

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة الجيلالي بونعامة خميس مليانة  
Université Djilali Bounaâma de Khemis Miliana  
Faculté des Sciences et de la Technologie  
Département de Technologie



## Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention d'un diplôme de **Master** en *Génie des Procédés*  
*Spécialité : Génie Pharmaceutiques*

### Thème :

*Encapsulation de la doxycycline et de l'aspirine :  
étude de l'effet des paramètres physicochimiques  
de préparation sur la stabilité des microcapsules  
d'alginate*

Présenté par :

*M<sup>elle</sup> Benyahia Sana*  
*M<sup>elle</sup> Abdallah Bouamrane Assia*

Devant le jury composé de :

*M. Mekhaneg.B .....Président*  
*M .Hellal .A.....Examineur*  
*M. Larbi Bouamrane .O .....Encadreur*

*Année universitaire : 2016/2017*

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## *Remerciements*

Nous louons et remercions Allah le tout puissant pour avoir fait de ce parcours un succès.

Au terme de cette étude qu'il nous soit permis d'exprimer notre profonde gratitude envers tous ceux qui nous ont apporté leur aide .

Nous tenons à remercier chaleureusement M. Larbi Bouamrane ,qui a assuré la direction scientifique de ce travail, il n'a cessé tout le long de ce travail de nous faire bénéficier de sa grande culture scientifique .ses qualités humaines , ses précieux conseils, ses encouragements sans relâche , sa disponibilité et la confiance qu'il nous a accordée ,nous ont permis de nous initier à ce travail dans les meilleures conditions .

Nous souhaiterons lui témoigner ici notre profonde reconnaissance et notre sincère gratitude, il restera pour nous un modèle de rigueur scientifique et un exemple d'intégrité.

Nos vifs remerciements aux membres du jury M. Mekhaneg et M.Hellal pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Aujourd'hui nous avons réalisé ce travail, et nous prétendons le présenter et le défendre s'il le faut. Et tous les mérites et les honneurs vous reviennent car nous ne sommes qu'un produit de votre encadrement à tous .Merci.

Nous remercions également tout le personnel du groupe SAIDAL pour nous avoir chaleureusement accueillis au sein de leur Usine.

Enfin, nos derniers remerciements mais non les moindres s'adressent à tous le corps enseignant et les personnels Universitaire de Djilali bounaama khemis miliana et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réussite de notre formation.

Sans oublier de remercier tous les étudiants de la promotion qui ont su instaurer ce climat favorable aux études.



# Dédicace

*Je dédie ce travail à ces personnes qui me sont si chers*

*A celle qui a fait preuve d'un grand sacrifice pour fertiliser mon parcours d'étude, ma mère Cherifa cette femme si tendre et si douce qui m'a tant aimé et aidé.*

*A mon père Abdelkader cet infatigable homme plein d'entrain*

*A ma grande mère et ma sœur Bahidja la deuxième maman pour moi*

*A mes frères Mohamed et Samir et mes sœurs Aicha, Nabila, Radia, Faiza qui m'ont guidé mes premiers pas et qui ont toujours été un solide soutien et qui m'ont été source d'encouragement.*

*A cherif, Benouda, Djamel, Mohamed et toute la famille Abdallah bouamrane*

*A mes chers amis ; Sana, Siham, zahia, Naïma, mouna, warda, basma, saïda, assma , khadidja , Mohamed et Karim .*

*A tous les étudiants de master Génie et chimie pharmaceutique.*

assia





## *Dédicace*

*A la source de tendresse, de générosité, de bonheur à consacré sa vie pour que je réussisse dans tout ce que j'entretiens à vous mes très chère parent, ma mère qu'elle a beaucoup sacrifié pour moi et qu'elle n'a j'aimais cessée de m'encourage, mon père qui fait beaucoup pour nous.*

*A ma très chère sœur : Asma qui ma soutenu dans tout les moments.*

*A mes très chers frères : Idriss, Younes, Mohamed ont toujours été à mes cotés...*

*A mon petit enfant Mohamed Sadjed et sa mère imane.*

*A mes chères grands-mères, tantes, oncle et surtout mon oncle Mohiédine qu'est considéré comme mon deuxième père.*

*A mes chers camarades : Mohamed, Assia, Siham, Zahia, Assma, kaother et Abir.*

*A toute la famille benyahia*

*Je remercie enfin tous ceux qui d'une manière ou d'une autre, ont contribué à la réussite de ce travail et qui n'ont pas peut être cités ici.*

*Sana*  
**Sana**



من خلال عملنا المنجز في هذه الدراسة تحصلنا على كبسولات من دوكسيسيكليين والأسبرين على شكل كريات باستعمال بيبوليمير كيتوزان و الجينات. قمنا في المرحلة الأولى بصناعة الكبسولات ودراسة الخصائص المركبات المستعملة. وبعدها تطرقنا بدراسة انتفاخ هذه الكبسولات في الأوساط المعدية و المعوية فلاحظنا نسبة امتصاص تقدر ب 72% بالنسبة لكبسولات المصنوعة بالكيتوزان و 60% لكبسولات المصنوعة بالكيتوزان و الجينات. ثم تطرقنا لدراسة تحرير المادة الفعالة في الوسط المعدي و المعوي فوجدنا بعد ساعتين تركيز 1.62 غ/ل وارتفع إلى 2.18 غ/ل بعد 238 ساعة بالنسبة لمادة الفعالة الدوكسيسيكليين. اما فيما يخص الاسبيرين وجدنا تركيز 0.45 غ/ل في وسط المعدي و 0.63 غ/ل في وسط المعوي. بالإضافة إلى التحاليل التي أجريت للحيوانات أكدت تحرير المادتين الفعالتين التي استعملت في هذه الدراسة. كلمات البحث: دوكسيسيكليين، الأسبرين، الكيتوزان والجينات.

## Résumé

Le travail élaboré pour cette étude a permis d'obtenir des microcapsules de doxycycline et de l'aspirine de forme sphérique à base des biopolymères, le chitosane et l'alginate, nous avons procédé en premier lieu à la préparation des microcapsules et en deuxième lieu leur caractérisation. La préparation a concerné les microcapsules de doxycycline et d'aspirine.

Des tests de gonflement dans les milieux simulés gastrique et intestinal ont montré une capacité d'absorption intéressante. Des taux avoisinant 72% pour le cas des systèmes préparés à base de chitosane et 60% pour les systèmes composés de chitosane et d'alginate. Egalement des tests de libération in vitro dans le milieu gastrique et intestinal ont été réalisés. On a noté que la libération de la doxycycline dans le milieu gastrique a atteint 1,62g/l après un temps de 2 heures. Alors que dans le système les concentration a atteint une valeur de 2.18g/l pour le même système après 238 heures. Pour le cas de l'aspirine, on a remarqué que pour les mêmes systèmes considérés pour la doxycycline des concentrations 0.45g/l dans le milieu gastrique après 77 heures et 0.63g/l dans le milieu intestinal.

De plus les tests in vivo ont montré une libération pour les deux principes actifs considérés dans cette étude.

Les mots clés : la doxycycline, l'aspirine, le chitosane et alginate.

## Abstract:

The work developed in this study is focused to obtain doxycycline microcapsules and aspirin based on alginate and chitosan polymers. It has confirmed that the microcapsules have a spherical shape.

Swelling tests in simulated gastric and intestinal media showed an interesting absorption capacity. Rates of approximately 72 % for prepared systems based on chitosan and 60% for systems composed of chitosan and alginate.

Also in vitro release tests in the gastric and intestinal environment were performed. It was noted that the release of doxycycline into the gastric medium reached 1,62g/l after a time of 2 hours. While in the system this rate has reached a value of 2.18g/l for the same system after 238 Hour. For the case of aspirin, it has been observed that for the same systems considered for doxycycline, levels of 0.45g/l in the gastric medium after 77 hours and 0.63g/l in the intestinal environment are reached.

In addition, the in vivo tests showed a release for the two active ingredients considered in this study.

Key words: doxycycline, aspirin, chitosan and alginate.

## Liste des abréviations

**ADEME** : Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie

**Alg** : alginate

**AMP**: Adénosine-5' monophosphate AMP

**ATCC** : American Type culture collection

**ATP**: Adénosine-5' -triphosphate

**Cs** : chitosane

**CMT** : inhibent la croissance tumorale

**Doxy** : doxycycline

**DA** : degré d'acétylation

**ECH**: Echantillon

**FTIR**: La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

**Glu** : Glutaraldéhyde

**HMPS** : Hexametaphosphate de sodium

**MEB** : Microscopie Électronique à Balayage

**OTC** : oxytétracycline

**PHA** : Polyhydroxyalcanoates

**PLA** : Poly acide lactique

**PA** : principe actif

**TC** : tétracycline

**UV** : Ultraviolet

**UPS** : United States Pharmacopée

## La liste des figures

<b>Figure I.1 :</b> Morphologie d'une microcapsule.....	03
<b>Figure I.2 :</b> Système de triple-couche du papier autocopiant avec des microcapsules : (a) papier, (b) colle acide, (c) microcapsule, (d) solution du colorant.....	04
<b>Figure I.3 :</b> Image MEB d'une microsphère.....	05
<b>Figure I.4 :</b> Exemple de microcapsule : image MEB de la structure externe et interne de la membrane polyurethane d'une capsule cassee.....	05
<b>Figure I.5 :</b> Gélification de gouttes (schéma de principe).....	11
<b>Figure I.6 :</b> Représentation schématique de micro encapsulation par méthode d'enrobage en lit fluidisé : (a) matière active "fluidisée", (b) pulvérisation de la solution de matière enrobante et (c) formation des microparticules.....	12
<b>Figure I.7 :</b> Représentation du procédé de microencapsulation par polymérisation (polycondensation) interfaciale.....	14
<b>Figure I.8 :</b> 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.....	15
<b>Figure I.9:</b> 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.....	16
<b>Figure I.10 :</b> Schématisation des différentes étapes d'un procédé de microencapsulation par évaporation de solvant.....	18
<b>Figure I.11 :</b> Monomères de la chaîne alginate de sodium.....	20
<b>Figure I.12:</b> Structure chimique de la chaîne d'alginate de sodium.....	21
<b>Figure I.13:</b> Structure chimique du chitosane.....	23
<b>Figure I.14:</b> Exemples des dérivés chimiques du chitosane.....	24
<b>Figure II .1 :</b> La structure chimique de la tétracycline.....	27
<b>Figure II.2:</b> L'obtention de monohydrate de doxycycline et doxycycline chlorhydrate de la façon hyclate.....	32
<b>Figure II.3:</b> La structure chimique de la doxycycline.....	33
<b>Figure II.4:</b> La présentation de la rosacée (gauche) et de l'acné vulgaire (droite).....	34
<b>Figure II.5:</b> la présentation caractéristique d'erythema migrans.....	35
<b>Figure III.1 :</b> Formule plane de d'acide acétylsalicylique ou aspirine.....	36



<b>Figure IV.1 :</b> Photographie de la doxycycline.....	45
<b>Figure IV.2 :</b> Spectre FT-IR de la doxycycline.....	46
<b>Figure IV.3.</b> dosage par potentiométrie .....	47
<b>Figure IV.4:</b> Le protocole de préparation de microsphère.....	49
<b>Figure IV.5 :</b> Images présentent les microcapsules vides (a) et chargées de doxycycline (b).....	50
<b>Figure IV.6 :</b> Morphologie des microcapsules par microscope optique.....	51
<b>Figure IV.7 :</b> Suivi de la morphologie des microsphères chargées de la doxycycline de systeme I en fonction de temps.....	51
<b>Figure IV.8 :</b> Suivi de la morphologie des microsphères chargées de la doxycycline de systeme III en fonction de temps.....	52
<b>Figure IV.9 :</b> Suivi de la morphologie des microsphères avec la doxycycline de systeme III en fonction de temps.....	52
<b>Figure IV.10 :</b> L'analyse des spectres FT-IR pour les systèmes I, II et III sans principe actif.....	53
<b>Figure IV.11:</b> Analyse des spectres FT-IR pour les systèmes IV , V et VI sans principe actif.....	54
<b>Figure IV. 12 :</b> analyse des spectres FT-IR pour les systèmes I et III avec la doxycycline.....	55
<b>Figure IV. 13 :</b> analyse des spectres FT-IR pour les systèmes IV , VI et VII avec la doxycycline.....	55
<b>Figure IV.14. :</b> Zones d'inhibition pour les systèmes vides (a) et chargées (b) par la bactérie staphylococcus epidermidis après (5h et 24h) .....	Annexe
<b>Figure IV.15 :</b> Zones d'inhibition pour les systèmes vides (a) et chargées (b) par la bactérie staphylococcus aureus après (5h et 24h).....	Annexe
<b>Figure IV.16 :</b> Zones d'inhibition pour les systèmes vides (a) et chargées (b) par la bactérie Escherichia coli après (5h et 24h).....	Annexe
<b>Figure IV.17 :</b> Zones d'inhibition pour les systèmes vides (a) et chargées (b) par la bactérie <i>Pseudomonas aeruginosa</i> après 5h et 24h .....	Annexe
<b>Figure IV. 18 :</b> Zones d'inhibition pour les systèmes vides (a) et chargées (b) par la bactérie Bacillus subtilis après 5h et 24h.....	Annexe
<b>Figure IV. 19 :</b> Taux de gonflement dans le milieu intestinal.....	58

<b>Figure IV.20 :</b> Taux de gonflement dans le milieu gastrique.....	59
<b>Figure IV.21:</b> Taux et efficacité d'encapsulation pour les différents systèmes.....	60
<b>Figure IV.22 :</b> Déterminer de longueur d'onde optimale d'absorption.....	61
<b>Figure IV .23 :</b> La courbe étalonnage de la doxycycline.....	62
<b>Figure IV .24 :</b> Cinétique de libération pour le système I.....	62
<b>Figure IV .25:</b> Cinétique de libération de système II (a) et le système III (b).....	63
<b>Figure IV .26:</b> Cinétique de libération de système VII (a) et le système IV (b).....	64
<b>Figure IV .27 :</b> Cinétique de libération de système V (a) et le système VI (b).....	65
<b>Figure IV .28:</b> Technique de gavage.....	66
<b>Figure IV .29 :</b> Technique de prélèvement du sang.....	67
<b>Figure IV .30:</b> Cinétique de libération in vivo de système I.....	67
<b>Figure IV .31 :</b> Cinétique de libération in vivo de systèmeIV.....	68
<b>Figure IV .32 :</b> Cinétique de libération in vivo de système V.....	68
<b>Figure IV .33 :</b> Cinétique de libération in vivo de système III (a) et système VI (b).....	69
<b>Figure IV .34 :</b> Cinétique de libération in vivo de système VIII.....	69
<b>Figure IV .35 :</b> Lapin blessé comme témoin (a) moment de blesser et (b) Après 24 h.....	70
<b>Figure IV .36 :</b> Application pommade (a) moment de blesser et (b) Après 24h.....	71
<b>Figure IV .37 :</b> Photographie de l'aspirine.....	72
<b>Figure IV .38 :</b> Les microsphères de l'aspirine : a- humide, b- sèche.....	72
<b>Figure IV .39 :</b> Morphologie des microcapsules avec principe actif (l'aspirine).....	73
<b>Figure IV .40:</b> La courbe d'étalonnage d'aspirine.....	74
<b>Figure IV .41:</b> Cinétique de libération de système I (a) et le système II (b).....	75
<b>Figure IV .42 :</b> Cinétique de libération de système III (a) et le système IV (b).....	76
<b>Figure IV. 43:</b> Cinétique de libération d'aspirine pour le système V.....	76
<b>Figure IV. 44 :</b> Technique de gavage.....	77
<b>Figure IV. 45:</b> Cinétique de la libération in vivo de système I.....	77
<b>Figure IV. 46:</b> Cinétique de la libération in vivo d'aspirine système II.....	78
<b>Figure IV. 47:</b> Cinétique de la libération in vivo d'aspirine par les microcapsules de système III en fonction du temps.....	78
<b>Figure IV. 48:</b> Cinétique de la libération in vivo d'aspirine de système V.....	79



## Liste des tableaux

<b>Tableau I .1 :</b> Grandes classes de biopolymères.....	19
<b>Tableau I. 2 :</b> Répartition de la production mondiale des alginates entre les différents secteurs industriels et exemples d'applications.....	22
<b>Tableau I. 3 :</b> Propriétés du chitosane.....	25
<b>Tableau IV.1 :</b> La solubilité de la doxycycline.....	46
<b>Tableau IV.2 :</b> Identification des systèmes.....	50
<b>Tableau IV.3:</b> les différentes doses des pommades préparées.....	70
<b>Tableau IV.4 :</b> Identification des systèmes de principe actif aspirine.....	73

# SOMMAIRE

Introduction générale.....01

## Chapitre I : La microencapsulation

I. La microencapsulation..... 03

Introduction..... 03

I. 1. Définition..... 03

I. 2. Historique..... 03

I. 3. Caractéristiques des microparticules..... 04

I. 3. 1. Taille..... 04

I. 3. 2. Structure interne ..... 05

I. 3. 3. Quantification de l'actif encapsulé..... 06

I. 4. Intérêt de microencapsulation..... 06

I. 5. Modes de libération des principes actifs..... 07

I. 5. 1. Mécanismes de libération des substances encapsulées dans des microcapsules... ..... 07

I. 4. Domaines d'application..... 08

I. 4. 1. La microencapsulation dans le domaine de la cosmétique..... 08

I. 4. 2. La microencapsulation dans le domaine de l'agroalimentaire .....	08
I. 4. 3. La microencapsulation dans le domaine pharmaceutique .....	09
I. 4. 4. La microencapsulation dans le domaine biomédical .....	09
I. 5. Techniques d'encapsulation.....	09
I. 5. 1. Procédés mécaniques.....	10
I. 5. 2. Procédés chimiques.....	13
I. 5. 3. Procédés physico-chimiques.....	15
I. 6. Biopolymères .....	18
I. 6. 1. Définitions.....	18
I. 6. 2. Différentes familles de biopolymères .....	19
I. 6. 3. Alginate de sodium.....	20
I.6.3.1.Définition de l'alginate de sodium .....	21
I. 6.3.3. Propriétés physico-chimique .....	21
I.6.3.. Application de l'alginate de sodium.....	22
I. 6. 4. Chitosane.....	23
I. 6. 4. 1. Définition.....	23
I. 6. 4. 2. Les dérivés du chitosane.....	23
I. 6. 4. 3. Propriétés Principales du chitosane.....	24
I. 6. 4. 4. Applications du chitosane.....	25

## **Chapitre II : Tétracyclines**

II.Tétracyclines .....	27
II. 1. Définition et structure.....	27
II. 2. Propriétés physico-chimiques des tétracyclines.....	28
II.1.3.Classification De tétracyclines.....	28

II.1.4. Usages thérapeutiques	29
II. 1. 5. Mode d'action de tétracycline.....	30
II. 6. Pharmacocinétique .....	31
II.6. 1. Absorption .....	31
II.6. 2. Distribution.....	31
II. 1. 6. 3. Élimination .....	31
II. 1.7. Résistance bactérienne .....	31
II.2. Doxycycline .....	32
II.2.1. Définition et Propriétés physico-chimiques .....	32
II.2. 2. Propriétés pharmacologiques .....	33
II. 2. 3. Applications cliniques .....	33

## **Chapitre III : L'aspirine**

II Introduction .....	36
I. L'aspirine.....	36
III. 1. Définition d'acide acétylsalicylique.....	36
III. 2. Forme chimique.....	36
III. 3. Composition et propriétés physico-chimiques .....	37
III. 4. L'aspirine et ces différentes formulations.....	37

III. 5. Synthèse industrielle de l'aspirine.....	38
III.5.1. Les matières premières de la synthèse industrielle de l'aspirine.....	38
III. 5. 2. Les différentes étapes de la synthèse .....	38
III. 6. Effets pharmacologiques de l'aspirine .....	39
III.6.1. Effet anti-inflammatoire .....	39
III. 6. 2. Action antalgique .....	39
III. 6. 3. Effet antipyrétique .....	40
III. 6. 4. Effet hématologique.....	40
III. 6. 5. Effet gastro-intestinaux .....	40
III. 7. Pharmacocinétique de l'aspirine.....	41

## **Chapitre IV : Partie expérimentale**

IV.1. Introduction .....	43
IV.2. matériel et méthode .....	43
IV. 3. Doxycycline.....	45
IV. 3.1.1. Caractérisation physicochimique .....	45
IV. 3.2. chitosane.....	47
IV. 3.3. Alginate de sodium .....	48
IV. 3.4. Préparation des microsphères.....	49



IV. 1. 3.5. Morphologie .....	50
IV. 3.6. Identification par FTIR.....	53
IV. 3.7. Tests microbiologie.....	56
IV. 1. 3.7.1. Les souches bactériennes utilisées.....	56
IV. 3.7.2. Activité antibactérienne par la méthode de disque.....	56
IV. 3. 8. Tests de gonflements.....	58
IV. 3. 9. Taux et l'efficacité d'encapsulation.....	60
IV. 3. 10. Cinétique de libération de doxycycline.....	61
IV.3. 10.1. Déterminer de la longueur d'onde spécifique.....	61
IV. 3. 10. 2. libération in vitro.....	62
IV. 3. 10. 3. libération in vivo.....	66
IV. 4. Application pharmaceutique.....	
IV. 5. Usage d'aspirine.....	70
IV. 5. 1. Caractérisation physicochimique.....	
IV. 5. 1. Caractérisation physicochimique.....	72
IV.5. 2. Préparation des microbilles.....	72
IV. 5. 3. Morphologie par microscope optique.....	73
IV. 5. 4. Cinétique de libération de l'aspirine.....	74
IV. 5. 4. 1. Détermination de la courbe d'étalonnage.....	74
IV. 5. 4. 2. Libération in vitro. ....	74

IV. 5. 4. 3. Libération in vivo ..... 77

**Conclusion générale**..... 80

**Bibliographie**

**Annexe**

## Introduction générale

« Le médicament considéré comme toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curative et préventive à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tous produit pouvant être administré à l'homme ou à l'animal en vue d'établir un diagnostic médical ou de corriger ou de modifier ou de restaurer les fonctions organiques»[1].

Depuis que le médicament est proposé pour l'homme en vue de soulager, plusieurs formes ont été développées.

Chacune des formes présente des avantages et des inconvénients. Ainsi, les chercheurs et les industriels ont toujours fait des efforts pour en améliorer les caractéristiques de ces formes dites conventionnelles.

Nonobstant des différents effets positifs obtenus par ces formes, il reste toutefois l'inconvénient principal est que ces formes ne permettent pas au principe actif d'atteindre d'une façon spécifique sa cible. De plus, une grande partie de quantité du principe actif est perdue le long du chemin parcouru par la forme galénique. Ainsi, des nouvelles formes sont développées par la nouvelle technologie, l'encapsulation.

Cette technologie développée depuis plus de 50ans, se trouve employée dans plusieurs domaines, entre autres les domaines cosmétique, agroalimentaire ,biomédical et pharmaceutique.

Dans le domaine pharmaceutique, cette technologie est utilisée pour compenser les différents défauts occasionnés par les formes galéniques conventionnelles. Plusieurs formes sont relatées dans divers travaux effectués sur l'encapsulation des principes actifs médicamenteux, les microsphères, les microcapsules, les nanoparticules ...etc.

Dans cet ordre d'idée, nous avons envisagé d'entreprendre ce travail qui consiste à la préparation des microsphères de deux principes actifs médicamenteux, la doxycycline et l'aspirine

La doxycycline, molécule de la famille des cyclines de deuxième génération principalement active contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives aérobies et anaérobies [2].

L'aspirine ou acide acétylsalicylique, est une autre molécule utilisée comme médicament présentant des effets analgésique/antalgique (médicament qui prévient ou diminue la douleur), antipyrétique (Médicaments destinés à abaisser la température corporelle ou diminuer la fièvre), anti-inflammatoire, contre la grippe, rhume, fièvre, migraine, et des diverses douleurs[3].

En vue de bien mener cette étude, nous l'avons scindé en deux parties, Une partie théorique composée des trois chapitres :

Le premier est consacré à la description de l'encapsulation. Dans le deuxième chapitre, nous avons décrit les généralités sur les tétracyclines. Enfin dans le dernier chapitre, un ensemble d'information concis sur les différentes propriétés de l'aspirine est relaté.

Une deuxième partie est réservée aux travaux expérimentaux sur la préparation des microsphères et leurs caractérisations.

## I. La microencapsulation

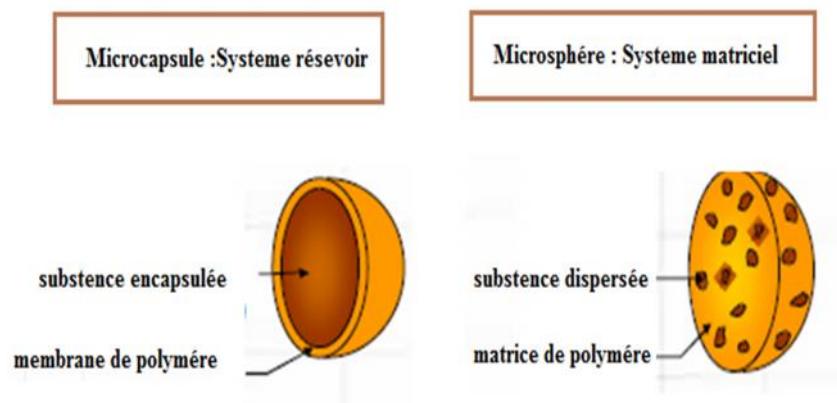
### Introduction

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

Les microparticules présentent une taille comprise entre 1µm est 1mm et contiennent typiquement entre 5 et 90 (en masse) de matière active. Les matières actives sont d'origine très arrivée : principes actifs pharmaceutiques, actifs cosmétiques, additif alimentaires, produit phytosanitaires, essences parfumées [4].

### I. 1. Définition

L'encapsulation est une technique de protection de matières sensibles sous formes solide, liquide ou gazeuse au sein d'un matériau support .Elle résulte donc en la préparation de particules individualisées constituées d'un matériau enrobant contenant un principe actif. La matrice enrobant représente une barrière permettant la protection du principe actif ainsi que le contrôle de sa libération [5].

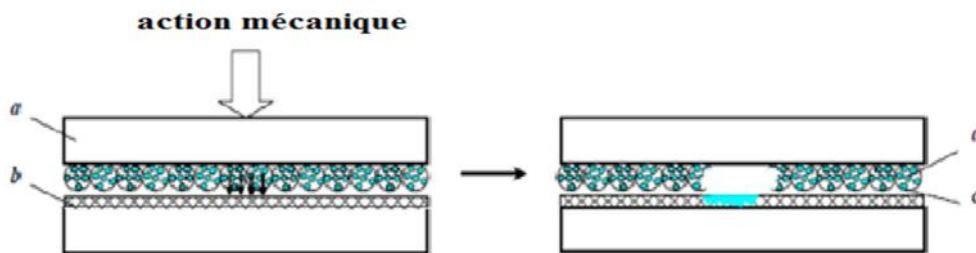


**Figure I. 1.** Morphologie d'une microcapsule.

### I. 2. Historique

La première application industrielle de microparticules date des années 1950 quand Green et Schleicher ont encapsulé des particules de pigments dans des polymères naturels (protéine/gélatine et polysaccharide/gomme arabique) par coacervation complexe. Cette

stratégie, utilisée pour la production de papier "carbone", permet la duplication d'un texte ou d'une figure sous l'effet d'une faible pression en encapsulant des colorants. Le principe repose sur la préparation d'une dispersion de microcapsules où la matière encapsulée est composée d'un agent colorant qui couvre le recto des feuilles de papier. Le contenu des capsules se libère grâce à l'action mécanique d'une machine à écrire et il change de couleur quand il réagit avec la colle acide qui couvre l'autre face du papier (Figure I.2). Le papier autocopiant est l'un des produits les plus importants fabriqués par la méthode de microencapsulation. Il représente encore aujourd'hui une application très importante en volume de microparticules produites – plusieurs milliers de tonnes.



**Figure I. 2.** Système de triple -couche du papier autocopiant avec des microcapsules : (a) papier, (b) colle acide, (c) microcapsule, (d) solution du colorant.

Dans les années 1960, l'encapsulation de cristaux liquides par la gélatine et la gomme d'acacia pour la production de matériaux pour écrans thermosensibles a été décrite par Ferguson. Cette méthode d'encapsulation a permis le développement des écrans à cristaux liquides utilisés pour les structures aérospatiales.

Au cours des dernières années, la micro encapsulation s'est considérablement développée à l'échelle industrielle. Les microparticules ont des applications très variées, elles sont utilisées pour la production de textiles et de produits cosmétiques, pour la protection des récoltes agricoles, dans l'agroalimentaire pour donner de nouvelles propriétés aux aliments (encapsulation d'arômes, colorants, épices), mais aussi dans les produits phytosanitaires et dans le domaine de la médecine et de la pharmacie [6].

### I. 3. Caractéristiques des microparticules

#### I. 3. 1. Taille

Le terme de microparticules est utilisé pour des tailles comprises entre  $1\mu\text{m}$  et  $1000\mu\text{m}$ . en 1987 a réduit l'intervalle de définition des microparticules de  $1\mu\text{m}$  à  $500\mu\text{m}$ .

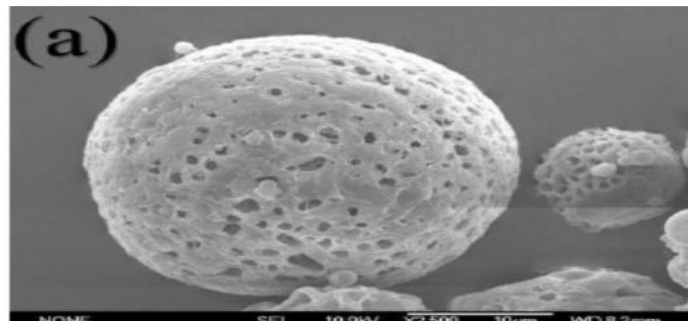
Dans tous les cas, les particules ayant un diamètre inférieur à  $1\mu\text{m}$  appartiennent au domaine des nanoparticules [5].

### I. 3. 2. Structure interne

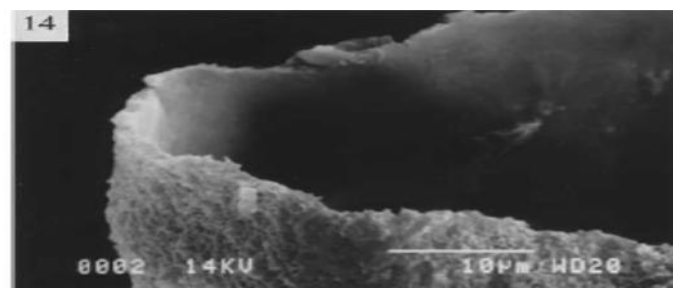
Le type de particules obtenues par microencapsulation dépend des propriétés physicochimiques de la matière active et de la matière enrobante, de leur composition et de la technique utilisée. Les microparticules peuvent se présenter sous différentes structures dont les deux plus simples sont la structure réservoir (microcapsule) et la structure matricielle (microsphère) :

) Les microsphères (Figure I.3) qui sont des particules constituées d'un réseau Macro moléculaire ou lipidique continu formant une matrice dans laquelle se trouve finement dispersée la matière active. Cette dernière peut se présenter sous forme de fines particules solides ou encore de gouttelettes de solutions.

) Les microcapsules (Figure I. 4) qui sont des particules réservoirs constituées d'un cœur de matière active liquide ou solide, entourées d'une enveloppe solide continue de matériau enrobant [6].



**Figure I. 3.** Image MEB d'une microsphère [8].



**Figure I. 4.** Exemple de microcapsule : image MEB de la structure externe et interne de la membrane polyurethane d'une capsule cassée [8].

### I. 3.3. Quantification de l'actif encapsulé

Le principe actif présent au sein des microparticules est caractérisé par plusieurs grandeurs. La plus commune est le rendement d'encapsulation qui a pour formule :

$$\text{rendement d'encapsulation} = \frac{m(\text{microsphères obtenues}) (g)}{m(\text{polymère} + \text{principe actif introduits})(g)} \times 100 \quad (1)$$

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

$$\text{teneur en principe actif} = \text{taux d'encapsulation} = \frac{m(\text{actif encapsulé}) (g)}{m(\text{particules}) (g)} \times 100 \quad (2)$$

Enfin, l'efficacité d'encapsulation est également un paramètre utilisé lors de la réalisation de microparticules :

$$\text{efficacité d'encapsulation} = \frac{\text{masse d'actif encapsulé} (g)}{\text{masse d'actif introduit} (g)} \times 100 \quad (3)$$

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 [5].

### I. 4. Intérêt de microencapsulation

Elle présente plusieurs d'avantage :

- l'augmentation de la stabilité des ingrédients sensibles (protection de la matière encapsulée contre l'oxydation ou des effets de milieu ambiant tels que la chaleur, l'humidité ou le pH) ;
- la conversion des liquides en poudres fluides ;
- le masquage d'odeur, du goût ou d'activité des matériaux encapsulés ;
- la diminution de la vitesse d'évaporation de la matière active volatile ;
- la formulation des principes actifs utilisés en très petites quantités ;
- la libération contrôlée ou ciblée de composants actifs.
- Modifier et maîtriser le profil de libération d'une matière active pour obtenir, par exemple, un effet prolongé ou déclenché [7].



Les systèmes à libération déclenchée sont généralement des microcapsules formées d'une membrane étanche qui vont libérer brutalement leur contenu par fusion ou éclatement de la membrane. Les systèmes à libération prolongée se distinguent les uns des autres par les mécanismes de libération mis en jeu (diffusion passive, dégradation/dissolution du matériau enrobant, échange d'ions) et par leur structure (microcapsule ou microsphère) qui vont directement influencer la cinétique de libération résultante[6].

## **I. 5. Modes de libération des principes actifs**

Dans le cas de la majorité des applications de la micro encapsulation, les substances actives sont dans un premier temps maintenues et protégées dans le cœur des microcapsules durant une période de temps définie, et dans un second temps sont soit libérées progressivement à travers la membrane selon une certaine vitesse de libération, soit libérées massivement en une seule fois. Dans ce cas la libération est déclenchée par un procédé assurant une libération spécifique.

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

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

Le taux d'encapsulation (ou la teneur en matière active) peut être très élevée dans les microcapsules, de l'ordre de 85 à 90 % (rapport massique). Comparés à ceux rencontrés dans les microsphères qui sont plus faibles, de l'ordre de 20 à 35 %. Le rendement d'encapsulation est le rapport entre la masse de PA encapsulé et la masse de PA à encapsuler [8] :

$$R_{dt} = (\text{masse de PA à encapsuler} / \text{Masse de PA encapsulé}) \times 100. \quad (4)$$

### **I. 5. 1. Mécanismes de libération des substances encapsulées dans des microcapsules**

Plusieurs mécanismes sont possibles mais dépendent de la façon dont le principe actif doit être libéré, ainsi que des capacités du principe actif d'atteindre sa cible. Les différentes pratiques sont :

- La pression externe : le contenu de la capsule est libéré par rupture de la membrane suite à l'écrasement de cette dernière,
- La pression intérieure : ceci n'est possible que si le principe actif produit des composants gazeux qui augmente la pression à l'intérieur de la capsule jusqu'à l'éclatement,
- L'abrasion : la capsule est progressivement usée jusqu'à la libération de la substance la contenant,
- La chaleur : le contenu est libéré suite à la fusion de l'enveloppe de la microcapsule,
- La combustion-décomposition : les substances extinctrices d'incendie libèrent leurs contenus suite à la combustion ou la décomposition de l'enveloppe,
- Les solvants : certaines microcapsules sont destinées à être dissoutes dans un solvant spécifique,
- Le pH : la libération du principe actif par dissolution de la membrane au contact d'une substance à pH donné permet de libérer le produit dans un site spécifique,
- La dégradation enzymatique : cela permet de libérer la substance à un endroit donné C'est-à-dire où les enzymes sont présentes et digèrent la membrane,
- La perméabilité : la membrane étant perméable, le contenu est libéré progressivement par diffusion, dissolution ou évaporation. La membrane peut également être semi-perméable pour le substrat qui va diffuser à travers la membrane [8].

## **I. 4. Domaines d'application**

Dans l'industrie, encapsuler est une volonté et un défi permanent que ce soit pour protéger une espèce face à un milieu agressif ou en contrôler la libération dans le temps.

### **I. 4. 1. La microencapsulation dans le domaine de la cosmétique**

La microencapsulation suscite un véritable engouement dans le domaine de la cosmétique : un des objectifs est d'utiliser des microcapsules comme réservoirs pour diverses substances cosmétologiquement actives et susceptibles d'être dégradées trop rapidement dans le milieu continu externe du produit : la vitamine E (action antiradicalaire), la dihydroxyacétone (action bronzante), ou encore la caféine[9].

### **I. 4. 2. La microencapsulation dans le domaine de l'agroalimentaire**

Dans l'industrie alimentaire, l'encapsulation est un moyen idéal en vue de masquer les goûts de certaines substances telles que les vitamines. Elle peut permettre aussi d'éviter les interactions entre les différents composants d'un complexe alimentaire et de protéger les

principes actifs vis-à-vis de l'oxydation (protection des arômes) ou encore de l'humidité (Protection du sel et du sucre). L'utilisation de microcapsules est même envisagée afin de réduire le volume gras et créer de nouveaux produits allégés [9].

#### **I. 4. 3. La microencapsulation dans le domaine pharmaceutique**

Dans le domaine pharmaceutique, des microcapsules contenant des médicaments sont utilisées par voie orale ou par injection interne dans le muscle. Les microcapsules sont principalement conçues pour contrôler la durée de la libération du principe actif. Les microcapsules sont véhiculées dans le corps. Puis par la dispersion et l'infiltration du médicament vers l'endroit ciblé, une concentration propre et une durée spécifique de la libération permettent de donner pleinement les effets du médicament, .parmi ces médicaments anticancéreux (encapsulation de l'acide folique), antibiotique (encapsulation de la doxycycline)[10].

#### **I. 4. 4. La microencapsulation dans le domaine biomédical**

Dans le domaine biomédical, la technologie de microencapsulation a été mise en pratique pour l'immobilisation des cellules , et la culture de cellules animales ou végétales et de micro-organismes. La membrane permet la perfusion sélective des milieux nutritionnels vers l'intérieur des microcapsules pour cultiver les cellules encapsulées mais empêche de grandes molécules toxiques de passer. Des cellules peuvent vivre normalement dans un environnement micrométrique. D'un autre côté, les sécrétions des cellules peuvent traverser cette membrane semi-perméable. Les cellules microencapsulées fonctionnent comme un petit bioréacteur [10].

### **I. 5. Techniques d'encapsulation**

Plusieurs procédés permettant l'encapsulation de principes actifs sont disponibles. A chaque technique correspondent un intervalle de tailles ainsi qu'un taux d'encapsulation et une structure interne différente. Il y a également diverses possibilités concernant la forme physique finale des microparticules qui peuvent être sous la forme de poudre ou de dispersion dans un liquide. La classification des techniques d'encapsulation disponibles la plus répandue s'intéresse principalement au principe même du procédé :

- **Les procédés mécaniques** sont basés sur le séchage ou la solidification de gouttelettes contenant tous les constituants de la future particule.

- **Les procédés chimiques** sont caractérisés par un déclenchement simultané de la synthèse de la membrane (ou de la matrice) et de l'encapsulation du principe actif. Les procédés chimiques n'utilisent donc pas de matrices enrobantes préformées.

- **Les procédés physico-chimiques** sont dépendants de la solubilité des agents enrobants sous l'effet de variations des conditions physiques (température, pH, ajout d'un non solvant ou d'un polymère incompatible...), et de changements d'état (fusion et solidification) des agents enrobants.

### **I. 5. 1. Procédés mécaniques**

#### ➤ **Nébulisation-séchage par atomisation (spray drying)**

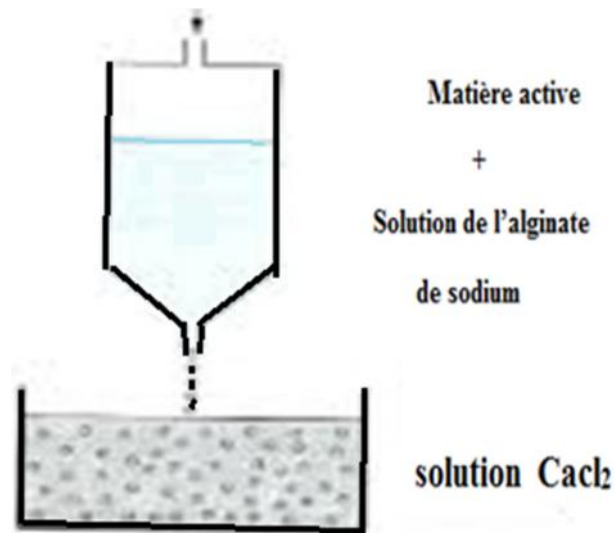
La technique de nébulisation/séchage est un procédé continu en une étape permettant d'obtenir une poudre à partir d'une solution, d'une suspension liquide, ou encore d'une émulsion. Le principe de base consiste à pulvériser la formulation liquide à travers une buse d'atomisation sous forme d'un aérosol de fines gouttelettes de 5 à 500µm dans une enceinte. Les microgouttelettes formées sont mises en contact avec un flux d'air établi à contre-courant ou Co-courant préalablement chauffé. Grâce à une surface d'échange importante l'évaporation du liquide est rapide ce qui permet la formation de microparticules solides. En effet, dans le cas d'une solution, le volume liquide diminuant, la concentration du produit dissout augmente et il y a apparition du solide par précipitation [11].

La technique de nébulisation-séchage est largement utilisée dans les industries Pharmaceutiques pour les enzymes et les hormones de croissance ou encore dans le secteur agroalimentaire pour le menthol ou la vitamine C par exemple Cette technique ne peut cependant pas être utilisée avec des substances thermolabiles qui peuvent être endommagées durant l'augmentation de température inhérente au processus, c'est le cas par exemple des vitamines.

#### ➤ **Gélification ou congélation de gouttes (prilling ou spraycongealing/ cooling)**

La gélification de gouttes est basée sur une solution, dispersion ou émulsion de matière active dans une solution aqueuse de polymère capable de former des gels sous une action extérieure physique (température) ou chimique (pH, présence d'un composé induisant la précipitation). Par exemple, une solution aqueuse d'alginate de sodium produit des gouttelettes après avoir traversée une buse vibrante. Ces gouttes se solidifient en se gélifiant dans une phase aqueuse contenant du chlorure de calcium afin d'encapsuler le principe actif dans les microsphères.

Les microsphères obtenues par les méthodes de gélification ou congélation de gouttes ont des diamètres compris entre  $30\mu\text{m}$  et  $800\mu\text{m}$  et le taux d'encapsulation se situe entre 10% et 50%. Les inconvénients résident dans le bouchage de la buse, la gamme limitée de taille ( $>200\mu\text{m}$ ) et le taux d'encapsulation faible [5].

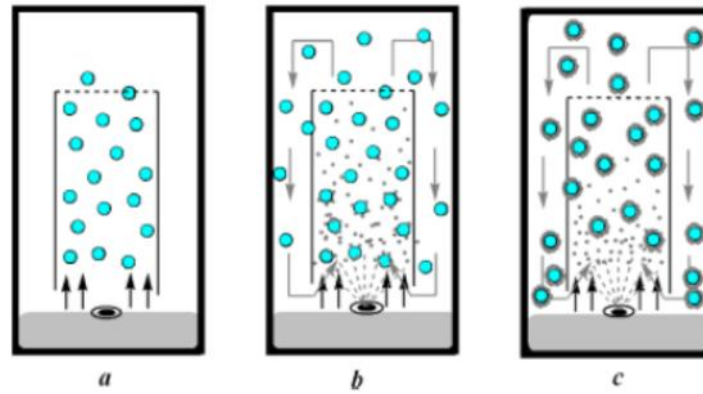


**Figure I. 5.** Gélification de gouttes (schéma de principe).

### ➤ 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.

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 I.6 - 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 I.6 - 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 I.6 - c). L'épaisseur de la couche de polymère formée peut être variable de quelques  $\mu\text{m}$  à une vingtaine de  $\mu\text{m}$  [12].



**Figure I.6.** Représentation schématique de micro encapsulation 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 micro encapsulation est compris entre 60 % et 90 % [13].

### ➤ 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. Le produit à encapsuler et le matériau enrobant sont préalablement mélangés. Ensuite, ce mélange est passé à travers une extrudeuse dans laquelle il subit un certain nombre d'opérations: mélange, malaxage, mise en pression, échauffement, 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 [6].

### ➤ **Procédé basé sur la technologie de CO<sub>2</sub> supercritique**

Actuellement, de nombreux chercheurs étudient le procédé d'encapsulation basé sur la technologie de dioxyde de carbone supercritique. 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 enrobante 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 [14].

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 enrobante dans le CO<sub>2</sub> fluidifié, dont la polarité est proche de celle de l'hexane.

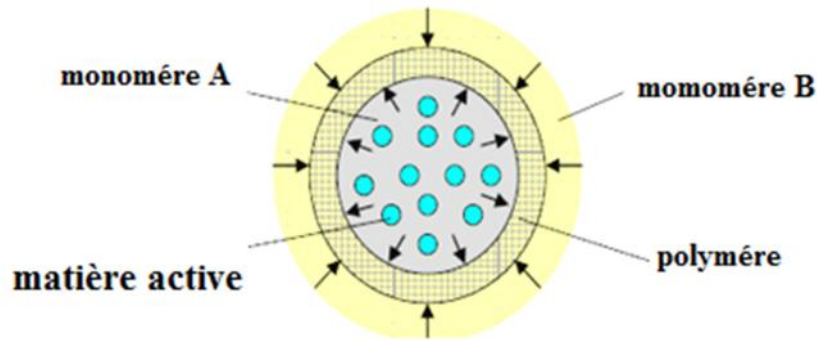
L'application la plus importante de l'encapsulation par la méthode basée sur la technologie des fluides supercritiques est l'enrobage des médicaments par les polymères synthétiques, notamment les polylactides, les polyacrylates et les polyéthers. La taille des particules, généralement de type microsphères, obtenues par ce procédé varie de 0,5-1 µm à 100 µm et le taux d'encapsulation est de 10-40%. car lorsque la phase liquide est très visqueuse, le passage par la buse d'atomisation est difficile [15].

### **I. 5. 2. Procédés 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 :

#### ➤ **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. 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.



**Figure I. 7.** Représentation du procédé de microencapsulation par polymérisation (Polycondensation) interfaciale.

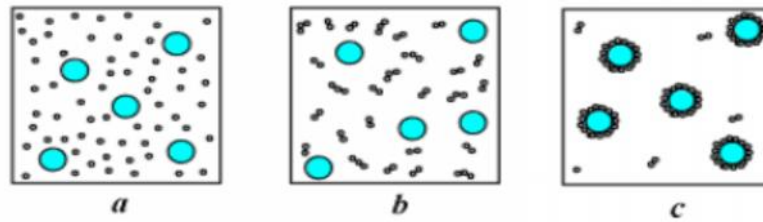
Ce procédé s'applique à des solutions de matières actives aussi bien liposolubles que. La voie de polymérisation majoritairement utilisée est la polycondensation, permettant notamment la formation de membranes polyuréthanes et polyamides. Les particules obtenues par cette technique ont des tailles comprises entre quelques  $\mu\text{m}$  et une centaine des  $\mu\text{m}$ .

Les principales limitations du procédé de polymérisation interfaciale sont liées aux possibilités de réaction chimique incontrôlée entre la matière active et les monomères utilisés pour former la membrane, ainsi que la solubilité de la matière active dans le solvant de la phase continue qui peut entraîner sa migration et limiter le taux d'encapsulation. Les solvants organiques utilisés dans ce procédé sont principalement le cyclohexane, le chloroforme, l'éthylènediamine ou encore le dichlorométhane [16].

#### ➤ 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 I. 8 - 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 I. 8 - b). La précipitation des chaînes polymériques autour du principe actif permet la formation d'une particule finale de type microcapsule (Figure I. 8 - 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 I. 8.** 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.

### I. 5. 3. Procédés physico-chimiques

#### ➤ Coacervation

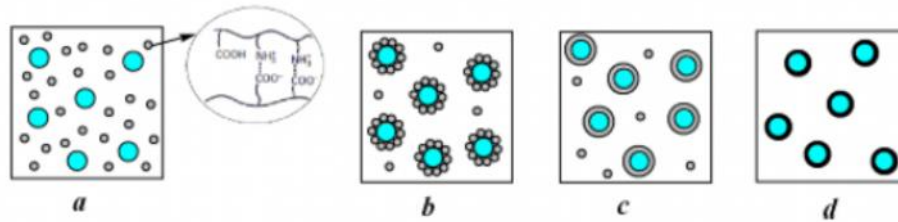
Le terme de coacervation décrit le phénomène de désolvatation de macromolécules conduisant à une séparation de phases au sein d'une solution. A l'issue de la coacervation, deux phases seront en présence dans le milieu :

- le coacervat – riche en polymère et pauvre en solvant;
- le surnageant – pauvre en polymère et riche en solvant.

La microencapsulation par coacervation consiste à provoquer la précipitation de la matière enrobante par séparation de phase autour de la matière active. Une 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 complexe

La coacervation complexe consiste en la désolvatation simultanée de deux polyélectrolytes hydrosolubles portant des charges opposées, provoquée par une modification du pH du milieu aqueux. Dans le cas où le produit à encapsuler (sous forme liquide ou solide) est dispersé dans une solution aqueuse contenant les deux polymères (Figure I. 9-a) [15].



**Figure I. 9.** 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 I. 9). Les agents réticulants utilisés pour cet effet peuvent être les glutaraldéhyde [17,18], les transglutaminases ou les polyphénols.

### ) Coacervation simple

La coacervation simple consiste en les répulsions polaires et apolaires entre deux solutés dont l'un doit être un polymère [17]. 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 que des polymères hydrophiles [19], 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 % [20].

➤ **Gélification thermique d'émulsion (*hot melt*)**

Le procédé de gélification thermique d'émulsion est réalisé à une température supérieure à la température de fusion du matériau enrobant. Le principe actif est dissout ou dispersé dans ce matériau fondu. Cette phase est ensuite émulsionnée au sein d'une phase dispersante préalablement chauffée à la même température. Cette méthode est applicable à l'encapsulation de principes actifs hydrophiles et lipophiles, en prenant en considération que le principe actif ne doit présenter aucune affinité avec la phase dispersante. A cet effet, pour les substances lipophiles l'eau distillée est généralement choisie comme phase dispersante, tandis que pour les substances hydrophiles les huiles de silicone sont utilisées. La solidification des globules dispersés est obtenue en refroidissant brutalement le milieu.

Les microsphères obtenues suivant ce procédé ont une taille de 30µm à 300µm en général. Elles ont une teneur en principe actif de l'ordre de 20% [5].

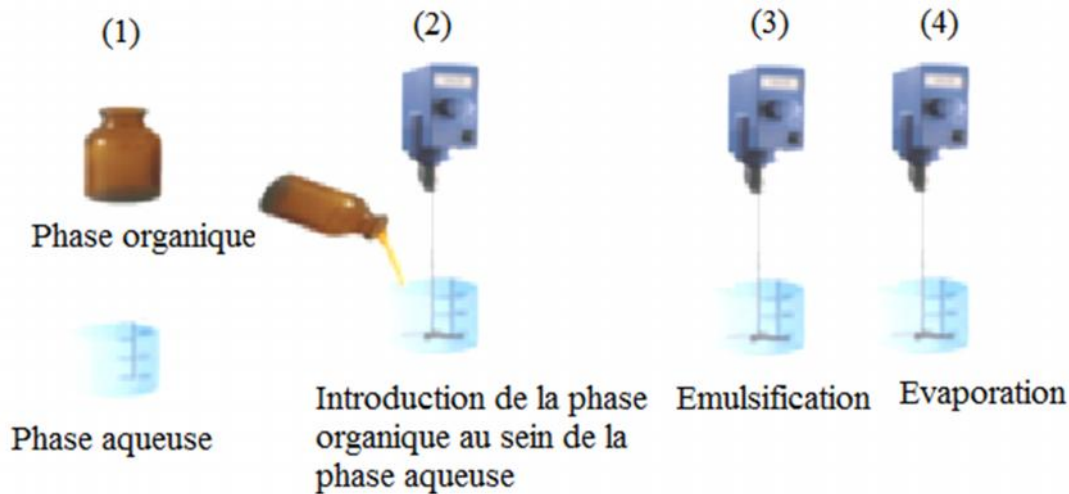
➤ **Evaporation/extraction de solvant en émulsion simple**

La microencapsulation par évaporation de solvant fait intervenir :

- une phase organique contenant le polymère, le solvant ainsi que le principe actif à encapsuler qui est dissout ou dispersé
- une phase aqueuse contenant un agent stabilisant
- un système d'agitation plus ou moins cisailant
- un système d'évaporation à pression et température ambiantes ou à pression réduite

Le principe de la microencapsulation par évaporation de solvant en émulsion simple repose sur deux étapes (Figure I. 10) :

- l'émulsification relative au mélange sous agitation des phases organique et aqueuse stabilisée grâce à l'agent stabilisant.
- l'étape d'évaporation durant laquelle le solvant passe de la phase organique à la phase aqueuse par gradient de concentration puis s'évapore à l'interface eau/air.



**Figure I. 10.** Schématisation des différentes étapes d'un procédé de microencapsulation par évaporation de solvant.

En s'appauvrissant en solvant, le polymère contenu dans les gouttelettes de phase organique précipite en encapsulant le principe actif. Il est donc obtenu des microsphères qui pourront être filtrées ou laissées en suspension. S'il ne se produit aucun phénomène de déstabilisation, la taille des particules sera directement fonction de la taille des gouttelettes d'émulsion. De plus, les conditions d'évaporation doivent être sélectionnées de manière rigoureuse dans le but d'obtenir des particules contenant le solvant à l'état de traces afin de respecter les limites des réglementations en vigueur [21].

Les différents technique d'encapsulation se basent sur l'usage de polymère, on peut distinguer les polymères synthétique PLA, PLGA et les polymères naturels plusieurs sources sont exploitées pour l'obtention de ces polymères naturelles a titre d'exemple le cellulose et ses dernière. Le carraghénane, la gélatine.

Ces polymères constituent parmi tout d'autres polymères faisant partie de la classe des biopolymères.

## I. 6. Biopolymères

### I. 6. 1. Définitions

Les biopolymères se définissent comme étant des biomacromolécules synthétisées par des organismes vivants. Et selon l'ADEME (Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie), les biopolymères sont des polymères naturels issus de ressources renouvelables de plantes, d'algues ou d'animaux.

Les biopolymères peuvent aussi être obtenus par polymérisation de monomères naturels et par la fermentation des micro-organismes [22].

### I. 6. 2. Différentes familles de biopolymères

Les biopolymères d'origine biologique peuvent être classés en trois familles :

- a) les polymères issus directement des ressources végétales et animales comme les polysaccharides, les protéines et les polynucléotides.
- b) les polymères issus d'origine bactérienne comme les Polyhydroxyalcanoates (PHA).
- c) les polymères obtenus indirectement par polymérisation de monomères eux-mêmes issus de ressources végétales comme l'acide lactique, résultant de la fermentation de sucres ou encore des composés monomères réactifs dérivés d'huiles végétales.

**Tableau I.1.** Grandes classes de biopolymères [23].

Classes	Descriptions	Exemples de biopolymères
<b>Polysaccharides</b> (plantes/animaux) <b>Polysaccharides</b> (issus des bactéries)	Glucides ou sucres complexes constitués de plusieurs monosaccharides (glucides ou sucres simples) liés entre eux.	Amidon, Cellulose, Alginate, Chitosane, Agar, Pectine, Gommés, Carraghénane. Xanthane, Dextrane, Gellane, Curdlan, Pullulane, Elsinane.
<b>Protéines</b> <b>et</b> <b>polypeptides</b>	Macromolécules biologiques composées d'une ou plusieurs chaînes d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques.	Polyacide aminé, Collagène Gluten, Caséine, Soja, Glycoprotéine, Zéine.
<b>Polyesters</b> (synthétisés par des bactéries)	Polymères dont les motifs répétitifs de la chaîne principale contiennent la fonction ester.	Poly (acide lactique) (PLA) Polyhydroxyalcanoate (PHA)
<b>Polyphénols</b>	Molécules présentant plusieurs groupements phénoliques.	Lignines, Tanins, Acides humiques
<b>Polynucléotides</b> <b>et</b> <b>nucléotides</b>	molécules composées de plusieurs nucléotides. Certains nucléotides forment la base de l'ADN et l'ARN.	Adénosine-5'-triphosphate (ATP) Adénosine-5'-monophosphate (AMP)

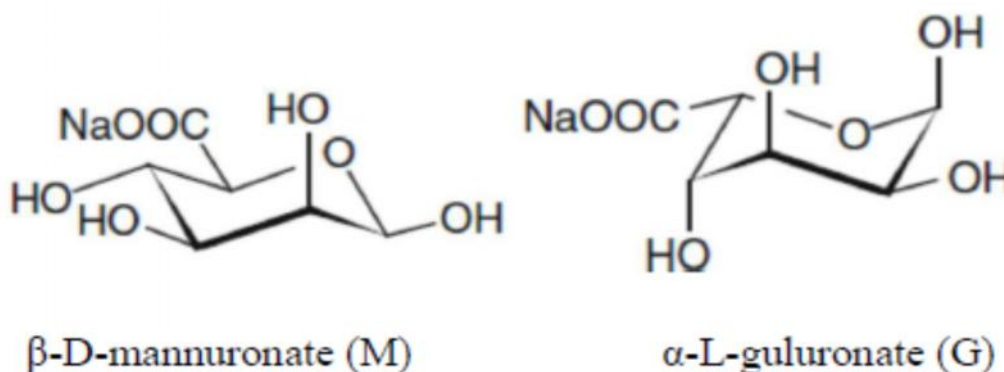
### I. 6. 3. Alginate de sodium

#### I. 6. 3. 1. Définition de l'alginate de sodium

L'alginate est un polysaccharide naturel extrait des algues brunes et de certaines bactéries tels que *Azotobacter vinelandii* et plusieurs espèces du genre *Pseudomonas*. C'est un polymère avec des séquences en alternance des résidus d'acide P-D mannuronique (M) et  $\alpha$ -L-guluronique (G). L'alginate a été utilisé avec succès depuis de nombreuses années, sous forme d'alginate de sodium, dans l'industrie alimentaire comme agent épaississant, agent gélifiant et aussi comme stabilisateur colloïdale. Il est bon marché, non-toxique et biocompatible [24].

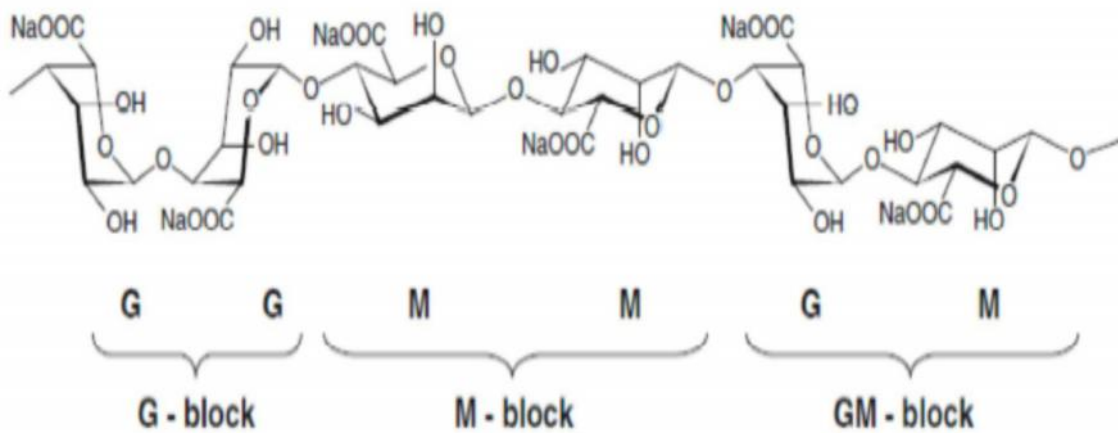
#### I. 6. 3. 2. Composition chimique

Les alginates sont des sels d'acide alginique, constitués de deux monomères saccharidiques de base : acide  $\alpha$ -L-guluronique (G) et acide  $\beta$ -D-mannuronique (M), dont la séquence varie.



**Figure I. 11.** Monomères de la chaîne alginate

La séquence des différents blocs (M) et (G) dépend du type d'algue, de son âge ainsi que de la partie dont est isolé l'alginate. La saison de récolte affecte de même la composition en blocs et les séquences [24].



**Figure I. 12.** Structure chimique de la chaîne d'alginate de sodium

### I. 6. 3. 3. Propriétés physico-chimique

#### ➤ Solubilité

Il existe trois paramètres déterminants limitant la solubilité de l'alginate dans l'eau. Premièrement, Le pH de la solution joue un rôle dans la solubilisation des alginates. Si le pH de la solution contenant l'alginate est inférieure au pKa de l'acide mannuronique ( $pK_a=3,38$ ) ou de l'acide guluronique ( $pK_a= 3,65$ ), alors il peut y avoir séparation de phases voire formation d'un hydrogel. Deuxièmement, la force ionique du solvant joue un rôle important sur la solubilité de l'alginate en limitant son hydratation en milieu aqueux. Et pour finir, le taux de cations gélifiants présents dans le solvant influence bien évidemment la solubilité de l'alginate.

#### ➤ Gélification

La principale caractéristique de l'alginate est sa capacité à gélifier en présence de cations multivalents. Cette transition sol/gel n'est pas influencée par la température. Les sels d'alginates sont solubles dans l'eau et sont capables de gélifier en présence de cations multivalents tels que les ions  $Ca^{2+}$ ,  $Sr^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$  ou encore  $Al^{3+}$  grâce à la formation d'une jonction impliquant plusieurs chaînes polysaccharidiques.

#### ➤ Comportement rhéologique

Les alginates ont en général un comportement quasi-Newtonien, même si des déviations peuvent être observées suivant plusieurs facteurs, notamment le type d'alginate, la

concentration de la solution, la composition chimique de l'alginate, sa masse moléculaire moyenne [25].

#### I. 6. 3. 4. Application de l'alginate de sodium

L'alginate produit à grande échelle trouve des applications principalement dans les domaines de l'agroalimentaire et textile, pour laquelle environ 80% de la production y est transformée. Ses propriétés colloïdales uniques font qu'il peut être utilisé en tant qu'épaississant, stabilisant, agent filmogène, gélifiant [26].

**Tableau I. 2.** Répartition de la production mondiale des alginates (en tonnage) entre les différents secteurs industriels et exemples d'applications [26].

<b>Application</b>	<b>Rôle de l'alginate</b>
<b>Industrie textile (50%)</b>	Epaississant pour les pâtes d'impression, Epaississant et stabilisateur des teintures, Agent d'imperméabilisation, Agent plastifiant et filmogène.
<b>Industrie agroalimentaire (30%)</b>	Epaississant, texturant, conservateur, dans de nombreux produits : confitures, jus de fruits, sauces (moutarde, mayonnaise), potages, produits laitiers, stabilisateur dans les crèmes glacées (empêche la formation de cristaux).
<b>Industrie du papier (5%)</b>	Agglomérant pour les fibres, apprêt de surface, Epaississant et stabilisant dans les colles, Maintien des pigments en suspension.
<b>Industrie pharmaceutique (5%)</b>	Stabilisateur d'émulsions, agglomérant dans les comprimés, épaississant et hémostatique dans les pommades, pansements, mèches nasales, Gélifiant dans les pâtes à empreinte dentaire, L'encapsulation des principes actifs.
<b>Divers (10%)</b>	Epaississant dans les produits de beauté et pâtes à dentifrice, stabilisateur pour les peintures et vernis, Flocculant en traitement des



	eaux, Agglomérant pour les électrodes de soudure, Agent absorbant dans les couches pour bébé.
--	---

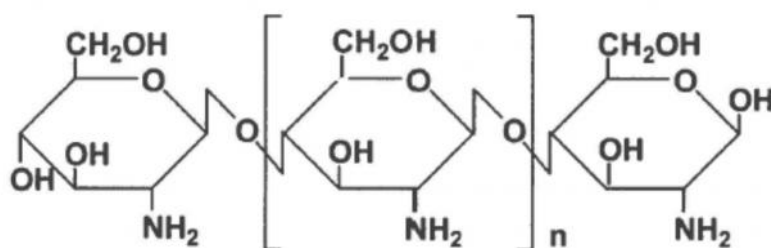
## I. 6. 4. Chitosane

### I. 6. 4. 1. Définition

Le chitosane est un polysaccharide cationique obtenu à partir de la déacétylation partielle de la chitine, le principal constituant du squelette des crustacés. C'est un copolymère comprenant la N-acétyl-D-glucosamine et la D-glucosamine. Ce polysaccharide est bon marché, possède d'excellentes propriétés adhésives des cellules (biocompatibles), en plus d'être soluble dans l'eau dans des conditions acides ( $\text{pH} < 6$ ) [27].

La nature polycationique du chitosane permet la formation de complexes polyélectrolytes avec l'alginate ou en présence de polymères polyanioniques. Le chitosane est souvent utilisé en combinaison avec l'alginate comme revêtement afin de modifier la vitesse de diffusion des substances encapsulées ou en tant qu'additif pour la modification de la structure des billes.

L'interaction électrostatique des groupes carboxyliques de l'alginate avec les groupes amine du chitosane résultent en la formation de billes ou de films beaucoup plus résistants permettant une meilleure rétention des cellules encapsulées. Cependant, le chitosane a des effets bactériostatiques ce qui pourrait limiter son utilisation dans les techniques de microencapsulation bactérienne [28].



**Figure I. 13 :** Structure chimique du chitosane

### I. 6. 4. 2. Les dérivés du chitosane

Le chitosane possède des propriétés chimiques et biologiques singulières attribuées à la présence des groupes amines et hydroxyles. Ces groupes permettent des modifications

chimiques du chitosane qui incluent : l'acylation, l'alkylation, la formation de base de Schiff, l'alkylation réductrice, la carboxyméthylation, la carboxyalkylation [29].

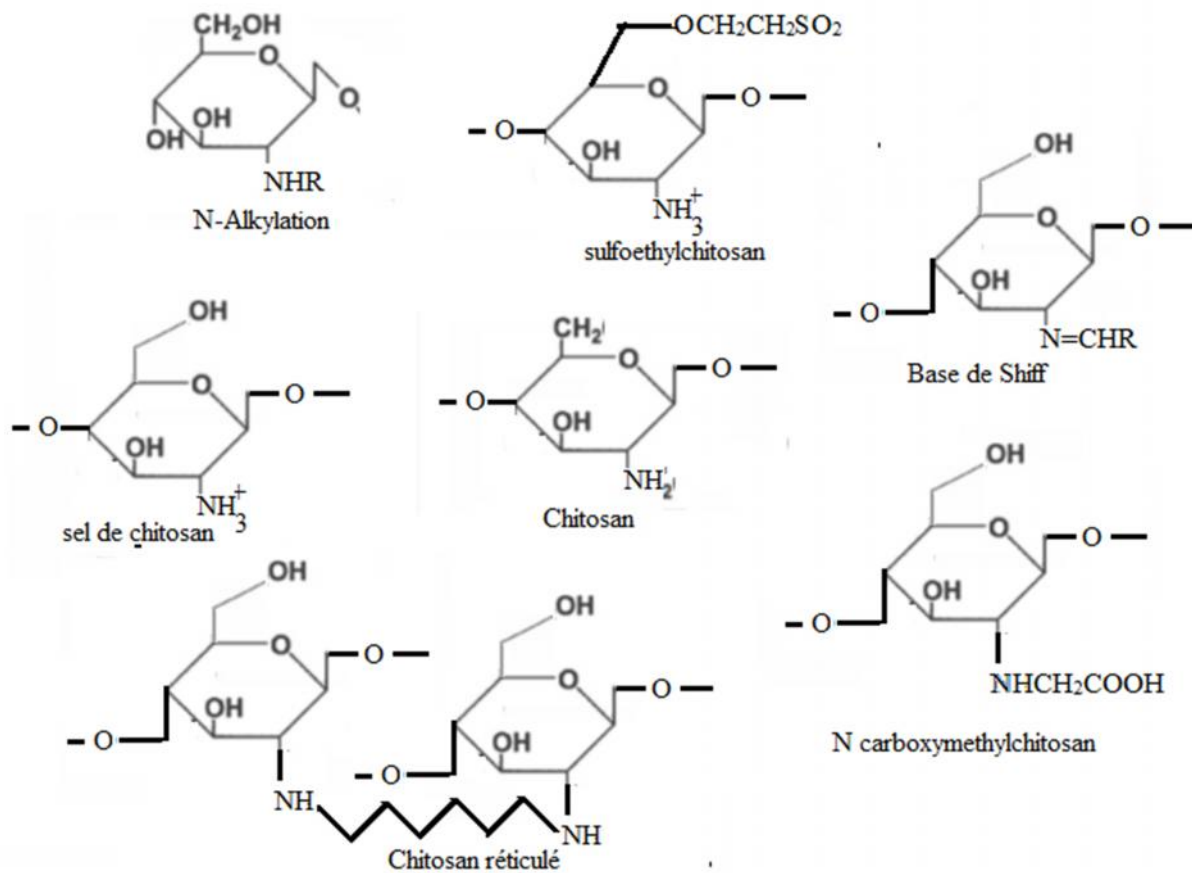


Figure I. 14. Exemples des dérivés chimiques du chitosane.

#### I. 6. 4. 3. Propriétés Principales du chitosane

Les chaînes macromoléculaires du chitosane sont caractérisées par leur masse moléculaire et leur degré d'acétylation. La troisième caractéristique importante porte sur la cristallinité du polymère (le chitosane est une substance semi-cristalline). D'un point de vue chimique, sa structure est similaire à celle de la cellulose. Par contre, la présence d'une fonction amine primaire en position deux du noyau glucopyranose confère au chitosane des propriétés chimiques et physico-chimiques qui en font un polymère possédant un ensemble de propriétés remarquables (tableau I.3). Le chitosane est à la fois une macromolécule polyaminée et polyhydroxylée qui devient un polyélectrolyte lorsque le groupement aminé est protoné (il se solubilise en milieu acide). Il possède alors un fort potentiel en raison de son caractère polycationique qui le distingue des autres polymères naturels qui sont en général anioniques. Ce biopolymère présente également des propriétés biologiques variées

(tableau I.3). Les propriétés intrinsèques du chitosane influent sur sa solubilité en milieu aqueux, son hydratation, sa structure tridimensionnelle, sa viscosité, son aptitude à participer dans des interactions ioniques, sa capacité à lier des molécules organiques et des sels de métaux lourds et autres, et sa facilité à subir des modifications chimiques qui permettent de créer une multitude de dérivés aux propriétés physico-chimiques et biologiques variées[30].

**Tableau I. 3.** Propriétés du chitosane

Propriétés	Description
<b>Physico-chimiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>) polyamine linéaire, hydrophile</li> <li>) structure semi-rigide, réactive</li> <li>) matériau brut non poreux</li> </ul>
<b>Polyélectrolytes en milieu acide</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>) polymère cationique à forte densité de charges</li> </ul>
<b>Biologiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>) matériau non toxique</li> <li>) substance biocompatible,</li> <li>) biorésorbable et biodégradable</li> <li>) activité antibactérienne et antifongique</li> <li>) agent hypocholestérolémiant</li> <li>) activité hémostatique</li> <li>) stimule la croissance cellulaire</li> </ul>
<b>Filmogènes : interactions avec d'autres substances</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>) complexation/chélation</li> <li>) propriétés de coagulation/floculation et d'adsorption</li> <li>) Propriétés de rétention d'eau</li> <li>) propriétés d'adhésion</li> </ul>

#### I. 6. 4. 4. Applications du chitosane

La nature (1-4) des liaisons glycosidiques confère au chitosane des propriétés filmogènes. En outre, ces films présentent une perméabilité importante et leur utilisation dans

les secteurs économiquement porteurs comme les industries alimentaires, cosmétiques, pharmaceutiques ou agricoles ,a fait l'objet de nombreux brevets .Différentes revues ont été consacrées aux nombreuses applications du chitosane .Parmi les nombreuses applications ,nous pouvons citer: Traitement des eaux usées Le chitosane est utilisé dans le traitement des eaux usées pour ses propriétés coagulantes et son pouvoir chélatant qui lui permettent de fixer les métaux lourds ,même en de très faibles quantités[31].

➤ **Industrie agro-alimentaire**

Le chitosane possède des propriétés coagulantes permettant d'agglomérer puis de séparer les particules colloïdales dispersées. Le chitosane est employé en outre pour immobiliser les enzymes industriels (papaine, invertase,...). En agronomie, l'enrobage des semences avec du chitosane leur permet de résister aux attaques fongiques ; Cette activité antifongique se manifeste également pendant la vie de la plante de façon directe ou par stimulation de certains processus de défense.

➤ **Médecine**

Le chitosane s'avère très efficace pour ses effets hypocholestérolémiques, ses actions anti-ulcère et anti- acide, dans les soins des blessés et des brûlés, pour les verres de contacts durs et souples, les membranes d'organes artificiels et dans l'immobilisation d'enzymes ou de cellules vivantes [31].

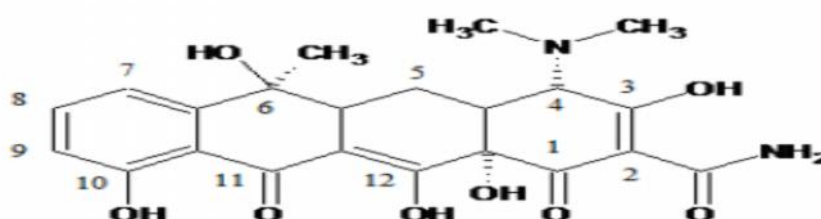
➤ **Pharmacie**

La principale utilisation du chitosane dans l'industrie pharmaceutique est en tant que matériau enrobant de microcapsules ou de microsphères contenant les substances à délivrer à l'intérieur de l'organisme. Le fait d'utiliser un matériau tel que le chitosane permet de contrôler la libération des substances par ces systèmes, de mieux atteindre les organes cibles et l'amélioration du taux de solubilité et de la disponibilité des drogues non solubles dans des phases aqueuses[31].

## II. Tétracyclines

### II. 1. Définition et structure

Les tétracyclines sont d'une grande importance clinique car elles possèdent une large gamme d'activité antimicrobienne contre les bactéries Gram-positives et Gram négatives aérobies et anaérobies [32]. Ils sont également efficaces contre certains micro-organismes qui sont résistants aux agents antimicrobiens inhibiteurs de la paroi cellulaire tels que Rickettsia, Mycoplasmapneumoniae, Chlamydia, Ureplasma spp et certains Mycobactéries atypiques et Plasmodium spp [33]. Certains dérivés de la tétracycline, de la minocycline, de l'oxytétracycline, de la métacycline, de la doxycycline sont fréquemment utilisés dans la pratique clinique et sont basés sur la fonctionnalité de la structure moléculaire qui domine les propriétés physiques, l'apparence et les caractéristiques spectroscopiques électroniques et vibratoires des groupes [34].



**Figure II. 1.** La structure chimique de la tétracycline

Tout changement dans l'oxygène, le carbone 1 et dans l'hydroxyle du carbone 3 structure devient inactif structure. Le groupe CONH<sub>2</sub> de carbone dans les 2 conserve un léger l'activité de la molécule. Le N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> sur le carbone 4 est essentiel pour l'activité antimicrobienne. L'inclusion de OH<sup>-</sup>, CH<sub>3</sub>CO<sup>-</sup>, RCOO<sup>-</sup> sur le carbone 5 conserve l'activité. La suppression de OH<sup>-</sup> CH<sub>2</sub><sup>-</sup> ou les deux sur le carbone 6 rend le composé le plus stable. L'ajout de Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> - sur le carbone 7 conserve activité, toutefois, la présence de Cl<sup>-</sup> dans la molécule présente une phototoxicité. La présence de Cl<sup>-</sup> ou CH<sub>3</sub><sup>-</sup> sur le carbone 9 diminue l'activité de la molécule [34].

## II. 2. Propriétés physico-chimiques des tétracyclines

Dans la famille des tétracyclines, les composés sont amphotères. Les molécules sont hydrosolubles et non volatiles. La faible liposolubilité diminue les risques de bioaccumulation dans les organismes. Chimiquement, les tétracyclines peuvent rester stables dans les milieux acides, mais non dans les milieux alcalins ; elles forment aussi des sels dans les deux conditions ioniques.

Tout comme pour les quinolones, les tétracyclines sont photosensibles. Par contre, il a été démontré qu'une dissolution d'oxytétracycline (OTC). La photolyse des tétracyclines dépendrait d'autres facteurs dont le pH et le taux initial de renouvellement d'oxygène. Des composés du groupe des tétracyclines sont sensibles à l'hydrolyse et aux réactions d'oxydation. D'autre part, elles ont une certaine stabilité à travers une large gamme de températures [35].

### II.1 .3. Classification De tétracyclines

Les tétracyclines sont divisées en :

- J) **Première génération** : si elles sont obtenues par la biosynthèse: la Tétracycline; Chlortetecycline; Oxytétracycline; Demeclocycline.
- J) **Deuxième génération** : si ils sont des dérivés de l'hémisynthèse: Doxycycline; Lymecycline; Meclocycline; Methacycline; Minocycline; Rolitétracycline.
- J) **Troisième génération** : si ils sont obtenus à partir de la synthèse totale telles que: la Tigécycline. Cependant, certains chercheurs considèrent que la Tigécycline être distincts des autres tétracyclines médicaments et sont considérés comme une nouvelle famille d'agents antibactériens appelé Glycylcyclines.
- J) **Quatrième génération** : pentacycline antibactériens, ils sont obtenues par la modification structurelle de la Doxycycline ; azatétracycline et alkylaminotétracycline antibactériens. Tous ces composés sont la "logique" des résultats de modification dans le cadre des quatre anneaux de Tétracyclines [36].

## II.1 .4. Usages thérapeutiques

Les usages thérapeutiques sont comme suit: antibactériens et non-antibactériens. Dans la littérature, ces usages se répartissent en quatre grandes catégories, à savoir:

L'utilisation la plus récente et la plus puissante des tétracyclines dans la résistance aux antibiotiques [37], (II) non antibactérienne utilise des cyclines ciblées pour l'inflammation [38] et l'arthrite; (III) en neurologie: (a) dans les maladies destructrices des tissus agissant comme antifibrillogènes; B) inhibition de la maladie de Huntington dans les caspases et les caspases [39]; (C) ischémie; (D) maladie de Parkinson et autres maladies neurodégénératives; (IV) antiviral et anticancéreux.

### ) Utilisation antibactérienne

(I) - Actuellement, en raison de leur utilisation répandue, les bactéries ont développé des TC de résistance par opposition aux composés les plus anciens. Les chimistes médicaux, dans le but d'optimiser la structure et d'améliorer les capacités antibactériennes, ont introduit avec succès le traitement groupé sur C-9 du squelette minocycline, à partir des composés synthétiques totaux: Tigecycline. En recherchant de nouvelles molécules, il n'est pas seulement important pour l'étude de la liaison des médicaments spécifiquement pour le ribosome bactérien, mais aussi pour comprendre comment le squelette de la tétracycline peut agir comme un chélateur et un ionophore. En outre, la prochaine génération de tétracycline antibactérienne est en cours, très spécifique pour les espèces bactériennes et avec de nouveaux groupes et de nouveaux anneaux sur le squelette classique<sup>20</sup>. Le mécanisme d'action des TC est de se diviser en «typique» s'ils agissent comme bactériostatiques, ou «atypiques» s'ils agissent comme des batteries. Les TC typiques lient spécifiquement les bactéries de la sous-unité ribosomale. Tous ceux qui n'ont pas de ribosomie comme cible principale sont atypiques. En outre, ces mécanismes d'action atypiques sont très toxiques pour les procaryotes et les eucaryotes. Jusqu'à présent, tous les TC utilisés dans le traitement large spectre contre les agents microbiens [41].

### ) Utilisation non antibactérienne

(II) - Des études cliniques et de laboratoire ont étudié les propriétés anti-inflammatoires des tétracyclines, agissant comme inhibiteur de la prolifération lymphocytaire, suppression de

la migration des neutrophiles, inhibition de la phospholipase A2 et dégradation accélérée de l'anti-oxyde nitrique synthetase [40].

( III ) - Au cours des derniers temps, les TC se sont révélés être anti-agglutinants du amyloïde de la protéine et donc utiles dans le traitement de maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer et les maladies de Prion. En particulier, la minocycline, réduit l'inflammation et protège contre l'ischémie cérébrale focale avec un large thérapeutique. En outre, la minocycline inhibe les retards d'expression et de mortalité par caspase-3 dans un modèle de souris transgénique de la maladie de Huntington. Les chercheurs se sont concentrés sur les mécanismes de la voie intracellulaire de la communication et du contrôle génétique conduisant à l'atténuation de l'activation de la microglie [41].

(IV) - De la même manière que les tétracyclines agissent comme pro-apoptotiques dans les cellules neuronales, elles agissent dans les métastases généralisées de la tumeur. Les données expérimentales ont montré que la doxycycline, la minocycline et les tétracyclines modifiées (CMT) inhibent la croissance tumorale en inhibant les métalloprotéinases matricielles (Mmp) et ayant un effet direct sur les cellules de prolifération. La première utilisation de tétracyclines dans les infections virales a été rapportée par Lemaitre en 1990 [42]. Minocycline et doxycycline dans ce cas, protection contre le virus de l'immunodéficiency humaine. En 2005, la première activité anti-inflammatoire et neuroprotectrice d'un antibiotique contre un virus d'infection hautement pathogène. La minocycline est également très active contre la replication du virus du Nil occidental dans les cultures neuronales humaines [36].

### **II. 1. 5. Mode d'action de tétracycline**

La première étape de l'entrée des tétracyclines est une diffusion passive à travers la membrane externe des bactéries à gram négatif soit par les pores, soit directement à travers la couche lipidique ; elle est suivie par le passage au travers du peptidoglycane .

Les tétracyclines sont des molécules amphotères, propriété qui leur confère la possibilité de former des complexes avec de nombreux ions, dont les ions  $Mg^{2+}$  la formation de ces complexes et un gradient de PH transmembranaire expliqueraient le passage à travers la membrane cytoplasme, les tétracyclines se fixent de façon irréversible sur la sous-unité 30S Du ribosome, empêchant la fixation de nouveaux aminoacyl-ARNt. la synthèse protéique est donc interrompue [43].



## **II.6.Pharmacocinétique**

### **II.6.1. Absorption**

Semi-synthétique de la deuxième génération de la tétracycline, la doxycycline et la minocycline sont mieux absorbé après l'administration orale de première génération homologues en raison de leur plus grande solubilité dans les lipides. Données Regroupées des études montrent que signifie l'absorption orale doxycycline est de près de 95% .Après administration orale, l'absorption de la doxycycline est rapide, étant détectable dans le sang en aussi peu que 15 minutes [44].

### **II.6.2. Distribution**

En raison de leur balance hydrophile/hydrophobe adéquate, les tétracyclines se distribuent largement dans les liquides et tissus de l'organisme, et pénètrent aisément dans les cellules où leur accumulation est cependant modérée. Cependant, le tissu adipeux, le cerveau et la prostate sont peu perméables aux tétracyclines, sauf aux plus dérivés les plus lipophiles (doxycycline et minocycline [45].

### **II.1.6.3. Élimination**

L'élimination se fait principalement à travers le tractus gastro-intestinal. L'élimination rénale représente 30% à 40% de la dose administrée. Doxycycline taux sériques sont peu affectées chez les patients atteints d'insuffisance rénale et nécessitent aucun ajustement de la posologie [44].

## **II. 1.7. Résistance bactérienne**

La résistance aux tétracyclines provient essentiellement d'un défaut de concentration intracellulaire. Celui-ci peut trouver son origine dans deux mécanismes distincts: Le premier implique une diminution de l'activité du transporteur membranaire aux tétracyclines. Le second, qui est certainement le plus courant, consiste dans l'excrétion de l'antibiotique par des pompes. Ce mécanisme est extrêmement préoccupant dans la mesure où, décrit jusqu'il y a peu uniquement vis-à-vis des tétracyclines, il commence à se répandre pour d'autres classes d'antibiotiques (fluoroquinolones, -lactames), conduisant à l'émergence de souches multirésistantes. A l'heure actuelle, cet effet est surtout documenté en laboratoire et son incidence du point de vue clinique est mal connue. Il demande une attention d'autant plus particulière qu'il est médié par des plasmides lui assurant une propagation rapide[43].

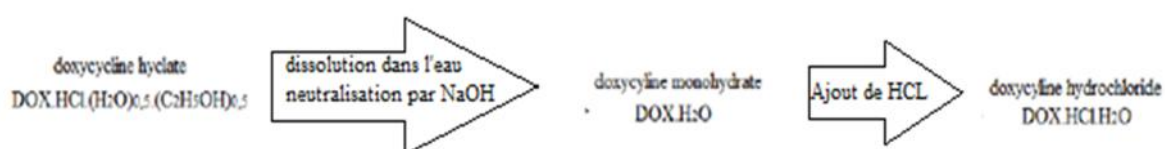
Un autre mécanisme consiste dans la protection de la cible ribosomiale. Il est médié par la production de protéines cytoplasmiques auxquelles se lient les tétracyclines, prévenant ainsi leur interaction avec leur cible au niveau du ribosome [43].

## II.2. Doxycycline

### II.2.1. Définition et Propriétés physico-chimiques

La doxycycline est une molécule de la famille des cyclines utilisée comme médicament antibiotique. Il est une tétracycline de deuxième génération principalement active contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives aérobies et anaérobies. Il a une faible affinité pour le calcium et est relativement plus stable en solution aqueuse [45].

La doxycycline se présente sous trois formes: hyclate, monohydrate et chlorhydrate. De l'hyclate de doxycycline est possible d'obtenir d'autres formes. La manière dont l'hyclate est dissous dans l'eau et neutralisé par l'hydroxyde de sodium devient doxycycline monohydraté. Cette forme avec l'ajout d'acide chlorhydrique devient chlorhydrate de doxycycline.



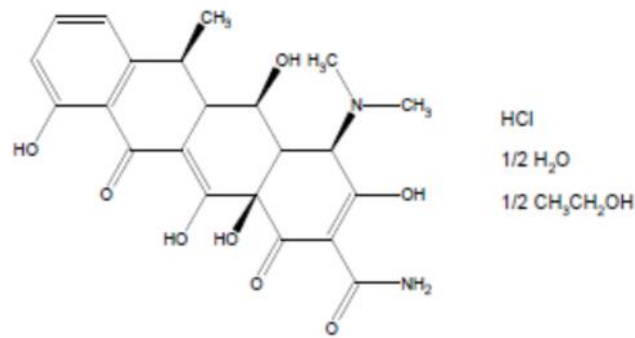
**Figure II. 2.** L'obtention de monohydrate de doxycycline et doxycycline chlorhydrate de la façon hyclate.

Le Pourcentage sous forme d'hyclate de doxycycline est de 86,6%, sous forme de chlorhydrate de 89,1% et sous forme de monohydrate de 96,1% [45].

#### ) La doxycycline hyclate :

La doxycycline hyclate (Figure II. 3) est la forme hémihydrate et hémiméthanolate. Sa description est hygrosopique jaune poudre cristalline, doivent être stockés dans des récipients étanches à l'air et à l'abri de la lumière.

Il a le nom chimique: 4 - (diméthylamine) -1,4 ,4 un, 5,5,6, 11,12 un-octahydro3, 5,10,12,12 a - pentahydroxi-6 - méthyl-1,11 dioxo -2-naphthacene-carboxamide monochlorhydrate monohydraté, combiné avec de l'alcool éthylique [46].



**Figure II. 3.** La structure chimique de la doxycycline.

## II.2. 2. Propriétés pharmacologiques :

### ) Propriétés pharmacodynamiques

La doxycycline est un antibiotique à large spectre. Elle inhibe la synthèse intracellulaire de la protéine bactérienne en liant les sous-unités 30-S du ribosome. Ceci interfère avec la liaison d'acide aminé à l'ARN sur le site de l'accepteur sur le complexe ribosome mRNA et évite l'accouplement des acides aminés sur les chaînes peptidiques allongées. La doxycycline inhibe les bactéries, les mycoplasmes, les chlamydiae, les rickettsies et certains protozoaires.

### ) Caractéristiques pharmacocinétiques

La doxycycline est rapidement et pratiquement intégralement absorbée dans l'intestin. La présence d'aliments dans l'intestin n'a aucun effet sur l'absorption de doxycycline. La distribution de la doxycycline et sa pénétration dans la plupart des tissus du corps sont bonnes. Après absorption, les tétracyclines sont très peu métabolisées. Contrairement aux autres tétracyclines, la doxycycline est principalement excrétée par les fèces [43].

## II. 2. 3. Applications cliniques

### 🌈 Acné vulgaire et rosacée

L'acné vulgaire (parfois raccourci à l'acné) est un trouble des glandes pilo-sébacées qui se produit fréquemment chez les adolescents. Elle se caractérise par la présence de lésions non inflammatoires ou inflammatoires (ou parfois d'un mélange des deux) qui affectent principalement le visage, le dos et la poitrine. Le non-inflammatoire, Mais les plus graves peuvent se présenter sous la forme de nodules et de kystes, ce qui peut entraîner des accidents.

En effet, les tétracyclines réduisent le nombre de colonies de *P. acnés* dans les follicules et inhibent également la production de cytokines pro-inflammatoires induites par des bactéries. Les tétracyclines ont donc des effets antibactériens et anti inflammatoires, qui contribuent tous deux à leur efficacité dans la gestion de l'acné [47].



**Figure II. 4.** La présentation de la rosacée (gauche) et de l'acné vulgaire (droite).

### Syphilis

La syphilis est une maladie systémique complexe causée par la bactérie spirochète enroulée *Treponema pallidum*. Il peut présenter un certain nombre de manifestations cliniques possibles. L'infection par la syphilis se produit en plusieurs étapes. Le premier stade, la syphilis primaire, se caractérise par le développement d'une lésion (appelée chancre) au site d'infection initiale. Cela se produit généralement dans la région anogénitale, mais peut également se produire dans d'autres régions, comme les lèvres, la bouche et les doigts. Après cette période, l'infection à *T. pallidum* devient systémique, entraînant le développement de la syphilis secondaire, caractérisée par de la fièvre, un malaise, une adénopathie généralisée et une éruption cutanée étendue. Le doxycycline est utilisé comme analogue. Dans le cas des pathologies primitive et secondaire[47].

### Chlamydia

Les infections par *Chlamydia* sont soumises à une infection transmissible causée par la bactérie *Chlamydia trachomatis*. L'infection peut affecter à la fois les hommes et les femmes. Dans le cas d'une infection à *chlamydia* non compliquée, on peut utiliser la doxycycline (à une dose de 100 mg deux fois par jour pendant 7 jours) pour gérer l'infection. Les deux agents paraissent tout aussi efficaces et ont une tolérance similaire, mais quand on tient compte des facteurs de compliance des patients, on préfère souvent l'azithromycine [47].

## **Maladie de Lyme**

La maladie de Lyme est une maladie causée par le spirochète à tiques *Borrelia burgdorferi*, qui a été décrite en premier lieu dans Lyme, la maladie de Lyme est, à des fins cliniques, divisée en deux étapes un stade précoce et un stade tardif avec un stade précoce caractérisé par le développement d'une lésion cutanée au site de la morsure de la tique. Les antibiotiques peuvent être utilisés dans la prise en charge de la maladie de Lyme, bien que le choix dépende de la gravité de la maladie et d'autres facteurs du patient. Pour les premiers stades de la maladie de Lyme (comme la présentation de l'érythème migrant), la doxycycline par voie orale (à la dose de 100 mg deux fois par jour pendant 14 jours) est recommandée. Si, cependant, le patient est âgé de moins de 12 ans, ou enceinte.



**Figure II. 5.** la présentation caractéristique d'erythema migrans.

Pour les manifestations tardives de la maladie de Lyme (par exemple, l'arthrite de Lyme) sans atteinte neurologique, la doxycycline par voie orale peut être utilisée (à une dose de 100 mg deux fois par jour pendant 28 jours), tandis que les patients atteints d'arthrite et atteints d'une maladie neurologique doivent recevoir ceftriaxone parentérale. La dose unique de doxycycline peut également jouer un rôle dans la prévention de la maladie de Lyme. En effet, une revue systématique récente portant sur divers antibiotiques (y compris la doxycycline) suggère qu'après une piqûre de tique d'*Ixodes*, un cas de maladie de Lyme est prévenu pour 50 patients prenant un traitement prophylactique [48].

### III. L'aspirine

#### Introduction

Dès son lancement il y a plus d'un siècle, l'aspirine (l'acide acétylsalicylique) connut très rapidement un succès exceptionnel. Assurément le médicament le plus connu et l'un des plus consommés au monde, l'aspirine soulage, pour un coût fort modeste et sans risque d'accoutumance, la fièvre et la douleur associées de très nombreux pathologies ; elle combat efficacement les réactions inflammatoire aigues. ses trois propriétés majeures, dites antipyrétique, antalgique et anti-inflammatoire, ont été à l'origine de son succès thérapeutique, alors même que son mécanisme d'action est demeuré une énigme pendant longtemps et reste aujourd'hui partiellement résolu. plus de cent ans après sa découverte, l'aspirine continue de susciter un intérêt considérable et reste un outil de recherche d'une étonnante fécondité.

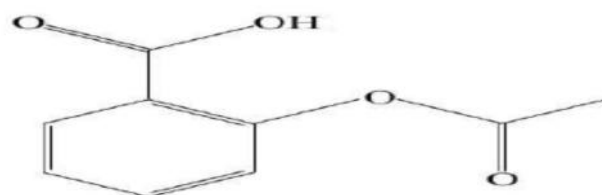
#### III. 1. Définition d'acide acétylsalicylique

L'aspirine ou acide acétylsalicylique est un médicament utilisé comme : Analgésique/Antalgique (médicament qui prévient ou diminue la douleur) Antipyrétique (Médicaments destinés à abaisser la température corporelle ou diminuer la fièvre), anti-inflammatoire, contre la grippe, rhume, fièvre, migraine, et des diverses douleurs

Cet ancien médicament extrait des fleurs de *Spiraea ulmaria* (Reine des prés) et aussi de l'écorce du saule reste le plus vendu dans le monde et se présente sous forme essentiellement de comprimés, sachets, Gélules ou injectable[49].

#### III. 2. Forme chimique

Aspirine vient du nom commercial qui désignait le premier médicament dont le principe actif était l'acide acétylsalicylique (Le nom chimique de cette molécule est l'acide 2-(acétyloxy) benzoïque



**Figure III. 1.** Formule plane de d'acide acétylsalicylique ou aspirine.

A: Acétyl (Dérivé de l'acide acétyle, celui du vinaigre)

SPIR: Pour Spirea, nom latin de la famille de la Reine des prés

RINE: Suffixe en chimie industrielle (pareil que la morphine, digitaline...) [49].

### III. 3. Composition et propriétés physico-chimiques

La formule chimique de l'aspirine est  $C_9H_8O_4$ . L'aspirine est obtenue à partir de la réaction des deux acides: l'acide salicylique et l'acide acétique, ce qui nous donne, suite à cette réaction, de l'acide acétylsalicylique. Cet acide est nommé «aspirine» en terme pharmaceutique. À part l'acide acétylsalicylique, l'aspirine est composée d'amidon de maïs, de dioxyde de titane, de colorant et bleu sur substrat d'aluminium, de gomme de xanthane, d'hydroxypropylméthyl-cellulose, de sorbate de potassium ( $C_6H_7KO_2$ ) et de triacétine.

L'acide acétylsalicylique est un acide faible. Sa solubilité dans l'eau est fonction du pH de la solution. À pH 2.25 on peut dissoudre 3.4 g/l d'acide acétylsalicylique alors qu'à pH 7 on peut en dissoudre 8220 g/l. L'aspirine est inodore, l'odeur de l'acide acétique survient de l'hydrolyse de l'aspirine en atmosphère humide, l'acide acétylsalicylique s'hydrolyse très facilement. L'acide acétylsalicylique à l'aspect d'une poudre blanche, mais très instable dès qu'elle entre en contact avec l'air humide. L'acide acétylsalicylique est la dénomination commune internationale de l'acide 2-(acétyloxy) benzoïque. Sa masse molaire est de 180.16 g/mol, sa masse volumique est de 1.40 g/cm<sup>3</sup>, sa température de fusion est de 136 °C et sa température de vaporisation est de 140 °C [50].

### III. 4. L'aspirine et ces différentes formulations

L'aspirine est utilisée couramment en cas de fièvre (antipyrétique), en cas de douleurs (antalgique, anti-inflammatoire) et en cas de trouble cardio-vasculaires (anti-agrégante plaquettaire). Le principe actif de l'aspirine est l'acide salicylique.

On n'utilise pas directement l'acide salicylique ou le salicylate de sodium, comme c'était le cas avant 1898. En fait, l'aspirine est nettement mieux tolérée que l'acide salicylique.

Le mode d'action de l'aspirine n'est pas encore totalement connu. Ce dont on est sûr, c'est que lorsqu'elle est hydrolysée, on obtient :

- Le groupement acétyle
- L'acide salicylique

Ces 2 groupements ont leur importance pour expliquer l'activité thérapeutique de l'aspirine.

Le rôle de l'acide salicylique est connu depuis très longtemps, mais on ne peut expliquer son mécanisme d'action, Il contribue également à une grande part de l'activité pharmacologie de l'aspirine. Il est le premier métabolite actif de l'aspirine.

Trois formulations galéniques de l'aspirine sont commercialisées, elles diffèrent de la nature des excipients additionnés pour additionnés pour chaque formulation [51]. On distingue :

- ❖ L'aspirine simple
- ❖ L'aspirine soluble
- ❖ L'aspirine retard

### **III. 5. Synthèse industrielle de l'aspirine**

#### **III.5.1. Les matières premières de la synthèse industrielle de l'aspirine**

Comme tout produit de grande consommation, les réactifs initiaux doivent être de fabrication aisée et faible coût. L'industrie pharmaceutique utilise le phénol  $C_6H_5OH$ , le dioxyde de Carbone  $CO_2$ , l'anhydride acétique ou anhydride éthanoïque  $(CH_3CO)_2O$  ainsi que de l'acide sulfurique  $H_2SO_4$  et de hydroxyde de sodium  $NaOH$ .

#### **Le phénol**

Sa mondiale annuelle est d'environ 6 millions de tonnes. Il est obtenu en même temps que la propanone, par traitement, par l'oxygène de l'air du cumène ou 2-phénylpropane.

#### **L'anhydride acétique**

Il est obtenu par déshydratation de l'acide acétique ou acide éthanoïque.

#### **III. 5. 2. Les différentes étapes de la synthèse**

La synthèse de l'acide acétylsalicylique se fait en plusieurs étapes : le produit de départ est le phénol est  $C_6H_5OH$  et l'acide salicylique est un des intermédiaires.



**a. synthèse de l'acide salicylique :**

- le phénol réagit avec l'hydroxyde de sodium pour donner le phénolate de sodium ( $C_6H_5ONa$ )
- le phénolate de sodium est ensuite réduit en poudre fine puis traité par du dioxyde de carbone  $CO_2$  sous pression et à température pour donner du salicylate de sodium .
- le phénol obtenu est recyclé.
- La salicylate de sodium formé est dissous dans de l'eau puis est décoloré par passage sur du charbon actif avant d'être transformé en acide salicylique, solide, par réaction avec l'acide sulfurique.

**b. le passage à l'aspirine :**

L'acide salicylique est chauffé à reflux avec de l'anhydride acétique dans du toluène vers  $90^\circ C$  pendant 20 heures. L'acide acétylsalicylique se forme alors. Le mélange réactionnel est ensuite refroidi, l'acide acétylsalicylique précipite en gros cristaux qui sont séparés par filtration, rincés puis séchés. l'acide salicylique ainsi obtenu est alors mis en pastilles, enrobées ou non, ou additionné à d'autres composés afin d'obtenir les différentes formes orales, injectables ou rectales distribuées dans le commerce [52].

**III. 6. Effets pharmacologiques de l'aspirine****III.6.1. Effet anti-inflammatoire**

Les effets anti-inflammatoires de l'aspirine sont connus depuis longtemps et impliquent de multiples processus : inhibition de la production de prostaglandines, réduction de la production d'anticorps ainsi que de la formation des complexes antigènes/anticorps et blocage de la libération d'histamine stimulée par les antigènes. Les salicylés ont aussi la propriété de réduire l'augmentation de la perméabilité capillaire et donc de l'œdème observé lors de tout processus inflammatoire.

**III. 6. 2. Action antalgique**

L'aspirine est un antalgique périphérique dont l'utilisation chronique ne provoque ni tolérance, ni dépendance contrairement aux analgésiques centraux opiacés. Cette action est d'autant plus importante qu'il existe un phénomène inflammatoire à l'origine du phénomène douloureux. L'aspirine est du coup moins efficace en l'absence d'inflammation.

### **III. 6. 3. Effet antipyrétique**

Cet effet est observé à dose thérapeutique. A dose forte, en cas d'intoxication, l'aspirine augmente la température centrale en accroissant la production de chaleur par les cellules. Cette action provient d'une réduction du rendement énergétique de ces cellules et peut conduire une déshydratation du fait de l'importante sudation ainsi produite.

### **III. 6. 4. Effet hématologique :**

Du fait de l'acétylation irréversible de la cyclo-oxygénase plaquettaire, inhibant ainsi la production de TXA<sub>2</sub>, l'ingestion d'une dose standard d'aspirine de 650 mg par un sujet sain, produit un doublement du temps de saignement pour une période de 4 à 7 jours.

### **III. 6. 5. Effet gastro-intestinaux**

Ces effets sont directement liés à l'inhibition de la cyclo-oxygénase et constituent donc des effets indésirables vrais de l'aspirine. En effet, ils sont complètement indissociables des activités thérapeutiques.

L'ingestion d'aspirine peut provoquer des douleurs épigastriques, des nausées et des vomissements. Elle est à l'origine de micro-ulcérations de la muqueuse gastrique mais peut aussi majorer un ulcère préexistant. Ces actions, associées aux effets anti-agrégants plaquettaires, expliquent l'incidence élevée des saignements digestifs chez les patients traités de manière chronique par l'aspirine.

### **III. 6. 6. Effets gynéco-obstétricaux**

Comme dans le cas des effets gastro-intestinaux, les actions gynéco-obstétricales de l'aspirine peuvent être considérées comme d'authentiques effets indésirables.

L'aspirine peut augmenter le volume et la durée des menstruations. Elle réduit de manière très importante, comme les autres anti-inflammatoires, l'efficacité contraceptive des dispositifs intrautérins [53].

### III. 7. Pharmacocinétique de l'aspirine

#### a) Absorption

Avec un  $pK_a=3,5$ , l'acide acétylsalicylique se trouve presque entièrement sous forme non ionisée, liposoluble, dans l'estomac ( $pH=1$ ). Après ingestion, sa résorption gastrique est donc importante et rapide, par diffusion passive. Si on administre simultanément un agent alcalinisant (bicarbonate de sodium, par exemple), dans le but de diminuer l'effet irritant sur la muqueuse gastrique, en présence de HCl gastrique, il se transforme en NaCl et l'aspirine se retrouvera, au moins en partie, sous forme d'acide libre. L'adjonction d'un alcalinisant ou d'une substance tampon à l'aspirine permet la mise en solution de l'aspirine avant de l'ingérer, améliore sa tolérance gastrique et facilite sa résorption au niveau de l'intestin grêle. Par voie rectale, l'absorption est lente et incomplète ; après injection parentérale, la concentration sanguine est rapidement élevée.

#### b) Distribution

Rapide dans la plupart des tissus et organes, l'aspirine pénètre dans le liquide synovial, traverse la barrière hématoencéphalique et placentaire. Elle se lie aux protéines plasmatiques dans une proportion importante (environ 50 à 80%). Cette affinité lui permet de déplacer au moins partiellement d'autres substances déjà liées à ces mêmes protéines, par exemple les anticoagulants coumariniques (antivitamines K), le méthotrexate, l'insuline, la bilirubine (chez le nouveau né), les sulfamidés, la pénicilline. Leurs formes libres étant seules biologiquement actives, il peut en résulter une augmentation intempestive de leurs effets.

#### c) Métabolisme

L'aspirine peut connaître une hydrolyse enzymatique pour donner l'acide salicylique et l'acide acétique. L'oxydation partielle de l'acide salicylique donnera l'acide dihydroxybenzoïque (acide gentisique) (5%). On observe différents types de conjugaisons de l'acide salicylique:

- Avec le glycofolle, la conjugaison donne l'acide salicylurique (50%),
- Avec l'acide glycuronique, par sa fonction phénol, on obtient phénoxyglycuronide (10 à 30%) ; et par sa fonction acide, on obtient acylglycuronide (jusqu'à 10%)[54].

**d) Elimination**

L'élimination est essentiellement urinaire. L'aspirine connaît une filtration glomérulaire passive, une sécrétion tubulaire active, et une réabsorption tubulaire passive de la forme liposoluble non ionisée. L'alcalinisation de l'urine augmente sa dissociation, elle diminue sa réabsorption et favorise son élimination. Cela est d'un grand intérêt dans le traitement de l'intoxication aiguë. Cette excrétion est relativement lente puisqu'en 24 heures, 50% seulement de la dose sont éliminés, et qu'au bout de 48 heures, il en reste encore des traces dans les urines. L'acide acétylsalicylique et ses métabolites perturbent le dosage dans l'urine de l'acide homovanillique, catabolite de la noradrénaline [54].

## IV.1. Introduction

La micro encapsulation est une technologie ayant à un objectif de libération de principe actif dans le temps, nécessaire pour son absorption au niveau de l'organisme et atteindre la cible à une concentration suffisante.

Deux matériaux, le chitosane et l'alginate, ont été utilisés pour l'encapsulation des deux matières actives considérées dans ce travail, à savoir la doxycycline et l'aspirine.

Afin d'arriver à l'objectif tracé dans cette étude, on a envisagé de le scinder en deux parties l'encapsulation de la doxycycline et l'encapsulation de l'aspirine.

## IV.2. Matériel et méthode

- ) PH-mètre ;
- ) Balance électrique de précision ;
- ) Bain-marie ;
- ) vortex ;
- ) incubateur 37°C;
- ) Agitateur magnétique ;
- ) Etuves thermoréglées à 25 °C et à 37 °C ;
- ) Réfrigérateur réglé à 4 °C ;
- ) Spectrophotomètre UV-Visible ;
- ) Microscope optique;
- ) Appareil FTIR;
- ) Centrifugeuse ;
- ) Viscosimètre ;
- ) Plaque chauffante;
- ) verrerie de laboratoire.

### Produits utilisés

- ) Acide acétique ;
- ) Glutaraldéhyde ;
- ) Hexametaphosphate de sodium;
- ) chlorure d'hydrogène ;
- ) Chlorure de Calcium ;

- ) Carbonat de calcium;
- ) Acide acétique glacial ;
- ) Hydroxyde de sodium ;
- ) Alginate de sodium ;
- ) Chitosane fournie par notre promoteur;
- ) Doxycyclinehydrate;
- ) Chlorhydrique de Potassium ;
- ) phosphate de monopotassium ;

### 🚦 Usage de la doxycycline comme matière active

Cette partie est réalisée en effectuant les étapes suivantes :

- Préparation des microsphères ;
- Caractérisation morphologique ;
- Caractérisation spectroscopique ;
- Tests de gonflements ;
- Tests de libération in vitro ;
- Tests de libération in vivo.

Avant d'entamer l'étude sur l'encapsulation on a pris le soin de caractériser les substances utilisées dans cette partie à savoir la substance active (la doxycycline) et les biopolymères le chitosane et l'alginate.

## IV. 3. Doxycycline

Les différentes caractéristiques ont été déterminées selon les spécifications de l'USP 28

### IV. 3.1. Caractérisation physicochimique

#### A. Aspect

Cette caractéristique a été déterminée par l'observation visuelle. On a constaté que la doxycycline présente un aspect jaunâtre. Cette couleur reflète la couleur des tétracyclines.



**Figure IV.1.** Photographie de la doxycycline

## B. solubilité

Ce test a été effectué en utilisant quatre solvants, l'eau, le méthanol, l'alcool éthylique et l'éther.

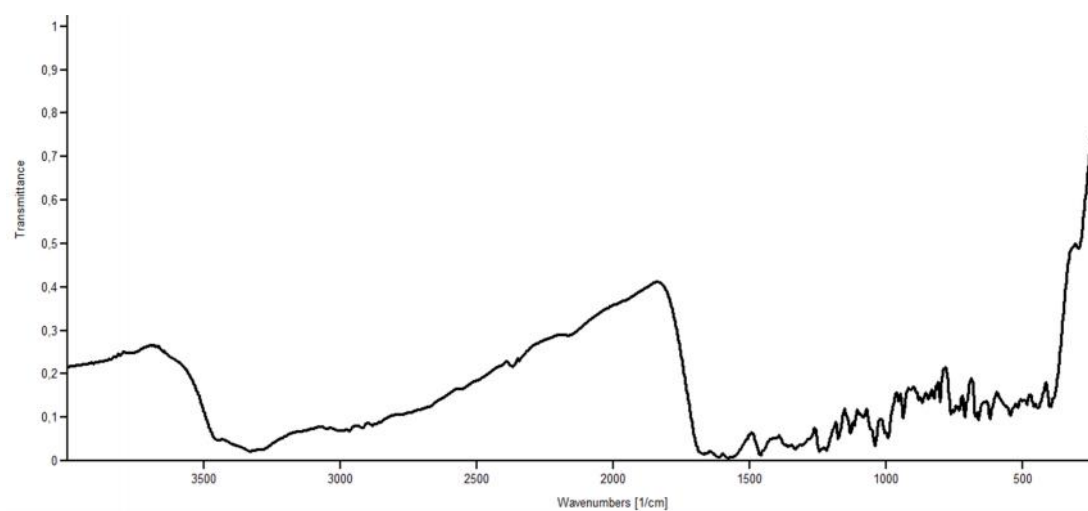
Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau IV.1

**Tableau IV.1 : La solubilité de la doxycycline.**

Solvant	Résultats
Eau	Facilement soluble
Alcool éthylique	Assez soluble
Méthanol	Facilement soluble
Ether	Pratiquement insoluble

## C. identification par spectroscopie IR

L'analyse par spectroscopie IR nous a permis d'obtenir le spectre correspondant à la doxycycline



**Figure IV.2.** Spectre FT-IR de la doxycycline.

Le spectre obtenu a été comparé au spectre de référence ainsi on a constaté qu'ils sont similaires.

Les différentes bande d'absorption caractéristiques de la doxycycline sont présentes : les liaisons (C-C) aromatique vers  $1250\text{cm}^{-1}$ , les groupement amine  $\text{NH}_2$ , les groupement méthyle C-H correspond  $2400\text{cm}^{-1}$ .



### D. le pH

En contrôlant le pH d'une solution aqueuse de doxycycline, on a observé une valeur de 2.39. Cette valeur confirme que la doxycycline est une substance à caractère acide.

### E. Teneur en eau

La teneur en eau est effectuée par la méthode Karl Fischer. La valeur obtenue 1.98% est dans l'intervalle établie par l'USP.

### F. Dosage microbiologique

Afin de vérifier la pureté de la doxycycline, on a effectué un dosage microbiologique par les tests dits de disque.

La quantité de doxycycline obtenu est 883.8 $\mu$ g/mg de poudre de doxycycline considérée, ce qui représente un taux d'activité de 88.38%. Cette valeur dans l'intervalle stipulé par l'USP : 800  $\mu$ g/mg-920  $\mu$ g/mg.

### G. la toxicité

Le test de toxicité a été vérifié par l'administration de la doxycycline chez les lapins. Il a été observé que la doxycycline considérée ne présente pas de toxicité.

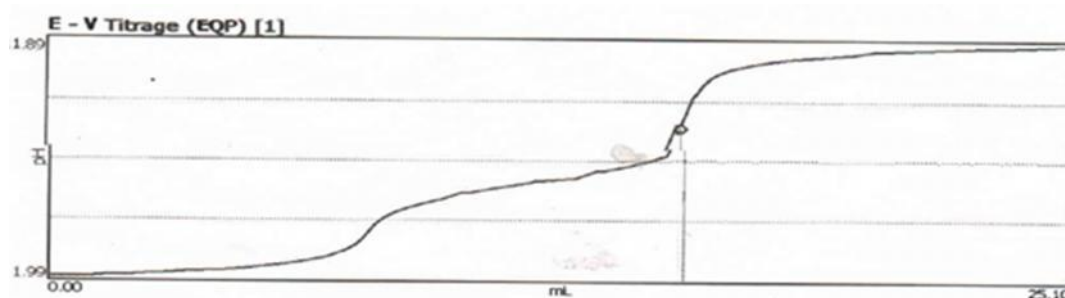
A travers les tests effectués sur la doxycycline, nous pouvons dire que la poudre de doxycycline considéré est conforme aux spécifications établies par l'USP.

## IV. 3.2. Le Chitosane

Le seul paramètre qu'on a voulu vérifier pour le chitosane est son degré désacétylation.

Ce test est réalisé par dosage potentiométrique avec HCl.

Les valeurs enregistrées lors du suivi de la neutralisation du chitosane sont illustrées par la figure ci-dessous :



**Figure IV.3.** dosage par potentiométrique

A partir de la courbe, on relève deux points équivalents correspondants aux volumes

$$v_1 = 7.32 \text{ ml} ; v_2 = 14.92 \text{ ml.}$$

Le pourcentage de groupement amine peut être déterminé par la formule suivant

$$NH_2\% = \frac{(C_1 V_1 - C_2 V_2) \cdot 0.016}{G(100 - \pi)} \times 100 \quad (5)$$

$$NH_2\% = 62\%$$

Cette valeur représente le pourcentage des amines libres contenues dans la poudre utilisée. La valeur dépasse les 50%, elle indique que la poudre utilisée est le chitosane.

En deuxième lieu, on va considérer le deuxième polymère utilisé dans notre étude. L'alginate de sodium

### IV. 3.3. Alginate de sodium

Comme pour le chitosane, on va déterminer quelques caractéristiques spécifiques

#### A. Aspect

On a remarqué que l'alginate présente un aspect blanc à blanc crème.

#### B. Solubilité

Le test de solubilité a été effectué en utilisant l'eau comme solvant, le résultat obtenu a confirmé que la poudre est soluble dans l'eau. La caractéristique de solubilité du sel d'alginate est donc confirmée.

#### C. le pH

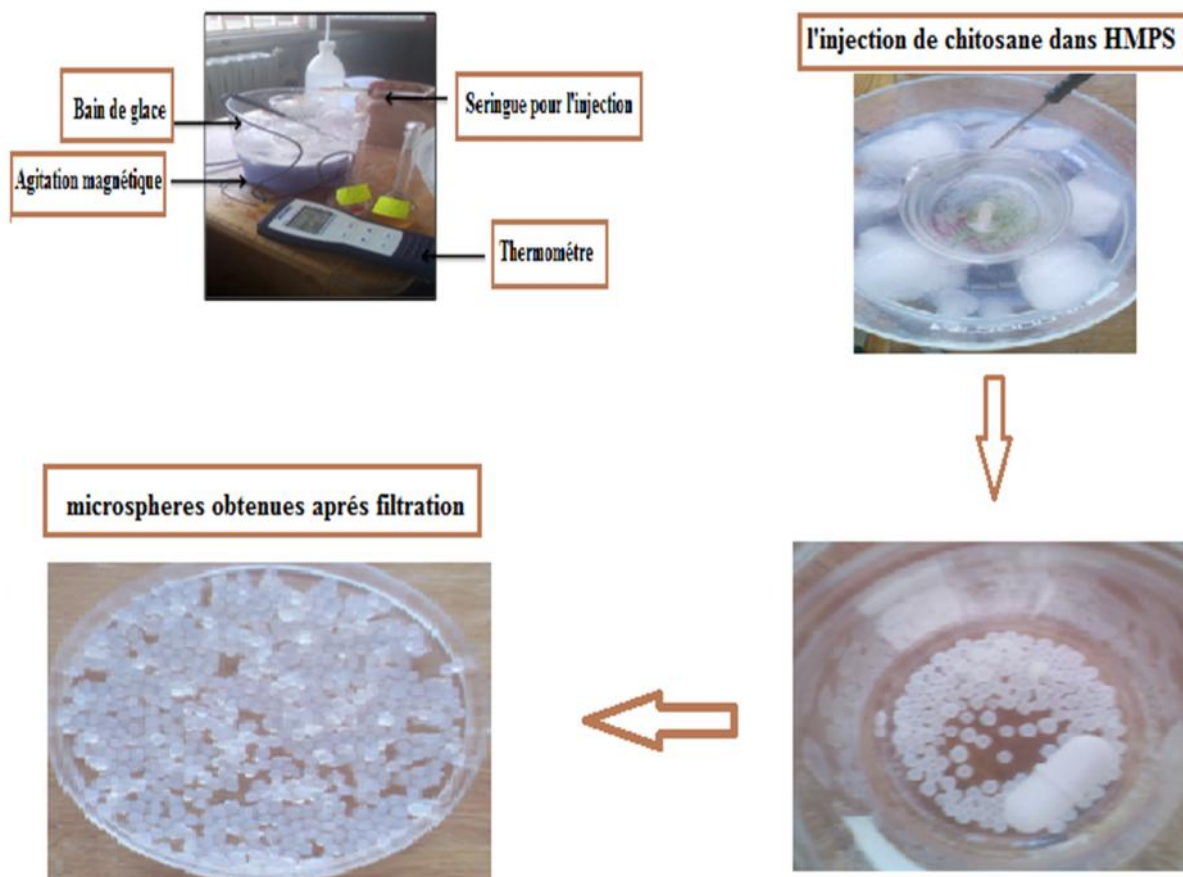
En contrôlant une solution aqueuse de l'alginate de sodium, on a observé un pH de 7,32.

La valeur est très proche de celle du sel d'alginate.

D'après ces valeurs, on peut dire que le polymère présente les caractéristiques de l'alginate.

### IV. 3.4. Préparation des microsphères

Cette préparation est réalisée selon le protocole suivant :



**Figure IV.4.** Schéma du protocole de préparation de microsphère.

Le mode opératoire utilisé pour la confection des microparticules est résumé selon les étapes suivantes :

- ❖ Préparation des solutions de polymère ;
- ❖ Préparation des solutions HMPS,  $\text{CaCl}_2$  et Glutaraldéhyde ;
- ❖ Égouttage de la solution du polymère dans les solutions préparées selon le type de microsphères envisagées.
- ❖ Filtration des microparticules suivies d'un lavage avec de l'eau distillée
- ❖ Séchage à l'air libre ;

En utilisant le protocole décrit ci-dessus, on a obtenu les systèmes suivants :

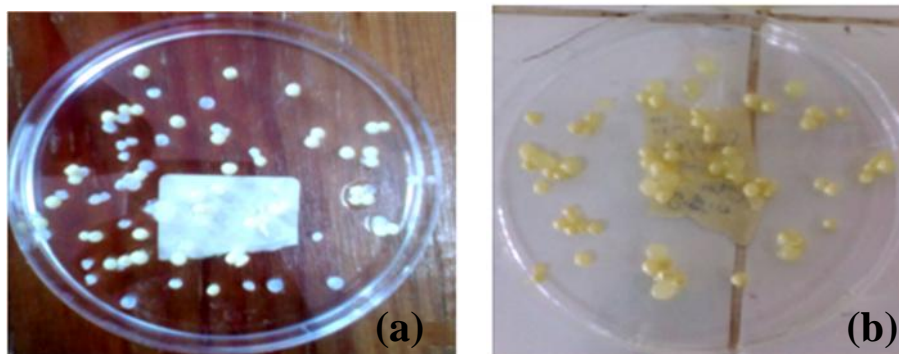
**Tableau IV.2 : Identification des systèmes**

Les systèmes	Identification
Système I	les microsphères de chitosane
Système II	les microsphères de chitosane- Glutaraldéhyde (1 )
Système III	les microsphères de chitosane - Glutaraldéhyde (0.1 )
Système IV	les microsphères de chitosane - alginate dans HMPS
Système V	les microsphères de chitosane – alginate - Glutaraldéhyde (1 )
Système VI	les microsphères de chitosane –alginate-Glutaraldéhyde (0.1 )
Système VII	les microsphères de l'alginate
Système VIII	les microsphères de chitosane- alginate dans $CaCl_2$

En vue d'évaluer la réussite de l'encapsulation de la doxycycline, un ensemble de tests sont effectués.

### IV. 3.5. Morphologie

Les microsphères obtenues sont présentées par la figure suivante :

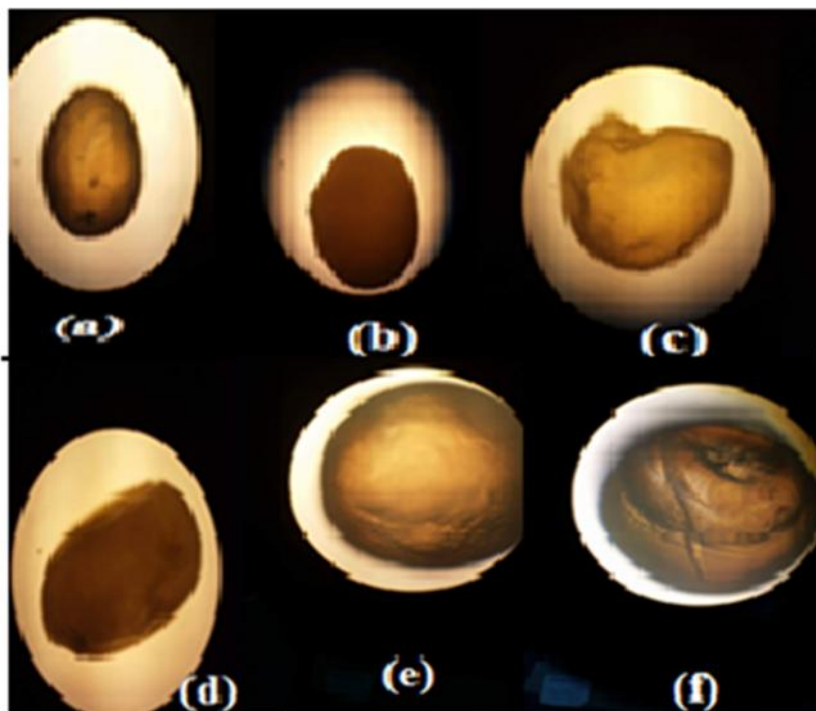


**Figure IV.5.** Images présentent les microcapsules vides (a) et chargées de doxycycline(b).

En observant les images représentées par la figure IV.5, on constate que les microsphères sont visuellement sphériques.

Pour plus d'éclaircissement, on a mené un test d'observation des microsphères mises au préalable dans deux milieux différents pH=7 et pH=2. L'enregistrement d'images est réalisé à l'aide du microscope optique

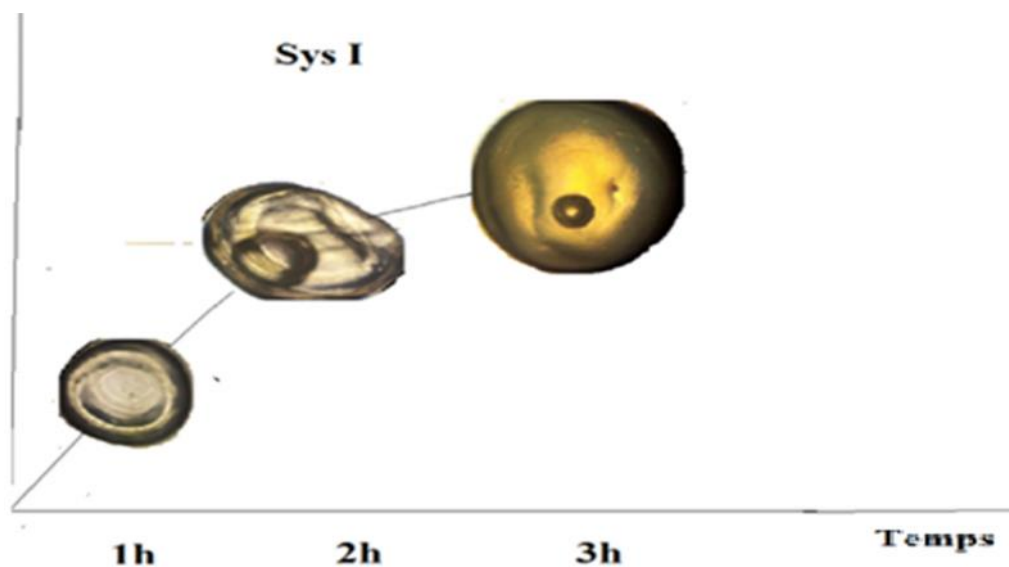
Les différentes images obtenues sont représentées dans la figure ci-dessous.



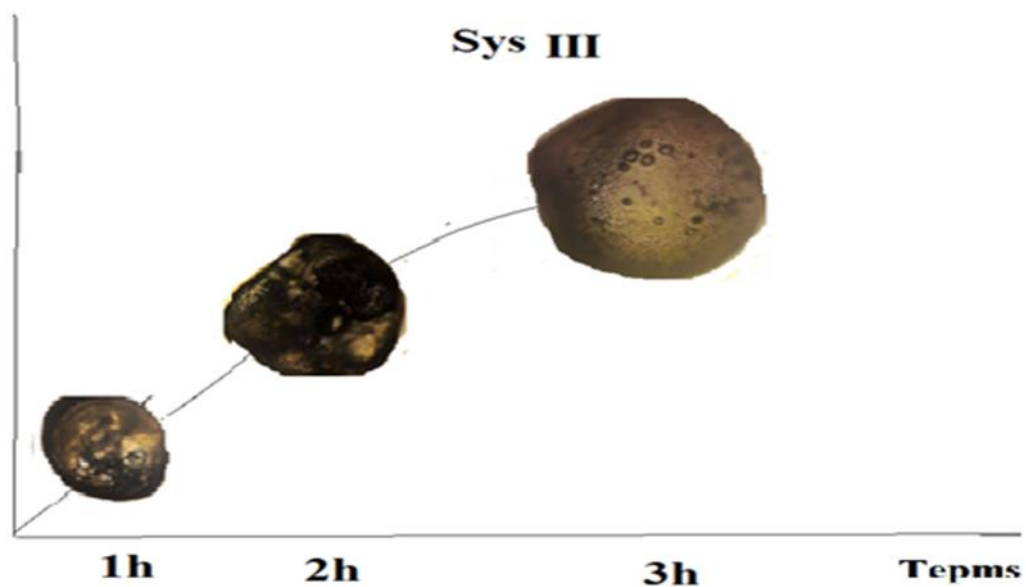
**Figure IV.6.** Morphologie des microcapsules par microscope optique.

Morphologie des microcapsules avec principe actif (doxycycline) : (a) Chitosane ,  
 (b) Chitosane -Glutaraldéhyde (1%) , (c) Chitosane -Glutaraldéhyde (0.1%) ,  
 (d) Chitosane -alginate, (e) Chitosane – alginate- Glutaraldéhyde (1%),  
 (f) -Chitosane – alginate- Glutaraldéhyde (0.1%).

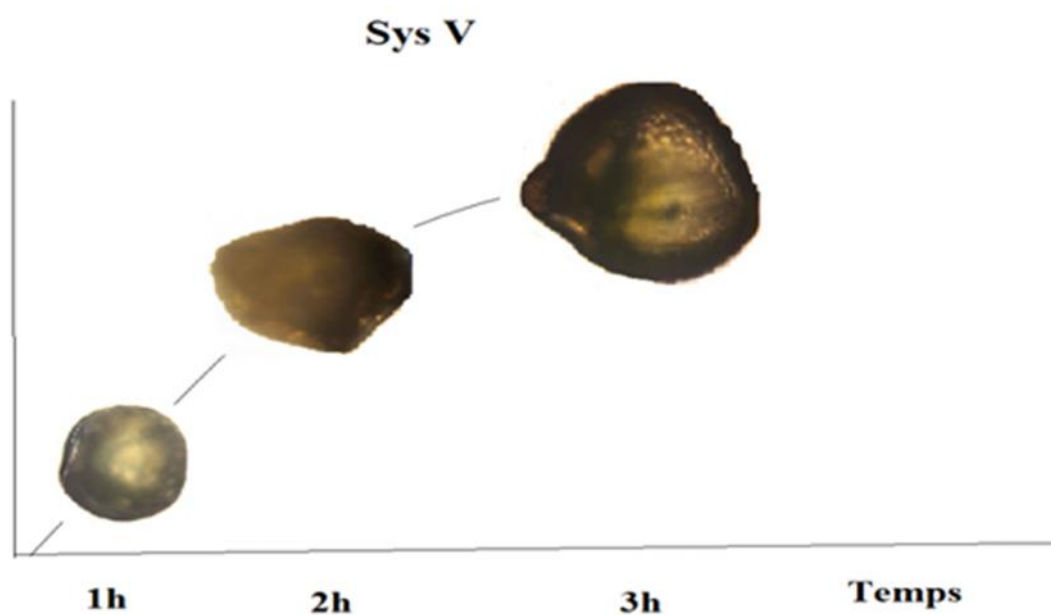
De plus, une étude de suivi de comportement des microsphères en fonction de temps a été menée, les images enregistrées sont représentées par les figures suivantes :



**Figure IV.7.** Suivi de la morphologie des microsphères chargées de la doxycycline de système I en fonction de temps .



**Figure IV.8.** Suivi de la morphologie des microsphères chargées de la doxycycline de système III en fonction de temps .



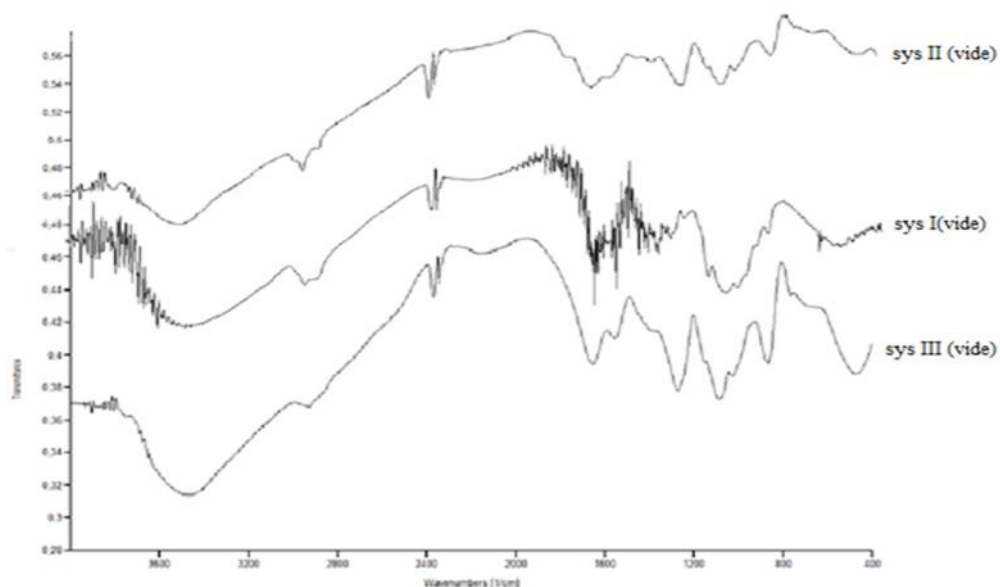
**Figure IV.9.** Suivi de la morphologie des microsphères avec la doxycycline de système III en fonction de temps.

On voit bien qu'après absorption, les microspheres reprennent leur forme sphérique.

### IV.3.6. Identification par FTIR

#### ➤ Les systèmes I, II et III sans principe actif

Cette analyse est effectuée pour connaître d'une façon qualitative la présence des bandes caractéristiques de la molécule de la doxycycline.



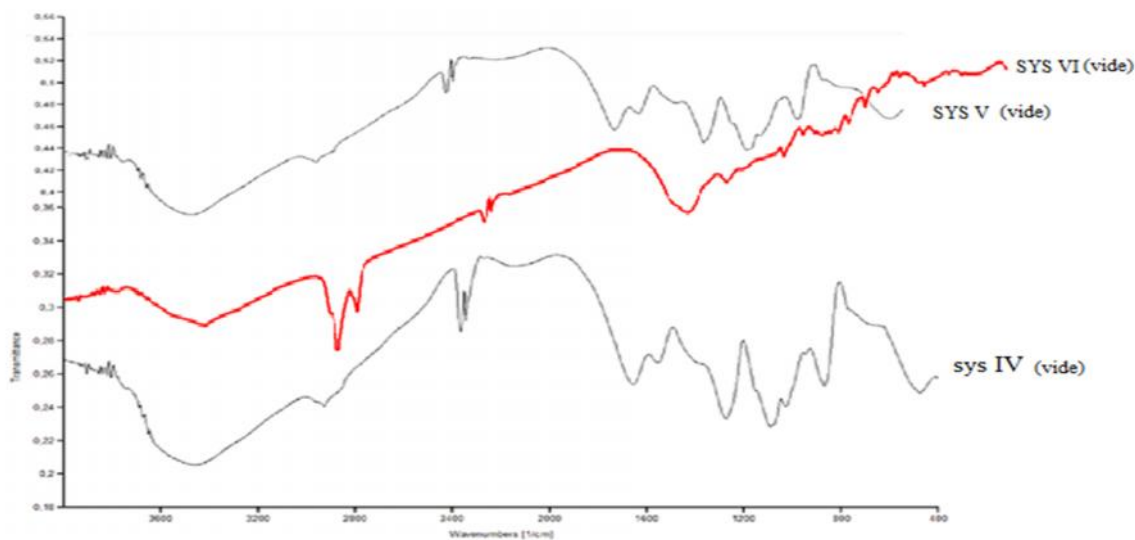
**Figure IV.10.** L'analyse des spectres FT-IR pour les systèmes I, II et III sans principe actif.

L'étude spectroscopique Infrarouge à transformée de Fourier a été adoptée pour caractériser les interactions potentielles dans les microbilles. À partir des spectres FT-IR présentés par la figure IV.10, on remarque que il y a un pic vers  $3650\text{cm}^{-1}$  peut être attribué au groupement hydroxyde (O-H), un autre pic vers  $3500\text{cm}^{-1}$  attribué au groupement amine primaire (N-H). le pic observé vers  $3100\text{cm}^{-1}$  peut caractériser les groupements méthyles CH.

On observe, également une bande vers  $2400\text{cm}^{-1}$  qui peut correspondre au groupement (OH) et une autre vers  $1350\text{cm}^{-1}$ . Celle-ci peut être attribuée aux élongations de liaisons entre le glutaraldéhyde et le polymère.

➤ **Systèmes IV, V et VI sans principe actif.**

Afin de voir l'influence de l'usage de l'alginate sur la formation des microsphères, une analyse spectroscopique est réalisée sur les systèmes composés de chitosane et d'alginate. Les spectres obtenus sont présentés par la figure ci dessous



**Figure IV.11.** Analyse des spectres FT-IR pour les systèmes IV, V et VI sans principe actif.

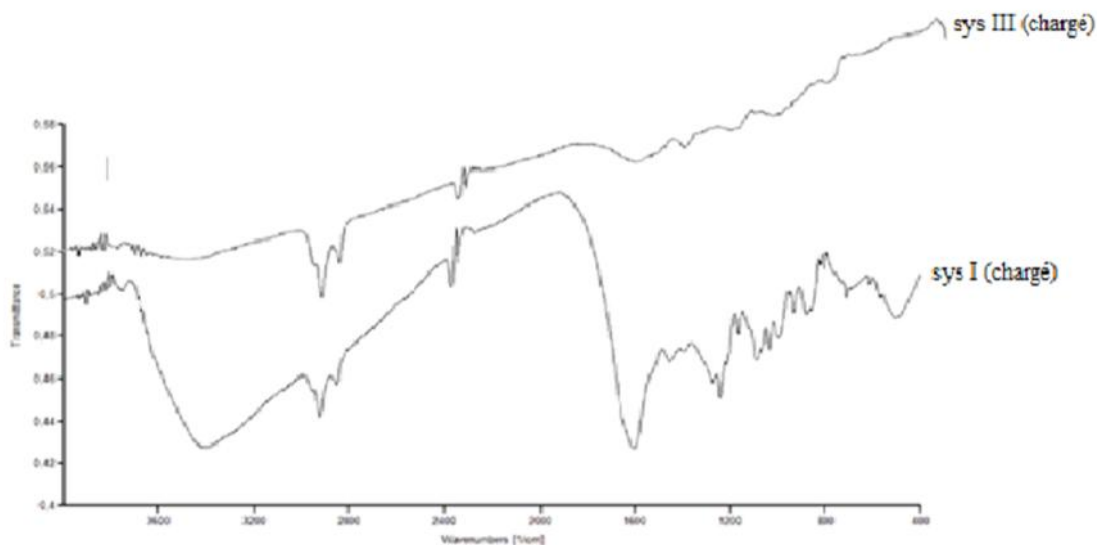
D'après la figure IV. 11 on observe des pics aux environs de  $3700\text{cm}^{-1}$ , qui peut correspondre au groupement (OH), et vers  $3500\text{cm}^{-1}$ , qui peut être attribué aux (N-H). La bande d'absorption observée vers  $2400\text{cm}^{-1}$  peut être attribuée aux elongations des groupes (CH). On remarque l'apparition d'un pic aux environs de  $1350\text{cm}^{-1}$  qui peut correspondre aux groupes C-N dû à l'interaction de l'aldéhyde avec le polymère chitosane et l'alginate. Un autre pic observé vers  $1200\text{cm}^{-1}$  qui caractérise le groupement carbonyle (CO).

➤ **Systèmes I et III avec la doxycycline**

En vue de montrer la réussite de l'encapsulation de la doxycycline, l'analyse FTIR a été réalisée sur les systèmes chargés I et III.

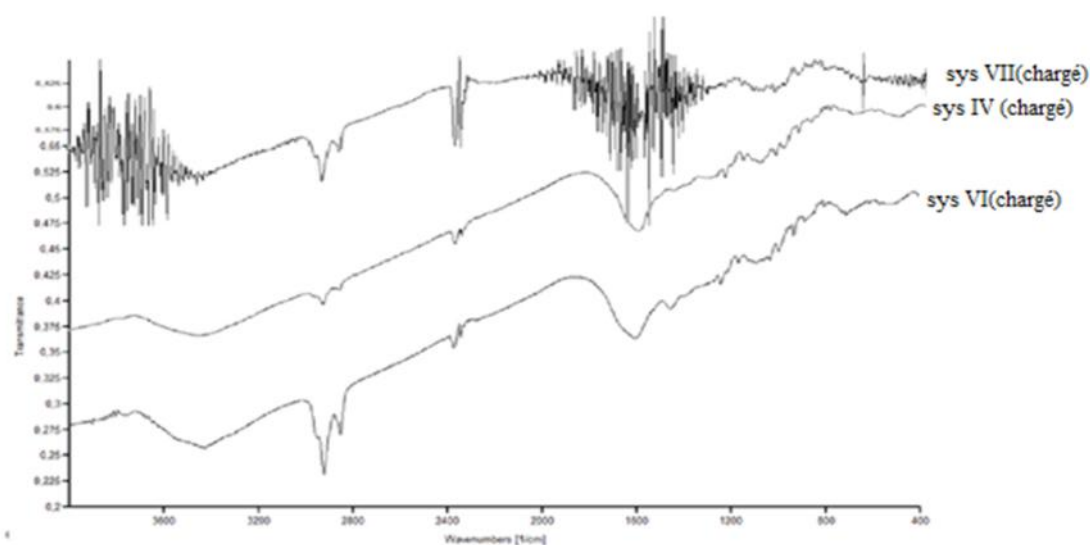


Les spectres obtenus sont présentés par la figure ci-dessous.



**Figure IV. 12.** analyse des spectres FT-IR pour les systèmes I et III avec la doxycycline

D'après les spectres FT-IR présentés par la figure IV. 12, on observe une bande large vers  $3500\text{ cm}^{-1}$ , qui correspond aux groupes amine primaire (N-H) et hydroxyle(O-H), Le pic observé vers  $2900\text{ cm}^{-1}$  peut être dû à l'élongation des groupement (C-H). Une autre bande d'absorption est observée dans la région  $1620 -1670\text{ cm}^{-1}$ , peut correspondre aux liaisons carbonyle (C = O) de l'amide secondaire (N-H).



**Figure IV. 13.** Analyse des spectres FT-IR pour les systèmes IV ,VI et VII avec la doxycycline.

Dans le but de confirmation de présence de DOXY dans les microsphères de système VII (figure IV. 13) on trouve que les bandes entre (1150-1110  $\text{cm}^{-1}$ ) peut être attribuée aux groupes (CO).

En outre, les bandes se trouvant dans la région entre (1725 -1700 $\text{cm}^{-1}$ ) sont attribuées aux vibrations d'élongations des groupes carboxylate. Le spectre correspondant au système IV on peut observer le pic vers 1280 $\text{cm}^{-1}$  qui peut être attribué aux élongations des groupes P=O relatifs aux groupes phosphates.

### **IV. 3.7. Tests microbiologie**

Dans le but de connaître la capacité de libération à pH 7, des tests d'activité antimicrobienne ont été menés sur des souches de microorganismes.

#### **IV. 3.7.1. Les souches bactériennes utilisées**

Les souches bactériennes utilisées ont été fournies par le laboratoire de microbiologie de SAIDAL sont :

- *Staphylococcus Epiderme ATCC 12228*
- *Escherichia coli ATCC 8739*
- *Bacillus subtilis ATCC 6633*
- *Staphylococcus aureus ATCC 6538*
- *Pseudomonas aeruginosa ATCC 90277*

#### **IV. 3.7.2. Activité antibactérienne par la méthode de disque**

L'étude de la sensibilité des bactéries a été réalisée par la méthode de disque. Les méthodes de diffusion sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic. Un papier buvard imprégné dans les suspensions qui contiennent les microbes, est déposé à la surface d'un milieu gélosé ensemencé au préalable par les bactéries. L'évaluation de la zone d'inhibition est observée après 5 heures et 24 heures pour les systèmes vides et chargés.

Les résultats obtenus sont récapitulés ci-dessous

Les systèmes Les bactéries	Cs	Cs-Glu (0.1 %)	Cs-Glu (1 %)	Cs - Alg	Cs-Alg- Glu(0.1 %)	Cs-Alg- Glu (1 %)	observation
<i>Staphylococcus Epiderme</i>	28	34	35	35	28	28	Fortement inhibitrice
<i>Escherichia coli</i>	30	30	35	24	30	34	Fortement inhibitrice
<i>Bacillus subtilis</i>	30	28	30	30	28	30	Fortement inhibitrice
<i>Staphylococcus aures</i>	30	31	32	32	30	29	Fortement inhibitrice
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18	17	24	20	18	21	Modèment inhibitrice

A travers les résultats obtenus, on remarque que les zones d'inhibition obtenue pour les systèmes vide sont très faibles voir négligeables par rapport aux systèmes de microsphères chargés par la doxycycline.

D'après les figures IV.14. On observe que le diamètre d'inhibition obtenu sur *Staphylococcus epidermidis*, après 5h est équivalent à 28mm pour les microsphères à base de chitosane, et après 24h, il a augmenté pour atteindre 33mm. En ce qui concerne le système préparé par les deux polymères, le chitosane et l'alginate avec glutaraldéhyde 0.1% le diamètre d'inhibition est aux environs de 28mm après 5heures ensuite il croit jusqu'à 38mm après 24h.

Pour la bactérie *d'Escherichia coli*, il résulte d'après le diamètre d'inhibition de 34mm après obtenu pour microsphères du système chitosane alginate réticulés par le glutaraldéhyde 1% révèle une libération de la doxycycline.

Les mêmes observations sont notées pour le cas des *Staphylococcus aureus*, on a enregistré respectivement 12mm et 32 mm pour le système chitosane - alginate vide et chargé en doxycycline. Ceci montre bien l'action de la doxycycline sur la bactérie, ainsi la libération de l'antibiotique est confirmée. Pour le même système réticulé au glutaraldéhyde 0.1% le diamètre a atteint 35mm après 24heures. Il peut être relevé que le glutaraldéhyde a ralenti la libération par rapport au système non réticulé par le glutaraldéhyde.

D'après l'observation des diamètres d'inhibition obtenus avec le système chitosane réticulé avec glutaraldéhyde 1% ont atteint 30mm, et 24mm. Respectivement sur les bactéries *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Ces résultats confirment la libération de la doxycycline à travers les microsphères préparées.

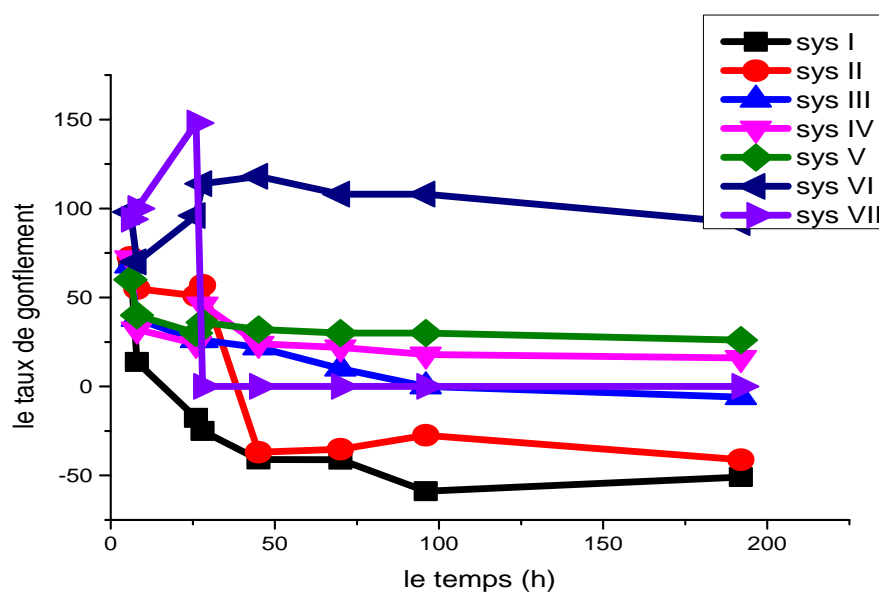
### IV. 3. 8. Tests de gonflements

A fin de vérifier la capacité d'absorption, des tests de gonflements dans les milieux simulés gastrique et intestinal ont été effectués sur différents microsphères obtenues.

Les résultats relatifs à ces tests sont présentés ci-dessous

#### 🚩 Dan le milieu intestinal

Les résultats relatifs aux tests effectués dans le milieu intestinal sont présentés par la figure suivante



**Figure IV. 19.** Taux de gonflement dans le milieu intestinal.

On constate d'après la figure IV. 19, que les allures d'absorption sont différentes d'un système à l'autre. On relève pour les systèmes alginate, chitosane et alginate avec glutaraldéhyde 0,1%, une absorption rapide dans les premières heures ensuite, on remarque une certaine stabilité du taux de gonflement.

Pour le système chitosane- alginate réticulé avec le glutaraldéhyde 0.1%, une stabilité est relevée à partir de 70h où le taux maximum atteint est de 118%.

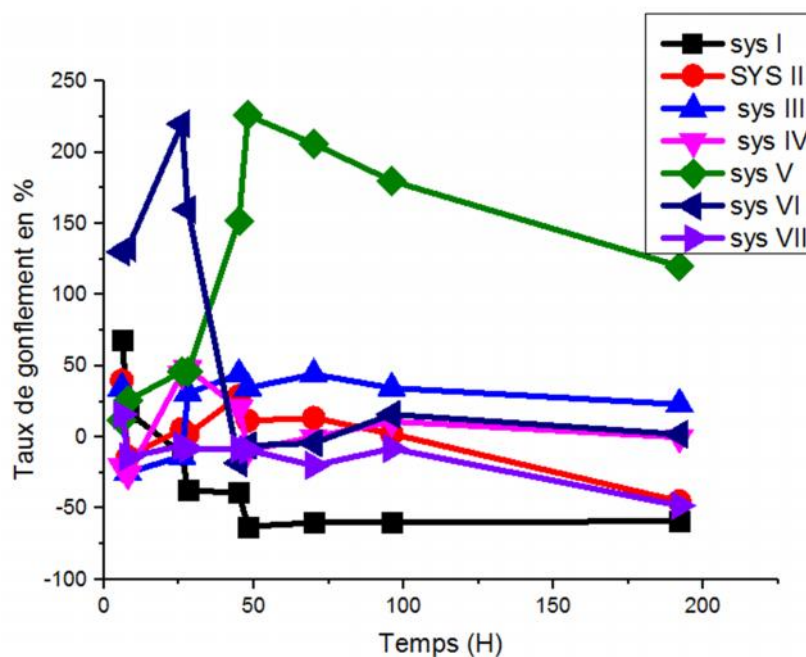
On constate également que pour le système d'alginate, l'absorption du liquide est rapide avec un taux maximum atteint de 148% ensuite le taux rechute d'une façon plus rapide ce qui indique une dégradation des microsphères.

De ces résultats, on peut déjà tirer les conclusions relatives aux deux types de systèmes considérés. Le système composé de chitosane et d'alginate réticulé avec glutaraldéhyde 0.1%, a montré une stabilité pour 192h alors que le système préparé à base d'alginate est dégradé après une absorption très importante au début de son immersion dans le milieu.

Pour les autres systèmes, une dégradation commence juste après leur immersion dans le milieu intestinal dans les premières heures, ensuite la dégradation est réduite et on constate que les systèmes maintiennent une certaine stabilité.

#### Dans le milieu gastrique

Les résultats relatifs aux gonflements dans le milieu gastrique sont représentés par la figure suivante



**Figure IV. 20.** Taux de gonflement dans le milieu gastrique.

A travers cette figure, on peut de la même manière que précédemment, scinder les systèmes en deux groupes.

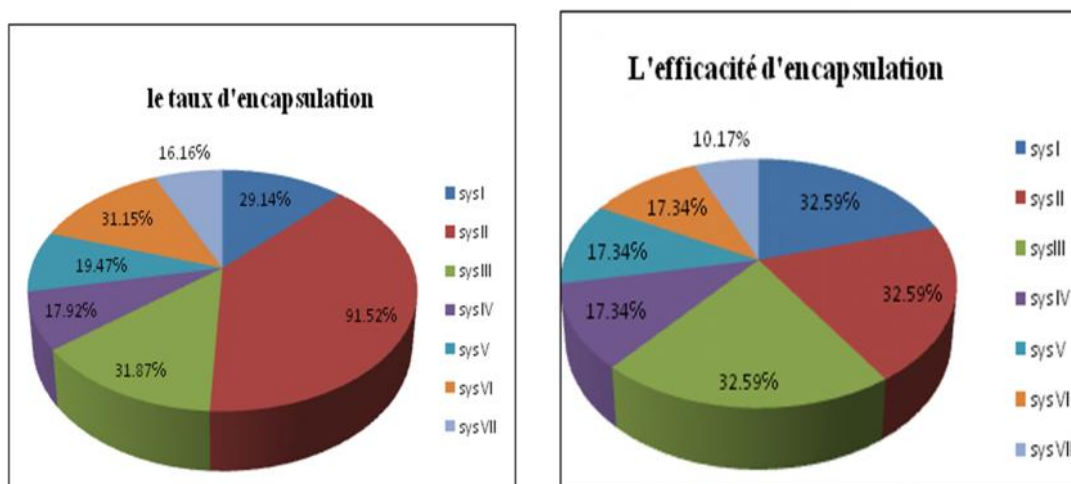
Le premier groupe constitué des systèmes chitosane avec glutaraldéhyde 0.1% et 1% et le second groupe constitué du système Chitosane – alginate avec glutaraldéhyde 0.1 et 1%.

En premier lieu, on remarque que les microsphères d'alginate absorbent rapidement le liquide et se dégradent dans les deux heures qui suivent leur immersion. Pour le système de chitosane- alginate glutaraldéhyde 0.1%, il y'a une absorption rapide qui atteint 220% suivi d'une décroissance du taux de gonflement et d'une façon rapide, ce qui correspond à une dégradation par éclatement de la structure membranaire du système.

Le deuxième groupe, les systèmes chitosane - alginate commencent à se dégrader juste après leur contact avec le milieu considéré. Pour ceux réticulés avec le glutaraldéhyde se gonflent très lentement, on note un taux de 5.76 % obtenu après 26 h. après 45 heures, le taux de gonflement atteint son maximum.

#### IV. 3. 9. Taux et efficacité d'encapsulation

L'encapsulation réalisée dans notre étude a été évaluée et les taux d'encapsulation et l'efficacité ont été estimés. Ci-dessous, les valeurs calculées sont représentées par la figure IV.21



**Figure IV.21.** Taux et efficacité d'encapsulation pour les différents systèmes

D'après la figure IV.21, on peut constater que la teneur en principe actif encapsulé est relativement élevée pour systèmes réticulés avec le glutaraldéhyde.

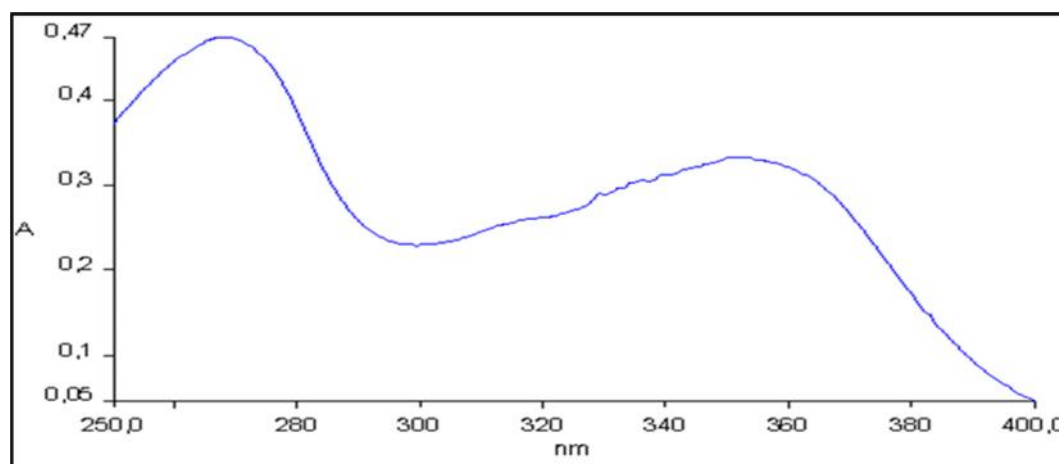
### IV. 3.10. Cinétique de libération de doxycycline

Afin d'évaluer l'encapsulation de la doxycycline pour les systèmes préparés, des tests de libération sont menés. L'évaluation de la quantité libérée est effectuée par la méthode spectrophotométrique UV. Afin de faciliter l'évaluation de la doxycycline libérée, on a procédé à la détermination de la courbe d'étalonnage.

#### IV. 1. 3. 10. 1. Déterminer de la longueur d'onde spécifique

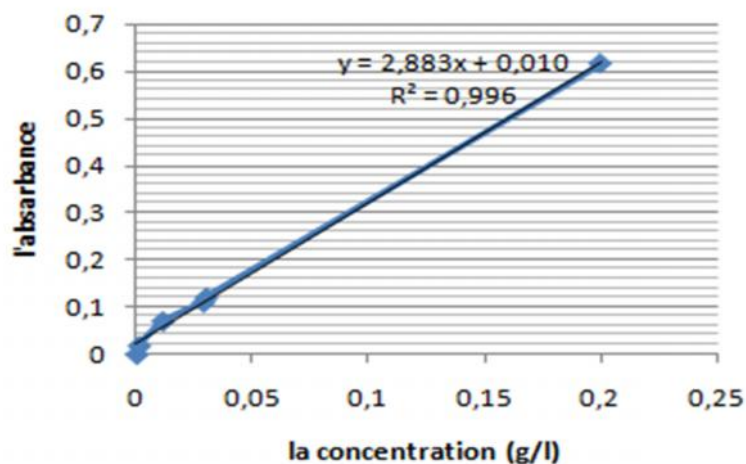
La détermination de la longueur d'onde spécifique d'absorption de la doxycycline est effectuée en utilisant le protocole général connu, qui consiste la préparation d'une série de solutions de la substance active recherchée à différentes concentrations. Ensuite, il faut déterminer les densités optiques correspondantes à la longueur d'onde spécifique.

La longueur d'onde spécifique, dans notre cas a été obtenue par balayage. La courbe relative à ce balayage est présentée ci dessous



**Figure IV.22.** Détermination de longueur d'onde optimale d'absorption.

D'après les données de la figure, la doxycycline absorbe la lumière aux deux longueurs d'ondes suivant  $\lambda = 275$  et  $\lambda = 346$ . La longueur d'onde correspondantes à l'absorption maximale est  $\lambda = 275$ nm. Cette valeur a été utilisée pour tracer la courbe d'étalonnage. Les différentes densités optiques obtenues pour les concentrations préparées sont reportées sur le graphe.



**Figure IV.23.** La courbe étalonnage de la doxycycline.

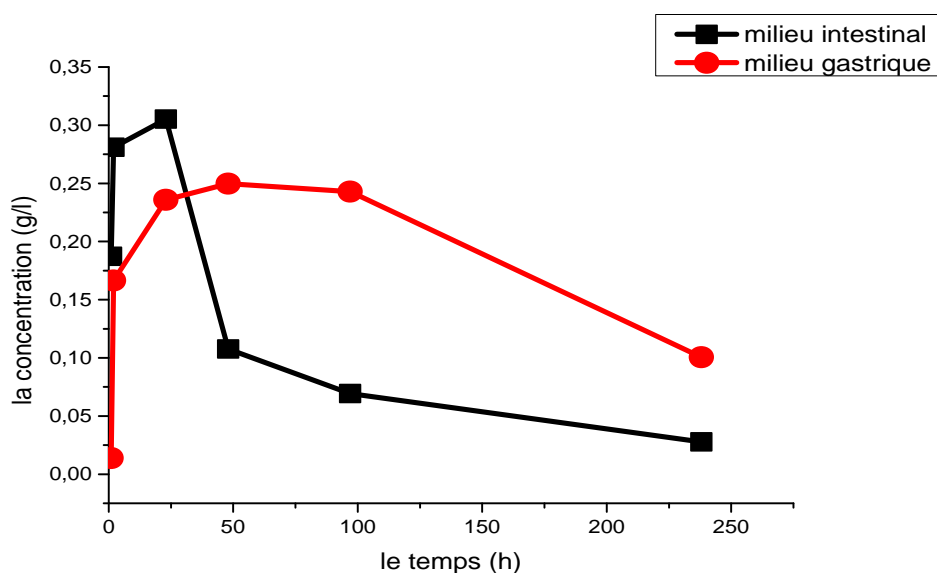
La droite représente la variation de la densité optique en fonction de la concentration est  $y=2.883x+0.010$ .

#### IV. 3. 10. 2. Libération in vitro

En première lieu on a effectué les tests de libération dans le milieu gastrique et intestinal.

Les résultats sont portés sur les figures ci-dessous

##### 🚩 Système I



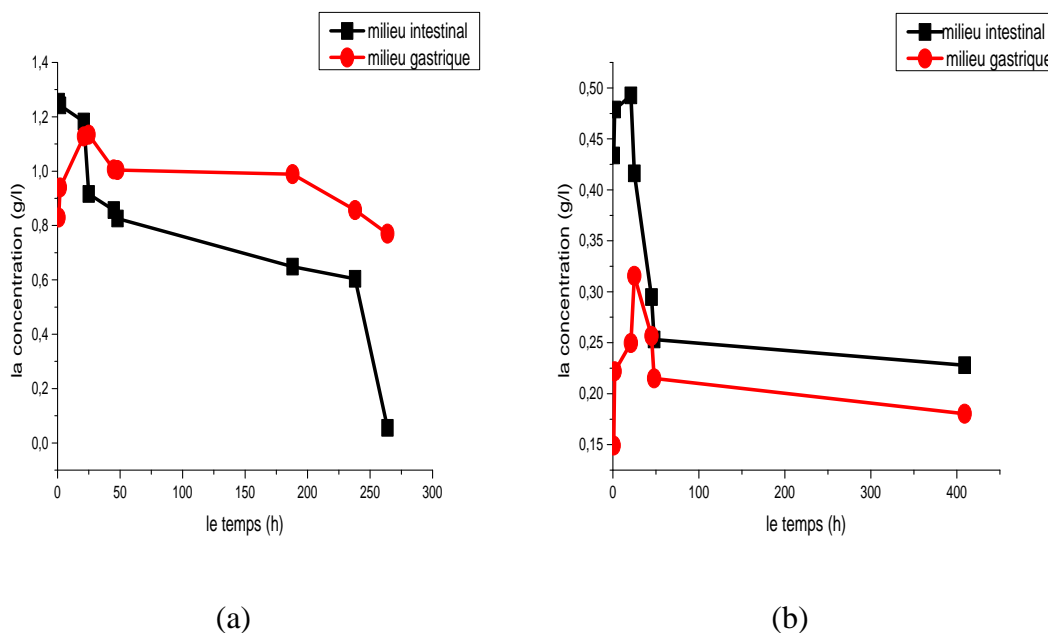
**Figure IV.24.** Cinétique de libération pour le système I.



D'après la figure, on peut noter que dans le milieu gastrique la concentration a atteint la valeur de 0.16g/l après 2 heures, elle augmente ensuite vers la valeur 0.24g/l après 48h. On enregistre une décroissance graduelle. Dans le milieu intestinal, on relève que la quantité libérée croît jusqu'à 2h où une concentration d'environ 0.28 g/l est obtenue. Ensuite, on remarque une décroissance graduelle.

Ceci peut être expliqué cela que le chitosane qui présente le caractère cationique, il permet aux microsphères à base de chitosane d'avoir la capacité d'absorber lentement dans le milieu gastrique alors que dans le milieu intestinal, l'absorption est plus importante. Au cours de temps la membrane de chitosane devient faible et la doxycycline aura une facilité de se libérer dans le milieu. Ce comportement indique que le pH a un effet important sur le comportement des microcapsules. En outre d'autres facteurs peuvent avoir une influence sur la vitesse de libération du principe actif, parmi eux la porosité, la charge électrique de la surface et le degré de gonflement [6].

### 🚦 Système II et III



**Figure IV .25.** Cinétique de libération de système II (a) et le système III (b)

En examinant les courbes représentées par la figure IV .25, qui concerne les systèmes réticulés par le glutaraldéhyde, on constate que la cinétique de libération peut être subdivisée en trois phases. La première ascendante rapide suivi d'une deuxième descendante lente et enfin une troisième décroissante mais rapide. Dans le milieu

intestinal, on peut noter que la concentration maximale atteinte après 1h pour le système chitosane réticulé avec glutaraldéhyde 1% est de 1.25 g/l.

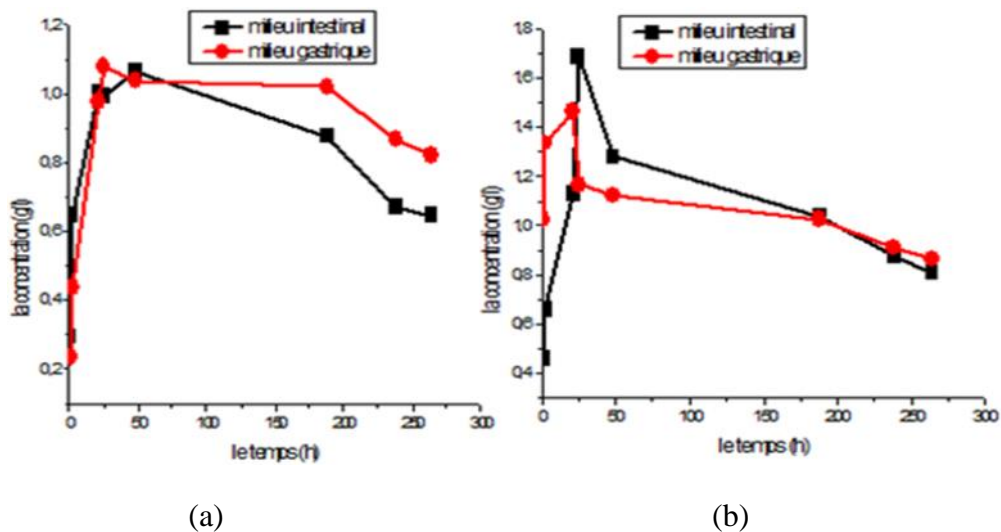
Dans le milieu gastrique la valeur est d'environ de 0.82 g/l pour le même temps, elle augmente vers 1.13 g/l après 24h.

On peut ressortir que les systèmes réticulés avec glutaraldéhyde sont plus stables à la libération. Egalement, dans ces systèmes, on a noté que le taux de libération est plus important dans le milieu intestinal.

Dans la deuxième phase, on constate que la décroissance a pris un de 200 heures pour enfin on voit une décroissance plus rapide. Ceci peut indiquer que la libération a atteint un stade de stabilité après une heure et durant 200 heures. Ensuite, dans la troisième phase, la quantité de doxycycline paraît totalement libérée.

Nous avons constaté que les systèmes réticulés par le glutaraldéhyde libèrent d'une façon très lente.

#### ✚ Système VII et IV

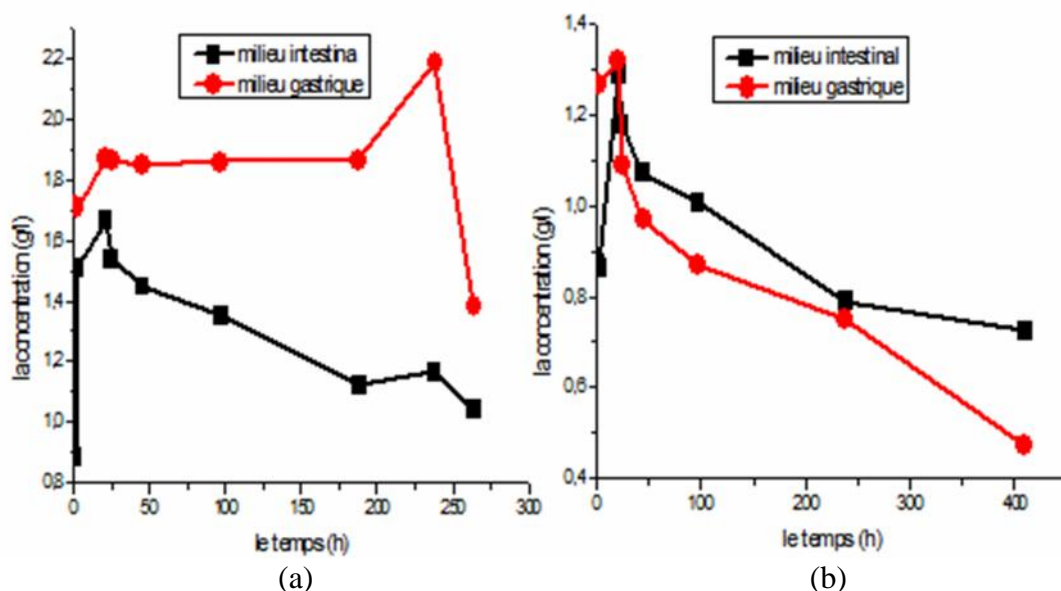


**Figure IV .26.** Cinétique de libération de système VII (a) et le système IV (b) .

D'après la figure IV .26, On peut constater la présence de trois phases. La première phase ascendante et l'augmentation de la concentration est graduelle jusqu'à elle atteint un maximum de 1.03g/l dans le système gastrique concernant le système IV. Dans le milieu intestinal la concentration maximale est plus importante elle avoisine 1.68g/l, la seconde phase, une légère diminution de concentration pour les deux systèmes est observée. La troisième est caractérisée par une décroissance rapide.

L'augmentation durant la première phase est expliquée par la diffusion de doxycycline dans le milieu suite à l'absorption de l'eau. La formation de complexes polyélectrolytes chitosane -l'alginate (polyanioniques) donne une certaine stabilité aux systèmes.

#### 🚩 Système de V et VI



**Figure IV .27.** Cinétique de libération de système V (a) et le système VI (b)

D'après la figure IV .27 , on remarque dans le cas de système chitosane- alginate réticulé par le glutaraldéhyde 1%, dans le milieu gastrique la libération est graduelle au cour de temps jusqu'à ce qu'elle atteinte une concentration maximale de 2.18g/l pour une longue période alors que pour la même période dans le milieu intestinal on enregistre 1.18 g/l, et En ce qui concerne le système chitosane-alginate réticulé avec le glutaraldéhyde 0.1 , on relève une concentration d'environ 1.31g/l après 21h dans le milieu gastrique. Ensuite, on note une décroissance pour les deux systèmes.

L'augmentation au cour de temps peut être expliquée par la libération de doxycycline dans le milieu suite à l'élargissement des pores puisque on constate que la libération continue et d'une façon graduelle.

On relever que le glutaraldéhyde 1% assure une certaine stabilité aux microcapsules suite à la réduction des pores. Cette réduction des pores est obtenue par la formation d'une membrane plus rigide formée par l'interaction du glutaraldéhyde avec les polymères. Ainsi, ces systèmes peuvent être considérés pour une libération prolongée.

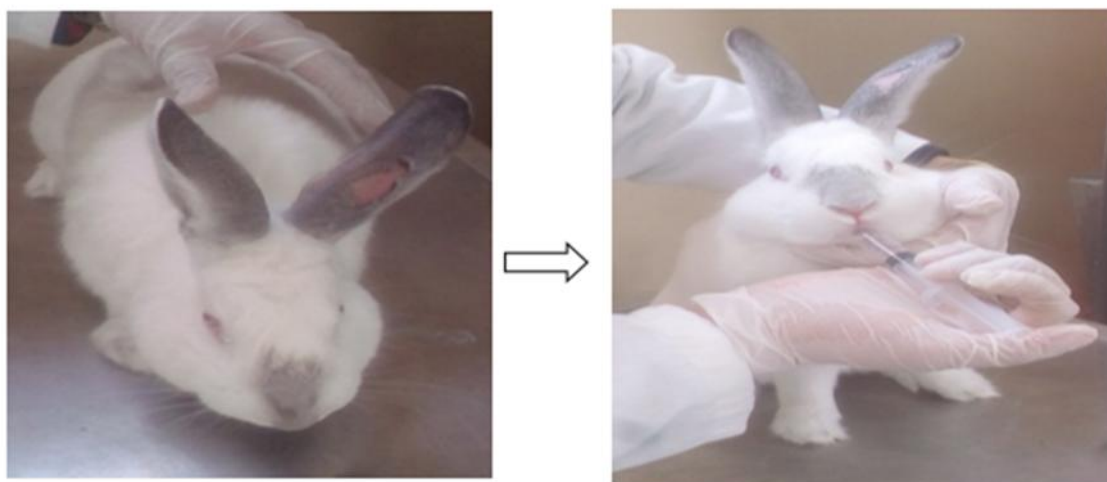
### IV. 3. 10. 3. Libération in vivo

Dans la suite de notre étude et pour évaluer réellement la libération de la doxycycline, on a considéré les tests in vivo. Les tests In vivo sont effectués sur les lapins dans la perspective de suivre la libération de la doxycycline dans le milieu biologique avec toutes ses contraintes.

L'évaluation de la libération est déterminée par l'analyse des prélèvements du sang par spectrométrie UV à la longueur d'onde spécifique de la doxycycline.

Les tests sont effectués selon le protocole suivant

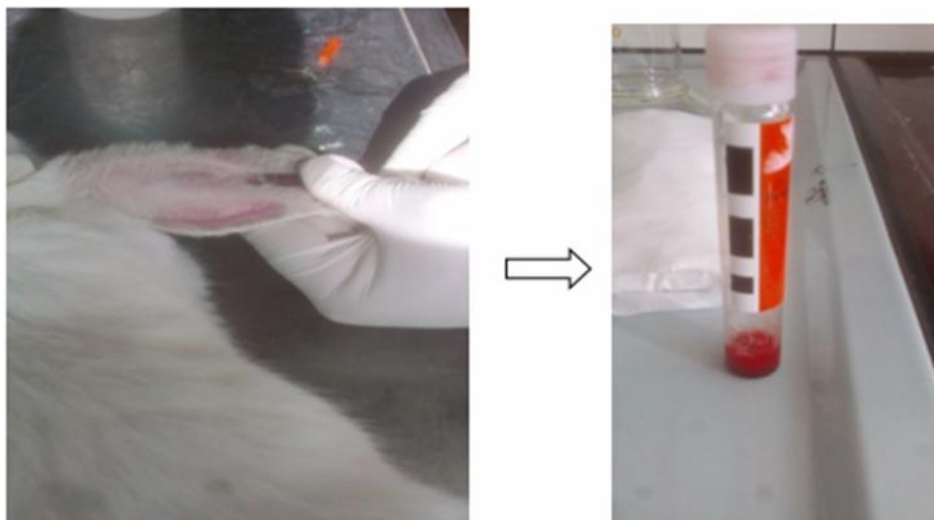
Les microsphères sont administrées à l'animal par gavage



**Figure IV .28.**Technique de gavage.

La libération de la doxycycline est suivie par l'analyse des prélèvements du sang dans le temps

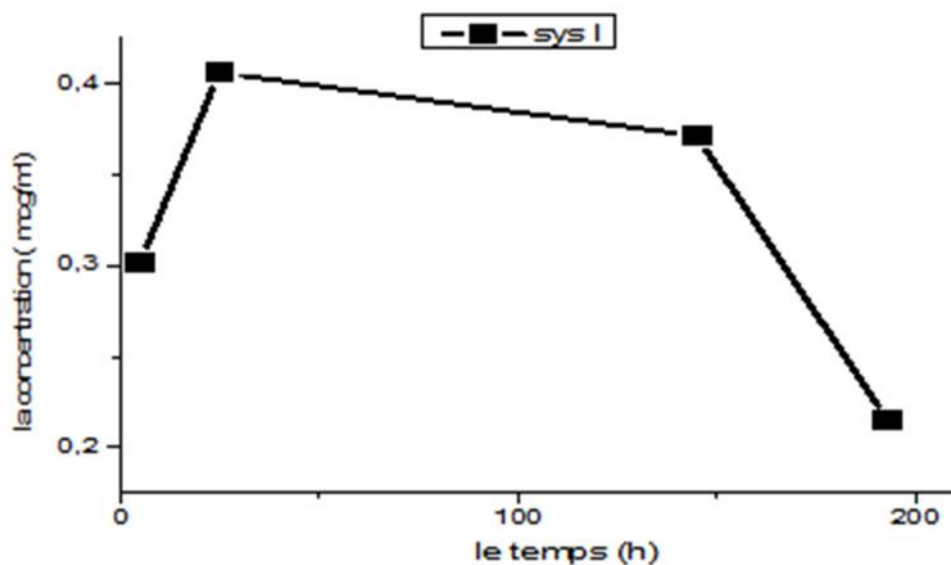
Une fois que le prélèvement est effectué, on passe à la centrifugation du sang. On récupère ensuite le filtrat qui correspond au plasma sanguin et on passe à la détermination de la densité optique correspondante à la longueur d'onde de la doxycycline choisie =275 nm. La concentration correspondante est déterminée en utilisant la droite d'étalonnage.



**Figure IV .29.** Technique de prélèvement du sang.

Les résultats relatifs aux tests in vivo obtenus sont présentés par les figures ci-dessous :

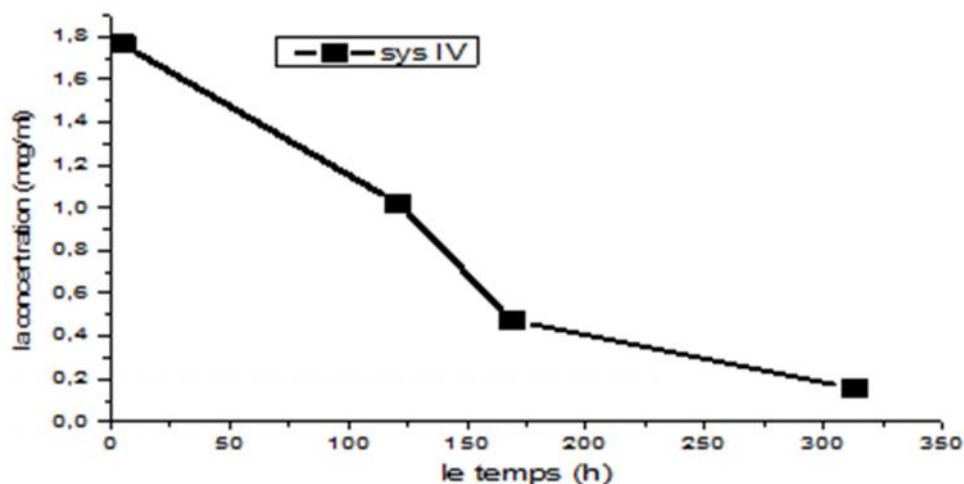
✚ **Système de chitosane**



**Figure IV .30.** Cinétique de libération in vivo de système I.

L'allure de la figure IV.30 peut être subdivisée en 3 étapes. Dans un premier temps, elle s'accroît graduellement jusqu'à à une concentration maximale 0.4 µg/ml. Cette phase correspond à l'absorption de la doxycycline. Dans la deuxième phase correspond à l'équivalence entre l'absorption et élimination qui est maintenue durant 120 heures. Ensuite, on constate une décroissance progressive de la quantité atteignant 0.21µg/ml après 193 heures. Enfin la concentration vers la valeur nulle correspondante à la disparition totale du principe actif.

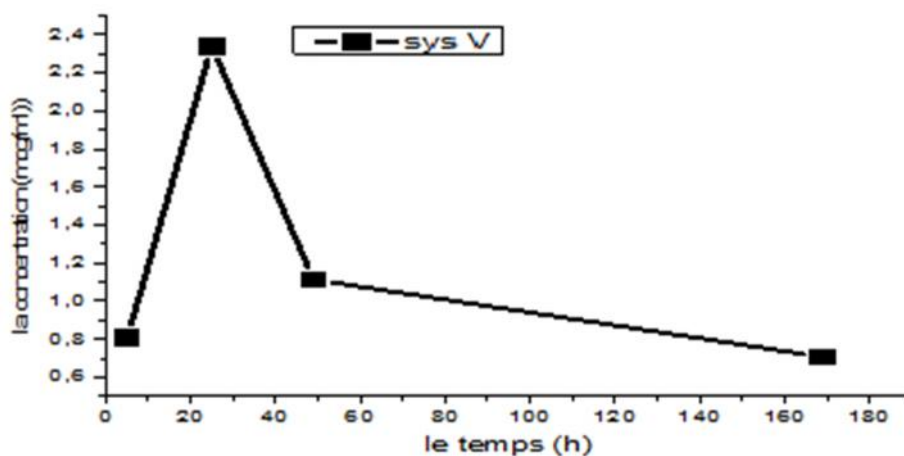
#### ✚ Système de Chitosane et alginate dans HMPS



**Figure IV .31.** Cinétique de libération in vivo de système IV.30

D'après la figure IV.31 la courbe présente deux phases. Dans un premier temps, la concentration atteint un maximum aux environs de  $1.76\mu\text{g/ml}$  après 5h, Dans la deuxième phase, on note une décroissance lente en atteignant une valeur de  $1.01\mu\text{g/ml}$  après 121heures. En phase finale, la valeur de doxycycline estimée est  $0.15\mu\text{g/ml}$

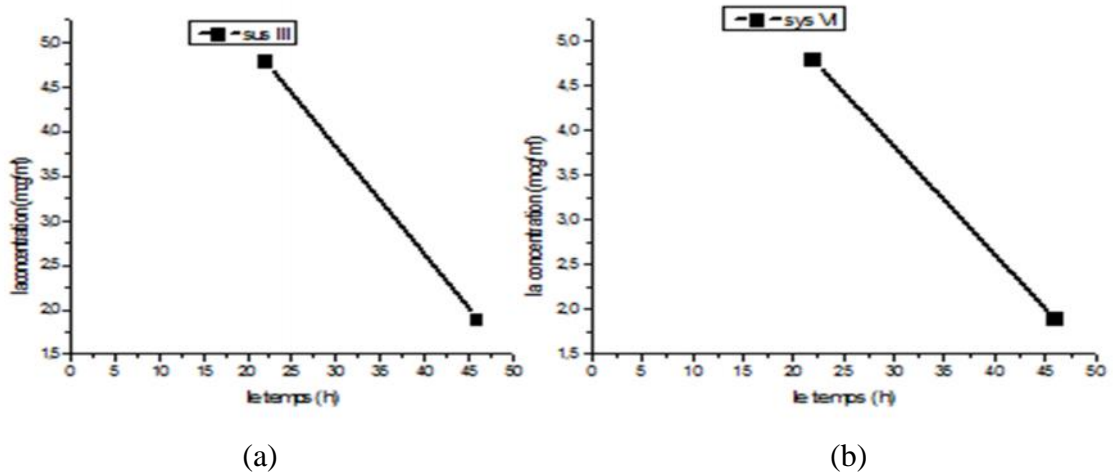
#### ✚ Système de chitosane et alginate avec glutaraldéhyde 1%



**Figure IV .32.** Cinétique de libération in vivo de système V .

La figure IV.32 montre une augmentation de la libération graduelle qui atteint un maximum d'environ  $2.33\mu\text{g/ml}$  après 25h puis on remarque une décroissance vers la valeur de  $0.70\mu\text{g/ml}$  après 169h. Ceci explique qu'après libération de la doxycycline, elle est absorbée et passe dans l'irrigation sanguine. De là, elle est éliminée par les urines.

### ✚ Systèmes chitosane et alginate les deux réticulant avec le glutaraldéhyde 0.1%

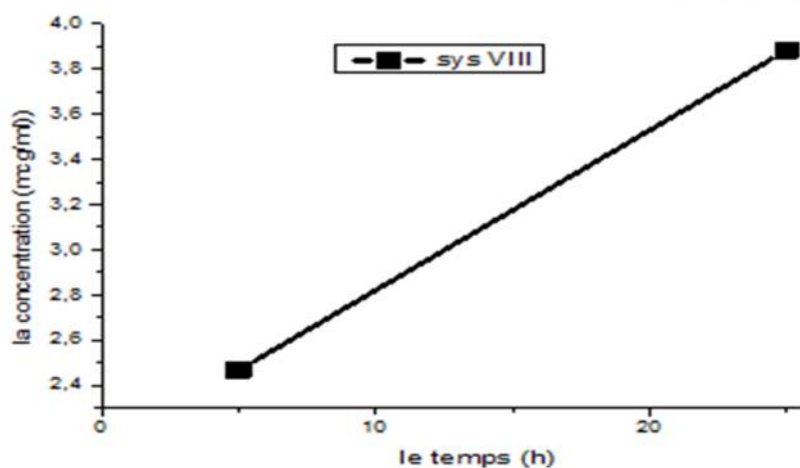


**Figure IV .33.** Cinétique de libération in vivo de système III (a) et système VI (b)

Pour le système chitosane réticulé par le glutaraldéhyde 0.1%, les tests in vivo ont permis de déduire que la libération est obtenue. On peut noter qu'à travers les résultats présentés dans la figure IV.33, que la doxycycline est libérée et absorbée à travers la muqueuse intestinale. On enregistre après 22 h, une concentration plasmatique maximale d'environ 4.78 µg/ml. Cette concentration décroît après 46 heures et atteint 1.88 µg/ml.

Les tests ont révélé pour le système de chitosane- alginate réticulé par le glutaraldéhyde 0.1% qu'après 5h, une concentration de 2.42 µg/ml est déterminée qui décroît après 25 heures à 1.86 µg/ml.

### ✚ Système de chitosane et alginate dans CaCl<sub>2</sub>



**Figure IV .34.** Cinétique de libération in vivo de système VIII.

D'après la figure IV.34, on remarque que le système chitosane– alginate préparé dans le chlorure de sodium comme le montre la figure libère son contenu après 25 heures.

#### IV. 4. Application pharmaceutique

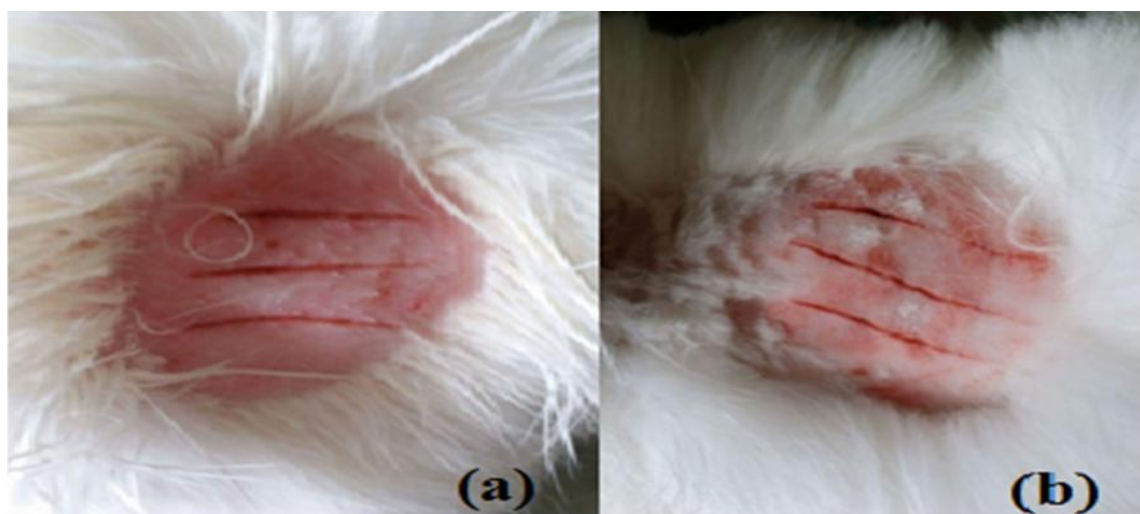
Afin de voir la possibilité de formulation galénique de nos microcapsules, on a effectué une préparation de pommade qu'on a appliquée sur des lapins. Trois systèmes sont utilisés pour la préparation des pommades, ils sont reportés dans le tableau IV.3.

**Tableau IV.3: les différentes doses des pommades préparées**

Système	V			IV	I
Dose de pommade	0.5	0.1	0.05	0.01	0.05

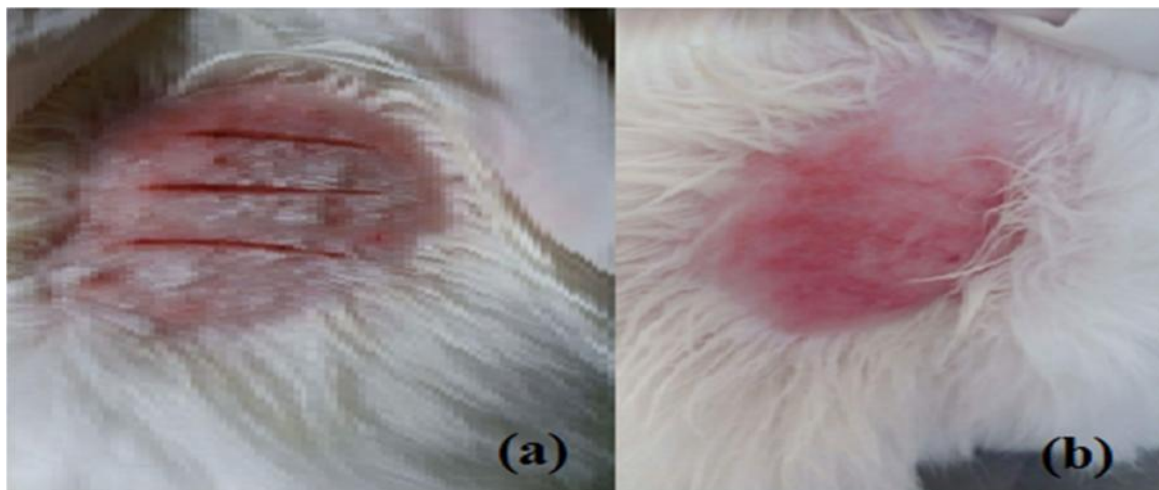
La mesure de la libération est contrôlée par l'observation de la cicatrisation des plaies occasionnées sur les lapins. Pour ce faire, un des lapins sur lequel on a fait des plaies est maintenu comme témoin.

Sur les autres, on a appliqué la pommade préparée. On a illustré les différents résultats par les deux images ci-dessous.



**Figure IV .35.** Lapin blessé comme témoin (a) moment de blesser et (b) Après 24 h.





**Figure IV .36.** Application pommade (a) moment de blesser et (b) Après 24h.

A travers les différentes observations notées pour les cinq pommades préparées, nous pouvons ressortir les conclusions suivantes :

- )] Les pommades préparées à base de microsphères possèdent une consistance semi-dure et une bonne homogénéité
- )] L'application des pommades préparées à base microsphères chargées en doxycycline ont présenté un effet sur les blessures en empêchant la croissance des bactéries sur le site de la lésion.
- )] Il a été observé que les pommades préparées à base de chitosane-alginate-glutaraldhyde1% aux doses 0.5 et 0.1 sont plus efficaces que celles de la dose 0.05 .
- )] De plus, la pommade de chitosane 0.05% rétabli rapidement que celle préparée à base de chitosane –alginate - glutaraldhyde1% de même dose.
- )] Enfin, on peut récapituler que les pommades préparées à base des différents systèmes ont confirmé l'effet thérapeutique.

## IV. 5. Usage de l'aspirine

Dans cette deuxième étape de notre partie expérimentale, on a entrepris une encapsulation de l'aspirine et d'essayer de voir la compatibilité des systèmes avec un autre type de principe actif.

Avant d'entamer la préparation des microcapsules, on effectué tout d'abord la caractérisation de l'aspirine utilisée.

### IV. 5. 1. Caractérisation physicochimique

#### A. Aspect

Cette caractéristique à été déterminée par l'observation visuelle, on a constaté que l'aspirine présente un aspect blanc.



Figure IV .37. Photographie de l'aspirine

#### B. solubilité

Dans ce test on a confirmé la solubilité de l'aspirine dans l'eau.

### IV. 5. 2. Préparation des microbilles

La préparation est effectuée de la même manière que pour la doxycycline sauf que dans ce cas on a utilisé le principe actif, l'aspirine.

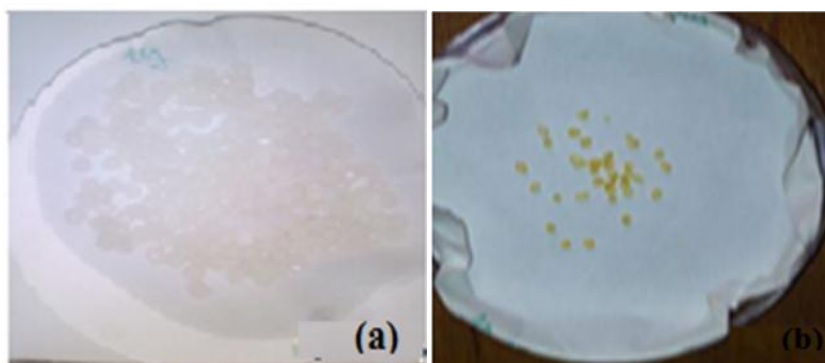


Figure IV .38. Les microsphères de l'aspirine : a- humide, b- sèche.

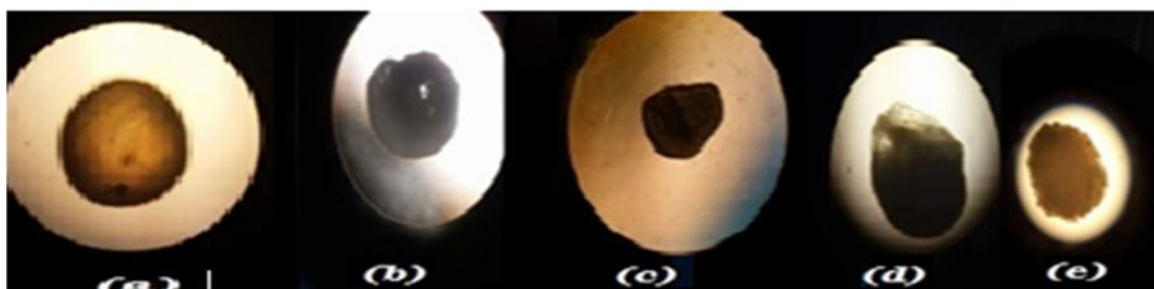
**Tableau IV.4 : Identification des systèmes de principe actif aspirine**

Les systèmes	Identification
Système I	les microsphères de chitosane
Système II	les microsphères de chitosane-alginate dans HMPS
Système III	les microsphères de chitosane-alginate- Glutaraldéhyde (1 %)
Système IV	les microsphères de chitosane-alginate-Glutaraldéhyde (0.1 %)
Système V	les microsphères de l'alginate

Les micobilles obtenues présentés par la figure IV.38 semblent avoir une forme sphérique.

Afin de vérifier cette observation, on a mené une observation par microscope optique.

### IV. 5. 3. Morphologie par microscope optique



**Figure IV .39.** Morphologie des microcapsules avec principe actif (l'aspirine)

- (a) Chitosane , (b) Chitosane – alginate, (c) Chitosane –alginate-Glutaraldéhyde(1%)  
 (d) Chitosane - alginate-Glutaraldéhyde (0.1%) , (e) alginate . ,

L'étude morphologique a montré que la forme des particules est relativement sphérique.

### IV. 5. 4. Cinétique de libération de l'aspirine

La cinétique de libération est suivie par la mesure de la densité optique par la méthode spectrophotométrique UV. Dans un premier temps, on a déterminé la courbe d'étalonnage.

#### IV.5. 4. 1. Détermination de la courbe d'étalonnage

La longueur d'onde utilisée est  $\lambda = 227$  nm, les valeurs d'absorbances des différentes dilutions sont reportées sur le graphe ci-dessous.

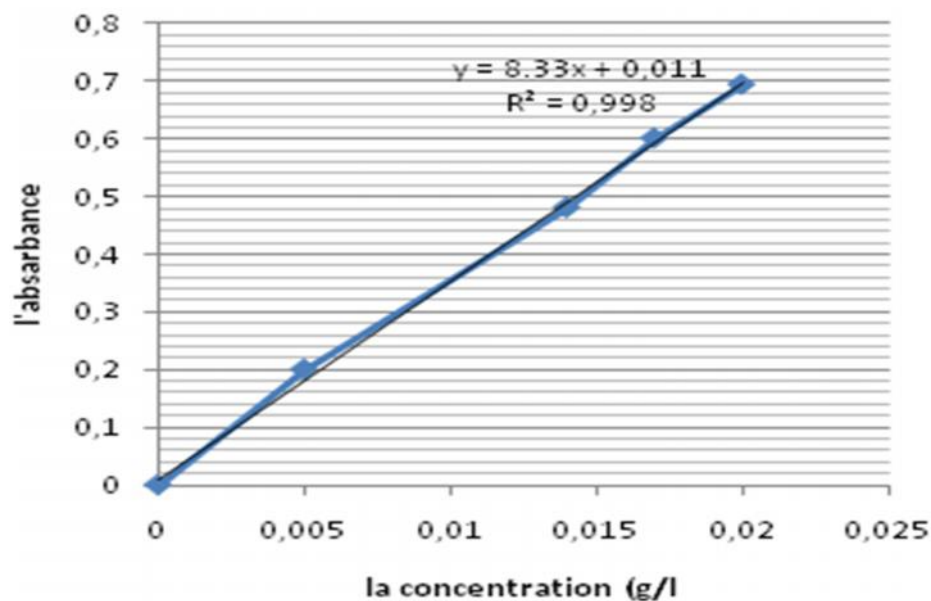


Figure IV .40. La courbe d'étalonnage d'aspirine

La droite qui représente la variation d'aspirine en fonction de la concentration est

$$Y = 8.33x + 0.011$$

#### IV.5. 4. 2. Libération in vitro

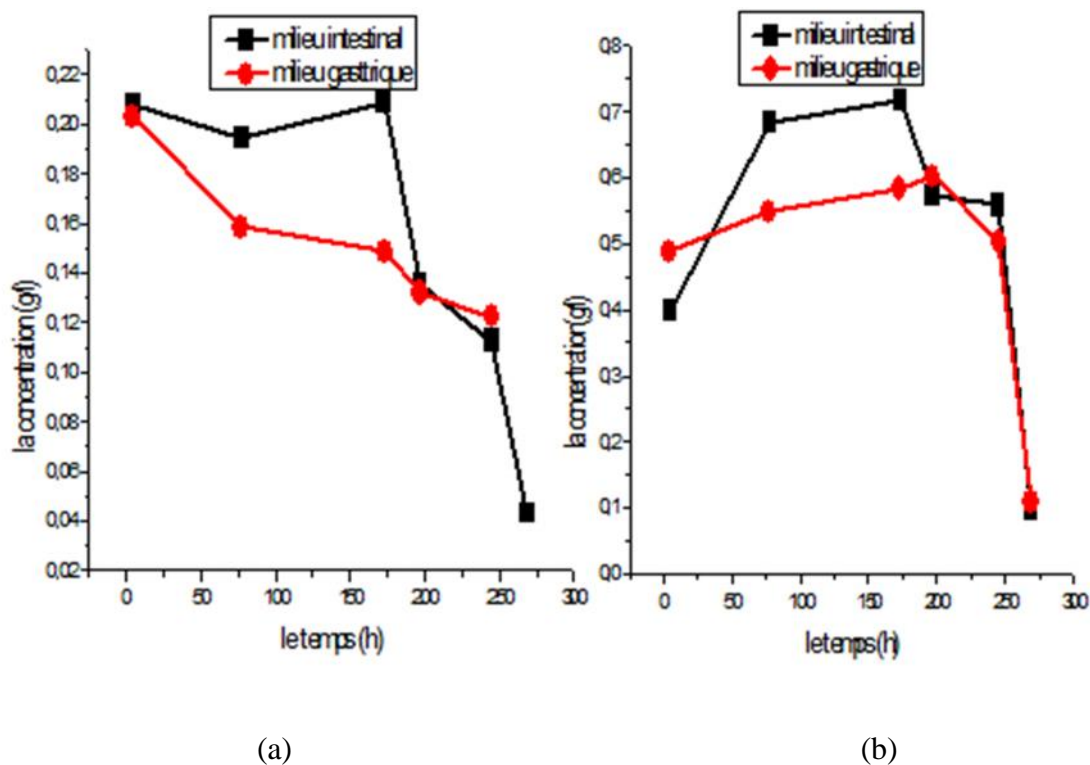
La cinétique de libération dans les deux milieux gastrique et intestinal a conduit aux valeurs illustrées par les figures ci-dessous

##### ✚ Système I et II

On peut constater à travers la courbe ci-dessous que la libération dans le milieu intestinal suit une allure décroissante pour le système I après avoir atteint une concentration maximale dans un temps très limité. Ce qui conduit à dire que le système se dégrade rapidement et libère presque la totalité de principe actif dans les premières heures. Une deuxième hypothèse peut être émise est que la solubilité de l'aspirine dans les solutions aqueuses peut constituer une raison de libération facile.

Pour le système II, on relève au début une croissance plus moins rapide, ensuite, on voit un palier de stabilité et enfin la chute de la concentration.

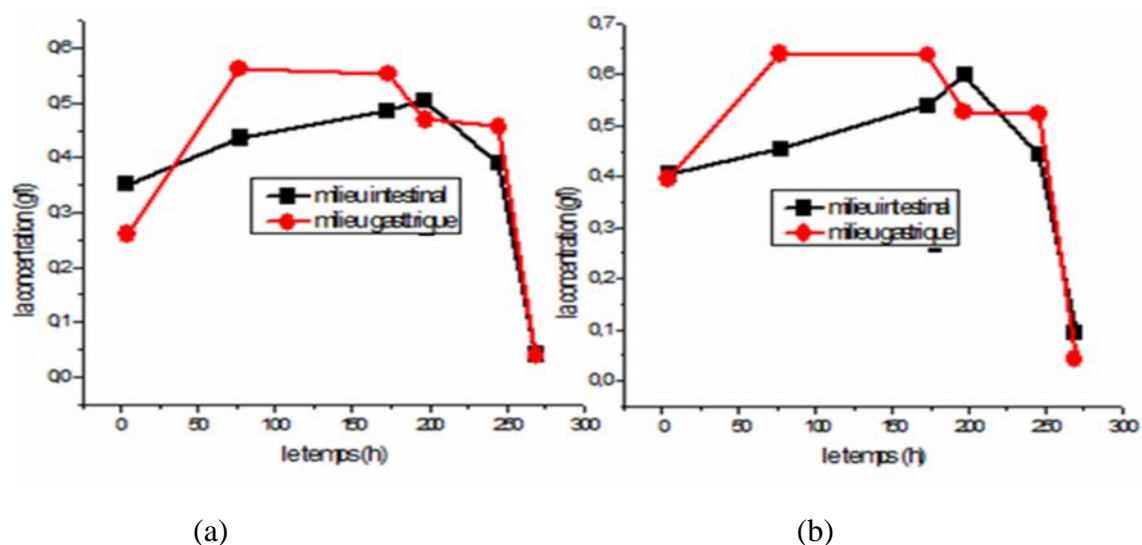
Cette dernière étape montre que la totalité de l'aspirine a été libérée. Ce système II, montre une certaine stabilité par rapport au système I



**Figure IV.41.** Cinétique de libération de système I (a) et le système II (b).

Pour le système chitosane-alginate, dans les premières heures, on peut remarquer que les microparticules commencent à libérer l'aspirine où la concentration, dans le milieu intestinal atteint une valeur de 0.39 g/l alors que dans le milieu gastrique la concentration est de 0.48g/l. Ces valeurs augmentent respectivement vers 0.71g/l et 0.58g/l. on peut déduire que le milieu intestinal favorise mieux la libération. Ceci est un atout intéressant pour la conception des systèmes à libération prolongée.

### ✚ Système III et IV

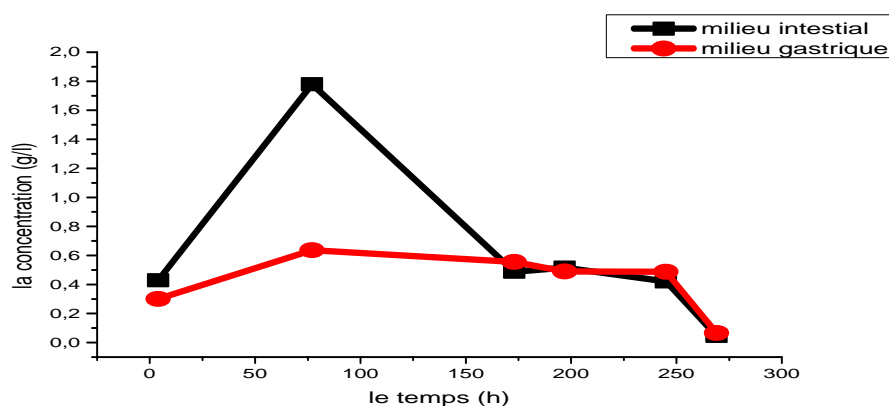


**Figure IV.42.** Cinétique de libération de système III (a) et le système IV (b).

L'analyse des courbes de libération pour les microcapsules des systèmes III et IV, on voit une croissance graduelle jusqu'à atteindre une concentration maximale d'environ 0.63g/l et 0.55g/l dans le milieu gastrique. On peut expliquer que cette augmentation provient de l'absorption du liquide du milieu et par suite l'aspirine trouve la facilité de se dissoudre et diffuse à travers la paroi polymérique.

### ✚ Système V

Le système V est le système préparé à base de l'alginate, il présente une libération très rapide dans le milieu intestinal suite à la capacité de l'alginate à absorber l'eau. On note une concentration maximale 1.77 g/l dans le intestinal. Dans la même période, dans le milieu gastrique, la concentration obtenue est de 0.63 g/l.



**Figure IV.43.** Cinétique de libération d'aspirine pour le système V.

### IV. 5. 4. 3. Libération in vivo

Dans la perspective de suivre la libération d'aspirine in vivo, nous avons procédé à des tests sur des souris.

Le même protocole d'analyse de la concentration est suivi. Un prélèvement du sang, centrifugé ensuite analysé par spectrophotométrie UV. A la longueur d'onde spécifique de l'aspirine.

➤ Les tests sont effectués selon le protocole suivant

Les microsphères sont administrées à l'animal par gavage

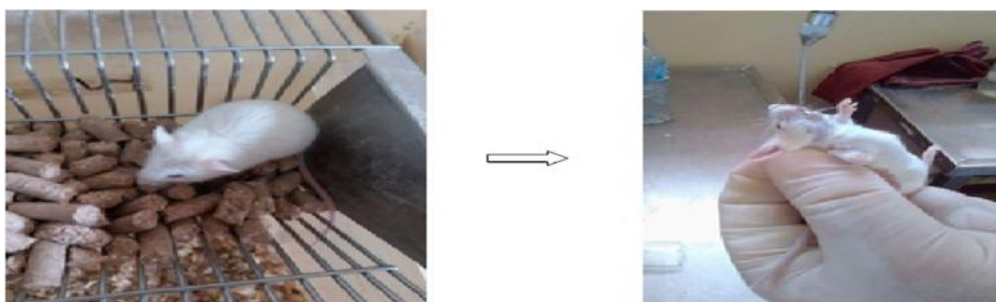


Figure IV. 44. Technique de gavage

Les résultats obtenus sont présentés par les figures ci-dessous :

#### ✚ Système I

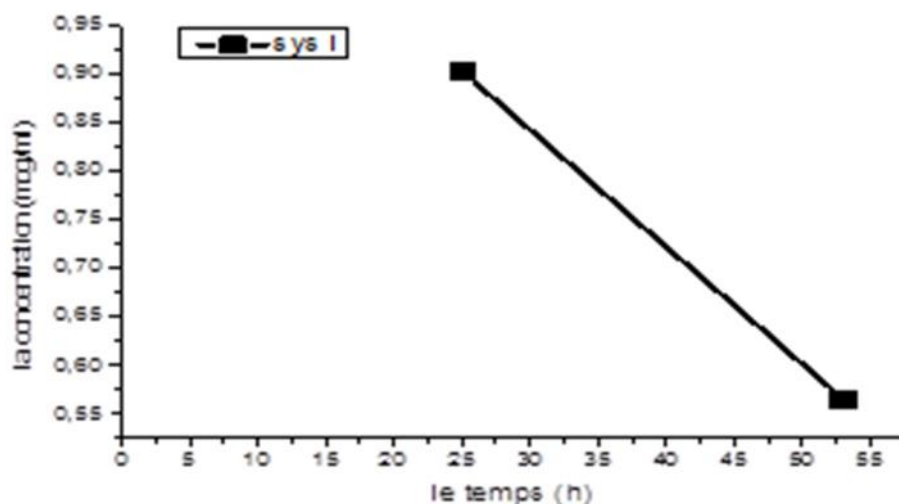
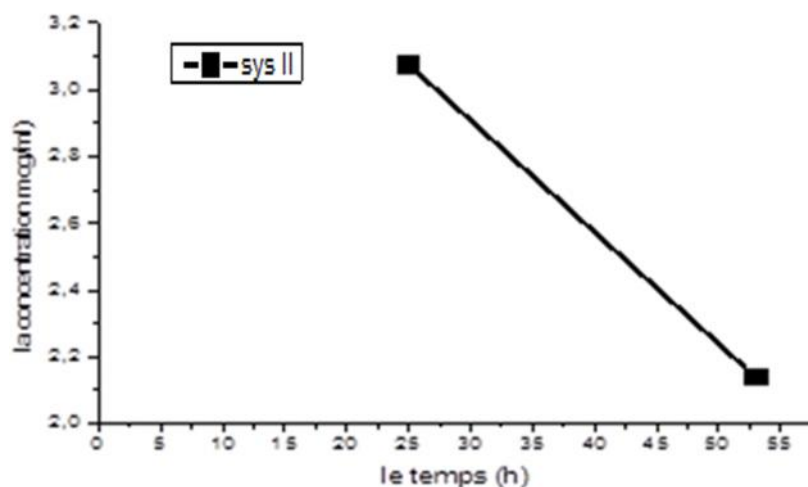


Figure IV. 45. Cinétique de la libération in vivo de système I

D'après la figure on peut remarquer que la concentration après 25 heure a atteint la valeur de  $0.90\mu\text{g/ml}$ , ensuite elle descend vers  $0.56\mu\text{g/ml}$  après 53 heures. On peut dire que la libération est très faible et le système est considéré comme résistant à la diffusion.

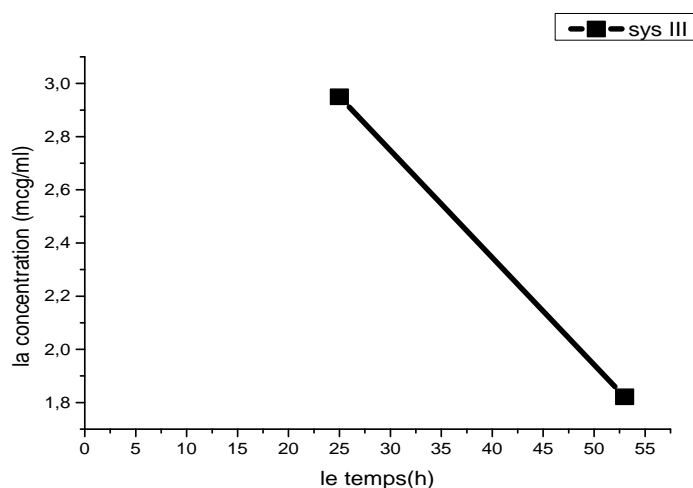
### Systeme II



**Figure IV. 46.** Cinétique de la libération in vivo d'aspirine système II

L'évolution de la concentration avec le temps confirme que ce système libéré l'aspirine et elle a distribué dans la plupart des tissus et les organes, la concentration maximale égal à  $3.07\mu\text{g/ml}$  puis une décroissance environ  $2.14\mu\text{g/ml}$ .

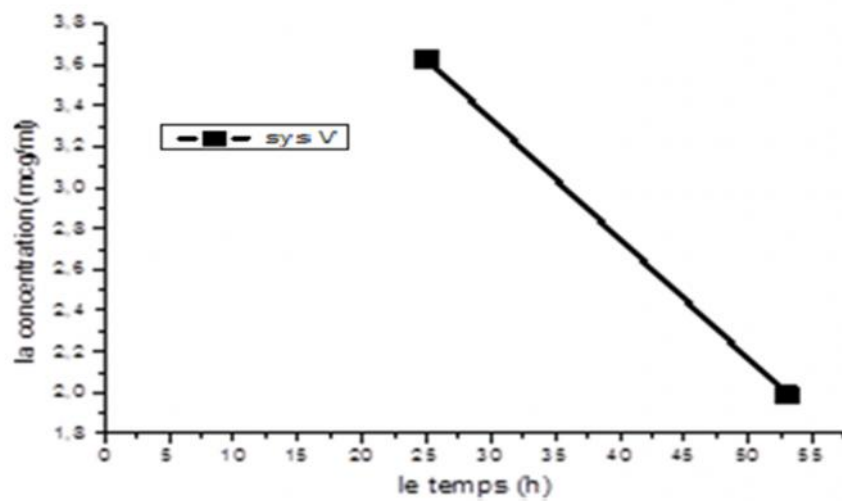
### Systeme III



**Figure IV. 47.** Cinétique de la libération in vivo d'aspirine par les microcapsules de système III en fonction du temps.

Dans ce système la concentration maximale environ de  $2.94\mu\text{g/ml}$  après 25 heures que signifie l'aspirine existe dans la circulation sanguine puis une légère diminution après 53heure est  $1.82\mu\text{g/ml}$ .



**Systeme V**

**Figure IV. 48.** Cinétique de la libération in vivo d'aspirine de système V .

D'après la figure on peut conclure que la quantité libérée s'accroît en arrivant après 25heures à une concentration égale à 3.62  $\mu\text{g/ml}$ . Après 53 heures, cette concentration descend vers 1.98  $\mu\text{g/ml}$ .

## Conclusion générale

Le travail traité dans cette étude consiste à la préparation de la microsphère à base d'Alginate et chitosane. L'étude a été menée en deux principales étapes. Dans la 1<sup>ère</sup> étape, on l'a consacré à l'étude des microsphères de la doxycycline.

L'étude morphologique a révélé que les microsphères sont sphériques. Le support de la microscope optique a confirmé la sphéricité des microsphères.

Les analyses par FTIR ont permis de vérifier la formation des membranes envisagées entre le chitosane et l'alginate.

Les tests de gonflements effectués ont donné des valeurs de 72% pour le système chitosane glutaraldéhyde 1%, La réticulation par le glutaraldéhyde a permis de croître la solidité de ses systèmes

De plus les tests de libération in vivo et in vitro ont permis de ressortir que le système est capable de prolonger la libération de la doxycycline. On peut noter pour le système de chitosane, la libération atteint 0.28 g/l à 2h. Avec la réticulation, ce temps est augmenté jusqu' à 24h pour atteindre un taux de libération de 1.18 g/l.

Les tests in vivo, ont permis de conclure que les systèmes peuvent être efficaces au sein des membranes biologiques. On a d'ailleurs vue que la doxycycline est présente dans le sang lors de l'administration des systèmes chitosane et alginate réticulant avec glutaraldéhyde1% où un taux maximum de 2.33 µg/ml est observé après un temps de 22h.

Un dernier point qu'on a voulu confirmer, l'application des microsphères obtenues dans une formulation galénique. A cette effet, des pommades préparées par les microsphères et appliquées sur des lapins ont montré leur efficacité.

A titre d'exemple la pommade à base de chitosane-alginate réticulé par le glutaraldéhyde, appliquée sur le lapin blessé a conduit à un résultat positif. On a constaté une cicatrisation des lésions et la reformation des poils.

Dans la deuxième partie, on a procédé à l'encapsulation du deuxième principe actif considéré dans cette étude, qui est l'aspirine.

L'étude morphologique des microbilles obtenues a montré que la forme des systèmes est sphérique.

De plus, les tests de libération in vitro et in vivo réalisés ont permis de confirmé que les systèmes présentent une capacité de libération de l'aspirine. On peut noter pour le système chitosane, la libération a atteint 0.90µg/ml après 25 h et 0.56 µg/ml après 53h.

Nous estimons que les résultats obtenus lors de cette étude sont satisfaisants. Cependant l'étude n'est pas très exhaustive, il est donc souhaitable d'envisager d'éventuelles études sur les biopolymères et considérer les différents aspects qui peuvent influencer sur la conception de la membrane et par suite sur le comportement de ces membranes dans les milieux biologiques.

## Bibliographie

- [1] Lechat.P , Pharmacologie, Université Pierre et Marie Curie, 2007 .
- [2] Valentín .S, Morales .A, e Sánchez . L, Rivera A, Safety and efficacy of doxycycline in the treatment of rosacea, University of Puerto Rico, 2009.
- [3] Rosaleen.J, Paul. W, Todd .A, ALAN .J, Antibacterial Agents Chemistry, Mode of Action, Mechanisms of Resistance and Clinical Applications, Faculty of Pharmacy, University of Sydney, 2012, Australia.
- [4] Chenouf A, Nafti Y, Contribution à l'étude de la cinétique de libération d'un principe actif : oxacilline sodique encapsulé , Centre Universitaire Ziane Achour, principe actif: oxacilline sodique encapsulé, Institut des Sciences de la Nature et de la Vie, DJELFA, 2008 .
- [5] Richard .J, Benoit .p, Micro encapsulation (ref.j2210.mars2000) Technique de l'ingénieur, traité Génie des procédés, 2006, paris.
- [6] Jyothi Sri.S, Seethadevi .A, Suria Prabha. K, Muthuprasanna .P, Pavitra .P, Micro encapsulation: A Review, Department Of Pharmaceutics, Hindu College Of pharmacy, 2012, India.
- [7] Jessica. B, Micro encapsulation d'agent antimicrobien pour le développement de conditionnements primaires fonctionnalisés, L'université claudes bernard, 2015, France.
- [8] Nesterenko .A, Étude et fonctionnalisation de protéines végétales en vue de leur application en micro encapsulation, Institut National Polytechnique de Toulouse, 2012 , France
- [9] Félicie. T, Conception et mise en œuvre d'un procédé intensifié continu de micro encapsulation par polycondensation interfaciale, l'Institut National Polytechnique de Toulouse, 2009, France.
- [10] Vandamme. T, Poncelet .D and Subra-Paternault .P, Microencapsulation. *Lavoisier*, 2007.
- [11] He. P, Conception et réalisation d'un système microfluidique pour la production de gouttes calibrées et leur encapsulation, Université De Technologie De Compiègne, 2009, France.

- [12] Gardiner, G., E. O'sullivan, J. Kelly, M. Auty, G. Fitzgerald, J. Collins, R. Ross & C. Stanton "Comparative Survival Rates of Human-Derived Probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* strains during Heat Treatment and Spray Drying." *Applied and Environmental Microbiology*, 2000,66(6): 2605-2612.
- [13] Richard Jand Benoit.J.P, *Microencapsulation. Techniques d'Ingénieur*,2000 ,1-20.
- [14] Ehlers. H, Räikkönen. H, Antikainen .O, Heinämäki. J and Yliruusi .J, Improving flow properties of ibuprofen by fluidized bed particle thin-coating. *Int J Pharm*, 2009, 368, 165-170.
- [15] Augustin. M.A. and Hemar .Y, Nano- and micro-structured assemblies of encapsulation of food in gredients. *Chem Soc Rev*, 2009, 38, 902-912.
- [16] Gharsallaoui .A, Roudaut .G, Chambin .O, Voilley. A and Saurel .R., Applications of spray-drying in microencapsulation of food ingredients: An overview. *Food Res Int*, 2007, 40, 1107-1121.
- [17] Zydowicz .N, Chaumont. P, and Soto-Portas. M, Formation of aqueous core polyamidemicrocapsules obtained via interfacial polycondensation: Optimization of the membrane formation through pH control. *J Membrane Sci*, 2001, 189, 41-58.
- [18] Lazko .J, Popineau .Y and Legrand. J, Soy glycinin microcapsules by simple coacervation method. *Colloid Surface*, 2004, 37, 1-8.
- [19] Dai .R, Wu .G, Li .W, Zhou .Q, Li .X et al, Gelatin/carboxymethylcellulose /dioctyl sulfosuccinate sodium microcapsule by complex coacervation and its application for electrophoretic display. *Colloid Surface*, 2010, 362, 84-89.
- [20] Mohanty. B, Aswal.V. K, Kohlbrecher. J and Bohidar. H.B, Synthesis of gelatin nanoparticles via simple coacervation. *J Surf Sci Tech*, 2005, 21, 149-160.
- [21] Freitas .S, Merkle. H.P and Gander. B, Microencapsulation by Solvent extraction/evaporation: reviewing the state of theart of microsphere preparation process technology. *J Control Release*, 2005, 102, 313-332.
- [22] Perez M.H, Zinutti. C, Lamprecht. A, Ubrich. N, Astier .A, Hoffman .M, Bodmeier. R, Maincent P., The preparation and evaluation of poly ( -caprolactone) microparticles containing both lipophilic and hydrophilic drug, *J. Control. Rel.*, 2000, 65, 429–438.
- [23] Akiyama. M, Tsuge. T, Doi .Y, Environmental life cycle comparison of Polyhydroxyalcanoates produced from renewable carbon resources by bacterial fermentation. *Polym. Degrad. Stab.* , 2003, 80, p. 183–194.

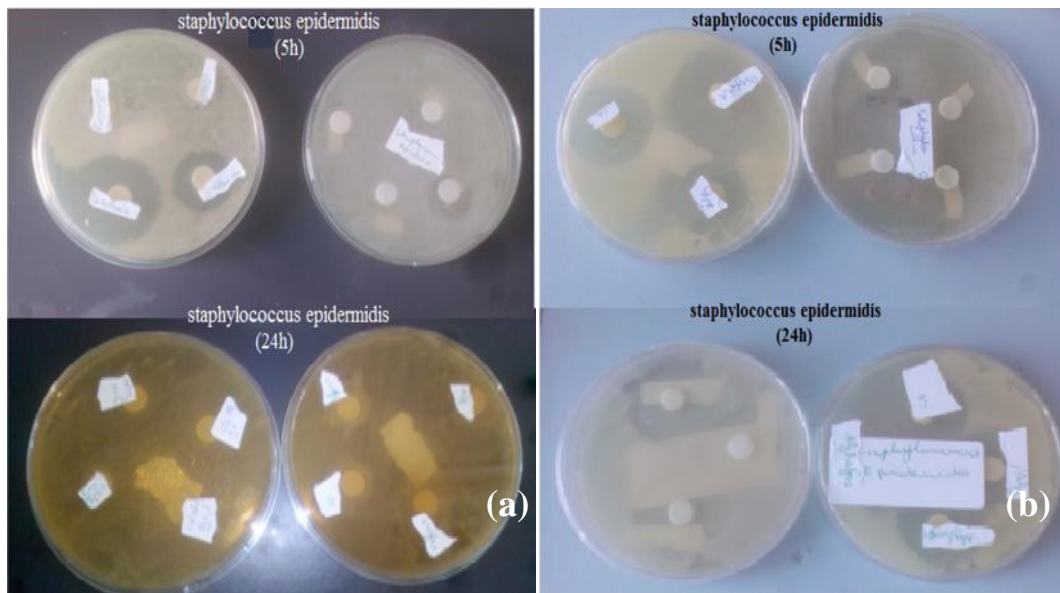
- [24] Jarroux, N, Les biopolymères : différentes familles, propriétés et applications. Techniques de l'ingénieur, Traité AM 3580 ,2012.
- [25] Anal. A. K. & H. Singh, "Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery." Trends in Food Science & Technology 2007, 18(5): 240-251.
- [26] Carturan. G, Campostrini. R, Tognana. L, Boninsegna. S , Dal Toso .R & Dal Monte R. Gas-phase silicon alkoxide reactivity vs. Na-alginate droplets for conjugation of alginate and sol gel technologies. Journal of Sol-Gel Science and Technology, 2006, 3,77.
- [27] Vauchel. P, Optimisation de procédés innovants pour l'obtention des Phycocolloïdes, thèse de doctorat de l'université de Nantes, centre IFREMER, Nantes, pp 2007 ,32.
- [28] Sankalia M. O, Mashru, J. M. Sankalia & V. B. Sutariya "Reversed chitosan-alginate polyelectrolyte complex for stability improvement of alpha-amylase: optimization and physicochemical characterization." European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics, 2007, 65(2): 215-232.
- [29] Iyer, C. & K. Kailasapathy , "Effect of co-encapsulation of probiotics with prebiotics on increasing the viability of encapsulated bacteria under in vitro acidic and bile salt conditions and in yogurt." Journal of Food Science, 2005, 70(1): M18-M23.
- [30] Krajewska .B, Membrane-based processes performed with use of chitin/chitosane materials. Séparation and Purification Technology 41, 2005, 305-312.
- [31] Crini. G, Badot P.M, Morin-Crini .N, Traitement des eaux par du chitosane : intérêts, méthodes et perspectives, re126, 2, 2009.
- [32] Harmouch. C, Évaluation de l'adhésion et de la différenciation endothéliale de cellules souches mésenchymateuses issues de la gelée de Wharton du cordon ombilical humain sur des supports fonctionnalisés du type chitosane/ hyaluronane, Université de Lorraine ,2014.
- [33] Cinquina A.L., Longo F, Anastasi G, L. Giannetti and R.Cozzani, Validation of a high performance liquid chromatography method for the determination of oxytétracycline, tetracycline, chlortetracycline and doxycycline in bovine milk and muscle. Journal of Chromatography A, 2003, 987: 223-227.

- [34] Elkholy H , Department of Pharmacology, Faculty of Veterinary Medicine, Benha University, Egypt , 2009,1423-1428, 2009.
- [35] Carolina kogawa.A, regina nunes salgado.H, doxycycline hyclate: a review of properties, applications and analytical methods , Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Departamento de FÁrmacose Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, 2012,14801-902, Brazil.
- [36] Halling-Sørensen B, Sengelov G , Tjornelund J, Toxicity of tetracycline and tetracycline degradation products to environmentally relevant bacteria, including selected tetracycline-resistant bacteria. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2002, 42: 263-271.
- [37] Fuoco .D, Classification Framework and Chemical Biology of Tetracycline-Structure-Based Drugs, University Library, 2012, Italy.
- [38] Roberts, Marilyn, Tetracycline antibiotics: mode of action, application, molecular biology and epidemiology of bacterial resistance. Microbiol Mol Biol Rev , 2001, 65 (2), 232-260.
- [39] Agostino, P; Ferlazzo V; Milano S; La Rosa M; Di Bella G; E; Anti-inflammatory effects of chemically modified tetracycline by the inhibition of nitric oxide and interleukin-12 synthesis in J774 cell line, International Immunopharmacology ,2001, 1, 1765-1776.
- [40] Chen, Ona, Vo, Li, Ferrante, Fink, Zhu, Bian, Guo, Minocycline inhibits caspase-1 and caspase -3 expression and delays mortality in a transgenic mouse model of Huntington disease.,2000, 797-801.
- [41] Amin AR, Patel RN, Thakker GD, Lowenstein CJ, Post-transcriptional regulation of inducible nitric oxide synthase mRNA in murine macrophages by doxycycline and chemically modified tetracycline. FEBS Lett, 1997, 410:259–264.
- [42] Tang. XN, Wang .O, Koike .MA, Chang .D, Goris .ML, Blankenbag .FG, et al. Monitoring the protective effects of minocycline treatment with radiolabeled annexin V in an experimental model of focal cerebral ischemia,2007 ,48(11):1822–8.

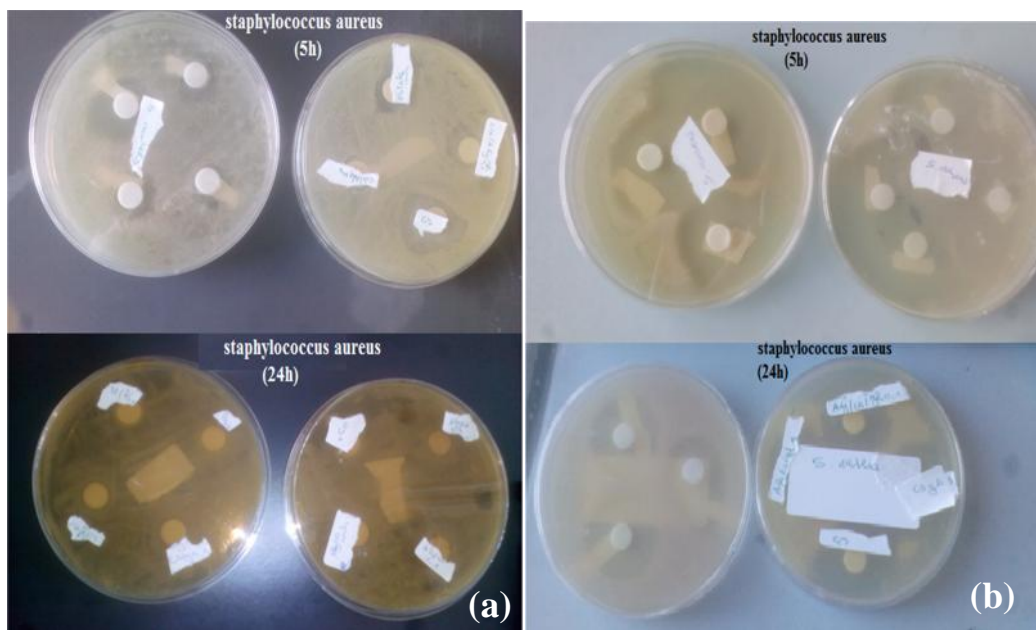
- [43] Michaelis. M, Kleinschmidt. MC , Doerr .HW, Cinatl. J, Minocycline inhibits West Nile virus replication and apoptosis in human neuronal cells. *J Antimicrob Chemother*, 2007 ; 60: 981–6.
- [44] Catherine .G, Buxeraud .J, *Antibiotique : pharmacologie et thérapeutique*, 2005,19.
- [45] Suzanne b, étude bactériologique des infections urinaires, institut sous-regional de statistique et d'economie appliquee, communauté économique et monétaire, 2008, Cameroun.
- [46] Reynolds JEF, Martindale the Extra Pharmacopoeia. 35th ed. London: Pharmaceutical Press, 2007.
- [47] Lau .Y and Qureshi A. K., *Sex Transm. Dis.*, 2002, 29, 497–502.
- [48] Khabbal .Y. Sefrioui .S, Validation statistique du dosage de L'Aspirine par spectrophotométrie Uv-Visible, Université sidi Mohamed ben Abdallah, 2015, Maroc.
- [49] Bram. G, Aspirine ou Acide Acétylsalicylique , *Encyclopaedia Universalis*, 2011, France.
- [50] khokhi .N, chaouchi. B, étude comparative de la cinétique de relargage de l'aspirine libre et immobilisée dans un milieu SBF, université de khemis-Miliana , institut des science et technologie, 2008.
- [51] Denis, Stora, pharmacie et surveillance infirmière, 3<sup>ème</sup> édition, 2003.
- [52] Monassier, Les anti-inflammatoires non stéroïdiens, Faculté de Médecine de Strasbourg, Module de Pharmacologie Générale, 2005.



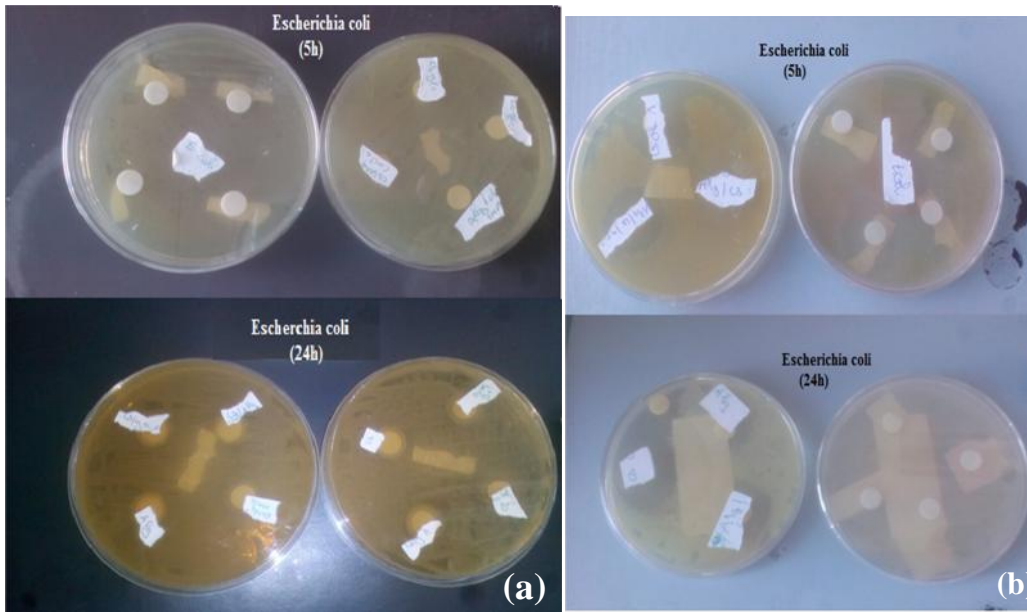
## Annexe I : les tests microbiologies



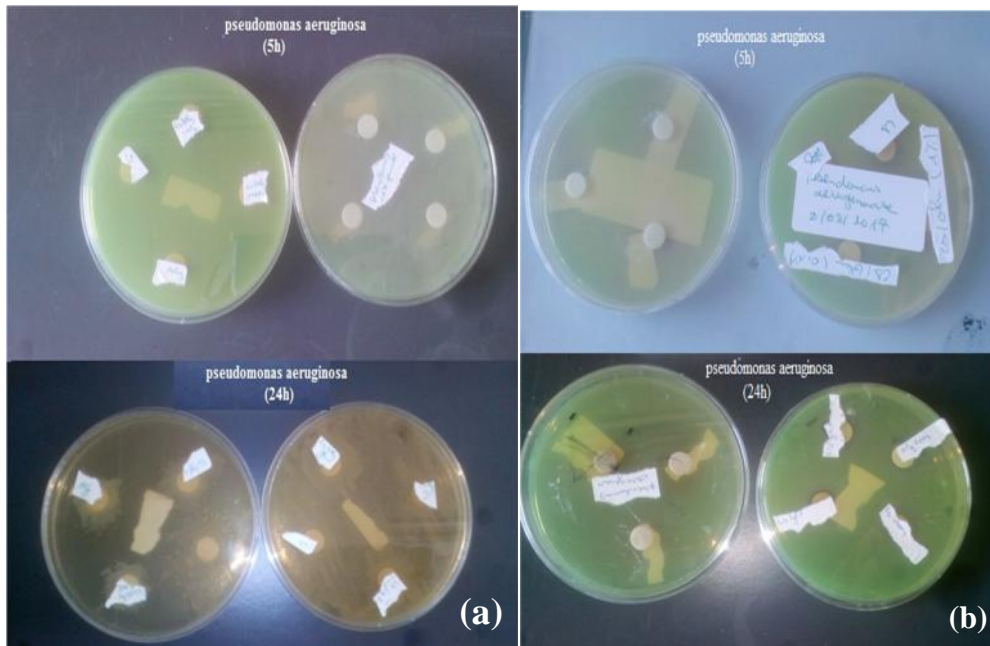
**Figure IV.14.** Zones d'inhibition pour les systèmes vides (a) et chargées (b) par la bactérie *Staphylococcus epidermidis* après 5h et 24h.



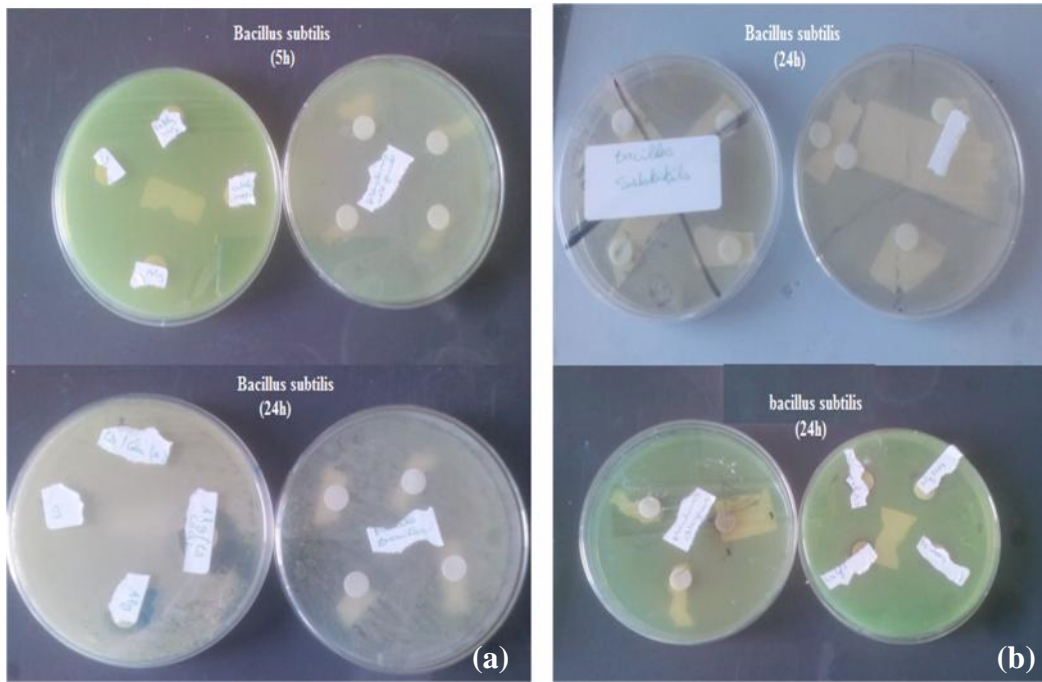
**Figure IV.15.** Zones d'inhibition pour les systèmes vides (a) et chargées (b) par la bactérie *Staphylococcus aureus* après 5h et 24h.



**Figure IV.16.** Zones d'inhibition pour les systèmes vides (a) et chargées (b) par la bactérie *Escherichia coli* après 5h et 24h.



**Figure IV.17.** Zones d'inhibition pour les systèmes vides (a) et chargées (b) par la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* après 5h et 24h.



**Figure IV.18.** Zones d'inhibition pour les systèmes vides (a) et chargées (b) par la bactérie *Bacillus subtilis* après 5h et 24h.

## Annexe II : Les appareils utilisés

### ➤ Microscopie optique



OLYMPUS

CH-2

22/0088

N0 : 220/240V~50-60Hz

LAMP 6V20w

Same type fuse only 0.63A

Olympus optical coltd made in Japan

### ➤ UV



PERKIN-ELMER

550A

➤ **FTIR**



SHIMADZU 8400(400-4000 $\text{cm}^{-1}$ )

➤ **Potentiomètre**



METTLER TOLEDO



# Chapitre I :



## **MICROENCAPSULATION**



# Chapitre II :



## **TÉTRACYCLINES**



# Chapitre III :



**ASPIRINE**





# Chapitre IV :



## **PARTIE EXPÉRIMENTALE**



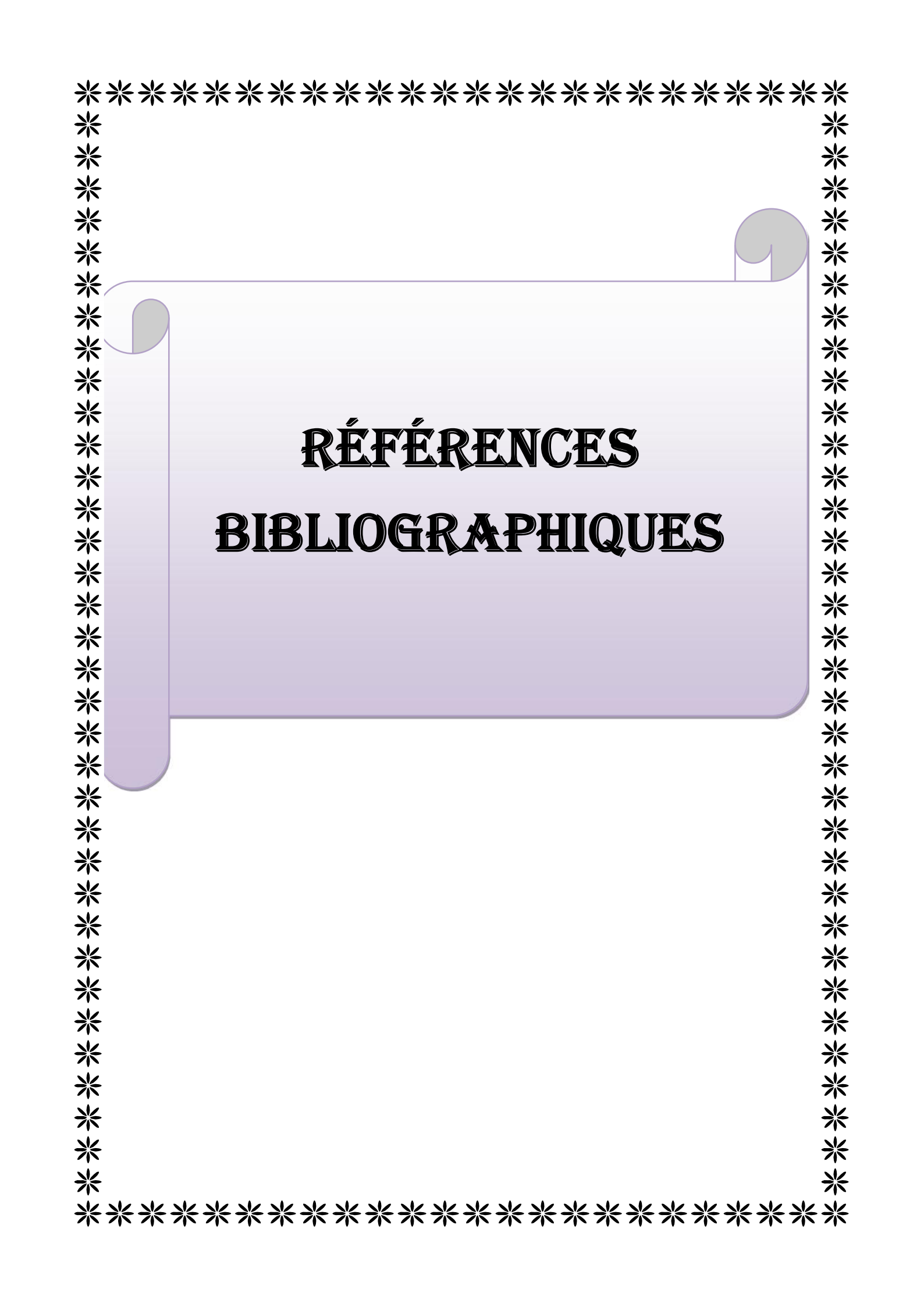
**INTRODUCTION**  
**GÉNÉRALE**



**PARTIE**  
**THÉORIQUE**



# SOMMAIRE



**RÉFÉRENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**



**ANNEXE**



**CONCLUSION**