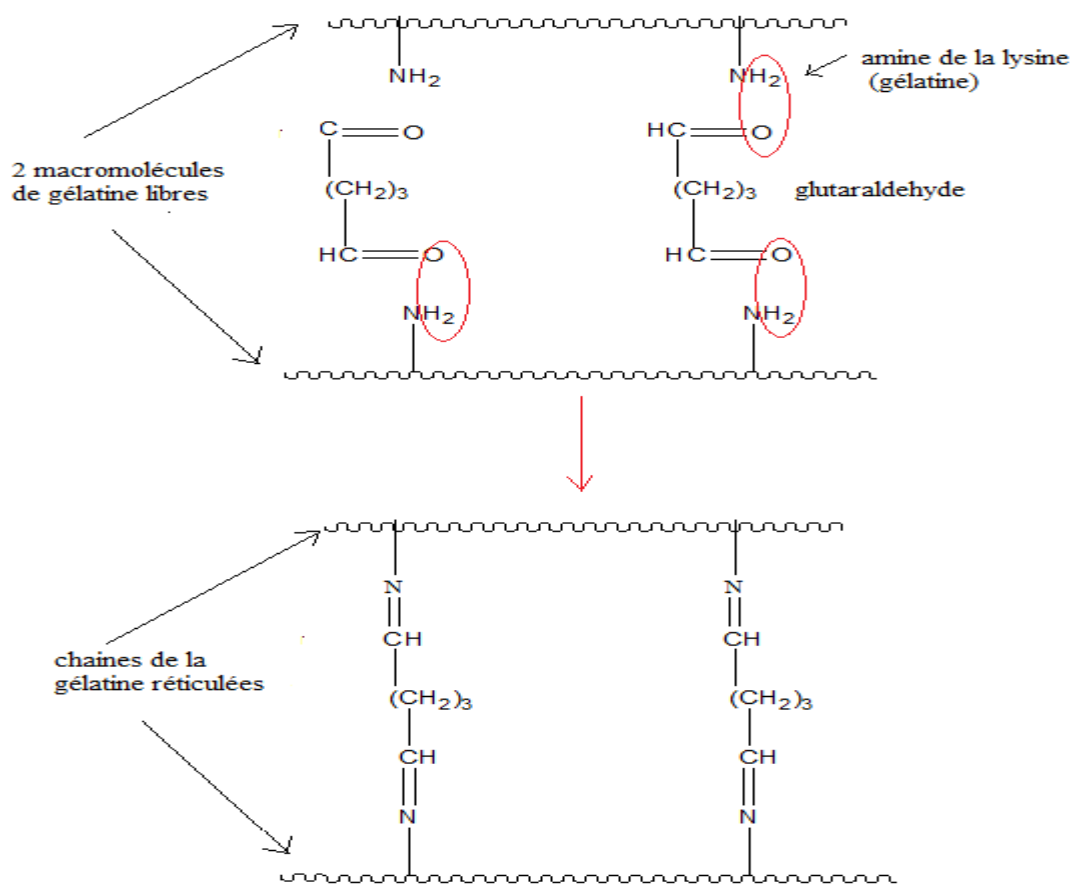
Dans les deux étapes, la vitesse d'agitation est le facteur principal de la dispersion. La variation de ce paramètre influe sur la taille des microgouttelettes et les microcapsules

formées. Nous avons gardé la vitesse d'agitation dans la première étape constante pour tous les échantillons car elle influe sur la taille des microgouttelettes et sur la taille des microcapsules (207). Pour cela, nous avons choisi de changer la vitesse de rotation dans la deuxième étape. En diminuant la vitesse d'agitation, nous n'observons pas de différence de taille entre les microgouttelettes dans l'étape d'émulsion et celles microcapsules obtenues. Nous obtenons la même chose si la vitesse est maintenue constante dans les deux étapes.

Ces résultats peuvent s'expliquer par l'étalement total des polymères sur les microgouttelettes de cinnamaldehyde. Dès que la surface est totalement recouverte, les microcapsules ne peuvent pas être cisailées, empêchant ainsi la variation de la taille des microparticules.

### *Influence du pH de réticulation*

La réticulation de la gélatine est réalisée par la réaction des fonctions amines sur les fonctions aldéhydes avec formation des fonctions imines.



**Figure 66 :** Schéma de réticulation de la gélatine.

Le réticulant utilisé (glutaraldéhyde) est un dialdéhyde ; la réticulation permet de former des ponts "imine" entre les macromolécules de gélatine.

En milieu faiblement acide, les groupements aminés de la gélatine se trouvent dans leur forme basique libre et la réaction de réticulation est plus favorable contrairement au en milieu basique ou l'amine se trouve protonée.

En effectuant la réticulation dans le milieu acide, les microcapsules ont perdu la forme sphérique qu'elles possèdent en milieu basique, elles sont devenues de forme ovoïde avec une membrane flétrie et ridée. La taille moyenne de ces microcapsules reste du même ordre. Il est à noter que la réticulation dans le milieu acide permet de bien conserver les microcapsules, qui ne s'agrègent pas contrairement à celles conservées aux pH neutres.

#### ***Influence de la concentration du polymère :***

En variant la concentration du polymère, nous avons pas remarqué de différences de tailles ou de taux de microencapsulation. Les résultats ont montré que la taille augmente du à la présence d'un excès en coacervats.

#### ***Influence de l'ajout du tensioactif :***

L'ajout du tensioactif Tween20 permet d'analyser son influence sur la taille et la distribution des microcapsules. La quantité ajoutée de tensioactif dans la formulation AGG09 suffit pour améliorer la stabilité de l'émulsion. L'observation au microscope optique indique que la forme des microcapsules est peu plus régulière, plus sphérique que sans tensioactif. La présence de Tween20 favorise la formation des petites microcapsules sphériques uniformes.

#### ***Influence de l'ajout du polymère polyéthylène glycol (PEG) :***

L'ajout d'une quantité de PEG introduit dans la phase aqueuse a un effet sur le diamètre supérieur des microcapsules. Il apparait très large par rapport à la formulation sans PEG.

#### ***Influence du temps d'émulsion :***

La formulation AGG06 a été effectuée pour étudier l'influence du temps en l'émulsion sur la taille des microcapsules. Il faut noter en premier lieu que si le temps de mise en émulsion est inférieur à 5 mn, nous n'obtenons pas des microcapsules et ce, quelle que soit la vitesse d'agitation (126). Le diamètre des microcapsules évolue beaucoup lorsque le temps d'émulsion passe de 30 à 10 mn ; la distribution du diamètre devient pratiquement

monomodale et les analyses montrent que le diamètre augmente en plus et que la distribution devient plus étroite.

Suite à plusieurs synthèses, nous avons pu déterminer les conditions opératoires optimales souhaitées. La présence dans la phase aqueuse de 1% gomme arabique et 1% de Gélatine, en présence de Tween20 à 0,25 % comme tensioactif assure la stabilité de l'émulsion. L'utilisation de la turbine d'agitation avec une vitesse de rotation de 250rpm appliqué pendant 30 min permettent d'obtenir une proportion largement majoritaire de microcapsules avec des diamètres moyens supérieurs à 90  $\mu\text{m}$ .

### **II.VI.2. Caractérisation des microsphères préparées par le procédé par évaporation de solvant :**

Cette technique consiste à préparer une émulsion (simple ou double) puis à éliminer le solvant organique par évaporation. Lors de cette élimination, le polymère précipite, ce qui conduit à la formation d'une microparticule. Dans un premier temps, le polymère choisi pour constituer les particules est dissous dans un solvant organique non miscible à l'eau. Il faut donc choisir le solvant organique en fonction de sa miscibilité avec l'eau et de sa volatilité (208). Ce mélange est ensuite émulsifié dans une phase aqueuse contenant un tensioactif pour former une émulsion H/E stable. Le solvant organique est alors évaporé par élévation de la température ou sous pression réduite, ou simplement par agitation à température réduite. Cette méthode permet l'encapsulation des principes actifs hydrophobes par simple ajout du composé dans la solution de polymère. Après évaporation du solvant organique, le médicament encapsulé se trouve au sein de la matrice polymère (209).

Dans le cas d'un principe actif hydrophile, celui-ci doit au préalable être dispersé sous forme de solution aqueuse dans la phase organique contenant le polymère. Cette émulsion est -elle-même dispersée dans une phase aqueuse externe pour constituer une émulsion double E/H/E.

Après évaporation du solvant organique, il se forme des microsphères contenant le principe actif hydrosoluble. Enfin, les microparticules préparées doivent être purifiées pour éliminer le solvant résiduel (208).

**II.VI.2. a. Le taux d'encapsulation et la distribution en taille :**

Le taux d'encapsulation et le rendement Rdt% sont représentés par les équations données après la partie expérimentale. La masse désirée a été déterminée par la technique d'extraction dans des solvants adéquats. Les extractions ont été répétées trois fois cause de la polydispersité des microsphères. L'analyse de ces quantités a été réalisée par spectrophotométrie UV-Vis à  $\lambda_{\max}$  de chaque principe actif.

Pour chaque formulation, nous avons déterminé la distribution de taille, cette étude a été répétée trois fois pour chaque échantillon. Leurs graphes sont donnés en annexe et le taux d'encapsulation, les rendements et les différents diamètres moyens des échantillons préparés sont reportés dans le **tableau 22** :

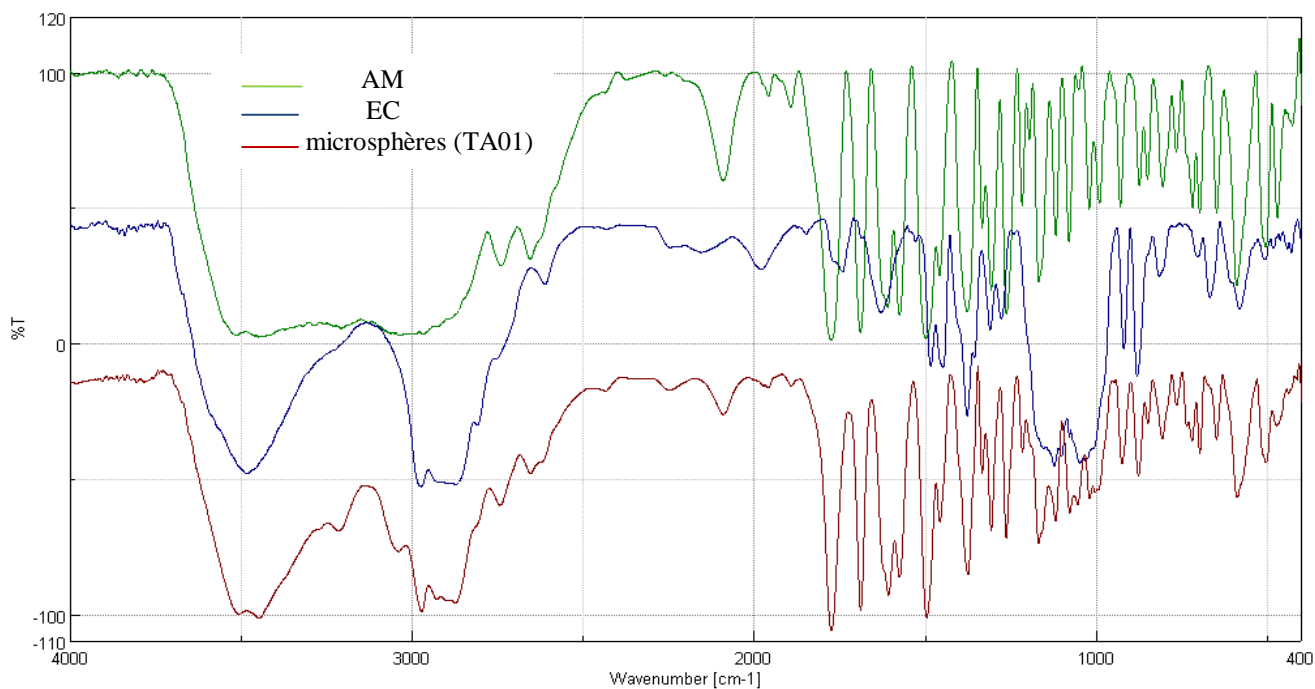


<i>Code</i>	<i>Teneur%</i>	<i>Rdt%</i>	<i>d<sub>10</sub>μm</i>	<i>d<sub>32</sub>μm</i>	<i>d<sub>43</sub>μm</i>	<i>Dispersion</i>
<b>TA01</b>	23,30 ± 0,11	70,60 ± 0,44	326,70	369,00	377,51	<b>1,15</b>
<b>TA02</b>	23,39 ± 0,19	70,87 ± 0,65	245,81	338,17	357,16	<b>1,45</b>
<b>TA03</b>	23,31 ± 0,45	68,78 ± 0,19	184,62	301,19	326,48	<b>1,76</b>
<b>TA04</b>	20,25 ± 0,38	70,63 ± 0,12	234,92	327,50	350,32	<b>1,49</b>
<b>TA05</b>	19,29 ± 0,12	58,45 ± 0,32	260,87	337,55	352,07	<b>1,34</b>
<b>TA06</b>	23,33 ± 0,16	70,69 ± 0,46	336,29	425,27	444,98	<b>1,32</b>
<b>TAT1</b>	14,95 ± 0,25	45,30 ± 0,23	305,01	382,88	406,99	<b>1,33</b>
<b>TAT2</b>	22,97 ± 0,55	69,60 ± 0,18	296,43	384,75	407,54	<b>1,37</b>
<b>TAT3</b>	25,37 ± 0,21	76,87 ± 0,17	304,11	368,59	390,50	<b>1,28</b>
<b>TAT4</b>	23,48 ± 0,57	71,15 ± 0,27	330,23	404,91	432,12	<b>1,30</b>
<b>TAT5</b>	19,58 ± 0,64	59,33 ± 0,51	315,71	382,94	461,60	<b>1,46</b>
<b>TAT6</b>	14,91 ± 0,32	45,18 ± 0,41	252,31	342,25	361,96	<b>1,43</b>
<b>TAS</b>	22,30 ± 0,21	67,57 ± 0,32	354,57	412,87	424,73	<b>1,19</b>
<b>TAG</b>	24,39 ± 0,08	73,90 ± 0,17	38,6	46,8	48,8	<b>1,30</b>
<b>TAV1</b>	23,50 ± 0,03	71,21 ± 0,08	245,86	368,74	401,80	<b>1,63</b>
<b>TAV2</b>	19,93 ± 0,25	60,39 ± 0,45	355,25	458,52	478,31	<b>1,34</b>
<b>TAV3</b>	16,14 ± 0,52	48,90 ± 0,68	317,17	394,44	413,82	<b>1,30</b>
<b>TAP</b>	21,63 ± 0,25	65,54 ± 0,25	212,2	303,2	330,8	<b>1,60</b>
<b>TA8</b>	25,33 ± 0,17	76,75 ± 0,43	279,66	376,66	408,66	<b>1,64</b>
<b>TA9</b>	26,40 ± 0,32	80,00 ± 0,09	237,6	342,67	377,52	<b>1,55</b>
<b>TAM</b>	24,40 ± 0,56	73,93 ± 0,25	230,02	304,27	331,02	<b>1,43</b>
<b>TATP</b>	24,31 ± 0,05	73,66 ± 0,07	435,48	495,50	511,23	<b>1,17</b>

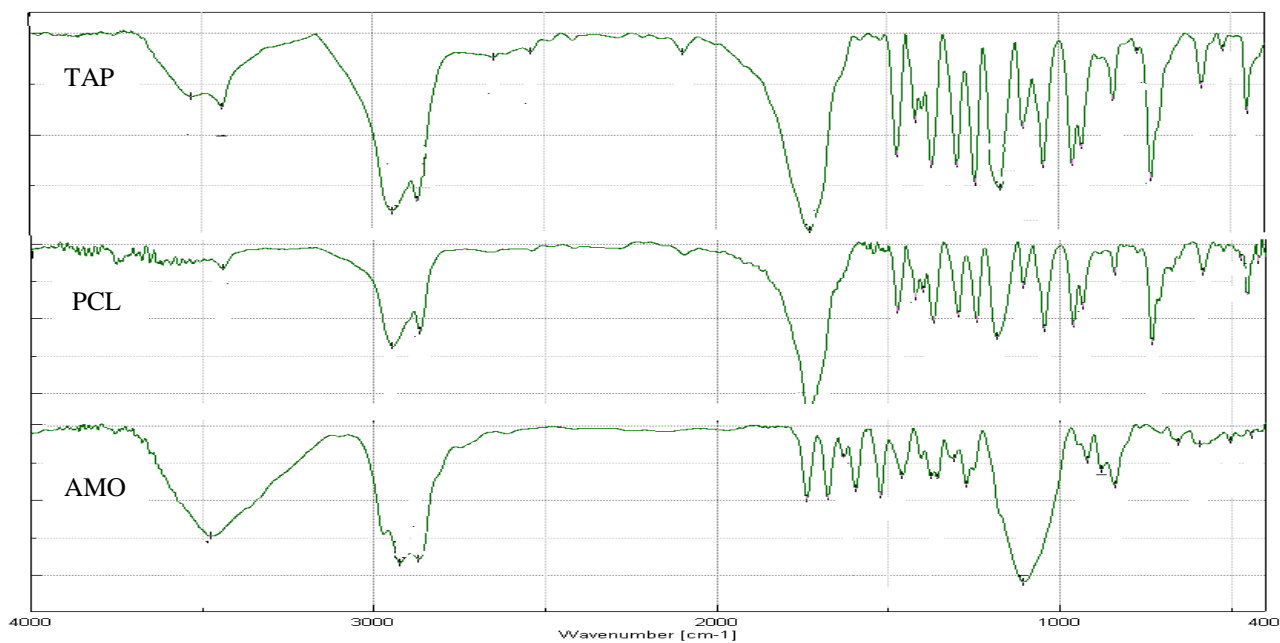
**Tableau 22 :** Teneur%, Rdt% et diamètres moyens des microsphères.

**II.VI.2. b. Caractérisation des microsphères par IR :** Nous donnons ensuite quelques spectres de principe actif pur, de polymère matrice et des microsphères correspondantes. Ces spectres sont présentés dans les **figures (67-69)**, les autres sont spectres sont classés en annexe :

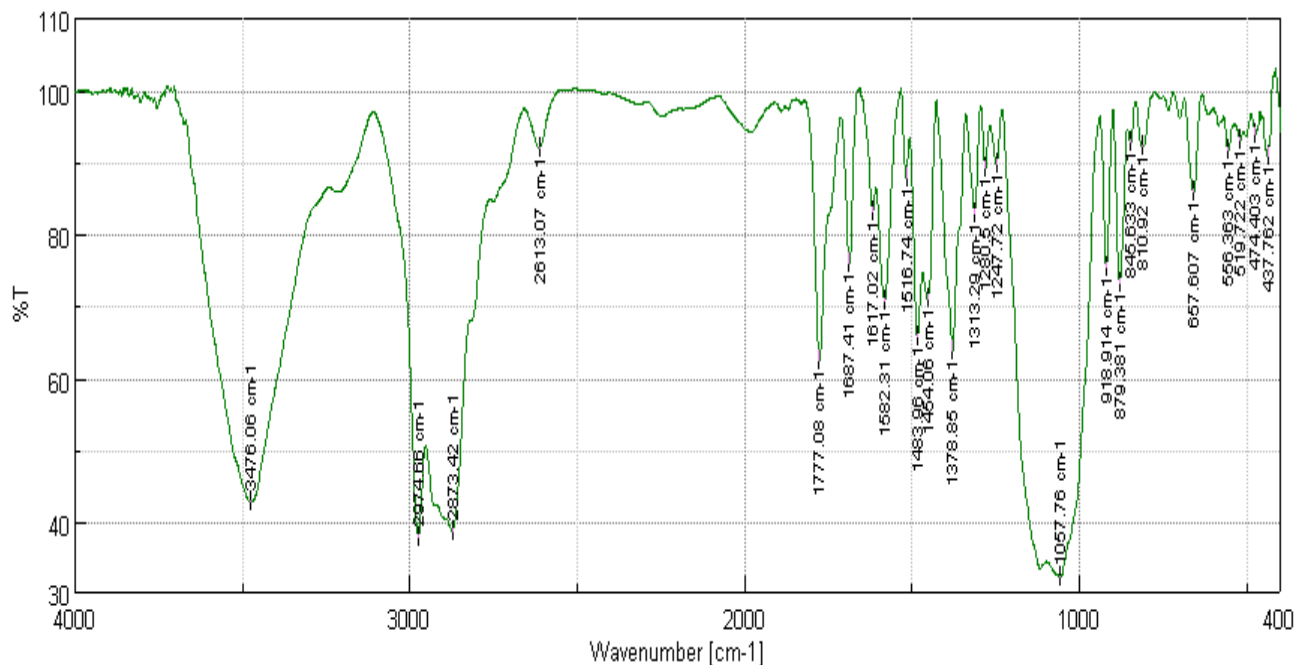




**Figure 67 :** Superposition des spectres IR de l'ampicilline pure, de l'ethylcellulose pure et des microsphères (TA01).



**Figure 68 :** Superposition des spectres IR de l'amoxicilline pure, de PCL pure et des microsphères (TAP).



**Figure 69** : Spectre IR des microsphères (TAV1).

Le spectre FTIR des microsphères (TA01) a été comparé avec les spectres FTIR d'ethylcellulose et d'ampicilline pure. Nous identifions la présence des bandes FTIR significatives d'ampicilline dans le spectre des microsphères à la même longueur d'onde (**Figure 67**) :

La bande aromatique N—C apparaît à 1375 cm<sup>-1</sup>,

La liaison aromatique C—C apparaît à 1610 cm<sup>-1</sup>,

Les vibrations C=O et O—H d'acide carboxylique apparaissent à 1775 cm<sup>-1</sup> et 3208 cm<sup>-1</sup>,

La déformation S-C apparaît à 2090cm<sup>-1</sup> et les fonctions amines apparaissent à 3450-3500 cm<sup>-1</sup>.

Le spectre FTIR des microsphères (TA01) apparaît comme la sommation des spectres RTIR d'ampicilline pure et d'ethylcellulose, alors l'analyse en FTIR confirme la présence d'ampicilline dans les microsphères.

Ces remarque sont aussi tirées lors l'analyse des spectres FTIR d'amoxicilline, de PCL et les microsphères correspondantes (TAP), on identifie les bandes FTIR d'AMO dans le spectre FTIR des microsphères à la même longueur d'onde (**Figure 68**) :

La bande N-C aromatique apparaît à  $1370\text{ cm}^{-1}$ ,

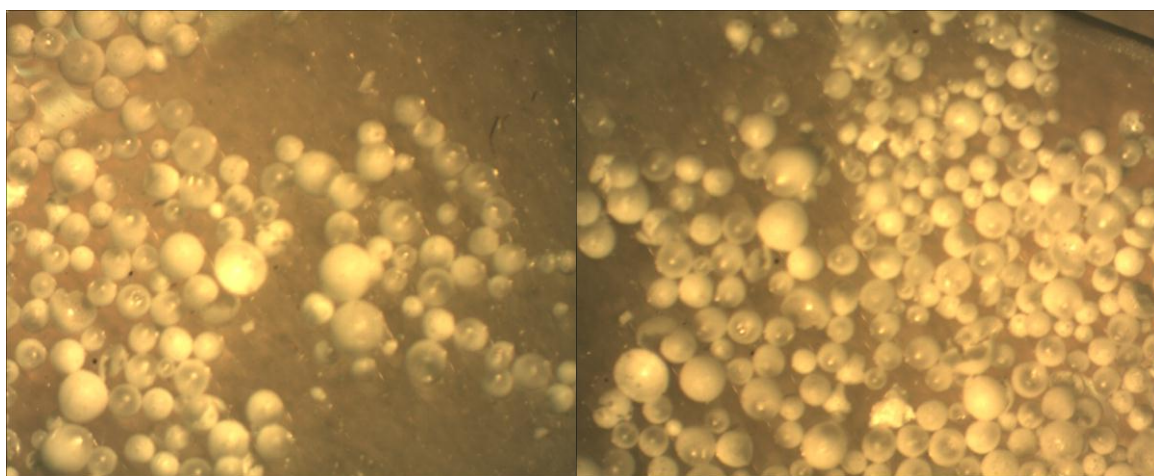
Les vibrations C=O et O—H d'acide carboxylique apparaissent à  $1730\text{ cm}^{-1}$  et  $2950\text{ cm}^{-1}$ .

Les liaisons S-C, la fonction amine et la fonction alcool apparaissent respectivement à  $2090\text{ cm}^{-1}$ ,  $3500\text{ cm}^{-1}$  et  $3400\text{ cm}^{-1}$ .

Nous identifions aussi les bandes caractéristiques du PCL : la fonction ester apparaît à  $1725\text{ cm}^{-1}$ , la fonction O-H de l'acide carboxylique apparaît à  $2940\text{ cm}^{-1}$  et la bande fine de la chaîne externe est observée à  $1470\text{ cm}^{-1}$ .

De même sur le spectre FTIR des microsphères (TAV1) (**Figure 69**), on retrouve les bandes caractéristiques d'amoxicilline, ce qui confirme la dispersion de principe actif dans la matrice polymérique lors de la préparation des microsphères par évaporation de solvant.

**II.VI.1. c. Morphologie des microparticules :** Nous décrivons ensuite pour chaque série de microsphères préparées par le procédé de l'évaporation de solvant les différences de taille et de morphologie de la surface. Les remarques ont été tirées lors des observations en microscopies optique (MO) et électronique à balayage (MEB).



**Figure 70 :** Observation par microscope optique des microsphères " TA01 à gauche et TAV1 à droite"

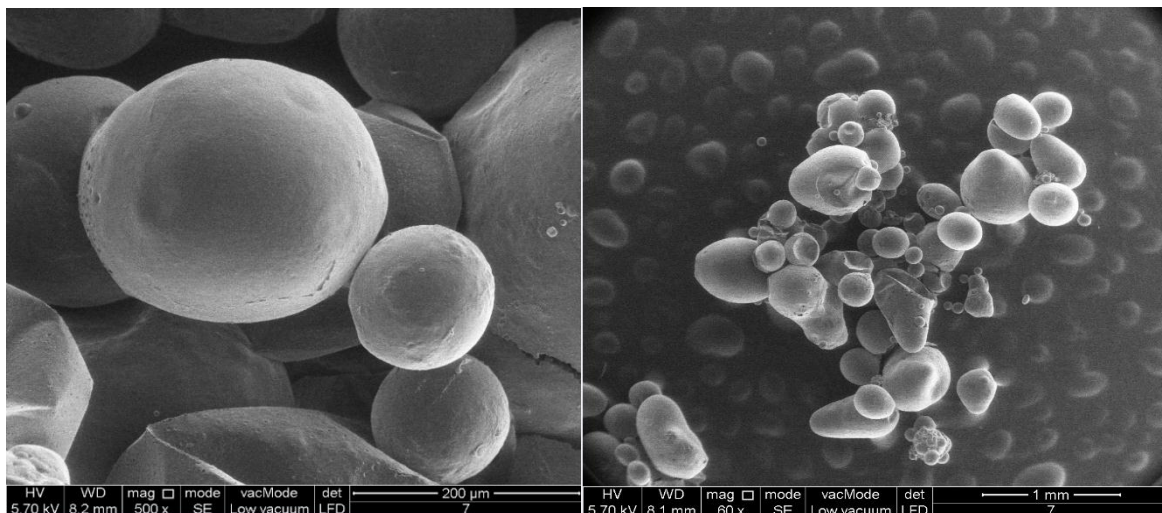
L'analyse par microscopie optique nous montre que les microsphères préparées ont une forme bien sphérique, elle nous donne l'information sur la variété des tailles des particules, et l'absence de formation des agrégats (**figure 70**).

**II.VI.2.d. Caractérisation des microsphères préparées par MEB :**

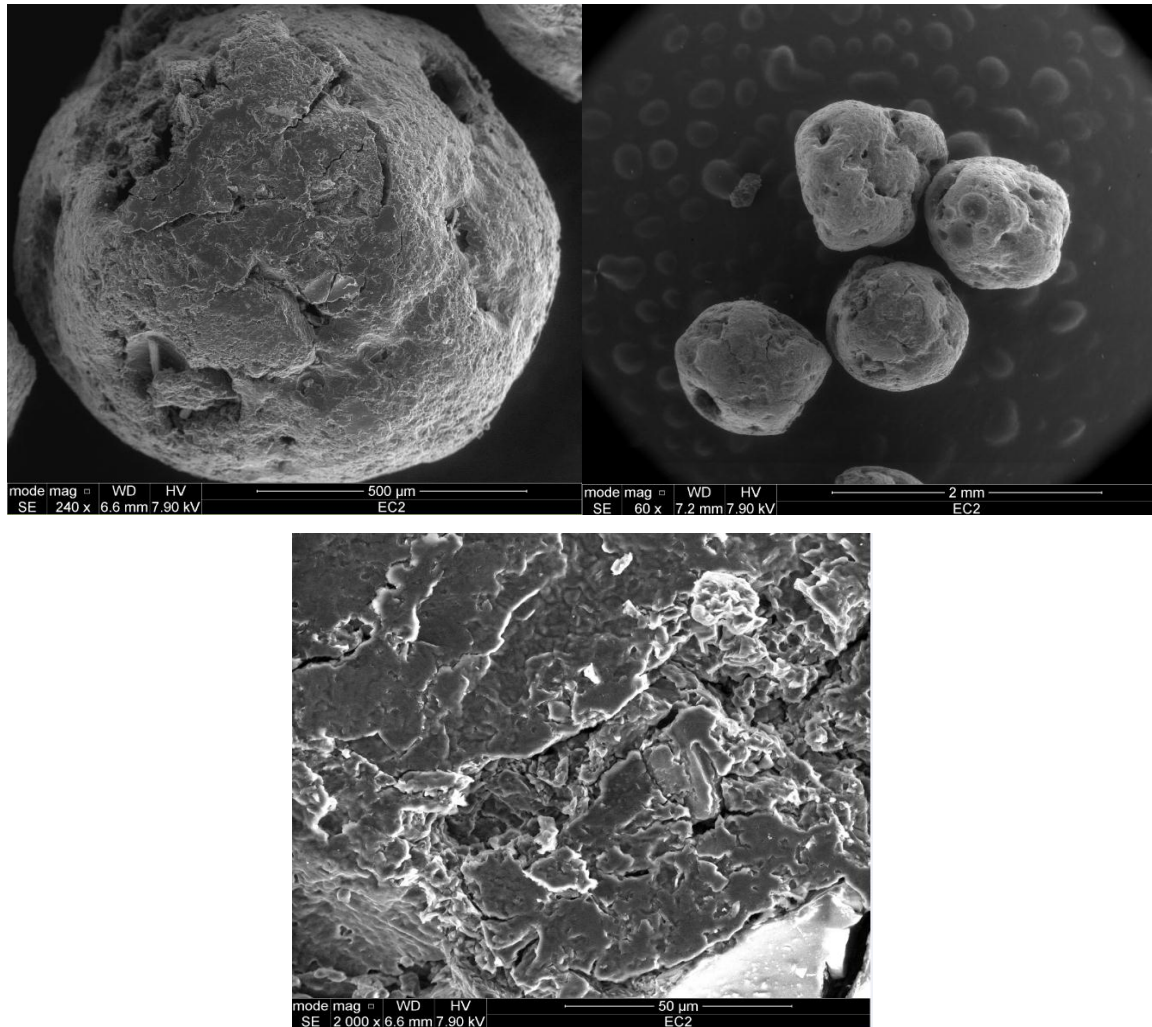
- **Étude d'influence des paramètres de formulation :**
  - **Nature du polymère matriciel éthylcellulose "EC" ou poly- $\epsilon$ -caprolactone "PCL"**

La microencapsulation de l'amoxicilline a été réalisée dans deux polymères, l'éthylcellulose (EC) et la poly  $\epsilon$ -caprolactone (PCL). Les microsphères préparées avec l'éthylcellulose sont bien sphériques et contiennent de petits pores. Elles ont une surface lisse au contraire des microsphères préparées avec le PCL qui sont de grande tailles et de surface peu ridée et contient des pores larges. La teneur en amoxicilline (AMO) dans les microsphères, déterminée par extraction est plus faible avec les microsphères au PCL. Ces différences sont tirées des microsphères des images MEB des **Figures 71 et 72**.

En se basant sur la viscosité de leurs phases organiques, la solution de PCL est moins visqueuse et dans ce cas le principe actif est plus mobile ce qui facilitera son entraînement vers la phase externe et donc la diminution de la quantité emprisonnée dans les microsphères.



**Figure 71** : Photos MEB de TAV1 (microsphères préparées avec EC).

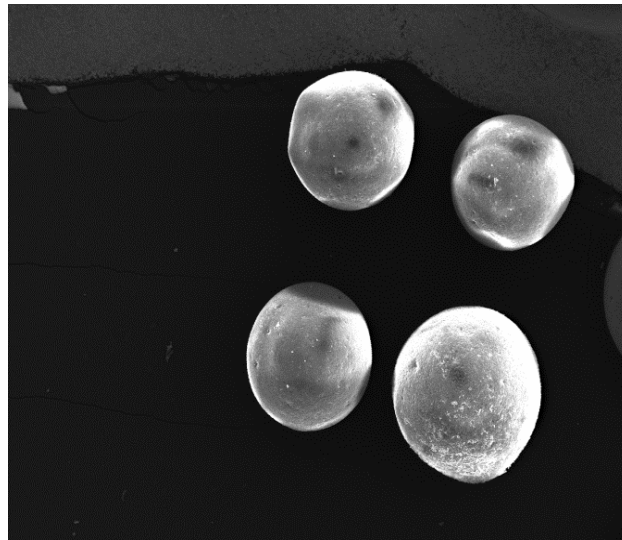


**Figure 72 :** Photos MEB de TAP (microsphères préparées avec PCL).

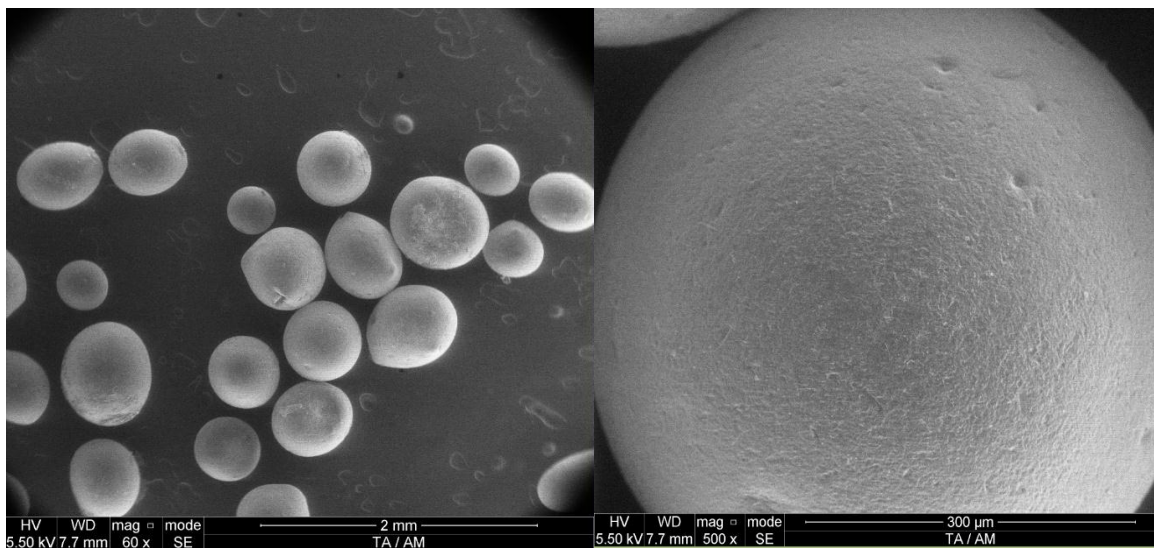
#### **La vitesse d'agitation pendant l'émulsion :**

Les vitesses choisies sont : 200, 400 et 800 rpm. La variation de la vitesse n'a pas d'effet net sur l'efficacité de l'encapsulation (le taux et le rendement de l'encapsulation). Par contre, l'augmentation de la vitesse d'agitation diminue les tailles des microsphères en accord avec les résultats relevés dans la littérature (210). Dans notre cas, les diamètres moyens diminuent de 326 à 184  $\mu\text{m}$  lorsque la vitesse augmente de 200 à 600 rpm. Comme le montre les **Figures 73 à 75**.

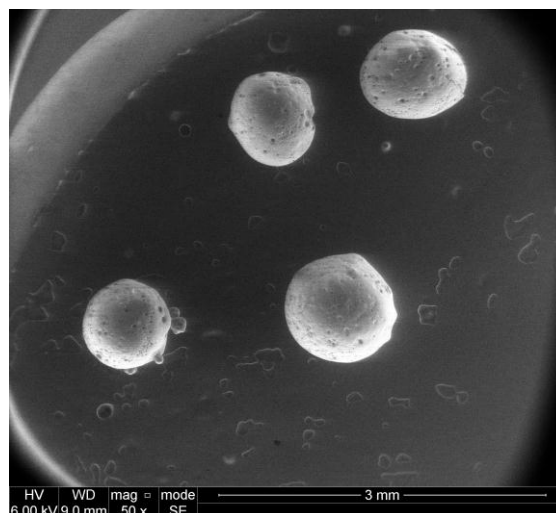




**Figure 73 :** Photo MEB de TA01 (200 rpm).



**Figure 74 :** Photos MEB de TA02 (400 rpm).



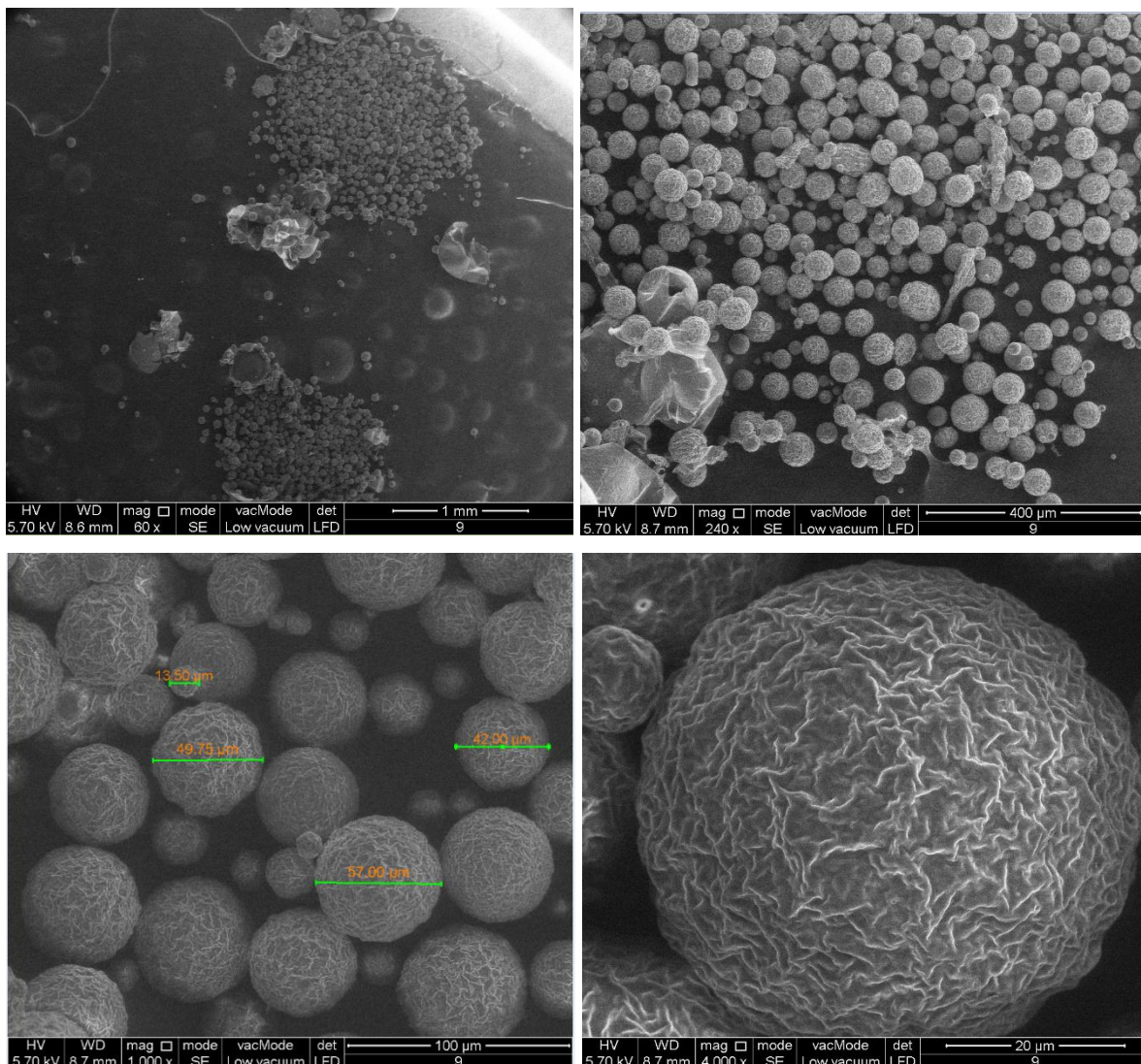
**Figure 75 :** Photo MEB de TA03 (600 rpm).

- **Nature de tensioactif :**

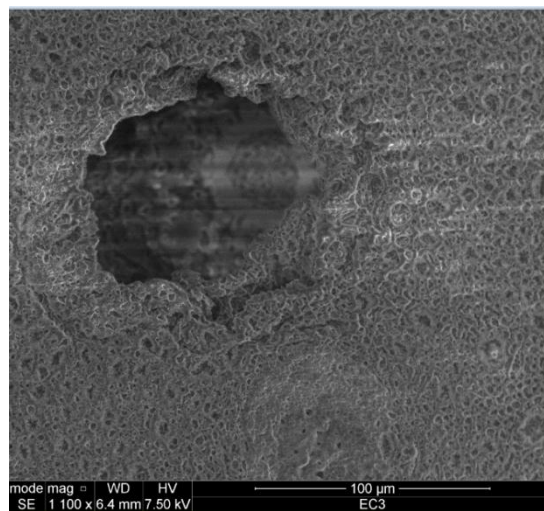
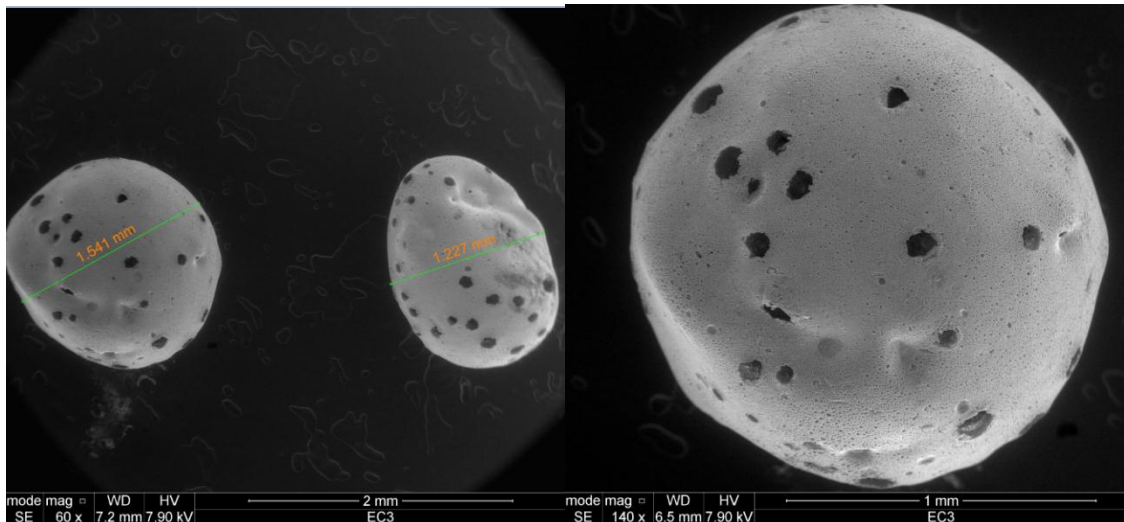
Les différents tensioactifs utilisés sont : Tween20 (T20), Tween80 (T80), Gélatine (GE) et dodécylsulfate de sodium SDS.

L'amoxicilline a été encapsulée par l'éthylcellulose utilisant deux tensioactifs : la gélatine et le SDS. Les observations prises par MEB, nous montrent que les microsphères préparées avec la gélatine sont de petites tailles très ridées et celles qui sont préparées utilisant le SDS sont plus grandes et ont une surface lisse avec de grands pores.

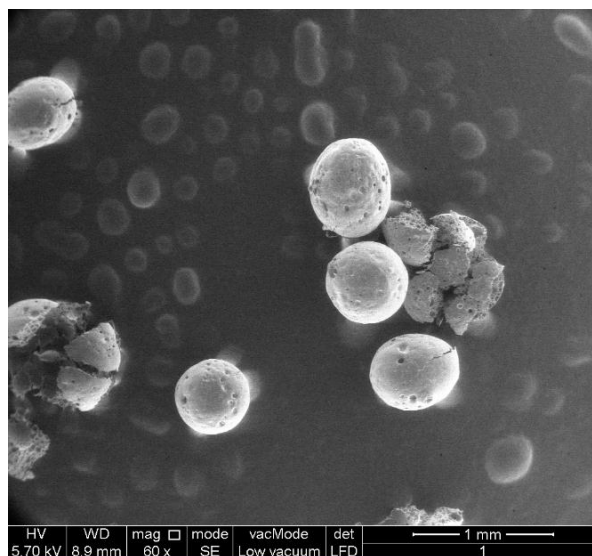
L'ampicilline (TA03 et TA06) et la procaine (TAT2 et TAT4) ont été encapsulées utilisant les deux tensioactifs T20 et le T80. Nous n'avons pas obtenue de différence de morphologie ou d'efficacité d'encapsulation. Les microsphères sont sphériques avec des petits pores. Il nous reste à étudier les différences lors de la libération des principes actifs.



**Figure 76 :** Photos MEB de TAG.



**Figure 77 :** Photos MEB de TAS.



**Figure 78 :** Photo MEB de TA06.

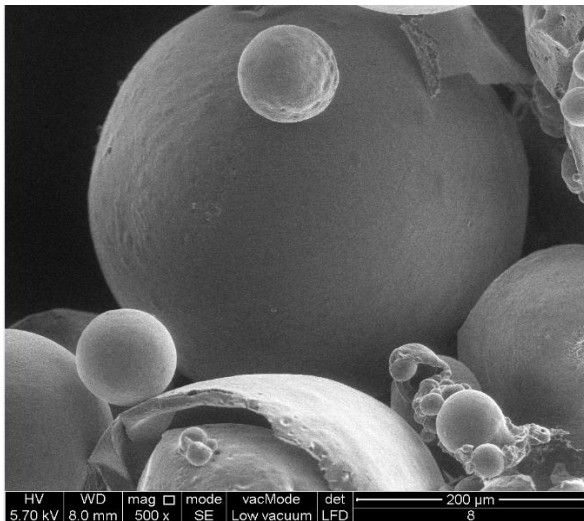


- **La concentration du tensioactif :**

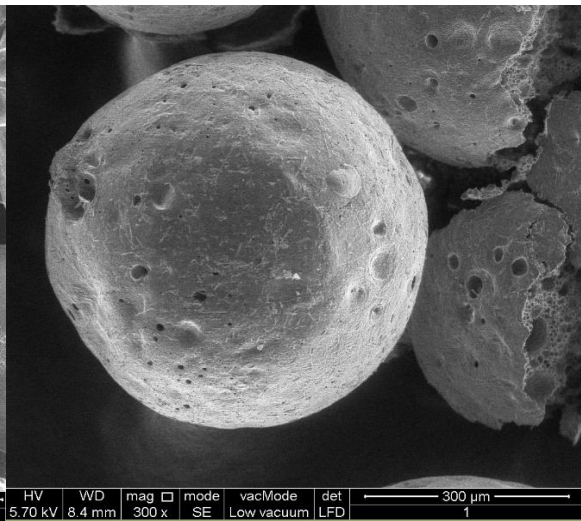
L'augmentation de la concentration en tensioactif fait diminuer le taux d'agent actif encapsulé. Ceci est observé pour les différents agents actifs utilisés. En effet, le taux de procaine diminue de 23,48% à 14,91% en augmentant le T80% de 1 à 4%, et le taux d'ampicilline diminue aussi de 23,31% à 19,29% en augmentant le T20% de 0,5% à 2%.

L'augmentation de la concentration de l'émulsifiant induit la diminution de la taille des microgouttelettes et par conséquent la surface totale de contact de la phase dispersée avec la phase continue augmente. Dans ce cas, le passage du principe actif à travers cette interface vers la phase aqueuse est plus important, ce qui fait diminuer le taux d'agent actif restant dans les microsphères.

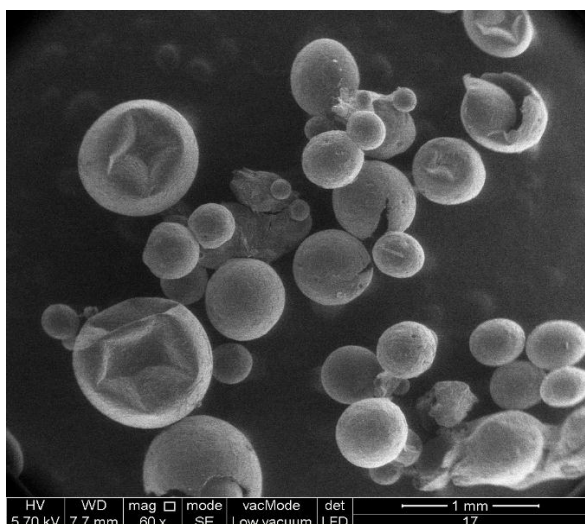
Puisque avec 1% de T80%, nous obtenons des microsphères bien sphériques et individualisées, l'augmentation de ce tensioactif n'est pas nécessaire du moment que défavorise le rendement de l'encapsulation.



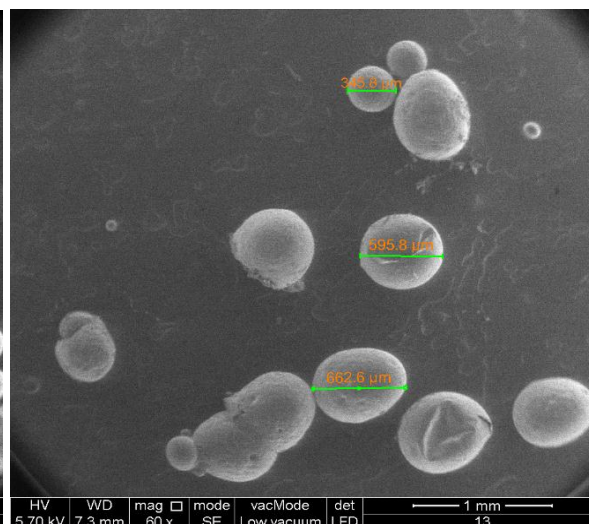
**Figure 79 :** Photo MEB de TA04.



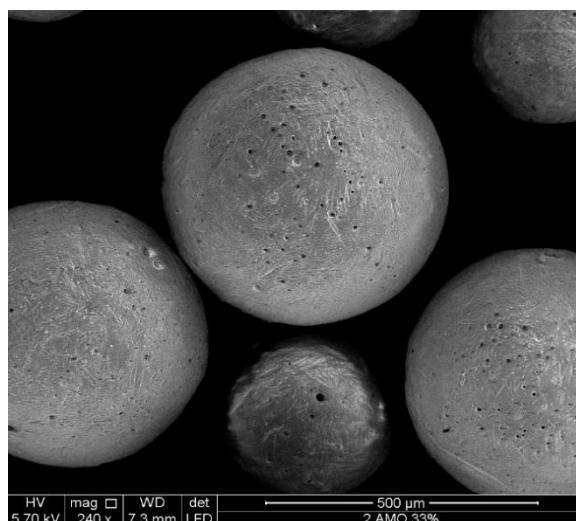
**Figure 80 :** Photo MEB de TA05.



**Figure 81 :** Photo MEB de TAT5.



**Figure 82 :** Photo MEB de TAT6.

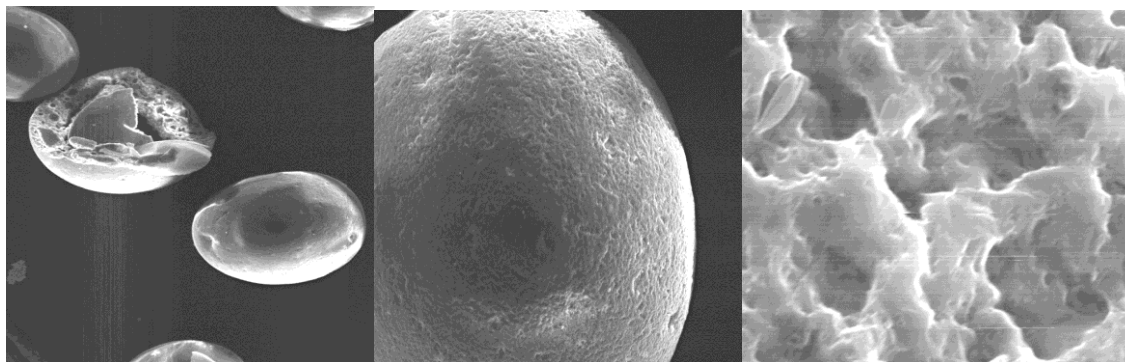


**Figure 83 :** Photo MEB de TAT4.

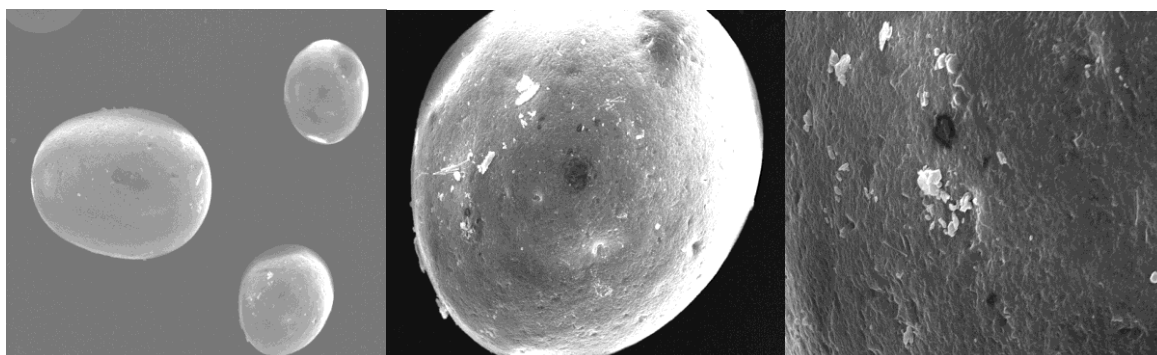
- **Le pourcentage initial en principe actif :**

A fin d'obtenir un taux encore plus important en procaïne encapsulé, nous avons augmenté sa quantité initiale dans la phase organique. Les résultats apparaissent intéressants puisque on atteint un taux élevé allant jusqu'à 28%. L'observation par MEB montre la présence des cristaux de procaïne sur la surface des microsphères (TAT2 et TAT3). L'étude de la libération peut le confirmer si l'on obtient un taux de libération élevé à l'instant initial.

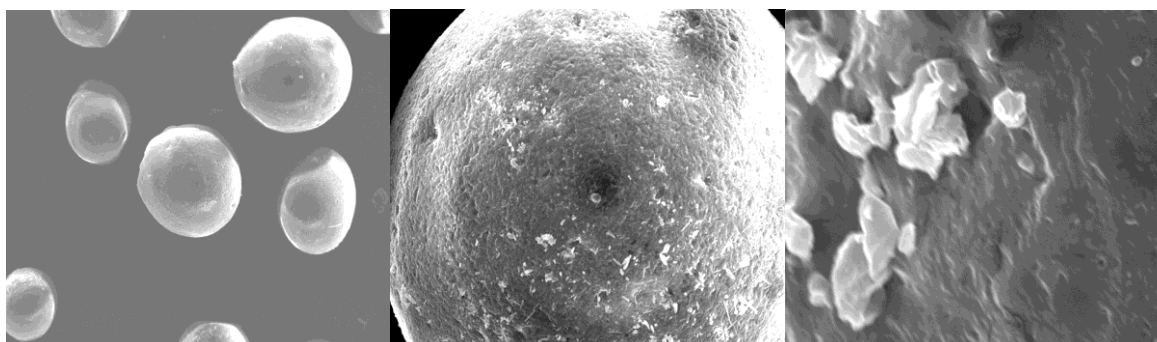
Selon Bodmeier et Chen (211), la présence de cristaux de principe actif sur la surface des microsphères montre que ce dernier précipite avant le polymère pendant l'étape d'émulsion-évaporation de solvant.



**Figure 84 :** Photos MEB de TAT1 (PR : 0,4 g).



**Figure 85 :** Photos MEB de TAT2 (PR : 0,6 g).



**Figure 86 :** Photos MEB de TAT3 (PR : 0,8 g).

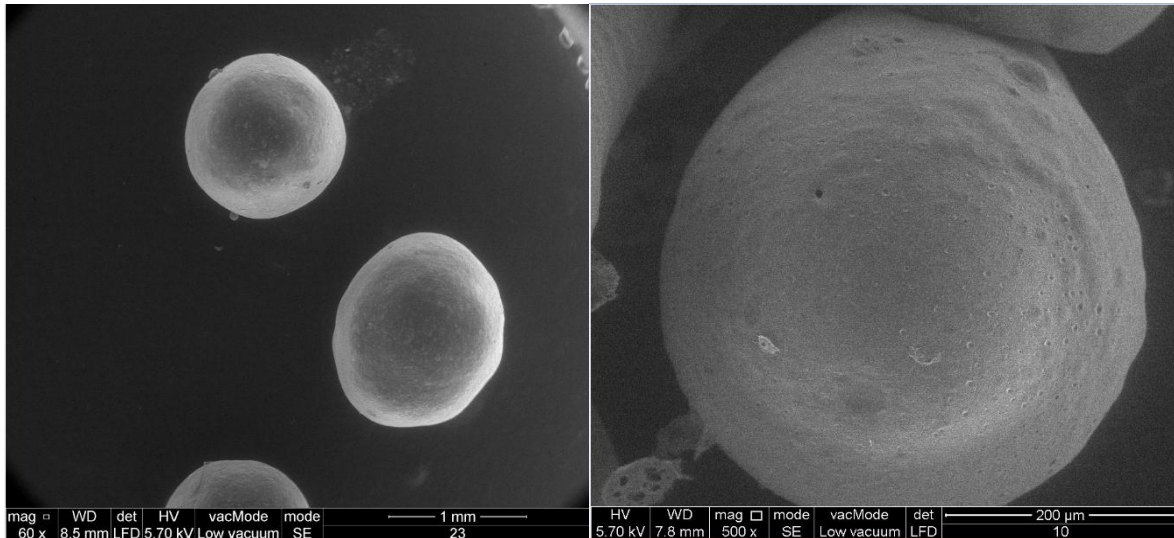
- **Le solvant de la phase organique :**

Deux solvants ont été utilisés pour la préparation de la phase organique, le Dichlorométhane (DCM) et des mélanges de Dichlorométhane/ Acétone à (DCM / AC) : (80/20) et (50/50). L'utilisation d'un co-solvant dans la phase organique a donné des résultats favorables. On remarque que le principe actif encapsulé a augmenté dans le cas du mélange DCM /AC. Le rendement a augmenté à 25,33% pour le mélange (DCM / AC : 50/50) et à 26,40% dans le cas du mélange (DCM / AC : 80/20).

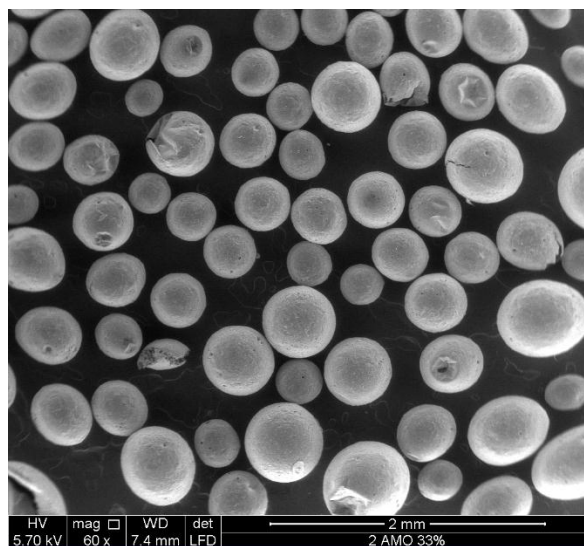
L'acétone est totalement soluble dans l'eau contrairement au DCM (solubilité égale à 13, 2 g/l à 20°C). Le transfert du mélange de solvants DCM/AC (50/50) est alors plus rapide à l'interface microgouttelettes/phase aqueuse comparée au transfert du DCM/AC



(80/20), et il est rapide aussi que dans le cas de DCM seul. Ceci permet une solidification plus rapide des microsphères et la diminution de la diffusion du principe actif vers la phase aqueuse (une perte de principe actif). Suite au travail de Kemala et al (133), on peut déduire que le transfert du mélange (DCM/AC) de la phase dispersée vers la phase aqueuse est plus rapide que son évaporation à travers l'interface phase aqueuse/air, ce qui entraîne une influence sur le taux de principe actif contenu dans les microsphères (l'un des caractéristiques des microsphères).



**Figure 87** : Photos MEB de TA08 (solvant utilisé : DCM/AC : 80/20).



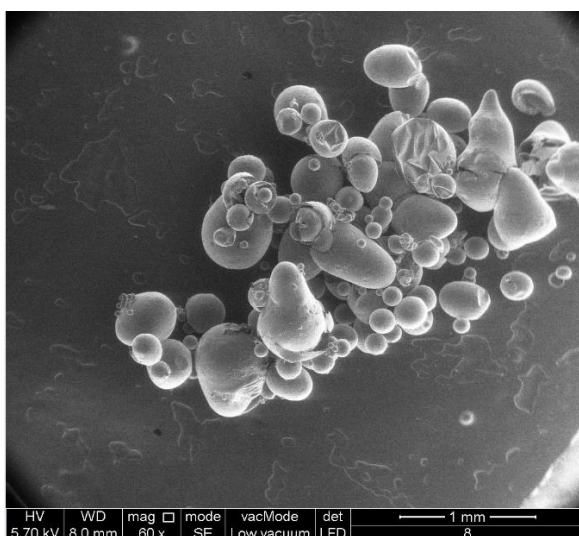
**Figure 88** : Photo MEB de TA09 (solvant utilisé : DCM/AC : 50/50).

- **Le ratio phase dispersée/ phase aqueuse :**

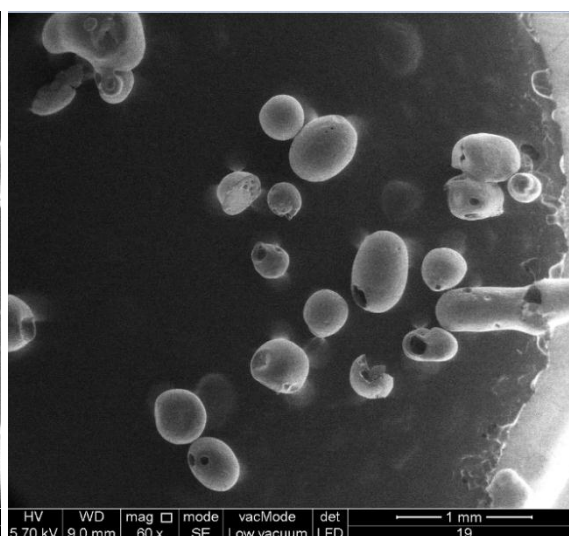
Trois volumes de la phase aqueuse ont été choisis 50 mL, 100 mL et 150 mL. L'utilisation d'un excès de l'eau a donné des résultats défavorables. Le rendement a diminué à 16,14% (150 mL de phase aqueuse) et à 19,93% (100 mL de phase aqueuse).

Le transfert du solvant est plus rapide à l'interface microgouttelettes/phase aqueuse si le volume de la phase aqueuse est faible (50 mL) comparée au transfert du solvant dans le cas de 100 mL et 150 mL d'eau. Ceci permet une solidification plus rapide des microsphères et la diminution de la diffusion du principe actif vers la phase aqueuse.

On peut déduire que le transfert du solvant de la phase dispersée vers la phase aqueuse est plus rapide dans des volumes faibles de la phase aqueuse ce qui influe sur le taux de principe actif contenu dans les microsphères.



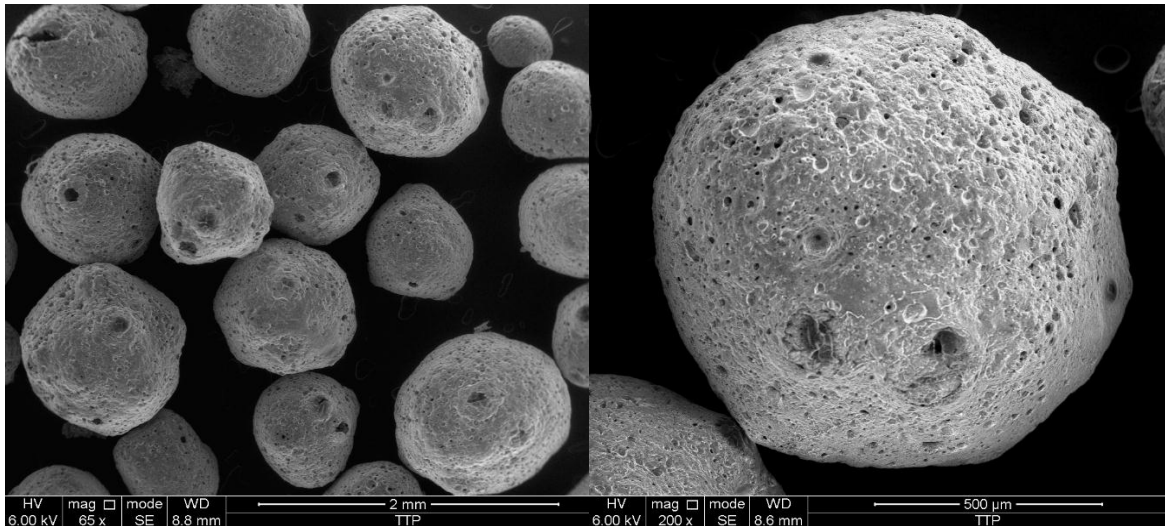
**Figure 89 :** Photo MEB de TAV2 (volume de la phase aqueuse=100mL).



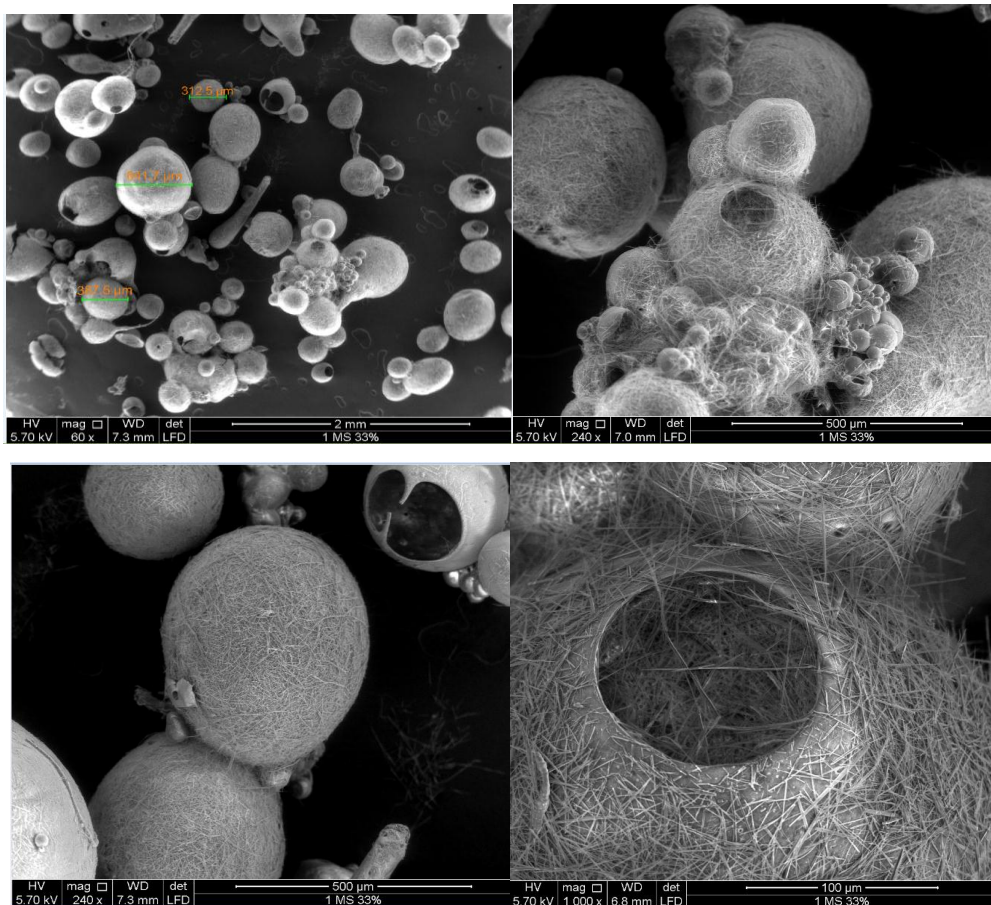
**Figure 90 :** Photo MEB de TAV3 (volume de la phase aqueuse=150mL).

Sur les figures suivantes (**91 et 92**), nous donnons les microsphères chargées de MS et de TPP. On note que les TAM est un système polydispersé et contient des particules non sphériques, quelques particules ont des grands pores. La surface des microsphères est filamenteuse.

Pour l'échantillon TATP, on remarque que les microparticules sont bien individualisées et ont des tailles moyennes proches. La surface de ces microsphères n'est pas lisse et comporte de nombreux pores.



**Figure 91 :** Photos MEB de TATP (microsphères chargées de TTP).



**Figure 92 :** Photos MEB de TAM (microsphères chargées d'amide porteur de la p-aminoacétophène).

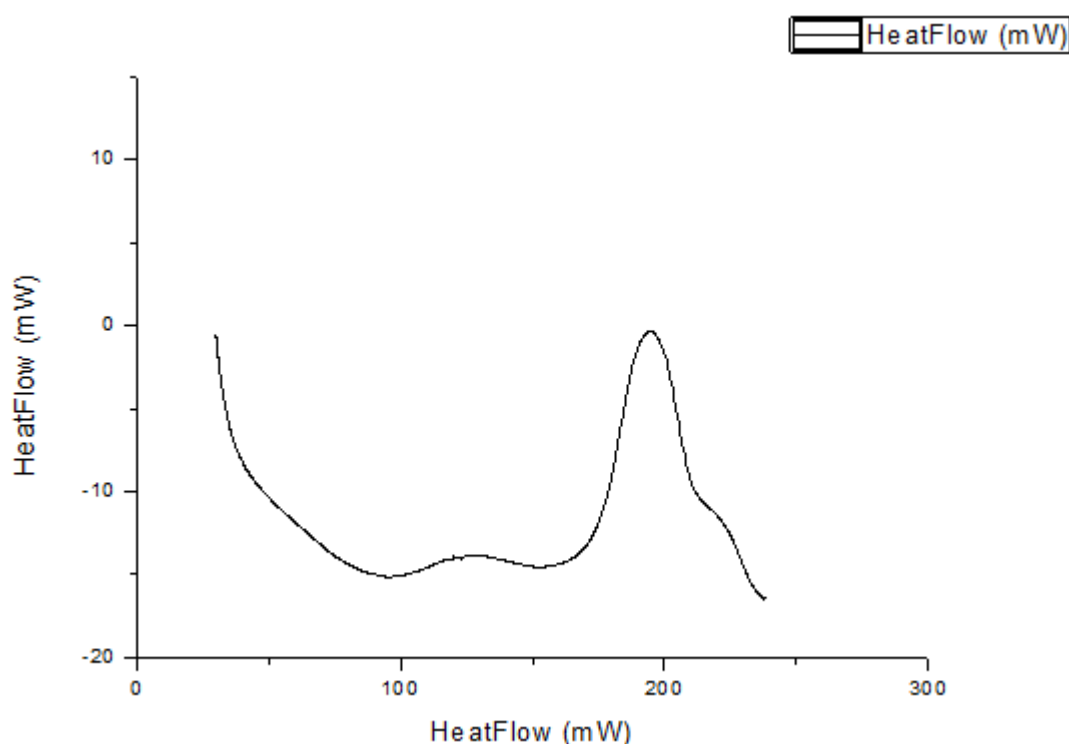
**II.VI.2.e. Caractérisation des microsphères par DSC :**

Les températures  $T_g$  °C de nos produits ont été déterminées sur un appareil DSC de type Sétaram à l'Université de Rennes-1 (Service Pr J.F. Carpentier-UMR 6226 CNRS).

Les courbes de DSC ont été déterminées sur les courbes de chauffage entre 30 et 310 °C sur des échantillons de 5 à 10 mg (**Figures 93-95**). Les vitesses utilisées ont été de +10°C/mn.

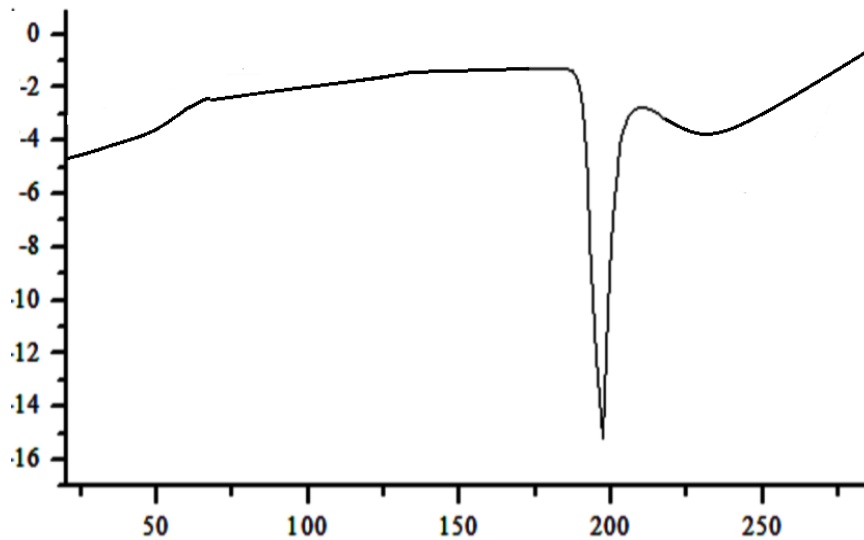
Une étude comparative a été réalisée entre les courbes DSC de polymère (éthylcellulose) et de principe actif (ampicilline) et des microsphères correspondants.

Sur la courbe DSC des microsphères, on note la présence de pic de la température de fusion de l'ampicilline qui est un peu décalé de 198 °C vers 179°C, cela explique que la cristallinité de l'ampicilline est diminuée en présence de l'éthylcellulose. On note aussi la présence de la température de transition vitreuse de l'éthylcellulose qui apparaît vers 98°C. Ce résultat permet de confirmer la présence du mélange polymère-principe actif dans les microsphères.

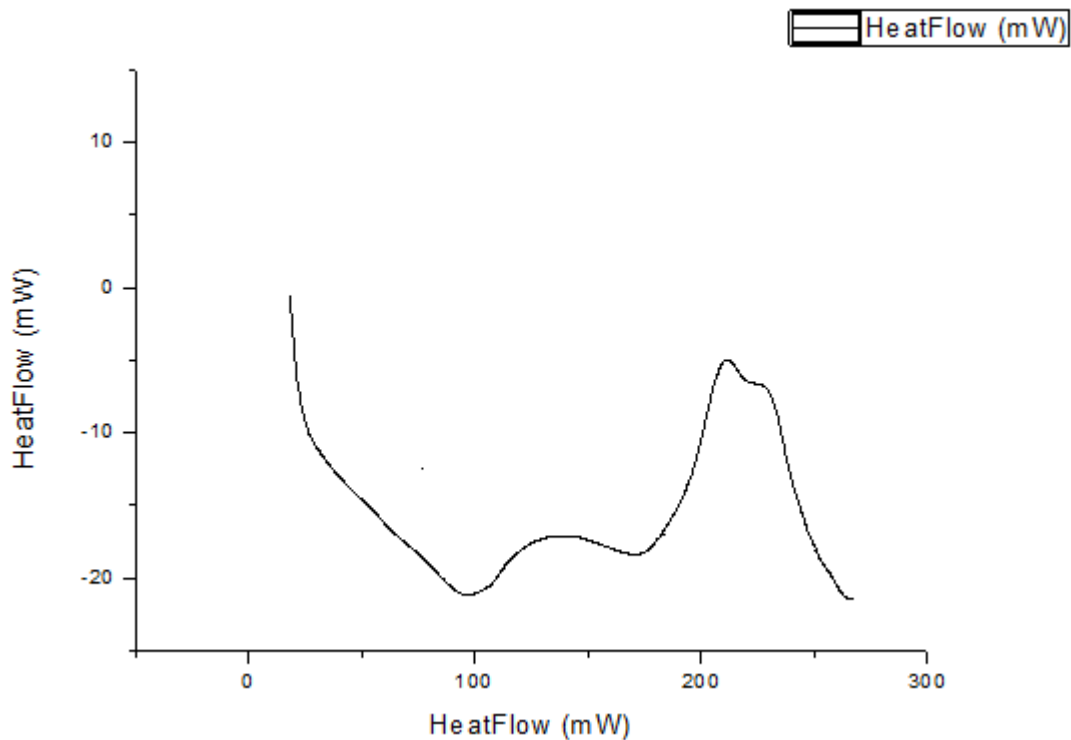


**Figure 93** : DSC Ethylcellulose.





**Figure 94 :** DSC Ampicilline.



**Figure 95 :** DSC TAG (microsphères préparées avec la gélatine).

#### **II.VI.2.f. Caractérisation des microsphères par DRX :**

Un solide présentant la même composition chimique, peut exister sous différentes phases cristallographiques, chaque phase pouvant posséder des caractéristiques et des propriétés catalytiques distinctes. La diffraction de rayons X (DRX) est la méthode la plus efficace et la plus simple pour caractériser un composé cristallisé. Elle permet de déterminer



la nature et la structure cristallographique d'un solide. Elle se base sur la mesure des angles de diffraction des rayons X par les plans cristallins de l'échantillon à analyser. Cette technique consiste à envoyer un faisceau de rayons X (production de rayons X à l'aide d'une source constituée d'un filament de tungstène et d'une anticathode de Cu ou Mo excitée à la tension optimale d'émission du rayonnement caractéristique, un filtre ou un monochromateur sélectionne la raie  $K\alpha$ ) sur l'échantillon disposé sur un support en pyrex légèrement creusé. Lorsque le faisceau atteint l'échantillon (avec un angle  $\theta$ ), il est diffracté d'un angle  $\theta$ , puis détecté par un compteur à scintillation. Les angles de diffraction sont reliés aux caractéristiques du réseau cristallin ( $d_{hkl}$  = distance interréticulaire de la famille du plan hkl) et du rayonnement.

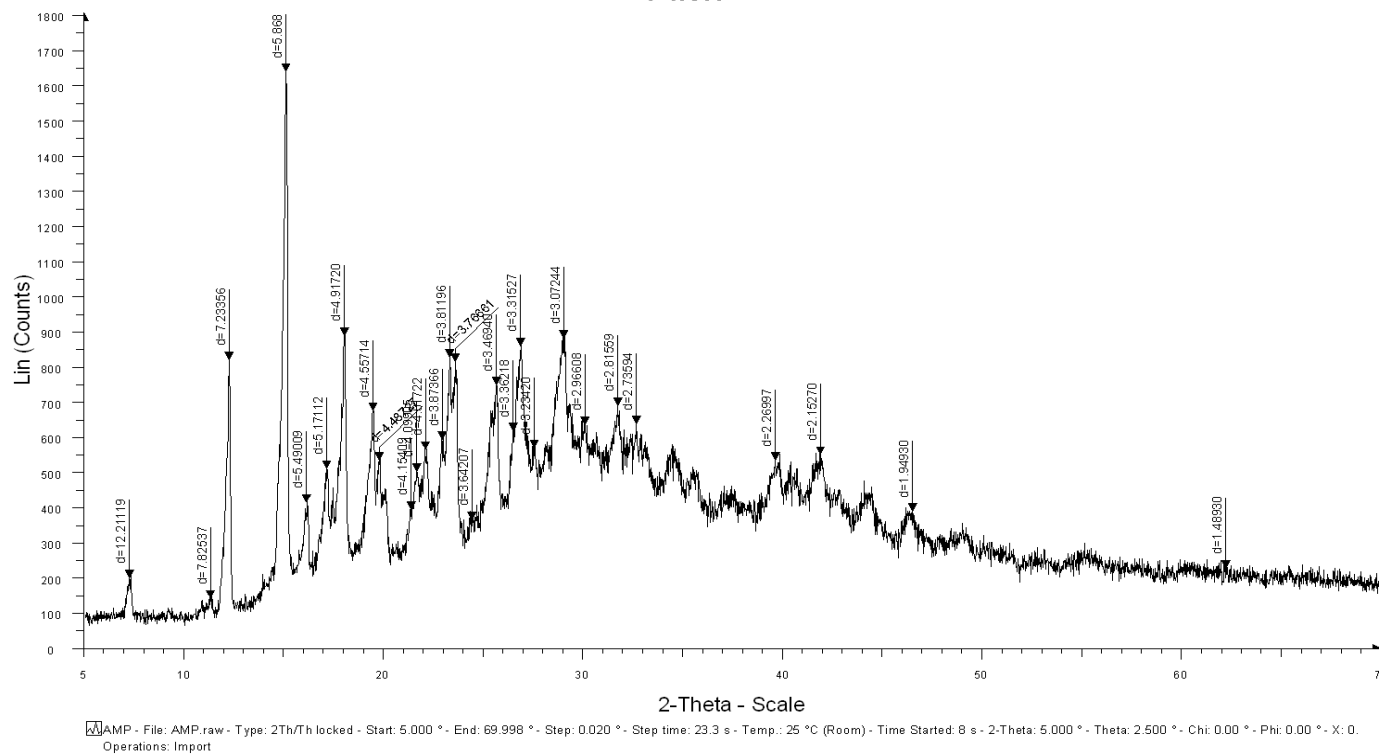
L'appareil utilisé est un diffractomètre à poudre BRUKER D8 Advance, équipé d'une anticathode en cuivre utilisant la raie  $K\alpha$  d'une longueur d'onde  $\lambda = 1,5406\text{\AA}$ , d'un monochromateur secondaire (permettant de s'affranchir du rayonnement de fluorescence), d'un goniomètre  $\theta$ - $\theta$  et d'un porte échantillon tournant (pour éviter les orientations préférentielles). Les analyses ont été réalisées à température ambiante. L'échantillon à analyser est placé sous forme de poudre sur un support plat. Les conditions générales d'acquisition correspondent à une plage angulaire en  $2\theta$  allant jusqu'à  $70^\circ$ . Les diffractogrammes obtenus ont été traités avec le logiciel EVA, commercialisé par la société SIEMENS (Université Es-Senia, Oran).

Dans notre étude, on a réalisé les Diffractogrammes DRX de l'agent actif pure, de l'Ethylcellulose et des microsphères correspondantes.

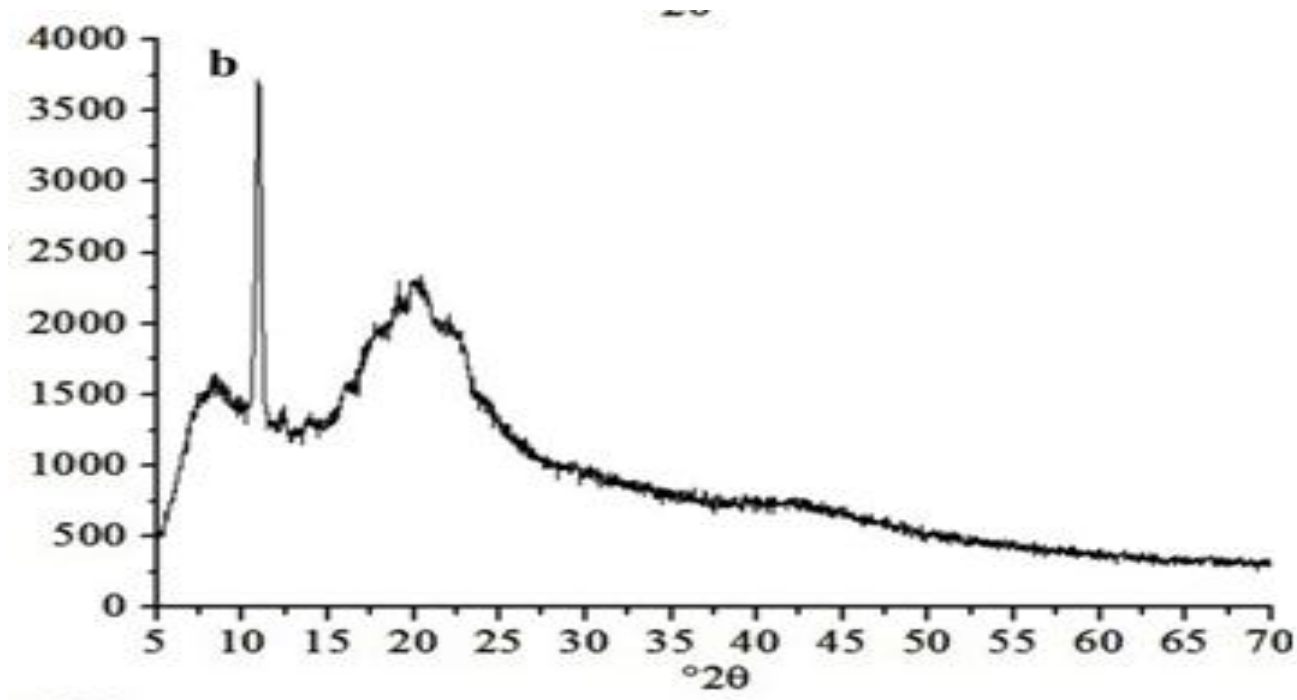
Sur le Diffractogramme de l'ampicilline, on confirme clairement sa cristallinité par les pics caractéristiques DRX qui sont bien définis entre  $2\theta$  de  $30^\circ$  à  $40^\circ$ .

Les pics des microsphères sont moins intenses que celles d'ampicilline pure, cela indique que l'ampicilline se présente dans la partie amorphe de la matrice polymérique et la présence d'éthylcellulose réduit la cristallinité d'ampicilline.

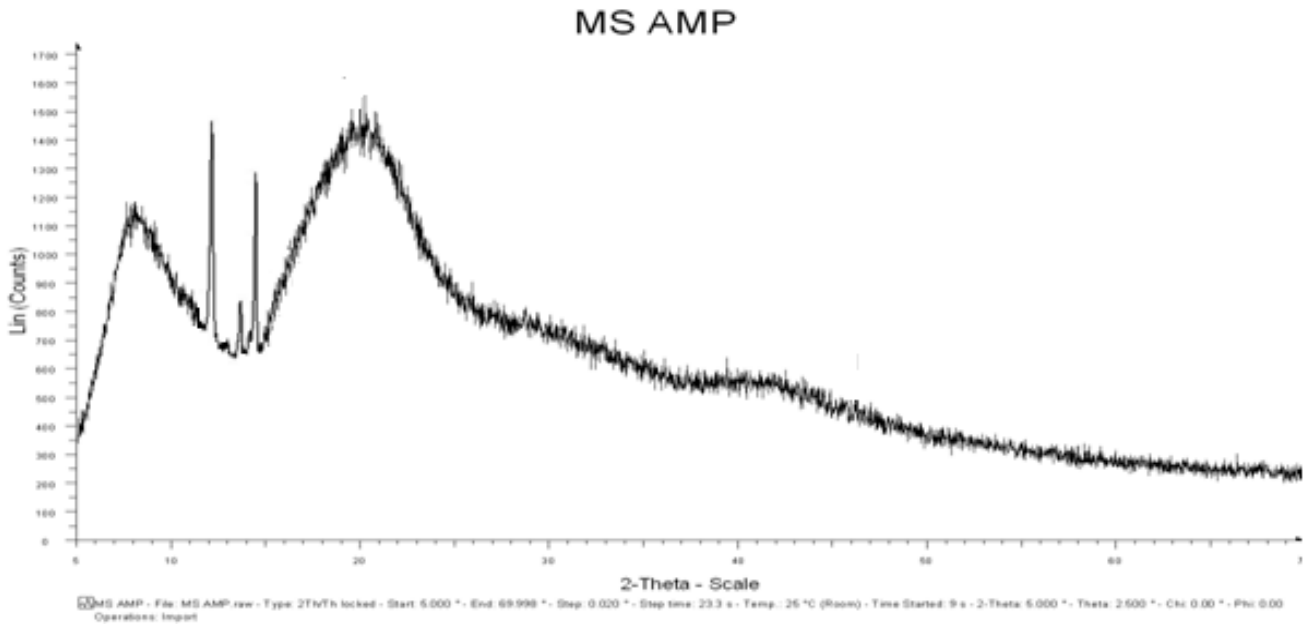
AMP



**Figure 96 :** Spectre DRX de l'ampicilline pure (AMP).

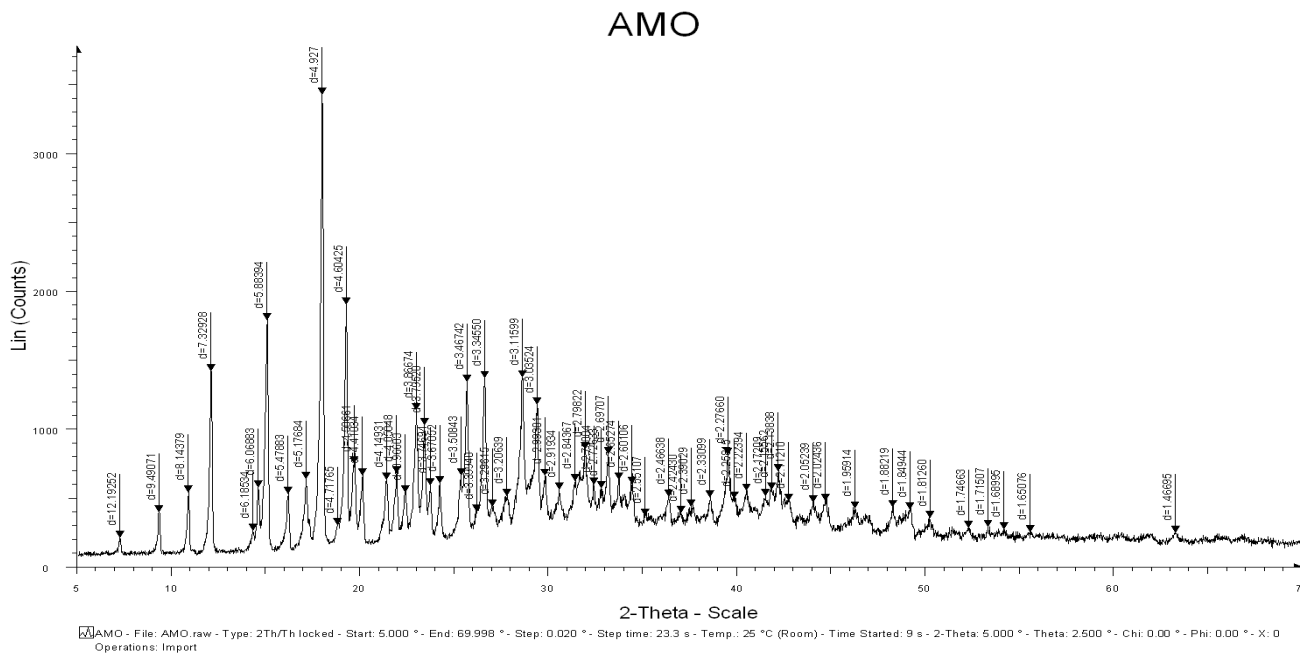


**Figure 97 :** Spectre DRX de l'ethylcellulose pure (EC).

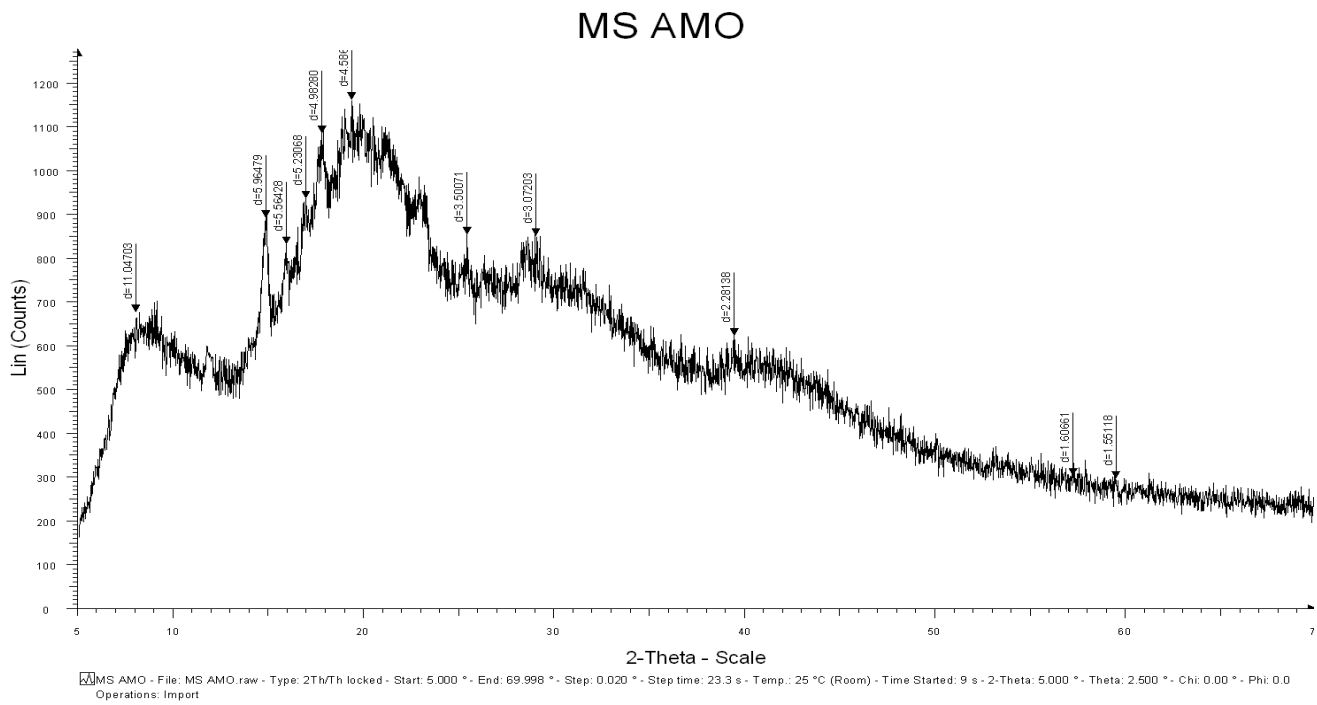


**Figure 98 :** Spectre DRX des microsphères chargées d'ampicilline (TA01).

Les mêmes remarques ont été tirées des spectres DRX de l'amoxicilline et les microsphères chargées d'amoxicilline. Les pics des microsphères qui sont moins intense que celles d'amoxicilline pure montre que l'amoxicilline se présente dans la partie cristalline du polymère utilisé (EC).



**Figure 99 :** Spectre DRX d'amoxicilline (AMO).



**Figure 100** : Spectre DRX des microsphères chargées d'amoxicilline (TAV1).

### **II.VI.1. Interprétation des résultats de la formulation des microparticules :**

Dans cette partie, nous avons essayé de discuter les résultats obtenues (taux d'encapsulation, taille et de morphologies de surface) lors de la formulation des microparticules par évaporation de solvant et par coacervation complexe.

#### **II.VI.1.a. Interprétation des résultats de la formulation des microcapsules :**

La microencapsulation de l'agent actif modèle " cinnamaldéhyde" par le procédé coacervation complexe, nous a permis de préparer des systèmes de type réservoirs. Les résultats montre que la quantité de CN encapsulé dans ces systèmes peut dépasse les 90%.

Les résultats de distribution de taille déterminés par microscope optique et les taux d'encapsulation sont classés dans les tableaux **19** et **21** dans les pages **132** et **134** Ces résultats sont classés de manière à faciliter leur comparaison et interprétation en fonction des paramètres modifiés.

Cette technique permet d'encapsuler la totalité de principe actif avec des faibles pourcentages en polymère (1%) mais les microcapsules obtenus par ce procédé sont fragiles, difficile à isoler dans l'état solide.

A partir des observations par microscope optique, nous citons les résultats obtenus en modifiant certains paramètres :

- ***Influence de la vitesse de refroidissement***

De façon générale, on remarque que ce paramètres n'a pas d'influence notable sur la taille des microparticules ni sur la teneur en cinnamaldehyde. Les microcapsules gardent la même taille moyenne en variant la vitesse de refroidissement, on peut suggérer que le dépôt des matrices sur les microgouttelettes de cinnamaldehyde est limité par la formation complète de l'enveloppe.

- ***Influence de la vitesse d'agitation***

Ce procédé d'encapsulation est basé sur deux étapes essentielles qui sont :

- La formation des microgouttelettes de cinnamaldéhyde dans la solution aqueuse des polymères (l'émulsion).
- La formation des coacervats de polymères dans le milieu.

Dans les deux étapes, la vitesse d'agitation est le facteur responsable de la dispersion soit des gouttelettes soit des coacervats de polymères. Sa variation peut en effet influencer la taille des gouttelettes de principe actif dispersés et/ou des coacervats formés.

En diminuant la vitesse d'agitation de la première étape "l'émulsion" et en maintenant la vitesse d'agitation de la deuxième étape constante à 250rpm, les résultats obtenus montrent que la taille des microcapsules augmente de façon notable, en revanche la taille des coacervats reste la même. En effet, la taille des microcapsules augmente en diminuant la vitesse de 500 à 250rpm.

Dans la deuxième étape "coacervation", et en gardant constante la vitesse d'agitation de l'émulsion, l'augmentation de la vitesse d'agitation n'influe pas sur la taille des microcapsules.

De ce fait, on peut conclure que l'étape de l'émulsion est déterminante pour la taille des microcapsules et la teneur en principe actif et que l'étape de la coacervation n'a pas d'influence sur la taille et la teneur.

- ***Influence du pH de réticulation***

La réticulation est étape importante pour la solidification des microcapsules obtenues. Elle est favorable dans un milieu acide où les groupements aminés de la gélatine ont une forme basique libre capable de réagir avec le glutaraldéhyde, par contre dans un milieu basique ces groupements aminés se trouvent protonnés.

- ***Influence de la concentration du polymère :***

Les résultats obtenus lors du changement de concentration en polymères de 1% à 4% sont identiques. On peut suggérer que le dépôt des coacervats sur les gouttelettes de CN varie la concentration du polymère, on n'a pas remarqué une différence de taille ou de taux de microencapsulation. Les résultats ont montré que la taille des microparticules reste inchangée en changeant la concentration des polymères de 1% à 4%.

- ***Influence d'ajout d'un tensioactif :***

La présence du tensioactif (tween20) n'a pas d'effet sur la taille et la distribution en taille des microcapsules. Son ajout améliore l'émulsion et nous avons obtenus des microsphères sphériques plus régulières.

- ***Influence d'ajout du polymère PEG :***

Les microcapsules préparées en présence de PEG dans la phase aqueuse ont une petite taille, on comparant avec les formulations préparées sans PEG. L'observation par microscope optique nous montre que le diamètre supérieur des microcapsules apparaît très large.

- ***Influence du temps d'émulsion :***

On note que la taille des microcapsules diminue lorsqu'on augmentant le temps de l'émulsion. Cela est expliqué par le cisaillement répété au temps longs, car au début de l'émulsion, les gouttelettes formées lors de l'émulsion ont une taille grande et peuvent ils se cisailent en microgouttelettes dans un temps suffisant mais un temps très long pourrait provoquer la détérioration des parois des microcapsules, une exposition prolongée des microcapsules à l'agitation pourrait provoquer un craquement des parois par conséquent la diffusion du principe actif à l'extérieur suite au Lamoudi L et al (212).

Suite à plusieurs synthèses, nous avons pu déterminer les conditions opératoires optimales souhaitées. La présence dans la phase aqueuse de 1% gomme arabique et 1% de Gélatine, en présence de Tween20 à 0,25 % comme tensioactif assure la stabilité de l'émulsion. L'utilisation de la turbine d'agitation avec une vitesse de rotation de 250rpm appliqué pendant 30 min permettent d'obtenir une proportion largement majoritaire de microcapsules avec des diamètres moyens supérieurs à 90  $\mu\text{m}$ .

**II.VI.1. b. Interprétation des résultats de la formulation des microsphères :**

Les microparticules à libération contrôlée ont été mises au point afin de diminuer le nombre de prises quotidiennes du médicament tout en maintenant un taux plasmatique constant dans une zone thérapeutique plus large, pour cela plusieurs recherches sont effectuées sur la libération de principes actifs dans les milieux hétérogène et homogène. Pour cela, il est nécessaire d'étudier l'influence des paramètres modifiés sur les microparticules obtenus.

Les résultats de caractérisations de ces systèmes montrent que :

- La taille des microsphères obtenues ( $d_{10}$ ) varie dans une gamme large en changeant les conditions opératoires, allant de 38  $\mu\text{m}$  jusqu'à 430 $\mu\text{m}$ .
- La dispersion obtenue est différente de 1 dans tous les échantillons préparés.
- La teneur en matière active varie de 14% jusqu'à 26%.
- La morphologie des formulations préparées varie d'un échantillon à un autre sur ce qui concerne porosité, forme et surface.
- En effet, la microencapsulation par évaporation de solvant a permis d'atteindre une quantité de plus de 20% en matière active dans les microsphères préparées.

La recherche d'optimisation des conditions expérimentales de fabrication de formes à libération contrôlée chargées de principe actif, nécessite l'étude de plusieurs paramètres physico-chimiques tels que : le rapport initial polymère/principe actif, le tensioactif utilisé et sa concentration, le volume de la phase aqueuse, la vitesse d'agitation, et le solvant organique. Ces paramètres ont été étudiés en encapsulant différents principes actifs (AMO, AMP, PR, AN, TTP). Les résultats obtenus sont bien décrits dans le tableau 22 de la page 144.

** Influence des paramètres étudiés sur les microsphères obtenues :**

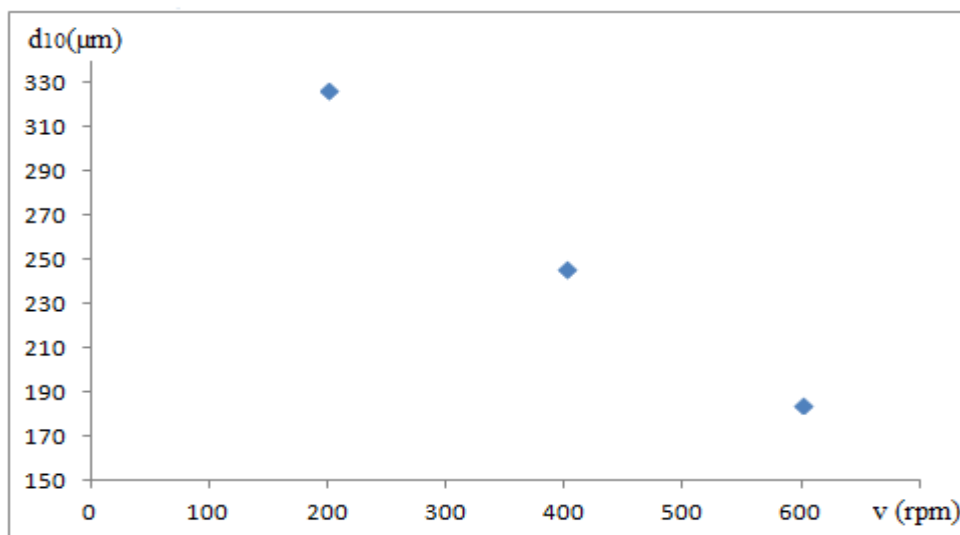
- **Effet de la vitesse d'agitation :**

La vitesse d'agitation pendant la formulation agit sur la taille des microsphères. En effet, la variation de la taille des microsphères (TA01 à TA03) avec la vitesse d'agitation est



illustrée sur la courbe suivante, en donnant la taille des microsphères préparées en fonction de la vitesse d'agitation, on remarque une nette diminution de taille lors de l'augmentation de vitesse d'agitation (de 326 à 184,62  $\mu\text{m}$ ).

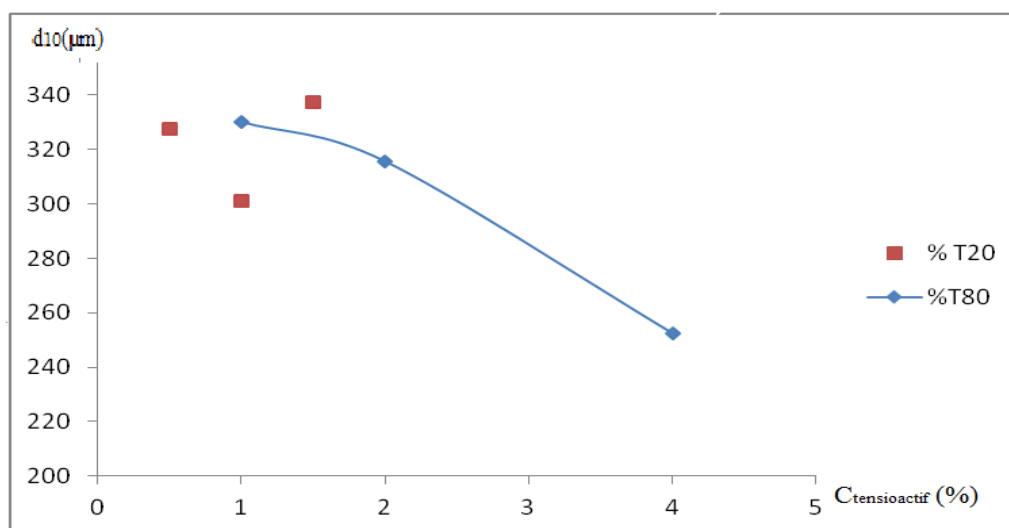
Toutes les microsphères obtenues avec variation de vitesse sont sphériques et la surface des microsphères reste lisse avec peu de pores.



**Figure 101 :** Variation de la taille des microsphères en fonction de la vitesse d'agitation.

- **Effet de pourcentage de tensioactif :**

L'utilisation de tensioactif a pour objet de réduire la tension interfaciale et stabiliser l'émulsion et donc obtenir de particules de taille plus petite. On a varié le pourcentage de deux tensioactifs (Tween20 et Tween 80) pour encapsuler deux différents principes actifs AM et PR), pour T80, une augmentation de concentration de 1% à 4% abouti à une diminution de taille de 330 $\mu\text{m}$  à 250 $\mu\text{m}$ , par ailleurs, la taille des microsphères chargées d'AM n'est pas affectée par cette variation en changeant la concentration de T20 de 0,5% à 1,5%. Ces différents pourcentages (0,5%, 1%, 1,5%) ne suffisent pas pour avoir l'effet de ce tensioactif sur ces microsphères. Les résultats obtenus sont représentés sur les courbes suivantes :



**Figure 102 :** Variation de la taille des microsphères en fonction de la concentration du tensioactif.

- **Effet de la nature du tensioactif :**

On a utilisé trois tensioactifs T80, GE et SDS à la même concentration pour encapsuler l'AMO, Vue des résultats obtenus, on remarque que le taux d'encapsulation est pratiquement grand dans les microsphères préparées avec la gélatine (24%). Ce dernier permet d'avoir des microsphères avec une taille très petite en comparant avec les autres tensioactifs. Cela peut être expliqué par les valeurs des CMC et de la tension superficielle de chaque tensioactif calculés en annexe.

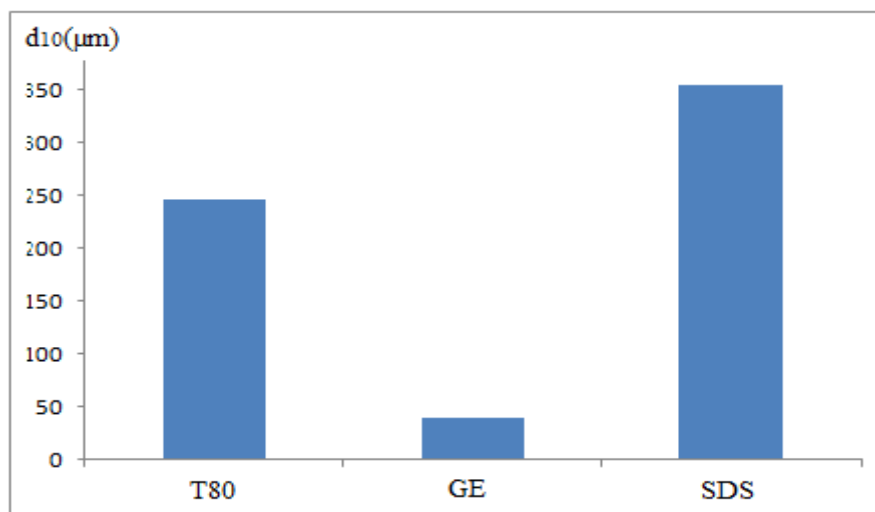
Tensioactif	CMC (g/L)
Gélatine	0,89
SDS	0,7
Tween80	0,8

**Tableau 23 :** Les concentrations micellaires critiques de la gélatine, SDS et du Tween 80.

On observe une diminution de la tension de surface avec l'augmentation de la concentration en tensioactif, puis à partir d'une certaine concentration qui est la CMC elle reste constante. La tension superficielle commence par diminuer légèrement car le tensioactif est alors organisé sous forme de micelle et remplis entièrement la surface puis à partir d'une

certaine concentration qui correspond à la CMC (point où les deux droites se croisent), elle atteint un palier.

A partir des résultats obtenus la CMC de la gélatine est supérieur à celle du tween 80 et du SDS. Donc l'émulsion est stabilisée, mieux en utilisant la gélatine.



**Figure 103:** Variation de la taille des microsphères en fonction de la nature du tensioactif.

- **Effet du pourcentage initial en matière active :**

A fin d'obtenir un taux d'encapsulation important, on a augmenté la quantité initiale dans la phase organique, On note que l'augmentation du pourcentage initial en procaine, n'influe pas sur la taille des microsphères (305, 296, 304 μm), par contre le taux est élevé pour un pourcentage initial important. Concernant, la surface des microparticules, les photos MEB prises montrent une précipitation sur la surface des microsphères, on augmentant la composition en principe actif initialement.

- **Effet de la nature du polymère matrice :**

L'AMO a été encapsulé dans deux matrices polymériques différentes : EC et PCL, Dans ce dernier, les microsphères obtenus sont grandes avec une surface déridé et poreuse, la quantité de principe actif encapsulé est faible avec celle préparés avec EC. Alors que les microsphères à base d'EC sont sphériques avec une surface lisse et peu poreuse.

La différence de taux d'encapsulation est du principalement à la viscosité intrinsèque du PCL dans la phase organique (17,625 mL/g), la solution de PCL est moins

visqueuse et dans ce cas le principe actif est plus mobile ce qui facilitera son entraînement vers la phase externe et donc la diminution de la quantité emprisonnée dans les microsphères.

- **Effet du solvant dans la phase organique :**

A fin de faciliter l'évaporation du solvant et la solidification des microsphères, on a utilisé un co-solvant dans la phase organique. Dans notre cas, l'ajout de l'Acétone à différents pourcentage : (DCM / AC): (80/20) et (50/50) a donné des résultats favorables. On remarque que le taux de principe actif encapsulé a augmenté dans le cas du mélange DCM /AC. Le rendement est important dans le cas de présence d'un co-solvant, et précisément plus grand dans le cas où nous avons le co-solvant en pourcentage élevé. Cela est dû à la facilité de transfert de solvants (DCM/AC) à l'interface microgouttelettes/phase aqueuse pour raison de la solubilité totale de l'acétone dans l'eau.

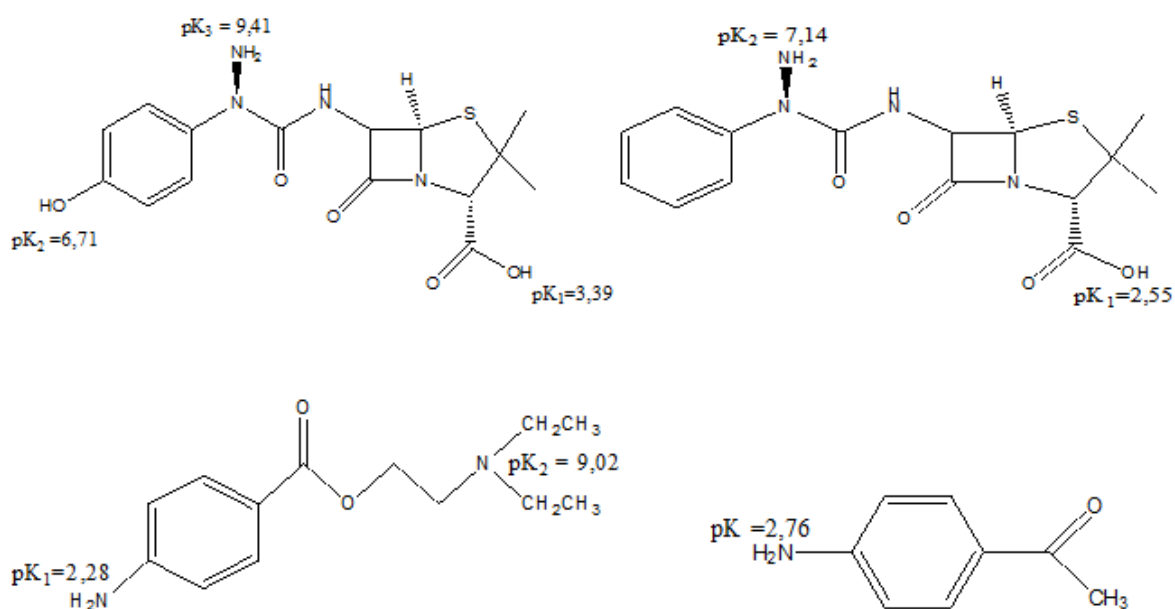
- **Le ratio phase dispersée/ phase aqueuse :**

Il est connu que la microencapsulation par évaporation de solvant est favorable lorsque le transfert est rapide à l'interface microgouttelettes/phase aqueuse, et cela sera réalisé lorsque le volume de la phase aqueuse est faible. Selon les résultats obtenus qui sont cohérents avec la littérature (45, 145), l'augmentation de volume de la phase aqueuse induit à une diminution de taux d'encapsulation. Ces résultats sont expliqués par la diminution de transfert de solvant organique, une solidification lente de microsphères et une diffusion de principe actif vers la phase aqueuse en cas d'excès d'eau.

### III.I. Recherche de l'espèce prédominante des principes actifs aux pH d'étude 1,2 et 7,7 :

Avant de décrire la libération des principes actifs à partir des microparticules chargées plongées dans les pH=1,2 et pH=7,7aqueux à 37°C, il nous faut préciser la composition exacte des solutions étudiées. Cette étude préliminaire permettra ensuite de suivre par UV-Visible l'évolution des concentrations en principes actifs libérés aux cours du temps. L'étude bibliographique permet de relever les pKs des principes actifs étudiés :

- Amoxicilline :  $pK_1=3,39$  ;  $pK_2=6,71$  ;  $pK_3=9,41$  (213)
- Ampicilline :  $pK'_1=2,55$  ;  $pK'_2=7,14$  (213)
- Procaine :  $pK''_1=2,28$  ;  $pK''_2=9,02$  (214)
- p-Aminoacétophénone :  $pK'''=2,19$  (215)



**Figure 104 :** Structure des principes actifs avec les sites des pK

Les différents pKs sont portés pour les quatre principes actifs sur la figure 104. L'application de l'équation d'Henderson aux pH d'étude et des pKs correspondant permet de connaître la composition des solutions étudiées pour chaque principe actif comme indiqué sur les tableaux 25 et 26 :

**III.I.1. Étude à pH=1,2 :**

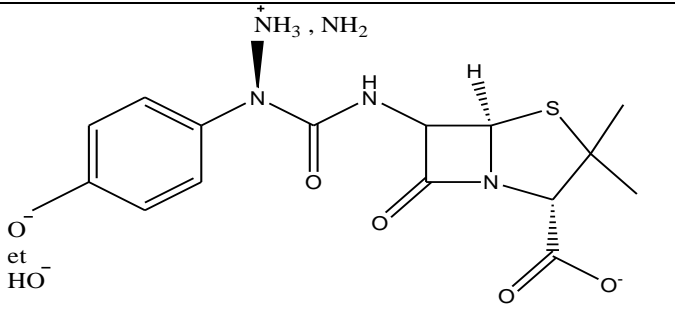
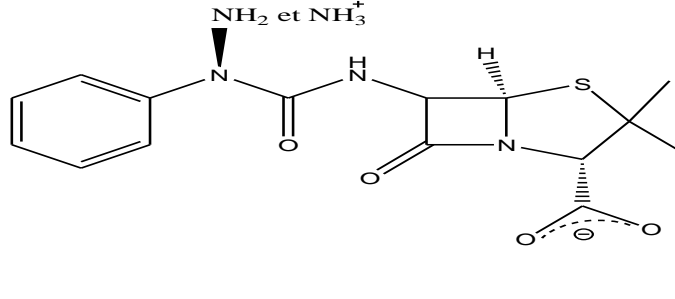
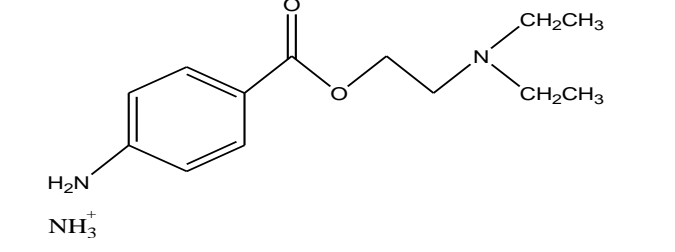
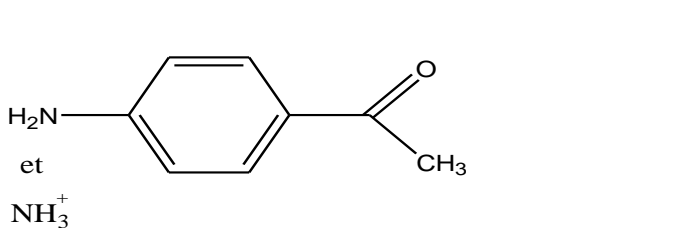
Principe actif	Etats des substituants de la particule diffusante	Formule
Amoxicilline	Majoritaire -COOH -OH -NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> Groupes exclusifs	
Ampicilline	Majoritaire -COOH -NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> Groupes exclusifs	
Procaïne	-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> Groupes exclusifs	
p-Aminoacétophénone	-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> (-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> ) =36 (-NH <sub>2</sub> )	

**Tableau 24 :** Les formes prédominantes des principes actifs dans le milieu d'étude pH=1,2.

Pour le (AMO), (AMP) et (PRO), la particule exclusive est celles portant les substituants -COOH, -OH et -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> pour (AMO), -COOH, -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> pour (AMP) et -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> pour (PR). Pour (PAM), on a un mélange de rapport (-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) =36 (-NH<sub>2</sub>) de forme protonée et non protonée sur (-NH<sub>2</sub>). Au pH=1,2 la particule quasiment majoritaire est celle protonée sur

la fonction amine ( $-\text{NH}_3^+$ ). Ainsi la libération des quatre principes actifs sera étudiée sur la bande UV des particules protonées.

### III.1.2. Étude à $\text{pH}=7,7$ :

Principe actif	Etats des substituants de la particule diffusante	Formule
Amoxicilline	$[-\text{COO}^-]=2040[-\text{COOH}]$ $[-\text{O}^-] > [-\text{OH}]$ $[-\text{NH}_3^+] > [-\text{NH}_2]$	
Ampicilline	$-\text{COO}^-$ exclusif $[-\text{NH}_2] > [-\text{NH}_3^+]$	
Procaïne	$[-\text{NH}_3^+] = 2 [-\text{NH}_2]$	
p-Aminoacétophénone	$[-\text{NH}_3^+] = 36 [-\text{NH}_2]$	

**Tableau 25 :** Les formes prédominantes des principes actifs dans le milieu d'étude  $\text{pH}=7,7$ .

Comme le montre le tableau 26, il y a mélanges plus complexes de particules en solution à la solution  $\text{pH}=7,7$  : mélanges quantitatives pour (PR) et (PAM) des formes ammoniums et amines et des mélange complexes avec les deux antibiotiques (AMO) et (AMP).

**III.II. Analyse des quantités transférées.****III.II.1. Introduction :**

Les cinétiques de libération ont été suivies à l'aide d'un spectromètre UV-Vis, U.V 2401PC SCHIMADZU préalablement calibré à la longueur d'onde  $\lambda_{\max}$  du principe actif Pa dans le milieu considéré.

Dans le cas où le principe actif est dispersé seul dans la matrice d'enrobage, sa libération par diffusion à travers cette matrice dépend de trois facteurs essentiels :

- La vitesse de « **pénétration** » du liquide dans la forme galénique à travers la structure du polymère.
- La vitesse de « **dissolution** » du principe actif dans le liquide piégé.
- La « **diffusion** » du principe actif à travers la matrice.

**III.II.2. Calcul de la quantité du principe actif libéré au cours du temps :**

Le taux de principe actif libéré est déterminé en fonction du temps dans le milieu de dissolution.

A chaque instant t, on prélève un volume  $V_p$  de la solution étudiée qu'on dilue avec du milieu digestif de même pH, dans une fiole jaugée de  $10 \text{ cm}^3$ , puis on lit la D.O de la solution diluée sur l'appareil calibré sur  $\lambda_{\max}$  correspondant (le volume de dilution est choisi de façon à pouvoir se situer sur une valeur de D.O située dans le domaine linéaire de la droite d'étalonnage).

La concentration de la solution diluée ( $C_d$ ) est obtenue en appliquant la loi de Beer-Lambert :

$$D.O = \varepsilon \cdot C_d \cdot l. \text{ où } (l = 1\text{cm}) \text{ et } C_d = D.O / \varepsilon$$

$$C_p \cdot V_p = C_d \cdot V_d \quad \text{donc} \quad C_p = C_d V_d / V_p$$

Pour aboutir à la masse  $m_t$  de l'agent actif dans le flacon, on applique l'équation :

$$m_t = D.O \cdot V_d \cdot M_M / \varepsilon \cdot V_f \quad [39]$$



Avec :

$V_F$  : volume du flacon (réacteur)

$V_d$  : volume de la fiole de dilution

$M_M$  : Masse molaire du principe actif

$m_t$  : masse du principe actif libéré (mg) à l'instant « t ».

Le pourcentage du principe actif libéré est le rapport de la masse libérée  $m_t$  sur la masse initiale en principe actif  $m_i$  contenu dans la forme galénique de masse  $m_0$ .

$$\% \text{ p.a} = \frac{m_t}{m_i} \cdot 100 \quad [40]$$

### III.II.3. Exemple de calcul :

Un exemple de calcul des microsphères (TAG) est donné par la suite :

TAG : microsphères chargées d'amoxicilline préparées à base d'éthylcellulose.

$$m_t = D.O \cdot V_d \cdot M_M / \varepsilon \cdot V_f$$

**D.O** : Densité Optique lue à chaque prélèvement (variante au cours du temps);

**$\varepsilon$**  : Coefficient d'extinction moléculaire = **3895,54 L.cm<sup>-1</sup>.mole<sup>-1</sup>**;

**$V_d$**  : Volume de dilution du prélèvement (**10 cm<sup>3</sup>**) ;

**$V_f$**  : Volume du flacon (réacteur) (variante au cours du temps)

**$M_M$**  : Masse Molaire du principe actif (**364,5g/mole**).

$$\implies m_t = DO \cdot 10 \cdot 364,5 / V_f \cdot 3895,54$$

$$m_t = DO \cdot 0,93 / V_f$$

Pour **t = 1mn** DO=0,15 et Vf=100

$$\implies m_t = 0,15 \cdot 0,93 / 100 = \mathbf{0,001395 \text{ g}}$$

$$\mathbf{Pa\% = M_t / M_i \cdot 100}$$

Pour **t = 1mn**  $m_i = 0,1463$

$$\mathbf{Pa \% = (0,0014 / 0,1463) \cdot 100 = 0,95\%}$$

$$\mathbf{Ct = m_t / M_M}$$

$$\mathbf{Ct = 0,001395 / 365,5 = 3,81 \cdot 10^{-6} \text{ mole}}$$

Les calculs pour le reste des temps pour le pourcentage libéré d'amoxicilline sont reportés dans la feuille d'Excel suivante :

t	racine t	1/t	DO	Vf	mt	Pa%	Ct	C0/Ct
1	1	1	0,15	100	0,001395	0,953520164	3,81773E-06	104,7741935
2	1,414213562	0,707106781	0,39	99	0,003663636	2,50419437	1,00264E-05	39,93268913
3	1,732050808	0,577350269	0,54	98	0,00512449	3,502727133	1,40243E-05	28,54895957
4	2	0,5	0,63	97	0,006040206	4,128644009	1,65304E-05	24,22083742
5	2,236067977	0,447213595	0,78	96	0,00755625	5,164900889	2,06794E-05	19,36130382
6	2,449489743	0,40824829	0,95	95	0,0093	6,356801094	2,54516E-05	15,73105935
7	2,645751311	0,377964473	1,12	94	0,011080851	7,574060878	3,03253E-05	13,20285339
8	2,828427125	0,353553391	1,23	93	0,0123	8,407382092	3,36617E-05	11,89421561
9	3	0,333333333	1,35	92	0,013646739	9,327914648	3,73474E-05	10,72042563
10	3,16227766	0,316227766	1,39	91	0,014205495	9,709839033	3,88766E-05	10,29875109
15	3,872983346	0,25819889	1,45	90	0,014983333	10,24151287	4,10053E-05	9,764105806
20	4,472135955	0,223606798	1,49	89	0,015569663	10,64228498	4,26099E-05	9,396404581
25	5	0,2	1,54	88	0,016275	11,12440191	4,45402E-05	8,989176774
35	5,916079783	0,169030851	1,61	87	0,017210345	11,76373536	4,71E-05	8,500634558
45	6,708203932	0,149071198	1,71	86	0,01849186	12,6396859	5,06072E-05	7,911526927
60	7,745966692	0,129099445	1,85	85	0,020241176	13,83539062	5,53946E-05	7,227784028
75	8,660254038	0,115470054	1,98	84	0,021921429	14,98388829	5,9993E-05	6,673782757
105	10,24695077	0,097590007	2,03	83	0,022745783	15,54735689	6,2249E-05	6,431910968
135	11,61895004	0,086066297	2,11	82	0,023930488	16,35713452	6,54912E-05	6,113492261
165	12,84523258	0,077849894	2,23	81	0,025603704	17,50082276	7,00703E-05	5,713972232
225	15	0,066666667	2,45	80	0,02848125	19,46770335	7,79454E-05	5,136672442
285	16,88194302	0,059234888	2,52	79	0,029665823	20,27739083	8,11873E-05	4,931562258
345	18,57417562	0,05383819	2,67	78	0,031834615	21,75981913	8,71226E-05	4,595590373
465	21,56385865	0,04637389	2,84	76	0,034752632	23,75436198	9,51085E-05	4,209720109
1125	33,54101966	0,02981424	2,92	75	0,036208	24,74914559	9,90914E-05	4,040511821
1245	35,28455753	0,02834101	2,98	74	0,037451351	25,59900981	0,000102494	3,906370444
1365	36,9459064	0,027066598	2,84	73	0,036180822	24,73056864	9,9017E-05	4,043546947

**Tableau 26 :** Exemple de calcul des pourcentages libérés d'AMO à partir de TAG.

ln C0/Ct	1/Ct-1/C0	(1/Ct-1/C0)*10-5	mt/mi	log(mt/mi)	mt/m,inf	1-(mt/m,inf)	ln (1-(mt/m,inf))
4,651807497	259435,4839	2,594354839	0,009535202	2,020670119	0,041029412	0,958970588	0,041894874
3,687195265	97236,9727	0,972369727	0,025041944	1,601331965	0,107754011	0,892245989	0,114013412

3,351620493	68804,6595	0,688046595	-	-	-	-	-
			0,035027271	1,455593693	0,150720288	0,849279712	0,163366687
3,187213313	57994,62366	0,579946237	-	-	-	-	-
			0,04128644	1,384192562	0,177653123	0,822346877	0,195592982
2,963276426	45857,3201	0,458573201	-	-	-	-	-
			0,051649009	1,286938008	0,222242647	0,777757353	0,251340689
2,755637061	36790,32258	0,367903226	-	-	-	-	-
			0,063568011	1,196761378	0,273529412	0,726470588	0,319557281
2,580432972	30475,80645	0,304758065	-	-	-	-	-
			0,075740609	1,120671209	0,325907384	0,674092616	0,394387765
2,476052199	27207,31707	0,272073171	-	-	-	-	-
			0,084073821	1,075339215	0,361764706	0,638235294	0,449048264
2,37215086	24275,62724	0,242756272	-	-	-	-	-
			0,093279146	1,030215436	0,40137468	0,59862532	0,513119386
2,332022634	23222,4414	0,232224414	-	-	-	-	-
			0,09709839	-1,01278797	0,417808662	0,582191338	0,540956126
2,278712989	21887,09677	0,218870968	-	-	-	-	-
			0,102415129	0,989635885	0,440686275	0,559313725	0,581044737
2,240327125	20968,71617	0,209687162	-	-	-	-	-
			0,10642285	0,972965116	0,457931262	0,542068738	0,612362463
2,196021273	19951,6129	0,199516129	-	-	-	-	-
			0,111244019	0,953723329	0,478676471	0,521323529	0,651384452
2,140140815	18731,41655	0,187314165	-	-	-	-	-
			0,117637354	0,929454754	0,506186613	0,493813387	0,705597591
2,068320801	17260,04527	0,172600453	-	-	-	-	-
			0,126396859	0,898263718	0,543878249	0,456121751	0,784995507
1,977932492	15552,31037	0,155523104	-	-	-	-	-
			0,138353906	0,859008575	0,59532872	0,40467128	0,904680195
1,898186829	14168,6217	0,141686217	-	-	-	-	-
			0,149838883	0,824375473	0,644747899	0,355252101	1,034927598
1,86127169	13564,51613	0,135645161	-	-	-	-	-
			0,155473569	0,808343432	0,668993622	0,331006378	1,105617634
1,810498175	12769,22489	0,127692249	-	-	-	-	-
			0,163571345	0,786292775	0,703837877	0,296162123	-1,21684826
1,742914444	11771,37278	0,117713728	-	-	-	-	-
			0,175008228	0,756941533	0,753050109	0,246949891	1,398569833
1,636405485	10329,49309	0,103294931	-	-	-	-	-
			0,194677033	-0,71068528	0,837683824	0,162316176	1,818209139
1,595655826	9817,204301	0,098172043	-	-	-	-	-
			0,202773908	0,692987928	0,8725242	0,1274758	2,059828733
1,525097229	8978,071765	0,089780718	-	-	-	-	-
			0,217598191	0,662344719	0,936312217	0,063687783	2,753762527
1,437396163	8014,311677	0,080143117	-	-	-	-	-
			0,23754362	-0,62425663	1,022136223	0,022136223	#NOMBRE!
1,396371372	7591,692444	0,075916924	-	-	-	-	-
			0,247491456	-0,60643979	1,064941176	0,064941176	#NOMBRE!
1,362608668	7256,657285	0,072566573	-	-	-	-	-
			0,255990098	0,591776833	1,101510334	0,101510334	#NOMBRE!
1,397122264	7599,273058	0,075992731	-	-	-	-	-
			0,247305686	0,606765898	1,064141821	0,064141821	#NOMBRE!

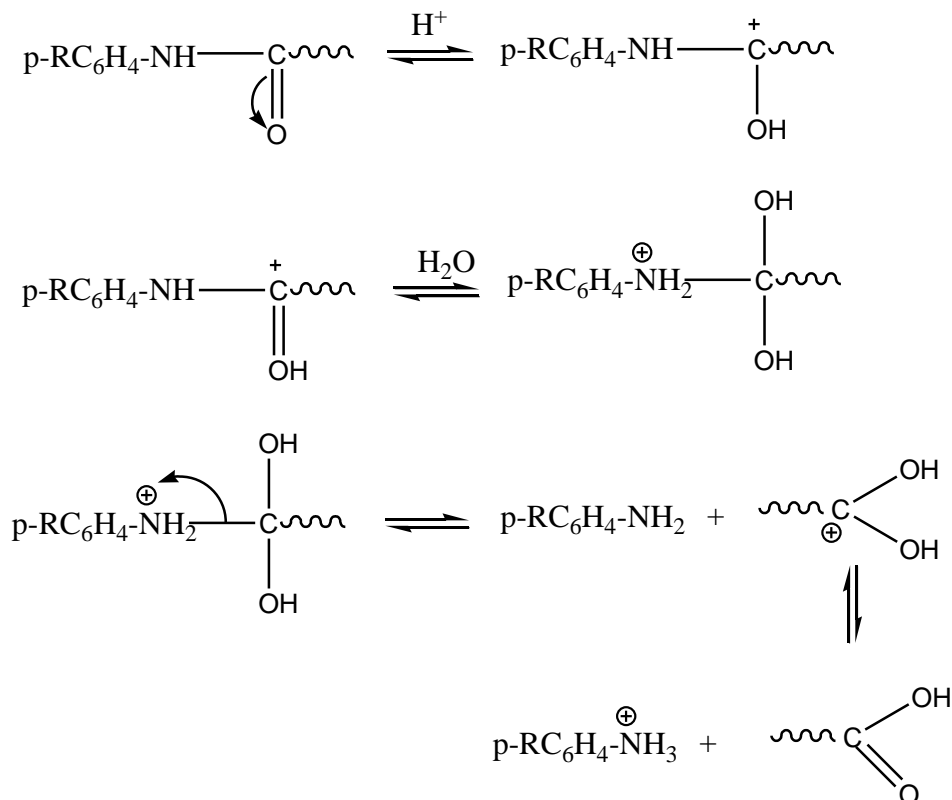
### III.III. Cinétiques de relargage des principes actifs libérés par les microsphères:

Les cinétiques de libération ont été suivies à l'aide d'un spectromètre UV-Vis. Cet appareil étant préalablement calibré à la longueur d'onde  $\lambda_{\max}$  du principe actif dans le milieu considéré.

Dans le cas où le médicament est dispersé seul dans la matrice d'enrobage, sa libération par diffusion à travers cette matrice dépend de trois facteurs essentiels :

- La vitesse de « pénétration » du liquide dans la forme médicamenteuse à travers la structure du polymère "EC" ou "PCL".
- La vitesse de « dissolution » du principe actif dans le liquide piégé.
- La « diffusion » du principe actif à travers le polymère matrice.

Si la molécule du principe actif est fixée sur un support moléculaire, un quatrième facteur s'ajoute aux précédents : c'est la réaction chimique qui permet la rupture de la liaison relais entre le principe actif et son support selon le mécanisme suivant (le cas du TAM) :



### III.III. 1. Cinétiques de libération dans le pH=1,2 :

L'objectif de cette étude cinétique est de comparer l'effet « retard » quant à la libération des principes actifs à travers différents systèmes microparticulaires.

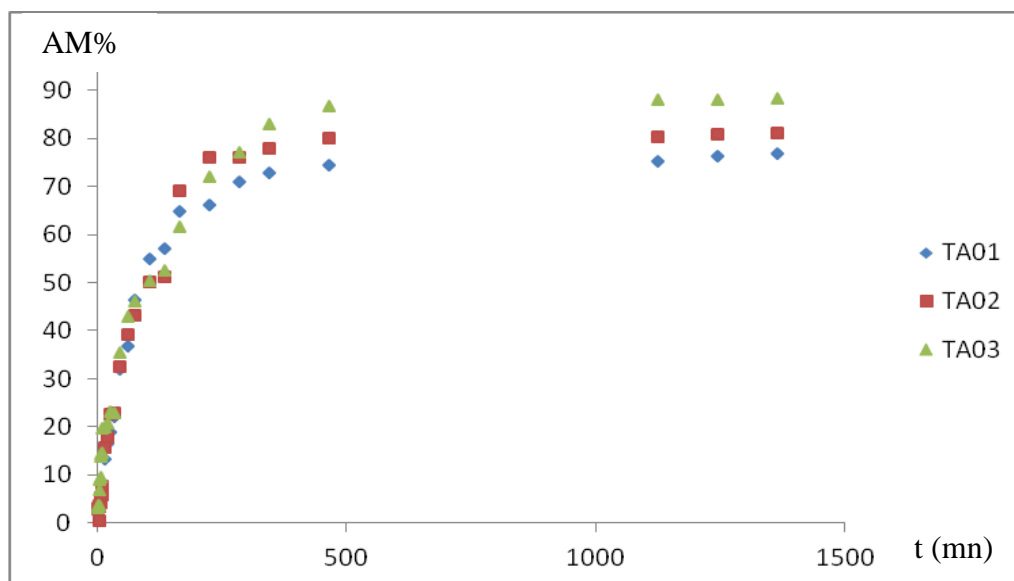
Afin de pouvoir évaluer le taux relargué de (Pa) dans le milieu choisi (pH = 1,2 et pH=7,7), en fonction du temps et de la composition massique, il a été préparé différentes microsphères en changeant les paramètres de composition et de vitesse.

La méthode de préparation de ces microparticules est décrite en pages **97** et **105** et leurs caractéristiques sont résumées dans les tableaux **19-22**.

Les cinétiques correspondantes aux différentes formes ont été réalisées dans les mêmes conditions opératoires de température (37°C), d'agitation (500 r.p.m), de volume initial dans le flacon (100 mL) et de volume des prises d'essais (1 mL), afin de pouvoir comparer les résultats.

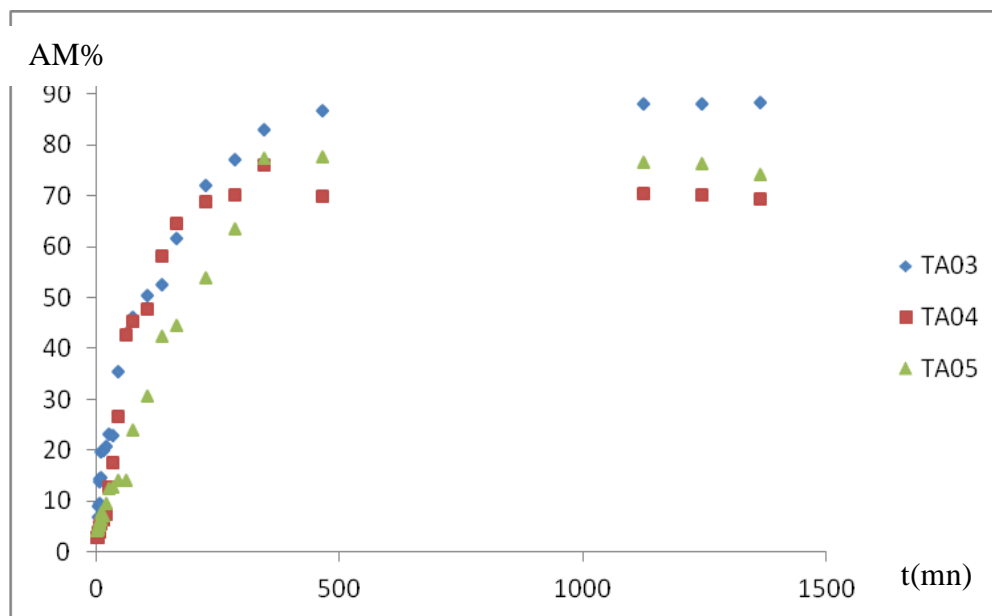
#### III.III.1.a. Libération d'ampicilline (AM) :

Pour illustrer cette libération, nous donnons les courbes cinétiques de TA01 à TA06. Sur les **figures 105 à 107**, nous présentons le pourcentage de l'agent actif « ampicilline » libéré, calculé par rapport à la masse initiale pour les microparticules étudiées, en fonction du temps.



**Figure 105 :** % AM libérés en fonction du temps au pH=1,2 (TA01, TA02 et TA03) (T = 37°C, 500 r.p.m).

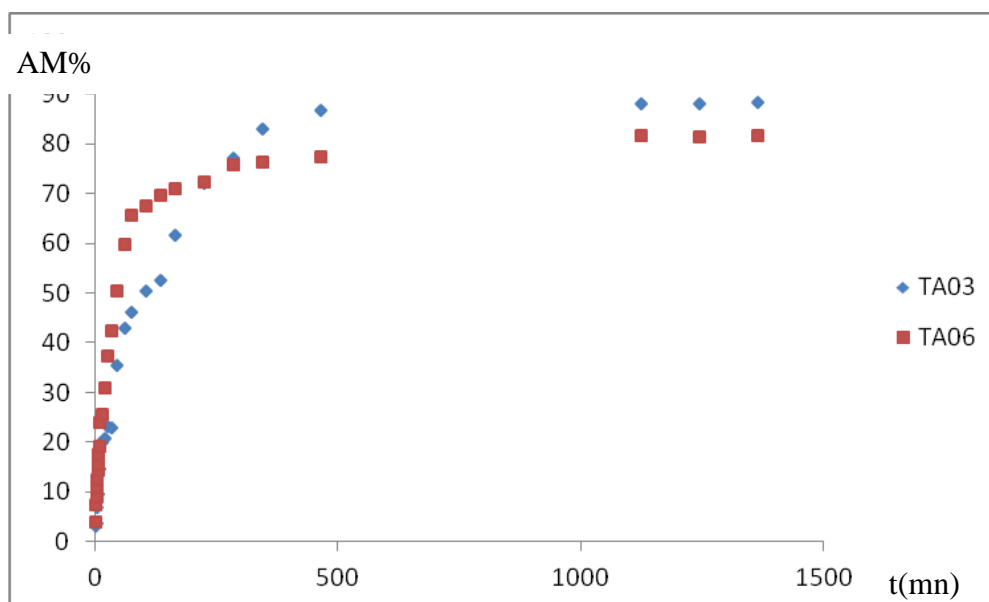
Pour les trois formulations TA01, TA02 et TA03, le pourcentage d'ampicilline libéré est important, nous remarquons aussi que le taux libéré pour TA03 est légèrement grand par rapport aux autres formulations aux temps long de libération.



**Figure 106 :** % AM libérés en fonction du temps au pH=1,2 (TA03, TA04 et TA05) (T = 37°C, 500 r.p.m).

A partir de la **figure 102**, on remarque que la formulation TA03 préparée avec 1% de tween 20 libère le principe actif « AM » et elle représente un taux libéré le plus élevé au temps infini.

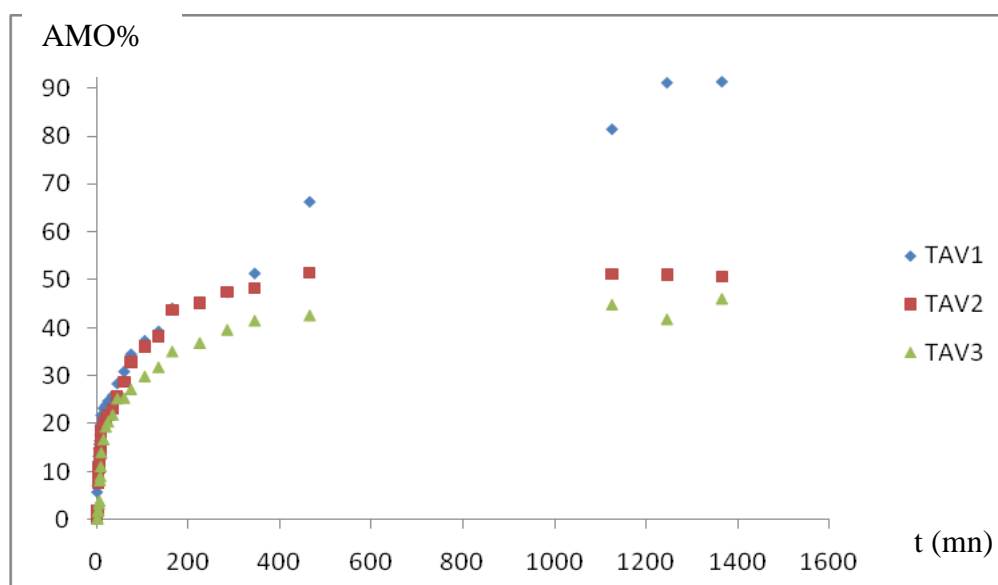
Dans la **figure 107**, nous avons réalisé une comparaison entre deux formulations « TA03 et TA06 ». Le seul paramètre changé est le tensioactif « T20 » et « T80 ». On note que la concentration de 1% de la phase aqueuse donne des profils réguliers de libération et une légère différence de pourcentage de libération entre les deux échantillons.



**Figure 107 :** % AM libérés en fonction du temps au pH=1,2 (TA03 et TA06) (T = 37°C, 500 r.p.m).

### III.III.1.b. Libération de l'amoxicilline :

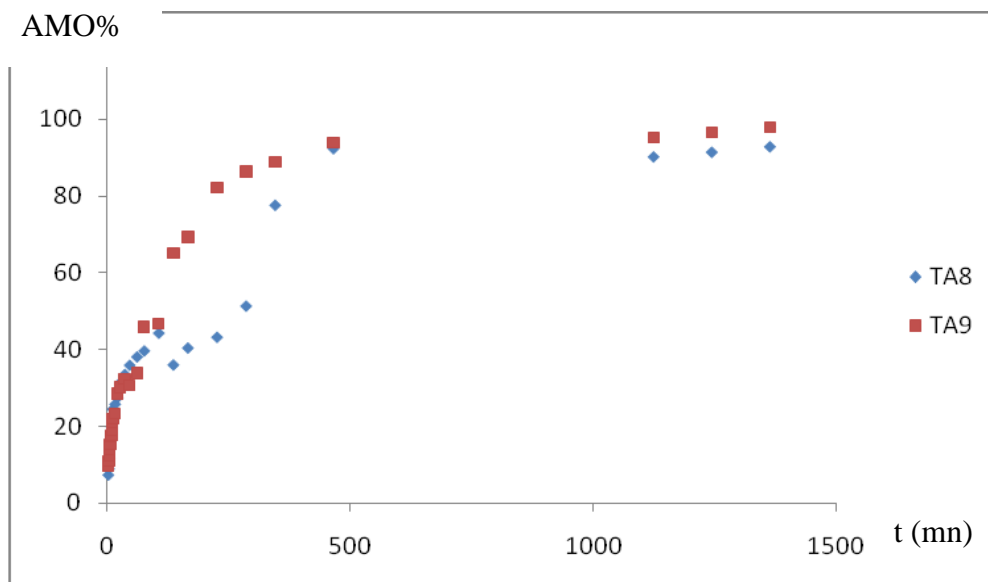
Les figures suivantes (108 à 111) illustrent les profils de libération d'amoxicilline à partir de quelques lots de microsphères (TAV1, TAV2, TAV3, TAS, TAG, TAP, TA08 et TA09). Elles représentent quelques tracés du pourcentage de l'agent actif « AMO » libéré, calculé par rapport à la masse initiale en fonction du temps au pH=1,2.



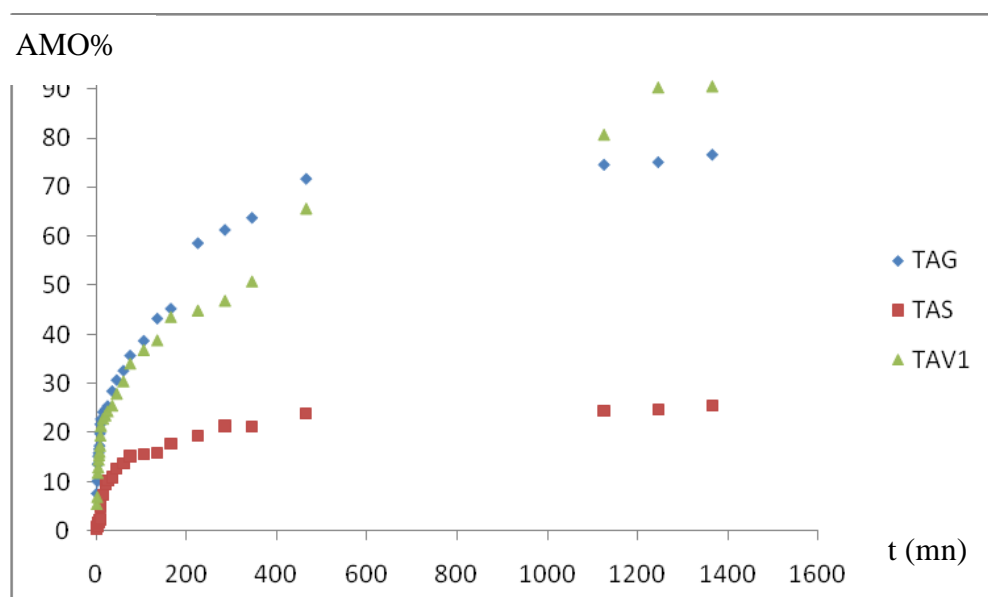
**Figure 108 :** % AMO libérés en fonction du temps au pH=1,2(TAV1, TAV2 et TAV3) (T = 37°C, 500 r.p.m).

Au vue de la **figure 108**, la libération d'amoxicilline est importante dans la formulation TAV1 préparée avec un volume de phase aqueuse de 50mL par rapport aux autres formulations préparées avec 100 mL et 150 mL de phase aqueuse.

Sur la **figure 109**, nous constatons que la libération d'amoxicilline est importante dans la formulation TA9 préparée avec un mélange (50/50) de phase organique (DCM/acétone) par rapport à la formulation TA8 préparée avec un mélange (80/20) de phase organique (DCM/acétone).



**Figure 109 :** % AMO libérés en fonction du temps au pH=1,2 (TA8 et TA9) (T = 37°C, 500 r.p.m).

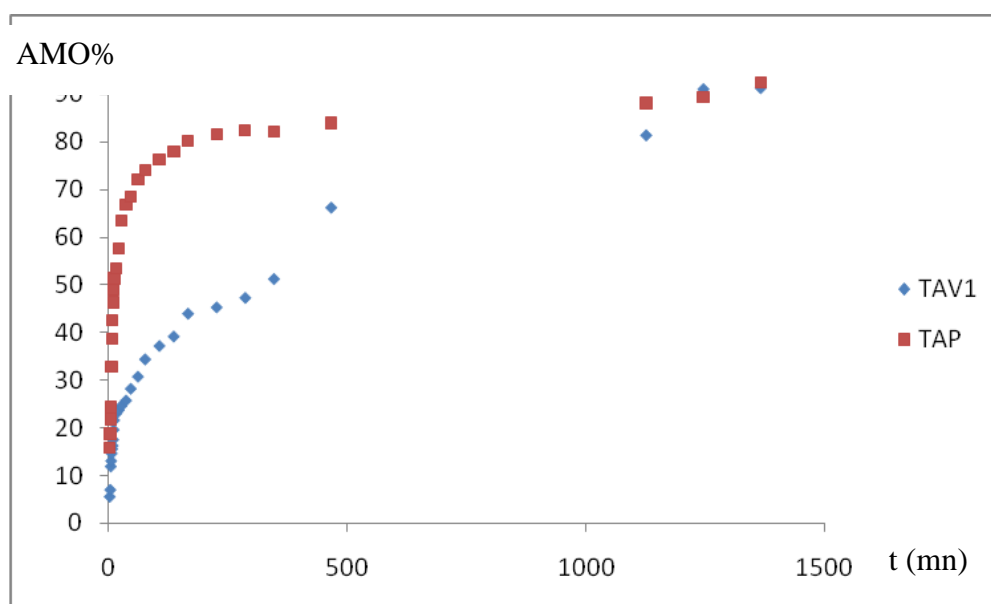


**Figure 110 :** % AMO libérés en fonction du temps au pH=1,2 (TAV1, TAG et TAS) (T = 37°C, 500 r.p.m).



Utilisant différents tensioactifs (SDS, Gélatine et T20) (**figure 110**), on remarque que le profil de libération de TAS « microsphères préparées avec SDS » est moins important que ceux préparés avec la Tween 20, et que les microsphères préparées avec la gélatine libèrent l'amoxicilline avec un taux élevé surtout aux premiers instants.

Sur la **figure 111**, nous présentons les profils de libération de deux lots préparés avec deux polymères différents [ethylcellulose (EC) et poly  $\epsilon$ -caprolactone (PCL)]. On note que le pourcentage d'amoxicilline libéré est élevé en présence de PCL.

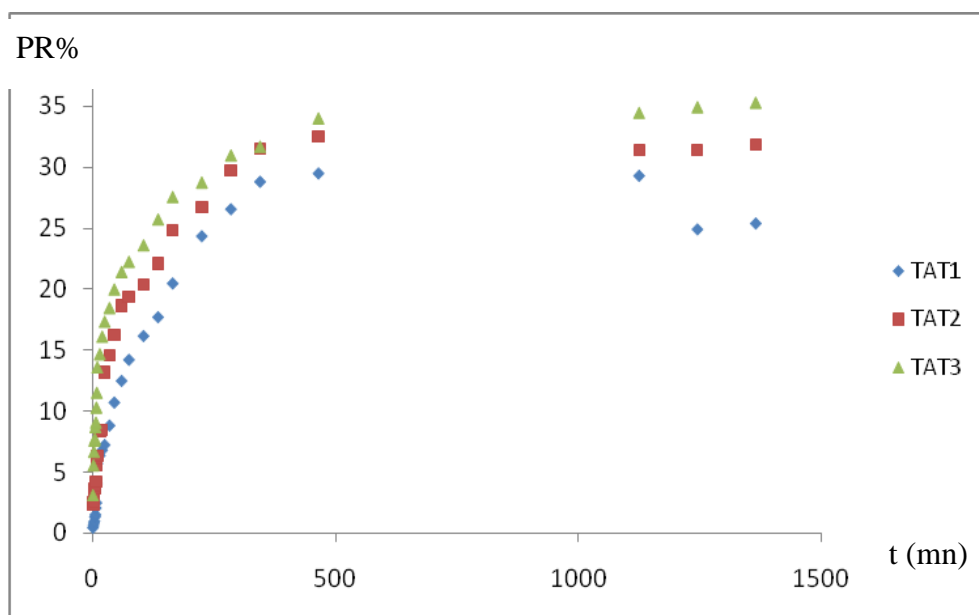


**Figure 111** : % AMO libérés en fonction du temps au pH=1,2(TAV1 et TAP) (T = 37°C, 500 r.p.m).

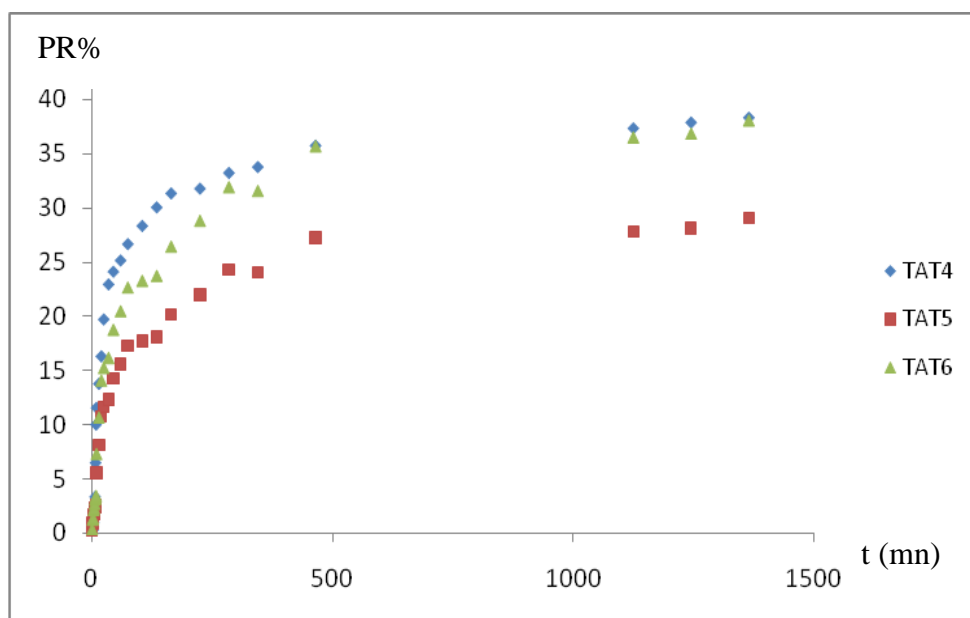
### III.III.1.c. Libération de la procaïne (PR) :

Sur les **figures 112 et 113**, nous présentons le pourcentage de l'agent actif libéré à partir des microsphères chargées en procaïne (TAT1 à TAT6), calculé par rapport à la masse initiale en fonction du temps au pH=1,2.

Dans la figure **112**, on note que les microsphères contenant un taux d'encapsulation élevé en procaïne libèrent plus cet agent actif dans le milieu d'étude. Dans la figure **113**, on remarque que les microsphères préparées avec une concentration de 1% de solution aqueuse libèrent plus que les formulations préparées avec 2% et 4% en tensioactif.



**Figure 112 :** % PR libérés en fonction du temps au pH=1,2 (TAT1, TAT2 et TAT3) (T = 37°C, 500 r.p.m).

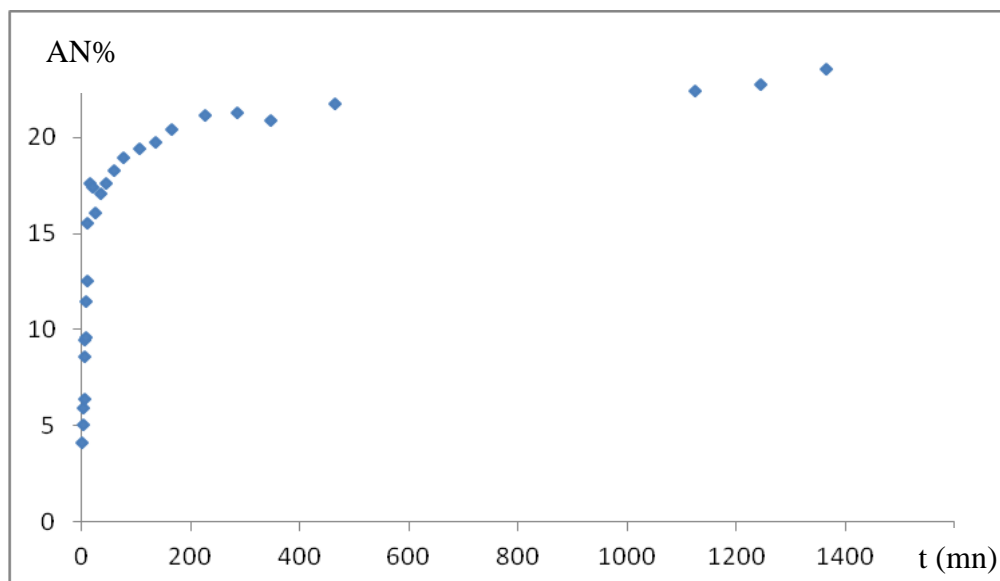


**Figure 113 :** % PR libérés en fonction du temps au pH=1,2 (TAT4, TAT5 et TAT6) (T=37°C, 500 r.p.m).

### **III.III.1.c. Libération de la p-aminoacétophénone (AN):**

Le p-aminoacétophénone (AN) est une molécule modèle. Cette molécule a été greffée sur un monomère de type amide comme c'est décrit dans la partie expérimentale. Ce dernier a été ensuite encapsulé dans une matrice polymérique cellulosique. L'étude de la libération de cette aniline a été ainsi suivie dans le milieu pH acide pH=1,2 à partir des microsphères correspondants.

Sur la **figure 114**, nous présentons le pourcentage de AN libéré en fonction du temps, on remarque que le pourcentage est faible en comparant avec les autre formulations, cela peut être expliqué par la rupture de la liaison chimique de type amide.



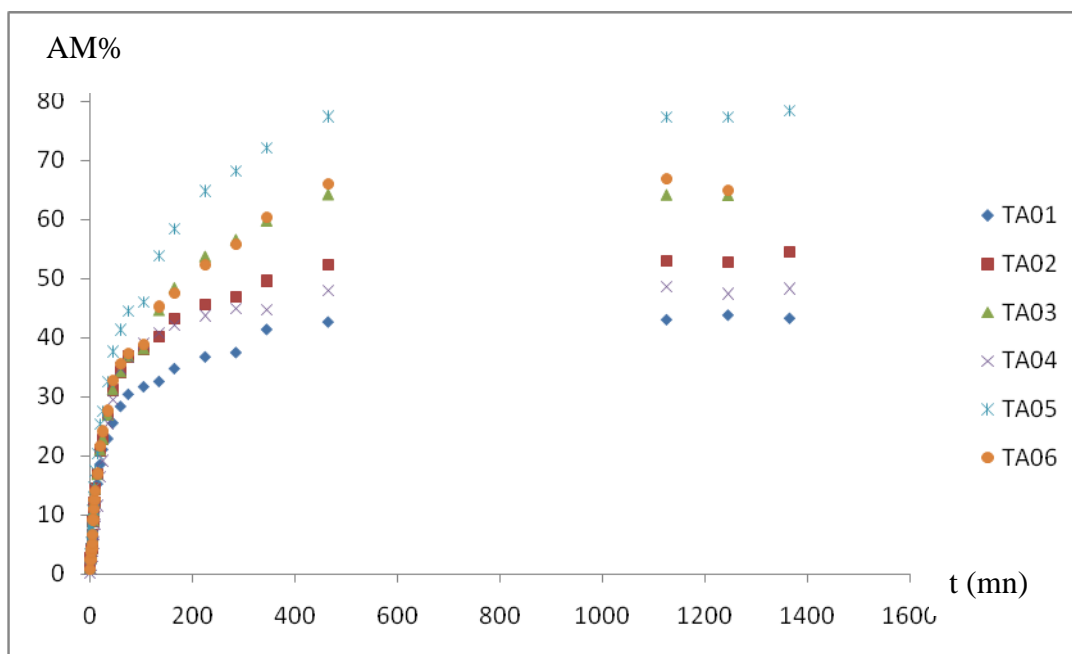
**Figure 114 :** % AN libérés en fonction du temps à partir des microsphères TAM au pH=1,2 (T = 37°C, 500 r.p.m).

### III.III. 2. Cinétiques de libération dans le pH=7,7:

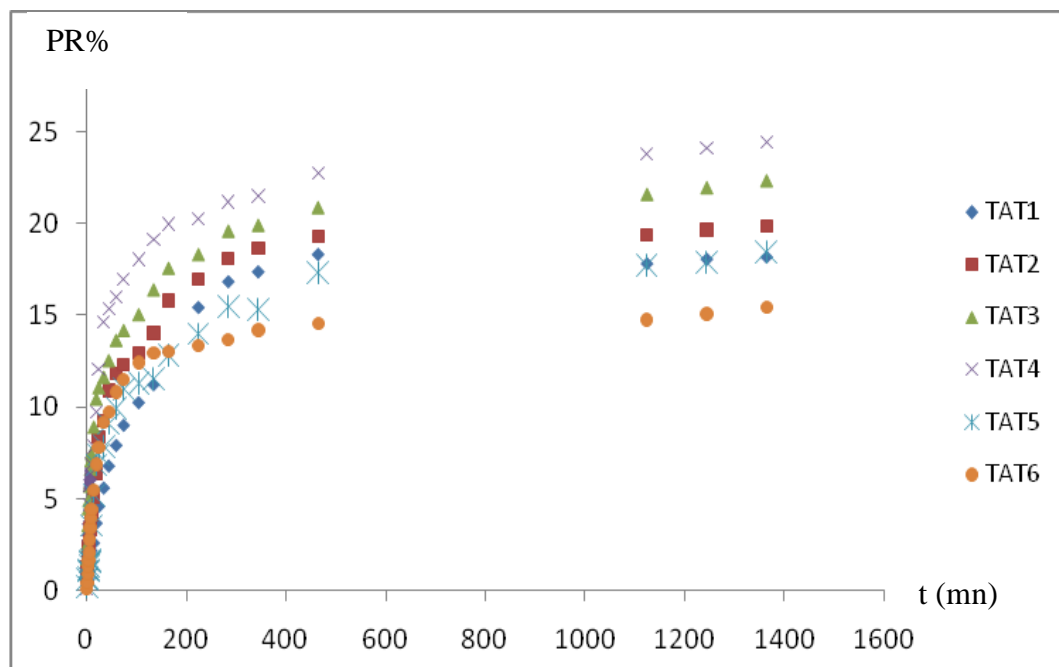
L'étude de la libération des agents actifs encapsulés a été réalisée aussi dans un pH basique (7,7) dans le but de comparer le pourcentage de libération de ces agents au pH gastrique.

Les cinétiques correspondantes aux différentes formes ont été réalisées dans les mêmes conditions opératoires suivies au pH=1,2 : la température (37°C), l'agitation (500 r.p.m), le volume initial dans le flacon (100 mL), le volume des prises d'essais (1 mL) et le volume de dilution des prélèvements (10mL).

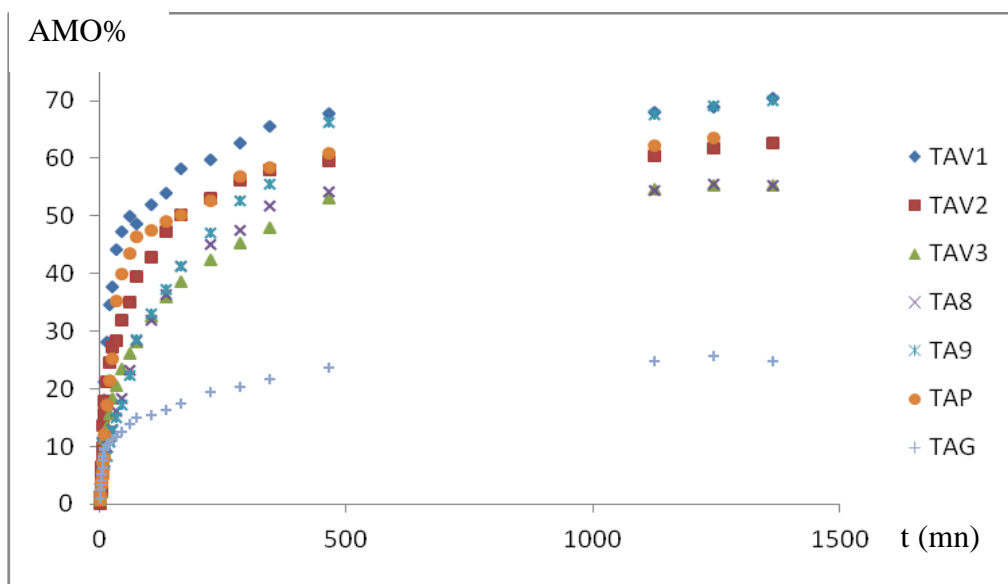
Les résultats de la libération obtenus pour tous les échantillons sont présentés dans les **figures suivantes (115-118)** :



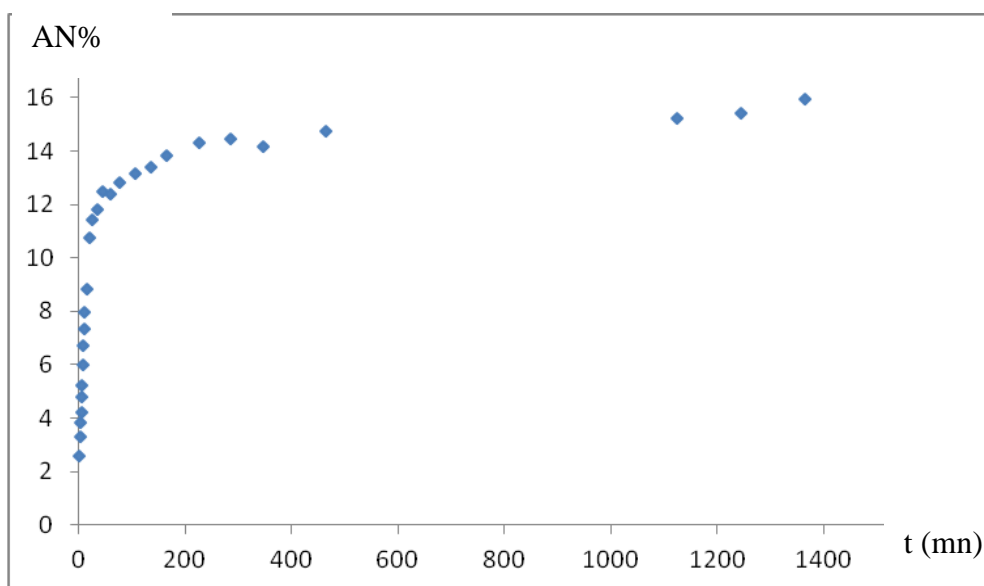
**Figure 115 :** % AM libéré en fonction du temps à partir des microsphères chargées d'ampicilline au pH=7,7 (T = 37°C, 500 r.p.m).



**Figure 116 :** % PR libéré en fonction du temps à partir des microsphères chargées de procaine au pH=7,7 (T = 37°C, 500 r.p.m).



**Figure 117 :** % AMO libéré en fonction du temps à partir des microsphères chargées d'amoxicilline au pH=7,7 (T = 37°C, 500 r.p.m).



**Figure 118 :** % AN libéré en fonction du temps à partir des microsphères TAM au pH=7,7 (T = 37°C, 500 r.p.m).

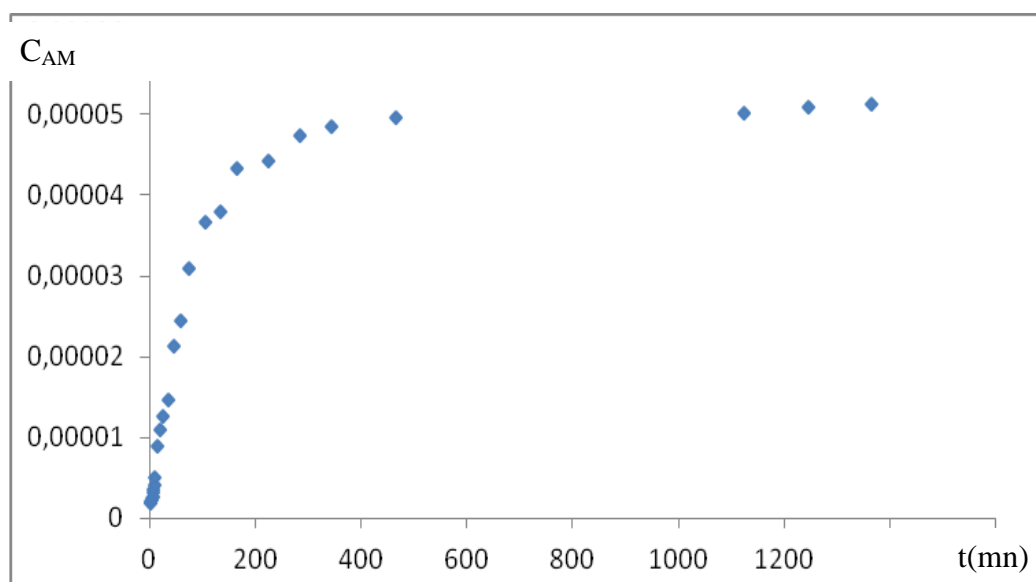
Les résultats montrent que les formulations libèrent pratiquement des quantités d'agents actifs inférieures à celles libérées dans le milieu acide (pH=1,2). Il nous reste à étudier la différence des coefficients de diffusion dans les deux milieux.

**III.III.3. Modélisation des cinétiques :**

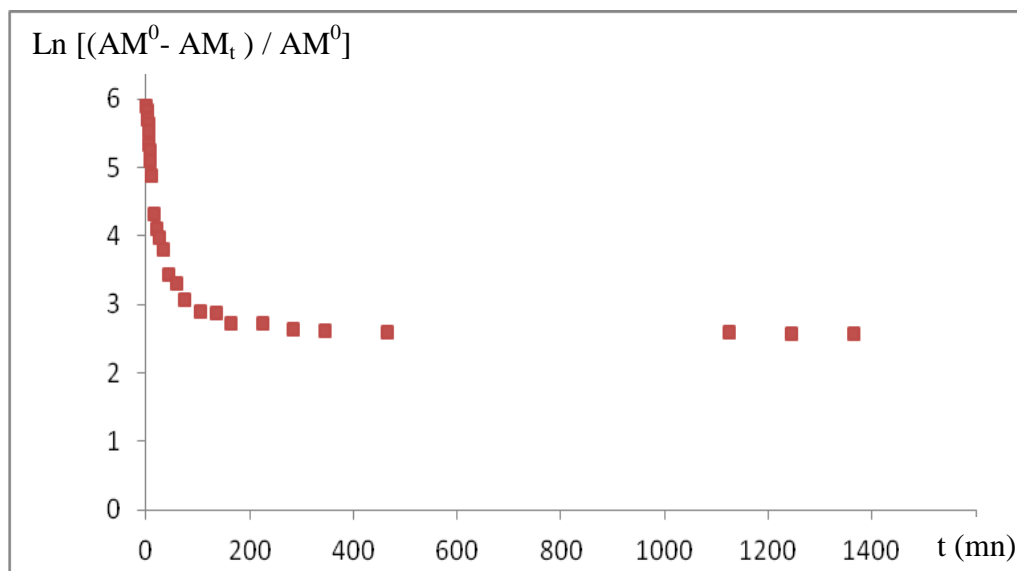
L'élaboration des systèmes formulés dans le domaine pharmaceutique permet une libération lente et progressive de l'agent actif. La technologie de la microencapsulation a pour avantage le prolongement de la durée de libération des principes actifs encapsulés.

Dans notre étude, après la formulation et la caractérisation de ces différentes microsphères, nous avons étudié la libération de ces agents encapsulés de façon « in-vitro ». Pour compléter notre étude, il nous reste à déterminer les modèles cinétiques correspondants à nos profils de libération.

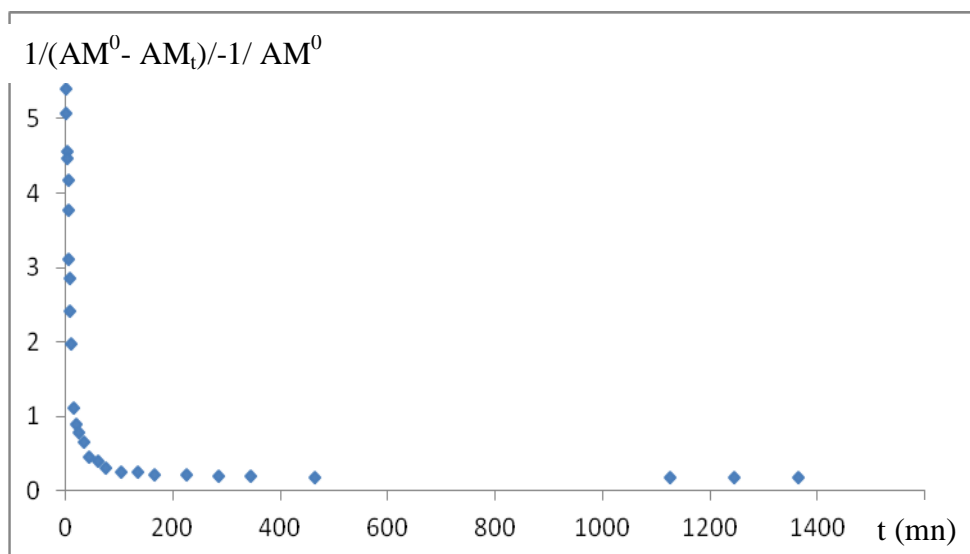
On a essayé d'attribuer un ordre réactionnel classique à ces différentes cinétiques. On donne ci-dessous, à titre d'exemple, les courbes obtenues pour les ordres cinétiques classiques :  $n = 0$ ,  $n = 1$  et  $n = 2$  pour TA01 (pH=1,2). Aucune linéarité n'a pu être obtenue. Les autres courbes sont en annexe.



**Figure 119 :** Concentration de AM libéré en fonction du temps par la formulation TA01 au pH= 1,2 (T 37C°, 500 r.p.m).

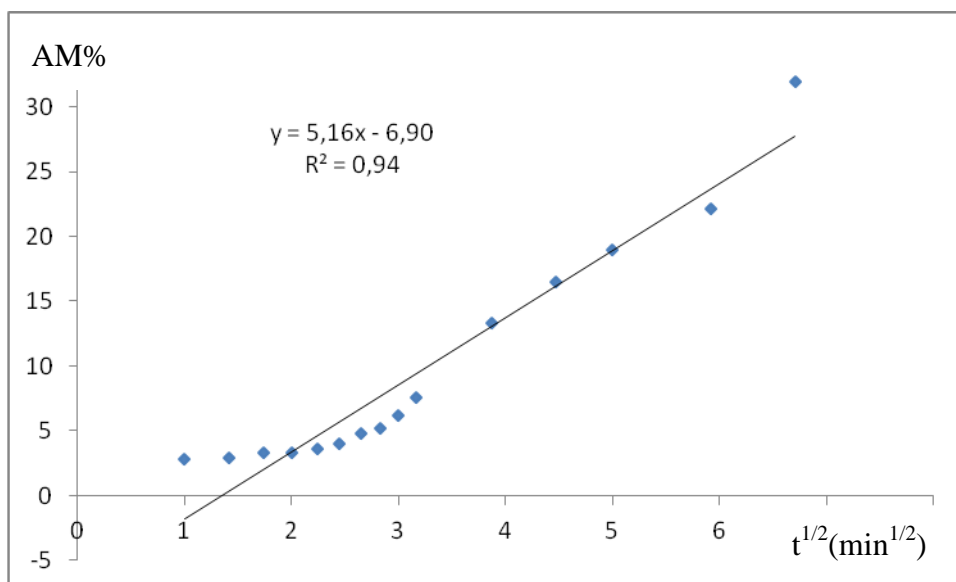


**Figure 120 :**  $\text{Ln} [(AM^0 - AM_t) / AM^0]$  en fonction du temps de la formulation TA01 au pH= 1,2 ( $T=37\text{ C}^\circ$ ,  $\Omega$  500 r.p.m).



**Figure 121 :**  $1/(AM^0 - AM_t) - 1/AM^0$  en fonction du temps de la formulation TA01 au pH 1,2 ( $T = 37\text{C}^\circ$ ,  $\Omega$  500 r.p.m).

Par contre, en traçant le pourcentage du principe actif libéré en fonction de la racine carrée du temps, on obtient une nette linéarité des points expérimentaux, essentiellement aux temps courts de la cinétique. Dans la **figure 122**, nous donnons la droite de la formulation TA01.



**Figure 122 :** % AM libéré par la formulation TA01 en fonction de la racine carrée du temps au pH=1,2 (T 37°C, 500 r.p.m).

Le suivi de la libération de (AM) dans le milieu d'étude pH=1,2 a confirmé la linéarisation des points expérimentaux de la quantité de matière transférée en fonction de la racine carrée du temps. Ce qui nous amène à dire que ces cinétiques admettent une étape limitante diffusionnelle de type Fickien.

Les droites obtenues ne passent pas par l'origine, on remarque une légère courbure aux premiers temps d'immersion des microparticules.

Cette courbure peut être expliquée par effet brust. Ce dernier est justifié par une mise en équilibre des microsphères dans le milieu d'étude : contact des microparticules avec le liquide, pénétration du liquide à travers les pores, solubilisation du principe actif piégé à la surface et formation d'une pellicule d'eau à la surface des microparticules.

Ces microparticules libèrent le principe actif par diffusion vers le milieu extérieur, pour cela, nous avons calculé les coefficients de diffusion en passant par la détermination des  $m_\infty$  de chaque formulation dans les différents milieux.

### **III.III.3.a. Calcul de $m_\infty$ :**

Les valeurs de  $m_\infty$  sont obtenus en traçant les graphes  $\log(m_t/m_i) = f(1/t)$ . Quand  $t$  tend vers l'infini,  $1/t$  tend vers 0, l'ordonnée à l'origine représente alors  $\log(m_\infty/m_i)$ , connaissant  $m_i$ , la masse initiale, on peut facilement calculer  $m_\infty$ .

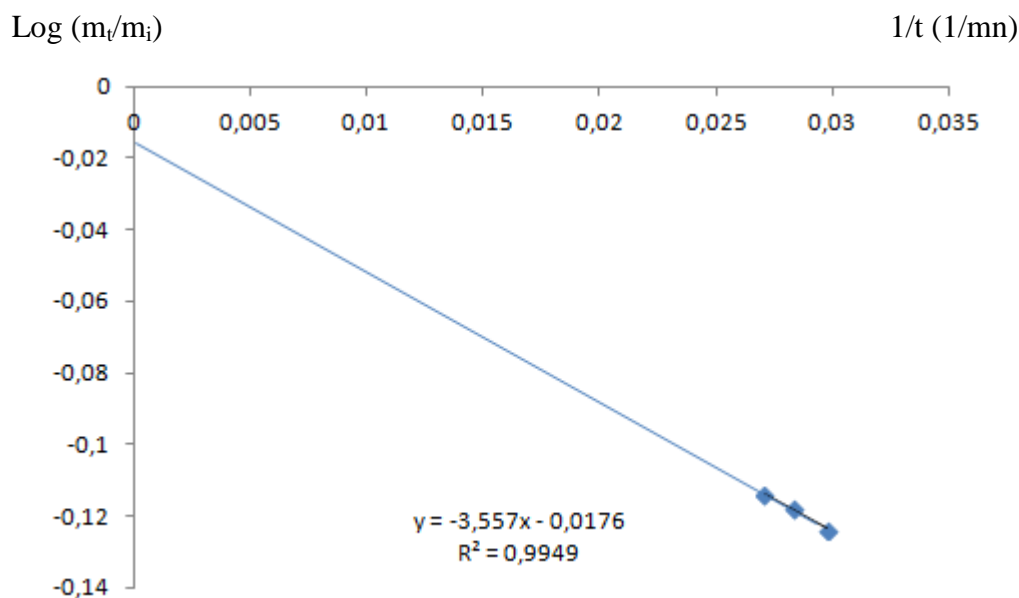
Ce calcul a été repris pour l'ensemble des formes galéniques étudiées.



On donnera à titre d'exemple la détermination de  $m_\infty$  pour la formulation TA01 dans le pH =1,2. (Les autres résultats sont en annexe).

### Caractéristiques de la formulation TA01 :

$$d_{10} = 0,3267 \text{ cm}, \quad m_{iAM} = 0,1398 \text{ mg}$$



**Figure 123 :**  $\log (m_t/m_i)$  en fonction de  $1/t$  de l'AM libérée par la formulation TA01 au pH=1,2 (37°C et 500 r.p.m).

Par extrapolation si :  $t \rightarrow \infty$  ,  $1/t \rightarrow 0 \Rightarrow m_t \rightarrow m_\infty$

$1/t \rightarrow 0$  ;  $\ln (m_\infty/m_i) = -x$  (x : l'ordonnée à l'origine)

$$\Rightarrow m_\infty/m_i = \exp(-x)$$

$$\Rightarrow m_\infty = m_i \exp(-x)$$

**Principe actif :**  $x = -0,0176 \Rightarrow m_\infty = \exp(-x) \cdot 0,1398 = 0,1373 \text{ g}$ .

Les différentes valeurs de  $m_\infty$  de toutes les microsphères dispersées dans le pH=1,2 et pH=7,7 sont rassemblées dans le **tableau 27** :

<i>Code</i>	<b>Masse initiale en principe actif (g)</b>	<b>Masse à l'infini du Principe actif (g) au pH=1,2</b>	<b>Masse à l'infini du Principe actif (g) au pH=7,7</b>
<i>TA01</i>	0,1398	0,1374	0,1000
<i>TA02</i>	0,1404	0,1355	0,0816
<i>TA03</i>	0,1400	0,1350	0,1221
<i>TA04</i>	0,1215	0,0978	0,0855
<i>TA05</i>	0,1157	0,0873	0,1073
<i>TA06</i>	0,1400	0,1387	0,1048
<i>TAT1</i>	0,0300	0,0192	0,0158
<i>TAT2</i>	0,1378	0,0777	0,0641
<i>TAT3</i>	0,2030	0,1236	0,1015
<i>TAT4</i>	0,1409	0,0957	0,0786
<i>TAT5</i>	0,1175	0,0659	0,0542
<i>TAT6</i>	0,0895	0,0565	0,0437
<i>TAS</i>	0,1338	0,0709	0,0583
<i>TAG</i>	0,1663	0,1406	0,0230
<i>TAV1</i>	0,1410	0,0754	0,0636
<i>TAV2</i>	0,1196	0,1105	0,1022
<i>TAV3</i>	0,0968	0,0811	0,0766
<i>TAP</i>	0,1298	0,1133	0,1167
<i>TA8</i>	0,1520	0,1121	0,1253
<i>TA9</i>	0,1584	0,1360	0,1466
<i>TAM</i>	0,1464	0,0965	0,1330

**Tableau 27** : Les masses initiales et les masses infini des formulations étudiées au pH=1,2 et pH=7,7.

**III.III.3.b. Calcul des diffusivités :**➤ **Aux temps courts de la réaction :**

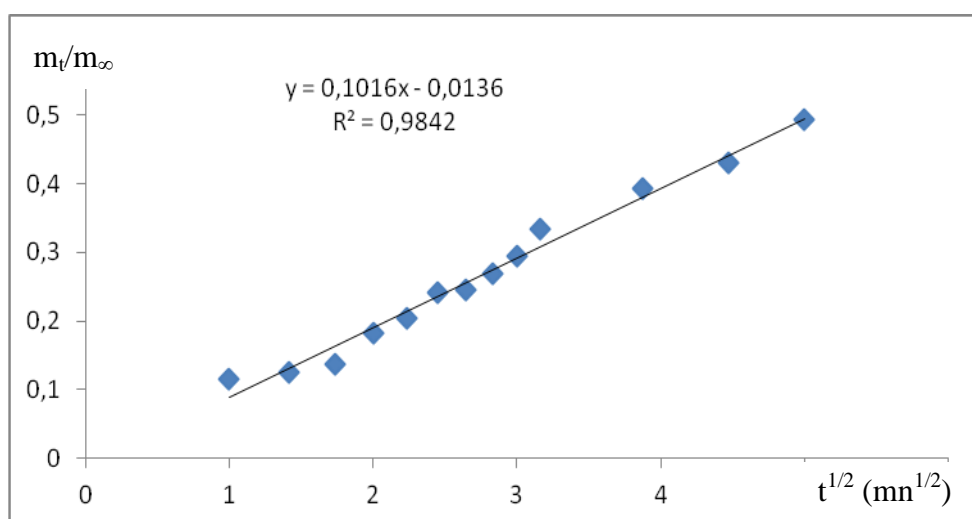
La diffusivité est obtenue par l'équation [24] de la page 68.

$$D = \frac{\pi}{36} R^2 (\operatorname{tg} \alpha)^2$$

Où :  $\operatorname{tg} \alpha$  : représente la pente de la droite de  $[m_t/m_\infty] = f(\sqrt{t})$

Cette équation est applicable à la fois pour le principe actif et pour le liquide.

**Exemple de détermination** de  $D_{t,c}$  ( $t,c$  : temps courts) pour une formulation TAG chargée d'amoxicilline au pH = 7,7.



**Figure 124 :**  $m_t/m_\infty$  d'AMO en fonction de la racine carrée du temps pour la formulation TAG, pH= 7,7; T 37°C.

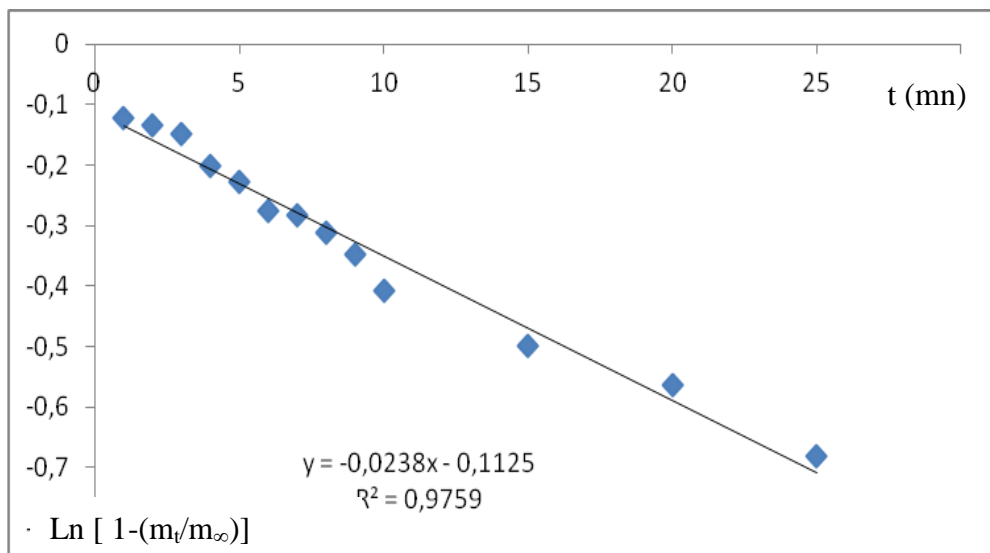
➤ **Aux temps longs de la réaction :**

Le coefficient de diffusion, aux temps longs, est calculé par l'équation [28] de la page 68.

$$D = -p \left( \frac{R}{\pi} \right)^2$$

Où  $p$  est la pente de la droite  $\ln [1-(m_t/m_\infty)] = f(t)$ .

On donne à titre d'exemple la détermination de  $D_{t,l}$  (temps longs) pour la formulation TA01 chargée d'ampicilline au pH = 1,2.



**Figure 125 :**  $\text{Ln} [1-(m_t/m_\infty)]$  en fonction du temps de la formulation TAG dans pH=7,7 ; T 37°C, 500 r.p.m.

Les valeurs des coefficients de diffusion des principes actifs étudiés, sont regroupées dans le **tableau 28**, on note que :

- Dans le pH=1,2 : les coefficients de diffusion au temps courts " $D_{t,c}$ " de libération sont de l'ordre de  $10^{-7}$  à  $10^{-9} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , et sont de l'ordre de  $10^{-5}$  à  $10^{-8} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  aux temps long  $D_{t,l}$ .
- Dans le pH=7,7 : les coefficients de diffusion au temps courts " $D_{t,c}$ " de libération sont de l'ordre de  $10^{-7}$  à  $10^{-8} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , et sont de l'ordre de  $10^{-5}$  à  $10^{-7} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  aux temps long  $D_{t,l}$ .

<i>Code</i>	<i>pH=1,2</i>		<i>pH=7,7</i>	
	<i>Dt,c</i> (cm <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> )	<i>Dt,l</i> (cm <sup>2</sup> . s <sup>-1</sup> )	<i>Dt,c</i> (cm <sup>2</sup> .s <sup>-1</sup> )	<i>Dt,l</i> (cm <sup>2</sup> . s <sup>-1</sup> )
<i>TA01</i>	1,88. 10 <sup>-7</sup>	8,66 10 <sup>-6</sup>	5,66 10 <sup>-7</sup>	1,40 10 <sup>-5</sup>
<i>TA02</i>	1,59. 10 <sup>-7</sup>	4,90 10 <sup>-6</sup>	5,58 10 <sup>-7</sup>	1,04 10 <sup>-5</sup>
<i>TA03</i>	1,06 10 <sup>-7</sup>	3,11 10 <sup>-6</sup>	1,41 10 <sup>-7</sup>	3,80 10 <sup>-6</sup>
<i>TA04</i>	3,25 10 <sup>-8</sup>	2,23 10 <sup>-6</sup>	2,35 10 <sup>-7</sup>	6,71 10 <sup>-6</sup>
<i>TA05</i>	3,70 10 <sup>-8</sup>	2,76 10 <sup>-6</sup>	3,61 10 <sup>-7</sup>	8,97 10 <sup>-6</sup>
<i>TA06</i>	6,79 10 <sup>-7</sup>	1,60 10 <sup>-5</sup>	6,95 10 <sup>-7</sup>	1,60 10 <sup>-5</sup>
<i>TAT1</i>	6,30 10 <sup>-7</sup>	7,71 10 <sup>-6</sup>	3,57 10 <sup>-8</sup>	2,83 10 <sup>-6</sup>
<i>TAT2</i>	4,55 10 <sup>-7</sup>	4,12 10 <sup>-6</sup>	1,16 10 <sup>-7</sup>	5,34 10 <sup>-6</sup>
<i>TAT3</i>	2,80 10 <sup>-7</sup>	8,44 10 <sup>-6</sup>	1,85 10 <sup>-7</sup>	7,50 10 <sup>-6</sup>
<i>TAT4</i>	3,73 10 <sup>-7</sup>	9,03 10 <sup>-6</sup>	1,55 10 <sup>-7</sup>	7,81 10 <sup>-6</sup>
<i>TAT5</i>	2,72 10 <sup>-7</sup>	9,09 10 <sup>-7</sup>	1,45 10 <sup>-7</sup>	6,07 10 <sup>-6</sup>
<i>TAT6</i>	1,01 10 <sup>-7</sup>	1,21 10 <sup>-7</sup>	1,29 10 <sup>-7</sup>	4,74 10 <sup>-6</sup>
<i>TAS</i>	2,96 10 <sup>-5</sup>	1,14 10 <sup>-5</sup>	1,50 10 <sup>-5</sup>	7,65 10 <sup>-6</sup>
<i>TAG</i>	3,78 10 <sup>-9</sup>	9,06 10 <sup>-8</sup>	4,83 10 <sup>-9</sup>	1,51 10 <sup>-7</sup>
<i>TAV1</i>	1,83 10 <sup>-7</sup>	5,51 10 <sup>-6</sup>	9,32 10 <sup>-7</sup>	1,34 10 <sup>-5</sup>
<i>TAV2</i>	4,50 10 <sup>-7</sup>	1,28 10 <sup>-5</sup>	7,95 10 <sup>-7</sup>	1,79 10 <sup>-5</sup>
<i>TAV3</i>	5,89 10 <sup>-7</sup>	1,32 10 <sup>-5</sup>	2,95 10 <sup>-7</sup>	9,18 10 <sup>-6</sup>
<i>TAP</i>	7,47 10 <sup>-7</sup>	1,00 10 <sup>-5</sup>	3,39 10 <sup>-7</sup>	7,30 10 <sup>-6</sup>
<i>TA8</i>	3,53 10 <sup>-7</sup>	8,72 10 <sup>-6</sup>	6,55 10 <sup>-8</sup>	3,96 10 <sup>-6</sup>
<i>TA9</i>	3,31 10 <sup>-7</sup>	7,44 10 <sup>-6</sup>	4,14 10 <sup>-8</sup>	2,86 10 <sup>-6</sup>
<i>TAM</i>	2,39 10 <sup>-7</sup>	5,90 10 <sup>-6</sup>	1,29 10 <sup>-7</sup>	3,21 10 <sup>-6</sup>

**Tableau 28 :** Valeurs des diffusivités pour les différentes formulations étudiées à pH=1,2 et pH=7,7.

**III.III.3.c. Modélisation des cinétiques de relargage des principes actifs selon les équations d'Higuchi et de Korsmeyer-Peppas :**

Les résultats trouvés selon les modèles d'Higuchi et Korsmeyer-Peppas sont regroupés dans les **tableaux 29 et 30** :

Code	L'équation d'Higuchi	R <sup>2</sup>	L'équation de Korsmeyer & Peppas		
			n	k (mn <sup>-n</sup> )	R <sup>2</sup>
TA01	y = 5,16 x - 6,90	0,93	0,51	0,07	0,91
TA02	y = 0,35 x + 0,37	0,93	0,48	0,06	0,81
TA03	y = 0,12 x + 1,60	0,96	0,49	0,09	0,94
TA04	y = 3,69 x - 4,44	0,84	0,56	0,07	0,90
TA05	y = 1,94 x + 1,07	0,94	0,51	0,08	0,95
TA06	y = 8,15 x - 4,94	0,99	0,40	0,33	0,89
TAT1	y = 1,95 x - 2,32	0,94	0,43	0,05	0,90
TAT2	y = 1,95 x - 2,32	0,96	0,40	0,05	0,90
TAT3	y = 1,95 x - 2,32	0,95	0,31	0,12	0,93
TAT4	y = 5,07 x - 7,46	0,95	0,31	0,05	0,75
TAT5	y = 2,83 x - 3,97	0,94	0,41	0,06	0,87
TAT6	y = 3,72 x - 5,21	0,94	0,41	0,06	0,87
TAS	y = 2,48 x - 3,48	0,94	0,41	0,14	0,87
TAG	y = 3,80 x + 7,42	0,91	0,30	0,13	0,98
TAV1	y = 3,80 x + 7,42	0,88	0,33	0,13	0,97
TAV2	y = 4,26 x + 0,55	0,87	0,49	0,06	0,74
TAV3	y = 5,00 x - 5,63	0,94	0,48	0,19	0,76
TAP	y = 8,09 x + 9,19	0,88	0,24	0,13	0,87
TA8	y = 5,18 x + 4,13	0,95	0,33	0,14	0,94
TA9	y = 4,34 x + 6,13	0,94	0,38	0,15	0,98
TAM	y = 2,68 x + 2,97	0,80	0,23	0,14	0,78

**Tableau 29 :** Coefficients de corrélation et constantes de libération à partir des microsphères au pH=1,2.

Code	L'équation d'Higuchi	R <sup>2</sup>	L'équation de Korsmeyer & Peppas		
			n	k (mn <sup>-n</sup> )	R <sup>2</sup>
TA01	y = 4,79 x - 4,35	0,96	0,47	0,09	0,81
TA02	y = 0,35 x + 0,37	0,93	0,48	0,10	0,85
TA03	y = 0,12 x + 1,60	0,96	0,52	0,08	0,88
TA04	y = 5,38 x - 7,62	0,99	0,41	0,07	0,80
TA05	y = 6,79 x - 6,84	0,98	0,52	0,09	0,88
TA06	y = 5,90 x - 6,21	0,99	0,54	0,08	0,86
TAT1	y = 1,20 x - 1,62	0,98	0,42	0,04	0,92
TAT2	y = 1,84 x - 1,61	0,99	0,45	0,07	0,91
TAT3	y = 1,97 x + 0,57	0,96	0,32	0,10	0,90
TAT4	y = 2,85 x - 2,80	0,99	0,51	0,07	0,73
TAT5	y = 1,80 x - 2,52	0,94	0,48	0,05	0,86
TAT6	y = 1,88 x - 2,07	0,98	0,52	0,06	0,76
TAS	y = 1,49 x - 1,79	0,98	0,46	0,06	0,82
TAG	y = 2,01 x + 1,12	0,84	0,34	0,41	0,84
TAV1	y = 9,46 x - 11,76	0,97	0,53	0,09	0,76
TAV2	y = 6,17 x - 5,65	0,94	0,40	0,07	0,70
TAV3	y = 4,32 x - 4,28	0,98	0,54	0,07	0,88
TAP	y = 7,39 x - 11,16	0,97	0,43	0,07	0,86
TA8	y = 2,94 x - 1,53	0,99	0,50	0,08	0,96
TA9	y = 2,71 x - 1,21	0,99	0,54	0,07	0,97
TAM	y = 1,93 x + 0,90	0,94	0,23	0,12	0,84

**Tableau 30 :** Coefficients de corrélation et constantes de libération à partir des microsphères au pH=7,7.

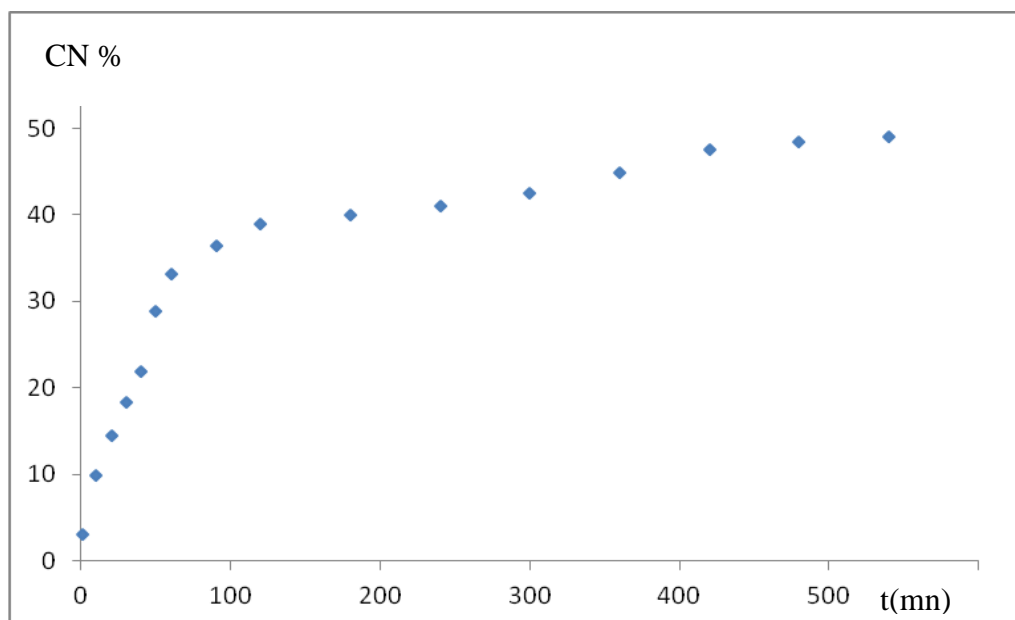
Les résultats donnés par les équations d'Higuchi, montrent que la valeur de la constante de libération d'Higuchi ( $k_H$ ) varie de 0,12 mn<sup>1/2</sup> à 8,15 mn<sup>1/2</sup> dans le pH=1,2. Elle varie de 0,12 mn<sup>1/2</sup> à 9,46 mn<sup>1/2</sup> dans le pH=7,7. Nous avons constaté que la constante « c » est positive pour la majorité des cinétiques de libération.

Pour les résultats donnés par les équations de Korsmeyer-Peppas, les valeurs des constantes cinétiques  $k$  ne peuvent pas être comparées parce qu'elles dépendent de l'exposant  $n$ , qui n'est pas le même pour l'ensemble des cinétiques de libérations étudiées. Par ailleurs, selon la valeur de  $n$ , on peut spécifier le mécanisme de diffusion s'il est du type Fickien ou non. Les valeurs données dans les **tableaux 29 et 30** montrent que «  $n$  » varie de 0,23 à 0,56 qui nous permet d'en déduire que nos cinétiques sont de type Fickien.



**III.IV. Cinétique de relargage du cinnamaldehyde libéré par les microcapsules :****III.IV.1. Cinétique de la libération des microcapsules références "AGG01" :**

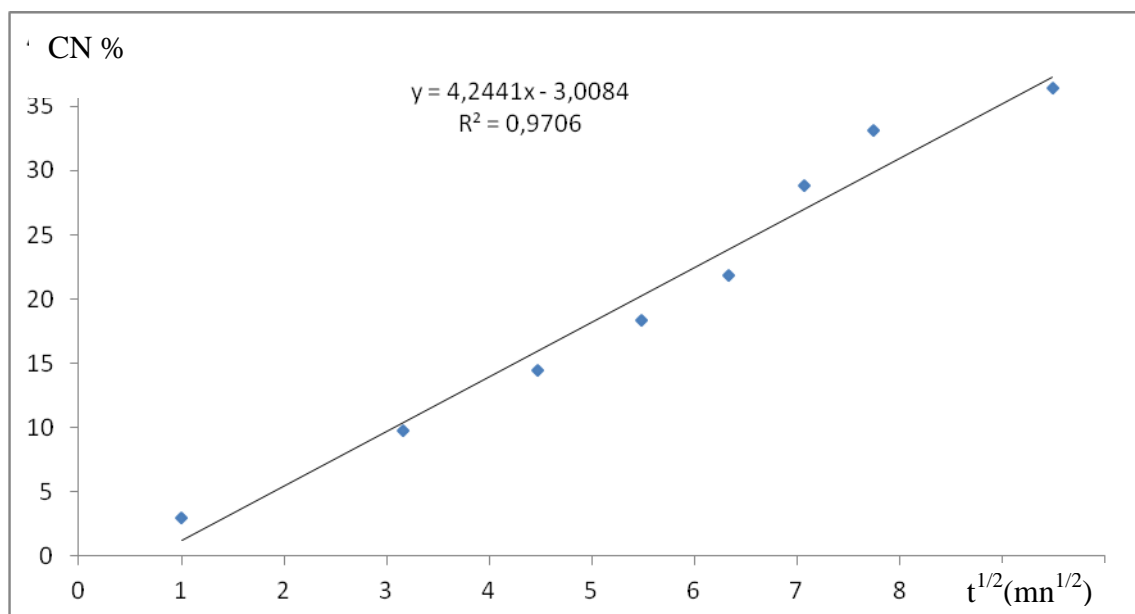
L'étude de la libération du cinnamaldehyde a été réalisée dans un mélange "eau/alcool" à cause de la faible solubilité de CN dans l'eau. Le suivi de la concentration a été réalisé par UV-VIS à  $\lambda_{\max}$  du cinnamaldehyde dans le milieu d'étude. La première libération du cinnamaldehyde est faite à partir de l'échantillon de référence (**figure 126**).



**Figure 126 :** CN% libérés en fonction du temps AGG01 (T=25°C).

On remarque l'existence de deux paliers : Au premier palier le pourcentage de CN libéré augmente rapidement et dans le deuxième palier le pourcentage devient constant.

Il a été démontré que la libération de CN ne respecte aucun des ordres courant 0,1 ou 2. On maintient le pourcentage de CN% en fonction de la racine carrée du temps, on obtient une linéarisation des points expérimentaux aux temps courts de la libération.



**Figure 127 :** CN% libéré en fonction de la racine carrée du temps AGG01 (T=25°C).

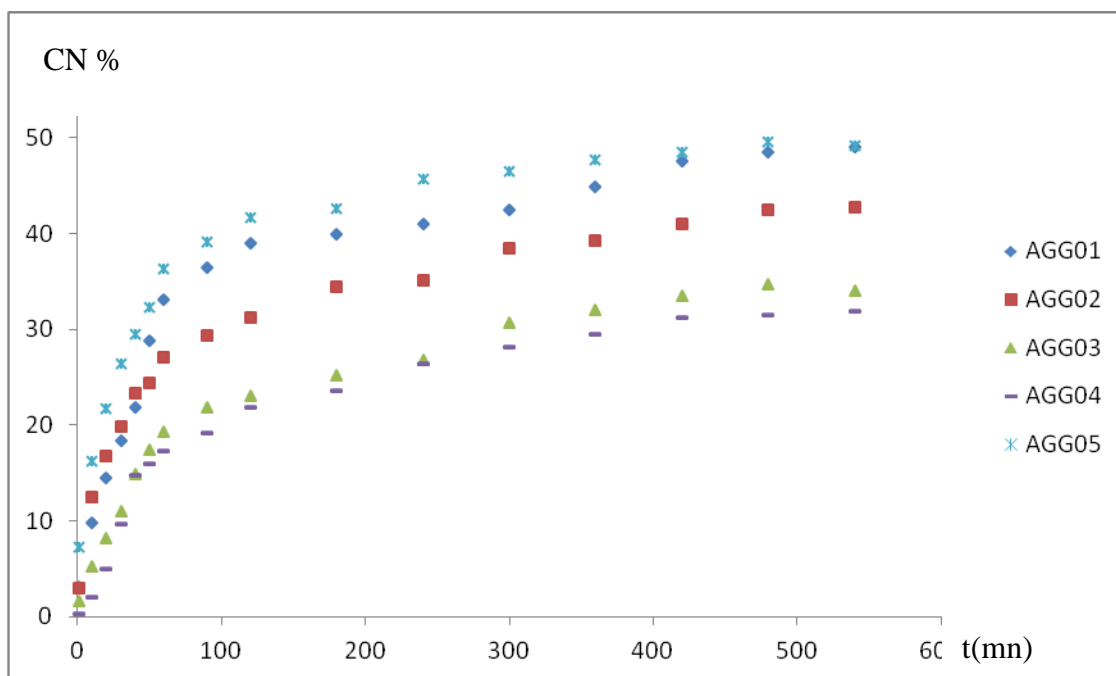
Cette libération est donc de type Fickien puisque la quantité du principe actif libérée aux temps courts est en relation linéaire avec la racine carrée du temps.

#### **III.IV.2. Cinétique de la libération des microcapsules AGG02-AGG09 :**

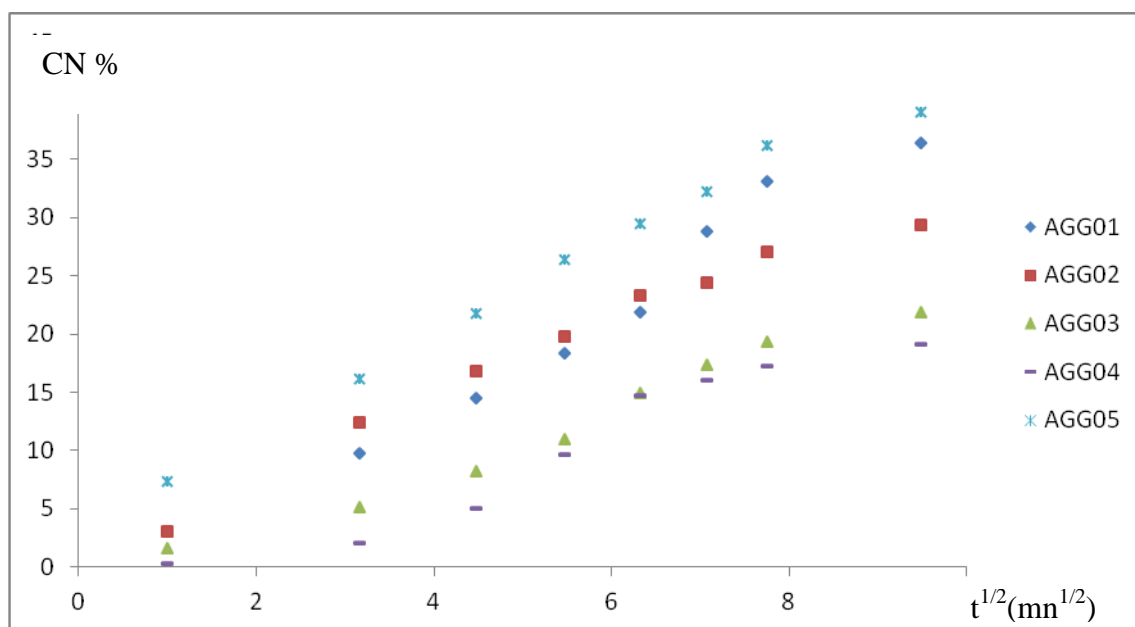
Selon les modifications des paramètres de formulation, on trace les graphes de libération en fonction du temps et de la racine carrée du temps afin de voir l'influence de changement de paramètres de formulation sur la libération de l'agent actif.

- *Influence de la vitesse d'abaissement de température entre 25°C et 15°C :*

Les cinétiques de libération du CN (AGG01 à AGG05) sont représentées dans la **figure 128 :**



**Figure 128 :** CN% libérés en fonction du temps de AGG01 à AGG05 (T=25°C).

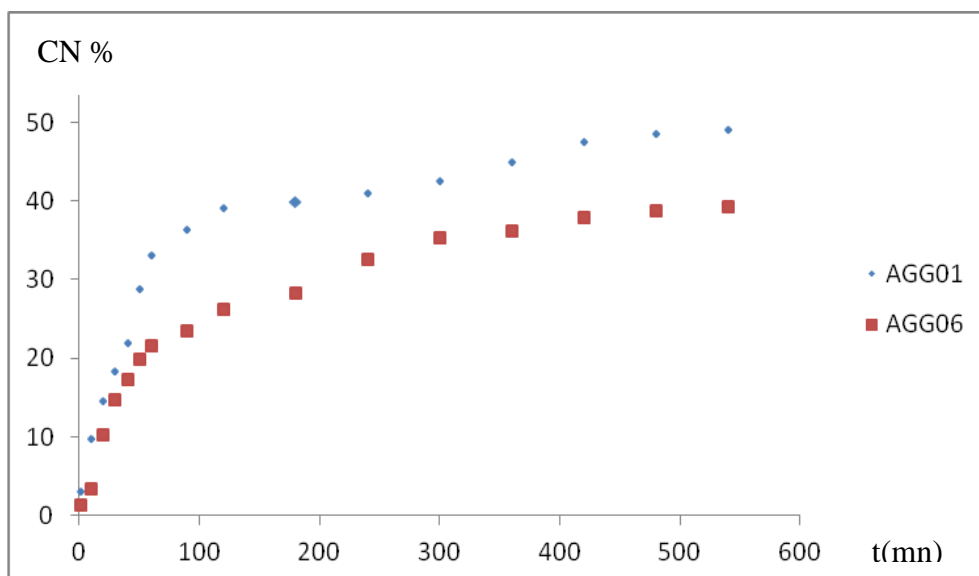


**Figure 129 :** CN% libérés en fonction de la racine carrée du temps de AGG01 à AGG05 (T=25°C).

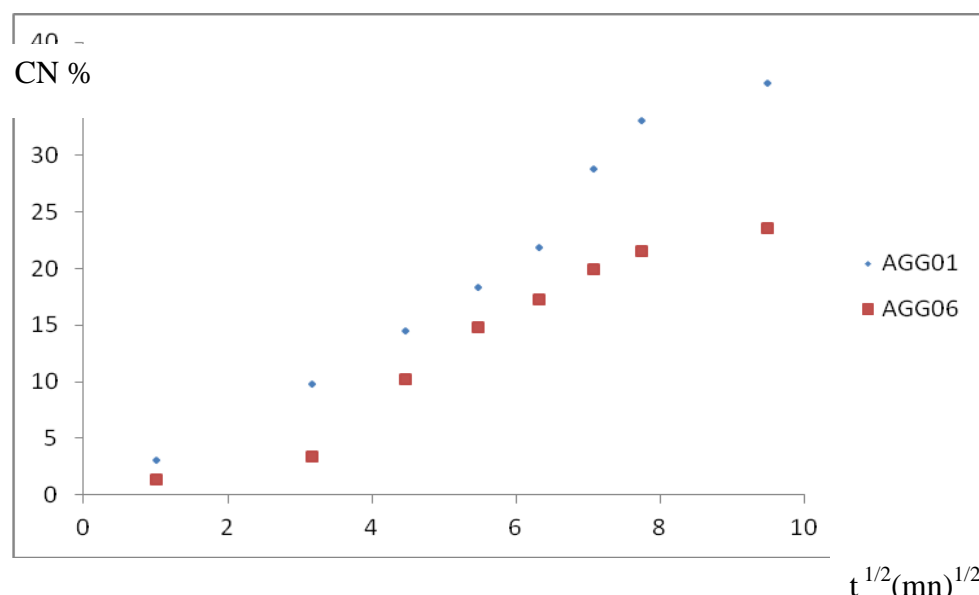
On constate que si la vitesse de l'abaissement de température (entre 5°C et 15°C) diminue, la libération du CN diminue ; mais en présence de PEG à 10% (AGG05), le pourcentage de libération augmente à cause de la finesse de la membrane.

- *Influence du temps d'émulsion :*

Pour voir l'influence du temps de l'émulsion sur la libération du CN, on compare l'étude de la libération de l'agent actif entre les deux microcapsules AGG01 et AGG06.



**Figure 130 :** CN% libérée en fonction du temps de AGG01 et AGG06 (T=25°C).



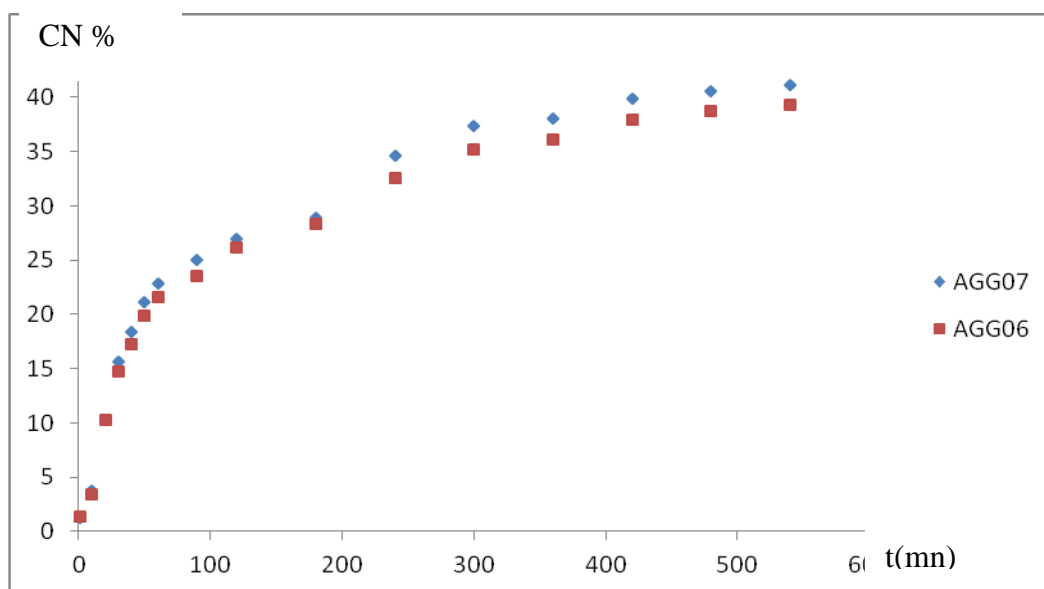
**Figure 131 :** CN% libérés en fonction de la racine carrée du temps de AGG01 et AGG06 (T=25°C).

En diminuant le temps d'émulsion, on note que la quantité de CN libérée à partir des microcapsules AGG06 est faible comparant à celle libérée à partir de AGG01.

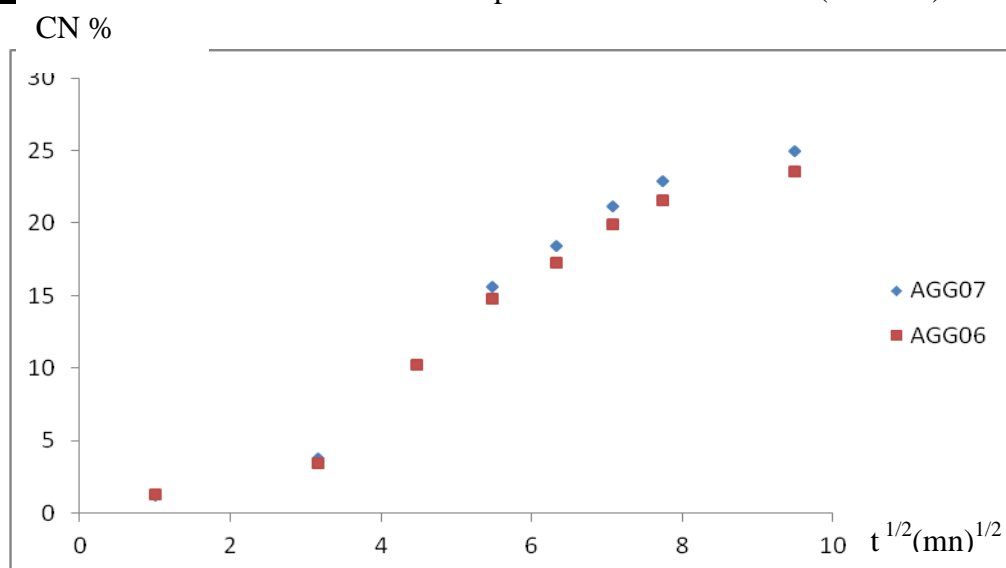
- *Influence de la durée de la coacervation :*

Pour voir l'effet de la durée de la coacervation sur la libération du CN, nous avons comparé le pourcentage de CN% libérée à partir de AGG06 et AGG07 car le seul paramètre qui a été modifié lors de la formulation de ces deux microsphères c'est la durée de coacervation.

Par la suite, on présente les pourcentages de libération de CN% à partir d'AGG06 et AGG07 en fonction du temps et de la racine carrée du temps



**Figure 132 :** CN% libérés en fonction du temps de AGG06 et AGG07 (T=25°C).

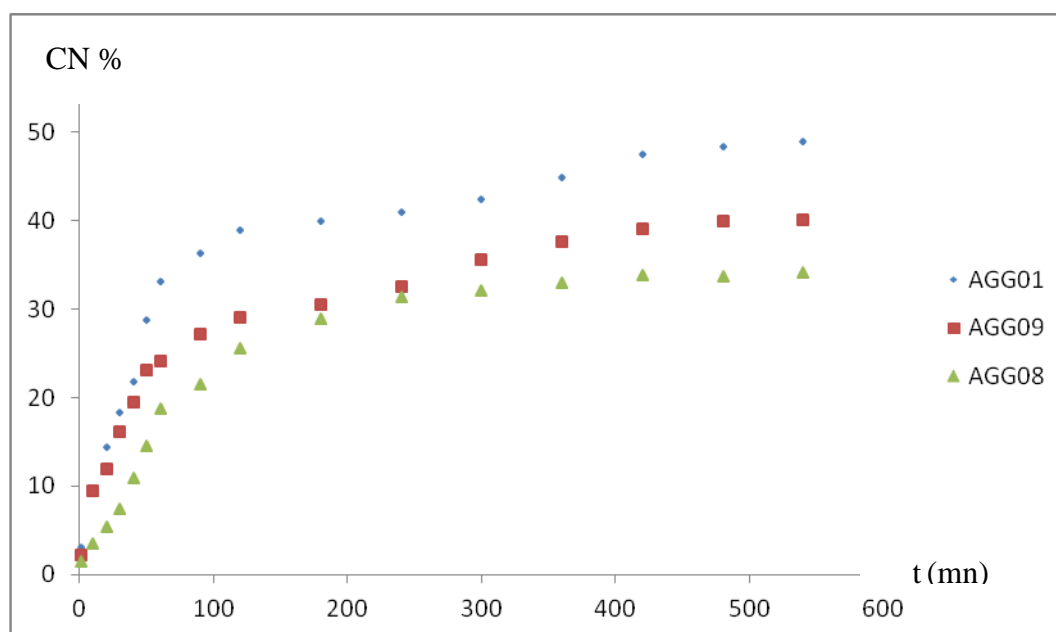


**Figure 133 :** CN% libérés en fonction de la racine carrée du temps de AGG06 et AGG07 (T=25°C).

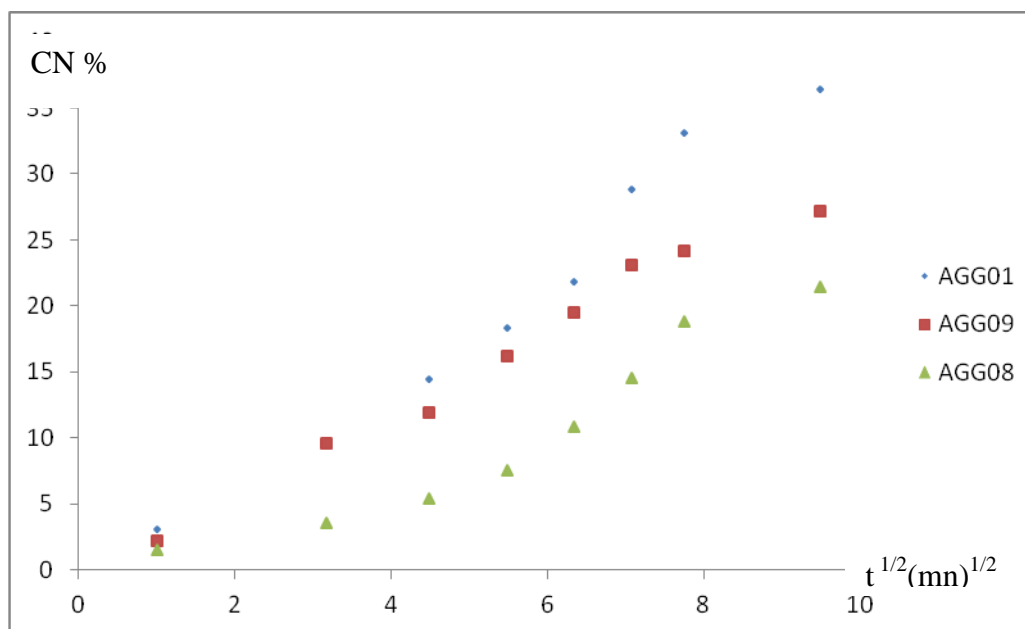
Les microcapsules AGG06 et AGG07 ont des durées de coacervation différentes, mais au point de vue libération, on constate selon les courbes cinétiques qu'il n'y a pas de changement remarquable. On pourra donc conclure que la durée de coacervation n'a aucune influence sur la vitesse de libération.

- *Influence du volume total de l'émulsion :*

La libération du CN à partir des microcapsules obtenues (AGG08 et AGG09), où le volume total d'émulsion est dilué à 100mL, nous ajoutons soit de l'eau dans AGG08 soit une solution aqueuse en tensioactif dans AGG09 est présenté sur la figure suivante



**Figure 134 :** CN% libérés en fonction du temps d'AGG01, AGG08 et AGG09 (T=25°C).



**Figure 135 :** CN% libérés en fonction de la racine carrée du temps d'AGG01, AGG08 et AGG09 (T=25°C).

L'étude de la libération du CN encapsulé a été comparée entre AGG08 et AGG09 où on a réalisé une dilution lors de la formulation, on note que ces formulations libèrent le CN moins que le AGG01 de référence. Cette différence est justifiée d'abord par le moment de la réticulation qui s'est faite après gélification. On remarque aussi que AGG08 libère moins que AGG09, cela peut être justifié par la présence des coacervats dans l'échantillon d'AGG08.

D'après les différentes courbes obtenues, on remarque que toutes les libérations présentent un effet retard. La libération du principe actif à partir des microcapsules est plus importante, en raison de leurs petits diamètres et de la minceur de leurs membranes, facilitant ainsi le passage (par diffusion) du principe actif. Or, pour pouvoir calculer les coefficients de diffusion, il est nécessaire de connaître l'épaisseur de l'enveloppe polymérique. Dans le cas des microcapsules obtenues, nous n'avons pas pu déterminer l'épaisseur de cette membrane pour calculer les diffusivités car celle-ci est très fragile, non uniforme (côtés plus épais que d'autres) et indéterminables par microscopie optique à cause des contrastes de lumière.

Les illustrations du CN% libéré en fonction de la racine carrée du temps montrent une bonne linéarité des premiers points expérimentaux de libération avec des coefficients de régression supérieurs à 0,93. Les différents résultats exprimant l'équation de libération  $\text{CN}\% = f(t^{1/2})$  et le taux de CN libéré au temps infini sont présentés dans le **tableau 31**. Ces résultats sont ordonnés de façon à pouvoir déterminer les effets des paramètres étudiés.

<i>Nom</i>	<i>Equation de libération</i> $CN\% = f(t^{1/2})$	$R^2$	$t_{50} (mn)$	$CN_{\infty} \%$
<b>AGG01</b>	$y = 4,24 x - 3,01$	0,97	45	49,03
<b>AGG02</b>	$y = 3,17 x + 1,81$	0,97	35	42,77
<b>AGG03</b>	$y = 2,62 x - 2,20$	0,98	50	34,07
<b>AGG04</b>	$y = 2,62 x - 4,13$	0,93	50	31,83
<b>AGG05</b>	$y = 3,93 x + 4,16$	0,99	30	49,17
<b>AGG06</b>	$y = 3,00 x - 2,78$	0,95	50	39,33
<b>AGG07</b>	$y = 3,21 x - 3,18$	0,95	45	41,16
<b>AGG08</b>	$y = 2,58 x - 3,99$	0,91	60	34,17
<b>AGG09</b>	$y = 3,10 x - 0,65$	0,98	40	40,13

**Tableau 31 :** Résultats des cinétiques de libération de CN à partir des microcapsules préparées par coacervation complexe.



### **III.V. Interprétation des résultats de libération des PA :**

L'élaboration des systèmes formulés dans le domaine pharmaceutique permet une libération lente et progressive de l'agent actif. Cette technologie de formulation a pour avantage de protéger le médicament et de prolonger sa demi-vie lors de sa diffusion vers le milieu extérieur et donc son efficacité.

#### **III.V.1. Interprétation des résultats de la libération des PA à partir des microsphères :**

Dans notre étude, après la préparation et la caractérisation des microparticules, nous avons étudié la libération de l'agent actif encapsulé de façon "in-vitro" puisque nous simulons les milieux d'étude choisis à deux systèmes gastrique (pH=1,2) et intestinal (pH=7,7).

Nous avons étudié l'influence des paramètres du procédé sur la libération de l'agent actif encapsulé. Le but est de contrôler la libération par le choix des paramètres modifiés de formulation qui contrôlent particulièrement la taille et la structure des microparticules. Ces derniers sont destinés à un relargage au contact du milieu d'étude sans intervention de forces mécaniques. Au vue de la courbe de libération présentée en fonction de la racine de temps présentée dans la page **192**, la libération de l'agent actif à partir de ces systèmes microparticulaires est en général gouvernée par les phénomènes de diffusion. Quand ces microparticules sont en contact avec le milieu d'étude, elles absorbent du liquide, l'agent actif sera solubilisé et diffuse à l'extérieur de la matrice.

Les cinétiques de libération des agents actifs encapsulés sont établies et les résultats obtenus sont présentés dans ce chapitre dans les pages **181-190**.

En reliant la vitesse de libération du principe actif pour chaque formulation aux paramètres de l'encapsulation étudiée (la vitesse d'agitation, la nature et le pourcentage de tensioactif, % PA, nature de polymère, ...), on peut donner les conclusions suivantes :

- ***Influence de la vitesse d'agitation :***

La taille des microsphères diminue sensiblement lorsqu'on augmente la vitesse d'agitation. Toutefois, en comparant les résultats de libération des microsphères préparées

dans les conditions ( $V=200, 400$  et  $600$  rpm), on remarque que la vitesse de libération est pratiquement la même, On peut dire alors que dans cette gamme de vitesses, il n'y pratiquement pas d'effet sur la vitesse de libération dans ce cas.

- ***Influence de la quantité initiale de principe actif :***

La teneur en principe actif est importante lorsqu'on augmente la quantité initiale de l'agent actif dans la formulation, en effet, les microsphères préparés avec 80mg de procaine libèrent plus d'agent actif puisqu'elles contiennent plus. Ces résultats sont confirmés par les valeurs de  $m_{\infty}$  calculées et classées dans le tableau 27 page 194, on note que la valeur de  $m_{\infty}=0,1236$ g dans le  $pH=1,2$  et  $m_{\infty}= 0,1015$  g dans le  $pH=7,7$  présente la grande valeur obtenue correspondante aux microparticules préparées avec 0,8 g de principe actif.

- ***Influence de la nature de polymère utilisé dans la formulation :***

La variation du polymère a un effet sur la libération de principe actif. Il est clair que les microsphères préparées avec le PCL libèrent le principe actif encapsulé "amoxicilline" en un pourcentage plus grand à celui des microparticules préparées avec l'éthylcellulose. Cela est expliqué par la faible masse polymérique du PCL (16830 g/mole), comparée à celle de l'éthylcellulose utilisé (22 000 g/mole). Le masse maximale de libération :  $m_{\infty}= 0,1133$ g dans les microsphères préparées avec le PCL et  $m_{\infty}= 0,0754$  g pour les microsphères préparées avec EC, confirme la différence d'effet du polymère sur le pourcentage libéré.

- ***Influence du pourcentage de tensioactif :***

Pour le T80, on remarque qu'avec une concentration de 1%, les microsphères libèrent le maximum de principe actif encapsulé, la  $m_{\infty} = 0,0957$ g alors qu'avec 4% elle n'atteint que 0,0565 g. Ces résultats sont attendus puisque l'on déjà remarque que le taux d'encapsulation est élevé à cette concentration. Ainsi, l'augmentation de ce facteur de 1% à 4% induit à une légère diminution de taille des microsphères. Plus les microsphères sont petites plus la surface totale de contact avec le milieu de libération est plus importante, ce qui entraîne une libération plus rapide.

- ***Influence de la nature de tensioactif :***

A une concentration de 1% de T20 et de T80, les microsphères libèrent régulièrement le principe actif pour tous les principes actifs encapsulés avec cette concentration, on note aussi que les valeurs de  $m_{\infty}$  sont grandes à cette concentration.

Dans l'encapsulation d'amoxicilline, on a varié les tensioactifs utilisés (SDS, Gélatine et T20), nous avons noté qu'avec le SDS la libération de l'agent actif est faible, par rapport aux autres formulations préparées, et on note aussi que le pourcentage de principe actif libéré à partir des microparticules préparées avec la gélatine est élevé surtout au premiers temps. Ces résultats sont justifiés par la composition initiale en principe actif dans les microparticules : ( $m_i$  (TAG) >  $m_i$  (TAV1) >  $m_i$  (TAS)), ainsi confirmés par l'ordre cohérent des  $m_{\infty}$  ( $m_{\infty}$  (TAG) >  $m_{\infty}$  (TAV1) >  $m_{\infty}$  (TAS)).

- ***Influence du volume de la phase aqueuse :***

Le pourcentage de principe actif libéré est en fonction de la quantité encapsulé. Les profils de libération est en sens inverse avec le volume de la phase aqueuse utilisé, car les microsphères préparées avec un volume de phase aqueuse élevé donne un faible rendement d'encapsulation et par la suite le pourcentage de principe actif libéré sera aussi faible.

- ***Effet du solvant dans la phase organique :***

Parmi toutes les formulations microsphères préparées par évaporation de solvant la TA09, qui est préparée en présence d'un mélange de solvant avec un excès d'acétone, donne un taux d'encapsulation important et par conséquent, le pourcentage de libération d'amoxicilline est élevé par rapport à celle préparée en présence d'une faible quantité d'acétone.

- ***Discussion des valeurs de diffusivités :***

Le coefficient de diffusion décrit la mobilité de la matière diffusante à travers les pores et les segments des chaînes polymériques, après sa solubilisation ; le mécanisme de diffusion varie donc selon la structure de la matrice (porosité et taille de pores).

La porosité des microsphères préparées varie d'un échantillon à l'autre selon la modification des paramètres.

On note que les coefficients de diffusion sont calculés à base de diamètre  $d_{10}$ . Les résultats de diffusivités des principes actifs étudiés aux temps courts et aux temps longs sont faibles d'ordre de  $10^{-5}$  à  $10^{-9}$  dans les deux milieux (pH=1,2 et pH=7,7). Théoriquement, le coefficient de diffusion efficace dépend de certains facteurs comme la porosité, la taille des pores et leur distribution, la tortuosité ; ceci implique que la structure interne des microsphères est influencée par les paramètres de l'encapsulation.

L'augmentation de vitesse d'agitation de 200 à 600 rpm fait diminuer les coefficients de diffusion, les valeurs sont décroissantes aux temps courts et longs dans les deux pH. Les mêmes résultats sont obtenus si on augmente le % T80. On remarque que les diffusivités diminuent de  $3,73 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  à  $1,01 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  aux temps courts de libération dans le pH=1,2. Ils sont aussi du même ordre de croissance au temps longs dans le pH=7,7. D'autre part, l'augmentation du pourcentage en principe actif, fait diminuer aussi les coefficients de diffusion, on peut supposer que dans les cas cités, la porosité diminue et que le facteur de tortuosité augmente. Cela est confirmé par d'autres chercheurs (**120, 145, 188**) qui constatent que l'augmentation de la vitesse d'émulsion donne des microparticules de taille plus petite avec une distribution en taille de pores plus petite.

Pour les microsphères préparées avec le tensioactif SDS, on note que les coefficients de diffusion sont les plus grands. Cela est expliqué par la taille grande des pores qui sont bien visibles sur les photos MEB. Les microsphères préparées avec la gélatine comme tensioactif ont des coefficients de diffusion de l'ordre de  $10^{-9}$ , ceci est expliqué par la plus petite taille des microsphères obtenues et la faible porosité de la surface.

### **III.V. 2. Interprétation des résultats de la libération du CN à partir des microcapsules :**

La libération du cinnamaldehyde à partir des systèmes réservoirs (microcapsules) a été réalisée dans un mélange eau/alcool à température de 25°C, et le suivi des concentrations avec le temps a été réalisé par UV-VIS au  $\lambda_{\text{max}}$  du cinnamaldehyde. Les figures **126, 128, 130, 132** et **134** représentent les profils de libération de CN à partir des formulations préparées (AGG01- AGG09).

Le transfert du principe actif vers le milieu d'étude à travers la paroi représente l'étape la plus lente car dans ces systèmes réservoirs, la libération du principe actif est liée à la largeur de membrane. La libération est donc gouvernée par la diffusion de matière encapsulée dans les microcapsules.

Dans l'ensemble des profils de libération, on a remarqué que le CN commence à se libérer rapidement après un temps faible (100mn), puis ils atteignent directement le deuxième palier ou les concentrations libérées sont presque constantes.

L'influence des paramètres étudiés (vitesse de refroidissement, durée de coacervation, l'ajout d'un réticulant, volume total de l'émulsion) n'est pas très importante car la libération de CN reste rapide dans la plupart des cas.

La comparaison de la libération de CN pour les échantillons (AGG01-AGG05) montre que le taux de CN encapsulé est presque le même. Cela est probablement dû au fait que les tailles des microparticules sont sensiblement voisines, alors que l'épaisseur de leurs membrane ne sont pas facilement identifiable. Comme le montrent les profils de libération correspondant, la libération de CN diminue avec la vitesse de l'abaissement de température entre 15°C et 5°C. Cette observation pourrait s'expliquer par la diminution de porosité provoquée par l'abaissement de la vitesse de refroidissement. La libération importante de CN pour (AGG05) pourrait s'expliquer par la finesse de sa membrane.

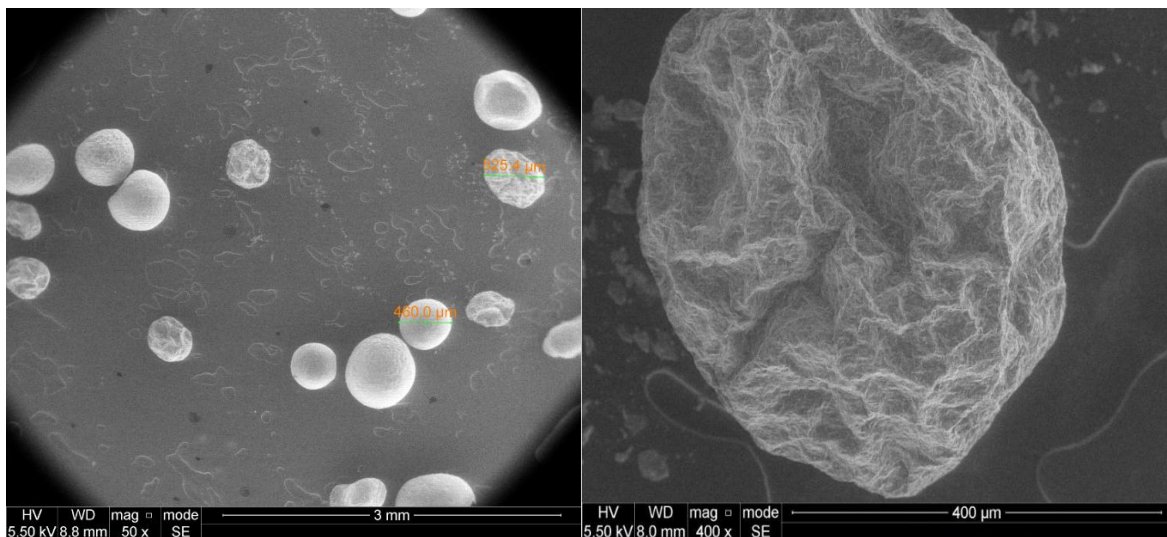
La diminution du temps d'émulsion à 15 min permet d'avoir des microcapsules de grande taille par rapport aux microcapsules (AGG01). Cela est dû à la durée du cisaillement des microgouttelettes formées lors de l'émulsion. De ce fait la surface de contact avec le milieu d'étude est faible dans AGG06 qui conduit à un faible pourcentage de libération. Par contre, en changeant la durée de la coacervation, on n'aura pas d'influence sur la libération du fait que ce paramètre n'influe ni sur la taille des microcapsules et ni sur le taux d'encapsulation.

En présence du tensioactif et de PEG lors de la formulation (AGG09), le pourcentage de CN libéré est grand par rapport aux formulations préparées sans T20 (AGG08). Les microcapsules de faible taille obtenues dans ce cas conduisent à une grande surface de contact avec le milieu d'étude et donc à une diffusion du cinnamaldehyde importante.

### III.V.3. Caractérisation des microsphères après libération :

Trois échantillons microsphères préparées ont été caractérisés par MEB après libération de principe actif. Une analyse MEB a été réalisée sur les microsphère (TA01) après 10heurs de libération (**figure 136**) et deux autres photos MEB des microsphères (TAV1 et TAT1) ont été réalisés après la fin de l'étude de libération de principe actif.

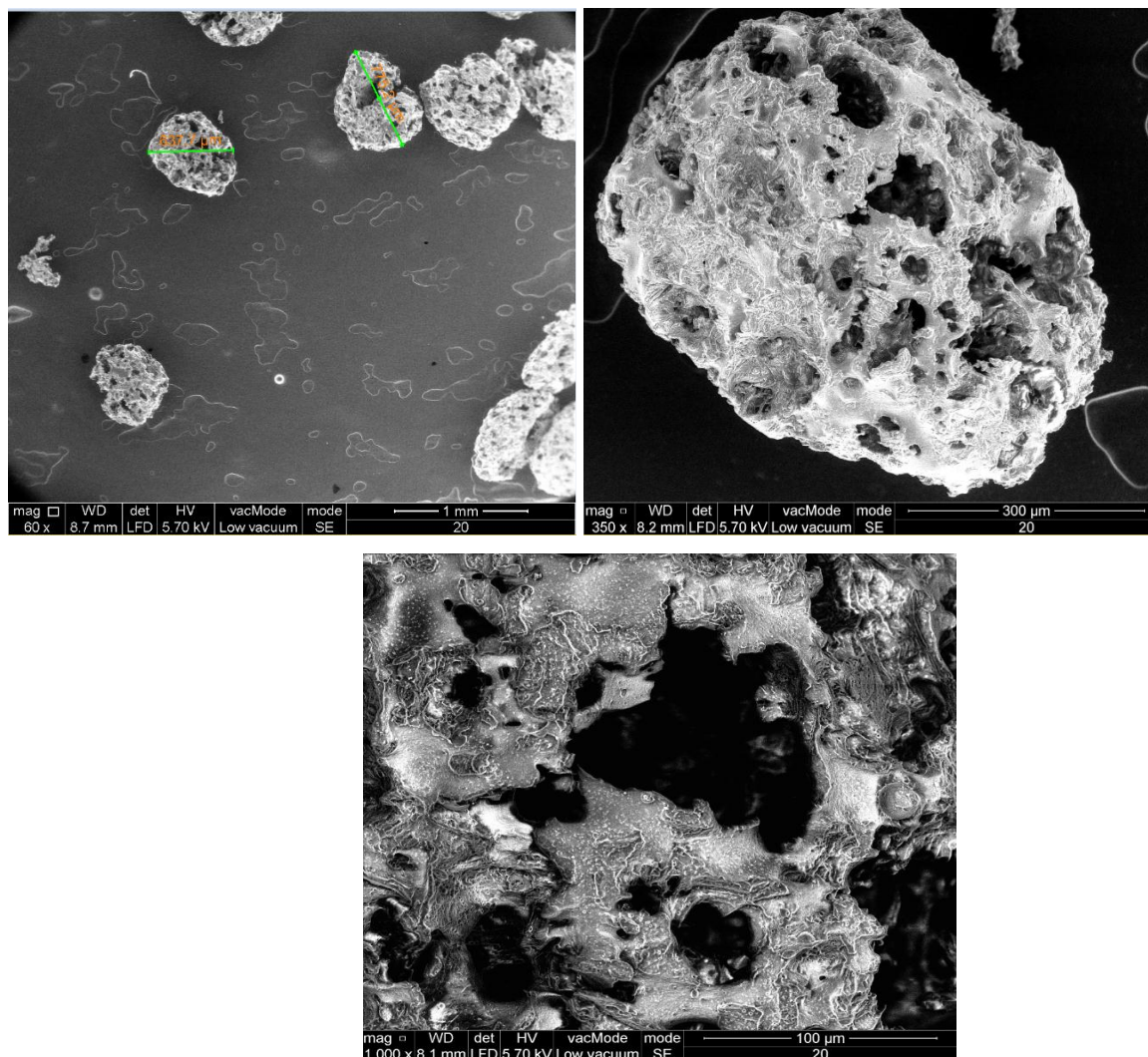
Les microsphères caractérisées par MEB après libération ont été récupérées du milieu (pH=1,2) par filtration puis séchées à l'étuve (T=40°C) pendant 1 heures pour éliminer toutes traces de liquide trouvés sur la surface ou dans les pores des microsphères.



**Figure 136 :** Photos MEB des microsphères TA01 après 10 heures de libération.

L'analyse MEB de TA01 après 10 heures de libération en milieu acide (T=37 °C) montre que la surface des microsphères devient très ridée et elle commence à perdre la forme sphérique. Après une période de 10 heures, la surface des microparticules apparaît particulièrement effondrée par la perte d'ampicilline en solution. La collection de microparticules montre clairement l'affaissement pour 6 microsphères plus de treize. Cette différence peut être expliquée par l'hétérogénéité de la composition "éthylcellulose-ampicilline" du système de matrice interne.



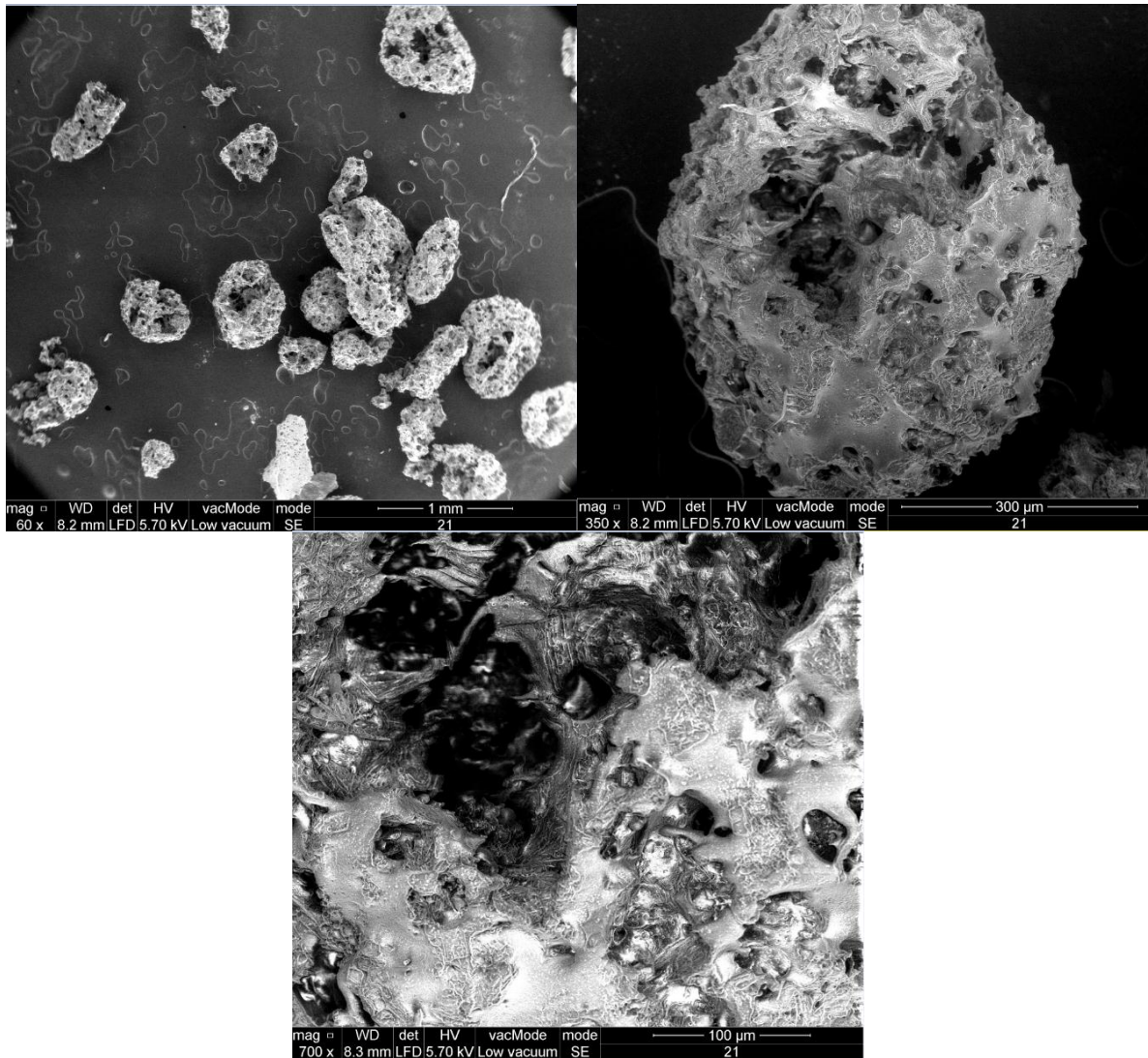


**Figure 137 :** Photos MEB des microsphères TAV1 après libération.

L'analyse MEB de TAV1 et TAT1 après libération en milieu acide ( $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) montre que la totalité des microsphères devienne non sphériques avec des trous très larges. Elles sont devenues comme une grille. Ces images montrent que les microparticules préparées par évaporation de solvant sont de type matriciel, car ce qui est présent sur les photos MEB après libération représente la matrice polymérique non soluble dans le milieu d'étude et les trous représentent l'emplacement de principe actif qui quitte la microsphère après la pénétration de l'eau à l'intérieur de particule et sa solubilité.

On remarque aussi que les formes des microparticules après libération sont différentes les unes des autres en volume total, volumes de pores, tailles des solides restants.

Ce résultat est expliqué par l'hétérogénéité de la composition "éthylcellulose- principe actif" d'une microsphère à une autre.



**Figure 138 :** Photos MEB des microsphères TAT1 après libération.

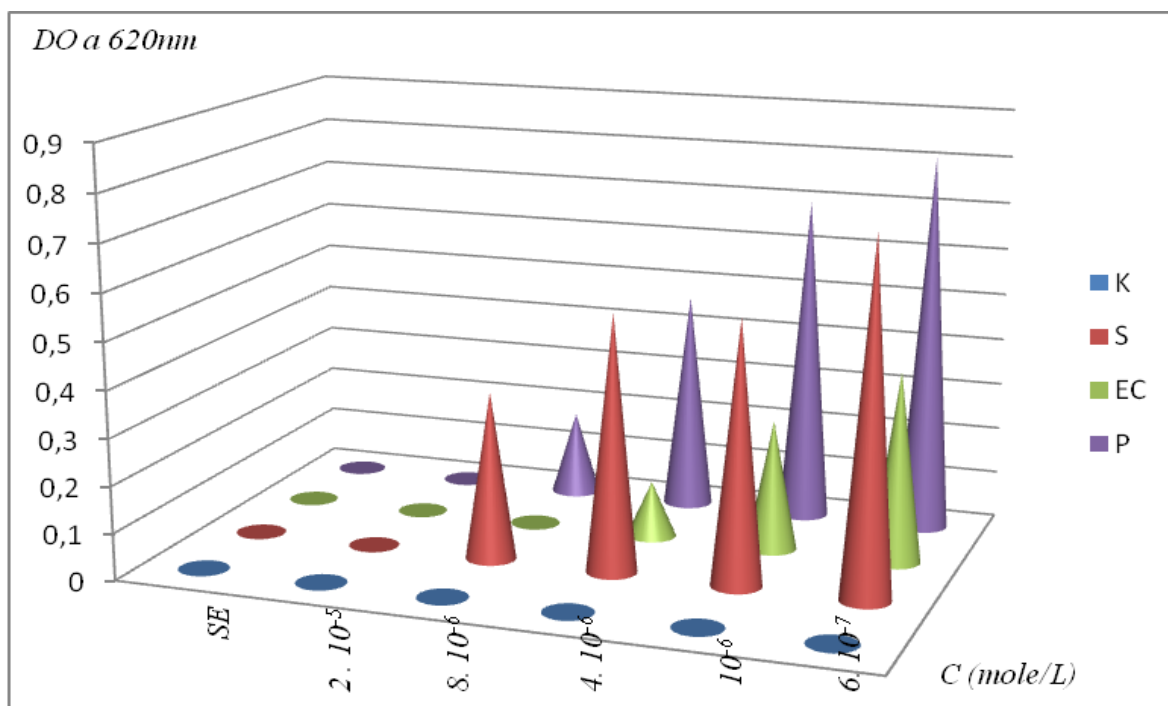


**III.VI. Tests biologiques :****III.VI.1. Introduction :**

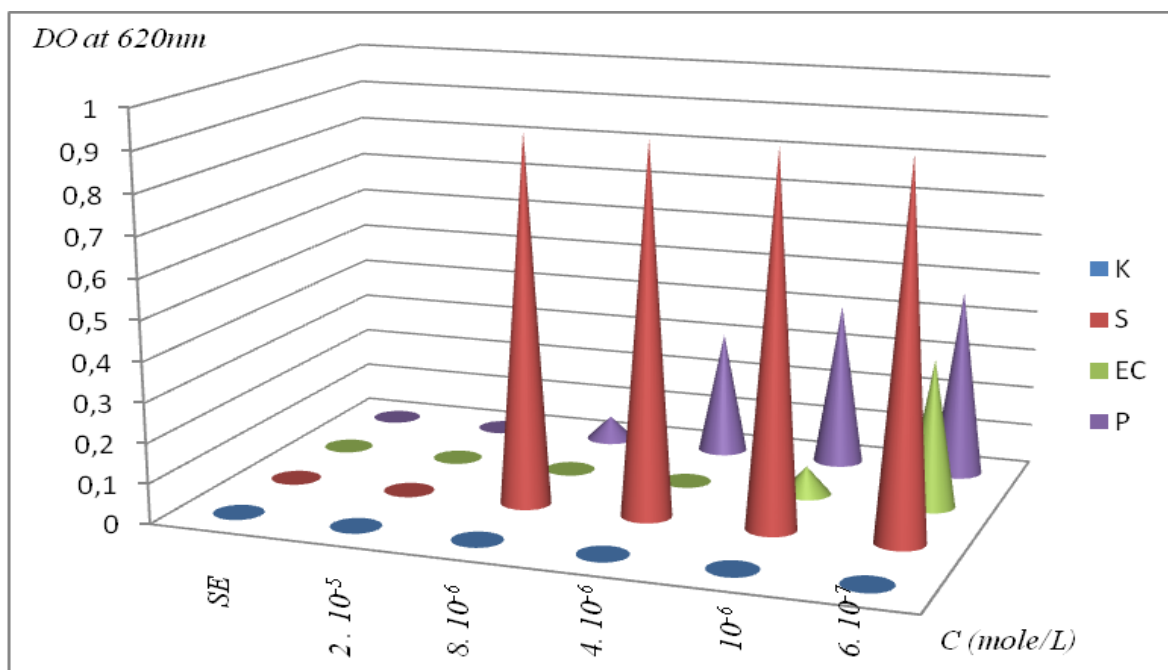
Le premier défi à relever lorsque l'on veut administrer des principes actifs via des microparticules est celui de la stabilité de ces agents actifs pendant l'encapsulation. En effet, les macromolécules sont très fragiles et elles peuvent s'agréger ou subir des dégradations chimiques (216). Si l'agent actif est modifié chimiquement lors de la préparation des microsphères, il ne pourra pas être reconnu dans l'organisme. Son activité biologique sera altérée, et pourra même présenter des effets inattendus. Enfin sa libération à travers les pores créés dans les microsphères sera difficile. Une autre difficulté majeure du développement de microsphères est liée à l'utilisation de solvants organiques toxiques. En effet la méthode classique d'émulsion utilisée pour préparer des microsphères nécessite l'utilisation de solvants volatils toxiques (dichlorométhane, acétone) dans la phase organique.

**III.VI.2. Détermination des CMI :**

Les tests biologiques réalisés nous permettent de vérifier l'efficacité des agents antibiotique après leur encapsulation. On remarque une décroissance en nombre de bactéries, ce qui nous amène à dire que les antibiotiques libérés attaquent ces organismes.



**Figure 139 :** Histogramme de l'évolution de l'ampicilline sur la croissance bactérienne dans le milieu LB.



**Figure 140 :** Histogramme de l'évolution d'ampicilline sur la croissance bactérienne dans le milieu MH.

A partir du tableau 18, nous évaluons la concentration minimale inhibitrice de l'antibiotique pour chaque bactérie. Cette concentration (CMI) est définie comme la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe toute culture visible d'une souche bactérienne après 18 heures de culture à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactériostatique d'un antibiotique. Elle est déterminée soit par observation en UV-VIS soit par l'absence de trouble visible.

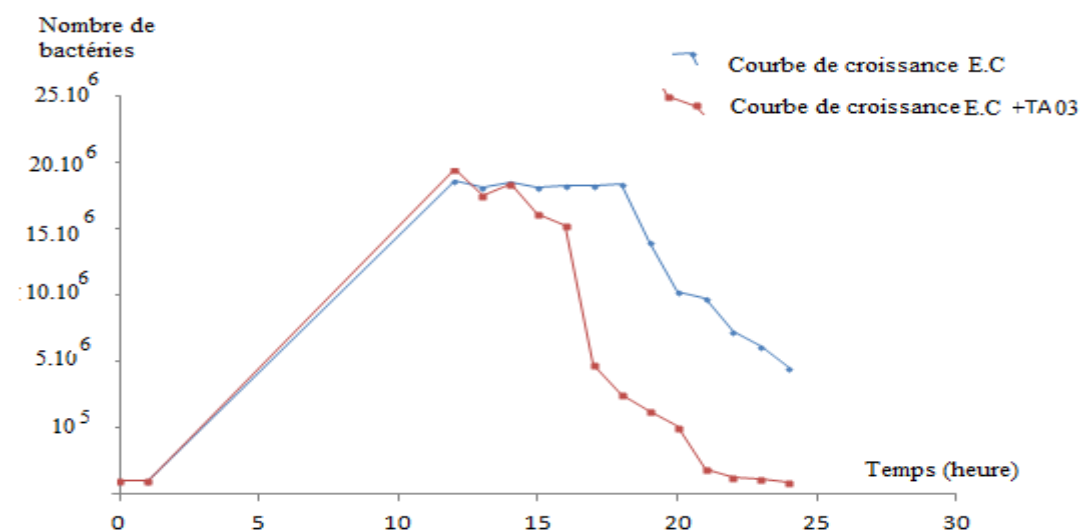
A partir de ces histogrammes (Figures 139 et 140), on peut tirer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) d'amoxicilline et d'ampicilline pour chaque bactérie. Dans le tableau suivant, on présente les CMI correspondantes :

Milieu d'étude	Milieu LB				Milieu MH			
	K	S	E.C	P	K	S	E.C	P
C <sub>AMP</sub> (mole/L)	/	2. 10 <sup>-5</sup>	8. 10 <sup>-6</sup>	2. 10 <sup>-5</sup>	/	2. 10 <sup>-5</sup>	4. 10 <sup>-6</sup>	2. 10 <sup>-5</sup>
C <sub>AMO</sub> (mole/L)	10 <sup>-6</sup>	8. 10 <sup>-6</sup>	4. 10 <sup>-6</sup>	2. 10 <sup>-5</sup>	/	8. 10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-6</sup>	8. 10 <sup>-6</sup>

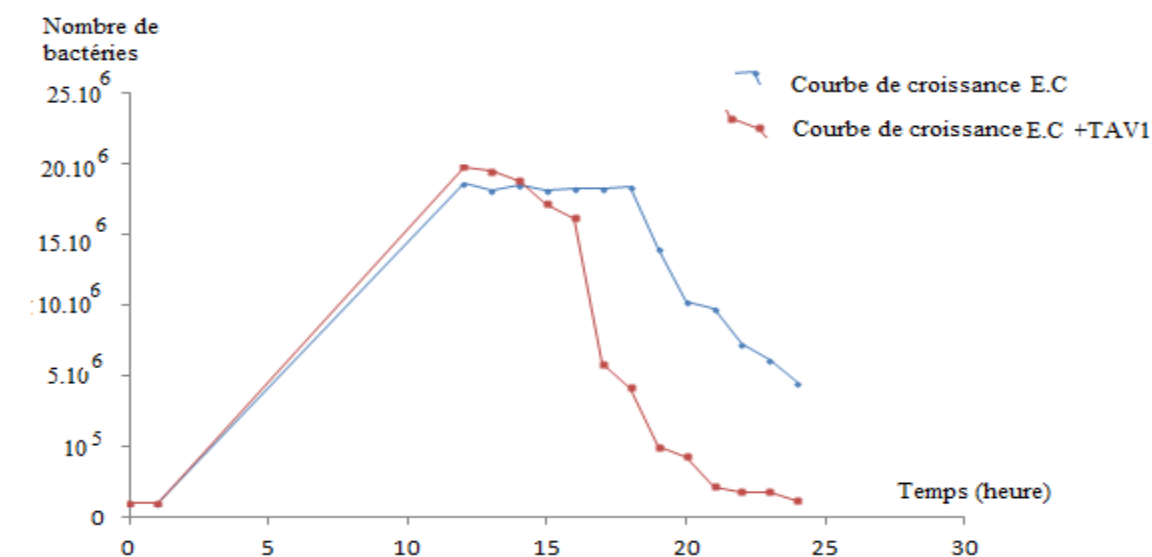
**Tableau 32 :** Concentrations minimales inhibitrices d'ampicilline et d'amoxicilline.

**III.VI.3.Courbe de croissance :**

Au cours de ce travail a été réalisée la courbe de croissance de  $10^5$  bactéries d'Echerichia coli dans 50mL de milieu de culture (MH) pendant 24h. Nous obtenons quatre phases : phase de latence, phase d'accélération, phase maximale stationnaire et la phase de déclin. Dans la partie suivante a été étudié l'effet de 1g de microsphères (TA03 et TAV1) introduit au début de la phase maximale stationnaire (après 11h). Les résultats obtenus sont représentés sur les courbes de figures **141** et **142**.



**Figure 141 :** Courbe de croissance bactérienne en présence des microsphères TA03.

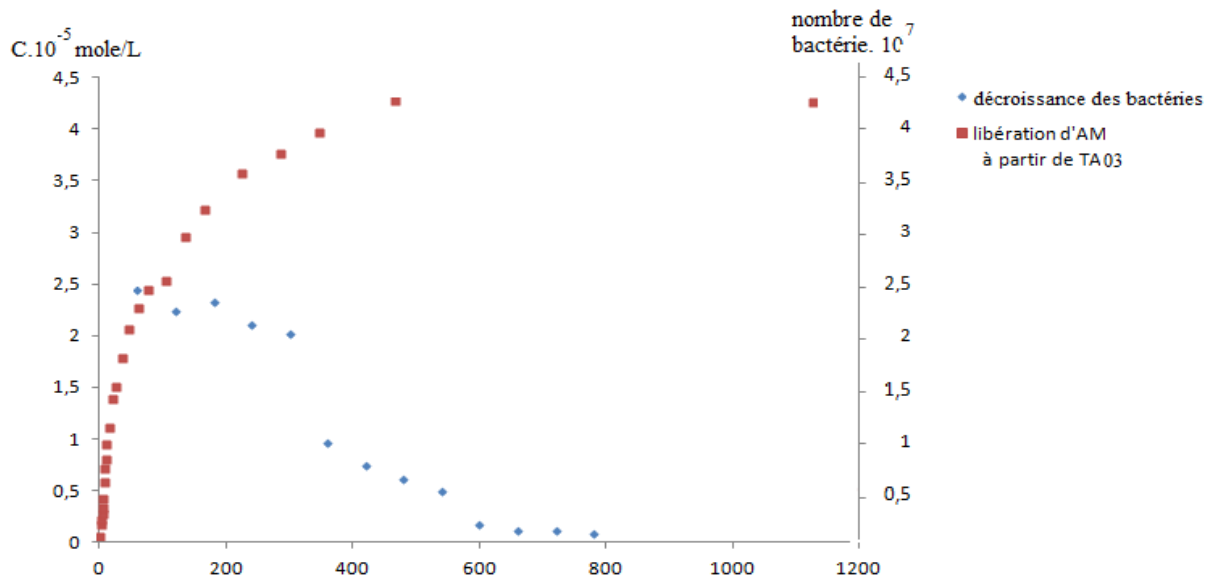


**Figure 142 :** Courbe de croissance bactérienne en présence des microsphères TAV1.

Sur les figures **141** et **142** sont présentées au delà de 11heures les courbes de croissance de la bactérie (E.C) en présence des microsphères TA03 et TAV1, on tire les conclusions suivantes :

- Le taux de croissance nul ( $\mu=0$ ) dure 1h. C'est le temps nécessaire à la bactérie pour synthétiser les enzymes adaptés au nouveau substrat correspond à la phase de latence, suivie en absence des microsphères.
- On observe ensuite une accélération de la vitesse de croissance allant de 2h à 11h environ. Cette étape réalisée en absence des microsphères, est la phase d'accélération. On introduit les microsphères à la fin de cette dernière étape.
- Il y'a absence de la phase maximale stationnaire où le taux de croissance devient nul ( $\mu= 0$ ). et où on note une décroissance des bactéries dûe à la libération prolongée des antibiotiques.
- On remarque que la vitesse de diminution est faible aux premiers instants cela peut être expliqué par la faible concentration libérée en antibiotiques.
- La forte décroissance après 16 heures est dû à la grande concentration libérée en antibiotique.

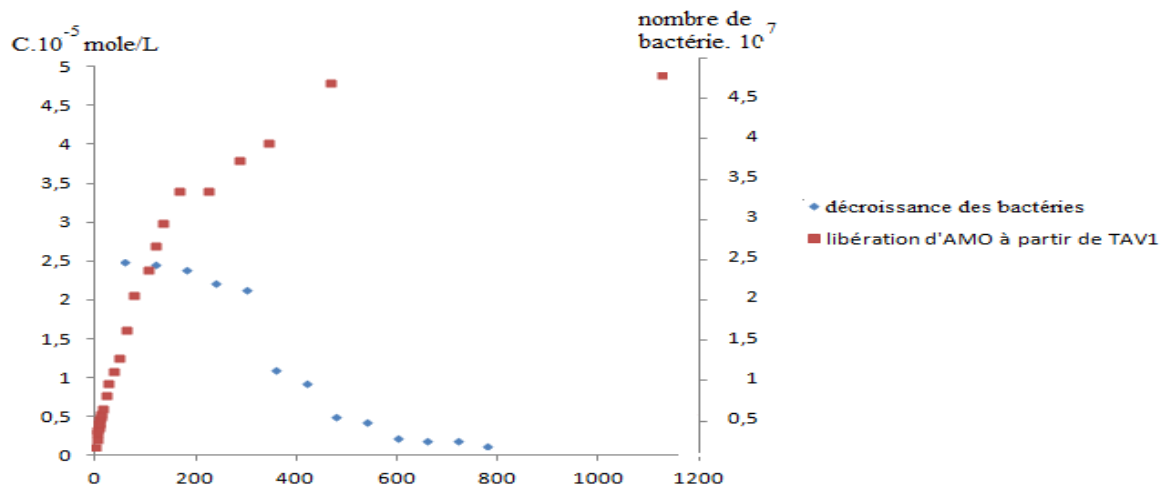
Cette étude nous permet de vérifier l'efficacité des antibiotiques après encapsulation, on note que les antibiotiques sont actifs même après l'encapsulation. L'introduction des microsphères dans les souches bactériennes résulte une diminution de croissance bactérienne jusqu'à la meure totale des bactéries. Cette étude confirme que la microencapsulation est une meilleure méthode pour la préparation des formulations utilisées en libération prolongée des agents actifs.



**Figure 143 :** Courbes représentatives de l'effet d'AM libéré sur la décroissance des bactéries.

Sur la **figure 143**, on remarque qu'à l'introduction des microsphères dans le milieu d'étude, la croissance bactérienne diminue progressivement. Ce résultat montre que les molécules d'ampicilline se diffusent de microsphères agissent contre les bactéries. On note aussi que la concentration d'ampicilline libérée dès l'introduction des microsphères dépasse la concentration micellaire inhibitrice et qu'elle suffira pour immobiliser la croissance bactérienne.

Les mêmes remarques ont été tirées de la **figure 144**, on note que les systèmes "microsphères" permettent la libération d'amoxicilline qui agissent sur les microorganismes choisis.



**Figure 144 :** Courbes représentatives de l'effet d'AMO libéré sur la décroissance des bactéries.

### *Conclusion Générale*

Pour permettre le prolongement de la libération des substances biologiquement actives, deux différentes techniques de la microencapsulation ont été appliquées pour la protection de l'agent actif et la modification de sa libération dans un milieu physiologique reconstitué à température contrôlée.

Pour cela, trois molécules actives, l'ampicilline, l'amoxicilline et la procaïne et trois molécules modèles, le p-aminoacétophénone, le tétra phényl porphyrine et le cinnamaldehyde ont été encapsulées. Ce dernier liquide a été encapsulé par coacervation complexe dans différentes conditions utilisant deux polymères biodégradables : la gomme arabique et la gélatine. Les autres principes actifs ont été encapsulés par évaporation de solvant avec changement de plusieurs paramètres de formulation comme les polymères d'enrobage, le solvant, et la vitesse d'agitation...etc.

Les microparticules préparées ont été caractérisées par FTIR, Microscopie Optique et Électronique à balayage, DSC et DRX.

Les microcapsules de type "réservoir" préparées par la méthode de coacervation complexe appliquée au cinnamaldehyde liquide sont sphériques de diamètres 90µm à 180µm, obtenues des taux d'encapsulation très élevés atteignent les 96%.

Les microsphères réservées à nos principes actifs solides sont de type "matriciel" préparées selon la méthode de l'évaporation de solvant (O/W) engageant comme matrice l'éthylcellulose polymère biocompatible. Les microsphères décrites dans ce travail sont de morphologie sphérique rigide, de porosité et de taux d'encapsulation variable selon les paramètres utilisés.

Le relargage des principes actifs encapsulés a été étudié à partir des deux types de microparticules préparées plongés dans les milieux d'étude agités aux pH physiologiques reconstitués aux pH=1,2 et 7,7 à T=37°C.

L'application des modèles mathématiques d'Higuchi et de Korsmeyer –Peppas à nos résultats montre que la libération des agents actifs est régie essentiellement par le phénomène de diffusion.

L'analyse en microscope électronique à balayage (MEB) des microsphères après libération presque totale de l'agent actif montre des microsphères très ridées avec perte de la forme sphérique par effondrement de cette dernière. Vidée de son agent libéré et solubilisé dans le bain aqueux agité seule est visible la matrice ethylcellulose insoluble.

Les tests biologiques réalisés sur plusieurs souches bactériennes nous ont permis de vérifier le maintien de l'efficacité des deux antibiotiques Ampicilline et Amoxicilline après leur encapsulation, avec une prolongation substantielle de leur action sur la destruction totale des bactéries. Notre étude confirme que la microencapsulation des deux antibiotiques est une méthode meilleure pour l'utilisation de formulations à libération prolongée.

Il est prévu de préparer à l'avenir d'autres systèmes porteurs de médicaments tels que les liposomes et les nanoparticules pour améliorer l'effet retard. Ce type d'étude devrait enfin être complété à l'avenir par des tests in-vivo si l'université se dote de l'animalerie.

## **Références:**

1. Lüllmann H, Mohr K, Ziegler A, "Atlas de poche de pharmacologie" 1998, Ed Flammarion Médecine Sciences, Paris, France, 7-10.
2. Richard J, Benoît J-P, J of Microencapsulation, 2000; 2; 201-210.
3. Mouffok M, Mesli A, Abdelmalek I, Gontier E, J Serb Chem Soc, 2016; 81 (0); 1–19, doi: 10.2298/JSC160308068M.
4. Andrieux K, Desmaële D, D'Angélo J, Couvreur P, L'actualité chimique, 2003; 11-12; 135-139.
5. Ya-Ping L, Yuan-Ying P, Xian-Ying Z, Zhou-Hui G, Zhao-Hui Z, Wei-Yuan Y, Jian-Jun Z, Jian-Hua Z, Xiu-Jian G, Journal of Controlled Release, 2001; 71; 203-211.
6. Kathleen D, Jo V, Guy Van den M, Annick L, International Journal of Pharmaceutics, 2006; 314; 73-82.
7. Kamal D, Kavita P, Malipeddi V-R, Acta Pharm, 2010; 60; 467–478.
8. Cranck J, «The Mathematics of Diffusion»1975, Clarendon, Oxford, 2<sup>nd</sup>. Chap.6; 85-92.
9. Brossard C, Lefort des Ylouses D, Duchène D, Puisieux V, Carstensen J T, J Pharm Sci, 1983 ; 72 ; 162-169.
10. Buri P, J Suisse de Pharm, 1976 ; 114 ; 405-411.
11. Pietrasanta Y, Rigal G, Eur Polym J , 1974 ; 10 ; 933-943.
12. Brossard C, Labo Pharma Prob Techn, 1982 ; 30 ; 75-85.
13. Peppas N A, Bindschaedler C, S T P Pharma, 1986; 2; 38-46.
14. Lee E S, Kim S W, Cardinal J P, Jacobs H, J Member Sci, 1980 ; 7 ; 293-303.
15. Odian G, « Reactions of Polymer. Principles of Polymerization» 1981, 2nd Ed, John Wiley, New –York.
16. Zaffaroni A, Biomedical and Dental Application of Polymers, Ed.G.G.Gebelin, F.K.Koblitz, Vol.14, Polymer Science and Technology, New-York, Plenum Press, 1981. p.283.
17. Kopecek J, «Recent Advances in Drug Delivery Systems» 1984, New-York: Plenum Press.
18. Marina S-P, Kapil A, Andrew O, Kevin S, Abraham J-D, Advanced Drug Delivery Reviews, 2007; 59; 187-206.



19. Dombroski J R, Donaruma L G, J Appl Polym Sc, 1971; 15; 1219.
20. Van der Does L, Van der Velden P M, Mulder M H V, Smolders C A, J Polym Sci Polym Letters, 1976; 14; 5-9.
21. Abdelmalek I, Mesli A, Boudouaia N, Chafi N, Simonneaux G, Mediterranean Journal of Chemistry, 2011; 2; 88-97.
22. Abdelmalek I, Mesli A, Bendahmane M, Chafi N, Simonneaux G, J. Mater. Environ. Sci., 2014; 5 (1); 49-56.
23. Mesli A, Bull.Soc.Chim.Fr.7, 1975, 1745-1751.
24. Mesli A, Tirouflet J, Bull. Soc. Chim. Fr. 7, 1975; 1753-1762.
25. El bahri Z, Chafi N, Mesli A, J. Soc. Chim. Tunisie 6, 2004; 77-84.
26. Sehil H, Bengharez Z, El bahri Z, Merine H, Guemra K, Med. J. Chem; 2011; 3; 125- 134.
27. Monthéard J P, Vergnaud J M, Kolli M, Polym Bull, 1990; 23; 335-340.
28. Chafi N, Kolli M, Vergnaud J M, Monthéard J P, J of Appl Polym Sc, 1991 ; 43 ; 1837-1847.
29. Moulay A-A, Chafi N, Belarbi L, Bengharez Z, Mesli A, J. Mater. Environ. Sci., 2013; 4 (3); 474-481.
30. Hoffmann V, Ringsdorf H, Schamlöffel E, Makromol Chem, 1978; 180; 595.
31. Zhang H, Bré LP, Zhao T, Zheng Y, Newland B, Wang W, Biomaterials, 2014; 35(2); 711-719.
32. Geschwind J, Frey H, Macromolecules, 2013; 46 (9); 3280–3287.
33. Merine H, Bengharez Z, Belarbi L, Mesli A, J. Soc. Chim. Tunisie. 8, 2006; 259-266.
34. Nakatsuji Y, Furuyoschi S, Okahara M, Takemoto K, Macromol Chem and phy, 1986; 187; 105-109.
35. Watarai S, Polymer Bulletin, 1980; 3; 291-296.
36. Simionescu C-I, Persec V, Polymer Bulletin, 1980; 2; 427-434.
37. Persec V, Tocaciu D C, Man E, Simionescu C-I, Polymer Bulltein, 1981; 5; 233-238.
38. Weiner B Z, Zilkha A, J Med Chem, 1973; 16; 573-574.
39. Weiner B Z, Zilkha A, Porath G, Grunfeld Y, Eur J Med Chem, 1976; 11(6); 525-532.
40. Zapilsky S, Gilon C, Zilkha A, Eur Polym J, 1983; 19; 1177.-1182.

41. Kamogawa H, Sakai T, Sohma S, *J Polym Sci Polym Chem*, 1988; 26; 1335-1341.
42. B elarbi L, Mesli A, Guemra K, Chafi N. *J Soc Alger Chim*, 1999, 9(2) ,203-204.
43. Chafi N, Benghalem A, Mesli A, *European Polymer Journal*, 2003; 39; 1063-1670.
44. Ravin H A, Seligman A M, Fine J, *New Engl J Med*, 1952 ; 247 ; 921-929.
45. Vandamme T, Poncelet D, Subra-Paternault P, «Micro encapsulation» 2007, Ed Lavoisier, Paris.
46. Andr -Abrant A, Taverdet J-L, Jay J, *European Polymer Journal*, 2001; 37; 955-963.
47. Jamekhorshid A, Sadrameli SM, Farib M, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2014; 31; 531-542.
48. Bulasara V K, Thakuria H, Uppaluri R, Purkait M K, *Desalination*, 2011; 268; 195-203.
49. Pettiti M, Vanni M, Barresi A A, *Chem Engineering Research and Design*, 2008; 86; 1294-1300.
50. Simon L, *Mathematical Biosciences*, 2009; 217; 151-158.
51. Chan JM, Zhang L, Yuet KP, Liao G, Rhee J.W, Langer R *Biomaterials*, 2009; 30; 1627-1634.
52. Rodrigues da Silva G, Armando da Silva Cunha CJr, Ayres E et Or fice R L, *J Mater Sci : Mater Med*, 2009 ; 20 ; 481-487.
53. Canselier J-P, Poux M, «Techniques de l'Ingenieur "Principe de formulation"», 2004; 67-90; 2 me edition ; Paris.
54. Angelopoulou A, Efthimiadou E K, Boukos N, Kordas G, *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 2014; 117; 322-329.
55. Jianjun F, Yun Z, Shifeng Y, Zhiwen L, Shiming H, Lei C, Jingbo Y, *Acta Biomaterialia*, 2014; 10; 276-288.
56. Abdel Mouez M, Zaki N M, Mansour S, Geneidi A S, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2014; 51; 59-66.
57. Tianzhu Z, Qiying Z, Kun F, Jun D, Ning G, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 2014; 452; 115-124.

58. Zhao X, Wu J, Gong F-L, Cui J-M, Janson J-C, Ma G-H, Su Z-G, Powder Technology, 2014; 253; 444-452.
59. Liu X, Yu Y, Zhao M, Zhang H, Li Y, Duan G, Food Chemistry, 2014; 150; 206-212.
60. Estevinho B N, Rocha F, Santos L, Alves A, Trends in Food Sciences & Technology, 2013; 31; 138-155.
61. Khalie M A, Champagne C P, Salmieri S, Britten M, St-Gelais D, Fustier P, Lacroix M, LWT- Food Sciences and Technology, 2014; 56; 111-117.
62. Cheong H G, Paul Wan S H, Lai W C, Carbohydrate Polymers, 2012; 88; 1-12.
63. Heidebach T, Forst P, Kulozik U, Food Hydrocolloids, 2009; 23; 1670-1677.
64. Solomon B, Shale F F, Gebre-Mariam T, Asres K, Neubert R H H, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2012; 80; 61-66.
65. Konuklu Y, Unal M, Paksoy H O, Solar Energy Materials & Solar Cells, 2014; 120; 536-542.
66. Chen A Z, Li Y, Chau F-T, Lau T-Y, Hu J-Y, Zhao Z, Mok D K-W, Acta Biomaterialia, 2009; 5; 2913-2919.
67. Bordes C, Freville V, Ruffin E, Marote P, Gauvrit J Y, Briançon S, Lantéri P, International Journal of Pharmaceutics, 2010; 383; 236-243.
68. Salaun F, Creach G, Rault F, Giraud S, Polymer Degradation and Stability, 2013; 98; 2663-2671.
69. Cook M T, Tzortzis G, Charalampopoulos D, Khutoryanskiy V V, International Journal of Pharmaceutics, 2014; 466; 400-408.
70. Im H-Y, Sah H, International Journal of Pharmaceutics, 2009; 382; 130-138.
71. Luz S-S, Juan F R, Amaya R, Borreguero A M, Carmona M, Snchez P, Chemical Engineering Journal, 2010; 157; 216-222.
72. Konuklu Y, Paksoy H O, Unal M, Konuklu S, Energy Conversion and Management, 2014; 80, 382-390.
73. Rokstad A-M A, Lacik I, Vos P D, Strand B L, Advanced Drug Delivery Reviews, 2014; 67-68; 111-130.
74. Qv X-Y, Zeng Z-P, Jiang J-G, Food Hydrocolloids, 2011; 25; 1596-1603.
75. Ahmad M, Madani A, Usman M, Munir A, Akhtar N, Haji M, Khan S, World Academy of Sciences, Engineering and Technology, 2011; 75; 384-387.

76. Chen L, Xu L, Shang H, Zhang Z, *Energy Conversion and Management*, 2009; 50; 723-729.
77. Jiang M, Song X, Ye G, Xu J, *Composites Science and Technology*, 2008; 68, 2231-2237.
78. Almeida A P, Rodriguez-Rojo S, Serra A T, Vila-Real H, Simplicio A L, Delgado I, Da Costa S B, Da Costa L B, Nogueira I D, Duarte C M M, *Innovative Food Sciences and Emerging Technologies*, 2013; 20; 140-145.
79. Glaucia A R, Favaro-Trindade C S, Ferreira Grosso C R, *Food and Bioprocess Processing*, 2012; 90; 37-42.
80. Antunes A E C, Liserre A M, Coelho A L A, Menezes C R, Moreno I, Yotsuyanagi K, Azambuja N C, *LWT-Food Sciences and Technology*, 2013; 54; 125-131.
81. Wang Q, Fu A, Li H, Liu J, Guo P, Zhao X S, Xia L H, *Carbohydrate Polymers*, 2014; 111; 393-399.
82. Pitaksuteepoung T, Davies N M, Rades T, *Eur J Pharm Biopharm*, 2002; 53; 335-342.
83. Janssen L J J M, Nijenhuis K, *J Membrane Sci*, 1992; 65; 59-75.
84. Bouchemal K, Briançon S, Fessi H, Chevalier Y, Bonnet I, *Material Sci Eng*, 2006; 26; 472-480.
85. Liang C, Lingling X, Hongbo S, Zhibin Z, *Energ Convers Manage*, 2009; 50; 723.
86. Yu D G, An J H, *Colloid surface*, 2004; 237, 87-93
87. Dewettinck K, Huyghebaert A, *Trends Food Sci Tech*, 1999; 10; 163-168.
88. Krober H, Teipel U, *Chem Enginner Process*, 2005; 44; 215-219.
89. Chen A Z, Li Y, Chau F T, Lau T Y, Hua J Y, *Acta Biomaterialia*, 2009; 5; 2913-2919.
90. Garay I, Pocheville A, Madariaga L, *Powder Tech*, 2010; 197; 211-217.
91. Yea S D, Kirana E, *J Supercrit Fluid*, 2005; 34; 287-308.
92. Thote A J, Gupta R B, *Nanomedicine*, 2005; 1; 85-90.
93. Heidebach T, Forst P, Kulozik U, *Food hydrocolloid*, 2009; 23; 1670-1677.
94. Silva C M, Ribeiro A J, Figueiredo I V, Goncalves A R, Veiga F, *Int J Pharm*, 2006; 311; 1-10.
95. Yufero M, Fernandez-Diaz C, Pascual E, *Aquaculture*, 2005; 248; 253-262.

96. Liu S, Elmer C, Low N H, Nickerson M T, Food Res Int, 2010; 43; 489-495.
97. Moschakis T, Murray B S, Biliaderis C G, Food Hydrocolloid, 2010; 24; 8-17.
98. Weib G, Knoch A, Laicher A, Stanislaus F, Daniels R, int J Pharm, 1995; 124; 87-96.
99. Palomo M E, Ballestros M P, Frutos P, J Microencapsul, 1996; 13; 307-318.
100. Freitas S, Merkle H P, Gander B, J Control Release, 2005; 102; 313-332.
101. Vulliet R, BioTechniques, 1996; 20 (5); 797-800.
102. Srinu Naik S, Anand Kishore K, International Journal of Pharmaceutical Applications, 2012; 3(3); 375-379.
103. Jönsson B, Lindman B, Holmberg K, Kronberg B, "Surfactants and Polymers in Aqueous Solution", 1998, Ed. John Wiley & Sons, Chapter 1.
104. Jiao J, Burgess D, Journal of Colloid and Interface Science, 2003; 264; 509-516.
105. Ghosh S, International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences, 2011; 2(2); 751-759.
106. Schulman J H, Stoeckenius W, Prince L M, J Phys Chem, 1959; 63 (10); 1677-1680.
107. Kabalnov AS, Pertzov AV, Shchukin ED, Colloids and Surfaces, 1987; 24; 19-32.
108. Kabalnov AS, Makarov KN, Pertzov AV, Shchukin ED, Journal of Colloid and Interface Science, 1990; 138; 98-104.
109. Robin O, Blanchot V, Vuilleumard J, Paquin P, Lait, 1992; 72, 511-531.
110. Sjöblom J, "Emulsions and Emulsion Stability ", 2005; 2nd Edition; CRC Press; Taylor & Francis, New York
111. Forgiarini A, Esquena J, Gonzalez C, Solans C, Progr Colloid Polym Sci, 2001; 118; 184-189.
112. Daniel Schuster, "Encyclopedia of Emulsion Technology", 1996; volume 4; CRC Press, USA.
113. McClements D J, "Food Emulsions: Principales, Practice and Techniques"; 1999; CRC Press LLC, USA.
114. Walstra P, Smulders P E A, "Emulsion Formation, Modern aspects of emulsion science, 1998; Ed B P Binks, The Royal Society of Chemistry; Cambridge, 56-99.

- 115.**Harnby N, Edwards MF, Nienow AW, *Mixing in the Process Industries*, Ed. Butterworth Heinemann, 1992; Chapter 14.
- 116.**Dimitrova T, Leal-Calderon F, *Advances in Colloid and Interface Science*, 2004; 108 –109; 49–61.
- 117.**Langenfeld A, Stébé MJ, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2002; 4; 322-327.
- 118.**Cousin F, Gummel J, Combet S, Boué F, *Advances in Colloid and Interface Science*, 2011; 167; 71-84.
- 119.**Kizilay E, Kayitmazer A B, Dubin P I, *Advances in Colloid and Interface Science*, 2011; 167; 24-37.
- 120.**Wang B, Adhikari B, Barrow C J, *Food chemistry*, 2014; 158; 358-365.
- 121.**Nesterenko A, Alric I, Silvestre F, Durrieu V, *Industrial Crops and Products*, 2013; 42; 469-479.
- 122.**Biswaranjan M, Aswal V K, Kohlbrecher J, Bohidar H B, *J Surface Sci Technol*, 2005; 21 (3-4), 149-160.
- 123.** Bhattacharyya A, Argillier J-F, *J Surface Sci Technol*, 2005; 21(3-4); 161-168.
- 124.**Alvim I D, Grosso C R F, *Cienc Tecnol Aliment Campinas*, 2010; 30(4); 1069-1076.
- 125.**Kamdem E P, Shabbar A, Yi L, Ntsamad I S B, Xiaoming Z, *Pak J Food Sci*, 2013; 23(1); 17-25.
- 126.**Agnihotri N, Mishra R, Goda C, Arora M, *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2012; 2(1); 1-20.
- 127.**Venkata N J N, Prasanna P M, Narayan Sakarkar S, Surya P S, Seetha R P, Srava G, *Journal of Microencapsulation*, 2010; 27(3); 187–197.
- 128.**Xiao J-X, Yu H-Y, Yang J, *Food Chemistry*, 2011; 125; 1267-1272.
- 129.**Schmitt Christophe, Turgeon S I, *Advances in Colloid and Interface science*, 2011; 167; 63-70.
- 130.**Siow L-F, Ong C-S, *J Food Process technol*, 2013; 4(1); 1-5.
- 131.**Bi-Botti C. Y, Alamdar H, Nga T N, *AAPS PharmSci*, 2003; 5 (2), 1-9.
- 132.**Ming L, Rouaud O, Poncelet D, *International Journal of Pharmaceutics*, 2008; 363; 26-39.
- 133.**Kemala T, Budianto E, Soegiyono B, *Arabian Journal of Chemistry*, 2012; 5; 103-108.

134. Youn R H, Dong H L, Sun H K, Young J S, Minhee Y, Jae S S, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 2010; 16; 728-733.
135. Basu S K, Adhiyaman R, *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 2008; 7 (3); 1033-1041.
136. Behera A L, Patil S V, Sahoo S K, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2011; 3(1); 32-35.
137. Diaf K., El Bahri Z., Chafi N., Belarbi L., Mesli A., *Chemical Papers*, 2012; 66 (8); 779–786.
138. Jelvehgari M, Hassanzadeha D, Kiafara F, Loveymia B D, Amiri S, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2011; 10 (3); 457-467.
139. Akash M S H, Furqan I, Musa R, Kanwal R, Shabbir A, Shahzad Y, Shah S N H, *J Pharm Drug Deliv Res*, 2013; 2(1); 1-10.
140. Abdelmalek I, Svahn I, Mesli S, Simonneaux G, Mesli A, *J. Mater. Environ. Sci*, 2014; 5 (6); 1799-1807.
141. Zolnik B S, Burgess D J, *Journal of controlled release*, 2008; 127; 137-145.
142. Anal A K, Stevens W F, Carmen R-L, *International Journal of Pharmaceutics*, 2006; 312; 166-173.
143. Jin F-L, Park S-J, *J Ind Eng Chem*, 2007; 13(4), 608-613.
144. Ansari T, Farheen M, Hasnain S, Hoda M N, Nayak A K, *Elixir Pharmacy*, 2012; 47; 8821-8827.
145. El bahri Z, Taverdet J-L, *Polymer Bulletin*, 2007; 59; 709-719.
146. Piotrowics A, Shoichet M S, *Biomaterials*, 2006; 27; 2018-2027.
147. Nesterenko A, Alric I, Silvestre F, Durrieu V, *Food Research International*, 2012; 48; 387-396.
148. Kasting G B, Bhatt V D, Speaker T J, *Toxicology in Vitro*, 2008; 22; 548-552.
149. Grumezescu V, Socol G, Grumezescu A M, Holban A M, Ficai A, Trusca R, Bleotu C, Balaure P C, Cristescu R, Chifiriun M C, *Applied Surface Science*, 2014; 302; 262-267.
150. Freitas S, Merkle H P, Gander B, *Journal of Controlled Release*, 2005; 102; 313-332.
151. Fernández-Carballido A, Herrero-Vanrell A, Molina-Martinez I T, Pastoriza P, *International Journal of Pharmaceutics*, 2004; 279; 33–41.

152. Kang J, Wu F, Cai Y, Xu M, He M, Yuan W, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2014; 62; 141-147.
153. Le Hir A, Chaumeil J-C, Brossard D, "Biodisponibilité des formes orales, en Pharmacie galénique: Bonne pratique de fabrication des médicaments", MASSON: Paris, 2009; p 275.
154. Uchizono J A, "Application of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, Design of Controlled Release Drug Delivery Systems", McGraw Hill, 2006, p1.
155. Aiache J M, Guyot-Hermann A M, *Galenica 2 : Biopharmacie* 1982; Paris: Tech et DOC.
156. Pourcelot-Roubeau Y, Rochat M H, "Excipient ou substance auxiliaire et développement pharmaceutique, 1990; in S.T.P. PHARMA; 190-193.
157. Igor G, Mattiasson B O, "Smart polymers Applications in Biotechnology and Biomedicine", 2008; CRC Press, New York, 2<sup>ème</sup> édition, 148-166.
158. Xiaoling L I, Bhaskara R J, "Design of Controlled Release Drug Delivery Systems", 2006; McGRAW-HILL; New York.
159. Hui H-W, Robinson J R, Lee V H, In : "Design and Fabrication of Oral Controlled Release Drug Delivery Systems, Drugs and the Pharmaceutical Sciences : Controlled Drug Delivery Fundamentals and Applications", 1987; Ed. D.L. Wise; Marcel Dekker; New York; 373-432.
160. Jantzen G W, Robinson J R, "In: Sustained- and Controlled-Release Drug-Delivery Systems, Drugs and Pharmaceutical Sciences; Modern Pharmaceutics", 2002; Ed. G.S. Banker; C.T. Rhodes; Marcel Dekker; New York; 501-528.
161. Welling P G, Dobrinska M R, "In : Dosing Consideration and Bioavailability Assessment of Controlled Drug Delivery Systems, Drugs and the Pharmaceutical Sciences : Controlled Drug Delivery Fundamentals and Applications", 1987; Ed. D.L. Wise; Marcel Dekker; New York; 253-291.
162. Cranck J, "The Mathematics of Diffusion, Clarendon", 1975; Oxford; 2nd Ed; Chap 6; 85.
163. Banker G S, Rhodes C T, "Modern Pharmaceutics", 2002; Marcel Dekker; New York; 4eme édition; 7-11.
164. Tahara K, Yamamoto K, Nishihata T, *Journal of Controlled Release*, 1995; 35; 59- 66.



- 165.**Mourao S C, Da Silva V, Bresolin T M B, Serra C H R, Porta V, *International Journal of Pharmaceutics*, 2010; 386; 201-207.
- 166.**Kalam M A, Humayun M, Parvez N, Yadav S, Garg S, Amin S, Sultana and Y, Ali A, *Continental J. Pharmaceutical Sciences*, 2007; 1; 30-35.
- 167.**Akhter D T, Uddin R, Sutradhar K B, Shohel Rana M D, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2012; 4(3); 1573-1579.
- 168.** Akhter M, Banik S, Salim Hossain M, *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2012; 02(05); 188-194.
- 169.**Costa P, Lobo J M S, *European Journal of pharmaceutical Sciences*, 2001; 13; 123-133.
- 170.**Korsmeyer R W, Gurny R, Doelker E, Buri P, Peppas N A, *Int. J. Pharm.*, 1983; 15; 25-35.
- 171.**Dash S, Murthy P N, Nath L, Chowdhury P, *Acta Poloniae Pharmaceutica-Drug Research*, 2010; 67(3); 217-223.
- 172.**Riger P L, Peppas N A, *J. Control. Rel.*, 1987; 5; 37-42.
- 173.**Leclerc A H, Zhang X, Topaloglu H, Cruaud C, Tesson F, Weissenbach J, Tomé F M, *Nat Genet* 1995; 11; 216-218.
- 174.**Derrieu G, Raynier B, Ascher F, Gardey L, *Revue Méd. Vét.*, 2000; 151, 2, 109-117.
- 175.**Schedel F, *Zentrbl chirurgie*, 1958; 83(44); 2038-2041.
- 176.**Shih-Hua F, Yerra K R, Yew-Min T, *International Journal of Applied Science and Engineering*, 2004; 2(2); 136-147
- 177.**Allinger N L, Cava M P, De Jongh D C, Johnson C R, Lebel N H, Stevens C L, « *Chimie Organique* » 1975; Mc Graw Hill; Paris; 592-593.
- 178.**Looker A R, Littler B J, Blythe T A, Snoonian J R, Ansell G K, Jones A D, Nyce P, Chen M, Neubert B J, *Organic Process Research and Development* 2008; 12; 666-673.
- 179.**Laidaoui M, Miloudi A, Boyer G, El Abed D, *J Soc Alger Chim* 2006; 16(2); 203-208.
- 180.**Schotten C, *Chem Ber* 1888; 21; 2235-2254.
- 181.**Baumann E, *Chem Ber* 1886; 19; 3218-3222.
- 182.**Brandrup J, Immergut E H, Grulke E H, « *Polymer hand book* » Vol II 1999; Wiley-Interscience; Hoboken; New-Jersey USA.

- 183.**Rothmund P, J Am Chem Soc, 1935; 57; 2010-2011.
- 184.**Rothmund P, J Am Chem Soc, 1936; 58; 625-627.
- 185.**Adler A D, Longo F R, Finarelli J D, Goldmacher J, Assour J, Korsakoff J, J Org Chem, 1967; 32; 476.
- 186.**Kiil S, Dam-Johansen K, J Control.Release, 2003; 90, 1-21.
- 187.**Shiga H, Yoshii H, Nishiyama T, drying technology, 2001; 19, 1385-1395.
- 188.**Feyza T, Merve T-T, Muhammet D, Deniz C, Talip K, Food Research International, 2014 ; 57, 168-175.
- 189.**Krishnan S, Bhosale R, Sjnghal R S, Carbohydrate polymers, 2005; 61, 95-102.
- 190.**Olivares M L, Peirotti M B, Deiber J A, Food Hydrocolloids, 2006; 20, 1039-1049.
- 191.**Carvalho R A, Grosso C R F, Brazilian Journal of Chemical Engineering, 2006; 23(1), 45-53.
- 192.**Yeo Y, Bellas F, Firestone W, Langer R, Kohane D S, J Agric Food Chem, 2005; 53, 7518-7525.
- 193.**Shen X, Deng G, Wang B, Dong L, Anal Bioanal Chem, 2006; 384, 931-938.
- 194.**Mahmood I, Chengzhi C, Kalsoom M, Yan H, Hui L, Muhammad A, J Chem Soc Pak, 2011; 33(5), 634-639.
- 195.**Sharif A, Achraf SM, Naqvi F, Yadav S, Zafar F, Progress in Organic Coatings, 2006; 56, 1-7.
- 196.**Hailian Z, Yi H, Sai L, Xiaobo L, Polymer Degradation and stability, 2005; 88, 309-316.
- 197.**Ozge E, Usanmaz A, Keskin D, Tezcaner A, Colloids and Surface B: Biointerfaces, 2014; 117, 487-496.
- 198.**Handbook of Chemistry and Physics 75th Ed., 1995; Chap. 6, 85-92.
- 199.**Wörner C, Müller P, Mülhaupt R, Polymer, 1998; 39(3), 611-620.
- 200.**Kaczmarski K., Bellot J. C., Acta Chromatographica, 2003; 13, 22-37.
- 201.**United States Pharmacopeia (USP 27); The National Formulary (NF 22), (2004).
- 202.**Aiache J M, Devissaguet J Ph et Guyot-Hermann A M, Galencia II, Biopharmacie, Technique et Documentation, Paris 1<sup>ère</sup> Ed, 1978; 584.

- 203.** Shimizu R, Sukegawa T, Tsuda Y, Itoh T, *International Journal of Pharmaceutics*, 2008; 354, 104-110
- 204.** Stanier R Y, Niel C B, *Arch Mikrobiol*, 1962; 42, 17–35.
- 205.** Schulz H, Jorgensen B, *Annu Rev Microbiol*, 2001; 55, 105 – 137.
- 206.** Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T, "Molecular Cloning: a laboratory manual", 1989, 2<sup>nd</sup> edition, Cold Spring Harbor, New York.
- 207.** Jégat C, Taverdet J-L, *Polymer Bulletin*, 2000; 44; 345-351.
- 208.** Tirkkonen S, Turraka L, Paronen S, *Journal of microencapsulation*, 1994; 11(6), 616-626.
- 209.** Urbán-Morlán Z, Mendoza-Elvira S E, Hernández-Cerón R S, Alcalá-Alcalá S, Ramírez-Mendoza H, Ciprián-Carrasco A, Piñón-Segundo A, Quintanar-Guerrero D, *J Mex Chem. Soc*, 2015; 59; 173.
- 210.** Rosca I D, Watari F, Uo M, *J Control Rel*, 2004; 99; 271-280
- 211.** Bodemeier R, Chen H, *J of Control Release*, 1989; 10; 167-175.
- 212.** Lamoudi L, Chaumeil JC, Daoud K, *Ann Pharm Fr*, 2015; 73(1); 37-42.
- 213.** Gergely V, Ruiz R, Box K, Comer J, Bosch E, Takacs-Novak K, *Analytica Chimica Acta*, 2007; 583; 418-428.
- 214.** Babic S, Horvat A J M, Pavlovic D M, Kastelan-Macan M, *Trends in Analytical Chemistry*, 2007; 26; 11; 1043-1061.
- 215.** Armareg W L F, Christina L L C, « Purification of Laboratory Chemicals» 2009; Butter Worth-Heinemann; Burlington; USA; 227-228.
- 216.** Romero H, Vivas J, Chalbaud V, Ledezma E, Apitz-Castro A, *Journal of Mycologie Médicale*, 2000; 10; 3; 152.

## Liste des tableaux

N°	page	Légende
1	13	Présentation des différents domaines d'applications de la microencapsulation.
2	15	Principaux polymères utilisés pour obtenir des structures microparticulaires.
3	16	Les Procédés de la microencapsulation.
4	45	Quelques exemples de biopolymères utilisés en solvant aqueux dans la coacervation simple.
5	45	Quelques exemples de biopolymères utilisés en solvant non aqueux dans la coacervation simple.
6	45	Quelques exemples de biopolymères utilisés en coacervation complexe.
7	77	Résultats de la synthèse de Schotten-Baumann.
8	92	Caractéristiques des réactifs utilisés pour la synthèse du poly $\epsilon$ -caprolactone.
9	95	Résultats de l'étude viscosimétrique du polycaprolactone.
10	96	Déplacements chimiques des signaux en RMN <sup>1</sup> H du PCL.
11	103	Vitesses de l'abaissement de température de différents échantillons.
12	107	Les paramètres modifiés dans les formulations par évaporation de solvant.
13	112	Résultat granulométrique de AGG01
14	119	Valeurs de $\lambda_{\max}$ des principes actifs dans les milieux d'étude.
15	120	Valeurs $\epsilon_{\max}$ des principes actifs dans le milieu et la température d'étude.
16	126	Valeurs de DO et de V <sub>2</sub> prélevé du milieuensemencé.
17	127	Les solutions préparées des antibiotiques extraits des microsphères.
18	128	Les densités optiques mesurées après incubation.
19	132	Rendements des formulations des microcapsules.
20	133	Morphologie des microcapsules.
21	134	Distribution en taille des échantillons préparés.
22	144	Teneur%, Rdt% et diamètres moyens des microsphères.
23	170	Les concentrations micellaires critiques de la gélatine, SDS et du Tween 80.
24	174	Les formes prédominantes des principes actifs dans le milieu d'étude pH=1,2.
25	175	Les formes prédominantes des principes actifs dans le milieu d'étude pH=7,7.
26	178	Exemple de calcul des pourcentages libérés d'AMO à partir de TAG.
27	194	Les masses initiales et les masses infini des formulations étudiées au pH=1,2 et pH=7,7.
28	197	Valeurs des diffusivités pour les différentes formulations étudiées à pH=1,2 et pH=7,7.

## Liste des tableaux

---

<b>29</b>	<b>198</b>	Coefficients de corrélation et constantes de libération à partir des microsphères au pH=1,2.
<b>30</b>	<b>199</b>	Coefficients de corrélation et constantes de libération à partir des microsphères au pH=7,7.
<b>31</b>	<b>208</b>	Résultats des cinétiques de libération de CN à partir des microcapsules préparées par coacervation complexe.
<b>32</b>	<b>218</b>	Les concentrations micellaires inhibitrices d'ampicilline et d'amoxicilline.

Liste des figures

N°	page	Légende
1	6	Profil des concentrations plasmatiques obtenues à partir des différentes formes à libération modifiée.
2	15	Morphologies des Microparticules.
3	17	Représentation du procédé de microencapsulation par polymérisation (polymérisation) interfaciale.
4	18	Principe du procédé de microencapsulation par polymérisation en milieu dispersé
5	20	Représentation schématique de microencapsulation par méthode d'enrobage en lit fluidisé
6	22	Représentation schématique de l'atomiseur.
7	23	Schéma de principe d'un appareillage d'atomisation.
8	28	Molécule d'un tensioactif.
9	29	Les types de micelles.
10	30	Paramètres Géométriques d'un tensioactif.
11	31	Représentations schématiques des différents types d'émulsion.
12	32	Structure bicontinue des microémulsions.
13	39	Différents types d'écoulements bidimensionnels et leurs effets sur la déformation d'une goutte.
14	43	Stabilité des émulsions.
15	47	Schéma du principe d'encapsulation par coacervation complexe.
16	53	Les étapes principales de la microencapsulation par évaporation de solvant.
17	57	Représentation des limites de l'écart thérapeutique délimité par la concentration minimale efficace et la concentration toxique.
18	59	Systèmes à libération déclenchée et prolongée.
19	60	Processus de gonflement d'un hydrogel.
20	62	Cinétique de libération à partir de microparticules bioéodibles (A) /biodégradables (B et C) pour la libération prolongée.
21	63	Microparticules à libération programmée.
22	64	Cinétiques de libération d'ordre 0 (a) et d'ordre 1 (b) après administration orale d'une forme à libération prolongée.
23	65	Représentations graphiques du « Burst effect » et du « Lag time », délai de libération.
24	67	Représentation schématique d'une paroi matricielle.
25	72	Structure semi-développée de l'ampicilline.
26	73	Structure semi-développée de l'amoxicilline.
27	74	Structure chimique de chlorhydrate de procaïne.
28	75	Structure chimique du cinnamaldéhyde.
29	76	Mécanisme réactionnel pour la synthèse de l'amide.

<b>30</b>	<b>77</b>	Spectre FTIR de l'amide.
<b>31</b>	<b>79</b>	Spectre RMN <sup>1</sup> H de l'amide.
<b>32</b>	<b>80</b>	Spectre RMN <sup>13</sup> C de l'amide.
<b>33</b>	<b>82</b>	Réaction de la synthèse de la tétraphénylporphyrine.
<b>34</b>	<b>83</b>	Spectre UV-VIS de la tétraphénylporphyrine dans l'acétone.
<b>35</b>	<b>84</b>	Spectre RMN <sup>1</sup> H de la tétraphénylporphyrine.
<b>36</b>	<b>87</b>	Types de liaisons susceptibles de se former entre les différentes chaînes d'une molécule de protéine.
<b>37</b>	<b>89</b>	Structure primaire de la gélatine.
<b>38</b>	<b>90</b>	Structure chimique de l'éthylcellulose.
<b>39</b>	<b>91</b>	Réaction de polymérisation de l' ε-caprolactone.
<b>40</b>	<b>93</b>	Spectre infrarouge du polycaprolactone (PCL).
<b>41</b>	<b>94</b>	Spectre DSC du polycaprolactone.
<b>42</b>	<b>95</b>	Spectre RMN <sup>1</sup> H de PCL dans CDCl <sub>3</sub> à 25°C.
<b>43</b>	<b>98</b>	Dispositif expérimental de l'encapsulation par coacervation complexe.
<b>44</b>	<b>98</b>	Turbine d'agitation.
<b>45</b>	<b>99</b>	Emulsion.
<b>46</b>	<b>100</b>	Coacervation.
<b>47</b>	<b>101</b>	Consolidation.
<b>48</b>	<b>101</b>	Alcalinisation.
<b>49</b>	<b>102</b>	Observation des microcapsules AGG01 par microscope optique.
<b>50</b>	<b>105</b>	Réacteur de l'encapsulation par évaporation de solvant.
<b>51</b>	<b>111</b>	Les courbes de distribution en taille de microcapsules AGG01.
<b>52</b>	<b>114</b>	Dispositif expérimental de libération.
<b>53</b>	<b>116</b>	pH et temps de séjour des matières solides le long du tractus digestif.
<b>54</b>	<b>118</b>	Le spectre d'absorption d'amoxicilline dans le milieu pH=1,2.
<b>55</b>	<b>119</b>	Le spectre d'absorption d'amoxicilline dans le milieu pH=7,7.
<b>56</b>	<b>121</b>	Courbe d'étalonnage d'amoxicilline à pH=1,2 et T =37°C.
<b>57</b>	<b>121</b>	Courbe d'étalonnage d'amoxicilline à pH=7,7 et T = 37°C.
<b>58</b>	<b>124</b>	Résumé des différents modes d'action.
<b>59</b>	<b>129</b>	Courbe de croissance bactérienne d'Echerichia coli dans MH à 37°C pendant 24h.
<b>60</b>	<b>135</b>	Spectre IR de la gélatine.
<b>61</b>	<b>135</b>	Spectre IR de cinnamaldehyde.
<b>62</b>	<b>136</b>	Spectre IR de la gomme arabique.
<b>63</b>	<b>137</b>	Spectre IR des microcapsules (AGG01).
<b>64</b>	<b>138</b>	Observation des microcapsules par microscope optique (AGG01 à gauche et AGG02 à droite).
<b>65</b>	<b>138</b>	Observation des microcapsules (AGG02) par MEB.
<b>66</b>	<b>140</b>	Schéma de réticulation de la gélatine.
<b>67</b>	<b>145</b>	Superposition des spectres IR de l'ampicilline pure, de l'éthylcellulose pure et des microsphères (TA01).

## Liste des figures

<b>68</b>	<b>145</b>	Superposition des spectres IR de l'amoxicilline pure, de PCL pure et des microsphères (TAP).
<b>69</b>	<b>146</b>	Spectre IR des microsphères (TAV1).
<b>70</b>	<b>147</b>	Observation par microscope optique des microsphères " TA01 à gauche et TAV1 à droite"
<b>71</b>	<b>148</b>	Photos MEB de TAV1 (microsphères préparées avec EC).
<b>72</b>	<b>149</b>	Photos MEB de TAP (microsphères préparées avec PCL).
<b>73</b>	<b>150</b>	Photo MEB de TA01 (200 rpm).
<b>74</b>	<b>150</b>	Photos MEB de TA02 (400 rpm).
<b>75</b>	<b>150</b>	Photo MEB de TA03 (600 rpm).
<b>76</b>	<b>151</b>	Photos MEB de TAG.
<b>77</b>	<b>152</b>	Photos MEB de TAS.
<b>78</b>	<b>152</b>	Photo MEB de TA06.
<b>79</b>	<b>153</b>	Photo MEB de TA04.
<b>80</b>	<b>153</b>	Photo MEB de TA05.
<b>81</b>	<b>154</b>	Photo MEB de TAT5.
<b>82</b>	<b>154</b>	Photo MEB de TAT6.
<b>83</b>	<b>154</b>	Photo MEB de TAT4.
<b>84</b>	<b>155</b>	Photos MEB de TAT1 (PR : 0,4 g).
<b>85</b>	<b>155</b>	Photos MEB de TAT2 (PR : 0,6 g).
<b>86</b>	<b>155</b>	Photos MEB de TAT3 (PR : 0,8 g).
<b>87</b>	<b>156</b>	Photos MEB de TA08 (solvant utilisé : DCM/AC : 80/20).
<b>88</b>	<b>156</b>	Photo MEB de TA09 (solvant utilisé : DCM/AC : 50/50).
<b>89</b>	<b>157</b>	Photo MEB de TAV2 (volume de la phase aqueuse=100mL).
<b>90</b>	<b>157</b>	Photo MEB de TAV3 (volume de la phase aqueuse=150mL).
<b>91</b>	<b>158</b>	Photos MEB de TATP (microsphères chargées de TTP).
<b>92</b>	<b>158</b>	Photos MEB de TAM (microsphères chargées d'amide porteur de la p-aminoacétophène).
<b>93</b>	<b>159</b>	DSC Ethylcellulose.
<b>94</b>	<b>160</b>	DSC Ampicilline.
<b>95</b>	<b>160</b>	DSC TAG (microsphères préparées avec la gélatine).
<b>96</b>	<b>162</b>	Spectre DRX de l'ampicilline pure (AMP).
<b>97</b>	<b>162</b>	Spectre DRX de l'ethylcellulose pure (EC).
<b>98</b>	<b>163</b>	Spectre DRX des microsphères chargées d'ampicilline (TA01).
<b>99</b>	<b>163</b>	Spectre DRX d'amoxicilline (AMO).
<b>100</b>	<b>164</b>	Spectre DRX des microsphères chargées d'amoxicilline (TAV1).
<b>101</b>	<b>169</b>	Variation de la taille des microsphères en fonction de la vitesse d'agitation.
<b>102</b>	<b>170</b>	Variation de taille des microsphères en fonction de la concentration du tensioactif.
<b>103</b>	<b>171</b>	Variation de la taille des microsphères en fonction de la nature du tensioactif.



## Liste des figures

<b>104</b>	<b>173</b>	Structure des principes actifs avec les sites des pK
<b>105</b>	<b>181</b>	% AM libérés en fonction du temps au pH=1,2 (TA01, TA02 et TA03) (T = 37°C, 500 r.p.m).
<b>106</b>	<b>182</b>	% AM libérés en fonction du temps au pH=1,2 (TA03, TA04 et TA05) (T = 37°C, 500 r.p.m).
<b>107</b>	<b>183</b>	% AM libérés en fonction du temps au pH=1,2(TA03 et TA06) (T = 37°C, 500 r.p.m).
<b>108</b>	<b>183</b>	% AMO libérés en fonction du temps au pH=1,2 (TAV1, TAV2 et TAV3) (T = 37°C, 500 r.p.m).
<b>109</b>	<b>184</b>	% AMO libérés en fonction du temps au pH=1,2(TA8 et TA9) (T = 37°C, 500 r.p.m).
<b>110</b>	<b>184</b>	% AMO libérés en fonction du temps au pH=1,2 (TAV1, TAG et TAS) (T = 37°C, 500 r.p.m).
<b>111</b>	<b>185</b>	% AMO libérés en fonction du temps au pH=1,2 (TAV1 et TAP) (T = 37°C, 500 r.p.m).
<b>112</b>	<b>186</b>	% PR libérés en fonction du temps au pH=1,2 (TAT1, TAT2 et TAT3) (T=37°C, 500 r.p.m).
<b>113</b>	<b>186</b>	% PR libérés en fonction du temps au pH=1,2 (TAT4, TAT5 et TAT6) (T=37°C, 500 r.p.m).
<b>114</b>	<b>187</b>	% AN libérés en fonction du temps à partir des microsphères TAM au pH=1,2 (T = 37°C, 500 r.p.m).
<b>115</b>	<b>188</b>	% AM libéré en fonction du temps à partir des microsphères chargées d'ampicilline au pH=7,7 (T = 37°C, 500 r.p.m).
<b>116</b>	<b>188</b>	% PR libéré en fonction du temps à partir des microsphères chargées de procaïne au pH=7,7 (T = 37°C, 500 r.p.m).
<b>117</b>	<b>189</b>	% AMO libéré en fonction du temps à partir des microsphères chargées d'amoxicilline au pH=7,7 (T = 37°C, 500 r.p.m).
<b>118</b>	<b>189</b>	% AN libéré en fonction du temps à partir des microsphères TAM au pH=7,7 (T = 37°C, 500 r.p.m).
<b>119</b>	<b>190</b>	Concentration de AM libéré en fonction du temps par la formulation TA01 au pH= 1,2 (T 37C°, 500 r.p.m).
<b>120</b>	<b>191</b>	$\ln [(AM^0 - AM_t) / AM^0]$ en fonction du temps de la formulation TA01 au pH= 1,2 (T=37 C°, $\Omega$ 500 r.p.m).
<b>121</b>	<b>191</b>	$1/(AM^0 - AM_t) - 1/AM^0$ en fonction du temps de la formulation TA01 au pH 1,2 (T =37C°, $\Omega$ 500 r.p.m).
<b>122</b>	<b>192</b>	% AM libéré par la formulation TA01 en fonction de la racine carrée du temps au pH=1,2 (T 37°C, 500 r.p.m).
<b>123</b>	<b>193</b>	$\log (m_t/m_i)$ en fonction de $1/t$ de l'AM libérée par la formulation TA01 au pH=1,2 (37°C et 500 r.p.m).
<b>124</b>	<b>195</b>	$m_t/m_\infty$ d'AMO en fonction de la racine carrée du temps pour la formulation TAG, pH= 7,7; T 37°C.
<b>125</b>	<b>196</b>	$\ln [1-(m_t/m_\infty)]$ en fonction du temps de la formulation TAG dans

## Liste des figures

		pH=7,7 ; T 37°C, 500 r.p.m.
<b>126</b>	<b>201</b>	CN% libérés en fonction du temps AGG01 (T=25°C).
<b>127</b>	<b>202</b>	CN% libérés en fonction de la racine carrée du temps AGG01 (T=25°C).
<b>128</b>	<b>203</b>	CN% libérés en fonction du temps de AGG01 à AGG05 (T=25°C).
<b>129</b>	<b>203</b>	CN% libérés en fonction de la racine carrée du temps de AGG01 à AGG05 (T=25°C).
<b>130</b>	<b>204</b>	CN% libérés en fonction du temps de AGG01 et AGG06 (T=25°C).
<b>131</b>	<b>204</b>	CN% libérés en fonction de la racine carrée du temps de AGG01 et AGG06 (T=25°C).
<b>132</b>	<b>205</b>	CN% libérés en fonction du temps de AGG06 et AGG07 (T=25°C).
<b>133</b>	<b>205</b>	CN% libérés en fonction de la racine carrée du temps de AGG06 et AGG07 (T=25°C).
<b>134</b>	<b>206</b>	CN% libérés en fonction du temps d'AGG01, AGG08 et AGG09 (T=25°C).
<b>135</b>	<b>207</b>	CN% libérés en fonction de la racine carrée du temps d'AGG01, AGG08 et AGG09 (T=25°C).
<b>136</b>	<b>214</b>	Photos MEB des microsphères TA01 après 10 heures de libération.
<b>137</b>	<b>215</b>	Photos MEB des microsphères TAV1 après libération.
<b>138</b>	<b>216</b>	Photos MEB des microsphères TAT1 après libération.
<b>139</b>	<b>217</b>	Histogramme de l'évolution de l'ampicilline sur la croissance bactérienne dans le milieu LB.
<b>140</b>	<b>218</b>	Histogramme de l'évolution d'ampicilline sur la croissance bactérienne dans le milieu MH.
<b>141</b>	<b>219</b>	Courbe de croissance bactérienne en présence des microsphères TA03.
<b>142</b>	<b>219</b>	Courbe de croissance bactérienne en présence des microsphères TAV1.
<b>143</b>	<b>221</b>	Courbes représentatives de l'effet d'AMP libéré sur la croissance des bactéries.
<b>144</b>	<b>221</b>	Courbes représentatives de l'effet d'AMP libéré sur la croissance des bactéries.

**Publications et communications**

**Publication internationale :**

1) - I. Abdelmalek, A. Mesli\*, N. Boudouaia, N. Chafi et G. Simonneaux, Synthesis of some poly (N-2-vinyl pyrrolidone-co-methacrylamide)s as model carriers of anilines. Study of the release of anilines in aqueous heterogeneous medium of pH=1.2 at 37°C; *Mediterranean Journal of Chemistry*, 2011, 2, 88-97.

2)-I. Abdelmalek , A. Mesli\* , M. Bendahmane , N. Chafi et G. Simonneaux, Evaluation of anilines models release kinetics from dosage forms using Eudragit-RL as matrix; *J. Mater. Environ. Sci.*, 2014, 5 (1), 49-56. ISSN : 2028-2508

3) - I. Abdelmalek, I. Svahn, S.Mesli, G. Simonneaux, , A. Mesli\*, Formulation, evaluation and microbiological activity of ampicillin and amoxicillin microspheres, *J. Mater. Environ. Sci.*, 2014, 5 (6), 1799-1807. ISSN : 2028-2508.

4)- M. Mouffok, A. Mesli,\* , I. Abdelmalek, E. Gontier, Effect of formulation parameters on encapsulation efficiency and release behavior of p-aminobenzoic acid-loaded ethylcellulose microspheres, doi: 10.2298/JSC160308068M, *J. Serb. Chem. Soc.*, 2016, 81 (0) 1–19

5)- Ilham Abdelmalek, Abderrezzak Mesli, Isabelle Svahn, Gerard Simonneaux, Cinnamaldehyde loaded-microparticles obtained by complex coacervation: Influence of the process parameters on the morphology and the release of the core material, *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 2017, 7(1), 1939 - 1944. ISSN 2069-5837.

**Communication internationale :**

- Abdelmalek, A. Mesli\*.N. Chafi et G. Simonneaux, Evaluation de l'effet retard de la libération de la p-aminoacétophénone greffée sur un support polymérique à partir de matrices Eudragit RL., *Symposium International de Chimie Hétérocyclique SICH2011*, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Faculté Des Sciences Dhar El Mahraz (FSDM), Fès, 27-29 Octobre 2011.
- I. Abdelmalek, A. Mesli\*.N. Chafi et G. Simonneaux, Etude de la diffusion des anilines modèles à travers des systèmes polymériques, *3èmes Colloque International de Chimie CIC3*, Université Hadj-Lakhdar-BATNA-ALGERIE-22-24 Novembre 2011.
- 

**Communication nationale :**

- I. Abdelmalek , A. Mesli\*, Synthèse de quelques poly (N-2-vinyl pyrrolidone-co-méthacrylamide)s porteurs d'anilines modèles. Etude de la libération des anilines en milieu hétérogène aqueux de pH=1,2 à 37°C, *Congrès National de Chimie des matériaux*. Université Saad Dahlab de Blida, 23-24nov2010.

- I. Abdelmalek, A. Mesli\*, N. Chafi, G. Simonneaux, Synthèse de poly [N-(4-acétylphényl)-2-méthyl-acrylamide-co-N vinyl 2-pyrrolidone]. Evaluation de l'effet retard de la libération de la p-aminoacétophénone à partir de matrices Eudragit RL, *4èmes Journées de Chimie. Ecole Militaire Polytechnique*, 29-30 Mars **2011**.
- I. Abdelmalek, A. Mesli\*, F. Debab, Formation des microcapsules par coacervation complexe, *5èmes Journées de Chimie, Ecole Militaire Polytechnique*, 12-13 Mars **2013**.
- I. Abdelmalek, A. Mesli\*, A-A. Moulay, Synthèse et caractérisation des copolymères biocompatibles pour des application pharmaceutiques, *Journées d'étude des Matériaux Polymères*, Université Abderrahmane Mira -Bejaia -ALGERIE , 02-03 Octobre **2013**.
- I. Abdelmalek, A. Mesli\*, Synthèse des microcapsules chargées de cinnamaldehyde, *Journées d'étude de Chimie*, Université de Mascara-ALGERIE , 26-27 Mars **2014**.



## *Etude de la libération de principes actifs aux pH physiologiques à partir de microparticules préparées et caractérisées. Tests biologiques.*

### **ملخص :**

إن موضوع هذا العمل يتعلق بدراسة حركية الإفراج عن بعض المكونات النشيطة (أمبيسلين، أموكسيسيلين، البروكين، سينمالدهيد وتيترافينيل بورفرين) في وسط غير متجانس، درجة حموضة=1.2 و 7.7 من الجسيمات المجهرية التي حضرت في ظروف مختلفة بطريقة القوصرة المعقدة و تبخير المذيب. ميزت المجهرات الدقيقة باستعمال الأشعة تحت الحمراء، المجهر الضوئي والمسح الإلكتروني، DSC، حيود الأشعة السينية لدراسة تأثير شروط التركيب على حجم ومورفولوجية المجهرات الدقيقة. يوضح تطبيق نتائجنا بالحلل التحليلية ل: هيجوتشي أو كرانك أو كورسميار-بيياس أن الإفراج عن المكونات النشيطة مسير بها ويؤثر على نشرها وتشير هذه النتائج أن تأخير الإفراج ممكن بهذه الصيغ المستعملة. وقد أجريت الاختبارات البيولوجية على المجهرات الدقيقة محملة بالمضادات الحيوية على السلالات البكتيرية للتحقق من كفاءة العامل نشيط. وقد تم الحصول على نتائج إيجابية.

### **Résumé:**

Ce travail faisant l'objet concerne l'étude cinétique de la libération de quelques principes actifs (ampicilline, amoxicilline, procaine, cinnamaldéhyde et le tetraphenylporphyrine) en milieu hétérogène à pH=1,2 et pH=7,7 à partir des microparticules. Les microparticules ont été préparées par coacervation complexe et par évaporation de solvant dans différentes conditions. Les microparticules obtenues ont été caractérisées par IR, Microscopie optique et électronique à balayage, DSC, DRX pour étudier l'effet de la variation des paramètres de formulation sur la taille et la morphologie des microparticules.

L'application à nos résultats des solutions analytiques proposées par Crank, Higuchi et Korsmeyer & Peppas démontre que la libération de principe actif est réglée par la diffusion. Ces résultats laissent envisager un effet retard conséquent pour les systèmes microparticulaires testés. Des tests biologiques sur les microparticules chargées d'antibiotiques ont été réalisés sur des souches bactériennes pour vérifier l'efficacité de l'agent actif encapsulé. Des résultats positifs ont été obtenus.

### **Abstract:**

The aim of this work is the study of the release of some active agent (ampicillin, amoxicillin, procaine, cinnamaldehyde and tetraphenylporphyrin) in heterogeneous medium at pH=1.2 and pH=7.7 from microparticles systems.

These microparticles were prepared by complex coacervation and solvent evaporated method in different conditions. These microparticles were characterized by IR, Optic microscope, SEM, DSC and DRX to study the effect of changes parameters on the size and morphology of the microparticles.

The modelization of our results with Crank's, Higuchi Korsmeyer & Peppas's equation demonstrates that the release of active agent is controlled by diffusion and the rate constant could be calculated in each case. Biological tests on the microparticles loaded with antibiotics were performed on bacterial strains to verify the efficiency on the encapsulated active agent. Positive results were obtained

Par : **ABDELMALEK Ilham**

*Département de Chimie Faculté des sciences Exactes*

*Université Djillali Liabes – Sidi Bel Abbes –*

*Email : abde.ilham@gmail.com*