

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Djilali Bounaama - Khemis Miliana -
Faculté des Sciences et de la Technologie
Département de la Technologie

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDE

Pour l'obtention du diplôme de Master en génie des procédés

Option: génie pharmaceutique

THÈME:

Préparation et caractérisation des microcapsules à base de Chitosane/Alginate de sodium chargées de Diclofénac sodique : Application à la voie orale.

Présenté par :

M^{elle} : BOUDEBIA Soheyla

M^{elle} : MAKHLOUF Khadidja

Devant le jury :

Présidente : M^{elle} BOUDERGUA Samia

Examinatrice : M^{me} AOUAMEUR Djamila

Promotrice : M^{elle} RAHMANI Fathia

Année Universitaire : 2022 - 2023

Remerciements

Nos remerciements vont tout premièrement à Dieu tout puissant pour la volonté, la santé et la puissance qu'il nous a donné durant toutes ces années d'études.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui on voudrait témoigner toute notre gratitude.

Nous sommes très heureuses de témoigner notre profonde estime à notre encadrante **M^{elle} RAHMANI Fathia**, nous lui sommes très reconnaissantes de nous avoir fait bénéficier de ses compétences scientifiques et d'avoir proposé et dirigé ce travail et pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

Nos remerciements vont également au chef du département **M^r BEN ZAID Djeloul**, ainsi qu'à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation.

On remercie vivement **M^{elle} BOUDERGUA Samia**, qui nous a fait l'honneur de présider notre jury et de juger notre travail ainsi que pour sa contribution dans notre formation. Nous tenons à témoigner notre grande reconnaissance à **M^{me} AOUAMER Djamila**, pour avoir accepté de participer à ce jury, et d'avoir accepté d'examiner notre travail.

A tous, on dit merci.

Dédicaces

*Je dédie ce travail à tous qui m'ont de près ou de loin accordé leur soutien moral et physique
pour la réalisation de ce mémoire.*

À celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espoirs, à la source d'amour:

A la personne des sentiments fragiles qui bénie par ces prières MA MÈRE

À mon support dans ma vie, qui m'a appris m'a supporté et ma dirigé vers la gloire MON

PÈRE.

A mes chers sœurs FADILA, WISSAM, BASSMA, IKRAM et MARYAM

A mes chères amies KHADIDJA, KHAWLA, SAMAH et LOUIZA

A tous mes professeurs qui m'ont assisté tout le long de mon parcours universitaire, et a qui je

leur doit tout mon respect et ma reconnaissance

Toute l'équipe de génie pharmaceutique à qui je souhaite la réussite dans leurs vies

professionnelle et privée.

Soheyla

Dédicaces

Avant tout, je remercie le grand dieu qui nous a aidés à élaborer ce travail

Je dédie ce modeste travail

A ceux que j'aime le plus au monde

A mes très chers parents qui m'ont guidé durant les moments les plus pénibles de ce long chemin, ma mère qui a été à mes côtés et ma soutenu durant toute ma vie, et mon père qui a sacrifié toute sa vie afin de me voir devenir ce que je suis, merci mes parents.

Mes frères: Zinou, Moussa et Annes

Ma grande mère

À toute ma famille : MAKHLOUF et ABDESSELEM

A tous mes amis et mes collègues : Marwa, Kouther, Ikram, Safia, Nor el houda et Wiam.

A Toute la promotion de génie pharmaceutique 2023

Je dédie à Mon binôme Soheyla qui a contribué à la réalisation de ce modeste travail.

En fin, Je remercie ceux qui m'ont aidé de près ou de loin dans l'accomplissement de ce travail.

Khadidja

RÉSUMÉS

ملخص: يخصص هذا العمل الحالي لإعداد كبسولات دقيقة على أساس الكيتوزان (CS)، الجينات الصوديوم (ALG) والكيتوزان/الجينات المركبات (CS/ALG) بواسطة طريقة التبلور الأيونوتروبيك. يتم تقوية هذه الكبسولات المخصصة لنقل وإطلاق ديكلوفيناك الصوديوم بواسطة ثلاثي فوسفات الصوديوم (TPP de Na) أو هيكساميتافوسفات الصوديوم (HMP de Na) وغلوتارالدهيد (Gu). لقد ثبت أن المركبات الكيميائية المستخدمة جعلت من الممكن تعديل الكيتوزان هيكليا وتشكيل أغشية قادرة على تغليف المكونات النشطة. يكشف التحليل الحبيبي أن غالبية الكبسولات الدقيقة التي تم الحصول عليها يتراوح حجمها بين 250 ميكرومتر و1 مم. تم إجراء الكبسولة الدقيقة بمعدلات تغليف عالية جدا تتراوح من 99% إلى 99.4%. كشف الاختبار أن الأنظمة المجهرية الدقيقة لديها القدرة على الانتفاخ في الوسائط الفيزيولوجية المحاكاة (عن طريق الفم والمعدة والأمعاء) وإطلاق ديكلوفيناك ببطء ولفترة طويلة في ظل ظروف محاكاة استخدامها. وفقا للنمذجة، يبدو أن هذا الإصدار يحدث بربط ظاهرتين: الإطلاق من الكبسولة الدقيقة المشحونة والتآكل المستمر للأخير في السائل المحيط.

كلمات جوهرية: الكيتوزان، الجينات الصوديوم، الكبسولات الدقيقة، الإطلاق المطول.

Résumé: Ce présent travail est consacré à l'élaboration des microcapsules à base de chitosane (CS), d'alginate de sodium (ALG) et composites chitosane/alginate (CS/ALG) par la méthode de la gélification ionotrope. Ces capsules destinées au transport et à la libération de diclofénac de sodium sont rigidifiées par le tripolyphosphate de sodium (TPP de Na) ou l'hexamétaphosphate de sodium (HMP de Na) et le glutaraldéhyde (Gu). Il a été montré que les composés chimiques employés ont permis de modifier structurellement le chitosane et de former des membranes capables d'encapsuler les principes actifs. L'analyse granulométrique, révèle que la majorité des microcapsules obtenues sont de la taille entre 250 µm et 1 mm. La microencapsulation a été réalisée avec des taux d'encapsulation très importants allant de 99% à 99.4%. Le test de gonflement a révélé que les systèmes microparticulaires ont la capacité de se gonfler dans les milieux physiologiques simulés (buccale, gastrique et intestinale) et de libérer le diclofénac de manière lente et prolongée dans les conditions simulés de leur utilisation. Cette libération semble se faire, d'après la modélisation, conformément à l'association de deux phénomènes : la diffusion à partir de la microcapsule chargée et l'érosion continue de celle-ci dans le fluide environnant.

Mots clés : Chitosane, alginate de sodium, microcapsule, libération prolongée.

Abstract: This present work is devoted to the elaboration of microcapsules based on chitosan (CS), sodium alginate (ALG) and chitosan/alginate (CS/ALG) composites by the ionotropic gelling method. These capsules intended for the transport and the release of sodium diclofenac are stiffened by sodium tripolyphosphate (Na TPP) or sodium hexametaphosphate (Na HMP) and glutaraldehyde (Gu). It has been shown that used the chemical compounds have allow to structurally modify chitosan and to form membranes capable of encapsulating the active ingredients. The granulometric analysis reveals that the majority of the microcapsules obtained are between 250 μm and 1 mm in size. The microencapsulation was carried out with very high encapsulation rates ranging from 99% to 99.4%. The swelling test revealed that the microparticulate systems have the ability to swell in the simulated physiological medias (oral, gastric and intestinal) and to release diclofenac slowly for a long time under the simulated conditions of their use. This release seems to take place, according to the modeling, in accordance with the association of two phenomena: the diffusion from the charged microcapsule and the continuous erosion of the latter in the surrounding fluid.

Key words: Chitosan, sodium alginate, microcapsule, prolonged release.

LISTE DES FIGURES

Figure I.1 :	Evolution du nombre d'articles scientifiques et de brevets publiés par année dans le domaine de la microencapsulation	5
Figure I.2 :	Représentation schématique de la répartition de l'utilisation de l'encapsulation dans les différents domaines d'application	8
Figure I.3 :	Les différents procédés d'encapsulation	9
Figure I.4 :	Mécanisme de la polycondensation inter faciale	10
Figure I.5 :	Les étapes de la polymérisation inter faciale	10
Figure I.6 :	Formation d'un film d'enrobage par spray coating sur des particules solides	12
Figure I.7 :	Schéma de principe du procédé de micro encapsulation par évaporation de solvant	14
Figure I.8 :	Schéma de principe du procédé d'encapsulation par gélification thermique	14
Figure I.9 :	Représentation du devenir d'un principe actif dans l'organisme	15
Figure I.10 :	Etapes de modélisation pharmacocinétique ADME	16
Figure I.11:	Représentation du profil de libération prolongée	17
Figure I.12:	Forme galénique solide à libération prolongée	18
Figure I.13:	Représentation des différents profils de libération d'un principe actif (Immédiate, Prolongée et Contrôlée)	20
Figure I.14 :	Profils des cinétiques de dissolution de modèles fickiens et d'ordre zéro	21
Figure I.15:	Schéma des deux différents types de libération pour les microparticules	22
Figure II.1 :	Structure de la chitine et du chitosane	25
Figure II.2 :	Structure chimique d'alginate de sodium	30
Figure IV.1:	Préparation de la solution de chitosane (2% poids/volume) et de la solution d'acide acétique (1% poids/volume)	41
Figure IV.2:	Liaison entre le chitosane et l'acide acétique	41
Figure IV.3:	Réticulation ionotrope du chitosane : a) avec le Tripolyphosphate de sodium, b) avec l'hexamétaphosphate de sodium	42
Figure IV.4 :	Préparation des microparticules à base du chitosane vides	43
Figure IV.5 :	Réticulation ionotrope du chitosane avec le glutaraldéhyde	43

Liste des figures

Figure IV.6 :	Préparation de la solution d'alginate (5% poids/volume d'eau) et préparation des microparticules d'alginate de sodium vides	44
Figure IV.7 :	Liaison entre le chitosane et l'alginate de sodium	45
Figure IV.8 :	Tamiseuse pour réaliser le test granulométrique	47
Figure IV.9 :	Microscope biologique (OLYMPUS).....	47
Figure IV.10 :	Bain marie utilisé pour le test de gonflement.....	48
Figure IV.11 :	Le test de la libération du diclofénac sodique à partir des microparticules chargées dans les conditions biomimétiques à 37 °C.....	51
Figure IV.12 :	Préparation des solutions standards	52
Figure IV.13 :	La méthode utilisée pour l'activité anti- inflammatoire	53
Figure IV.14 :	Aspect général des microparticules à base : a) de chitosane, b) d'alginate de sodium et c) biocomposite chitosane/alginate de sodium vides.....	54
Figure IV.15 :	Schéma de principe de formation des microparticules à base des biopolymères...	55
Figure IV.16 :	Représentation schématique d'une microcapsule et d'une microsphère.....	57
Figure IV.17 :	Photos microscopiques binoculaire, agrandissement x 0.1 des microcapsules vides à base du chitosane : a) HMP de Na, b) TPP de Na, c) HMP de Na + Gu et d) TPP de Na + Gu.....	57
Figure IV.18 :	Photo microscopique agrandissement x 0.1 des microcapsules vides à base d'alginate de sodium.....	58
Figure IV.19 :	Photos microscopiques agrandissement x 0.1 des microcapsules biocomposites chitosane/alginate de sodium vides : a) CS/ALG-TPP de Na, b) CS/ALG-TPP de Na + Gu, c) CS/ALG-HMP de Na et d) CS/ALG-HMP de Na + Gu.....	58
Figure IV.20:	Taux de gonflement pour les microparticules à base du chitosane préparées en utilisant les différents réticulants dans l'eau distillée à 37 °C.....	60
Figure IV.21 :	Taux de gonflement pour les microparticules à base d'alginate dans l'eau distillé à 37 °C.....	61
Figure IV.22 :	Taux de gonflement pour les microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium dans l'eau distillée à 37 °C.....	62
Figure IV.23 :	Taux de gonflement pour les microparticules à base du chitosane préparées dans les différents réticulants dans SSF (pH 6.8) à 37 °C.....	63
Figure IV.24 :	Taux de gonflement pour les microparticules à base d'alginate de sodium dans SSF (pH 6.8) à 37 °C.....	64

Liste des figures

Figure IV.25 :	Taux de gonflement des microparticules biocomposite chitosane/alginate de sodium préparées dans les différents réticulants dans SSF (pH 6.8) à 37 °C.....	64
Figure IV.26 :	Taux de gonflement pour les microparticules à base du chitosane préparées dans les différents réticulants dans SGF (pH 1.2) à 37 °C.....	65
Figure IV.27 :	Taux de gonflement pour les microparticules à base d'alginate de sodium dans SGF (pH 1.2) à 37 °C.....	66
Figure IV.28 :	Taux de gonflement des microparticules biocomposite chitosane/alginate de sodium préparées dans les différents réticulants dans SGF (pH 1.2) à 37 °C.....	67
Figure IV.29 :	Taux de gonflement pour les microparticules à base du chitosane préparées dans les différents réticulants dans SIF (pH 6.9) à 37 °C	68
Figure IV.30 :	Taux de gonflement pour les microparticules à base d'alginate de sodium dans SIF (pH 6.9) à 37 °C.....	69
Figure IV.31 :	Taux de gonflement des microparticules biocomposite chitosane/alginate de sodium préparées dans les différents réticulants dans SIF (pH 6.9) à 37 °C.....	69
Figure IV.32 :	Spectre infrarouge du chitosane.....	72
Figure IV.33 :	Spectre infrarouge de l'alginate de sodium.....	73
Figure IV.34 :	Spectre infrarouge des microparticules du chitosane vides réticulées par : a) le TPP de Na et b) l'HMP de Na.....	71
Figure IV.35 :	Spectre infrarouge des microparticules d'alginate de sodium vides préparées dans le CaCl ₂	74
Figure IV.36 :	Spectre infrarouge des microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium vides préparées dans l'HMP de Na.....	75
Figure IV.37 :	Aspect général des microparticules à base du chitosane préparées dans : a) le TPP de Na, b) l'HMP de Na chargées de diclofénac sodique.....	76
Figure IV.38 :	Aspect général des microparticules à base d'alginate de sodium chargées de diclofénac sodique	76
Figure IV.39 :	Photos microscopiques binoculaire, agrandissement x 0.1 des microparticules à base du chitosane chargés: a) TPP de Na, b) TPP de Na + Gu, c) HMP de Na et d) HMP de Na + Gu.....	78
Figure IV.40 :	Photos microscopiques de microparticules chargées à base d'alginate de sodium...	78
Figure IV.41:	Photos microscopiques des microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium chargées : a) CS/ALG-TPP de Na, b) CS/ALG-TPP de Na + Gu, c) CS/ALG-HMP de Na et d) CS/ALG-HMP de Na + Gu.....	79

Liste des figures

Figure IV.42:	Spectre infrarouge du diclofénac de sodium.....	80
Figure IV.43 :	Spectre infrarouge des microparticules à base du chitosane chargées par le diclofénac de sodium préparées dans : a) le TPP de Na, b) l'HMP de Na.....	81
Figure IV.44 :	Spectre infrarouge des microparticules d'alginate de sodium chargées réticulées par le CaCl ₂	82
Figure IV.45 :	Spectre infrarouge des microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium chargées préparées dans l'HMP de Na.....	83
Figure IV.46 :	Taux d'encapsulation de diclofénac de sodium par les microparticules.....	84
Figure IV.47 :	Courbe d'étalonnage du diclofénac de sodium dans l'eau distillée.	
Figure IV.48 :	Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules du chitosane préparées dans les différents réticulants dans l'eau distillée à 37 °C.....	85
Figure IV.49:	Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules d'alginate dans l'eau distillée à 37 °C.....	86
Figure IV.50 :	Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium dans l'eau distillée à 37 °C.....	86
Figure IV.51 :	Courbe d'étalonnage du diclofénac de sodium dans SSF à pH=6.8.....	87
Figure IV.52 :	Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules du chitosane préparées dans les différents réticulants dans SSF pH= 6.8 à 37 °C.....	88
Figure IV.53 :	Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules d'alginate dans SSF pH= 6.8 à 37 °C.....	88
Figure IV.54 :	Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium dans SSF pH= 6.8 à 37 °C.....	89
Figure IV.55 :	Courbe d'étalonnage du diclofénac de sodium dans SGF à pH=1.2.....	90
Figure IV.56 :	Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules du chitosane préparées dans les différents réticulants dans SGF pH= 1.2 à 37 °C.....	90
Figure IV.57 :	Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules d'alginate dans SGF pH= 1.2 à 37 °C.....	91
Figure IV.58 :	Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium dans SGF pH= 1.2 à 37 °C.....	91
Figure IV.59 :	Courbe d'étalonnage du diclofénac de sodium dans la solution SIF à pH=6.8.....	92
Figure IV.60:	Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules	92
Figure IV.61:	Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules d'alginate dans SIF pH= 6.9 à 37 °C.....	34

Liste des figures

Figure IV.62 :	Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium dans SIF pH= 6.9 à 37 °C.....	93
Figure IV.63 :	Résultats de tests anti-inflammatoires par la méthode de dénaturation par l'albumine de l'œuf.....	94
Figure IV.64 :	Résultats de tests anti-inflammatoires par la méthode de la dénaturation du sérum albumine bovine BSA.....	95
Figure IV.65 :	Tracé des courbes linéarisées $\ln (C_t/C_\infty)$ en fonction de $\ln (t)$ des différents systèmes dans la salive (SSF) à pH=6.8, a) : systèmes à base du chitosane, b) : systèmes à base d'alginate de sodium et c) : systèmes biocomposites.....	97
Figure IV.66 :	Tracé des courbes linéarisées $\ln (C_t/C_\infty)$ en fonction de $\ln (t)$ des différents systèmes dans la solution gastrique simulée (SGF) à pH=1.2 a) : systèmes à base de chitosane, b) : systèmes à base d'alginate de sodium et c) : systèmes biocomposites.....	99
Figure IV.67 :	Tracé des courbes linéarisées $\ln (C_t/C_\infty)$ en fonction de $\ln (t)$ des différents systèmes dans la solution intestinale simulée (SIF) à pH=6.9 a) : systèmes à base de chitosane, b) : systèmes à base d'alginate de sodium et c) : systèmes biocomposites.....	101

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1:	Objectif de la microencapsulation	6
Tableau I.2 :	Application de la microencapsulation dans l'industrie.....	7
Tableau II.1 :	Les différentes applications du chitosane pour les différents secteurs industriels	29
Tableau III.1 :	: Propriétés physicochimiques du diclofénac sodique	35
Tableau IV.1 :	Résultat du test granulométrique des microsphères à base du (chitosane, alginate, biocomposites chitosane/alginate) vides.....	55
Tableau IV.2 :	Résultat du test granulométrique des microsphères à base du (chitosane, alginate, biocomposites chitosane/alginate) chargées.....	77
Tableau IV.3 :	Paramètres caractéristiques de la diffusion dans les différents Systèmes dans la solution de la salive simulée (SSF) pH=6.8.....	97
Tableau IV.4 :	Paramètres caractéristiques de la diffusion dans les différents systèmes microparticulaires dans la solution gastrique simulée (SGF) à pH=1.2	99
Tableau IV.5 :	Paramètres caractéristiques de la diffusion dans les différents systèmes microparticulaires dans la solution intestinale simulée (SIF) à pH=6.9.....	101

LISTE DES SYMBOLES ET DES ABRÉVIATIONS

%:	Pourcentage
ABS :	Absorbance
ADME :	Absorption, distribution, métabolisme, élimination
AINS :	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
ALG :	Alginate de sodium
BSA :	Sérum Albumine Bovine
C_{∞} :	La concentration initiale totale en agent actif
CS :	Chitosane
C_t :	La concentration d'agent actif libéré à l'instant t
D O :	Densité optique
DCF :	Diclofénac de sodium
FTIR :	Spectroscopie Infrarouge a transformée de Fourier
HMP de Na :	Hexamétaphosphate de sodium
m :	mètre
M_{∞}	La masse totale d'agent actif
mg :	milligramme
mm :	millimètre
M_t :	La masse d'agent actif libéré à l'instant t
p/v :	Poids/volume
PA :	Principe actif
pH :	Potentiel d'hydrogène
SGF :	Simulated gastric fluid (fluide gastrique simulé)
SIF :	Simulated intestinal fluid (fluide intestinal simulé)
SSF :	Simulated salivary fluid
TE:	Taux d'encapsulation
TG:	Taux de gonflement
TPP de Na:	Tripolyphosphate de sodium
v/v :	Volume/volume
μm :	Micromètre

TABLE DES MATIÈRES

Remerciements	
Dédicaces	
Résumés	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des symboles et des abréviations	
Introduction générale.....	1

CHAPITRE I: MICROENCAPSULATION ET SYSTEMES À LIBÉRATION MODIFIÉE

I.1 Introduction.....	4
I.2 La microencapsulation.....	4
I.2.1 Définition.....	4
I.2.2 Historique.....	5
I.2.3 Objectif de la micro encapsulation.....	6
I.2.4 Application de la micro encapsulation.....	7
I.2.5 Technique d'encapsulation.....	8
I.2.6 Procédés de microencapsulation.....	9
I.2.7 Procédés d'encapsulation chimique.....	9
I.2.8 Procédés d'encapsulation physico-mécanique.....	11
I.2.9 Procédés d'encapsulation physico-chimique.....	12
I.3 Les systèmes à libération modifiés.....	15
I.3.1 Généralités sur la voie orale.....	15
I.3.2 Principe de la pharmacocinétique.....	16
I.3.3 Formes à libération modifiée.....	17
I.3.4 Modèles théorique du mécanisme de libérations de principe actif.....	20

I.3.5 Mécanisme de libération du principe actif à partir des microcapsules	22
I.4 Conclusion	23

CHAPITRE II: LES BIOPOLYMÈRES

II.1 Introduction.....	24
II.2 Les Polymères	24
II.3 Les Biopolymères.....	25
II.4 Le chitosane	25
II.4.1 Définition, source et structure	25
II.4.2 Comportement physico-chimique du chitosane	26
II.4.3 Propriétés du chitosane	27
II.4.4 Application de chitosane.....	29
II.5 L'alginate de sodium.....	30
II.5.1 Comportement physico-chimique des alginates.....	30
II.5.2 Propriétés Alginate de sodium	31
II.6 Conclusion	32

CHAPITRE III: LES ANTI-INFLAMMATOIRES NON STÉROÏDIENS: DICLOFÉNAC SODIQUE

III.1 Introduction	32
III.2 Définitions Anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS).....	32
III.3 Mécanisme d'action et propriétés d'AINS:	32
III.3.1 Demi-vie d'élimination plasmatique	32
III.3.2 Métabolisme et élimination	33
III.3.3 Indications	33
III.3.4 Effets indésirables	33
III.3.5 Noms des médicaments	33
III.3.6 Administration et surveillance	34
III.4 Le Diclofénac sodique.....	34
III.5 Caractéristiques physicochimiques	35
III.6 Propriétés pharmacologiques.....	36

III.6.1 Propriétés pharmacocinétiques.....	36
III.6.2 Propriétés pharmacodynamiques.....	37
III.7 Conclusion.....	37

CHAPITRE IV: ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

IV.1 Introduction	38
IV.2 Matériels et méthodes	38
IV.2.1 Matériels.....	38
IV.2.1.1 Verreries de laboratoire.....	40
IV.2.2 Modes opératoires.....	40
IV.2.2.1 Préparation des microparticules vides à base du chitosane	40
IV.2.2.2 Préparation des microparticules vides à base d'Alginate de sodium	44
IV.2.2.3 Préparation des microparticules biocomposite chitosane/alginate de sodium vides :	44
IV.2.2.4 Préparation des microparticules chargées par le diclofénac sodique	45
IV.2.3 Tests et contrôles réalisés	46
IV.2.3.1 Analyse granulométrique.....	46
IV.2.3.2 Caractérisation morphologique.....	47
IV.2.3.3 Tests de gonflement (T_G):	48
IV.2.3.4 Spectroscopie infrarouge a transformée de Fourier	49
IV.2.3.5 Détermination du taux d'encapsulation (T_E):	49
IV.2.3.6 Etude de la cinétique de libération du principe actif.....	50
IV.2.3.7 Etude de l'activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	52
A. Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> par la méthode de la dénaturation par l'albumine de l'œuf.....	52
B. Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i> par la méthode de dénaturation des BSA	53
IV.3 Résultats et discussions	54
IV.3.1 Caractérisation des microparticules vides	54
IV.3.1.1 Aspect général	54
IV.3.1.2 Analyse granulométrique.....	55
IV.3.1.3 Morphologie des microparticules.....	56
IV.3.1.4 Test de gonflement.....	59
A. Test de gonflement dans l'eau distillée	59

Table des matières

B. Tests de gonflement dans la salive (SSF) pH=6.8	62
C. Tests de gonflement dans la solution (SGF) pH=1.2	65
D. Tests de gonflement dans la solution (SIF) pH=6.9.....	68
IV.3.1.5 Caractérisation par spectroscopie Infra-Rouge FTIR	70
A. Caractérisation FTIR du chitosane et de l'alginate de sodium	70
B. Caractérisation par FTIR des microparticules du chitosane vides.....	72
C. Caractérisation par FTIR des microparticules d'Alginate vides.....	74
D. Caractérisation par FTIR des microparticules biocomposites vides	75
IV.3.2 Caractérisation des microparticules chargées par diclofénac de sodium	76
IV.3.2.1 Aspect général	76
IV.3.2.2 Analyse granulométrique.....	77
IV.3.2.3 Analyse granulométrique.....	77
IV.3.2.4 Caractérisation par spectroscopie Infra-Rouge FTIR	79
A. Caractérisation FTIR des microparticules du chitosane chargées.....	79
B. Caractérisation par FTIR des microparticules d'Alginate chargées.....	82
C. Caractérisation par FTIR des microparticules biocomposites chargées.....	83
VI.3.2.5 Évaluation du taux et de l'efficacité d'encapsulation.....	83
IV.3.3 Etude de la cinétique de libération de diclofénac de sodium <i>in vitro</i>	84
IV.3.3.1 Cinétique de la libération dans l'eau distillée	85
IV.3.3.2 Cinétique de libération dans la salive (SSF) pH=6.8	87
IV.3.3.3 Cinétique de libération dans la solution (SGF) pH=1.2	89
IV.3.3.4 Cinétique de libération dans la solution (SIF) pH=6.9.....	91
IV.3.4 Étude de l'activité anti-inflammatoire.....	93
IV.3.5 Modèle mathématique de la cinétique de libération du principe actif	95
IV.3.5.1 Solution de la salive simulée (SSF) pH= 6.8.....	96
IV.3.5.2 Solution gastrique simulée (SGF) à pH= 1.2.....	98
IV.3.5.3 Solution intestinale simulée (SIF) pH= 6.9.....	100
Conclusion générale.....	103
Références bibliographiques	

Introduction générale

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le rôle le plus important d'un système d'administration de médicament est d'amener le médicament « délivré » au site d'action en quantité suffisante et à la vitesse appropriée. De nos jours, un intérêt particulier est porté au contrôle de la vitesse et du site de libération des médicaments dans les différentes formes galéniques pour différentes voies d'administration. Généralement, la voie orale est la plus commode et la plus utilisée mais présente quelques inconvénients lorsqu'il s'agit d'administrer des principes actifs qui sont caractérisés par une faible biodisponibilité et qui sont peu stables en milieu physiologique [1].

Les formes posologiques à libération prolongée ou retardée sont des formes à libération modifiée montrant une libération des substances actives qui est prolongée ou retardée dans le temps. Pour cela, de nouvelles stratégies thérapeutiques ont été développées afin d'augmenter la biodisponibilité orale des médicaments de certains principes actifs. Il s'agit de l'encapsulation du principe actif dans des matériaux polymères biodégradables [1]. En général, à l'industrie pharmaceutique, l'encapsulation vise à réduire la toxicité et les effets secondaires d'un principe actif, à augmenter sa solubilité et/ou sa stabilité et à favoriser une libération dans l'organisme. Elle permet surtout de réduire l'irritation du tractus gastro-intestinal due à des médicaments administrés par voie orale [2].

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont une des classes thérapeutiques les plus utilisées dans le monde, que ce soit dans le contexte de la prescription médicale, ou de l'automédication, sont des médicaments symptomatiques à action rapide qui ont des propriétés analgésique, antipyrétique et anti-inflammatoire. Parmi ces médicaments anti-inflammatoires se trouve le Diclofénac, qui a été innové en 1973 sous le nom Voltarène.

Classiquement, le diclofénac permet de traiter les douleurs articulaires (arthrites, arthrose, tendinites, contusions, entorses) les rhumatismes inflammatoires et les douleurs rachidiennes (lombalgies, dorsalgies, cervicalgies). Il aide aussi à diminuer les œdèmes et à lutter contre la fièvre. Il est disponible sous plusieurs formes orale, injectable, rectale, cutanée, collyre et à différentes doses 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg. [3]

La microencapsulation est une approche largement utilisée dans le domaine de la pharmacie pour la libération contrôlée des médicaments. Elle consiste à encapsuler les principes actifs dans des microparticules ou des nanoparticules, offrant ainsi une protection et un contrôle précis de leur libération. L'un des médicaments couramment étudiés et encapsulés est le diclofénac de sodium [3]. L'objectif principal de la microencapsulation du diclofénac de sodium est de prolonger sa durée d'action, de réduire les effets secondaires et d'améliorer son efficacité thérapeutique. En encapsulant le diclofénac de sodium dans une matrice polymérique, on peut contrôler sa libération dans le temps et l'espace, permettant ainsi une administration régulière et ciblée du médicament.

Parmi les biopolymères, les polysaccharides font partie des polymères les plus utilisés pour la libération contrôlée d'un principe actif. Ils sont généralement caractérisés par des propriétés de gonflement, ils se situent dans la catégorie des hydrogels. Le chitosane, les alginates et la gélatine sont des polysaccharides souvent utilisés pour l'encapsulation des substances médicamenteuses à libération modifiée [1].

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail dont l'objectif consiste à la préparation et à la caractérisation d'une forme pharmaceutique encapsulant le diclofénac sodique comme principe actif pour assurer une libération prolongée dans le temps. Ce mode de libération permet à la forme pharmaceutique de protéger le diclofénac sodique des conditions agressives stomacales et de permettre sa libération au niveau des intestins. Les microparticules ont été élaborées en utilisant deux biopolymères, qui sont le chitosane et l'alginate de sodium.

Le travail consiste à réaliser plusieurs formulations sous forme de microcapsules chargées de diclofénac de sodium par gélification ionotrope, en utilisant plusieurs agents de réticulations. Des caractérisations physico-chimiques et morphologiques ont été réalisées à fin de mettre en évidence les propriétés structurales de ces microcapsules. Des études de gonflement, des taux d'encapsulation et de la libération contrôlée *in vitro* dans les conditions physiologiques simulées (buccale, gastrique et intestinale) ont été réalisées afin de connaître le comportement de ces systèmes dans les milieux de la libération. Une étude de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée pour déterminer l'efficacité de la microencapsulation. De plus une étude du modèle de la libération du diclofénac de sodium a été menée pour déterminer le mécanisme de libération dans les milieux considérés.

Le présent document est rédigé en deux parties, la première partie est consacrée à la synthèse bibliographique nécessaire à la bonne compréhension du travail, elle comporte trois chapitres :

- Le premier chapitre présente des informations sur la microencapsulation et les systèmes à libération modifiée.
- Le deuxième chapitre décrit les biopolymères (chitosane et l'alginate de sodium), leurs propriétés et applications sont citées.
- Le troisième chapitre présente une description des médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) en particulier le diclofénac sodique.

Nous présentons dans une deuxième partie, le travail expérimental réalisé, que nous avons divisé en deux parties :

- La première partie est consacrée à la présentation des méthodes d'élaboration des microparticules et de leur caractérisation physicochimique, morphologique, test de gonflement, taux d'encapsulation, activité anti-inflammatoire, cinétique et modèle de la libération *in vitro*.
- La deuxième partie du chapitre présente l'ensemble des résultats expérimentaux obtenus, ainsi que leur interprétation. L'objectif principal de cette partie est de confirmer le rôle de la microencapsulation dans la libération de la substance active à la fois dans les différents milieux physiologiques considérés (buccale, gastrique et intestinale). Les résultats obtenus permettent de mieux comprendre l'efficacité de la microencapsulation et son influence sur la libération contrôlée du principe actif dans ces deux environnements.

Enfin, notre travail se termine par une conclusion générale qui rassemble une synthèse des résultats obtenus.

Chapitre I :

Microencapsulation et systèmes à libération modifiée

CHAPITRE I:

MICROENCAPSULATION ET SYSTEMES À LIBÉRATION MODIFIÉE

I.1 Introduction:

L'encapsulation est une technique très répandue dans divers domaines grâce à ses nombreux avantages tels que la protection des matériaux encapsulés contre la lumière et l'humidité, le masquage des goûts des médicaments, la transformation de liquides en solides, le contrôle des caractéristiques de libération et la disponibilité des matériaux revêtus. Cette technique consiste à appliquer des revêtements fins sur de petites particules solides, des gouttelettes de liquides et des dispersions [1].

La biodisponibilité d'un principe actif est définie par le ratio entre la quantité administrée et celle qui est effectivement utilisée dans la zone à traiter. Dans le domaine biomédical, l'amélioration de cette biodisponibilité est une préoccupation majeure, et la recherche s'est notamment intéressée à la vectorisation de principes thérapeutiques. Ainsi, pour les galénistes modernes, le médicament est considéré comme un système de délivrance du principe actif (drug delivery system) constitué d'un ou plusieurs principes actifs et d'excipients, et qui suit les étapes classiques du système ADME [1].

I.2 La microencapsulation :

I.2.1 Définition:

L'encapsulation permet de transformer un liquide en solide, de masquer une odeur ou un goût désagréable, de protéger des substances sensibles des effets délétères de l'environnement extérieur, ainsi que d'obtenir une libération contrôlée et ciblée des principes actifs. C'est une technique qui permet d'obtenir des produits à haute valeur ajoutée. On peut parler de nano encapsulation pour les particules submicroniques (1 à 1000 nm) et de micro encapsulation pour les particules micrométriques (1 à 1000 µm). Nous nous intéressons ici à la micro encapsulation. Les microcapsules peuvent contenir des composés d'origines variées: principes actifs pharmaceutiques, actifs cosmétiques, additifs alimentaires, produits phytosanitaires, arômes, cellules, encres, micro-organismes, ou encore catalyseurs de réactions chimiques [2].

La micro encapsulation regroupe l'ensemble des technologies qui permettent la préparation de microparticules individualisées, constituées d'un matériau enrobant contenant une matière active. Les microparticules présentent une taille comprise entre 1 μm et 1 mm et contiennent typiquement entre 5 et 90 % (en masse) de matière active.

- Les matières actives sont d'origines très variées : principes actifs pharmaceutiques, actifs cosmétiques, additifs alimentaires, produits phytosanitaires, essences parfumées, micro-organismes, cellules, ou encore catalyseurs de réaction chimique...
- Les matériaux enrobants sont des polymères d'origine naturelle ou synthétique, ou des lipides [3].

I.2.2 Historique:

La première application basée sur la technologie de l'encapsulation a été commercialisée il y a 60 ans dans le domaine de l'imprimerie. Il s'agit du papier carbone sans carbone aussi appelé papier autocopiant permettant la duplication d'un texte ou d'une figure sous l'effet d'une faible pression. Ce produit contient des microparticules de colorant réalisées par coacervation complexe entre la gélatine et la gomme arabique qui se brisent sous l'effet de la pression d'une tête d'imprimante ou d'un stylo.

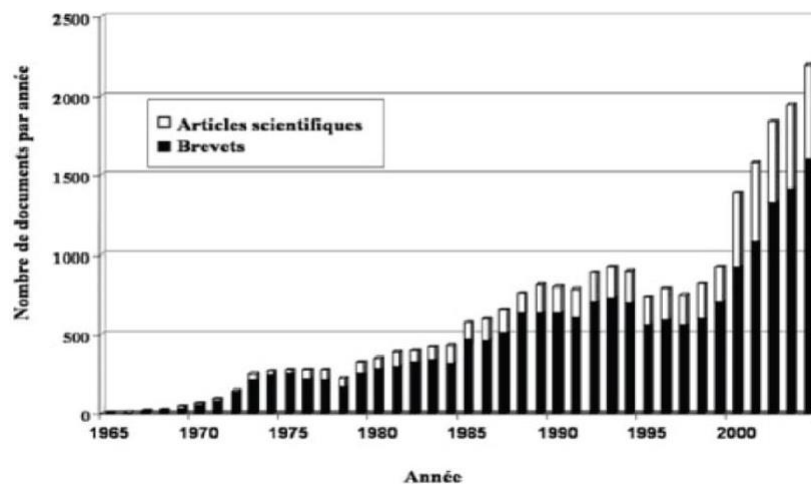


Figure I.1: Evolution du nombre d'articles scientifiques et de brevets publiés par année dans le domaine de la microencapsulation [4].

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

cours des années qui suivirent, la microencapsulation devint un domaine de recherche dynamique tant au niveau académique qu'industriel comme le démontre le nombre croissant d'articles scientifiques et de brevets publiés [4].

I.2.3 Objectif de la micro encapsulation :

L'encapsulation vise à confiner des matériaux tels que les principes actifs dans des particules, afin de les immobiliser, de les protéger, de les libérer ou de les fonctionnaliser. Les raisons pour lesquelles on utilise l'encapsulation sont nombreuses, notamment la protection des matériaux encapsulés contre les agressions extérieures telles que la lumière et l'humidité, le masquage de goût des médicaments, la conversion de liquides en solides, et le contrôle des caractéristiques de libération ou de disponibilité des matériaux revêtus. Le tableau ci-dessous présente quelques exemples d'utilisation de l'encapsulation.

Tableau I.1 : Objectif de la microencapsulation [5].

Type d'encapsulation	PA	Motivation spécifique
Immobilisation	- Cellules, enzymes. - Substance volatils.	- Procédé continu ou accélération du procédé. - Allongement de leur durée de vie.
Protection	- Cellule, enzymes. - Vitamines, huiles insaturées. - Aliments, environnement.	- Protection contre le lessivage, le cisaillement. - Protection contre l'oxygène, la lumière, la chaleur. - Elimination du goût, des acides, des enzymes.
Relargage	- Matière active ou un de ses sous-produits formés en présence d'un des matériaux encapsulant.	- Libération au moyen de la température, d'une force. - Libération au cours du temps. - Libération dans certains environnements (acide, basique, hydratés...).
Fonctionnalisation	- Liquides/ gaz. - Solides/liquides/gaz. - Enzyme et un des matériaux encapsulant.	- Les formuler sous formes solide. - Les disperser dans des formulations liquides ou sèches. - Formulation d'un biocapteur.

I.2.4 Application de la micro encapsulation :

L'application industrielle de la microencapsulation a débuté dans les années 1950 avec la fabrication de capsules contenant des colorants pour la préparation de papiers à faible pression pour la duplication. Depuis lors, la recherche dans le domaine de l'encapsulation s'est intensifiée pour développer de nouvelles technologies, encapsuler de nouveaux composés et proposer de nouveaux matériaux enveloppants, notamment des polymères biocompatibles utilisés dans le domaine médical. On trouve désormais des applications de la microencapsulation dans de nombreux domaines industriels, listés dans le tableau suivant, dans lequel sont également précisés des exemples de composés encapsulés [5].

Tableau I.2: Application de la microencapsulation dans l'industrie.

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

Photographie	Halogénures d'argent, pigments, colorants, composés photo polymérisables, révélateurs pour photographies couleurs, plastifiants...
Electronique	Cristaux liquides, matériaux semi-conducteurs, adhésifs, agents de séchage, retardateurs de flammes, antistatiques...

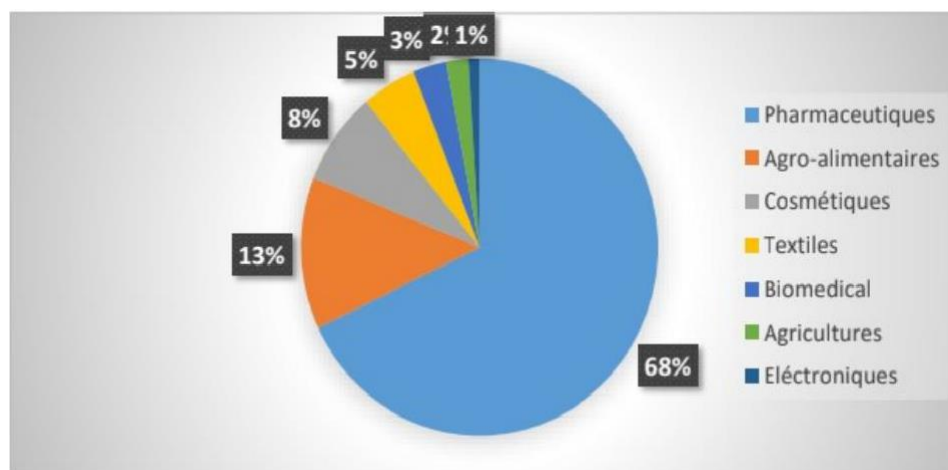


Figure I.2: Représentation schématique de la répartition de l'utilisation de l'encapsulation dans les différents domaines d'application [5].

I.2.5 Technique d'encapsulation :

Il existe plusieurs manières de classer les méthodes de micro encapsulation. Selon Richard et Benoit (2000), il est possible de les classer en fonction de quatre critères différents [3].

- Les procédés peuvent être classés selon l'emploi ou non de solvant organique, certaines techniques telles que la coacervation complexe utilisant des fluides supercritiques.
- La nature du milieu dispersant peut également servir de base à une classification : il peut être liquide (polycondensation interfaciale, coacervation, ...), gazeux (spray drying, enrobage en lit fluidisé, ...), ou encore à l'état supercritique (séparation de phase, ...).
- La famille à laquelle appartient le composé employé pour obtenir la capsule peut également permettre de classer les modes d'encapsulation : peuvent être utilisés des polymères préformés (coacervation, ...), des lipides (spray congealing, ...), ou encore des monomères (polycondensation interfaciale, polymérisation en milieu dispersé, ...).
- Enfin, une dernière classification repose sur la nature du principe selon lequel est réalisée la micro encapsulation: on distingue les procédés physico-chimiques des procédés chimiques et mécaniques [6].

I.2.6 Procédés de microencapsulation :

Il existe de nombreux procédés pour encapsuler des principes actifs, chacun offrant une plage de tailles, un taux d'encapsulation et une structure interne différents. De plus, les microparticules peuvent prendre différentes formes finales, telles que des poudres ou des dispersions dans un liquide. La classification la plus courante des techniques d'encapsulation disponibles se concentre principalement sur le principe fondamental de chaque procédé.

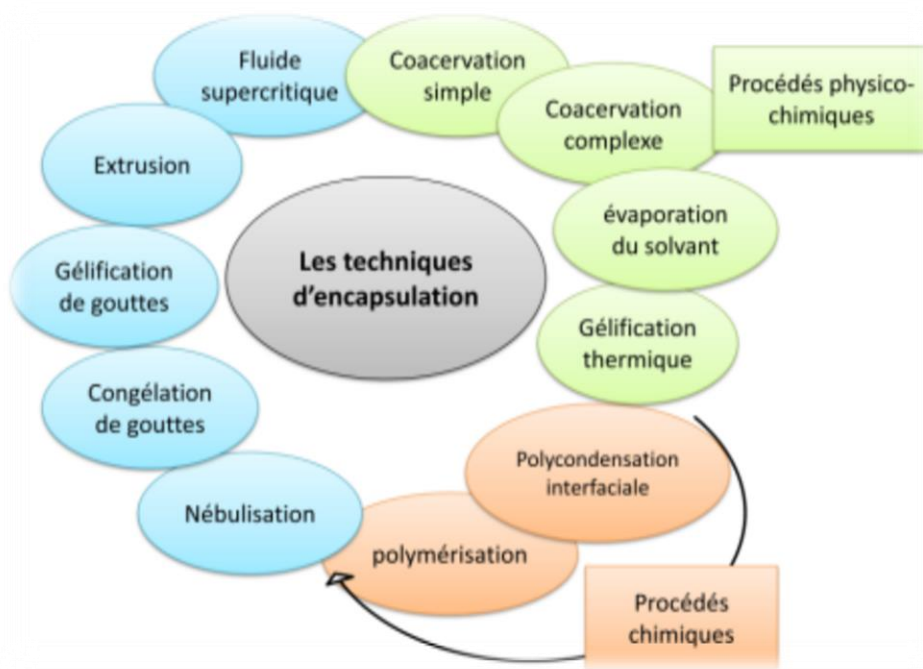


Figure I.3 : Les différents procédés d'encapsulation [6].

I.2.7 Procédés d'encapsulation chimique :

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 [4].

I.2.7.1 Polycondensation inter faciale :

La technique de polycondensation interfaciale est utilisée pour créer une membrane polymère in situ à la surface de gouttelettes d'émulsion. Elle repose sur une réaction chimique entre deux monomères spécifiques, qui se produit à l'interface entre la phase dispersée et la phase dispersante. Cette méthode est applicable aux solutions de matières actives, qu'elles soient organiques ou aqueuses, ainsi qu'aux matières actives liquides. La figure I.4 schématise le principe de cette technique. Les microcapsules obtenues par

polycondensation interfaciale ont une taille comprise entre environ 0,5 μm et 100 μm , en fonction de la taille initiale des gouttelettes d'émulsion [7].

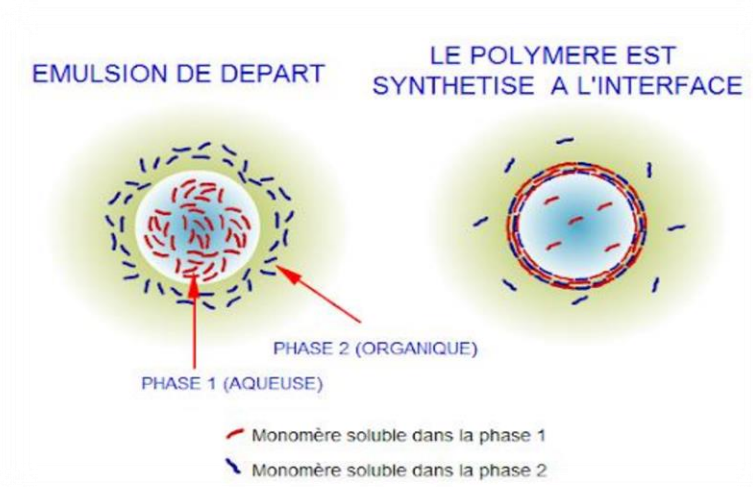


Figure I.4 : Mécanisme de la polycondensation inter faciale [7].

I.2.7.2 Polymérisation inter faciale :

La polymérisation inter faciale est un type de polymérisation par étapes, dans lequel la polymérisation se produit à une interface entre une solution aqueuse contenant un monomère et une solution organique contenant un second monomère (Figure I.5) [8].



Figure I.5 : Les étapes de la polymérisation inter faciale [8].

I.2.8 Procédés d'encapsulation physico-mécanique :

Sont basés sur le séchage ou la solidification de gouttelettes contenant tous les constituants de la future particule [4].

I.2.8.1 Nébulisation /séchage (spray drying):

La technique de nébulisation/séchage est une méthode continue qui permet de transformer une solution, une suspension ou une émulsion liquide en poudre en une seule étape. Le principe de base de cette méthode est de vaporiser la formulation liquide à travers une buse d'atomisation pour produire un aérosol de fines gouttelettes de 5 à 500 μm dans une chambre de traitement. Les gouttelettes sont alors exposées à un flux d'air chaud, circulant soit en co-courant, soit en contre-courant, dans cette même chambre. Grâce à une grande surface d'échange, l'évaporation du liquide est rapide, ce qui permet de former des microparticules solides. Dans le cas d'une solution, la concentration du produit dissout augmente à mesure que le volume liquide diminue, ce qui entraîne la précipitation du solide.

La méthode de nébulisation-séchage est couramment utilisée dans les industries pharmaceutiques pour encapsuler des enzymes, des hormones de croissance, ainsi que dans le secteur agroalimentaire pour des composés tels que le menthol ou la vitamine C. Toutefois, ce procédé n'est pas approprié pour les substances thermolabiles qui peuvent être dégradées par l'augmentation de température inhérente au processus, telles que les vitamines comme le α -tocophérol. Les microsphères produites ont généralement une taille de 1 à 50 μm pour un séchage à co-courant, mais les tailles moyennes obtenues pour un séchage à contre-courant sont plus importantes, de l'ordre de 2 à 3 mm en raison de l'agrégation des petites particules. Le taux d'encapsulation obtenu est inférieur à 40% [4].

I.2.8.2 Enrobage en lit fluidisé (spray coating):

La technique d'enrobage en lit fluidisé utilise un courant d'air permettant la suspension des particules de principe actif à enrober. La solution liante est pulvérisée en spray grâce à une buse permettant la dispersion de fines gouttelettes de matériau enrobant à la surface des particules de principe actif. L'enrobage est réalisé par passages successifs et cycliques des particules dans les zones de pulvérisation et de séchage, et ce afin d'obtenir un enrobage continu et homogène des microparticules [4].

Ce procédé nécessite des particules solides de principe actif ayant une distribution granulométrique assez étroite afin d'obtenir des enrobages homogènes et d'épaisseur contrôlée avec des particules non agglomérées. De plus, cette technique n'est pas adaptée à l'enrobage de particules dont la taille est inférieure à 100 μm à cause de phénomènes d'agrégation au cours du procédé. L'épaisseur des films d'enrobage se situe généralement

entre 1 μm et 20 μm , les films devant être suffisamment épais pour masquer les défauts de surface. Le taux d'encapsulation est généralement compris entre 60 et 90%. Cette technique a été adoptée par de nombreuses entreprises pharmaceutiques et agroalimentaires notamment pour l'utilisation d'ibuprofène, de paracétamol ou de vitamines dont le goût a été masqué de manière efficace en utilisant un enrobage avec la prolamine sans impact sur la biodisponibilité de la substance active [4].

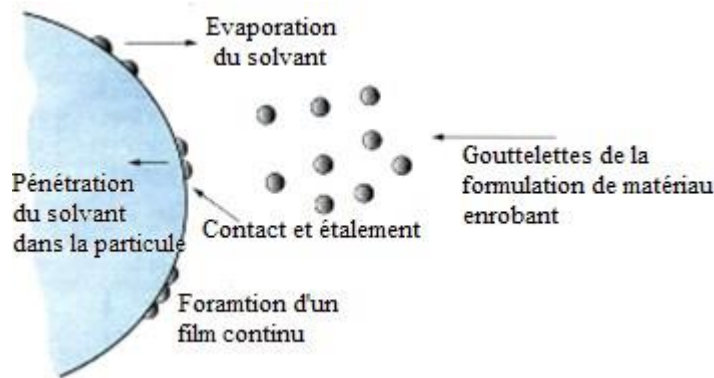


Figure I.6: Formation d'un film d'enrobage par spray coating sur des particules solides [4].

I.2.9 Procédés d'encapsulation physico-chimique:

Sont dépendants : (i) 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...), (ii) de changements d'état (fusion et solidification) des agents enrobants [4].

I.2.9.1 Procédés basés sur la séparation de phase:

La coacervation est un processus au cours duquel les macromolécules se désolvates, entraînant ainsi une séparation de phases dans la solution. Cette séparation donne naissance à deux phases distinctes au sein du milieu :

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

Si, dans le même temps, une matière active est dispersée dans ce milieu, sous forme de gouttelettes par exemple, le coacervat formé pourra l'encapsuler si les conditions d'étalement des phases en présence sont respectées [7].

La micro encapsulation par coacervation complexe se compose de quatre étapes. Tout d'abord, une émulsion ou une dispersion est créée dans laquelle la substance à

encapsuler constitue la phase dispersée et les matériaux d'encapsulation forment la phase continue. Ensuite, la modification du milieu par une variation de température, l'addition d'un non-solvant, d'un électrolyte ou d'un second polymère incompatible induit une séparation de phase des polymères dans la phase continue. Cette séparation de phase entraîne le dé-solvatation des macromolécules, conduisant à une séparation de phases au sein de la solution. Le coacervat est ainsi formé, une phase riche en polymère et pauvre en solvant qui se dépose à la surface des gouttelettes de principe actif. Si le coacervat est composé d'un seul polymère, la coacervation est dite simple, tandis que si deux polymères coexistent, il s'agit d'une coacervation complexe.

Enfin, une étape de réticulation de l'enveloppe des microcapsules est souvent nécessaire pour solidifier la membrane et éviter un éclatement non désiré. Les polymères les plus étudiés pour cette technique sont la gélatine, les gommes d'acacia et de cellulose, en particulier pour le couple gélatine/gomme d'acacia. Cette technique permet d'obtenir des microparticules de 5 à 200 μm en moyenne avec un taux d'encapsulation élevé pouvant atteindre 90%, notamment pour la coacervation complexe. L'avantage de cette technique est qu'elle utilise peu ou pas de solvant organique, mais le choix des matériaux est limité aux couples de poly électrolytes de charges opposées, et seuls les principes actifs hydrophobes peuvent être encapsulés [4].

I.2.9.2 Procédés d'évaporation et d'extraction de solvant :

La méthode de micro encapsulation par évaporation de solvant repose sur l'évaporation de la phase interne d'une émulsion sous agitation. Cette technique comprend les étapes suivantes : Tout d'abord, le matériau d'enrobage, qui est généralement un polymère hydrophobe, est dissous dans un solvant organique volatil. Ensuite, la molécule active à encapsuler est soit dissoute, soit dispersée dans cette solution organique. La phase organique est ensuite émulsionnée sous agitation dans une phase aqueuse contenant un agent tensioactif. Une fois que l'émulsion est formée, le solvant organique commence à diffuser dans la phase aqueuse sous agitation pour s'évaporer, ce qui entraîne la précipitation du polymère sous forme de microsphères (figure I.7) [9].

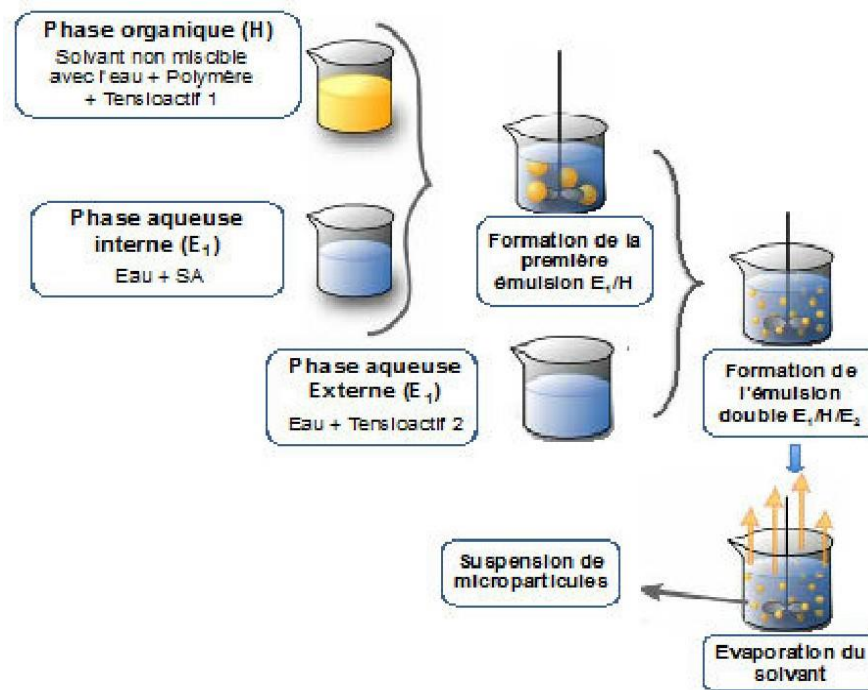


Figure I.7 : Schéma de principe du procédé de micro encapsulation par évaporation de solvant [9].

I.2.9.3 Micro encapsulation par gélification thermique :

La méthode de hot melt, également appelée fusion, implique la fusion du matériau d'enrobage dans lequel la substance active à encapsuler est dissoute ou dispersée. Ensuite, l'émulsion est créée dans une phase dispersante, qui doit avoir une température supérieure à la température de fusion du matériau d'enrobage et ne doit pas avoir d'affinité avec la substance active : l'eau distillée est utilisée lorsque la substance est lipophile, tandis que l'huile de silicone peut être utilisée lorsqu'elle est hydrosoluble. Enfin, pour obtenir la solidification des globules dispersés, le milieu est refroidi brusquement (Figure I.8) [7].

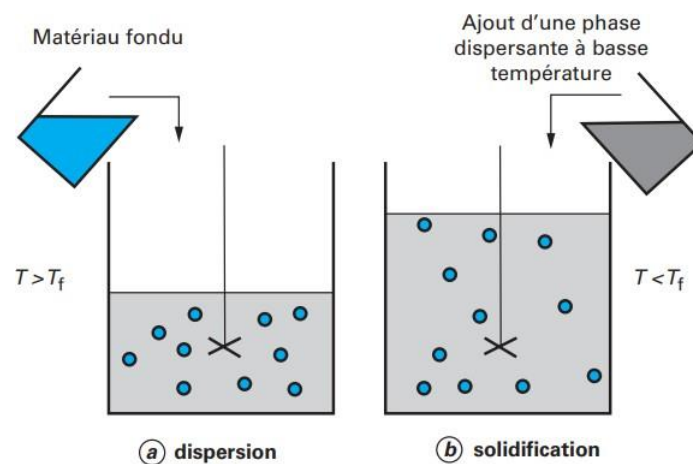


Figure I.8 : Schéma de principe du procédé d'encapsulation par gélification thermique [7].

I.3 Les systèmes à libération modifiés :

I.3.1 Généralités sur la voie orale :

La voie orale est considérée comme le mode d'administration pour la majorité des principes actifs, quel que soit leur poids moléculaire ou leur structure [10]. Cette voie demeure la plus couramment utilisée pour administrer des médicaments. Les formes orales sont en effet faciles à administrer pour les patients et la physiologie du système gastro-intestinal (GI) est facilement modélisable pour les chercheurs [9]. L'objectif est d'obtenir une efficacité thérapeutique optimale en permettant une absorption complète, uniforme et reproductible du médicament administré, ce qui garantit des concentrations plasmatiques souhaitées dans un délai et une durée déterminés [11].

Il existe de nombreux avantages à administrer des médicaments par voie orale, notamment la facilité et l'acceptabilité par le patient, ainsi que la possibilité de fournir de fortes doses de substances actives dans un petit volume et en une seule administration. Cependant, cette méthode présente également des inconvénients, notamment la possibilité d'altération des principes actifs par les sécrétions du tube digestif contenant différents pH et enzymes, ainsi que la possibilité d'irritation du tractus gastro-intestinal par certaines substances. Pour surmonter ces inconvénients, des formes galéniques particulières, telles que des formes gastro-résistantes, doivent être préparées. Après ingestion, le devenir du médicament dans l'organisme est composé de trois phases distinctes: la phase biopharmaceutique, la pharmacocinétique et la pharmacodynamique [9].

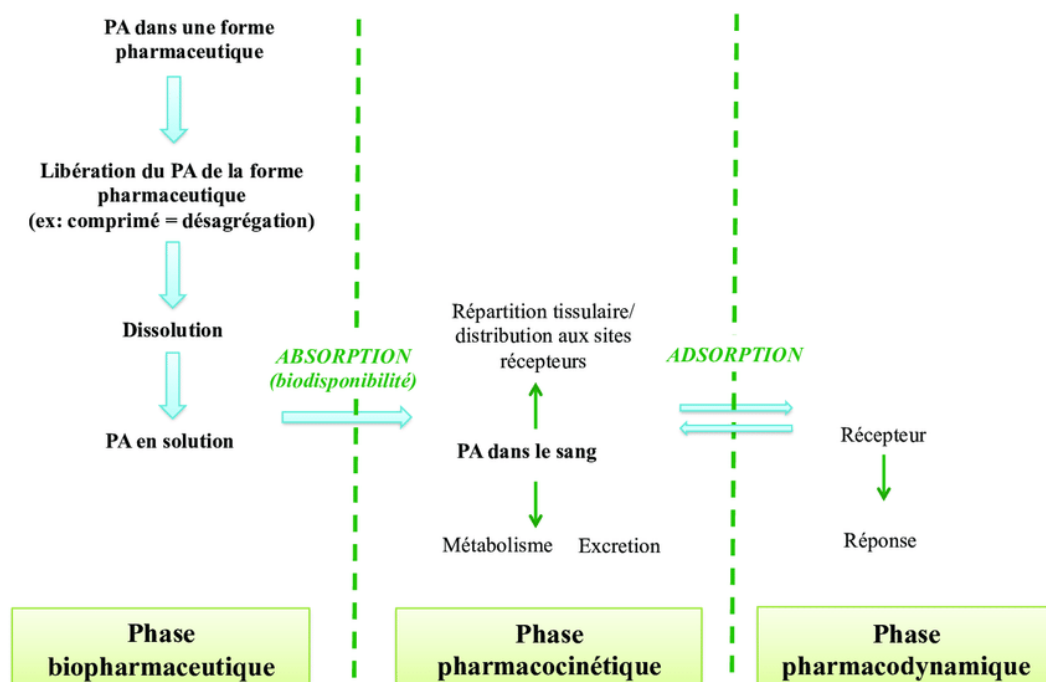


Figure I.9 : Représentation du devenir d'un principe actif dans l'organisme [9].

1.3.2 Principe de la pharmacocinétique:

La pharmacocinétique est une approche de modélisation qui utilise des données expérimentales et des paramètres tels que la clairance et le volume de distribution pour analyser le métabolisme d'un médicament dans l'organisme. Elle permet d'orienter: le choix des voies d'administration; l'adaptation des posologies; le choix de l'intervalle thérapeutique [6].

La pharmacocinétique vise à comprendre la répartition temporelle des métabolites et du médicament dans les différents compartiments du corps, tels que le sang, le liquide interstitiel et les cellules, en étudiant leur absorption, leur distribution, leur métabolisme et leur élimination. Les experts en pharmacologie moderne considèrent le médicament, qui se compose d'un ou plusieurs principes actifs et d'excipients, comme un système de délivrance du principe actif (également appelé drug delivery system dans la terminologie anglo-saxonne), qui suit les étapes classiques du système ADME. Habituellement, une libération rapide du principe actif est souhaitée en thérapeutique pour obtenir une activité thérapeutique dans un délai court et soulager rapidement le patient. Pour cela, une forme à libération conventionnelle ou accélérée est choisie. Cependant, dans certains cas, une libération ralentie ou différée du principe actif peut être désirée pour prolonger la durée de l'effet thérapeutique. C'est dans ce but que les formes à libération modifiée ont été développées [6].

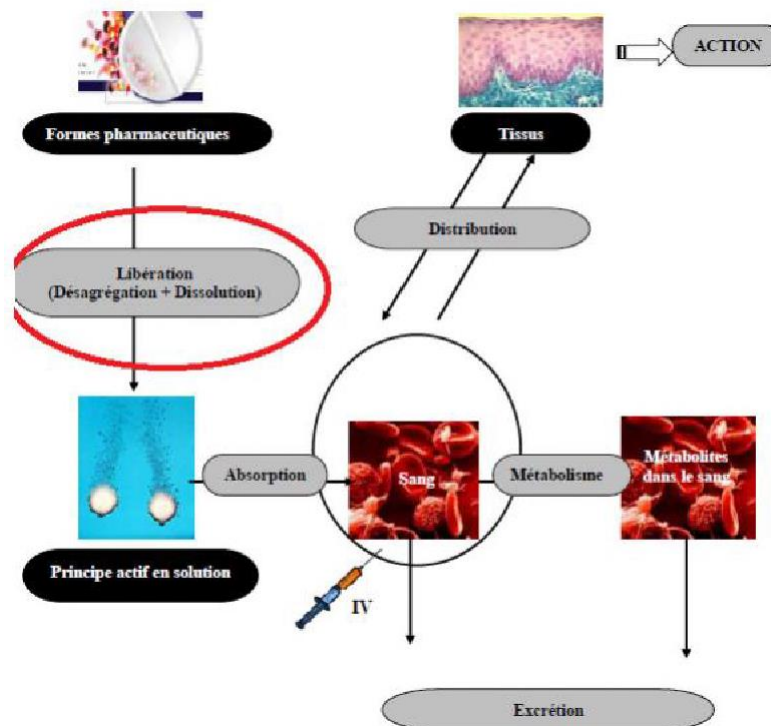


Figure. I .10: Etapes de modélisation pharmacocinétique ADME [6].

I.3.3 Formes à libération modifiée:

La phase d'absorption des principes actifs dépend de la libération et de la dissolution de la formulation galénique dans le milieu biologique au site d'administration. Les facteurs limitant de la phase d'absorption sont la vitesse de libération et de dissolution. La conception de formes à libération modifiée consiste à modifier la vitesse de libération du principe actif en fonction de la durée d'action souhaitée. Les formes à libération modifiée ont une vitesse de libération différente de celle des formes à libération immédiate ou conventionnelle [12].

I.3.3.1 Libération prolongée:

La libération prolongée caractérise une forme galénique à partir de laquelle le principe actif va être libéré sur une période de temps plus étendue, dans certains cas à vitesse constante, par comparaison à une forme à libération immédiate. Ce type de libération permet de réduire la fréquence d'administration pour les principes actifs de durée brève dont on souhaite une action prolongée (Figure I.11) [12].

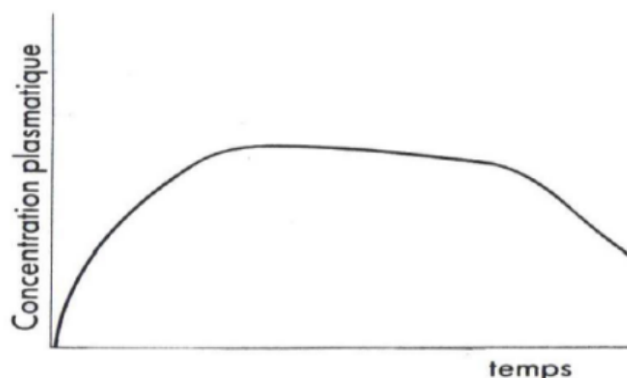


Figure I.11 : Représentation du profil de libération prolongée [12].

Dans les systèmes matriciels à libération prolongée, le principe actif peut être libéré par diffusion passive à travers la membrane polymérique ou par dégradation/dissolution progressive du matériau enrobant. La libération dépendra donc de la structure des systèmes étudiés. La Figure I.12 illustre un exemple d'une forme galénique solide à libération prolongée [7].

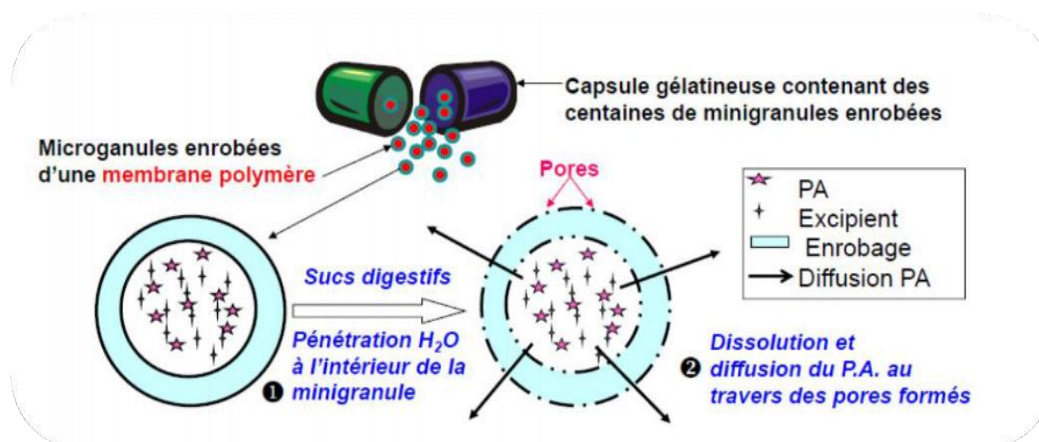


Figure I.12 : Forme galénique solide à libération prolongée [7].

Le processus de libération prolongée des principes actifs suit un profil cinétique qualifié d'« ordre zéro ». Ce type de profil est indépendant du temps et des variables biologiques présentes dans l'environnement environnant. Il est basé sur des phénomènes physiques constants. L'idéal serait d'obtenir un profil de libération contrôlé qui compenserait l'élimination du principe actif. Ce profil présenterait plusieurs avantages, notamment : la réduction des prises journalières, l'accroissement du confort du malade, l'amélioration de l'observance du traitement, la diminution des effets secondaires indésirables par suppression des pics plasmatiques [11].

I.3.3.2 Libération retardée:

Les formulations de "formes retard" retardent la libération du principe actif (PA) par rapport à la libération immédiate, déplaçant ainsi le profil plasmatique conventionnel vers la droite. Ces formulations protègent le PA des paramètres du milieu environnant tels que le pH ou les enzymes du haut tractus gastro-intestinal ou protègent les muqueuses intestinales du principe actif. Elles peuvent également différer la libération pour réduire le nombre de prises médicamenteuses hebdomadaires ou augmenter la concentration du principe actif dans la seconde partie du tube digestif. Le profil de libération contrôlée est considéré comme idéal car il compense l'élimination et présente de nombreux avantages [13].

Les formulations appelées "formes retard" peuvent retarder la libération du principe actif (PA) par rapport à une libération immédiate, ce qui peut protéger le PA des paramètres du milieu environnant tels que le pH ou les enzymes du haut tractus gastro-intestinal. Ces formes peuvent également protéger les muqueuses intestinales du PA et

différer la libération pour réduire la fréquence des prises médicamenteuses ou augmenter la concentration du PA dans la seconde partie du tube digestif [11].

I.3.3.3 Libération accélérée:

On peut accélérer la libération du principe actif en augmentant la vitesse de désaggrégation, comme dans le cas des comprimés effervescents, solubles ou dispersibles. Cette méthode permet une absorption rapide et est utile pour une action pharmacologique rapide. De plus, ces formulations permettent de faciliter la prise médicamenteuse, d'augmenter la biodisponibilité, et même d'administrer le médicament par sonde naso-gastrique après dissolution. La voie sublinguale est également utilisée pour éviter l'effet de premier passage hépatique [13].

I.3.3.4 Libération ciblée:

Une forme à libération ciblée est une forme posologique qui libère le médicament au niveau ou près du site d'action physiologique prévu. Les formes posologiques à libération ciblée peuvent avoir des caractéristiques de libération immédiate ou prolongée [14].

I.3.3.5 Libération contrôlée:

Par définition, le rôle d'un système à libération contrôlée est de délivrer la quantité d'un principe actif, au bon endroit et au bon moment. Plusieurs phénomènes peuvent être utilisés pour contrôler de manière efficace les espèces libérées : [11].

- Pénétration de l'eau dans la matrice du fait des gradients de concentration;
- Dissolution des cristaux et des agrégats polymorphes du principe actif;
- Dissolution des excipients;
- Fait des gradients de concentration;
- Diffusions des ions/molécules de PA et/ou des excipients dissous du fait des gradients de concentration;
- Gonflement et/ou dissolution du polymère.

La Figure I.13 représente les différents profils de libération d'un principe actif: immédiate, prolongée et contrôlée.

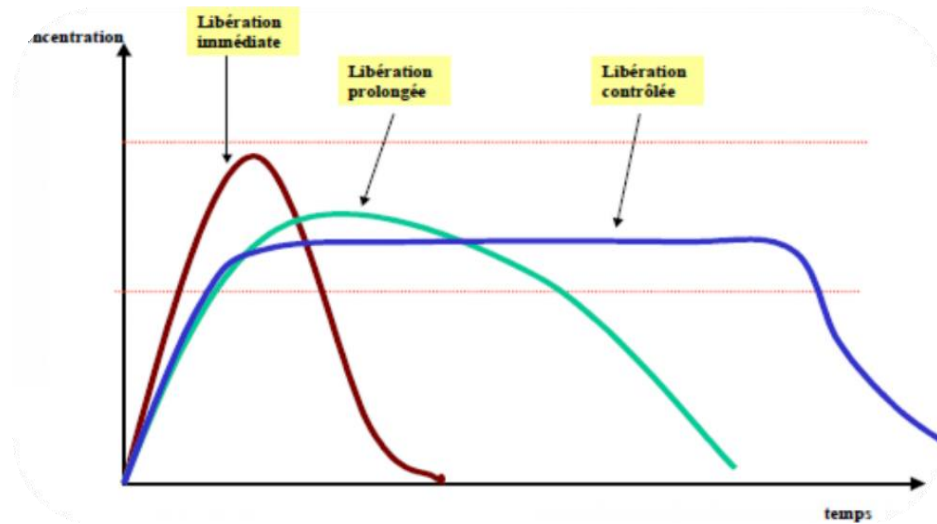


Figure I.13 : Représentation des différents profils de libération d'un principe actif (Immédiate, Prolongée et Contrôlée) [11].

I.3.4 Modèles théorique du mécanisme de libérations de principe actif :

La libération du principe actif à partir d'une matrice polymérique est régulée en général par trois mécanismes qui sont étroitement liés aux propriétés structurales du polymère, notamment son taux de gonflement, sa vitesse de gélification et son comportement dans les fluides physiologiques. Ces mécanismes dépendent également de la nature du principe actif.

I.3.4.1 Diffusion fickienne :

La diffusion du principe actif à travers la matrice polymérique se produit en raison d'un gradient de concentration entre la matrice et le milieu environnant. Les modèles d'ordre 0 et 1 sont les plus adaptés pour décrire les profils cinétiques de libération du principe actif dans les formulations conventionnelles. L'équation de libération est basée sur le modèle de diffusion de Fick, qui décrit la relation entre la variation temporelle et spatiale du principe actif dans la matrice [8].

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left[D \frac{\partial C}{\partial x} \right] \text{ 2ème Loi de Fick..... (1)}$$

I.3.4.2 Modèle d'ordre zéro (modèle non fickien):

Il est appliqué aux formes à libération modifiée de type matriciel inerte avec des PAs peu solubles qui ne se désagrègent pas (la surface du comprimé ne change pas). Ces formes libèrent le produit sur une grande période de temps à quantités égales. L'équation du

modèle : Ordre zéro (le rapport de concentrations est proportionnel au temps et linéaire en fonction de(t).

$$\frac{C_t}{C_\infty} = \frac{M_t}{M_\infty} = k_0 t \quad , \text{ ou bien } Q_t (\%) = k_0 t \dots\dots\dots (2)$$

C_t et C_∞ , sont respectivement les concentrations du PA libéré au temps t et à saturation (équilibre), M_t et M_∞ leurs masses ou quantités en mg correspondantes. Q_t est le taux de PA dissous à t ; K_0 et k_0' : les constantes cinétiques.

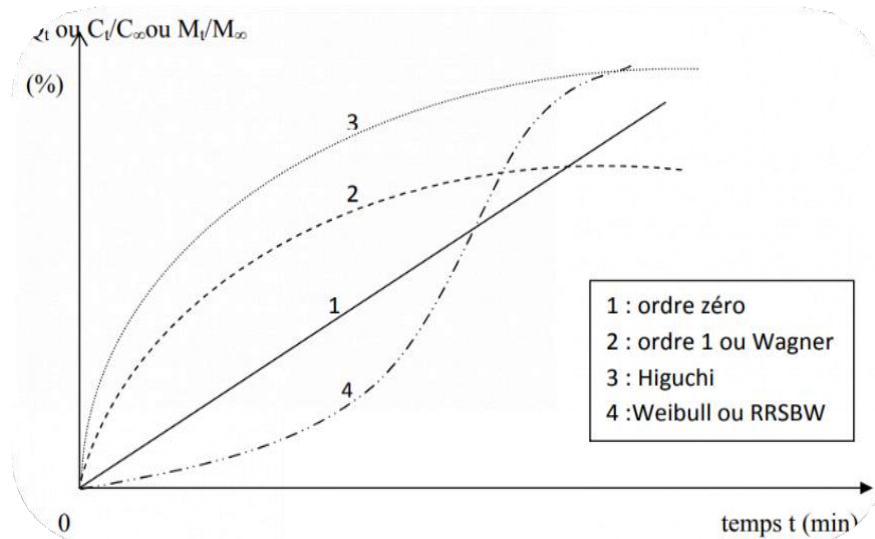


Figure I.14 : Profils des cinétiques de dissolution de modèles fickiens et d'ordre zéro [8].

I.3.5 Mécanisme de libération du principe actif à partir des microcapsules :

Les caractéristiques d'une particule sont déterminées par plusieurs facteurs, notamment sa taille et sa distribution de taille, sa forme, sa porosité, ses propriétés mécaniques et thermiques, sa tension de surface, sa mouillabilité, son potentiel zêta et son degré de gonflement de la surface. Ces propriétés varient en fonction du procédé d'encapsulation utilisé. Nous aborderons plus en détail l'impact de ces différents paramètres ultérieurement [15]. Les principaux paramètres gouvernant les propriétés de ces systèmes sont :

- Les paramètres du milieu extérieur: la température, le pH, l'humidité.
- Les paramètres intrinsèque que sa la phase encapsulée : la solubilité, la température d'ébullition et de fusion [16].
- Les paramètres intrinsèques à la membrane (ou matrice): la structure chimique des polymères, a masse molaire [17] et sa cristallinité ainsi que l'épaisseur et la
- porosité de la membrane [18].

D'autre part, selon le procédé d'encapsulation et la morphologie de la particule, le taux d'encapsulation varie entre 20 et 35% pour les sphères et peut être supérieure à 85% dans le cas de capsules [19].

Le taux d'encapsulation (loading) est défini comme ci-dessous :

$$E(\%) = \frac{M_{\text{principe actif encapsulé}}}{M_{\text{particules}}} \dots\dots\dots (3)$$

En fonction de leur application, il est possible de classer les particules en deux catégories : les systèmes à libération provoquée et les systèmes à libération contrôlée et prolongée (figure I.15).

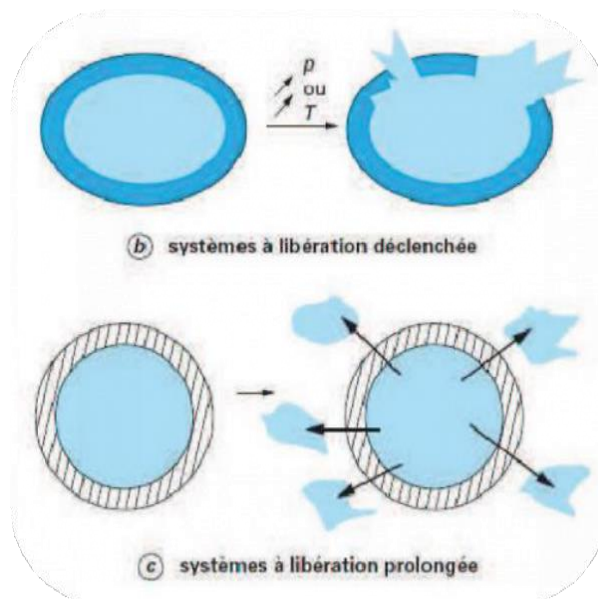


Figure I.15 : Schéma des deux différents types de libération pour les microparticules [6].

- **Les systèmes à libération provoquée :** Les systèmes d'encapsulation à libération immédiate sont souvent sous forme de capsules, où le principe actif est libéré rapidement par la rupture d'une membrane peu perméable. Cette rupture peut être provoquée par une variation de température, de pH, une dégradation enzymatique de la membrane, ou une pression mécanique ou osmotique [6].
- **Les systèmes à libération contrôlée et prolongée :** Les formulations dans lesquelles le principe actif est libéré par diffusion à travers une membrane suivant les lois de Fick sont appelées des formes à libération contrôlée. Dans ces formulations, la membrane ou la matrice est perméable ou se dégrade au fil du temps (érosion, gonflement). Les caractéristiques de la particule, telles que la morphologie (capsule ou sphère), la taille,

la structure et l'épaisseur de la membrane ou de la matrice, ainsi que la localisation du principe actif, peuvent affecter considérablement les profils de libération. En outre, les conditions environnementales peuvent également avoir un impact significatif sur la cinétique de libération [6].

I.4 Conclusion :

Ce chapitre est prédéfini de telle manière à connaître les différents procédés de l'encapsulation et facilite le choix de l'opération, le meilleur procédé selon la disponibilité de nos matériels et le genre des molécules.

Plusieurs technologies pharmaceutiques permettent de prolonger la libération d'un principe actif, réduisant ainsi la fréquence d'administration nécessaire en comparaison avec les médicaments conventionnels. Grâce à ces technologies, de nombreuses formes galéniques par voie orale sont désormais disponibles, nécessitant une administration une ou deux fois par jour, ce qui permet d'éviter les pics plasmatiques. Cette méthode de libération prolongée est plus pratique pour le patient et favorise une meilleure observance des traitements, tout en pouvant réduire les effets secondaires indésirables. Elle est particulièrement utile pour la libération de principes actifs à marge thérapeutique étroite.

Chapitre II :

Les biopolymères

CHAPITRE II: LES BIOPOLYMÈRES

II.1 Introduction:

Ces dernières années, l'objectif de découvrir de nouveaux matériaux plus performants et mieux adaptés aux exigences actuelles est devenu un enjeu crucial. Les biopolymères, tels que la cellulose ou l'alginate, sont des polymères qui sont soit issus d'organismes vivants, soit synthétisés à partir de ressources renouvelables. Leur popularité a connu une croissance exponentielle ces dernières années en raison de leur origine biologique et surtout de leur capacité à être biodégradables. En substituant ou en mélangeant ces polymères avec d'autres polymères synthétisés à partir d'hydrocarbures, cela offre des possibilités d'applications intéressantes dans de nombreux secteurs, y compris dans l'industrie pharmaceutique.

II.2 Les Polymères :

Le polymère est définie comme un système formé par un ensemble de macromolécules, c'est-à-dire d'entités moléculaires de grande taille issues de l'assemblage covalent d'un grand nombre d'unité répétitives plus communément appelées unités ou (motifs) monomère [20]. Les polymères sont des molécules très grandes, appelées macromolécules et construites à partir de molécules plus petites, les monomères. Un polymère (ou homopolymère) est composé d'un unique type de monomères. Lorsqu'on est en présence de différents types de monomères, on parle alors de copolymère.

L'arrangement des différents monomères peut se faire de différentes manières, avec une incidence directe sur leurs propriétés. Ils peuvent être composés selon différentes proportions et disposés en différents blocs qui alternent dans la chaîne. Le polymère linéaire est le plus simple des arrangements de monomères. Des chaînes linéaires peuvent également présenter des ramifications [21]. Les différentes chaînes de polymères peuvent être liées entre elles, par des liens chimiques (covalents) ou physiques (hydrogènes, ioniques, hydrophobiques). On parle de polymère réticulé [22].

II.3 Les Biopolymères :

Les polymères d'origine végétale, ou bio polymères, sont souvent présents dans les parois cellulaires des plantes, tels que la cellulose et la lignine, et peuvent également servir

de réserve de croissance pour les plantes, comme c'est le cas pour l'amidon. Ces polymères peuvent être extraits directement des plantes. En outre, des monomères simples peuvent être obtenus à partir de ces plantes après des transformations chimiques et/ou enzymatiques de ces molécules. Les polymères peuvent ensuite être obtenus par polymérisation de ces monomères, ce qui permet d'obtenir des polymères dits d'origine végétale [23].

Les polymères sont à la base de plusieurs matériaux et sont utilisés dans différents domaines, tels que : fibres textiles naturelles et synthétiques, mousses isolantes, colles, vêtements, vaisselle, emballage alimentaire (bouteille), et industrie (flacons de détergents, sachets,...) industrie chimique (tuyauteries, cuves,...) [24].

II.4 Le chitosane:

II.4.1 Définition, source et structure :

Le chitosane est le principal bio polymère dérivé de la chitine (copolymère de N-acetyl-D- glucosamine et N-D-glucosamine, unis par des liaisons β -(1 $\rightarrow$ 4)) (Figure II.1). La chitine est très riche en résidus N-acetyl-D-glucosamine. Le chitosane résulte d'une désacétylation de la chitine sous des conditions alcalines ou par hydrolyse enzymatique (en présence d'une chitine désacétylase). Le chitosane est donc un polymère plutôt riche en D-glucosamine avec des fractions molaires de N-acetyl-D-glucosamine (= degré d'acétylation (DA)) variables. Par définition, les chitosanes sont les polymères dont le DA permet leur solubilisation en milieu aqueux acide dilué. Ainsi, les chitosanes ont souvent un DA compris entre 0 et 65 % [25].

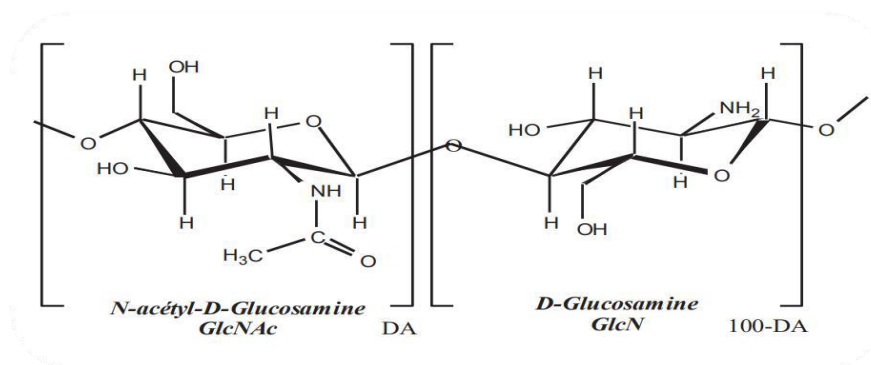


Figure II.1: Structure de la chitine et du chitosane [25].

La chitine, constitue le deuxième bio polymère le plus répandu sur Terre, après la cellulose. Elle est principalement extraite à partir des cuticules des arthropodes tels que les crabes et les crevettes, ainsi que de l'endosquelette des céphalopodes comme les sèches et les calmars, qui contiennent entre 20 et 30 % de chitine sur une base sèche.

Toutefois, on la trouve également dans les parois cellulaires et la matrice extracellulaire de certains champignons, levures et algues, ainsi que dans la cuticule des insectes. La quantité de chitine varie en fonction de l'espèce, des conditions de croissance et des saisons. Les propriétés physiques (poids moléculaires et distribution en poids moléculaires) et chimiques (degré d'acétylation, pureté) peuvent également varier en fonction de la source et des méthodes de préparation [25]. L'isolement de la chitine à partir des carapaces se fait normalement en deux étapes : la déprotéinisation et la déminéralisation (élimination du carbonate et phosphate de calcium).

La déprotéinisation est généralement réalisée par trempage des carapaces dans une solution de NaOH (1–10%) à des températures élevées (65–100°C). Le temps d'immersion peut varier entre 0.5 à 12 h et dépendra du procédé et des caractéristiques recherchées. La déminéralisation s'effectue dans une solution d'acide chlorhydrique (jusqu'à 10%) à température ambiante pendant des temps variant entre 0.5 h et quelques jours selon les méthodes de préparation. La chitine obtenue peut alors être décolorée permettant d'obtenir une poudre de chitine commerciale de couleur blanche [25].

II.4.2 Comportement physico-chimique du chitosane :

II.4.2.1 Comportement en solution :

On peut solubiliser le chitosane en protonant les fonctions NH_2 situées sur la position C_2 de l'unité D-glucosamine. En milieu aqueux acidifié, le polysaccharide devient un poly électrolyte cationique dont la solubilisation est due aux répulsions électrostatiques entre les fonctions amines. Cependant, la solubilité du chitosane est difficile à contrôler et dépend de divers paramètres, notamment la masse molaire moyenne en masse (M_w), le degré de dés acétylation (DA), la concentration ionique, le pH, la nature de l'acide utilisé pour la protonation, ainsi que la distribution des groupements acétylés le long de la chaîne.

Les propriétés physico-chimiques des solutions varient en fonction du degré d'acétylation, avec l'identification de trois domaines distincts. Les domaines intermoléculaires hydrophobes peuvent être présents dans toutes les formes physiques du chitosane, représentant un continuum de structure de la solution à la forme solide.

A faible DA: comportement de poly-électrolyte fort, à fort DA: comportement de poly-électrolyte faible ou hydrophobe, à DA intermédiaires: une zone où les propriétés physico-chimiques varient peu avec le DA [25].

II.4.2.2 Aptitude à la formation de gels:

Il existe deux types d'hydrogels, chimiques et physiques. Seuls, les hydrogels physiques de chitosane sans agents réticulants seront abordés ici. Ils possèdent ainsi l'avantage de ne pas contenir d'agents réticulants éventuellement toxiques. Les hydrogels résultent de liaisons ou d'interactions de différentes natures : ioniques, hydrogènes, Van Der Waals ou hydrophobes. Les chitosanes ont ainsi la capacité de gélifier par l'intermédiaire de plusieurs mécanismes:

L'un des mécanismes pour obtenir des hydrogels de chitosane est la réticulation ionique ou la formation de complexes poly électrolytes. Dans le premier cas, la réticulation est réalisée par l'interaction des groupes NH_3 du chitosane avec des anions tels que le sulfate ou le citrate. Dans le second cas, la réticulation est obtenue en réagissant le chitosane avec un polymère chargé négativement dont les charges sont opposées à celles du chitosane, comme les alginates.

En modifiant certains paramètres physico-chimiques, tels que la densité de charge apparente du chitosane, il est possible de produire des hydrogels physiques de chitosane. Moore et Roberts ont noté que la solubilité du chitosane diminue progressivement avec l'augmentation du degré d'acétylation, ce qui conduit finalement à la formation de gels non réversibles [25].

II.4.3 Propriétés du chitosane:

Les propriétés du chitosane sont nombreuses, ce qui lui vaut d'être utilisé dans des domaines variés, allant de l'agriculture à la médecine. On a récemment rapporté que la chitine et le chitosane présentaient plusieurs propriétés telles que la biocompatibilité, la biodégradation, le pouvoir chélatant qui permet l'élimination des métaux lourds et du cholestérol ou d'autres graisses, les comportements antimicrobiens et antioxydants, Etc. En effet, il présente aussi un intérêt dans le domaine de la libération des médicaments [26].

II.4.3.1 Biocompatibilité:

La non-toxicité du chitosane a été démontrée chez la souris, le rat et l'humain pour des applications diététiques et cosmétiques. Il est préférable de considérer le dispositif médical lui-même, plutôt que le matériau avec lequel il est fabriqué pour évaluer la réelle biocompatibilité.

Effectivement, le même matériau pourra présenter des propriétés différentes et induire des réponses différentes en fonction de sa forme physique (solution, hydrogel, fil, etc.), de la fonctionnalité du dispositif médical et de ses conditions d'implantation.

La cytocompatibilité du chitosane a largement été étudiée, notamment sous différentes formes (solution, hydrogel, film, lyophilisat, etc.) et sur différents types de cellules telles que les fibroblastes, les chondrocytes, les kératinocytes ou les ostéoblastes. Néanmoins le comportement des cellules au contact d'un matériau à base de chitosane (*in vitro* ou *in vivo*) dépend des paramètres structuraux du chitosane (DA, M_w), sans oublier la forme du matériau testé [25].

II.4.3.2 Agent hémostatique:

Le chitosane n'altère pas les équilibres osmotiques du sang, les protéines plasmatiques, les éléments figurés du sang et les cellules du tissu vasculaire. Néanmoins, ses interactions avec le sang sont toujours étudiées. Effectivement, bien qu'il n'ait pas été observé de symptômes anormaux après une injection en intraveineuse de chitosanes et d'oligochitosanes, des propriétés hémostatiques sont décrites dans la littérature.

Une activité hémostatique du chitosane de haute masse a été démontrée. Il a été montré que le chitosane avait la capacité de diminuer de 43 % le temps de saignement du lapin dont la coagulation avait été diminuée par l'administration d'héparine. Le mécanisme de coagulation provoquée par un film de chitosane serait dû à l'agglutination des globules rouges au contact du polysaccharide dont les propriétés poly-cationiques pourraient jouer un rôle important, indépendant de la cascade de coagulation classique [25].

II.4.3.3 Agent cicatrisant:

Le chitosane est un matériau utilisé dans l'ingénierie tissulaire en raison de sa capacité à favoriser la prolifération de différents types de cellules sans altérer leur phénotype, stimulant ainsi la production de matrice extracellulaire. Les hydrogels de chitosane ont été largement étudiés et ont démontré leur capacité de cicatrisation, aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*. Le chitosane stimule la cicatrisation en activant les cellules inflammatoires telles que les macrophages, les fibroblastes.

Le chitosane a des propriétés bénéfiques pour l'ingénierie tissulaire et la cicatrisation. Il stimule la prolifération de différents types de cellules et favorise la production de matrice extracellulaire [25].

II.4.3.4 Agent antibactérien:

Le chitosane possède une capacité antibactérienne dans les applications pharmaceutiques, cosmétiques, agroalimentaires et médicales. Les chitosanes ont une activité antibactérienne sur les bactéries G⁺ et G⁻ avec plusieurs mécanismes d'action proposés, y compris l'interaction ionique, la liaison avec l'ADN microbien, la formation d'une barrière externe et l'influence de l'adhérence bactérienne [25].

II.4.4 Application de chitosane :

Les différentes applications du chitosane sont groupées dans le tableau ci-dessous.

Tableau II.1: Les différentes applications du chitosane pour les différents secteurs industriels [26].

<i>Application</i>	<i>Rôle du chitosane</i>
Traitement d'eau	Floculant/Coagulant, chélateur de métaux.
Pâtes et papier	Traitement de surfaces, papier carbone.
Agriculture	Enrobage des graines, relargage contrôlé de produits, fertilisant, bio-fongicide, protection contre le gel, stimulateur de floraison et germination.
Alimentation et nutraceutique	Agent de conservation (antibactérien et antifongique), épaississant, émulsifiant, stabilisant, antioxydant, floculant pour la clarification des boissons, agent d'encapsulation et d'enrobage.
Cosmétique	Hydratant, antibactérien, anti-odeur, traitement capillaires, gel dentaire.
Biotechnologies et biomédical	Antibactérien et antifongique, immunostimulant, hémostatique, anticoagulant et antithrombogène, agent d'accélération de la cicatrisation, traitement des brûlures, matrice pour la régénération des os, support de transport et libération contrôlé des médicaments, immobilisation et encapsulation d'enzymes, transport de gènes.

II.5 L'alginate de sodium:

Selon l'algue utilisée et les produits désirés, plusieurs techniques sont possibles. Pour récupérer l'alginate de sodium, les premières étapes consistent à broyer l'algue sèche puis à la mettre en suspension dans une solution chaude de carbonate de sodium pendant environ deux heures. Au cours de cette étape l'alginate se dissout sous forme d'alginate de sodium. Les résidus des algues sont ensuite retirés. La solution étant très visqueuse, il est nécessaire de la diluer pour pouvoir la filtrer. Après filtration on obtient une solution d'alginate de sodium [27].

En tant qu'excipient pharmaceutique utilisé en galénique, plusieurs synonymes peuvent être utilisés mais le symbole E401 sera plus souvent utilisé. Sa structure chimique est donnée par la (Figure II.2) [27].

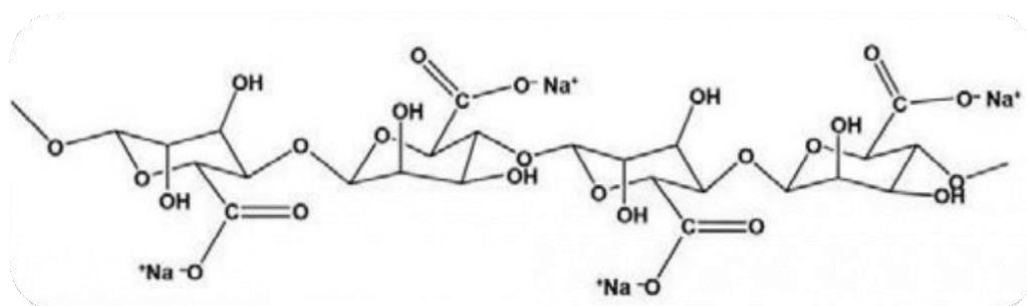


Figure II.2: Structure chimique d'alginate de sodium [27].

II.5.1 Comportement physico-chimique des alginates:

L'alginate de sodium, comme tous les sels d'alginate monovalents, est soluble dans l'eau pour des valeurs de force ionique faibles. Lorsque la salinité du milieu augmente, la solubilisation du polyanion est plus lente.

Le pH de la solution joue aussi un rôle dans la solubilisation des alginates. Un changement de force ionique dans la solution peut avoir un effet important sur la conformation de la chaîne polymère et donc sur la viscosité de la solution. De plus, lorsque la force ionique augmente, la vitesse de solubilisation de l'alginate diminue. Ainsi, il est préférable de solubiliser dans un premier temps l'alginate dans l'eau pure avant d'y ajouter une espèce ionique sous agitation [25].

II.5.2 Propriétés Alginate de sodium:

La stabilité de l'alginate au stockage est excellente lorsque la poudre est stockée dans un récipient bien fermé (à sec). Sa solubilité varie en fonction de type de solvant utilisé, soluble dans l'eau froide formant des solutions visqueuses de nature colloïdale et insoluble

dans les solvants organiques (éther, chloroforme...) et les solvants de nature alcoolique dont la teneur en alcool est supérieure à 30%. La solubilité de l'alginate dépend de trois paramètres principaux [28].

- **Force ionique :**

La force ionique représente l'activité des ions d'une solution aqueuse, c'est à dire qu'elle intervient dans la force d'attraction et répulsion entre les particules colloïdales. Cette force agit par la présence de groupements anioniques au niveau du polysaccharide 'alginate'.

- **Présence d'ions divalents :**

La solubilité d'alginate est influencée par l'interaction de ses groupement carboxylique ($-\text{COO}^-$) avec les ions divalents (Ca^{2+} , Mg^{2+} ...), cette constatation est importante pour choisir les bons ingrédients de préparation par exemple éviter une eau qui est dure dont les teneurs en calcium sont assez élevées.

- **Viscosité :**

Il existe différents grades d'alginate de sodium avec des viscosités différentes en fonction de leur provenance, espèces d'algues et de la saison ce qui donne une variation structurelle du polysaccharide. Il existe aussi une relation inversement proportionnelle entre la viscosité et la vitesse de cisaillement. La protonation des groupes carboxylates dans la structure de l'alginate qui forme des liaisons hydrogènes sont à l'origine de sa viscosité. Malgré qu'elle est constante dans un pH compris entre 6 et 8, elle augmente fortement lorsque le pH est réduit jusqu'à atteindre une viscosité maximale à pH entre 3 et 3.5. [28]

II.6 Conclusion:

Ce chapitre présente une description des biopolymères et en particulier le chitosane et l'alginate de sodium. Ces biopolymères présentent des propriétés fonctionnelles exceptionnelles et peuvent être considérés comme des matériaux innovants et prometteurs pour les applications pharmaceutiques et médicales.

Chapitre III :

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens : Diclofénac sodique

CHAPITRE III: LES ANTI-INFLAMMATOIRES NON STÉROÏDIENS: DICLOFÉNAC SODIQUE

II.1 Introduction:

Après l'introduction de l'acide acétylsalicylique sur le marché, le premier médicament anti-inflammatoire qui a été commercialisé est la phénylbutazone, en 1952. Ce n'est qu'une décennie plus tard que l'acide méfénamique, l'ibuprofène et l'indométacine ont été ajoutés à cette classe de médicaments. À ce moment-là, les fabricants de médicaments ont décidé de se lancer dans le développement de nouveaux anti-inflammatoires avec une activité supérieure et une meilleure tolérance. En 1973, le laboratoire CIBA-GEIGY a innové en commercialisant le Diclofénac sous le nom de Voltarène.

III.2 Définitions Anti-inflammatoire non stéroïdiens (AINS) :

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont des médicaments symptomatiques à action rapide qui ont des propriétés analgésique, antipyrétique et anti-inflammatoire. Ils réduisent la douleur, la fièvre et l'inflammation [29].

III.3 Mécanisme d'action et propriétés d'AINS:

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens permettent de lutter contre le processus inflammatoire de nombreuses affections. Les AINS inhibent la synthèse de prostaglandines par les cyclo-oxygénases (Cox) 1 et 2. Ainsi la Cox-1 apparaît être une enzyme de régulation (fonctions rénales, gastriques, homéostasie vasculaire) et la Cox-2 une enzyme d'adaptation (réaction inflammatoire). Les propriétés des AINS sont les suivantes: anti-inflammatoire, analgésiques, antipyrétiques et antiagrégant plaquettaire [29].

III.3.1 Demi-vie d'élimination plasmatique:

Elle est très variable et conditionne la fréquence des prises. Ainsi on distingue les AINS à demi-vie:

- ⇒ Courte : inférieure à 8 heures (salicylés).
- ⇒ Moyenne : entre 10 et 18 heures (Diflunisal, Sulindac, Naproxènes).
- ⇒ Longue : supérieure à 48 heures (Oxicams, Pyrazolés).

III.3.2 Métabolisme et élimination:

Les AINS sont éliminés de l'organisme par biotransformation au niveau hépatique. L'élimination des AINS peut entraîner certaines interactions avec d'autres médicaments lors de cette étape pharmacocinétique [30].

III.3.3 Indications:

- Douleur, fièvre, inflammation.
- Traumatologie, chirurgie orthopédique, ORL, stomatologie.
- Rhumatismes inflammatoires chroniques (arthrose, polyarthrite rhumatoïde).
- Tendinites, lombalgies, goutte.
- Laryngite, sinusite.
- Dysménorrhée.
- Colique néphrétique.

III.3.4 Effets indésirables:

- Digestif: nausées, vomissements, brûlures d'estomac, diarrhée, constipation, risque d'ulcère gastrique.
- Cardiovasculaire: hypertension artérielle.
- Rénal: néphrotoxicité, insuffisance rénale fonctionnelle.
- Nerveux: étourdissements, somnolence, confusion, difficultés de concentration, acouphènes.
- Respiratoire: spasme bronchique.
- Hématologie: risque hémorragique, diminution des défenses immunitaires, thrombopénie, agranulocytose.
- Réactions allergiques [31].

III.3.5 Noms des médicaments:

- Acide acétylsalicylique (Aspirine®, Aspegic®, Salipran®)
- Diclofénac (Voltarène®)
- Kétoprofène (Profénid®)
- Ibuprofène (Advil®, Spifen®, Nurofen®, Nureflex®)
- Piroxicam (Feldene®)
- Acide tiaprofénique (Surgam®)
- Naproxène (Apranax®)

- Acide niflumique (Nifluril®, Niflugel®)
- Indométacine (Indocid®)
- Célécoxib (Célébrex®) [32].

III.3.6 Administration et surveillance:

- **Administration:**
 - Privilégier les traitements de courte durée.
 - Association à un protecteur gastrique (inhibiteur de la pompe à protons) si antécédent d'ulcère gastroduodéal, si traitement prolongé ou si âge > 65 ans.
 - Administration en 2 à 3 fois par jour. - Pour la voie orale, prendre le traitement au cours du repas [32].
- **Surveillance:**
 - Évaluer l'efficacité du traitement: diminution de l'inflammation, de la douleur ou de la fièvre.
 - Surveiller l'apparition des effets indésirables notamment les douleurs gastriques et les troubles digestifs.
 - Surveiller la fonction rénale (diurèse et ionogramme) [32].

III.4 Le Diclofénac sodique:

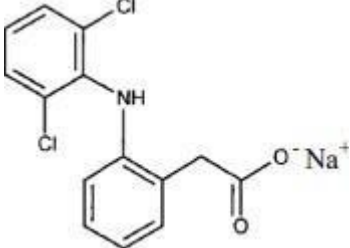
Le Diclofénac de sodium est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS), dérivé de l'acide phénylacétique du groupe des acides arylcarboxyliques. Il possède les propriétés suivantes: activité antalgique, antipyrétique, anti-inflammatoire et inhibition de courte durée de la fonction plaquettaire.

On compte 57 médicaments contenant la substance active seule et deux médicaments contenant la substance active en association (Misoprostol). Disponible sous plusieurs formes : orale, injectable, rectale, cutanée, collyre et à différentes doses 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg [33].

III.5 Caractéristiques physicochimiques:

Les propriétés physicochimiques du Diclofénac de sodium sont résumées dans le tableau III.1 ci-dessous:

Tableau III.1 : Propriétés physicochimiques du diclofénac sodique [34].

<i>DCI</i>	<i>Diclofénac de sodium</i>
IUPAC	[2-[(2,6-dichlorophényl) amino]phényl] acétate de sodium
Formule chimique brute	C ₁₄ H ₁₁ Cl ₂ NO ₂
pKa	4,0 ± 0,2 à 25 °C dans l'eau
Formule chimique développée	
Masse molaire	318,1 g /mol
Point de fusion	280 °C, avec décomposition
Solubilité pour une température de 15°C à 25°C	- Facilement soluble dans le méthanol (1 à 10 ml/1g du Diclofénac) - Soluble dans l'éthanol à 96% (10 à 30 ml/1g du Diclofénac) - Assez soluble dans l'eau (30 à 100 ml/1g du Diclofénac) - Peu soluble dans l'acétone (100 à 1000 ml/1g du Diclofénac)
Aspect	Poudre cristalline, blanche ou faiblement jaunâtre, faiblement hygroscopique

Le Diclofénac selon le système de classification des produits biopharmaceutiques (BCS) telle que défini par la « Food and Drug Administration » FDA appartient à la CLASSE II, caractérisé par une haute perméabilité et une faible solubilité.

III.6 Propriétés pharmacologiques:

III.6.1 Propriétés pharmacocinétiques:

- Absorption :

Le diclofénac est absorbé rapidement et intégralement. Cependant, lorsqu'il est administré par voie orale, environ 50% de sa biodisponibilité est perdue en raison de l'effet de premier passage hépatique. Les concentrations maximales dans le plasma sont généralement atteintes environ 2 heures après l'administration, avec une moyenne de 1,5

mg/l pour un comprimé de 50 mg. Les doses répétées n'entraînent pas d'accumulation de diclofénac dans le plasma [35].

- **Distribution :**

Le diclofénac présente une forte liaison aux protéines plasmatiques (> 99 %). Dans le plasma, sa concentration décroît de manière biphasique, correspondant à une phase rapide de distribution tissulaire et à une phase plus lente d'élimination. Le diclofénac diffuse dans le liquide synovial, où sa concentration maximale est atteinte 2 à 4 heures après le pic plasmatique. Sa demi-vie d'élimination apparente dans le liquide synovial est de 3 à 6 heures. La quantité de diclofénac qui passe dans le lait maternel est faible [35].

- **Métabolisme :**

Le diclofénac est métabolisé rapidement et pratiquement totalement, essentiellement au niveau du foie. Les principales voies de métabolisation sont l'hydroxylation et la glycuconjugaison. Les métabolites obtenus sont dénués d'activité pharmacologique [35].

- **Élimination :**

Le diclofénac est principalement éliminé par voie urinaire et fécale. Moins de 1% du médicament est excrété sous sa forme inchangée dans l'urine, tandis que 60% de la dose administrée est excrétée sous forme de métabolites urinaires, le reste étant excrété dans les fèces. La demi-vie plasmatique d'élimination du diclofénac inchangé est d'environ 1 à 2 heures. La clairance plasmatique totale du diclofénac est d'environ 263 ml/minute [35].

III.6.2 Propriétés pharmacodynamiques :

Le diclofénac est un anti-inflammatoire non stéroïdien dérivé de l'acide phénylacétique du groupe des acides aryl carboxyliques. Il possède les propriétés suivantes:

- Activité antalgique,
- Activité antipyrétique,
- Activité anti-inflammatoire,
- Inhibition de courte durée des fonctions plaquettaires.
- L'ensemble de ces propriétés est lié à une inhibition de la synthèse des prostaglandines [35].

III.7 Conclusion:

En résumé, les AINS sont des médicaments antalgiques efficaces mais leur utilisation doit être prudente chez certains patients en raison des risques potentiels. Des précautions spéciales doivent être prises pour les patients atteints d'insuffisance cardiaque congestive ou ayant des antécédents d'hypertension.

Le diclofénac sodique est un AINS couramment utilisé pour lutter contre l'inflammation, la douleur, la fièvre et la coagulation sanguine.

Chapitre IV :

Étude expérimentale

CHAPITRE IV: ÉTUDE EXPÉRIMENTALE

IV.1 Introduction :

Notre travail expérimental vise à préparer et caractériser une forme pharmaceutique contenant le diclofénac sodique comme principe actif, un anti-inflammatoire non stéroïdien. Cette forme pharmaceutique est conçue pour assurer une libération prolongée et différée dans le temps, ce qui permet de protéger le diclofénac sodique contre les conditions stomacales et de le libérer dans le milieu intestinal (libération entérique).

La forme pharmaceutique élaborée se présente sous forme de gélule qui contient des microparticules préparées à base de deux biopolymères (chitosane, alginate de sodium et biocomposites chitosane/alginate). L'encapsulation du diclofénac de sodium est réalisée à l'aide de la méthode de la gélification de gouttes (coacervation) en utilisant plusieurs réticulants qui sont le tripolyphosphate de sodium (TPP de Na), l'hexamétophosphate de sodium (HMP de Na) et le glutaraldéhyde (Gu).

Une caractérisation structurale des microparticules a été menée par FTIR et microscopie. Le comportement *in vitro* de ces microparticules a été réalisé dans les conditions physiologiques simulant les conditions d'utilisation, par la détermination du taux de gonflement et du taux d'encapsulation du principe actif. L'activité anti-inflammatoire a été réalisée pour déterminer l'efficacité d'encapsulation du principe actif. De plus une étude de la libération *in vitro* de diclofénac sodique a été menée en dans les conditions physiologiques simulées.

La préparation des microparticules vides et chargées par le diclofénac sodique, les différents tests et analyses ont été réalisés au niveau du laboratoire de génie de procédés de l'université « Djilali Bounaama » de Khemis Miliana, laboratoire physico chimique de l'université « Yahia Fares » et groupement SAIDAL à Médéa.

IV.2 Matériels et méthodes :

IV.2.1 Matériels :

IV.2.1.1 Matières premières utilisées :

Principe actif : diclofénac de sodium, il se présente sous forme de poudre cristalline, blanche, faiblement hygroscopique.

Chitosane : Chitosane en poudre : $(C_8H_{13}NO_5)_n$, le chitosane se présente sous forme de poudre blanche, soluble en milieu acide.

Alginate de sodium : Alginate de sodium en poudre : $(NaC_6H_7O_6)$, l'alginate se présente sous forme de poudre jaune, elle se dissout avec de l'eau donnant un liquide visqueux.

IV.212 Réactifs de laboratoire :

- Acide acétique : CH_3COOH (99.7%).
- Tripolyphosphate de sodium : $Na_5P_3O_{10}$
- Hexamétaphosphate de sodium : $NaPO_3$ (62%).
- Glutaraldéhyde : $C_5H_8O_2$ (25%).
- Chlorure de calcium : $CaCl_2$
- Chlorure de potassium KCl
- Chlorure de sodium NaCl
- Hydroxyde de sodium : NaOH.
- Acide chloridrique : HCl (36%).
- Hydrogénophosphate de potassium : K_2HPO_4
- Phosphate mono potassique : KH_2PO_4
- Eau distillée

IV.213 Appareillages :

- Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier FTIR.
- Spectroscopie ultraviolet-visible.
- Microscopie optique.
- Tamiseuse granulométrique.
- Bain marie.
- Balance analytique de précision 0,0001g et 0,001g.
- Agitateur magnétique.
- pH mètre.
- Etuve.

IV.214 Verreries de laboratoire :

- Fioles transparentes (10 ml, 100 ml, 1000ml, 2000 ml).
- Micropipettes de 1 ml.

- Eprouvettes de (250 ml, 500 ml, 1000 ml).
- Béchers en verre.
- Cristalliseur en verre.
- Tubes à essai.
- Pipette graduée 10 ml.
- Entonnoirs en verre.
- Plaque en verre.

IV.22 Modes opératoires :

IV.22.1 Préparation des microparticules vides à base du chitosane:

Le chitosane peut être formulé sous plusieurs formes selon son usage, il peut être façonné sous forme de membranes, de microsphères, de fibres et mailles. Il a l'habilité d'être formé sous formes de films par sa dissolution dans un acide organique comme l'acide lactique ou l'acide acétique et par la suite l'évaporation du solvant.

Dans l'optique d'étudier les propriétés des microparticules du chitosane, nous avons opté en premier lieu à la préparation des microparticules du chitosane sans principe actif (vides). Les microsphères du chitosane ont été préparées par les méthodes de la gélification ionotropique, le mécanisme de formation de ces microsphères est basé sur l'interaction électrostatique entre le groupement amine du chitosane et du groupe chargé négativement du polyanion utilisé pour la gélification, cette méthode offre une méthode de préparation simple et douce dans les milieux aqueux [36].

Une solution du chitosane (2 % p/v) préparée dans une solution de (1 % v/v) d'acide acétique a été égouttée, à l'aide d'une aiguille d'une seringue de 0.5 mm de diamètre, dans différentes solutions de gélification sous agitation continue pendant 1 heure dans un bain de glace, pour permettre la réaction de gélification entre le chitosane et les agents de réticulation, comme illustré dans la figure IV.4. Au cours de cette réaction, une matrice solide se forme autour des gouttelettes, formant les microparticules vides. Les microparticules du chitosane obtenues sont lavées par l'eau distillée plusieurs fois pour éliminer le solvant et le réactif résiduels et séchées par la suite à l'air libre.



Figure IV.1 : Préparation de la solution de chitosane (2% p/v) et de la solution d'acide acétique (1% v/v).

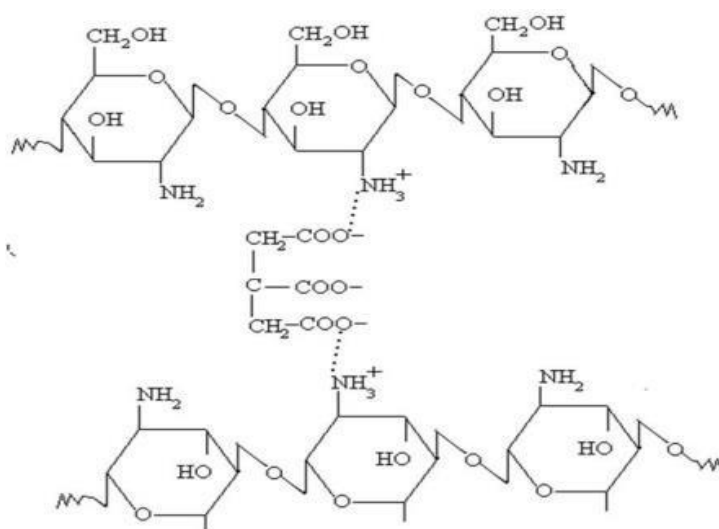


Figure IV.2: Liaison entre le chitosane et l'acide acétique [37].

En raison de son caractère cationique, le chitosane doit être neutralisé afin d'obtenir des formes précipitées telles les microsphères. A cet effet, notre choix s'est porté sur des composés disponibles et les plus courants à savoir le triphosphate de sodium (TPP de Na) et l'hexamétaphosphate de sodium (HMP de Na).

Les deux composés sont des polyanioniques, en solution ils peuvent réagir avec le chitosane polycationique pour former une membrane polymérique sous forme de microparticule sphérique.

La réticulation des microparticules a été réalisée en utilisant plusieurs agents de réticulation différents qui ont été préparés sous forme de solutions aqueuses en (p/v):

- Tripolyphosphate de sodium (TPP de Na) à (10 %).
- Hexamétaphosphate de sodium HMP de Na à (10 %).
- Glutaraldéhyde (Gu) à (1%).

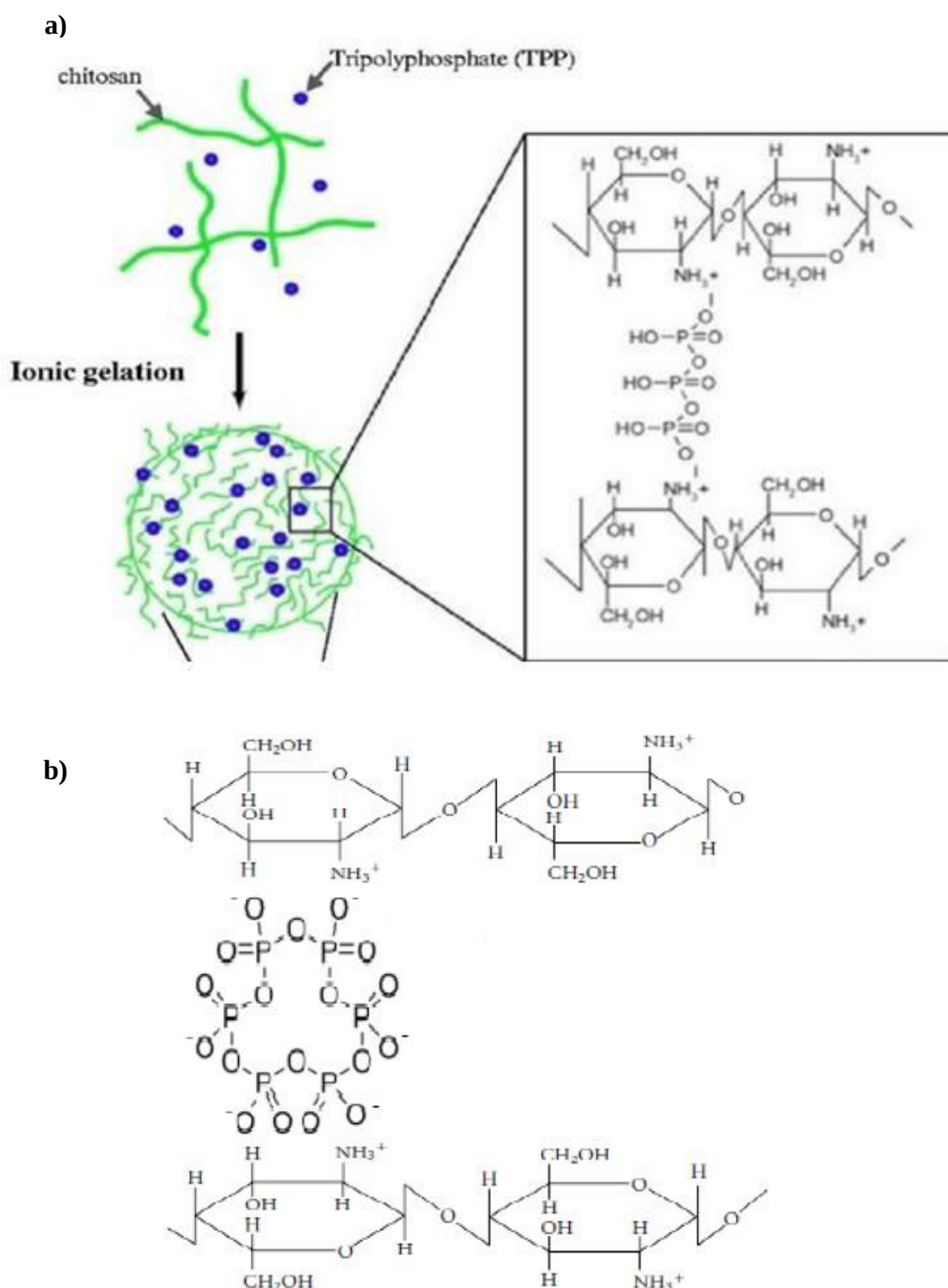


Figure IV.3 : Réticulation ionotrope du chitosane avec: **a)** le Tripolyphosphate de sodium. **b)** l'hexamétaphosphate de sodium [38].



Figure IV.4 : Préparation des microparticules à base du chitosane vides.

Pour pouvoir augmenter le degré de réticulation des microparticules préparées, On a procédé à une deuxième réticulation en utilisant une solution de glutaraldéhyde à (1%). Cette solution a été ajoutée aux différentes solutions de gélification initiales après 1 heure de la formation des microparticules.

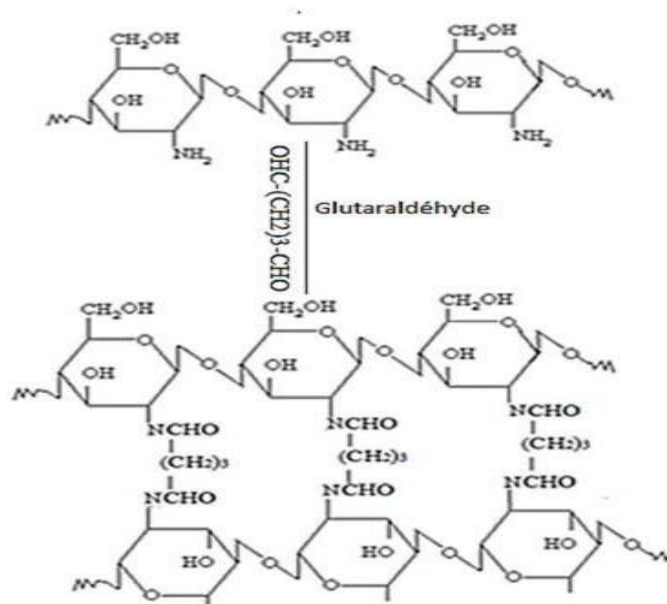


Figure IV.5 : Réticulation ionotrope du chitosane avec le glutaraldéhyde [39].

IV.2.2.2 Préparation des microparticules vides à base d'Alginate de sodium :

Une solution d'alginate de sodium (5 % p/v) préparée dans une solution d'eau distillée a été égouttée, à l'aide d'une aiguille d'une seringue de 0.5 mm de diamètre, dans une solution de CaCl_2 (10 % p/v) sous agitation continue pendant 1 heure dans un bain de glace, pour permettre la réaction de gélification entre l'alginate de sodium et le CaCl_2 . Au cours de cette réaction, une matrice solide se forme autour des gouttelettes, formant les microparticules vides, comme illustré dans la figure IV.6. Les microparticules à base d'alginate de sodium obtenues sont lavées par l'eau distillée plusieurs fois pour éliminer les réactifs résiduels et séchées par la suite à l'air libre.



Figure IV.6 : Préparation de la solution d'alginate (5% p/v d'eau) et préparation des microparticules d'alginate de sodium vides.

IV.2.2.3 Préparation des microparticules biocomposite chitosane/alginate de sodium vides :

Le procédé consiste en la préparation de deux solutions à base des deux biopolymères séparément et de les mélanger par la suite pour produire les microparticules biocomposites. La solution de chitosane est préparée à (2 % p/v) dans une solution de (1 % v/v) d'acide acétique. La solution d'alginate de sodium est préparée à (5 % p/v) dans une solution de l'agent de gélification (TPP de Na à

10% ou HMP de Na à 10 %). Des gouttelettes uniformes sont formées en ajoutant lentement la solution de chitosane à la solution d'alginate/polyphosphates à l'aide d'une aiguille d'une seringue de 0.5 mm de diamètre.

La réaction est laissée pendant 1 heure dans un bain de glace pour permettre la réaction de gélification entre le chitosane et l'alginate/tripolyphosphate. Au cours de cette réaction, une matrice solide se forme autour des gouttelettes, formant les microsphères composites vides qui sont lavées par l'eau distillée plusieurs fois pour éliminer les réactifs résiduels et séchées par la suite à l'air libre.

Pour pouvoir augmenter le degré de réticulation des microparticules préparées, On a procédé à une deuxième réticulation en utilisant une solution de glutaraldéhyde à (1% v/v). Cette solution a été ajoutée aux solutions de gélification initiales après 1 heure de la formation des microparticules.

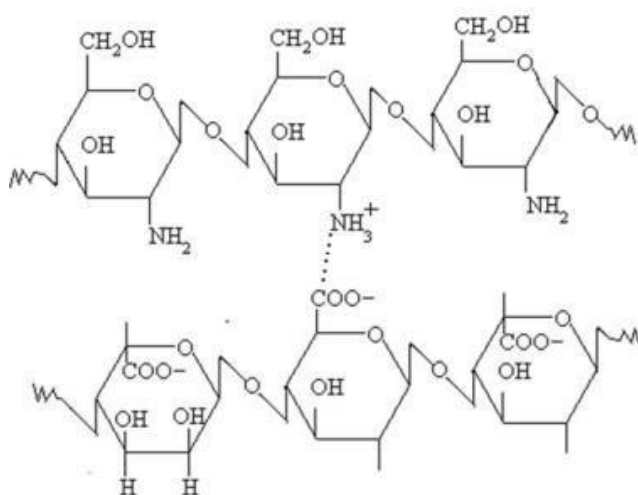


Figure IV.7 : Liaison entre le chitosane et l'alginate de sodium [37].

IV.224 Préparation des microparticules chargées par le diclofénac sodique:

Dans cette partie, nous avons préparés les microsphères à base du (chitosane, alginate de sodium et biocomposites chitosane/alginate) chargées de diclofénac sodique en utilisant les mêmes agents de réticulation utilisés précédemment (TPP de Na à 10%, HMP de Na à 10% et Gu à 1%) suivant les mêmes procédés utilisés pour la préparation des différentes microparticules vides.

Le procédé de préparation consiste à faire dissoudre le diclofénac sodique pour obtenir une concentration initiale de (5 mg/ml) dans les différentes solutions de biopolymères préparées préalablement (chitosane préparée à 2 % p/v dans une

solution d'acide acétique à 1% v/v, alginate de sodium préparée à 5% p/v dans l'eau distillée).

Ces solutions sont par la suite égouttées à l'aide d'une aiguille d'une seringue de 0.5 mm de diamètre, dans les différentes solutions de gélification sous agitation continue pendant 1 heure dans un bain de glace, pour permettre la réaction de gélification entre les biopolymères et les différents agents de réticulation citées précédemment. Les microparticules obtenues sont récupérées, filtrées et lavées plusieurs fois par l'eau distillée.

IV.23 Tests et contrôles réalisés :

IV.23.1 Analyse granulométrique :

L'analyse granulométrique est l'opération consistant à étudier la répartition des différents grains d'un échantillon, en fonction de leurs caractéristiques. Elle permet de déterminer et d'observer les différents diamètres de grains qui constituent un granulat. Pour cela l'analyse consiste à séparer et classer à l'aide de tamis ces grains selon leur diamètre, les grains ainsi isolés peuvent être pesés pour déterminer la proportion de chacun dans le granulat.

L'objectif de l'analyse granulométrique est de fournir des informations précises sur la composition et la distribution des grains dans un échantillon donné. Cette méthode est largement utilisée dans divers domaines, tels que l'ingénierie des matériaux, la géologie, la science des sols et la fabrication de produits granulaires tels que les granulats utilisés dans la construction.

En résumé, l'analyse granulométrique consiste à séparer les grains d'un échantillon en fonction de leur taille à l'aide de tamis, puis à mesurer et quantifier les différentes tailles de grains obtenues. Cela permet d'obtenir des informations essentielles sur la répartition des particules dans le matériau étudié.

L'analyse granulométrique a été réalisée à l'aide d'une tamiseuse (Figure VI.8). Pour cela, on procède au classement des microsphères sur une série de tamis emboîtés les uns dans les autres. Les dimensions des mailles des tamis sont décroissantes du haut vers le bas et calibrés entre 1mm et 500 μ m. Les microsphères sont placées sur le tamis le plus haut et par vibrations pendant 5 minutes, on répartit les microsphères sur les différents tamis selon leur grosseur. En fin de test on pèse chaque tamis individuellement [40].



Figure VI.8 : Tamiseuse pour réaliser le test granulométrique.

IV.23.2 Caractérisation morphologique :

La caractérisation morphologique des différents systèmes microparticulaires préparés est réalisée par le microscope photonique (microscope biologique (OLYMPUS) avec un agrandissement de 0.1 x 4).

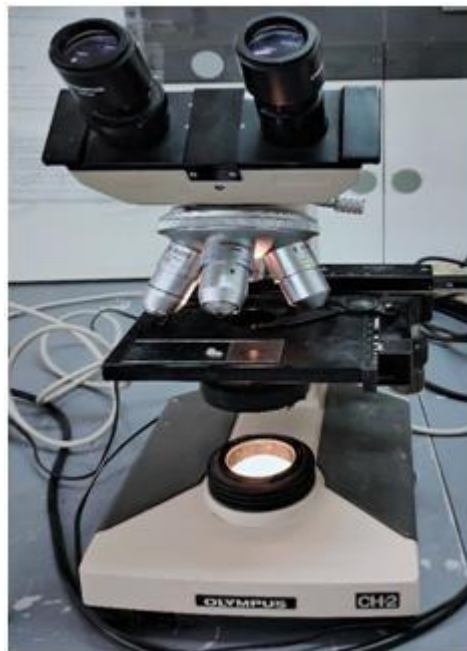


Figure IV.9 : Microscope biologique (OLYMPUS).

IV.2.3.3 Tests de gonflement (T_G):

Le système à gonflement est particulièrement intéressant pour la libération du principe actif parce qu'il est le seul type à laisser diffuser ces molécules, le système à gonflement a l'avantage de donner un type de libération indépendant des propriétés du principe actif. Le taux de gonflement (T_G) est déterminé à partir de la détermination du volume sec (M_i) et gonflé (M_f) de chaque échantillon dans le milieu. Il est important de réaliser cette expérience dans le milieu dans lequel le polymère va être utilisé, dans notre cas il s'agit buccales, gastriques et intestinales.

L'étude de gonflement est réalisée pour déterminer la capacité d'absorption des microsphères du liquide du milieu physiologique et voir également son comportement vis-à-vis de ces milieux. Le protocole d'étude consiste à mettre (0.01 g) des différentes microparticules préparées à base du (chitosane, alginate de sodium et biocomposites chitosane/alginate) dans 40 ml des solutions physiologiques simulés les conditions biologiques buccales, gastriques et intestinales, maintenues à la température de 37 °C en utilisant un bain marie.

Ces solutions sont respectivement :

- Solution de salive simulée (SSF = simulated salivary fluid => pH = 6.8) avec un pH compris entre 6.8 - 7.2.
- Solution gastrique simulée (SGF = simulated gastric fluid => pH = 1.2) avec un pH compris entre 1.2 - 3.5.
- Solution intestinale simulée (SIF = simulated intestinal fluid => pH = 6.9) avec un pH compris entre 6 – 8.



Figure IV.10: Bain marie utilisé pour le test de gonflement.

Une masse égale à 0.01 g est prise pour tous les systèmes particuliers préparés précédemment, la masse est enregistrée avec précision à t_0 . Ces systèmes sont par la suite imprégnés dans 40 ml de solutions physiologiques simulées (SSF, SGF et SIF) et sont pesés chaque 5 minute jusqu'à la stabilité du poids. Les microparticules récupérées pour être pesées doivent être mises sur un papier absorbant pour éliminer l'eau de surface et ensuite pesées par une balance analytique. Les taux de gonflement sont calculés par l'équation suivante :

$$\tau_g = \frac{M_f - M_i}{M_i} \times 100 \dots\dots (4)$$

Où :

M_i est la masse des microsphères sèches.

M_f est la masse des microsphères après gonflement.

IV.23.4 Spectroscopie infrarouge a transformée de Fourier :

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est une technique analytique largement utilisée pour l'identification et l'analyse de composés chimiques. Elle permet d'étudier les interactions moléculaires, la structure chimique, les liaisons chimiques et les groupes fonctionnels présents dans un échantillon.

Le principe de la spectroscopie FTIR repose sur l'interaction entre la lumière infrarouge et les molécules d'un échantillon. Lorsque la lumière infrarouge traverse l'échantillon, certaines longueurs d'onde sont absorbées par les liaisons chimiques spécifiques présentes dans les molécules. L'absorption d'énergie à ces longueurs d'onde génère un spectre d'absorption infrarouge unique pour chaque composé, ce qui permet son identification.

La spectroscopie FTIR offre de nombreux avantages, tels que sa rapidité, sa sensibilité et sa capacité à analyser des échantillons solides, liquides et gazeux. Elle est largement utilisée dans de nombreux domaines tels que la chimie, la pharmacologie, la médecine, la science des matériaux et la recherche environnementale [41].

IV.23.5 Détermination du taux d'encapsulation (T_E):

Pour évaluer le taux d'encapsulation du diclofénac sodique dans les microparticules, on a procédé à la détermination des concentrations du diclofénac sodique encapsulé dans les différents systèmes particuliers élaborés, et pour ce faire, on a déterminé les concentrations du diclofénac sodique dans les surnageants après l'encapsulation. Les

concentrations sont déterminées en utilisant la courbe d'étalonnage du diclofénac dans l'eau distillée.

Le taux d'encapsulation est calculé par la formule suivante:

$$\tau_E = \frac{C_i - C_f}{C_i} \times 100 \dots\dots\dots (5)$$

C_i : La concentration initiale de principe actif.

C_f : La concentration non encapsulé de principe actif (concentration du surnageant).

Pour dresser la courbe d'étalonnage du diclofénac sodique, une série de solutions avec plusieurs dilutions ayant des concentrations connues du diclofénac sodique a été préparée à partir d'une solution mère. L'absorbance de chaque solution a été déterminée par spectrophotomètre UV-Visible à 276 nm. La courbe d'étalonnage est tracée en présentant les absorbances mesurées en fonction des différentes concentrations.

IV.23.6 Etude de la cinétique de libération du principe actif :

L'étude de la cinétique de la libération du principe actif modèle considéré dans cette étude est réalisée dans le but de connaître, d'une part le comportement des microparticules dans les milieux biologiques simulés en présence du principe actif et d'autre part le comportement du principe actif par rapport aux microparticules.

Ces formulations pharmaceutiques (microparticules) chargées sont susceptibles de libérer l'anti-inflammatoire et de manière prolongée, le contrôle de la libération est le mécanisme le plus répandu parmi les systèmes à libération contrôlée.

L'étude de la cinétique de la libération contrôlée *in vitro* par les différents systèmes particuliers (chitosane, alginate et biocomposites chitosane/alginate) chargées est réalisée dans les conditions physiologiques simulées buccales, gastriques et intestinales à 37°C.

Ces solutions physiologiques simulées ont les compositions suivantes :

- Le fluide de la salive simulé (SSF) de pH 6.8 à 7 :

Préparation pour 1 litre, on fait dissoudre 1 g de phosphate monopotassique KH_2PO_4 , 2 g de dipotassium phosphate K_2HPO_4 , 8.5 g de chlorure de sodium NaCl et compléter à 1 l avec de l'eau distillée et on mesure le pH.

- Le fluide gastrique simulé (SGF) de pH 1.2 :

Préparation pour 1 litre : on fait mélanger 250 ml de Potassium chloride KCl (dissoudre 3.73 g dans 250 ml de l'eau distillée), et 59 ml d'acide chlorhydrique HCl (1.63 ml dans 100 ml de l'eau distillée) et compléter à 1 l avec de l'eau distillée et on mesure le pH.

Chapitre IV: Etude expérimentale

- Le fluide intestinal simulé (SIF) de pH 6.8 :

Préparation pour 1 litre : on fait mélanger 112 ml de d'hydroxyde de sodium NaOH (2 g dans 250 ml d'eau distillée), et 250 ml de phosphate monopotassique KH_2PO_4 (6.805 g dans 250 ml de l'eau distillée) et compléter à 1 L avec de l'eau distillée et on mesure le pH.

Les microparticules chargées de diclofénac de sodium (0.01 g) ont été placés dans 40 ml des différentes solutions des milieux physiologiques simulés considérées. Les solutions de libération sont misent dans des tubes fermés et maintenus à la température de 37 °C dans un bain marie. A des intervalles de temps bien définis, (1 ml) du milieu est retiré et ce volume est remplacé par le même volume du milieu frais. La quantité du principe actif libérée est déterminée par spectrophotomètre UV à la longueur d'onde de 276 nm. Les lectures de l'absorbance sont effectuées en plusieurs reprises pour chaque échantillon.



Figure IV.11 : Le test de la libération du diclofénac sodique à partir des microparticules chargées dans les conditions biomimétiques à 37 °C.

IV.23.7 Etude de l'activité anti-inflammatoire *in vitro* :

A. Activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de la dénaturation par l'albumine de l'œuf :

Le modèle de la dénaturation de l'ovalbumine a été choisi dans cette étude. Le principe de cette technique est basé sur la capacité de ces microparticules à réduire la dénaturation thermique de l'ovalbumine (protéine de référence choisi pour sa stabilité lors du processus anti-inflammatoire) [42].

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire a été réalisée selon le protocole de CHANDRA et al, (2012) avec quelques modifications. Les différentes étapes sont résumées comme suit [42]:

- Un volume de 1 ml de solution d'ovalbumine à 2%, préparée dans de l'eau distillée, est ajouté à une masse de 0.03 g de différents types des microparticules;
- Le contrôle est préparé en remplaçant les microsphères par de l'eau distillé;
- De l'aspirine a été utilisé comme standard;
- Les tubes ont été incubés à 72 °C pendant 5 min;
- La lecture est faite à 660 nm;

L'inhibition de la dénaturation de la protéine est déterminée en % par rapport au contrôle, en utilisant la formule suivante :

$$\text{Inhibition de dénaturation (\%)} = \frac{[(\text{Abs de contrôle} - \text{Abs de l'échantillon})]}{\text{Abs de contrôle}} \times 100 \dots\dots\dots (6)$$

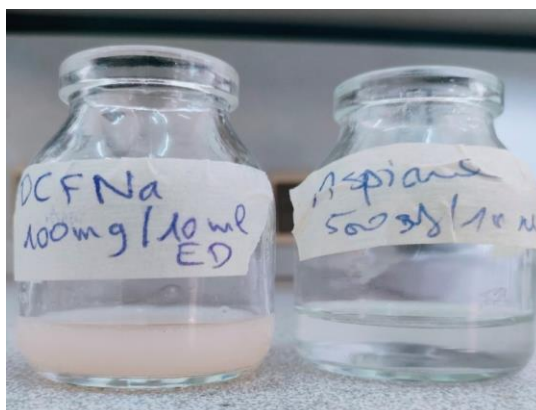


Figure IV.12 : Préparation des solutions standards.

B. Activité anti-inflammatoire *in vitro* par la méthode de dénaturation des BSA :

La méthode utilisée pour mener cette technique est basée sur le protocole décrit par la méthode KAR (2012) avec quelques modifications. Les différentes étapes sont résumées comme suit :

- Control négatif : Un volume de 0.45 ml de BSA (5 %) + 0.05 ml de l'eau distillée,
- Solution standard : Un volume de 0.45 ml de BSA (5 %) + 0.05 ml de 50 mg/ml d'Aspirine et de 10 mg/ml de Diclofénac (Figure IV.13);
- Solution test : Un volume de 0.45 ml de BSA (5 %) + une masse de 0.03 g de différentes type des microparticules;
- Ajustement du pH à 6.3 par HCl (1N);

Chapitre IV: Etude expérimentale

- Incubation à 37 °C pendant 20 min;
- Augmentation de la Température à 57 °C pendant 3 min;
- Refroidissent;
- Addition de 2.5 ml de tampon phosphate;
- Lecture de D.O à 416 nm;
- Calcule % d'inhibition de la dénaturation protéique [42]:

$$\text{Inhibition de dénaturation (\%)} = \frac{[(\text{Abs de l'échantillon} - \text{Abs de contrôle})]}{\text{Abs de contrôle}} 100 \dots \dots \dots (7)$$



Figure IV.13 : La méthode utilisée pour l'activité anti- inflammatoire.

IV3 Résultats et discussions :

IV3.1 Caractérisation des microparticules vides :

IV3.1.1 Aspect général :

L'examen effectué à l'œil nu montre que les microparticules vides préparées à base du (chitosane, alginate, biocomposites chitosane/alginate) obtenues en utilisant les différents réticulants sont sphériques en apparence (voir figures IV.14), avec des diamètres moyens compris entre 250 μm et 1 mm déterminés par analyse granulométrique présentée ci-dessous.

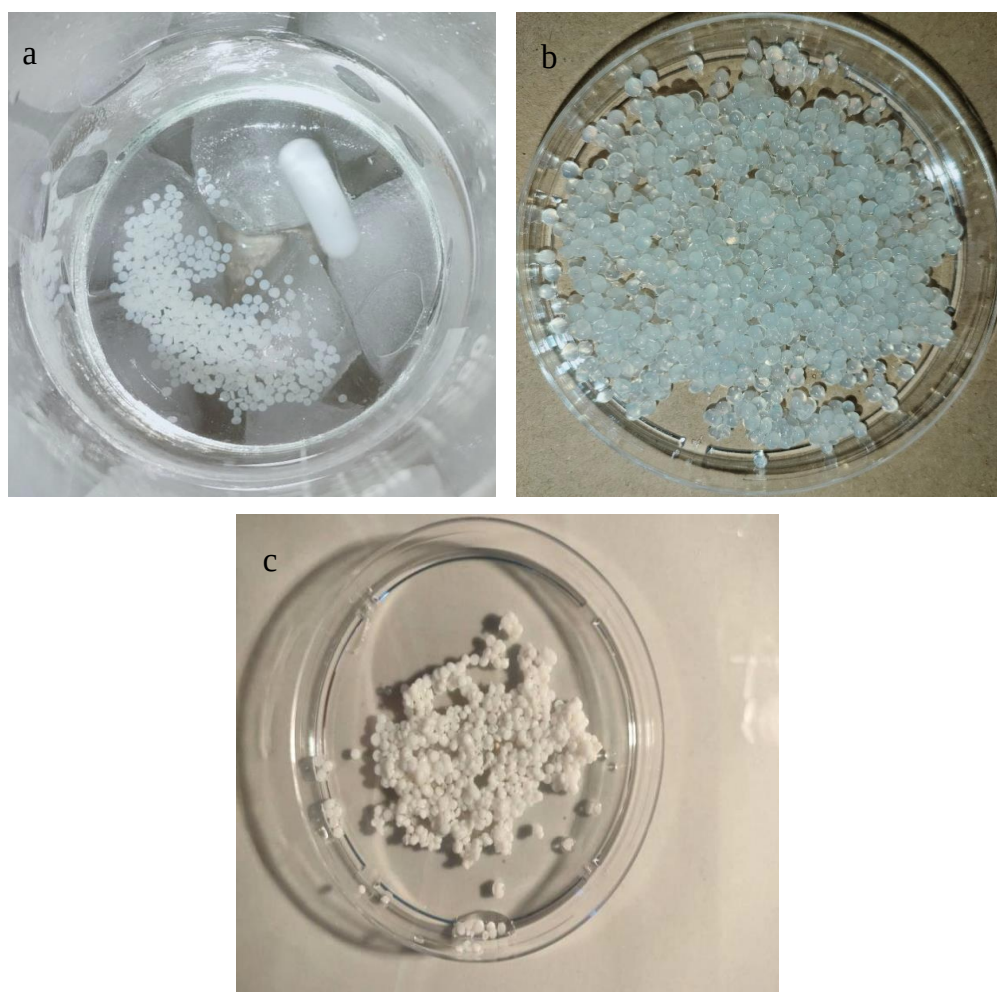


Figure IV.14 : Aspect général des microparticules à base : **a)** de chitosane, **b)** d'alginate de sodium et **c)** biocomposite chitosane/alginate de sodium vides.

Les microparticules sont typiquement formées dans une procédure à deux étapes impliquant dispersion et durcissement. L'extrusion consiste à faire tomber goutte à goutte la solution polymérique dans un bain où est réalisée la gélification des gouttes. En général

les sphères formées sont sphériques et de taille homogène. Leur taille peut varier selon l'évolution de la technique de 100 μm à 3000 μm . [21]

Grâce à des groupes cationiques aminés de chitosane, des interactions ioniques peuvent se produire entre le chitosane et les molécules chargées négativement tel que les sulfates, les citrates et les phosphates (dans notre cas, nous avons utilisé des ions phosphates provenant du TPP de Na et HMP de Na). Ces interactions vont donner des hydrogels avec des propriétés qui dépendent de la densité de charge et la taille des agents anioniques, ainsi que le degré de désacétylation et la concentration du biopolymère.

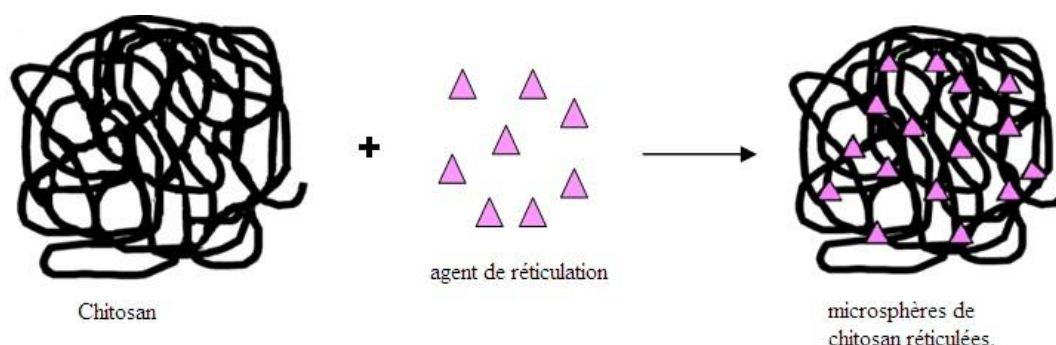


Figure IV.15: Schéma de principe de formation des microparticules à base des biopolymères. [22]

IV.3.1.2 Analyse granulométrique :

Les résultats du test de l'analyse granulométrique des microsphères vides à base du (chitosane, alginate de sodium, biocomposites chitosane/alginate) sont regroupés dans le tableau IV.1.

Tableau IV.1: Résultat du test granulométrique des microsphères à base du (chitosane, alginate, biocomposites chitosane/alginate) vides.

	45 μm	63 μm	125 μm	250 μm	500 μm	1 mm	2 mm	4 mm
Cs-HMP de Na	0 g	0 g	0 g	0 g	0.160 g	0.047 g	0 g	0 g
Cs- TPP de Na	0 g	0 g	0 g	0.170 g	0.120 g	0.020 g	0 g	0 g
ALG	0 g	0 g	0 g	0 g	0.190 g	0.038 g	0 g	0 g
CS/ALG dans l'HMP de Na	0 g	0 g	0 g	0 g	0.170 g	0.031 g	0 g	0 g
CS/ALG dans le TPP de Na	0 g	0 g	0 g	0.13 g	0.011 g	0.036 g	0 g	0 g

D'après les résultats obtenus :

- 90% des microcapsules à base du chitosane préparées dans le HMP de Na vides présentant un diamètre extérieur supérieur à 500 μm et 10% présentant un diamètre supérieur à 1 mm.
- 88% des microcapsules à base du chitosane préparées dans le TPP de Na vides présentant un diamètre extérieur supérieur à 250 μm et 10% présentant un diamètre supérieur à 500 μm et 2 % présentant un diamètre supérieur à 1 mm.
- 92% des microcapsules préparées à base d'alginate de sodium vide présentant un diamètre extérieur supérieur à 500 μm et 8% présentant un diamètre supérieur à 1 mm.
- 89% des microcapsules biocomposites CS/ALG préparées dans l'HMP de Na vides présentant un diamètre extérieure supérieur à 500 μm et 11% présentant un diamètre supérieur à 1 mm.
- 90% des microcapsules biocomposites CS/ALG préparées dans le TPP de Na vides présentant un diamètre extérieur supérieur à 250 μm et 1 % présentant un diamètre supérieur à 500 μm et 9% présentant un diamètre supérieur à 1 mm.

IV.3.1.3 Morphologie des microparticules :

La morphologie des microparticules a été examinée par le microscope optique. Les micrographies présentées par les figures IV.17, IV.18, IV.19 illustrent l'aspect des microparticules vides préparées dans les différents réticulants.

A première vue, la totalité des microparticules avant séchage pour celles sans principe actif et celles avec le principe actif apparaissent sous forme de particules sphériques. On remarque également que les microparticules sans principe actif (figures IV.17-19) se présentent sous un aspect vitreux alors que celles chargées avec le principe actif (Figures IV.39-41) sont opaques, ce qui nous révèle que le principe actif a été inclut dans les microparticules. On peut observer de même, que la forme des microparticules est irrégulière.

Les images montrent que les microsphères présentent effectivement une forme sphérique sous forme de capsules. Il existe deux types de microparticules qui diffèrent par leur microstructure (figure IV.16): la microcapsule, particule sphérique de type cœur-membrane – le cœur est constitué de la substance active et la membrane de l'agent encapsulant qui forme l'enveloppe solide, chaque microcapsule constitue un système réservoir, et la microsphère, constituée d'un réseau polymère dans lequel la substance active est dispersée à l'état moléculaire ou particulaire (structure dite de type matriciel) [43].

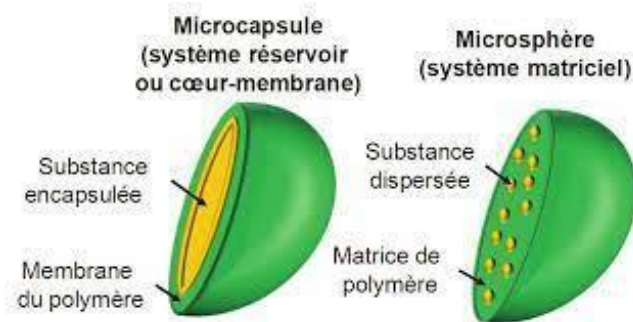


Figure IV.16 : Représentation schématique d'une microcapsule et d'une microsphère [43].

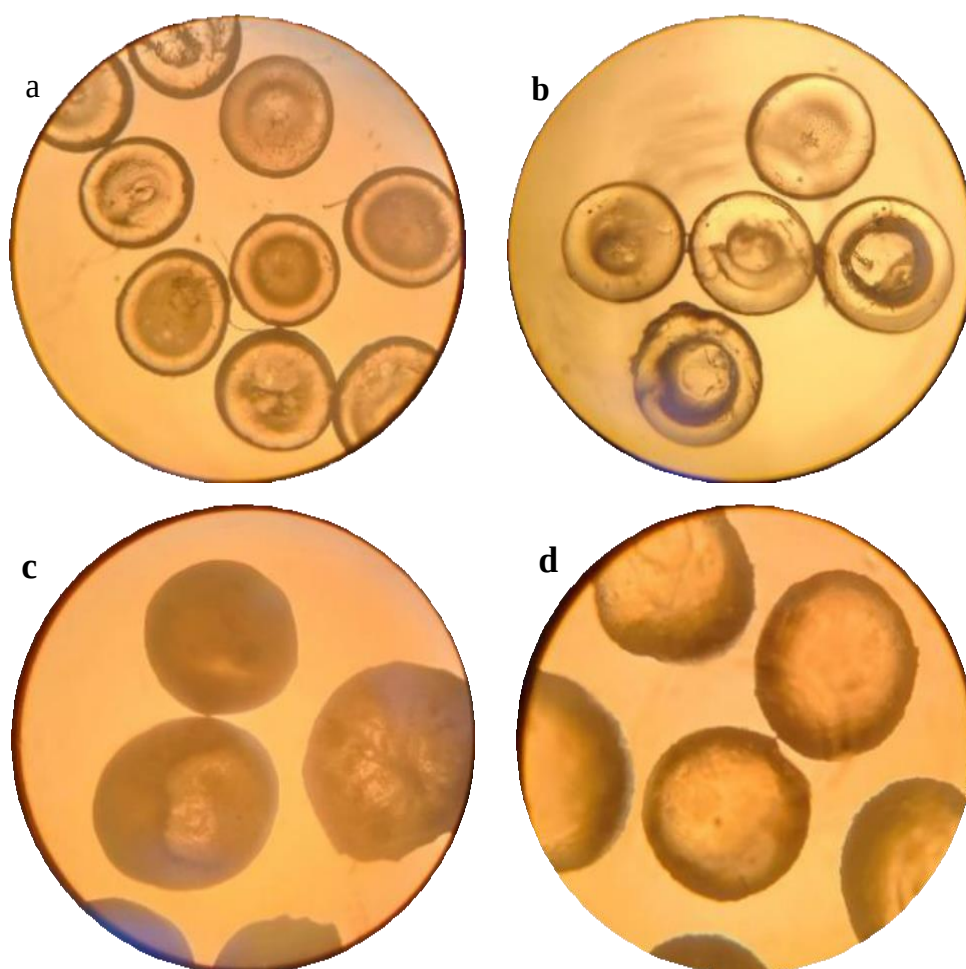


Figure IV.17 : Photos microscopiques binoculaire, agrandissement $\times 0.1$ des microcapsules vides à base du chitosane : **a)** HMP de Na, **b)** TPP de Na, **c)** HMP de Na + Gu et **d)** TPP de Na + Gu.



Figure IV.18 : Photo microscopique agrandissement x 0.1 des microcapsules vides à base d'alginate de sodium.

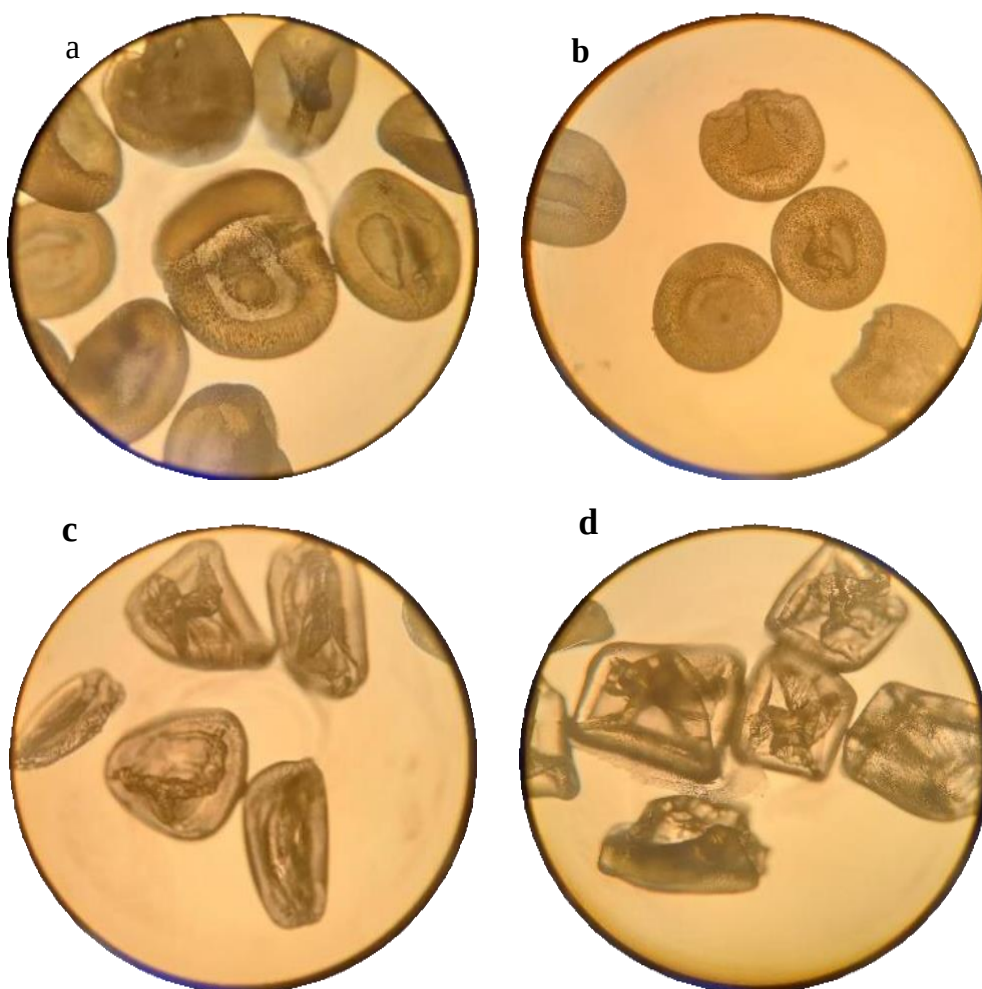


Figure IV.19 : Photos microscopiques agrandissement x 0.1 des microcapsules biocomposites chitosane/alginate de sodium vides : **a)** CS/ALG-TPP de Na, **b)** CS/ALG-TPP de Na + Gu, **c)** CS/ALG-HMP de Na et **d)** CS/ALG-HMP de Na + Gu.

Les microphotographies obtenues montrent que toutes les sphères présentent des surfaces poreuses mais leurs morphologies diffèrent relativement certainement à cause des différents traitements.

La surface des microparticules réticulées par le TPP de Na et l'HMP de Na (figure IV.17 a et b respectivement) devient lisse et rigide sous l'action du glutaraldéhyde (figure IV.17 c et d respectivement). La structure devient dans ce cas plus dense, rigide et la surface est plus lisse à cause de l'augmentation du degré de réticulation, ceci indique une forte réticulation du matériau. Mêmes observations pour les microparticules composites chitosane/alginat (figure IV.19).

IV.3.14 Test de gonflement :

Afin d'envisager l'application pharmaceutique et médicale possibles des microparticules et en particulier orale, l'étude est réalisée en quatre modes de simulation physiologiques buccale, gastrique et intestinal.

Les différentes valeurs relatives aux tests de gonflement dans les différents milieux physiologiques simulés SSF, SGF, SIF et dans l'eau distillée à 37 °C sont enregistrées et illustrées par les graphiques ci-dessous.

A. Test de gonflement dans l'eau distillée:

La figure IV.20 montre la variation du degré de gonflement des microparticules à base du chitosane préparées en utilisant les différents réticulants dans l'eau distillée. Les interactions ioniques qui résultent entre les charges positives des amines protonées et les charges négatives fournies par les polyphosphates (TPP de Na et HMP de Na) sont les principales interactions intervenant dans la formation du réseau polymérique.

On peut observer, d'après les courbes dans cette figure que la vitesse du gonflement est rapide pour tous les types de microparticules. Cependant, si on compare entre les deux systèmes (TPP de Na et HMP de Na), il résulte d'après le même graphe que la vitesse d'absorption paraît plus rapide pour les microparticules CS/TPP de Na et même le taux de gonflement est maximal de 472 % dans les premières minutes par rapport à celle des microsphères CS/HMP. On peut relever, également que les microparticules réticulées par le TPP de Na possèdent une capacité d'absorption dans l'eau distillée plus importante par rapport à celle des microparticules réticulées par l'HMP de Na, cela indique que ce dernier a une forte réticulation. Ce qui signifie que les chaînes de chitosane réticulées par l'HMP de Na sont plus rigides que les chaînes réticulées par le TPP de Na.

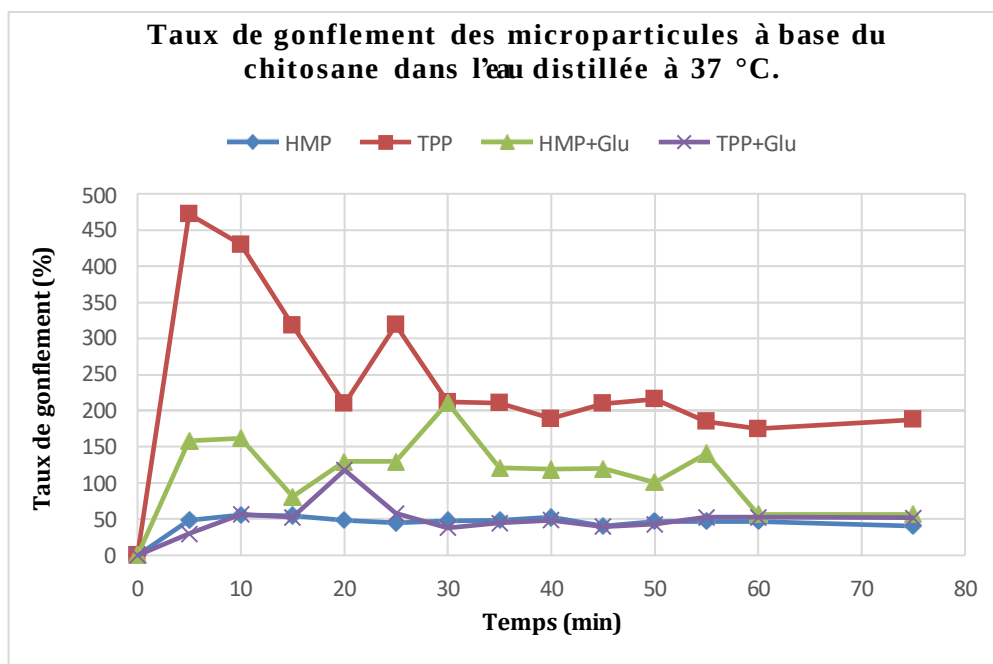


Figure IV.20: Taux de gonflement pour les microparticules à base du chitosane préparées en utilisant les différents réticulants dans l'eau distillée à 37 °C.

Pour les systèmes préparés en présence du glutaraldéhyde, on remarque que le système réticulé par glutaraldéhyde présente une vitesse de gonflement moins importante que pour les autres systèmes non réticulés par le glutaraldéhyde. Ce qui implique que l'usage du glutaraldéhyde après la réticulation avec les polyphosphates aura plus d'impact sur la réduction de la perméabilité. Ces résultats peuvent être expliqués par la nature des interactions que forme le chitosane avec les polyphosphates et le glutaraldéhyde en formant un réseau moins poreux. Lorsque les amines du chitosane ne sont pas complètement réticulées par les polyphosphates, elles seront réticulées par le glutaraldéhyde [44].

La figure IV.21 illustre et présente la variation de taux de gonflement des microparticules à base d'alginate de sodium réticulées par la CaCl_2 dans l'eau distillée.

On observe deux phases distinctes sur le graphique, une première phase correspond à une absorption d'eau relativement rapide qui conduit à un taux de gonflement maximum de 130% pendant la première demi-heure. Cela est dû à la capacité des microparticules à absorber l'eau. Ce constat nous permet de dire que l'alginate de sodium est un biopolymère hydrophile qui peut former des liaisons hydrogènes avec les molécules d'eau, permettant à l'eau de pénétrer dans la structure des microparticules et de la faire gonfler. Plus la

microparticule est exposée à l'eau, plus elle gonfle. Et on observe une deuxième phase de diminution de taux de gonflement jusqu'à l'équilibre.

La diminution du taux de gonflement des microparticules d'alginate de sodium dans l'eau distillée peut être due à plusieurs facteurs. Tout d'abord, les microparticules peuvent atteindre un point de saturation où elles ont absorbé autant d'eau qu'elles peuvent en contenir. Dans ce cas, il y aura une diminution du taux de gonflement car il n'y aura plus d'eau à absorber.

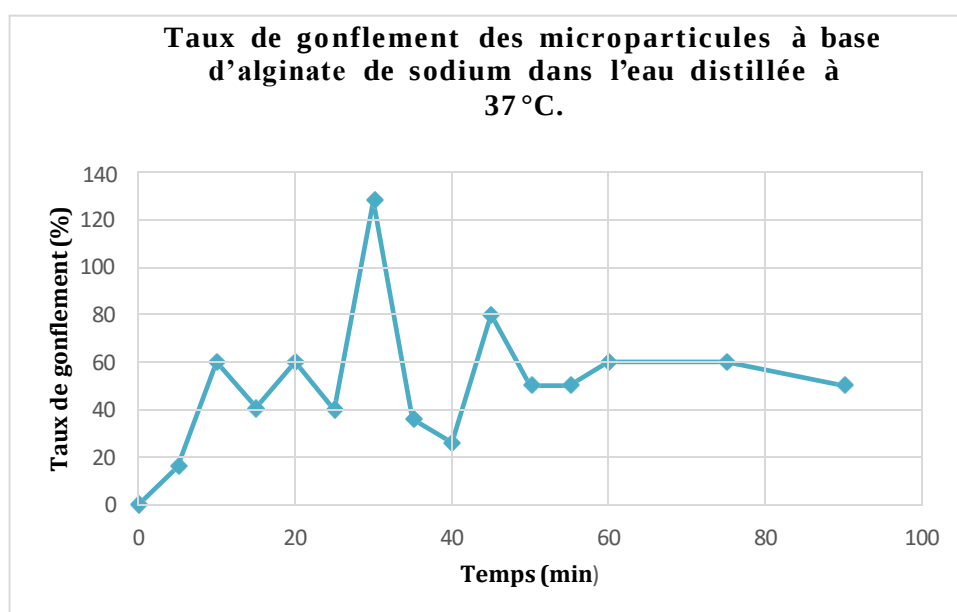


Figure IV.21 : Taux de gonflement pour les microparticules à base d'alginate dans l'eau distillé à 37 °C.

En outre, la température, le pH ou la concentration de sel de l'eau peuvent également affecter la capacité des microparticules à gonfler. Si l'environnement de l'eau change, cela peut affecter les liaisons hydrogène entre les molécules d'eau et les polymères d'alginate, ce qui peut entraîner une diminution du taux de gonflement des microparticules.

Enfin, la qualité de l'alginate peut également jouer un rôle dans la capacité de gonflement des microsphères. Si l'alginate est de mauvaise qualité ou si les microparticules ont été exposées à une humidité excessive, cela peut affecter leur capacité à gonfler.

La figure IV.22 illustre et présente la variation du taux de gonflement des microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium réticulées par les différents réticulants dans l'eau distillée à 37 °C.

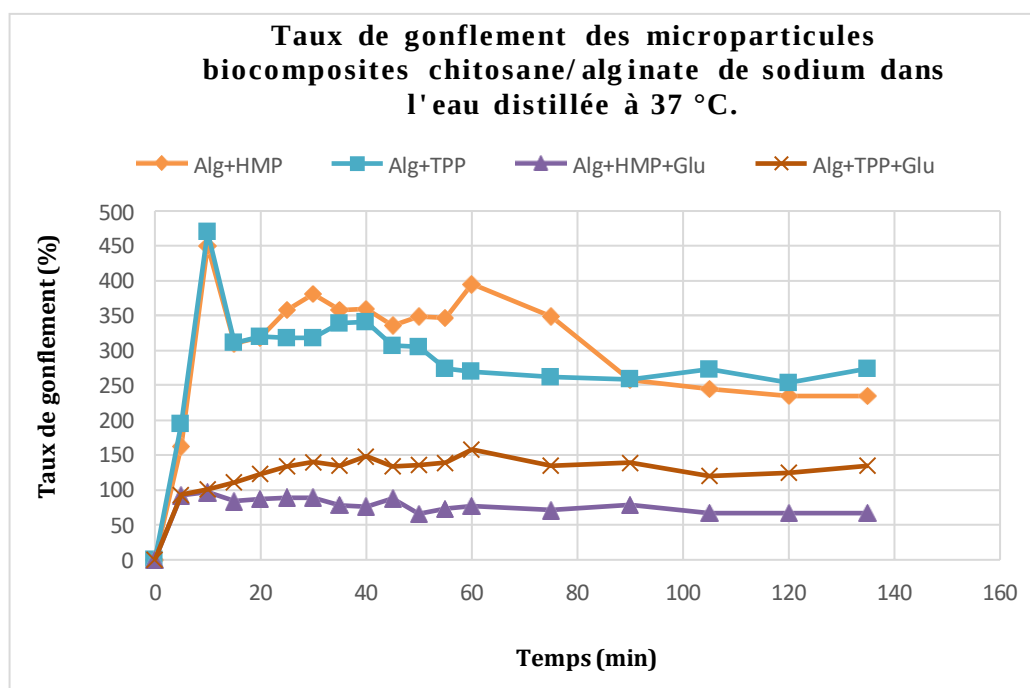


Figure IV.22 : Taux de gonflement pour les microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium dans l'eau distillée à 37 °C.

Pour les deux systèmes préparés en absence du glutaraldéhyde, le gonflement suit une trajectoire presque similaire avec un taux de gonflement intense dont la valeur a atteint 470%. Cependant, on remarque que les autres systèmes microparticulaires (en présence de glutaraldéhyde) présentent une vitesse de gonflement moins importante que pour les deux autres systèmes et le taux de gonflement est presque stable.

On constate que l'introduction du glutaraldéhyde réduit le pouvoir du gonflement des microparticules du composite CS/ALG, est cela est dû à cause de la densité de réticulation ionique entre l'alginate, le chitosane et le glutaraldéhyde qui a réduit la porosité du mélange CS/ALG, ainsi les molécules d'eau ne trouvent pas assez de sites pour y adsorber, ce qui mène à la réduction de la capacité d'absorption.

Ce qui implique que l'utilisation du glutaraldéhyde après la réticulation avec les polyphosphates aura un effet plus significatif sur la réduction de la perméabilité.

B. Tests de gonflement dans la salive (SSF) pH=6.8 :

La figure IV.23 illustre les taux de gonflement des microparticules à base du chitosane préparées dans les différents réticulants dans la salive SSF (pH =6.8) à 37 °C.

D'après les résultats, on observe que les microparticules réticulées par le TPP de Na ont le meilleur taux de gonflement 140 % dans ce milieu physiologique par à rapport aux

microparticules réticulées par le glutaraldéhyde, donc on constate que la réticulation par le glutaraldéhyde renforce la structure des microparticules de chitosane, cette réticulation supplémentaire peut améliorer la stabilité et la résistance des microparticules aux changements de pH et de température.

Cependant on remarque que les microparticules réticulées par d'HMP de Na et par le glutaraldéhyde ont presque la même vitesse de gonflement.

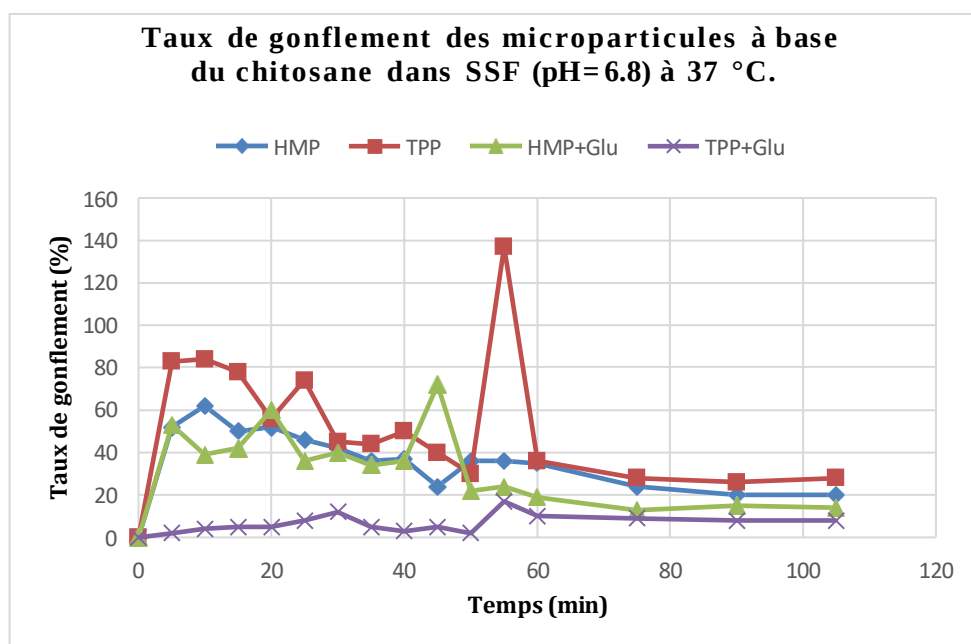


Figure IV.23 : Taux de gonflement pour les microparticules à base du chitosane préparées dans les différents réticulants dans SSF (pH 6.8) à 37 °C.

La figure IV.24 illustre et représente la variation de taux de gonflement des microparticules à base d'alginate de sodium réticulées par le CaCl_2 dans la salive SSF (pH = 6.8) à 37 °C.

On observe une vitesse de gonflement rapide et taux de gonflement maximale qui est 640 %, cela est dû à la capacité d'absorption d'eau pour les microparticules d'alginate dans ce milieu, et parce que l'alginate est un polymère hydrophile qui peut former des liaisons hydrogène avec les molécules d'eau, permettant à l'eau de pénétrer dans la structure de la microsphère et de faire gonfler. Et ceci est souhaitable pour obtenir une libération prolongée.

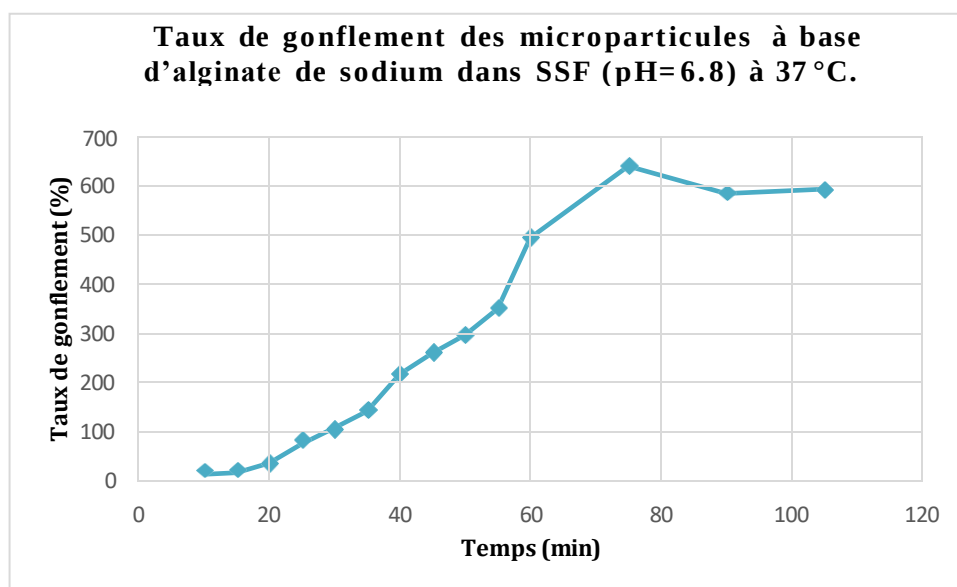


Figure IV.24 : Taux de gonflement pour les microparticules à base d'alginate de sodium dans SSF (pH 6.8) à 37 °C.

La figure IV.25 illustre et présente la variation du taux de gonflement des microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium préparées dans les différents réticulants dans la salive SSF (pH=6.8) à 37 °C. On remarque que tous les systèmes ont une augmentation rapide des taux de gonflement pendant la première minute correspond au gonflement des microparticules.

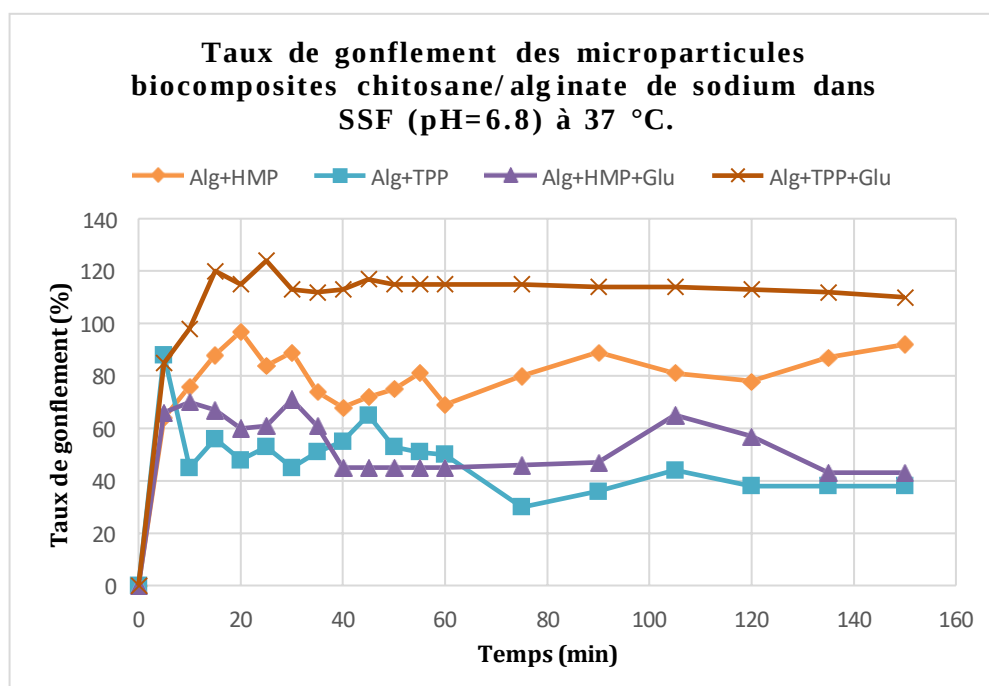


Figure IV.25 : Taux de gonflement des microparticules biocomposite chitosane/alginate de sodium préparées dans les différents réticulants dans SSF (pH 6.8) à 37 °C.

D'après les résultats obtenus, on remarque deux phases, la première phase correspond à une augmentation rapide qui conduit à un taux de gonflement maximum de 125% pour le système microparticulaire (CS/ALG) réticulé par le TPP de Na et le glutaraldéhyde, qui correspond à une absorption d'eau relativement rapide suivi d'une deuxième phase qui correspond à un taux de gonflement stationnaire. Donc le taux de gonflement des microparticules augmente pendant les 20 premières minutes jusqu'à atteindre un état stationnaire ou le matériau atteint sa saturation.

C. Tests de gonflement dans la solution (SGF) pH=1.2 :

La figure IV.26 illustre et présente la variation du taux de gonflement des microparticules préparées dans les différents réticulants dans le milieu gastrique simulé SGF (pH=1.2) à 37 °C.

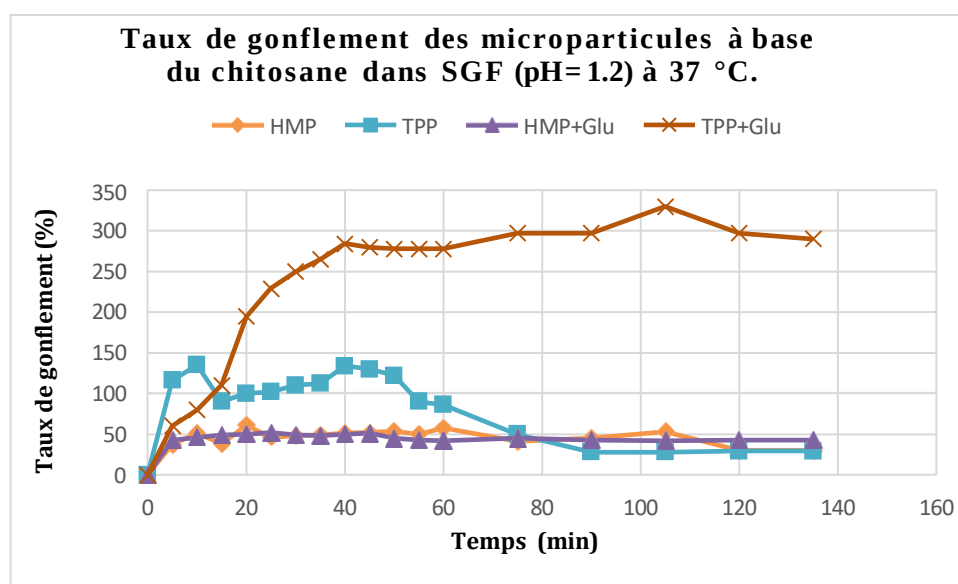


Figure IV.26 : Taux de gonflement pour les microparticules à base du chitosane préparées dans les différents réticulants dans SGF (pH 1.2) à 37 °C.

D'après les résultats obtenus, on remarque que le système microparticulaire réticulé par l'HMP de Na et le système réticulé par l'HMP de Na et le glutaraldéhyde présentent deux phases distinctes sur le graphique, la première phase correspond à une augmentation du taux de gonflement des microparticules jusqu'à atteindre 50 % après une durée de 20 min, suivi d'une deuxième phase enregistrant une certaine stabilité dans le taux de gonflement pendant un temps allant de 20 min à 140 min, correspond à une absorption relativement lente de la solution. Cela peut être expliqué par le fait que ces microparticules

n'ont pas une capacité d'absorption élevée suffisante pour la solution dans ce milieu gastrique.

En ce qui concerne le système microparticulaire réticulé par le TPP de Na et le glutaraldéhyde, on remarque une augmentation du taux de gonflement des microparticules à une valeur maximum de 350 % après 40 minutes, puis on remarque une certaine stabilité dans le taux de gonflement correspondant à une absorption de la solution qui est relativement rapide.

Cependant, si on compare les deux systèmes préparées dans l'HMP de Na et le TPP de Na, on remarque que les capsules réticulées par le TPP de Na présente un taux de gonflement relativement élevé, possèdent une capacité d'absorption dans le milieu gastrique plus importante par rapport à celle des microparticules réticulées par le HMP de Na.

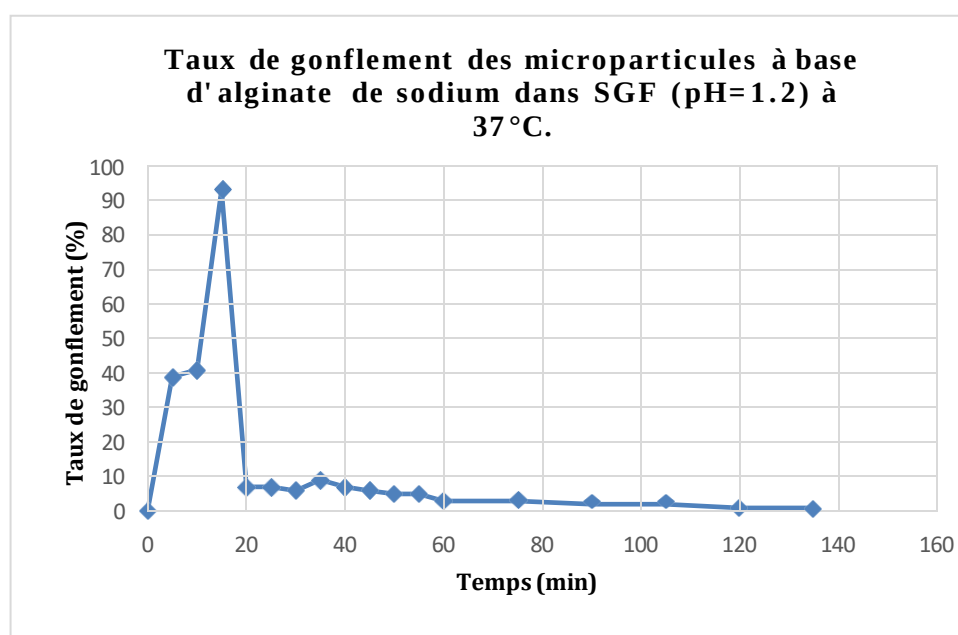


Figure IV.27 : Taux de gonflement pour les microparticules à base d'alginate de sodium dans SGF (pH 1.2) à 37 °C.

La figure IV.27 illustre la variation du degré de gonflement des microparticules d'alginate de sodium réticulées par le CaCl_2 dans le milieu gastrique simulé pH=1.2 à 37 °C. On remarque que le taux de gonflement des microparticules augmente jusqu'à atteindre 90% après un temps de 20 min, l'ouverture des pores est induite par l'adsorption des molécules d'eau, ce qui correspond au gonflement des microparticules par l'étalement des chaînes macromoléculaires constituant le réseau de la matrice polymérique, puis une

régression du poids après un temps allant de 20 à 100 min jusqu'à la disparition après un temps allant de 120 à 140 min, celle-ci représente le phénomène d'érosion due à l'hydrolyse partielle des chaînes macromoléculaires constituant le réseau des microparticules.

La figure IV.28 illustre la variation du taux de gonflement des microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium dans le milieu gastrique simulé pH=1.2 à 37 °C. On remarque que le système microparticulaire CS/ALG réticulé par le TPP de Na et le glutaraldéhyde présente le taux de gonflement le plus élevé, on remarque qu'il y a deux phases : la première phase correspond à une augmentation rapide qui conduit à un taux de gonflement maximum de 900 % correspondant à une absorption d'eau rapide, suivi d'une deuxième phase où le taux de gonflement reste constant, le matériau a atteint sa saturation.

En ce qui concerne les autres systèmes, on remarque une augmentation lente du taux de gonflement pendant la première minute correspond au gonflement des microparticules, on remarque que le poids des microparticules augmente jusqu'à atteindre un état stationnaire après un temps de 20 minutes, cela s'explique par le fait que les microparticules ont atteint la saturation.

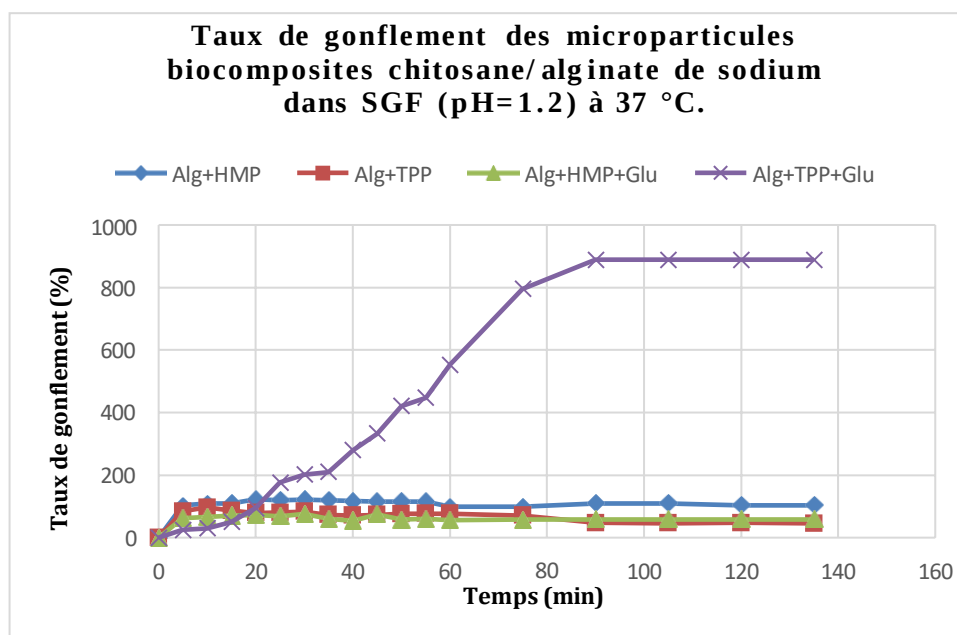


Figure IV.28 : Taux de gonflement des microparticules biocomposite chitosane/alginate de sodium préparées dans les différents réticulants dans SGF (pH 1.2) à 37 °C.

D. Tests de gonflement dans la solution (SIF) pH=6.9 :

La figure IV.29 illustre la variation du taux de gonflement des microparticules du chitosane préparées dans les différents réticulants dans le milieu intestinal simulé (SIF) pH=6.9 à 37 °C.

On remarque qu'après 15 minutes, le taux de gonflement augmente pour tous les systèmes microparticulaires considérés: CS/TPP de Na de 120%, CS/HMP de Na 85%, CS/TPP de Na + Gu de 40% et CS/HMP de Na + Gu de 60%. Cela s'explique par une absorption d'eau, suivi d'une diminution rapide du gonflement, expliqué par le fait d'une saturation complète suivi d'un état stationnaire.

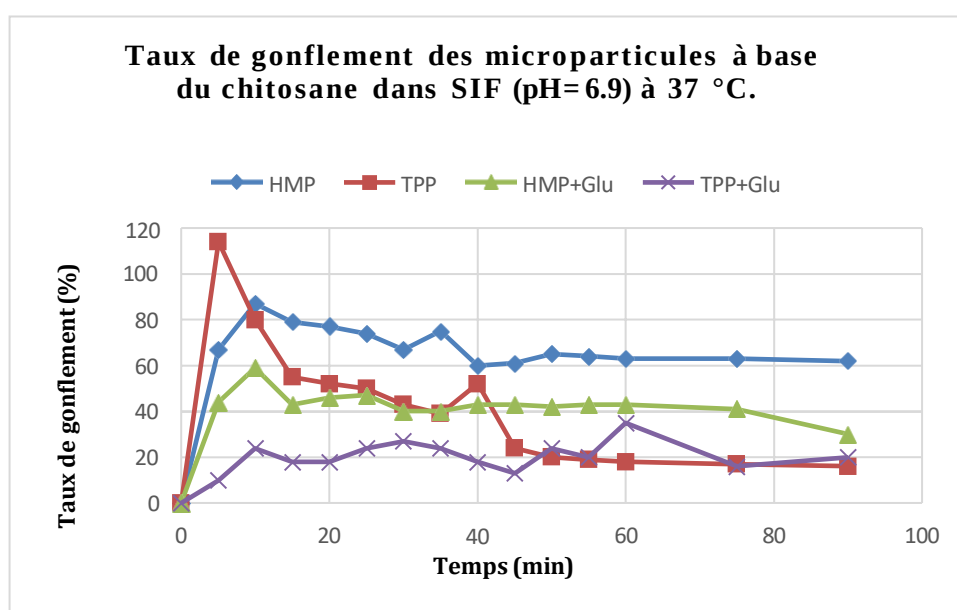


Figure IV.29 : Taux de gonflement pour les microparticules à base du chitosane préparées dans les différents réticulants dans SIF (pH 6.9) à 37 °C.

La figure IV.30 présente et illustre la variation du taux de gonflement des microparticules à base d'alginate de sodium réticulées par le CaCl_2 dans le milieu intestinale simulé pH=6.9 à 37 °C.

On remarque que le taux de gonflement des microparticules augmente jusqu'à atteindre 450% après un temps de 55 minutes, cela correspond au gonflement des microparticules résultant de l'adsorption des molécules d'eau, ce qui induit à l'ouverture des pores. Après 60 minutes une régression du taux de gonflement (1%) est observée jusqu'à la disparition à 140 min, cela correspond à l'explosion progressive des microparticules résultant de l'absorption d'une grande quantité d'eau.

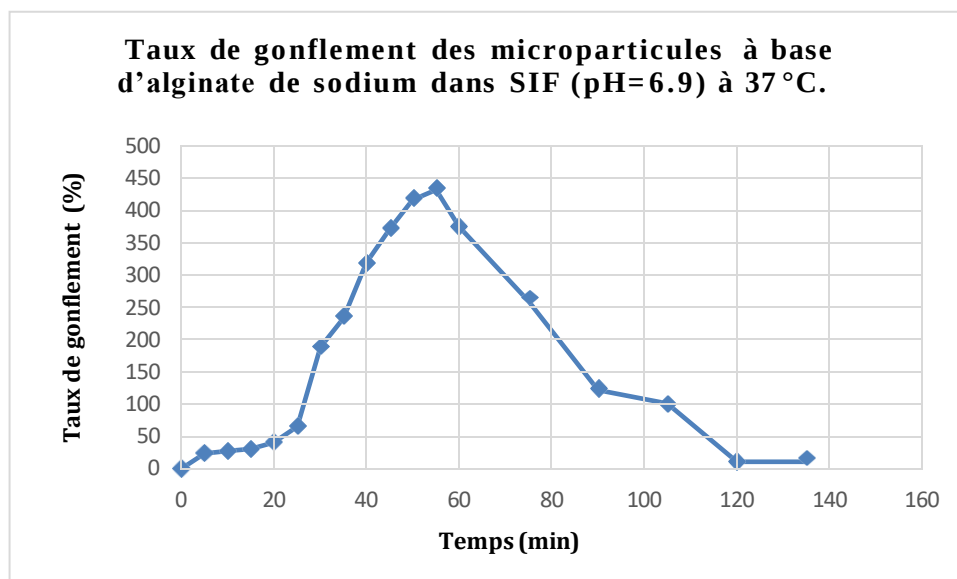


Figure IV.30 : Taux de gonflement pour les microparticules à base d'alginate de sodium dans SIF (pH 6.9) à 37 °C.

La figure IV.31 illustre la variation du taux de gonflement des microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium dans le milieu intestinal simulé pH=6.9 à 37 °C. On remarque que le taux de gonflement des microparticules est maximum pour tous les systèmes pendant les premières minutes : CS/ALG réticulé par l'HMP de Na (190%), CS/ALG réticulé par le TPP de Na (150%) et CS/ALG réticulé par l'HMP de Na et le glutaraldéhyde (90%).

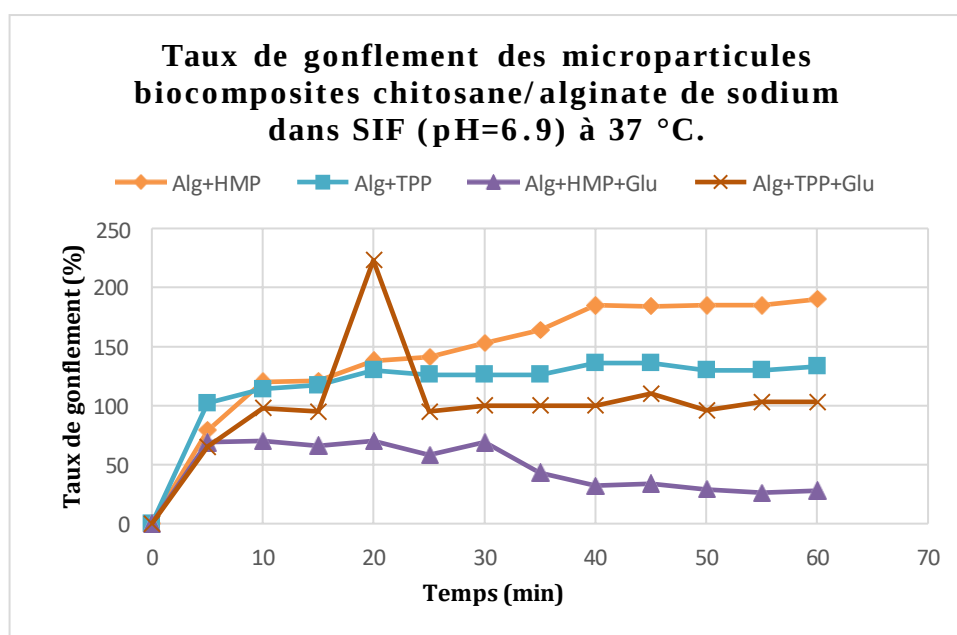


Figure IV.31: Taux de gonflement des microparticules biocomposite chitosane/alginate de sodium préparées dans les différents réticulants dans SIF (pH 6.9) à 37 °C.

Ces taux d'absorption sont obtenus suite à la porosité présente dans la membrane polymérique qui permet ainsi de faciliter la diffusion du liquide vers l'intérieur des microparticules. Cependant pour le système CS/ALG réticulé par le TPP de Na et le glutaraldéhyde, on remarque que le taux de gonflement des microparticules est maximum après un temps de 20 minutes correspond à une absorption d'eau relativement rapide et passé ce délai, on remarque une diminution rapide du gonflement, du fait de l'éclatement des microparticules et du maintien d'un état stationnaire.

En conclusion, les microparticules du chitosane gonflent dans les différents milieux physiologiques simulés (SSF, SGF, SIF et eau distillée), ces tests de gonflement *in vitro* peuvent être en corrélation avec le *in vivo*. Ce gonflement provoque un relâchement du réseau polymère permettant ainsi la libération du principe actif par diffusion. Ce mécanisme de libération peut fonctionner dans la majorité des parties du corps où l'eau est un constituant majeur. C'est-à-dire les capacités de gonflement nous renseignent sur le degré d'absorption de l'eau par l'hydrogel du chitosane. Cette propriété est d'une importance primordiale car elle joue un rôle important dans la biodégradation du polymère et, par conséquent, la libération d'agent actifs quand celui-ci est utilisé comme support véhiculant cet agent.

Après gonflement, les microsphères du chitosane acquièrent une certaine élasticité. Ils peuvent subir des pressions raisonnables des tissus avoisinants sans être déformés tout en continuant à remplir leurs rôles. De la même manière, cette élasticité permet de diminuer le risque de traumatiser les tissus avoisinant par irritation, friction et compression.

IV.3.1.5 Caractérisation par spectroscopie Infra-Rouge FTIR :

A. Caractérisation FTIR du chitosane et de l'alginate de sodium :

Les microparticules sont analysées par FTIR en vue de voir les modifications que peuvent induire les composants intervenant dans la préparation des microparticules à savoir le chitosane, l'alginate, le TPP de Na et l'HMP de Na. Tout d'abord, on va voir l'effet des polyphosphates sur le chitosane natif en examinant le spectre de la poudre du chitosane illustré par la figure IV.32 ci-dessous.

Le spectre FTIR du chitosane obtenu montre que tous les pics caractéristiques du chitosane sont présents :

- Une bande d'absorption à 3433.41 cm^{-1} attribuée au groupement N-H et O-H alcool lié et intensité fort.
- Une bande d'absorption entre 2924.18 cm^{-1} et 2862.46 cm^{-1} correspondant à l'étirement des groupes -CH et intensité fort.

- Une bande d'absorption à 1597.11 cm^{-1} attribuée au groupement carboxyle $\text{C}=\text{O}$ d'aldéhyde et intensité fort (l'élongation $\text{C}=\text{O}$ dans l'amide I).
- Une bande d'absorption à 1427.37 cm^{-1} attribuée au groupement $\text{C}-\text{H}$ de méthylène.
- Une bande à 1265.35 cm^{-1} correspondant à l'étirement des groupes $-\text{COOC}-$.
- Une bande à 1095.60 cm^{-1} correspondant à l'élongation $\text{C}-\text{O}$.

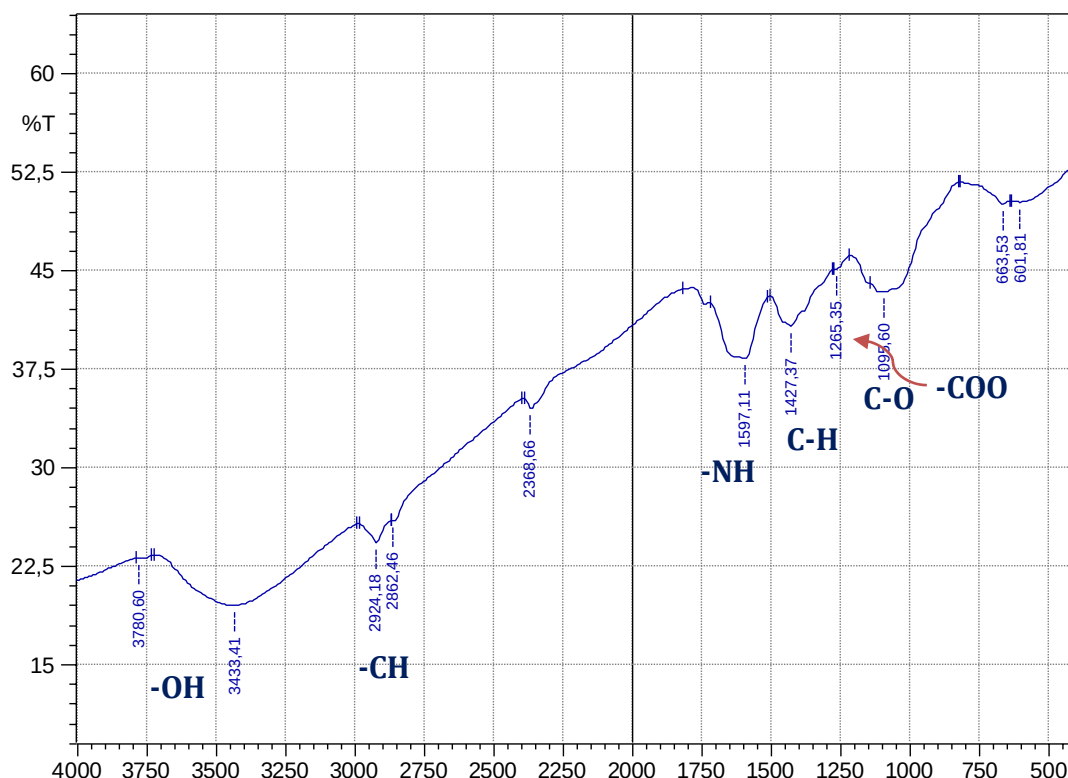


Figure IV.32 : Spectre infrarouge du chitosane.

Le spectre FTIR de la poudre d'alginate de sodium est illustré par la figure IV.33, le spectre obtenu montre :

- Une large bande d'absorption entre 3450 cm^{-1} et 3200 cm^{-1} correspondant à l'étirement des groupes $-\text{OH}$.
- Une bande d'absorption large entre 3000 cm^{-1} et 2920 cm^{-1} correspondant à l'étirement des groupes $\text{C}-\text{H}$.
- Une bande d'absorption large entre 1650 cm^{-1} et 1410 cm^{-1} correspondant à l'étirement des groupes $-\text{COO}$.
- Une bande d'absorption large entre 1100 cm^{-1} et 1000 cm^{-1} correspondant à l'étirement des groupes $\text{C}-\text{O}$.
- Une bande d'absorption large entre 950 cm^{-1} et 800 cm^{-1} correspondant à l'étirement des groupes $-\text{CH}$.

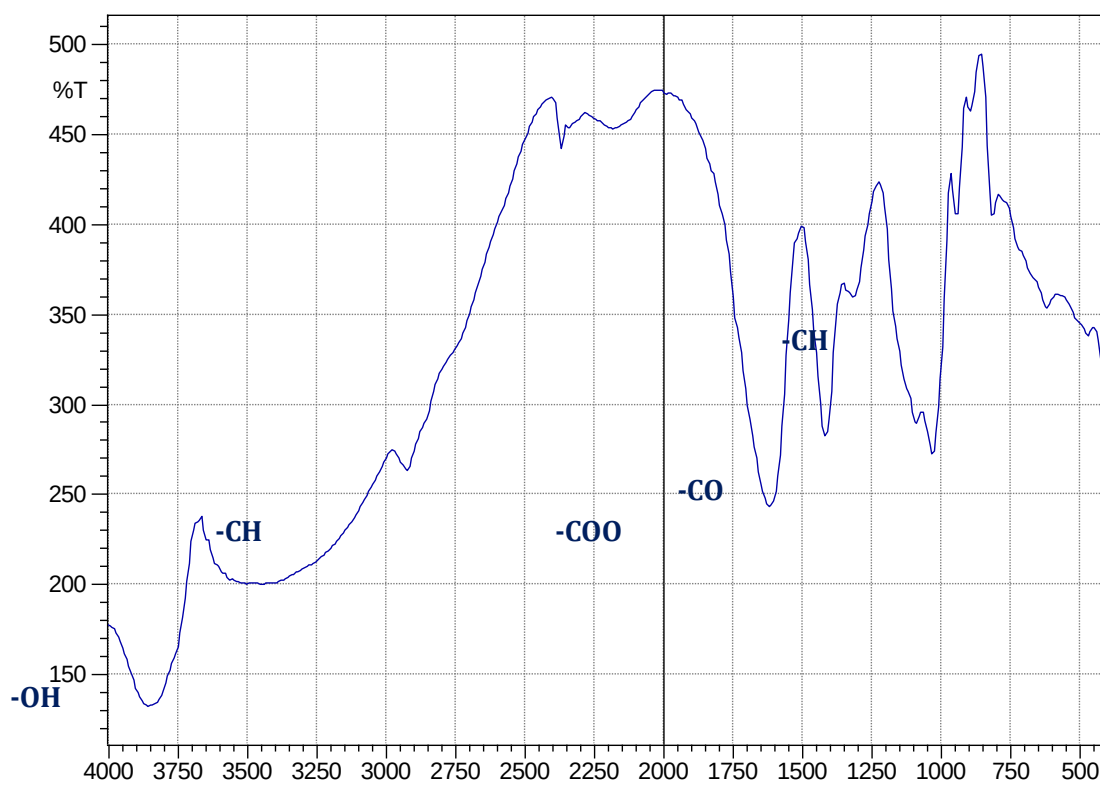


Figure IV.33: Spectre infrarouge de l'alginate de sodium.

A. Caractérisation par FTIR des microparticules du chitosane vides :

Les spectres FTIR du chitosane réticulé sont présentés dans la figure IV.34 montrent qu'effectivement des modifications sont obtenues. Ces modifications résultent de l'interaction ionique entre le chitosane natif figure IV.32 et les polyphosphates.

Une bande caractéristique à 3448.84 cm^{-1} est attribuée à l'élongation des liaisons -NH_2 et -OH et la bande pour l'amide I à 1597.11 cm^{-1} est observée dans le spectre infrarouge du chitosane seul. Alors que dans les spectres FTIR de chitosane réticulé par TPP le pic de 1597.11 cm^{-1} diminue et deux nouveaux pics à 1604.83 et 1458.23 cm^{-1} apparaissent. Même remarque pour le spectre FTIR du chitosane réticulé par l'HMP, le pic à 1597.11 cm^{-1} diminue et l'apparition des deux pics à 1647 cm^{-1} et 1450 cm^{-1} . La diminution de la bande pourrait être attribuée à la liaison entre les ions phosphorique et le groupement ammonium, on observe également un pic à 2368.66 cm^{-1} attribué au groupement NH^+ ions ammoniums. Le chitosane réticulé par le TPP a également montré un pic pour la liaison P=O à 1265.35 cm^{-1} (1100 cm^{-1} pour le chitosane réticulé par HMP). Confirmant ainsi la réticulation ionique entre les groupements NH^{3+} du chitosane et les polyphosphates [44].

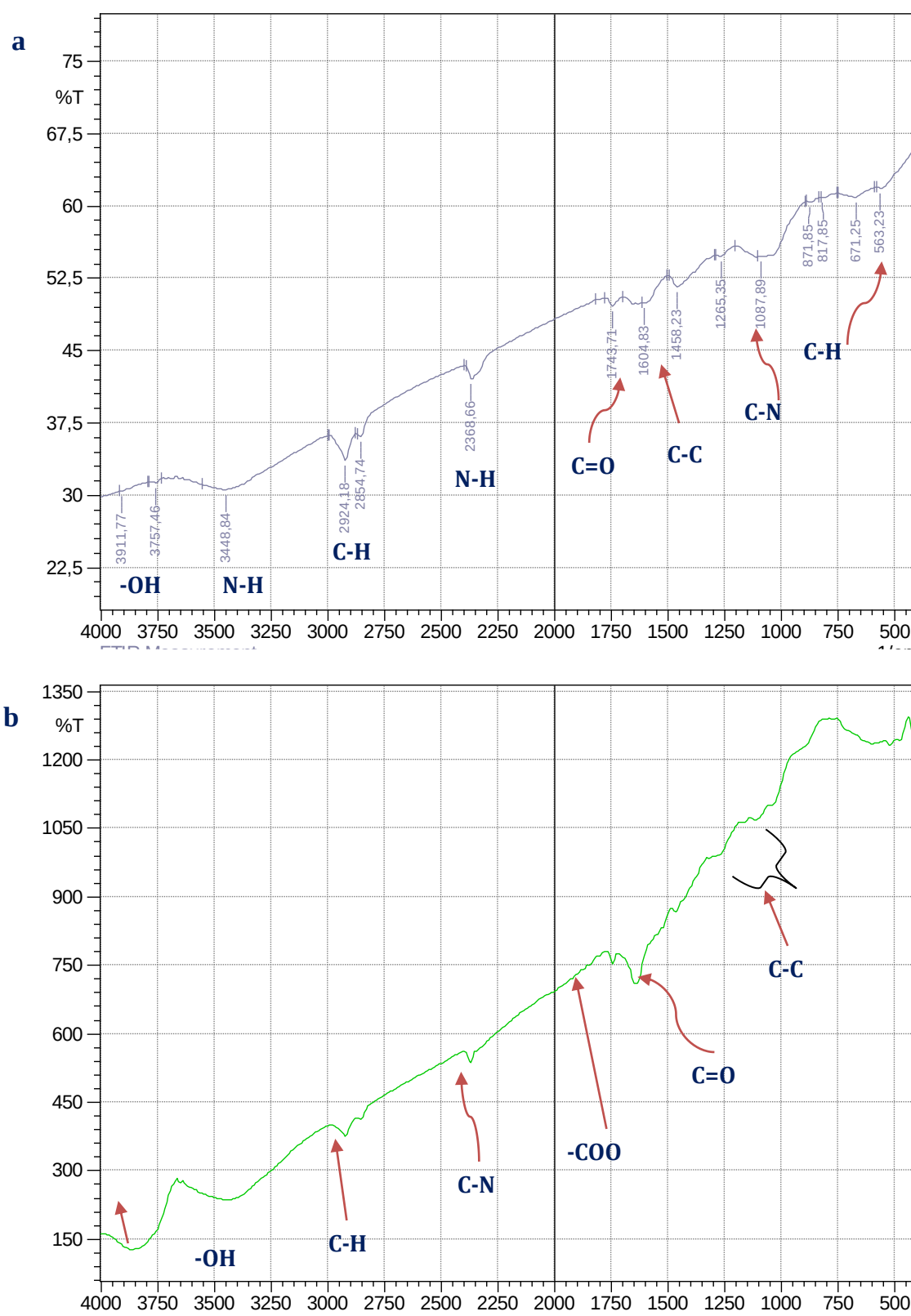


Figure IV.34 : Spectre infrarouge des microparticules du chitosane vides réticulées par : **a)** le TPP de Na et **b)** l'HMP de Na.

A. Caractérisation par FTIR des microparticules d'Alginate vides :

Les spectres FTIR des microparticules à base d'alginate de sodium vides préparées dans le CaCl_2 est illustré par la figure IV.35.

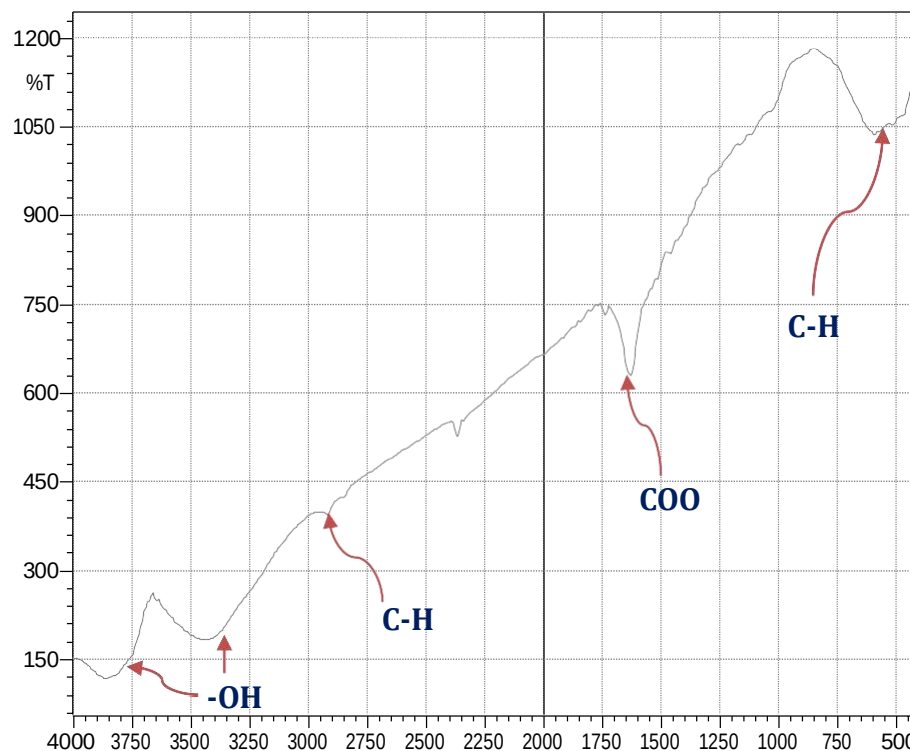


Figure IV.35 : Spectre infrarouge des microparticules d'alginate de sodium vides préparées dans le CaCl_2 .

Le spectre FTIR obtenu montre :

- Un pic à $> 3500 \text{ cm}^{-1}$ attribué au groupement -OH alcool lié et intensité fort.
- Un pic à 2890 cm^{-1} attribué au groupement C-H alkyle.
- Une bande d'absorption entre 1650 cm^{-1} et 1600 cm^{-1} attribuée au groupement carboxyle COO et intensité fort.
- Un pic d'absorption entre 760 cm^{-1} et 540 cm^{-1} attribué au groupement C-H.

B. Caractérisation par FTIR des microparticules biocomposites vides :

Le spectre FTIR des microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium réticulées par l'HMP de Na est illustré par la figure IV.36. Le spectre obtenu montre :

- Un pic à 3780.60 cm^{-1} attribué au groupement -OH alcool lié et intensité fort.
- Un pic à 3464.27 cm^{-1} attribué au groupement N-H.
- Un pic entre 2924.18 cm^{-1} et 2862.46 cm^{-1} attribué au groupement C-H alkyle.
- Un pic à 1743.71 cm^{-1} attribué au groupement C=O aldéhyde/cétone.
- Un pic d'absorption entre 1635.69 cm^{-1} et 1458.23 cm^{-1} attribué au groupement C=C.
- Un pic d'absorption entre 717.64 cm^{-1} et 671.26 cm^{-1} attribué au groupement C-H.

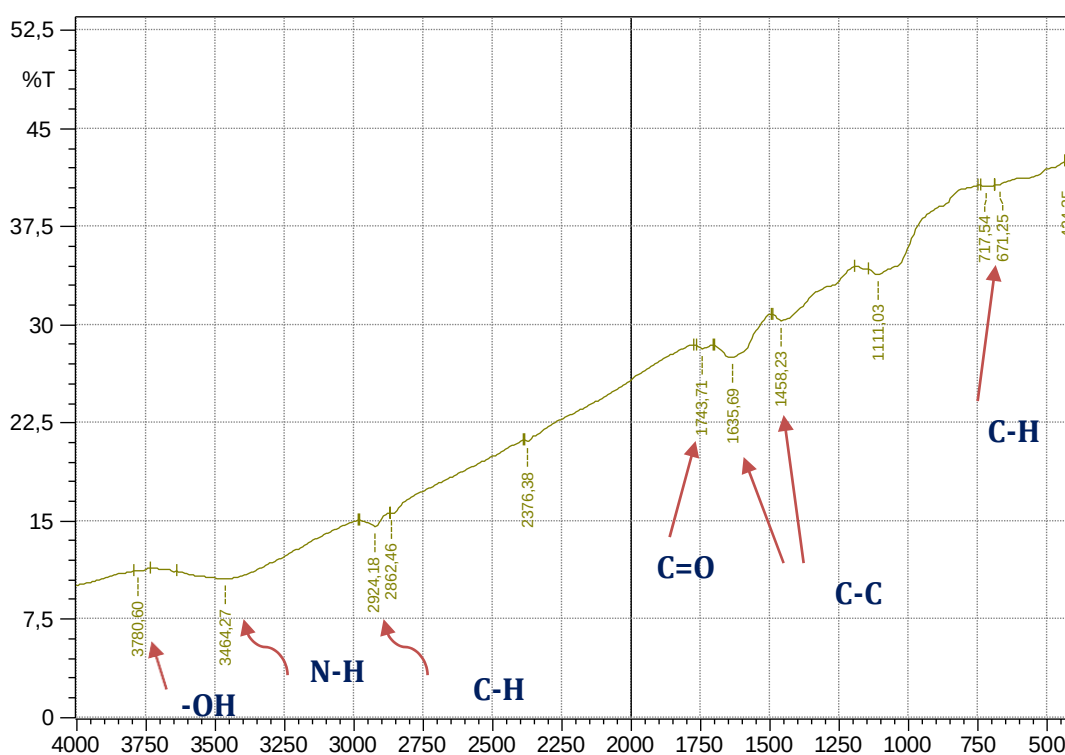


Figure IV.36 : Spectre infrarouge des microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium vides préparées dans l'HMP de Na.

IV.3.2 Caractérisation des microparticules chargées par diclofénac de sodium :

IV.3.2.1 Aspect général :

L'examen effectué à l'œil nu montre que les microparticules chargées préparées à base du (chitosane, alginate, biocomposites chitosane/alginate) obtenues en utilisant les différents réticulants sont sphériques en apparence (voir figures IV.37, IV.38), avec des diamètres moyens compris entre 250 μm et 1 mm déterminés par analyse granulométrique présentée ci-dessous.

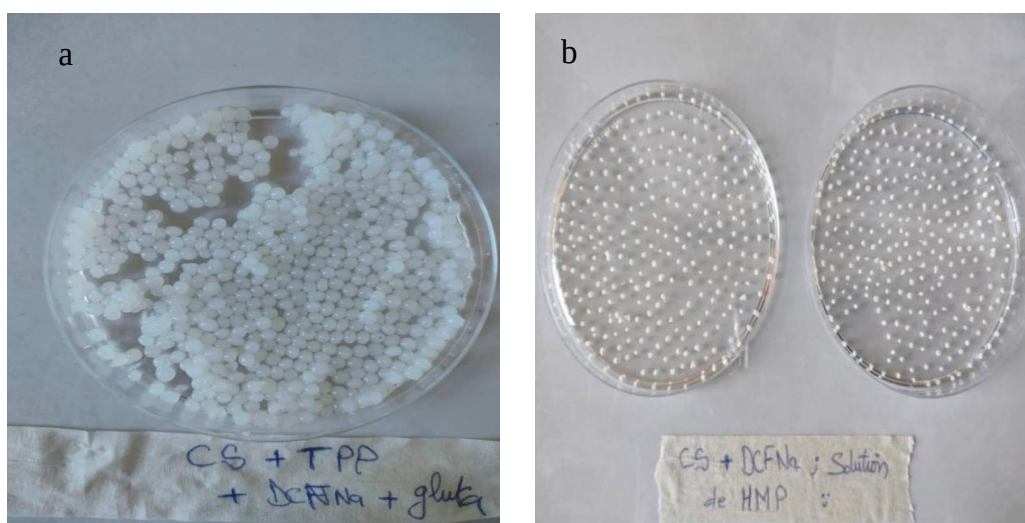


Figure IV.37 : Aspect général des microparticules à base du chitosane préparées dans :
a) le TPP de Na, **b)** l'HMP de Na chargées de diclofénac sodique.

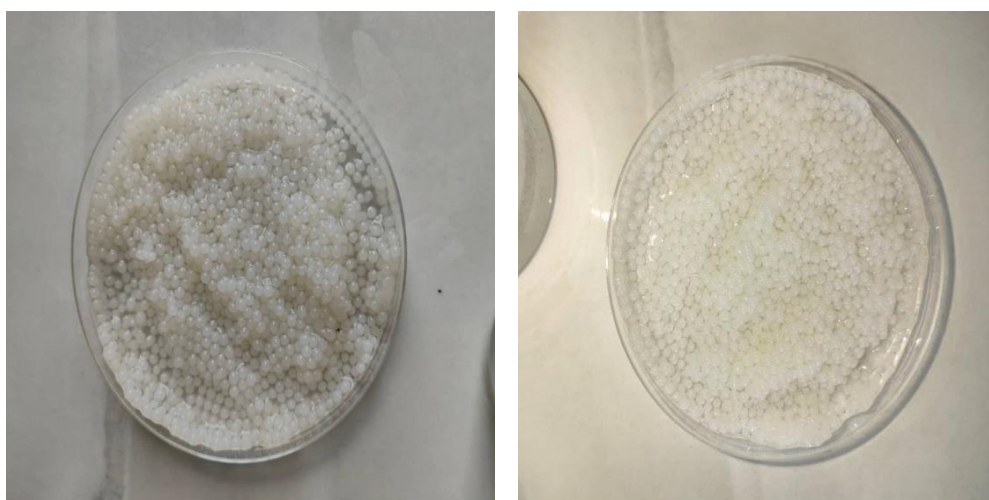


Figure IV.38 : Aspect général des microparticules à base d'alginate de sodium chargées de diclofénac sodique.

IV3.2.2 Analyse granulométrique :

Les résultats du test de l'analyse granulométrique des microsphères chargées par le diclofénac de sodium à base du (chitosane, alginate de sodium, biocomposites chitosane/alginate) sont regroupés dans le tableau IV.2.

Tableau IV.2: Résultat du test granulométrique des microsphères à base du (chitosane, alginate, biocomposites chitosane/alginate) chargées.

	45 μm	63 μm	125 μm	250 μm	500 μm	1 mm	2 mm	4 mm
Cs- HMP de Na	0 g	0 g	0 g	0 g	0.170 g	0.032 g	0 g	0 g
Cs-TPP de Na	0 g	0 g	0 g	0.16 g	0.82 g	0.01 g	0 g	0 g
ALG	0 g	0 g	0 g	0 g	0.16 g	0.042 g	0 g	0 g
CS/ALG dans l'HMP de Na	0 g	0 g	0 g	0 g	0.19 g	0.01 g	0 g	0 g

D'après les résultats obtenus :

- 92% des microsphères à base du chitosane préparées dans l'HMP de Na chargées présentant un diamètre extérieur supérieur à 500 μm et 8% présentant un diamètre supérieur à 1 mm.
- 89% des microsphères à base du chitosane préparées dans le TPP de Na chargées présentant un diamètre extérieur supérieur à 250 μm et 10% présentant un diamètre supérieur à 500 μm et 1% présentant un diamètre supérieur à 1mm.
- 90% des microsphères préparées à base d'alginate de sodium chargées présentant un diamètre extérieur supérieur à 500 μm et 10% présentant un diamètre supérieur à 1mm.
- 98% des microsphères biocomposites chitosane/alginate de sodium préparées dans l'HMP de Na chargées présentant un diamètre extérieur supérieur à 500 μm et 2% présentant un diamètre supérieur à 1 mm.

IV3.2.3 Analyse morphologique :

La morphologie des microparticules chargées a été examinée par le microscope optique. Les micrographies présentées par les figures IV.39, IV.40, IV.41 illustrent l'aspect des microparticules chargées préparées dans les différents réticulants.

Les images montrent que les microsphères présentent effectivement une forme sphérique. On remarque que les microsphères chargées ont une forme sphérique pleine en raison de l'encapsulation par la substance active. Les microparticules réticulées par le

glutaraldéhyde présentent une surface rugueuse et homogène par rapport à celles non réticulées.

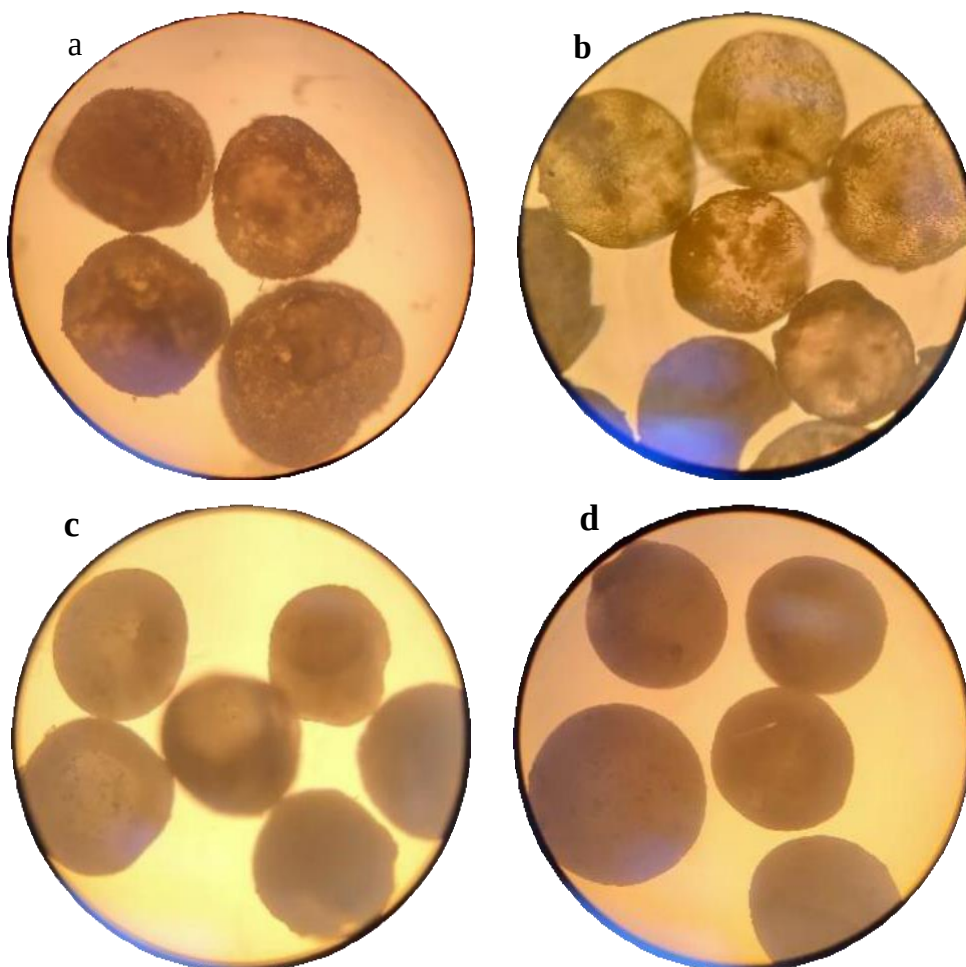


Figure IV.39 : Photos microscopiques binoculaire, agrandissement $\times 0.1$ des microparticules à base du chitosane chargés: **a)** TPP de Na, **b)** TPP de Na + Gu, **c)** HMP de Na et **d)** HMP de Na + Gu.

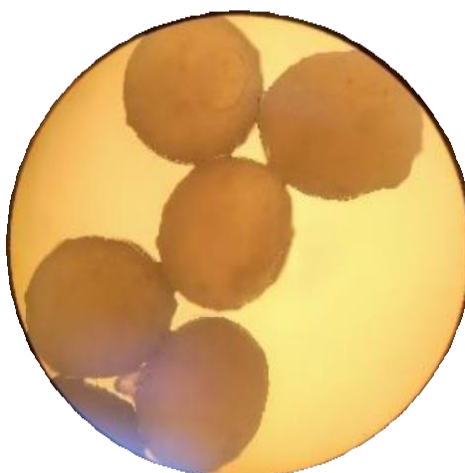


Figure IV.40 : Photos microscopiques de microparticules chargées à base d'alginate de sodium.

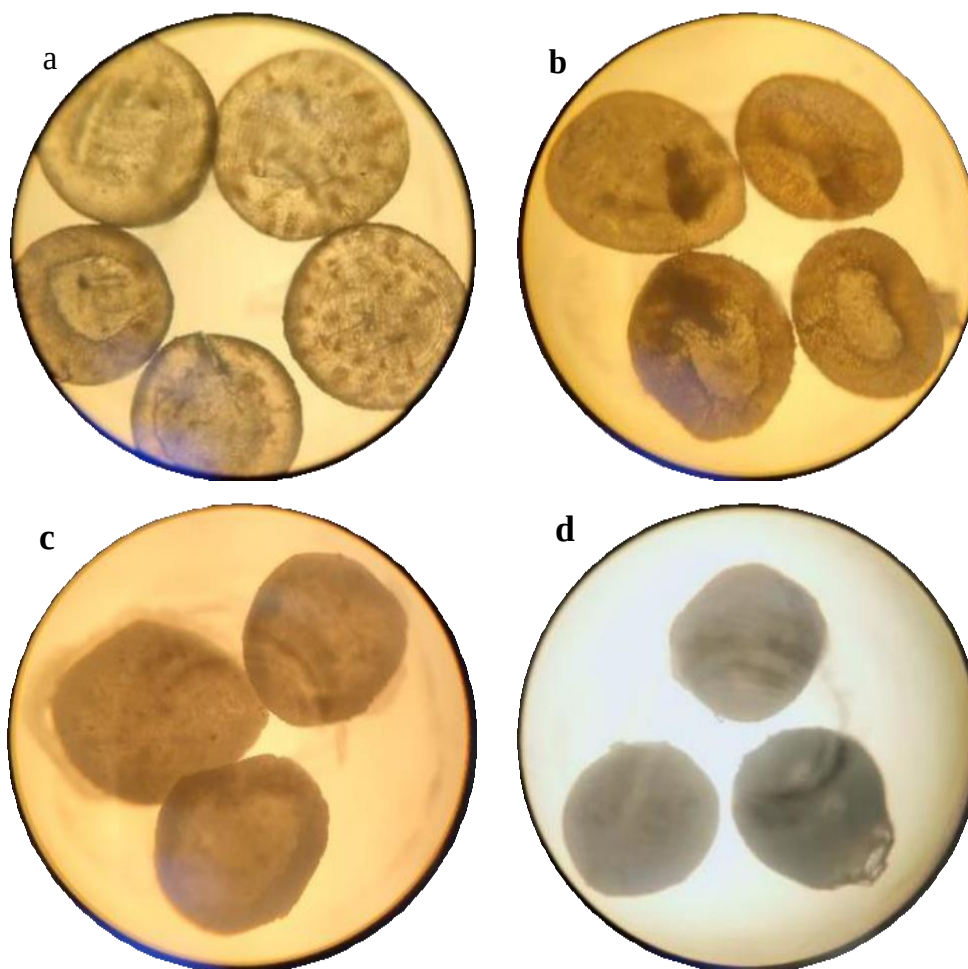


Figure IV.41 : Photos microscopiques des microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium chargées : **a)** CS/ALG-TPP de Na, **b)** CS/ALG-TPP de Na + Gu, **c)** CS/ALG-HMP de Na et **d)** CS/ALG-HMP de Na + Gu.

IV.3.2.4 Caractérisation par spectroscopie Infra-Rouge FTIR :

A. Caractérisation FTIR des microparticules du chitosane chargées :

Le spectre FTIR du diclofénac de sodium est illustré par la figure IV.42. Le spectre FTIR obtenu montre :

- Un pic d'absorption entre 3380 cm^{-1} et 3500 cm^{-1} correspondant à l'étirement des groupes N-H de l'amide.
- Un pic d'absorption entre 3000 cm^{-1} et 2900 cm^{-1} correspondant à l'étirement des groupes C-H méthyle.
- Un large bande d'absorption entre 1750 cm^{-1} et 1500 cm^{-1} correspondant à l'étirement des groupes carboxyle C=O d'aldéhyde.
- Un large bande d'absorption entre 1350 cm^{-1} et 1250 cm^{-1} correspondant à l'étirement des groupes C-N de l'amine.

- Une bande d'absorption entre 780 cm^{-1} et 580 cm^{-1} correspondant à l'étirement des groupes C-Cl.

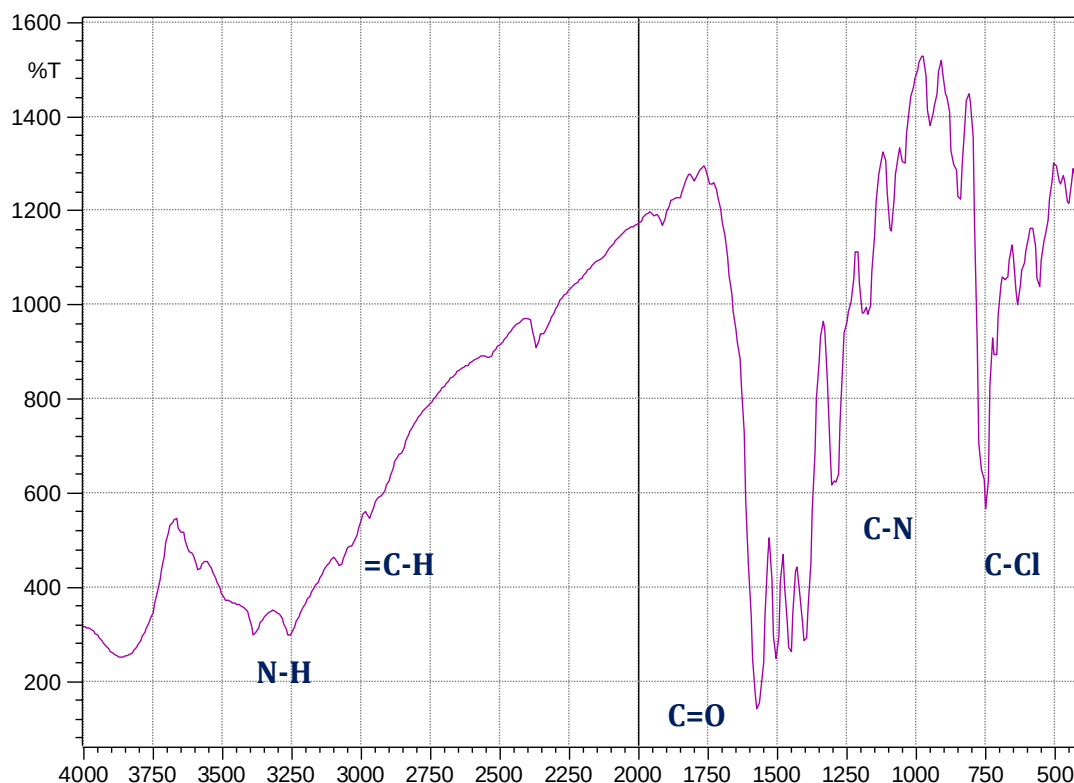


Figure IV.42: Spectre infrarouge du diclofénac de sodium.

La figure IV.44 illustre les spectres FTIR des microparticules du chitosane chargées par le diclofénac de sodium préparées dans le TPP de Na et dans l'HMP de Na respectivement.

Le spectre FTIR obtenu des microparticules de chitosane chargées préparées dans le TPP de Na montre :

- Un pic à 3780.60 cm^{-1} attribué au groupement -OH alcool lié et intensité fort.
- Un pic à 3448.84 cm^{-1} attribué au groupement N-H.
- Un pic d'absorption entre 2924.18 cm^{-1} et 2862.46 cm^{-1} correspondant à l'étirement des groupes C-H.
- Un pic à 1743.71 cm^{-1} attribué au groupement C=O aldéhyde/cétone
- Un pic à 864.14 cm^{-1} attribué au groupement C-H composé aromatique.
- Un pic à 586.52 cm^{-1} attribué au groupement C-H alcanes.

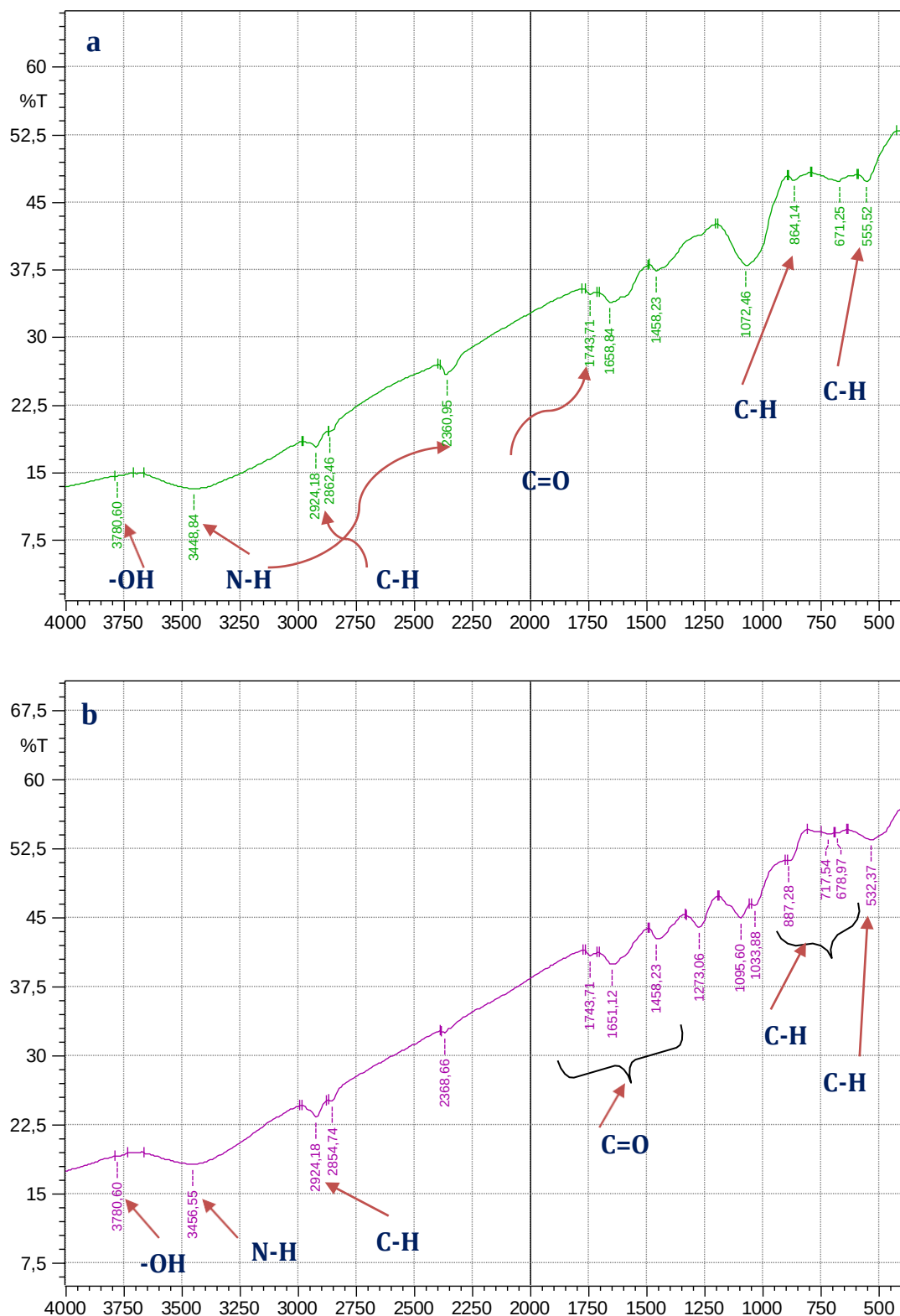


Figure IV.43 : Spectre infrarouge des microparticules à base du chitosane chargées par le diclofénac de sodium préparées dans : **a)** le TPP de Na, **b)** l'HMP de Na.

Le spectre FTIR obtenu des microparticules de chitosane chargées préparées dans l'HMP de Na montre :

Un pic à 3780.60 cm^{-1} attribué au groupement -OH alcool lié et intensité fort. Un pic à 3496.55 cm^{-1} attribué au groupement N-H. Un pic d'absorption entre 2924.18 cm^{-1} et 2854.74 cm^{-1} correspondant à l'étirement des groupes C-H. Un pic à 532.37 cm^{-1} attribué au groupement C-H.

Donc pour les microparticules du chitosane chargées, en plus des pics observés précédemment, on l'existence des bandes d'absorption entre 1500 et 1600 cm^{-1} qui peuvent être attribuées au DCF et 1458.23 , 1651.12 et 1743.71 cm^{-1} attribué aux groupements C=O aldéhyde.

B. Caractérisation par FTIR des microparticules d'Alginate chargées :

Les spectres FTIR des microparticules à base d'alginate de sodium chargée réticulées par le CaCl_2 est illustré par la figure IV.44.

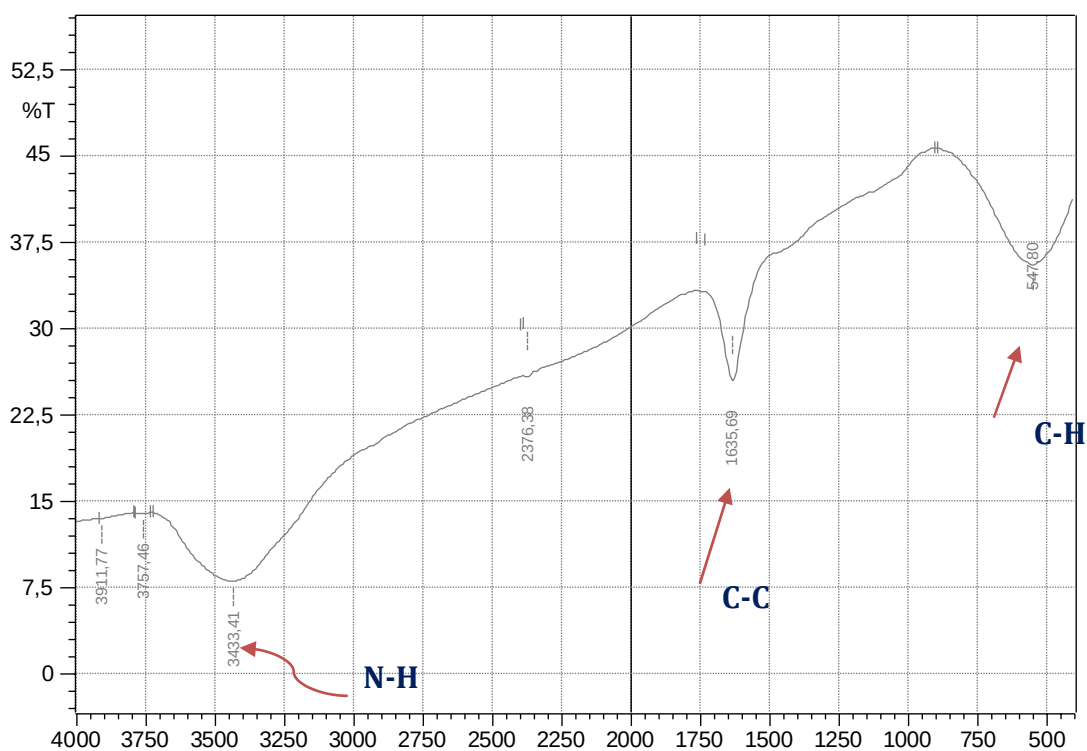


Figure IV.44 : Spectre infrarouge des microparticules d'alginate de sodium chargées réticulées par le CaCl_2 .

Le spectre FTIR obtenu montre :

- Une bande large à 3433.41 cm^{-1} attribuée au groupement N-H et intensité fort.
- Une bande large à 1635.69 cm^{-1} attribuée au groupement C-C.
- Une bande large à 547.80 cm^{-1} attribuée au groupement C-H.

C. Caractérisation par FTIR des microparticules biocomposites chargées :

Les spectres FTIR des microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium chargée préparées dans l'HMP de Na est illustré par la figure IV.45. Le spectre FTIR obtenu montre :

- Un pic d'absorption à 3448.84 cm^{-1} attribuée au groupement N-H et intensité fort.
- Un pic d'absorption à 1720.56 cm^{-1} attribuée au groupement C=O.
- Un pic d'absorption à 1033.88 cm^{-1} attribuée au groupement C-H.
- Un pic d'absorption à 565.52 cm^{-1} attribuée au groupement C-H.

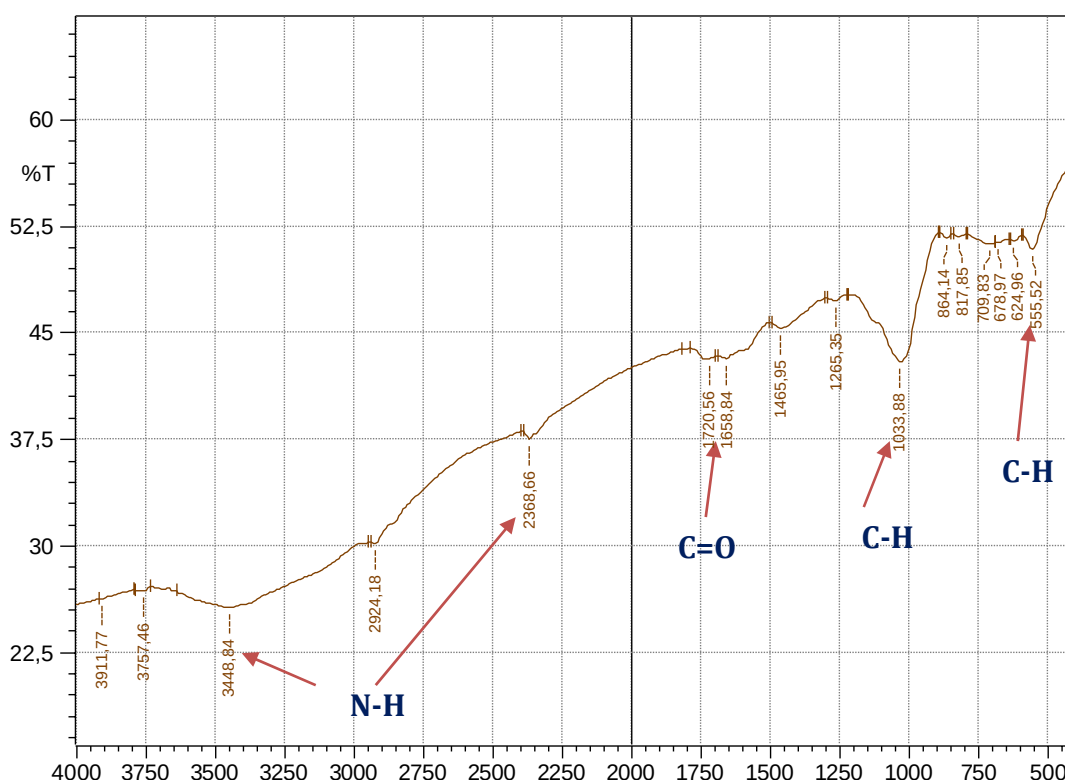


Figure IV.45 : Spectre infrarouge des microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium chargées préparées dans l'HMP de Na.

VI.3.2.5 Évaluation du taux et de l'efficacité d'encapsulation :

L'encapsulation du diclofénac dans la matrice polymérique de chitosane dépend de plusieurs facteurs : la méthode, les conditions opératoires, et les rapports massiques des espèces mises en jeu. Ainsi, le taux d'encapsulation varie d'un système à l'autre.

Les taux estimés des différents types des microparticules sont présentés ci-dessous dans la figure IV.46.

D'après les valeurs des taux d'encapsulation obtenus, on remarque que le diclofénac a été presque totalement encapsulé. Ceci est dû notamment à la méthode utilisée. Et on remarque que les deux systèmes microparticulaires, biocomposites CS/ALG réticulés par l'HMP de Na et le glutaraldéhyde et préparées à base de chitosane réticulés par l'HMP de Na, ont le taux d'encapsulation le plus élevé.

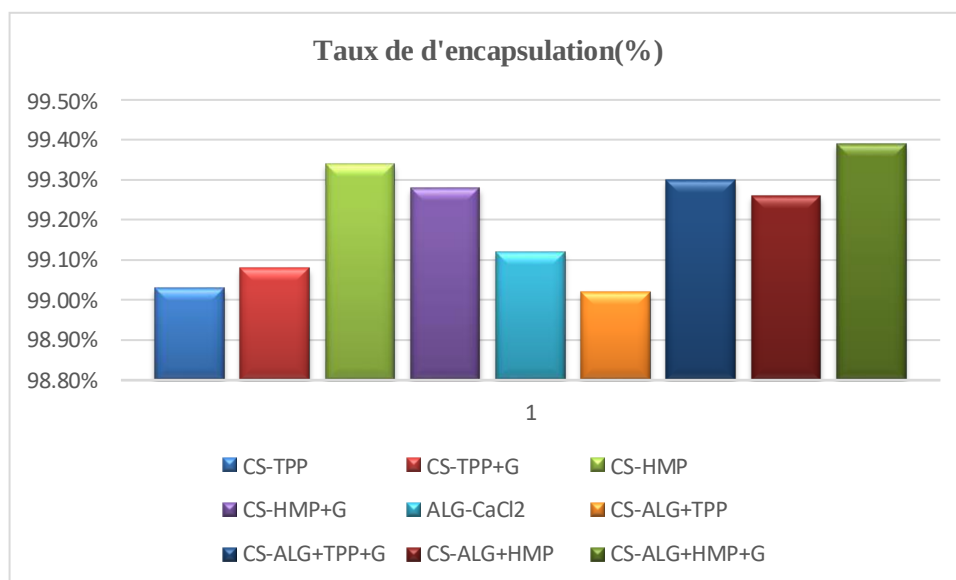


Figure IV.46 : Taux d'encapsulation de diclofénac de sodium par les microparticules.

IV.33 Etude de la cinétique de libération de diclofénac de sodium *in vitro* :

L'objectif de cette étude est d'analyser la cinétique de libération du principe actif modèle, afin de comprendre le comportement des microsphères en présence de ce principe actif dans les milieux biologiques, ainsi que le comportement du principe actif par rapport aux microparticules.

Le dosage de diclofénac de sodium libéré est effectué par spectroscopie UV-visible à une longueur d'onde de 276 nm dans les différents milieux physiologiques simulés (SSF, SGF, SIF et eau distillée). Des courbes d'étalonnage de diclofénac de sodium ont été dressées dans chaque milieu de libération.

Le principe actif est dispersé au sein de la matrice polymérique sans être capable d'en sortir. Avec l'entrée du solvant, le polymère solide à l'état vitreux, gonfle, le polymère passe à l'état caoutchouteux pour ressembler à un gel. Il se crée ainsi un front de séparation gel-solide qui progresse vers le centre du système. Avec la relaxation macromoléculaire associée à la transition à l'état caoutchouteux, le principe actif est alors capable de diffuser vers l'extérieur.

IV.3.3.1 Cinétique de la libération dans l'eau distillée :

La figure IV.47 présente la courbe d'étalonnage de diclofénac de sodium dans l'eau distillé.

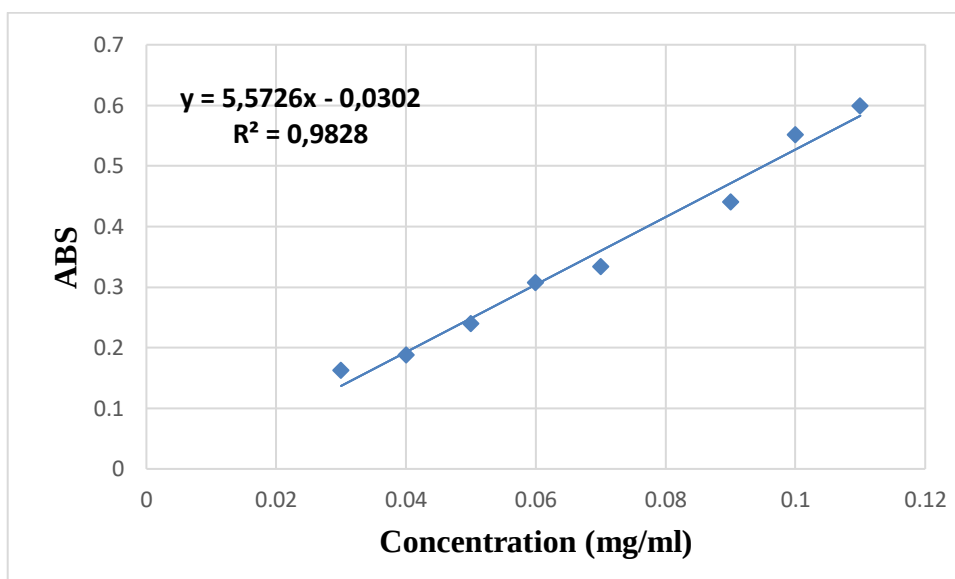


Figure IV.47 : Courbe d'étalonnage du diclofénac de sodium dans l'eau distillée.

D'après les résultats présentés dans la figure IV.48, on observe que la cinétique de la libération de diclofénac sodique dans l'eau distillée présente une allure ascendante pour tous les systèmes considérés. La quantité libérée est importante dans les premiers heurs et après un temps de 1200 min on remarque une augmentation de la quantité libérée de principe actif estimée de 0,14 mg/ml. Il semble que la porosité de la surface polymérique est importante pour ce type des microparticules.

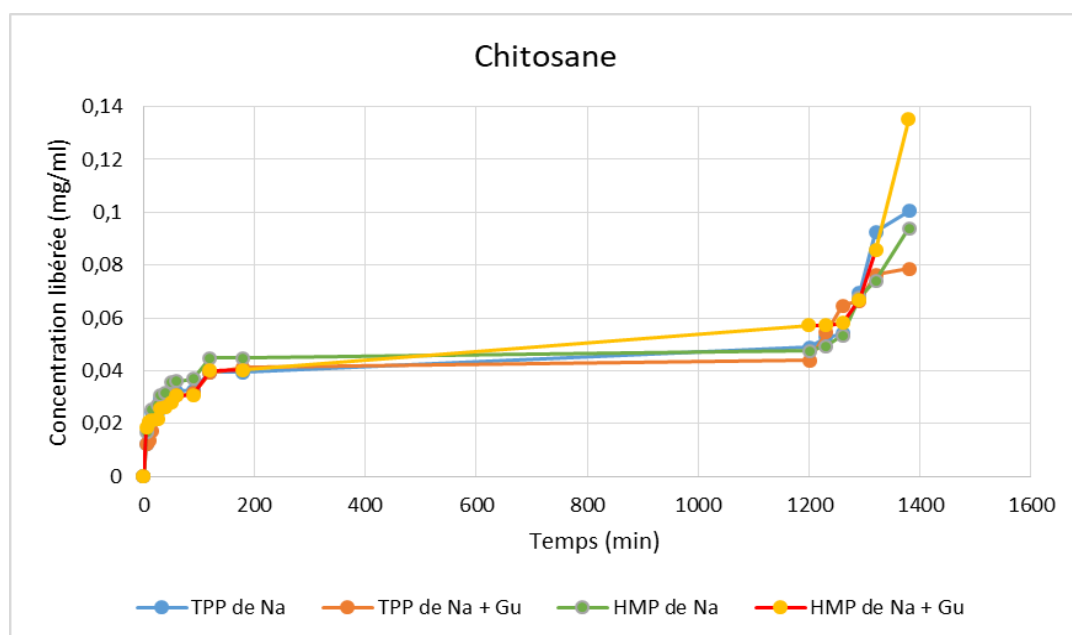


Figure IV.48 : Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules du chitosane préparées dans les différents réticulants dans l'eau distillée à 37 °C.

D'après les résultats relatifs à la cinétique de libération des microparticules à base d'alginate de sodium réticulées par le CaCl_2 dans l'eau distillée présentés par la figure IV.49, on peut conclure que les concentrations de diclofénac sont très importantes pour ce système démontré par le taux initial relativement rapide et il y a une augmentation de la libération qui se maintient jusqu'au troisième jour.

Les sphères d'alginate atteignent la concentration de 0.14 mg/ml rapidement cela revient certainement au comportement du gonflement qui est très élevé par rapport aux autres systèmes.

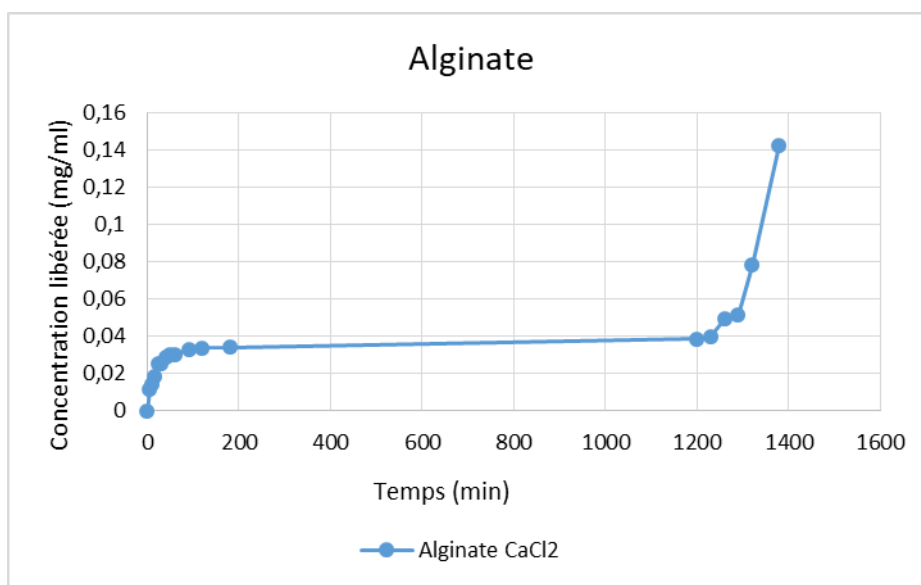


Figure IV.49 : Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules d'alginate dans l'eau distillée à 37 °C.

D'après les résultats présentés dans la figure IV.50, on remarque que la cinétique de la libération de diclofénac sodique dans l'eau distillée présente deux phases de libération; une première relativement rapide qui est due à la libération du principe actif qui se trouve à la surface des microparticules, et une deuxième plus lente et prolongée.

Les concentrations de libération après les 72 h d'expérience ne dépassent pas 0.11 mg/ml pour l'eau distillée, cela montre bien que le système biocomposite offre des cinétiques de libération très lentes qu'il est très intéressant d'en approfondir l'étude pour des temps plus lents.

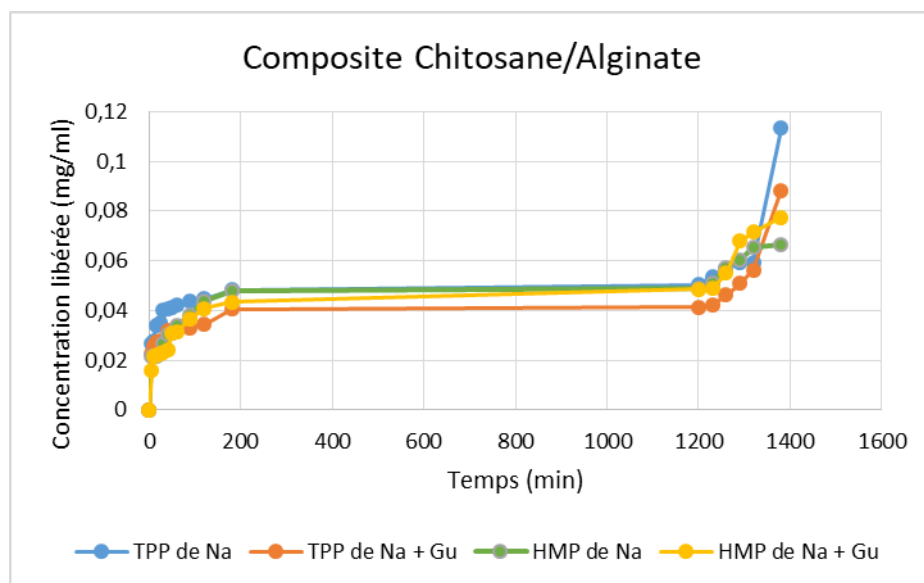


Figure IV.50 : Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium dans l'eau distillée à 37 °C.

IV.3.3.2 Cinétique de libération dans la salive (SSF) pH=6.8 :

La figure IV.51 présente la courbe d'étalonnage de diclofénac de sodium dans la solution de salive simulée SSF pH= 6.8.

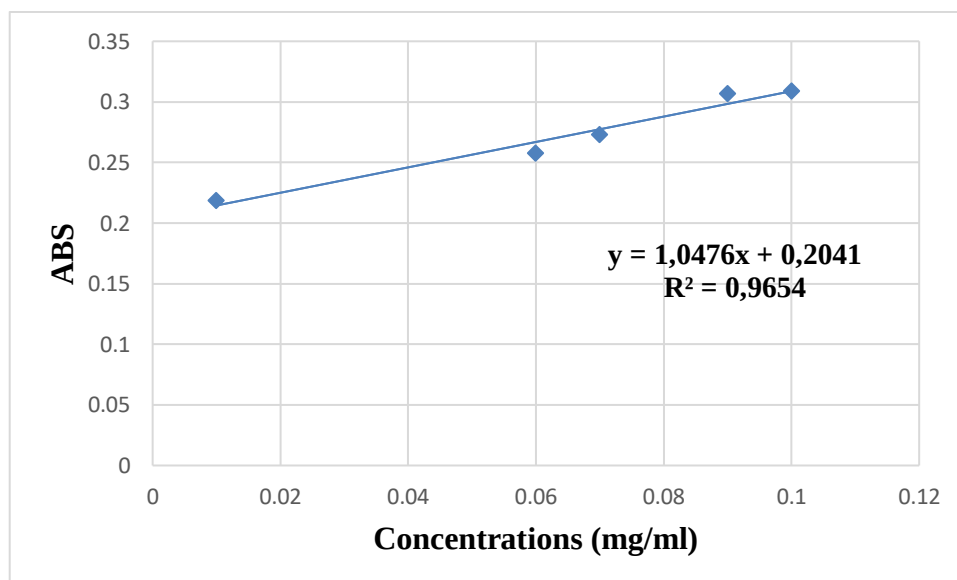


Figure IV .51 : Courbe d'étalonnage du diclofénac de sodium dans SSF à pH=6.8.

D'après les résultats obtenus, présentés par la figure IV.52, on peut conclure que les concentrations de diclofénac sodique libérées sont très importantes dans les premières minutes pour tous les systèmes démontrant par le taux initial relativement élevé, puis on remarque qu'il y a une autre phase d'augmentation de la libération qui persiste jusqu'aux troisièmes jours pour une valeur de 0.75 mg/ml.

La première partie représente la libération du principe actif qui existe à la surface des microsphères, d'où la libération rapide et en quantité importante. Puis, la deuxième partie représente le principe actif qui existe au milieu, sa libération est rapide et en quantité importante, cela revient certainement au comportement du gonflement qui est élevé.

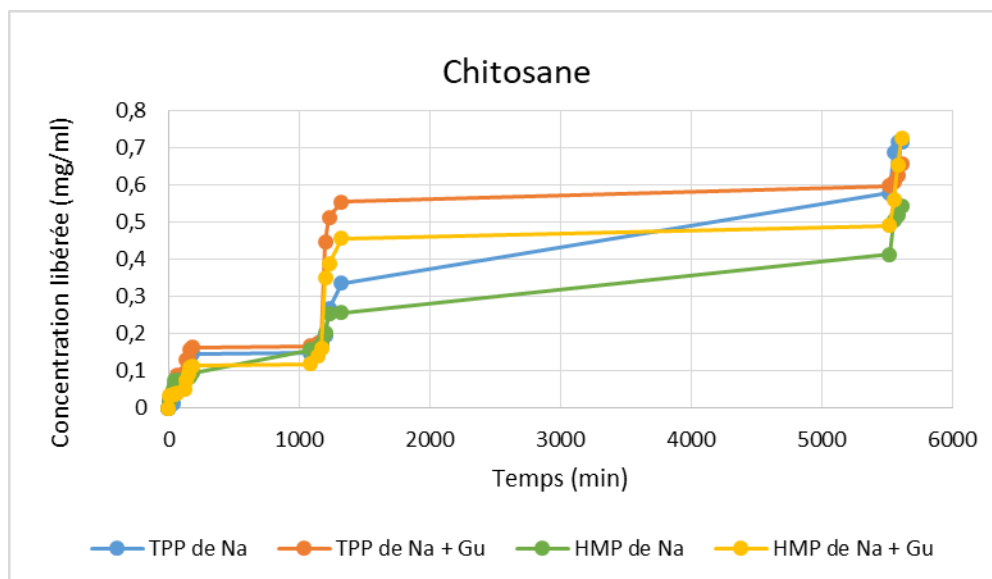


Figure IV.52 : Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules du chitosane préparées dans les différents réticulants dans SSF pH= 6.8 à 37 °C.

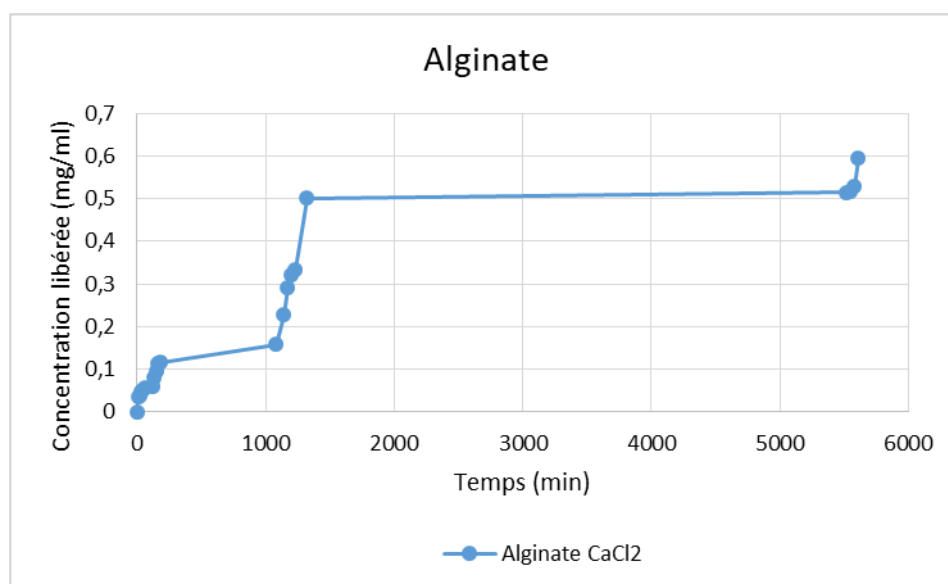


Figure IV.53 : Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules d'alginate dans SSF pH= 6.8 à 37 °C.

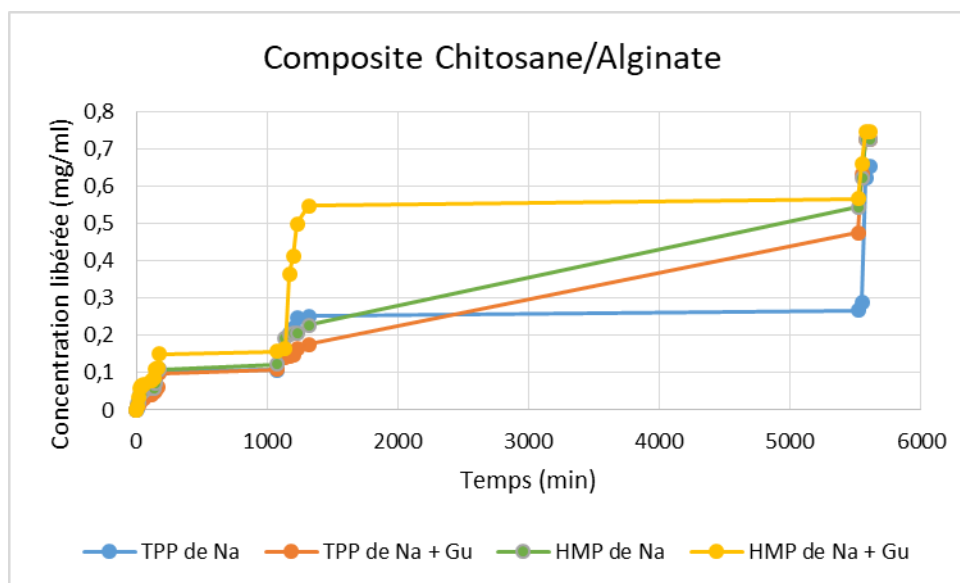


Figure IV.54 : Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium dans SSF pH= 6.8 à 37 °C.

Les résultats de la libération de diclofénac de sodium obtenus pour les microparticules présentés par les figures IV.53 et IV.54 mettent en évidence une libération initiale significative du diclofénac, avec des concentrations élevées de principe actif. Cependant, au fil du temps, on observe une stabilité de la libération qui se maintient jusqu'au troisième jour pour une valeur de 0.6 mg/ml pour les microparticules à base d'alginate de sodium et 0.75 mg/ml pour les microparticules biocomposites.

La première phase de libération correspond à la libération du principe actif qui se trouve à la surface des microsphères. Cette phase se caractérise par une libération rapide et une quantité importante de diclofénac. En revanche, la deuxième phase de libération concerne le principe actif qui est encapsulé à l'intérieur des microsphères. Cette phase se caractérise par une libération plus lente et une quantité relativement stable de diclofénac. Cette différence de comportement s'explique par la distance que le principe actif doit parcourir à travers la matrice polymérique pour être libéré dans la salive.

IV.3.3.3 Cinétique de libération dans la solution (SGF) pH=1.2 :

La figure IV.55 présente la courbe d'étalonnage de diclofénac de sodium dans la solution gastrique simulée (SGF) pH= 1.2.

D'après les résultats obtenus, présentés par les figures IV.56, IV.57 et IV.58 on peut conclure que les concentrations de diclofénac de sodium libérées sont très importantes et progressives dans les premières minutes pour tous les systèmes microparticulaires démontrant par le taux initial relativement élevé : 0.17 mg/ml pour les systèmes

biocomposites, 0.14 mg/ml pour les systèmes à base du chitosane et 0.09 mg/ml pour les systèmes à base d'alginate de sodium, cette phase est suivie par une stabilisation de la libération qui persiste jusqu'aux troisièmes jours.

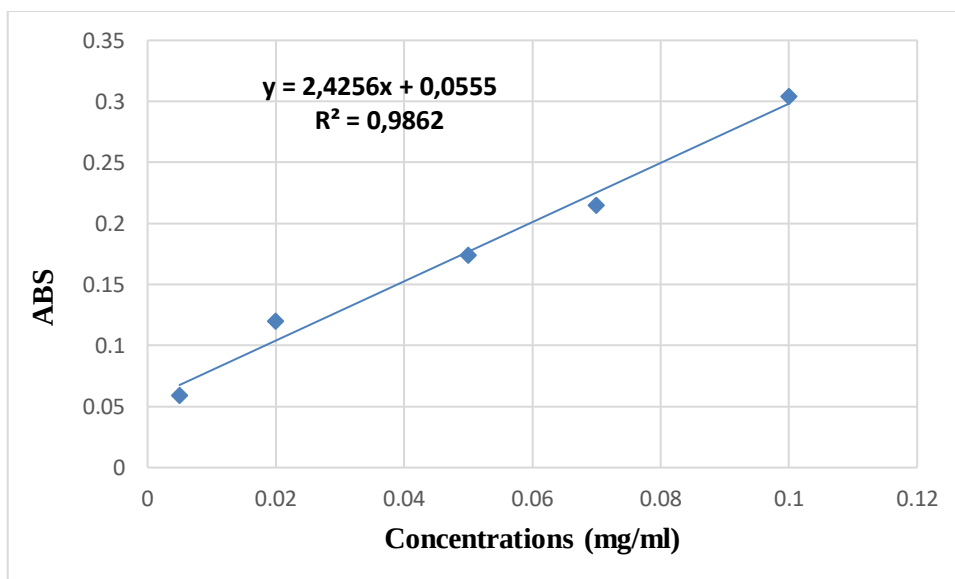


Figure IV.55: Courbe d'étalonnage du diclofénac de sodium dans SGF à pH=1.2.

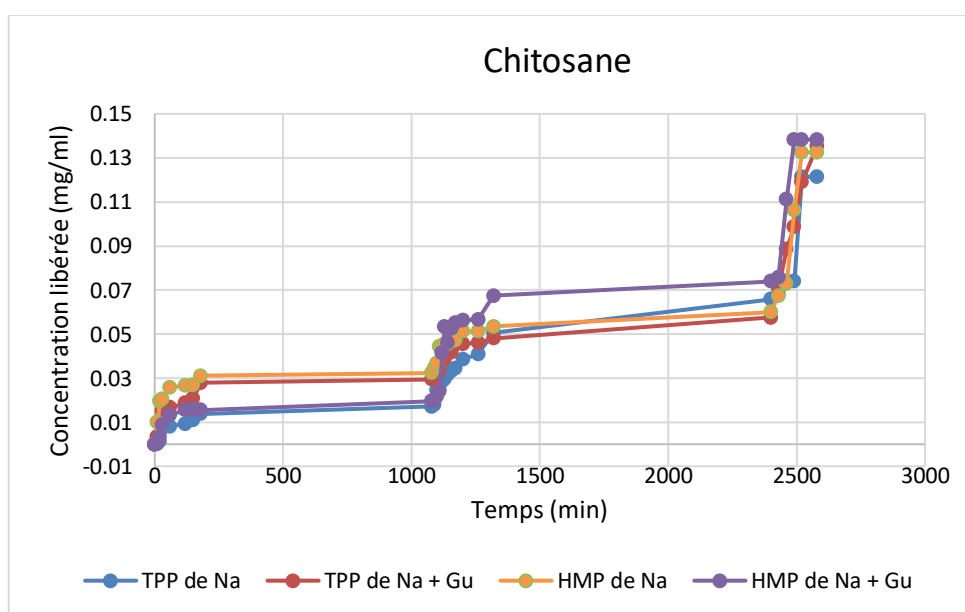


Figure IV.56: Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules du chitosane préparées dans les différents réticulants dans SGF pH= 1.2 à 37 °C.

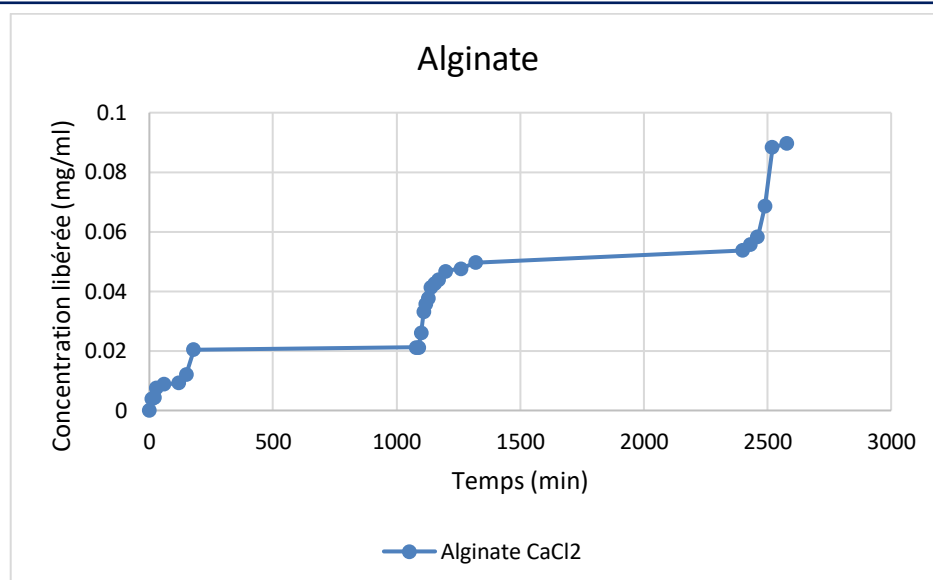


Figure IV.57 : Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules d'alginate dans SGF pH= 1.2 à 37 °C.

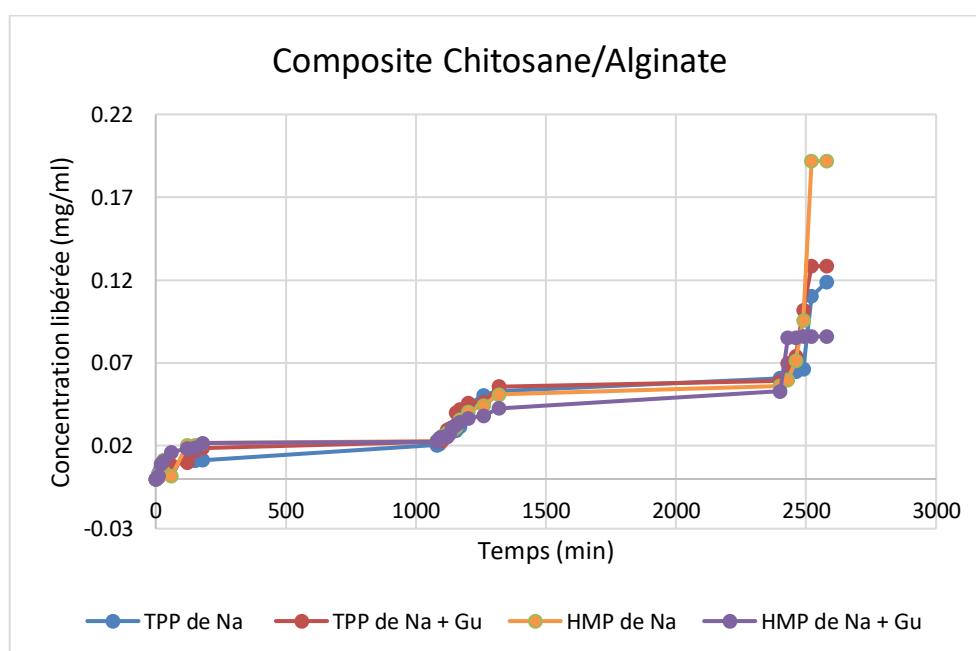


Figure IV.58 : Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium dans SGF pH= 1.2 à 37 °C.

IV334 Cinétique de libération dans la solution (SIF) pH=6.9 :

La figure IV.59 présente la courbe d'étalonnage de diclofénac de sodium dans la solution intestinale simulée (SIF) pH= 6.9.

D'après les résultats obtenus, présentés par les figures IV.60, IV.61 et IV.62 on peut conclure que les concentrations de diclofénac de sodium libérées sont très importantes et

progressives dans les premières minutes pour tous les systèmes microparticulaires démontrer par le taux de la libération initial relativement élevé : 0.2 mg/ml pour les systèmes biocomposites et à base d'alginate de sodium et 0.16 mg/ml pour les systèmes à base du chitosane, cette phase est suivie par une stabilisation de la libération qui persiste jusqu'aux troisièmes jours pour atteindre un état stationnaire.

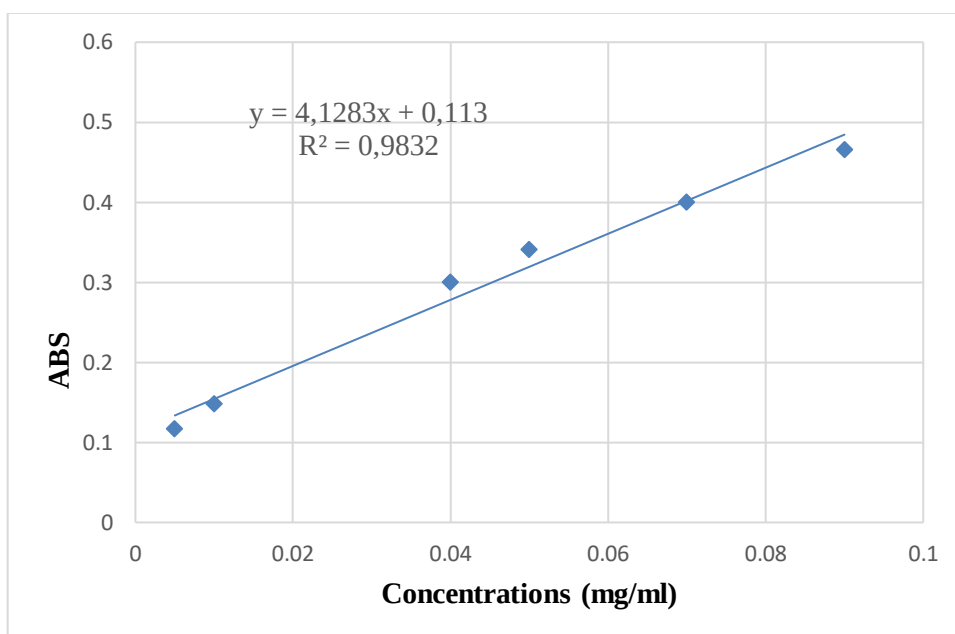


Figure IV.59 : Courbe d'étalonnage du diclofénac de sodium dans la solution SIF à pH=6.8.

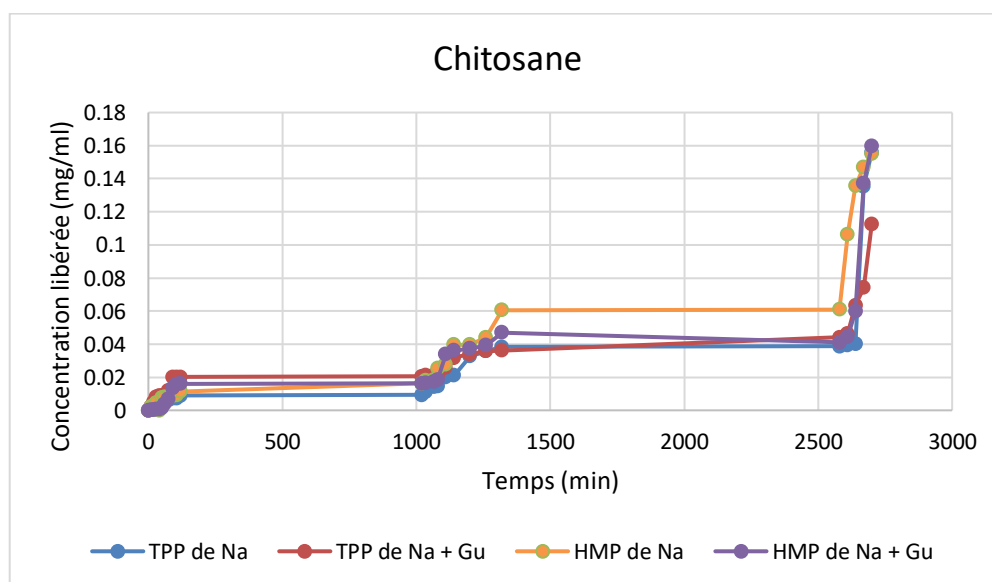


Figure IV.60 : Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules du chitosane préparées dans les différents réticulants dans SIF pH= 6.9 à 37 °C.

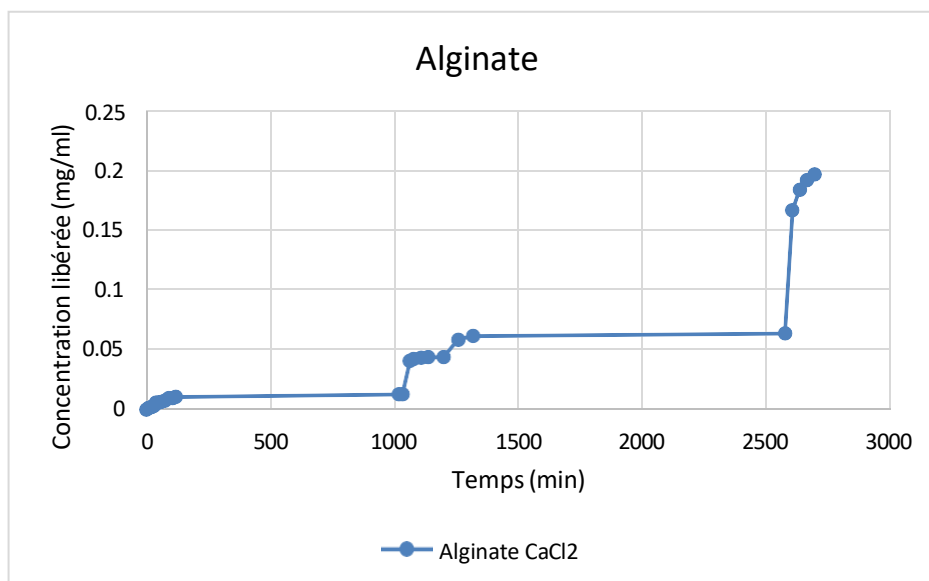


Figure IV.61 : Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules d'alginate dans SIF pH= 6.9 à 37 °C.

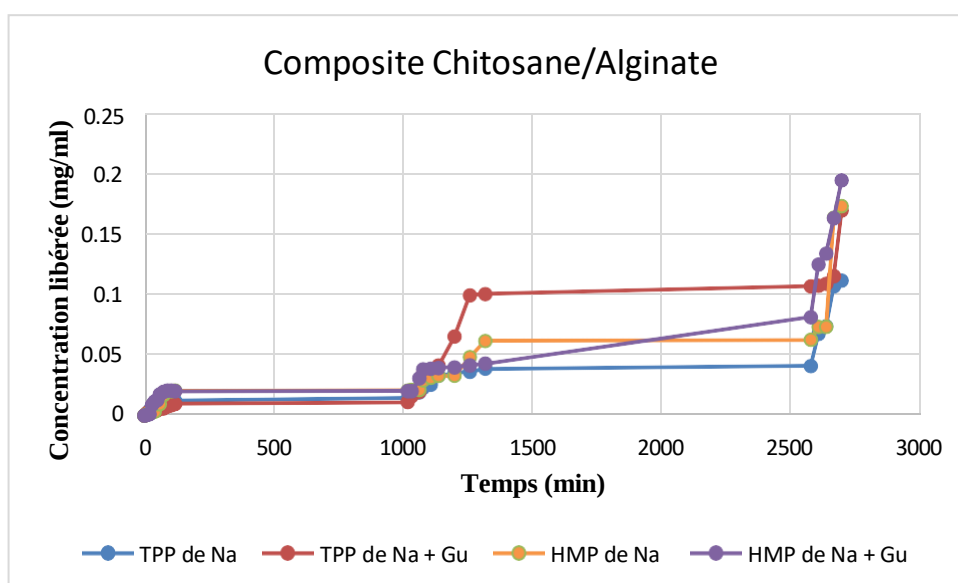


Figure IV.62 : Cinétique de libération de diclofénac sodique par les microparticules biocomposites chitosane/alginate de sodium dans SIF pH= 6.9 à 37 °C.

IV.34 Étude de l'activité anti-inflammatoire :

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité anti-inflammatoire *in vitro* des différents systèmes des microparticules préparées par deux méthodes basées sur la dénaturation des protéines (l'albumine sérique bovine et l'albumine d'œuf).

La dénaturation de protéine *in vitro* peut être la cause de l'apparition d'auto antigène dans certaines maladies.

Le mécanisme possible de la dénaturation consiste à l'altération des liaisons électrostatiques, hydrogène, hydrophobe et disulfures qui maintiennent la structure tridimensionnelle des protéines. La méthode de dénaturation protéique est utilisée pour la variation *in vitro* et l'activité anti-inflammatoire des médicaments.

La dénaturation des protéines et parmi les cause de l'inflammation, c'est un phénomène durant le quelle la protéine perdre sa structure tridimensionnelle suite à l'exposition à la chaleur, un agent infectieux aux chimies (acide ou base fort) induisant l'exposition de certaine site qui veut devenir des auto-antigènes, le témoin utilisé est l'aspirine, diclofénac, ovalbumine et BSA a donné des pourcentages d'inhibition représenté avec I% à une concentration ou type de l'échantillon [42]

Ovalbumine est très riches des protéines (les acides aminées : tyrosine, thionine, lysine) sera altéré avec les composants de l'échantillon qui est le diclofénac encapsulé dans les microcapsules préparées.

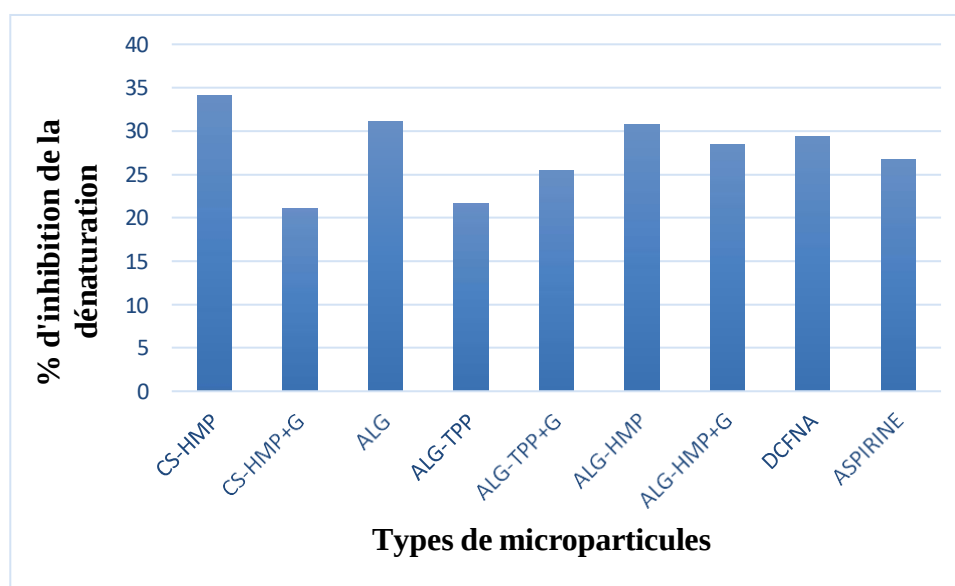


Figure IV.63 : Résultats de tests anti-inflammatoires par la méthode de dénaturation par l'albumine de l'œuf.

D'après les résultats obtenus de test anti-inflammatoire par dénaturation de BSA, on remarque que le chitosane réticulé par le TPP de Na et par le glutaraldéhyde a une activité inhibitrice de dénaturation protéique de 72% qui est considérée meilleure que les autres deux systèmes. C'est dû à : la charge du diclofénac sodique qui est un médicament anti-inflammatoire, les propriétés du chitosane et l'utilisation de TPP de Na et le glutaraldéhyde qui améliore la stabilité des microparticules et réduit la dénaturation de l'albumine bovine.

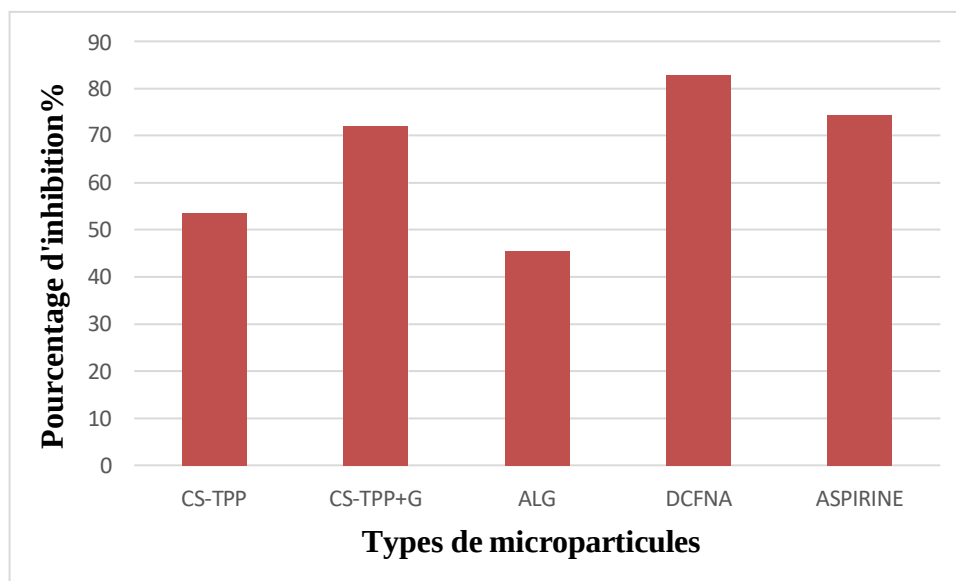


Figure IV.64 : Résultats de tests anti-inflammatoires par la méthode de la dénaturation du sérum albumine bovine BSA.

IV.35 Modèle mathématique de la cinétique de libération du principe actif :

Le mécanisme de libération du médicament a été étudié en ajustant les données de libération de diclofénac de sodium conformément à l'équation de Korsmeyer-Peppas [45]. Cette équation a été utilisée pour expliquer le mécanisme de libération du Substrat actif et de comparer les profils de libération. Une approximation de l'équation peut être obtenue en reportant la fraction de médicament libérée contre la racine carrée du temps exprimé par:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \dots\dots\dots (8)$$

Où : M_t/M_∞ est la quantité fractionnaire du médicament libérée au temps t , n est un exposant de diffusion qui indique le mécanisme de libération, et k est une constante caractéristique du système. Les paramètres cinétiques n et k ont été calculés à partir du tracé de $\log (M_t / M_\infty)$ en fonction de $\log t$.

Les phénomènes de diffusion qui se produisent lors de la libération ont été corrélés à l'équation de Korsmeyer-Peppas :

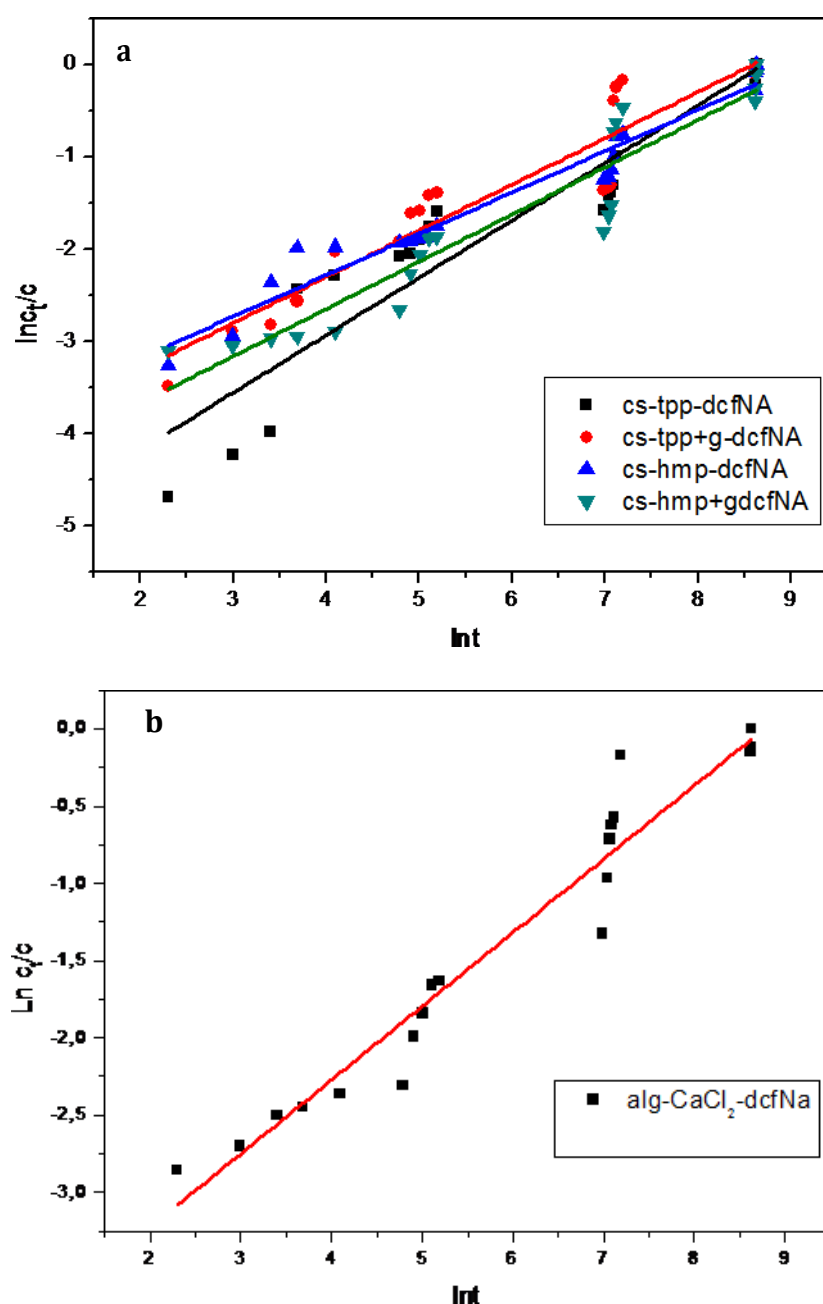
$$\frac{C_t}{C_\infty} = kt^n \dots\dots\dots (9)$$

Le tracé de $\log (C_t/C_\infty)$ en fonction de $\log (\text{temps})$ est représenté sur les figures ci-dessous.

Pour les microparticules, les valeurs de n compris entre 0,43 et 0,85 sont une indication d'une libération à la fois contrôlée par la diffusion et par le gonflement (transport anormal). Les valeurs supérieures à 0,85 indiquent les cas où les transports ont trait à la relaxation de polymères lors du gonflement du gel. Les valeurs inférieures à 0,43 indiquent que la libération du médicament à partir de polymère a été due à la diffusion fickienne.

La constante de la vitesse de libération a été calculée en ajustant les données expérimentales de libération de médicament dans les modèles de l'ajustement des données de la libération du médicament a été évaluée par régression linéaire [46].

IV.3.5.1 Solution de la salive simulée (SSF) pH= 6.8 :



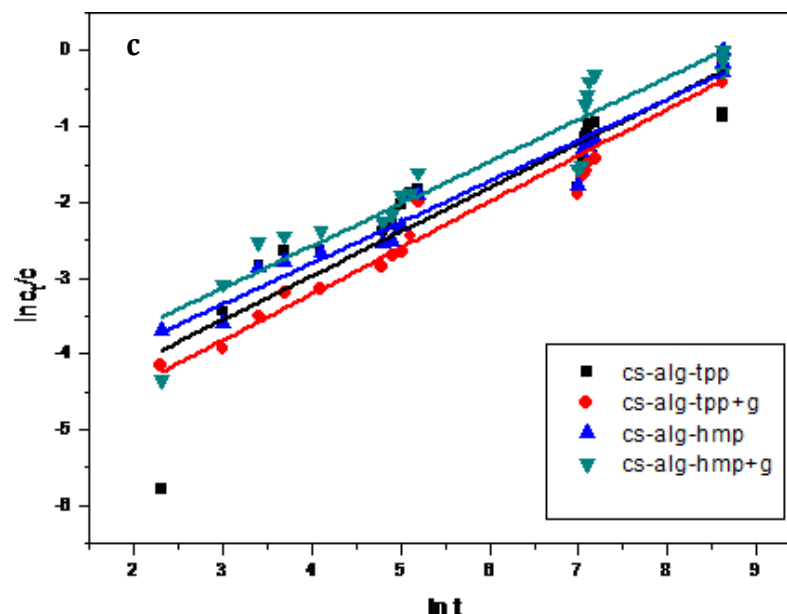


Figure IV.65 : Tracé des courbes linéarisées $\ln(C_t/C_\infty)$ en fonction de $\ln(t)$ des différents systèmes dans la salive (SSF) à pH=6.8, **a)** : systèmes à base du chitosane, **b)** : systèmes à base d'alginate de sodium et **c)** : systèmes biocomposites.

Le tracé $\ln(C_t/C_\infty)$ en fonction de $\ln(t)$ pour les microparticules dans la solution de la salive simulée (SSF) sont illustrés dans les figures ci-dessus. L'exposant de diffusion et les constantes des différents systèmes sont calculés et représentés dans le tableau suivant.

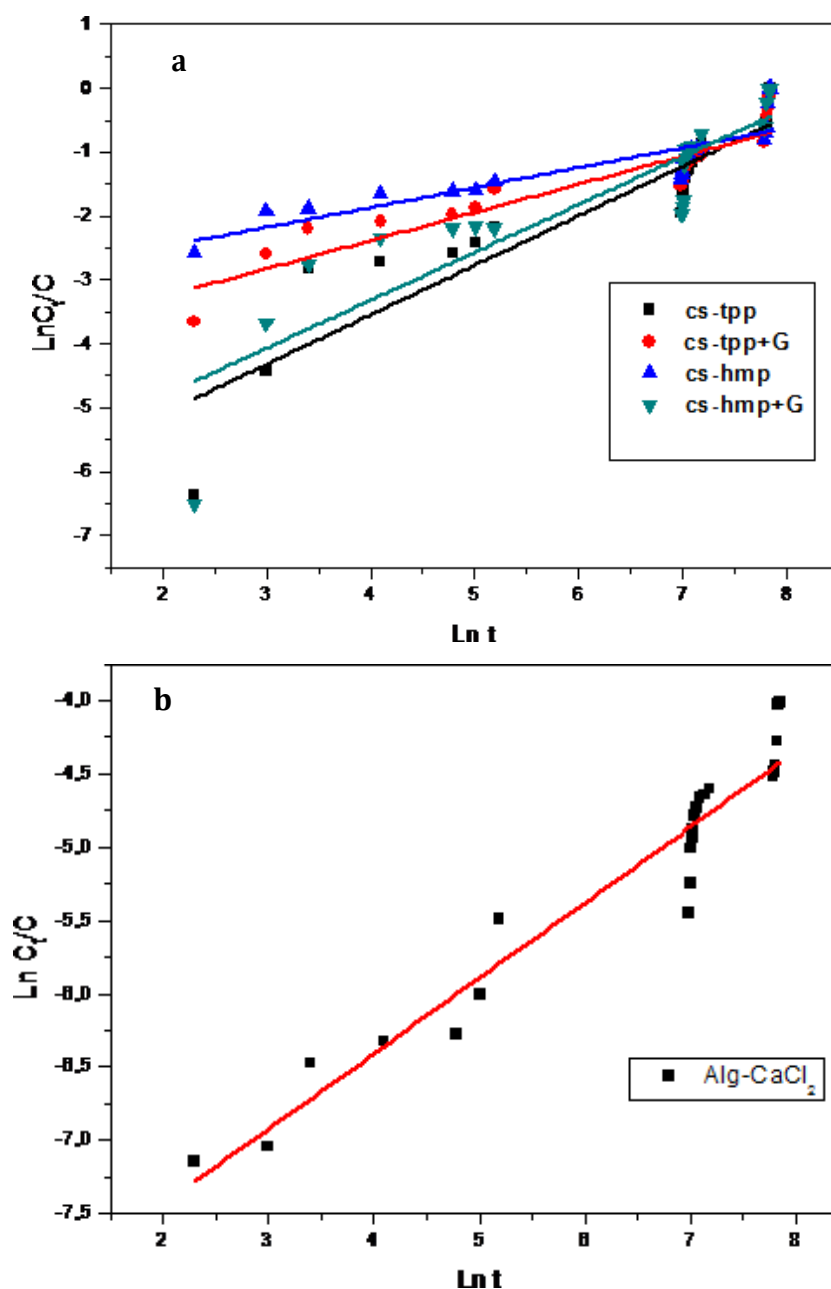
Tableau VI.3 : Paramètres caractéristiques de la diffusion dans les différents Systèmes dans la solution de la salive simulée (SSF) pH=6.8.

Système	Equation régression	R^2	n	k
Cs-TPP de Na	$Y = 0,62299 x - 5,42393$	0,87939	0,62299	0,00440978
Cs-TPP de Na + Gu	$Y = 0,50105 x - 4,30276$	0,89637	0,50105	0,01353116
Cs-HMP de Na	$Y = 0,44828 x - 4,07358$	0,95154	0,44828	0,01701636
Cs-HMP de Na + Gu	$Y = 0,51226 x - 4,69547$	0,89611	0,51226	0,00913657
ALG	$Y = 0,47702 x - 4,18014$	0,94526	0,47702	0,01529637
CS/ALG-TPP de Na	$Y = 0,58321 x - 5,30028$	0,81257	0,58321	0,0049902
CS/ALG-TPP de Na + Gu	$Y = 0,60976 x - 5,64803$	0,95719	0,60976	0,00352445
Cs/ALG -HMP de Na	$Y = 0,54182 x - 4,96983$	0,95459	0,54182	0,00694433
Cs/ALG -HMP de Na + Gu	$Y = 0,55647 x - 4,80072$	0,90129	0,55647	0,00822382

D'après les résultats obtenus, dans la solution de salive simulée (SSF) à pH=6,8, les différents systèmes microparticulaires présentent des valeurs de n comprises entre 0,44 et 0,62 cela implique que la libération de médicament est limitée par deux phénomènes qui sont la diffusion et l'érosion de la matrice polymérique dans ce milieu considéré.

IV.3.5.2 Solution gastrique simulée (SGF) à pH= 1.2 :

La figure IV.66 illustre le tracé (C_t/C_∞) en fonction de $\ln(t)$ des différents systèmes microparticulaires dans la solution gastrique simulée (SGF) à pH=1.2.



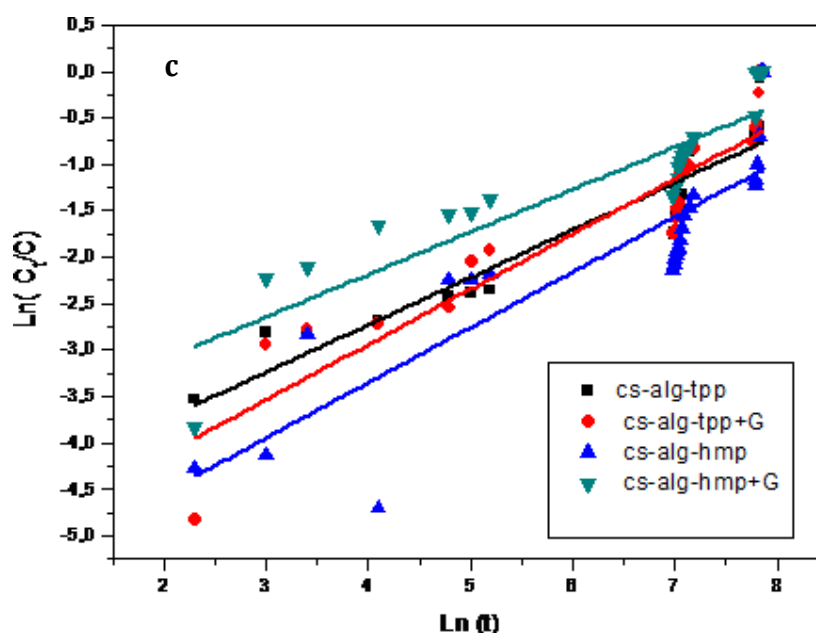


Figure IV.66 : Tracé des courbes linéarisées $\ln(C_t/C_\infty)$ en fonction de $\ln(t)$ des différents systèmes dans la solution gastrique simulée (SGF) à pH=1.2 **a)** : systèmes à base de chitosane, **b)** : systèmes à base d'alginate de sodium et **c)** : systèmes biocomposites.

Les résultats du tracé $\ln(C_t/C_\infty)$ en fonction de $\ln(t)$ pour les microparticules dans la solution gastrique simulée (SGF) sont illustrées dans les figures ci-dessus. L'exposant de diffusion et les constantes des différents systèmes sont calculés et représentés dans le tableau suivant.

Tableau IV.4: Paramètres caractéristiques de la diffusion dans les différents systèmes microparticulaires dans la solution gastrique simulée (SGF) à pH=1.2.

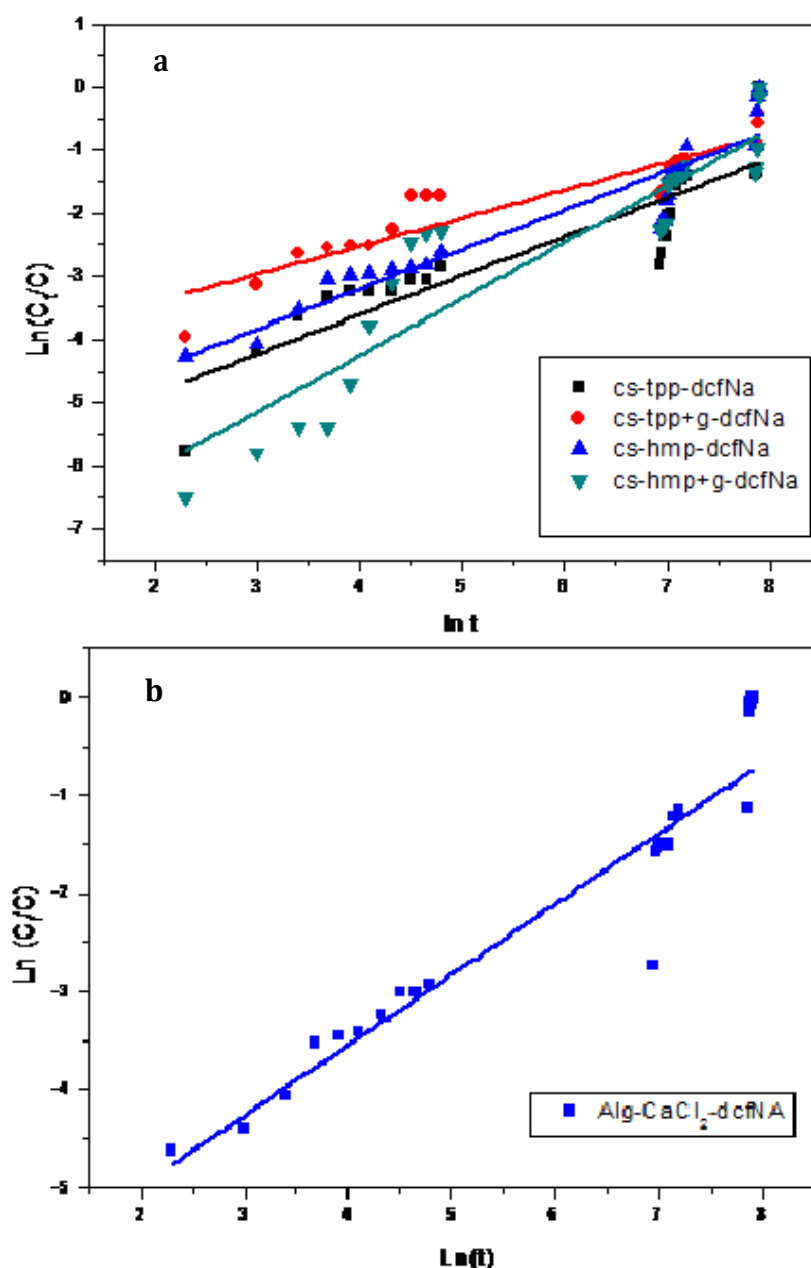
Système	Equation régression	R^2	n	k
Cs-TPP de Na	$Y = 0,77432 x - 6,63944$	0,84448	0,77432	0,00130776
Cs-TPP de Na + Gu	$Y = 0,43959 x - 4,13848$	0,82605	0,43959	0,01594707
Cs-HMP de Na	$Y = 0,31091 x - 3,10809$	0,75488	0,31091	0,04468622
Cs-HMP de Na + Gu	$Y = 0,74846 x - 6,30623$	0,78378	0,74846	0,0018249
ALG	$Y = 0,51497x - 8,46866$	0,91272	0,51497	0,00020995
CS/ALG-TPP de Na	$Y = 0,50989 x - 4,76402$	0,85207	0,50989	0,00853124
CS/ALG-TPP de Na + Gu	$Y = 0,59433 x - 5,31446$	0,84058	0,59433	0,00491993
Cs/ALG –HMP de Na	$Y = 0,5948 x - 5,72729$	0,74451	0,5948	0,00325589
Cs/ALG –HMP de Na + Gu	$Y = 0,45742 x - 4,01283$	0,78226	0,45742	0,01808215

D'après les résultats obtenus, dans la solution gastrique simulée (SGF) à pH=1.2, les différents systèmes microparticulaires présentent des valeurs de n comprises entre 0,44 et 0,62 cela implique que la libération de médicament est limitée par deux phénomènes qui sont la diffusion et l'érosion de la matrice polymérique dans ce milieu.

Sauf les microparticules du chitosane réticulées par l'HMP de Na qui ont une valeur de $n = 0.31$ inférieur à 0.4 indiquent que la libération du médicament à partir de ce polymère est due à la diffusion fickienne [46].

IV353 Solution intestinale simulée (SIF) pH= 6.9 :

La figure IV.67 illustre le tracé (C_t/C_∞) en fonction de $\ln(t)$ des différents systèmes microparticulaires dans la solution gastrique simulée (SGF) à pH=1.2.



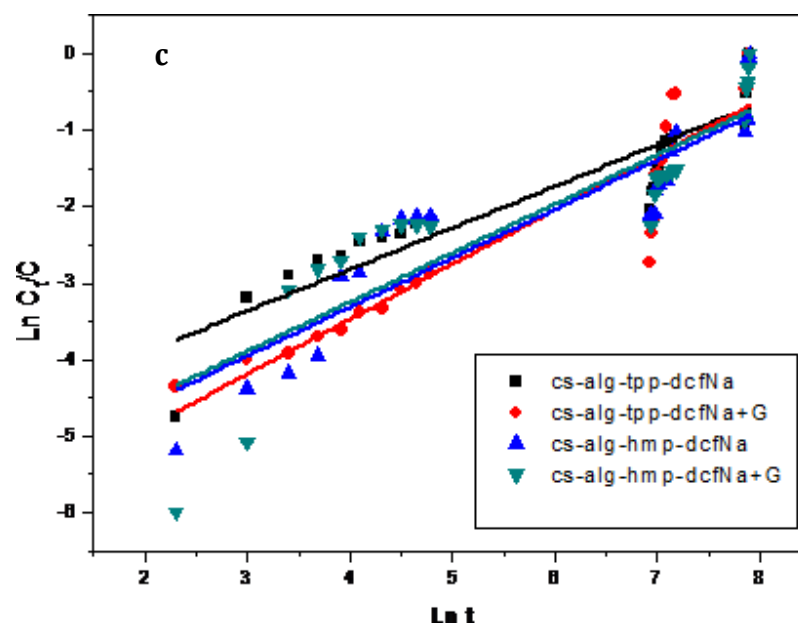


Figure IV.67: Tracé des courbes linéarisées $\ln(C_t/C_\infty)$ en fonction de $\ln(t)$ des différents systèmes dans la solution intestinale simulée (SIF) à pH=6.9 **a)** : systèmes à base de chitosane, **b)** : systèmes à base d'alginate de sodium et **c)** : systèmes biocomposites.

Les résultats du tracé $\ln(C_t/C_\infty)$ en fonction de $\ln(t)$ pour les microparticules dans la solution intestinale simulée (SIF) à pH= 6.9 sont illustrées dans les figures ci-dessous. L'exposant de diffusion et les constantes des différents systèmes sont calculés et représentés dans le tableau suivant.

Tableau IV.5 : Paramètres caractéristiques de la diffusion dans les différents systèmes microparticulaires dans la solution intestinale simulée (SIF) à pH=6.9.

Système	Equation régression	R^2	n	k
Cs-TPP de Na	$Y = 0,61686 x - 6,0755$	0,79004	0,61686	0,0022985
Cs-TPP de Na + Gu	$Y = 0,44541x - 4,31029$	0,82496	0,44541	0,01342965
Cs-HMP de Na	$Y = 0,62655 x - 5,71239$	0,86769	0,62655	0,00330476
Cs-HMP de Na + Gu	$Y = 0,89081 x - 7,81182$	0,83799	0,89081	0,00040492
ALG	$Y = 0,72002 x - 6,42807$	0,87088	0,72002	0,00161557
CS/ALG-TPP de Na	$Y = 0,54434 x - 4,99699$	0,83915	0,54434	0,00675826
CS/ALG-TPP de Na + Gu	$Y = 0,71637 x - 6,33501$	0,8735	0,71637	0,00177313
Cs/ALG –HMP de Na	$Y = 0,63993 x - 5,87097$	0,8108	0,63993	0,00282014
Cs/ALG –HMP de Na + Gu	$Y = 0,64165 x - 5,81218$	0,73341	0,64165	0,0029909

D'après les résultats obtenus, dans la solution intestinale simulée (SIF) à pH=6,9, les différents systèmes microparticulaires présentent des valeurs de n comprises entre 0,44 et 0,62 cela implique que la libération de médicament est limitée par deux phénomènes qui sont la diffusion et l'érosion de la matrice polymérique dans ce milieu.

Sauf les microparticules de chitosane réticulés par l'HMP de Na et le glutaraldéhyde qui présentent une valeur de $n = 0.89$ supérieure à 0.85 et donc le phénomène dominant est l'érosion de la matrice lors du gonflement, ce qui implique la faible valeur de la constante de vitesse [46].

Conclusion générale

CONCLUSION GÉNÉRALE

Au terme de cette étude devraient se dégager, en conclusion, avec un établissement d'une démarche scientifique et technique les principaux points suivants:

- Nous avons pu constater que l'usage des composés simples, le TPP de Na, l'HMP de Na et le glutaraldéhyde avec le chitosane seul ou avec d'autres biopolymères (alginate de sodium) permet d'aboutir à la formation des microcapsules. La préparation des microparticules était basée sur la technique de gélification ionique comme moyen d'encapsulation et qui a conduit à la préparation des formes sphériques. Les microparticules chargées en diclofénac sodique ont été préparées par le même principe en incorporant le principe actif dans la formulation en utilisant également les mêmes réticulants cités.
- La microscopie photonique a montré que les systèmes obtenus sont de forme sphérique sous forme de capsules et présentant une surface peu régulière et poreuse.
- L'analyse granulométrique, révèle que la majorité des microparticules obtenues sont de la taille entre 250 μm et 1 mm.
- L'analyse structurale par FTIR des microparticules obtenus vides et chargés de diclofénac sodique, a permis de mettre en évidence tous les pics caractéristiques des différents constituants de la formulation.
- Concernant les tests de gonflement, nous avons constaté que tous les systèmes microparticulaires ont la capacité de se gonfler dans les milieux physiologiques considérés et c'est expliquer par la nature des interactions que forme le chitosane avec les polyphosphates et le glutaraldéhyde en formant un réseau moins poreux. Nous avons pu déduire que généralement les microparticules réticulées par le TPP de Na et le glutaraldéhyde possèdent une capacité d'absorption plus importante que celles réticulées par l'HMP de Na. De plus, on remarque que les systèmes réticulés par glutaraldéhyde présente une vitesse de gonflement moins importante que pour les autres systèmes non réticulés par le glutaraldéhyde.

Conclusion générale

- Les tests de gonflement, les tests de libération *in vitro* et les tests d'activité anti-inflammatoire ont confirmé l'inclusion de diclofénac de sodium dans les microparticules.
- La microencapsulation a été réalisée avec des taux d'encapsulation très importants allant de 99% à 99.4% pour tous les systèmes microparticulaires.
- La libération de diclofénac de sodium dans les milieux physiologiques simulés suit généralement deux phases, une phase rapide et en quantités importantes suivi d'une phase plus lente et en quantités réduites jusqu'à atteindre l'état stationnaire. La libération est estimée lente et prolongée dans le temps puisque le taux de la libération le plus élevé a été observé dans le milieu buccal avec un taux de 16% dans une période de 3 jours. Cette libération semble se faire, d'après nos résultats, conformément à l'association de deux phénomènes : la diffusion à partir de la bille chargée et l'érosion continue de celle-ci dans le fluide environnant.

Références bibliographiques

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] J. Varshosaz, F. Hassanzadeh, H. Sadeghi, Preparation and evaluation of diclofenac Sodium-loaded microspheres made from different chitosan salts, Iran J Pharm Res, 11(2):431-440, 2012.
- [2] P. Kumar, A. Mittal, V. Kumar, Formulation and evaluation of diclofenac sodium-loaded PLGA nanoparticles for topical application, J Adv Pharm Technol Res, 7(3):113-119, 2016.
- [3] A-F. Gourgues Lorenzon, J –M. Haudin, Matériaux pour l'ingénieur, 2006.
- [4] A. Delphine, Micro-encapsulation par coacervation complexe des protéines du lactosérum et de la gomme d'acacia, thèse doctorat de l'université Claude Bernard, France, 2014.
- [5] J. Richard, J-P. benoit, micro-encapsulation, technique de l'ingénieur, J 2210, p1–20, 2000.
- [6] J. Bile, Microencapsulation d'agent antimicrobien pour le développement de conditionnements primaires fonctionnalisés”, thèse de doctorat, université Claude Bernard, Lyon 1, 2015.
- [7] D. Poncelet, Pourquoi s'intéresser à la micro- et nanoencapsulation, actes du séminaire Euroforum micro- et nanoencapsulation, Paris, 22 et 23 mars 2000.
- [8] H. Wassila, A. Lydia, Microencapsulation d'un principe actif (amlodipine) dans la matrice chitosane/HPMC réticulé par le TPP par le procédé de double émulsion H/E/H, mémoire de master, université A.MIRA- BEJAIA, 2017.
- [9] I. Boukhouya, Élaboration de microparticules chargées d'amoxicilline et de théophylline à partir de polymères biodégradables : étude cinétique de leur libération, thèse de doctorat, université Djilali liabes de Sidi-Bel-Abbès, 2019.
- [10] T.DJERADA, D. CHIKHI, Microencapsulation d'un anti-inflammatoire par Coacervation Complexe, mémoire de Master, université de Bejaia, 2020.
- [11] S. Chirani, Elaboration microscopique chargées d'amoxicilline et de theraphyline à partir de polymère biodégradable : étude cinétique de leur libération, Thèse de doctorat, Djilali Liabes, Sidi Bel Abbes, 2022.
- [12] A. LeHir, J-C. Chaumei, D .Brossard, Pharmacie galénique : bonne pratique de fabrication des médicaments, 9ème édition, Masson, Paris.2006.

- [13] B. Dekyndt, la libération modifiée de principes actifs : Développement de deux approches, thèse du doctorat, université de Lille 2, 2015.
- [14] G. Jonathan, Développement et évaluation de mini comprimé flottants à-libération prolongée, thèse de doctorat, université de Bruxelles, 2008.
- [15] C. Principe, Développement de mini-comprimés matriciels à-libération prolongée destinés à un usage pédiatre, thèse de doctorat, université d'Aix Marseille, France, 2017.
- [16] C. Adade, bioéquivalence des médicaments générique: excipients réglementaire et revue des pratiques, thèse de doctorat, France, 2019.
- [17] H.L. Guo, X.P. Zhao, J.P. Wang, Synthesis of functional microcapsules containing suspensions responsive to electric fields". Journal of Colloide and Interface Science, 284 (2):p. 646-651, 2005.
- [18] A. Lamprecht, H. Yamamoto, H. Takeuchi, Y. Kawashima, pH-sensitive microsphere delivery increases oral bioavailability of calcitonin, Journal of Controlled Release, 98(1): p. 1-9, 2004.
- [19] J. Braunecker, M. Baba, G-E. Milroy, R-E. Cameron, The effects of Molecular weight and porosity on the degradation and drug release from polyglycolide, International Journal of Pharmaceutics, 282: p. 19-34, 2004.
- [20] D. Klose, F. Siepmann, K. Elkharraz, S. Krenzlin, J. Siepmann, Howporosity and size affect the drug release mechanisms from PLGA-based microparticles, International Journal of Pharmaceutics, 314(2): p. 198-206, 2006.
- [21] C. Pinto Reis, R-J.Neufeld, A-J. Ribeiro, F. Veiga, Nano encapsulation Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles, Nanomedicine :nano technology, biology and medicine, 2(1): p. 8-21, 2006.
- [22] M. Fanta nille, Y. Gnanou, Chimie et physico chimie des polymères, Edit 2, DUNOD, Paris.546p, 2010.
- [23] J. Lapointe, Fabrication et caractérisation d'hydrogels thermosensibles pour des applications de livraison ciblée de médicament et d'embolisation, Ecole Polytechnique de Montréal, 2012.
- [24] F. Bounouira, Les gels, aspects théoriques et applications, thèse de doctora, université MOHAMMED V – RABAT, 2010.
- [25] N-R. Holly, M. Paquot, P. Dubois, Les polymères issus du végétal. Publication Universitaire Biotechnologie Agronomie Société et Environnement/Biotechnology, Agronomy, Society and Environment, Thèse du doctorat, Rabat, 2006.
- [26] C. Coquery, Fonctionnalisation du chitosane : vers un revêtement biosourcé pour la protection des métaux contre la corrosion, thèse de doctorat, l'école doctorale Sciences Chimiques Balard Et de l'unité de recherche UMR 5253, 2018.

Références bibliographiques

- [27] M. Youcef Yahia, préparation et caractérisation des matériaux composites chitosane – polygorskite pour application santé : «support de diclofénac de sodique », thèse de doctorat, université AHMED BEN BELLA Oran 1, 2020.
- [28] E. Vincent, les alginates et leurs applications en pharmacie et en ingénierie : Application à la construction d'un biomatériau, thèse de doctorat, université Henri Poincaré -Nancy 1, 2018.
- [29] B. Ait taleb, A. Benrejda, M. Takhrboucht, T. Tidmimt, Mise au point et optimisation de microparticules à base de bio polymère : application du procédé de gélification par émulsification et caractérisations physico-chimiques, thèse de doctorat, université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, 2021.
- [30] Direction de la qualité du médicament. Pharmacopée européenne publiée selon la Convention relative à l'élaboration d'une pharmacopée européenne (Série des traités européens, n° 50). Strasbourg: Conseil de l'Europe, 2007.
- [31] S. Niazi, Handbook of bioequivalence testing, Drugs and the pharmaceutical sciences: Informal Healthcare p 569, New York, USA, 2007.
- [32] S. Swarnalata, AINS Médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens ; Un aperçu, Pharma Med Press, P.63-64, 2008.
- [33] R. Couireb, Comparaison des différentes formules à libération prolongée et l'influence sur l'activité ulcérogène, Université Saad Dahleb, Blida, 2014.
- [34] Directives de la FDA. « Test de dissolution des formes posologiques orales solides » ; IR Appareil (annexe A), août 1997.
- [35] K. Cynthia Brown, P. Hitesh Chokshi, B. Nickerson, A. Robert Reed, R. Brian Rohrs, A. Pankaj Shah, Pratiques analytiques acceptables pour les tests de dissolution de composés faiblement solubles, Technologie pharmaceutique ,2007.
- [36] J. Nunthanid et al, Physical Properties and Molecular Behavior of Chitosan Films, Drug Development and Industrial Pharmacy, Vol. 27, N. 2: 143–157, 2001.
- [37] M. Pieróg, M. Gierszewska-Drużyńska, J. Ostrowska-Czubenko, Effect of ionic crosslinking agents on swelling behaviour of chitosan hydrogel membranes, Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives, Vol.14: 75-82, 2009.
- [38] Bhumkar et Pokharkar, studies on effect of pH on cross-linking of chitosan with sodium tripolyphosphate : A Technical Note, AAPS PharmSciTech, 7(2) Article 50, 2006.
- [39] E. Mirzaei, A. Ramazani, M. Shafiee, M. Danaei, Studies on glutaraldehyde crosslinked chitosan hydrogel properties for drug delivery systems, International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, Vol.62(11): 605-611, 2013.
- [40] T. Allen, Particle Size Measurement, Springer Science & Business Media, Vol. 1, 2003.

Références bibliographiques

- [41] R-M. Silverstein, F-X. Webster, D-J. Kiemle, D-L. Bryce, Spectrométrie infrarouge: Méthodes et techniques, De Boeck Supérieur, 2014.
- [42] S. FETNI, N. BERTELLA, Etude in vitro des propriétés anti-inflammatoires de l'extrait méthanolique des fruits de Rosa canina L. (Rosacées), Nutr. Santé, Vol. 09, N°02:117-125, 2020.
- [43] S. Giraud, Microencapsulation d'un diisocyanate et d'un phosphate d'ammonium - Application : élaboration d'un système polyuréthane monocomposant à propriété retardatrice de flamme pour l'enduction textile, Thèse de doctorat, Université Lille 1, France, 2002.
- [44] O. Larbi Bouamrane, Application du chitosane modifié chimiquement pour préparation pharmaceutique : Préparation et évaluation in vitro de microsphères de tétracycline-chitosane, thèse de doctorat, université M'hamed Bougara, Boumerdes, 2018.
- [45] C-C. Lin, A-T. Metters, Advanced Drug Delivery Reviews, 58:1379-1408, 2006.
- [46] K. Ezzeroug, préparation et caractérisation des microparticules à base de système composite de biopolymère naturel chargés de molécules actives à usage pharmaceutique, mémoire de magistère, université Saad Dehlab, Blida, 2012.