

N° d'ordre :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE & POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR & DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DJILLALI LIABES
FACULTE DES SCIENCES EXACTES
SIDI BEL ABBES

THESE DE DOCTORAT DE 3^{ème} CYCLE

Présentée par

Melle Meryem MOUFFOK

Domaine : Sciences de la Matière.

Filière : Chimie Organique Macromoléculaire.

Intitulé de la formation : Polymères fonctionnels et environnement.

Intitulée

Etude de la libération de diverses amines primaires aromatiques et hétérocycliques actives libres et engagées via la fonction azométhine dans des formes galéniques type Microsphères. Effet retard.

Soutenue le : 21 / 01 / 2018

Devant le jury composé de :

Président : M. Nafa CHAFI, Pr, UDL-SIDI-BEL-ABBES.
Examineurs : M. Boufeldja TABTI, Pr, U. A. BELKAID-TLEMEN.
Mme Houaria MERINE, Pr, UDL-SIDI-BEL-ABBES.
M. Smain BOUSSALEM, Pr, C.U. AIN-TEMOUCHENT.
Directeur de thèse : M. Abderrezzak MESLI, Pr, UDL-SIDI-BEL-ABBES.
Co-Directeur de thèse : M. Kaddour GUEMRA Pr, UDL-SIDI-BEL-ABBES.

Année universitaire : 2017/2018

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



DEDICACES

 *Je dédie cette thèse à :*

A mes grands-parents.

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

A mon cher père pour son encouragement et ses prières .

A mes chers frères et mes chères sœurs.

A mon cher oncle Abdelkader.

A tous ceux qui me sont chers.

A toute ma famille.



REMERCIEMENTS

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

*Il m'est particulièrement agréable d'adresser tous mes remerciements à Monsieur **Abderrezzak MESLI**, mon Directeur de recherche et Professeur à l'Université " Djilali LIABES ". Qu'il reçoit ici l'expression de mon profond respect, ma sincère reconnaissance pour son soutien, sa gentillesse, son dévouement et la haute qualité de ses conseils scientifiques.*

*Je remercie vivement Monsieur **Nafa CHAFI**, Professeur à l'Université "Djilali LIABES", de m'avoir fait l'honneur de présider le jury de cette thèse ; veuillez trouver, Monsieur, le témoignage de ma plus profonde gratitude.*

*Je tiens également à remercier Monsieur **Boufeldja TABTI**, Professeur à l'Université "Abou Bakr BELKAID", d'avoir accepté de juger ce travail. Je lui exprime mon profond respect.*

*Je remercie vivement Madame **Houaria MERINE**, Professeure à l'Université "Djilali LIABES", qui a eu l'amabilité de participer à ce jury et de juger ce travail.*

*Mes remerciements vont également à Monsieur **Smain BOUSSALEM**, Professeur au Centre Universitaire de AIN-TEMOUCHENT, de m'avoir fait l'honneur de juger ce travail.*

*Mes sincères remerciements vont à Monsieur **Kaddour GUEMRA**, mon Co-Directeur de recherche et Professeur à l'Université "Djilali LIABES", je le salue respectueusement pour l'aide qu'il m'a prodiguée.*

*Mes remerciements vont également à Monsieur **J. M. LANDRY**, Professeur et Directeur du Centre d'Imagerie UMS 3420 à l'Université de Bordeaux 2.*



Je remercie vivement Monsieur S. MESLI pour son aide dans la caractérisation MEB de nos produits.

Mes sincères remerciements vont à Mlle I. SVHAN, Ingénieure du Centre d'Imagerie de Bordeaux pour les caractérisations MEB.

Je remercie vivement Mme Ilham ABDELMALEK Maitre Assistante à la Faculté des Sciences de l'Université "Ibn Khaldoun" de Tiaret, pour son aide dans la partie de la Microencapsulation.

Mes sincères remerciements vont à Monsieur B. MOUFFOK, Professeur à l'Université "Djilali LIABES", je le salue respectueusement pour ses conseils précieux.

J'exprime ma sincère reconnaissance à Monsieur A. ADDOU Ingénieur du Laboratoire Chimie des polymères (LCP) de la Faculté des Sciences et technologie d'Oran pour son aide dans la caractérisation de nos produits.

Je tiens également à remercier :

- *Melle S. BENALLOU Doctorante au Laboratoire de Chimie Organique de la Faculté des Sciences d'Es-senia pour les spectres IR réalisés.*

- *Monsieur M. DAHAOUI Ingénieur du Laboratoire Chimie Organique Physique et Macromoléculaire (LCOPM) et Madame N. DOUAR Responsable du Centre de Mesures (CMFS) de la Faculté des Sciences Exactes de Sidi Bel-Abbes pour leur aide et leurs encouragements.*

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

J'exprime toute mon amitié à mes ami(e)s et mes collègues : R. ELAHMAR, Z. CHAIEB, A. MERDOUD, M. AMRANE, N. AMRANE, et W. CHAIBI pour leur sympathie et encouragement au cours de ce travail.

Enfin, j'exprime ma gratitude à mes parents, mes frères et mes sœurs qui m'ont encouragée au cours de ma recherche.



TABLES DES MATIERE

TABLES DES MATIERES

Introduction Générale.....	2
CHAPITRE I : Rappels bibliographiques.....	6
Introduction	7
I.1. Les formes galéniques de délivrance des médicaments	7
I.2. Classification des formes galéniques selon le mode de libération	9
I.3. Systèmes de délivrance de médicaments	13
I.4. Choix de la matrice polymérique.....	15
I.5. Libération du principe actif dans les systèmes matriciels.....	17
I.6. Rappels théoriques sur la modélisation des transferts de matières.....	20
I.6.1. Traitement mathématique du modèle de diffusion.....	20
I.6.1.1. Modèle de diffusion dans une sphère pleine de rayon r'	21
I.6.1.2. Application du modèle de diffusion de Fick aux Microsphères.....	23
I.6.2. Modélisation des cinétiques de relargage du principe actif selon les équations de Higuchi, de Korsmeyer-Peppas et de Hixon-Crowel.....	24
I.7. Introduction aux techniques de microencapsulation.....	26
I.7.1. Notions sur la microencapsulation.....	26
I.7.2. Principaux procédés de la microencapsulation.....	33
I.7.3. Choix de la technique appropriée à la microencapsulation des principes actifs étudiés..	34
I.7.4. Microencapsulation par évaporation de solvant.....	35
I.7.4.1. Généralités sur la méthode d'évaporation de solvant.....	35
I.7.4.2. Les étapes principales de la microencapsulation par évaporation de solvant.....	36
I.7.4.3. Les paramètres influençant la microencapsulation par évaporation de solvant.....	38
CHAPITRE II : Généralités sur les principes actifs étudiés.....	42
II. Généralités sur les principes actifs étudiés.....	42
II.1. La 2-aminobenzothiazole (2-ABZT).....	42
II.2. La 2-aminopyrimidine (2-AP).....	42
II.3. L'acide <i>p</i>-aminobenzoïque (PABA).....	43
II.4. Les monomères type " Imine " IM₁ et IM₂.....	45
II.5. Particules libérées : Recherche de l'espèce prédominante dans le milieu gastrique reconstitué au pH = 1,2.....	47
CHAPITRE III : Partie Expérimentale.....	49
Introduction	50
III.I. Synthèse et caractérisation des bases de Schiff styréniques.....	52
III.I.1. Synthèse et caractérisation du <i>p</i> -vinylbenzaldehyde (<i>p</i> -VBA).....	52

III.I.2. Synthèse et caractérisation de la N-(<i>p</i> -vinylbenzylidène)-2-aminobenzothiazole (IM ₁).....	55
III.I.3. Synthèse et caractérisation de la N-(<i>p</i> -vinylbenzylidène)-2-aminopyrimidine (IM ₂).	58
III.II. MICROENCAPSULATION.....	64
Introduction	64
III.II.1. Matériels et méthodes	65
Méthodes et conditions expérimentales de synthèse des Microsphères par « Microencapsulation ».....	66
III.II.2.1. Microencapsulation par simple émulsion -évaporation de solvant.....	66
III.II.2.2. Microencapsulation par double émulsion -évaporation de solvant	67
III.II.3. Méthodes d'analyses et de caractérisation des Microsphères préparées.....	69
III.II.3.1. Dosages des principes actifs par spectrophotométrie UV-VIS.....	69
III.II.3.2. Caractérisation des Microsphères	72
III.II.3.2.1. Teneur en matière active	73
III.II.3.2.2. Détermination de la taille et de la distribution en taille des Microsphères :.....	74
III.II.3.2.3. Résultats et discussion.....	75
III.II.3.3. Caractérisation et observation de la surface et morphologie des Microsphères par Microscopie Optique MO et par Microscopie Electronique à Balayage MEB.....	79
III.II.3.4. Analyse des Microsphères par Spectroscopie Infra-Rouge.....	83
 CHAPITRE IV : EVALUATION ET OPTIMISATION DU PROCEDE DE MICROENCAPSULATION.....	 86
IV. Microencapsulation du PABA : Evaluation et optimisation du protocole et des conditions opératoires du procédé de Simple Emulsion-Evaporation de Solvant....	87
Introduction.....	87
IV.1. Synthèse des Microsphères chargées de PABA par le procédé de Simple Emulsion-Evaporation de Solvant	88
IV.2. Caractérisation des Microsphères chargées de PABA.....	90
IV.2.1. Dosage de l'acide <i>p</i> -aminobenzoïque (PABA).....	90
IV.2.2. Détermination de la teneur en matière active.....	92
IV.2.3. Taille et distribution en taille.....	92
IV.3. Résultats et discussion.....	93
IV.3.1. Caractérisation de la surface et morphologie des Microsphères par Microscopie Electronique à Balayage MEB.....	94

IV.3.1.1. Etude de l'influence des paramètres du processus et des conditions opératoires de la microencapsulation	94
IV.3.2. Analyse des Microsphères par Spectroscopie Infra-Rouge : Identification du principe actif 'PABA' encapsulé.....	102
IV.3.3. Caractérisation des Microsphères par DSC.....	104
IV.3.4. Caractérisation des Microsphères par DRX.	104
CHAPITRE V : Etude de la libération des principes actifs à partir des Microsphères et leur modélisation.....	108
V. Etude de la libération des principes actifs à partir des Microsphères et leur modélisation.	109
Introduction	109
V.1. Analyse des quantités transférées.....	110
V.2. Etablissement des courbes de libération des principes actifs 2-ABZTH ⁺ et 2-APH ⁺ à partir des formulations Microsphères et leur modélisation.....	115
V.3. Modélisation des cinétiques de libération des principes actifs 2-ABZTH ⁺ et 2-APH ⁺ selon les équations d'Higuchi et de Korsmeyer-Peppas.....	123
CHAPITRE VI : Etablissement des courbes de libération du PABAH⁺ à partir des formulations Microsphères et leur modélisation.....	126
VI. Etablissement des courbes de libération de l'acide <i>p</i>-aminobenzoïque PABAH⁺ à partir des formulations Microsphères et leur modélisation.....	127
Introduction.....	127
VI.1. Analyse des quantités transférées.....	127
VI.2. Cinétiques de libération à partir des Microsphères chargées en PABA.....	128
VI.3. Modélisation mathématique.....	131
VI.3.1. Modélisation mathématique selon les ordres classiques.....	131
VI.3.2. Modélisation Modélisation des cinétiques de relargage de principe actif selon les équations de Higuchi, de Korsmeyer-Peppas et de Hixon-Crowel	132
VI.3.3. Calcul des diffusivités à partir des formulations Microsphères de PABA.....	135
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES.....	140
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	144
LISTE DES TABLEAUX	151
LISTE DES FIGURES.....	154
PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS.....	160

LISTE DES SYMBOLES

Liste des symboles

Abs. :	Absorbance.
APTS :	Acide para toluène sulfonique.
2-ABZT :	2-aminobenzothiazole.
2-AP :	2-aminopyrimidine
PABA :	Acide <i>p</i> -aminobenzoïque.
IM :	Imine.
CAB :	Cellulose Acétate Butyrate.
<i>p</i> -CMS :	<i>para</i> -chlorométhyl styrène.
CT :	Chimiothérapie
C _p :	concentration de la fraction prélevée (Mol/L).
D :	coefficient de Diffusion (cm ² .sec ⁻¹).
DCM :	Dichlorométhane
D _{t,c} :	coefficient de Diffusion aux temps courts (cm ² .sec ⁻¹).
D _{t,l} :	coefficient de Diffusion aux temps longs (cm ² .sec ⁻¹).
<i>d</i> ₁₀ :	le diamètre moyen en nombre.
<i>d</i> ₃₂ :	le diamètre moyen de Sauter.
<i>d</i> ₄₃ :	le diamètre moyen en poids.
D.O :	Densité Optique.
DSC :	Analyse Différentielle Calorimétrique.
DRX :	Diffraction Rayon-X.
EC :	Ethylcellulose.
EE :	Efficacité d'Encapsulation.
FDA :	Food and Drug Administration
ε :	coefficient d'extinction moléculaire (L.Mol ⁻¹ .cm ⁻¹).
ν :	fréquence.
HMTA :	Héxaméthylènetétramine.

IR :	Infra-Rouge.
l :	largeur de la cellule en quartz ($l = 1\text{cm}$).
λ_{max} :	longueur d'onde présentant un maximum d'absorption en UV-VIS (nm).
δ :	distribution en taille.
m_i :	masse initiale du principe actif ($t=0$).
m_t :	masse du principe actif libéré à l'instant «t».
m_{∞} :	masse à l'équilibre.
M_{PA} :	masse molaire du principe actif.
MO:	Microscopie Optique.
MEB :	Microscopie Electronique à Balayage.
N	Vitesse d'agitation.
o :	oil
P :	pente de la droite.
PA :	principe actif.
P_f :	Point de fusion.
ppm :	partie par million.
q.s.p :	quantité suffisante pour.
rpm :	rotation par minute.
p -VBA :	<i>para</i> -Vinylbenzaldéhyde.
r' :	la distance au centre de la forme galénique (abscisse radiale de 0 à R).
R :	Rayon de la sphère.
r^2 :	coefficient de corrélation.
RMN :	Résonnance Magnétique Nucléaire.
RT :	Radiothérapie
t :	temps
T :	Teneur en principe actif.
$T_{\text{éb}}$:	Température d'ébullition.
USP	United States Pharmacopeia.
V_F :	Volume du flacon.
V_p :	Volume du liquide prélevé.
w :	water

INTRODUCTION GENERALE

Introduction Générale

La galénique est la science et l'art de conserver et de présenter un médicament, de la manière la plus adaptée à leur mode d'administration, avec la garantie d'un dosage précis, d'une stabilité satisfaisante et d'une utilisation simple permettant l'observance d'un traitement. Le nom de la pharmacie galénique provient de l'expérience accumulée des grands scientifiques créateurs tels que " Claude Galien " (Claudius Galenus, 131-201 ap. J.C.) médecin Grec de l'Antiquité qui est considéré comme le père de la pharmacie galénique, " Al-Razi " (865-925 ap. J.C.), ou encore " Ibn Sina " (Avicenne, 980-1037 ap. J.C.), qui avaient rédigé de nombreux ouvrages sur les remèdes [1].

Des chercheurs dans la spécialité ont noté que la forme galénique pouvait avoir un impact non négligeable sur l'absorption et la mise à disposition du médicament dans l'organisme. Cela a permis de concevoir les premières formes à libération prolongée de médicaments et a conduit, grâce à l'apport des sciences physico-chimiques et à la compréhension des processus de diffusion, au développement de nouveaux systèmes thérapeutiques dits "à libération contrôlée des médicaments". Si une vitesse de libération constante permet de maintenir un taux suffisant dans le sang pour induire l'activité pharmacologique sans dépasser les seuils de concentration responsables de la toxicité, la réussite technologique suprême est d'obtenir une libération de médicament au site d'action "à la carte", en fonction des variations de certains paramètres biologiques. De plus, ces formes galéniques permettent de réduire le nombre de doses administrées et permettent ainsi " la compliance " du patient.

L'objectif de l'industrie pharmaceutique est l'amélioration des propriétés des médicaments produits. Il est à noter que le développement et la création de nouvelles préparations médicamenteuses, dépendent de plusieurs paramètres y compris les propriétés du principe actif. Cette molécule doit - par conséquent- conserver ses propriétés thérapeutiques pendant la cascade : depuis la mise du point jusqu' à la cible.

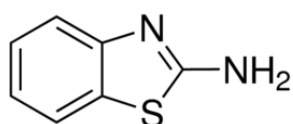
La microencapsulation est une technologie largement utilisée depuis de nombreuses années dans de plusieurs domaines industriels et scientifiques. Elle est classée

parmi les préparations pharmaceutiques importantes des grandes firmes de production des médicaments.

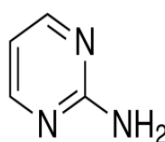
Ainsi, la vectorisation des médicaments est aujourd'hui un axe important de recherche dans le domaine pharmaceutique. Il s'agit donc de transporter des molécules biologiquement actives jusqu'à leur cible biologique.

Cette connaissance accrue permettrait de bien maîtriser les procédés de synthèse et d'améliorer la qualité des produits. La microencapsulation connaît actuellement un grand développement pour la préparation des supports "vecteurs" des médicaments. Il existe actuellement plusieurs méthodes d'encapsulation. On citera la microencapsulation par simple/double émulsion-évaporation de solvant qui permet l'élaboration de systèmes microparticulaires de type "Microsphère".

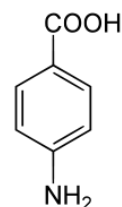
Le but précis de cette thèse de doctorat est de préparer différentes formulations Microsphères à base des 3 principes actifs modèles suivants : la 2-aminobenzothiazole (**2-ABZT**), la 2-aminopyrimidine (**2-AP**) et l'acide p-aminobenzoïque (**PABA**) et d'étudier leur libération à partir des différents systèmes obtenus selon les modèles de Higushi, de Korsmeyer-Peppas et d'Hixon-Crowel [2,3].



2-ABZT



2-AP

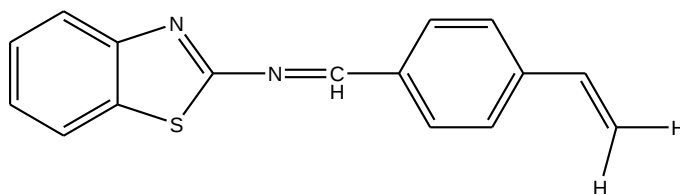


PABA

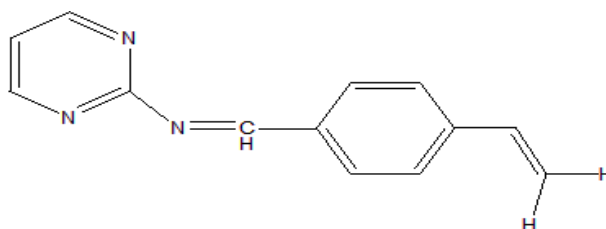
Le compte rendu de ces recherches sera présenté dans ce manuscrit en six chapitres :

- Le chapitre 1 est consacré aux rappels bibliographiques sur les principaux procédés d'encapsulation de principes actifs utilisés pour le contrôle de leur libération.
- Le deuxième chapitre comporte un rappel sur les principes actifs étudiés au cours de ce travail.

- Dans le chapitre trois, nous présentons la partie expérimentale de synthèse des bases de SCHIFF. Dans ce cas, les deux principes actifs 2-ABZT et 2-AP sont fixés sur un site styrénique donnant les deux bases de Schiff IM_1 et IM_2 .



N-4-vinylbenzylidène, 2-aminobenzothiazole IM_1 .



N-4-vinylbenzylidène, 2-aminopyrimidine IM_2 .

Cette partie est suivie par une étude expérimentale du procédé de la microencapsulation par simple ou double émulsion évaporation de solvant afin d'étudier les paramètres influençant la préparation des microparticules que nous proposons. L'objectif principal de ce travail est d'élaborer différentes formulations Microsphères chargées de la 2-aminobenzothiazole (**2-ABZT**), de la 2-aminopyrimidine (**2-AP**), des monomères supports IM_1 et IM_2 par le procédé de microencapsulation par simple/double-émulsion évaporation de solvant avec des caractéristiques définies. Ainsi, les Microsphères attendues doivent obéir à un certain nombre de critères notamment la sphéricité, la surface, la porosité et la vitesse de libération du principe actif encapsulé. Les résultats sont présentés séparément pour chacun des principes actifs étudiés. Les systèmes microparticulaires obtenus sont ensuite caractérisés par IR, Microscopie Optique MO et Microscopie électronique à balayage MEB.

Pour chaque méthode de synthèse adoptée, les conditions et les paramètres de préparation étudiés sont donnés et leurs effets sur les caractéristiques des Microsphères obtenues sont discutés.

- Le quatrième chapitre est consacré à la microencapsulation de **PABA**.

L'objectif de cette étude est l'élaboration de nouveaux systèmes Microsphères chargés de PABA par la méthode de simple émulsion-évaporation de solvant en variant certains paramètres du procédé afin d'assurer une libération prolongée. Ces formulations sont caractérisées par différentes techniques à savoir la Microscopie Electronique à Balayage (MEB), Spectroscopie Infrarouge IR, DSC et DRX.

- Le cinquième chapitre est consacré à l'étude détaillée de la libération des principes actifs (**2-ABZTH⁺** et **2-APH⁺**) à partir des Microsphères préparées et les modèles de transfert de matière. Nous discutons enfin les résultats de la libération et des diffusivités des principes actif à partir des Microsphères étudiées.
- Le sixième chapitre est consacré à la libération de **PABAH⁺** à partir des Microsphères obtenues et la modélisation mathématique des cinétiques. Les résultats de la libération et les diffusivités calculées à partir des Microsphères de PABA étudiées sont discutés.
- Une conclusion générale s'appuiera sur les principaux résultats obtenus et décrira les perspectives d'avenir basées sur l'étude expérimentale du procédé d'encapsulation.

CHAPITRE I

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I. RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

INTRODUCTION:

Au cours des quarante dernières années, le souci principal de la pharmacie, était de mettre au point des formes galéniques formulées pour prolonger la libération d'un agent thérapeutique tout en diminuant le nombre de prises [4].

Une part de ces efforts a été consacrée à la recherche de formes permettant d'obtenir une libération et une action rapides; la majeure partie l'a été à la conception de systèmes permettant de prolonger, sur la base d'un ralentissement de la libération de la substance active, la durée d'action des médicaments [5,6]. Ces formes pharmaceutiques impliquent une libération soutenue. Le terme "libération contrôlée" a été constamment utilisé pour décrire, prédire et reproduire la cinétique de libération d'un principe actif (PA).

Les sphéroïdes et les formes vecteurs sont de nouveaux systèmes particuliers de délivrance de médicaments, sphériques et de taille variable allant de 10 nm à 1 mm pouvant, de par leur taille et leur structure, améliorer l'administration des principes actifs. Ces systèmes permettent de diminuer le nombre de prises, de limiter les effets secondaires éventuels et d'améliorer le confort des patients [7-9]. Ils consistent à transporter un principe actif vers la cible à atteindre, en gardant des taux sanguins efficaces, sans déborder vers les concentrations inefficaces ou toxiques, au moyen d'un vecteur soluble ou insoluble dans l'eau [10-13], inactif du point de vue thérapeutique. De nombreux systèmes à vocation thérapeutique sont, à ce jour, formulés pour provoquer une cinétique contrôlée de libération d'un principe actif.

Le principe actif associé sera principalement libéré par diffusion et/ou dégradation du matériau support, de façon contrôlée et prédéterminée par les propriétés physico-chimiques des particules et par leur procédé de fabrication. Après un aperçu des caractéristiques générales de ces systèmes de délivrance particuliers, ce chapitre se propose de décrire l'ensemble des technologies existantes permettant leur préparation ainsi que de définir les avantages et les limites de chaque procédé de préparation.

I.1. Les formes galéniques de délivrance des médicaments

I.1.1. Généralités

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

la première loi de Fick qui permet de relier le flux de matière transféré au gradient de concentration [12-14]. Lorsque les formes galéniques ont des formes différentes de la sphère, les calculs des transferts sont plus complexes.

Diverses expressions ont été proposées pour désigner les formes galéniques permettant d'accroître la durée d'action des entités médicamenteuses [15,16]: forme à libération soutenue, contrôlée, différée, ralentie, programmée, prolongée, etc.

I.1.2. Intérêts de la formulation pharmaceutique :

C'est la mise au point d'un produit optimisé à partir d'une molécule thérapeutique efficace et dotée de propriétés physico-chimiques et/ou physiologiques optimales. La formulation permet d'optimiser son efficacité tout en réduisant les effets secondaires.

Parmi les avantages du concept de formulation :

- Choix de la voie d'administration la plus économique.
- Contrôle de la libération du principe actif (PA).
- Diminuer la fréquence des prises.
- Amélioration de l'observance et de la biodisponibilité.

I.1.3. Les limites de l'écart thérapeutique d'un médicament

"ALL DRUGS ARE POISONS, THE BENEFIT DEPENDS ON THE DOSAGE"

[PHILIPPUS THEOPHRASTRUS BOMBASTUS PARACELSUS].

Pour atteindre l'effet thérapeutique recherché, le principe actif doit parvenir à des concentrations plasmatiques dans une zone thérapeutique correspondant aux concentrations données [17,18] :

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

I.1.4. Notions de biopharmacie, pharmacocinétique et pharmacodynamique

La phase biopharmaceutique d'un médicament précède l'adsorption du principe actif à travers les membranes biologiques (muqueuse gastro-intestinale par exemple) qui permet à celui-ci de pénétrer dans la circulation systémique après passage dans le foie. La phase biopharmaceutique constitue la mise à disposition de principe actif par l'organisme.

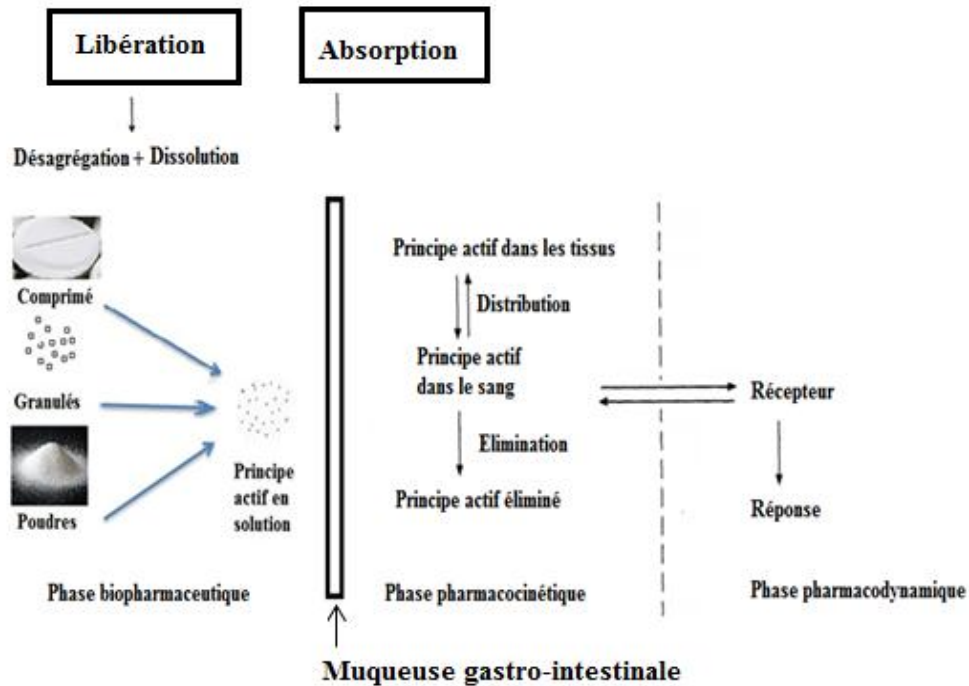


Figure 1. Représentation schématique des divers aspects de la mise en disposition (phase biopharmaceutique) et du devenir d'un principe actif dans l'organisme (phase pharmacocinétique) et de la réponse pharmacologique (phase pharmaco-dynamique).

Elle comprend une étape de **libération**, qui a généralement lieu par **désagrégation** de la forme solide en particules de petite taille, suivie d'une étape de dissolution, qui consiste en une dispersion d'un principe actif à l'état moléculaire en milieu aqueux, au site d'absorption. Le **temps de désagrégation** constitue l'un des essais à effectuer après la fabrication de comprimés ou de capsules (Figure 1).

I.2. Classification des formes galéniques selon le mode de libération :

La majorité des formes pharmaceutiques orales se présentent sous forme de comprimés ou de gélules et peuvent être caractérisées par deux types de libération : immédiate ou modifiée.

I.2.1. Forme galénique à libération immédiate :

Les formes à libération immédiate doivent être capables de libérer le ou les principes actifs dans le tractus digestif, sans délai ni prolongation de sa dissolution ou de son absorption. En outre, il est spécifié qu'une forme à libération immédiate doit pouvoir

libérer au moins 85% du principe actif incorporé durant l'heure [19]. Un système à libération immédiate implique une constante de vitesse de libération supérieure à la constante de vitesse d'absorption [20] (Figure 2). Parfois, ce type de forme nécessite des prises répétées de médicament à intervalle régulier tout au long de la journée.

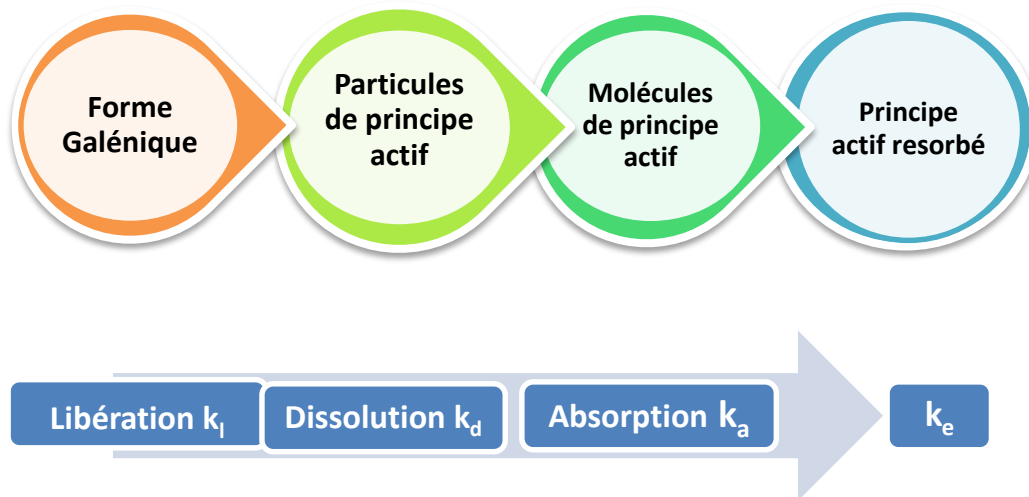


Figure 2. Représentation schématique de la cinétique de libération d'un principe actif PA incorporé dans une forme pharmaceutique – k_l : constante de libération ; k_d : constante de dissolution; k_a : constante de vitesse d'absorption ; k_e : constante d'élimination.

1.2.2. Forme galénique à libération modifiée

La forme à libération modifiée est une préparation où la libération de la (ou des) substance(s) active(s) a fait l'objet, quant à sa vitesse et/ou son lieu, d'une modification délibérée résultant d'une formulation particulière et/ou d'un procédé de fabrication spécial, et est donc différente de la forme à libération conventionnelle.

En accord avec la Pharmacopée Européenne [21], on définit les comprimés à libération modifiée comme étant des « comprimés, enrobés ou non, qui sont préparés avec des excipients spéciaux, ou par des procédés particuliers, visant à modifier la vitesse, le lieu et le moment de la libération des substances actives».

Les formes à libération modifiée comprennent les formes à **libération contrôlée**, à **libération prolongée** et à **libération retardée** (Figure 3) [22].

1.2.2.1. Forme à libération contrôlée ou accélérée

Une forme pharmaceutique à libération contrôlée peut être définie comme étant un système capable de délivrer une substance active au niveau d'une cible fixée, à une

vitesse et pendant une durée prévue pour obtenir l'effet thérapeutique désiré [23]. Elle contrôle la vitesse de libération du PA afin d'obtenir des taux plasmatiques constants compris dans la fenêtre thérapeutique pendant une période de temps déterminée [24] et présente donc une cinétique de libération d'ordre zéro [21-27].

Les comprimés à libération accélérée sont formulés de façon à obtenir un temps de désagrégation court, ils comprennent les comprimés effervescent, orodispersibles et sublinguales. Le profil de libération contrôlée correspond au cas du profil idéal recherché. Le processus de libération étant beaucoup plus basé sur des phénomènes physiques constants [28,29].

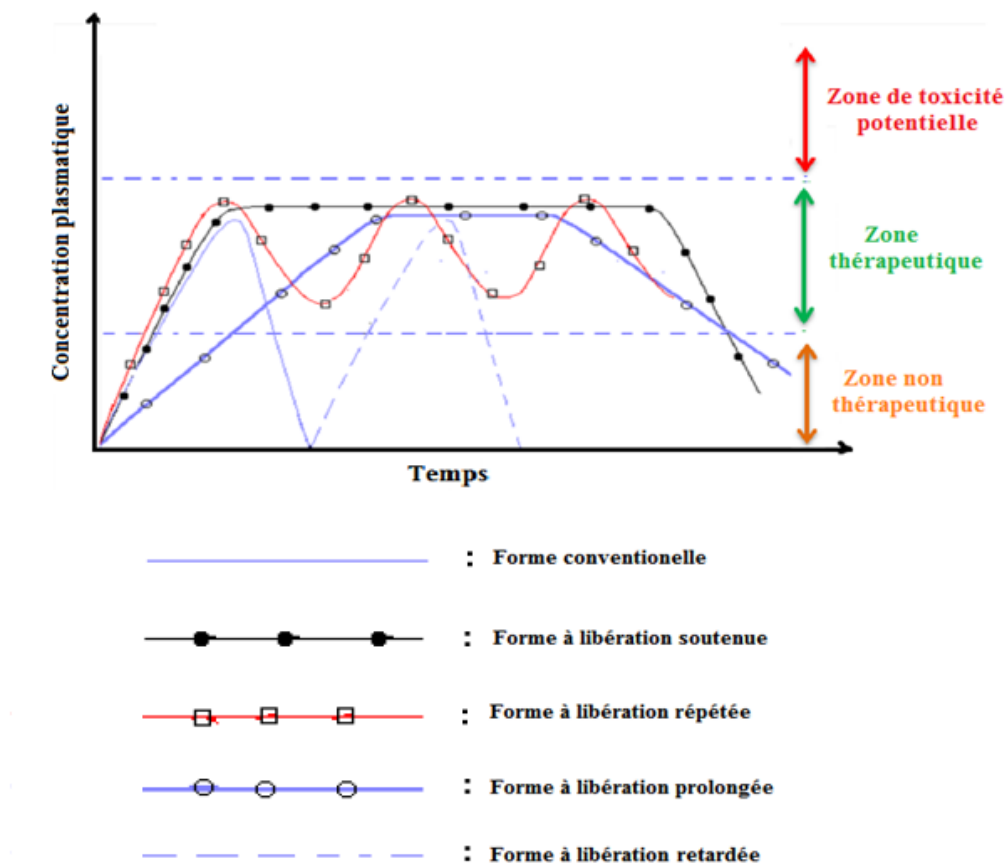


Figure 3. Exemples de profils pharmacocinétiques obtenus à partir des différentes formes à libération modifiée.

Les avantages de la libération contrôlée sont nombreux :

- La réduction des prises journalières et l'amélioration de l'observance du traitement,
- Diminution des effets secondaires indésirables par suppression des pics plasmatiques et donc l'accroissement du confort du malade.

A côté de ces avantages, il ne faut cependant pas négliger de considérer certains inconvénients :

- Risque d'accumulation de principe actif si la vitesse d'élimination est lente.
- Difficulté d'interrompre le traitement rapidement en cas d'intoxication grave ou d'intolérance.

1.2.2.2. Forme à libération retardée ou différée

Ces formes galéniques sont destinées à libérer le principe actif à un moment différent par rapport à une forme conventionnelle. Ce sont par exemple les comprimés gastrorésistants, formulés de façon à résister aux sucs gastriques puis à se désagréger dans l'intestin. Les systèmes à libération retardée présentent un temps de latence entre l'administration de la forme pharmaceutique et la libération du principe actif [25].

Après administration orale du médicament, le PA est libéré lentement et progressivement tout le long du tractus digestif sur une durée de plusieurs heures. La cinétique de libération ne peut d'ailleurs être altérée et doit être immédiate une fois le processus enclenché [24] (Figure 4). Un cas particulier de libération retardée concerne la libération ciblée. Le PA est alors libéré uniquement au niveau des tissus ciblé [20] – ex. formes coloniques [23].

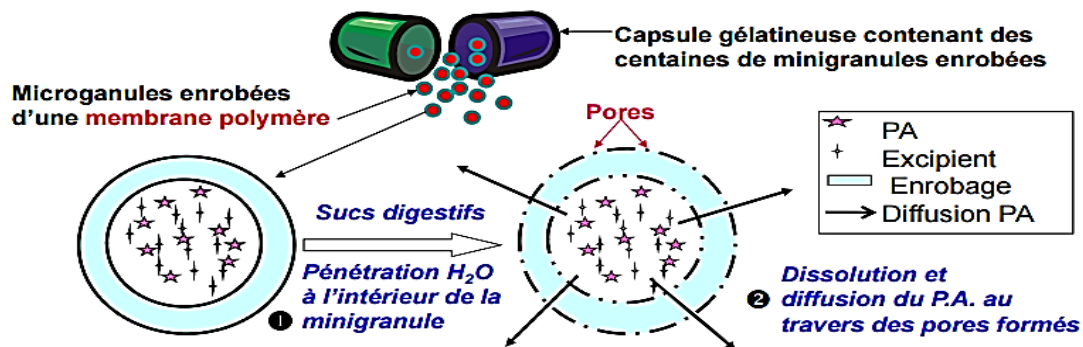


Figure 4. Exemple de la libération retardée d'un principe actif (PA) [24].

1.2.2.3. Forme à libération prolongée ou progressive

La libération prolongée d'un principe actif PA est celle pour laquelle la dose unitaire totale est retenue au sein d'un système contrôlant la vitesse de libération. La rétention du PA peut être faite par son inclusion dans un excipient insoluble dans les liquides de l'organisme qui forme ainsi une matrice à partir de laquelle le PA sera libéré lentement.

Ce type de système libère le principe actif de façon prolongée dans le temps selon une cinétique déterminée [30]. La vitesse de libération du principe actif peut simplement être prolongée par la présence d'un enrobage.

Le terme "libération soutenue" a été constamment utilisé pour décrire les formes pharmaceutiques formulées pour prolonger la libération d'un agent thérapeutique. D'autre part, le terme "libération contrôlée" implique une prédiction et reproductibilité de la cinétique de libération d'un principe actif [4].

Leur fréquence d'administration s'en trouvant réduite, les systèmes à libération prolongée apportent un réel avantage par rapport aux formes conventionnelles. Des prises quotidiennes répétées réduisent la compliance du patient, augmentant le risque d'erreur et donc de toxicité [24].

I.3. Systèmes de délivrance de médicaments :

La pharmacie galénique, a été progressivement « pénétrée » par les progrès des sciences fondamentales d'abord physico-chimiques, puis biologiques. Cette évolution, par le biais des concepts de la biopharmacie a apporté une nouvelle dimension à la pharmacie galénique. La définition qui convient pour désigner ces nouveaux systèmes thérapeutiques est celle de « systèmes de délivrance des médicaments » représenté par le sigle SDM qui provient de l'expression anglo-saxonne « **Drug Delivery Systems** » représenté par le sigle **DDS** [31].

Ces systèmes ont pour but d'améliorer le rapport effet thérapeutique / effet indésirable ; cette amélioration thérapeutique peut être augmentée par :

- la protection du principe actif lui-même qui peut être sensible à plusieurs facteurs comme : la lumière, la température etc...
- la transformation de l'aspect physique de la substance active afin de masquer son odeur, d'améliorer son goût...
- l'obtention d'une sélectivité de transport et le contrôle et / ou la modification de la libération dans un milieu donné.

I.3.1. Classification des systèmes de délivrance de médicaments

I.3.1.1. Systèmes réservoirs (systèmes enrobés)

Les systèmes réservoirs remontent à l'application en pharmacie du phénomène de la coacervation et de la microencapsulation.

Un système réservoir est constitué d'un noyau de principe actif enrobé par une membrane polymère (film de polymère gonflant ou non gonflant) qui agit comme une barrière à travers laquelle a lieu la libération du principe actif contrôlée par le mécanisme de diffusion. La libération peut être modulée par la modification de la structure de la membrane polymérique. Généralement, La géométrie de ce type de système est sphérique, cylindrique ou sous forme d'un disque. Le mécanisme qui régit la libération de l'agent actif à travers la membrane est souvent de nature dissolution-diffusion. La libération commence par la dissolution du principe actif à l'intérieur du noyau à cause de la pénétration du solvant dans le système, suivie par la diffusion du principe actif.

La vitesse de libération dépend des concentrations du principe actif contenu à l'intérieur et à l'extérieur du réservoir, de l'épaisseur de la membrane, de la nature du polymère, de la diffusivité du principe actif à travers le polymère et de la dureté du polymère.

Cependant, un système réservoir peut fournir une libération constante (cinétique de libération d'ordre zéro) ce qui est un avantage appréciable [32].

Un désavantage ici est que s'il arrive une rupture de la membrane, on observe une brusque augmentation de la libération du PA cause souvent des « éclatements » ce qui peut entraîner de graves conséquences pour le patient (cas de surdosage (over-dose)) [33].

I.3.1.2. Systèmes matriciels

Le terme « matrice » a été attribué à T. Higuchi [34,35] qui, selon Chandrasekaran et al [36], aurait été l'inventeur de cette forme médicamenteuse en 1963 en faisant référence à une revue antérieure de Lazarus et Cooper [16].

En réalité, selon P. Buri [37], il semble que le terme « matrice » ait été utilisé pour la première fois, en 1959, par Wiegand et Taylor [38] pour désigner un système décrit l'année précédente, par Campbell et Theiwagt [39].

Dans un système matriciel, le médicament est dispersé d'une façon uniforme dans un support matriciel [40] (Figure 5).



Figure 5. Schématisation d'un système matriciel.

La libération du principe actif se fait par sa dissolution à l'intérieur de la matrice polymère suivie par sa diffusion [41]. La vitesse de dissolution du principe actif est influencée par la vitesse de pénétration de l'eau à travers la matrice. Les particules du médicament présentes à la surface des comprimés sont dissoutes en premier.

Cependant, la vitesse de libération du principe actif diminue avec le temps, car la distance parcourue par les molécules du principe actif dissous pour atteindre l'extérieur du comprimé augmente. La diminution de la quantité libérée est proportionnelle à la racine carrée du temps. Toutefois, cette cinétique de libération est seulement observée pour la libération de 50-60% de la quantité totale du médicament [32].

Les systèmes matriciels sont les plus utilisés parmi les nombreuses formes pharmaceutiques utilisées pour la libération contrôlée car ils sont [42] :

- les plus simples à produire par compression directe avec faible coût.
- les plus sûrs à cause de la dispersion du principe actif dans une matrice continue et unique de polymère.
- ils évitent le risque du dumping de dose par dommage à la membrane [43].

I.4. Choix de la matrice polymérique

Les matériaux polymères ont été largement utilisés pour modifier la libération des principes actifs à partir des formes pharmaceutiques solides comme les comprimés matriciels à libération contrôlée ou prolongée. Les polymères utilisés dans les matrices peuvent être ioniques ou non ioniques, donc insensibles au changement du pH du milieu biologique. On donne quelques polymères utilisés dans ce domaine [44-46] :

- Polymères naturels et biodégradables : ce sont des polymères à base de protéines et de polysaccharides (albumine, cellulose...).
- Polymères Synthétiques et biodégradables : comme les polyesters.
- Polymères synthétiques non-dégradables : Poly (éthylène-co-vinyl acétate).

Les formes galéniques et les Microsphères (système monolithique) préparées dans cette étude sont composées de principe actif pur, monomères ou copolymères supports d'agent actif dispersé dans différentes matrices afin d'étudier l'effet de la matrice sur la modification de la libération. Pour cela, les matrices suivantes ont été testées dans ce travail :

I.4.1. Ethylcellulose (EC)

Les dérivés cellulosiques présentent certaines propriétés nécessaires qui permettent de protéger le principe actif en utilisant la méthode de la « Microencapsulation par évaporation de solvant ». En particulier, ces polymères sont solubles dans un solvant organique (dont la température d'ébullition est inférieure à celle de l'eau), tout en étant hydrophobes.

L'éthylcellulose est un dérivé de la cellulose dans lequel une partie des groupes hydroxyles des unités glucosiques ont été convertis en groupes éthoxyliques (Figure 6). Elle est fabriquée à partir de cellulose végétale (généralement issue de bois ou de coton). Elle est pratiquement insoluble dans l'eau. Elle est utilisée comme additif alimentaire sous le numéro E462, typiquement en tant qu'émulsifiant, agent d'enrobage ou épaississant. Ses spécifications précisent que 44 à 50 % de ses groupes hydroxyles sont éthoxylés.

L'éthylcellulose a été choisie pour ce travail comme polymère d'encapsulation biocompatible, approuvé par la FDA (USA) pour l'application pharmaceutique [47].

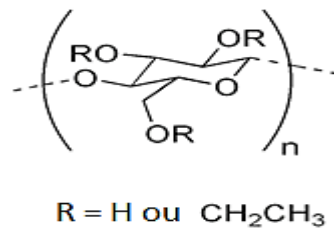


Figure 6. Structure de l'Ethylcellulose (EC).

I.4.2. Acétate butyrate de cellulose (CAB)

Dans ce travail, il a été fait le choix de favoriser aussi l'utilisation de l'acétate butyrate de cellulose (CAB) (Figure 7). Ce polymère est utilisé couramment en tant que matrice polymère. L'ajout des fonctions acétate et butyrate permet entre autre de solubiliser la cellulose dans divers solvants organiques. Le CAB utilisé provient de chez Sigma-Aldrich et est composé de 13% d'acétyle, de 37% de butyryle et de 1,8% d'hydroxyle (en masse).

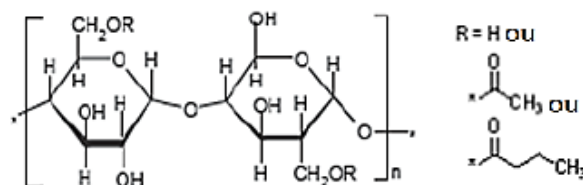


Figure 7. Structure de l'acétate butyrate de cellulose (CAB).

I.5. Libération du principe actif dans les systèmes matriciels

I.5.1. Processus de libération

Plusieurs phénomènes peuvent être utilisés pour contrôler de manière efficace les cinétiques de libération :

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

Le contrôle de la libération de principe actif à partir de comprimés matriciels polymériques nécessite trois types de processus de transport de masse (Figure 8).

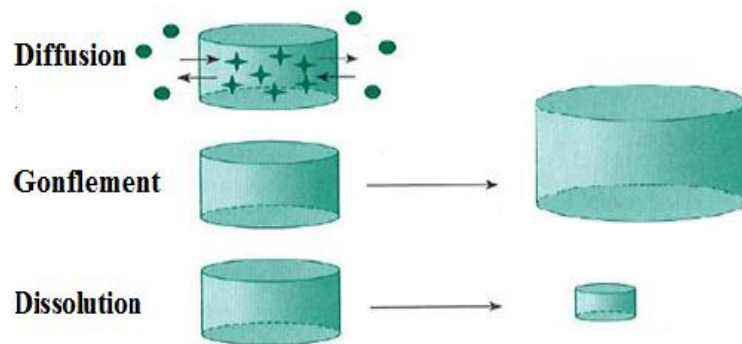


Figure 8. Processus de transport de masse.

a. Processus diffusionnels :

Trois espèces peuvent diffuser : l'eau dans le comprimé, le principe actif hors du système et les molécules de polymère désenchevêtrées dans le milieu de libération.

b. Gonflement du polymère :

Les conséquences du gonflement du polymère sont :

- L'augmentation des chemins de diffusion pour le principe actif engendre la diminution de la vitesse de libération.
- L'augmentation de la mobilité des macromolécules : mobilité des molécules/ions PA incorporés et l'apparition d'un « front de gonflement » qui sépare la partie non gonflée (mobilité réduite)/partie gonflée (mobilité accrue), il en résulte une

augmentation de la vitesse de libération. La diffusion du principe actif est limitée dans la partie sèche (non gonflée) (Figure 9).

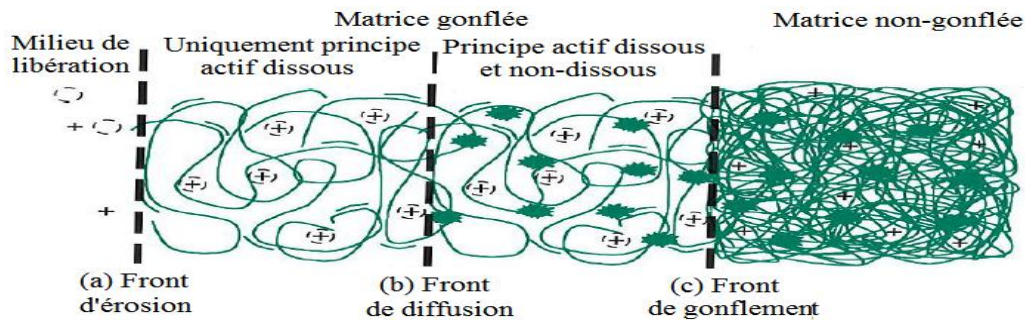


Figure 9. La mobilité des macromolécules.

c. Dissolution du polymère

En fonction des propriétés des polymères, la dissolution est plus ou moins rapide, la diminution des chemins de diffusion engendre l'augmentation de la vitesse de libération des principes actifs (PA).

I.5.2. Cinétiques de libération

Le système idéal voudrait que l'on obtienne une cinétique de libération d'ordre zéro (Figure 10). Or ce n'est pratiquement jamais le cas car les conditions de diffusion varient généralement au cours du temps avec l'apparition des phénomènes d'érosion, de gonflement ou la création de canaux engendrés par la dissolution progressive du principe actif à l'intérieur de la matrice ou à la surface de l'enrobage [41].

Lorsque la quantité de l'agent actif diffusant à travers la matrice est directement proportionnelle au gradient de concentration, la libération est régie par un ordre 1. Si la diffusion devient indépendante du gradient de concentration, la cinétique peut évoluer vers un ordre 0.

Lorsqu'apparaissent les phénomènes de relaxation liés à l'érosion et/ou au démantèlement des chaînes de polymère, la libération est régie par une loi exponentielle non-Fickienne [24,48]. Dans certains cas, la libération initiale ne suit jamais une cinétique d'ordre 1.

Comme montré sur la Figure 11, il arrive qu'une importante quantité de principe actif soit libérée dès que la forme entre en contact avec le liquide de dissolution [24].

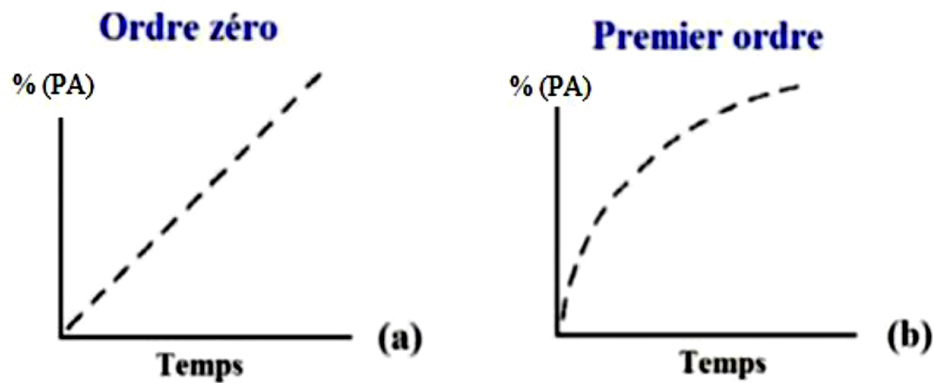


Figure 10. Cinétiques de libération d'ordre 0 (a) et d'ordre 1 (b) après administration orale d'une forme à libération prolongée.

Cette importante libération initiale est alors suivie d'une diffusion prolongée du principe actif. Ce phénomène s'appelle le « **burst effect** ». Se produisant essentiellement en présence des formes matricielles, il peut être à l'origine d'un échec lors du développement d'une forme à libération prolongée.

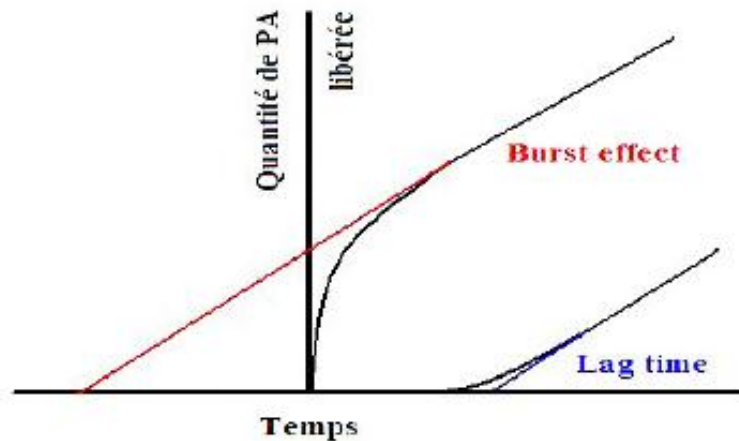


Figure 11. Représentations graphiques du « Burst effect » et du « Lag time », délai de libération.

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

- Conditions de fabrication : le principe actif peut se concentrer en surface lors de la fabrication ou du stockage de la forme matricielle.

- Manque de cohésion de la matrice : force de compression trop faible, teneur en agent liant insuffisante ;
- Hétérogénéité de la matrice : un « *burst effect* » peut apparaître si des pores ou des fissures apparaissent à l'intérieur et/ou en surface de la matrice lors de la fabrication.

I.6. Rappel théorique

Notre travail a porté sur la réalisation de systèmes matriciels sous forme de Microsphères. Dans ce type de systèmes, la libération est souvent contrôlée par une étape d'ordre diffusionnel suivant les lois fondamentales de Fick portant sur la diffusion de la matière.

Après l'étude expérimentale, nous avons pu modéliser nos résultats expérimentaux par des modèles qui utilisent les solutions analytiques ou numériques décrites par Crank [14] et permettent de calculer aisément les diffusivités.

Pour cela, et quel que soit le cas, il est nécessaire de faire un rappel théorique des lois de Fick. Ce modèle nous a permis de calculer et d'évaluer les différents coefficients de diffusion des principes actifs étudiés.

I.6.1. Traitement mathématique de diffusion selon Fick

Selon Fick, la diffusion de la matière dans un milieu isotrope est basée sur l'hypothèse que le flux de matière est proportionnel au gradient de concentration.

La première loi de Fick est alors annoncée comme suit :

$$\Phi = -D \cdot S \cdot \frac{\partial C}{\partial x} \quad (1)$$

Φ : est le flux de matière diffusante, C : la concentration de la matière diffusante, X : la distance de transfert normale à la section considérée, S : la surface totale de transfert et D : le coefficient de diffusion (Diffusivité). La densité de flux J_s est donnée par l'équation suivante :

$$J_s = -D \cdot \frac{\partial C}{\partial x} \quad (2)$$

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

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left(D \frac{\partial C}{\partial x} \right) \quad (3a)$$

I.6.1.1. Modèle de diffusion dans une sphère pleine de rayon R :

Selon Fick, la diffusion de la matière dans un milieu isotrope est basée sur l'hypothèse que le flux de matière est proportionnel au gradient de concentration en fonction de temps. Dans le cas particulier d'une diffusion radiale (sphère) et si D est la constante de diffusion et r' est la distance au centre de la sphère ; l'équation (3a) pour la symétrie sphérique est alors énoncée comme suit :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{1}{r'^2} \frac{\partial}{\partial r'} \left(D r'^2 \frac{\partial C}{\partial r'} \right) \quad 0 < r' < R \quad (3b)$$

a. Coefficient de diffusion "D" :

Pour la résolution des équations de Fick, Cranck [14] a proposé des solutions analytiques en tenant compte de :

- La constante de diffusion.
- La concentration uniforme dans la sphère à $t = 0$.
- Le transfert radial.
- La concentration d'équilibre est atteinte à la surface dès l'instant initial.

En tenant compte des conditions initiales suivantes :

$$\begin{array}{llll} t = 0 & 0 \leq r' \leq R & C = C_0 & C_0 = C \text{ initiale} \\ t > 0 & 0 \leq r' < R & C = f(t, r') & \\ & r' = R & C = C_\infty & C_\infty = C \text{ à l'équilibre} \end{array}$$

Où : R est le rayon de la sphère et r' : la distance au centre de la forme galénique (abscisse radiale de 0 à R).

La solution de l'équation (deuxième loi de Fick) donnant le profil des concentrations est :

$$\frac{C - C_0}{C_\infty - C_0} = 1 + \frac{2R}{\pi r'} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n} \sin \frac{n\pi r'}{R} \exp \left(-\frac{Dn^2\pi^2 t}{R^2} \right) \quad (4)$$

La concentration au centre est donnée par :

Quand $r' \rightarrow 0$:

$$\frac{C - C_0}{C_\infty - C_0} = 1 + 2 \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n} \exp\left(-\frac{Dn^2\pi^2 t}{R^2}\right) \quad (5)$$

Les quantités totales des matières diffusées sont exprimées par l'équation suivante :

$$\frac{m_t}{m_\infty} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(-\frac{Dn^2\pi^2 t}{R^2}\right) \quad (6)$$

Avec : m_t : la masse d'agent actif transférée au temps t .

m_∞ : la masse d'agent actif transférée à l'équilibre.

b. Calcul de la diffusivité D pour les temps courts :

La diffusion dans les temps courts, si « $m_t / m_\infty < 10\%$ », est exprimée par :

$$\frac{m_t}{m_\infty} = 6 \left(\frac{Dt}{R^2}\right)^{1/2} \cdot \left\{ \pi^{-1/2} + 2 \sum_{n=1}^{\infty} ierfc \frac{nR}{\sqrt{Dt}} \right\} - \frac{3Dt}{R^2} \quad (7)$$

L'équation (7) est encore simplifiée au premier terme dans les temps les plus courts de la cinétique :

$$\frac{m_t}{m_\infty} = 6 \sqrt{\frac{Dt}{\pi R^2}} \quad (8)$$

Cette équation simplifiée permet de déterminer le coefficient de diffusion ($D_{t,c}$). Il est alors calculé à partir de la tangente obtenue en traçant la droite $m_t/m_\infty = f(\sqrt{t})$:

$$D_{t,c} = \frac{\pi}{36} R^2 (tg a)^2 \quad (9)$$

c. Calcul de la diffusivité D pour les temps longs :

Pour les temps longs de la libération, le calcul de D revient à l'équation 6. Lorsque t est grand, le premier terme de la série devient prépondérant, on aura alors :

$$\frac{m_t}{m_\infty} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \exp\left(-\frac{D\pi^2 t}{R^2}\right) \quad (10)$$

Cette équation est simplifiée comme suit :

$$\ln\left(1 - \frac{m_t}{m_\infty}\right) = -\frac{D\pi^2 t}{R^2} + \ln \frac{6}{\pi^2} \quad (11)$$

Le coefficient de diffusion est calculé à partir de la pente P obtenue du tracé de $\ln [1 - (m_t/m_\infty)] = f(t)$ à des valeurs de $m_t/m_\infty > 60 \%$:

$$D_{t,l} = -p \left(\frac{R}{\pi}\right)^2 \quad (12)$$

I.6.1.2. Application du modèle de diffusion de Fick aux Microsphères

La diffusion de Fick est une caractéristique des systèmes étudiés car elle décrit la mobilité du principe actif dans une matrice à une température fixe et dans un milieu de libération donné. La diffusion dépend alors de la structure de la matrice et de la taille des microparticules (le diamètre moyen). Les coefficients de diffusion sont calculés avec le rayon moyen des Microsphères.

Il est à noter que la matrice des microparticules peut présenter une certaine porosité ou tortuosité. Dans ce cas, si le modèle de diffusion de Fick est valable, les diffusivités calculées sont des coefficients efficaces. Ils représentent à la fois, la diffusion dans les pores et dans la matrice :

- Diffusion dans les pores : transfert du principe actif dans le milieu d'étude liquide présent dans le réseau des canules ou pores.
- Diffusion par solubilisation : transfert du principe actif solubilisé dans la matrice à travers les segments des chaînes polymérique.

Selon la structure du polymère et la nature du principe actif, l'un ou l'autre des deux mécanismes prédomine. On peut aussi préciser le cas où les Microsphères peuvent présenter des défauts qui peuvent être à l'origine des anomalies rencontrées lors de l'interprétation du mécanisme de libération :

- Ces systèmes peuvent avoir une distribution en taille large. Par conséquent, il y aura des grosses particules qui contiennent plus d'agent actif et qui le libèrent

moins vite et de petites particules qui contiennent à l'inverse moins d'agent actif et qui le libèrent plus rapidement.

- Ces systèmes peuvent contenir des particules non sphériques avec des distorsions. Ils peuvent être aussi de structure non uniforme où le principe actif n'est pas distribué uniformément dans le système matriciel. Le profil de libération peut facilement changer dans ce cas.

Pour calculer les différents coefficients de diffusion nous avons appliqué les modèles développés ci-dessus.

I.6.2. Modélisation des cinétiques de relargage du principe actif selon les équations de Higuchi, de Korsmeyer-Peppas et de Hixon-Crowel

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

Les modèles mathématiques les plus utilisés par les pharmaciens pour décrire la libération des principes actifs des systèmes matriciels sont ceux de Higuchi et Peppas [2,3,49-57].

I.6.2.1. Modèle d'Higuchi :

Higuchi a développé des modèles décrivant la libération des principes actifs solubles et peu solubles incorporés dans des matrices solides.

L'équation ci-dessous résume le modèle d'Higuchi et elle est connue comme le modèle simplifié d'Higuchi. Selon lui, la libération de médicament dépend de la racine carrée du temps en obéissant à la loi de Fick qui décrit la diffusion. Cette approche est utilisée pour plusieurs formes pharmaceutiques dont les matrices contiennent des principes actifs solubles [2,34,35,50,51].

$$Q_t = k_H t^{1/2} \quad (13)$$

Q_t : quantité de médicament libéré au temps t . k_H : constante de libération d'Higuchi.

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

I.6.2.2. Modèle de Korsmeyer-Peppas:

En 1983, Korsmeyer *et al* [3] donnent une relation simple qui décrit la libération du médicament à partir d'une équation du système polymère. Ce modèle permet d'attribuer aux cinétiques de libération le type de diffusion sur la base de la valeur de l'exposant n selon l'équation suivante :

$$m_t / m_{\infty} = k_{K-P} t^n \quad (14)$$

m_t / m_{∞} : fraction de médicament libérée au temps t .

k_{K-P} : constante de vitesse de libération.

n : exposant de libération.

Dans ce modèle, la valeur de n caractérise le mécanisme de libération du médicament à partir de systèmes de type "Microsphères" (Tableau 1) [51, 57].

Pour le cas de comprimés cylindriques, les valeurs de n donnant le type de mécanisme de libération du médicament à partir de ces systèmes sont citées [52-56] :

Tableau 1. Mécanismes de libération par diffusion à partir des Microsphères; n – l'exposant de libération de modèle "Korsmeyer-Peppas".

n	Mécanisme de transport de l'agent actif
$n \leq 0,43$	Cas I: Diffusion Fickienne
$0,43 < n < 0,89$	Transport non-Fickian (érosion et diffusion)
$n = 0,89$	Cas II de transport (Relaxation)
$n > 0,89$	Super Cas II de transport (relaxation)

I.6.2.3. Modèle de Hixon-Crowel:

Hixson et Crowell (1931) [2,51] donnent une relation simple qui montre que la surface régulière des particules est proportionnelle à la racine cubique de son volume. Ce modèle permet d'attribuer aux cinétiques de libération des systèmes où il y a un changement dans la surface et le diamètre des particules ou des comprimés, selon l'équation suivante :

$$W_0^{1/3} - W_t^{1/3} = k_{H-C} \cdot t \quad (15)$$

W_0 : fraction initiale de médicament dans la forme galénique.

W_t : fraction de médicament libérée au temps t .

k_{H-C} : constante de vitesse de libération "Hixon-Crowel".

1.7. Introduction aux techniques de microencapsulation

Introduction

A la fin des années cinquante, la technique de microencapsulation a donné naissance à de nombreux produits pharmaceutiques (médicaments analgésiques à libération prolongée), ainsi que pour d'autres domaines d'application (produits commerciaux : crèmes cosmétiques, les colles et les cristaux liquides...). En fait, le principe de la microencapsulation est très ancien, car, si la biochimie est un principe fondateur de la vie, rien n'aurait été possible sans l'existence des membranes permettant le confinement des molécules vitales au sein des cellules (microcapsule) mais aussi des organites (mitochondries par exemple, microcapsule dans une microcapsule) [58].

Il est possible de trouver de nombreuses définitions, généralement orientées vers les besoins d'une spécialité. Comme une définition relativement générale, la microencapsulation est une méthode de piégeage d'un composé (solide, liquide ou gazeux) au sein d'une membrane en vue de sa protection et du contrôle de sa libération.

Cette définition fait appel aux notions détaillées ci-dessous :

1.7.1. Notions sur la microencapsulation

1.7.1.1. Quels types de systèmes peut-on microencapsuler ?

La microencapsulation concerne une large variété de systèmes allant des molécules simples aux plus complexes (peptides, médicaments...). En plus, il peut s'agir de structures encore plus complexes comme des virus, protoplastes, et même des cellules biologiques complètes. A l'intérieur de la microparticule, le « principe actif » peut être sous forme d'une solution, d'une émulsion ou d'une suspension.

Les principes actifs sont d'origines très variées: médicaments, additifs alimentaires, parfums, produits phytosanitaires, cellules et catalyseurs de réactions chimiques [59].

Rappels bibliographiques sur la Microencapsulation

Cette encapsulation consiste à créer **une membrane** polymérique d'origine naturelle [60] ou synthétique [61] ou hémisynthétique [62], qui isole le principe actif du milieu environnant et le protège ainsi de tout facteur dégradant telles que la radiation lumineuse ou thermique, l'agression chimique et l'incompatibilité avec d'autres produits et permet d'avoir un effet retard pour les formes pharmaceutiques à libération prolongée [63].

Dans le cas d'une microcapsule, **la membrane** joue des rôles importants et différents selon l'application désirée :

- **La membrane comme barrière passive** : son rôle est de se comporter comme une **paroi étanche** vis-à-vis du contenu, qu'elle libèrera le moment venu en s'éclatant. *Exemple* : encart publicitaire "scratch and sniff" qui libère le parfum lorsqu'on écrase les microcapsules.
- **La membrane comme barrière active** : elle se comporte comme **une membrane semi-perméable** permettant la diffusion entre l'intérieur et l'extérieur de la capsule. Donc, elle contrôlera la vitesse de diffusion. *Exemple* : encapsulation de substance médicamenteuse pour libération modifiée.

1.7.1.2. Quels types de structures les microparticules peuvent-elles prendre ?

a. Structure et taille

Les microparticules sont composées d'un matériau enrobant constitué de polymères synthétiques ou naturels ou encore de lipides et, en général, d'une matière active. Elles présentent une taille comprise entre 1 et 1000 μm . La distribution granulométrique et la morphologie des microparticules peuvent être observées par microscopie optique ou électronique. Selon les techniques et la nature des composés, deux structures peuvent exister : les Microsphères et les microcapsules (Figure 12 a-b).

Microsphères : particules formées d'un réseau continu de polymère ou de matériau support au sein des quels le principe actif est dispersé (système matriciel) [40].

Microcapsules : ce sont des systèmes réservoirs constitués d'un cœur de principe actif sous forme liquide, solide ou éventuellement gazeux, entouré par une membrane de matériau enrobant (Système réservoir) [64].

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

Rappels bibliographiques sur la Microencapsulation

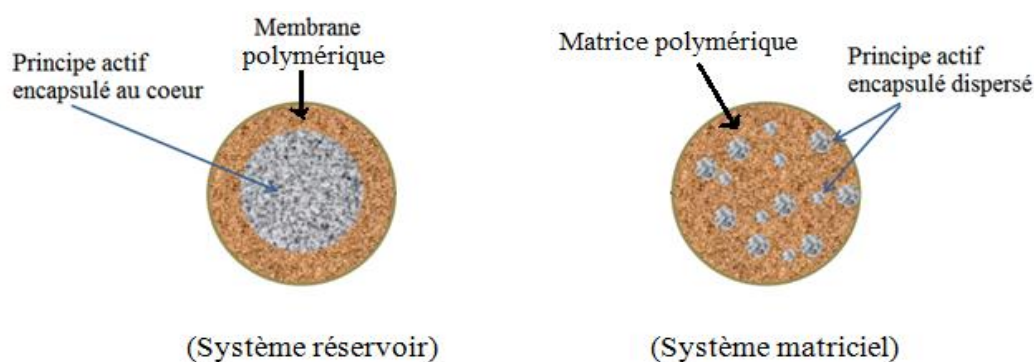


Figure 12a. Représentation schématique de Microsphère (a) et microcapsule (b).

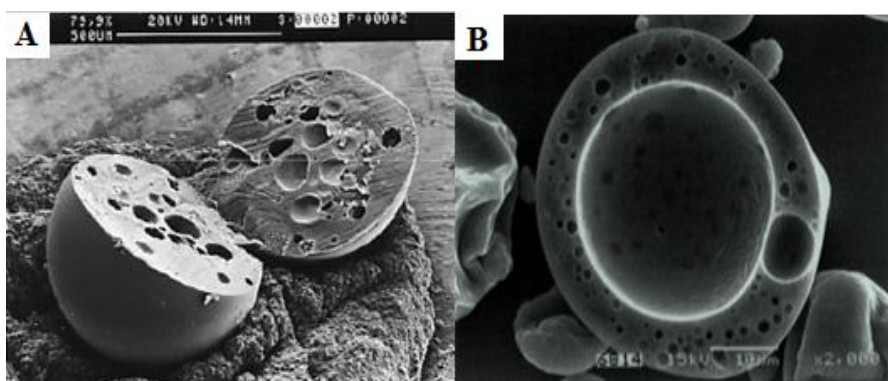


Figure 12b. Type de particules ; images MEB des microparticules, A : Microsphère ; B : microcapsule.

- La charge électrique de surface ; Mouillabilité ; Porosité ; Tortuosité des pores ; Degré de gonflement.
- Le taux d'encapsulation (ou la teneur en matière active) peut être très élevée dans les microcapsules, de l'ordre de 85 à 90 % (rapport massique). Comparés à ceux rencontrés dans les Microsphères qui sont plus faibles, de l'ordre de 20 à 35 %.
- Le rendement d'encapsulation est le rapport entre la masse de PA encapsulé et la masse de PA à encapsuler.

b. Polymères et matériaux enrobant

Les polymères formant le matériau enrobant peuvent être d'origine naturelle, hémisynthétique (dérivés de la cellulose) ou synthétique. Selon le domaine d'application des microparticules, des propriétés de biocompatibilité et/ou de biodégradabilité seront requises. Le Tableau 2 suivant donne les principaux polymères utilisés pour obtenir ces structures.

Rappels bibliographiques sur la Microencapsulation

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

Type de polymère	Nom Chimique
Polymères naturels	Chitosane [65], Alginate [66,67], Gélatine [57], Gomme Arabique [68,69].
Polymère synthétiques	Poly epsilon-caprolactone [70,71]
Copolymères	Poly (lactide -co- glycolide) [72]
Polymères hémisynthétique	Ethylcellulose [57,73], Cellulose acétate butyrate [62].
Lipides et cires minérales	Corps gras solides, glycérides, cire (d'abeille) [58].

1.7.1.3. Quels objectifs la microencapsulation poursuit-elle ?

Il est intéressant de détailler les objectifs de la microencapsulation constituant le cœur de la définition précédente, les particules peuvent avoir des fonctions très différentes :

- Protection de principe actif contre le milieu environnant (catalyseur, pH du milieu (libération ciblée d'un médicament, oxydation, réduction de sa volatilité...).
- Améliorer la présentation d'un produit (atténuation du goût ou d'une odeur, conversion d'un médicament liquide sous la forme d'une poudre ...).
- L'obtention d'un effet prolongé dans le temps (libération contrôlée et/ou prolongée d'une substance active médicamenteuse ou autre...) ou déclenché (ultrasons, choc mécanique).
- Réaliser une mise en forme adaptée (dosage plus élevé dans de petits volumes)
- La protection de l'environnement (sécurité et facilité la manipulation des produits toxiques et nocifs, action ciblée d'un insecticide ou d'un pesticide sans conséquence phytosanitaire...).

1.7.1.4. Les étapes de la microencapsulation

La microencapsulation se réalise généralement en trois étapes [58]:

- a. La première étape :*** Elle consiste en l'incorporation du principe actif dans la matrice ou le cœur de la microparticule.
- b. La deuxième étape :*** C'est une opération mécanique consistant :
 - soit à réaliser une dispersion liquide/air ou liquide/liquide dans le cas d'une matrice liquide.

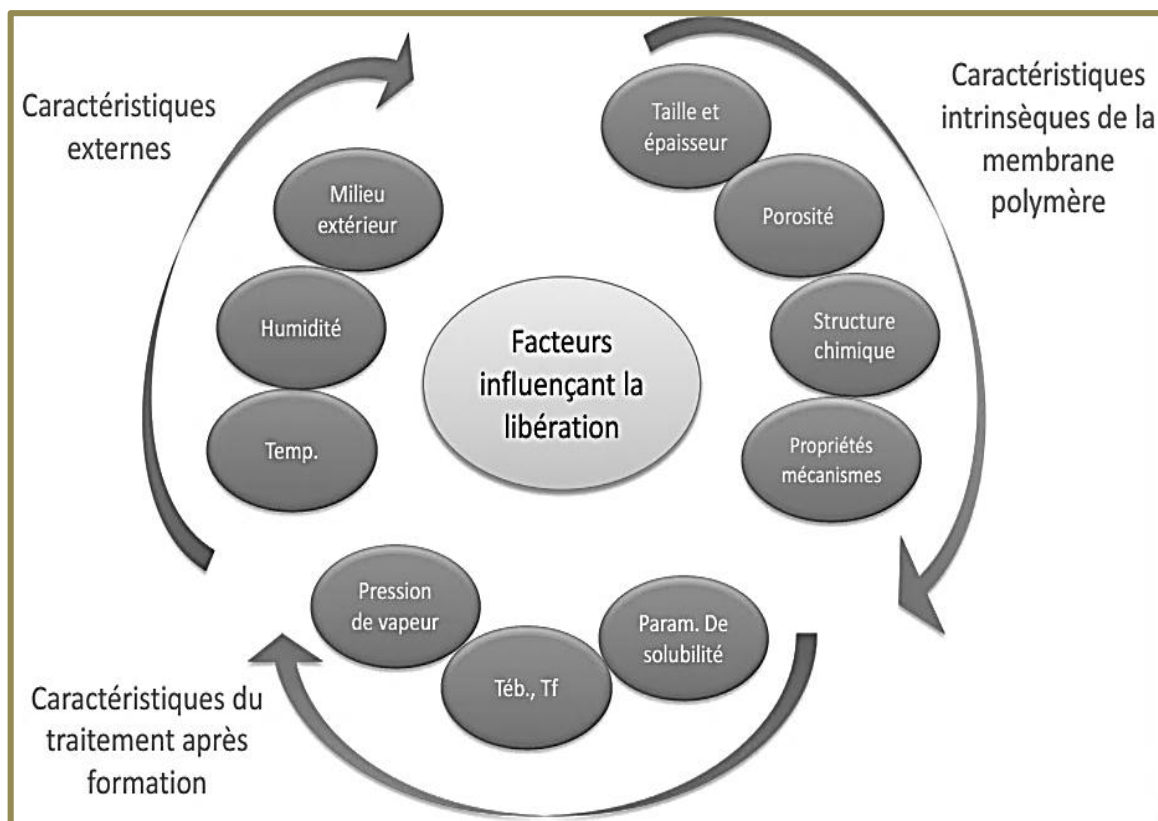


Figure 13. Facteurs influençant la libération du principe actif (PA).

- soit à pulvériser une solution sur les particules solides sous agitation dans le cas d'une matrice déjà organisé en particules.

c. La troisième étape :

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

I.7.1.5. Méthode de dispersion

Après l'incorporation de la substance active dans une matrice liquide, l'étape de dispersion fait un appel à des procédés mécaniques qui sont partagés en quatre grandes classes.

a. Prilling

Le principe de « prilling » est basé sur la production de gouttelettes à partir d'un injecteur ou une aiguille. L'objectif principal de cette méthode est de former des gouttelettes avec une petite taille et distribution de taille étroite.

b. Micronisation / atomisation ou « spray-drying »

L'encapsulation par atomisation se fait en deux étapes : Dispersion de la substance dans un

Rappels bibliographiques sur la Microencapsulation

matériau d'enrobage liquéfiée, ensuite l'étape de pulvérisation qui consiste en une évaporation rapide du solvant dans lequel le matériau d'enrobage est dissous.

Les installations utilisées pour cette opération sont similaires aux installations de séchages (production de poudres de lait par exemple).

c. *Emulsification*

Dispersion thermodynamiquement stable de deux liquides immiscibles, contenant le principe actif stabilisée par un (ou plusieurs) tensioactif(s). La méthode la plus simple recourt à un réacteur muni d'un système d'agitation (Figure 14). Les tailles moyennes des microparticules obtenues par émulsification varient de 50 à 800 μm .

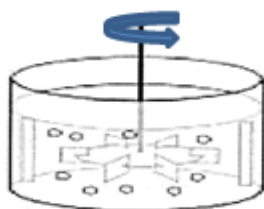


Figure 14. Emulsification par des systèmes de dispersion liquide/liquide ; dispersion par agitation mécanique (pales).

d. *Microémulsion*

Un liquide est finement dispersé dans un autre par l'action principalement sur des propriétés interfaciales de surfactant et non sur des forces de dispersion (Figure 15). Les tailles typiques des gouttelettes sont inférieures au micromètre.

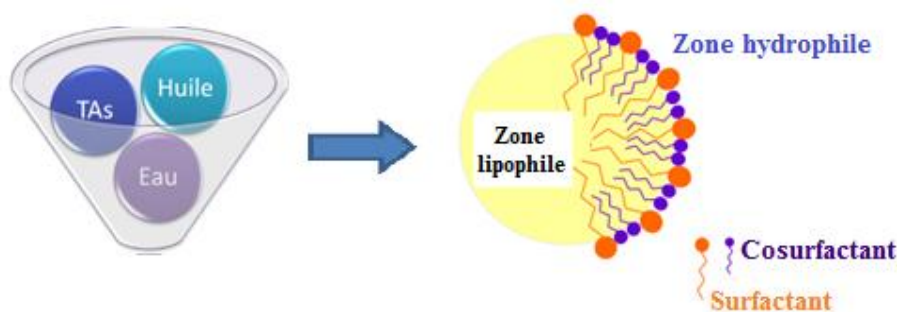


Figure 15. Microémulsion d'un système liquide-liquide.

I.7.1.6. Méthodes de stabilisation des microparticules

Ces quatre principales méthodes de dispersion décrites ci-dessus conduisent à la formation des gouttelettes liquides. La stabilisation ou la solidification dans ce cas est nécessaire pour

Rappels bibliographiques sur la Microencapsulation

l'obtention des microparticules. Un ensemble de termes usuels (souvent en anglais) résultant d'une combinaison de la dispersion et la solidification est donné sur le Tableau 3.

Tableau 3. Terminologies usuelles des méthodes d'encapsulation à partir de dispersions liquides.

	Prilling	Nébulisation	Emulsification
Solidification	Hot/melt	Spray-drying	Emulsion/cristallisation
Evaporation	-	Spray-chilling	évaporation de solvant
Gélification	Gélification thermique	-	Emulsion/gélification
Polymérisation	-	-	Polmérisation interfaciale, polymérisation en suspension
Coacervation	Coacervation interfaciale	-	Coacervation simple ou complexe

a. Solidification

Si les matériaux d'encapsulation de départ sont des solutions fondues, un simple refroidissement conduira à une solidification par cristallisation. C'est généralement le cas de la méthode hot/melt.

b. Evaporation

Il est possible de favoriser l'évaporation de solvant soit en réduisant la pression soit en passant les gouttelettes dans un courant d'air chaud. Dans le cas d'une nébulisation/séchage, on parle de la méthode « spray/drying ». Si le solvant s'évapore lors d'une émulsion, on parle donc de la méthode d'émulsion-évaporation de solvant.

c. Gélification

Certains polymères en solutions peuvent former des gels ou thermogels par l'abaissement de la température. Les billes d'hydrogel sont produites soit par extrusion de la solution polymérique (alginate de sodium) dans un bain gélifiant (solution de chlorure de calcium), soit par la dispersion de l'hydrogel dans une solution non miscible hydrophobe.

d. Polymérisation/réticulation

Cette méthode consiste à préparer des microcapsules en mettant en contact une phase dispersée contenant la substance active et un monomère avec une autre phase (non

Rappels bibliographiques sur la Microencapsulation

miscible à la première) contenant un monomère susceptible de réagir avec le premier pour donner un polymère. La réaction entre les deux monomères a lieu à l'interface des phases pour former une membrane polymérique (=polymérisation interfaciale).

e. Coacervation

La coacervation complexe met en jeu la désolvatation simultanée de deux colloïdes. L'huile est émulsionnée dans une solution contenant deux polymères. L'un des deux polymères à un pH isoélectrique (gélatine) et l'autre polymère est anionique comme (gomme arabique). Par modification du pH, les deux polymères vont former le coacervat qui enrobe les gouttelettes d'huile.

La première partie « Introduction » montre la diversité des systèmes encapsulés, les objectifs et les applications de la microencapsulation. Comme il est important de connaître les différents procédés de l'encapsulation, la deuxième partie mettra l'accent sur les principales méthodes de la microencapsulation.

1.7.2. PRINCIPAUX PROCEDES D'ENCAPSULATION

Avant de procéder à une microencapsulation, il faut tenir compte des points suivants :

- La taille moyenne et la largeur de la distribution granulométrique;
- La teneur en matière active ou taux d'encapsulation ;
- La forme finale: dispersion de microparticules en phase aqueuse ou en phase solvant, poudre sèche ;
- Les contraintes de stabilité au cours du stockage et au cours de la mise en œuvre;
- La durée de conservation sans libération de matière active, ainsi que le milieu dans lequel les particules seront conservées ;
- Les conditions de libération et la cinétique de libération. Si l'on souhaite une libération déclenchée, il devra en particulier être précisé quel est le paramètre de déclenchement: variation de température, variation de pH. Pour une libération prolongée, la durée souhaitée de la période de libération sera une des données du problème ;
- Les contraintes réglementaires liées au domaine d'application et au mode d'administration qui sont prescrites dans les réglementations nationales et

internationales (Pharmacopée Européenne ou USP par exemple, pour le domaine de la pharmacie).

Il existe plusieurs manières de classer les procédés de la microencapsulation (Figure 16) selon différents critères [74] :

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

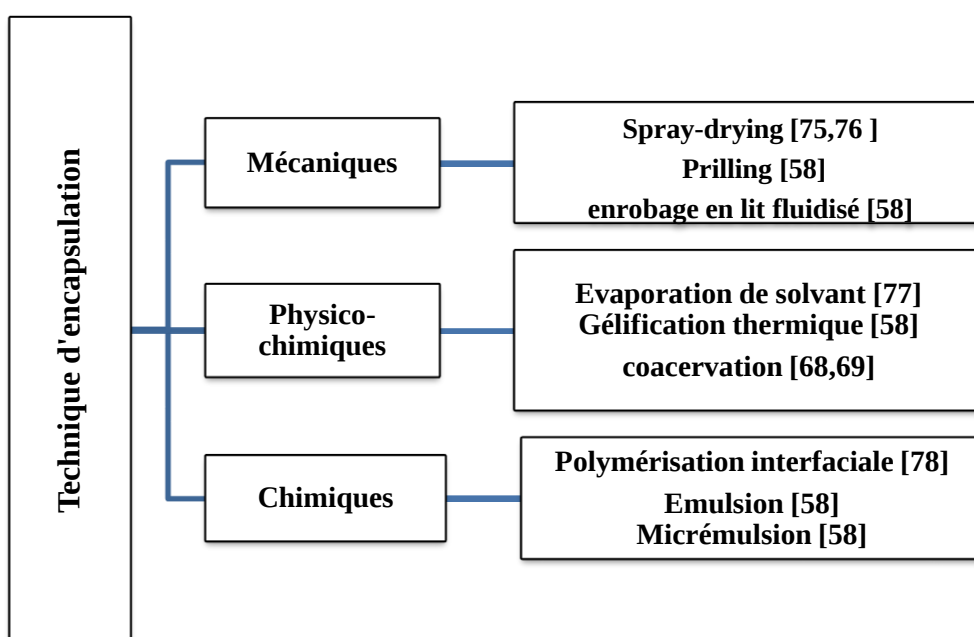


Figure 16. Schéma général des différents procédés de la production des microparticules par microencapsulation.

Le choix du procédé et de la formulation déterminent les caractéristiques finales des microparticules [79].

I.7.3. Choix de la technique appropriée à la Microencapsulation des principes actifs étudiés

Le choix du procédé approprié se base alors sur les propriétés physico-chimiques des principes actifs étudiés et les caractéristiques finales des microparticules souhaitées (le type de microparticule, la taille moyenne, le taux d'encapsulation, la forme finale, les conditions de libération et la cinétique de libération).

Rappels bibliographiques sur la Microencapsulation

Les microparticules désirées doivent assurer la protection de la substance active et d'assurer ainsi sa libération prolongée au contact de la solution d'étude choisie.

En se basant sur les propriétés physico-chimiques des principes actifs sélectionnés dans ce travail, en particulier, leur solubilité dans l'eau et leurs états physiques, nous avons choisi le procédé de microencapsulation par évaporation de solvant. Le choix du type d'émulsion adapté est fait principalement sur les propriétés de l'agent actif à encapsuler (solubilité). Ce procédé physico-chimique est simple à utiliser et de faible coût.

La faible solubilité de "PABA" (1g / 170 mL à 25 °C) dans l'eau permet de l'encapsuler selon la méthode "**Simple Emulsion**-Evaporation de Solvant (o/w)".

La technique de **Double Emulsion**-Evaporation de Solvant (w/o/w) permet d'encapsuler les deux autres principes actifs hydrosolubles : la 2-aminopyrimidine 2-AP et les monomères imines synthétisés **IM₁** et **IM₂** pour minimiser la perte de principe actif dans la phase aqueuse pendant l'émulsification.

Le but de ce travail est d'étudier les paramètres clés permettant de maîtriser la microencapsulation de ces principes actifs via le procédé d'évaporation de solvant et l'obtention de systèmes de type "Microsphères" à libération prolongée.

Il est nécessaire de passer par un rappel bibliographique détaillé sur ces deux procédés d'encapsulation de la **Simple** et la **Double Emulsion**-Evaporation de Solvant.

I.7.4. MICROENCAPSULATION PAR EVAPORATION DE SOLVANT:

I.7.4.1. Généralités sur la méthode d'évaporation de solvant :

La technique d'encapsulation par évaporation de solvant est largement utilisée dans des applications pharmaceutiques pour la libération contrôlée du principe actif (médicament) [80-103]. Cette méthode a été développée pour toutes sortes d'applications [77,100]. Elle permet de contrôler la vitesse de libération, d'éviter l'évaporation et la dégradation du principe actif encapsulé, de limiter les pertes.

La phase de solvant organique volatil contenant le polymère matriciel et le principe actif est dispersée dans la phase aqueuse contenant le tensioactif. Le solvant organique en diffusant dans l'émulsion agitée s'évapore et conduit à la formation des microsphères solides constituées du polymère matriciel au quel est mélangé le principe actif.

1.7.4.2. Les étapes principales de la microencapsulation par évaporation de solvant

Le procédé de cette méthode repose sur l'évaporation de la phase interne d'une émulsion sous agitation.

1.7.4.2.1. "Simple Emulsion-Evaporation de Solvant (o/w)" :

Initialement, le matériau matriciel est généralement un polymère hydrophobe, dissout dans un solvant organique volatil. Ensuite la substance active à encapsuler est dissoute ou dispersée dans la solution organique, Cette dernière est dispersée dans le milieu aqueux contenant un agent tensioactif sous agitation. Dès que le solvant organique entre en contact avec la phase aqueuse externe, il migre à la surface de l'émulsion où il s'évapore par diffusion. La concentration du solvant organique dans la phase intermédiaire diminue au cours du temps et le polymère commence à précipiter en encapsulant le principe actif (Figure 17) [82].

Les microparticules sont séparées par filtration et desséchées.

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

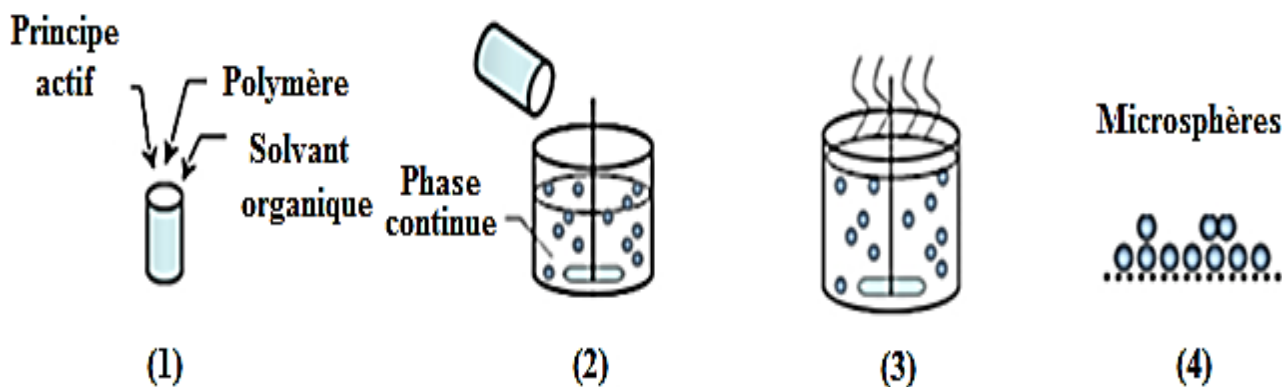


Figure 17. Les étapes principales de la microencapsulation par évaporation de solvant.

1.7.4.2.2. Double émulsion-évaporation de solvant (w/o/w) :

Les principales étapes de préparation des Microsphères utilisant des émulsions eau dans huile dans eau (w/o/w) sont montrées :

- le principe actif est soit dispersé ou dissout dans la phase aqueuse interne ;
- cette dernière est émulsifiée dans une solution organique du polymère qui formera la

Rappels bibliographiques sur la Microencapsulation

matrice. La formation des gouttelettes est causée par une agitation mécanique, par exemple au moyen d'un agitateur à pales ;

- l'émulsion eau dans huile (w/o) ainsi obtenue est ensuite dispersée dans une phase aqueuse externe résultante en une émulsion eau dans huile dans eau (w/o/w). A nouveau, la formation des gouttelettes est provoquée par agitation mécanique, par exemple au moyen d'un agitateur à pales. Dès-que le solvant organique entre en contact avec la phase aqueuse externe, il diffuse dans cette dernière. Le solvant organique migre ensuite à la surface d'émulsion (w/o/w) par convection et diffusion, où il s'évapore. Ainsi, la concentration du solvant organique dans la phase intermédiaire diminue au cours du temps. Le polymère commence à précipiter, encapsulant alors le principe actif. Les Microsphères sont formées.
- Par la suite, les Microsphères sont séparées par filtration et séchées.

Le taux de la matière active dans les microparticules obtenues par évaporation de solvant est compris entre 30% et 40% [82] et le rendement d'encapsulation peut atteindre plus de 90%. La taille des Microsphères produites est de 1 à 400 μm .

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

Le dichlorométhane malgré sa toxicité est le solvant le plus utilisé, car il présente une température d'ébullition faible (39,8 °C). Ce solvant a une solubilité importante dans l'eau (1-3% en masse à 20-25°C) mais la solubilité de l'eau dans le dichlorométhane est de 0,2 % en masse à 20-25°C, ce qui limite la diffusion de l'eau dans les microparticules pendant la formulation.

Contrairement à la plupart des études consacrées au choix des polymères biodégradables, notre étude s'est intéressée aux aspects d'ingénierie afin d'optimiser la durée du procédé et d'analyser l'influence des conditions opératoires sur les propriétés des Microsphères. L'évaporation du solvant a été étudiée pour de différentes conditions (nature et concentration en tensioactif, quantités des matériaux : rapport principe actif : polymère, vitesse d'agitation, fraction volumique entre les deux phases : phase organique / phase aqueuse). Les propriétés des Microsphères obtenues (taille, surface et structure interne) ont

Rappels bibliographiques sur la Microencapsulation

été examinées. L'analyse de la structure et la morphologie des Microsphères par la Microscopie Electronique à Balayage a montré l'effet des différents paramètres sur la taille la porosité et la structure des Microsphères obtenues.

I.7.4.3. Les paramètres influençant la microencapsulation par évaporation de solvant:

Plusieurs paramètres influençant les caractéristiques des microparticules (la taille et la distribution en tailles, la porosité, la teneur en principe actif) préparées par évaporation de solvant ont été déterminés. L'efficacité de ce processus dépend de ces paramètres utilisés, on donnera ci-dessous quelques exemples décrits dans la littérature [82-97] :

- **Effet du polymère:**

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

- Les protéines naturelles [101] comme l'albumine, le collagène, la gélatine, la fibrine, le fibrinogène, et la caséine.
- Les polysaccharides naturels [65-68] comme la dextrine, l'acide alginique, la chitine et le chitosan.
- Les dérivés cellulosiques [57,58, 62,86-88]: l'éthylcellulose (EC), Cellulose acétate butyrate (CAB), l'hydroxyléthylcellulose (HEC), l'hydroxyl propylméthylcellulose (HPMC), la méthylcellulose (MC).
- Les polymères synthétiques comme : le poly acide lactide [69], le poly acide (lactide-co-glycolide) [72], le poly (ϵ -caprolactone) [70,71], et l'Eudragit [47].

La masse moléculaire des polymères utilisés dans la microencapsulation par évaporation de solvant est un paramètre très important. En effet, l'augmentation de la masse molaire du polymère conduit à l'accroissement de la viscosité de la phase dispersée et de la taille des microsphères, comme montré dans quelques travaux [82,86].

L'Ethylcellulose a été utilisée par plusieurs chercheurs pour l'encapsulation de différents principes actifs par évaporation de solvant tels que la Procaine [104], l'acide Méfenamique [105], l'Ampicilline et l'Amoxicilline [87], l'acide *p*-aminobenzoïque [88].

Rappels bibliographiques sur la Microencapsulation

- ***Effet du rapport principe actif/ polymère (PA/Pol.)***

Le rapport principe actif/ polymère (PA/Pol) peut influencer la qualité des microparticules préparées par évaporation de solvant. La littérature montre l'augmentation du taux d'encapsulation avec celle du rapport (PA/Pol) [88,97].

- ***Effet du solvant organique***

Des travaux de recherche réalisés pour étudier l'effet du solvant sur le taux d'encapsulation montrent que les meilleurs rendements sont obtenus avec la précipitation rapide du polymère et la concentration élevée du polymère dans la phase organique [86].

- ***Effet de l'interaction entre le principe actif et le polymère***

L'interaction entre le principe actif encapsulé et le polymère peut changer le taux d'encapsulation. L'interaction entre le polymère et le principe actif peut être due à des interactions hydrophobes ou hydrophiles. Dans le cas où il existe des interactions ioniques ou hydrophiles, le principe actif sera encapsulé avec un taux important dans les polymères contenant des groupements carboxyliques libres. Dans le cas des interactions hydrophobes, les polymères utilisés donnent des taux d'encapsulation très élevés [102].

- ***Effet de la vitesse de rotation***

Durant la formation des gouttelettes, la vitesse de rotation des pales influe sur la taille des microparticules. Généralement, en augmentant la vitesse de rotation, la taille des microparticules diminue. Cela peut être expliqué par l'énergie dissipée pour la rupture des gouttelettes qui conduisent à la diminution de la taille des gouttelettes [92,93,100].

- ***Influence de la concentration du tensioactif***

L'augmentation de la concentration du tensioactif conduit à la diminution de la taille des microparticules, dû au fait de l'affaiblissement de la tension interfaciale "gouttelettes organiques / phase aqueuse continue" et à la stabilisation de l'émulsion [95,88].

- ***Influence de la température***

La viscosité de la phase organique et l'évaporation de solvant dépendent de la température. En augmentant la température, la viscosité diminue et la taille des

gouttelettes tend à diminuer. A partir d'une certaine température, le solvant s'évapore plus rapidement en entraînant, à l'inverse, l'augmentation de la viscosité de la phase dispersée [91].

I.7.4.4. Technologie du procédé

Un récent article sur l'état actuel de l'art de préparation des microparticules par extraction/évaporation de solvant a été publié par Hwisa *et al* [86], soulignant les principaux avantages et désavantages des méthodes utilisées. La microencapsulation par évaporation de solvant est largement utilisée pour l'encapsulation de différents produits pharmaceutiques [77]. L'efficacité de ce processus dépend de plusieurs paramètres dont les solvants utilisés, le rapport principe actif/polymère, la vitesse d'agitation, la solubilité du principe actif et la masse molaire du polymère. Ces paramètres doivent être pris en considération pour développer des systèmes polymériques chargés de principe actif.

I.7.4.5. L'émulsion

L'émulsion signifie un système contenant au moins deux liquides non miscibles, dont l'un est dispersé dans l'autre. On distingue donc une phase dispersée et une phase continue. Si la phase continue est une phase huileuse, c'est une émulsion eau dans huile (W/O, type inverse). Si la phase continue est constituée d'un liquide polaire associé, c'est une émulsion huile dans eau (O/W, type directe) [106].

En général pour préparer une émulsion, il est nécessaire d'avoir au moins : une phase aqueuse, une phase huileuse et un tensioactif et un apport d'énergie mécanique. Le tensioactif ralentit les mécanismes physiques qui conduisent à la séparation de phases et permet une « stabilité » cinétique du système.

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

CHAPITRE II

GENERALITES SUR LES PRINCIPES ACTIFS ETUDIES

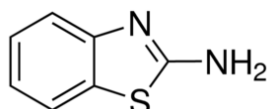
II. Généralités sur les principes actifs étudiés :

Dans le cadre de ce travail, ont été étudiées les molécules modèles, 2-aminobenzothiazole (2-ABZT), 2-aminopyrimidine (2-AP), les monomères synthétisés N-4-vinylbenzylidène-2-aminobenzothiazole (IM₁), N-4-vinylbenzylidène-2-aminopyrimidine (IM₂) et l'acide *p*-aminobenzoïque (PABA) doué de propriétés pharmacologiques.

Le travail a été abordé tout d'abord avec la préparation des formulations Microsphères par le procédé de la Microencapsulation. Sur ces dernières, plongées dans le milieu aqueux de pH 1,2 à 37 °C est étudiée la libération de la molécule active.

II.1. La 2-aminobenzothiazole (2-ABZT)

- Nom UICPA : 2-aminobenzothiazole.
- Synonymes : benzothiazol-2-amine.
- Formule brute : C₇H₆N₂S.
- Poids moléculaire : 150,20 g/Mol.
- Point de fusion : 128-129 °C.
- Constante de dissociation : pK = 4,51.
- Formule développée :



- Solubilité dans l'eau: très peu soluble.

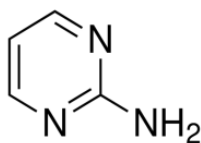
II.2. La 2-aminopyrimidine (2-AP)

Il est connu que la 2-aminopyrimidine (2-AP) et ses dérivés présentent un intérêt biologique important. Suite aux résultats préliminaires des recherches antérieures, plusieurs nouvelles molécules dérivant du 2-aminopyrimidine ont été synthétisées [107]. Ce sont des produits qui présentent un large spectre d'activité thérapeutique en particulier comme agent anti-inflammatoire.

Ainsi, des médicaments dérivés de la 2-AP actuellement testés en clinique montrent une activité prouvée sur l'allergie, la dermatite atypique, l'asthme et la polyarthrite rhumatoïde [108-110].

Propriétés physico-chimiques :

- Synonymes : 2-pyrimidinamine; 2-Pyrimidylamine; 2-Amino-1,3-diazine.
- Formule brute : $C_4H_5N_3$.
- Formule développée :



- Poids moléculaire : 95,10 g/Mol.
- Point de fusion : 122-126 °C.
- Intermédiaire : dans la fabrication de médicaments et de produits pharmaceutiques.
- Densité: 1,216 g/cm³.
- Constante d'acidité : pK = 3,90.

Elle se présente sous forme d'une poudre blanche à jaune clair, soluble dans l'eau.

II.3. L'acide *p*-aminobenzoïque (PABA)

Il est connu depuis longtemps que l'acide *p*-aminobenzoïque (PABA), soutient la production de la co-enzyme acide tétrahydrofolique qui aide le métabolisme des acides aminés et protège les cellules du sang [111,112]. Parmi les propriétés du PABA récemment décrites, nous citerons son effet inducteur sur la formation de l'interféron dans les organismes vivants décrit par Akberova [113]. Cette auteure montre aussi l'efficacité de PABA dans le traitement des défauts de la cornée [114]. Ainsi, il a été établi que le PABA inhibe la mélanogénèse *in vitro* et *in vivo*, seul ou combiné avec la chimiothérapie (CT) ou la radiothérapie (RT) [115]. Dans les deux dernières décennies sont apparues différentes études décrivant les activités biologiques de la molécule PABA comme agent anti-viral, antioxydant, antibactérien, antimutagène, et immuno-modulateur fibrinolytique [116]. Par exemple, Akberova a mis au point un nouveau médicament antiviral l'Actipol 0,007% PABA dans la pratique ophtalmologique [117].

Malgré les nombreuses propriétés biologiques nouvelles de PABA citées ci-dessus, son encapsulation n'a été réalisée que dans le cas des filtres des rayonnements solaires pour protéger la peau des UVA/B. Les microcapsules à enveloppe polymère durcie et étanche peuvent être étalées moyennant une crème sur la peau avec élimination totale de tout contact

direct entre la peau et PABA agent allergisant [118]. Le PABA soluble dans l'eau et faisant partie du complexe vitaminique B est bien toléré et facile à administrer par voie orale [119]. Le PABA/tablet, l'aminobenzoate de K^+ /capsule, PABA et l'aminobenzoate K^+ seuls sont donnés dans la nourriture pour les tests de récupération des urines de 24 heures [120]. Il est accepté en petites quantités par le corps humain mais cause des dommages au foie en cas d'excès [121]. Comme rapporté, le PABA, composé amphotère, possède trois formes dans les solutions aqueuses (Schéma 1) et présente deux pK de valeurs proches ($pK_1 = 2,50$ et $pK_2 = 4,87$) [122]. Le pH 1,2 reconstitué de l'estomac rend la forme diacide ammonium (1) particule diffusante largement majoritaire dans ce travail.

La microencapsulation de PABA en microsphères en ethylcellulose biocompatible comme polymère matriciel permet son utilisation par voie orale avec sa libération prolongée dans l'estomac à des doses en dessous de son seuil de toxicité. Cette forme galénique microparticulaire peut être utilisée avantageusement pour le traitement des cancers de la peau, par exemple, en association avec des médicaments en trithérapie où PABA exalte l'action de ces derniers. L'objectif recherché est de préparer des microsphères en ethylcellulose chargées de PABA par la méthode d'évaporation de solvant [77]. Différentes formulations sont fabriquées dans cette étude en vue d'étudier les effets des paramètres du procédé sur les caractéristiques des microsphères pour le contrôle du taux de libération de $PABAH^+$.

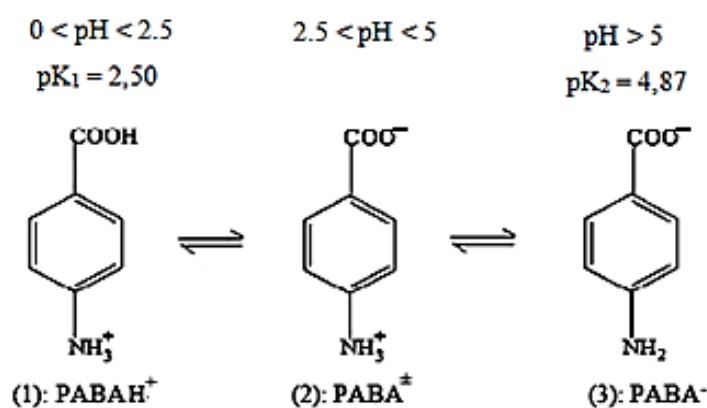
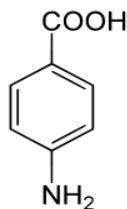


Schéma 1: Les trois formes de l'acide *p*-aminobenzoïque dans les différents domaines de pH.

Caractéristiques physico-chimiques

- Nom UICPA ; acide 4-aminobenzoïque, PABA.
- Formule brute : $C_7H_7NO_2$.
- Poids moléculaire : 137,14 g/Mol.
- Point de fusion : 187-189 °C.

- Formule développée :



- Densité: 1,38 g/cm³.
- Solubilité dans l'eau: 1 g /170 mL (25 °C).

II.4. Les monomères synthétisés type " Imine " IM₁ et IM₂:

Il a été reporté que les bases de Schiff inhibent l'activité de la lipoxigénase* et présentent un large spectre d'activité thérapeutique en particulier comme agent anti-inflammatoire [123]. Actuellement une nouvelle série de composés, des bases de Schiff, dérivant du benzothiazole et de la 2-aminopyrimidine font à ce jour l'objet d'études intéressantes [124,125]. Mahmoud-ul-Hassan et al. [126] ont préparé des bases de Schiff avec différents benzothiazoles substitués. Ces composés ont été testés pour leurs propriétés anti-bactériennes contre les espèces pathogènes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*).

Toutes les bases de Schiff ont montré individuellement, à des degrés variables, des effets d'inhibition pour la croissance des espèces bactériennes testées [126,127].

Les résultats anti-bactériens montrent l'activité efficace des bases de Schiff.

De plus, le rôle effectif de la liaison azométhine de certaines réactions biologiques est largement étudié [128-138]. Cette fonction imine plus connue sous le nom de base de Schiff est facilement hydrolysable en milieu aqueux acidulé représentant l'acidité du milieu gastrique, libérant ainsi l'amine médicament [139].

De ce fait, il apparaît donc intéressant d'envisager la préparation de bases de Schiff styréniques de la benzothiazole et de ses dérivés.

Nous avons préparé de nouvelles molécules en condensant le *p*-vinylbenzaldéhyde (*p*-VBA) sur les amines primaires modèles : 2-aminobenzothiazole et 2-aminopyrimidine, pour atteindre les composés s'apparentant aux alkyl/arylidène-2-amine particulièrement intéressants sur le plan pharmacologique.

*La lipoxigénase est une enzyme qui catalyse la vitesse de biosynthèse des leukotriènes et de l'acide arachidonique.

II.4.1. N-4-vinylbenzylidène-2-aminobenzothiazole IM₁

Comme reporté, il est connu que le benzothiazole et ses dérivés présentent un intérêt biologique important [134-139].

Ces nouveaux composés ont été testés *in vitro* et *in vivo* et leur activité anti-inflammatoire, anti-viral, anti-microbienne et anti-proliférative contre les cellules de la leucémie T-lymphoblastique et β -lymphoblastique ont été évaluées [135]. De plus le thiazole et le benzothiazole ont montré posséder une large classe d'activité, anti-tuberculose [140,141], anti-bactérienne [142], anti-fongique [143], hypotensive et hypothermique [144].

Il est bien connu que le noyau thiazolique et ses dérivés sont des composés possédant aussi-bien une activité analgésique et anti-inflammatoire, qu'antipyrétique [138]. Cette activité thérapeutique dépendrait pour l'essentiel du motif thiazole [145,146].

Aussi comme à notre connaissance aucune étude cinétique *in vitro* correspondante à ce type de composés n'avait été décrite, nous avons envisagé la préparation du dérivé de type IM₁ (schéma 2) suivi par une étude cinétique en milieu hétérogène reconstitué de pH 1,2 à 37 °C.

II.4.2. N-4-vinylbenzylidène-2-aminopyrimidine IM₂

Les produits dérivant du 2-aminopyrimidine ont été testés pour leur activité anti-inflammatoire et pharmacologique [107]. Des données ont été publiées sur les principales propriétés du système hétérocyclique 2-aminopyrimidine (2-AP), qui est l'un des pharmacophores importants responsables de propriétés biologiques [107,108]. Des applications importantes de la 2-aminopyrimidine dans la synthèse des produits pharmaceutiques modernes sont décrites dans la littérature [107-110]. Ces composés ont été testés et découverts comme étant de puissants agents anti-inflammatoires. En effet la partie pyrimidine semble avoir l'effet majeur sur l'activité.

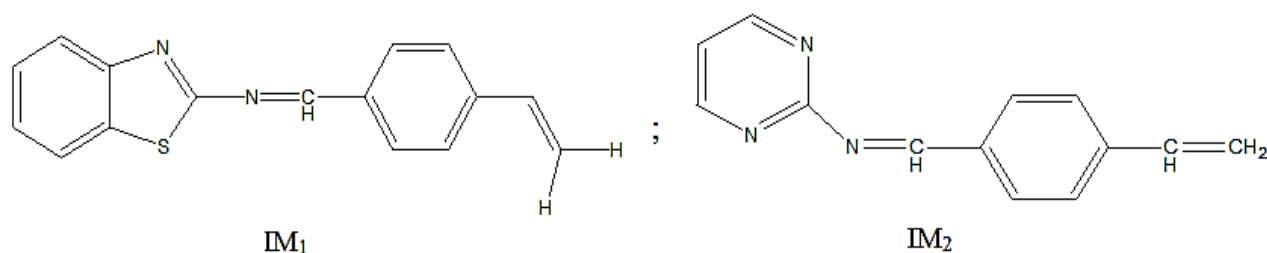


Schéma 2.

Aussi, comme à notre connaissance aucun composé correspondant à cette base de Schiff n'avait été décrit, nous avons envisagé la préparation et l'encapsulation du dérivé de type IM₂ (schéma 2) suivi par une étude cinétique en milieu hétérogène reconstitué de pH 1,2 à 37 °C.

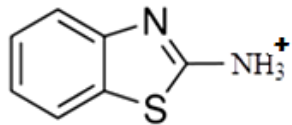
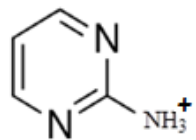
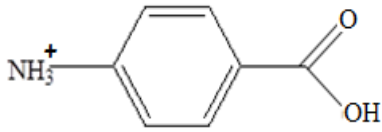
II.5. Particules libérées : Recherche de l'espèce majoritaire des principes actifs au pH d'étude 1,2

Avant de décrire la libération des principes actifs à partir des microsphères chargées et plongées dans le milieu reconstitué pH = 1,2 à 37°C, il nous faut préciser la composition exacte des solutions étudiées. Cette étude préliminaire permettra ensuite de suivre par UV-Vis l'évolution des concentrations en principes actifs libérés au cours du temps. L'étude bibliographique permet de relever les pK des principes actifs étudiés [122, 147, 148] :

- 2-aminobenzothiazole 2-ABZT : pK₁ = 4,51.
- 2-Aminopyrimidine 2-AP : pK'₁ = 3,90.
- L'acide *p*-aminobenzoïque PABA : pK''₁ = 2,50 ; pK''₂ = 4,87.

II.5.1. Étude dans le milieu gastrique reconstitué à pH = 1,2 :

Tableau 4 : Les formes prédominantes des principes actifs libérés dans le milieu d'étude pH = 1,2.

Principe actif (PA)	pK	Etats des substituants de la particule diffusante	Composé majoritaire à pH 1,2
2-aminobenzothiazole (2-ABZT)	4,51	-NH ₃ ⁺	
2-Aminopyrimidine (2-AP)	3,90	-NH ₃ ⁺	
L'acide <i>p</i> -aminobenzoïque (PABA)	2,50 4,87	-NH ₃ ⁺	

Généralités sur les principes actifs étudiés

L'application de l'équation d'Henderson aux pH d'étude et des pK correspondant permet de connaître la composition des solutions étudiées pour chaque principe actif comme indiqué sur le Tableau 4.

Au pH = 1,2 la particule quasiment majoritaire est celle protonée sur la fonction amine ($-\text{NH}_3^+$). Ainsi la libération des trois principes actifs sera étudiée sur la bande UV-VIS des particules protonées.

CHAPITRE III

PARTIE EXPERIMENTALE

Introduction:

La préparation de bases de Schiff a fait l'objet d'un nombre considérable de travaux au cours de ces dernières années [124-128]. Des articles de la littérature indiquent que les bases de Schiff possèdent un large champ d'activité biologique et plus particulièrement dans le domaine anti-inflammatoire et analgésique [128-139].

Aussi, avons-nous envisagé de synthétiser de nouvelles molécules en condensant le *p*-vinylbenzaldéhyde (*p*-VBA) sur les amines primaires modèles : 2-aminobenzothiazole et 2-aminopyrimidine, pour atteindre les composés s'apparentant aux alkyl/arylidène-2-amine particulièrement intéressants sur le plan pharmacologique.

L'utilisation de polymères dans l'industrie galénique comme supports ou vecteurs de molécules actives a fait l'objet d'une incontestable activité de recherche et d'un développement croissant en raison des diverses applications thérapeutiques [146].

La délivrance contrôlée de composés bioactifs à partir de supports polymères devra obligatoirement répondre au cahier de charges exigé par les applications biomédicales dont principalement la biocompatibilité et la biofonctionnalité. Pour cela plusieurs techniques de libération du principe actif (PA) sont décrites. On citera entre autres:

- (a) La dispersion du PA dans une matrice polymère mise en forme de plaques, sphères ou gélules [125].
- (b) Le greffage via un espaceur, tel le phényl, du PA sur une macromolécule hydrosoluble [133] ou non [131,146], par l'intermédiaire de liaisons facilement hydrolysables (ester, azométhine, amide).

Les systèmes de dernière génération font appel aux nanotechnologies et à la microencapsulation [71,73,86] pour un meilleur contrôle de la libération et de la distribution des molécules actives. Ces derniers apportent une nette amélioration de la vectorisation de (PA) vers le site ciblé à traiter avec étalement de l'action au cours du temps.

La fonction imine -CH=N- a été choisie comme "liaison labile" d'accrochage d'amines primaires au *p*-VBA. Le choix de cette dernière se justifie par son hydrolyse aisée

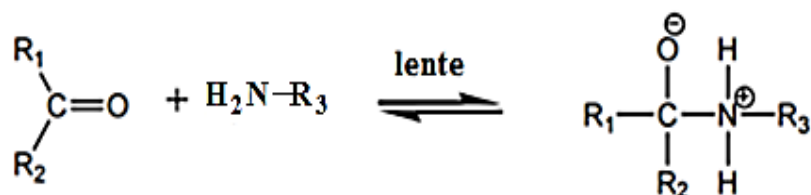
et par l'existence de nombreux médicaments sous forme d'amine primaire. Cependant, en recherche médicamenteuse, il est impératif de disposer de composé constitué d'un seul isomère **méta** ou **para** demandé par les tests pharmacologiques *in vitro* et *in vivo* sur la molécule de départ. Le *p*-vinylbenzaldéhyde, qui est un des seuls monomères en chimie macromoléculaire porteur d'un groupe aldéhyde, semble être idéal car c'est un isomère pur constitué d'un site éthylénique facilement polymérisable.

L'objectif du présent travail s'inscrit aux points (a) et (b) pour une étude comparative de la libération de la 2-aminobenothiazole (**2-ABZT**) et la 2-aminopyrimidine (**2-AP**), molécules modèles à partir des différentes formulations « **Microsphères** » dans le milieu gastrique reconstitué pH 1,2 à 37 °C.

- **Rappels des méthodes de synthèse d'imines**

C'est Schiff qui est à l'origine de la synthèse d'imines par condensation des amines primaires avec les aldéhydes ou les cétones. Les études cinétiques sont en accord avec un mécanisme à deux étapes (Schéma 3).

1^{ère} étape



2^{ème} étape

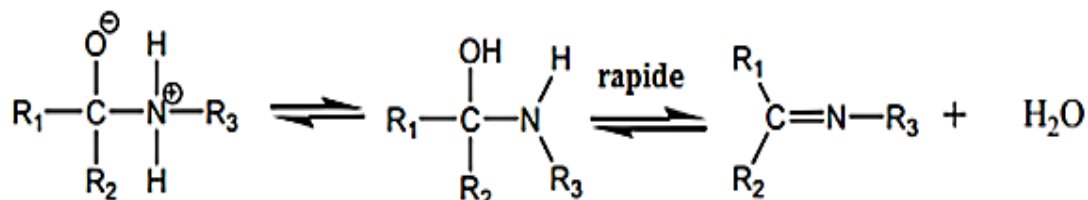


Schéma 3.

A partir des diverses approches synthétiques publiées, nous avons envisagé de mettre au point une méthode générale d'accès aux composés suivants:

- 4-vinylbenzaldéhyde **p-VBA**;
- N-4-vinylbenzylidène-2-aminobenzothiazole **IM₁**;
- N-4-vinylbenzylidène-2-aminopyrimidine **IM₂**.

III. I. Synthèse et caractérisation des bases de Schiff styréniques :

Toutes ces synthèses supposent la préparation préalable du *p*-vinylbenzaldéhyde (*p*-VBA).

III.I.1. Synthèse et caractérisation du *p*-vinylbenzaldéhyde (*p*-VBA)

- 1. Synthèse du (*p*-VBA)

La synthèse du *p*-vinylbenzaldéhyde a été effectuée à partir du *p*-chlorométhylstyrène (*p*-CMS) commercial, selon la méthode de Sommelet [140].



Schéma 4.

0,25 mole de *p*-CMS est mélangé à 0,5 mole d'hexaméthylènetétramine (HMTA) dans un bicol de 500mL muni d'un réfrigérant. On y verse ensuite dans ce mélange des volumes équivalents (104,2 mL) en acide acétique glacial et d'eau distillée, ceci en présence de traces d'antioxydant 2,6-ditertiobutylcatéchol pour protéger la double liaison vinylique. Ce mélange est maintenu à reflux pendant 2 heures sous une forte agitation. Le mélange est additionné de 100 mL d'acide chlorhydrique concentré tout en maintenant le reflux encore pendant 15 minutes. Le lavage de la phase organique jaunâtre extraite à l'éther est répété avec une solution aqueuse de Na₂CO₃ et avec l'eau jusqu'à un pH neutre. La phase organique est filtrée sur Na₂SO₄ anhydre pour éliminer les traces de l'eau. Après évaporation de l'éther, on récupère une huile légèrement verdâtre qui est purifiée par distillation sous pression réduite/azote liquide (P = 1 mmHg) (rendement : 54%).

• 2. Caractérisations du (*p*-VBA)

La structure a été établie sur la base des caractéristiques spectroscopiques. Nous examinerons successivement ces diverses données spectrales et à titre d'illustration, nous avons représenté sur les Figures 18-20 les spectres UV, IR et RMN ^1H du *p*-VBA.

- Les spectres de RMN du proton ^1H ont été enregistrés sur un appareil Bruker à 400 MHz, au Laboratoire de Chimie des polymères à l'Université de Es-Sénia (Oran).
- Spectroscopie infrarouge (IR) : Les spectres d'infrarouge (IR) ont été réalisés à l'aide d'un spectromètre « Bruker Alpha IFS 110 » au Laboratoire de Chimie des Polymères à l'Université de Es-Sénia (Oran).
- Les spectres IR des monomères supports bases de Schiff ont été relevés sur pastilles de KBr sur le spectrophotomètre Jasco FTIR 4200 à l'Université de Es-Sénia (Oran).
- Les spectres UV-VIS ont été réalisés à l'aide d'un spectrophotomètre « Shimadzu UV-2401 PC » et les points de fusion ont été déterminés à l'aide d'un appareil Buchi 510 au Centre de Mesures (CMFSE) de l'Université de Sidi-Bel-Abbès.

2.1. Spectroscopie Ultra-violet UV-VIS du (*p*-VBA) :

Le spectre UV-VIS du dérivé *p*-VBA présente trois bandes d'absorption dans la région 200-300 nm et le maximum d'absorption est à $\lambda = 282$ nm avec un coefficient d'extinction molaire de l'ordre de $20000 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{L} \cdot \text{cm}^{-1}$ (Figure 18).

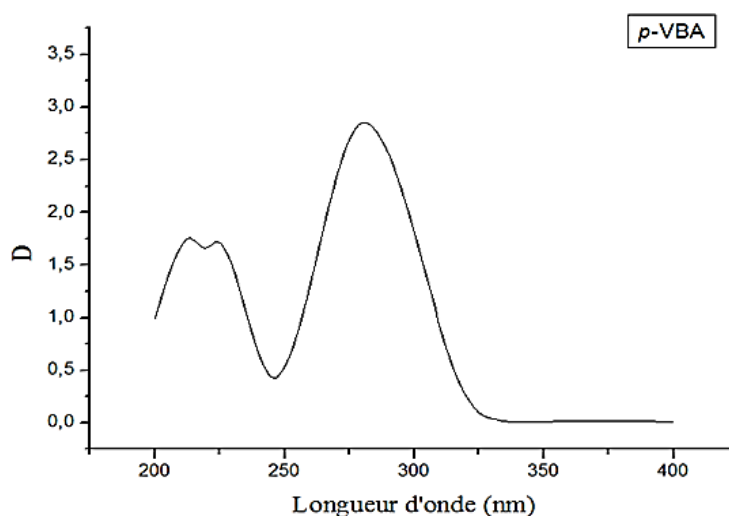


Figure 18. Spectre d'absorption UV-VIS du *p*-vinylbenzaldéhyde dans l'éthanol absolu ($C = 10^{-4} \text{ Mole/L}$).

2.2. Spectroscopie Infra-Rouge

Le spectre infra-rouge du *p*-vinylbenzaldéhyde présente une bande d'absorption intense et caractéristique de la fréquence de vibration du carbonyle vers $1691,67\text{ cm}^{-1}$ et deux bandes moyennes à $2827,78\text{ cm}^{-1}$ et $2735,23\text{ cm}^{-1}$ correspondants à la vibration de valence de la liaison C-H du groupe aldéhyde. Le groupe vinyle est aisément décelé grâce aux bandes intenses observées à $1600,28\text{ cm}^{-1}$, $988,48$ et $918,52\text{ cm}^{-1}$, attribuables respectivement à la vibration de valence de la double liaison C=C et aux vibrations de déformation hors du plan des liaisons =C-H et =CH₂. L'absorption intense située à 840 cm^{-1} due à la vibration de déformation de la liaison C-H, les deux bandes à $1564,81\text{ cm}^{-1}$, $1508,20\text{ cm}^{-1}$ et $1386,78\text{ cm}^{-1}$ bandes de vibrations des doubles liaisons C=C aromatique, ainsi qu'une faible bande à 3008 cm^{-1} (ν C-H) nous confirment, un cycle benzénique *para* disubstitué (Figure 19).

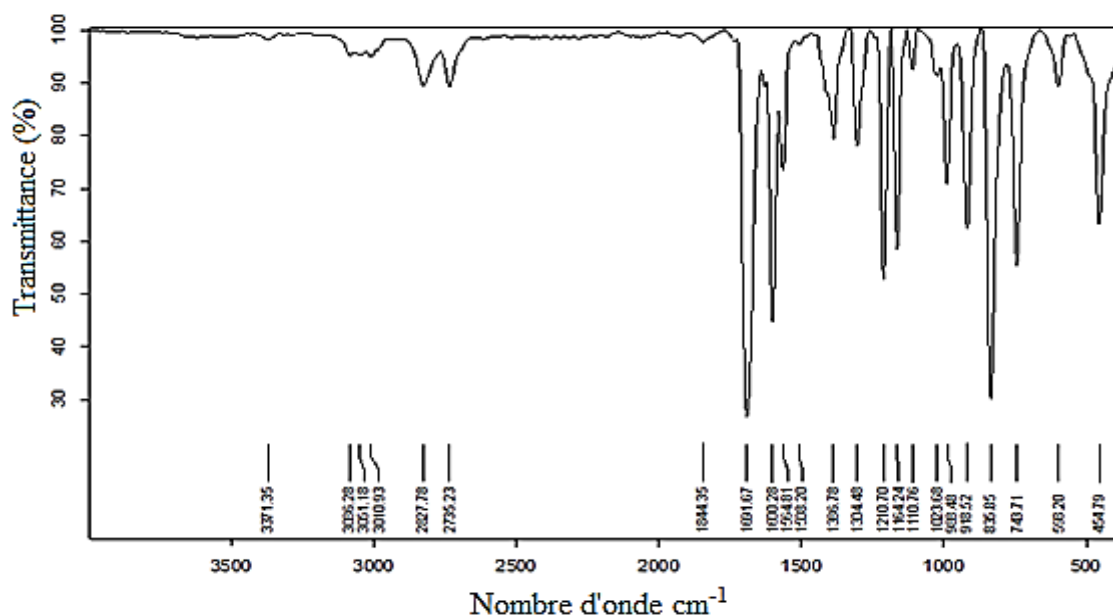


Figure 19. Spectre IR du *p*-VBA huile pure.

• **Spectre IR :** (*p*-VBA) huile pure : 2735 et 2827 cm^{-1} (H-C=O), $1691,67\text{ cm}^{-1}$ (C=O) bande d'élongation forte, $1600,28\text{ cm}^{-1}$ (C=C, vinyle), $988,48$ et $918,52\text{ cm}^{-1}$ (=C-H), $3008,41$ et $835,85\text{ cm}^{-1}$ ($\phi - \text{H}$) (Figure 19).

2.3. Spectroscopie RMN ^1H

L'examen du spectre RMN ^1H confirme sans ambiguïté la structure du composé *p*-VBA (Figure 20).

On observe sur le spectre RMN ^1H du *p*-VBA, un singulet situé à $\delta = 10\text{ ppm}$ dû au proton

aldéhyde. Le cycle benzénique para-disubstitué apparaît sous la forme de deux doublets centrés à 7,70 ppm et 7,94 ppm, donnant ainsi l'allure d'un système AA'XX'. On note également deux doublets vers $\delta = 5,49$ ppm et $\delta = 6,05$ ppm attribuables aux protons vinyliques H₅, H₆. Le proton vinylique H₄, couplé avec les protons H₅ et H₆ apparaît sous forme de doublet dédoublé vers $\delta = 6,85$ ppm.

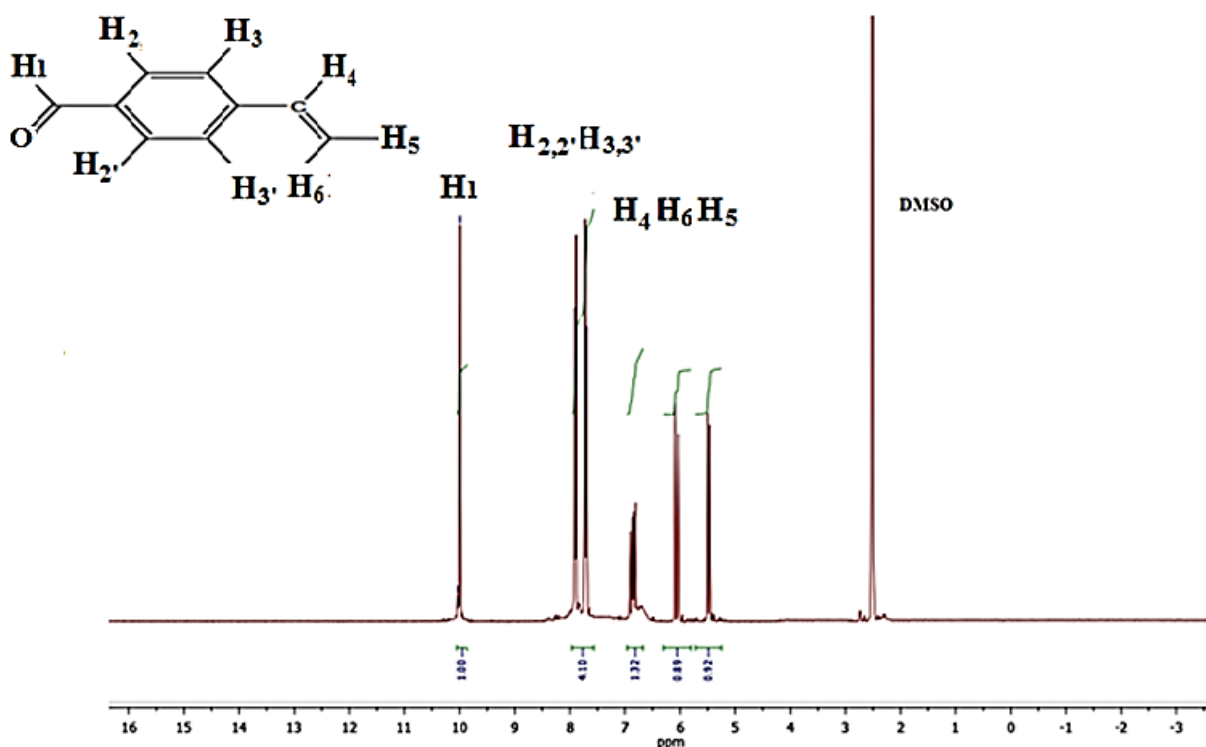


Figure 20. Spectre RMN ^1H (DMSO) du *p*-vinylbenzaldéhyde.

III.I.2. Synthèse et caractérisation de la *N*-(*p*-vinylbenzylidène)-2-aminobenzothiazole (IM₁)

1. Synthèse

Le mélange équimolaire de *p*-VBA (0,02 mole) et de l'amine 2-ABZT (0,02 mole) est chauffé à reflux dans un ballon muni d'un DEAN-STARK dans le benzène comme solvant ($t_{\text{eb}} = 79^\circ\text{C}$) en présence de traces d'antioxydant 2,4- ditertiobutylcatéchol et du catalyseur acide *p*-toluène sulfonique (APTS) (Figure 21) : Le mélange est porté au reflux durant 6 heures. La réaction est arrêtée après récupération dans le collecteur de la quantité d'eau théorique prévue. Après refroidissement, on élimine le solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu est recristallisé plusieurs fois dans l'éthanol absolu.

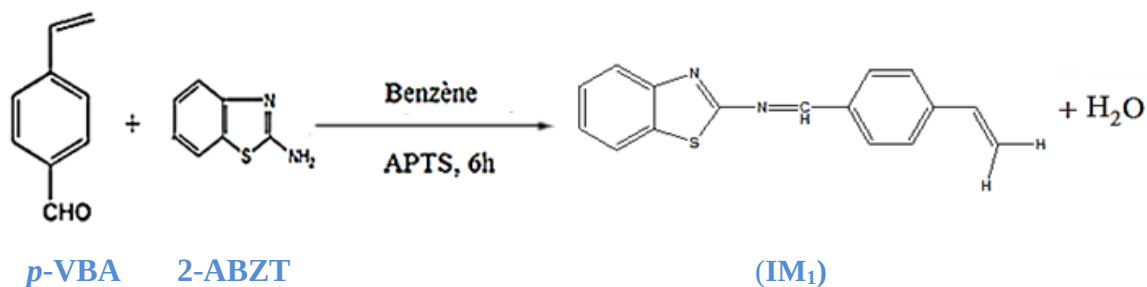


Figure 21. Synthèse de la base de Schiff IM_1 .

2. Caractérisations du composé IM_1

La détermination structurale de la base de Schiff styrénique (IM_1) est basée sur l'analyse critique des spectres UV-VIS, IR et RMN ^1H .

2.1. Spectroscopie Ultra-violet UV-VIS

Le spectre UV-VIS du composé (IM_1) (Figure 22) présente trois bandes d'absorption dans la région 200-300 nm et la bande d'absorption analytique est à $\lambda_{\text{analytique}} = 350 \text{ nm}$.

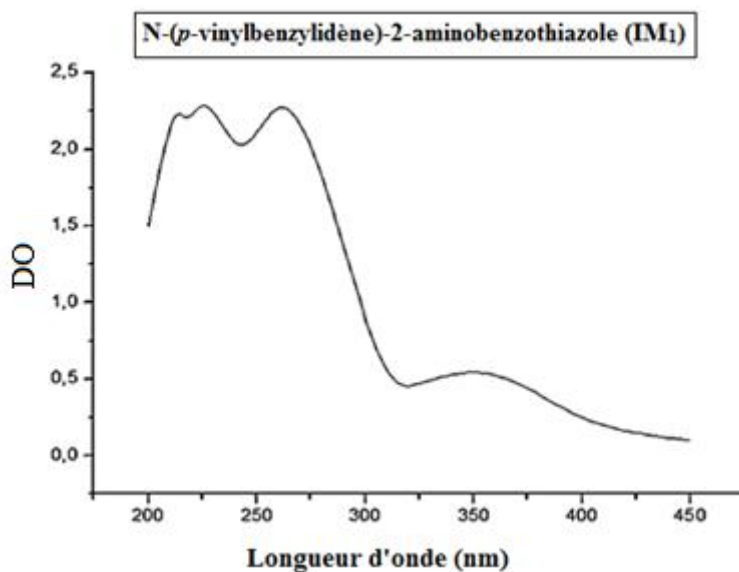


Figure 22. Spectre d'absorption UV-VIS de (IM_1) dans l'éthanol absolu à 37°C et à la concentration $C = 10^{-4} \text{ Mole/L}$.

2.2. Spectroscopie Infra-Rouge

Le spectre Infra-Rouge de (IM_1) est reporté sur la Figure 23.

Le spectre montre des bandes intenses et caractéristiques du monomère (IM_1) suivantes : C-H aromatiques (vibration de valences) à $3002\text{-}3080,18 \text{ cm}^{-1}$; la présence des bandes de

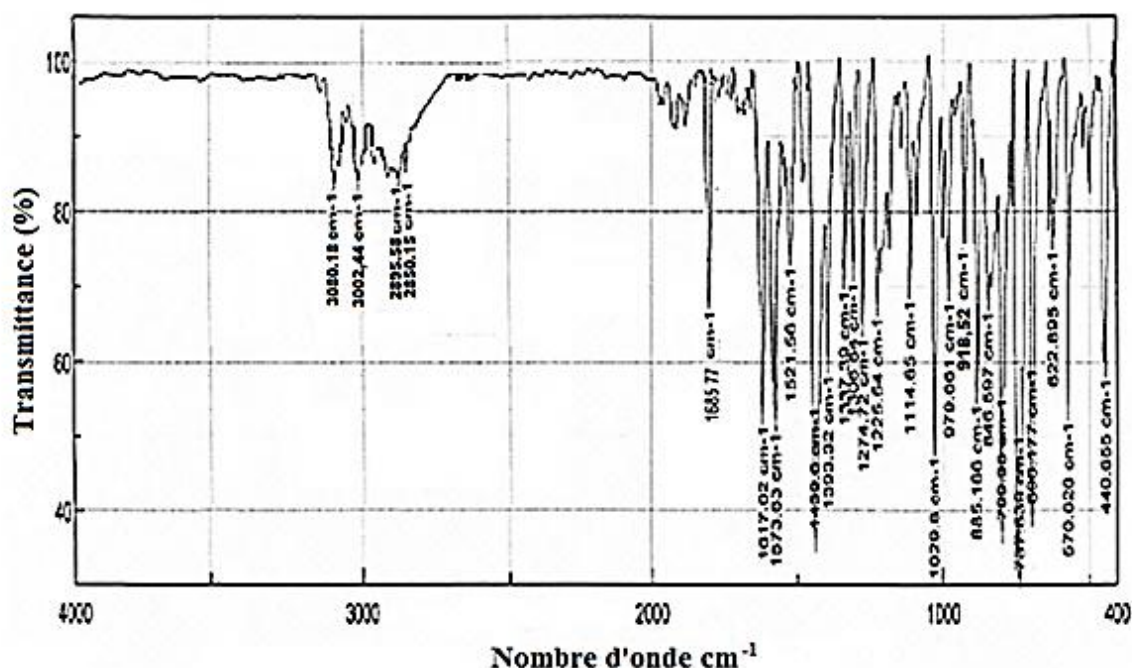


Figure 23. Spectre IR du monomère (IM_1) 4-N-vinylbenzylidène-2-aminobenzothiazole.

vibration de valence et de déformation hors plan des liaisons vinyliques ($=\text{C}-\text{H}$) et ($=\text{CH}_2$) à : 918,52 ($=\text{CH}_2$), 979,88 cm^{-1} ($=\text{C}-\text{H}$) et à 2847,38 cm^{-1} ; ($\text{N}=\text{C}-\text{H}$) à 2850,15-2995,58 cm^{-1} ; la fréquence vibrationnelle ($\nu\text{C}=\text{N}$, imine) de la fonction imine apparaît vers 1685,77 cm^{-1} [150]; ($\text{C}=\text{N}$) du noyau thiazole vers 1617,02 cm^{-1} ; ($\text{C}=\text{C}$) aromatique (valences) à 1521,58 et 1573,63 cm^{-1} .

2.3. Spectroscopie RMN ^1H

Le spectre RMN ^1H de la base de Schiff (IM_1) est reporté sur les Figure 24.

Le spectre RMN ^1H montre qu'il est constitué d'un signal singulet vers 9,12 ppm est attribuable au proton du groupe aldimine ($-\text{CH}=\text{N}-$).

Un doublet apparaît vers 8,18 ppm, ce signal est celui du proton H_4 . Un autre doublet vers 7,93 est celui du proton H_7 .

Le proton H_6 se présente sous forme d'un triplé vers 7,15 ppm.

Par ailleurs, le proton H_5 couplé à la fois à H_4 et à H_6 apparaît sous forme d'un seul triplé vers 7,36 ppm.

En effet, on observe un doublet dédoublé vers 6,87 ppm attribuable au proton vinylique H_{11} .

Les protons H_{12a} et H_{12a}' couplés avec H_{11} , résonnent vers 5,52 ppm et 5,96 ppm.

Les deux doublets centrés à 7,63 et 7,54 ppm correspondent aux protons benzéniques H_9 , H_9' , H_{10} et H_{10}' donnant ainsi l'allure d'un système $AA'XX'$.

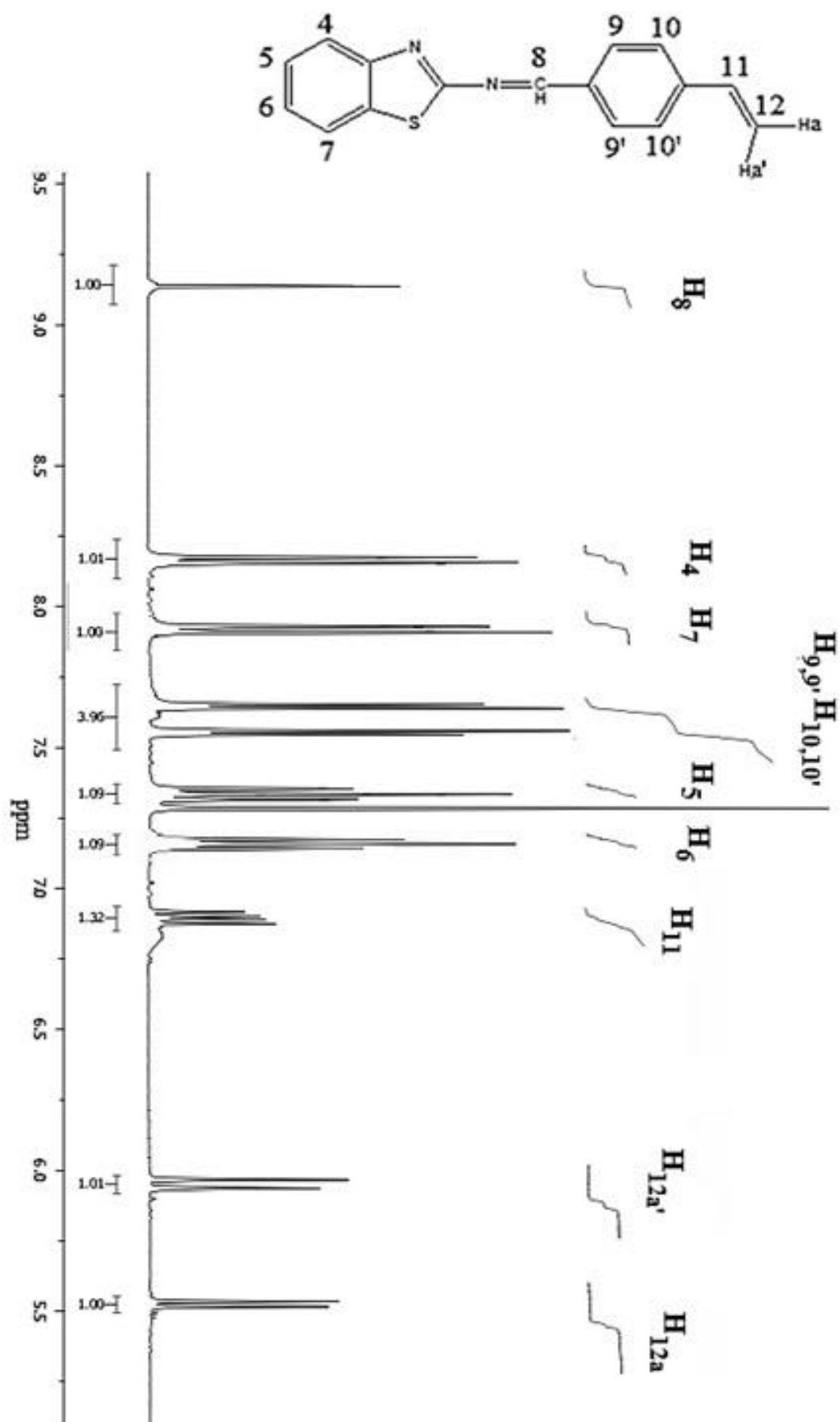


Figure 24. Spectre RMN ^1H élargi (CDCl₃) de la base de Schiff N-(4-vinylbenzylidène)-2-aminobenzothiazole (1M1).

Les caractéristiques RMN ^1H pour l'aldimine (**IM₁**) sont résumées dans le Tableau 5.

Tableau 5. Caractéristiques RMN ^1H de la base de Schiff (**IM₁**).

Produit	δ (ppm)	Multiplicité	Fonction
(IM₁)	5,52 – 5,96	2d	$\text{CH}_2 = \text{CH}-$
	6,80 – 6,89	dd	$\text{CH}_2 = \text{CH}-$
	7,12 – 8,25	pour les 8 H des deux phényles	
	9,12	S	$-\text{CH}=\text{N}-$

III.I.3. Synthèse et caractérisation de la base de Schiff N-(*p*-vinylbenzylidène)-2-aminopyrimidine (**IM₂**)

1. Synthèse

La 2-aminopyrimidine est soluble dans l'éthanol absolu et pratiquement insoluble dans le benzène et le toluène. Ainsi, le mélange équimolaire de *p*-VBA (0,02 mole) et de l'amine 2-AP (0,02 mole) est chauffé à reflux dans un ballon muni d'un réfrigérant dans l'éthanol absolu comme solvant en présence de traces d'antioxydant 2,4-ditertiobutylcatéchol et du catalyseur acide *p*-toluène sulfonique (APTS) (Figure 25). Le mélange est porté au reflux durant 6 heures. Après refroidissement, on élimine le solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif. Le résidu est recristallisé plusieurs fois dans l'éther de pétrole. Les résultats de cette étude sont reportés dans le Tableau 6.

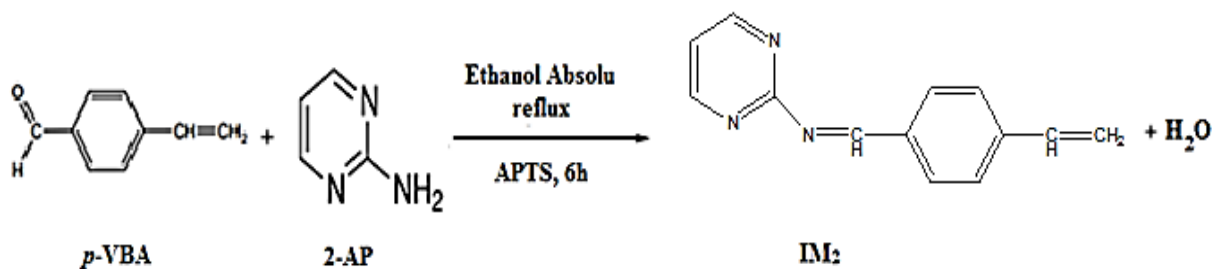


Figure 25. Synthèse de la base de Schiff **IM₂**.

Tableau 6. Procédures et rendements d'obtention des produits **IM₁** et **IM₂**.

Produits	Durée (H)	Aspect et couleur	Rendement (%)	P _f (°C)
IM₁	6	Poudre jaunâtre	58	104
IM₂	6	Poudre beige	72	165

P_f : Points de fusion (°C).

2. Caractérisation de la base de Schiff (**IM₂**)

La détermination structurale de la base de Schiff styrénique (**IM₂**) est basée sur l'analyse critique des spectres UV-VIS, IR et RMN ¹H.

2.1. Spectroscopie Ultra-violet UV-VIS

Le spectre UV-VIS du composé (**IM₂**) (Figure 26) présente les trois bandes d'absorption dans la région 200-300 nm ($\lambda_{\text{analytique}} = 374 \text{ nm}$).

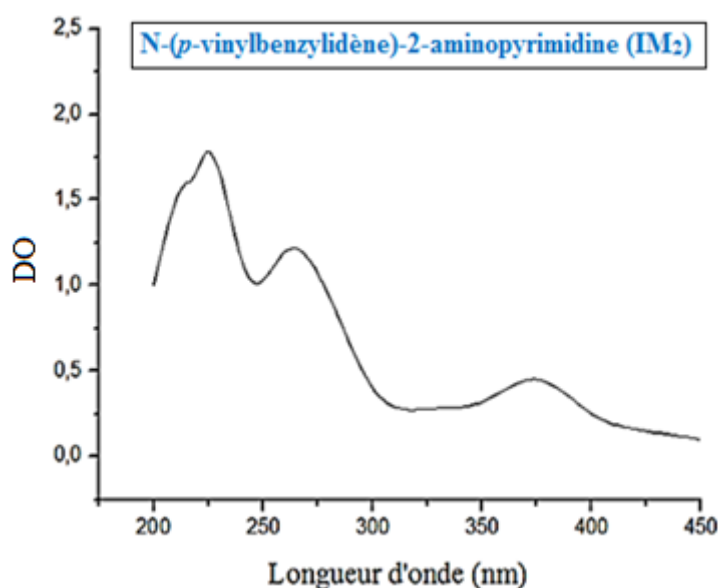


Figure 26. Spectre d'absorption UV-VIS du composé (**IM₂**) dans l'éthanol absolu à 37°C et à la concentration $C = 10^{-4} \text{ Mole/L}$.

2.2. Spectroscopie Infra-Rouge

On relève du spectre IR du monomère (**IM₂**) (Figure 27) les bandes caractéristiques

suivantes : C–H aromatiques (vibration de valences) à 3008-3091,6 cm^{-1} ; C=N de l'imine (bande de valence) apparaît à 1622 cm^{-1} ; C=C aromatique à 1473-1576 et à 1604,7 cm^{-1} ; (C=N) amine aromatique à 1250 cm^{-1} ; La présence des bandes de vibration de valence et de déformation hors plan des liaisons vinyliques =C–H et =CH₂ à 991,3 et à 905,5 cm^{-1} .

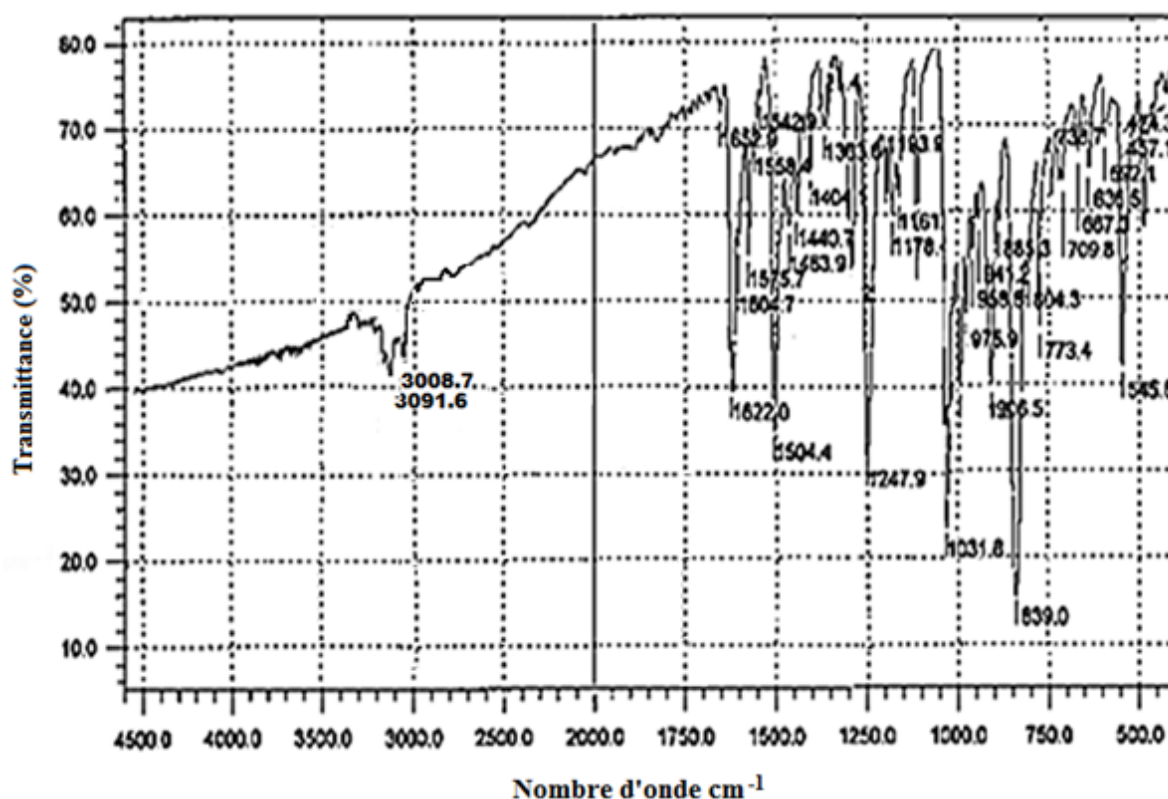


Figure 27. Spectre IR du monomère N-(p-vinylbenzylidène)-2-aminopyrimidine (**IM**₂).

2.3. Spectroscopie RMN ¹H

Sur la Figure 28 est représenté le spectre RMN ¹H du produit (**IM**₂) pour illustration.

Le spectre RMN ¹H global (0,0-10,0 ppm) (**IM**₂) contient le singulet (**H**₁) à $\delta = 9,01$ caractéristique du groupe aldimine (–CH=N–), comme le confirme le spectre élargi (5,25-9,25 ppm) de la Figure 28.

Les caractéristiques RMN ¹H pour l'aldimine (**IM**₂) sont regroupées dans le Tableau 7.

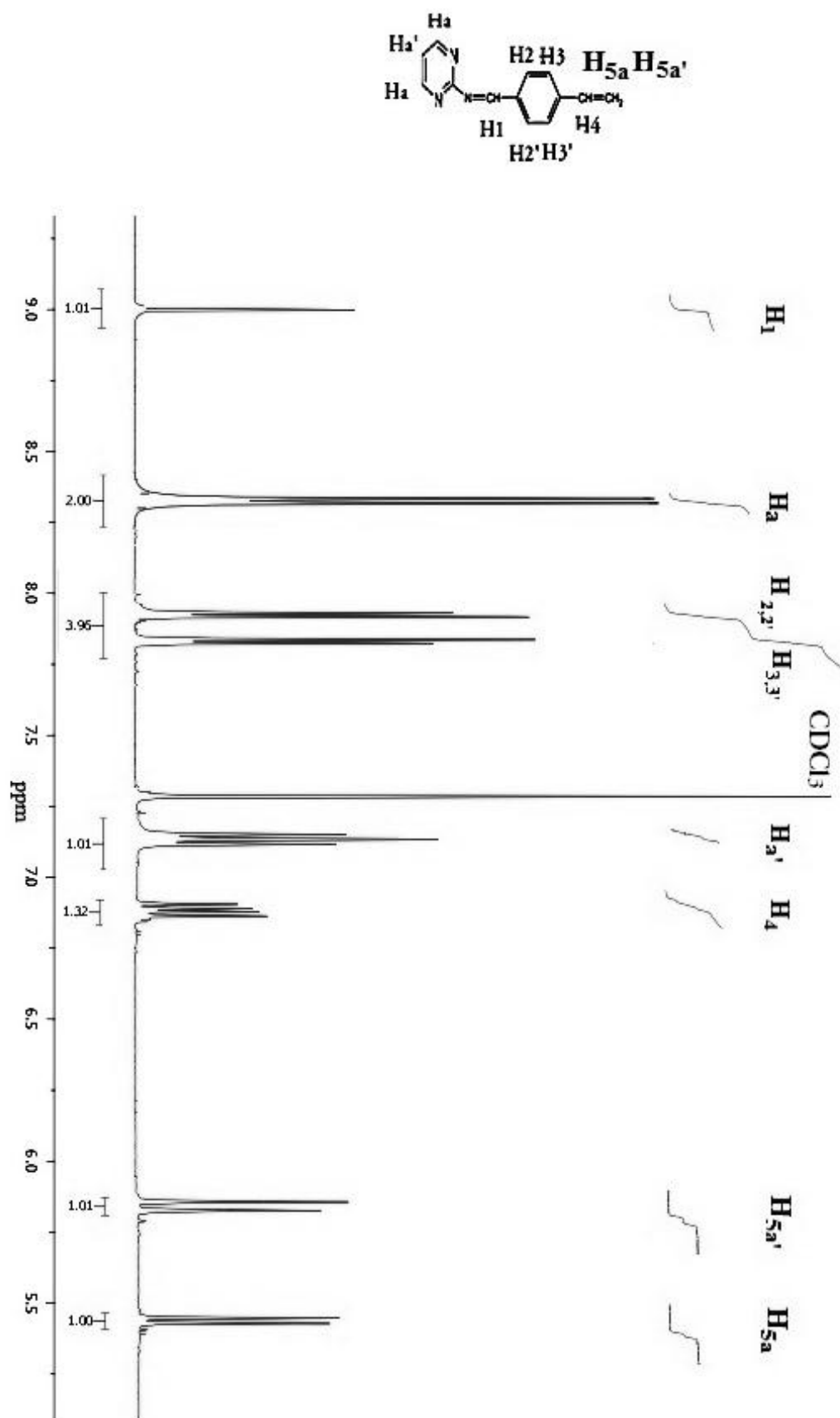


Figure 28. Spectre RMN 1H (CDCl₃) élargi de la N-(p-vinylbenzylidène)-2-aminopyrimidine (**IM2**).

Tableau 7. Caractéristiques RMN ^1H de la base de Schiff (**IM**₂).

Produit	δ (ppm)	Multiplicité	Fonction
(IM₂)	8,33	<i>d</i>	Ha
	7,13	<i>t</i>	Ha'
	9,01	<i>S</i>	-CH=N-
	5,43 – 5,84	2d	CH ₂ = CH-
	6,76 – 6,85	<i>dd</i>	CH ₂ = CH-
	7,82-7,96	Pour les 4H du phényle	

III.II. Microencapsulation

Introduction

Le présent travail consiste à établir des formulations Microsphères de la 2-amino-benzothiazole (**2-ABZT**), de la 2-aminopyrimidine (**2-AP**), des monomères supports **IM₁** et **IM₂** *p*-aminobenzoïque acide (**PABA**), dans des matériaux dérivés de la cellulose. par le procédé de par simple/double-émulsion évaporation de solvant avec des caractéristiques définies. Ainsi, les Microsphères attendues doivent obéir à un certain nombre de critères notamment la sphéricité, la surface, la porosité et la vitesse de libération du principe actif encapsulé.

Pour chaque méthode de synthèses adoptée, les conditions et les paramètres de préparation étudiés sont donnés et leurs effets sur les caractéristiques des Microsphères obtenues sont discutés. Les résultats sont présentés séparément pour chacun des trois principes actifs étudiés.

Il existe plusieurs méthodes de microencapsulation par évaporation de solvant. Le choix de la techn encapsuler [71, 80-101].

:

- Microencapsulation par **simple** émulsion-évaporation de solvant :

la 2-aminobenzothiazole (**2-ABZT**) et *p*-aminobenzoïque (**PABA**) qui sont faiblement solubles (PABA : 1g / 170 mL à 25 °C).

- Microencapsulation par **double** émulsion-évaporation de solvant :

La méthode la 2-amino-pyrimidine (**2-AP**) et des monomères supports imines : **IM₁** et **IM₂** préparées.

III.II.1. MATERIELS ET METHODES :

III.II.1. Produits utilisés

a. Principes actifs (PA):

❖ Principe actifs (PA) sous forme pure (libre) :

- La 2-aminobenzothiazole 2-ABZT, pureté > 97 %, Fluka Chemicals.
- La 2-aminopyrimidine 2-AP, pureté > 97 %, Fluka Chemicals.
- *p*-aminobenzoïque PABA, pureté 99%, Chemical, China.

❖ Principes actifs (PA) sous forme engagée (greffée) :

- Les bases de Schiff synthétisées: **IM₁** et **IM₂** (les monomères supports de PA synthétisées p. 55 et 59).

b. Les polymères matrices utilisés dans le procédé de Microencapsulation

- Ethyl Cellulose (EC10): éthoxylé à 48 %. Viscosité = 10 mPas à 5% dans une solution de Toluène/Ethanol 80:20, Sigma-Aldrich (USA).
- Cellulose acétate butyrate (CAB): Sigma-Aldrich.

c. Les tensioactifs (surfactants)

- Polyvinylalcohol (PVA) hydrolysé à 87-89 %, M_w 13000-23000, Aldrich.
- Polyéthylène Glycol sorbitan monooléate (Tween 80), Aldrich.

d. Les solvants organiques

- Dichlorométhane (DCM): CH₂Cl₂; Densité: 1,32; M = 84,93 g/Mol 99%.
Température T_{éb} = 39-40 °C, Sigma-Aldrich.
- Ethanol absolu 99,9 %, Sigma-Aldrich.

e. Autres

- Eau bi-distillée (pH 5,5 ±0,5).
- N.

III.II.2. Méthodes et conditions expérimentales de synthèse des Microsphères par « Microencapsulation »

III.II.2.1. Microencapsulation par simple-émulsion évaporation de solvant :

III.II.2.1.1. Dispositif expérimental

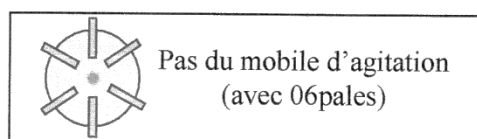
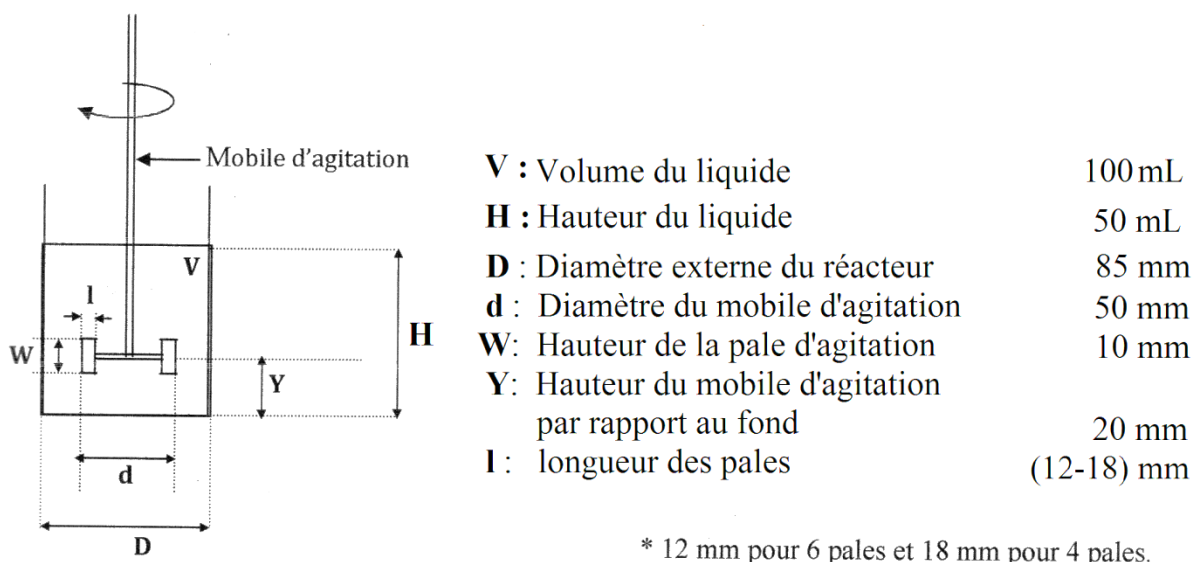


Figure 29. Dispositif expérimental de la méthode

III.II.2.1.2. Synthèse des Microsphères chargées de la 2-ABZT par le procédé de « simple émulsion-évaporation de solvant (o/w) » :

Le procédé expérimental adopté pour la préparation des Microsphères F₁ chargées en **2-ABZT** se déroule selon les étapes suivantes :

La solution aqueuse en PVA (100 mL de PVA à 1%) constituant la phase continue de est préparée par dissolution sous forte agitation et chauffage PVA comme tensioactif (1g) dans 100 mL . En parallèle, la phase organique (dispersée) est préparée par dissolution sous léger chauffage à reflux (30 °C) et agitation de 1 g du polymère matriciel Ethylcellulose (EC) et de 0,5 g du principe actif **2-ABZT** dans 32 g de solvant organique Dichlorométhane (DCM).

Microsphères est observée par Microscopie Optique (MO). Les Microsphères formées durcissent et deviennent plus rigides à 600 rpm. Le réacteur (Figure 29) est équipé de la 2-ABZT par simple émulsion-évaporation du 2-ABZT dans le 2-ABZT. Le réacteur est équipé de 6 pales.

❖ Les paramètres et les conditions expérimentales ci-dessus, sont adoptés pour **2-ABZT** Microsphères.

Le pourcentage du polymère EC dans la phase organique dispersée
%Pol./Sol. = 3,125 % dans le solvant dichlorométhane (**DCM**);

La phase aqueuse : le **PVA** comme tensioactif est dissout dans 100 mL déminéralisée (**1% PVA**).

III.II.2.2. Microencapsulation par double-émulsion évaporation de solvant (w/o/w):

III.II.2.2.1. Dispositif expérimental

Le même type de dispositif (Figure 29) est utilisé pour la mesure de la viscosité d'une émulsion-
 itateur utilisant un

III.II.2.2.2. Synthèse des microsphères chargées de principe actif hydrosoluble par le procédé de « double émulsion-évaporation de solvant (w/o/w) » :

composés hydrosolubles: le principe actif **2-aminopyrimidine (2-AP)** et les imines synthétisées : **IM₁** et **IM₂**, a été réalisée par la technique de **double émulsion-évaporation de solvant (w/o/w)**.

Le réacteur (Figure 29) de la **2-AP**, **IM₁** et **IM₂**.
6 pales.

Les formulations des Microsphères chargées en principes actifs **F₂ (IM₁)**, **F₃ (2-AP)** et **F₄ (IM₂)** ont été préparées selon les étapes suivantes :

La solution aqueuse en PVA est préparée
par la dissolution de 1 g du PVA dans 100 mL (1% PVA).

La phase organique est préparée par dissolution sous léger chauffage à reflux (30 °C) et agitation de 1 actif à encapsuler dans 32 g de dichlorométhane (DCM).

permutée (pH 5,5) à la solution organique.

Cette émulsion primaire (w/o) est ensuite dispersée rapidement dans un bêcher (600 mL, Ø = 80 mm) contenant 100 mL de la solution aqueuse de PVA (1%) préalablement

2 heures afin de maintenir les microparticules en suspension et pour une évaporation complète du solvant (DCM).

Les Microsphères
eau, et séchées .

NB Les Microsphères **F₂**, **F₃** et **F₄** chargées des principes actifs hydrosolubles (**IM₁**, **2-AP** et **IM₂**) es dans les piluliers et stockées dans un dessiccateur sous vide statique contenant du CaCl₂.

La composition des Microsphères fabriquées est résumée dans le Tableau 8.

F₂, **F₃** et **F₄**, on a fixé
constant le rapport massique entre le principe actif et le polymère EC

(%PA/EC = 33,33%) dans la phase organique. Ainsi, la quantité de solvant utilisé dans la phase organique interne est gardé constante $m_{DCM} = 32 \text{ g}$, pour la phase aqueuse externe, la concentration en tensioactif est 1 %PVA

massique entre les deux phases de 32%. Le pourcentage du polymère EC dans la phase organique dispersée %EC/Sol. = 3,125 % dans le solvant dichlorométhane (DCM). La (N) a été fixée à 600 rpm.

Tableau 8. Conditions opératoires et compositions des diff des principes actifs et des monomères supports dans des formulations Microsphères en matrice (F₁-F₄).

Code de la Formulation	Phase organique			Phase aqueuse	Agitation	
	Principe actif PA ou composé	Masse (g)	%EC/Sol.	Concentration PVA, %	Vitesse d'agitation N (rpm)	Durée (h)
F ₁	2-ABZT	0,5	3,125	1	600	2
F ₂	IM ₁	0,5	3,125	1	600	2
F ₃	2-AP	0,5	3,125	1	600	2
F ₄	IM ₂	0,5	3,125	1	600	2

Les principes actifs 2-AP et 2-ABZT ont été encapsulés à la fois sous leur forme pure et greffés sur un monomère styrénique *p*-vinylbenzaldéhyde (les imines IM₁ et IM₂ composés avec les mêmes paramètres du procédé afin de pouvoir comparer les résultats.

oires physico-chimiques sur les caractéristiques des Microsphères obtenues (la taille, la morphologie et la teneur en matière active) et sur la vitesse de libération du principe actif dans un milieu gastrique reconstitué pH 1,2 a été étudiée.

III.II.3. Méthodes d'analyses et de caractérisation des Microsphères préparées

III.II.3.1. Dosages des principes actifs par spectrophotométrie UV-VIS

UV- à la longueur
principe actif .

III.II.3.1.1. Dosage de la 2-aminobenzothiazole (2-ABZT)

a. Recherche de $\lambda_{\text{analytique}}$ de l'agent actif

de la 2-ABZT dans le milieu

$\lambda_{\text{analytique}}$ ". Cette valeur est maintenue constante pour toutes les mesures qui sont faites dans le même milieu.

de la 2-ABZT dans le milieu pH 1,2 est présenté sur la Figure 30. a été établie à

est maximale $\lambda_{\text{analytique}} = 285 \text{ nm}$ (Figure 31).

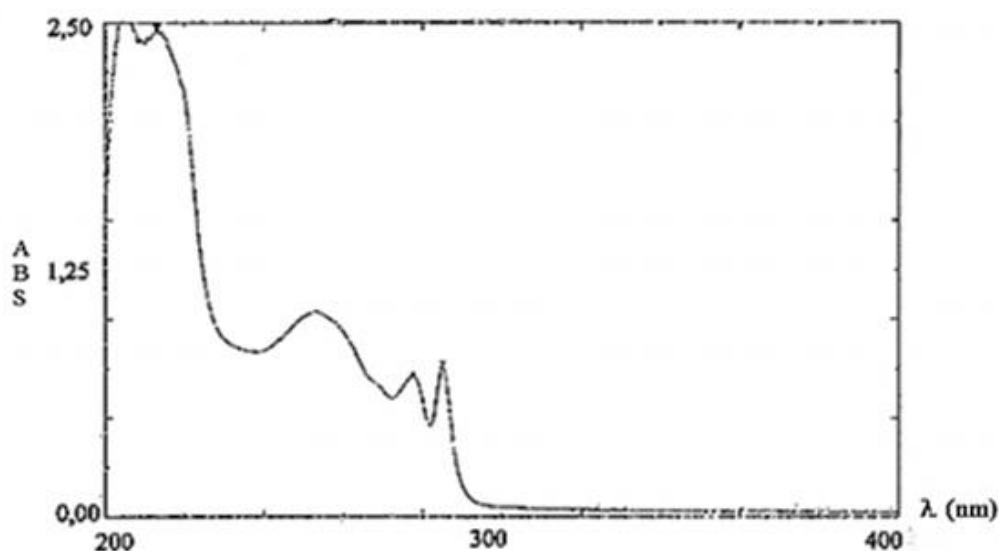


Figure 30. Spectre UV-VIS de la 2-ABZT dans pH = 1,2 à 37°C.

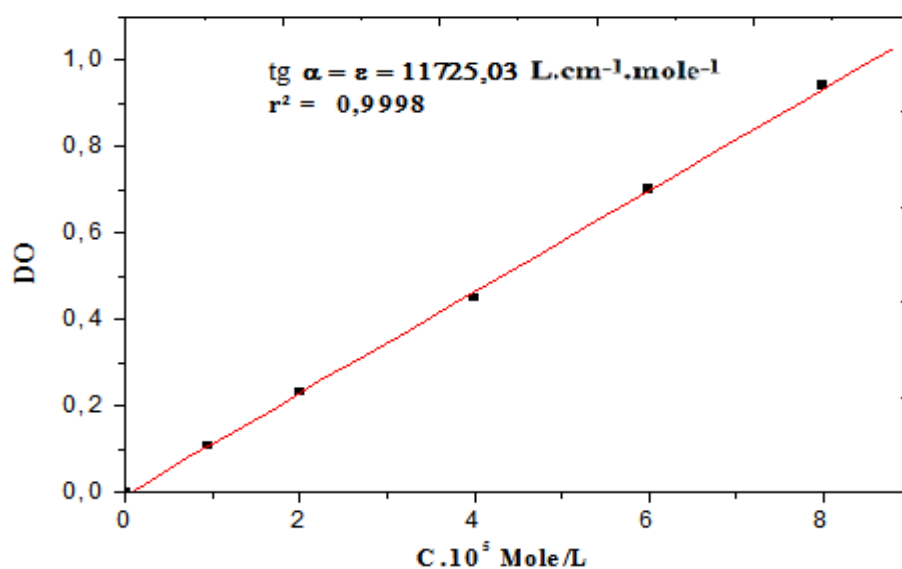


Figure 31. : -ABZT dans pH = 1,2 (37°C) à $\lambda_{\text{analytique}} = 285 \text{ nm}$.

III.II.3.1.2. Dosage de la 2-aminopyrimidine (2-AP)

a. Recherche de $\lambda_{\text{analytique}}$ de l'agent actif

actif la 2-aminopyrimidine (**2-AP**) dans le milieu proposé pH 1,2, permet de déterminer la maximale " $\lambda_{\text{analytique}}$ ".

La Figure 32 qui suit **2-AP** dans le milieu de pH = 1,2.

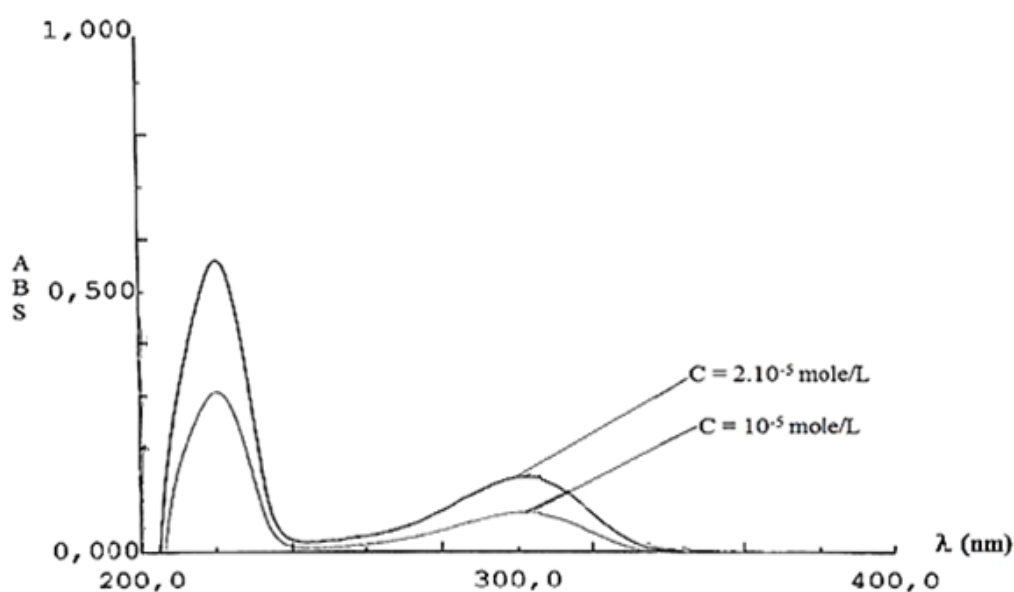


Figure 32. Spectre -VIS de la 2-AP dans pH = 1,2 à 37°C.

b. Calcul de ϵ de l'agent actif

La droite talonnage a été établie à $\lambda_{\text{analytique}} = 302 \text{ nm}$, elle nous permet de de la

La droite étalonnage du **2-AP** est donnée ci-dessous (Figure 33).

Les valeurs expérimentales de « ϵ_{max} » et les coefficients » pour chaque principe actif étudié dans pH 1,2 à 37°C sont représentés dans le Tableau 9.

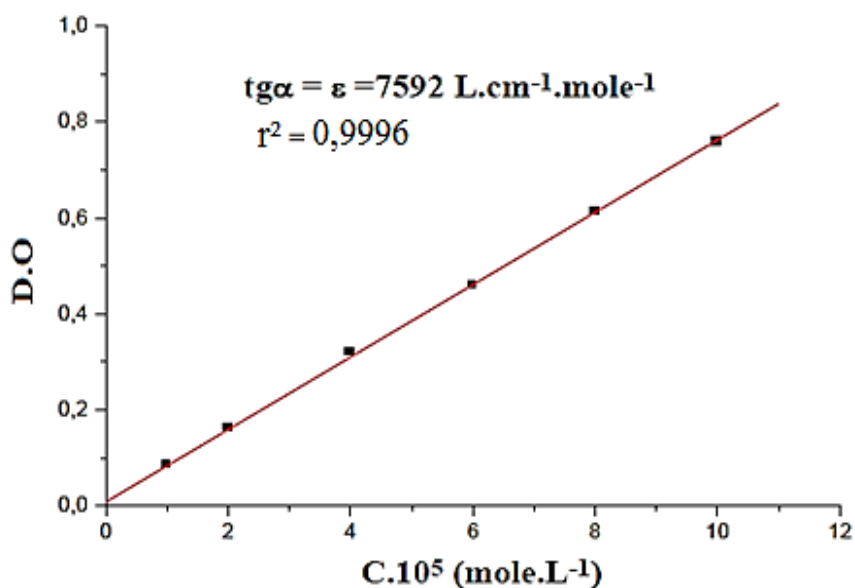


Figure 33. Droite étalonnage de la 2-AP dans pH = 1,2 (37°C) à $\lambda_{\max} = 302 \text{ nm}$.

Tableau 9. Les valeurs de $\lambda_{\max}$ et les coefficients molaires « ϵ » des principes actifs étudiés dans pH 1,2 à 37°C.

Principe actif (PA)	$\lambda_{\max}$ analytique (nm)	ϵ (L. Mol ⁻¹ . cm ⁻¹)	r^2
2-AP	302	7592	0,9996
2-ABZT	254	11725	0,9998

III.II.3.2. Caractérisation des Microsphères : Résultats et discussion.

Cette partie regroupe les résultats des caractérisations obtenus concernant les différentes formulations Microsphères préparées. Nous nous sommes basés sur l'IR, -VIS, la Microscope Optique, la MEB, suivies de la libération des agents actifs à partir de ces systèmes.

Ces résultats sont discutés pour chacun des principes actifs étudiés **sous forme pure** (2-ABZT, 2-AP) et **engagée** (IM₁, IM₂). Pour chaque méthode de synthèse par microencapsulation utilisée, les paramètres expérimentaux du procédé étudiés sont donnés et leurs influences sur les caractéristiques des systèmes microparticulaires obtenus (la taille et la

es.

La technique de microencapsulation par simple/double émulsion-évaporation de solvant consiste à préparer une émulsion (simple ou double) puis à éliminer le solvant organique par évaporation.

Lors de cette élimination, le polymère précipite, ce qui conduit à la formation d'une microparticule. Dans un premier temps, le polymère choisi pour constituer les particules est dissous dans un solvant organique non miscible à l'eau. Il faut donc choisir le solvant organique en fonction de sa miscibilité avec l'eau et de sa volatilité [82]. Ce mélange est ensuite émulsifié dans une phase aqueuse contenant un tensioactif pour former une émulsion O/W stable. Le solvant organique est alors évaporé par élévation de la température ou sous pression réduite, ou simplement par agitation à température réduite.

La méthode de microencapsulation par simple émulsion-évaporation de solvant permet l'encapsulation des principes actifs hydrophobes par simple ajout du composé dans la solution de polymère. Après évaporation du solvant organique, le principe actif encapsulé se trouve au sein de la matrice polymère [86-88].

Dans le cas d'un principe actif hydrophile, la méthode de double émulsion-évaporation de solvant

lui-ci doit au préalable être dispersé sous forme de solution aqueuse dans la phase organique contenant le polymère. Cette émulsion est elle-même dispersée dans une phase aqueuse externe pour constituer une émulsion double W/O/W.

Après évaporation du solvant organique, il se forme des Microsphères contenant le principe actif hydrosoluble. Enfin, les microparticules préparées doivent être purifiées pour éliminer le solvant résiduel [97].

III.II.3.2.1. Teneur en matière active

La quantité du principe actif encapsulé dans les Microsphères a été déterminée par l'extraction dans un solvant adéquat pendant un temps suffisant pour la solubilisation. Après, la solution obtenue est analysée par spectrophotomètre UV-VIS pour calculer la masse du principe actif extrait des Microsphères.

La teneur en principe actif a été déterminée selon le protocole suivant :

Dans un erlenmeyer bouché hermétiquement, une quantité de Microsphères est introduite dans 100 sous agitation pendant 6 heures. La solution obtenue est diluée dans le même solvant et ensuite analysée par spectrophotométrie UV-VIS.

Les extractions sur chaque formulation ont été effectuées trois fois ; une valeur moyenne en teneur en matière active est ainsi obtenue en tenant compte de la polydispersité des Microsphères.

La teneur en principe actif PA (%T) est calculée :

$$\text{Teneur en PA (T, \%)} = \left(\frac{\text{Masse en P.A dans les Microsphères}}{\text{Masse des Microsphères}} \right) \times 100$$

L'efficacité de l'encapsulation (EE) du principe actif PA est définie par le rapport de la teneur expérimentale en principe actif sur sa masse encapsulée initialement :

$$\text{Efficacité de l'encapsulation, \%} = \left(\frac{\text{Teneur en PA expérimentale}}{\text{Teneur théorique en PA}} \right) \times 100$$

III.II.3.2.2. Détermination de la taille et de la distribution en taille des Microsphères:

Pour établir les diamètres et les distributions en taille (δ) des Microsphères, des images ont été enregistrées grâce à un Microscope Electronique à Balayage (MEB Quanta 200 FEI) et un Microscope Optique (OPTIKA 4083. B1). Les mesures se font sur une population de plus de 500 Microsphères.

Les diamètres moyens les plus significatifs (d_{10} , d_{30} , d_{32} et d_{43}), la distribution en taille (δ) et les fréquences, ont été calculées à l'aide d'Excel selon les équations suivantes [151,152] :

$$d_{32} : \text{Le diamètre moyen de Sauter, } d_{32} = \sum n_i d_i^3 / \sum n_i d_i^2 ; \delta : \text{Distribution est calculée par: } d_{43}/d_{10}; d_{10} = \sum n_i d_i / \sum n_i : \text{le diamètre moyen en nombre, } d_{43} = \sum n_i d_i^4 / \sum n_i d_i^3 : \text{le}$$

diamètre moyen en poids ; i : représente un index de la population et d_i est le diamètre de la particule de la population i .

Effectif « n_i » : nombre de microparticules de diamètre d_i

$$\text{Fréquence en nombre \% : } F_n = (n_i / \sum n_i) * 100$$

$$\text{Fréquence en surface \% : } F_s = (n_i * d_i^2 / \sum n_i * d_i^2) * 100$$

$$\text{Fréquence en masse \% : } F_m = (n_i * d_i^3 / \sum n_i * d_i^3) * 100$$

Distribution moyenne en nombre ou diamètre moyen en nombre :

$$d_{10} = \sum n_i d_i / \sum n_i$$

Distribution moyenne en surface ou diamètre moyen en surface (ou diamètre de Sauter):

$$d_{32} = \sum n_i d_i^3 / \sum n_i d_i^2$$

Distribution moyenne en masse ou diamètre moyen en masse ou en volume :

$$d_{43} = \sum n_i d_i^4 / \sum n_i d_i^3$$

Dispersion :

$$\delta = d_{43} / d_{10}$$

III.II.3.2.3. Résultats et discussion

■ RESULTATS GRANULOMETRIQUES

Un exemple de calcul des diamètres moyens les plus significatifs (d_{10} , d_{32} et d_{43}), la distribution en taille (δ) et les fréquences données ci-dessus, est donné sur les Tableaux 10 et 11 :

FEUILLES DE CALCULS DE LA DISTRIBUTION EN TAILLE DES MICROSPHERES

1. Formulation F₃ (Microsphères chargées en 2-AP pure)Tableau 10. Résultats granulométriques des Microsphères F₃ chargées en 2-AP.

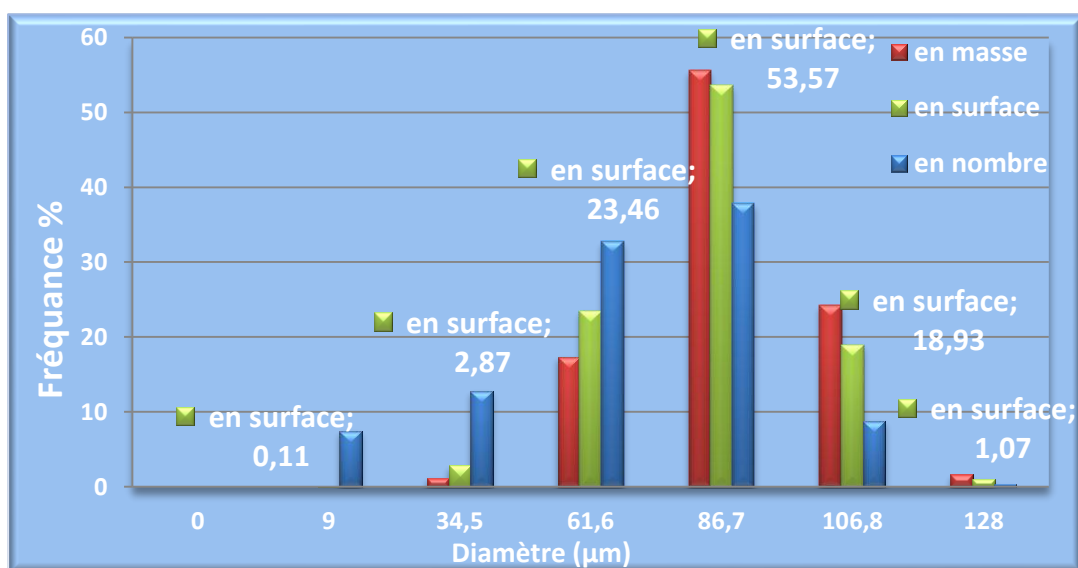
Classe	Centre de classe di (μm)	Effectif		Fréquence en nombre		Fréquence en surface		Fréquence en masse	
		ni	ni*di	%	nidi ²	%	nidi ³	%	nidi ⁴
0	0,0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	9,0	43	3,87E+02	7,42659758	3,48E+03	0,11333415	3,13E+04	0,01221968	2,82E+05
2	34,5	74	2,55E+03	12,7806563	8,81E+04	2,86600696	3,04E+06	1,18454838	1,05E+08
3	61,6	190	1,17E+04	32,8151986	7,21E+05	23,4596947	4,44E+07	17,31249	2,74E+09
4	86,7	219	1,90E+04	37,8238342	1,65E+06	53,5660523	1,43E+08	55,6371922	1,24E+10
5	106,8	51	5,45E+03	8,80829016	5,82E+05	18,9286662	6,21E+07	24,2185274	6,64E+09
6	128,0	2	2,56E+02	0,34542314	3,28E+04	1,06624564	4,19E+06	1,63502238	5,37E+08
Somme		579	3,93E+04	100	3,07E+06	100	2,57E+08	100	2,24E+10

DIAMETRES MOYENS (μm)

d_{10}	=	67,93	$Dispersion (\delta) = d_{43}/d_{10}, \delta = 1,28$
d_{32}	=	83,47	
d_{43}	=	87,27	

Ces

distribution en taille des microsphères obtenues (Figure 34).

Figure 34. Exemple de représentation graphique de la distribution en taille de Microsphères chargées de 2-AP (F₃).

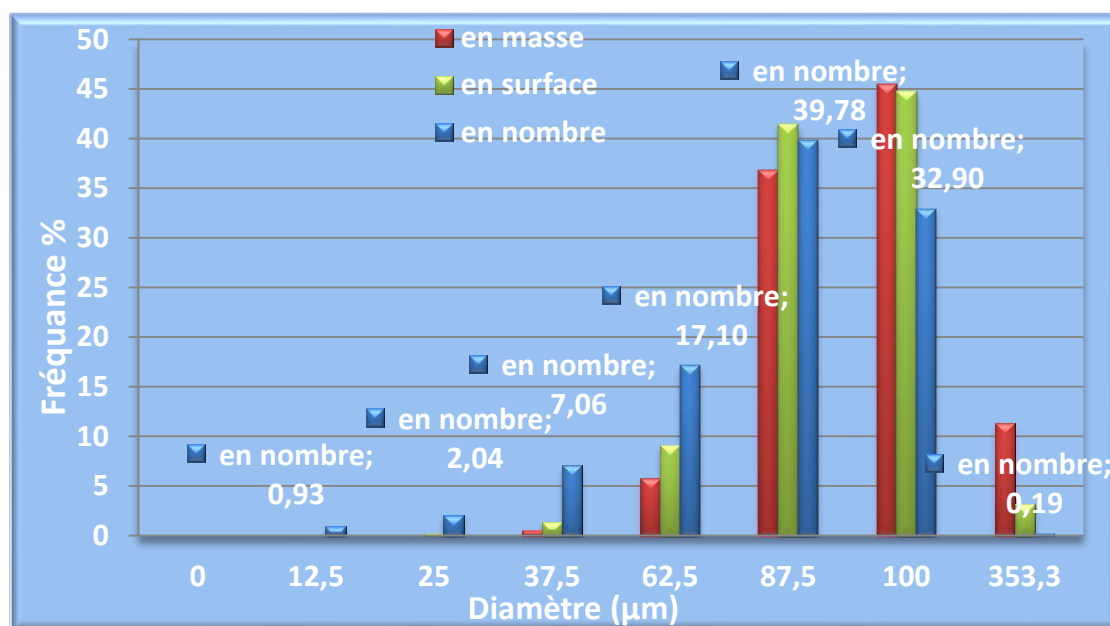
2. Formulation F₄ (Microsphères chargées en IM₂)Tableau 11. Résultats granulométriques des Microsphères F₄ chargées en IM₂.

Classe	Centre de classe di (μm)	Effectif		Fréquence en nombre		Fréquence en surface		Fréquence en masse	
		ni	ni*di	%	nidi ²	%	nidi ³	%	nidi ⁴
0	0,0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	12,5	5	6,25E+01	0,92936803	7,81E+02	0,01975984	9,77E+03	0,00250974	1,22E+05
1	25,0	11	2,75E+02	2,04460967	6,88E+03	0,17388656	1,72E+05	0,04417143	4,30E+06
2	37,5	38	1,43E+03	7,06319703	5,34E+04	1,35157278	2,00E+06	0,51499871	7,51E+07
2	62,5	92	5,75E+03	17,1003717	3,59E+05	9,08952457	2,25E+07	5,77240267	1,40E+09
3	87,5	214	1,87E+04	39,7769517	1,64E+06	41,4403281	1,43E+08	36,8439914	1,25E+10
4	100,0	177	1,77E+04	32,8996283	1,77E+06	44,7678845	1,77E+08	45,4885408	1,77E+10
6	353,3	1	3,53E+02	0,18587361	1,25E+05	3,15704361	4,41E+07	11,3333853	1,56E+10
Somme		538	4,43E+04	100	3,95E+06	100	3,89E+08	100	4,73E+10

DIAMETRES MOYENS (μm)

d_{10}	=	82,32
d_{32}	=	98,41
d_{43}	=	121,58

$$\text{Dispersion } (\delta) = d_{43}/d_{10}, \delta = 1,47$$

Figure 35. Exemple de représentation graphique de la distribution en taille de Microsphères chargées en IM₂ (F₄).

A la fin de chaque formulation, il a été établi la distribution en taille de chaque formulation Microsphères et les résultats reportés dans le Tableau 12 donnent les différents diamètres moyens des Microsphères préparées.

Tableau 12. Caractéristiques des Microsphères F₁-F₄ et résultats de microencapsulation.

Paramètres du processus de microencapsulation				% T ($\pm SD$)	% EE ($\pm SD$)	d_{10} (μm)	d_{32} (μm)	d_{43} (μm)	δ^a
Code	Agent actif encapsulé	N (rpm)	% PVA						
F ₁	2-ABZT	600	1	25,32 $\pm$ 0,1	75,97 $\pm$ 0,3	69,01	89,65	107,44	1,56
F ₂	IM ₁	600	1	21,17 $\pm$ 0,7	63,51 $\pm$ 0,1	81,96	93,33	98,53	1,20
F ₃	2-AP	600	1	24,30 $\pm$ 0,6	72,91 $\pm$ 0,8	67,93	83,47	87,27	1,28
F ₄	IM ₂	600	1	18,79 $\pm$ 0,4	56,37 $\pm$ 1,0	82,32	98,41	121,58	1,47

EE–Efficacité d'Encapsulation ; T-Teneur en matière active ; δ : Dispersion est calculée par : $\delta = d_{43}/d_{10}$.

Dans le but de préparer des systèmes Microsphères chargées de principe actif libre ou engagé via la liaison azométhine, on a effectué dans le polymère Ethylcellulose (EC).

if à encapsuler, on a choisi la méthode de microencapsulation par évaporation de solvant appropriée.

Pour la **2-ABZT** pure, la méthode de simple émulsion-évaporation de solvant a été choisie.

Pour la **2-AP** et les deux bases de Schiff **IM₁** et **IM₂**, le procédé de la double émulsion-encapsuler. Cette technique a été choisie selon le travail de M. K. Das *et al* [97] qui ont fait une étude sur l'encapsulation d un pourcentage de EE important qui permet l'encapsulation de cet agent actif.

- **La teneur en matière active (taux d'encapsulation)**

Le taux d'encapsulation et l %EE sont représentés par les équations données précédemment. La masse désirée a été déterminée par la technique d'extraction dans des solvants adéquats. Les extractions ont été répétées trois fois à cause de la

Sur le Tableau 12 sont reportées les conditions de formulation et les caractéristiques physicochimiques des Microsphères en Ethylcellulose F₁ (**2-ABZT**), F₂ (**IM₁**), F₃ (**2-AP**), F₄ (**IM₂**).

Pour les Microsphères F₃ et F₄, les ΔT_{max} sont de 24,30% et de 18,79%

En se basant sur la nature du composé encapsulé (forme libre ou engagée) et de sa solubilité, la base de Schiff encapsulée est hydrosoluble ce qui facilite son entraînement vers la phase externe et donc la diminution de sa quantité emprisonnée dans les Microsphères.

Nous décrivons ensuite pour chaque formulation de Microsphères préparées par le procédé de simple/double émulsion-évaporation de solvant les différences de taille et de morphologie de la surface. Les remarques ont été tirées lors des observations en Microscopies Optique (MO) et Electronique à Balayage (MEB).

La forme et la taille des Microsphères ont été déterminées par Microscope Optique (OPTIKA 4083. B1). L'analyse au Microscope Optique montre la forme sphérique des Microsphères préparées et la variété de leurs tailles. La Figure 36 représente l'observation par Microscope Optique de F_1 .

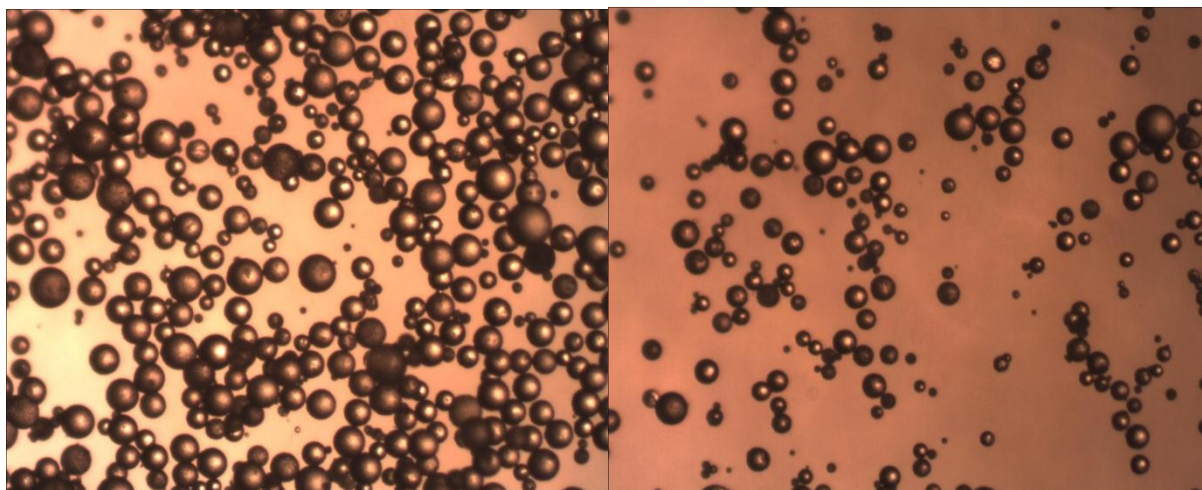


Figure 36. Observation des Microsphères chargées de 2-ABZT (F₁) par Microscope Optique.

L'analyse par Microscopie Optique de la formulation F₃ nous montre que les Microsphères préparées ont une forme bien sphérique, elle nous donne l'information sur la variété des tailles des particules, et l'absence de f agrégats (Figure 37).



Figure 37. Observation des Microsphères chargées de 2-AP (F₃) par Microscope Optique.

III.II.3.3.2. Caractérisation et observation de la surface et morphologie des Microsphères par Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

La caractérisation de forme, de morphologie, de taille et de surface des Microsphères est réalisée par Microscopie Electronique à Balayage (MEB, Quanta 200 FEI, France) du Centre d'Imagerie de l'Université de Bordeaux-1.

Une petite quantité de la poudre des Microsphères est mise sur un support métallique sur lequel est placée une pastille de carbone double face autocollante.

agrandissements a

L'observation par Microscopie Electronique à Balayage des Microsphères préparées montre que ces dernières ont une forme sphérique, et l'agent encapsulé est dispersé dans la matrice "Ethylcellulose". Pour la formulation Microsphères F₁ contenant la **2-ABZT** sous sa forme pure, la surface de ces Microsphères paraît ridée et ne contient pas de pores (Figure 38). Par contre, la formulation Microsphères F₂ contenant son monomère support (base de Schiff **IM₁**) montre une surface plus lisse (Figure 39).

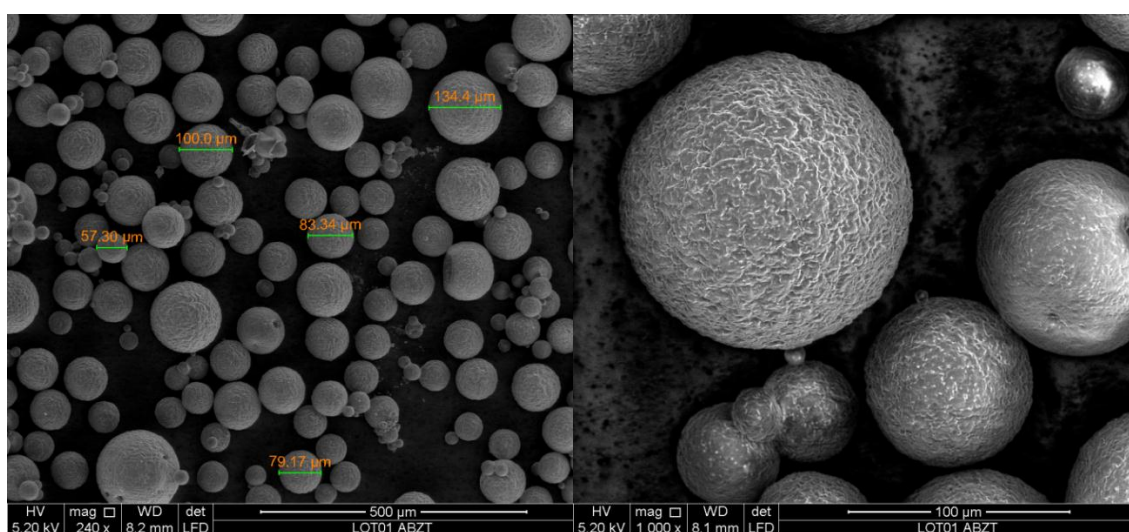


Figure 38. Micrographies MEB des Microsphères F₁ (**2-ABZT pure**) ; Conditions de préparation : (% 2-ABZT :EC = 33,33%), 600 rpm, 1% PVA.

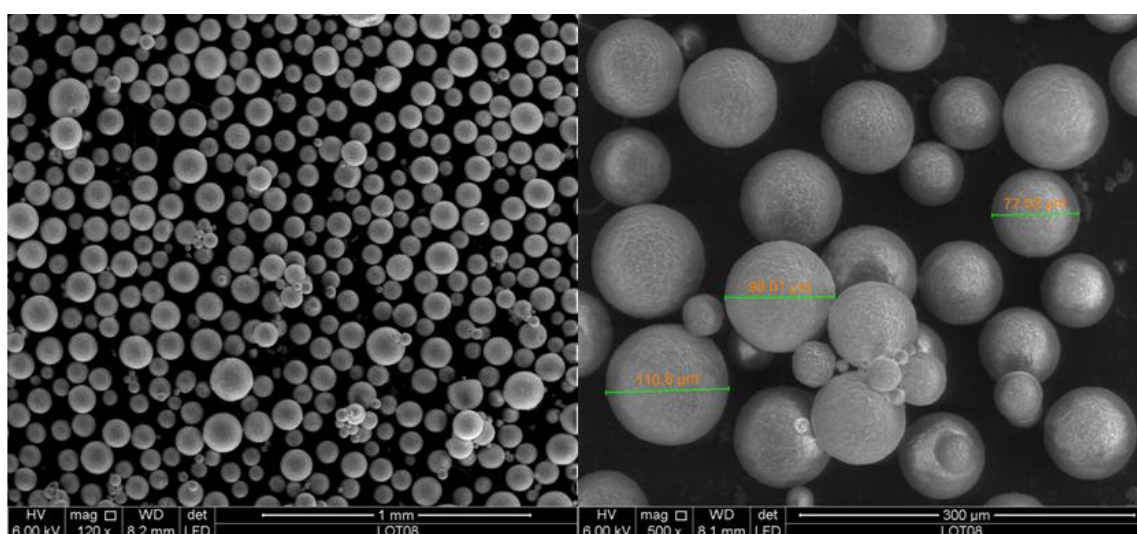


Figure 39. Micrographies MEB des Microsphères F₂ (**IM₁ monomère support de la 2-ABZT**) ; Conditions de préparation : (%IM₁ :EC = 33,33%), 600 rpm, 1% PVA.

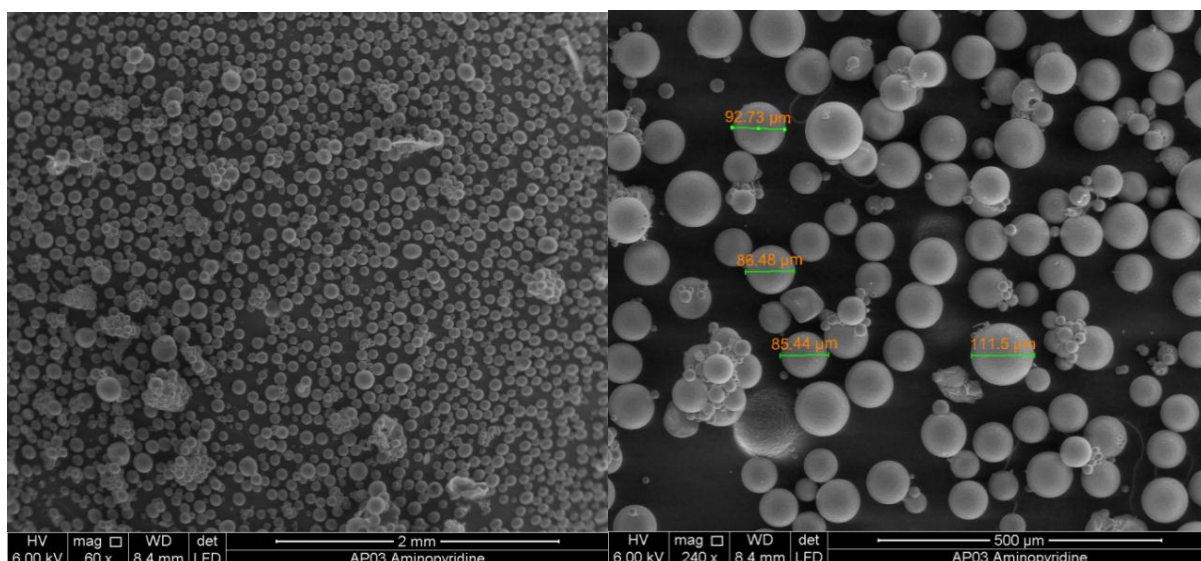


Figure 40. Micrographies MEB des Microsphères F₃ (**2-AP pure**) ; Conditions de préparation : (%2-AP :EC = 33,33%), 600 rpm, 1% PVA.

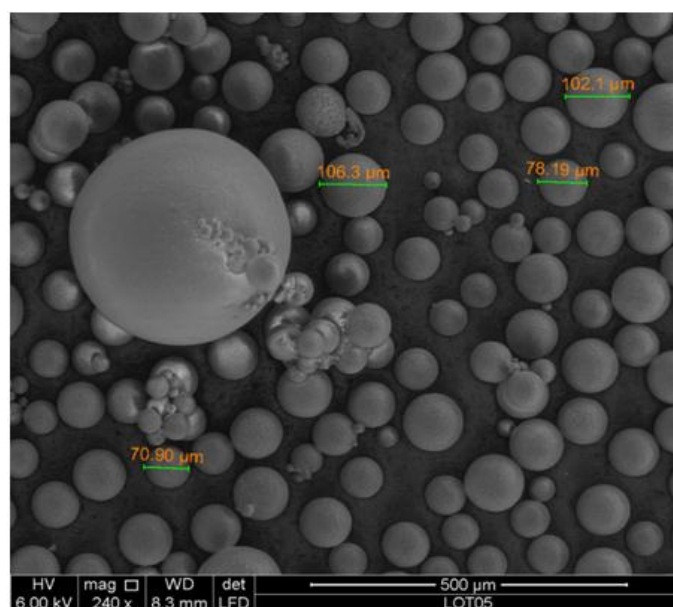


Figure 41. Micrographies MEB des Microsphères F₄ (**IM₂**) ; Conditions de préparation : (%IM₂ :EC = 33,33%), 600 rpm, 1% PVA.

Les caractéristiques de forme et de surface des Microsphères F₃ et F₄ visibles en MEB sont illustrées sur les Figures 40 et 41.

Les Microsphères F₃ et F₄ ont été préparées dans les mêmes conditions opératoires pour deux formes de principe actif 2-AP : **2-AP pure** (F₃) et **2-AP greffée** sur un monomère support **IM₂** (F₄) (Tableau 12). Les Microsphères sont pratiquement sphériques.

Les Microsphères chargées en 2-AP pure (F₃) présentent une surface lisse et sans pores visibles. Elles sont sphériques et individualisées avec une bonne dispersion ($\delta = 1,28$) comme

le montre les images données sur la Figure 40. Les Microsphères F₄ (IM₂) sont sphériques et montrent une surface un peu ridée (Figure 41). Les caractéristiques des Microsphères obtenues et les résultats de microencapsulation sont résumés dans le Tableau 12.

III.II.3.4. Analyse des Microsphères par Spectroscopie Infra-Rouge (IR) :

Nous donnons ensuite des spectres IR (actif encapsulé pur, de polymère matrice et des Microsphères correspondantes. Ces spectres sont présentés dans les Figures 42 et 43.

Le spectre IR de la formulation Microsphères F₃ est comparé avec les spectres de la 2-AP pure et la matrice ethylcellulose EC (Figure 42

bandes caractéristiques du 2-AP dans le spectre des Microsphères préparées (F₃):

[illegible]

Pour le spectre IR de la formulation F₄, on relève les bandes caractéristiques suivantes :

C-H aromatiques (vibration de valences) à 3006,23-3086,44 cm^{-1} ,
CH=N (bande de vibration de valence) à 1622,83 cm^{-1} , cette bande apparaît sous
ulement.

C=C vibration aromatique de valences à 1598,16 ; 1573,05 et 1519,88 cm^{-1} ;
La présence des bandes de vibration de valence et de déformation hors plan des
liaisons vinyliques =C-H et =CH₂ à 918,52 (=CH₂) et à 989,88 cm^{-1} (=C-H).

Ces remarques sont aussi tirées lors de l'analyse des spectres ², de l'éthylcellulose et des Microsphères correspondantes (F₄). Ces résultats confirment la présence des bandes du monomère IM₂ dans le spectre IR des Microsphères F₄.

Le spectre IR des Microsphères F₁ apparait comme la sommation des spectres IR de la 2-ABZT et d'ethylcellulose (Figure 43).

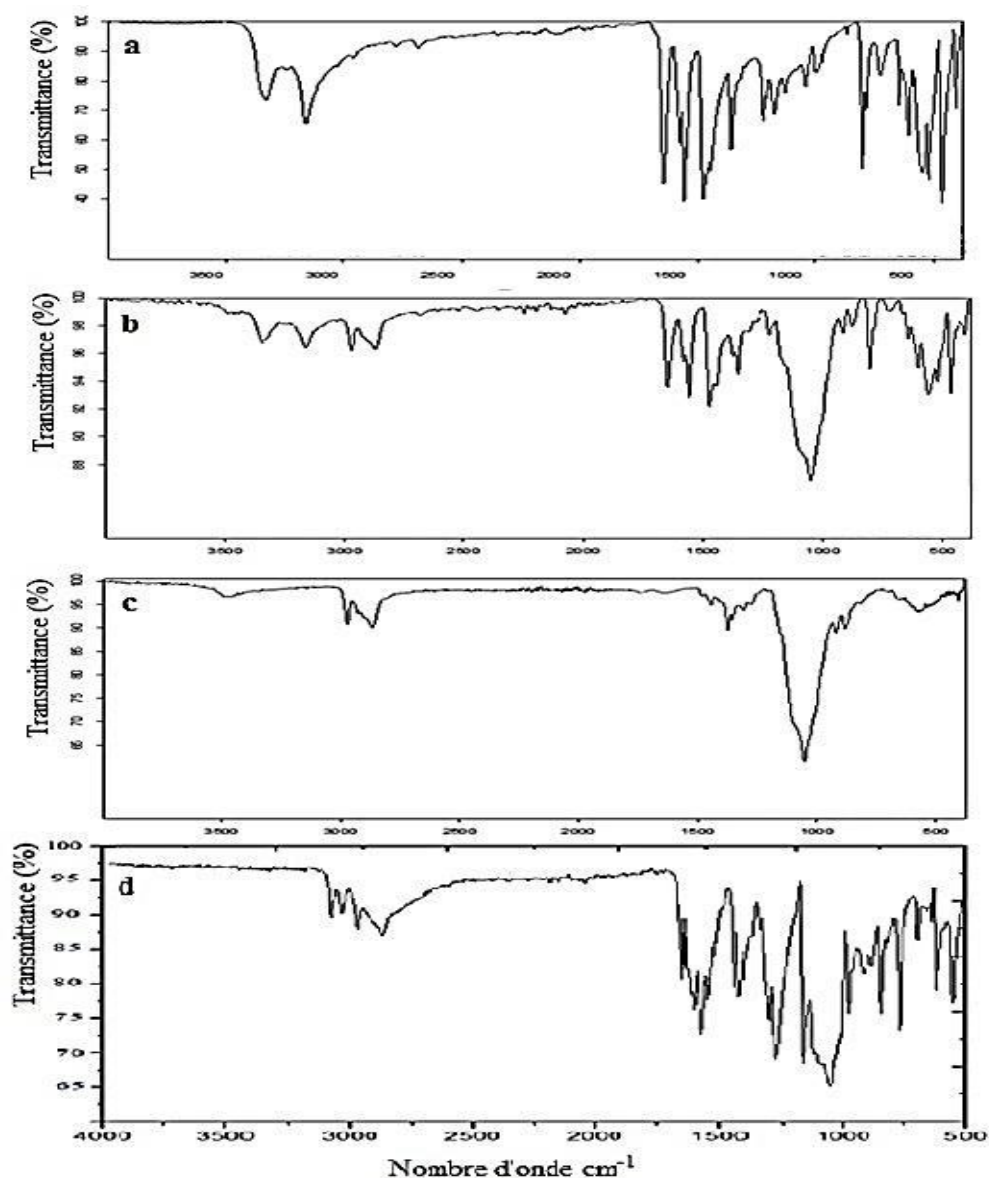


Figure 42. Spectres IR de : a- 2-AP pure, b- Microsphères chargées en 2-AP (F₃), c-Microsphères en EC (à blanc); d- Microsphères chargées en IM₂ (F₄).

2-ABZT —H) à 3399 et à 3274 cm^{-1} qui correspondent au groupement amine primaire;
 (C=N) du noyau benzothiazole à 1636 cm^{-1} ;
 (C=C) vibration aromatique à 1537 cm^{-1} ;
 (C—S) le groupe thio à 1255,37 cm^{-1} .

L'analyse en IR confirme la présence de la 2-ABZT dans les Microsphères obtenues.

Pour le spectre IR des Microsphères F₂ (Figure 43), on relève les bandes caractéristiques suivantes : H aromatiques (vibration de valences) à 3010-3092,18 cm^{-1} ; la présence des bandes de vibration de valence et de déformation hors plan des liaisons vinyliques H) et

(=CH₂) à : 912,74 (=CH₂) et à 979,88 cm⁻¹ (=C H); la fréquence vibrationnelle =N, imine) de la fonction imine apparaît vers 1679,95 cm⁻¹; (C=C) aromatique (valences) à 1475 et à 1579,43 cm⁻¹. IR confirme la présence des bandes caractéristiques du monomère IM₁ dans le spectre des Microsphères préparées (F₂).

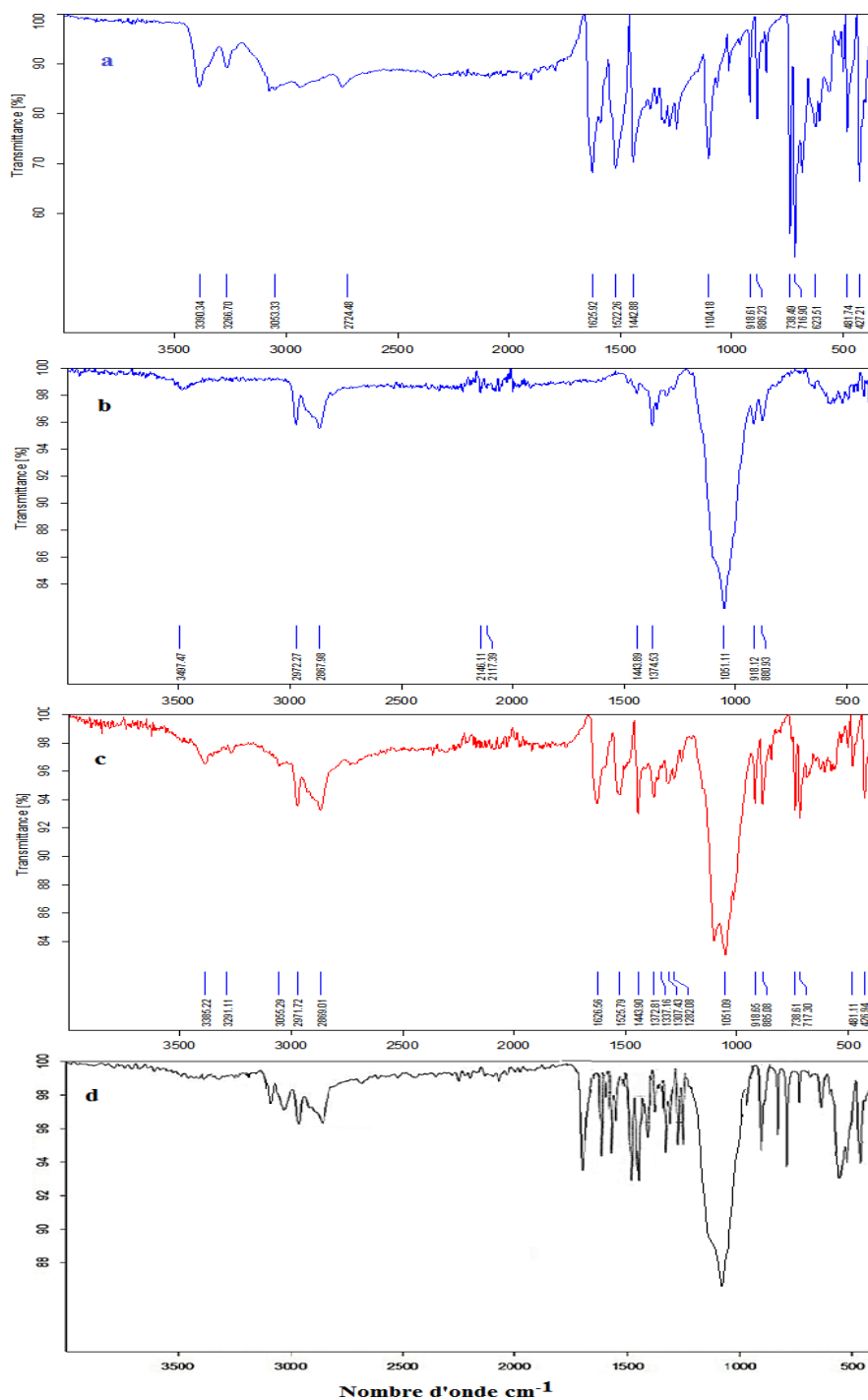


Figure 43. Spectres IR de : a-2-ABZT pure, b-Microsphères en EC (à blanc), c- Microsphères chargées en 2-ABZT (F₁) et d- Microsphères chargées en IM₁ (F₂).

CHAPITRE IV

EVALUATION ET OPTIMISATION DU PROCEDE :
MICROENCAPSULATION DU PABA

IV. Microencapsulation du PABA : Evaluation et optimisation du protocole et des conditions opératoires du procédé de Simple Emulsion-Evaporation de Solvant.

Introduction

Au cours de ce travail ont été préparées dans différentes conditions des Microsphères en éthylcellulose chargées de PABA par la méthode d'évaporation de solvant (o/w). Cette préparation s'est déroulée à des rapports PABA:EC, des vitesses d'agitation, des concentrations de surfactants (PVA et Tween 80) différents en vue d'évaluer leur action sur l'efficacité d'encapsulation de PABA. Cette dernière est trouvée comprise entre 37 à 79% favorable à la mise en point d'un "PABA-retard". Les Microsphères caractérisées par FTIR, DSC, DRX et observées en MEB sont sphériques et de surface poreuse permettant la diffusion de PABAH^+ vers l'extérieur au pH = 1,2 à 37 °C. Les pourcentages % PABAH^+ libérés en fonction du temps sont favorisés à masses égales par les Microsphères de plus petite taille de surface de contact plus grande avec le milieu aqueux d'étude.

La microencapsulation de PABA dans des Microsphères en éthylcellulose biocompatible comme polymère matriciel permet son utilisation par voie orale avec sa libération prolongée dans l'estomac à des doses en dessous de son seuil de toxicité. Cette forme galénique microparticulaire peut être utilisée avantageusement pour le traitement des cancers de la peau, par exemple, en association avec des médicaments en trithérapie où PABA exalte l'action de ces derniers. L'objectif recherché est de préparer des Microsphères en éthylcellulose chargées de PABA par la méthode d'évaporation de solvant [86-88].

Différentes formulations Microsphères sont fabriquées dans cette étude en vue d'étudier les effets des paramètres suivant : le rapport PABA:EC, la vitesse d'agitation, la concentration et la nature du surfactant utilisé (PVA ou Tween 80) sur les caractéristiques des Microsphères pour le contrôle du taux de libération de PABAH^+ .

Les Microsphères ont été caractérisées par MEB, FTIR et DSC. La libération de PABAH^+ a été suivie par UV-VIS en milieu reconstitué à pH = 1,2 et à 37°C.

Il a été appliqué ensuite aux profils % PABAH^+ en fonction du temps les modèles cinétiques de Higuchi, de Korsmeyer-Peppas et de Hixon-Crowel pour valider le mécanisme de libération.

Enfin, les diffusivités du PABAH^+ sont calculées à l'aide du modèle mathématique adéquat selon la loi de Fick.

IV.1. Synthèse des Microsphères chargées de PABA par le procédé de « Simple Emulsion-Evaporation de Solvant (o/w) » :

a. Dispositif expérimental

Le même type de réacteur (Figure 29) est utilisé pour l'encapsulation du PABA par simple émulsion-évaporation du solvant. L'agitation est assurée par le même agitateur avec un pas d'agitation de 4 pales.

b. Protocole et conditions opératoires

Dans cette méthode, l'encapsulation du principe actif a été effectuée selon le mode opératoire suivant:

Dans la première étape, la phase organique (dispersée) est préparée par dissolution du polymère matrice (ethylcellulose EC ou cellulose acétate butyrate CAB) et du PABA dans 32 g du dichlorométhane (DCM) sous un léger chauffage à reflux et agitation à un pourcentage connu. La composition des formulations est donnée dans le Tableau 13.

Dans la deuxième étape, une solution aqueuse d'alcool polyvinylique (PVA) est préparée à partir de la dissolution de PVA (0,5, 1 et 2 g) dans 100 mL d'eau distillée sous forte agitation et chauffage à 80 °C. Cette solution aqueuse constitue la phase continue de l'émulsion.

Les deux solutions sont refroidies à température ambiante (25°C).

L'émulsion (o/w) a été préparée par la dispersion de la phase organique dans un bêcher (600 ml, Ø = 80 mm) contenant 100 mL de la solution aqueuse de PVA préalablement agitée mécaniquement. L'agitation mécanique est maintenue pendant 5 heures afin de maintenir les microparticules en suspension et pour une évaporation complète du solvant (DCM). L'évolution de la taille de Microsphères formées est contrôlée par Microscopie Optique pendant le processus d'évaporation. Cela permet aussi de contrôler le temps de ce processus.

Les Microsphères sont récupérées alors par filtration sous vide, lavés plusieurs fois avec l'eau dé-ionisée et séchées dans un dessiccateur contenant du CaCl₂ comme desséchant jusqu'à poids constant. Après leur séchage, les Microsphères sont préservées dans des

pilluliers bien fermés. Le contenu des différentes Microsphères fabriquées est résumé dans le Tableau 13.

Dans l'ensemble des expériences de microencapsulation préparées, plusieurs paramètres physico-chimiques ont été étudiés. Par contre, on a fixé constant le rapport massique entre la phase organique sur la phase aqueuse. La quantité de solvant utilisé dans la phase organique interne est gardé constante $m_{DCM} = 32 \text{ g}$, pour toutes les expériences élaborées. Pour la phase externe, la quantité d'eau est de **100 g** ; soit un rapport massique entre les deux phases: $\% (m_{\text{phase org.}} / m_{\text{phase aq.}}) = 32\%$.

Les conditions opératoires de l'encapsulation et les paramètres variables sont les suivants :

■ Paramètres attachés à la phase organique interne

1. *Le rapport de la masse initiale de principe actif par rapport au polymère : (%PABA/Pol : %PABA:EC) :* le procédé de l'encapsulation a été réalisé avec quatre valeurs du rapport massique %PABA:EC (20%, 25%, 33,33% et 50%).
2. *Le pourcentage du polymère dans la phase organique dispersée (%Pol./Sol.) :* (1,56%, 3,12%, 4,68% et 6,25%) dans le solvant dichlorométhane (DCM).
3. *La nature du polymère matriciel :* deux dérivés cellulosiques sont utilisés comme matrices à savoir l'ethylcellulose (**EC**) et la cellulose acétate butyrate (**CAB**).

■ Paramètres attachés à la phase aqueuse externe

1. *La nature et la concentration en tensioactif dans la phase aqueuse externe :*

On a réalisé l'encapsulation avec deux différents tensioactifs pour étudier l'effet de chaque tensioactif sur les caractéristiques des Microsphères :

- Polyvinylalccol (**PVA**) : trois pourcentages en PVA (**%PVA / eau**) (0,5%, 1% et 2%).
- Polyethylene Glycol sorbitan monooleate (**Tween 80**) : deux pourcentages en Tween 80 (**%Tween 80 / eau**) ont été utilisés (0,5% et 1%).

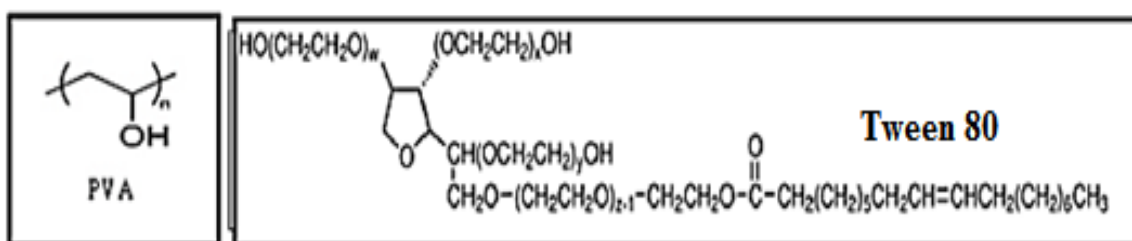


Figure 44. Les structures des tensioactifs utilisés PVA et Tween 80.

■ Paramètres physiques :

La vitesse d'agitation mécanique (N) pendant l'émulsion et l'évaporation du solvant : trois vitesses d'agitation ont été utilisées (600 rpm, 900 rpm et 1200 rpm).

Les effets de ces paramètres et des conditions opératoires sur les caractéristiques des Microsphères obtenues et sur la vitesse de libération du principe actif dans un milieu gastrique reconstitué pH 1,2 ont été étudiés et discutés.

Tableau 13. Conditions des différentes Formulations Microsphères chargées de PABA.

N du lot	Code	Pol.	Rapport PABA:Pol.	Vitesse d'agitation, <i>rpm</i>	Concentrations des surfactants, %	
					PVA	Tween 80
1	F11	EC	1:1	600	1	-
2	F12	EC	1:2	600	1	-
3	F13A	EC	1:3	600	1	-
4	CAB13	CAB	1:3	600	1	-
5	F14	EC	1:4	600	1	-
6	F13B	EC	1:3	600	0,5	-
7	F13C	EC	1:3	600	2	-
8	F13D	EC	1:3	900	1	-
9	F13E	EC	1:3	1200	1	-
10	T13A	EC	1:3	600	-	0,5
11	T13B	EC	1:3	600	-	1

IV.2. Caractérisation des Microsphères chargées de PABA

Les avancées dans le domaine de la microencapsulation sont très prometteuses mais la caractérisation des microparticules et la stabilité des principes actifs encapsulés ont besoin d'être améliorées et spécifiés pour chaque application.

Nous nous sommes plus particulièrement intéressés à l'optimisation des caractéristiques microparticulaires appliquées en pharmacie, pour cela, on se base sur l'UV-VIS, la Microscope Optique, la MEB, l'IR, la DSC, la DRX, suivies de la libération des agents actifs à partir de ces systèmes microparticulaires.

IV.2.1. Dosage de l'acide *p*-aminobenzoïque (PABA)

a. Recherche de λ_{max} :

La valeur de la longueur d'onde λ_{max} est déterminée en relevant le spectre UV-VIS (Figure 45) d'une solution à concentration connue (10^{-4} mole. L⁻¹) de PABAH⁺.

EVALUATION ET OPTIMISATION DU PROCEDE DE MICROENCAPSULATION

On donne ci-dessous un exemple du spectre UV-VIS de PABAH^+ dans le milieu d'étude reconstitué pH = 1,2 à 37 °C.

b. Droites d'étalonnage et Calcul de ϵ :

La Densité Optique (DO) ou l'Absorbance (ABS) et la concentration (Mole/L) sont liées par la loi de Beer-Lambert. La valeur de ϵ correspond à la valeur de la tangente de la droite $\text{DO} = f(C)$ à la longueur d'onde du PABAH^+ $\lambda_{\text{max}} = 226 \text{ nm}$ (Figure 46).

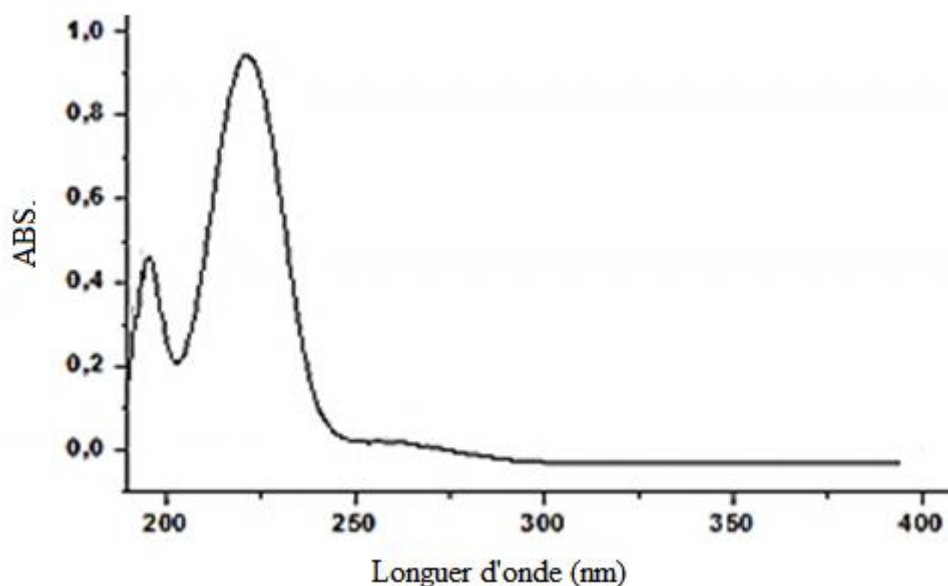


Figure 45. Spectre d'absorption UV-VIS du PABA dans pH = 1,2 (37°C) à la concentration $10^{-4} \text{ Mole. L}^{-1}$.

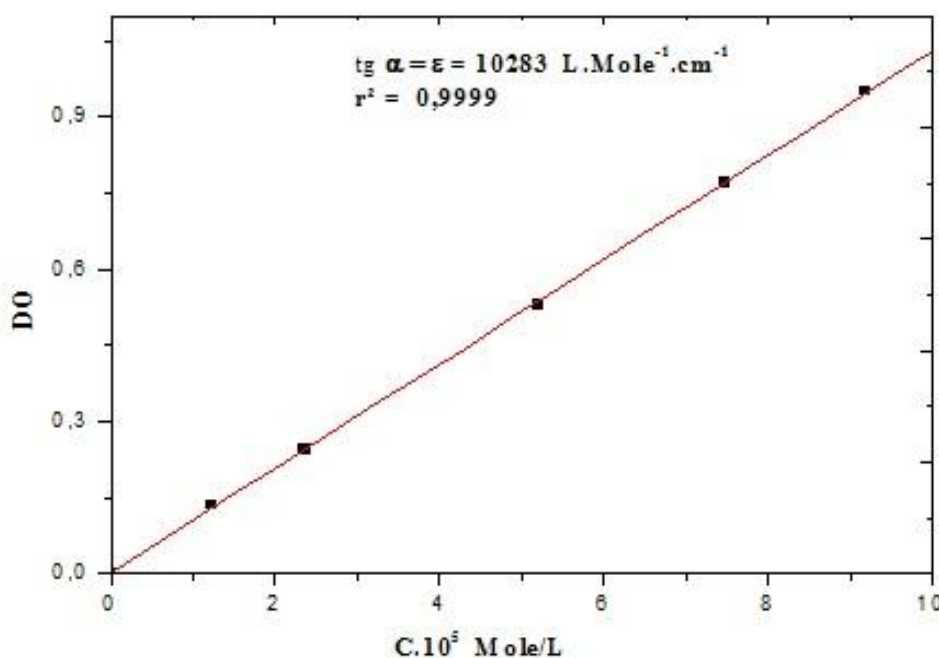


Figure 46. Droite d'étalonnage du PABA dans pH = 1,2 (37°C) à $\lambda_{\text{max}} = 226 \text{ nm}$.

IV.2.2. Détermination de la teneur en matière active

La teneur en principe actif a été déterminée par extraction dans l'éthanol absolu selon le protocole suivant :

Dans un erlenmeyer bouché hermétiquement, une quantité d'environ 100 mg de Microsphères est introduite dans 100 mL d'éthanol absolu sous agitation pendant 6 heures. La solution obtenue est diluée dans le même solvant et ensuite analysée par spectrophotométrie UV-VIS à la longueur d'onde du maximum d'absorption dans ce milieu.

Les extractions sur chaque formulation ont été effectuées trois fois ; une valeur moyenne en teneur en matière active est ainsi obtenue en tenant compte de la polydispersité des Microsphères.

La teneur en principe actif PABA (%T) est calculée par l'équation suivante :

$$\text{Teneur en PABA (T, \%)} = \left(\frac{\text{Masse en PABA dans les Microsphères}}{\text{Masse des Microsphères}} \right) \times 100\%$$

L'efficacité de l'encapsulation (EE) du PABA est définie par le rapport de la teneur expérimentale en principe actif sur sa masse encapsulée initialement :

$$\text{Efficacité de l'encapsulation (EE, \%)} = \left(\frac{\text{Teneur en PABA expérimentale}}{\text{Teneur théorique en PABA}} \right) \times 100\%$$

IV.2.3. Taille et distribution en taille

Pour établir les diamètres et les distributions en taille (δ) des Microsphères, des images ont été enregistrées grâce à un Microscope Electronique à Balayage (MEB Quanta 200 FEI) et un Microscope Optique (OPTIKA 4083. B1). Les mesures se font sur une population de plus de 500 Microsphères.

Les diamètres moyens les plus significatifs (d_{10} , d_{32} et d_{43}), la distribution en taille (δ) et les fréquences, ont été calculées à l'aide d'un tableur Excel selon les équations données précédemment [151,152].

EVALUATION ET OPTIMISATION DU PROCEDE DE MICROENCAPSULATION

• RESULTATS GRANULOMETRIQUES DE LA FORMULATION CAB13

Un exemple de calcul des diamètres moyens les plus significatifs (d_{10} , d_{32} et d_{43}), la distribution en taille (δ) et les fréquences à l'aide d'un tableur Excel selon les équations données ci-dessus, est donné sur le Tableau 14 :

Tableau 14. Résultats Granulométriques de la Formulation Microsphères chargées en PABA CAB13 (Conditions de préparation : 1:3 PABA:CAB, 1% PVA et 600 rpm).

Classe	Centre de classe	Effectif		Fréquence en nombre		Fréquence en surface		Fréquence en masse	
	d_i (μm)	n_i	$n_i \cdot d_i$	%	$n_i d_i^2$	%	$n_i d_i^3$	%	$n_i d_i^4$
0	0,0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	42,9	53	2273,7	9,566787	97541,73	2,37210225	4184540,22	1,068761	179516775,3
2	68,5	221	15138,5	39,8916968	1036987,25	25,2183326	71033626,6	18,1424878	4865803424
3	91,6	170	15572	30,6859206	1426395,2	34,6882843	130657800	33,3709211	11968254509
4	117,2	107	12540,4	19,3140794	1469734,88	35,7422553	172252928	43,9946093	20188043154
5	164,7	3	494,1	0,54151625	81378,27	1,97902556	13403001,1	3,42322074	2207474276
Somme		554	46018,7	100	4112037,33	100	391531896	100	39409092139

DIAMETRES MOYENS (μm)

d_{10}	=	83,06
d_{32}	=	95,21
d_{43}	=	100,65

Dispersion $\delta = 1,21$

Ces résultats granulométriques sont représentés sous forme d'organigramme de distribution en taille des Microsphères obtenues (Figure 47).

IV.3. Résultats et discussion

Cette partie présente les résultats des caractérisations obtenues concernant les différentes formulations Microsphères chargées de PABA préparées.

Les conditions expérimentales du procédé sont données et leur influence sur les propriétés des Microsphères obtenues (la taille et la distribution en taille, l'efficacité d'encapsulation, la surface et la morphologie des Microsphères) sont étudiées.

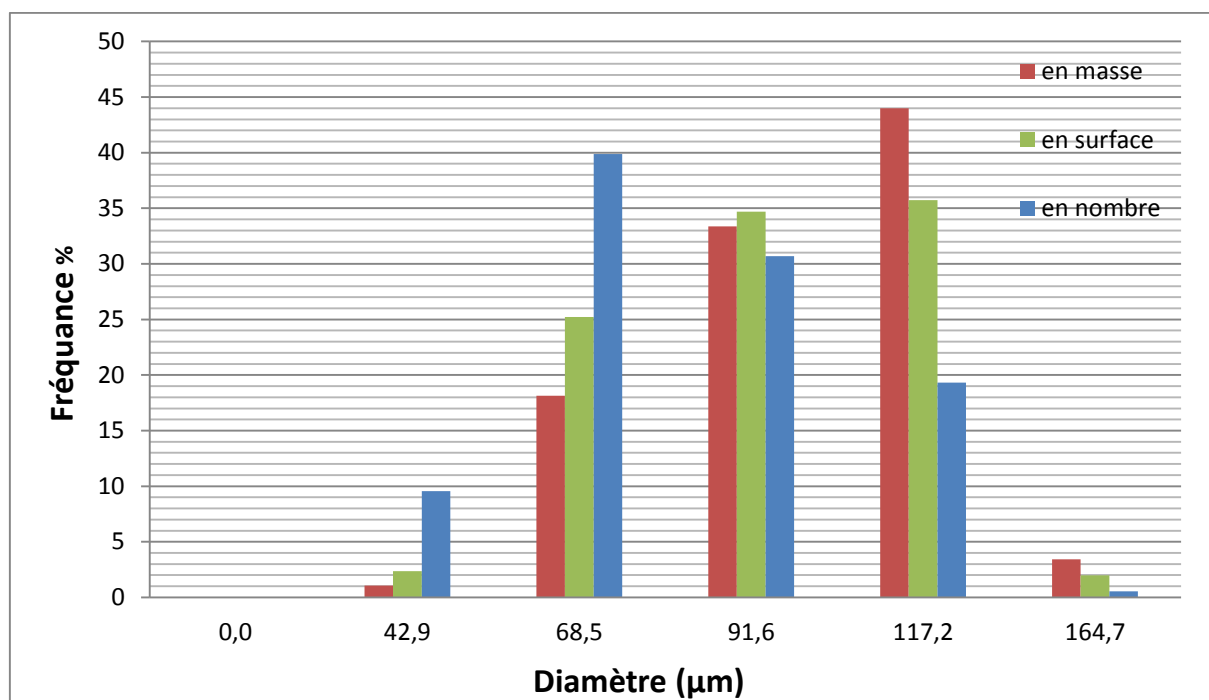


Figure 47. Exemple de représentation graphique de la distribution en taille de Microsphères CAB13 chargées en PABA.

IV.3.1. Caractérisation de la surface et morphologie des Microsphères par Microscopie Electronique à Balayage MEB

Les formulations de PABA ont été préparées par microencapsulation par simple émulsion-évaporation de solvant.

Les caractéristiques de forme et de surface des Microsphères sont observées en MEB. Sur le Tableau 15 sont reportées les conditions de formulation et les caractéristiques physicochimiques des Microsphères en dérivés de cellulose (EC et CAB) chargées de PABA.

- **IV.3.1.1. Etude de l'influence des paramètres du processus et des conditions opératoires de microencapsulation :**
 - **Nature du polymère matriciel ethylcellulose "EC" ou cellulose acétate butyrate "CAB"**

La microencapsulation de PABA a été réalisée dans deux polymères, l'éthylcellulose (EC) et la cellulose acétate butyrate (CAB). Les Microsphères préparées avec l'éthylcellulose sont sphériques, de taille plus grande et de surface peu ridée avec des pores visibles.

EVALUATION ET OPTIMISATION DU PROCEDE DE MICROENCAPSULATION

Tableau 15. Les effets des paramètres et conditions de formulations sur les caractéristiques des Microsphères et les résultats d'encapsulations ; EE–Efficacité d'Encapsulation ; T-Teneur réelle en PABA.

Code	Teneur Théorique, %	T, %	EE, %	d_{10} (µm)	d_{32} (µm)	d_{43} (µm)	δ^a
F11	50,00	25,10	50,20	80,95±2,00	90,00±0,67	148,45±2,61	1,83±0,01
F12	33,33	19,45	58,35	73,15±0,52	106,04±0,50	127,73±0,61	1,74±0,02
F13A	25,00	16,85	67,40	87,45±1,98	121,11±2,97	147,21±0,50	1,69±0,04
CAB13 ^a	25,00	19,16	76,64	83,06±2,36	95,21± 1,88	100,65±1,95	1,21±0,13
F14	20,00	15,81	79,05	114,73±1,12	164,61±0,72	182,17±0,79	1,59±0,01
F13B	25,00	15,26	61,04	83,83±1,64	142,91±3,34	159,54±3,84	1,90±0,08
F13C	25,00	17,55	70,20	69,02±2,79	77,54±1,26	91,13±2,93	1,31±0,01
F13D	25,00	14,06	56,24	64,05±0,78	62,74±0,08	94,46±0,84	1,47±0,00
F13E	25,00	13,00	52,00	40,05±0,09	47,04±0,11	50,12±0,68	1,25±0,02
T13A	25,00	09,38	37,52	441,30±0,69	869,28±1,06	987,45±3,87	2,23±0,01
T13B	25,00	12,52	50,08	397,64±3,36	793,21±2,55	965,58±0,99	2,42±0,02

CAB13^a: Formulation préparée en polymère CAB, tout le reste de formulations ont été préparées en polymère EC.

En comparant CAB et EC, les Microsphères en CAB sont bien sphériques et plus petites avec une surface plus lisse et moins poreuse que les Microsphères en EC (Figure 48 et 49). Dans les mêmes conditions opératoires, l'EE est plus élevée avec les Microsphères en CAB que celles en EC.

La teneur en principe actif PABA dans les Microsphères, déterminée par extraction est plus faible avec les Microsphères en EC.

En se basant sur la viscosité de leurs phases organiques, la solution de CAB est plus visqueuse et dans ce cas le principe actif PABA est moins mobile ce qui empêche son entraînement vers la phase externe et donc la quantité emprisonnée dans les Microsphères en CAB est plus importante. Ces différences sont tirées des Microsphères des images MEB des Figures 48 et 49.

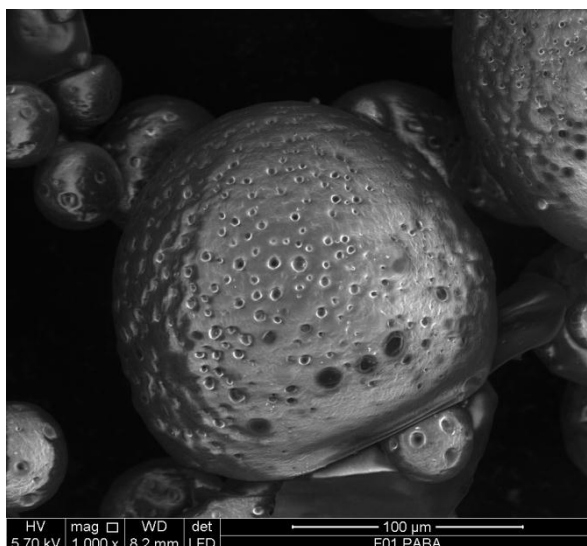


Figure 48. Micrographies MEB des Microsphères de PABA ; Conditions de préparation, F13A : un rapport 1:3 PABA:EC, 1% PVA et à la vitesse de 600 rpm.

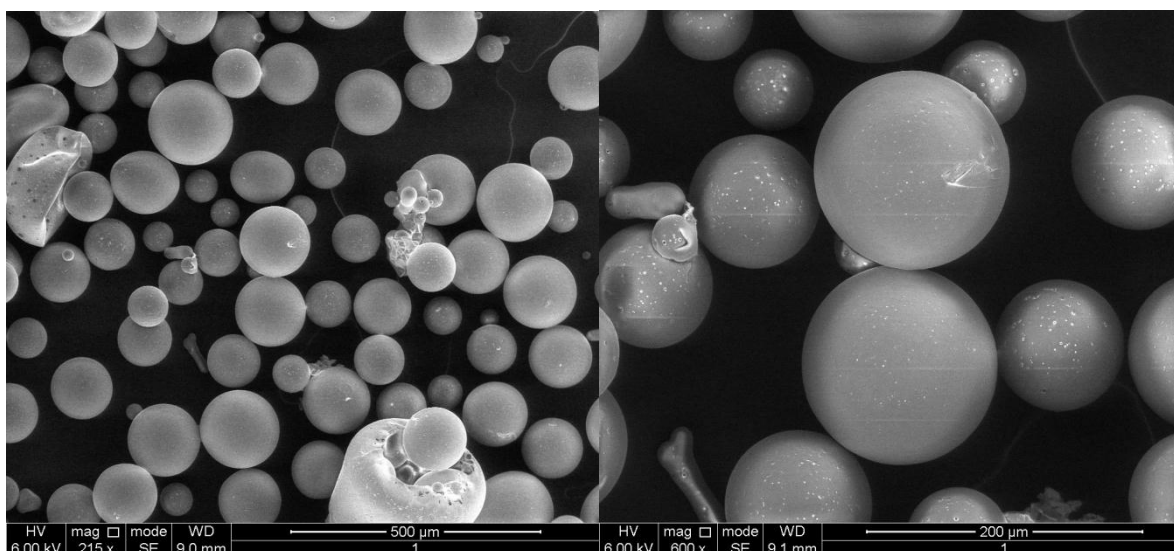


Figure 49. Micrographies MEB des Microsphères de PABA ; Conditions de préparation, CAB13 : un rapport 1:3 PABA:CAB, 1% PVA et à la vitesse de 600 rpm.

- **Nature de tensioactif :**

Les différents tensioactifs utilisés sont : polyvinyl alcool (PVA) et Tween 80. Le PABA a été encapsulé par l'éthylcellulose utilisant deux tensio-actifs : PVA et Tween 80.

Sur les Microsphères des Figures 48 et 50 préparées à des rapports PABA:EC identiques (1:3) et à la même vitesse d'agitation (600 rpm) est étudiée l'effet des tensio-actifs polyvinyl alcool (PVA) et Tween 80. La présence de PVA conduit à des Microsphères bien

sphériques et plus petites avec un diamètre moyen d_{32} compris entre 77,54 et 142,91 μm (Tableau 15) alors que le Tween 80 donne de plus grosses microparticules de sphéricité médiocre de d_{32} compris entre 793,21 et 869,28 μm . Les pores dans ce derniers cas ont des diamètres plus importants (Figure 50 et 51).

Les effets comparatifs entre le PVA et le Tween 80 décrits dans le Tableau 15 montrent l'action directe des tensio-actifs PVA et Tween 80 sur la quantité de PABA encapsulé (T) et l'efficacité de cette encapsulation (EE), sur le diamètre moyen d_{32} et sur la dispersion " δ " des systèmes microparticulaires. Le PVA agit plus fortement que le Tween 80 sur l'abaissement de la tension interfaciale o/w réduisant la coalescence des gouttelettes. La comparaison des images MEB des Microsphères (F13A) et d (T13B) (Figure 48 et 50) réalisées à la même concentration (1%) en PVA et Tween 80 respectivement conforte ces résultats.

Puisque avec le PVA, nous obtenons des Microsphères bien sphériques, de petite taille et individualisées, l'utilisation du Tween 80 n'est pas nécessaire du moment qu'il défavorise l'efficacité d'encapsulation. Nous avons obtenu des différences de taille, de morphologie et d'efficacité d'encapsulation. Il nous reste à étudier les différences lors de la libération du principe actif.

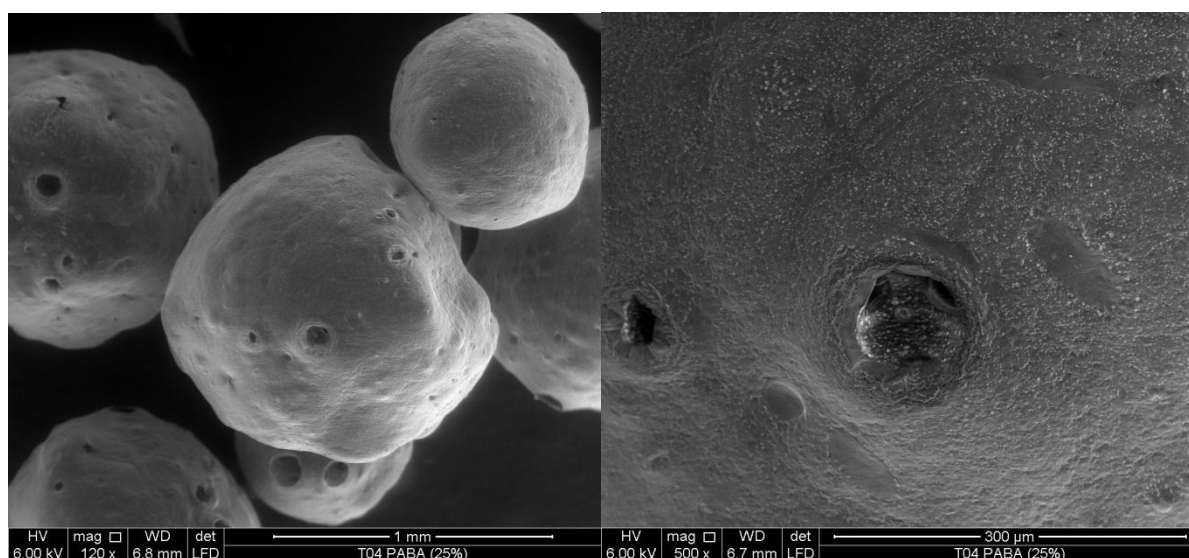


Figure 50. Micrographies MEB des Microsphères de PABA; Conditions de préparation, T13B : un rapport 1:3 PABA:EC, 1% Tween 80 et à la vitesse de 600 rpm.

- **La concentration du tensioactif :**

L'augmentation de la concentration de PVA favorise à la fois l'encapsulation de PABA, l'efficacité d'encapsulation EE, diminue d_{32} et la dispersion " δ ". Ces résultats sont en conformité avec la littérature [82,86-88].

En effet, le taux de PABA encapsulé augmente de 09,38% à 12,52% en augmentant le % Tween 80 de 0,5% à 1%. L'augmentation de la concentration en Tween 80 fait augmenter le taux de PABA encapsulé.

Ces différences sont tirées des Microsphères des images MEB (Figures 48 et 50-53). La comparaison des images MEB des Microsphères réalisées dans les mêmes conditions opératoires en PVA et Tween 80 conforte ces résultats.

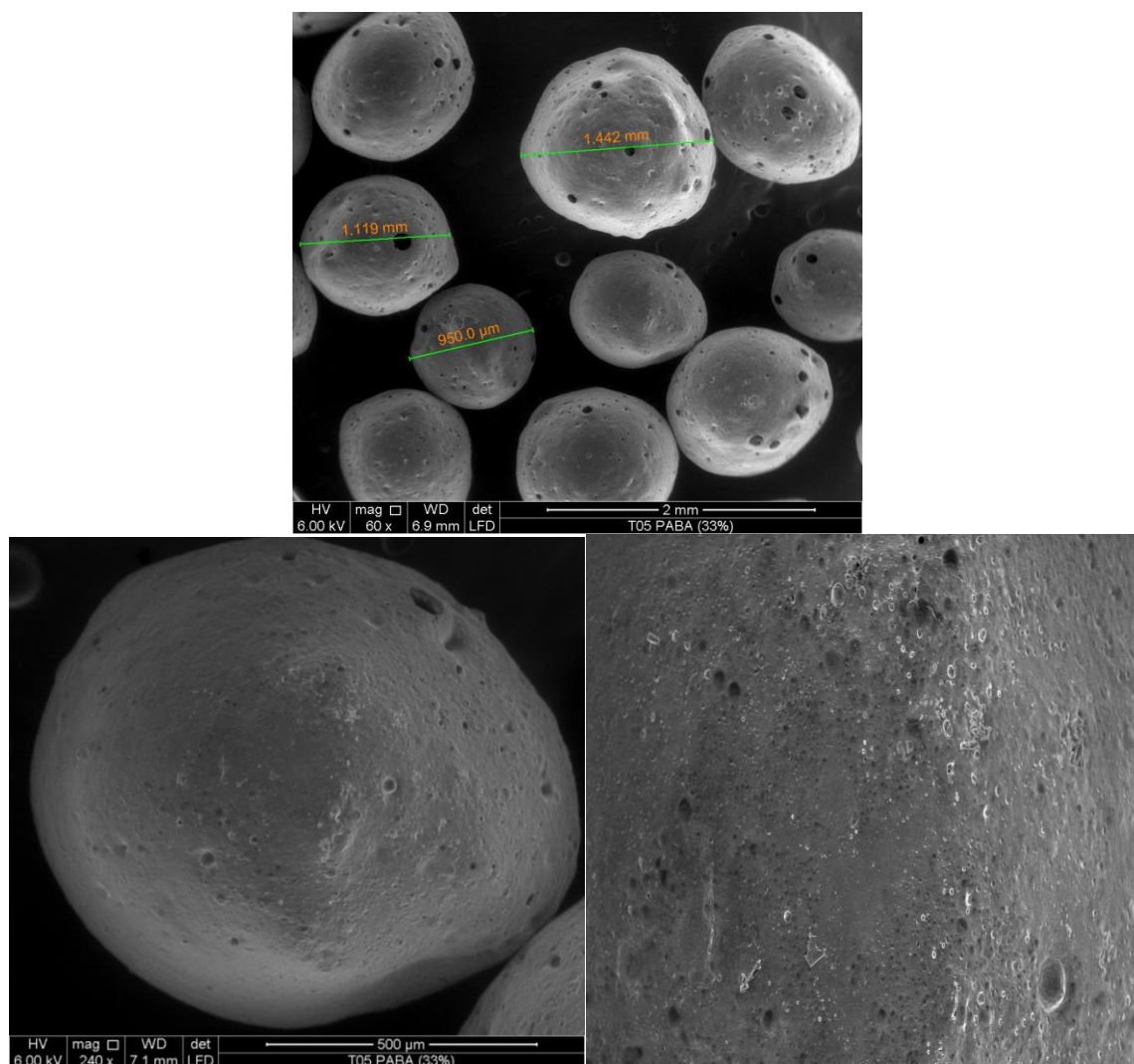


Figure 51. Micrographies MEB des Microsphères de PABA; Conditions de préparation, T13A : un rapport 1:3 PABA:EC, 0,5% Tween 80 et à la vitesse de 600 rpm.

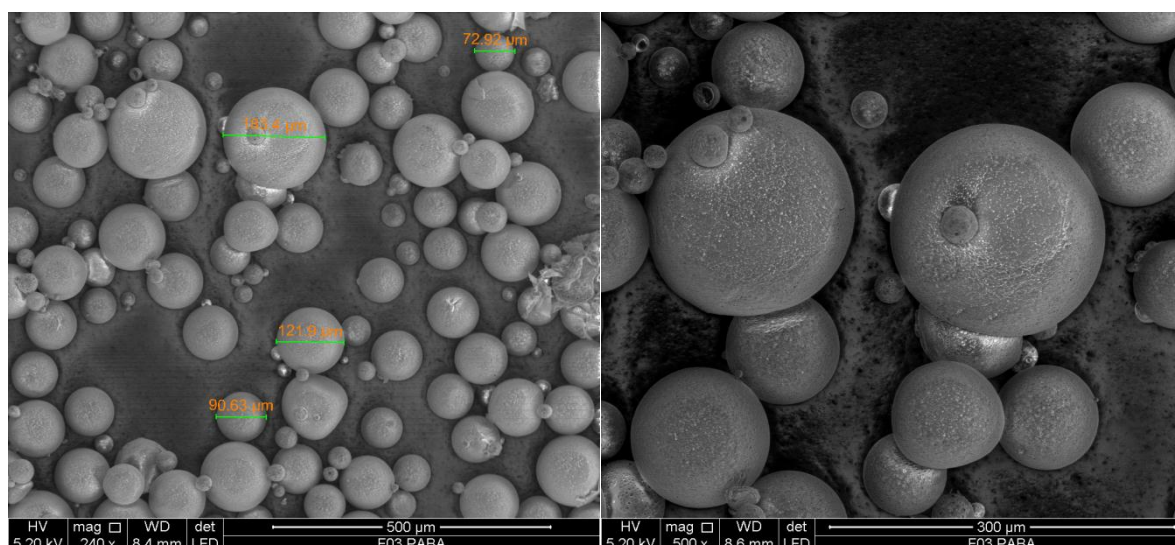


Figure 52. Micrographies MEB des Microsphères de PABA ; Conditions de préparation, F13B : à un rapport 1:3 PABA:EC, 0,5% PVA et à la vitesse de 600 rpm.

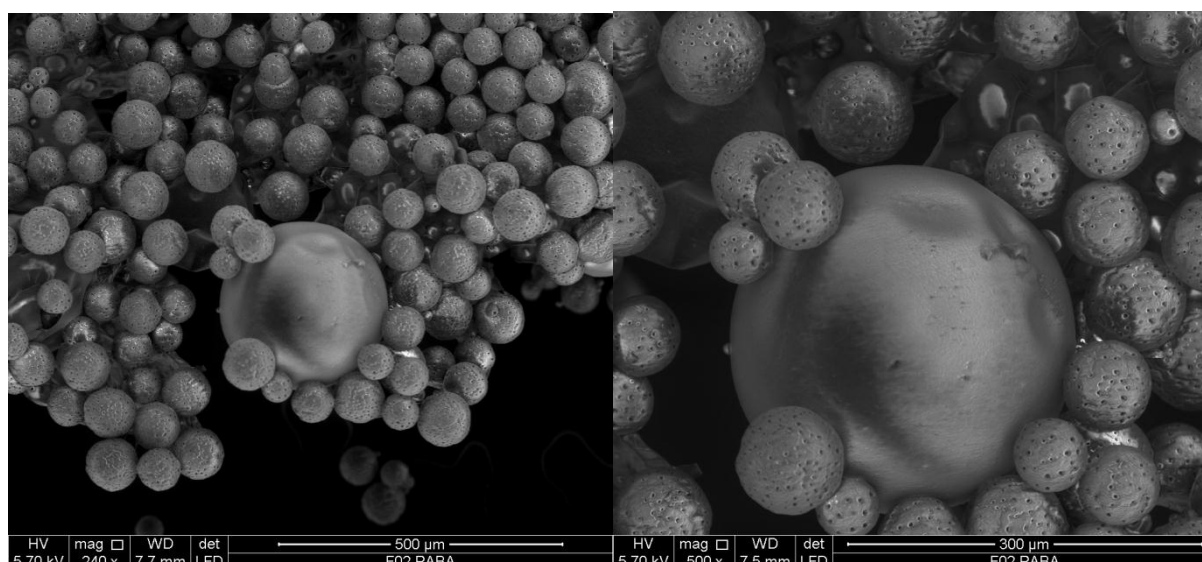


Figure 53. Micrographies MEB des Microsphères de PABA ; Conditions de préparation, F13C : un rapport 1:3 PABA:EC, 2% PVA et à la vitesse de 600 rpm.

- **La vitesse d'agitation pendant l'émulsion :**

La taille des microparticules est déterminée par les conditions du processus de la microencapsulation [88, 91-95]. Les vitesses choisies sont : 600, 900 et 1200 rpm.

L'augmentation de la vitesse d'agitation de 600 à 900 et à 1200 rpm est montrée sur les Microsphères F13A, F13D et F13E préparées à 1% PVA : **le diamètre de Sauter (d_{32})** a diminué de 121,11 à 47,04 µm la dispersion ($\bar{\sigma}$) est améliorée de 1,69 à 1,25 (Tableau 16) et l'efficacité de l'encapsulation EE chute de 67,40 à 52,00% (Tableau 15).

Tableau 16: Le diamètre moyen de Sauter d_{32} des Microsphères en EC en fonction de la vitesse d'agitation.

N (rpm)	600	900	1200
d_{32} (µm)	121,11±2,97	62,74±0,08	47,04±0,11
Dispersion ($\bar{\sigma}$)	1,69±0,04	1,47±0,00	1,25±0,02

L'augmentation de la de vitesse d'agitation pendant l'étape de l'émulsion induit la diminution de la taille des microgouttelettes et par conséquent la surface totale de contact de la phase dispersée avec la phase continue augmente. Dans ce cas, le passage du principe actif PABA à travers cette interface vers la phase aqueuse est plus important, ce qui fait diminuer le taux du PABA encapsulé dans les Microsphères.

Puisque avec 600 rpm de vitesse d'agitation, nous obtenons des Microsphères bien sphériques et individualisées, l'augmentation de la vitesse n'est pas nécessaire du moment qu'elle défavorise l'efficacité d'encapsulation.

- **Le pourcentage initial en principe actif : le rapport initial PABA:EC**

Afin d'obtenir un taux encore plus important en PABA encapsulé, nous avons augmenté sa quantité initiale dans la phase organique. Les résultats apparaissent intéressants puisque on atteint un taux élevé allant jusqu'à 25,10 %.

Les Microsphères des Figures 54 et 55 ont été préparées dans les mêmes conditions opératoires pour deux rapports PABA:EC différents: 1:2 et 1:4 (Tableau 15). Les Microsphères sont pratiquement sphériques, la plus riche en EC (F14) présente une surface parfaitement lisse et sans pores visibles (Figure 55). Les Microsphères préparées avec un rapport PABA:EC 1:2 ont une surface rugueuse et poreuse (Figure 54). Le diamètre moyen d_{32} augmente avec l'augmentation de la concentration en ethylcellulose EC.

La décroissance du rapport PABA:EC de 1:1 à 1:4 augmente l'efficacité d'encapsulation EE de PABA de 50,20% à 79,05% à vitesse 600 rpm et à 1% PVA constants. Ainsi, l'augmentation de la viscosité des gouttelettes dispersées due à la concentration de plus en plus élevée en polymère EC empêche la perte de PABA.

Enfin, une bonne dispersion ($\bar{\sigma}$) comprise entre 1,21 et 2,42 des diamètres moyens des Microsphères préparées est obtenue comme le montrent les valeurs du Tableau 15.

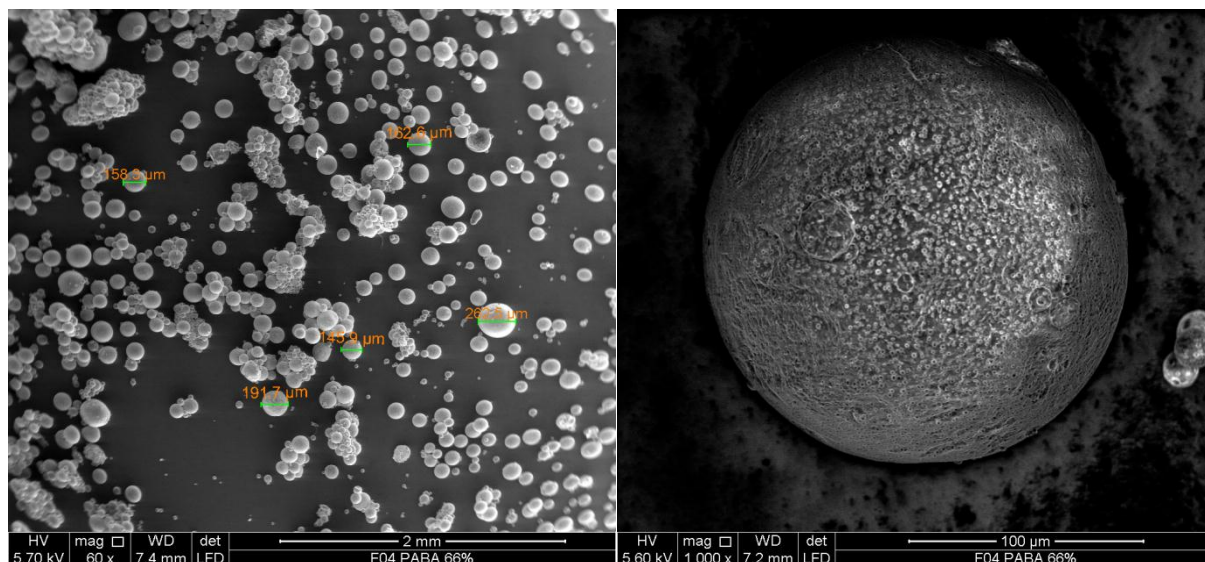


Figure 54. Micrographies MEB de surface et morphologie des Microsphères F12 préparées à un rapport 1:2 PABA:EC ; 1% PVA et à la vitesse de 600 rpm.

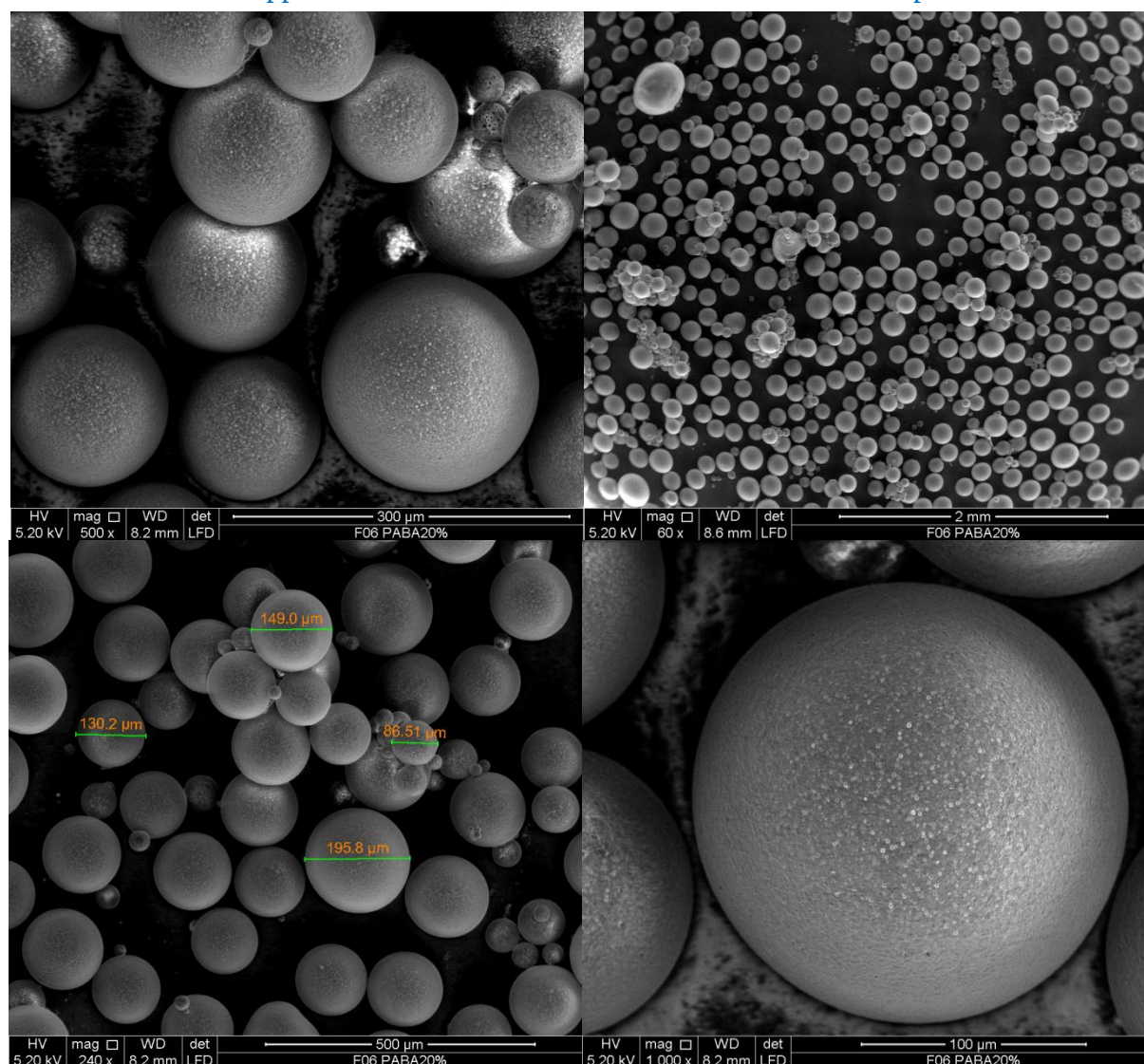


Figure 55. Micrographies MEB de surface et morphologie des Microsphères F14 préparées à un rapport 1:4 PABA:EC ; 1% PVA et à la vitesse de 600 rpm.

IV.3.2. Analyse des Microsphères par Spectroscopie Infra-Rouge : Identification du principe actif ‘PABA’ encapsulé

L'analyse FTIR (Spectromètre Bruker Alpha IFS 110) montre que le spectre des Microsphères obtenues est la somme des spectres du principe actif (PABA) et de la matrice cellulose acétate butyrate (CAB) (Figure 56) ou ethylcellulose (EC) (Figure 57).

Les spectres montrent la présence effective du PABA dans le spectre des Microsphères préparées : (C=O) et (νC-OH) à $1659,60\text{ cm}^{-1}$ et $1285,15\text{ cm}^{-1}$, les bandes caractéristiques du groupe -COOH, (C-N) à 1343 cm^{-1} , la bande de vibration aromatique (C=C) à 1622 cm^{-1} et du groupement amine (N-H) à $3359\text{-}3457$ [150].

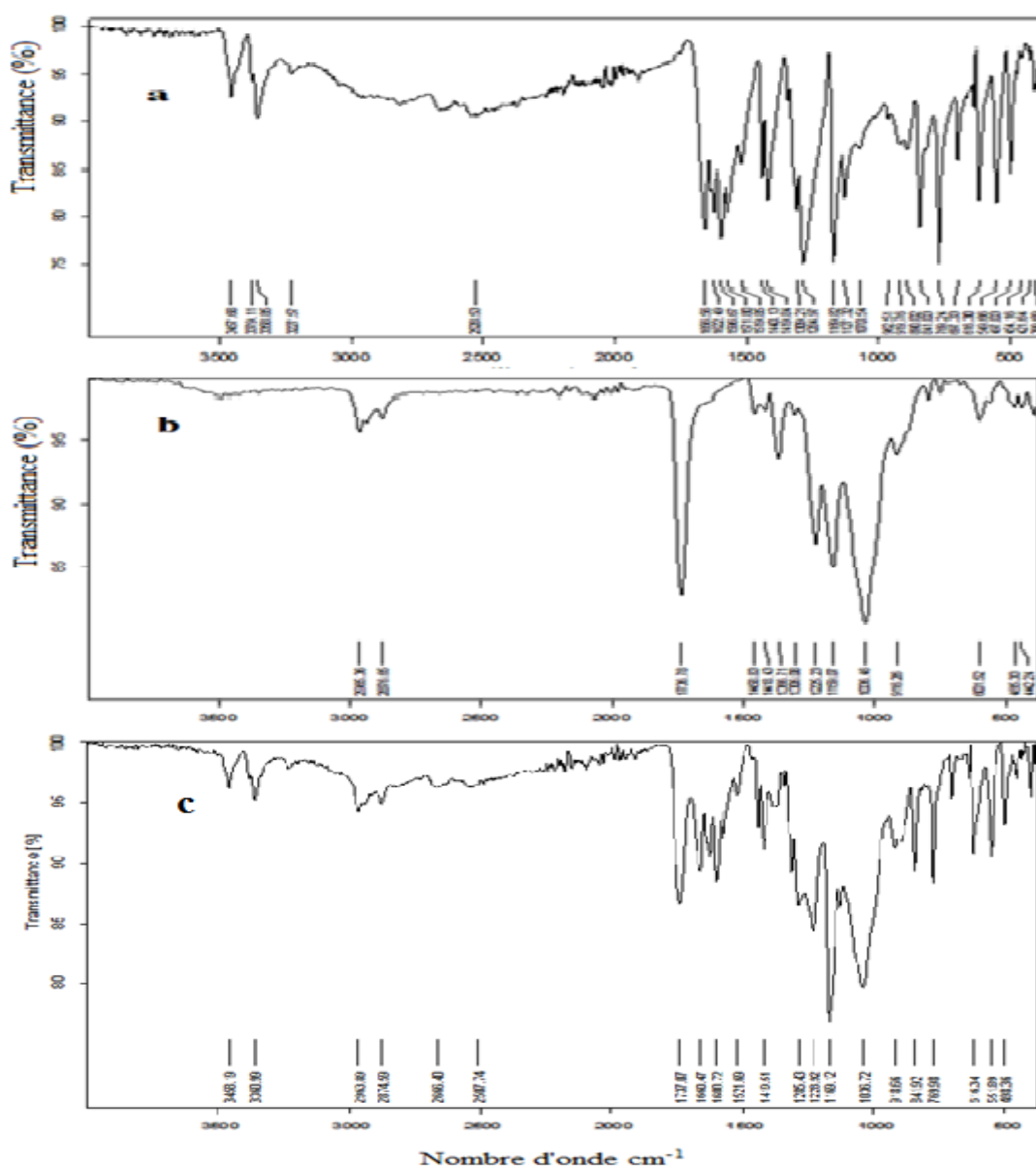


Figure 56. Spectres IR de: (a)- PABA pur, (b)- Microsphères en CAB (à blanc) et (c)- Les Microsphères CAB13.

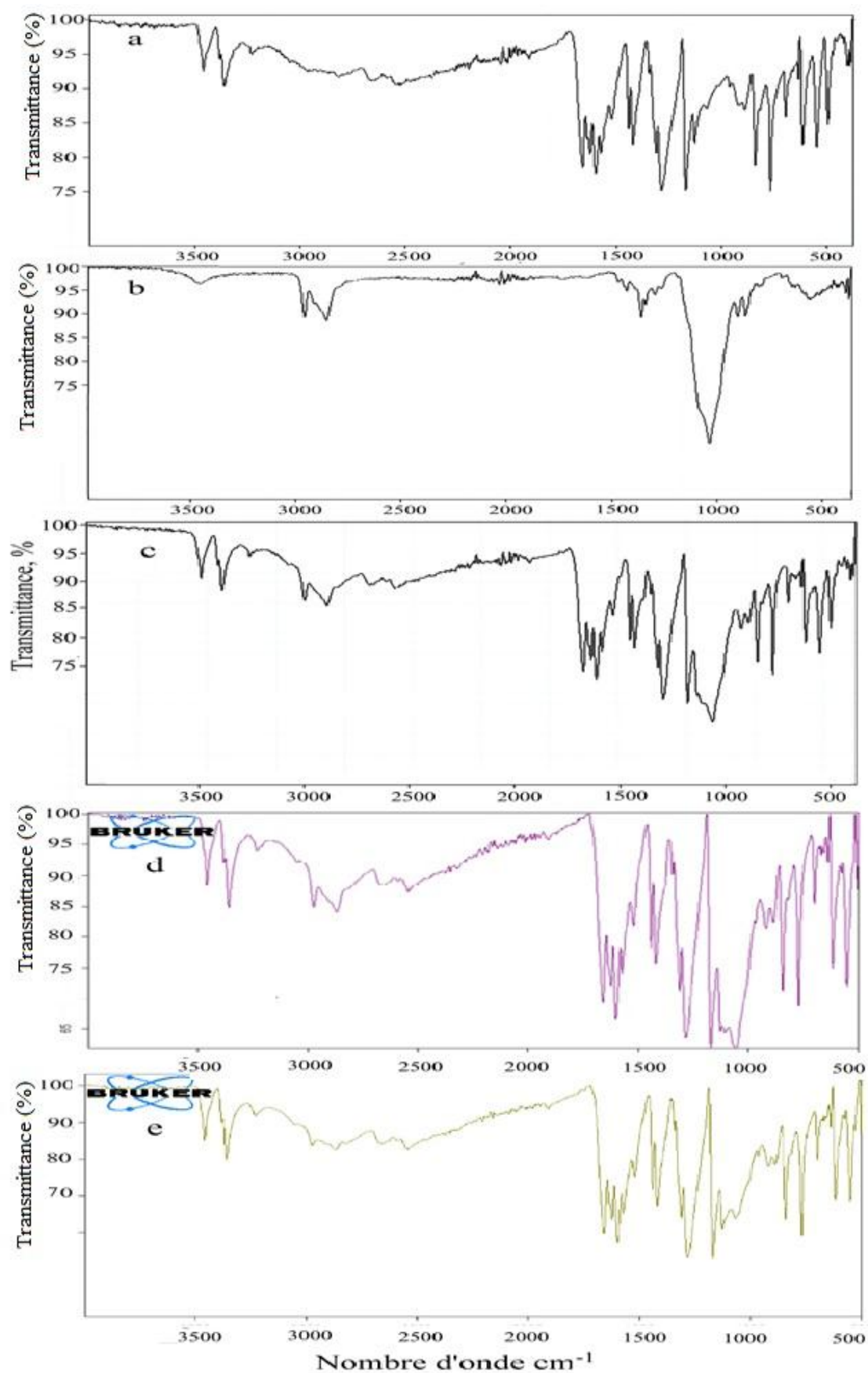


Figure 57. Spectres IR de: (a)- PABA pur, (b)- Microsphères d'Ethylcellulose (à blanc), (c)- Microsphères F14, (d)- Microsphères F13C et (e)- Microsphères T13B.

IV.3.3. Caractérisation des Microsphères par DSC :

Les courbes de DSC ont été déterminées sur un appareil DSC (DSC Setaram, chauffage entre 20–300°C avec vitesse de 5°C/min et les masses des échantillons de 5 à 10 mg).

Une étude comparative a été réalisée entre les courbes DSC de polymère (éthylcellulose) et de principe actif (PABA) et des Microsphères chargées de PABA (F14) (Figure 58).

La comparaison des courbes DSC (a), (b) et (c) de la Figure 58 laisse apparaître le pic fin de fusion de PABA (191°C: litt.190°C) sur (a) accompagné d'un pic endothermique positionné à 250°C.

La courbe (b) des Microsphères en EC pure (essai à blanc) montre un $T_g \sim 85^\circ\text{C}$ difficilement détectable en général dépendant de la masse moléculaire et du degré de substitution de l'éthylcellulose utilisée. La variabilité du T_g de EC notée par certains auteurs [96,97, 153] dépend intimement de la structure de cette dernière et de l'ajout de certains composés comme les plastifiants [96] pour favoriser la porosité des Microsphères. Il a été montré d'autre part que l'élongation, la flexibilité et le T_g diminuent nettement avec l'accroissement des groupements ethoxyls de l'EC. Aux températures plus élevées apparaissent dans notre cas (b) deux bandes "endo/exothermique" à 106-190 °C généralement toujours observées pour EC pure. La bande exothermique la plus intense apparaissant à 190 °C est associée à la dégradation oxydative de l'EC [153], fortement dépendante de la méthode utilisée en DSC.

La bande endothermique à 106°C correspond à la fusion de l'EC qui est généralement cinétiquement empêchée démontrée par sa faible intensité.

La courbe DSC (c) des Microsphères de l'EC chargées en PABA donne la fusion de PABA à 171 °C en présence de l'EC. Ce décalage est à mettre au compte d'une interférence entre PABA et la matrice polymère EC. Enfin, la bande endothermique apparaissant à 250 °C sur les graphes (a) et (c) accompagnant PABA et semble être un composé dérivant d'une éventuelle dégradation de PABA aux températures supérieures à sa fusion à 191 °C.

IV.3.4. Caractérisation des microsphères par DRX :

La diffraction de rayons X (DRX) est la méthode la plus efficace et la plus simple pour

caractériser un composé cristallisé. La technique DRX a été largement utilisée avec la DSC pour étudier l'état physique de l'agent actif dans la matrice de polymère. Elle se base sur la mesure des angles de diffraction des rayons X par les plans cristallins de l'échantillon à analyser. L'appareil utilisé est un diffractomètre à poudre (Diffractomètre DRX BRUKER D8 Advance). Les analyses ont été réalisées à température ambiante. L'échantillon à analyser est placé sous forme de poudre sur un support plat. Les conditions générales d'acquisition correspondent à une plage angulaire en 2θ allant jusqu'à 70° . Les diffractogrammes obtenus ont été traités avec le logiciel EVA, commercialisé par la société SIEMENS (Université Es-Senia, Oran).

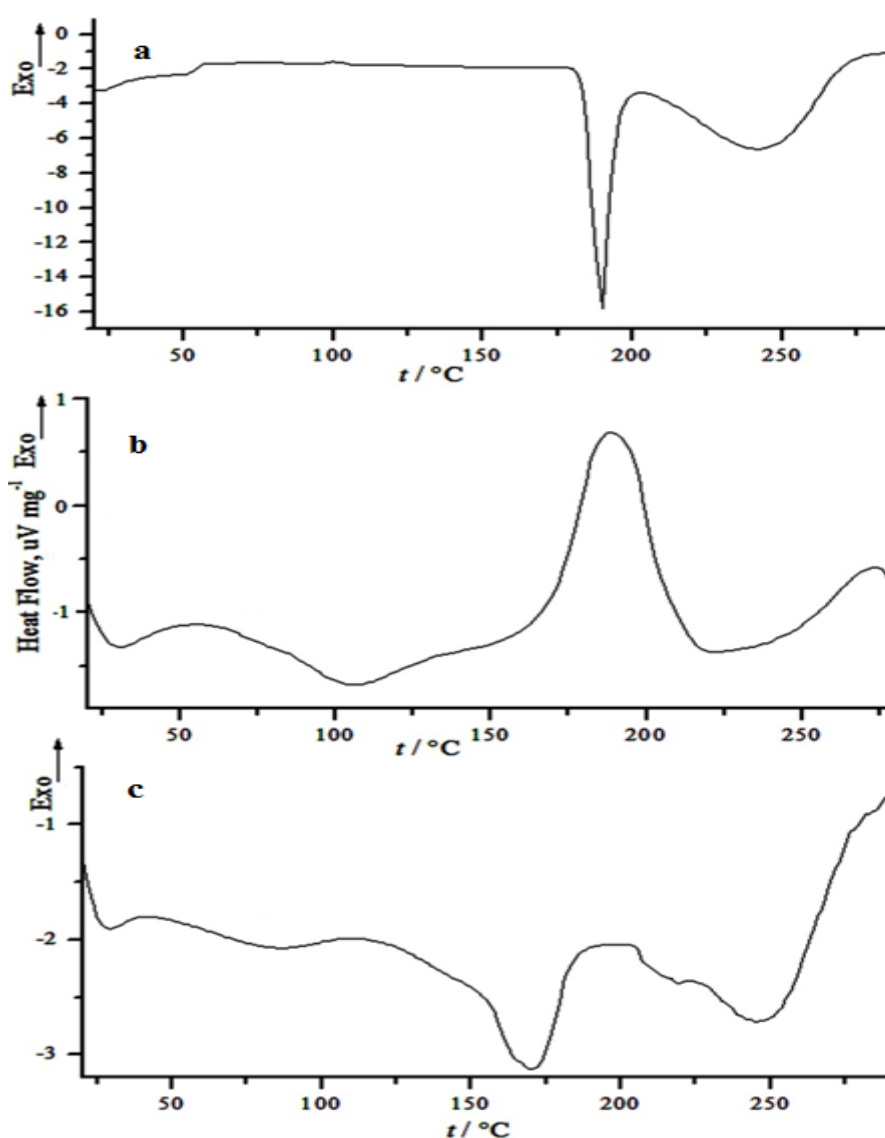


Figure 58. Thermogrammes DSC de (a)- PABA pur, (b)- Microsphères d'ethylcellulose (à blanc) et (c)- Microsphères F14.

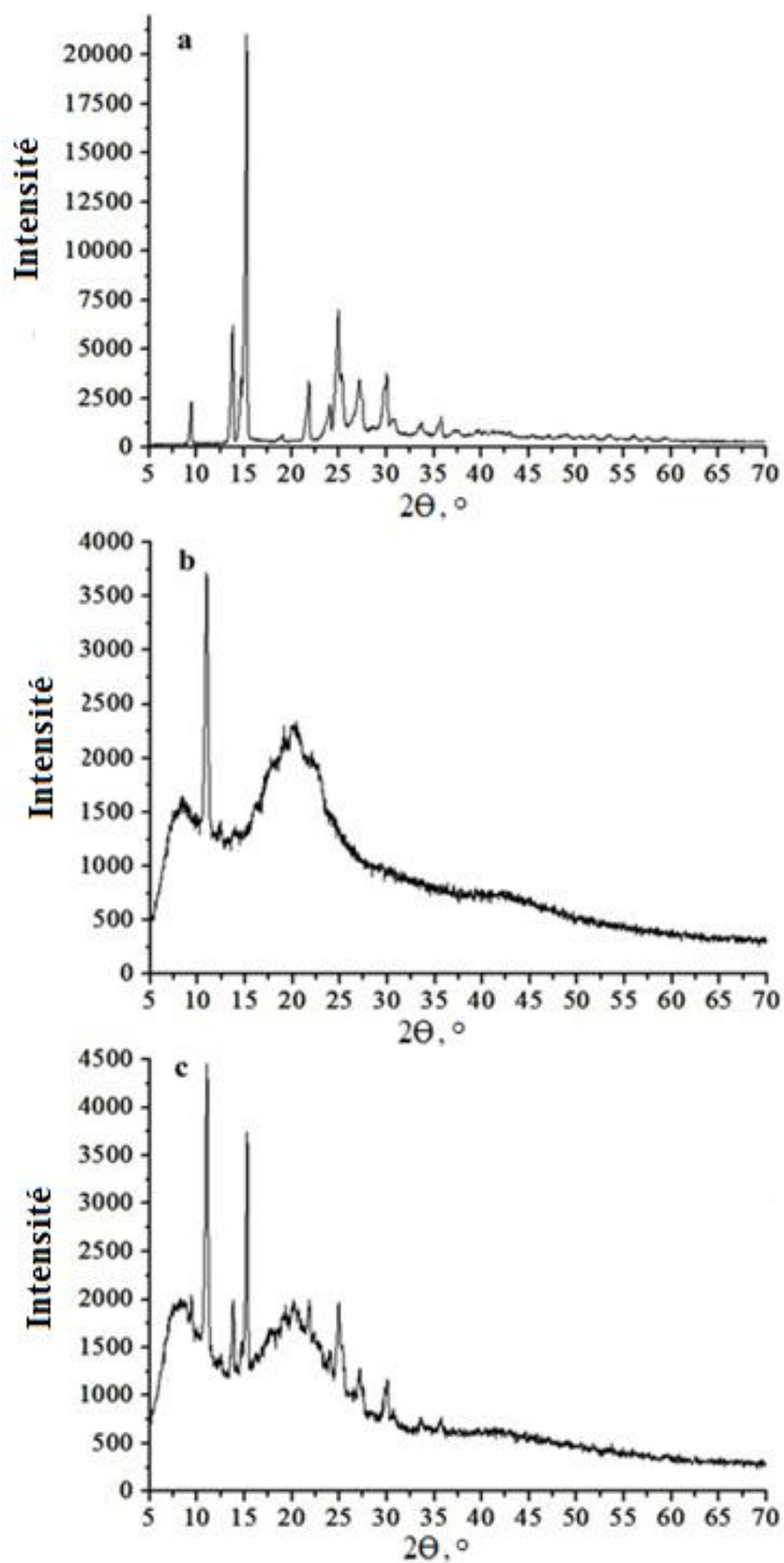


Figure 59. Diffractogrammes DRX de (a)- PABA pur, (b)- Microsphères d'ethylcellulose (essai à blanc) et (c)- Microsphères F14.

Dans notre étude, on a réalisé les diffractogrammes DRX de l'agent actif PABA pur, de l'Ethylcellulose et des Microsphères correspondantes (Figure 59). .

La nature cristalline du PABA a été clairement démontrée par la DRX contenant des pics bien définis entre 2θ de 9° à 40° (Figure 59).

Cependant les Microsphères chargées PABA (F14) présentent des pics moins intenses par rapport à PABA pur. La présence de diffractogramme qui était beaucoup diminué dans les Microsphères chargées de PABA indique que le PABA est présent dans la matrice polymère à l'état cristallin et la présence de polymère matriciel EC diminue encore la cristallinité du PABA pur.

CHAPITRE V

ETUDE DE LA LIBERATION DES PRINCIPES ACTIFS A PARTIR DES MICROSPHERES ET LEUR MODELISATION

V. Etude de la libération des principes actifs 2-ABZT et 2-AP à partir des formulations Microsphères

Introduction :

Les cinétiques de libération ont été suivies à l'aide d'un spectromètre UV-VIS (UV 2401PC SCHIMADZU). Cet appareil est préalablement calibré à la longueur d'onde $\lambda_{\max}$ du principe actif PA (2-ABZT et 2-AP) dans le milieu considéré à pH = 1,2 et à 37 °C.

Dans le cas où le principe actif PA pur (libre) est dispersé dans la matrice polymérique, sa libération par diffusion à travers cette matrice dépend des trois facteurs essentiels :

- La vitesse de « **pénétration** » du liquide dans la forme galénique à travers la structure du polymère.
- La vitesse de « **dissolution** » du principe actif dans le liquide piégé.
- La « **diffusion** » du principe actif à travers la matrice.

Si la molécule PA est fixée sur un support moléculaire, un quatrième facteur s'ajoute aux précédents :

- C'est la réaction chimique qui permet la rupture par hydrolyse de la liaison --HC=N relais entre le principe actif PA et son support : **cas des bases de Schiff IM₁ et IM₂**. Le monomère support synthétisé dans notre cas, est une **base de Schiff** type **aldimine** dont le mécanisme global d'hydrolyse est résumé sur le schéma 7 :

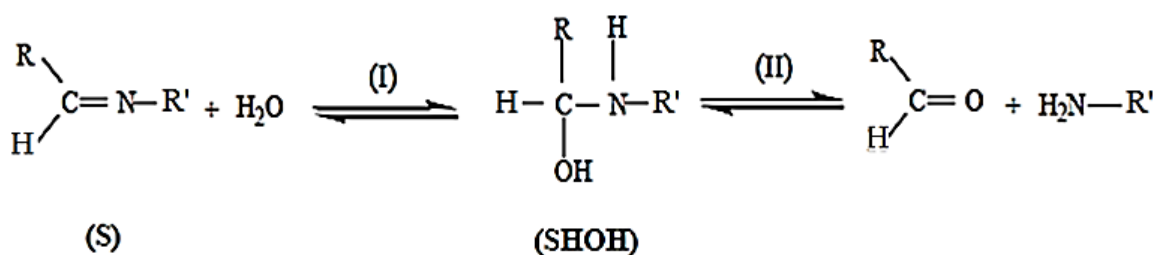


Schéma 5.

Etude de la libération des principes actifs à partir des Microsphères

Etape (I) : formation de l' α -amino-alcool, par addition de l'eau sur la double liaison activée par la protonation de l'azote.

Etape (II) : la rupture du carbinole-amine qui conduit aux produits d'hydrolyse.

V.1. Analyse des quantités transférées

V.1.1. Conditions et techniques expérimentales :

a. Dispositif expérimental:

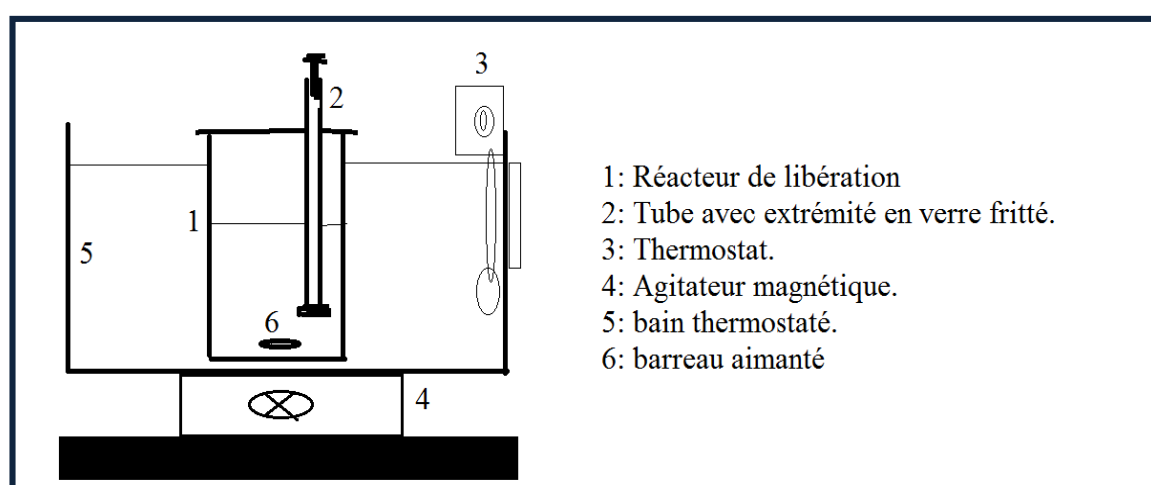


Figure 60. Dispositif expérimental de libération du PA à partir des "Microsphères".

Les cinétiques de libération de l'agent actif à partir des microparticules ont été effectuées dans un réacteur spécial de volume de 500 mL équipé d'un tube immergé dans la solution pour réaliser les prélèvements. Ce tube a une extrémité en verre fritté qui empêche l'ascension des microparticules lors du prélèvement. Ce dispositif est immergé dans un bain thermostaté à une température de 37°C pour toutes les microsphères préparées. Le dispositif est décrit sur la Figure 60.

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

b. Analyse du principe actif libéré

Les mesures sont effectuées à l'aide d'un appareil UV-VIS (U.V 2401PC SCHIMADZU) calibré à une longueur d'onde fixe propre au principe actif PA étudié.

c. Calcul de la quantité du principe actif PA libéré au cours du temps :

Les Microsphères chargées de principe actif «0,1g» sont immergées dans «500 mL» du milieu physiologique de pH = 1,2.

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

Le réacteur est bien bouché afin d'éviter toute évaporation du milieu, le liquide va passer par le verre fritté et remplir le tube en verre «2», ce qui permet de prélever un volume « $V_p = 3 \text{ mL}$ » du milieu liquide à l'aide d'une pipette.

Le volume prélevé est analysé par UV-VIS pour déterminer la quantité de l'agent actif libéré à l'instant « t », puis reversé dans le réacteur. La Densité Optique (DO) ou l'Absorbance est ensuite déterminée par UV-VIS pour chaque prélèvement.

La concentration de la solution C_p est obtenue en appliquant la loi de Beer-Lambert :

$$DO = \varepsilon \cdot C_p \cdot I \quad \text{où } (I = 1 \text{ cm}) \text{ et } C_p = DO / \varepsilon$$

Pour aboutir à la masse m_t de l'agent actif dans le flacon, on applique l'équation * :

$$m_t = D.O. V_F \cdot M_{PA} / \varepsilon \quad *$$

Avec :

V_F : le volume du flacon (réacteur) (100mL).

C_p : la concentration de la solution prélevée.

M_{PA} : la masse molaire du principe actif

m_t : la masse du principe actif libéré (mg) à l'instant « t ».

Le pourcentage du principe actif libéré est le rapport de la masse libérée m_t sur la masse initiale en principe actif m_i contenu dans la forme galénique.

$$\% PA = \frac{m_t}{m_i} \cdot 100$$

d. Le milieu d'étude

- **Composition du milieu d'étude**

Pour l'étude de la libération des principes actifs à partir des Microsphères préparées, on a choisi un milieu physiologique gastrique reconstitué de pH = 1,2 porté à 37 °C.

La concentration de la solution devrait être uniforme en tout point de la solution, et cette uniformité est maintenue grâce à l'action d'un barreau magnétique dans le flacon (vitesse de rotation de l'agitateur est fixée à 500 rpm pour toutes les expériences).

On a choisi de reconstituer un milieu stomacal gastrique de pH = 1,2 digestif [154], pour effectuer nos différentes cinétiques.

Les quantités nécessaires à la reconstitution de ce milieu gastrique stomacal de pH = 1,2 sont les suivantes :

60 mL HCl 1N
02 g NaCl
Eau distillée q.s.p 1000 mL.

Ces compositions sont conformes aux normes décrites par la Pharmacopée Américaine U.S.P [154].

- **Facteurs influençant les transferts de matières :**

- **L'agitation du milieu :**

La concentration de la solution devrait être uniforme en tout point de la solution, et cette uniformité est maintenue grâce à l'action d'un agitateur magnétique dans le flacon (vitesse de rotation fixée à 500 r.p.m pour toutes les expériences), puisque la non agitation du milieu réactionnel entraînera la formation d'un gradient de concentration à l'intérieur de la solution, donc source d'erreur lors des analyses en spectrophotométrie UV-VIS.

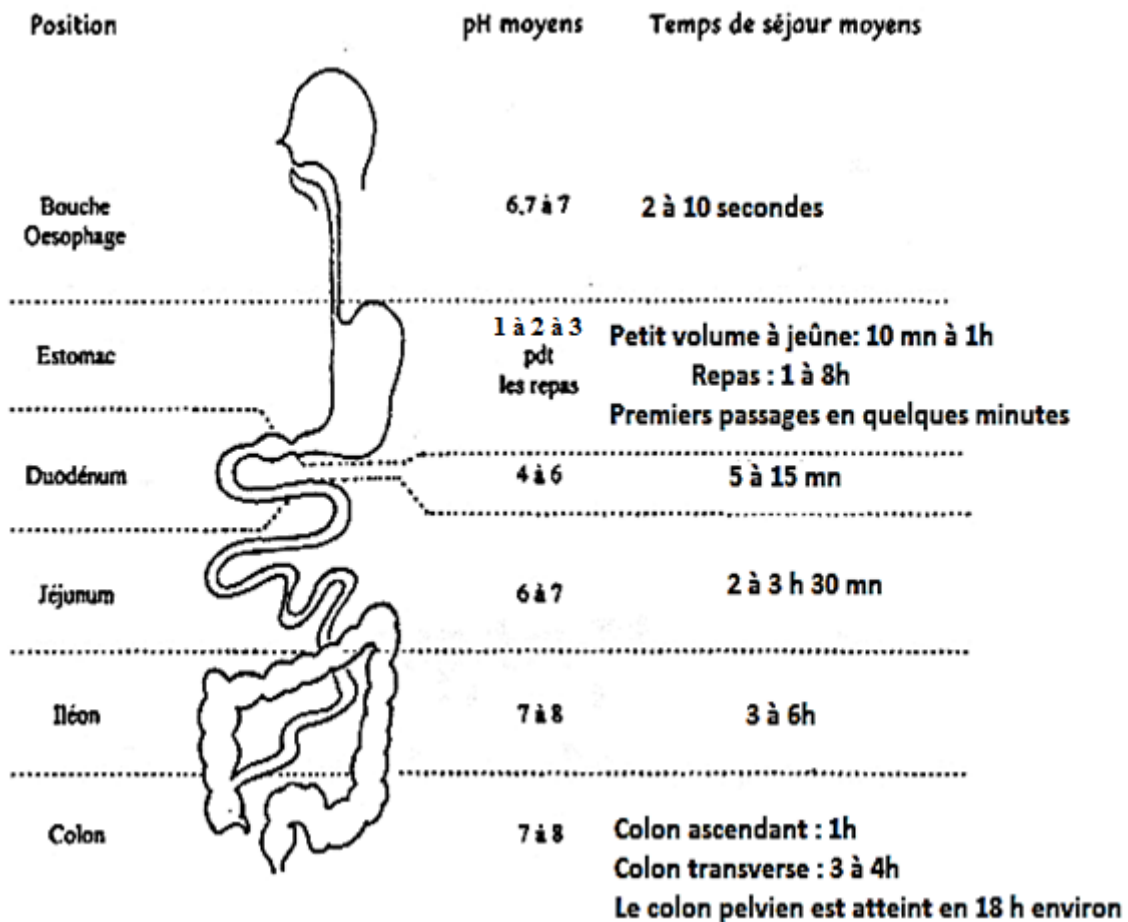


Figure 61. pH et temps de séjour des matières solides le long du tractus digestif.

- **La température du milieu :**

L'influence de la température est très importante dans les phénomènes de diffusion car elle intervient dans la solubilité du principe actif et facilite sa diffusion. Toutes nos expériences ont été effectuées à température constante 37°C (température du corps humain).

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

La nature du milieu, comme la température, intervient sur la solubilité de l'agent actif, laquelle influera sur la diffusion.

Le volume du milieu ainsi que son pH influent d'une part sur la solubilité de l'agent actif, et d'autre part sur la masse libérée au temps infini (temps à l'équilibre).

▪ Conditions de mesure :

Afin d'assurer une meilleure reproductibilité des résultats des phénomènes observés et se rapprocher le plus possible des conditions physiologiques, nous avons maintenu constants tous les paramètres suscités pour éviter toute influence sur les transferts de matières :

- Le tube du réacteur spécial immergé dans la solution pour réaliser les prélèvements : ce tube a une extrémité en verre fritté qui empêche l'ascension des microparticules lors du prélèvement, il est un peu élevé par rapport au barreau aimanté afin d'éviter les chocs qui peuvent s'y produire avec l'extrémité du tube et permettre aussi une bonne agitation et circulation du liquide dans le réacteur spécial.
- La composition du milieu d'étude : la préparation du liquide environnant se fait par quantité de 2,5 litres afin d'assurer toutes les expériences avec le même liquide pour une même expérience.
- La température : maintenue constante à $37 \pm 0,5$ °C à l'aide d'un bain thermostaté.
- L'agitation : constante durant toutes nos expériences, et fixée sur 500 r.p.m à l'aide d'un agitateur magnétique.

V.2. Etablissement des courbes de libération des principes actifs 2-ABZTH⁺ et 2-APH⁺ à partir des formulations Microsphères et leur modélisation

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

Pour chaque paramètre, la libération du principe actif par diffusion dépend des facteurs essentiels selon les conditions opératoires de la formulation.

▪ *Caractéristiques des formulations Microsphères étudiées*

La préparation des Microsphères F₁ (2-ABZT), F₂ (IM₁), F₃ (2-AP) et F₄ (IM₂) a été déjà décrite dans la partie expérimentale de la microencapsulation utilisant un pourcentage % PA:EC = 33,33 %.

V.2.1. Etablissement des courbes de libération de la 2-aminobenzothiazole 2-ABZTH⁺ à partir des formulations Microsphères

La 2-aminobenzothiazole (2-ABZT) est une molécule modèle. Elle a été greffée sur un monomère de type imine IM₁ comme c'est décrit dans la partie expérimentale.

Le principe actif PA *pur* ou *greffée sur le monomère support imine* est encapsulé dans des " systèmes Microsphères ".

Dans cette étude, nous avons comparé la libération *in-vitro* et l'effet « retard » de PA à partir des formulations Microsphères F₁ et F₂ dans le milieu reconstitué pH = 1,2 à 37 °C en fonction du temps suivi par la modélisation cinétique.

La Figure 62 suivante illustre le profil de libération de la 2-aminobenzothiazole protonée " 2-ABZTH⁺ " à partir des Microsphères F₁ (Microsphères de la 2-ABZT pure) et F₂ (son monomère support base de Schiff IM₁). Elle représente le tracé des pourcentages de l'agent actif 2-ABZTH⁺ libéré en fonction du temps au pH = 1,2 et à 37 °C.

On remarque une libération lente du 2-ABZTH⁺ au cours du temps. Cela peut s'expliquer par sa faible solubilité et l'hydrophobicité de la matrice Ethylcellulose (EC) dans le milieu d'étude reconstitué pH 1,2 à 37 °C.

La libération de la 2-ABZTH⁺ encapsulée pure est plus facile à partir des Microsphères F₁ que si l'on utilise le monomère support base de Schiff IM₁ encapsulé dans les Microsphères F₂. Après 20 heures, le pourcentage du 2-ABZT libéré par la formulation F₁ atteint 81,38 %

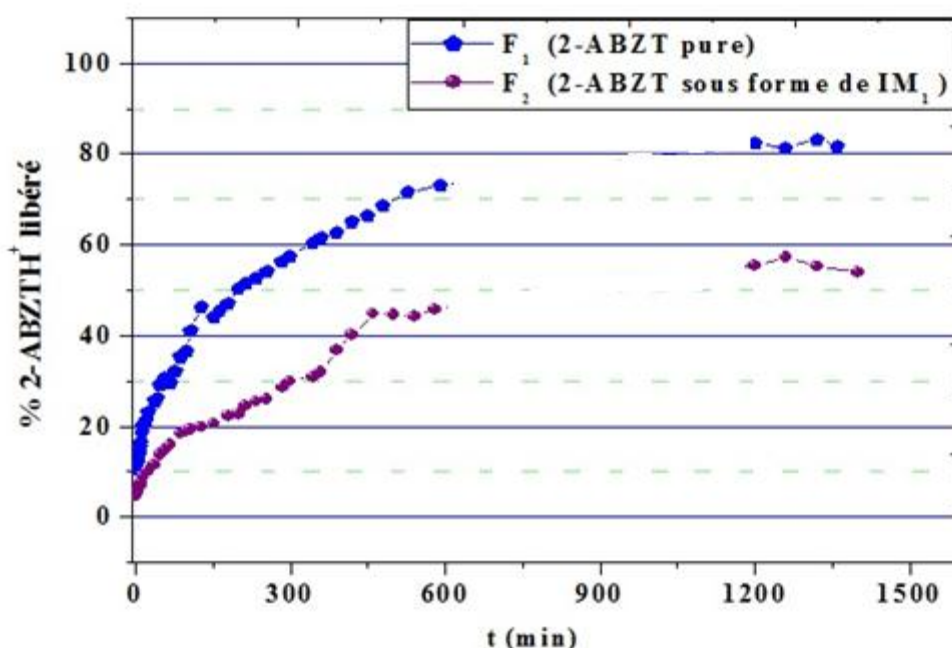


Figure 62. % 2-ABZTH⁺ libéré à partir des Microsphères F₁ et F₂ en fonction du temps dans pH = 1,2 à 37°C.

alors qu'il n'est que de 55,24 % par la formulation F₂. L'accrochage de l'amine RNH₂ au monomère *p*-vinylbenzaldéhyde via la fonction imine >C=N- est donc un facteur important dans le ralentissement de la libération de sa forme protonée RNH₃⁺.

Cette remarque est en conformité avec la théorie parce que la libération à partir du monomère support (F₂) inclut une étape supplémentaire : c'est la réaction chimique qui permet la rupture par hydrolyse de **la double liaison** >C=N- relais entre le principe actif 2-ABZT et son support.

Les résultats obtenus montrent que les Microsphères contenant le principe actif greffé (engagé) sur un monomère support libèrent pratiquement des quantités d'agent actif inférieures à celles libérées à partir des Microsphères contenant le principe actif pur (libre) dans le milieu gastrique reconstitué pH = 1,2 à 37 °C.

Il nous reste à étudier et comparer la différence des coefficients de diffusion à partir des Microsphères dans ce milieu.

V.2.2. Etablissement des courbes de libération de la 2-aminopyrimidine 2-APH⁺ à partir des formulations Microsphères

La 2-aminopyrimidine (2-AP) est une molécule modèle. Cette molécule a été greffée sur un monomère de type imine comme c'est décrit dans la partie expérimentale.

La 2-AP a été ensuite encapsulé dans une matrice polymérique cellulosique (EC). L'étude de la libération du 2-APH⁺ a été ainsi suivie dans le milieu gastrique reconstitué pH = 1,2 à partir des microsphères correspondantes dans le but de comparer les pourcentages cumulés de principe actif 2-APH⁺ libéré.

Pour illustrer cette libération, nous donnons les courbes cinétiques de F₃ et F₄. Sur la Figure 63, nous présentons le pourcentage de l'agent actif « 2-APH⁺ » libéré, calculé par rapport à la masse initiale pour les Microsphères étudiées, en fonction du temps :

°°°° F₃ : La 2-aminopyrimidine (2-AP) **pure** est microencapsulée dans des "systèmes Microsphères" (Lot de Microsphères F₃).

°°°° F₄ : La 2-aminopyrimidine (2-AP) **greffée sur le monomère support IM₂** est microencapsulée dans des "systèmes Microsphères" (Lot de Microsphères F₄).

Pour les deux formulations F₃ et F₄ le pourcentage de la 2-APH⁺ libérée est important, cela est dû à la solubilité de ce principe actif dans le milieu d'étude reconstitué pH 1,2.

Sur la Figure 63, nous présentons le pourcentage du 2-APH⁺ libérée à partir du monomère support IM₂ par les Microsphères F₄ en fonction du temps. On remarque que les pourcentages cumulés libérés sont plus faibles par comparaison avec la formulation contenant la 2-AP pure (F₃).

Cette remarque est en conformité avec la théorie parce que la libération à partir du monomère support inclut une étape supplémentaire, soit la rupture par hydrolyse de la double liaison >C=N-. Nous remarquons aussi que les taux libérés en fonction du temps sont favorisés par les Microsphères F₃ de surface de contact plus grande avec le milieu aqueux d'étude. Elles représentent un taux libéré le plus élevé au temps infini.

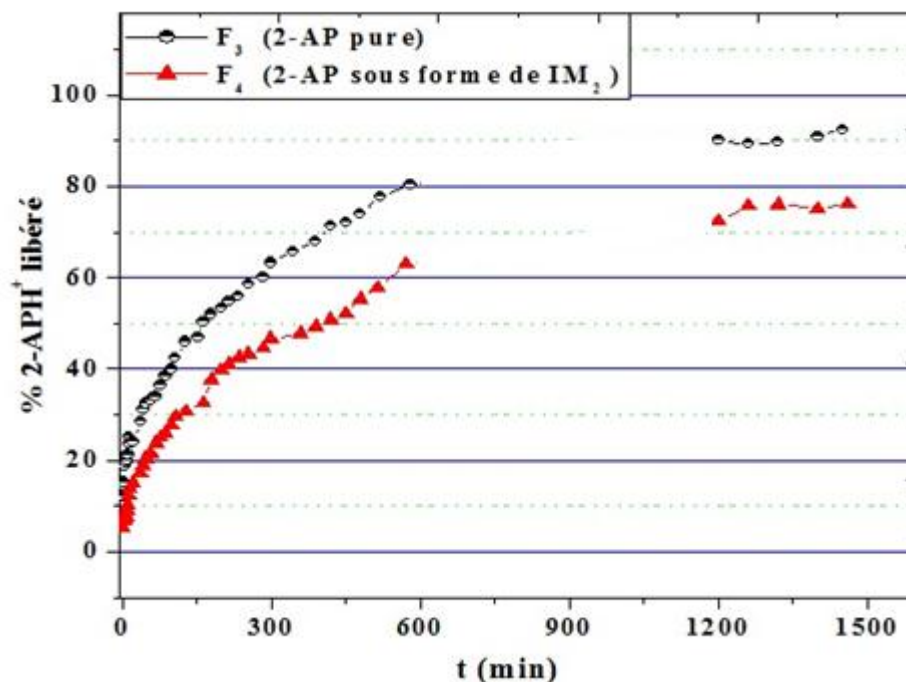


Figure 63. % 2-APH⁺ libéré à partir des Microsphères F₃ et F₄ en fonction du temps dans pH = 1,2 à 37°C.

V.2.3. Modélisation des cinétiques :

La technologie de la microencapsulation a pour avantage le prolongement de la durée de libération des principes actifs encapsulés.

Dans notre étude, après la formulation et la caractérisation des Microsphères, nous avons étudié la libération des agents actifs de façon «*in-vitro*».

En traçant le pourcentage du principe actif libéré en fonction de la racine carrée du temps, on obtient une nette linéarité des points expérimentaux, essentiellement aux temps courts de la cinétique. Les tracés du % PA libéré (2-APH⁺, 2-ABZTH⁺) en fonction de la racine carrée du temps à partir des différentes formulations Microsphères sont représentés sur les Figures 64 et 65.

On remarque également que les droites obtenues ne passent pas par l'origine, une légère courbure est notée aux premiers temps, cette « courbure » peut être expliquée par la mise en équilibre du système : l'absorption du liquide par la forme galénique ne peut commencer qu'après un laps de temps, formation de la pellicule autour de la formulation, puis diffusion du liquide environnant, et ceci quel que soit la composition de la formulation des Microsphères.

Les différents résultats obtenus avec le PA pur ou greffé sur le monomère support base de Schiff prouvent que le principe actif libéré suit des cinétiques qui admettent une étape limitante du type Fickien, ceci nous a permis d'appliquer les solutions analytiques proposées par Cranck afin de calculer la diffusivité du PA dans le milieu d'étude à partir de différentes formulations Microsphères.

Les Microsphères libèrent le principe actif protoné (2-APH^+ , 2-ABZTH^+) par diffusion vers le milieu extérieur. Les coefficients de diffusion ont été calculé pour chaque formulation dans le milieu d'étude reconstitué pH 1,2 à 37 °C.

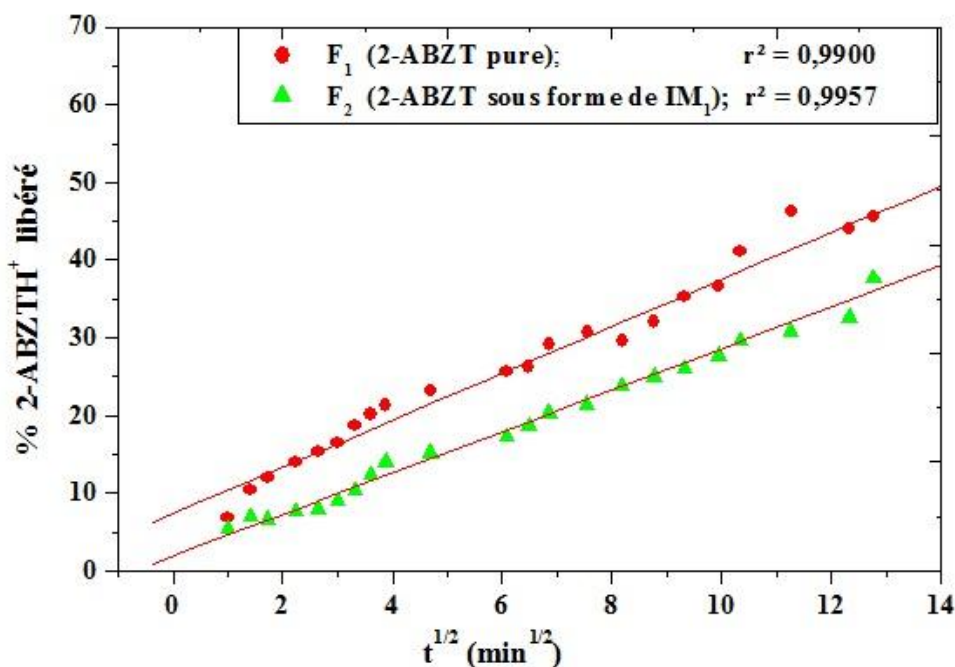


Figure 64. % 2-ABZTH^+ libéré à partir des Microsphères F_1 et F_2 en fonction de $\sqrt{t}$ dans pH =1,2 à 37°C.

a. Calcul de m_∞ :

Les valeurs de m_∞ sont obtenues en traçant les graphes $\log(m_t/m_i) = f(1/t)$. Quand t tend vers l'infini, $1/t$ tend vers 0, l'ordonnée à l'origine représente alors $\log(m_\infty/m_i)$, connaissant m_i , la masse initiale, on peut facilement calculer m_∞ . Ce calcul a été repris pour l'ensemble des formulations Microsphères étudiées.

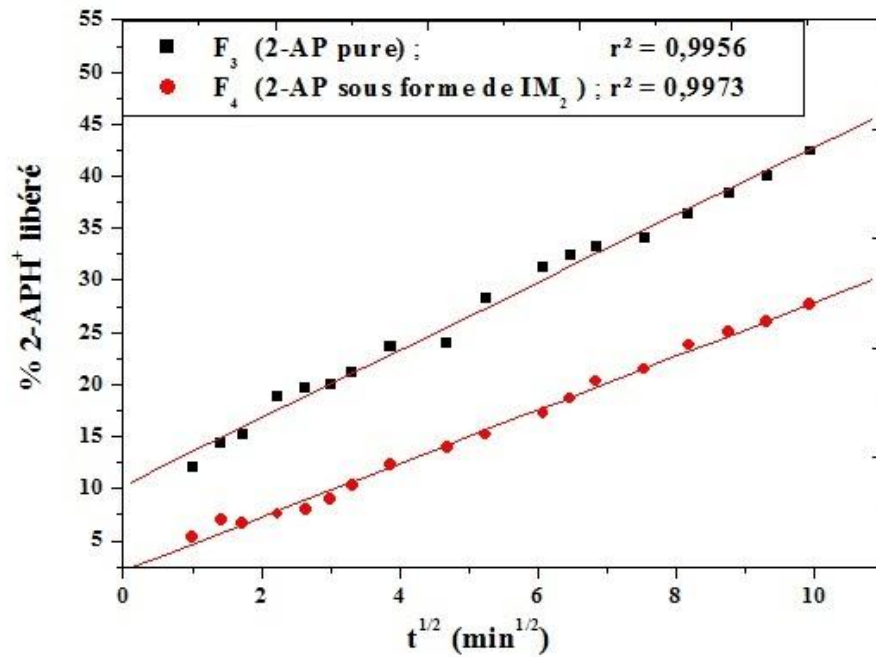


Figure 65. % 2-APH⁺ libéré à partir des Microsphères F₃ et F₄ en fonction de $\sqrt{t}$ dans pH = 1,2 à 37°C.

On donne à titre d'exemple la détermination de m_{∞} pour la formulation Microsphères F₃ dans le pH = 1,2 (Figure 66).

Les différentes valeurs de % m_{∞} sont rassemblées dans le Tableau 17.

1. Exemple de calcul de m_{∞} pour les Microsphères F₃ :

$$m_{i(2-APH^+)} = 24,30 \text{ mg}$$

Par extrapolation si : $t \rightarrow \infty$, $1/t \rightarrow 0$

$$1/t \longrightarrow 0 ; \log (m_{\infty}/m_i) = -x \quad (x : \text{l'ordonnée à l'origine})$$

$$\text{Principe actif libéré 2-APH}^+ : x = -0,02022 \Rightarrow m_{\infty} = 24,30 \cdot 0,98$$

$$m_{\infty} = 23,81 \text{ mg.}$$

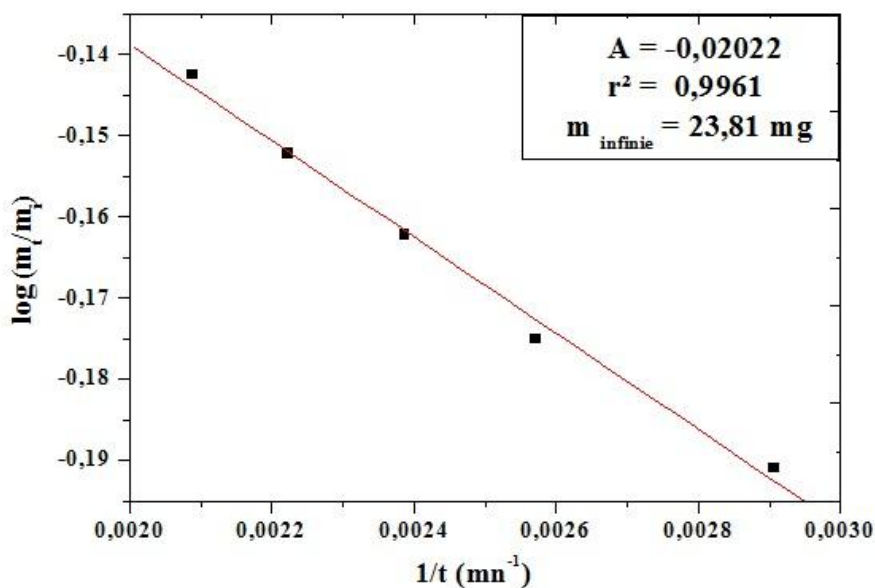


Figure 66. $\log (m_t / m_i)$ en fonction de $1/t$ du % 2-APH⁺ libérée par les Microsphères F₃ dans pH = 1,2 (37°C).

b. Calcul des diffusivités à partir des formulations Microsphères :

1. Aux temps courts de la réaction :

La diffusivité est obtenue par l'équation (9) de la page 22.

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

Où : $tg \alpha$: représente la pente de la droite de $[m_t / m_\infty] = f(\sqrt{t})$. Cette équation est applicable pour le principe actif libéré à partir des Microsphères de rayon R.

On donne à titre d'exemple la détermination de $D_{t,c}$ (t,c : temps courts) pour la formulation F₃ dans le pH = 1,2 (Figure 67).

2. Aux temps longs de la réaction :

Les coefficients de diffusion, aux temps longs, sont calculés par l'équation (12) de la page 23. Aux temps longs de la libération, on a tracé $\ln [1-(m_t/m_\infty)] = f(t)$ pour calculer les coefficients de diffusion dans ces temps. Ces diffusivités sont calculées à partir de la pente p de la droite

obtenue : $D_{t,l} = -p \left(\frac{R}{\pi} \right)^2$ et sont regroupées dans le Tableau 17.

Etude de la libération des principes actifs à partir des Microsphères

On donne à titre d'exemple la détermination de $D_{t,l}$ (t, l : temps longs) pour la formulation F_3 dans le $\text{pH} = 1,2$ (Figure 68).

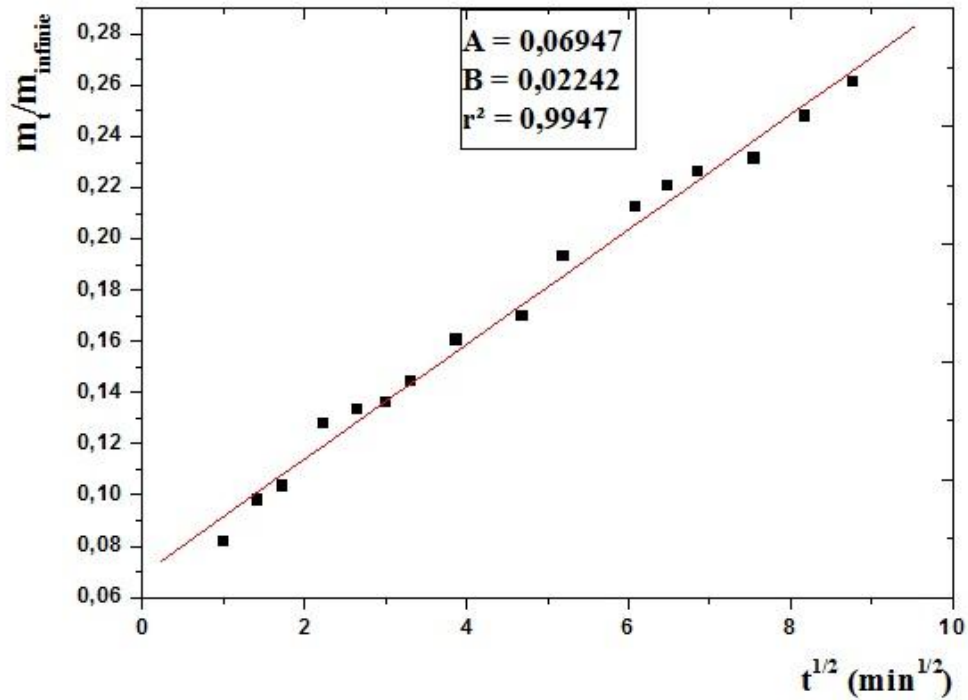


Figure 67. m_t/m_{∞} en fonction de $\sqrt{t}$ du %2-APH⁺ libérée par les Microsphères F_3 à $\text{pH} = 1,2$ et à 37°C .

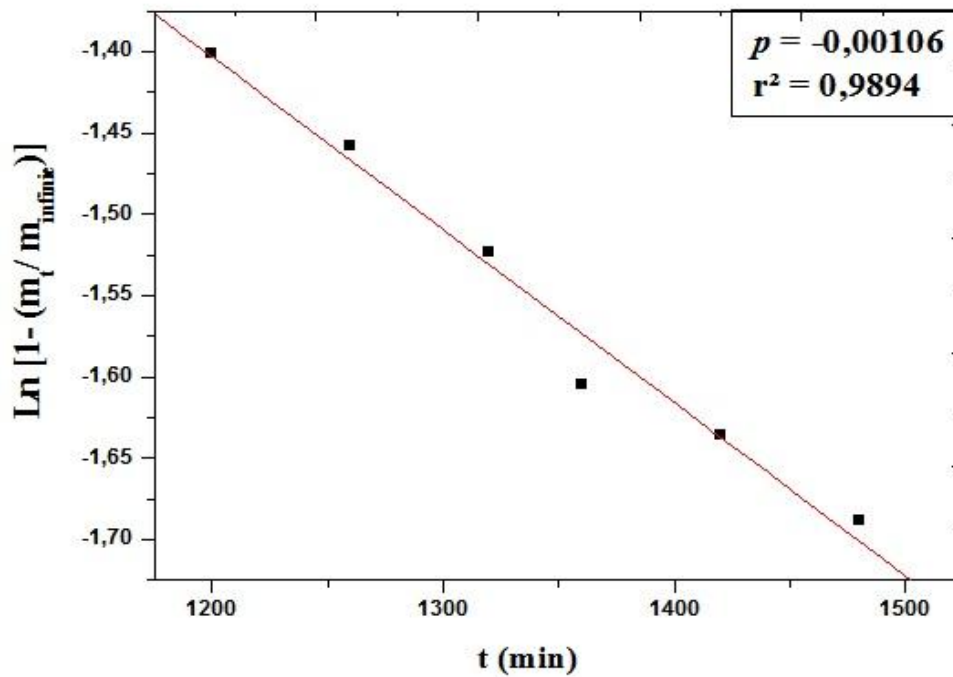


Figure 68. $\ln [1 - (m_t/m_{\infty})]$ en fonction de $1/t$ du % 2-APH⁺ libérée par les Microsphères F_3 à $\text{pH} = 1,2$ (37°C).

Tableau 17. Valeurs des diffusivités aux temps courts $D_{t,c}$ et longs $D_{t,l}$ des PA (2-APH⁺ et 2-ABZTH⁺) pour les formulations Microsphères au pH 1,2 et à 37 °C.

Micro-sphères	$m_t/m_\infty = f(t^{1/2})$	r^2	d_{32} (μm)	$\%(m_\infty/m_i)$	$D_{t,c}$ ($cm^2 sec^{-1}$)	$Ln [1-(m_t/m_\infty)] = f(t)$	r^2	$D_{t,l}$ ($cm^2 sec^{-1}$)
F ₁	$0,0189 t^{1/2} + 0,047$	0,9915	89,65	76,45	$6,26.10^{-10}$	$-0,00045 t - 0,621$	0,9935	$9,17.10^{-10}$
F ₂	$0,0167 t^{1/2} + 0,011$	0,9961	93,33	56,23	$5,30.10^{-10}$	$-0,00039 t - 0,117$	0,9861	$8,61.10^{-10}$
F ₃	$0,0224 t^{1/2} + 0,069$	0,9947	83,47	97,98	$7,63.10^{-10}$	$-0,00106 t - 1,416$	0,9894	$1,87.10^{-9}$
F ₄	$0,0173 t^{1/2} + 0,038$	0,9948	98,41	90,80	$6,32.10^{-10}$	$-0,00061 t - 0,301$	0,9788	$1,50.10^{-9}$

Les valeurs des coefficients de diffusion des principes actifs étudiés, sont regroupées dans le Tableau 17. On note que :

- pour les formulations Microsphères dans le pH = 1,2 et à 37 °C, les coefficients de diffusion au temps courts " $D_{t,c}$ " de libération sont de l'ordre de $10^{-10} cm^2.s^{-1}$, et sont de l'ordre de 10^{-9} à $10^{-10} cm^2.s^{-1}$ aux temps long $D_{t,l}$.

On observe un effet retard accentué dans l'hydrolyse de la fonction imine dans les différentes courbes en fonction du temps. Cet effet retard est dû à la fixation des principes actifs 2-ABZT et 2-AP sur les monomères supports bases de Schiff type IM.

V.3. Modélisation des cinétiques de libération des principes actifs 2-ABZTH⁺ et 2-APH⁺ selon les équations d'Higuchi et de Korsmeyer-Peppas :

Les résultats trouvés selon les modèles d'Higuchi et Korsmeyer-Peppas sont regroupés dans le Tableau 18.

La valeur de la constante de libération d'Higuchi (k_H) pour les formulations Microsphères F₁ et F₂ varie de $2,986 min^{1/2}$ à $2,672 min^{1/2}$ alors que pour les Microsphères F₃ et F₄ varie de $3,251 min^{1/2}$ à $2,574 min^{1/2}$ (Tableau 18).

Les résultats des cinétiques de libération du principe actif PA (2-APH⁺ ou 2-ABZTH⁺) à partir des différentes Microsphères F₁, F₂, F₃ et F₄ dans un milieu reconstitué pH 1,2 à

Etude de la libération des principes actifs à partir des Microsphères

37 °C montrent que la constante k_H a diminué dans le cas où le PA est greffé sur le monomère support (IM₁ ou IM₂). Cela peut être expliqué par le fait que la libération à partir du monomère support inclut une étape supplémentaire, à savoir la rupture par hydrolyse de la double liaison imine $>C=N-$.

Nous avons constaté que la valeur de l'ordonnée à l'origine est positive pour les cinétiques de libération dû à l'existence du PA sur la surface des Microsphères étudiées, qui accélère alors la libération de ce dernier aux premiers moments de la réaction (Burst Effect).

Les coefficients de corrélation sont voisins de 0,99 pour les temps courts de la libération où les valeurs de m_t / m_∞ ne dépassent pas 10%.

Pour les résultats donnés par les équations de Korsmeyer-Peppas, les valeurs des constantes cinétiques k_{K-P} ne peuvent pas être comparées parce qu'elles dépendent de l'exposant n , qui n'est pas le même pour l'ensemble des cinétiques de libération étudiées.

Les résultats trouvés selon les modèles d'Higuchi et Korsmeyer-Peppas sont regroupés dans le Tableau 18 :

Tableau 18. Coefficients de corrélation et constantes de libération de PA 2-APH⁺ et 2-ABZTH⁺ à partir des formulations Microsphères à pH 1,2 et 37 °C; k_H et k_{K-P} – Les constantes d'Higuchi et de Korsmeyer-Peppas, respectivement; n – l'exposant de libération de Korsmeyer-Peppas; r^2 - Coefficient de corrélation.

Formulation	L'équation d'Higuchi	r^2	L'équation de Korsmeyer-Peppas		
			n	$k \text{ (min}^{-n}\text{)}$	r^2
F ₁	$y = 2,986 x + 7,496$	0,9900	0,45	0,0067	0,9932
F ₂	$y = 2,672 x + 1,921$	0,9957	0,39	0,0031	0,9952
F ₃	$y = 3,251 x + 10,280$	0,9956	0,49	0,0044	0,9955
F ₄	$y = 2,574 x + 02,104$	0,9973	0,43	0,0036	0,9901

Enfin, la modélisation des cinétiques de libération expérimentale des principes actifs PA à partir des Microsphères préparées à l'aide des équations de Higuchi et Korsmeyer-Peppas a permis de montrer que le mécanisme de libération est régi par diffusion de type

Etude de la libération des principes actifs à partir des Microsphères

Fickienne de $n \leq 0,5$. Nous donnons dans le tableau les constantes de libération et les valeurs “n” calculées à partir des équations de Higuchi et Korsmeyer-Peppas.

Le but de cette étude est de modifier la libération du médicament en utilisant ces nouvelles formulations Microsphères, car, la libération du principe actif suivie après l'hydrolyse de la base de Schiff est contrôlée par diffusion. Ce type de liaison a été utilisé dans d'autres recherches et le mécanisme de l'hydrolyse a été largement discuté avec différents agents actifs [133]. Ces études ont montré l'effet de la fixation de l'amine sur un monomère styrénique dérivé du *p*-vinylbenzaldéhyde via la fonction imine -CH=N- pour obtenir une libération retardée de l'agent actif.

La libération des principes actifs libres et greffés sur des monomères supports (base de Schiff) a été étudiée. Pour faire une étude comparative, la libération de la 2-aminobenzothiazole (2-ABZTH⁺) et de la 2-aminopyrimidine (2-APH⁺) à partir des Microsphères contenant le principe actif libre et d'autres Microsphères contenant du monomère support de principe actif IM₁ et IM₂ dans un milieu gastrique de pH 1,2 à 37 °C a été discutée.

Au cours de cette étude, il apparaît que la fonction imine soit bien adoptée pour obtenir une libération retardée du principe actif protoné pur (RNH₃⁺) (2-APH⁺ et 2-ABZTH⁺) à partir des formulations Microsphères en ethylcellulose (EC). Les résultats ont montré que la libération de l'amine encapsulée pure dans des Microsphères en EC est plus facile que si l'on utilise le monomère support base de Schiff (IM₁ et IM₂) encapsulés.

CHAPITRE VI

**ETABLISSEMENT DES COURBES DE LIBERATION DU PABA^{H+} A
PARTIR DES MICROSPHERES ET LEUR MODELISATION**

VI. Etablissement des courbes de libération de l'acide *p*-aminobenzoïque PABAH⁺ à partir des formulations Microsphères et leur modélisation

Introduction :

Le travail sur la libération de PABAH⁺ décrit dans le présent chapitre a fait l'objet de notre publication portant la référence 88 en fin de cette thèse.

Les cinétiques de libération ont été suivies à l'aide d'un spectromètre UV-VIS (UV 2401PC SCHIMADZU). Cet appareil est préalablement calibré à la longueur d'onde $\lambda_{\max}$ du principe actif PABA dans le milieu considéré à pH = 1,2 et à 37 °C.

La libération de la forme protonée « PABAH⁺ » par diffusion à travers la matrice polymérique (EC ou CAB), dépend de trois facteurs essentiels :

- La vitesse de « **pénétration** » de la solution aqueuse de pH 1,2 dans la formulation à travers la structure du polymère.
- La vitesse de « **dissolution** » du principe actif PABAH⁺ dans le liquide aqueux piégé.
- La « **diffusion** » de PABAH⁺ à travers la matrice polymérique vers la solution aqueuse externe de pH 1,2.

VI.1. Analyse des quantités transférées

VI.1.1. Conditions et techniques expérimentales :

a. Dispositif expérimental:

Le même type de réacteur (Figure 60) est utilisé pour l'étude cinétique de libération de l'agent actif PABAH⁺ dans un milieu gastrique reconstitué pH 1,2 à 37 °C. Ce dispositif expérimental a été adopté pour l'ensemble de nos cinétiques. On a suivi le même protocole pour le calcul de la quantité de PABAH⁺ libéré au cours du temps.

Nous devons maintenir constantes les conditions opératoires dans lesquelles sont effectuées nos différentes cinétiques.

VI.1.2. Analyse de PABAH⁺ libéré

Les mesures sont effectuées à l'aide d'un appareil UV-VIS calibré à une longueur d'onde fixe propre au PABAH⁺ ($\lambda_{\text{analytique}} = 226 \text{ nm}$).

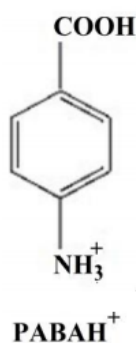
Etablissement des courbes de libération du PABAH⁺ à partir des Microsphères

Pour l'étude de la libération de PABAH⁺ à partir des Microsphères, on a choisi de reconstituer un milieu stomacal gastrique de pH = 1,2 digestif [154].

La concentration de la solution devrait être uniforme en tout point de la solution, et cette uniformité est maintenue grâce à l'action d'un barreau magnétique dans le flacon (vitesse de rotation de l'agitateur est fixée à 500 rpm pour toutes les expériences). Les cinétiques de PABAH⁺ dans le milieu physiologique ont été effectuées à température constante 37 °C (température du corps humain).

VI.2. Cinétiques de libération à partir des Microsphères chargées en PABA :

L'ionisation de PABAH⁺ est un paramètre physico-chimique important. Comme rapporté, le PABA possède deux pK de valeurs pK₁ = 2,50 et pK₂ = 4,87 correspondant respectivement à l'amine et à l'acide carboxylique de la molécule [122]. Comme dans notre cas le pH de travail est de pH = 1,2, la forme majoritaire diffusante sera le cation diacide PABAH⁺ :



L'influence des paramètres du procédé et la nature du polymère matriciel sur le taux de libération de l'agent actif ont été étudiées. Les profils des pourcentages cumulés de libération en forme protonée PABAH⁺ en fonction du temps sont présentés sur les graphes des Figures 69-72.

L'étude comparative de la libération du PABAH⁺ à partir de Microsphères préparés par les dérivés celluloses EC et CAB dans les mêmes conditions opératoires (Figures 69 et 70) a montré que la libération à partir des Microsphères en CAB est plus lente que celle des Microsphères en EC (20,58% et 27% dans les premières 300 min, respectivement). Cela peut être attribué à la faible porosité et perméabilité du CAB par rapport à EC en raison de son attraction intermoléculaire élevé qui augmente le degré de solidité du polymère.

Etablissement des courbes de libération du PABAH⁺ à partir des Microsphères

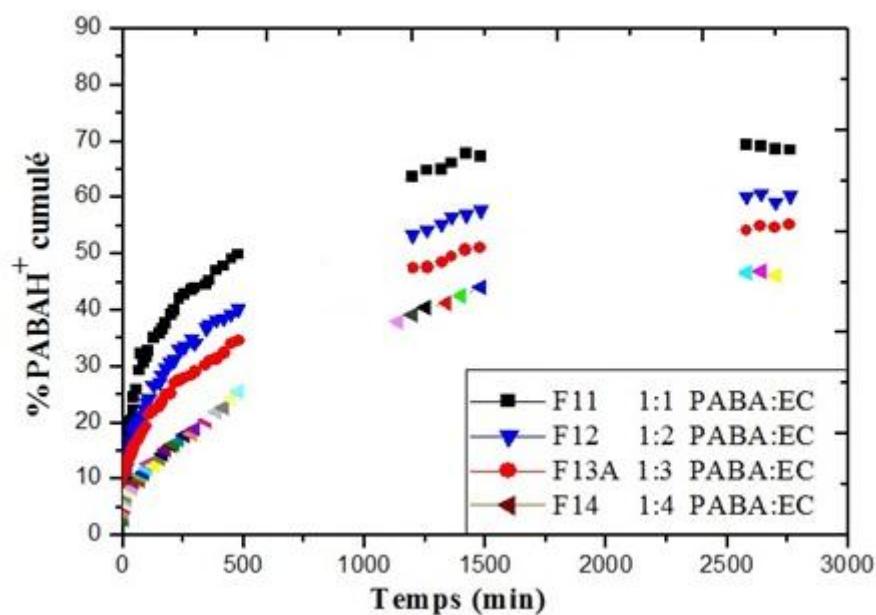


Figure 69. % PABAH⁺ libéré à par les Microsphères en fonction du temps à différents rapports PABA :EC (pH 1,2 et à 37°C).

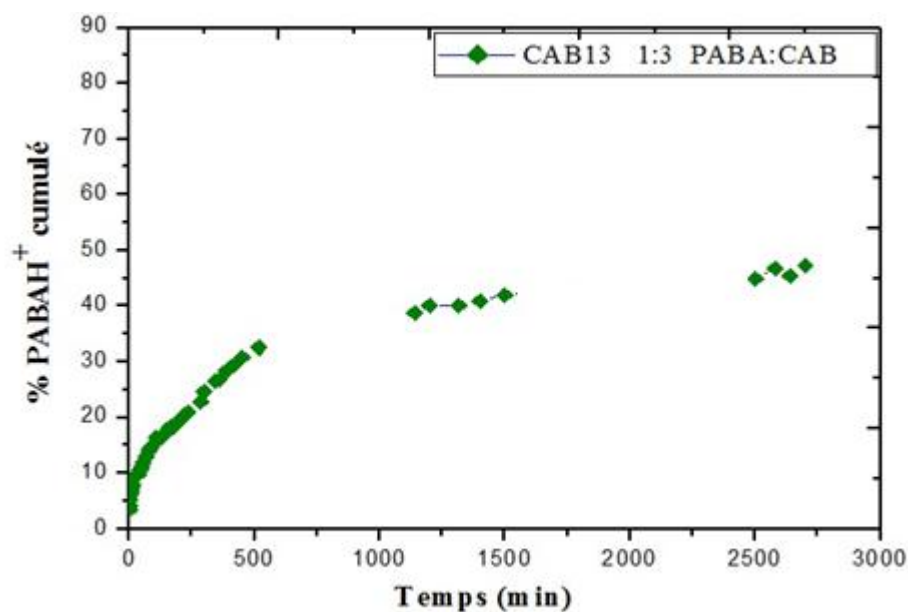


Figure 70. % PABAH⁺ libéré par les Microsphères en fonction du temps à un rapport 1:3 PABA:CAB (pH 1,2 et à 37°C).

Les pourcentages (% PABAH⁺) libérés à partir des Microsphères F11, F12, F13A et F14 sont 67,62%, 56,65%, 51,53% et 43,47% respectivement après 24 heures de la libération

Etablissement des courbes de libération du PABAH⁺ à partir des Microsphères

(Figure 69). Ces résultats montrent que le taux de la libération diminue avec une concentration élevée du polymère EC : l'augmentation de la quantité de polymère EC dans le sens 1:1 à 1:4 réduit le taux de la libération de PABAH⁺ à l'équilibre. Ainsi, l'augmentation du rapport PABA:polymère tout en augmentant la teneur en PABA (Teneur T), conduit à un taux de libération plus élevé.

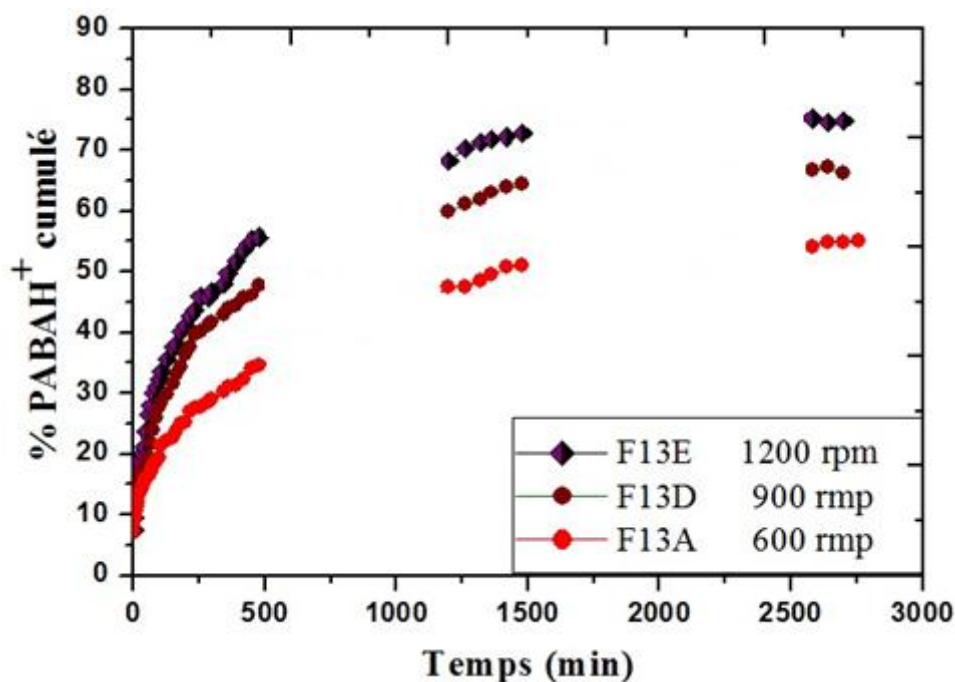


Figure 71. % PABAH⁺ libéré par les Microsphères en fonction du temps à différents tensioactifs (pH 1,2 et à 37°C).

Cependant, nous avons noté l'effet important de la vitesse d'agitation sur la taille et la distribution des Microsphères. L'augmentation de la vitesse d'agitation tout en diminuant la taille des Microsphères uniformément dispersé ($\bar{\sigma} = 1,25$ pour la vitesse à 1200 rpm), a conduit à un taux de libération plus rapide (Figure 71). Le taux de l'agent actif libéré est inversement proportionnel à la taille des Microsphères.

La Figure 72 montre que les petites Microsphères fabriquées avec une concentration élevée de PVA dans la phase continue ont une libération plus rapide de PABAH⁺. Cela est due à la porosité et la dispersion légèrement uniforme de cette Microsphères ($\bar{\sigma} = 1,31$). Dans le cas de petites Microsphères, une plus grande surface efficace produit un plus grand nombre de molécules de principe actif à la surface des Microsphères.

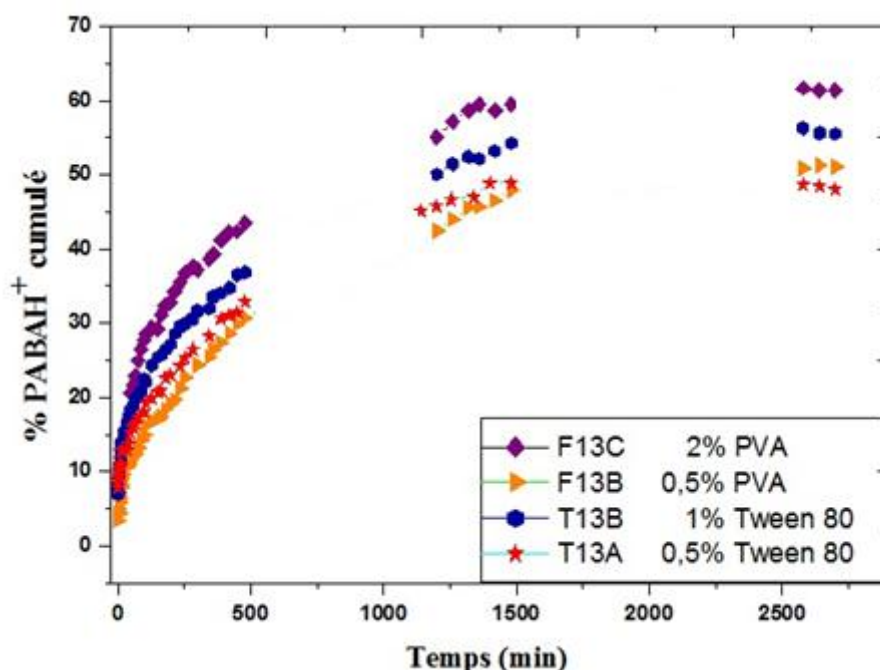


Figure 72. % PABA^{H+} libéré par les Microsphères en fonction du temps à différents paramètres (pH 1,2 et à 37°C).

La libération à partir des Microsphères T13A et T13B préparées en présence de Tween 80 est plus rapide que celle observée avec le PVA F13B et F13A (Figure 72). Cela est dû à la porosité élevée et la morphologie déformée de la surface des Microsphères T13A (Figure 48) et T13B (Figure 50).

VI.3. Modélisation mathématique

VI.3.1. Modélisation des cinétiques selon les ordres cinétiques classiques

L'élaboration des systèmes formulés dans le domaine pharmaceutique permet une libération prolongée et progressive de l'agent actif.

Dans notre étude, après la formulation et la caractérisation des Microsphères, nous avons étudié la libération des agents actifs de façon «*in-vitro*». Pour compléter notre étude, il nous reste à déterminer les modèles cinétiques correspondants à nos profils de libération.

Il a été vérifié que les courbes de libération ne respectent aucun des ordres classiques $n = 0, 1$ ou 2 et présentent les caractéristiques des phénomènes de diffusion de deux flux de matières : agissant en sens contraires :

Etablissement des courbes de libération du PABAH⁺ à partir des Microsphères

- entrée de la solution aqueuse acide de pH 1,2 à l'intérieur de la forme galénique Microsphères ;
- sortie par diffusion de la forme galénique Microsphères que de la solution acide chargée en principe ammonium actif libéré par dissolution.

Seule la diffusion de matières permet d'interpréter les cinétiques de libération obtenues.

En effet, en traçant le pourcentage du principe actif libéré en fonction de la racine carrée du temps, on obtient une nette linéarité des points expérimentaux, essentiellement aux temps courts de la cinétique. La Figure 73, présente les tracés du % PABAH⁺ libéré en fonction de la racine carrée du temps à partir des différentes formulations.

On remarque également que les droites obtenues (Figure 73) ne passent pas par l'origine, une légère courbure est notée aux premiers temps, cette « courbure » peut être expliquée par la mise en équilibre du système : l'absorption du liquide par la formulation ne peut commencer qu'après un laps de temps, formation de la pellicule autour de la formulation, puis diffusion du liquide environnant.

L'étude cinétique a montré que la libération à partir des Microsphères en CAB est plus lente que celle en EC. Cela est probablement dû à la faible porosité et perméabilité du CAB par rapport à EC (Figures 48 et 49).

Les résultats de la Figure 73 montrent que l'augmentation de la quantité de polymère EC dans le sens 1:1 à 1:4 réduit le taux de la libération de PABAH⁺.

Les différents résultats obtenus montrent que le principe actif libéré suit des cinétiques de type Fickien, ceci a permis d'appliquer les solutions analytiques proposées par Cranck afin de calculer la diffusivité de PABAH⁺ dans le milieu d'étude à partir des différentes formulations Microsphères [88].

VI.3.2. Modélisation des cinétiques de relargage de principe actif selon les équations de Higuchi, de Korsmeyer-Peppas et de Hixon-Crowel :

Les résultats trouvés selon les modèles de Higuchi, de Korsmeyer-Peppas et de Hixon-Crowel sont regroupés dans le Tableau 19 (p. 135).

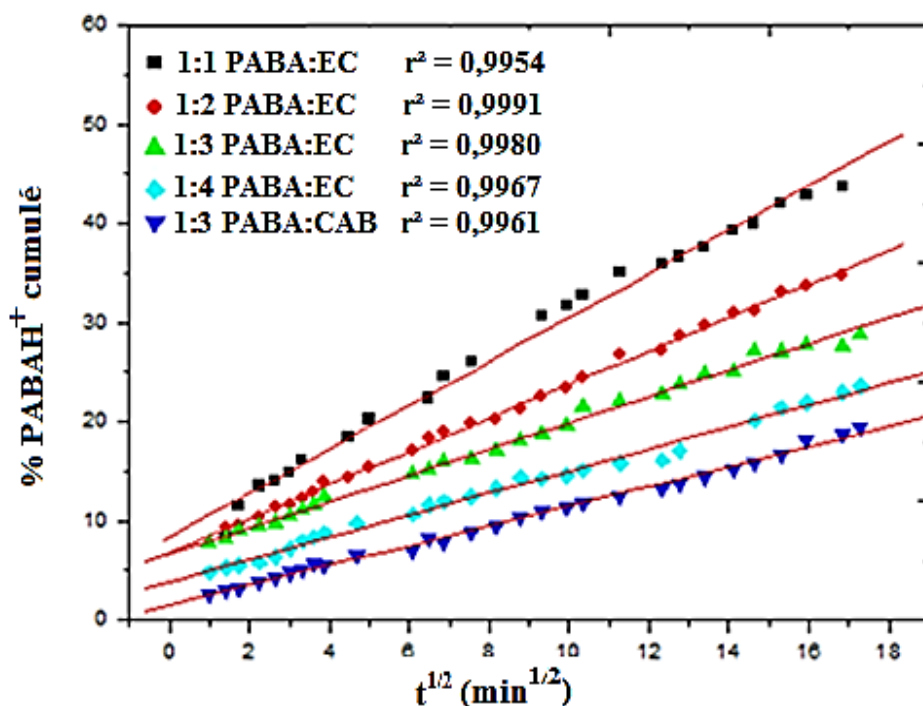


Figure 73. % PABAH⁺ libéré par les Microsphères en fonction de $\sqrt{t}$ à différents ratio PABA:Pol. dans pH = 1,2 à 37 °C. (Pol : EC ou CAB).

Les modèles cinétiques de Higuchi [2,34,35], de Korsmeyer-Peppas [2,3] et de Hixon-Crowel [2,50,51] ont été appliqués sur les profils de libération in-vitro de PABAH⁺ objets de ce travail afin de déterminer le mécanisme qui règle le transfert de PABAH⁺ vers l'extérieur des Microsphères plongées dans le pH 1,2. Les résultats de l'application des équations (13), (14) et (15) aux pourcentages % PABAH⁺ libérés en fonction du temps sont reportés sur le Tableau 19 accompagné du graphe de Higuchi (% PABAH⁺ cumulés en fonction de la racine carré du temps) de la Figure 73 établie aux temps courts.

D'après ces résultats il apparaît que les meilleurs coefficients de corrélations r^2 pour toutes les formulations sont ceux donnés par le modèle de Higuchi (0,9950-0,9991).

La valeur de la constante de libération de Higuchi (k_H) varie de 0,936 min^{1/2} à 2,468 min^{1/2} pour les différentes formulations (Tableau 19).

Ces valeurs des constantes de libération de Higuchi confirment les remarques antérieures sur l'effet du **diamètre moyen de Sauter** (d_{32}) sur la libération du principe actif à partir des

Etablissement des courbes de libération du PABAH⁺ à partir des Microsphères

Microsphères F11, F13C et F13E, où elle est plus rapide avec les plus petites Microsphères. Ces résultats nous montrent que le relargage dépend essentiellement du type de la matrice, de la vitesse d'agitation, de la nature et la concentration de surfactant.

Les résultats obtenus sont aussi tracés selon le modèle de Korsmeyer-Peppas afin de trouver la valeur de n , qui détermine le mécanisme de la libération de PABAH⁺.

Pour les valeurs données par l'équation de Korsmeyer-Peppas, les valeurs des constantes cinétiques k_{K-P} ne peuvent pas être comparées parce qu'elles dépendent de l'exposant n . Par ailleurs, selon la valeur de n , on peut spécifier le mécanisme de diffusion s'il est du type Fickien ou non.

Les valeurs de n et les coefficients de corrélation calculés sont donnés dans le Tableau 19. Les valeurs de k_{K-P} et n ont montré une influence du type de polymère et des conditions opératoires du processus de la microencapsulation. Pour les Microsphères en EC préparées à des différents paramètres de formulations, les valeurs de n sont comprises entre 0,29 et 0,39 (Tableau 19), indiquant une libération de PABAH⁺ par un mécanisme Fickien. Les Microsphères en CAB présentent une valeur de $n = 0,55$, conduisant à un transport de PABAH⁺ par érosion, un mécanisme non-Fickien.

La valeur de la constante de libération de Hixon-Crowel (k_{H-C}) varie de 0,00105 min à 0,00323 min pour les formulations préparées. L'étude de la libération de PABAH⁺ à partir des différentes formulations Microsphères montre l'effet de différents paramètres de microencapsulation sur la constante de libération.

Enfin, la modélisation des cinétiques obtenues à l'aide des équations de Higuchi, de Korsmeyer-Peppas et de Hixon-Crowel a permis de conclure, d'une part que la libération à partir des Microsphères en matrice EC a un caractère diffusionnel du type Fickien, par contre, en matrice de cellulose acétate butyrate CAB est de type non-Fickien.

Les résultats trouvés selon les modèles d'Higuchi et Korsmeyer-Peppas sont regroupés dans le Tableau 19 :

Etablissement des courbes de libération du PABAH⁺ à partir des Microsphères

Tableau 19 : Coefficients de corrélation et constantes de libération de PABAH⁺ à partir des Microsphères; k_H , k_{K-P} et k_{H-C} — Les constantes d'Higuchi, de Korsmeyer-Peppas et de Hixon-Crowel respectivement; n — l'exposant de libération de Korsmeyer-Peppas; r^2 - Coefficient de corrélation.

Modèles Cinétiques							
Equation d'Higuchi			Equation de Korsmeyer-Peppas			Equation de Hixon-Crowel	
Code	k_H (min ^{-1/2})	r^2	n	k_{K-P} (min ⁻ⁿ)	r^2	k_{H-C} (min)	r^2
F11	2,209	0,9954	0,29	0,00066	0,9971	0,00276	0,9598
F12	1,689	0,9991	0,31	0,00039	0,9971	0,00249	0,9748
F13A	1,349	0,9980	0,30	0,00029	0,9932	0,00227	0,9663
CAB13	1,117	0,9961	0,55	0,00046	0,9935	0,00105	0,9387
F14	0,936	0,9967	0,39	0,00033	0,9881	0,00126	0,9541
F13B	1,182	0,9950	0,37	0,00040	0,9937	0,00164	0,9677
F13C	2,061	0,9970	0,34	0,00055	0,9963	0,00145	0,9490
F13D	2,155	0,9982	0,33	0,00051	0,9952	0,00309	0,9378
F13E	2,468	0,9969	0,32	0,00075	0,9962	0,00323	0,9612
T13A	1,415	0,9956	0,29	0,00032	0,9955	0,00248	0,9551
T13B	1,566	0,9906	0,43	0,00040	0,9921	0,00254	0,9489

La libération du PABAH⁺ à partir de ces formulations Microsphères est gérée par diffusion vers le milieu gastrique reconstitué pH 1,2. Nous avons calculé les coefficients de diffusion en passant par la détermination des m_∞ de chaque formulation dans le milieu d'étude concerné.

VI.3.3. Calcul des diffusivités à partir des formulations Microsphères de PABA

VI.3.3.1. Calcul de m_∞ :

Les valeurs de m_∞ sont obtenues en traçant les graphes $\log (m_t/m_i) = f(1/t)$. Quand t tend vers l'infini, $1/t$ tend vers 0, l'ordonnée à l'origine représente alors $\log (m_\infty/m_i)$, connaissant m_i , la masse initiale, on peut facilement calculer m_∞ . Ce calcul a été repris pour l'ensemble des formulations Microsphères étudiées.

Les différentes valeurs de % m_∞ sont rassemblées dans le Tableau 20.

Etablissement des courbes de libération du PABAH⁺ à partir des Microsphères

On donnera à titre d'exemple la détermination de m_{∞} pour la formulation F11 dans le pH = 1,2 et à 37 °C (Figure 74).

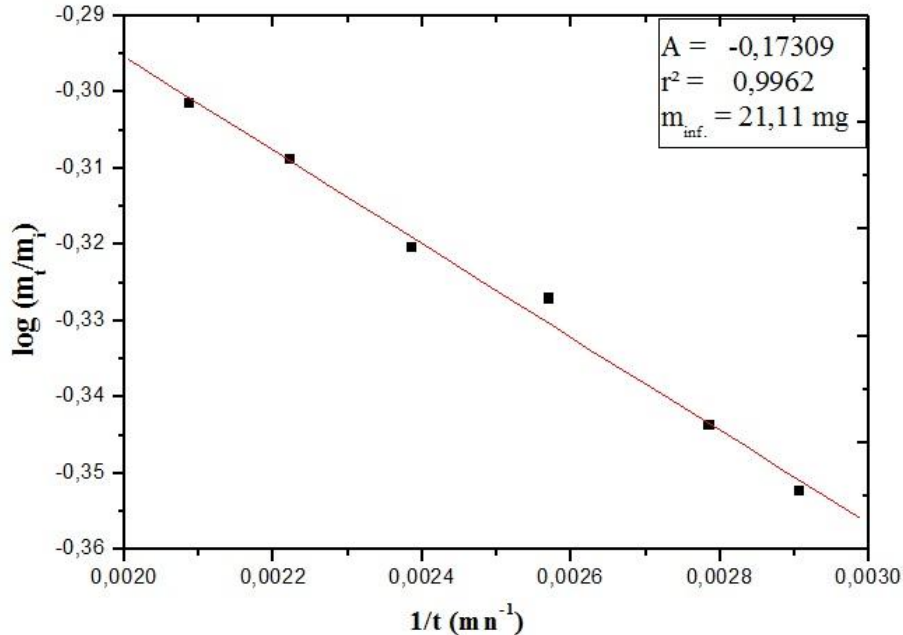


Figure 74. $\log(m_t/m_i)$ en fonction de $1/t$ du % PABAH⁺ libéré par les Microsphères F11 à pH = 1,2 (37°C).

VI.3.3.2. Calcul des diffusivités à partir des formulations Microsphères

a. Aux temps courts de la réaction :

La diffusivité $D_{t,c}$ est obtenue par l'équation (9) de la page 22.

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

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

On donne un exemple de détermination de $D_{t,c}$ (t, c : temps courts) pour la formulation F11 (Figure 75).

b. Aux temps longs de la réaction :

Le coefficient de diffusion, aux temps longs $D_{t,l}$, est calculé par l'équation (12) de la page 23.

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

Etablissement des courbes de libération du PABAH⁺ à partir des Microsphères

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

On donne un exemple de détermination de $D_{t,l}$ (t,l : temps longs) pour la formulation F11 (Figure 76).

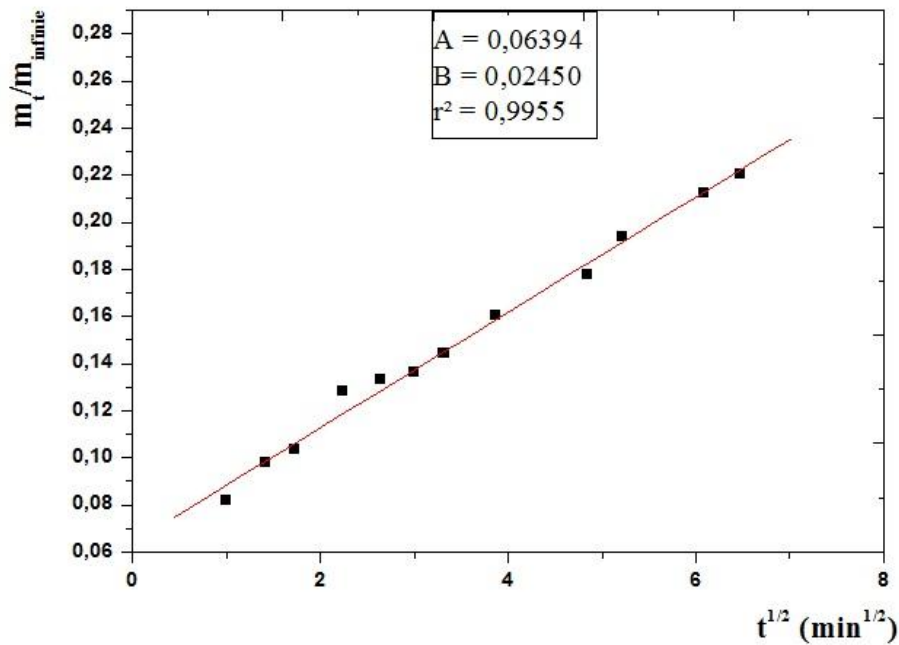


Figure 75. m_t/m_∞ en fonction de $\sqrt{t}$ du % PABAH⁺ libéré par les Microsphères F11 à pH = 1,2 et à 37 °C.

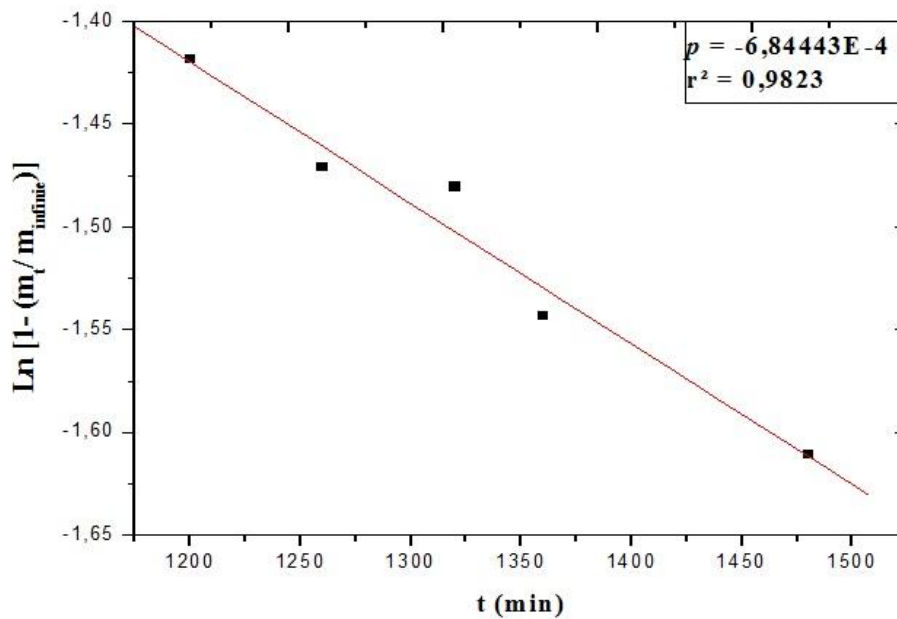


Figure 76. $\ln [1 - (m_t/m_\infty)]$ en fonction de $\sqrt{t}$ du % PABAH⁺ libéré par les Microsphères F11 à pH = 1,2 et à 37 °C.

Etablissement des courbes de libération du PABAH⁺ à partir des Microsphères

Les valeurs des coefficients de diffusion du principe actif étudié, sont regroupées dans le Tableau 20.

Tableau 20: Valeurs des diffusivités aux temps courts $D_{t,c}$ et longs $D_{t,l}$ pour les Microsphères de PABA au pH=1,2 et à 37 °C.

Micro-sphères	$m_t / m_\infty = f(t^{1/2})$	r^2	d_{32} (μm)	% (m_∞ / m_i)	$D_{t,c} * 10^{10}$ ($cm^2 sec^{-1}$)	$Ln [1-(m_t/m_\infty)] = f(t)$	r^2	$D_{t,l} * 10^9$ ($cm^2 sec^{-1}$)
F11	$0,024500t^{1/2} + 0,064$	0,9955	90,00	84,10	10,6	$-0,000684 t - 1,274$	0,9823	1,40
F12	$0,018240 t^{1/2} + 0,225$	0,9978	106,40	70,79	8,21	$-0,000355 t - 0,117$	0,9928	1,02
F13A	$0,014190 t^{1/2} + 0,096$	0,9963	121,11	71,39	6,44	$-0,000218 t - 1,046$	0,9943	0,81
F14	$0,008561 t^{1/2} + 0,204$	0,9887	164,61	49,84	4,33	$-8,44 E-5 t - 0,987$	0,9867	0,58
CAB13	$0,015170 t^{1/2} + 0,135$	0,9941	95,21	63,58	4,55	$-0,000265 t - 0,455$	0,9921	0,61
F13B	$0,010775 t^{1/2} + 0,382$	0,9877	142,91	52,19	5,17	$-0,000137 t - 1,106$	0,9857	0,71
F13C	$0,023620 t^{1/2} + 0,189$	0,9990	77,54	67,80	7,31	$-0,000767 t - 0,789$	0,9974	1,17
F13D	$0,030663 t^{1/2} + 0,255$	0,9878	62,74	64,01	8,07	$-0,001275 t - 0,627$	0,9858	1,28
F13E	$0,043761 t^{1/2} + 0,589$	0,9912	47,04	73,07	9,24	$-0,004380 t - 0,285$	0,9892	2,46
T13A	$0,001842 t^{1/2} + 0,167$	0,9851	869,28	37,31	5,59	$-3,39E-06 t - 0,674$	0,9931	0,65
T13B	$0,002198 t^{1/2} + 0,092$	0,9953	793,21	48,67	6,63	$-5,77E-06 t - 0,761$	0,9968	0,92

On note que pour les formulations Microsphères dans le pH = 1,2, les coefficients de diffusion au temps courts " $D_{t,c}$ " de libération sont de l'ordre de $10^{-10} cm^2.s^{-1}$ et sont de l'ordre de $10^{-9} cm^2.s^{-1}$ aux temps long " $D_{t,l}$ ".

La différence de diffusivité (Tableau 20) est observée pour le principe actif PABAH⁺ obtenant des $D_{t,c}$ allant de $10,6.10^{-10}$ (F11) à $4,33.10^{-10}$ (F14). Les coefficients de diffusion diminuent en sens inverse de la taille des Microsphères. On obtient de faibles coefficients de diffusion pour les différentes formulations Microsphères.

Il a été possible d'établir les profils de libération de PABAH⁺ pour toutes les Microsphères préparées atteignant des taux maximums libérés à l'équilibre de 35% à 79%

favorable à la mise au point d'un PABA-Retard.

L'étude comparative de la modélisation des taux de libération % PABAH⁺ en fonction du temps à l'aide des équations de Higuchi, de Korsmeyer-Peppas et de Hixon-Crowel montre que l'équation de Higuchi est celle qui donne le coefficient de corrélation r^2 le plus proche de 1 et celle de Korsmeyer-Peppas des valeurs de n comprise entre $0,25 < n < 0,5$ indiquant un mécanisme de libération Fickien pour les Microsphères en EC par contre, les Microsphères en CAB est de type non-Fickien ($n = 0,55$).

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Conclusion Générale et Perspectives

En conclusion, l'objectif de fabriquer par synthèse chimique et par le procédé physico-chimique de la microencapsulation, technologie simple et usuelle, des Microsphères à libération prolongée à base de dérivées cellulosiques a été atteint. Le but recherché est de prolonger et de modifier la vitesse de libération des molécules biologiquement actives dans le temps. Les différentes techniques appliquées permettent de protéger l'agent actif et de moduler sa libération dans le milieu physiologique reconstitué pH 1,2.

Pour cela, nous avons choisi trois molécules modèles potentiellement actives à savoir la 2-aminobenzothiazole (2-ABZT), la 2-aminopyrimidine (2-AP) et l'acide *p*-aminobenzoïque (PABA).

Les deux premiers ont été formulés par voie chimique en les fixant sur un site styrénique via un pont azométhine.

D'autre part, la partie de la **Microencapsulation** consiste à suivre la libération du principe actif encapsulé dans de nouvelles formulations Microsphères en éthylcellulose élaborées par le procédé de microencapsulation par simple / double-emulsion évaporation de solvant. Dans cette partie de notre travail, la libération des trois principes actifs 2-ABZT, 2-AP et PABA a été réalisée dans un milieu gastrique reconstitué pH 1,2 à partir de différentes formulations Microsphères :

- **Microsphères chargées en principe actif 2-AP et 2-ABZT et de leur monomères supports « imines » :**

La libération du principe actif protoné pur (RNH_3^+) (2-APH⁺ et 2-ABZTH⁺) à partir des microsphères a été suivie dans un milieu gastrique reconstitué à pH = 1,2 à 37 °C. Ces formulations présentent un taux libéré plus élevé au temps infini. Les Microsphères obtenues sont capables de contrôler et de moduler la vitesse de la libération du principe actif pur protoné.

Un autre paramètre étudié est le greffage de principe actif (2-AP et 2-ABZT) sur un monomère styrénique dérivé *p*-vinylbenzaldéhyde via "la fonction azométhine" :

Les résultats montrent que les principes actifs (2-AP et 2-ABZT) encapsulés purs dans des

Microsphères à base de polymère matriciel EC sont plus facilement libérés que si l'on utilise les monomères bases de Schiff IM₁ et IM₂ comme supports encapsulés. Cela peut être expliqué par le fait que la libération à partir du monomère support inclut une étape supplémentaire de l'hydrolyse de la double liaison >C=N-.

Ensuite, pour élucider le mécanisme de libération, 2 modèles mathématiques de diffusion ont été testés, celui d'Higuchi et le modèle de Korsmeyer-Peppas. La modélisation des cinétiques de libération permet de déduire que la libération est contrôlée par "Diffusion Fikienne".

Les coefficients de diffusion ont été calculés en appliquant le modèle de diffusion dans le cas d'une géométrie sphérique. La diffusivité du principe actif aux temps courts de libération " $D_{t,c}$ " à partir des Microsphères préparées est de l'ordre de $10^{-10} \text{ cm}^2 \text{ sec}^{-1}$ et de l'ordre de $10^{-9} \text{ cm}^2 \text{ sec}^{-1}$ pour les temps longs " $D_{t,l}$ ".

- **Microsphères chargées en PABA :**

Pour le troisième principe actif qui est l'acide *p*-aminobenzoïque (PABA), de nouveaux systèmes monolithiques de type "Microsphères" chargées de PABA ont été préparées en utilisant le procédé physico-chimique de Microencapsulation par **simple-émulsion** évaporation de solvant. La microencapsulation de PABA en Microsphères à base d'éthylcellulose EC et de cellulose acétate butyrate CAB en tant que polymères matriciels biocompatibles pourrait permettre son utilisation par voie orale. Différentes formulations sont fabriquées dans cette étude en vue d'étudier l'effet des paramètres du procédé : le rapport PABA:EC, la nature de la matrice, la vitesse d'agitation, la concentration et la nature du surfactant utilisé (PVA ou Tween 80) sur les caractéristiques des microsphères pour le contrôle du taux de libération de PABA^{H+}.

L'optimisation des paramètres expérimentaux du procédé a permis d'obtenir des Microsphères de propriétés bien définies : efficacité d'encapsulation, taille, surface et porosité. Par conséquent, on peut dire que la nature de la matrice, le rapport PABA:EC, la vitesse d'agitation, le type et la concentration du tensioactif sont des facteurs clés pour contrôler la libération de principe actif.

Les observations en MEB montrent clairement une différence de morphologie en présence des surfactants PVA ou Tween 80 : le PVA donne des Microsphères chargées en

PABA parfaitement sphériques, de surface lisse et poreuse alors que le Tween 80 conduit à des formes ovoïdes déformées et présentant de grandes pores.

Les Microsphères préparées à 1:4 de rapport PABA:EC ont une surface plus lisse et homogène que celle préparées avec un rapport 1:2 PABA:EC (Figures 54 et 55). Une augmentation remarquable de l'efficacité d'encapsulation EE est observée aux concentrations les plus élevées utilisées de PVA (2%) et Tween 80 (1%) et à teneur élevée en polymère EC (rapport 1:4 PABA:EC).

L'effet retard est dû à l'hydrophobicité des polymères cellulose EC et CAB, à la surface et la taille de ces Microsphères.

Enfin, différents modèles mathématiques ont été testés à savoir les modèles de diffusion de Higuchi, de Korsmeyer –Peppas et de Hixon-Crowel, ont montré que la libération des différents agents actifs à partir de ces systèmes est régie par diffusion Fickienne pour certaines formulations et non-Fickienne pour d'autres selon les conditions opératoires.

On remarque également que les coefficients de diffusion aux temps courts ($D_{t,c}$) et aux temps longs ($D_{t,l}$) de PABA H^+ des Microsphères obtenues sont inversement proportionnels à la taille des Microsphères. On obtient de faibles coefficients de diffusion pour les différentes formulations Microsphères.

La technologie de la Microencapsulation a permis d'obtenir au cours de ce travail des résultats importants conduisant à mettre cette recherche en plan de perspectives, l'objectif principal sera l'optimisation des paramètres opératoires de ce procédé. Cela permet d'élaborer de nouvelles formulations avec des caractéristiques désirées en se basant sur les facteurs influençant le comportement de ces Microsphères dans les applications biologiques et pharmaceutiques. Les paramètres clés pouvant influencer les caractéristiques des Microsphères sont : la viscosité des phases organique / aqueuse, la porosité de surface et la température. Il est prévu à l'avenir de procéder aux tests microbiologiques à partir de ces formulations Microsphères.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

1. Y. Landry, Initiation à la connaissance du médicament-UE6, Dunod, Paris, **2012**.
2. K. H. Ramteke, *Sch. Acad. J. Pharm.*, **2014**, 3(5), 388.
3. R. W. Korsmeyer, R. Gurny R., E. Doelker, P. Buri, N. A. Peppas, *Int. J. Pharm*, **1983**,15, 25.
4. Y. W. Chien, Fundamentals of rate-controlled drug delivery, in: Novel drug delivery systems, Marcel Dekker, New York, **1992**, p.43.
5. B. Bruno, F. Puisieux, Histoire des formes orales à libération prolongée et de la contribution de la pharmacie galénique dans ce domaine. In: Revue d'histoire de la pharmacie, 93^e année, **2005**, 345, 33.
6. R. Seethala, P. Fernandes, Handbook of Drug Screening, CRC Press, **2016**.
7. L. Kontturi, M. Yliperttula, P. Toivanen, A. Maatta, *J. Control. Rel.*, **2011**,152, 376.
8. V. B. Patravale, J. I. Disouza, M. Rustomjee, Pharmaceutical Product Development: Insights Into Pharmaceutical Processes, CRC Press, **2016**.
9. J. Swarbrick, Encyclopedia of Pharmaceutical Science and Technology, 4th Ed., **2013**.
10. D. Kathleen, V. Jo, M. Guy Van den, L. Annick, *Inter. J. Pharmaceu.*, **2006**, 314, 73.
11. J. Siepmann, A. Sterubel, N. A. Peppas, **2002**, 19(3), 306.
12. P. L. Ritger, N. A. Peppas, *J. Control. Rel.*, **1987**, 5, 23.
13. P. L. Ritger, N. A. Peppas, *J. Control. Rel.*, **1987**, 5, 37.
14. J. Cranck, «The Mathematics of Diffusion», Clarendon, Oxford, 2nd. Chap.6, **1975**, 85.
15. S. Kumar, S. Kumar Singh, Developability of Biotherapeutics: Computational Approaches, CRC Press, **2015**.
16. J. Lazarus, J. Cooper, *J. Pharm. Sci.*, **1961**, 50, 715.
17. A. Le HIR, J-C. Chaumeil, D. Brossard, Biodisponibilité des formes orales, en Pharmacie galénique: Bonne pratique de fabrication des médicaments, Masson: Paris, **2009**.
18. J. A. Uchizono, Application of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, Design of Controlled Release Drug Delivery Systems, McGraw Hill, London, **2006**, p. 1.
19. Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Development, Evaluation and Application of in vitro/ in vivo Correlation, **1997**, U.S. Depart of Health and Human Services, FDA, CDER.
20. K. Amighi., In : Formes à action ou à libération modifiée ; Cours de Pharmacie Galénique et Biopharmacie, Université Libre de Bruxelles., **2007**, 7.
21. Pharmacopée Européenne, 6 ème édition, DEQM, Conseil de l'Europe (Strasbourg), Editor. **2010**.
22. P. Buri, *J. Suisse Pharm.*, **1976**, 114, 405.
23. M. E. Sangalli, A. Maroni, L. Zema, C. Busetti, F. Giordano, A. Gazzaniga., *J. Control. Rel.*, **2001**, 73, 103.

24. G. W. Jantzen, J. R. Robinson, In: Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, Drugs and Pharmaceutical Sciences; Modern Pharmaceutics, Ed. G.S. Banker, C.T. Rhodes, Marcel Dekker, New York, **2002**, 501.
25. N. Rouge, P. Buri, E. Doelker, *Int. J. Pharm.*, **1996**, 136, 117.
26. I. Roseline, L. Kaestli, N. Vogt, [http:// www.hug.ch/ Pharmacie / infomedic/ cappinfo.htm](http://www.hug.ch/Pharmacie/infomedic/cappinfo.htm) CAPP-INFO-N° 36, **2005**.
27. P. Buri, Introduction des formes pharmaceutiques nouvelles : Aspects Technologiques, Biopharmaceutiques et Médicaux, TEC & DOC Lavoisier: Paris, **1985**, p. 3.
28. A. S. Hoffman, *J. Control. Rel.*, **2008**, 132(3), 153.
29. M. Haaser, Y. Karrou, C. Velghe, Y. Cuppok, K. C. Gordon, M. Pepper, J. Siepmann, T. Rades, P. F. Taday, C. J. Strachan, *Int. J. Pharm.*, **2013**, 457(2), 521.
30. S. Venkatraman, N. Davar, A. Chester, L. Kleiner., In : An overview of Controlled Release Systems, Drugs and the Pharmaceutical Sciences : Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology, Ed. D.L. Wise, Marcel Dekker, New York., **2000**, 431.
31. F. Puisieux, M. Seiller, and J.P. Devissaguet, *Ann.Pharmac.Fr.*, **2006**,64(4), 219.
32. B. Dekyndt. La libération modifiée de principes actifs, développement de deux approches. Médecine humaine et pathologie. Université du Droit et de la Santé- Lille II, **2015**.
33. S. Segot-Chicq, E. Teillaud, N. A. Peppas, Les dispositifs à libération contrôlée pour la délivrance des principes actifs médicamenteux : I. Intérêt et Applications, S. T. P. Pharma., **1985**, p. 25.
34. T. Higuchi, *J. Pharm. Sci.*, **1961**, 50, 874.
35. T. Higuchi, *J. Pharm. Sci.*, **1963**, 52, 1145.
36. S. K. Chandrasekan, R. M. Wright et M. J. Yuen, « Controlled release: status and future prospects in : Controlled release delivery systems », New York, Ed., Marcel Dekker, **1983**, p. 8.
37. P. Buri, Définition et classification des systèmes matriciels. In : S. T. P. Pharma., **1987**. p. 193.
38. R. G. Wiegand, J. D. Taylor, *Drug Standards*, **1959**, 27, 165.
39. D. J. Campbell, J. G. Theivagt, «Determination of drug release from gradual release preparations», *Drug Standards*, **1958**, 26, 73-76.
40. I. R. Khalil, A.T. H. Burns, I. Radecka, M. Kowalczuk, T. Khalaf, G. Adamus, B. Johnston, M. P. Khechara, *Int. J. Mol. Sci.*, **2017**, 18, 313.
41. V. H. Li, J. R. Robinson, V. H. Lee., In : Influence of Drug properties and routes of drug administration on the design of sustained and controlled release systems, Drugs and the Pharmaceutical Sciences : Controlled Drug Delivery Fundamentals and Applications, Ed. D.L. Wise, Marcel Dekker, New York, **1987**, p. 61.
42. T. Salsa, F. Veiga, M. E. Pina., *Drug develop. Indus. Pharm.*, **1997**, 23(9), 929.
43. Y. Zhou, X. Y. Wu., *J. Control. Rel.*, **1997**, 49, 277.

44. K. Lawrence, W. Fung, M. Saltzman, Polymeric implants for cancer chemotherapy, 120 Olin Hall. School of Chemical Engineering, Cornell University, Ithaca, NY 14853, USA, **1997**.
45. S. Furlanetto, *Rev. Food Sci. Technol.*, **2016**, 7(1), 27.
46. A. Sosnik, J. das Neves, B. Sarmiento, *Prog. Polym. Sci.*, **2014**, 39(12), 203.
47. S. Salatin, J. Barar, M. Barzegar-Jalali, M. Jelvehgari, *Res. Pharm. Sci.*, **2017**, 12(1), 244.
48. P. G. Welling, M. R. Dobrinska., In: Dosing Consideration and Bioavailability Assessment of Controlled Drug Delivery Systems, Drugs and the Pharmaceutical Sciences: Controlled Drug Delivery Fundamentals and Applications, Marcel Dekker, New York, **1987**, 253.
49. S. C. Mourao, C. Da Silva, T. M. B. Bresolin, C. H. R. Serra, V. Porta, *Int. J. Pharmaceu.* **2010**, 386, 201.
50. D. Y. Arifin, L. Y. Lee, C. H. Wang, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2006**, 58, 1274.
51. S. Dash, P. N. Murthy, L. Nath, P. Chowdhury, *Acta Polo. Pharm.*, **2010**, 67, 217.
52. P. L. Ritger, N. A. Peppas, *J. Control. Rel.*, **1987**, 5, 23.
53. M. A. Kalam, M. Humayun, N. Parvez, S. Yadav, A. Garg, S. Amin, Y. Sultanaand, A. Ali, *Contin. J. Pharmaceu. Sci.*, **2007**, 1, 30.
54. M. Jafari, B. Kaffashi, *Nanomed. Res. J.*, **2016**, 1(2), 96.
55. D.T. Akhter, R. Uddin, K. B. Sutradhar and Md. Shohel Rana, *J. Chem. Pharm. Res.*, **2012**, 4(3), 1573.
56. M. Akter, S. Banik and M. Salim Hossain, *J. Appl. Pharmaceu. Sci.*, **2012**, 02(05), 188.
57. I. Abdelmalek, A. Mesli, I. Svahn, G. Simonneaux, *Biointer. Res. Appl. Chem.*, **2017**, 7(1), 1939.
58. T. Vandamme, D. Poncelet, Subra-Paternault, "Microencapsulation", Ed. Lavoisier, Paris, **2007**, 188.
59. F. Jianjun, Z. Yun, Y. Shifeng, L. Zhiwen, H. Shiming, C. Lei, Y. Jingbo, *Acta Biomater.*, **2014**, 10, 276.
60. M. Abdel Mouez, N. M. Zaki, S. Mansour, A. S., Geneidi, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **2014**, 51, 59.
61. Y. Han Felicity, J. Thurecht Kristofer, K. Whittaker Andrew, T. Smith Maree, *Front. Pharmacol.*, **2016**, 7, 185.
62. M. Jelvehgari, S. H. Montazam, *Jundishapur J. Nat. Pharm. Prod.*, **2012**, 7(4), 144.
63. F. Y. Han, K. J. Thurecht, A. L. Lam, A. K. Whittaker, M. T. Smith, *J Pharm Sci.*, **2015**, 104(7), 2334.
64. J. P. Benoît, J. Richard, M. C. Venier-Julienn, *Technique de l'Ingénieur*, **2013**.
65. N. Islam, V. Ferro, *Nanoscal.*, **2016**, 8(30), 341.
66. C. D. Spadari, L. B. Lopes, K. Ishida, *Front. Microbiol.*, **2017**, 8, 97.
67. D. Lio, D. Yeo, C. Xu, *Nanoscale Res Lett.*, **2016**, 11(1), 9.
68. M. J. Cardoso, R. R. Costa, J. F. Mano, *Mar Drugs*, **2016**, 14(2), 101.
69. L. Lamoudi, J. C. Chaumeil, K. Daoud, *Ann Pharm Fr*, **2015**, 73(1), 37.

70. L. Bennabi, H. Abiras, L. Belarbi, F. Bennabi, W. Chaibi, K. Guemra, *Biointer. Res. Appl. Chem.*, **2016**, 6(5), 1483.
71. M. Iqbal, N. Zafar, H. Fessi, A. Elaissari, *Inter. J. Pharmaceu*, **2015**,1. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.10.057>
72. C. Wang, J. Yang, H. Han, J. Chen, Y. Wang, Q. Li, Y. Wang, *Inter. J. Nanomed.*, **2017**, 12, 827.
73. S. Shirani, O. Lebig, S. Bouameur, M. Mouffok, N. Shirani, N. Chafi, K. Guemra, *Ind. J. Pharm. Educ. Res.*, **2017**, 51(1),1.
74. A-M. A. Rokstad, I. Lacik, P. D. Vos, B. L. Strand, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **2014**, 67-68, 111.
75. F. Wan, M. Yang, *Int. J. Pharm.*, **2016**, 498, 82.
76. A. E. C. Antunes, A. M. Liserre, Coelho A L A, C. R. Menezes, I. Moreno, K. Yotsuyanagi, N. C. Azambuja, *Food Sci. Tech.*, **2013**, 54,125.
77. V. Bakshi, *Asian J. Pharmac.*, **2016**, 10(4), 541.
78. F. Salaun, G. Creach, F. Rault, S. Giraud, *Polym. Degrad. Stab.*, **2013**, 98, 2663.
79. J. Richard, J-P. Benoît, *J. Microencapsul.*, **2000**, 2, 210.
80. Y. Y. Yang, H. H. Chia, T. S. Chung, *J. Control. Rel.*, **2000**, 69 (1), 251.
81. Z. El Bahri, J-L. Taverdet, *Pow. Tech.*, **2007**, 172, 30.
82. M. Li, O. Rouaud, D. Poncelet, *Int. J. Pharm.*, **2008**, 363, 26.
83. R. K. Deshmukh, J. B. Naik, *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol.*, **2015**, 48, 197.
84. R. Dinarvand, N. Sepehri, S. Manoochehri, H. Rouhani, F. Atyabi, *Int. J. Nanomed.*, **2011**, 6, 877.
85. Y. Y. Yang, T-S Chung, N-P. Ng, *Biomater.*, 22, **2001**, 231.
86. N. T. Hwisa, P. Katakam, B. Chandu, S. K. Adiki, *Biol. Med. Chem.*, **2013**, 1, 8.
87. I. Abdelmalek, I. Svahn, S. Mesli, G. Simonneaux, A. Mesli, *J. Mater. Environ. Sci.*, **2014**, 5,1799.
88. M. Mouffok, A. Mesli, I. Abdelmalek, E. Gontier, *J. Serb. Chem. Soc.*, **2016**, 81(10), 1183.
89. J. Vyslouchil, P. Doležal, M. Kejdušová, E. Mašková, J. Mašek, R. Lukáč, V. Košťál, D. Vetchý, K. Dvořáčková, *Acta Pharm.*, **2014**, 64, 403.
90. D. Araratha, S. Velmurugan, *Int. J. Pharm. and Pharmac. Sci.*, **2015**, 7, 151.
91. C. Y. Yang, S. Y. Tsay, R. C. Tsiang, *J. Microencapsul.*, **2000**,17, 269.
92. A. André-Abrant, J.L. Taverdet, J. Jay, *Eur. Polym. J.*, **2001**, 37, 955.
93. R. C. Mehta, B. C. Thanoo, P. P. DeLuca, *J. Control. Rel.*, **1996**, 41, 249.
94. E. Schlicher, N. S. Postma, J. Zuidema, H. Talsma, W. Hennink, *Int. J. Pharm.*, **1997**, 153, 235.
95. H. Jeffery, S. Davis, D. T. O'Hagan, *Pharm. Res.*, **1993**, 10, 362.
96. C. T. Şengel-Turk , C. Hasçiçek, N. Gönül, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, **2011**, 12,1127.
97. M. K. Das, K. Rama Rao, *Acta Polo. Pharm-Drug Res.*, **2006**, 63,141.
98. T. Kemala, E. Budianto Soegiyono, *Arab. J. Chem.*, **2012**, 5, 103.
99. Y. Zhang, Y. Li, X. Zhao, Y. Zu, W. Wang, W. Wu, C. Zhong, Z. Li, *RSC Adv.*, **2016**, 1. DOI: 10.1039/C6RA08413C.

100. Z. Urbán-Morlán, S. E. Mendoza-Elvira, R. S. Hernández-Cerón, S. Alcalá –Alcalá, H. Ramírez-Mendoza, A. Ciprián-Carrasco, E. Piñón-Segundo, D. Quintanar-Guerrero, *J. Mex. Chem. Soc.*, **2015**, 59, 173.
101. S. Salatin, M. Jelvehgari, S. Maleki-Dizaj, K. Adibkia, *Therapeu. deliv.*, **2015**, 6(8), 1.
102. R. K. Sethi, B. B. Barik, S. K. Sahoo, *Int. J. Drug Dev. & Res.*, **2013**, 5(2), 341.
103. M. Kılıçarslan, T. Baykara, *Inter. J. Pharm.*, **2003**, 252, 99.
104. M. K. Shahzad , M. Ubaid , M. Raza , G. Murtaza , *Adv. Clin. Exp. Med.*, **2013**; 22(2),177.
105. F. Sevgi, A. Yurdasiper, B. Kaynarsoy, E. Turunç, T. Guneri, A. Yalçın, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, **2009**, 10(1), 104.
106. J. Sjoblom, "Emulsions and Emulsion Stability ", Taylor & Francis 2nd Ed., New York, **2005**.
107. M. S. Tichenor , R. L. Thurmond , J. D. Venable , B. M. Savall, *J. Med. Chem.*, **2015**, 58(18), 7119.
108. V. Elena Koroleva, K. N. Gusak, V. Zh Ignatovich, *Russian Acad. Sci.*, **2010**, 79(8), 144.
109. E. A. Lindsey, R. J. Worthington, C. Alcaraz, C. Melander, *Org. Biomol. Chem.*, **2012**, 10, 2552.
110. S. Srinu Naik, K. Anand Kishore, *Inter. J. Pharmaceu. Appli.*, **2012**, 3(3), 375.
111. W. B. Pratt, ‘‘*Fundamentals of Chemotherapy*’’, Oxford University Press, London, **1973**.
112. M. Elson, *Staying healthy with nutrition, the complete guide to diet and nutritional medicine*, **2006**.
113. S. I. Akberova, P. I. Musaev Galbinur, *Vestn. Ophtalmol.*, **2000**, 116, 16.
114. S. I. Akberova, E. Tazulakhova, V. Mamedova, *Vestn. Ophtalmol.* **2006**,122, 23.
115. P. C. Brooks, E. Kramer, L. Liebes, B. Ng, *Patent WO2005070043*, New York, **2005**.
116. M. E. Crisan, P. Bourosh, M. Maffei, A. Forni, S. Pieraccini, M. Sironi, *Plos one*, **2014**, 9, 1.
117. S. I. Akberova, *Biol. Bull.*, **2002**, 29, 390.
118. P. Lahmani, L. Simoneau, *Patent EP0509904-B1 Roussel Uclaf*, **1996**.
119. S. M. MacDonald, M. Caunt, P. C. Brooks, S. C. Farmenti, *I. J. Rad. Oncol. Biol. Phys.*, New York University, **2004**, 60, 352.
120. R. S. Sharma, R. C. Joy, C. J. Boushey, M. G. Ferruzzi, A. P. Leonov, M. A. McCrory, *J. Acad. Nutr. Diet.*, **2013**,114, 457.
121. M. Mirzaei, M. Khayat, A. Saeidi, *Sci. Iran.*, **2012**, 19, 561.
122. A. Albert, E. Sergent, *The Determination of Ionization Constants*, Ed. Chapman and Hall, Great Britain, **1971**.
123. D. Hadjipavlou-Litina, A. Geronikaki, *Drug Des. Discov.*, **1998**, 15, 199.
124. F. Benachenhoun, N. Mimouni, Y. Mederbel, R. Kaid Slimane, *Arab. J. Chem.*, **2012**, 5, 245.
125. A.A. Moulay, N. Chafi, L. Belarbi, Z. Bengharez, A. Mesli, *J. Mater. Environ. Sci.*, **2013**, 4(3) 474.
126. M. Mahmood-ul-Hassan, .Zahid. H. Chohan, C. T. Supuran, *Synthesis and Reactivity in inorganic and Metal-Organic Chemistry*, **2002**, 32, 8, 1445.

127. M. Mahmood-ul-Hassan, Zahid. H. Chohan, and Claudia T. Supuran., *Synthesis and Reactivity in inorganic and Metal-Organic., Chemistry*, **2002**, 25, 5, 291.
128. F. Benachenhou, A. Mesli, R. Guillard, *Arab. J. Chem.*, **2013**, 6, 313.
129. A. Mesli, *Bull., Soc. Chem. Fr.*, **1975**, 7-8, 1745.
130. A. Mesli, A. Ali-Bey et K. Abdmezien, *C. R. Acad. Sc., Paris*, **1975**, 281, 385.
131. N. Chafi, N. Kolli, J. M. Vergnaud, J. P. Monthréad, *J. Appl. Polym. Sci.*, **1991**, 43, 1837.
132. H. Merine, Z. Bengharez, L. Belarbi, A. Mesli, *J. Soc. Chim. Tunisie*, **2006**, 8, 259.
133. L. Bélarbi, A. Mesli, K. Guemra, N. Chafi, *J. Soc. Alger. Chim.*, **1999**, 9(2), 203.
134. A. Geronikaki, P. Hadjipavlou-Litina, M. Amourgianou., *IL Farmaco.*, **2003**, 58, 489.
135. P. Vicini, A. Geronikaki, M. Incerti, B. Busonera, G. Poni, C. A. Cabras and P. La Colla., *Bioorg. Med. Chem.*, **2003**, 11, 4785.
136. P. Vicini, F. Zani, P. Cozzini, I. Doytchinova., *J. Eur. J. Med. Chem.*, **2002**, 37, 553.
137. A. Geronikaki, A. Lagunin, V. Poroikov, D. Filimonov, D. Hadjipavlou-Litina, P. Vicini, *SAR QSAR. Environ. Res.*, **2002**, 13, 457.
138. D. Hadjipavlou-Litina, A. Geronikaki, E. Sotiropoulou, *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **1993**, 79, 355.
139. H. Merine, A. Mesli, N. Chafi, *J. Mater. Environ. Sci.*, **2014**.
140. M. Tsuruoka, I. Seikutsugaka., *Med. Bio.*, **1947**, 10, 296.
141. J. R. Merchant, G. Martysen and N. S. Venkatesh., *Indian J. Chem.*, **1981**, 20B, 493.
142. I. Chaaben, A. Mohsen, M. E. Omar, E. A. Ashour and M. A. Mahron., *Sci. Pharm.*, **1984**, 52, 51.
143. A. Catalano, A. Carocci, I. Defrenza, M. Muraqlia, F. Van Bambeke, A. Rosato, F. Corbo, C. Franchini, *Eur. J. Med. Chem.*, **2013**, 64, 357.
144. R. P. Kapoor, M. K. Rastogi, R. Khanna and C. P. Garg., *Indian. J. Chem.*, **1984**, 23B, 390.
145. A. Buttinoni, A. Cuttica, J. Franceschini, V. Mandelli, G. Orsini, N. Passerini, C. Turba, R. Tomasini., *Arzneim –Forsch.*, **1973**, 23, 1100.
146. N. Chafi, A. Benghalem, A. Mesli, *Eur. Polym. J.*, **2003**, 39, 1063.
147. P. Breton, M. Buiatti, M. Dalko, S. Forestier, G. Lerebour, Google Brevets, **2004**.
<http://www.google.com/patents/EP1437348A1?cl=fr>.
148. F. Tay, M. Duran, S. Demirayak, *Indian J. Chem.*, **2014**, 53B, 102.
149. P. Ferruti, *Farmaco. Ed. Sci.*, 1977, 32, 220.
150. R. M. Silverstein, G. C. Bassler, T. C. Morill, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 4th Ed. John Wiley, New-York, **1981**.
151. K. Kaczmariski, J. C. Bellot, *Acta Chromato.*, **2003**, 13, 22.
152. C. Jégat, J. L. Taverdet, *Polym. Bull.*, **2000**, 44, 345.
153. H. L. Lai, K. Pitt, D. Q. M. Craig, *Inter. J. Pharm.*, **2010**, 386, 178.
154. United States Pharmacopeia (USP 27), The National Formulary (NF 22), **2004**.

PUBLICATIONS ET COMMUNICATIONS

Publications et Communications

Publications internationales :

1. M. Mouffok, A. Mesli,*, I. Abdelmalek, E. Gontier, Effect of formulation parameters on encapsulation efficiency and release behavior of *p*-aminobenzoic acid-loaded ethylcellulose microspheres, *J. Serb. Chem. Soc.*, **2016**, 81(10), 1183–1198. doi: 10.2298/JSC160308068M.
2. S. Shirani, O. Lebig, S. Bouameur, M. Mouffok, N. Shirani, N. Chafi, K. Guemra, Elaboration of Microspheres' Capsules Based on Ethylcellulose and Synthesized Poly (Butylsuccinate) as Biodegradable Matrices for Drug Delivery of an Antithyroidian Agent, *Ind. J. Pharm. Educ. Res.*, **2017**, 51(1),1-12.

Communications nationales :

1. M. Mouffok, I. Abdelmalek, A. Mesli, Synthesis and characterization of poly (vinyl acetate-co-vinylpyrrolidone) as matrix type, *Première Journées de Chimie*, Université de Mascara-ALGERIE, 26-27 Mars **2014**.
2. M. Mouffok, I. Abdelmalek, A. Mesli, Synthesis and characterization of vinyl copolymers by radical copolymerization, *Journées d'étude de Chimie*, Université Djilali Liabès de Sidi-Bel-Abbes -ALGERIE, 15 Décembre **2015**.
3. M. Mouffok, I. Abdelmalek, A. Mesli, Étude de la Libération Prolongée de l'acide *p*-aminobenzoïque (PABA) à partir des Microsphères Matricielles en Ethylcellulose au pH 1,2 à 37 °C, *2ème JSD*, Université Djilali Liabès de Sidi-Bel-Abbes -ALGERIE, Décembre **2017**.

Liste des Tableaux

N°	page	Légende
1	25	Mécanismes de libération par diffusion à partir des Microsphères; n –l'exposant de libération de modèle "Korsmeyer-Peppas".
2	29	Principaux polymères utilisés pour obtenir des structures microparticulaires.
3	32	Terminologies usuels des méthodes d'encapsulation à partir de dispersion liquides.
4	47	Les formes prédominantes des principes actifs libérés dans le milieu d'étude pH = 1,2.
5	59	Caractéristiques RMN ^1H de la base de Schiff (IM₁).
6	60	Procédures et rendements d'obtention des produits IM₁ et IM₁ .
7	63	Caractéristiques RMN ^1H de la base de Schiff (IM₂).
8	69	Conditions opératoires et compositions des différents milieux d'encapsulation des principes actifs et des monomères supports dans des formulations Microsphères en matrice d'EC (F₁-F₄).
9	72	Les valeurs des maximums d'absorption « λ_{max} » et les coefficients d'extinction molaires « ϵ » des principes actifs étudiés dans pH 1,2 à 37°C.
10	76	Résultats granulométriques des Microsphères F₃ chargées en 2-AP.
11	77	Résultats granulométriques des Microsphères F₄ chargées en IM₂ .
12	78	Caractéristiques des Microsphères F₁-F₄ et résultats de microencapsulation.
13	90	Conditions des différentes Formulations Microsphères chargées de PABA.
14	93	Résultats Granulométriques de la Formulation Microsphères CAB13 chargées en PABA (Conditions de préparation : 1:3 PABA:CAB, 1% PVA et 600 rpm).

15	95	Les effets des paramètres et conditions de formulations sur les caractéristiques des Microsphères et les résultats d'encapsulations ; EE– Efficacité d'Encapsulation ; T-Teneur réelle en PABA.
16	100	Le diamètre moyen de Sauter d_{32} des Microsphères en EC en fonction de la vitesse d'agitation.
17	123	Valeurs des diffusivités aux temps courts $D_{t,c}$ et longs $D_{t,l}$ des PA (2-APH ⁺ et 2-ABZTH ⁺) pour les Microsphères au pH 1,2 et à 37 °C.
18	124	Coefficients de corrélation et constantes de libération de PA 2-APH ⁺ et 2-ABZTH ⁺ à partir des formulations Microsphères à pH 1,2 et 37 °C; k_H et k_{K-P} – Les constantes d'Higuchi et de Korsmeyer-Peppas, respectivement; n – l'exposant de libération de Korsmeyer-Peppas; r^2 - Coefficient de corrélation.
19	135	Coefficients de corrélation et constantes de libération de PABAH ⁺ à partir des Microsphères; k_H , k_{K-P} et k_{H-C} – Les constantes d'Higuchi, de Korsmeyer-Peppas et de Hixon-Crowel respectivement; n – l'exposant de libération de Korsmeyer-Peppas; r^2 - Coefficient de corrélation.
20	138	Valeurs des diffusivités aux temps courts $D_{t,c}$ et longs $D_{t,l}$ pour les Microsphères de PABA au pH = 1,2 et à 37 °C.

Liste des Figures

N°	page	Légende
1	9	Représentation schématique des divers aspects de la mise en disposition (phase biopharmaceutique) et du devenir d'un principe actif dans l'organisme (phase pharmacocinétique) et de la réponse pharmacologique (phase pharmacodynamique).
2	10	Représentation schématique de la cinétique de libération d'un PA incorporé dans une forme pharmaceutique – k_l : constante de libération ; k_d : constante de dissolution; k_a : constante de vitesse d'absorption ; k_e : constante d'élimination.
3	11	Exemples de profils pharmacocinétiques obtenus à partir des différentes formes à libération modifiée.
4	12	Exemple de la libération retardée d'un principe actif (PA).
5	14	Schématisation d'un système matriciel.
6	16	Structure de l'Ethylcellulose (EC).
7	16	Structure de l'acétate butyrate de cellulose (CAB).
8	17	Processus de transport de masse.
9	18	La mobilité des macromolécules.
10	19	Cinétiques de libération d'ordre 0 (a) et d'ordre 1 (b) après administration orale d'une forme à libération prolongée.
11	19	Représentations graphiques du « Burst effect » et du « Lag time », délai de libération.
12a	28	Représentation schématique de Microsphère (a) et microcapsule (b).
12b	28	Type de particules ; images MEB des microparticules, A : Microsphère ; B : microcapsule.
13	30	Facteurs influençant la libération du principe actif (PA).
14	31	Emulsification par des systèmes de dispersion liquide/liquide ; (a) dispersion par agitation mécanique (pales).
15	31	Microémulsion d'un système liquide-liquide.

Liste des Figures

16	34	Schéma général des différents procédés de la production des microparticules par microencapsulation.
17	36	Les étapes principales de la microencapsulation par évaporation de solvant.
18	53	Spectre d'absorption UV-VIS du <i>p</i> -vinylbenzaldéhyde dans l'éthanol absolu ($C = 10^{-4}$ Mole/L).
19	54	Spectre IR du <i>p</i> -VBA huile pure.
20	55	Spectre RMN ^1H (DMSO) du <i>p</i> -vinylbenzaldéhyde.
21	56	Synthèse de la base de Schiff IM ₁ .
22	56	Spectre d'absorption UV-VIS de (IM ₁) dans l'éthanol absolu à 37°C et à la concentration $C = 10^{-4}$ Mole/L.
23	57	Spectre IR du monomère (IM ₁) 4-N-vinylbenzylidène-2-aminobenzothiazole.
24	58	Spectre RMN ^1H élargi (CDCl_3) de la base de Schiff N-(4-vinylbenzylidène)-2-aminobenzothiazole (IM ₁).
25	59	Synthèse de la base de Schiff IM ₂ .
26	60	Spectre d'absorption UV-VIS du composé (IM ₂) dans l'éthanol absolu à 37°C et à la concentration $C = 10^{-4}$ Mole/L.
27	61	Spectre IR du monomère N-(<i>p</i> -vinylbenzylidène)-2-aminopyrimidine (IM ₂).
28	62	Spectre RMN ^1H (CDCl_3) élargi de la N-(<i>p</i> -vinylbenzylidène)-2-aminopyrimidine (IM ₂).
29	66	Dispositif expérimental de la méthode d'évaporation de solvant.
30	70	Spectre d'absorption UV-VIS de la 2-ABZT dans pH = 1,2 à 37°C.
31	70	Droite d'étalonnage de la 2-ABZT dans pH = 1,2 (37°C) à $\lambda_{\text{max}} = 285$ nm.
32	71	Spectre d'absorption UV-VIS de la 2-AP dans pH = 1,2 à 37°C.
33	72	Droite d'étalonnage de la 2-AP dans pH = 1,2 (37°C) à $\lambda_{\text{max}} = 302$ nm.
34	76	Exemple de représentation graphique de la distribution en taille de Microsphères chargées de 2-AP (F ₃).
35	77	Exemple de représentation graphique de la distribution en taille de Microsphères chargées en IM ₂ (F ₄).

Liste des Figures

36	80	Observation des Microsphères chargées de 2-ABZT (F_1) par Microscope Optique.
37	80	Observation des Microsphères chargées de 2-AP (F_3) par Microscope Optique.
38	81	Micrographies MEB des Microsphères F_1 (2-ABZT pure) ; Conditions de préparation : (% 2-ABZT/EC = 33,33%), 600 rpm, 1% PVA.
39	81	Micrographies MEB des Microsphères F_2 (IM₁ monomère support de la 2-ABZT) ; Conditions de préparation : (%IM ₁ /EC = 33,33%), 600 rpm, 1% PVA.
40	82	Micrographies MEB des Microsphères F_3 (2-AP pure) ; Conditions de préparation : (%2-AP/EC = 33,33%), 600 rpm, 1% PVA.
41	82	Micrographies MEB des Microsphères F_4 (IM₂) ; Conditions de préparation : (%IM ₂ /EC = 33,33%), 600 rpm, 1% PVA.
42	84	Spectres IR de: a- 2-AP pure, b- Microsphères chargées en 2-AP (F_3), c-Microsphères en EC (à blanc); d- Microsphères chargées en IM ₂ (F_4).
43	85	Spectres IR de: a-2-ABZT pure, b-Microsphères en EC (à blanc), c-Microsphères chargées en 2-ABZT (F_1) et d- Microsphères chargées en IM ₁ (F_2).
44	89	Les structures des tensioactifs utilisés PVA et Tween 80.
45	91	Spectre d'absorption UV-VIS du PABA dans pH = 1,2 (37°C) à la concentration 10^{-4} Mole. L ⁻¹ .
46	91	Droite d'étalonnage du PABA dans pH = 1,2 (37°C) à $\lambda_{\max} = 226$ nm.
47	94	Exemple de représentation graphique de la distribution en taille de Microsphères CAB13 chargées en PABA.
48	96	Micrographies MEB des Microsphères de PABA ; Conditions de préparation, F13A : un rapport 1:3 PABA:EC, 1% PVA et à la vitesse de 600 rpm.
49	96	Micrographies MEB des Microsphères de PABA ; Conditions de préparation, CAB13 : un rapport 1:3 PABA:CAB, 1% PVA et à la vitesse de 600 rpm.
50	97	Micrographies MEB des Microsphères de PABA ; Conditions de préparation, T13B : un rapport 1:3 PABA:EC, 1% Tween 80 et à la vitesse de 600 rpm.
51	98	Micrographies MEB des Microsphères de PABA ; Conditions de préparation, T13A : un rapport 1:3 PABA:EC, 0,5% Tween 80 et à la vitesse de 600 rpm.
52	99	Micrographies MEB des Microsphères de PABA ; Conditions de préparation, F13B : à un rapport 1:3 PABA:EC, 0,5% PVA et à la vitesse de 600 rpm.
53	99	Micrographies MEB des Microsphères de PABA ; Conditions de préparation, F13C : un rapport 1:3 PABA:EC, 2% PVA et à la vitesse de 600 rpm.

Liste des Figures

54	101	Micrographies MEB de surface et morphologie des Microsphères F12 préparées à un rapport 1:2 PABA:EC ; 1% PVA et à la vitesse de 600 rpm.
55	101	Micrographies MEB de surface et morphologie des Microsphères F14 préparées à un rapport 1:4 PABA:EC ; 1% PVA et à la vitesse de 600 rpm.
56	102	Spectres IR de: (a)- PABA pur, (b)- Microsphères en CAB (à blanc) et (c)- Les Microsphères CAB13.
57	103	Spectres IR de: (a)- PABA pur, (b)- Microsphères d’Ethylcellulose (à blanc), (c)- Microsphères F14, (d)- Microsphères F13C et (e)- Microsphères T13B.
58	105	Thermogrammes DSC de (a)- PABA pur, (b)- Microsphères d’ethylcellulose (à blanc) et (c)- Microsphères F14.
59	106	Diffractogrammes DRX de (a)- PABA pur, (b)- Microsphères d’ethylcellulose (essai à blanc) et (c)- Microsphères F14.
60	110	Dispositif expérimental de libération du PA à partir des ‘Microsphères’.
61	113	pH et temps de séjour des matières solides le long du tractus digestif.
62	116	% 2-ABZTH ⁺ libéré à partir des Microsphères F ₁ et F ₂ en fonction du temps dans pH = 1,2 à 37°C.
63	118	% 2-APH ⁺ libéré à partir des Microsphères F ₃ et F ₄ en fonction du temps dans pH=1,2 à 37°C.
64	119	% 2-ABZTH ⁺ libéré à partir des Microsphères F ₁ et F ₂ en fonction de $\sqrt{t}$ dans pH = 1,2 à 37°C.
65	120	% 2-APH ⁺ libéré à partir des Microsphères F ₃ et F ₄ en fonction de $\sqrt{t}$ dans pH = 1,2 à 37°C.
66	121	log (m _t /m _i) en fonction de 1/t du % 2-APH ⁺ libérée par les Microsphères F ₃ à pH = 1,2 (37°C).
67	122	m _t /m _∞ en fonction de $\sqrt{t}$ du %2-APH ⁺ libérée par les Microsphères F ₃ à pH = 1,2 et à 37 °C.
68	122	Ln [1-(m _t /m _∞)] en fonction de 1/t du % 2-APH ⁺ libérée par les Microsphères F ₃ à pH = 1,2 (37°C).
69	129	% PABAH ⁺ libéré par les Microsphères en fonction du temps à différents rapports PABA :EC (pH 1,2 et à 37°C).
70	129	% PABAH ⁺ libéré par les Microsphères en fonction du temps à un rapport 1:3 PABA:CAB (pH 1,2 et à 37°C).
71	130	% PABAH ⁺ libéré par les Microsphères en fonction du temps à différents tensioactifs (pH 1,2 et à 37°C).

Liste des Figures

72	131	% PABAH ⁺ libéré par les Microsphères en fonction du temps à différents paramètres (pH 1,2 et à 37°C).
73	133	% PABAH ⁺ libéré par les Microsphères en fonction de $\sqrt{t}$ à différents ratio PABA:Pol. dans pH = 1,2 à 37 °C (Pol : EC ou CAB).
74	136	log (m_t/m_i) en fonction de 1/t du % PABAH ⁺ libéré par les Microsphères F11 à pH = 1,2 (37°C).
75	137	m_t/m_∞ en fonction de $\sqrt{t}$ du % PABAH ⁺ libéré par les Microsphères F11 à pH = 1,2 et à 37 °C.
76	137	Ln [1-(m_t/m_∞)] en fonction de $\sqrt{t}$ du % PABAH ⁺ libéré par les Microsphères F11 à pH = 1,2 et à 37 °C.

ملخص

العمل المقدم في هذه الأطروحة يتعلق بالدراسة الحركية لتحرير بعض العناصر الفعالة أمينات أولية حلقية في وسط اصطناعي متجانس pH = 1,2 عند 37 درجة مئوية من مختلف الأشكال الغالينية المصنوعة أنظمة ميكروسكوبية (ميكرو كرات). يستند الجزء الأول إلى دراسة تحرير العناصر الفعالة أمينات أولية من خلال أشكال ميكرو كرات مختلفة معبأة بـ 2-أمينوبنزوثيازول, 2-أمينو بيغيمدين و الأمينات الحوامل المصنوعة. أثبتت النتائج أن العناصر الفعالة المكبسلة على شكلها النقي في ميكروكرات اليوليمر إيثيل سيليلوز تحرر بسهولة مقارنة إذا ما استعملنا المونومير قواعد شيف الأمينات كحوامل مكبسلة. يهتم الجزء الثاني بتقنية الميكرو كبسلة بنظام تبخر المحل البسيط بهدف تصنيع أنظمة جديدة على شكل ميكروكرات معبأة بحمض البارامينو بنزويك لدراسة تأثير مختلف عوامل التقنية المستعملة مثل نوع المغلف, نسبة الحمض بارامينو بنزويك والإيثيل سيليلوز, سرعة الخلط, طبيعة وتركيز العامل الفعال على خصوصيات الميكروكرات (المساحة و المورفولوجية, نصف القطر المتوسط لصوتر, توزيع الحجم, فعالية الكبسلة و سرعة التحرير). تم فحص مساحة و مورفولوجية الميكروكرات بواسطة الميكروسكوب الإلكتروني الماسح MEB. شخصت الميكروكرات بواسطة تقنيات IR, DSC و DRX. أثبت التطبيق الرياضي على النتائج المتحصل عليها من عملية التحرير أن تحرير العنصر الفعال مراقب بظاهرة الانتشار. تم حساب القيم الانتشارية بتطبيق الحلول التحليلية لقانون Fick.

الكلمات المفتاحية: أمين أولي, مونوامين, ميكروكبسلة, طريقة تبخر المحل بسيطة / مزدوجة, ميكروكرات, الانتشار, التحرير المراقب.

Abstract

The undertaken work in this thesis focuses on the kinetic study of the release of some heterocyclic primary amine active agents in a reconstituted heterogeneous medium pH = 1.2 and at 37 ° C from various galenic forms type Microspheres.

The first part concerns the release of the primary amine from different Microspheres formulations loaded with 2-aminobenzothiazole (2-ABZT), 2-aminopyrimidine (2-AP), carrier monomers IM₁ and IM₂. The results showed that the pure encapsulated active agents (2-AP and 2-ABZT) in EC based-matrix Microspheres are more easily released than the Schiff bases monomers IM₁ and IM₂ used as encapsulated supports.

The second part is interested in the technique of microencapsulation by the simple-emulsion solvent evaporation process in order to develop new PABA Microspheres systems. The effect of variables process parameters as the nature of the matrix, PABA:EC ratio, agitation rate, surfactant nature and concentration on the Microspheres properties (surface and morphology, mean Sauter diameter, size distribution, encapsulation efficiency and release rate) has been studied. The surface and morphology of the microparticles were observed by scanning electron microscopy SEM. After that, the obtained Microspheres were characterized by IR, DSC and DRX. The mathematical modeling of the obtained release data demonstrates that the release of the active agent is controlled by diffusion. Thus, the diffusivity values are calculated according to the analytical solutions proposed by Fick's laws.

Keywords: Primary Amine, Microencapsulation, Monoimine, Single/Double-Emulsion Solvent Evaporation, Microspheres, Diffusion, Controlled Release.

Résumé:

Le travail entrepris dans cette thèse porte sur l'étude cinétique de la libération de quelques principes actifs amines primaires hétérocycliques en milieu hétérogène reconstitué pH = 1,2 et à 37 °C à partir des différentes formes galéniques type Microsphères.

La première partie concerne la libération des principes actifs amines primaires à partir des différentes formulations Microsphères chargées de la 2-aminobenzothiazole (2-ABZT), de la 2-aminopyrimidine (2-AP), des monomères supports IM₁ et IM₂. Les résultats ont montré que les principes actifs (2-AP et 2-ABZT) encapsulés purs dans des Microsphères à base de polymère matriciel EC sont plus facilement libérés que si l'on utilise les monomères bases de Schiff IM₁ et IM₂ comme supports encapsulés.

La deuxième partie s'intéresse à la technique de microencapsulation par le procédé de simple émulsion-évaporation de solvant afin d'élaborer de nouveaux systèmes Microsphères chargées de PABA. L'effet de certains paramètres du procédé comme la nature de la matrice, le rapport PABA:EC, la vitesse d'agitation, la nature et la concentration de tensioactif sur les propriétés des Microsphères (la surface et la morphologie, le diamètre moyen de Sauter, la distribution en taille, l'efficacité d'encapsulation et la vitesse de libération) a été étudié. La surface et la morphologie des microparticules ont été observées par Microscopie Electronique à Balayage MEB. Les Microsphères obtenues ont été caractérisées par IR, DSC et DRX. La modélisation mathématique des résultats obtenus des profils de libération démontre que la libération de principe actif est contrôlée par diffusion. Ainsi, les valeurs de diffusivités sont calculées selon les solutions analytiques proposées par les lois de Fick.

Mots clés: Amine Primaire, Microencapsulation, Monoimine, Simple/Double-Emulsion Evaporation de Solvant, Microsphères, Diffusion, Libération Contrôlée.

Auteur: Meryem MOUFFOK.

Faculté des Sciences Exactes.

Université Djillali Liabes – Sidi Bel Abbes – 22000, Algérie.dz.

Email : meriemresearch@gmail.com.