



Faculté des Sciences de la Matière  
كلية علوم المادة  
Département de Chimie  
قسم الكيمياء

## Mémoire

### *Présenté par :*

Mlle Belabed Messaouda  
Mlle Benhalima Fatima Zohra Imen

*Pour obtenir le diplôme de*

### *Master II*

**Filière : Chimie**  
**Spécialité : Chimie Organique**

### Sujet :

**Contrôle de libération à partir des microparticules  
préparées et caractérisées**

Soutenu le : 25/06/2017

Devant le jury:

Mr	M. BADAoui	Président	MCB	UNIV .Tiaret
Mlle	H. SEHIL	Examinateur	MCB	UNIV .Tiaret
Mme	I. ABDELMALEK	Encadreur	MCB	UNIV .Tiaret
Mlle	L. BENNABI	Co-encadreur	MCB	UNIV .Tiaret

## Remerciements

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au sein du laboratoire de Chimie Département de Chimie Université Ibn Khaldoun Tiaret sous la direction de Mme LABDELMALEK.

Nous remercions Dieu pour nous avoir donné le courage et la volonté de réaliser ce travail.

Nous remercions chaleureusement nos encadreurs : Mme ABDELMALEK. I pour l'aide qu'elle nous a apporté et pour sa encouragement à finir notre travail.

Nos remerciements vont également au Mlle BENNABI. L pour sa disponibilité ses conseils, son orientation et surtout son aide, elle nous a toujours guidées dans notre travail.

Nos vifs remerciements s'adressent à Mr BADAOUI. M d'avoir bien accepté de présider le jury.

Nos remerciements vont également à Mlle SEHILIH d'avoir bien accepté d'examiner notre travail.

Nos remerciements vont également aux techniciens principalement à Mr Larbi. A pour leur disponibilité et leur aide qui ont permis d'apporter des améliorations à la qualité de ce rapport.

Nous n'oublions pas non plus nos enseignants, tout au long du cycle d'études à l'Université de Tiaret.

Nos remerciement vont aussi à tous ceux qui nous ont aidés pour atteindre notre objectif.



## Dédicaces

- J'ai le grand honneur de dédier ce modeste travail à tous ceux qui me sont

chers :

- Je remercie le bon dieu de nous avoir donnée la volonté pour

accomplir ce travail que je dédier tout d'abord,

- A mes très chers parents qui m'ont toujours soutenu durant toutes mes longue années des études et leur sacrifices pour mon bien être, que dieu me les garde.

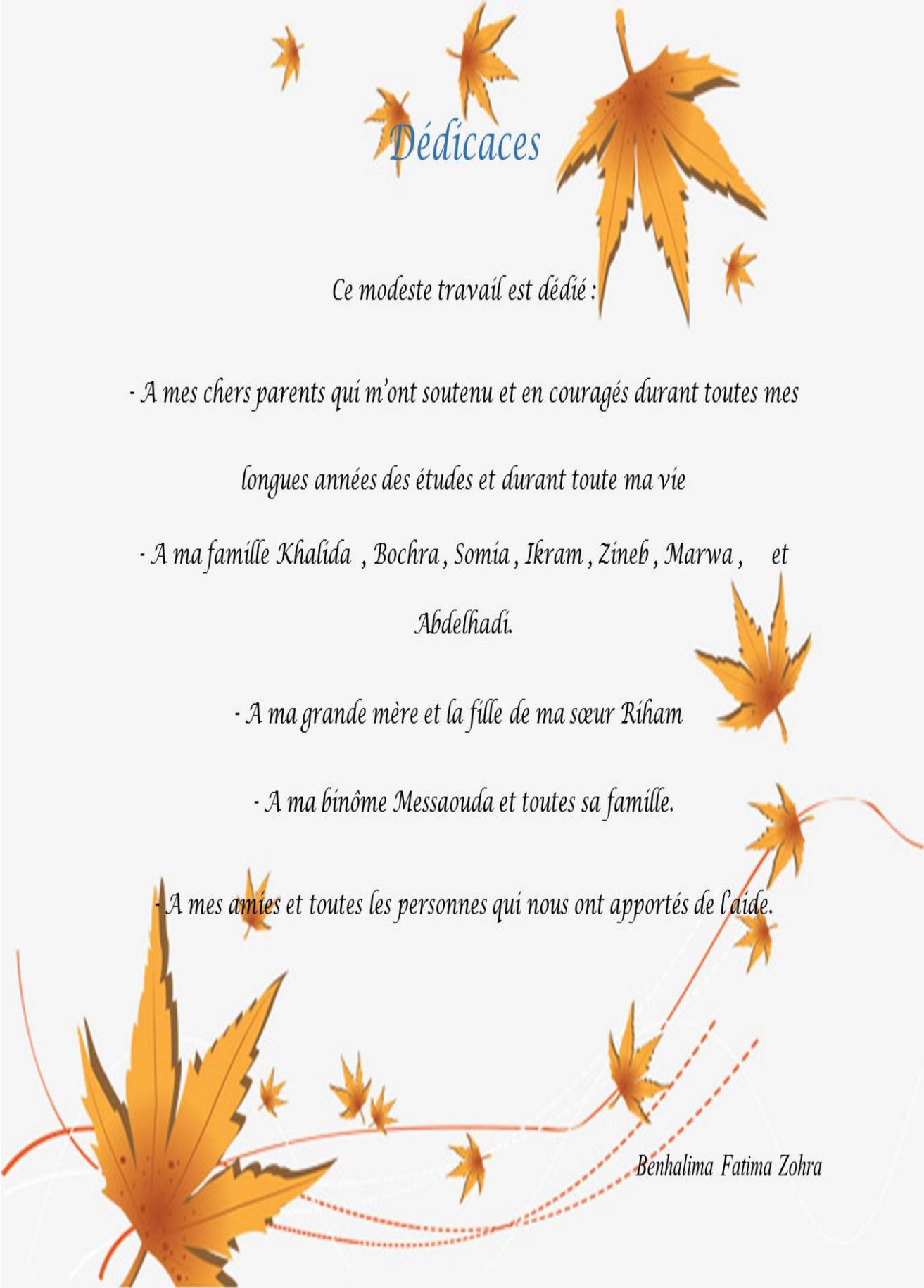
- A celle qui a donné sa vie pour nous et ma soutenue dans toutes les épreuves de ma vie, ma très chère mère que Dieu me la garde.

- A mes très chers frères et mes sœurs.

- A ma binôme Imen et toutes sa famille.

- A toutes mes amies.

Belabed Messaouda



## Dédicaces

*Ce modeste travail est dédié :*

*- A mes chers parents qui m'ont soutenu et encouragés durant toutes mes*

*longues années des études et durant toute ma vie*

*- A ma famille Khalida , Bochra , Somia , Ikram , Zineb , Marwa , et*

*Abdelhadi.*

*- A ma grande mère et la fille de ma sœur Riham*

*- A ma binôme Messaouda et toutes sa famille.*

*- A mes amies et toutes les personnes qui nous ont apportés de l'aide.*

*Benhalima Fatima Zohra*

# *Sommaire*

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

**Introduction générale..... 01**

## **Chapitre I : Etude Bibliographique**

### **Partie 01 : Généralité Sur La Microencapsulation**

**1. Historique..... 03**

**2. Définition..... 04**

**3. Objectifs de l'encapsulation d'un principe actif..... 04**

**4. Caractérisation des microparticules..... 05**

4.1. Taille ..... 05

4.2. Quantification du l'actif encapsulé ..... 05

4.3. Structure interne..... 05

4.3.1. La microcapsule ..... 05

4.3.2. La microsphère ..... 05

**5. Microparticule et ses composés ..... 06**

5.1. Les matériaux enrobant..... 06

5.1.1. Polymères synthétiques ..... 07

5.1.2. Polysaccharides ..... 09

5.1.3. Protéines ..... 10

5.1.4. Lipides ..... 10

5.2. La matière active..... 11

**6. Procédés d'encapsulation ..... 12**

6.1. Procédés d'encapsulation mécanique ..... 14

6.2. Procédés d'encapsulation chimiques ..... 18

6.3. Procédés d'encapsulation physico-chimiques..... 20

**7. Applications de l'encapsulation ..... 24**

## Partie 02 : Les formes de Libération

<b>1. Introduction</b> .....	<b>26</b>
<b>2. Les systèmes d'administration des médicaments</b> .....	<b>26</b>
<b>3. Les formes à libération modifiée</b> .....	<b>29</b>
3.1. Les formes à libération accélérée.....	<b>29</b>
3.2. Les formes à libération différée .....	<b>29</b>
3.3. Les formes à libération prolongée .....	<b>30</b>
3.4. Les formes à libération contrôlée.....	<b>30</b>
3.5. Les formes à libération ciblée .....	<b>30</b>
<b>4. Modèles théorique du mécanisme de libération de principe actif</b> .....	<b>30</b>
4.1. Modèle de Fick .....	<b>30</b>
4.2. Modèle de Korsmeyer-Peppas .....	<b>31</b>
<b>5. Facteurs influençant les transferts de matières</b> .....	<b>32</b>

## Partie 03 : Généralité sur les antibiotiques

<b>1. Les antibiotiques</b> .....	<b>35</b>
<b>2. Les macrolides</b> .....	<b>35</b>
<b>Azithromycine (AZT)</b> .....	<b>36</b>
<b>Hydroxypropylméthylcellulose (HPMC)</b> .....	<b>37</b>
<b>Le tween 80</b> .....	<b>37</b>
<b>Butyrate d'acétate de cellulose (CAB)</b> .....	<b>38</b>
<b>L'acétate de cellulose (AC)</b> .....	<b>38</b>
<b>L'éthylcellulose (EC)</b> .....	<b>39</b>

## Chapitre II : Patrie Experimental

<b>1. Introduction</b> .....	<b>41</b>
<b>2. Préparation et caractérisation des microparticules</b> .....	<b>41</b>
2.1. Préparation des Microsphères .....	<b>41</b>
2.2. Caractérisation des Microsphères .....	<b>43</b>

<b>3. Etude Cinétique de la libération d’AZT .....</b>	<b>45</b>
3.1. Facteurs influençant les transferts de matières .....	45
3.2. Mode d’opérateur.....	46
3.3. Analyse des principes actifs libérés .....	47
<b>4. Les tests biologiques .....</b>	<b>47</b>
4.1. Culture microbiologique .....	47
4.2. Antibiogramme .....	47
4.3. Les bactéries utilisées dans les tests (Bacillus Subtilis, l'Escherichia coli, le Staphylococcus aureus).....	48
4.4. Mode opératoire .....	48

### **Chapitre III : Résultats et discussions**

<b>1. Introduction :.....</b>	<b>52</b>
<b>2. Caractérisation des microparticules :.....</b>	<b>52</b>
<b>3. Etude cinétique de libération d’AZT à T= 37°C .....</b>	<b>62</b>
<b>4. Les tests biologiques .....</b>	<b>70</b>
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>73</b>
<b>Références .....</b>	<b>74</b>
<b>Annexes .....</b>	

## Liste des tableaux

N° de tableaux	légende	N° de la page
1	Exemples d'utilisation des polymères synthétiques comme matière enrobant en microencapsulation	8
2	Exemples d'utilisation des polysaccharides comme matière enrobant en microencapsulation.	9
3	Exemples d'utilisation des protéines comme matière enrobant en microencapsulation.	10
4	Classification des techniques d'encapsulation selon la nature de procédé.	13
5	Exemples d'application de l'encapsulation.	25
6	Les quantités des produits utilisés pour la formulation des microsphères.	42
7	Composition des solutions PH préparées.	46
8	Les Rdts et les taux d'encapsulation.	53
9	Les résultats Granulométriques des microsphères F1.	53
10	Les diamètres moyens ( $\mu\text{m}$ ) et la dispersion des microsphères préparées.	54
11	Bandes Caractéristique en FTIR des formulations.	57
12	Modélisation selon l'équation d'Higuchi.	65
13	Les $m_{\infty}$ calculées des 3 formulations dans les deux milieux d'étude.	67
14	Les coefficients de diffusion ( $D_{t,c}$ ) et au ( $D_{t,l}$ ) pour les formulations préparées.	69

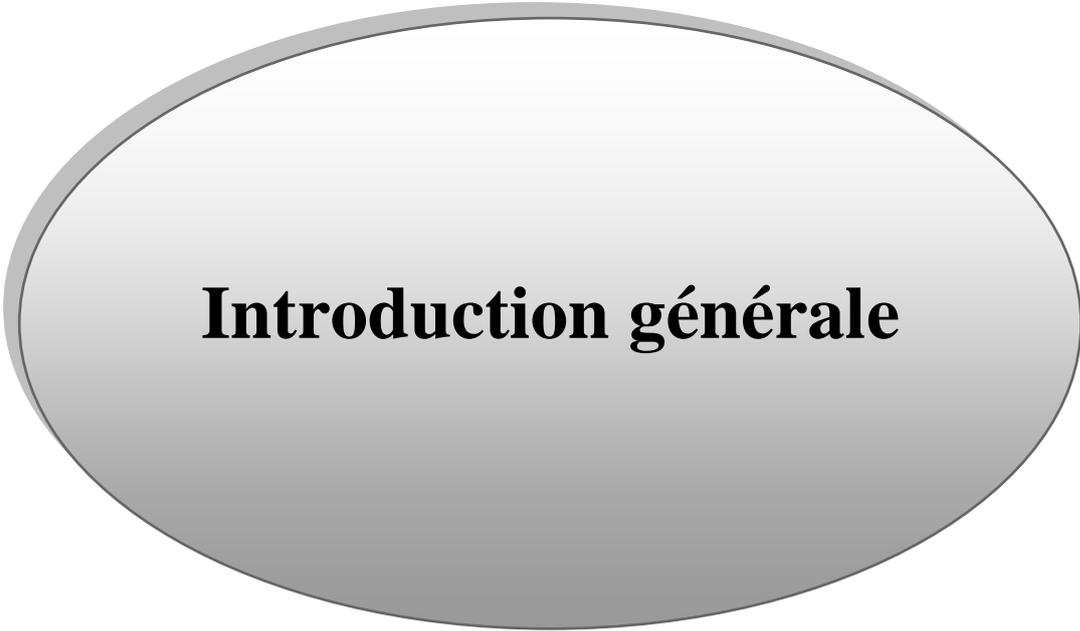
## Liste des figures

N° de figure	Légende	N° de la page
1	Evolution du nombre d'articles scientifiques et de brevets publiés par année dans le domaine de la microencapsulation.	3
2	Schéma représentant la morphologie des particules	6
3	Représentation schématique de microencapsulation par méthode d'enrobage en lit fluidisé : (a) matière active "fluidisée", (b) pulvérisation de la solution de matière enrobant et (c) formation des microparticules.	16
4	Représentation schématique de l'atomiseur.	17
5	Principe du procédé de microencapsulation par polymérisation en milieu dispersé (a) matière active dispersée dans la solution de polymères, (b) formation des noyaux du polymère et (c) formation de microcapsule.	19
6	Principe du procédé de microencapsulation par coacervation complexe : (a) matière active dispersée dans la solution de polymère (protéine/polysaccharide), (b) coacervation à la surface de matière active, (c) formation d'enrobage continu et (d) réticulation d'enrobage	21
7	Principe du procédé de microencapsulation par évaporation du solvant : (a) matière active dispersée dans la solution organique de polymère, (b) mise en émulsion de la phase organique dans la phase aqueuse, (c) évaporation du solvant organique de la phase dispersée, (d) formation d'enrobage de polymère et (e) séchage des microparticules.	23
8	Schéma de la zone thérapeutique.	27
9	représenter la partie gastro-intestinale humaine.	28
10	Représentation schématique d'une paroi matricielle.	31
11	Représentation de la structure de L'Azithromycine.	36
12	Représentation de la structure de HPMC.	37
13	Représentation de la structure de tween 80.	37
14	Représentation de la structure de Butyrate d'acétate de cellulose.	38
15	Représentation de la structure de l'acétate de cellulose.	39
16	Représentation de la structure de l'éthylcellulose.	40
17	Dispositif Expérimental de la microencapsulation par évaporation de solvant.	42
18	Dispositif expérimental de la libération de principe actif.	47
19	Les cultures microbiologiques (A : Bacillus), (B : E.coli et aureus).	49
20	l'antibiogramme de la boîte A.	50
21	l'antibiogramme de la boîte B et C.	50
22	l'antibiogramme de la boîte D et E.	51
23	La courbe de distribution en taille des microsphères F1.	54
24	Observation des microsphères des 3 formules.	55
25	Spectre FTIR de la formulation F1.	56
26	Spectre FTIR de la formulation F2.	56
27	Spectre FTIR de la formulation F3.	57
28	DSC des microsphères F3.	58
29	Le spectre DRX d'AZT.	59
30	Le spectre DRX des microsphères F1.	59
31	Le spectre DRX des microsphères F2.	60

32	Le spectre DRX des microsphères F3.	60
33	Les courbes de libération AZT % = f (t) dans le milieu pH=1,2.	62
34	Les courbes de AZT % = f (t) dans le milieu pH=7,7.	62
35	La courbe de C=f(t) de formule F1 dans le milieu pH=7,7.	63
36	La courbe de $\text{Ln} [(PA_0 - PA_t) / PA_0] = f(t)$ de formule F1 dans le milieu pH=7,7.	63
37	La courbe de $1 / (PA_0 - PA_t) - 1 / PA_0$ de formule F1 dans le milieu pH=7,7.	64
38	Le tracé $AZH \% = f(\sqrt{t})$ de F1 dans le pH=7,7.	64
39	La courbe $\text{Ln} (m_t/m_i) = f(1/t)$ pour la formule F1 au milieu pH=7,7.	66
40	La courbe $m_t/m_\infty = f(\sqrt{t})$ pour le calcul des diffusivités aux cours temps de F1 au pH = 7,7.	67
41	La courbe $\text{Ln} [1 - (m_t/m_\infty)] = f(t)$ pour le calcul des diffusivités aux temps longs de F1 au pH = 7,7.	68
42	l'antibiogramme de la boîte A.	70
43	l'antibiogramme de la boîte B et C.	71
44	l'antibiogramme de la boîte D et E.	71

## Liste des abréviations

Abs	Absorbance
AC	Acétate de cellulose.
AZT	Azithromycine.
Borax	tétraborate de sodium décahydraté
C	Concentration
C°	Degré Celsius
CAB	Butyrate d'acétate de cellulose.
D	Coefficient de diffusion
D.O	Densité optique
Di	Centre de classe
DRX	Diffraction des rayons X.
EC	Ethylcellulose.
F1	Les microsphères de l'Azithromycine avec le polymère ethylcellulose.
F2	Les microsphères de l'Azithromycine avec le polymère acétate de cellulose.
F3	Les microsphères de l'Azithromycine avec le polymère butyrate d'acétate de cellulose.
g	Gramme
HCl	chlorure d'hydrogène
HPMC	Hydroxypropylméthylcellulose.
I	La classe des particules
KBr	Bromure de Potassium
K <sub>H</sub>	Constante de libération d'Higuchi
L	La longueur de la cellule en quartz
M	Masse moléculaire
min	Minute
ml	Millilitre
m <sub>t</sub>	Masse du principe actif libéré (mg) à l'instant « t »
NaCl	Chlorure de sodium
n <sub>i</sub>	Nombre de particules de la classe i
PA	principe actif.
PA%	Le pourcentage du principe actif libéré
PAs	principes actifs.
Qt	Quantité de médicament libéré au temps t
r	La distance au centre de la sphère
Rdt	Rendement
rpm	retour par minute
T	Température
t	Temps
Tg	Température de transition vitreuse
Uv-Vis	Spectroscopie ultraviolet-visible
Vd	Volume de la fiole de dilution (10cm <sup>3</sup> )
Vf	Volume de flacon de 100ml
Vp	Volume prélevé



# **Introduction générale**

## *Introduction générale*

L'objectif de l'industrie pharmaceutique est l'amélioration des propriétés des médicaments. 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).

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 (2).

Cette connaissance accrue permettrait de bien maîtriser les procédés de synthèse et d'améliorer la qualité des produits médicamenteux. Le procédé choisi dans cette étude est le procédé de la microencapsulation par évaporation de solvant, une technique la plus utilisée au niveau industriel et présentant un intérêt particulier pour le domaine pharmaceutique.

Le but précis de cette mémoire de master est de préparer différentes formulations à base de différents polymères cellulose chargés d'une molécule médicamenteuse (l'azithromycine) ; ainsi l'étude de leur libération à partir des différents systèmes microparticulaires obtenus selon le modèle de Fick.

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, et sur les principaux systèmes de la microencapsulation, leurs propriétés ainsi que l'intérêt qu'ils représentent au niveau industriel.
- Nous commençons dans le chapitre deux par une étude expérimentale de procédé de la microencapsulation du principe actif « azithromycine ». Les systèmes obtenus sont ensuite caractérisés par IR, Microscopie Optique, DSC et DRX. Une étude de la libération de l'azithromycine a été ensuite réalisée et confirmé par des tests biologiques sur différentes souches.

- Dans le chapitre trois nous présentons les résultats de préparation des microparticules, l'étude cinétique de libération d'azithromycine à partir des formes galéniques, les calculs des coefficients de diffusion et les observations prélevées des tests biologiques.
- Une conclusion générale résumera les principaux résultats obtenus et dressera les propriétés d'avenir qui découlent le présent travail.

## **Généralité sur la microencapsulation**



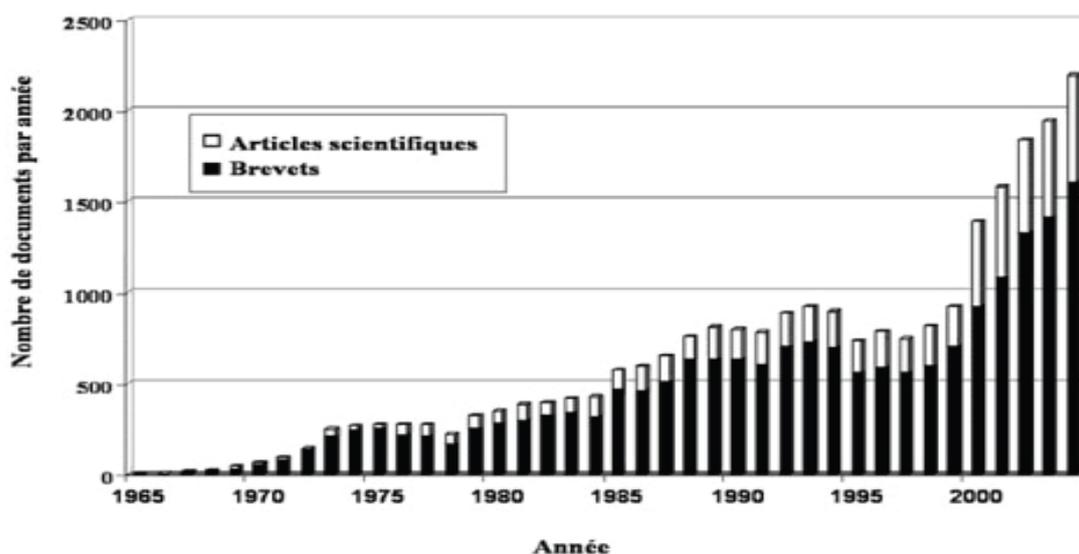
### 1. Historique :

L'encapsulation est toute technique qui permet l'emprisonnement de principes actifs sous formes solide, liquide ou gazeuse au sein d'un matériau support (3).

Elle résulte de la préparation de particules individualisées constituées d'un matériau enrobant contenant un principe actif. La matrice enrobante représente une barrière permettant la protection du principe actif ainsi que le contrôle de sa libération. La première application basée sur la technologie de l'encapsulation a été commercialisée il y a 60 ans dans le domaine de l'imprimerie. Il s'agit du papier carbone aussi appelé papier autocopiant permettant la duplication d'un texte ou d'une figure sous l'effet d'une faible pression (4). Ce produit contient des microparticules de colorant réalisées par coacervation complexe entre la gélatine et la gomme arabique qui se brisent sous l'effet de la pression d'une tête d'imprimante ou d'un stylo.

A la fin des années cinquante la technologie de la microencapsulation fut utilisée dans le domaine pharmaceutique pour les médicaments analgésiques à libération prolongée par exemple, ainsi que pour d'autres applications industrielles telles que les colles (5).

Au cours des années qui suivirent, la microencapsulation devint un domaine de recherche dynamique tant au niveau académique qu'industriel comme le démontre le nombre croissant d'articles scientifiques et de brevets publiés (Figure 1).



**Figure 1 :** Evolution du nombre d'articles scientifiques et de brevets publiés par année dans le domaine de la microencapsulation (5).

## **2. Définition**

L'encapsulation est une technique permettant l'inclusion de substances solides, liquides ou gazeuses au sein d'un matériau support. Elle conduit à la formation de particules (6).

La microencapsulation est une technique de protection de matières sensibles (à l'état solide, liquide ou gazeux) appelées aussi matières actives à l'aide d'une matière enrobant par formation de particules de taille micrométrique (7).

Ce procédé permet de créer une barrière de protection pour les molécules encapsulées et de contrôler leur relargage dans un milieu donné. Le contenu d'une capsule individualisée est protégé de l'environnement par la matière enrobant et peut être libéré sous l'action de la température, d'enzymes, du changement de pH du milieu, de l'action mécanique ou simplement par la diffusion à travers la matière enrobant poreuse.

## **3. Objectifs de l'encapsulation d'un principe actif :**

L'encapsulation d'un principe actif répond aux objectifs ci-dessous. Ces derniers peuvent être combinés (8) :

### ➤ **Protection / Stabilisation :**

- Stabiliser et protéger le composé actif vis-à-vis de son environnement (Protection de la matière encapsulée contre l'oxydation ou des effets de milieu ambiant tels que la chaleur, la lumière, l'humidité ou le pH) ;
- Assurer la protection, la compatibilité et la stabilisation d'une matière active dans une formulation ;
- Masquer un goût, une odeur ou une activité ;

### ➤ **Libération contrôlée (à un temps donné) :**

- Réaliser une libération déclenchée par une condition prédéterminée (chimique, physique, mécanique): température, pH, humidité, pression ;
- Modifier et maîtriser le profil de libération d'une matière active pour obtenir par exemple un effet prolongé ;

### ➤ **Structuration / Fonctionnalisation :**

- Agir sur les propriétés rhéologiques et de surface des poudres.
- Diminuer de la vitesse d'évaporation de la matière active volatile: composés volatiles (ex. arômes).

#### 4. Caractérisation des microparticules :

**4.1. Taille :** Le terme de microparticules est utilisé pour des tailles comprises entre 1µm et 1000µm (3,9).

**4.2. Quantification de l'actif encapsulé :** Le principe actif présent au sein des microparticules est caractérisé par plusieurs grandeurs (10). La plus commune est le rendement d'encapsulation (Rdt) (*yield* en anglais) qui a pour formule :

$$\text{Rdt} = m (\text{principe actif})_{\text{expérimentale}} / m (\text{principe actif})_{\text{théorique}} * 100 \dots \dots \dots [1]$$

Il est aussi utilisé la teneur en principe actif (loading en anglais) ou taux d'encapsulation, qui est défini comme :

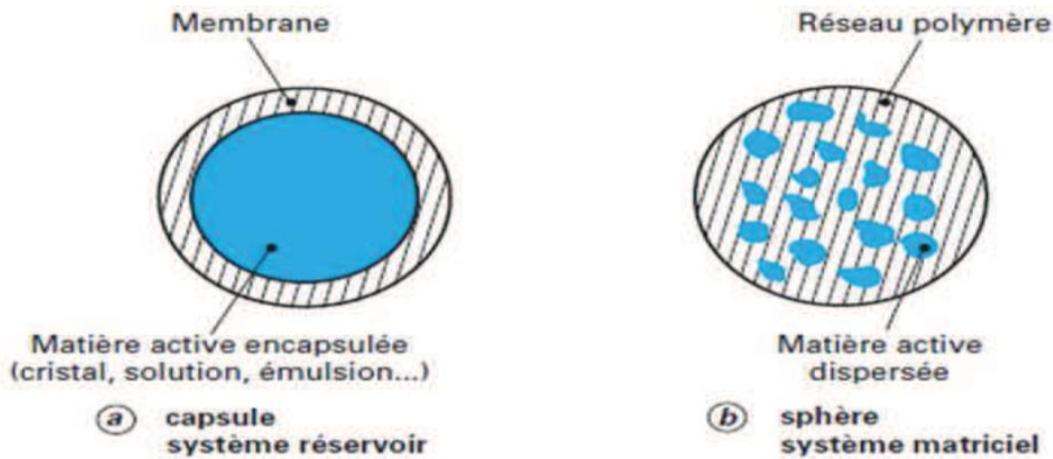
$$\text{Taux d'encapsulation} = m (\text{actif encapsulé}) / m (\text{particules}) * 100 \dots \dots \dots [2]$$

Du fait de leur structuration, la teneur en principe actif encapsulé peut être très élevée dans les microcapsules, de l'ordre de 85 à 90 % (rapport massique). Celles rencontrées dans les microsphères sont plus faibles, de l'ordre de 20 à 35 % au maximum (9).

**4.3. Structure interne :** Le type de particules obtenues par microencapsulation dépend des propriétés physico-chimiques de la matière active et de la matière enrobant, de leur composition et de la technique utilisée. Les microparticules peuvent se présenter sous différentes structures dont les deux plus simples sont la structure réservoir (microcapsule) et la structure matricielle (microsphère) (11).

**4.3.1. La microcapsule :** est une particule réservoir constituée d'un cœur de matière active liquide ou solide entouré d'une enveloppe solide continue de matériau enrobant.

**4.3.2. La microsphère :** est constituée d'un réseau macromoléculaire continu, formant une matrice dans laquelle la matière active est finement dispersée, à l'état de fines particules solides ou encore de gouttelettes liquides.



**Figure 2 :** Schéma représentant la morphologie des particules (12).

En ce qui concerne leur forme, les microparticules ne sont pas nécessairement sphériques, elles peuvent également avoir une forme irrégulière. Lorsqu'une particule solide est encapsulée, la matière enrobant épouse généralement les contours de la particule, ce qui conduit à une grande variété de formes. En revanche, la taille est un dénominateur commun à ces systèmes : elle est comprise entre 1  $\mu\text{m}$  et 1000  $\mu\text{m}$ .

La production de microparticules s'accompagne fréquemment d'une certaine polydispersité en taille : distribution gaussienne, apparition de deux ou plusieurs populations. Seules les techniques basées sur la formation de gouttelettes ou sur la polymérisation en milieu dispersé permettent l'obtention de microparticules proches de la monodispersité. Comme la taille moyenne et la distribution granulométrique sont en relation directe avec la surface spécifique des microparticules, ces paramètres vont influencer certaines propriétés comme notamment la libération de la matière active dans le milieu environnant.

### **5. Microparticule et ses composés :**

Les constituants principaux d'une particule obtenue par microencapsulation sont la matière enrobant et la matière active :

**5.1. Les matériaux enrobant** sont des polymères d'origine naturelle ou synthétique, ou des lipides (9). Le système enrobant joue un rôle principal sur l'efficacité, la stabilité des microparticules et sur le degré de protection de la matière active.

En général, les critères de choix des matériaux enrobant sont basés sur leurs propriétés physico-chimiques (stabilité, humidité, pH, oxydation), thermiques et mécanique. L'enrobage permet de modifier radicalement l'aspect du produit encapsulé : masquer le goût et l'odeur,

changer l'état de surface, la solubilité, la rhéologie ou l'état fondamental, comme par exemple transformation des liquides ou des gaz en poudres fluides **(13)**.

Suivant le procédé utilisé, le matériau enrobant est constitué d'un ou plusieurs polymères.

L'avantage des systèmes enrobant polymériques (à base des polymères naturels ou synthétiques) réside dans la possibilité de fonctionnalisation des chaînes ce qui permet l'obtention de nouvelles propriétés telles que la résistance aux températures élevées et aux agents chimiques.

### **5.1.1. Polymères synthétiques**

Les polymères synthétiques sont largement utilisés comme matrice de microparticules. Les particules enrobées par les polymères synthétiques sont généralement utilisées dans la médecine et la pharmacie. Par exemple, le polyacrylate est utilisé pour encapsuler le **(14)**, des cellules vivantes **(15)** ou des cellules endocrines **(16)**. D'autres exemples de polymères synthétiques utilisés pour protéger des composés actifs sensibles sont présentés dans le Tableau suivant :

**Tableau 1** : Exemples d'utilisation des polymères synthétiques comme matière enrobant en microencapsulation

Polymère	Matière active	Technique d'encapsulation	Application	Référence
<b>Acide polylactique</b>	Principes actifs hydrophobes	Atomisation	Médicaments	<b>(17)</b>
<b>/Acide polylactiqueco-glycolique</b>		Gélification Technologie des Fluides supercritiques.		
<b>Polystyrène</b>	Matériau à changement de phase	Polymérisation en suspension	Textile	<b>(18)</b>
<b>Poly (acrylate d'alkyle)</b>	Insuline	Polymérisation en émulsion	Médicaments	<b>(19)</b>
<b>Polyuréthane</b>	Catalyseur	Polymérisation Interfaciale	Catalyse	<b>(20)</b>
<b>Polyacrylonitrile</b>	Hépatocytes	Extrusion	Biomédecine	<b>(21)</b>
<b>Poly (éthylène glycol)</b>	Felodipine	Enrobage en lit fluidisé avec CO <sub>2</sub> supercritique	Médicaments	<b>(22)</b>

Un autre avantage des systèmes d'enrobage à base de polymères synthétiques est la possibilité d'utiliser des copolymères à blocs ou des mélanges de polymères avec d'autres matériaux. Les systèmes de ce type permettent de conjuguer différentes propriétés (ou fonctionnalités). Par exemple, grâce aux propriétés amphiphiles des copolymères à blocs tels que le polycaprolactone-b-poly (oxyde d'éthylène), l'encapsulation d'un principe actif hydrophobe peut être envisagée **(23)**. Elversson et Millqvist-Fureby ont étudié le mélange alcool polyvinylique/dextrane pour l'encapsulation du sérum albumine bovine **(24)**. L'enrobage polymérique peut également être créé grâce à une réaction de polymérisation interfaciale, où le polymère formé le plus souvent est un polyuréthane **(25)**.

### 5.1.2. Polysaccharides

Les hydrocolloïdes de type polysaccharide ont largement fait leur preuve dans le domaine de la microencapsulation et sont d'usage courant dans de nombreux secteurs d'activité (cosmétique, textile, pharmacie, agroalimentaire) (5).

L'avantage majeur de ces matériaux réside dans leur diversité, leur capacité à lier les arômes, une faible viscosité à une concentration élevée dans la solution, une bonne solubilité et un faible coût. Ils peuvent agir en tant que matériaux d'encapsulation et également en tant que stabilisateurs d'émulsion pour les autres matières enrobant. Les polysaccharides les plus étudiés dans l'encapsulation sont présentés dans le Tableau suivant :

**Tableau 2 :** Exemples d'utilisation des polysaccharides comme matière enrobant en microencapsulation.

Polysaccharide	Matière active	Technique d'encapsulation	Application	Référence
<b>Amidon</b>	Arômes	Gélification Atomisation	Alimentaire	<b>(26)</b>
<b>Maltodextrine</b>	Arômes Bétalaïne (colorant) Probiotiques	Atomisation Lyophilisation	Alimentaire	<b>(27)</b>
<b>Gomme arabique (gomme d'acacia)</b>	Arômes Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> Endoglucanase	Atomisation Coacervation Séchage à l'air et broyage	Alimentaire Biomédecine Détergents	<b>(28)</b>
<b>Chitosane</b>	Astaxanthine (pigment) Ampicilline	Evaporation de solvant Atomisation	Alimentaire Pharmacie	<b>(29)</b>
<b>Cellulose / Ethylcellulose</b>	Protéine Polyphénols	Evaporation de solvant Coacervation	Médecine Alimentaire	<b>(30)</b>
<b>Pectine</b>	Huile de poisson	Atomisation	Alimentaire	<b>(31)</b>

### 5.1.3. Protéines

Les protéines d'origine végétale (protéines de soja, protéines de pois, protéines de blé) et animale (protéines de lait, protéines d'œuf, caséine, gélatine) peuvent être employés comme matériaux enrobant en microencapsulation. Quelques exemples d'utilisation des protéines en microencapsulation sont présentés dans le Tableau suivant :

**Tableau 3 :** Exemples d'utilisation des protéines comme matière enrobant en microencapsulation.

Protéine	Matière active	Technique d'encapsulation	Application	Référence
<b>Gélatine</b>	Shikonine	Coacervation	Pharmacie	<b>(32)</b>
	Lycopène (pigment)	Atomisation	Alimentaire	
<b>Protéine de soja</b>	Hydrolysats de caséine	Atomisation		<b>(33)</b>
	Riboflavine	Gélification	Alimentaire	
	Huile de poisson	Coacervation		
<b>Protéine de lait</b>	Vitamine B1	Coacervation	Alimentaire	<b>(34)</b>
	Gras de lait	Atomisation		
	Théophylline	Gélification	Médecine	
<b>Caséine</b>	Pyrrolnitrine	Coacervation	Médecine	<b>(35)</b>
	Huile de poisson	Atomisation	Alimentaire	

L'utilisation des protéines comme matériau enrobant en microencapsulation présente plusieurs avantages

- les protéines sont biocompatibles et biodégradables ;
- la nature amphiphile des chaînes protéiques permet d'encapsuler des matières actives hydrophobes ou hydrophiles ;
- la masse moléculaire élevée et la flexibilité de leurs chaînes permettent de bien enrober et de protéger la matière active.

### 5.1.4. Lipides

Il existe une grande variété de lipides (graisses, huiles, glycérides, phospholipides, glycolipides, cires) qui peuvent être utilisés dans la microencapsulation en tant que matériaux

enrobant (36). Les lipides tels que les triglycérides, les caroténoïdes et les phytosterols sont capables de créer une barrière de protection pour les molécules lipophiles bioactives, de protéger les composés sensibles contre l'humidité et de transporter des ingrédients en milieu aqueux (37). Les lipides amphiphiles, tels que les glycérides, les phospholipides et les glycolipides ont la possibilité de stabiliser des émulsions et de provoquer l'auto-assemblage des molécules dans les structures supramoléculaires (7).

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

- des arômes, des huiles essentielles et des substances aromatisants volatiles.
- des vitamines, comme l'acide ascorbique (vitamine C), le  $\beta$ -carotène (vitamine A), l' $\alpha$ -tocophérol (vitamine E).
- des lipides sensibles à l'oxydation tels que des acides gras polyinsaturés.
- des acides et bases alimentaires (acide citrique, bicarbonate de sodium).
- des additifs alimentaires (colorants, conservateurs).
- des bactéries et des enzymes.
- des principes actifs pour l'industrie pharmaceutique (14-16).
- des principes actifs cosmétiques.
- des minéraux (sels du calcium ou du fer).

**Additifs :** En plus du matériau enrobant et la matière active, certains additifs peuvent également être ajoutés dans le système avant la microencapsulation. Parmi les additifs les plus souvent utilisés en microencapsulation on trouve :

- les agents tensioactifs (25,35).
- les agents antimicrobiens (38).
- ou encore les agents (39).

Dans le cas de l'utilisation d'un principe actif hydrophobe, la stabilisation de l'émulsion, avant l'étape de microencapsulation, peut se faire en présence d'un agent tensioactif. Les surfactants utilisés pour stabiliser la phase huileuse de l'émulsion sont les

oléates de sorbitane (Span) (25) , les polysorbates (Tween) (35), le polyricinoléate de polyglycérole (5) et les copolymères à blocs (Synperonic).

Ces tensioactifs sont ajoutés dans les préparations liquides en faible quantité (de 0,5 % à 5 %). Afin de prévenir la multiplication des microorganismes dans le système et de le stabiliser efficacement, des agents antimicrobiens, notamment l'azoture de sodium, peuvent être utilisés (38).

Les agents de réticulation sont parfois utilisés après l'étape de microencapsulation pour consolider l'enrobage polymérique et lui apporter de meilleures propriétés mécaniques dans le but de protéger les particules formées contre la coalescence et la libération préalable de la matière active. Par exemple, dans le cas de l'encapsulation de principes actifs par des protéines, le glutaraldéhyde est souvent utilisé comme agent de réticulation (39).

Avant l'utilisation d'un additif il est nécessaire de connaître ses propriétés, notamment la compatibilité avec l'application visée. Par exemple, les additifs comme l'azoture de sodium et le glutaraldéhyde présentent une toxicité élevée et leur utilisation dans les produits destinés à la consommation humaine est limitée (40).

## **6. Procédés d'encapsulation**

Il existe plusieurs manières de classer les procédés industriels d'encapsulation suivant différents critères (41). Les procédés de microencapsulation sont variés ; il existe plusieurs classifications de ces techniques (11) :

- La nature du milieu dispersant peut également servir de base à une classification: il peut être liquide (polycondensation interfaciale, coacervation, ...) , gazeux (spray drying, enrobage en lit fluidisé, ...), ou encore à l'état supercritique (séparation de phase, ...)
- La famille à laquelle appartient le composé employé pour obtenir la capsule peut également permettre de classer les modes d'encapsulation: peuvent être utilisés des polymères préformés (coacervation, ...), des lipides (spray-congealing, ...), ou encore des monomères (polycondensation interfaciale, polymérisation en milieu dispersé, ..);
- Enfin une dernière classification repose sur la nature du principe selon lequel est réalisée la microencapsulation: on distingue les procédés physico-chimiques, des procédés chimiques et mécaniques

**Tableau 4** : Classification des techniques d'encapsulation selon la nature de procédé.

Type de procédés	Mode d'encapsulation	Gamme de tailles de microcapsules obtenues	Type de produits Obtenus
<b>Procédés mécaniques</b>	-Nébulisation / séchage (spray drying)	1 – 200 $\mu\text{m}$	Microsphères
	-Gélification ou congélation de gouttes (priling)	200 – 800 $\mu\text{m}$	Microsphères
	-Enrobage en lit fluidisé (spray-coating)	35 - 5000 $\mu\text{m}$	Microsphères
	-Extrusion / sphéronisation	$\geq 200 \mu\text{m}$	Microsphères
<b>Procédés Physicochimiques</b>	-Séparation de phases ou coacervation (simple ou complexe)	2 – 1200 $\mu\text{m}$	Microcapsules Microsphères
	-Evaporation ou extraction de solvant	0,5 – 200 $\mu\text{m}$	Microsphères
	-Gélification		Microsphères
<b>Procédés chimiques</b>	-Polymérisation interfaciale	2 – 2000 $\mu\text{m}$	Microcapsules
	-Polymérisation en milieu dispersé par voie radicalaire ou anionique		Microsphères

Contrairement aux deux autres classes de techniques qui utilisent des agents enrobant préformés tels que des polymères ou des lipides, les procédés d'encapsulation chimiques reposent sur la formation in situ du matériau enrobant. Les composés de base sont des monomères.

### **6.1. Procédés d'encapsulation mécanique :**

➤ **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 (11). 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, chauffage, détente. La séquence de ces opérations est établie de manière à obtenir une transition d'état de la matière (solide/liquide). Après extrusion, la matière obtenue est découpée en microparticules cylindriques, qui sont ensuite érodées mécaniquement pour rendre leur forme voisine de celle de microsphères (42).

Les principaux avantages de cette méthode sont les suivants:

- ❖ Des coûts de transformation faibles et des rendements élevés sans production d'effluents;
- ❖ les poudres obtenues ont une morphologie dense et sont peu poreuses ;
- ❖ les composés actifs sont protégés par la matrice contre l'oxydation grâce à la formation d'une microsphère dense (43).

D'un autre côté, la perte des fonctions du principe actif est importante, ceci est dû essentiellement aux défauts structuraux (lors de la formation) et à une température d'extrusion élevée. Cette technique est essentiellement utilisée dans le cas des matières actives et matières enrobant résistantes à haute température (jusqu'à 200 °C). La taille des microsphères obtenues par la technique d'extrusion est plus importante (supérieure à 200 µm) que pour celles obtenues par les procédés chimiques et physico-chimiques. La proportion de la matière active dans les particules peut atteindre 50 %.

➤ **Procédé basé sur la technologie du CO<sub>2</sub> supercritique :** Actuellement, de nombreux chercheurs étudient le procédé d'encapsulation basé sur la technologie de dioxyde de carbone supercritique (22).

A l'état supercritique, le fluide a des propriétés intermédiaires entre un gaz et un liquide. Selon cette technique d'encapsulation, le principe actif est dispersé dans une solution de

matière enrobant dans le fluide supercritique. L'élimination du dioxyde de carbone permet alors de précipiter les polymères de leur solution et donc de créer un enrobage continu (7).

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

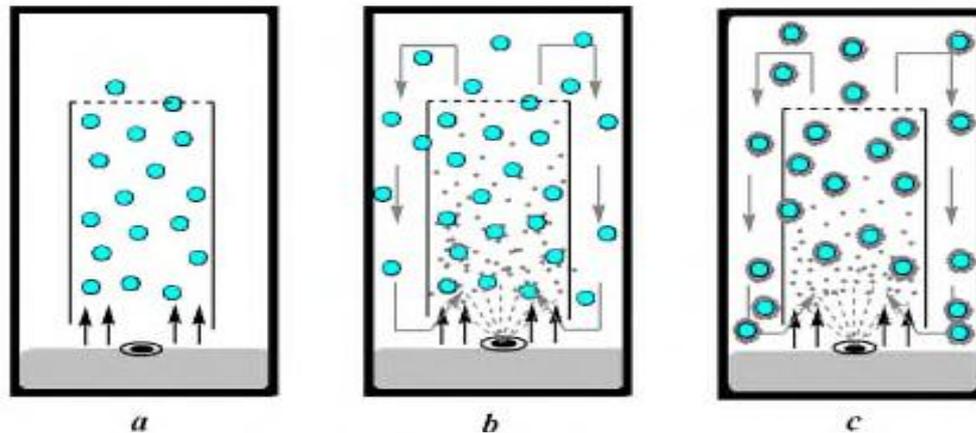
L'application la plus importante de l'encapsulation par la méthode basée sur la technologie des fluides supercritiques est l'enrobage des médicaments par les polymères synthétiques, notamment les polylactides, les polyacrylates et les polyéthers (22).

La taille des particules, généralement de type microsphères, obtenues par ce procédé varie de 0,5-1 µm à 100 µm et le taux d'encapsulation est de 10-40 %.

➤ **Enrobage en lit fluidisé :** Le procédé d'enrobage en lit fluidisé s'applique exclusivement à des matières actives sous forme solide (granules, cristaux). Durant le procédé d'enrobage, il y a formation d'une couche de matrice homogène autour du principe actif donnant aux microparticules obtenues une structure de type capsule (44).

L'encapsulation se déroule dans une chambre cylindrique verticale d'un lit fluidisé. D'abord, les particules à encapsuler sont "fluidisées" à l'aide d'un flux d'air (**Figure 3, a**). 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 3, b**).

La couche d'enrobage se forme après plusieurs passages successifs par les zones de pulvérisation et séchage permettant de couvrir la totalité de la surface de la particule par une couche continue et homogène (**Figure 3, c**). L'épaisseur de la couche de polymère formée peut être variable de quelques µm à une vingtaine de µm (11).



**Figure 3 :** Représentation schématique de microencapsulation par méthode d'enrobage en lit fluidisé : (a) matière active "fluidisée", (b) pulvérisation de la solution de matière enrobante et (c) formation des microparticules.

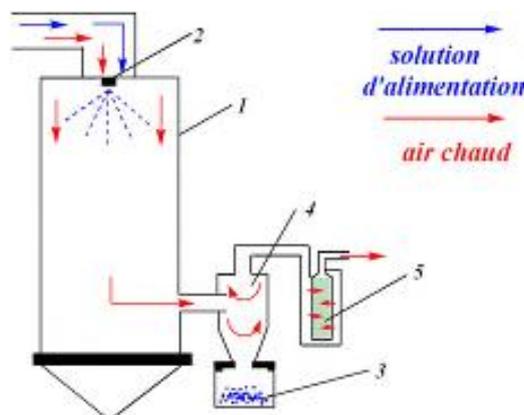
Le procédé d'enrobage en lit fluidisé est souvent utilisé dans le domaine de la pharmacie pour l'encapsulation de médicaments et pour la protection supplémentaire de matières très sensibles (création d'une seconde couche enrobante), comme dans l'alimentation pour protéger des vitamines et des minéraux. Cette technique permet la formation d'enrobages homogènes d'épaisseur contrôlée. La taille des microparticules produites peut aller de quelques dizaines de  $\mu\text{m}$  jusqu'à  $600 \mu\text{m}$  et le taux de microencapsulation est compris entre 60 % et 90 % (9).

➤ **Atomisation :** Le procédé d'atomisation (ou spray-drying) est un procédé mécanique continu de déshydratation qui permet la transformation de préparations liquides en poudres sèches. Différentes formes liquides initiales peuvent permettre la microencapsulation de la matière active par atomisation (45) :

- 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 matière enrobante.

L'étape préliminaire de l'atomisation est la réalisation d'une forme liquide (émulsion, solution ou dispersion) appelée solution d'alimentation, homogène et relativement stable dans

un solvant adapté. L'atomisation consiste alors en la pulvérisation et le séchage de la solution d'alimentation à l'aide d'un appareil appelé atomiseur (**Figure 4**).



**Figure 4 :** Représentation schématique de l'atomiseur

L'atomiseur est généralement constitué d'une haute tour, appelée chambre d'atomisation (**Figure 4, 1**), au sommet de laquelle la formulation liquide initiale est injectée à l'aide d'une buse d'atomisation (**Figure 4, 2**). Après le contact des microgouttes de la préparation liquide avec un flux d'air chaud, le solvant (généralement l'eau) composant une partie de ces gouttes s'évapore. En effet, grâce à la différence de température et de pression entre la phase liquide et la phase gazeuse, un transfert de chaleur depuis l'air vers la phase aqueuse se produit, engendrant un 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 considérée constante et égale à la vitesse d'évaporation à la surface. Finalement, quand la quantité de solvant dans la gouttelette atteint son niveau critique, l'enveloppe sèche est formée autour. La vitesse d'évaporation diminue et devient dépendante de la vitesse de diffusion de l'eau à travers la surface de la croûte formée. Le séchage est terminé quand la température de la particule devient égale à celle de l'air dans la chambre d'atomisation (45).

Les microparticules formées sont collectées dans le récipient de récupération (**Figure 4, 3**) après une séparation du flux d'air par passage dans un cyclone (**Figure 4, 4**). L'air humide est évacué vers la sortie après la traversée du filtre (**Figure 4, 5**). 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 ;

- lorsque les microgouttes pulvérisées, présentent initialement une trajectoire opposée au flux d'air chaud, l'appareil fonctionne à contre-courant.

La taille moyenne des microparticules obtenues par procédé d'atomisation varie entre 1  $\mu\text{m}$  et 100  $\mu\text{m}$  pour le séchage à co-courant et entre 50  $\mu\text{m}$  et 200  $\mu\text{m}$  pour le séchage à contre-courant où l'agrégation des petites microparticules avec les grandes est plus fréquente. En général, la morphologie des particules est de type microsphère, avec une forme sphérique, une surface lisse ou parfois fripée.

## 6.2. Procédés d'encapsulation chimiques

L'encapsulation par voie chimique consiste en la polymérisation autour de la matière active (pure ou en solution) d'un ou 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 polymérisation interfaciale nécessite la formation d'une émulsion, dans laquelle deux monomères réactifs sont solubles respectivement dans chacune des phases de l'émulsion et où la matière active se trouve dans la phase dispersée (46).

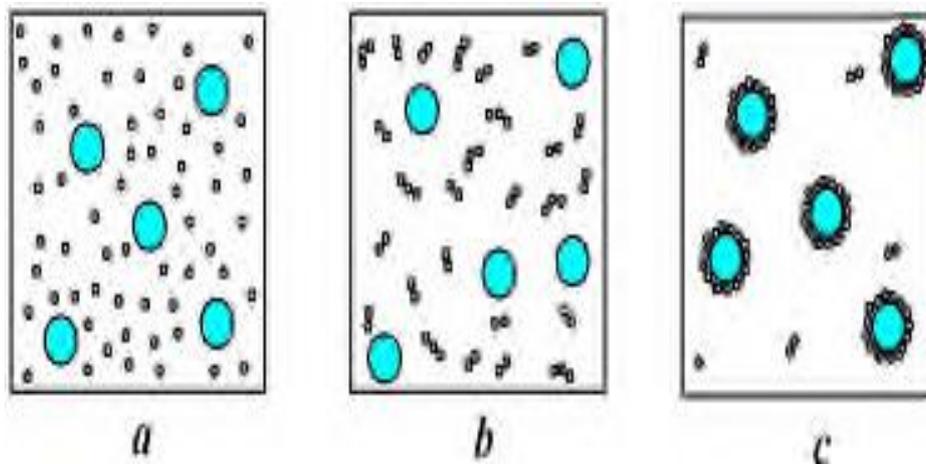
La réaction de polymérisation se déroule alors à l'interface des gouttelettes contenant la matière active (pure, en solution ou en dispersion) créant ainsi la paroi des microcapsules. Ce procédé s'applique à des solutions de matières actives aussi bien liposolubles (47). Qu'hydrosolubles.

➤ **Polymérisation en milieu dispersé :** Le procédé chimique de microencapsulation en milieu dispersé peut avoir lieu en dispersion, émulsion ou encore en microsuspension. La voie de polymérisation peut être soit anionique soit radicalaire.

De façon générale, le monomère est solubilisé dans la phase continue d'une dispersion (émulsion, suspension), alors que le principe actif se trouve dans la phase dispersée (**Figure 5, a**). Après amorçage de la réaction de la polymérisation, les polymères formés précipitent à partir d'une longueur de chaînes critique formant ce que l'on appelle les noyaux primaires (**Figure 5, b**).

La précipitation des chaînes polymériques autour du principe actif permet la formation d'une particule finale de type microcapsule (**Figure 5, c**). Pendant le procédé d'encapsulation par polymérisation en milieu dispersé, un tensioactif peut être utilisé dans la phase continue

pour stabiliser les agrégats de polymères et aider à leur précipitation autour des gouttelettes contenant le principe actif (6).



**Figure 5 :** Principe du procédé de microencapsulation par polymérisation en milieu dispersé  
 (a) matière active dispersée dans la solution de polymères, (b) formation des noyaux du polymère et (c) formation de microcapsule

Il est important de préciser que pour que la microencapsulation par polymérisation en milieu dispersé soit efficace, les conditions d'étalement entre les différentes phases doivent être respectées. Pour assurer des conditions d'encapsulation efficaces, il suffit que la tension interfaciale entre la matière active et la phase continue soit supérieure à celle entre la matière active 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.

Le plus souvent, cette technique d'encapsulation est utilisée pour enrober les nanoparticules solides, notamment le dioxyde de titane, la silice, l'oxyde de fer (oxyde magnétique) ou encore l'argent (48). 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  $\mu\text{m}$ .

Les procédés d'encapsulation chimiques sont largement utilisés dans le domaine phytosanitaire pour la production de microcapsules d'insecticides, d'herbicides et de fongicides avec des membranes de polyamide, polyurée ou polyuréthane et dans le domaine de la biologie pour encapsuler des molécules actives telles que l'hémoglobine, des enzymes et des anticorps (11).

### 6.3. Procédés d'encapsulation physico-chimiques

Les procédés physico-chimiques sont basés sur les variations de solubilité et les conditions de précipitation des agents enrobant. 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 du solvant) ou sur le changement d'état, comme solidification, des agents enrobant (gélification thermique d'émulsions).

➤ **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 enrobant par séparation de phase autour de la matière active. Une particule de type microcapsule est alors formée. Cependant, 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 simple** : La coacervation simple consiste en les répulsions polaires et apolaires entre deux solutés dont l'un doit être un polymère (49).

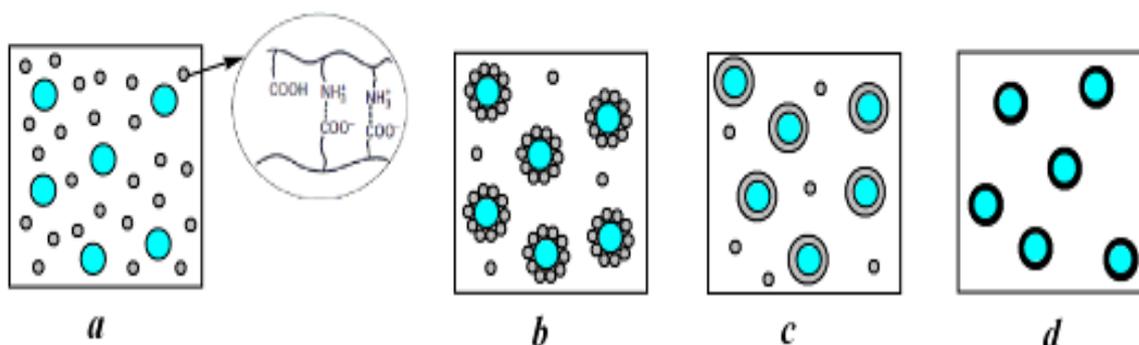
Elle est provoquée principalement par une désolvation directe du polymère qui a lieu après changement du pH ou de la température, par addition d'un non-solvant ou d'un électrolyte. Les étapes du procédé sont identiques à celles de la coacervation complexe.

Le principal avantage de la coacervation est qu'il est possible d'utiliser aussi bien des polymères hydrophobes (50). Que des polymères hydrophiles, car le coacervat peut se former en milieu organique ou aqueux. Les tailles des particules obtenues par la méthode de coacervation varient de quelques  $\mu\text{m}$  à quelques centaines de  $\mu\text{m}$ , et le taux d'encapsulation peut atteindre jusqu'à 90 %.

- **Coacervation complexe :** La coacervation complexe consiste en la désolvation simultanée de deux polyélectrolytes hydrosolubles portant des charges opposées, provoquée par une modification du pH du milieu aqueux (51).

Dans le cas où le produit à encapsuler (sous forme liquide ou solide) est dispersé dans une solution aqueuse contenant les deux polymères (Figure 6, a), la coacervation est déclenchée par un ajustement du pH de la solution, de façon que les charges positives du premier polymère équilibrent les charges négatives de la seconde phase. Ensuite l'attraction électrostatique des deux polyélectrolytes provoque l'apparition d'un coacervat mixte.

Les gouttelettes de coacervat formé viennent s'adsorber à la surface de la matière active (Figure 6, b) et former un enrobage continu (Figure 6, c) (16).



**Figure 6 :** Principe du procédé de microencapsulation par coacervation complexe : (a) matière active dispersée dans la solution de polymère (protéine/polysaccharide), (b) coacervation à la surface de matière active, (c) formation d'enrobage continu et (d) réticulation d'enrobage

Quand la matière active est constituée de gouttelettes liquides, il est nécessaire de tenir compte de l'étalement des phases. C'est-à-dire que la création d'enrobage aura lieu si le coacervat mouille spontanément la surface de la matière active. Il est donc important de connaître les coefficients d'étalement et les tensions interfaciales des différents constituants.

Les sensibilités au pH et à la force ionique sont des facteurs qui limitent l'utilisation des coacervats dans l'encapsulation. L'augmentation de la stabilité des coacervats et de la solidité de leur enrobage est envisageable par la réticulation du polymère (**Figure 6, d**). Les agents réticulants utilisés pour cet effet peuvent être les glutaraldéhydes (**49**), les transglutaminases, ou les polyphénols.

On peut remarquer que ce procédé est limité par un choix restreint des matériaux enrobant. Seul un couple de polyélectrolytes portant des charges opposées peut convenir pour la coacervation complexe (**11**). L'utilisation de la gélatine (polycation) est pratiquement incontournable en raison de ses propriétés gélifiantes.

➤ **Gélification** : Plusieurs matières (polysaccharides, protéines, polymères synthétiques, lipides) en solution peuvent former des gels soit par refroidissement (**52**), soit par contact avec certains ions chélateurs.

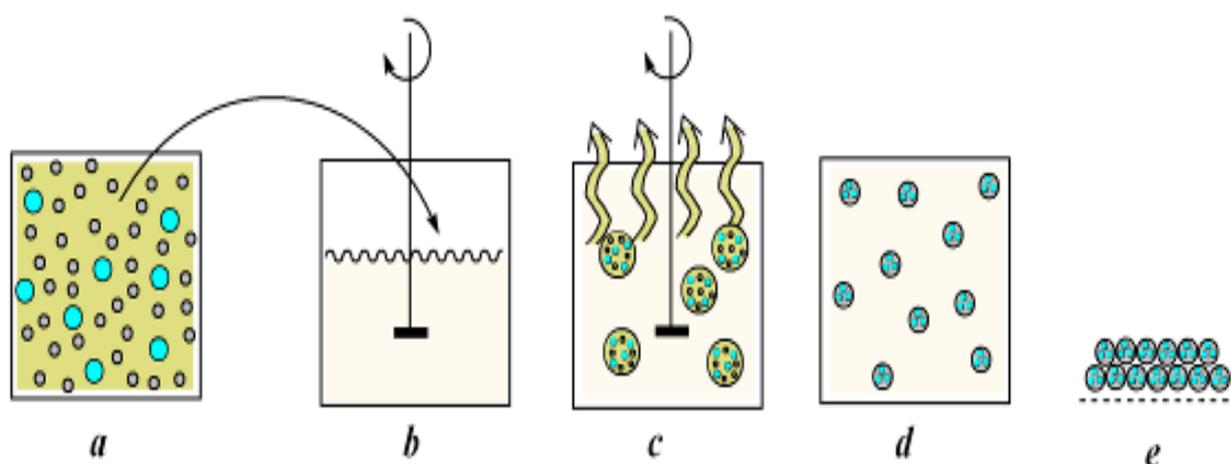
Le procédé de gélification se base sur l'encapsulation d'une matière active dissoute ou dispersée dans une solution de matière enrobant ou dans un matériau fondu. L'ensemble est émulsionné soit dans une phase dispersante où la température est maintenue supérieure à la température de fusion d'enrobage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

- la possibilité d'obtenir une distribution granulométrique des particules très étroite ;
- lorsque des polymères hydrosolubles sont utilisés (par exemple, alginate de sodium (**53**), 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 % (**11**).

➤ **Evaporation de solvant** : La méthode de microencapsulation par évaporation de solvant (54). 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 médicaments (7).

Initialement, le matériau d'enrobage, généralement un polymère hydrophobe, est dissout dans le solvant organique volatil. Ensuite, la substance active à encapsuler est dissoute ou dispersée dans une solution organique avec le polymère qui formera la matrice (**Figure 7, a**).



**Figure 7** : Principe du procédé de microencapsulation par évaporation du solvant : (a) matière active dispersée dans la solution organique de polymère, (b) mise en émulsion de la phase organique dans la phase aqueuse, (c) évaporation du solvant organique de la phase dispersée, (d) formation d'enrobage de polymère et (e) séchage des microparticules.

La solution organique est dispersée dans le milieu aqueux contenant un agent tensioactif (**Figure 7, b**) 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 (**Figure 7, c**). La concentration du solvant organique dans la phase intermédiaire diminue au cours du temps et le polymère commence à précipiter encapsulant le principe actif (**Figure 7, d**). Les microparticules sont séparées par filtration (**Figure 7, e**) et séchées.

Les microparticules obtenues sont généralement de type matriciel. Ce procédé présente quelques limites : les microsphères fabriquées peuvent contenir des traces non négligeables de solvant organique et le recyclage du solvant peut être difficile à l'échelle industrielle. Parmi les polymères utilisés pour la microencapsulation par la technique d'évaporation de solvant on peut notamment trouver l'acide poly(lactique-co-glycolique) (55), le gluten du blé et le poly(éthylène glycol), l'éthylcellulose. Ou encore l'acide polylactique. Le taux de matière

active dans les microparticules obtenues par ce procédé est compris entre 30 % et 40 %, et le rendement (efficacité) d'encapsulation peut atteindre 100 %. La taille des particules produites est de 0,5-200  $\mu\text{m}$  (11).

## 7. Applications de l'encapsulation

Actuellement, les recherches dans le domaine de l'encapsulation se sont intensifiées, afin de développer de nouvelles technologies d'encapsulation, d'encapsuler de nouveaux composés, et de proposer de nouveaux matériaux enveloppants, comme par exemple des polymères biocompatibles pour le domaine pharmaceutique et médical (8).

Le **tableau 5** récapitule les applications de la microencapsulation dans de nombreux domaines industriels avec quelques exemples de composés encapsulés (14) :

**Tableau 5 :** Exemples d'application de l'encapsulation .

Domaine industriel	Exemples de composés encapsulés
<b>Pharmaceutique et médical</b>	Antibiotiques, contraceptifs, enzymes, vaccins, bactéries, vitamines, minéraux, antigènes, anticorps...
<b>Cosmétique</b>	Parfums, huiles essentielles, anti transpirants, agents bronzants, crèmes solaires, Colorants capillaires, baumes démêlants, mousses à raser...
<b>Alimentaire</b>	Huiles essentielles, graisses, épices, arômes, vitamines, minéraux, colorants, enzymes, levures, micro-organismes.
<b>Agriculture</b>	Herbicides, insecticides, engrais, répulsifs, hormones végétales...
<b>Biotechnologie</b>	Enzymes immobilisées, microorganismes, cellules vivantes, cellules artificielles, cultures tissulaires, composés nutritionnels...
<b>Chimie</b>	Catalyseurs, enzymes, additifs pour plastiques, eau (plâtre et béton), inhibiteurs de corrosion, retardateurs d'incendie, colorants et pigments, agents UV protecteurs, parfums, huiles essentielles, agents lubrifiants...
<b>Détergents</b>	Adoucissants, antistatiques, agents décolorants, agents moussants, silicones, cires, détachants...
<b>Textile</b>	Colorants, parfums, pigments, bactéricides, fongicides, répulsifs d'insectes, agents antistatiques, retardateurs d'incendie, agents imperméabilisants, adhésifs, composés bioactifs médicaux, composés bioactifs cosmétiques
<b>Graphismes et impression</b>	Colorants, pigments, parfums, révélateurs, cristaux liquides, toners, composés photosensibles...

<b>Photographie</b>	Halogénures d'argent, pigments, colorants, composés photo polymérisables, révélateurs pour photographies couleurs, plastifiants...
<b>Electronique</b>	Cristaux liquides, matériaux semi-conducteurs, adhésifs, agents de séchage, retardateurs de flammes, antistatiques...
<b>Traitement des déchets</b>	Microorganismes, substrats, detoxifiants, déchets liquides (solidification), déchets industriels à risques, déchets radioactifs...

En conclusion de cette partie, il nous semble important de préciser qu'avant d'encapsuler un ingrédient, il est nécessaire de connaître l'application et les propriétés désirées, notamment la morphologie de la particule obtenue. Ces informations, ainsi que la nature de la matière active, permettront de choisir le matériau enrobant et le procédé d'encapsulation adaptés.

# Les formes de libération



## **1. Introduction**

La pharmacocinétique est une modélisation qui, à partir des données expérimentales et de paramètres tels que la clairance et le volume de distribution, permet d'étudier le devenir du médicament dans le corps (56). Elle permet d'orienter (57) :

- le choix des voies d'administration ;
- l'adaptation des posologies ;
- le choix de l'intervalle thérapeutique.

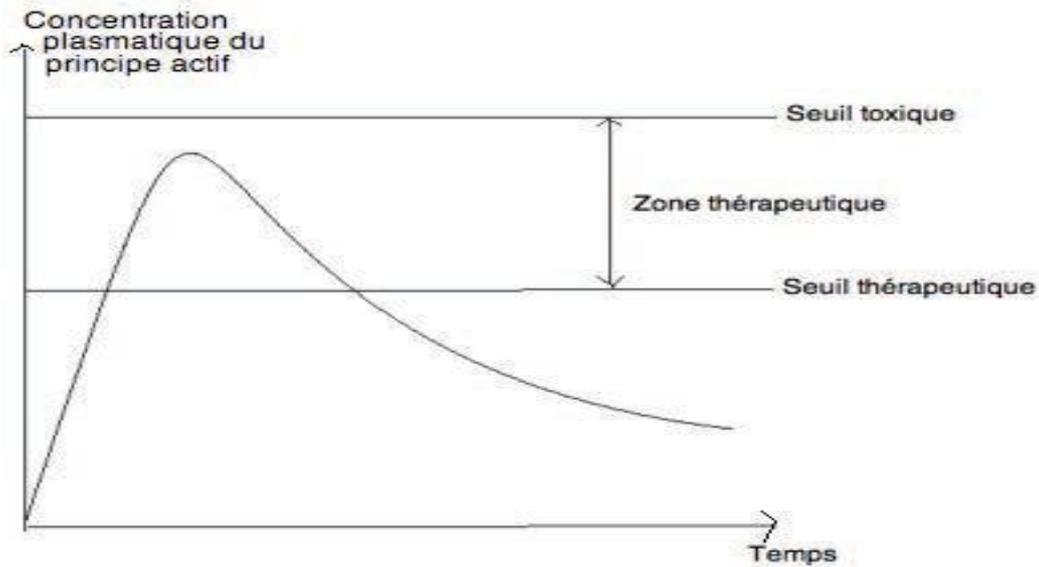
La pharmacocinétique étudie la distribution dans le temps d'un médicament et de ses métabolites dans les différents compartiments du corps (sang, liquide interstitiel, cellule) ainsi que son absorption, sa distribution, son métabolisme et son élimination (57).

En thérapeutique, une libération rapide du principe actif est généralement recherchée afin d'obtenir une activité thérapeutique dans un délai court et soulager le malade rapidement. Pour se faire, une forme à libération conventionnelle ou accélérée sera choisie. Cependant, dans certains cas, une libération du principe actif ralentie ou différée peut être souhaitée afin de prolonger la durée de l'action thérapeutique. C'est dans cette optique, que les formes à libération modifiée ont été développées (57).

## **2. Les systèmes d'administration des médicaments :**

Il existe de nombreuses voies d'administration de principes actifs (PA) : locale (transmucosale), entérale (orale, rectale, sublinguale) et parentérale (injectable). Grâce à sa simplicité et à son confort d'utilisation, la voie orale est la voie d'administration des PAs la plus utilisée (58) : En effet, pour que le PA puisse avoir un effet thérapeutique par voie orale, il faut que celui-ci soit absorbé au bon endroit à travers la barrière digestive pour être présent en quantité suffisante dans la circulation sanguine le plus longtemps possible.

Pour que le PA exerce de façon efficace son activité thérapeutique, il est nécessaire que sa concentration sanguine atteigne un taux suffisant pour un effet thérapeutique mais pas supérieur au seuil de toxicité. Cette fourchette de concentration sanguine est nommée la zone thérapeutique (Figure 8).



**Figure 8 :** le profil de libération.

Ainsi, pour satisfaire ces exigences d'absorption et de concentration sanguine, l'administration orale requiert certaines exigences telles que :

- La solubilité du PA dans le tube digestif
- L'absorption du PA à travers la barrière gastro-intestinale
- La distribution du PA à travers l'organisme jusqu'à sa cible.

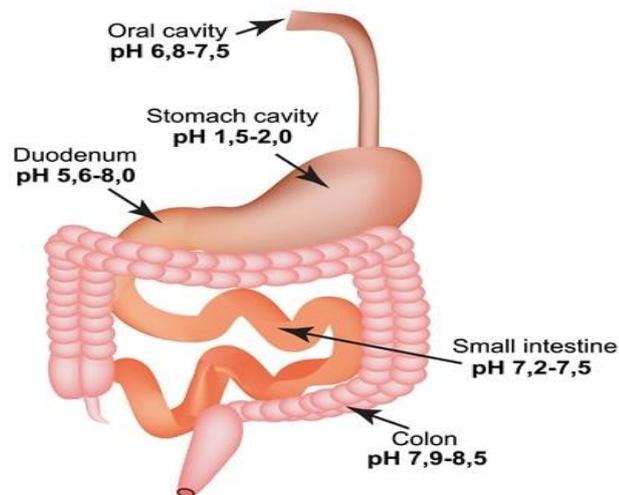
La forme pharmaceutique est une présentation du PA qui peut néanmoins participer à son activité thérapeutique. Les systèmes d'administration des médicaments consistent en des formulations ou des technologies permettant au PA de satisfaire aux exigences citées précédemment et d'atteindre sa cible pour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

Ainsi, pour améliorer l'efficacité des PAs, des systèmes d'administration existent pour moduler leur solubilité (59), restreindre leur libération à un site spécifique, ou réduire leur dégradation indésirable dans l'estomac ou dans la circulation sanguine. Les systèmes d'administration peuvent également promouvoir la sécurité d'utilisation des PAs en réduisant les effets indésirables systémiques (60), en empêchant la libération du PA au niveau de l'estomac et par conséquent en évitant les lésions gastriques, ou au niveau des tissus sains. Enfin, les comprimés de désintégration orale, et les formulations masquant le goût sont

d'excellents exemples de systèmes d'administration visant à améliorer l'adhésion du patient à son traitement.

- **La voie orale** : L'administration du principe actif par la voie orale a été, généralement, la voie la plus commode et la plus utilisée (61). Cette voie consiste au passage du principe actif à travers la partie gastro-intestinale (Figure 9).

### pH of the gastrointestinal tract



**Figure 9** : Représentation de la partie gastro-intestinale humaine.

Une fois administré par la bouche, le principe actif passe rapidement à la partie gastro-intestinale. Le long de cette partie, le principe actif est absorbé principalement au niveau de l'iléon, mais sa biodisponibilité peut être réduite à cause du premier passage hépatique. Ce dernier désigne toute transformation du principe actif au niveau du foie. Enfin, le principe actif passe dans la circulation générale à travers la veine (61). La partie gastro-intestinale est le site d'absorption préféré pour divers agents thérapeutiques à cause de la facilité d'administration et le confort aux patients. Les formes galéniques orales consistent en des comprimés et des capsules les quelles sont souvent fournies comme des systèmes à libération instantanée (62).

Cette partie est aussi caractérisée par les différentes valeurs de pH comme le montre la (figure 9).

L'administration de médicaments par voie orale possède des avantages et aussi des inconvénients.

**Les avantages :**

- Acceptabilité et confort du patient.
- Voie orale présente une grande surface efficace à l'absorption du principe actif.
- Muqueuse gastro-intestinale possède une surface vascularisée importante, ce qui assure une absorption rapide de médicament.
- Possibilité de retenir le principe actif dans la partie gastro-intestinal si un système de vectorisation approprié est utilisé, par conséquent, la fréquence de la dose diminue
- Voie orale offre un potentiel pour réaliser une libération contrôlée d'ordre zéro.
- Coût de la thérapie orale est généralement plus faible comparativement aux autres voies d'administration.

**Les inconvénients :**

- Vitesse d'absorption du principe actif à partir des formes galéniques conventionnelles est affectée par plusieurs facteurs, à savoir fluctuation du pH dans l'estomac et l'intestin grêle, présence ou absence de la nourriture, rythme journalier...
- Possibilité d'avoir des effets secondaires, par exemple certains principes actifs sont gastro-toxiques en causant des dommages dans la muqueuse de l'estomac.

**3. Les formes à libération modifiée :**

Elles font partie des systèmes de délivrance des médicaments qui englobent toute forme ou dispositif médical visant à améliorer le ratio bénéfice/risque d'un médicament grâce à la maîtrise de la vitesse, du moment ou du site de libération dans l'organisme de la substance pharmacologiquement active (63).

**3.1. Les formes à libération accélérée :** Quand on souhaite une action aussi rapide que possible par exemple pour les antalgiques, les comprimés à libération accélérée, bien que d'aspect classique, doivent être dissous ou dispersés dans de l'eau avant administration ou en présence de salive. Ils présentent donc, en complément des avantages des comprimés conventionnels, une biodisponibilité comparable à celle des formes liquides (64).

**3.2. Les formes à libération différée :** Différents comprimés gastro-résistants sont des systèmes à libération modifiée destinés à l'action du suc gastrique et à libérer le ou les principes actifs dans le suc gastrique (Videx® : protection contre une dégradation du principe actif à pH acide, Salazopyrin® : protection de l'estomac en cas d'intolérance ou traitement au long cours (arthrite rhumatoïde)) (65).

**3.3. Les formes à libération prolongée :** Elles sont destinées à prolonger l'action de molécules à demi-vie courte ou à réduire un pic de concentration plasmatique important et précoce source d'effets indésirables.

**3.4. Les formes à libération contrôlée :** Le contrôle de la libération par diffusion est le mécanisme le plus répandu parmi les systèmes à libération contrôlée (66). Le principe actif migre de l'intérieur vers la surface de la forme galénique puis dans le fluide environnant de l'hôte (67). En général, ces systèmes s'appliquent à des molécules de petite taille et ne sont pas biodégradables.

**3.5. Les formes à libération ciblée :** L'intestin grêle est le site principal pour l'absorption du médicament mais on peut avoir intérêt à provoquer cette absorption au niveau du colon, parce qu'au niveau du colon, l'activité protéolytique est réduite, cela épargne les principes actifs qui y sont sensibles, le traitement topique des carcinomes et des maladies inflammatoires de l'intestin nécessite une grande concentration de principe actif à ce niveau-là.

#### **4. Modèles théorique du mécanisme de libération de principe actif :**

La libération du principe actif à travers une matrice polymérique est généralement régit par trois mécanismes. Ils sont fortement dépendants de la nature de principe actif, et plus particulièrement des propriétés structurales du polymère tel que son taux de gonflement, vitesse de gélification et son comportement dans les fluides physiologique.

**4.1. Modèle de Fick :** Où le principe actif diffuse à travers les chaînes macromoléculaires du polymère, due à l'existence d'un gradient de concentration du PA entre la matrice et le milieu dans lequel elle se trouve. Les modèles d'ordre 0 et 1 sont ceux qui représentent le mieux les profils de la cinétique de libération du principe actif en fonction du temps pour les formes conventionnelles.

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. Les lois de Fick sont alors énoncées comme suit (68) :

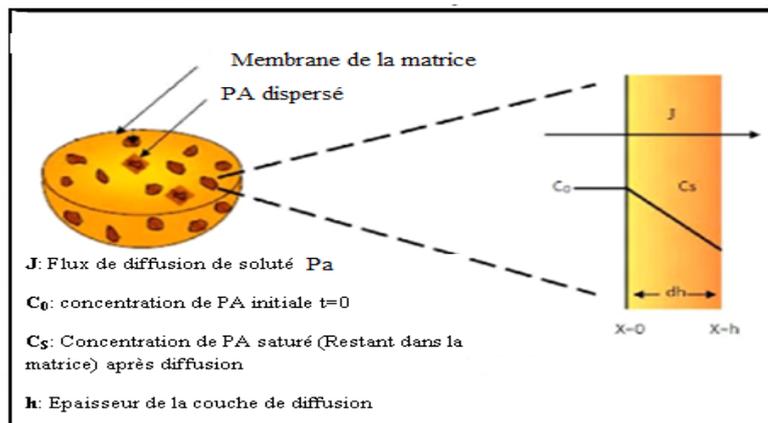
##### **1<sup>ère</sup> Loi de Fick**

$$\Phi = -D.S. \frac{\partial C}{\partial X} \dots\dots\dots[3]$$

$\phi$  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).

**2<sup>ème</sup> Loi de Fick**

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \left(\frac{\partial}{\partial x}\right) \left[ D_c \left(\frac{\partial C}{\partial x}\right) \right] \dots\dots\dots[4]$$



**Figure 10 :** Représentation schématique d'une paroi matricielle.

**Modèle d'Higuchi :** Higuchi a développé des modèles décrivant la libération des PAs solubles et peu solubles incorporés dans des matrices solides. Le PA est libéré par diffusion à travers le réseau poreux crée par le solvant, qui est la seule étape limitante du mécanisme. Pour celui-ci, le rapport des concentrations varie linéairement en fonction de  $t_{1/2}$ . L'équation du modèle cinétique peut s'écrire globalement ainsi :

$$Q_t = k_H t^{1/2} \dots\dots\dots[5]$$

$k_H$  : est la constante cinétique d'Higuchi.

**4.2. Modèle de Korsmeyer-Peppas:** En 1983, Korsmeyer et al (69) 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 :

$$M_t/M_\infty = k t^n \dots\dots\dots[6]$$

$M_t/M_\infty$  : 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 :

$n \leq 0,45$  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.

### **5. Facteurs influençant les transferts de matières :**

Dans la cinétique de libération des principes actifs dans les milieux physiologiques, il existe plusieurs facteurs influençant les transferts de matières. On les citera ci-après (70) :

**Solubilité dans l'eau :** La solubilité du principe actif joue un rôle important, une libération satisfaisante ne peut être obtenue avec des substances peu solubles. Toutefois, une solution peut être envisagée à ce problème en recherchant des conditions d'amélioration de la solubilité du principe actif

**Coefficient de partage :** Chacun sait que le coefficient de partage entre l'huile et l'eau (H/E) d'un principe actif est l'un des paramètres importants qui régit sa pénétration à travers les membranes biologiques. Il influence donc l'absorption, la distribution et l'élimination du médicament.

**Stabilité du principe actif :** Certains principes actifs subissent une dégradation plus ou moins importante dans l'estomac ou l'intestin sous l'action du pH environnant ou des enzymes. Si l'on excepte les processus saturables, nombre de ces dégradations sont directement proportionnelles à la quantité de principe actif dissous dans le milieu.

**Constante d'acidité (pKa) :** Dans l'hypothèse où seule la fraction non ionisée du principe actif est absorbable, l'incidence du pKa de la substance sera particulièrement complexe dans le cas des formes à libération prolongée destinée à la voie orale, le pH s'élevant progressivement dans le tube digestif.

**Liaison aux protéines :** La capacité du principe actif de se lier aux protéines peut en conditionner l'activité. En effet, seule la fraction de principe actif libre pourra exercer une activité pharmacologique. La liaison aux protéines plasmatiques est un paramètre important, surtout en cas de comédication pouvant modifier cette liaison protéique et provoquer un surdosage par ralentissement de son élimination. De même, la fixation du principe actif à des protéines gastro-intestinales comme les mucines, en particulier, est un facteur de réduction de biodisponibilité (71).

**Dose active/administrée :** La dose à administrer peut constituer un obstacle difficilement surmontable pour la mise en forme de préparations conventionnelles à libération prolongée comme des comprimés ou des gélules.

**Absorption :** Le concept le plus simple de prolongation de durée d'action consiste à compenser l'élimination globale du principe actif par l'apport d'une quantité biodisponible équivalente, produite par une dose d'entretien, et ceci dès que les concentrations d'équilibre atteintes dans l'organisme correspondent à l'effet thérapeutique souhaité. Ceci suppose que la vitesse d'absorption du principe actif amené par la dose d'entretien reste constante pendant tout le Processus de libération (72).

**Métabolisme :** Il existe deux situations dans lesquelles le métabolisme pourrait restreindre le champ d'application des formes à libération modifiée.

La première est celle où la substance active est capable de jouer le rôle d'inducteur ou d'inhibiteur enzymatique lors d'administration chronique.

La seconde situation est créée par la possibilité de saturation d'un processus hépatique qui rendrait la biodisponibilité de la substance dépendante de la dose administrée.

**Distribution :** La distribution du principe actif dans l'organisme, sa fixation éventuelle au niveau tissulaire ou sur les protéines plasmatiques, l'intensité de ses liaisons, conditionnent sa vitesse d'élimination et par conséquent sa durée d'action. Dans ce cas, la distribution du principe actif peut être schématiquement représentée par son volume de distribution ( $V_d$ ) :

$$V_d = \text{Dose} / \text{Concentration plasmatique} \dots \dots \dots [7]$$

**Durée d'action :** Le temps de demi-vie biologique du principe actif est évidemment le premier critère à envisager avant le développement d'une forme à libération prolongée. En effet, les substances qui présentent un temps de demi-vie élevé ont peu d'intérêt à être

incorporées à de telles formes (orales ou parentérales) puisque une forme conventionnelle permettra d'obtenir la durée de l'activité thérapeutique requise (73).

# Généralité sur les antibiotiques



## 1. Les antibiotiques :

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 (74). 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 introduits 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.

## 2. Les macrolides :

Ce sont des antibiotiques produits par des streptomycines. Leur structure comporte un grand cycle de lactone. Ils diffèrent par la nature d'un sucre qu'est greffé au cycle. Ils ont tous un même spectre d'activité et même mode d'action. Ils sont faiblement toxiques, ils peuvent remplacer la pénicilline chez les sujets qui sont allergiques ou encore chez les femmes enceintes. Ces antibiotiques sont actifs sur certaines bactéries Gram positif. Ils sont indiqués dans les infections du nez, de la gorge et des oreilles, ainsi que les infections des bronches et des poumons, de la peau, des organes génitaux et de la bouche (74).

**Propriétés chimiques des macrolides :** Les macrolides peuvent être synthétisés par condensation de molécules d'acétate, la structure finale est caractérisées par un anneau macrocyclique de type lactone (d'où le nom macrolide) sur lequel s'attachent en général deux sucres substitués. Le cycle lactone est constitué de 14 atomes (13 carbones et 1 oxygène) pour l'érythromycine (73).

**Mode d'action des macrolides :** Les macrolides (des bactériostatiques) à chaîne 14 ou 16 carbones altèrent la synthèse des protéines bactériennes en se fixant sur les ribosomes (sous-unité 50S ; et donc blocage par encombrement stérique). Les macrolides sont éliminés au niveau de la bile. L'activité des macrolides est augmentée à un pH alcalin, parce que la pénétration de ces bases faible à travers la paroi bactérienne est meilleure lorsqu'elles sont ionisées (75).

**Spectre d'activité :** Ils sont principalement activés contre les bactéries suivantes (75) :

➤ **Gram positif**

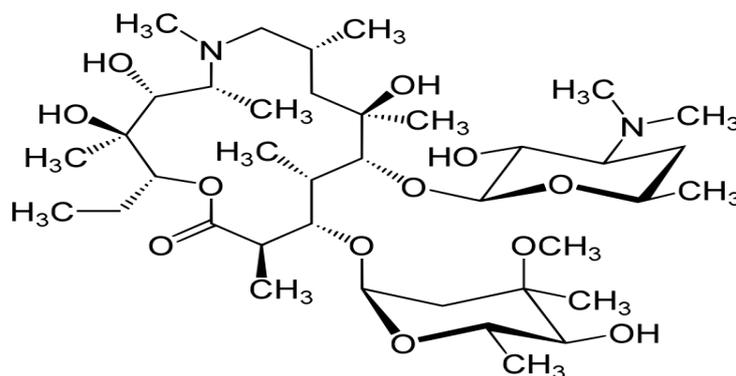
Staphylocoques, corynébactéries, et certaines espèces de clostridium et de mycobactéries.

➤ **Gram négatif**

Brucella suis, et Bordetella pertussis.

✓ **Azithromycine (AZT)**

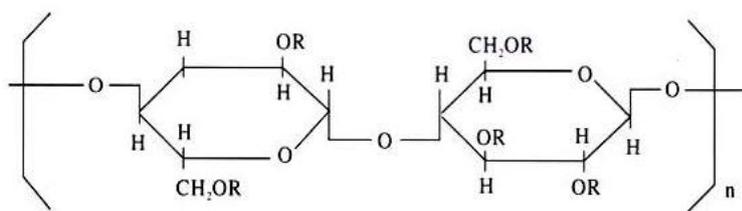
L'Azithromycine est le premier antibiotique macrolide du groupe azalides. Il est dérivée de l'érythromycine par addition d'un atome d'azote dans le cycle lactone de l'érythromycine , rendant ainsi cet anneau lactone un anneau à 15 atomes. Il est pratiquement insoluble dans l'eau. Il s'utilise pour soigner certains types d'infections causées par des bactéries, son action est d'empêcher les bactéries à produire des protéines qui leur sont essentielles. Sans ces protéines, les bactéries ne peuvent croître, se reproduire ou augmenter en nombre. Il arrête donc la propagation de l'infection, les bactéries restantes sont tuées par le système immunitaire, ou meurent toutes seules (75).



**Figure 11 :** Représentation de la structure de L'Azithromycine.

✓ **Hydroxypropylméthylcellulose (HPMC)**

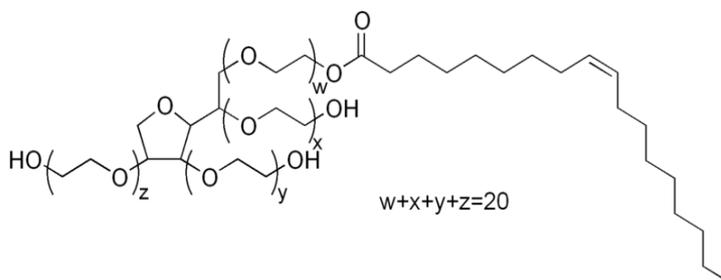
HPMC est une poudre ou un granule blanc inodore non ionique, fabriqué à partir de cellulose de coton très pure par réaction d'éthérisation. HPMC est caractérisée par hydrosolubilité, il a une stabilité du pH et une activité superficielle, propriétés de gélification réversible à la température, et même une propriété de lubrification. HPMC a été appliquée dans l'industrie pharmaceutique, et l'industrie chimique du pétrole, matériaux de construction, produits chimiques agricoles, l'encre d'impression, résine synthétique, peinture, céramique, papier, produits cosmétiques. Émulsifiant, excipients, agent de rétention d'eau, filmogène, etc.



**Figure 12 :** Représentation de la structure de de HPMC.

✓ **Le tween 80**

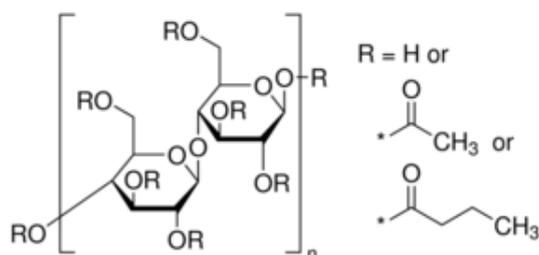
Le polysorbate 80 est un tensioactif et un émulsifiant non ionique, ce composé synthétique est d'origine végétale de couleur jaune inodore visqueux et hydrosoluble. Constitués ainsi d'une chaîne aliphatique hydrophobe (l'acide ou les acides gras) et d'une tête éthoxylée hydrophile, obtenue à partir de la réaction d'estérification de sorbitol, l'éthoxylate d'acide oléique. Souvent utilisé dans les aliments et les cosmétiques et dans la pharmaceutique comme émulsifiant ou solubilisant (valeur HLB d'environ 15).



**Figure 13 :** Représentation de la structure de tween 80.

✓ **Butyrate d'acétate de cellulose (CAB)**

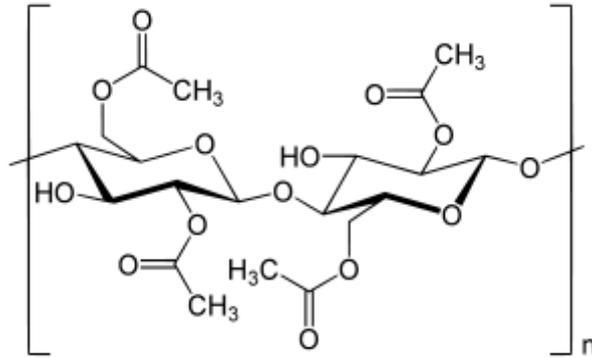
Un polymère thermoplastique composé de cellulose estérifiée avec de l'acide acétique et de l'acide butyrique. L'acétate-butyrate de cellulose (CAB) est devenu un produit commercial en 1938. Il en est de même pour le diacétate de cellulose, à la différence qu'il est plus résistant, plus durable et offre une meilleure stabilité dimensionnelle. CAB est utilisé pour les pellicules photographiques, les vernis et les moulures. On le trouve souvent dans des feuilles et a été vendu sous le nom de film de sécurité de film cinématographique. Le CAB a été utilisé pour les films radiographiques.



**Figure 14 :** Représentation de la structure de Butyrate d'acétate de cellulose CAB.

✓ **L'acétate de cellulose (AC)**

C'est un polymère biodégradable au trois quart naturel (mélange de fibre de coton) et d'un quart de plastifiants. Schützenberger a été le premier à synthétiser de l'acétate de cellulose en 1865. En faisant réagir de l'anhydride acétique sur de la cellulose de coton chauffée dans un tube fermé à 180 °C (76). Produit à grande échelle à partir du début des années 1920, il reste encore de nos jours le plus important des esters organiques de la cellulose au niveau industriel. Dans le procédé le plus classique d'acétylation, les fibres de cellulose natives sont converties progressivement en acétate de cellulose sous l'action d'un mélange d'acide acétique glacial et d'anhydride acétique en présence d'un catalyseur tel que l'acide sulfurique ou l'acide perchlorique (77).



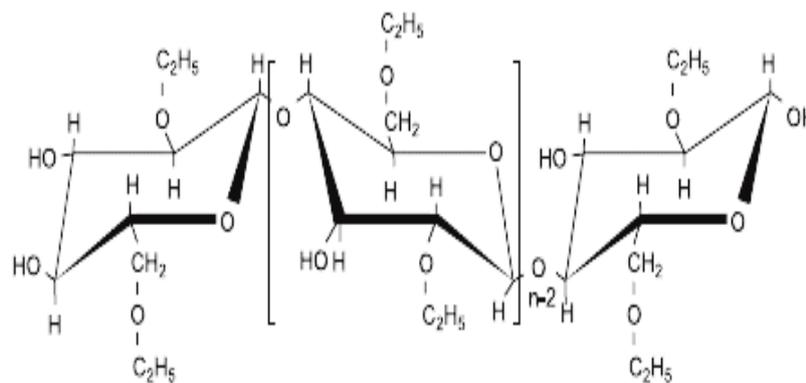
**Figure 15 :** Représentation de la structure de l'acétate de cellulose.

✓ **L'éthylcellulose (EC)**

L'éthylcellulose appelée souvent l'éther éthylique non ionique de cellulose, est un dérivé de la cellulose dans lequel une partie des groupes « hydroxyle » des unités glucosiques ont été transformées en groupes « éthoxylique » (78). L'EC est employée pour la microencapsulation de divers produits pharmaceutiques pour les stabiliser contre les interactions, l'hydrolyse et l'oxydation. Elle est également utilisée comme agent de matrice et/ou de revêtement pour donner des caractéristiques soutenues de libération. L'éthylcellulose a été largement utilisée dans l'industrie pharmaceutique et pour la microencapsulation en raison de ses nombreuses propriétés polyvalentes telles que (79) :

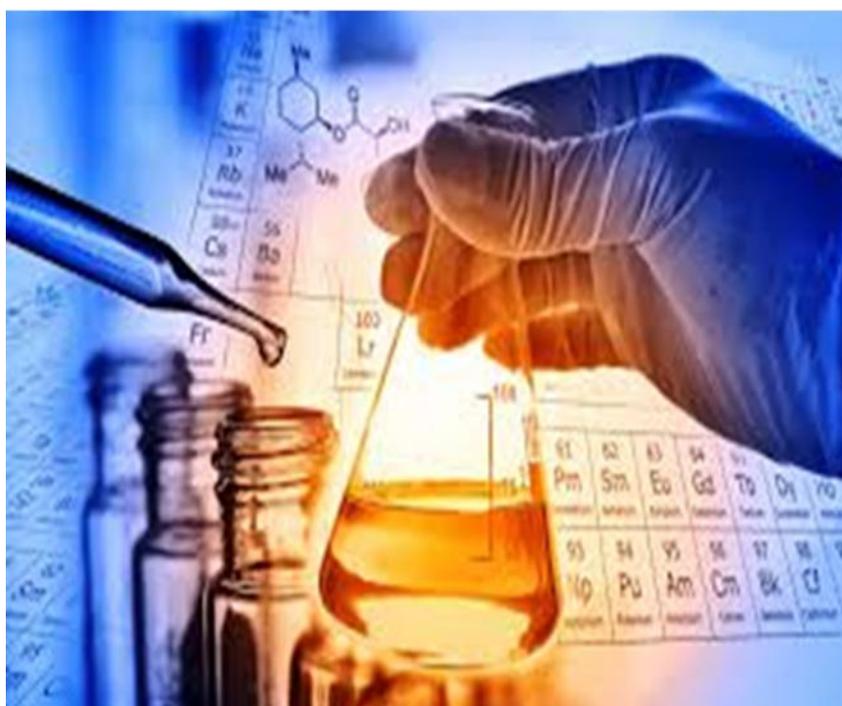
- Insoluble dans l'eau mais soluble dans plusieurs solvants organiques tels que les alcools, éthers, cétones et esters ;
- Biocompatible et compatible avec de nombreuses celluloses, résines et presque tous les plastifiants ;
- Non biodégradable, utilisée alors seulement dans la formulation orale ;
- Stable vis-à-vis de la lumière, la chaleur, l'oxygène, l'humidité et les produits chimiques ;
- Non toxique ;
- Non irritant ;
- Elle a une capacité à absorber la pression et donc protéger le comprimé de fracture lors de la compression ;
- Son film mince présente une bonne flexibilité et une résistance mécanique dans une large gamme de température (78) ;
- Non gonflable et insoluble dans l'eau, donc sa compacité et sa porosité jouent un rôle clé dans la libération du médicament hydrophobe ;

- Bien qu'il soit insoluble dans l'eau, elle peut absorber de l'eau. Ceci est dû à son potentiel de liaison hydrogène avec de l'eau, attribuable à la différence de polarité entre l'atome de l'oxygène et le groupe éthyle de l'EC ;
- Sur la base du contenu en éthoxy (%), il y a trois catégories de EC : les types K, N et T, qui contiennent respectivement 44-47,9%, 48-49,5% et 49,6-51,0% en éthoxy ;
- En se basant sur la longueur de la chaîne ou le degré de polymérisation ou le nombre d'unité d'anhydroglucose, l'EC est disponible sous différentes classes de viscosité. La viscosité apparente du polymère peut être considérée comme une mesure indirecte de son poids moléculaire (79) ;
- Elle peut également être utilisée en combinaison avec des polymères hydrosolubles pour préparer des revêtements de film à libération prolongée qui sont fréquemment utilisés pour le revêtement de microparticules, de pastilles et de comprimés.



**Figure 16 :** Représentation de la structure de l'éthylcellulose.

## Partie expérimentale



### **1. Introduction :**

Actuellement, la microencapsulation est largement utilisée dans divers domaines tels que les secteurs pharmaceutique, cosmétique ou encore agro-alimentaire afin d'assurer le contrôle de la libération du principe actif. Plusieurs techniques d'encapsulation sont disponibles et parmi elles, la microencapsulation par évaporation de solvant est communément utilisée du fait que c'est une manipulation nécessitant un matériel usuel et des conditions opératoires douces (80).

Dans cette partie expérimentale, on présentera dans une première partie, la préparation des microparticules par évaporation de solvant utilisant des dérivés cellulosiques comme matrice d'enrobage d'azithromycine (AZT). Dans une seconde partie, on réalise le suivi cinétique de la libération d'AZT dans deux milieux reconstitués pH=1,2 (gastrique) et pH=7,7 (intestinal) à T=37°C.

A la fin, on présente les tests biologiques réalisés sur quelques souches pour montrer que les concentrations libérées ont une activité biologique.

### **2. Préparation et caractérisation des microparticules :**

Cette partie est consacrée à la synthèse de trois différentes microsphères à base des produits suivantes :

- Tween 80 comme tensioactif (T80).
- L'Azithromycine (AZT) comme principe actif (PA).
- Quatre dérivés cellulosiques : Ethylcellulose (EC), Acétate de cellulose (AC), Butyrate d'acétate de cellulose (CAB), Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC). Ces polymères sont utilisés comme matières enrobant.

#### **2.1. Préparation des Microsphères :**

La phase organique est émulsifiée avec la phase aqueuse dans un réacteur cylindrique en verre (volume 1000 mL) sous une agitation mécanique avec une turbine d'agitation de 4 pales (figure 17).

La formulation des microsphères se déroule selon les étapes suivantes : Une quantité de 0,5 ml de tween 80 se dissout dans 50 ml de l'eau distillée sous une agitation jusqu'à la solubilité totale de Tween 80. Cette solution aqueuse représente la phase continue de

l'émulsion. En parallèle, la phase organique (dispersée) est préparée par dissolution de 0,2g d'AZT et 2,8 g de HPMC et 1,4 g de l'autre polymère matrice dans 100 mL de dichlorométhane (comme solvant) sous agitation et un chauffage durant un court de temps. Le tableau 6, montre les quantités des produits utilisés pour chaque formulation.

Après avoir les deux solutions à température ambiante, la solution organique est ensuite introduite goutte à goutte dans la phase continue, l'agitation mécanique est maintenue le long de l'évaporation à une vitesse de 750 rpm (retour par minute). A une durée de 3heurs, l'évaporation totale de solvant est atteinte.

Les microsphères sont alors récupérées par filtration sous vide à l'aide de la trompe à eau, lavées trois fois avec l'eau distillée, et séchées à une température de 40°C.



**Figure 17 :** Dispositif Expérimental de la microencapsulation par évaporation de solvant.

**Tableau 6 :** les quantités des produits utilisés pour la formulation des microsphères.

Code	Phase organique				Phase aqueuse	
	$m_{\text{polymère}}$ (g)	$M_{\text{HPMC}}$ (g)	$m_{\text{AZT}}$ (g)	$V_{\text{DCM}}$ (mL)	$m_{\text{T80}}$ (g)	$V_{\text{eau distillé}}$ (mL)
F1	1,4 EC	2,8	0,2	100	0,5	50
F2	1,4 AC	2,8	0,2	100	0,5	50
F3	1,4CAB	2,8	0,2	100	0,5	50

## 2.2. Caractérisation des Microsphères :

### ➤ **Détermination de la quantité d'agent actif encapsulé :**

La quantité de l'agent actif encapsulé dans les microsphères fabriquées a été déterminée par la technique d'extraction dans un solvant. Après un temps suffisant pour la solubilisation et le transfert du principe actif vers le solvant, la solution obtenue est analysée par spectrométrie UV-Vis afin de déterminer la concentration d'agent actif extrait des microsphères.

Le rendement (Rdt) et la teneur de la microencapsulation d'AZT sont ensuite déterminés par les équations données dans le chapitre I (page 5).

On a effectué l'extraction d'AZT dans un pH=1,2. Ces microsphères de masse de 0.1g sont broyées et plongées dans un volume de 100 mL dans un flacon bouché, agité pendant 48 heures avec une vitesse d'agitation constante à 500 rpm à une température de 35-37°C. 1 mL de cette solution est prélevé alors après filtration puis analysé par UV-Vis. La quantité d'AZT déterminée par ce dosage représente alors la quantité réelle en principe actif encapsulé.

### ➤ **Distribution de taille :**

La connaissance de la taille et la distribution en taille des particules est essentielle pour la description des systèmes d'émulsion, les suspensions, et les poudres. Cette caractéristique physique du système dépendante des conditions opératoires de fabrication peut affecter les propriétés chimiques, physiques et mécaniques du système de particules. Si le système est constitué de particules de même taille, on parle d'un système monodisperse. Dans le cas contraire, il s'agit d'un système polydispersé s'il est constitué de particules de différentes tailles.

La taille des particules de forme sphérique est représentée par un diamètre moyen. La littérature fait apparaître plusieurs types de diamètres calculés de différentes manières selon les techniques utilisées. Dans ce travail et pour caractériser la taille des microparticules, on a utilisé trois diamètres moyens : en nombre, en surface et en masse. Ces diamètres sont calculés comme suit **(81)** :

Si  $-i$  est la classe des particules

$-n_i$  nombre de particules de la classe  $i$ .

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

$$d_{10} = \frac{\sum n_i d_i}{\sum n_i} \dots \dots \dots [8]$$

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

$$d_{32} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2} \dots \dots \dots [9]$$

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

$$d_{43} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \dots \dots \dots [10]$$

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

$$\text{Dispersion} = d_{43}/d_{10} \dots \dots \dots [11]$$

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

La taille des microsphères est déterminée par microscope optique (OPTIKA 4083. B1). Un échantillon de microsphères est analysé. Cette population est divisée en classes de diamètres  $d_i$  qui correspond au centre de classe.

On dénombre alors l'effectif dans chaque classe ce qui nous permet le calcul statistique, on calcul ensuite les fréquences : en nombre, en surface et en masse, ainsi la dispersion.

#### ➤ **Spectroscopie Infrarouge :**

Les spectres IR des microparticules effectués sur un spectrophotomètre infrarouge a transformé de Fourier type 8400-Schimadzu (Laboratoire de Génie Physique à l'Université Ibn Khaldoun-Tiaret), nous a permis d'en déduire la présence effective de l'agent actif dans les microparticules. Les spectres sont établis sur des pastilles composés du produit à analyser dispersé dans du bromure de potassium KBR parfaitement sec.

#### ➤ **Observation par microscope optique :**

La microscopie entre autre (la diffraction de la lumière, le mouvement des particules) est l'une des méthodes utilisés pour l'observation de la forme sphérique des microparticules, la taille des microparticules et sa morphologie.

La forme et la taille des microsphères ont été déterminées par microscope optique (OPTIKA 4083. B1).

➤ **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.

➤ **Caractérisation par DRX :**

L'appareil utilisé est un diffractomètre à poudre (Rigaku – Mini Flex 600) (Laboratoire synthèse et catalyse, université Ibn Khaldoun, Tiaret). 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°.

### **3. Etude Cinétique de la libération d'AZT :**

Le développement des systèmes de libération contrôlée ou prolongée est un outil pour optimiser l'effet thérapeutique. Plusieurs facteurs influencent les résultats de test de dissolution, à savoir celles relatives aux caractéristiques physiques et chimiques du principe actif, à la formule du produit de médicament, à la forme posologique, et les paramètres du test de dissolution lui-même. Ce dernier, comme le milieu de dissolution (composition, pH, et de la viscosité), la vitesse d'agitation, l'appareil et l'échantillonnage.

#### **3.1. Facteurs influençant les transferts de matières :**

- La concentration de la solution doit être uniforme à toute l'étude à l'aide d'un agitateur magnétique qui fixe la vitesse d'agitation du milieu.
- La solubilité du principe actif qui est influencé par la température du milieu.
- La nature du milieu (pH) influe sur la vitesse d'hydrolyse et sur la solubilité du principe actif.
- Le volume du liquide sert à deux méthodes : Méthode non sink (le volume utilisé pour toute l'expérience est 100 mL, Méthode sink (le volume est renouvelé par du liquide vierge d'autre part le volume utilisé est plus grand).

Au cours de l'étude de la cinétique de la libération d'AZT, nous avons utilisés la méthode non sink avec une température fixée à 37°C (température du corps humain) et une vitesse d'agitation constante à 500 rpm.

Les milieux des pH sont préparés selon les compositions classés dans le tableau suivant à l'aide d'un pH-mètre à une température 37°C :

**Tableau 7 :** Composition des solutions pH préparées.

pH=1,2	HCl (1N) :80mL, NaCl : 2g, Eau distillé : 1L.
pH=7,7	HCl (0.1N) 20mL, Borax : 3,9 g, Eau distillé : 1L.

Ces milieux correspondent aux temps de séjours les plus importants le long du tractus digestif.

### **3.2. Mode d'opérateur :**

Les cinétiques de libération d'AZT à partir des microparticules ont été effectuées dans un réacteur spécial 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, et est muni d'une agitation magnétique contrôlée (**500 rpm**).

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 «**100 mg**» sont immergées dans un milieu physiologique de pH=1,2 ou pH=7,7. Le volume prélevé est dilué par un volume de fiole  $V_d = 10$  mL du même milieu d'étude. La Densité Optique (D.O) ou l'Absorbance est ensuite déterminée par UV-Vis pour chaque prélèvement.



**Figure 18 :** Dispositif expérimental de la libération de principe actif.

### **3.3. 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 AZT tiré de la littérature ( $\lambda_{\max 1,2} = 204$ ,  $\lambda_{\max 7,7} = 250$ ) (82, 83).

Les valeurs de  $\lambda_{\max}$  ainsi trouvées sont maintenues constantes pour suivre le relargage d'AZT.

Les  $\epsilon_{\max}$  ont été ainsi tirés du même travail

$$\epsilon_{\max 1,2} = 3650 \text{ (L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}\text{)}$$

$$\epsilon_{\max 7,7} = 1890 \text{ (L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}\text{)}$$

## **4. Les tests biologiques :**

### **4.1. Culture microbiologique**

La culture microbienne est une technique de laboratoire de croissance in-vitro contrôlée de micro-organismes. Il s'agit de placer des bactéries à la surface ou à l'intérieur d'une gélose. Les géloses contiennent des éléments nécessaires à la croissance bactérienne.

### **4.2. Antibiogramme**

Un antibiogramme est une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou plusieurs antibiotiques supposés ou connus.

Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence d'un ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. On peut par exemple placer plusieurs pastilles imbibées d'antibiotiques sur une souche bactérienne déposée dans une boîte de Pétri. Il existe trois types d'interprétation selon le

diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible, intermédiaire ou résistante.

#### **4.3. Les bactéries utilisées dans les tests :**

***Bacillus Subtilis*** : est une bactérie catalase à gram positive que l'on trouve habituellement dans le sol, mais c'est surtout une espèce ubiquitaire. Sa longueur varie de 2 à 4  $\mu\text{m}$  et sa largeur de 0,5 à 2  $\mu\text{m}$ . Elle a une forme cellulaire des bâtonnets droits à bout arrondis. Elle est mobile grâce à une ciliature péritriche (un système de flagelle qui recouvre tous les côtés de la surface d'une bactérie). Les conditions optimales de croissance de cette souche se situent pour un pH compris entre 5,5 et 8,5, et à une température de 10 °C à 50 °C.

***L'Escherichia coli*** : (*E. coli*) est une bactérie à Gram négatif qu'on retrouve naturellement au sein de la flore intestinale le plus souvent sans provoquer aucune maladie, elle en constitue même 80 %. Sa taille varie en fonction des conditions de croissance (entre 0,5 à 3  $\mu\text{m}$ ). Toutefois, il existe plusieurs souches différentes d'*E. coli*, si certaines sont sans danger et nécessaires au bon fonctionnement du microbiote intestinal (elles empêchent le développement d'autres bactéries et interviennent dans la production de vitamine K), d'autres, quoique moins nombreuses, sont plus nocives. Ainsi, plusieurs types d'*Escherichia Coli* sont susceptibles de provoquer des infections (notamment intestinales) de gravité variable. Elle se multiplie à des températures comprises entre 7 °C et 50 °C, la température optimale étant de 37 °C. Certaines souches se développent dans des aliments acides, jusqu'à un pH de 4,4.

**Le *Staphylococcus aureus*** (staphylocoque) est un type de bactérie à Gram positif avec un diamètre variant de 0.5 à 1.5  $\mu\text{m}$ , et qui se trouve couramment sur la peau ou dans le nez des personnes en santé. Certaines bactéries à staphylocoque sont faciles à traiter et d'autres, non. Et se développe bien sur les milieux minimum (milieux de bases). Les conditions optimales de croissance de cette souche se situent pour un pH de 7 une température de 37°C, et aussi se développe à des fortes concentrations de NaCl.

#### **4.4. Mode opératoire :**

**Préparation des concentrations en AZT** : Dans notre travail, on va tester les concentrations libérées après 24 heures sur les 3 souches décrits précédemment. Pour cela des quantités de 0,05 g de microsphères (F1, F2 et F3) ont été dispersées dans (10 mL) de pH=7,7. Après agitation à 500 rpm et T=37°C pendant 24h, des prélèvements ont été réalisés pour les tester sur les souches préparés. Les tubes des prélèvements sont nommés N°1 pour F1, N°2 pour F2 et N°3 pour F3.

**Préparation du repiquage :** Pour obtenir les cultures microbiologiques on a placé chaque bactérie dans le milieu gélose déjà préparé dans la boîte pétrie et on note les boîtes avec les noms des bactéries, puis on les mettre dans l'étuve à 37°C en atmosphère ambiante pendant 24 h, afin d'assurer que les cultures seront actives.



Bacillus

E.coli

Aureus

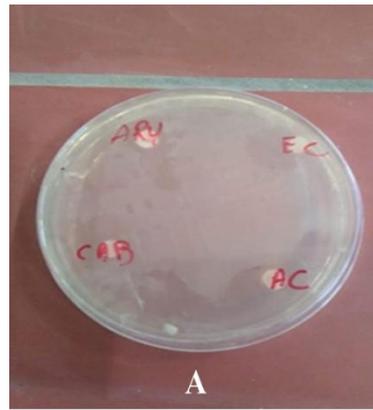
**Figure 19 :** les cultures microbiologiques (Bacillus, E. coli et aureus).

**Préparation des suspensions des bactéries :** Par mettre stérilement de l'eau physiologique dans 3 tubes à hémolyse (X, Y, Z) puis prélever chaque colonie pure et en les mettre en suspension, tube X pour la bactérie Bacillus, tube Y pour la bactérie E coli, tube Z pour la bactérie Aureus. L'absorbance de ces milieux de suspension par UV-visible doit être entre (0,1 – 0,08).

**Préparation des boîtes de pétri :** On a placé la bouteille de milieu gélosé dans un bain marie de manière à faire fondre le milieu jusqu'à ce que le milieu soit bien liquide, puis on verse le contenu dans 5 boîtes de pétri (A, B, C, D, E), Et attendre que le milieu se solidifie.

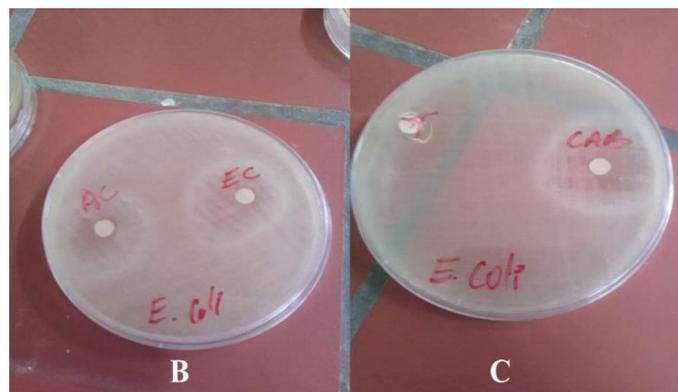
**Préparation de l'antibiogramme :** On a besoin d'un feu pour la stérilisation, une pince stérile pour déposer à la surface des disques contenant un disque référence de l'antibiotique (Erythromycine) et une pipette pasteur de 5 mL pour déposer les 3 prélèvements des tubes (N°1, N°2, N°3) pour les tester. De façon régulière, on espace au maximum les disques les uns des autres et du bord pour toutes les boîtes.

- ❖ **La boîte A :** On étale la suspension X de bactéries Bacillus dans la boîte pétri A et on la laisse sécher, puis on dépose les disques pour les imbiber par les prélèvements réalisés. Et les comparer avec le disque référence de l'antibiotique érythromycine (ARY).



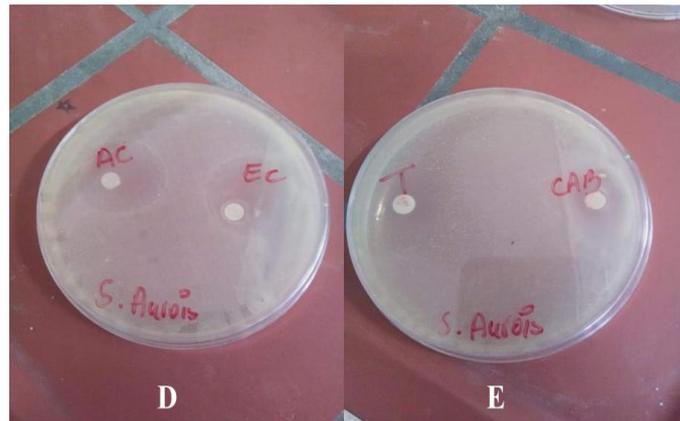
**Figure 20 :** l'antibiogramme de la boîte A.

- ❖ **La boîte B et C :** On doit étaler la suspension Y de bactéries E coli dans la boîte pétri B et C et la laisse sécher, puis on dépose les prélèvements des tubes (N°1, N°2) dans les disques de la boîte B. et le disque de l'antibiotique érythromycine (T), et le prélèvement du tube (N°3) est déposé dans le disque de la boîte C.



**Figure 21 :** l'antibiogramme de la boîte B et C.

- ❖ **La boîte D et E :** On étale la suspension Z des bactéries Aureus dans la boîte pétri D et E et on la laisse sécher, puis on dépose les prélèvements des tubes (N°1, N°2) dans les disques de la boîte D. et le disque de l'antibiotique érythromycine (T), et le prélèvement du tube N°3 est déposé dans le disque de la boîte E.



**Figure 22 :** l'antibiogramme de la boîte D et E.

En fin en laissent les boîtes dans l'étuve pendant 48 heures à  $T=37\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

**Remarque :** les noms (AC, EC, CAB) qui sont notés sur les boîtes indiquent les formulations suivantes :

Formulation F1 correspond à EC.

Formulation F2 correspond à AC.

Formulation F3 correspond à CAB.

Le disque de l'antibiotique érythromycine correspond à ARY et T.

## Résultats et discussions



### **1. Introduction :**

Cette partie se concentre dans une première partie sur la caractérisation des microparticules préparées et l'interprétation des résultats obtenus. Dans la seconde partie, on donne les résultats de libération de l'AZT à partir des microparticules préparées et on essaiera de les modéliser selon différentes lois cinétiques. Dans la dernière partie, on présentera les résultats des tests biologiques réalisés sur différentes souches bactériennes.

### **2. Caractérisation des microparticules :**

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 (84). 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 (85).

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 (85).

- **Le rendement et le taux d'encapsulation :** Sur le tableau suivant, on donne les rendements et les taux d'encapsulation obtenus selon les équations [1] et [2] citées dans le chapitre I (page 5) :

**Tableau 8 :** Les Rdt et les taux d'encapsulation.

Code	Rdt %	taux %
<b>F1</b>	86,38	38
<b>F2</b>	85,23	38
<b>F3</b>	51,83	23

D'après les résultats du tableau, nous concluons que la masse du polymère a une grande influence sur le taux d'encapsulation d'AZT .Il augmente avec l'augmentation de la masse moléculaire du polymère. L'EC de 22000g/mole et l'AC de 20000g/mole permettent d'avoir un rendement élevé contrairement au CAB de masse 14000g/mole qui donne un rendement d'ordre de 51%.

En se basant sur la viscosité de leurs phases organiques, la solution de CAB 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.

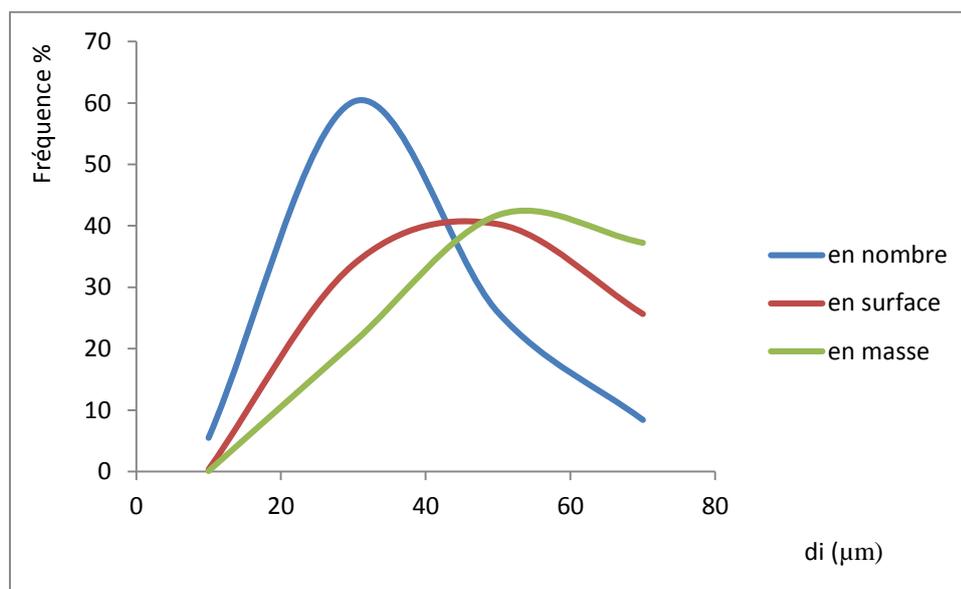
➤ **Distribution de taille :** Utilisant la technique de dénombrements des microparticules de même taille par microscope optique et appliquant les équations de distribution de taille [8-11] citées dans le chapitre I (page 44), on arrive à déterminer les différents diamètres moyens.

Ci-après, on donne un exemple de calcul pour la formule F1, Les autres courbes de distribution en taille des formules F2 et F3 seront classées dans l'annexe.

On classera les diamètres moyens obtenus ainsi les indices de distribution pour toutes les formulations dans le tableau 9 :

**Tableau 9 :** Les résultats Granulométriques des microsphères F1.

classe ( $\mu$ m)	di ( $\mu$ m)	effectif ni	ni*di	fréquence		fréquence		fréquence	
				en nombre %	ni*di <sup>2</sup>	en surface %	ni*di <sup>3</sup>	en masse%	ni*di <sup>4</sup>
<b>0-20</b>	10	17	170	5,501618123	1700	0,342396777	17000	0,070960471	170000
<b>20-40</b>	30	186	5580	60,19417476	167400	33,71601208	5022000	20,96255792	150660000
<b>40-60</b>	50	80	4000	25,88996764	200000	40,28197382	10000000	41,74145344	500000000
<b>60-80</b>	70	26	1820	8,414239482	127400	25,65961732	8918000	37,22502818	624260000
	Somme	309	11570	100	496500	100	23957000	100	1275090000

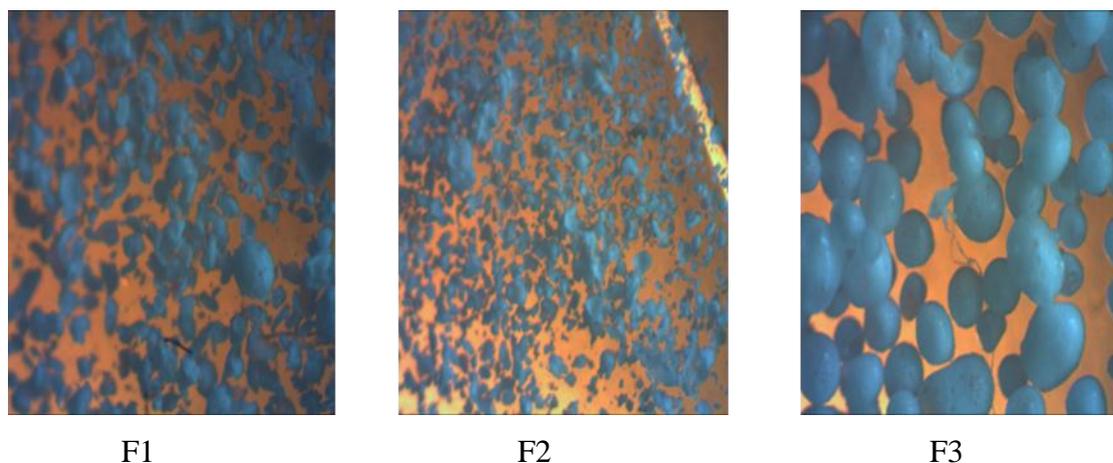
**Figure 23 :** La courbe de distribution en taille des microsphères F1.

**Tableau 10 :** Les diamètres moyens ( $\mu\text{m}$ ) et la dispersion des microsphères préparées.

Code	$d_{10}(\mu\text{m})$	$d_{32}(\mu\text{m})$	$d_{43}(\mu\text{m})$	Dispersion
F1	37,44	48,25	53,22	1,42
F2	35,07	47,67	53,02	1,51
F3	78,91	95,30	105,06	1,33

En vue des résultats granulométriques, on déduit que la microencapsulation par évaporation de solvant permette d'avoir des systèmes microparticulaires de faibles tailles (35-78  $\mu\text{m}$ ) et des systèmes polydisperses de définition d'ordre 1,33-1,51. On note que ce paramètre est influencé par la vitesse d'agitation, alors que dans nos expériences la vitesse de 750rpm est maintenue fixe.

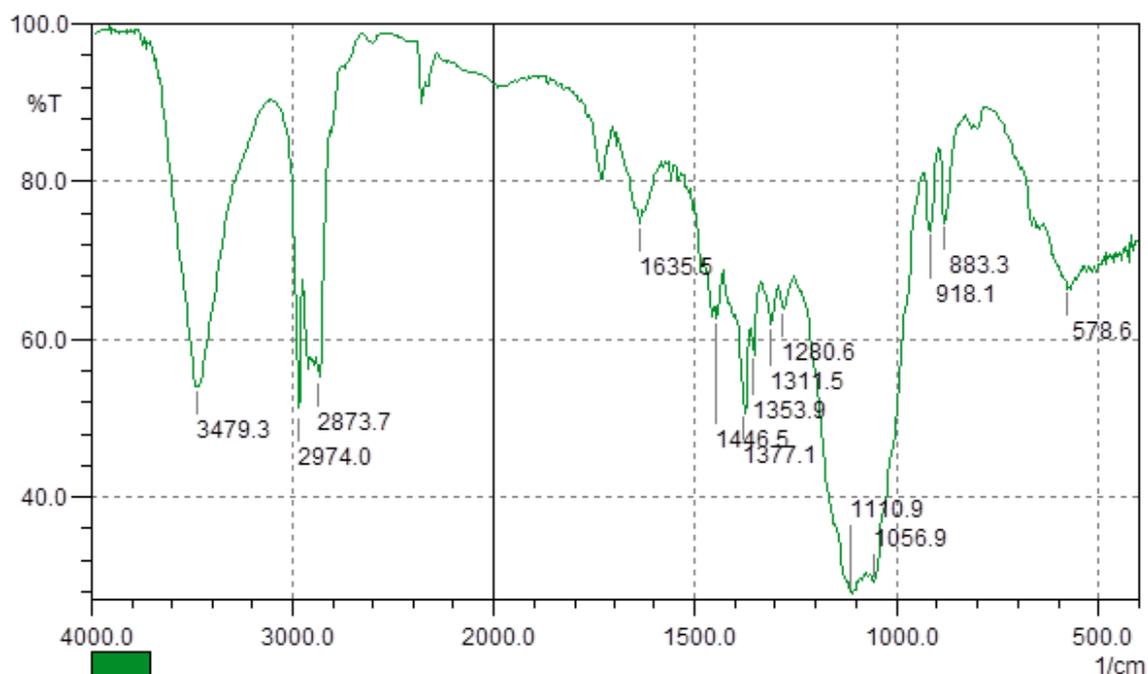
➤ **Observation par Microscope Optique :** Les images obtenues par microscope optique sont présentées dans la figure 24 :

**Figure 24 :** Observation des microsphères des 3 formules.

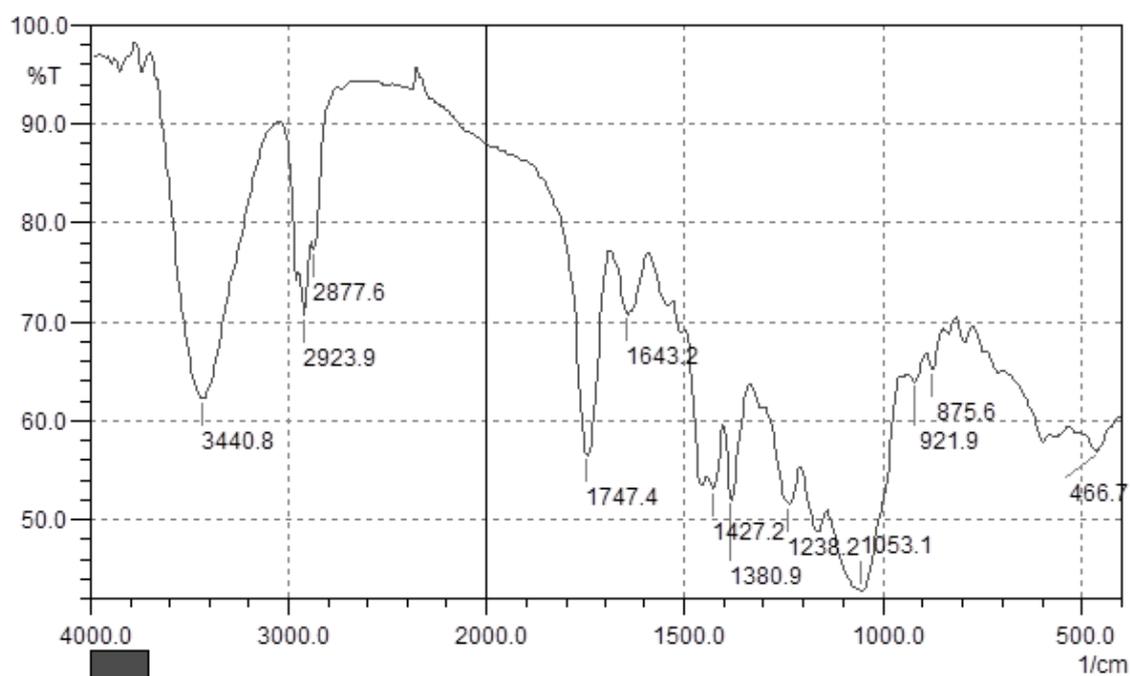
On note que les formulations préparées sont généralement de forme sphérique avec absence des agrégations, la polydispersité est lisible. L'image du F3 montre que la surface est lisse avec la présence des pores. On peut déduire que les dérivés de cellulose utilisés permettent d'obtenir des systèmes microparticulaires.

➤ **Analyse par Infra-Rouge :** Les spectres représentés sur les figures révèlent l'existence de plusieurs groupements fonctionnels caractéristiques des liaisons chimiques des polymères d'enrobage et les groupements fonctionnels attribués à la structure du AZT.

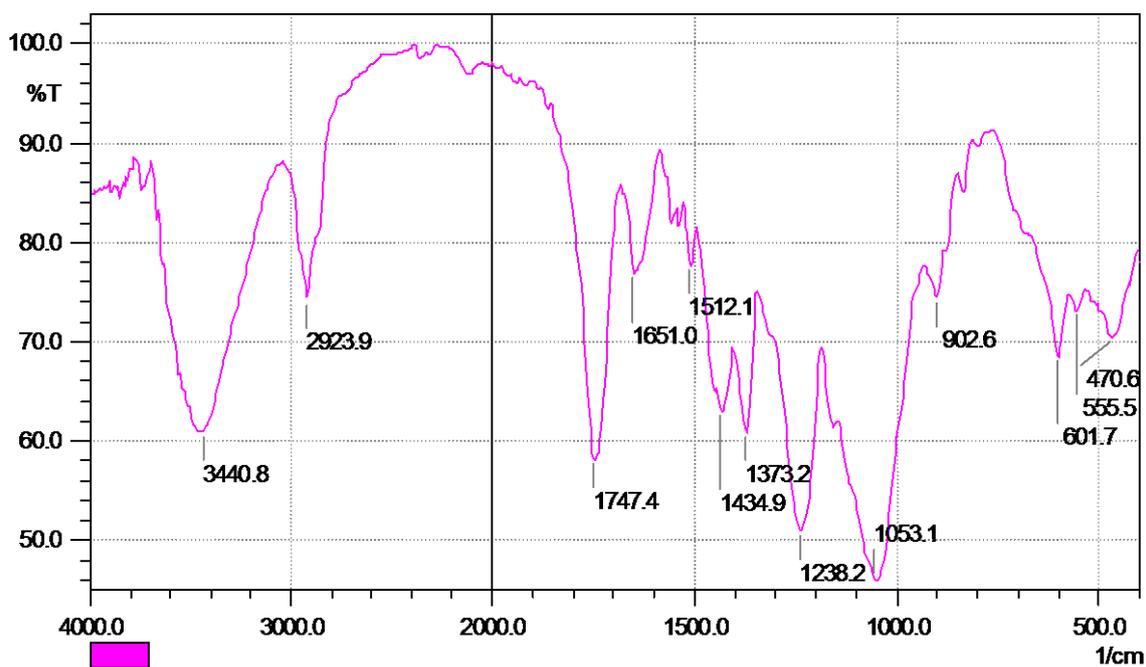
Sur les figures nous avons regroupé les spectres des différentes microparticules de trois formules, dans le but de mettre en évidence les bandes du principe actif dans les microparticules. Nous avons rassemblé les principales bandes d'absorption IR caractéristiques des liaisons chimiques et des groupements fonctionnels des différentes particules avec le PA. Nous pouvons voir clairement que la plupart des spectres des microparticules sont semblables et sont caractérisés par la présence des principales bandes caractéristiques classées dans le tableau 11 :



**Figure 25 :** Spectre FTIR de la formulation F1.



**Figure 26 :** Spectre FTIR de la formulation F2.



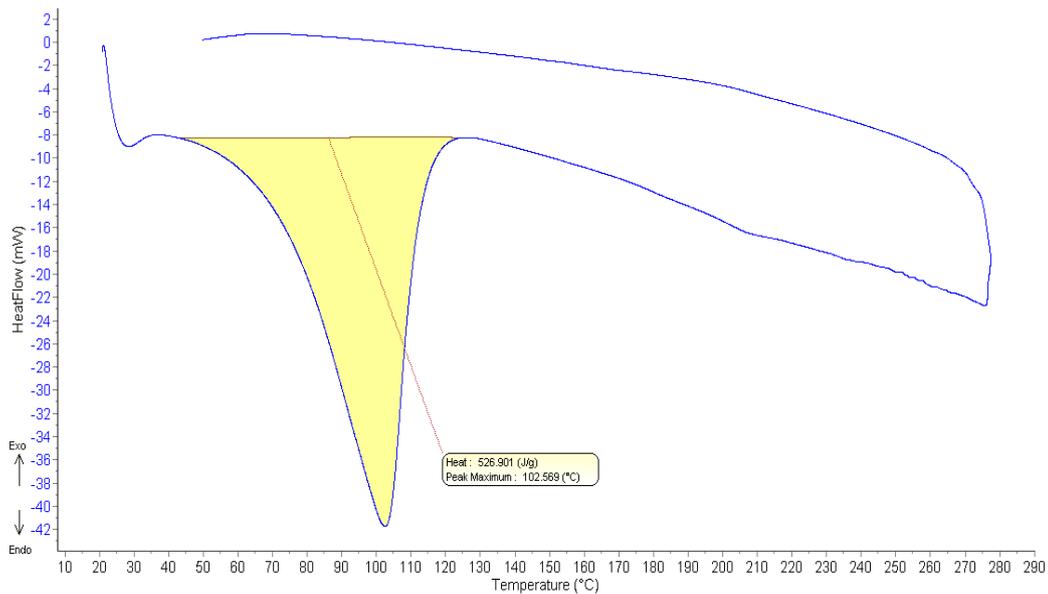
**Figure 27 :** Spectre FTIR de la formulation F3.

**Tableau 11 :** Bandes Caractéristique en FTIR des formulations.

Code	Bandes caractéristiques d'AZT (cm <sup>-1</sup> )	Bandes caractéristiques des polymères d'enrobages (cm <sup>-1</sup> )
<b>F1</b>	3479,3 O-H (alcool)	3479,9 O-H (alcool)
	1056,9 C-O (éther)	1056,9 C-O (éther)
	1653,5 C=O (ester)	
	1280,6 C-N	
<b>F2</b>	3440,8 O-H (alcool)	3440,8 O-H (alcool)
	1053,1 C-O (éther)	1053,1 C-O (éther)
	1643,2 C=O (ester)	1747,4 C=O (ester)
	1238,2 C-N	
<b>F3</b>	3440,8 O-H (alcool)	3440,8 O-H (alcool)
	1053,1 C-O (éther)	1053,1 C-O (éther)
	1651 C=O (ester)	1747,4 C=O (ester)
	1238,2 C-N	

➤ **Analyse par DSC :** Les températures de transition vitreuse Tg °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 Tg °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.



**Figure 28 :** DSC des microsphères F3.

Sur la courbe DSC des microsphères, on note la présence de pic de la température de fusion de l'AZT qui est un peu décalé de 115 °C vers 102°C, cela explique que la cristallinité de l'AZT est diminuée en présence des polymères HPMC et CAB. On note aussi la présence d'une température de transition vitreuse qui apparait vers 35°C (T<sub>g</sub> de polymères blends HPMC-CAB). Ce résultat permet de confirmer la présence du mélange polymère-principe actif dans les microsphères.

➤ **Analyse par DRX :**

Sur les figures on donne les spectres DRX des microparticules composées d'un mélange polymérique comme matériau d'enrobage, et d'AZT comme principe actif.

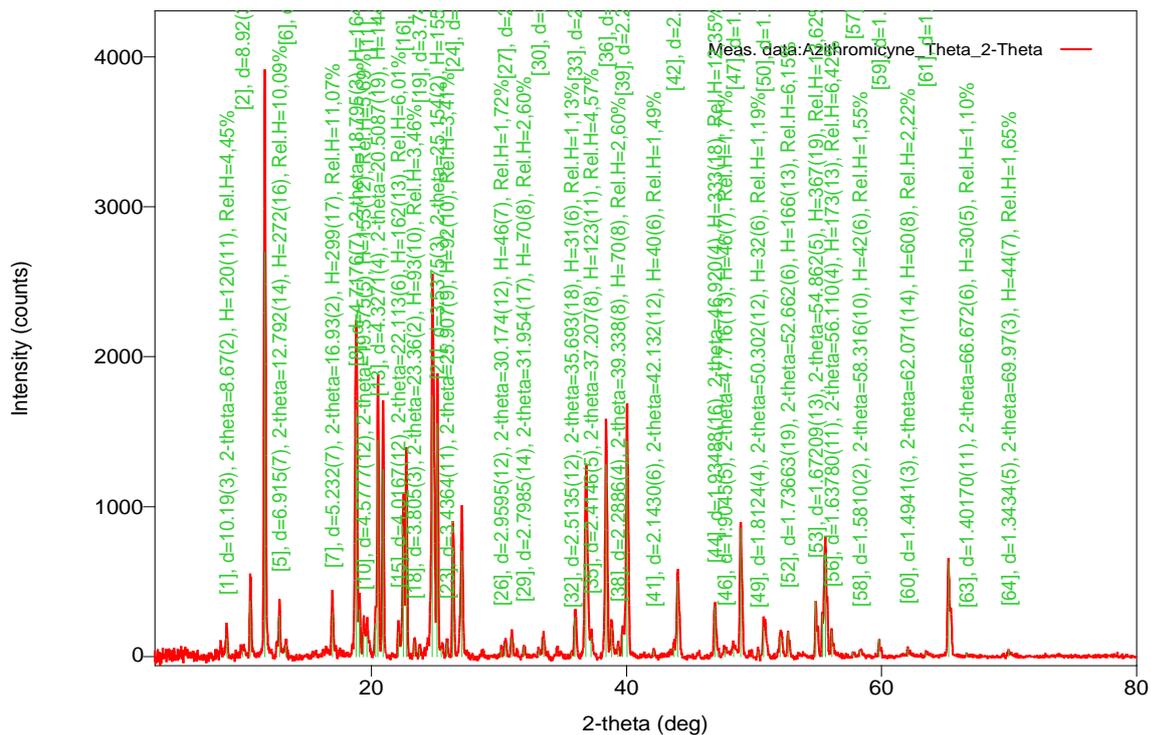


Figure 29 : Le spectre DRX d'AZT.

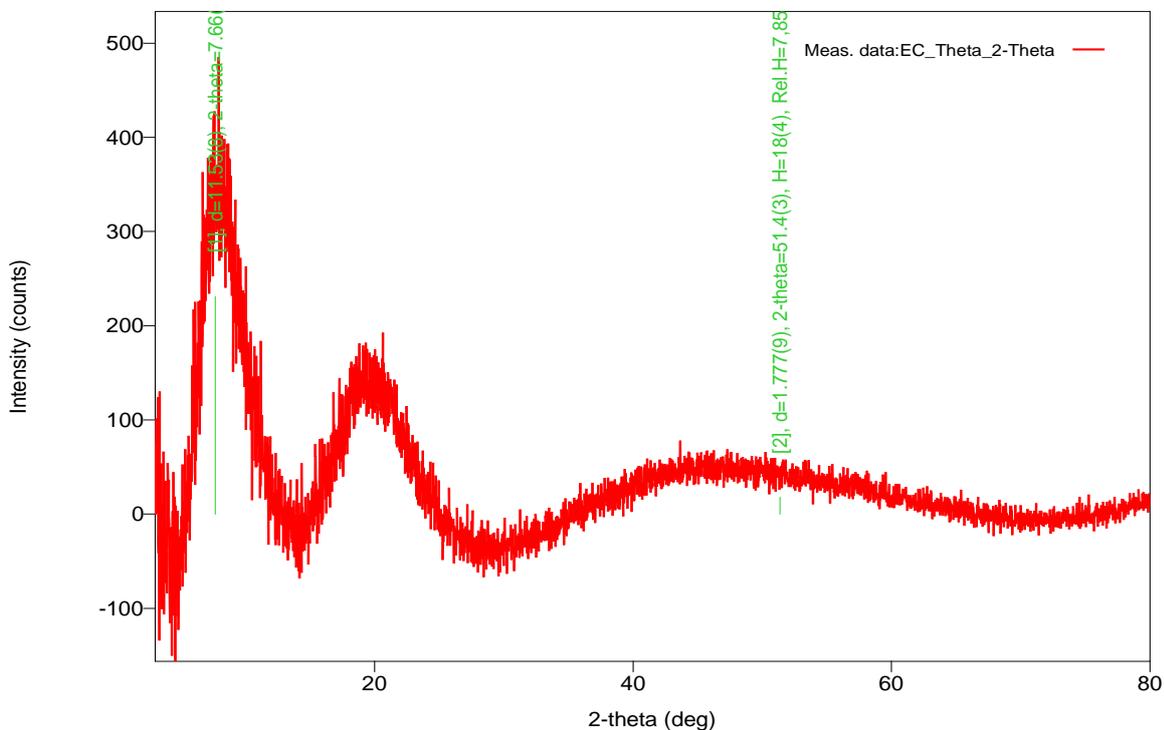
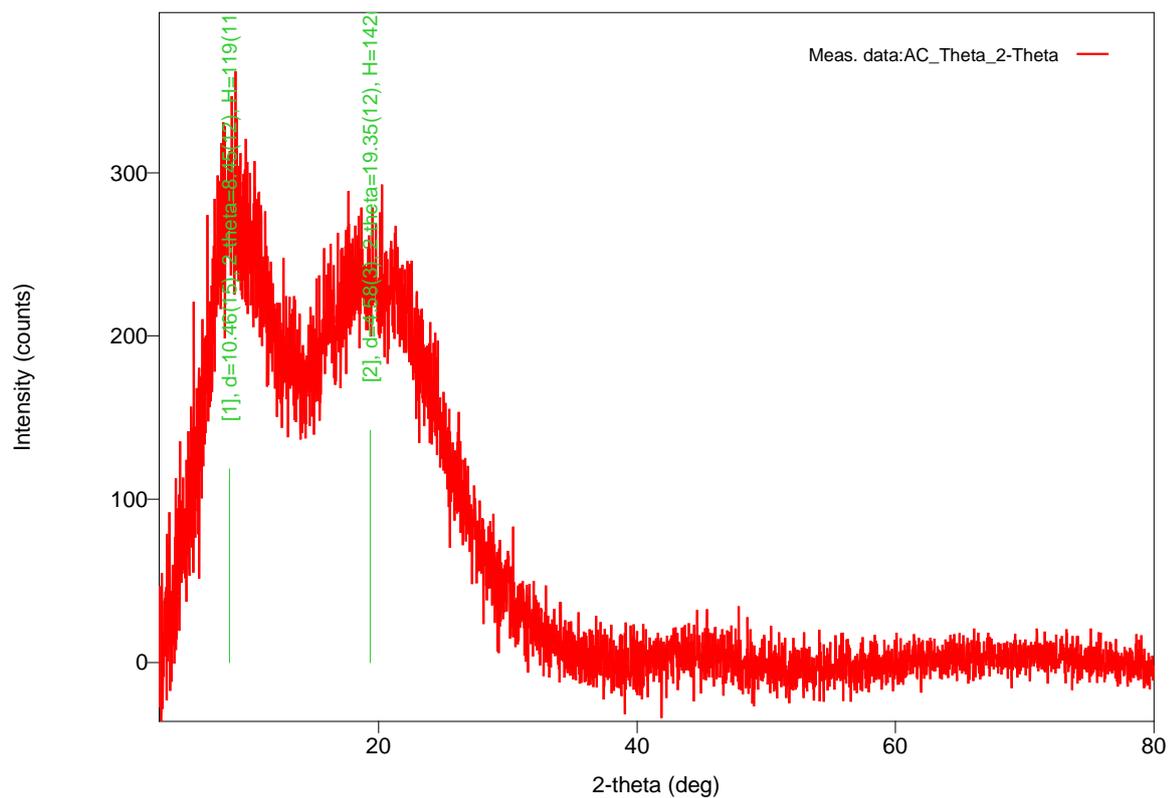
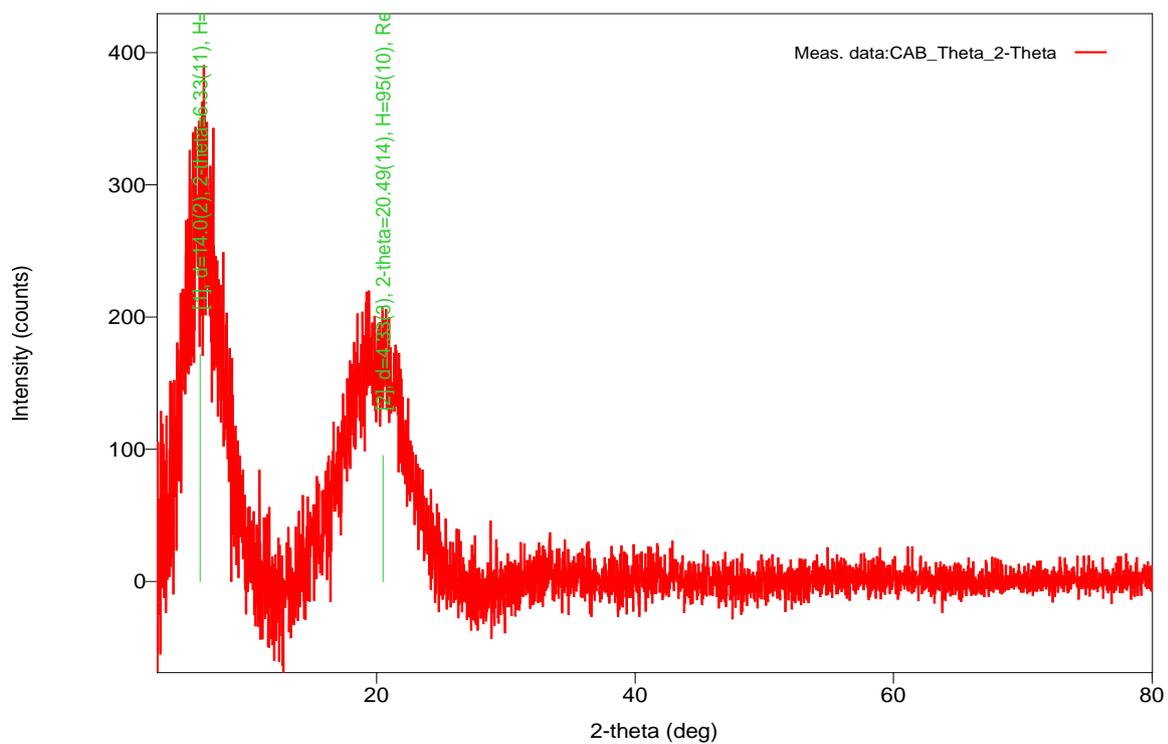


Figure 30 : Le spectre DRX des microsphères F1.



**Figure 31 :** Le spectre DRX des microsphères F2.



**Figure 32 :** Le spectre DRX des microsphères F3.

Dans notre étude, on a réalisé les Diffractogrammes DRX de l'agent actif pure, et des microsphères préparées.

Sur le Diffractogramme de l'AZT, 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'AZT pure. La présence des rayons X qui sont plus faible dans les microsphères chargées d'AZT indique que l'AZT se présente dans la partie amorphe de la matrice polymérique et la présence des polymères réduit la cristallinité d'AZT.

### **3. Etude cinétique de libération d'AZT à T= 37°C :**

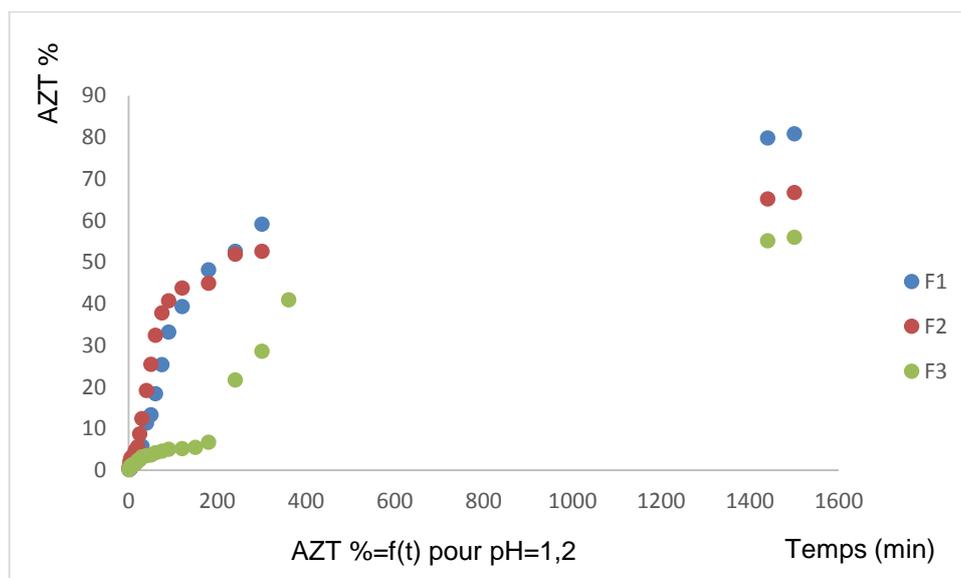
L'objectif de cette étude cinétique est de comparer l'effet « retard » quant à la libération des principes actifs à travers différents systèmes microparticulaires.

Afin de pouvoir évaluer le taux relargué de (Pa) dans le milieu choisi (pH = 1,2 et pH=7,7), en fonction du temps, il a été préparé différentes microsphères en changeant les polymères d'enrobage.

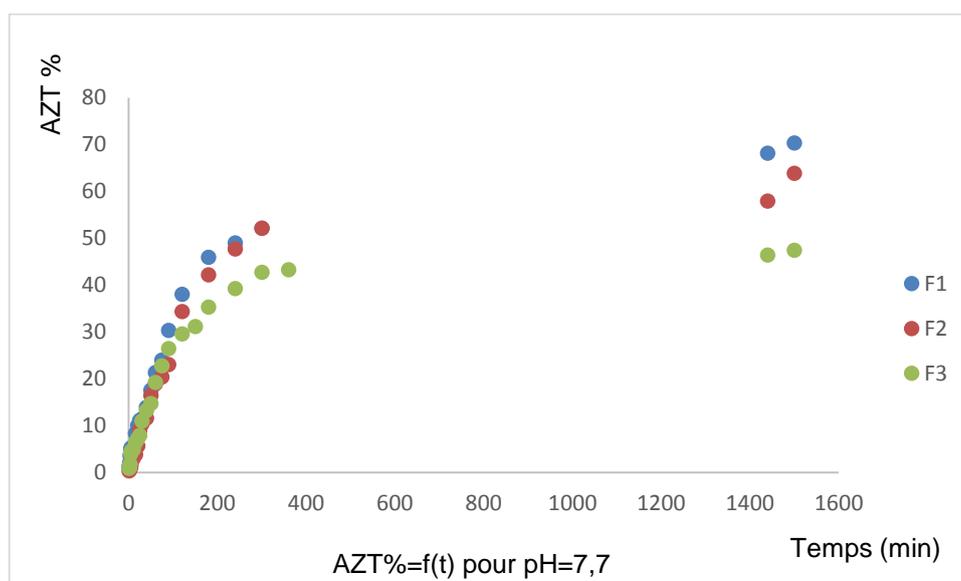
Les cinétiques correspondantes aux différentes formes ont été réalisées dans les mêmes conditions opératoires de température ( $37^\circ\text{C}$ ), d'agitation (500 rpm), de volume initial dans le flacon (100 mL) et de volume des prises d'essais (1 mL), afin de pouvoir comparer les résultats.

- **Courbes de libération :**

Les cinétiques ont été réalisées par le tracé du pourcentage d'AZT libéré en fonction du temps. On donne ci-après les courbes de libération réalisées dans deux milieux choisis pH=1,2 (milieu gastrique) et pH=7,7 (milieu intestinal) à une température de  $37^\circ\text{C}$ .



**Figure 33 :** Les courbes de libération AZT % = f (t) dans le milieu pH=1,2.



**Figure 34 :** Les courbes de AZT % = f (t) dans le milieu pH=7,7.

Dans les deux milieux d'étude, et pour les trois formulations, le pourcentage d'AZT libéré est important (dépassé les 40%), nous remarquons aussi que le taux libéré pour F1 et F2 sont presque identique surtout au temps initial, et il est légèrement grand par rapport à la formulation F3. Cela est justifié par les Rendements d'encapsulation déjà déterminés.

Cette étude a été comparée avec d'autres où l'encapsulation est réalisée en utilisant un seul polymère cellulosique (86, 87). Les taux de libération sont faibles utilisant des deux

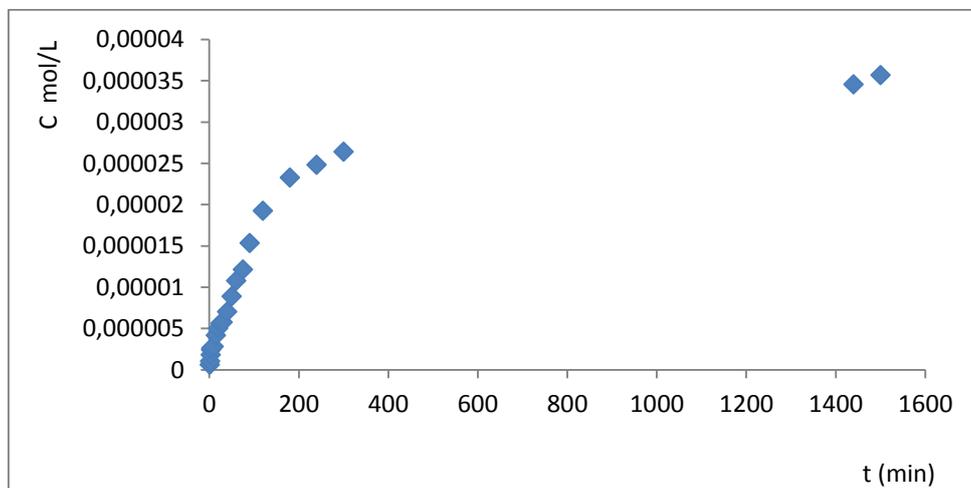
matrices polymériques. Cela est justifié par la diminution de la phase amorphe qui facilite le passage du principe actif vers l'extérieur en présence de l'HPMC.

- **Modélisation selon les lois cinétiques classique 0,1 et 2 :**

On essaye d'attribuer un ordre réactionnel classique 0, 1 ou 2 à nos cinétiques. On donne à titre exemple, les courbes correspondent à la formulation F1 au milieu pH= 7,7.

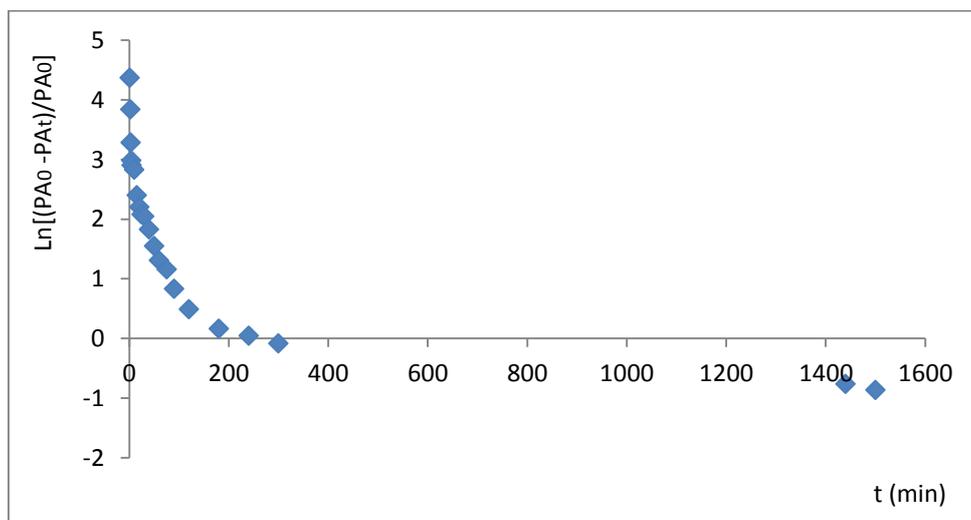
**Courbe de modélisation selon les lois 0 ,1 et 2**

- **Ordre 0 :**



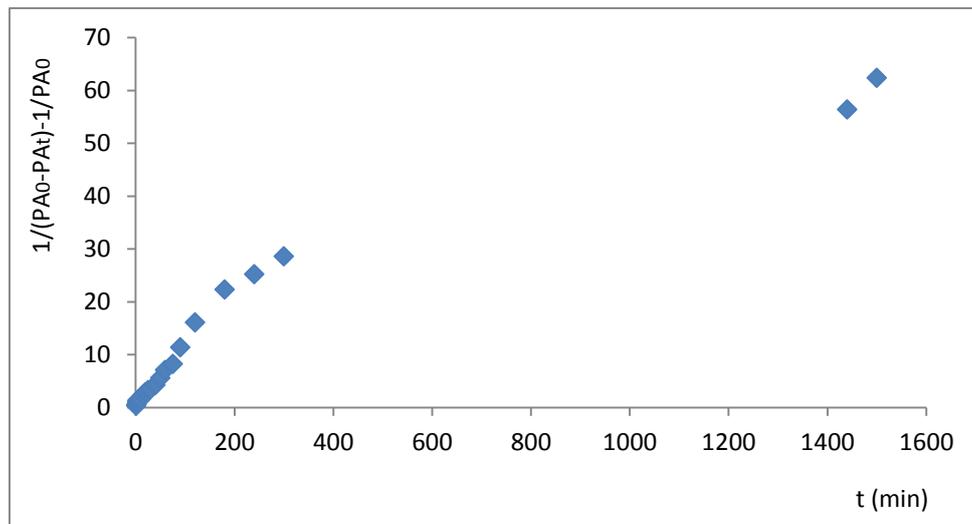
**Figure 35 :** La courbe de  $C=f(t)$  de formule F1 dans le milieu pH=7,7.

- **Ordre 1 :**



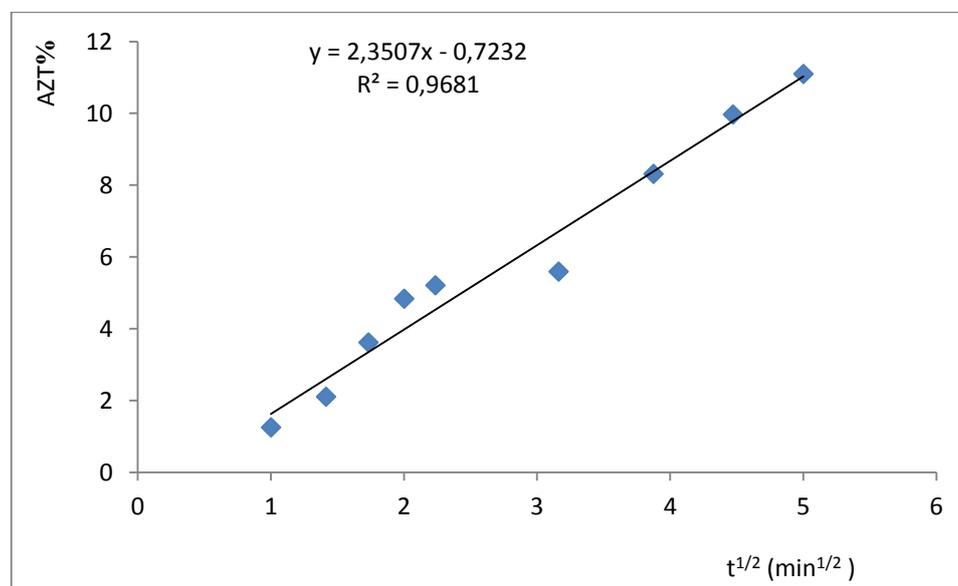
**Figure 36 :** La courbe de  $\text{Ln} [(PA_0 - PA_t) / PA_0]= f(t)$  de formule F1 dans le milieu pH=7,7.

- **Ordre 2 :**



**Figure 37 :** La courbe de  $1/(PA_0 - PA_t) - 1/PA_0$  de formule F1 dans le milieu pH=7,7.

En vue de ces courbes (figures 35-37), aucune linéarité n'a pu être obtenue. On confirme alors que les cinétique n'obéies pas les lois classiques, Pour cela on trace la courbe de  $AZT \% = f(\sqrt{t})$ . On donne en dessous a titre exemple le tracé de F1 dans le pH=7,7. Les autres courbes sont classées en annexe.



**Figure 38 :** Le tracé  $AZH \% = f(\sqrt{t})$  de F1 dans le pH=7,7.

Le suivi de la libération d'AZT dans les milieux d'étude 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, type Fickienne.

Les droites obtenues ne passent pas par l'origine, on remarque une légère courbure aux premiers temps d'immersion de la forme galénique. Cette courbure peut être expliquée par une mise en équilibre de la forme galénique dans le milieu d'étude : contact de la forme galénique 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 de la forme galénique.

- **Modélisation selon la loi d'Higuchi :**

Dans cette partie, on a essayé de modéliser les cinétiques de relargage d'AZT réalisées dans les milieux physiologiques gastrique et intestinal selon l'équation d'Higuchi. Les résultats trouvés sont regroupés dans le tableau 12 suivant :

**Tableau 12 :** Modélisation selon l'équation d'Higuchi.

Code	pH=1,2		pH=7,7	
	Equation	$k_H$ (mn <sup>1/2</sup> )	Equation	$k_H$ (mn <sup>1/2</sup> )
	$AZT\% = a t^{1/2} \pm c$		$AZT\% = a t^{1/2} \pm c$	
<b>F1</b>	$Y=1,9948x-1,2749$	1,9948	$Y=2,3507x-0,7232$	2,3507
<b>F2</b>	$Y=1,711x-1,1198$	1,711	$Y=1,9948x-1,2749$	1,9948
<b>F3</b>	$Y=0,5447x-0,2287$	0,5447	$Y=1,7825x-0,6591$	1,7825

Les résultats donnés par les équations d'Higuchi, montrent que la valeur de la constante de libération d'Higuchi ( $k_H$ ) de l'ordre de 0,5 - 2,5 mn<sup>1/2</sup> pour toutes les microsphères préparées.

Nous avons constaté que la constante « c » est négative pour les cinétiques de libération dû à l'existence du principe actif (AZT) dans le cœur de la forme galénique étudiée, qui retarde alors la libération de ce dernier aux premiers moments de la réaction, autrement dit au premier contact de la forme galénique avec le milieu réactionnel ; ce phénomène est appelé le « burst effect ».

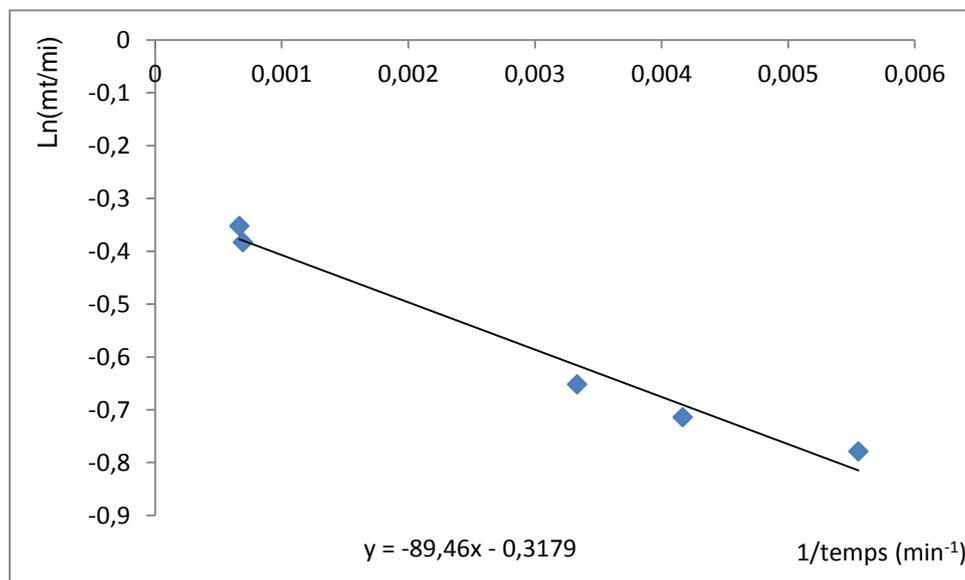
- **Calcul de  $m_{\infty}$  :**

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 F1 dans le pH =7,7. (Les autres résultats sont en annexe).

**Caractéristiques de la formulation F1 :**  $d_{10} = 37\mu m$ ,  $m_{iAM} = 0,038mg$



**Figure 39 :** La courbe  $\text{Ln}(m_t/m_i) = f(1/t)$  pour la formule F1 au milieu pH=7,7.

Si  $1/t$  tend vers infini veut dire  $t = 0$

Donc l'ordonnée à l'origine représente  $\text{Ln } m_{\infty} / m_i$

$\text{Ln}(m_{\infty} / m_i) = -0,3179$

$m_{\infty} = 0,726 \cdot 0,038$

$m_{\infty} = 0,027 \text{ mg}$ .

Dans le tableau suivant, On classe les  $m_{\infty}$  déterminées des autres formulations dans les deux milieux d'étude :

**Tableau 13 :** Les  $m_{\infty}$  calculées des 3 formulations dans les deux milieux d'étude.

Code	pH=1,2	pH=7,7
$m_{\infty}$ (mg) de F1	0,032	0,027
$m_{\infty}$ (mg) de F2	0,026	0,024
$m_{\infty}$ (mg) de F3	0,011	0,010

➤ **Calcul des diffusivités :** On utilise le  $m_{\infty}$  pour le calcul des coefficients de diffusion au court temps ( $D_{t,c}$ ) et au long temps ( $D_{t,l}$ ).

$$D_{t,c} = (\pi/36) R^2 (\operatorname{tg}\alpha)^2$$

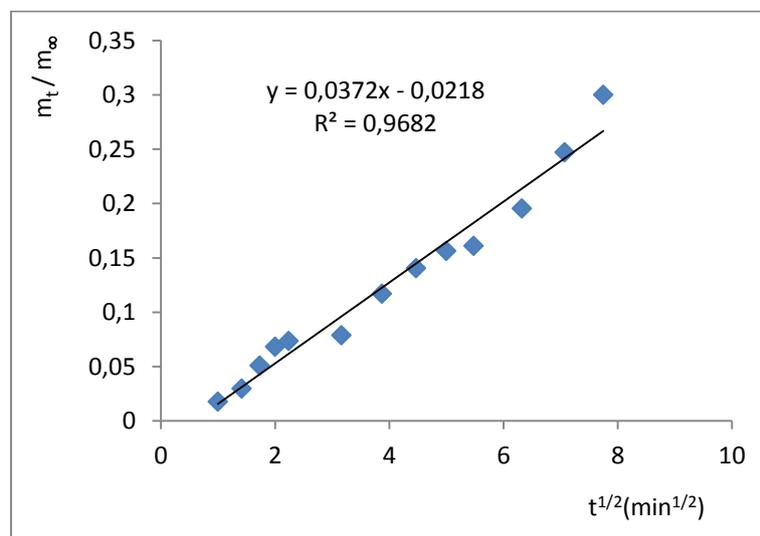
$$D_{t,l} = -p (R/\pi)^2$$

➤ **Aux temps courts de la réaction :** La diffusivité est obtenue par l'équation [3] citée dans le chapitre I (page 30).

$$D = \frac{\pi}{36} R^2 (\operatorname{tg}\alpha)^2$$

Où :  $\operatorname{tg}\alpha$  : représente la pente de la droite de  $[m_t/m_{\infty}] = f(\sqrt{t})$

**Exemple de détermination** de  $D_{t,c}$  ( $t,c$  : temps courts) pour la formulation F1 au pH = 7,7.



**Figure 40 :** La courbe  $m_t/m_{\infty} = f(\sqrt{t})$  pour le calcul de diffusivité aux courts temps de F1 au pH = 7,7.

$$D_{t,c} = (\pi/36) R^2 (\operatorname{tg}\alpha)^2.$$

0,0372 : Représente  $\operatorname{tg}(\alpha)$ .

R diamètre moyen en nombre de la microsphère ( $\mu\text{m}$ ).

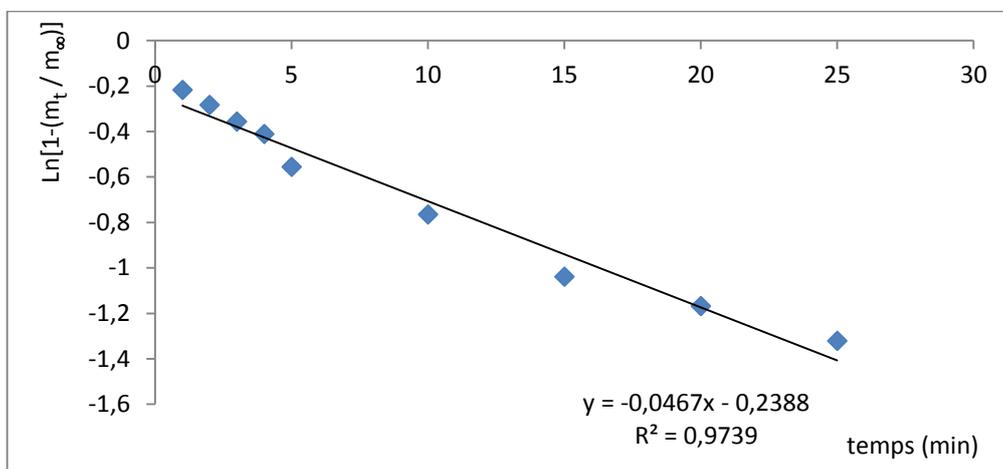
$$Dt, c = 3,14/36. (37.10^{-4})^2. (0,0372)^2 = 1,65.10^{-9} \text{cm}^2/\text{s}.$$

➤ **Aux temps longs de la réaction** : Le coefficient de diffusion, aux temps longs, est calculé par l'équation [4] citée dans le chapitre I (page 31).

$$D = -p \left( \frac{R}{\pi} \right)^2$$

Où  $p$  est la pente de la droite  $\text{Ln} [1-(m_t/m_\infty)] = f(t)$ .

**Exemple de détermination** de  $D_{t,l}$  (temps longs) pour la formulation F1 au  $\text{pH} = 7,7$ .



**Figure 41** : la courbe  $\text{Ln} [1-(m_t/m_\infty)] = f(t)$  pour le calcul de diffusivité aux temps longs de F1 au  $\text{pH} = 7,7$ .

$$Dt, l = -p ( R / \pi )^2$$

-0,0467 : est la pente ( $p$ ) de ce graphe elle utiliser pour le calcul de  $Dt, l$  au temps long selon l'équation au-dessus.

R : toujours le diamètre moyen en nombre des microsphères ( $\mu\text{m}$ ).

$$Dt, l = -(-0,0467(37.10^{-4}/3,14)^2) = 6,49.10^{-8} \text{cm}^2/\text{s}.$$

Les valeurs des coefficients de diffusion des principes actifs étudiés, sont regroupées dans le **tableau 14**, on note que :

les coefficients de diffusion au temps courts " $D_{t,c}$ " et au temps long " $D_{t,l}$ " de libération sont de l'ordre de  $10^{-8}$  à  $10^{-10} \text{cm}^2.\text{s}^{-1}$ . On déduit que les systèmes microparticules permettre de diffusé le principe actif encapsulé a des vitesses très faible.

**Tableau 14 :** Les coefficients de diffusion (Dt,c) et au (Dt,l) pour les formulations préparées.

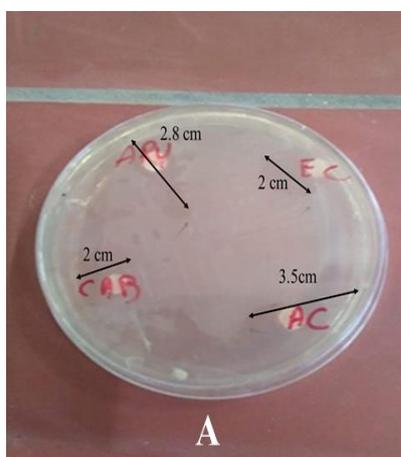
Code	pH=1,2		pH=7,7	
	Dt,c	Dt,l	Dt,c	Dt,l
<b>F1</b>	$9,83.10^{-10}$	$2,91.10^{-9}$	$1,65.10^{-9}$	$6,49.10^{-8}$
<b>F2</b>	$4.10^{-9}$	$2,73.10^{-9}$	$1,98.10^{-9}$	$9,94.10^{-10}$
<b>F3</b>	$9,24.10^{-10}$	$2,28.10^{-8}$	$1,67.10^{-8}$	$8,02.10^{-8}$

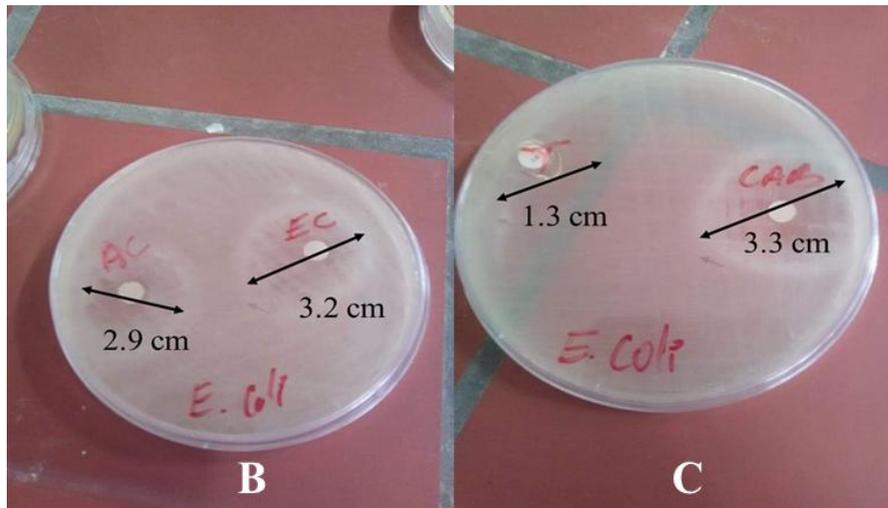
#### 4. Les tests biologiques :

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. 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.

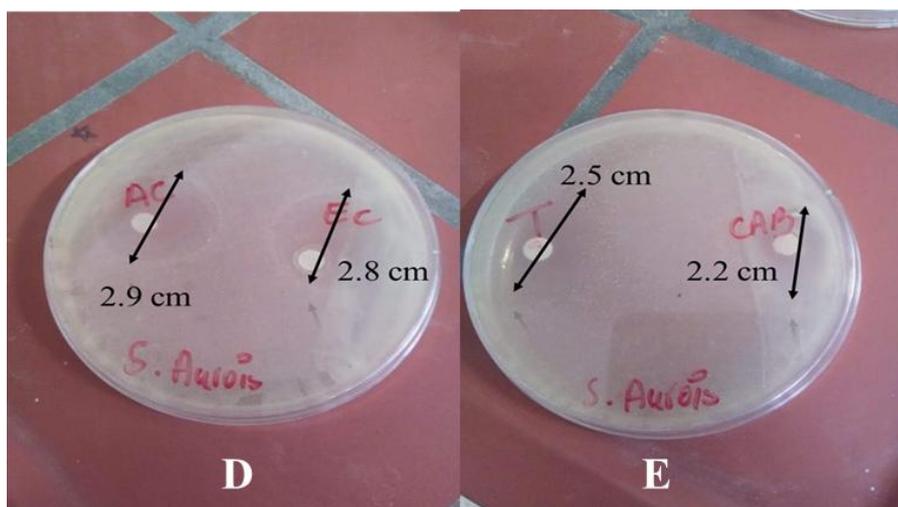
Le but des tests biologiques réalisés est de confirmer l'activité de l'AZT après encapsulation. Pour cela, on prie le dernier prélèvement réalisé après 24h des cinétiques de libération de 0,05 g de microsphères dans 10 mL de pH 7,7 et l'utiliser dans nos tests solides sur des souches bien définies.

Les résultats obtenus sont présentés en dessous et comparés à un antibiotique de même famille d'AZT « érythromycine ».

**Figure 42 :** L'antibiogramme de la boîte A (la bactérie Bacillus).



**Figure 43 :** L'antibiogramme de la boîte B et C (la bactérie E.Coli).



**Figure 44 :** L'antibiogramme de la boîte D et E (la bactérie Aureus).

○ **Observation :**

Après 48 h on remarque qu'il y a des cercles qui entourent les disques imbibés avec des différents diamètres :

Les diamètres sont bien dessinés sur les figures présentées ci-dessus. Et, ils sont cités par la suite :

Les diamètres pour la suspension X de bactéries Bacillus :

- L'antibiotique érythromycine : 2,8 cm
- La solution de tube N°1 (F1) : 2 cm

- La solution de tube N°2 (F2) : 3,5cm
- La solution de tube N°3 (F3) : 2 cm

Les diamètres pour la suspension Y de bactéries E coli :

- L'antibiotique érythromycine : 1,3 cm
- La solution de tube N°1 (F1) : 3,2 cm
- La solution de tube N°2 (F2) : 2,9 cm
- La solution de tube N°3 (F3) : 3,3 cm

Les diamètres pour la suspension Z de bactéries aureus :

- L'antibiotique érythromycine : 2,5 cm
- La solution de tube N°1 : 2,8 cm
- La solution de tube N°2 : 2,9 cm
- La solution de tube N°3 : 2,2 cm

- Les cercles présentent les zones d'inhibition de l'antibiotique. On remarque que notre AZT permet d'inhiber tous les souches testées. Ce qui nous permet de dire que les souches testées sont sensibles à notre antibiotique.

- Le diamètre de chaque formulation a été comparé avec l'antibiotique référence. On remarque que nos prélèvements contiennent des concentrations en AZT qui inhibe la croissance des souches à des diamètres comparables avec l'érythromycine.

- On déduit que la concentration libérée dépasse la concentration minimale inhibitrice du fait qu'on a obtenu les zones d'inhibition.
- Les formulations de l'antibiotique testées sont efficaces pour le traitement de différentes souches, et il est nécessaire de faire des tests in-vivo pour que le traitement soit prescrit.

# **Conclusion générale**

## *Conclusion Générale*

Pour permettre le prolongement de la libération des substances biologiquement actives, la préparation des microparticules par évaporation de solvant a été appliquée pour la protection de l'agent actif et la modification de sa libération dans des milieux physiologiques reconstitués à température contrôlée.

Pour cela, l'azithromycine a été encapsulé dans différents dérivés celluloses par évaporation de solvant. Les particules préparées ont été caractérisées par FTIR, Microscopie optique, DSC et DRX.

Les microparticules obtenues sont de type "matriciel" avec un rendement d'encapsulation dépasse les 50%. Les diamètres moyens sont d'ordre 35, 37 et 78  $\mu\text{m}$ .

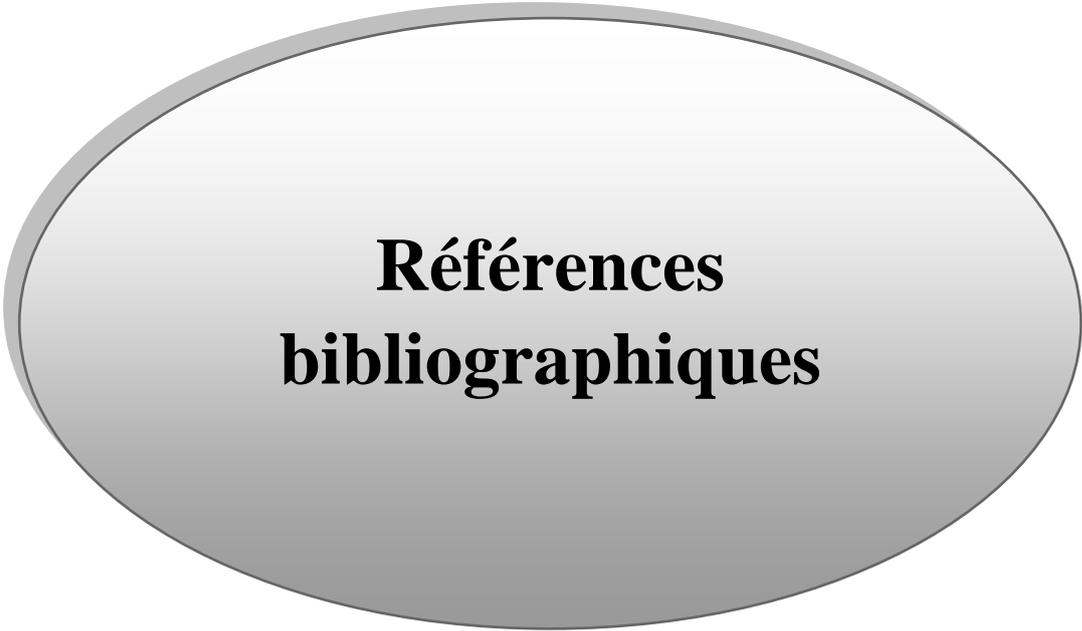
Le relargage de principe actif a été étudié à partir des microparticules plongées dans les milieux d'études agités au pH reconstitué (pH=1,2 et 7,7) à T=37°C.

L'application du modèle mathématique de Fick à nos résultats montre que la libération de l'agent actif est régie essentiellement par le phénomène de diffusion. Les coefficients de diffusion aux temps courts " $D_{t,c}$ " et au temps longs " $D_{t,l}$ " sont ainsi déterminés utilisant la première et le deuxième lois de Fick.

Les vitesses de libération ont été ensuite calculées par l'équation d'Higuchi.

Des tests biologiques en milieu solide ont été ainsi réalisés sur des souches bactériennes pour montrer l'efficacité du principe actif après encapsulation. Ces tests ont été comparé à un antibiotique référencié de même famille « érythromycine »

Comme conclusion, on peut dire que les microparticules sont des systèmes de libération contrôlés et l'utilisation de polymère biocompatible non soluble induit à des formes de libération modifiée dite "prolongée"



**Références  
bibliographiques**

- (1) Deshpande .A .A, Rhodes. C. T, Shah. N. H, Malick. A. W, Drug Dev. Ind. Pharm., **1996**,  
22,531-539.
- (2) Soppimath.K. S, Kulkarni. A. R, Rudzinski. W. E, Aminabhavi. T. M, Drug Metabolism Review. **2001**, 33, 149-160.
- (3) Thies, C., Microencapsulation. Encyclopedia Pol. Sci. Eng, 1987, 9, 724–745.
- (4) Green B.K., Scheleicher, L., Manifold record material. 1956, [US2730456]
- (5) Vandamme T., Poncelet D., Subra-Paternault P. "Microencapsulation des sciences aux technologies" , 2007, TEC & DOC, Paris
- (6) Varna J., Sparnins E., Joffe R., Nattinen K.,Lampinen J., Mechanics of Time-Dependent Materials. 16(1) : 47-70.
- (7) Augustin M.A, Hemar Y., Chem Soc Rev, 2009, 38, 902-912.
- (8) Alla Nesterenko, « Étude et fonctionnalisation de protéines végétales en vue de leur application en microencapsulation », 2012, Université de Toulouse.
- (9) Benoit J.P., Richard J., Venier-Julienne M.C, Microencapsulation. Techniques de l'ingénieur, 2013, J2210, 1–22.
- (10) Gupta K.C., Ravi Kumar M.N.V, Mater. J. Sci. Mater. Med., 2001, 12, 753–759.
- (11) Richard J. and Benoit J.P., Microencapsulation. Techniques d'Ingénieur, 2000, J 2 210, 1-20.
- (12) Cocona Inc, Cocona Technology. 2012, Cocona Inc. <http://coconainc.com>
- (13) Lazko J, "Etude des mécanismes et de procédé de formation des microparticules à partir des protéines végétales". In Thèse de doctorat, 2004, Université de Nantes.
- (14) Benita S., Hoffman A, Donbrow M .J Pharm Pharmacol, 1985, 37 391.
- (15) Sefton M.V, Broughton R.L. Biochim Biophys Acta, 1982, 717, 473.
- (16) Sugamori M.E, Sefton M.V.ASAIO Trans, 1989, 35, 791.
- (17) Wischke C, Schwendeman S.P. Int J Pharm, 2008, 364, 298-327.
- (18) Supsakulchai A., Ma G.H., Nagai M, Omi S. J Microencapsul, 2003, 20, 1-18.
- (19) Damge C., Vranckx, H., Balschmidt P, Couvreur P. J Pharm Sci, 1997, 86, 1403-1409.
- (20) Ley S.V., Ramarao C., Lee A.L., Ostergaard N. and Smith S.C. Organic Letter, 2003, 5, 185-187.
- (21) Aebischer P., Wahlberg L., Tresco P.A, W inn S. Biomaterials, 1991, 12, 50-56.

- (22) Kröber H. and Teipel U. *Chem Engineer Proces*, 2005, 44, 215-219.
- (23) Patel S.K., Lavasanifar A, Choi P. *Biomaterials*, 2010, 31, 1780-1786.
- (24) Elversson J, Millqvist-Fureby A. *Int J Pharm*, 2005, 294, 73-87.
- (25) Salaüna F., Bedeka G., Devaux D., Dupont D, Gengembre L. *J Membrane Sci*, 2011, 370, 23-33.
- (26) Jeon Y.J., Vasanthan T., Temelli F. and Song B.K. *Food Res Int*, 2003, 36, 349-355.
- (27) Saénz C., Tapia S., Chávez J. and Robert P. *Food Chem*, 2009, 114, 616-622.
- (28) Ramakrishnan A., Pandit N., Badgajar M., Bhaskar C. and Rao M. *Bioresource Technol*, 2007, 98, 368-372
- (29) Higuera-Ciapara I., Felix-Valenzuela L., Goycoolea F.M, Arguelles-Monal W. *Carbohydr Polym*, 2004, 56, 41-45.
- (30) Remunan-Lopez C., Lorenzo-Lamosa M.L., Vila-Jato J.L, Alonso M.J. *Eur J Pharm Biopharm*, 1998, 45, 49-56.
- (31) Drusch S. *Food Hydrocolloid*, 2007, 21, 1223-1228.
- (32) Shu B., Yu W., Zhao Y., Liu X., 2006. *J. Food Eng.*, 76, 664–669.
- (33) Ortiz S.E.M., Mauri A., Monterrey-Quintero E.S , Trindade M.A. *Food Sci Technol*, 2009, 42, 919-923.
- (34) Lee S.J. and Rosenberg M. *Int J Pharm*, 2000, 205, 147-158.
- (35) Yu J.Y. and Lee W.C. *J Ferment Bioeng*, 1997, 84, 444-448.
- (36) Muller R.H., Radtke M. and Wissing S.A. *Int J Pharm*, 2002, 242, 121-128.
- (37) McClements D.J., Decker E.A, Weiss J. *J Food Sci*, 2007, 72, 109-124.
- (38) Gharsallaoui A., Roudaut G., Beney L., Chambin O., Voilley A. et al. *Food Chem*, 2012, 132, 1713-1720.
- (39) Lazko J., Popineau Y., Renard D, Legrand J. *J Microencapsul*, 2004, 21, 59-70.
- (40) Faqi A.S., Richards D., Hauswirth J.W, Schroeder R. *Regul Toxicol Pharm*, 2008, 52, 158-162.
- (41) Mouffok .M, MESLI.A, Abdelmalek.I , Gontier .E , Effect of formulation parameters on encapsulation efficiency and release behavior of P-aminobenzoic acid-loaded ethylcellulose microspheres, *J. Serb. Chem. Soc.*, 2016, 81 (0) 1-19.
- (42) Bocquel D., «Microencapsulation d'arômes par extrusion».  
<http://itv.hevs.ch/switzerland/microencapsulation- aromes-extrusion.html>.

- (43) Gouin S. Trends in Food Science and Technology, (2004) ,15 , 330 -347.
- (44) Silva C.M., Ribeiro A.J., Figueiredo I.V., Goncalves A.R. and Veiga F. Int J Pharm, 2006, 311, 1-10
- (45) Gharsallaoui A., Roudaut G., Chambin O., Voilley A. and Saurel R. Food Res Int, 2007, 40, 1107-1121.
- (46) Pitaksuteepong T., Davies N.M., Tucker L.G. and Rades T. Eur J Pharm Biopharm, 2002, 53, 335-342.
- (47) Bouchemal K., Briancon S., Fessi H., Chevalier Y., Bonnet I. et al. Material Sci Eng, 2006, 26, 472-480.
- (48) Kai Z., Qiang F., Jinghui F. and Dehui Z. Mater Lett, 2005, 59, 3682-3686.
- (49) Lazko J., Popineau Y. and Legrand J. Colloid Surface, 2004, 37, 1-8.
- (50) Palomo M.E., Ballesteros M.P. and Frutos P. J Microencapsul, 1996, 13, 307-318.
- (51) Liu S., Elmer C., Low N.H. and Nickerson M.T. Food Res Int, 2010, 43, 489-495.
- (52) Heidebach T., Forst P. and Kulozik U. Food Hydrocolloid, 2009, 23, 1670-1677.
- (53) Yufera M., Fernandez-Diaz C. and Pascual E. Aquaculture, 2005, 248, 253-262.
- (54) Freitas S., Merkle H.P. and Gander B. J Control Release, 2005, 102, 313-332.
- (55) Li M., Rouaud O. and Poncelet D. Int J Pharm, 2008, 363, 26-39.
- (56) Besson M, principe de la pharmacocinétique appliquée à la clinique. Service de pharmacologie et toxicologie cliniques des hôpitaux universitaires de Genève. (2008).
- (57) Mendoume-NZE J.S, (2008) : Les hydrogels et les nanogels : des formes galéniques université de Nantes
- (58) Siepmann. J , Bodmeier. R, J. W. McGinity, Int. J. Pharm. 2013. 457. 2. 361.
- (59) Kolter. K, A. Dashevsky, M. Irfan, et R. Bodmeier, Int. J. Pharm., déc 2013. 457. 2. 470 -479.
- (60) Maroni. A, Del Curto. M. D, Zema. L, Foppoli. A, et Gazzaniga , A . 2013.457. 2. 372-394.
- (61) Jean-François. "Synthèse et évaluation in vivo de microparticules d'hydrogel". Thèse doctorat, (2004), Université du QUEBEC à MONTREAL.
- (62) Ranade a. V, Drug delivery systems, 5B. J. Clin. Pharmacol., (1991), 31 (98) .
- (63) Jain. K. K, "Drug Delivery Technologies and Markets" (2000), Informa. Publishing Group,(, 144.

- (64) Denine. R, "Cours de pharmacie galénique", OPU, Alger, (2008), pp.233.
- (65) Le Hir. A, "Pharmacie galénique : bonne pratiques de fabrication des médicaments", (2001), 8<sup>ème</sup> édition, Masson, Paris. 251.
- (66) Langer. R , Peppas. N. A. Biomaterials, (1981), 2. 201-214.
- (67) Mallapragada. S. K et Narasimhan. B. "Drug delivery systems", Handbook of Biomaterials Evaluation, Scientific, Technical, and Clinical Testing of Implant Materials, 2<sup>ème</sup> édition: Philadelphia, Pennsylvania, USA. (1999. 425-437.
- (68) Cranck J, «The Mathematics of Diffusion», Clarendon, Oxford, 1975, 2<sup>nd</sup>. Chap.6; 85-92.
- (69) Korsmeyer R. W, Gurny R, Doelker E, Buri P , Peppas N A, Int. J. Pharm, 1983; 15; 25-35.
- (70) Chien. Y.W, "Novel Drug Delivery System", 2<sup>ème</sup> édition, revue, (1992).1-2.
- (71) Khar. R. K, Vyas. S. P "diffusion contrôlée de médicament", (1995) .32-71,
- (72) Chem. J "Evaluation ADME dans la découverte de médicaments". Inf. Comput. Sci. (2003) 43 .1058-1067.
- (73) Aulton. M. E, "Livre de la main Pharmaceutique", (2001). 291-295.
- (74) Jean Paul Larpent, Jean Jacques Sanglier, "Biotechnologie des antibiotiques", 2<sup>ème</sup> Edition MASSON, 1989.
- (75) Euzéby. J. P .Abrégé de Bactériologie Générale et Médicale. 2008. 9.2615-22
- (76) Balser. K, Hope L., Eeicher. T, M. Wandel. T, M, Astheimer. HJ. Steinmeir. H, Cellulose Esters, Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, (2000) Editions Wiley.
- (77) Serad. G.A, Fibers, Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, 1985 Wiley Interscience, New York, 3, 200-226.
- (78) Murtaza G., Ahmad M. J. Chem. Soc.2009, 31, 511.
- (79) Rowe R.C., Sheskey R.J., Weller P.J. "Handbook of Pharmaceutical Excipients", 2003 4<sup>th</sup>edn. Royal Publishers, London.
- (80) Kim B.K., Hwang S.J., Park J.B., Park H.J, J. Microencapsul. 2005. 22. 193–203.
- (81) Yea S D, Kirana E, J Supercrit Fluid. 2005. 34; 287-308.
- (82) Sandip B., Gaurav S., Trupesh P., Gaurav D., Vishal A., Tejas S., Navin S., Denvendra V., International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy, 2016, 68, 48-53.
- (83) Suhagia B.N., Shah S. A., Rathod I.S., Patel H.M., Doschi K.R., Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2006, 242-248.
- (84) Tirkkonen S, Turraka L, Paronen S, Journal of microencapsulation, 1994; 11(6), 616-626.

## Références bibliographiques

---

(85) 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.

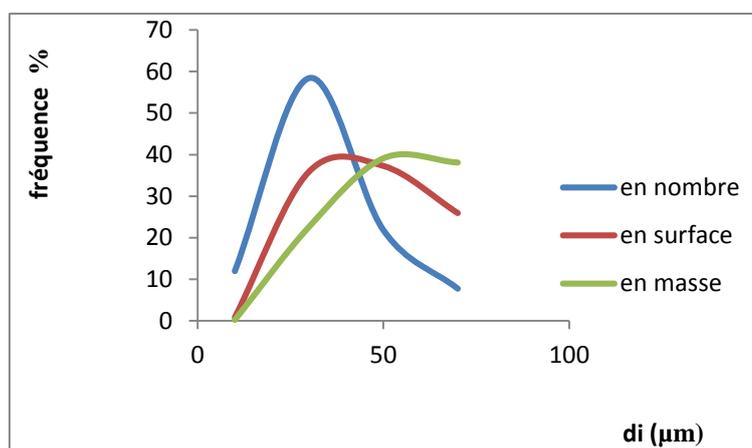
(86) Abdelmalek I., Shvan I., Mesli S., Simmoneaux G., Mesli A, J Mater Environ Sci, 2014, 5(6), 1799-1807.

(87) Boukhoya I., Bacouri H., Abdelmalek I., Amrane M.I., Guemera K., Chemistry International, 2018, 4(2), 120-129.

# **Annexe**

classe ( $\mu$ m)	centre de classe $d_i$ ( $\mu$ m)	effectif $n_i$	$n_i \cdot d_i$	fréquence en nombre %	$n_i \cdot d_i^2$	freq en surface %	$n_i \cdot d_i^3$	fréq en masse%	$n_i \cdot d_i^4$
0-20	10	17	170	11,97183099	1700	0,818094321	17000	0,171613164	170000
20-40	30	83	2490	58,45070423	74700	35,94802695	2241000	22,62265294	67230000
40-60	50	31	1550	21,83098592	77500	37,29547642	3875000	39,11770644	193750000
60-80	70	11	770	7,746478873	53900	25,93840231	3773000	38,08802746	264110000
	somme	142	4980	100	207800	100	9906000	100	525260000

**Tableau :** Les résultats Granulométriques des microsphères F2.



**Figure :** La courbe de distribution en taille des microsphères F2.

classe ( $\mu$ m)	centre de classe $d_i$ ( $\mu$ m)	effectif $n_i$	$n_i \cdot d_i$	fréquence en nombre %	$n_i \cdot d_i^2$	freq en surface %	$n_i \cdot d_i^3$	fréq en masse%	$n_i \cdot d_i^4$
0-50	25	18	450	7,826086957	11250	0,712589074	281250	0,186915888	7031250
50-100	75	179	13425	77,82608696	1006875	63,77672209	75515625	50,18691589	5663671875
100-150	125	30	3750	13,04347826	468750	29,6912114	58593750	38,94080997	7324218750
150-200	175	3	525	1,304347826	91875	5,819477435	16078125	10,68535826	2813671875
	somme	230	18150	100	1578750	100	150468750	100	1,5809E+10

**Tableau :** Les résultats Granulométriques des microsphères F3.

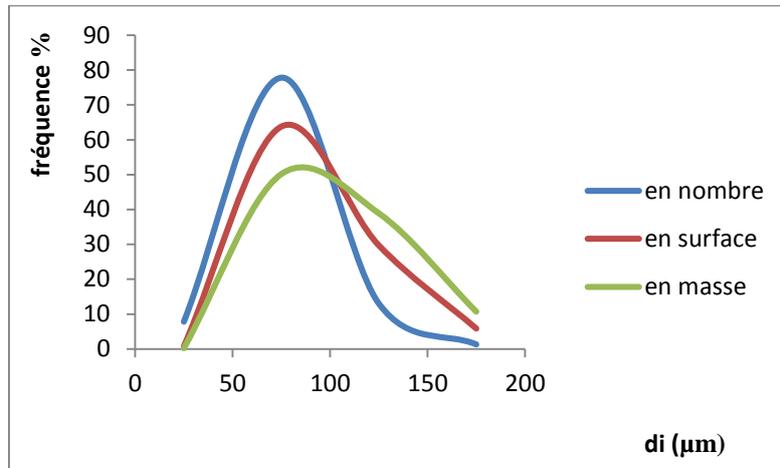


Figure : La courbe de distribution en taille des microsphères F3.

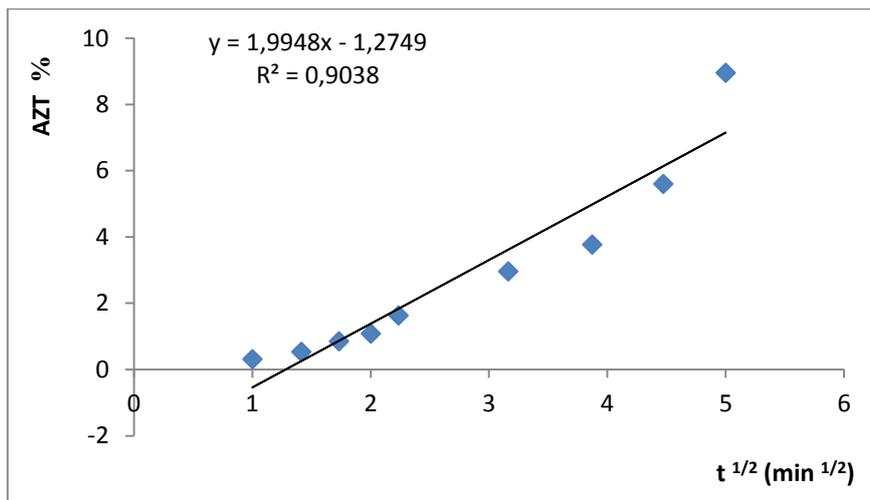
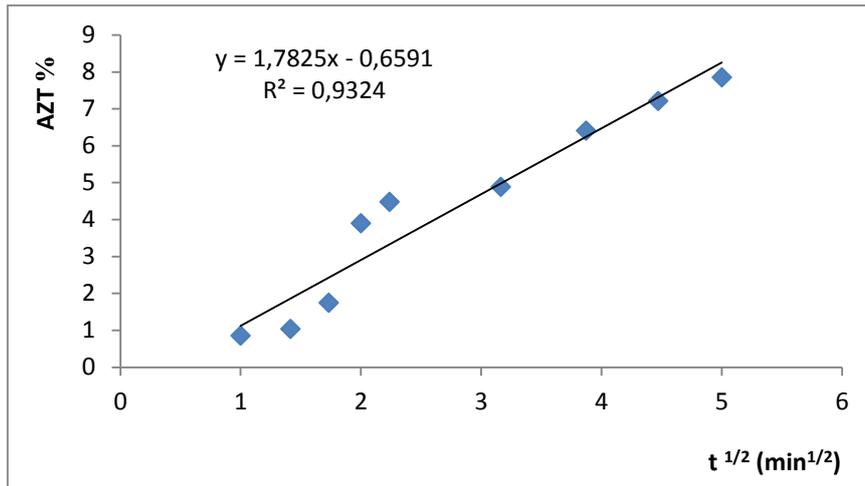
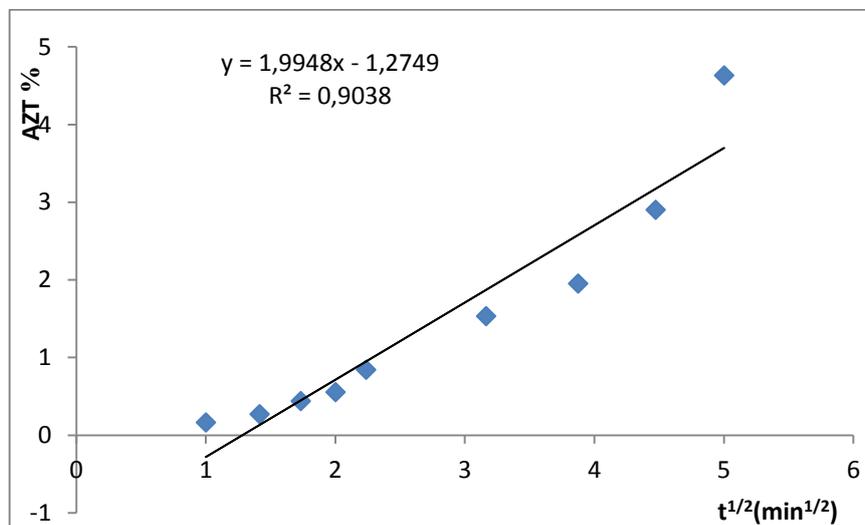


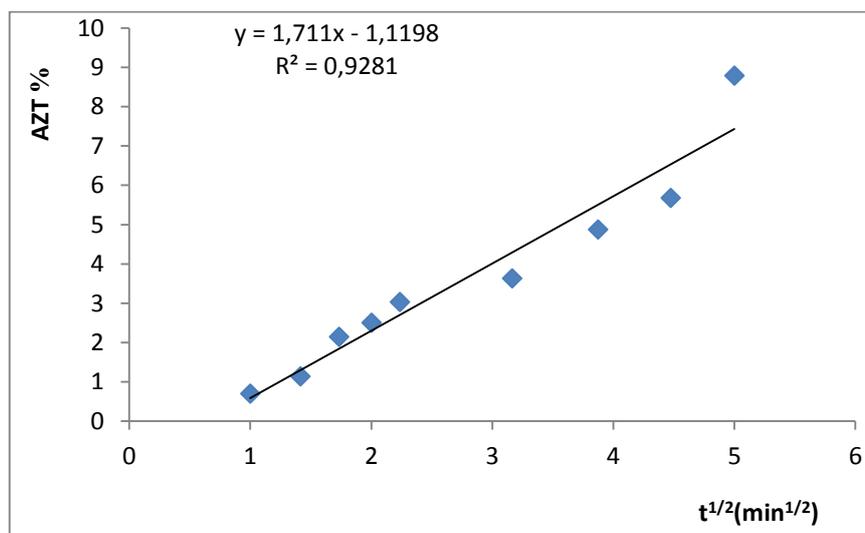
Figure : Le tracé AZH % =  $f(\sqrt{t})$  de F2 dans le pH=7,7.



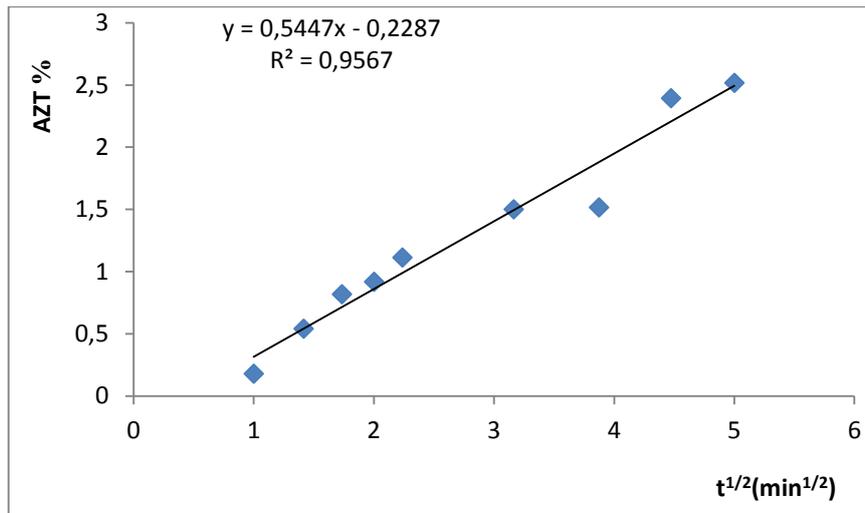
**Figure :** Le tracé AZH % =  $f(\sqrt{t})$  de F3 dans le pH=7,7.



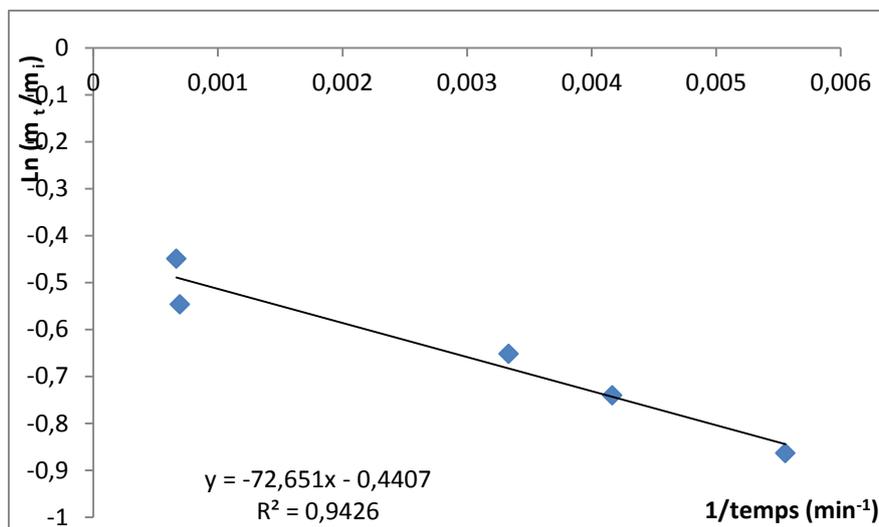
**Figure :** Le tracé AZH % =  $f(\sqrt{t})$  de F1 dans le pH=1,2.



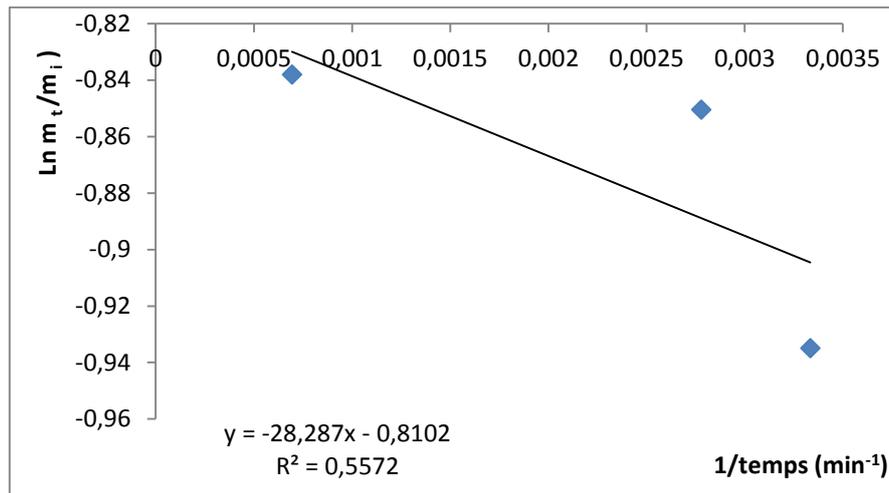
**Figure :** Le tracé AZH % =  $f(\sqrt{t})$  de F2 dans le pH=1,2.



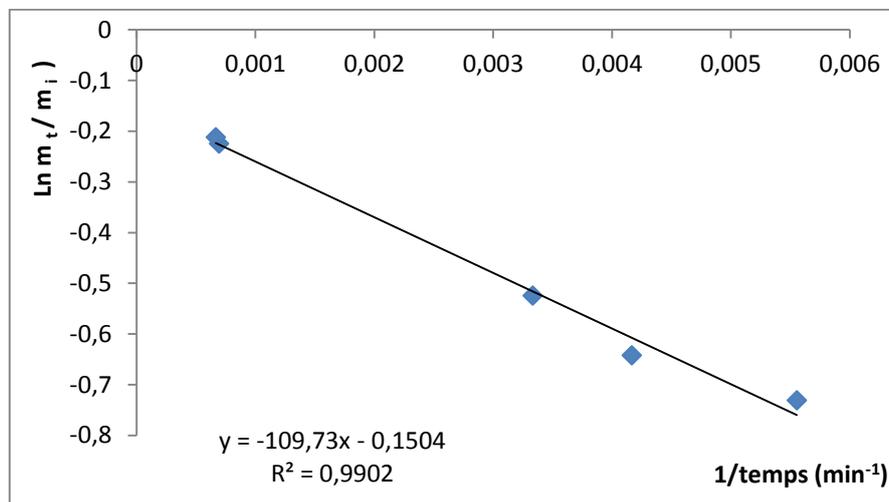
**Figure :** Le tracé AZH % =  $f(\sqrt{t})$  de F3 dans le pH=1,2.



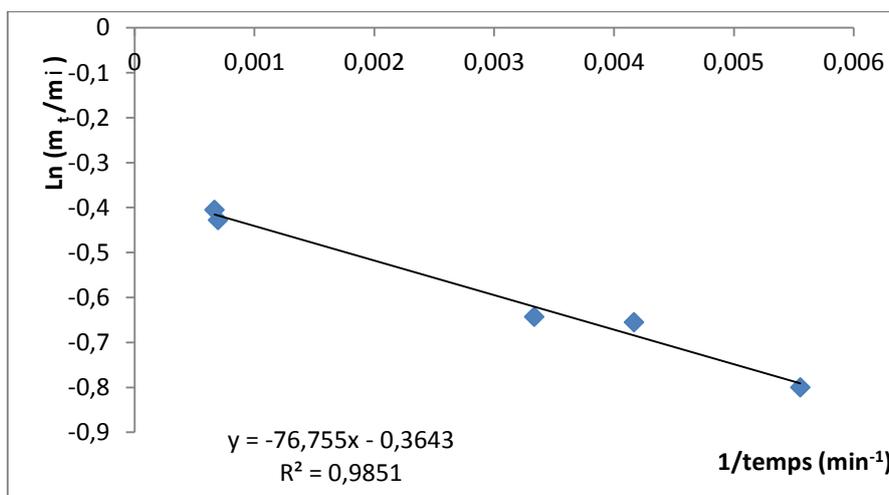
**Figure :** La courbe  $\ln (mt/mi)=f(1/t)$  pour la formule F2 au milieu pH=7,7.



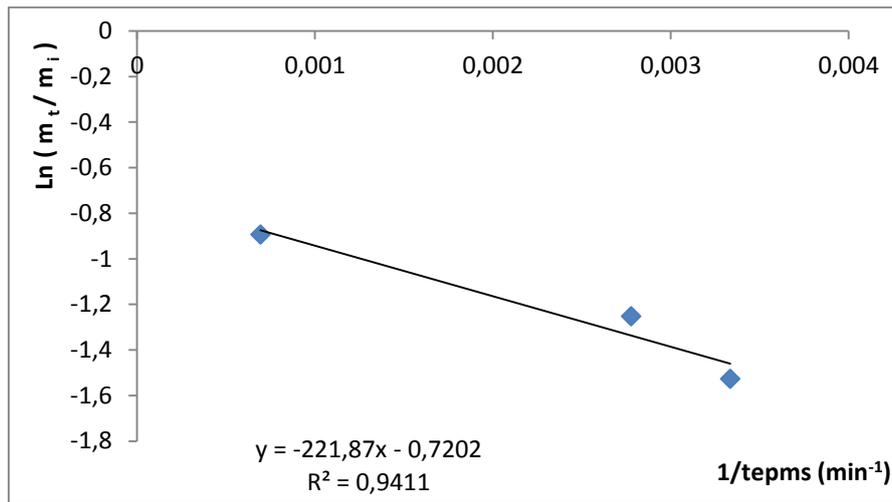
**Figure :** La courbe  $\ln(m_t/m_i)=f(1/t)$  pour la formule F3 au milieu pH=7,7.



**Figure :** La courbe  $\ln(m_t/m_i)=f(1/t)$  pour la formule F1 au milieu pH=1,2.



**Figure :** La courbe  $\ln(m_t/m_i)=f(1/t)$  pour la formule F2 au milieu pH=1,2.



**Figure :** La courbe  $\text{Ln}(m_t/m_i)=f(1/t)$  pour la formule F3 au milieu  $\text{pH}=1,2$ .

## Contrôle de libération à partir des microparticules préparées et caractérisées

**خلاصة:** عمل هذه الأطروحة يتعلق بالدراسة الحركية لإطلاق أزيثروميسين في وسط غير متجانس عند  $pH=1,2$  و  $7,7$  و  $T=37^{\circ}C$ . لهذا الغرض، تم إعداد الجسيمات الدقيقة بواسطة مشتقات السليلوز بواسطة تقنية تبخر المذيب. تمت دراسة وتحديد مميزات الجسيمات الدقيقة المحضرة بواسطة الأشعة تحت الحمراء والمجهر الضوئي والمسح الضوئي التفاضلي والتصوير البلوري للأشعة السينية. يوضح تطبيق نتائج الحلول التحليلية التي اقترحتها كرانك الخاصة بالنشر أن تحرير العنصر النشط يتم تنظيمه بواسطة النشر ويمكن حساب ثوابت السرعة في كل حالة. هذه النتائج تشير إلى وجود تأثير تأخير كبير للنماذج التي تم اختبارها. الاختبارات البيولوجية على سلالات مختلفة تظهر فعالية العنصر النشط المغلف.

**Résumé :** Le travail faisant l'objet de ce mémoire concerne l'étude cinétique de la libération de l'azithromycine en milieu hétérogène à  $pH=1,2$  et  $7,7$  et  $T=37^{\circ}C$ . Pour cela on a réalisé la préparation des microparticules à base des dérivés de cellulose par l'encapsulation par évaporation de solvant.

Les microparticules préparées ont été caractérisées par IR, microscopie optique, DSC et DRX.

L'application à nos résultats des solutions analytiques proposées par Crank pour la diffusion démontre que la libération de principe actif est réglée par la diffusion et les constantes de vitesse ont pu être calculées dans chaque cas. Ces résultats laissent envisager un effet retard conséquent pour les formes testés.

Des tests biologiques sur différents souches montrent ainsi l'efficacité du principe actif encapsulé.

**Abstract:** This work based on the release of azithromycin in a heterogeneous medium at  $pH = 1.2$  and  $7.7$  and  $T = 37^{\circ} C$ . For this purpose, the preparation of microparticles based on cellulose derivatives has been carried out used the encapsulation with solvent evaporated technique.

The prepared microparticles were characterized by IR, Optic microscopy, DSC and XRD.

The application to our results of the analytical solutions proposed by Crank for diffusion shows that the release of active principle is regulated by the diffusion and the constants of speed could be calculated in each case. These results suggest a significant delay effect for the forms tested.

Biological tests on different strains thus show the effectiveness of the encapsulated active ingredient.

**Mots Clés :** Azithromycine, Microencapsulation, dérivés de cellulose, lois de Fick, tests biologiques.

**Par :** BELABED MESSAOUDA et BENHALIMA FATIMA ZOHRA IMEN

Département de chimie  
Faculté des sciences de la matière  
Université Ibn Khaldoun -Tiaret -

