

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun – TIARET



Faculté des Sciences de la Matière
Département de chimie

Mémoire

Présenté par :

M^{elle} Ait Hammou Nour El-Wiam
M^{elle} Ben Ali Meriem

Pour obtenir le diplôme de

Master

Filière : Chimie
Spécialité : Chimie des polymères

Sujet :

Formulation et caractérisation des microsphères. Etude de la libération du principe actif encapsulé.

Soutenu le : 26 mai 2016
Devant le jury :

- | | | |
|----------------------------|------------|---------------------|
| • Mr M. DEBDAB | MCA | Président |
| • Mlle L. BENNABI | MAA | Examinatrice |
| • Mlle M. HENNI | MAA | Examinatrice |
| • Mme I. ABDELMALEK | MAA | Encadreur |

Sommaire

Introduction générale.....	1
<u>Chapitre I</u> : Rappels bibliographiques	
I.Rappel bibliographique sur la microencapsulation	5
I.1.Généralités sur la microencapsulation	5
I.1.1. Introduction	5
I.1.2. Classification	6
I.1.3. Buts d'Encapsulation	7
I.1.4. Les applications de l'encapsulation	7
I.1.5. Techniques d'encapsulation	8
I.2. Microencapsulation par évaporation de solvant	10
I.2.1. Description de la microencapsulation par évaporation de solvant	10
I.2.2. Solvants utilisés	12
I.2.3. Matière enrobante	12
I-3.Rappel sur les antibiotiques	15
I.4. Rappel bibliographique sur la libération des principes actifs	17
I.4.1. Rappels théoriques sur la cinétiques de libération du principe actif	17
I.4.2. Les modèles mathématiques utilisés pour décrire la libération du principe actif....	20
I.4.3.Traitement mathématique du modèle de Fick	24
I.4.4.Coefficient de diffusion "D"	25
I.4.5. Calcul de la diffusivité	26
<u>Chapitre II</u> : Partie expérimentale	
II.1. Formulation et caractérisations des formes galéniques	28
II.1.1. Les produits chimiques	28
II.1.2. Matériels	28
II.1.3. Préparation des formes pharmaceutiques	30
II.1.4. Caractérisation des formes pharmaceutiques préparées	32
II.2. Etude de la cinétique de la libération à partir des microsphères et les disques obtenus...47	
II.2.1. Préparation des milieux d'étude	47
II.2.2. Détermination de la valeur λ_{\max} dans les deux pH	47
II.2.3.Courbe d'étalonnage de l'Ampicilline à chaque valeur de pH	49

II.2.4 Analyse des quantités transférées	52
II.2.5. Recherche de l'espèce prédominante d'ampicilline	53
II.2.6.a. Cinétique de libération d'AMP à partir des microsphères	54
II.2.6.b. Cinétique de libération de PA à partir des disques	55
II.3. Facteurs influençant les transferts de matières	56
II.4. Conditions de mesures	57

Chapitre III: Etude cinétique de relargage

d'AMP dans les deux milieux pH=1,2 et pH=7,7 à T°=37°C

III.1. Introduction	59
III.2. Etude de la libération d'Ampicilline	59
III.3. Modélisation des cinétiques selon les lois classiques.....	64
III.4. Modélisation des cinétiques selon la loi d'Higuchi.....	68
III.5. Calcul de m_{∞}	70
III.6. Calcul des diffusivités aux temps courts de la réaction	71
III.7. Résultat et discussion	75
Conclusion générale	79
Annexes	81
Références bibliographiques	94

LISTE DES ABREVIATIONS

Abs	Absorbance.
AMP	Ampicilline.
C	Concentration
C°	Degré Celsius.
D	Coefficient de diffusion($cm^2 \cdot sec^{-1}$).
d	Diamètre
d_i	Centre de classe
DCM	Dichlorométhane.
DO	Densité optique
EC	Ethylcellulose.
h	L'épaisseur
HCl	Acide chlorhydrique
HPMC	Hydroxpropylméthylcellulose.
i	La classe des particules.
IR	Spectroscopie infrarouge.
I_{max} / I_0	La transmittance
g	Gramme.
KCl	Chlorure de potassium.
K_H	Constante de libération d'Higuchi.
l	La longueur de la cellule en quartz (cm).
liq abs%	Le pourcentage du liquide absorbé.
min	Minute.
mL	Milli litre.
mg	Milligramme.
M_M	Masse molaire du principe actif.
m_t	Masse du principe actif libéré (mg) à l'instant « t ».
$m_{t',bille}$	Masse de la forme galénique à l'instant t de la pesée.
m_0	Masse initiale de la forme galénique « sèche ».
n_i	Nombre de particules de la classe i.
PA	principe actif.
Pa%	Le pourcentage du principe actif libéré.
Qt	Quantité de médicament libéré au temps t.
Rdt%	Rendement.
r	La distance au centre de la sphère

sec	Seconde
t	Temps.
V_F	Volume du flacon 100ml.
V_d	Volume de la fiole de dilution (10cm ³)
V_p	Volume prélevé

Liste des figures

N°	page	Titre
1	5	Types de microparticules.
2	6	morphologie des microparticules.
3	11	Principe du procédé de microencapsulation par évaporation du solvant
4	14	Structure chimique d'ethylcellulose.
5	15	Structure chimique d' Hydroxypropylméthylcellulose.
6	16	Structure chimique d' Ampicilline.
7	17	Types de libération à partir des microparticules.
8	18	Profils de libération par diffusion passive de différents types de microparticules .
9	20	Modélisation des trois systèmes matriciels.
10	29	Montage utilisé pour l'encapsulation par évaporation de solvant .
11	30	Observation des microsphères 1 par microscope optique.
12	31	Observation des microsphères 2 par microscope optique.
13	32	Photo représentant les disques préparés.
14	36	Les courbes de distribution en taille des microsphères 1.
15	38	Les courbes de distribution en taille des microsphères 2.
16	39	DSC d'Ethylcellulose.
17	39	DSC d'Ampicilline.
18	40	DSC du Micosphère Ethylcellulose.
19	40	Spectre DRX de l'ethylcellulose pure.
20	41	Spectre DRX des microsphères d'ethylcellulose.
21	41	Spectre DRX de l'ampicilline pure.
22	42	Superposition des spectres IR d'ampicilline, de l'ethylcellulose et des microsphères 1.
23	43	Photo MEB des Microsphères 1.
24	43	Photo MEB des Microsphères2.
25	44	Photo MEB des Microsphères 1 après libération d'AMP (pH=1,2 à T°=37°C).
26	48	Courbe spectrale d'absorption de la solution d'AMP dans le milieu pH=1,2.
27	48	Courbe spectrale d'absorption de la solution d'AMP dans le milieu pH=7,7.
28	49	Courbe d'étalonnage d'AMP à pH=1,2 et T°=37°C .
29	50	Courbe d'étalonnage d'AMP à pH=7,7 et T°=37°C .
30	54	Montage utilisé pour la libération des microsphères .
31	55	Dispositif expérimental pour la libération des disques .
32	60	% principe actif (AMP) libéré en fonction du temps (microsphères d'EC) (pH =1,2 à T= 37°C, 500 r.p.m).
33	60	% principe actif (AMP) libéré en fonction du temps (microsphères d'HPMC) (pH =1,2 à T=37°C, 500 r.p.m).

34	61	% principe actif (AMP) libéré en fonction du temps (disque EC + AMP) (pH =1,2 à T=37°C, 500 r.p.m).
35	61	% principe actif (AMP) libéré en fonction du temps (disque microsphères d'EC) (pH =1,2 à T=37°C, 500 r.p.m).
36	63	% principe actif (AMP) libéré en fonction du temps (microsphères d'EC) (pH =7,7 à T= 37°C, 500 r.p.m).
37	63	% principe actif (AMP) libéré en fonction du temps (microsphères d'HPMC) (pH =7,7 à T= 37°C, 500 r.p.m).
38	64	Concentration d'AMP libéré en fonction du temps (microsphères d'EC) (pH =1,2 à T°= 37°C).
39	64	$\ln [(m_i^0 - m_t) / m_i^0]$ en fonction du temps (microsphères d'EC) (pH= 1,2. T=37°C ,500 r.p.m).
40	65	$1/ (m_i^0 - m_t) - 1 / m_i^0$ en fonction du temps (microsphères d'EC) (pH= 1,2. T=37°C ,500 r.p.m).
41	65	%AMP libéré en fonction de la racine carrée du temps (microsphères d'EC) (pH= 1,2, T=37°C ,500 r.p.m).
42	66	%AMP libéré en fonction de la racine carrée du temps (microsphères d'EC) (pH= 7,7 à T=37°C ,500 r.p.m).
43	66	%AMP libéré en fonction de la racine carrée du temps (microsphères d'HPMC) (pH= 7,7 à T=37°C ,500 r.p.m).
44	70	$\log (m_t/m_i)$ en fonction de $1/t$ de l'AMP libéré par les microsphères d'EC dans pH=1,2 (37°C et 500 r.p.m).
45	72	m_t/m_∞ du principe actif (Pa) en fonction de la racine carrée du temps pour les microsphères d'EC, pH= 1,2 ; T°= 37°C.

Liste des tableaux

N°	Page	Titre
1	9	Classification des techniques d'encapsulation selon la nature du procédé.
2	21	Exemples de modèles mathématiques pour décrire les profils de dissolution
3	29	Les détails techniques concernant le montage utilisé pour la microencapsulation par évaporation de solvant.
4	33	Rdt % et Teneur % de la microencapsulation.
5	35	Résultats granulométriques des microspheres (1).
6	36	Diamètres moyens (μm) des microsphères (1).
7	37	Résultats granulométriques des microspheres (2).
8	38	Diamètres moyens (μm) des microsphères (2).
9	45	Compositions et tailles des disques préparés.
10	48	Valeurs de λ_{max} pour chaque pH.
11	50	Valeurs de ε_{max} du principe actif à pH=1,2 et pH=7,7 à 37°C.
12	53	les valeurs de A correspond à l'équation $[BH^+] = A [B]$ dans le pH=1,2 et pH=7,7.
13	62	%liquide absorbé dans le disque1 (EC+AMP) en fonction du temps à pH=1,2 à T°=37°C.
14	62	%liquide absorbé dans le disque2 (microsphères d'EC) en fonction du temps à pH=1,2 à T°=37°C.
15	68	Modélisation des cinétiques selon l'équation d'Higuchi.
16	71	Caractéristiques des microsphères et les formes galéniques étudiées à pH=1,2
17	71	Caractéristiques des microsphères étudiées à pH=7,7 .
18	72	Valeurs des diffusivités pour les formes galéniques (microsphères, disques) étudiées à pH=1,2 et T°=37°C.

Introduction générale

Introduction générale

Dans ces dernières années, les macromolécules sont utilisées comme transporteurs de principes actifs. Cette recherche a fait l'objectif de plusieurs revues et publications **(1-12)**.

Dans le domaine pharmaceutique, et pour diminuer le nombre de prises de médicament, plusieurs chercheurs ont étudiés l'utilité de quelques polymères dans les techniques de l'encapsulation **(13)**.

Ils sont utilisés des polymères globalement actif biologiquement, et les polymères biologiquement inactifs, utilisé comme simples supports physiques ou chimiques de principes actifs médicamenteux libérable d'une manière contrôlée **(14,15)**.

Les études menées sur la libération par diffusion du principe actif dispersé ou greffé dans une matrice polymérique insoluble dans les milieux physiologiques montrent clairement l'effet retard lors de la libération dû à l'enchevêtrement macromoléculaire du polymère.

Dans les formes pharmaceutiques où le principe actif est dispersé dans la matrice polymérique, la libération de ce principe actif se réalise par pénétration du liquide physiologique à l'intérieur de la forme pour solubiliser le principe actif, ce derniers sortira vers l'extérieur selon différents phénomènes (diffusion, déclenchement, ...).

Dans le cas où le principe actif est greffé sur la chaîne polymérique par une liaison chimique, un quatrième paramètre est nécessaire pour libérer ce principe actif, c'est l'hydrolyse de la liaison chimique « groupe espaceur » .

La liaison chimique qui fixe le médicament à l'espaceur devra être choisie pour son hydrolyse plus au moins facile selon l'effet retard souhaité. Le groupe espaceur en éloignant la molécule active de la chaîne polymérique facilitera l'accès de l'eau et des catalyseurs acido-basiques à la liaison hydrolysable.

Les macromolécules support devront de plus répondre à des critères sévères de pureté, être donc non toxiques, non immunogènes, biocompatibles et de masses molaires inférieures à 30.000 g/ mol pour éviter leur accumulation dans les tissus lipidiques **(16,17)**.

Introduction générale

Dans notre travail, nous avons choisi l'ampicilline étant un principe actif très utilisé dans le domaine pharmacologique (18-21) et deux polymères (l'ethylcellulose et l'hydroxypropylmethylcellulose) du fait qu'ils sont des polymères biodégradables et, non toxiques et utilisés dans les médicaments commercialisés (22-24) .

La libération d'ampicilline sera étudiée dans deux milieux physiologiques hétérogènes (pH=1,2 et pH=7,7) à 37°C dans différentes situations :

-Microsphères chargées d'AMP.

-Formes galéniques « disques » où l'AMP est dispersée à différents composition.

Notre travail sera présenté selon le plan suivant :

- Introduction générale.
- Rappels bibliographique sur la microencapsulation et les systèmes de libération.
- Préparation et caractérisation des formes pharmaceutiques (microsphères et disques).
- Etude de la libération d'AMP dans les deux milieux physiologiques (pH=1,2 et pH=7,7).
- Résultats et discussion.
- Conclusion générale.

CHAPITRE I

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I.RAPPEL BIBLIOGRAPHIQUE SUR LA MICROENCAPSULATION :

I.1.Généralités sur la microencapsulation :

I.1.1. Introduction :

La microencapsulation regroupe l'ensemble des technologies qui permettent la préparation de microparticules individualisées, constituées d'un matériau enrobant contenant une matière active (25). La terminologie « microparticules » sous entend des entités dont le diamètre est compris entre 1 et 1000 μm . Le terme nanoparticules est réservé à celles qui ont une taille inférieure au micron ($< 1 \mu\text{m}$.)

Comme le précisent Boh et Sumiga (26), la substance encapsulée peut se présenter sous la forme de fines particules de solide, d'un liquide, ou encore d'un composé gazeux.

Les microparticules obtenues par microencapsulation peuvent se présenter sous deux types de morphologies distinctes (Figure 1):

- ✓ La microsphère : est un système matriciel dans lequel les substances actives sous forme de fines particules solides ou liquides dispersées dans la matrice.
- ✓ La microcapsule : est un réservoir qui contient des substances liquides, solides ou gazeuses entourées d'une membrane solide (25).

Microcapsule : Système réservoir

Microsphère : Système matriciel

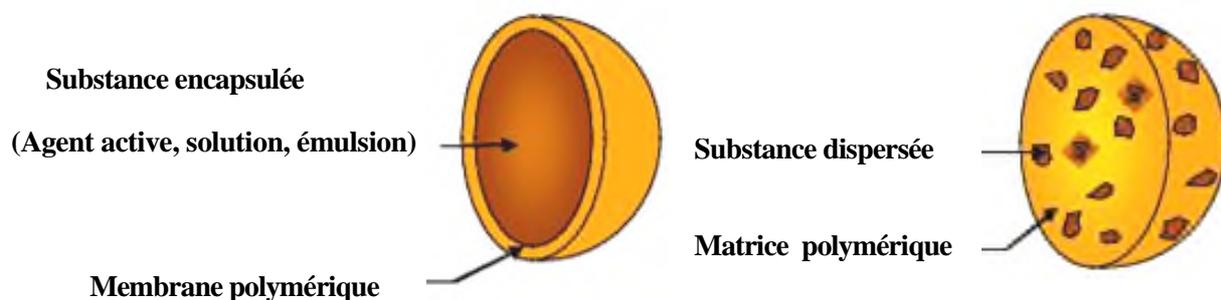


Figure 1: Types de microparticules.

La différence entre ces deux systèmes est que dans la microcapsule le principe actif est réparti en une grosse poche, alors qu'il est séparé en une multitude de petites poches dans la microsphère.

I.1.2. Classification :

Les microparticules peuvent être classées comme suit, sur trois grandes catégories selon leur morphologie :

1. Mononucléaires.
2. Polynucléaires.
3. Types de matrice.

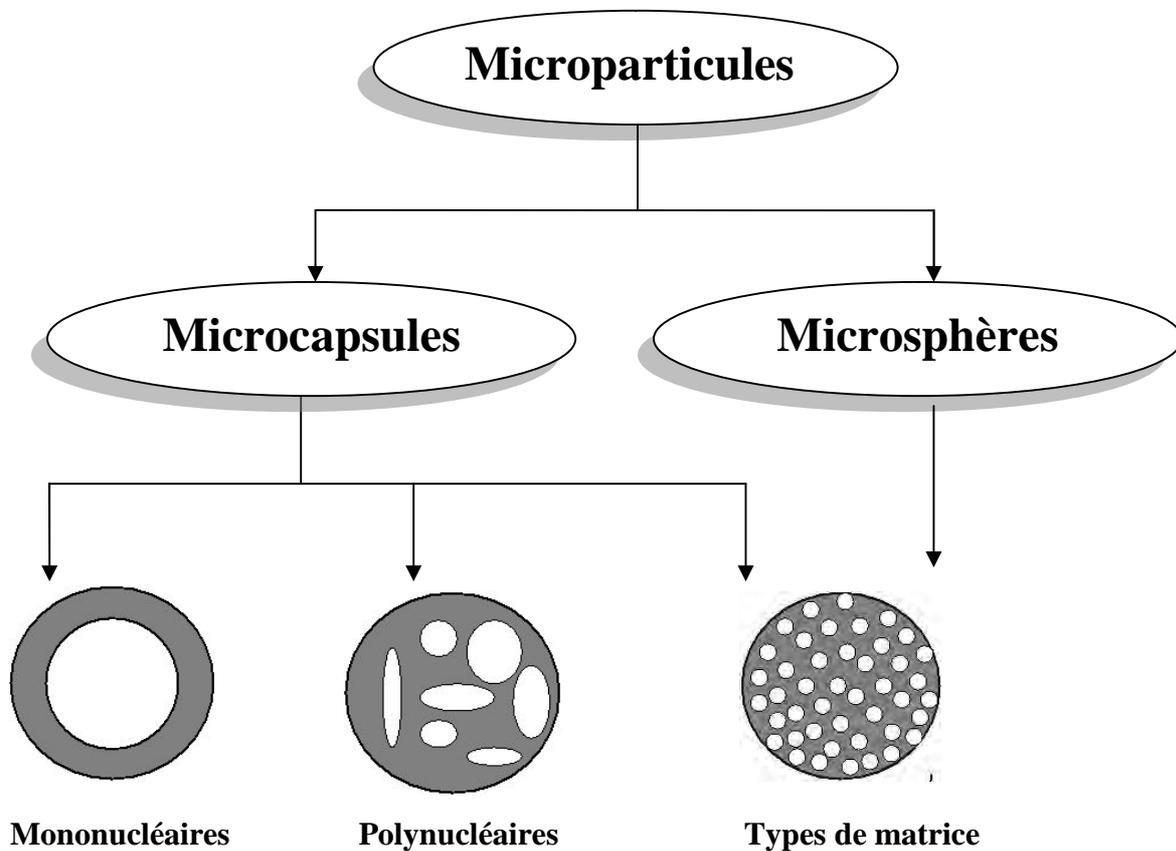


Figure 2 : morphologie des microparticules.

Mononucléaires (noyau-enveloppe) microcapsules contiennent l'enveloppe autour du noyau, alors que les capsules de polynucléaires ont un nombre de noyaux dans la coquille et dans les microparticules matrice, le matériel de noyau homogène est distribué dans le matériau de la coque (27).

I.1.3. Buts d'Encapsulation :

Les buts de la microencapsulation sont innombrables. Dans certains cas, un produit doit être isolé de son environnement, comme dans l'isolement des vitamines contre les effets détérioration de l'oxygène, ce qui retarde l'évaporation du produit encapsulé, l'amélioration des propriétés d'une matière collante ou d'isoler un produit réactif d'attaque chimique (27). Ainsi, il existe plusieurs raisons qui expliquent pourquoi les substances peuvent être encapsulées (28,29). On citera entre autres :

- Protéger les substances réactives de l'environnement.
- Convertir des composants actifs liquides dans un système solide sec.
- Séparer les composants incompatibles pour des raisons fonctionnelles.
- Masquer les propriétés indésirables de l'actif composant.
- Contrôler la libération des médicaments pour avoir une action longue de traitement.

I.1.4. Les applications de l'encapsulation :

On trouve désormais des applications de la microencapsulation dans de nombreux domaines industriels, listées comme suit :

- Dans le domaine pharmaceutique, des microparticules contenant des médicaments sont utilisées par voie orale ou par injection interne dans le muscle. Les microparticules sont principalement conçues pour contrôler la durée de libération du principe actif lors de son transport dans le corps et par la dispersion et l'infiltration du médicament vers l'endroit ciblé, une concentration propre et une durée spécifique de la libération permettent de donner pleinement les effets du médicament (13).

- Dans le domaine cosmétique, des microparticules ont déjà été intégrées dans différentes crèmes, des shampooings, ou des gels, afin de prolonger la stabilité chimique et microbiologique du principe actif (30).

- Dans le domaine agro-alimentaire, la microencapsulation est principalement utilisée pour des additifs alimentaires, tels que des arômes, des édulcorants, des colorants...etc et elle permettra de garder le parfum, de prolonger la durée de conservation et d'ajuster la saveur alimentaire (31).

- Dans le domaine biomédical, la technologie de microencapsulation a été mise en pratique pour l'immobilisation des cellules (cellules animales, cellules végétales et de micro-organismes). La membrane permet la perfusion sélective des milieux nutritionnels vers l'intérieur des microparticules pour cultiver les cellules encapsulées mais elle empêche de grandes molécules toxiques à passer vers l'extérieur. Des cellules peuvent vivre normalement dans un environnement micrométrique. D'un autre côté, les sécrétions des cellules peuvent traverser cette membrane semi-perméable. Les cellules microencapsulées fonctionnent comme un petit bioréacteur (32).

- Dans le domaine textile, les microparticules sont intégrées dans les textiles pour adapter les produits aux besoins des clients. Elles peuvent rendre des textiles hydratants, désinfectants ou parfumés...etc. Récemment des tissus contenant des microparticules à base de paraffine permettent d'ajuster automatiquement la température en fonction de la chaleur du corps humain (33).

I.1.5. Techniques d'encapsulation :

Les procédés de microencapsulation sont variés; il existe plusieurs classifications de ces techniques (25). Elles peuvent être classées selon l'utilisation ou non de solvants organiques, selon le coût énergétique des techniques ou encore selon leur application dans un domaine ou un autre. Cependant, la classification la plus courante est présentée dans le Tableau 1 (34) :

Type de procédé	Mode d'encapsulation	Types de particules obtenus	Références
Procédés physico-chimiques	Séparation de phases ou de coacervation (simple ou complexe)	Microcapsules Microsphères	(35, 36)
	Evaporation – extraction de solvant	Microsphères	(37, 38)
	Gélification thermique d'émulsions.	Microsphères	(39, 40)
Procédés Chimiques	Polymérisation interfaciale	Microcapsules	(41, 42)
	Polymérisation in situ	Microsphères	(25)
Procédés mécaniques	Enrobage en lit fluidisé	Microcapsules	(25)(43)
	Extrusion/sphéronisation	Microsphères	(25)(44)

Tableau 1 : Classification des techniques d'encapsulation selon la nature du procédé.

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

• **Les procédés chimiques** consistent en la polymérisation autour de la matière active (pure ou en solution) d'un ou plusieurs monomères conduisant à la formation in situ d'une membrane de protection. Plusieurs types de polymérisation peuvent être envisagés : polycondensation, polymérisation radicalaire ou anionique.

• **Les procédés mécaniques** de l'encapsulation reposent sur la nébulisation (séchage) de la formulation, ou l'enrobage de microparticules suspendant en lit fluidisé, ou l'extrusion du mélange de matière active et l'agent enrobant. La formulation des matières sera pulvérisée de sorte que la matière active soit encapsulée.

Le choix de la méthode dépend des propriétés du principe actif et de la nature du polymère. Cependant, de nombreux paramètres ont une influence sur les caractéristiques des microsphères obtenues. En raison de sa simplicité et du matériel à notre disposition, nous avons retenu pour notre étude la méthode d'encapsulation par évaporation de solvant (Procédés physico-chimique) que l'on d'écrit par la suite.

I.2. Microencapsulation par évaporation de solvant :

I.2.1. Description de la microencapsulation par évaporation de solvant:

Le procédé de la microencapsulation par évaporation de solvant est une méthode physico-chimique qui est à rattacher à l'extraction de solvant. Pour la première fois en 1981, Gurny *et al.* ont préparé des microsphères de PLA par la technique d'émulsion/évaporation de solvant (45). Cette méthode est simple à mettre en œuvre mais elle est régie par des phénomènes complexes. Elle repose sur le transfert du solvant vers la surface (eau / air) puis l'évaporation de cette phase interne d'une pseudo-émulsion sous agitation.

Freitas *et al.* (46) ont publié un bilan de l'état de l'art de ce procédé. Cette technique qui ne requiert ni température élevée ni usage d'agents conduisant à une séparation de phases, permet de balayer un domaine de tailles allant du nano au micromètre. Toutefois, des taux d'encapsulation élevés et de faibles quantités résiduelles en solvant ne peuvent être atteints qu'au prix d'un choix rigoureux des matériaux et des conditions opératoires. Plus récemment, Li *et al.* (47) ont fait le point sur les dernières avancées techniques de cette méthode et sur les moyens pour la modéliser.

Cette méthode repose sur l'évaporation de la phase interne d'une émulsion sous agitation. Elle est le plus souvent utilisée dans le domaine de la pharmacie pour la production des formes médicamenteuses à libération contrôlée (38).

Initialement, le matériau d'enrobage, généralement un polymère hydrophobe, est dissout dans le solvant organique volatil. Ensuite, la substance active à encapsuler est dissoute ou dispersée dans la solution organique avec le polymère qui formera la matrice (Figure 3).

La solution organique est dispersée dans le milieu aqueux contenant un agent tensioactif (Figure 3) sous agitation. Dès que le solvant organique entre en contact avec la phase aqueuse externe, il migre à la surface de l'émulsion où il s'évapore par diffusion (Figure 3c). La concentration du solvant organique dans la phase intermédiaire diminue au cours du temps et le polymère commence à précipiter encapsulant le principe actif (Figure 3d). Les microparticules sont séparées par filtration (Figure 3e) et séchées.

Les microparticules obtenues sont généralement de type matriciel (microsphère). Le taux de matière active dans les microparticules obtenues par ce procédé est compris entre 30 % et 40 %, et le rendement (efficacité) d'encapsulation peut atteindre 100 %. La taille des microparticules produites est de 0,5-800 μm (25).

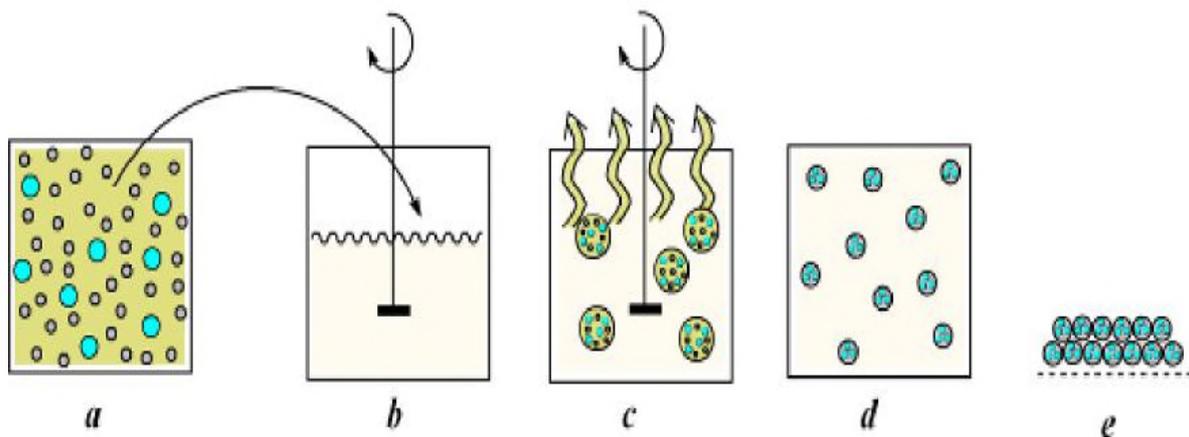


Figure 3: Principe du procédé de microencapsulation par évaporation du solvant: (a) matière active dispersée dans la solution organique de polymère, (b) mise en émulsion de la phase organique dans la phase aqueuse, (c) évaporation du solvant organique de la phase dispersée, (d) formation d'enrobage de polymère et (e) séchage des microparticules.

Ce type de procédé ne s'applique qu'à l'encapsulation de matière lipophile. Pour l'encapsulation de principes actifs hydrosolubles, des adaptations doivent être apportées comme la formation de double émulsion. En effet, les composés hydrosolubles doivent au préalable être dispersés sous forme de solution aqueuse dans la phase organique contenant le polymère. Cette émulsion est elle-même dispersée dans une phase aqueuse externe pour constituer une émulsion double E/H/E (48). Après évaporation du solvant organique, il se forme des microsphères contenant le principe actif hydrosoluble. Cette technique a été utilisée entre autre pour encapsuler de l'albumine de sérum bovin (BSA) (48) et de l'érythro-poïétine (49).

Comme ce procédé a plusieurs avantages : facilité de la mise en place, équipement simple, haut rendement et recyclage des phases évaporées. Il a aussi quelques défauts, tel que le partage du solvant organique à l'interface entre les matières actives et la phase continue, qui cause des traces non négligeables de solvant organique trouvent sur le contour des microsphères après l'évaporation, donc une étape permettant d'enlever ces résidus est souvent nécessaire mais elle complique le procédé.

I.2.2. Solvants utilisés:

Les solvants organiques utilisés dans la préparation des microsphères par la technique d'évaporation de solvant doit posséder un point d'ébullition faible (volatil) pour surmonter les problèmes associés avec le solvant résiduel. De nombreux solvants peuvent être utilisés pour la préparation de microsphères : acétonitrile (ACN), l'acétate d'éthyle, le chloroforme, le DMC et le benzène (50). Le dichlorométhane (DCM) est le solvant le plus commun pour l'encapsulation en utilisant la technique d'évaporation de solvant en raison de sa solubilité avec de l'eau (13 à 20g/L à 20°C), de son faible point d'ébullition (39,8 °C) et sa forte volatilité qui facilite un retrait facile par évaporation (51). Sa pression de vapeur saturante (à 20 °C : 47,4 kPa) par rapport à d'autres solvants promet un taux d'évaporation du solvant élevé, ce qui raccourcit la durée de formulation des microsphères.

I.2.3. Matière enrobant :

Le système enrobant joue un rôle principal sur l'efficacité, la stabilité des microparticules et sur le degré de protection de la matière active. En général, les critères de choix des matériaux enrobants sont basés sur leurs propriétés physico-chimiques (stabilité,

humidité, pH, oxydation), thermiques et mécaniques. L'enrobage permet de modifier radicalement l'aspect du produit encapsulé, de masquer le goût et l'odeur, de changer l'état de surface, la solubilité, la rhéologie et l'état fondamental, comme par exemple transformation des liquides ou des gaz en poudres fluides (52).

La méthode par évaporation de solvant utilise des polymères biodégradables, non toxique tels que l'acide polylactique (53,54) et l'acide polyglycolique, l'éthylcellulose, hydroxypropylmethylcellulose et les copolymères acryliques et méthacryliques (55,56).

Nous avons retenu pour notre étude les deux polymères cellulosiques (l'éthylcellulose « EC » et l'hydroxypropylmethylcellulose « HPMC ») car ils sont insoluble dans l'eau .

a. L'éthylcellulose :

C'est un dérivé de la cellulose dans lequel les groupes hydroxyle sur les unités anhydroglucose de répétition sont modifiés à des groupes éther d'éthyle, en grande partie appelée comme l'éther éthylique non-ionique de cellulose (Figure 4) (18).

L'éthylcellulose a été utilisé pour la microencapsulation en raison de ses nombreuses propriétés telles que (19):

- Poudre blanche inodore et insipide brun clair ou substance granuleuse ;
- Une masse moléculaire de 22000 g/mole et un point de fusion 240-255 °C,
- Stable contre la lumière, la chaleur, l'oxygène et l'humidité et les produits chimiques, non toxique, non irritant;
- Capacité à protéger le revêtement d'une fracture lors de la compression. Son film mince présente une bonne souplesse et résistance mécanique dans une large gamme de température (20) ;
- Non gonflable et insoluble dans l'eau mais soluble dans de nombreux solvants organiques tels que le dichloromethane, ainsi la compacité et la porosité d'EC joue un rôle clé dans la libération du médicament à partir de tels matériaux hydrophobes (21) .

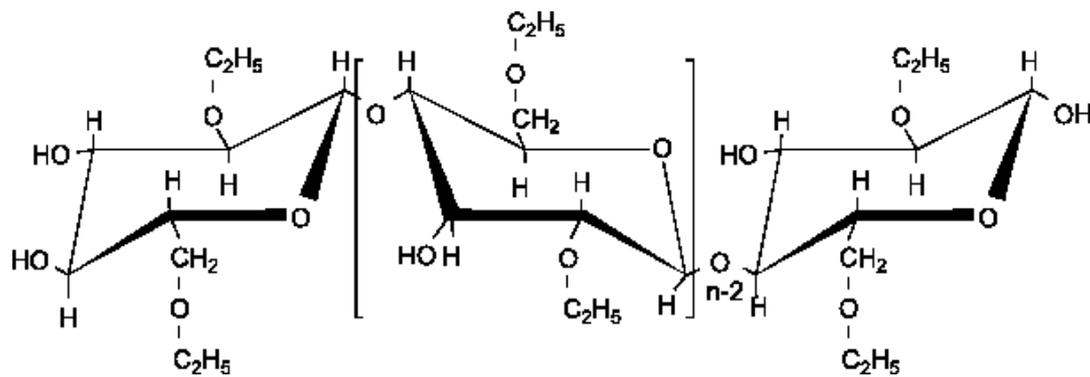


Figure 4 : Structure chimique d'ethylcellulose.

b. Hydroxy propyl méthyl cellulose :

C'est un dérivé de la cellulose aussi connu comme hypromellose (HPMC), chimiquement présentées sous forme : $[\text{C}_6\text{H}_7\text{O}_2(\text{OH})_x(\text{OCH}_3)_y(\text{OCH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3)_z]_n$ avec $x + y + z = 3$ et une masse moléculaire de 30000 g/mole , en raison de sa forte capacité de gonflement et les propriétés de gélification thermique, l'HPMC jusqu'à présent, été le matériau de support le plus important pour les systèmes de libération de médicament en raison de ses nombreuses propriétés telles que (22,23) :

- Poudre blanche ou blanc cassée, inodore et sans saveur,
- Un point de fusion 260 °C,
- Stable contre la lumière, la chaleur, l'oxygène et l'humidité, non toxique, non irritant,
- Capacité d'épaississement, rétention d'eau, bonne filmogène, dispersant,
- Insoluble dans l'éther éthylique et l'acétone. Il est gonflé dans l'eau froide pour former un transparent ou une légère solution trouble. HPMC peut être dissous dans certains solvants organiques tel que l'éthanol, l'alcool propylique, le chlorure d'éthylène et également dans des mélanges de solvants eau-solvant organique (24).

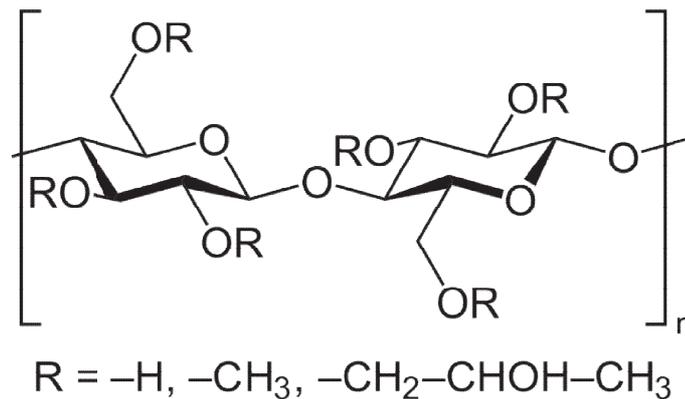


Figure 5 : Structure chimique d' Hydroxypropylméthylcellulose.

I-3.Rappel sur les antibiotiques :

Les antibiotiques sont définis comme toute substance chimique produite par un micro-organisme, champignon ou bactérie ou obtenue par synthèse ou par héli-synthèse agissant spécifiquement sur une étape essentielle du métabolisme des bactéries (57). Ils présentent un mode d'action commun, mais se distinguent par le spectre, la sensibilité aux mécanismes de résistance, la pharmacocinétique ou la tolérance.

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

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

La stabilité des antibiotiques dépend de leur état physique (les pénicillines et les tétracyclines sont plus stables à l'état solide qu'en solution), du pH de la solution, de la température, de la présence des réactifs, du temps de stockage et de leur durée d'action (58).

L'ampicilline:

L'ampicilline est un antibiotique semi-synthétique de la famille des β -lactamines, il est largement utilisé en médecine, en vétérinaire et en agriculture, pour le traitement des infections bactériennes (59,60).

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

Son action est attribuable à l'inhibition de la biosynthèse du mucopeptide de la paroi bactérienne pendant la phase de multiplication active. Son absorption après administration par voie orale est aussi bonne (61).

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

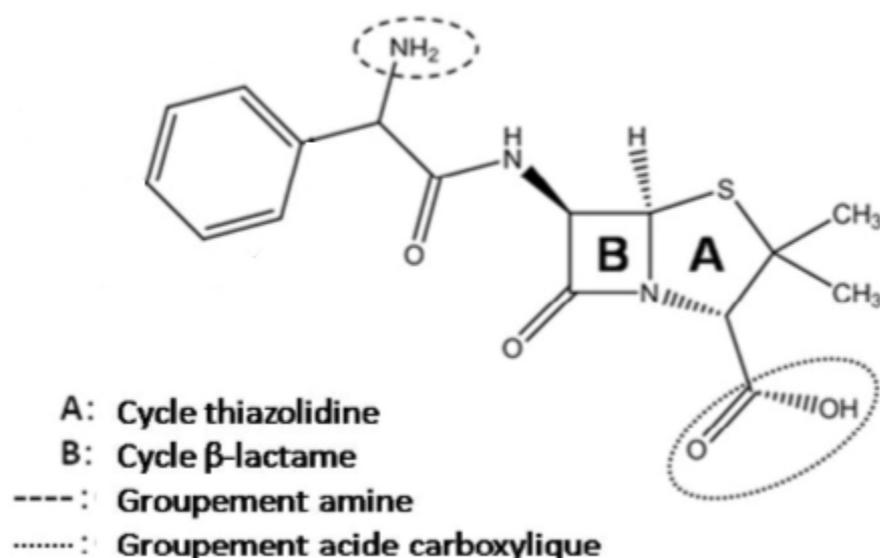


Figure 6: Structure semi-développée de l'ampicilline.

I.4. Rappel bibliographiques sur la libération des principes actifs :

I.4.1. Rappels théoriques sur la cinétiques de libération du principe actif :

Si nous considérons les interactions matière active/milieu extérieur, deux types de microparticules peuvent être distingués :

- Celles qui ne doivent pas libérer leurs contenus tels que les microréacteurs contenant des enzymes ou des bactéries (62),
- Celles qui libèrent la matière active (63,64).

Il faut alors faire la distinction entre les systèmes à libération déclenchée et les systèmes à libération prolongée (figure7). Les systèmes à libération déclenchée sont généralement des microcapsules formées d'une membrane étanche qui vont libérer brutalement leur contenu par éclatement sous l'effet d'une pression (mécanique ou osmotique) ou par fusion sous l'effet de la température. Pour les systèmes à libération prolongée, il existe plusieurs mécanismes de libération (diffusion passive, dégradation / dissolution du matériau enrobant, échange d'ions..). La libération dépendra de la structure de ces systèmes (microcapsules ou microsphères) (63).

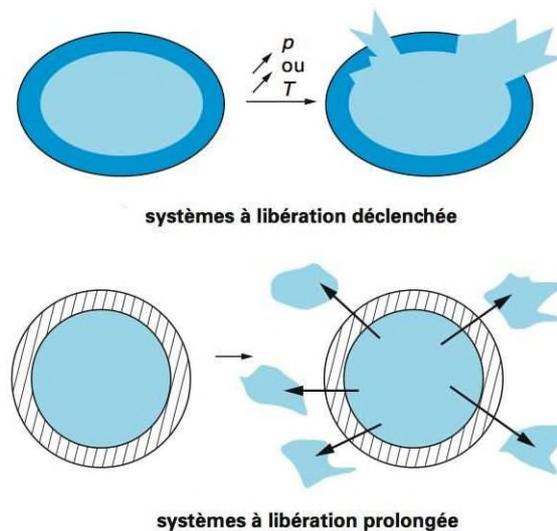
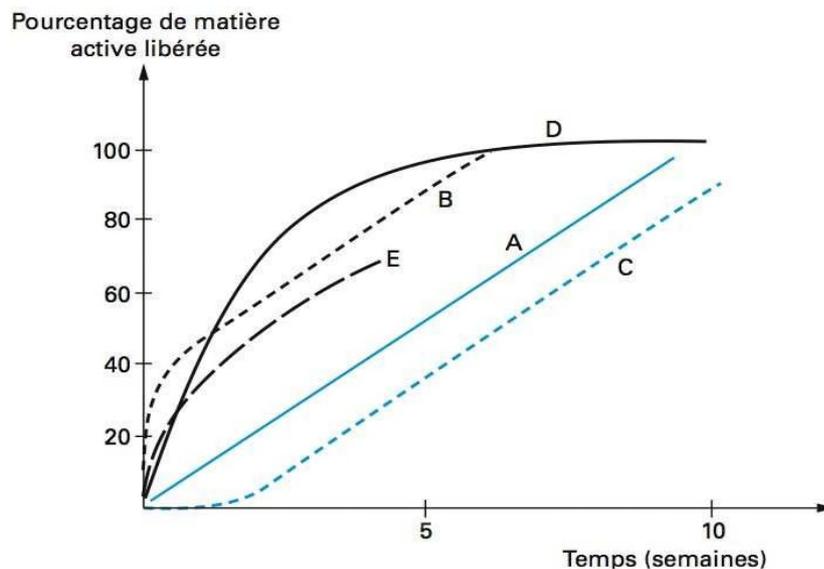


Figure7: Types de libération à partir des microparticules .

La Figure 8 illustre différents profils de libération par diffusion passive à travers le matériau enrobant. A partir de microcapsules, il est possible d'obtenir des cinétiques de libération d'ordre 0 ou d'ordre 1 (profil A et D), en fonction de la solubilité dans l'eau de la matière active. Les cinétiques d'ordre 0 peuvent être modifiées dans leur phase initiale : soit la vitesse de libération est exagérément marquée (*burst effect*) en raison de la présence d'un excès de matière active dans la membrane (profil B), soit un temps de latence précède la libération, temps nécessaire par exemple pour que le principe actif diffuse à travers la membrane, avant d'atteindre le milieu extérieur (profil C).



A et D: cinétique de microcapsule.

B : microcapsule présentant un effet de burst.

C: microcapsule présentant un temps de latence.

E: cinétique de microsphere

Figure8: Profils de libération par diffusion passive de différents types de microparticules .

A partir de microsphères, le phénomène de diffusion de la molécule active à travers une matrice sera décrit par une cinétique obéissant à la loi d'Higuchi (profil E). Dans sa forme simplifiée, cette loi montre que la quantité libérée de matière active est directement proportionnelle à la racine carrée du temps. Comme nous l'avons vu auparavant, il existe deux principaux types de libération, la libération contrôlée et la libération déclenchée. Dans ce qui suit, nous allons étudier la libération contrôlée.

Le but de la libération contrôlée est de délivrer une ou plusieurs molécules à une vitesse spécifiée, pendant une durée donnée. Cette libération peut être massive et rapide (échelle de temps de l'ordre de la seconde) ou très progressive (semaines, mois). Ce mode de libération est utilisé dans un certain nombre d'applications notamment dans les parfums, désodorisants, arômes, produits pharmaceutiques, pesticides, lessives, soin de la peau... Les cinétiques de libération sont de trois types: cinétique d'ordre 0 (c'est la cinétique objectif), cinétique en $t^{1/2}$ (processus diffusionnel) ou cinétique d'ordre 1 (solubilisation) (63).

D'après K.L. Smith & S.M. Herbig et R.W. Baker & H.K. Lonsdale, les principaux facteurs d'influence sur la cinétique de libération du principe actif sont les suivants(63,64) :

- Caractéristiques intrinsèques de la membrane polymère (taille et épaisseur, structure chimique, propriétés mécaniques, porosité et cristallinité).
- Caractéristiques externes et du milieu extérieur (pH, humidité et température).
- Caractéristiques intrinsèques de la phase interne (pression de vapeur, paramètres de solubilité, température de fusion et d'évaporation).

Une façon de classer les systèmes de libération contrôlée est d'utiliser le mode de libération. Nous distinguons ainsi les systèmes avec dégradation de la matrice (par érosion, biodégradation), les systèmes régulés par des stimuli (champs magnétiques ou électriques, ultrasons, température, pH. . .), et finalement les systèmes basés sur les processus purement diffusionnels : ce sont les systèmes réservoirs, les systèmes matriciels, les systèmes osmotiques et les systèmes contrôlés par le gonflement de la matrice. Seuls les deux premiers cas seront détaillés par la suite.

a) Systèmes réservoirs (microcapsules):

Comme nous l'avons présenté précédemment, une microcapsule est constituée d'une phase interne contenant la substance à libérer en solution entourée d'une peau dense de polymère. La membrane qui va contrôler la vitesse de libération peut aussi bien être une membrane dense qu'une membrane microporeuse. Le principe actif va alors diffuser au travers de cette membrane dans l'environnement où il sera utilisé. Il est nécessaire de maintenir les conditions constantes aux interfaces ainsi que l'intégrité du film.

b) Systèmes matriciels (microsphères) :

Trois types de systèmes matriciels peuvent être identifiés (**figure9**) :

- Les systèmes matriciels avec agent actif dissous,
- Les systèmes matriciels avec une faible charge d'agent actif dispersé,
- Les systèmes matriciels avec une forte charge d'agent actif dispersé.

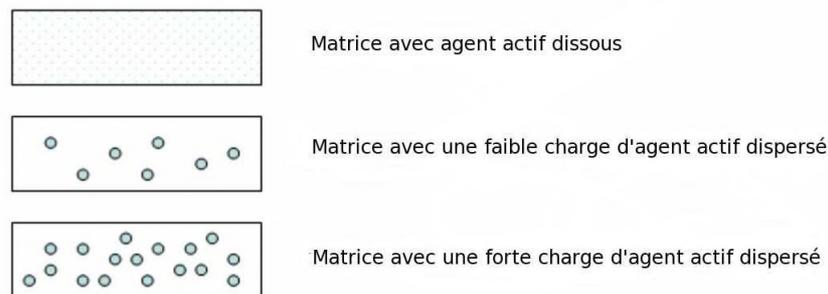


Figure 9 : Modélisation des trois systèmes matriciels.

Dans le cas des systèmes matriciels, l'eau peut intervenir comme une aide à la libération du principe actif. En effet, l'eau peut permettre le gonflement de la matrice de polymère et le principe actif pourra être libéré de façon beaucoup plus rapide que dans le cas de matrice non gonflée.

Par contre, la cinétique de libération est décroissante au cours du temps, car le chemin diffusionnel augmente pour le principe actif. La cinétique, pour un système matriciel, dépend moins de la dégradation structurelle de la microsphère comparativement à la microcapsule.

I.4.2. Les modèles mathématiques utilisés pour décrire la libération du principe actif :

Les résultats obtenus dans les essais de dissolution de formes galéniques sont souvent représentés sous forme de courbes où le taux de principe actif dissous ou libéré (%) est exprimé en fonction du temps (t). L'application des modèles mathématiques facilite l'interprétation quantitative de ces résultats et la compréhension des mécanismes de libération

du PA à partir de la forme pharmaceutique. Il existe plusieurs modèles théoriques et empiriques décrivant le profil de dissolution. Dans la plupart des cas, le processus de dissolution du PA est la résultante de plusieurs phénomènes (e.g. diffusion, érosion). Les principaux modèles mathématiques sont résumés dans le Tableau 2 et présentés ci-après.

Le modèle mathématique	Equation
Ordre n=0	$m_t = k t$
Ordre n= 1	$\text{Ln} [(m_i^0 - m_t) / m_i^0] = k t$
Ordre n=2	$1 / (m_i^0 - m_t) - 1 / m_i^0 = k t$
Hixson-Crowell	$m_0^{1/3} - m_t^{1/3} = k t$
Korsmeyer-Peppas	$m_t / m_\infty = k_k t^n$
Higuchi	$Q_t = k_H t^{1/2}$

Tableau 2: Exemples de modèles mathématiques pour décrire les profils de dissolution(65).

Où :

m_t : masse de médicament libéré à l’instant t.

m_i : masse initiale de médicament dans la forme galénique.

Q_t : quantité de médicament libéré au temps (t) (pourcentage %, ou masse).

K_H : constante de libération d’Higuchi.

K_k : constante de libération de Korsmeyer.

En ce qui concerne les modèles théoriques, quatre exemples sont présentés ici :

✓ **Ordre 0 :**

L'ordre zéro représente une vitesse de dissolution constante dans le temps. Le phénomène est rencontré pour de nombreuses formes à libération prolongée. Ce modèle est souvent adapté pour des formes transdermiques ou osmotiques, des systèmes matriciels avec un PA peu soluble. Elle représente une cinétique idéale pour atteindre une action thérapeutique prolongée et sans fluctuation dans le temps.

$$dm_t / dt = k (m_i^0 - m_t) \quad n=0 = k$$

$$dm_t = k dt$$

$$\int dm_t = k \int dt$$

$$m_t = k t + C$$

a t=0 : $m_t=0 \Rightarrow C=0$ donc l'équation d'ordre 0 sera :

$$m_t = kt \quad [1]$$

✓ **Ordre 1 :**

La fraction de dissolution est fonction du logarithme du temps, la vitesse de dissolution diminue en fonction du temps. Ce modèle est généralement observé avec une matrice poreuse pour un PA soluble dans l'eau.

$$dm_t / dt = k (m_i^0 - m_t) \quad n=1$$

$$dm_t / (m_i^0 - m_t) = k dt$$

On pose : $U = (m_i^0 - m_t)$; $dU = -dm_t \Rightarrow dm_t = -dU$

$$\Rightarrow -\int dU / U = k \int dt$$

$$\Rightarrow -\ln U = kt + C$$

$$\ln U = -kt + C'$$

$$\ln (m_i^0 - m_t) = -k t + C'$$

$$a \ t=0 : m_i^0 = 0 \Rightarrow \quad \text{Ln } m_i^0 = - 0 + C'$$

$$\text{Ln } (m_i^0 - m_t) = -kt + \text{Ln } m_i^0 \Rightarrow \text{Ln } (m_i^0 - m_t) - \text{Ln } m_i^0 = - kt$$

L'équation d'ordre 1 sera

$$\text{Ln } [(m_i^0 - m_t) / m_i^0] = kt \quad [2]$$

On obtient une droite pour l'ordre n=1

✓ **Ordre 2 :**

$$dm_t / dt = k (m_i^0 - m_t)^{n=2}$$

$$dm_t / (m_i^0 - m_t)^2 = k dt$$

On pose :

$$U = m_i^0 - m_t$$

$$dU = - dm_t \quad \Rightarrow \quad dm_t = - dU$$

$$\Rightarrow -dU / U^2 = k dt$$

$$\Rightarrow - \int U^{-2} . d U = kt + cte.$$

$$\Rightarrow - (U^{-2+1} / -2+1) = U^{-1} / -1 = 1/U = kt + cte.$$

$$\Rightarrow 1/(m_i^0 - m_t) = kt + cte$$

$$a \ t=0 : m_t=0 \quad 1 / m_i^0 = -0 + cte \Rightarrow cte = 1/m_i^0$$

$$\Rightarrow 1/ (m_i^0 - m_t) = kt + 1/m_i^0$$

L'équation d'ordre 2 sera :

$$1/ (m_i^0 - m_t) - 1 / m_i^0 = kt \quad [3]$$

On obtient une droite pour l'ordre n=2

✓ **Higuchi (66) :**

Le modèle est connu comme un modèle de diffusion. La dissolution suit la loi de Fick. La fraction de libération du PA évolue linéairement en fonction de la racine carrée du temps, ce phénomène est souvent rencontré pour les formes semi-solides et les matrices avec un PA soluble.

I.4.3. Traitement mathématique du modèle de Fick :

Dans la modélisation de la libération contrôlée de diffusion la loi de diffusion de Fick (67) est utilisée avec des coefficients de diffusion variables ou constants. La première loi de diffusion de Fick [10] est utilisée dans la modélisation mathématique de la diffusion des systèmes de type réservoir (diffusion stationnaire).

$$J = \frac{1}{S} \cdot \frac{\Delta Q}{\Delta t} = - D \cdot \frac{\partial C}{\partial X} \quad [4]$$

Où :

J : Le flux de matière en $\text{gr.cm}^2.\text{sec}^{-1}$.

S : L'aire (cm^2) d'une petite surface plane, traversée par un courant de matière diffusante.

X : L'abscisse (en cm) sur un axe perpendiculaire à la surface considérée.

ΔQ : La quantité de matière (en gr) ayant traversée cette surface durant un intervalle de temps Δt (en sec).

C : Concentration de la matière diffusante (en gr/cm^3).

D : Coefficient de diffusion (en $\text{cm}^2.\text{sec}^{-1}$).

D est indépendant de la concentration, c'est une constante caractéristique de la manière diffusante à une température donnée.

La libération des médicaments des systèmes diffusionnels de type matrice se soumet à la seconde loi de diffusion de Fick (diffusion non stationnaire) [11] :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left(D \frac{\partial c}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left(D \frac{\partial c}{\partial y} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(D \frac{\partial c}{\partial z} \right) \quad [5]$$

Si la forme galénique est une sphère, le flux est du type radial et l'équation [11] devient :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(D \cdot r^2 \frac{\partial c}{\partial r} \right) \quad [6]$$

Où :

r est la distance au centre de la sphère.

I.4.4.Coefficient de diffusion "D" :

Les solutions analytiques définies par Crank pour la résolution des équations de Fick dans le cas où **D** est constant se basent sur les hypothèses suivantes :

- Un coefficient de diffusion constant.
- Une concentration uniforme dans la sphère au temps $t=0$.
- Une concentration d'équilibre atteinte dès l'instant initial à la surface de la sphère.
- Un transfert radial.

Si C_1 est la concentration initiale de la sphère et C_0 la concentration d'équilibre, la concentration **C** en un point d'abscisse radiale "**r**" est déterminée par la série suivante :

$$\frac{C - C_1}{C_0 - C_1} = 1 + \frac{2R}{\pi r} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n} \sin \frac{n\pi r}{R} \exp\left(-\frac{D \cdot n^2 \pi^2 t}{R^2}\right) \quad [7]$$

avec **R** : rayon de la sphère.

Quand l'abscisse radiale "**r**" tend vers **0**, la concentration au centre est donnée dans l'équation suivante :

$$\frac{C_c - C_1}{C_0 - C_1} = 1 + 2 \sum_{n=1}^{\infty} (-1)^n \exp\left(-\frac{D n^2 \pi^2 t}{R^2}\right) \quad [8]$$

On obtient la quantité de matière transférée au cours du temps en intégrant la fonction précédente [14] :

$$1 - \frac{m_t}{m_{\infty}} = \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} \exp\left(-\frac{D \cdot n^2 \pi^2 t}{R^2}\right) \quad [9]$$

Où :

- m_t : la masse transférée au cours du temps dans l'intervalle de temps "**0**" et "**t**".
- m_{∞} : la masse totale transférée à l'équilibre.

I.4.5. Calcul de la diffusivité :

Le coefficient de diffusion est déterminé à partir de la solution analytique donnée par Cranck (67), avec les mêmes hypothèses qu'auparavant :

❖ Détermination de D pour les temps courts :

Pour les temps courts d'une réaction étudiée, la détermination de **D** fait appel à la série suivante, applicable tout au long de la cinétique :

$$\frac{m_t}{m_\infty} = 6\sqrt{\frac{Dt}{R^2}} \left\{ \frac{1}{\sqrt{\pi}} + 2 \sum_{n=1}^{\infty} \operatorname{ierfc} \frac{nR}{\sqrt{Dt}} \right\} - \frac{3Dt}{R^2} \quad [10]$$

Lorsque « t » est petit, tous les termes de la série ainsi que le dernier terme du second membre peuvent être négligés devant le premier terme, ainsi l'erreur commise sur m_t ne dépasse pas 3%, tant que m_t/m_∞ ne dépasse pas les 10%.

Dans ce cas le coefficient de diffusion est donné par :

$$D = \left(\frac{m_t}{\sqrt{t}} \frac{R\sqrt{\pi}}{6m_\infty} \right)^2 \quad [11]$$

Ceci implique que :

$$\frac{m_t}{m_\infty} = \sqrt{\frac{36.D}{R^2.\pi}} \cdot \sqrt{t} \quad [12]$$

En portant $\frac{m_t}{m_\infty}$ en fonction de \sqrt{t} , on peut déduire facilement **D** :

$$D = \frac{\pi}{36} R^2 (\operatorname{tg} \alpha)^2 \quad [13]$$

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

CHAPITRE II

PARTIE EXPERIMENTALE

Ce second chapitre présente successivement deux parties l'une est consacrée sur la synthèse des microsphères à base d'Ethyle cellulose (EC) et l'Hydroxypropyl-méthylcellulose (HPMC), la synthèse des disques à base des microsphères et un mélange physique et leurs caractérisations.

L'autre porte sur l'étude cinétique de la libération contrôlée du principe actif.

II.1. Formulation et caractérisations des formes galéniques :

II.1.1. Les produits chimiques :

- Ethyl-cellulose et Hydroxypropylméthylcellulose sont obtenus à partir de fluka Analytical (produit USA).
- Ampicilline qui provient de Sigma (St. Louis, MO, USA).
- Diclorométhane est obtenue de Biochem Chemopharma (UK).
- Tween 20 (polyéthylène Glycol sorbitan monooleate) est obtenu de Sigma-Aldrich (USA).
- Borax qui provient du Panreac (Barcelone-Espagne).
- HCl (37%) est un produit de Stinnes Chemicals.
- NaCl origine Acros Organics.

II.1.2. Matériels :

- **Protocoles opératoires :**

Une étude d'émulsification avec un système phase aqueuse/ phase organique (eau + tensioactif / Polymère, AMP+DCM) à été effectuée dans un réacteur spécifique avec une tige de 4 pales l'agitateur et la pale sont présentés sur la figure (10). Les détails techniques concernant le montage utilisé sont fournis dans le tableau 3.

Le réacteur est mis dans un bain d'eau accroché à un support, lors de chaque expérience, la température de l'eau est fixée à 37°C. Par ailleurs, la turbine est placée au tiers de la hauteur du liquide, ce qui permet également d'être dans des conditions standards. Le moteur d'agitation est muni d'un régulateur de vitesse manuel, permettant de sélectionner la vitesse souhaitée.

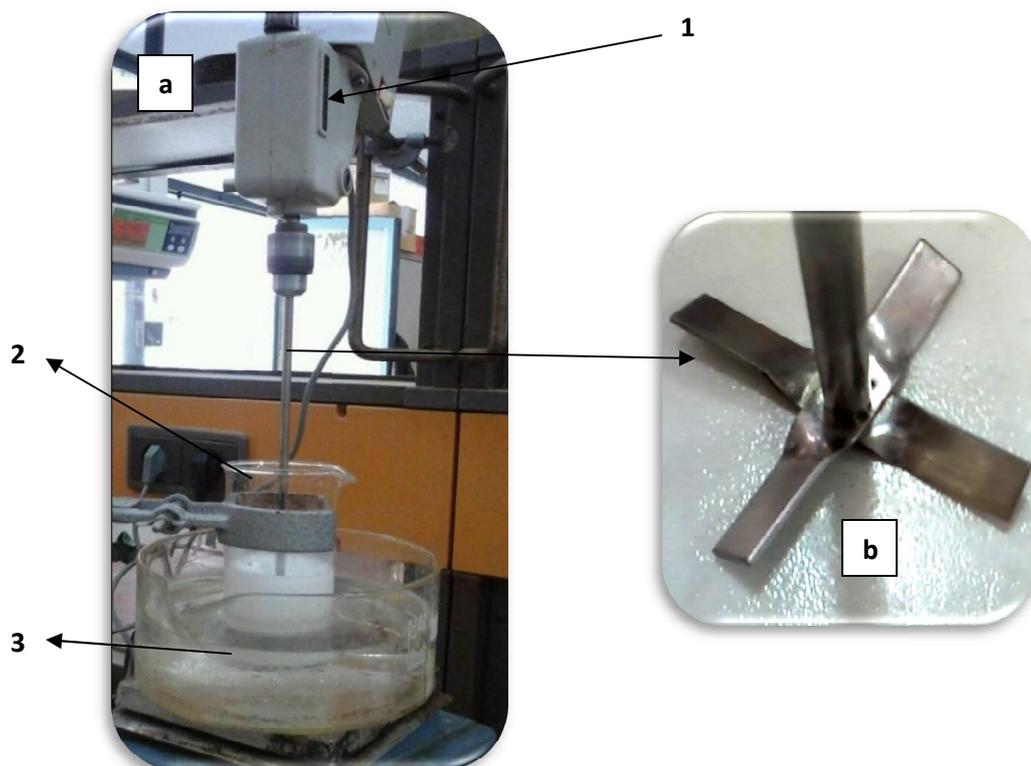


Figure 10 : (a) Montage utilisé pour la microencapsulation par évaporation de solvant :
 1. moteur d'agitation, 2. Réacteur cylindrique, 3. Bain d'eau à 37°C ;
 (b) : Turbine d'agitation.

Equipement	Détails techniques
Moteur d'agitation	Type : Heidolph RZP1 V = 0 – 2200 rpm
Réacteur cylindrique	Matériau : Verre V = 500mL D = 7.6 cm
Turbine d'agitation	Matériau : Inox 4 pales Longueur = 5 mm Largeur = 8mm

Tableau 3 : Les détails techniques concernant le montage utilisé pour la microencapsulation par évaporation de solvant.

II.1.3. Préparation des formes pharmaceutiques :

a) Formulation des microsphères :

La formulation des microsphères chargées d'ampicilline se déroule selon les étapes suivantes :

Une quantité (0,5g) de tween 20 (tensioactif) est dissoute dans 50mL d'eau distillée sous une agitation forte pendant quelques minutes. Cette solution aqueuse représente la phase continue de l'émulsion. En parallèle, la phase organique (dispersée) est préparée par dissolution de 1,2g de polymère matrice (EC ou HPMC) et 0,6g de principe actif (Ampicilline « AMP ») dans 50 mL de dichlorométhane (DCM) sous agitation.

La phase aqueuse est d'abord introduite dans le réacteur cylindrique. Puis on met en marche l'agitateur à une vitesse de 1600 rpm (retour par minute). La phase dispersée est ensuite ajoutée goutte à goutte.

Après une durée de 3 heures, le DCM est complètement évaporé. Les microsphères sont alors récupérées par filtration et lavées avec l'eau distillé trois fois. Les microsphères obtenues sont ensuite observées sous microscope optique (OPTIKA 4083.B1).

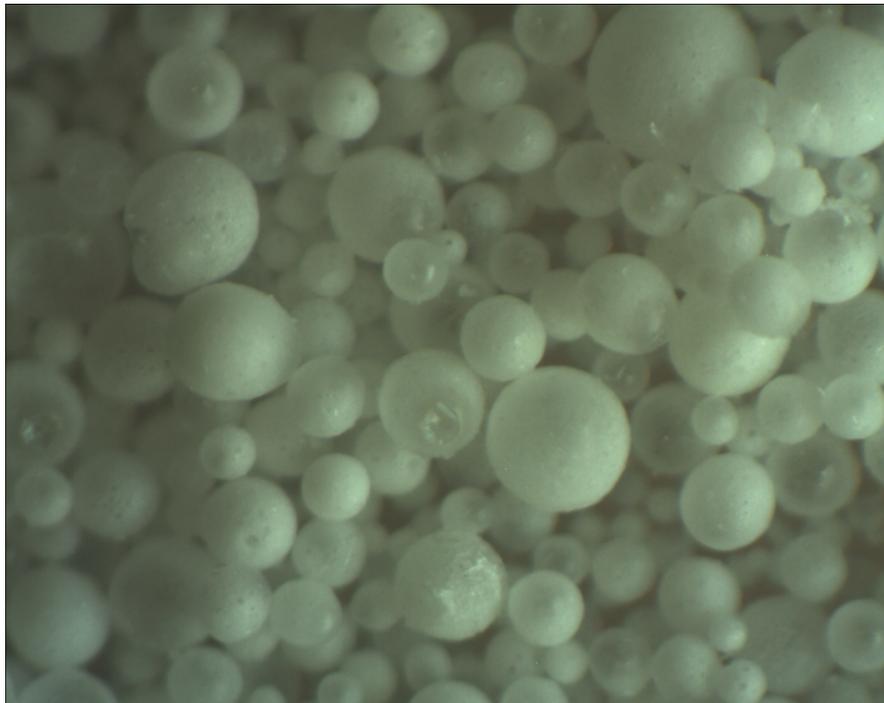


Figure 11 : Observation des microsphères 1 (a base d'EC) par microscope optique (X200).



Figure 12 : Observation des microsphères 2 (à base d'HPMC) par microscope optique (X200).

b) Formulations des disques :

• **Produits utilisés pour la préparation des disques :**

Ampicilline, Ethylcellulose (EC), Microsphères à base d'EC, Ethanol.

• **Préparation des disques :**

Deux disques de différentes compositions contenant l'ampicilline ont été formulés. Les disques ont été préparés manuellement, en utilisant 200 mg des microsphères à base d'EC pour le 1^{er} disque et 59 mg d'AMP dispersé dans 119 mg d'EC pour le second.

De l'Ethanol absolu est alors pulvérisé en quantité suffisante sur les deux mélanges intimement écrasé pour obtenir une masse finale de 200 mg par disque.

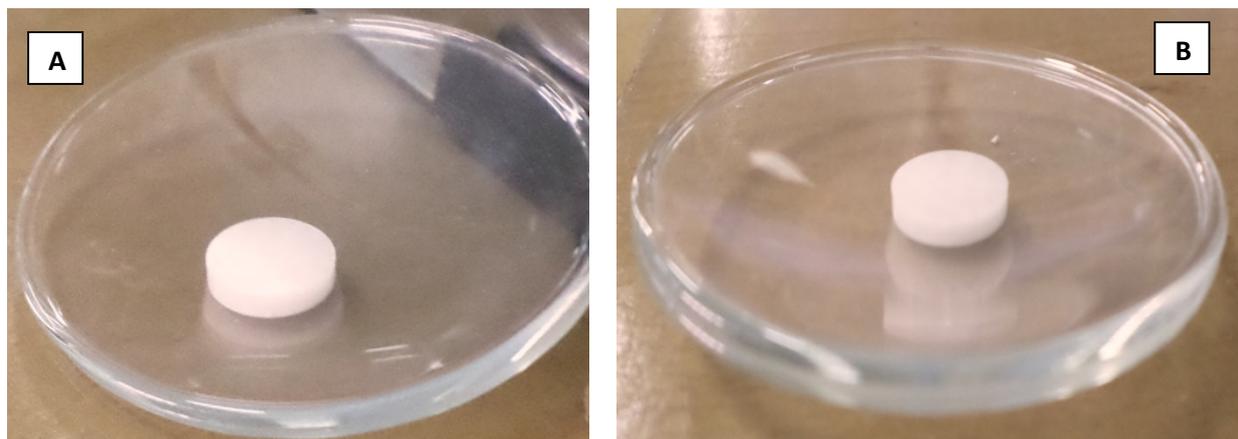


Figure 13 : Photos représentant les disques préparés (A : disque 1, B : disque 2).

II.1.4. Caractérisation des formes pharmaceutiques préparées :

a) Caractérisation des microsphères :

➤ Détermination de la quantité d'agent actif encapsulé :

La quantité de l'agent actif encapsulé dans les microsphères fabriquées a été déterminée par la technique d'extraction dans un solvant, la solution obtenue est analysée par spectrométrie UV-Vis afin de déterminer la concentration d'agent actif extrait des microsphères.

Le rendement (Rdt) de la microencapsulation est défini par le rapport de la quantité d'AMP déterminée par extraction sur la quantité introduite initialement pour l'encapsulation.

$$\text{Rdt}\% = (m_{AMP \text{ extrait}} / m_{AMP \text{ initiale}}) * 100 \quad [14]$$

Et la teneur en principe actif est calculée par :

$$\text{Teneur \%} = (m_{AMP \text{ extrait}} / m_{\mu\text{sphères}}) * 100 \quad [15]$$

On a effectué l'extraction d'ampicilline dans un pH =1,2. Ces microsphères de masse de 0,1 g sont broyées et plongées dans un volume de 100 mL dans un flacon bouché, agité pendant 24 heures à une température de 37°C. 1 mL de cette solution est prélevé alors

après filtration puis dilué dans le même milieu, et analysé à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis (JENWAY model UV.7305)

La quantité d'AMP déterminée par ce dosage représente alors la quantité réelle en principe actif encapsulé.

	<i>Rdt %</i>	<i>Teneur %</i>
Microsphère (1)	37%	20%
Microsphère (2)	32%	18%

Tableau 4 : Rdt % et Teneur % de la microencapsulation.

➤ **Distribution de taille :**

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

La taille des particules de forme sphérique est représentée par un diamètre moyen. La littérature fait apparaître plusieurs types de diamètres calculés de différentes manières selon les techniques utilisées. Dans ce travail et pour caractériser la taille des microparticules, on a utilisé trois diamètres moyens : en nombre, en surface et en masse. Ces diamètres sont calculés comme suit (68):

Si "*i*" est la classe des particules,

"*n_i*" nombre de particules de la classe *i*.

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

$$d_{10} = \frac{\sum n_i d_i}{\sum n_i} \quad [16]$$

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

$$d_{32} = \frac{\sum n_i d_i^3}{\sum n_i d_i^2} \quad [17]$$

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

$$d_{43} = \frac{\sum n_i d_i^4}{\sum n_i d_i^3} \quad [18]$$

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

$$\text{Dispersion} = \frac{d_{43}}{d_{10}} \quad [19]$$

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

La taille des microsphères est déterminée par microscope optique (OPTIKA 4083. B1).

Des échantillons contenant un nombre élevé de microsphères (500 pour microsphères 1, 200 pour microsphères 2) sont analysés. Chaque population est divisée en classes de diamètres d_i qui correspondent au centre de classe.

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

Les résultats des distributions sont donnés dans les tableaux 5 et 7

Classe (μ m)	Centre de classe di (μ m)	Effectif ni	ni*di	Fréquence en nombre %	ni*di ²	Fréquence en surface %	ni*di ³	Fréquence en masse%	ni*di ⁴
0 - 50	25	56	1400	2,578268877	35000	0,332225914	875000	0,041808517	21875000
50 - 150	100	215	21500	39,59484346	2150000	20,40816327	215000000	10,27294989	21500000000
150 - 250	200	157	31400	57,82688766	6280000	59,61082107	1256000000	60,01313982	2,512E+11
250 - 350	300	23	6900	12,70718232	2070000	19,64878975	621000000	29,67210177	1,863E+11
	Somme	451	54300	100	10535000	100	2092875000	100	4,59022E+11

Tableau 5 : Résultats granulométriques des microsphères (1)

d_{10}	d_{32}	d_{43}	Dispersion
120,39	198,65	219,32	1,82

Tableau 6 : Diamètres moyens (μm) des microsphères (1).

Ce résultat est tracé sous forme des courbes représentatives de distribution en taille des microsphères.

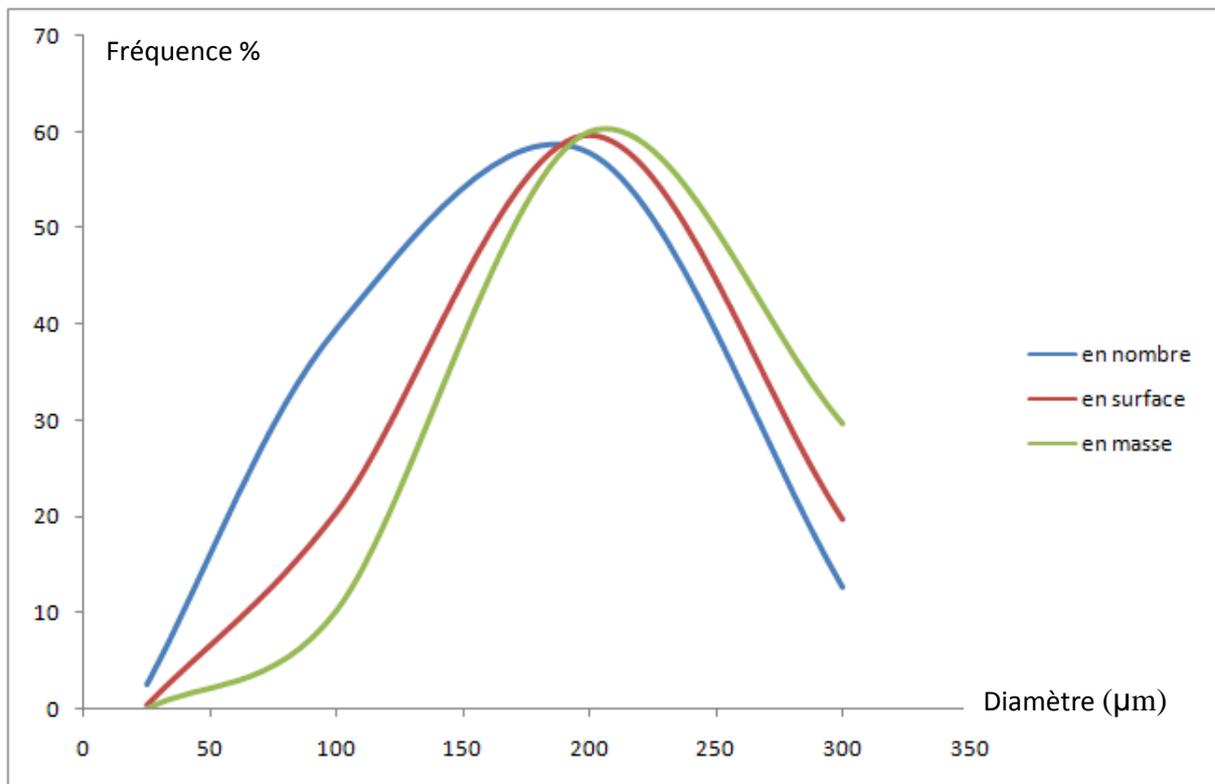


Figure 14 : Les courbes de distribution en taille des microsphères 1.

En vue de ces courbes, on peut déduire que le système est polydispersé car elles sont éloignées. Dans le cas contraire, on doit avoir une superposition de ces courbes.

Classe (μ m)	Centre de classe di (μ m)	Effectif ni	ni*di	Fréquence en nombre %	ni*di ²	Fréquence en surface %	ni*di ³	Fréquence en masse%	ni*di ⁴
50 - 150	100	29	2900	10,3202847	290000	3,956343793	29000000	1,369863014	2900000000
150 - 250	200	46	9200	32,74021352	1840000	25,10231924	368000000	17,38308928	73600000000
250 - 350	300	40	12000	42,70462633	3600000	49,11323329	1080000000	51,0155881	3,24E+11
350 - 450	400	10	4000	14,23487544	1600000	21,82810368	640000000	30,23145961	2,56E+11
	Somme	125	28100	100	7330000	100	2117000000	100	6,565E+11

Tableau 7 : résultats granulométriques des microsphères (2)

d_{10}	d_{32}	d_{43}	Dispersion
224.8	288.81	310.10	1.37

Tableau 8 : Diamètres moyens (μm) des microsphères (2)

De même ce résultat est tracé sous forme des courbes représentatives de distribution en taille des microsphères.

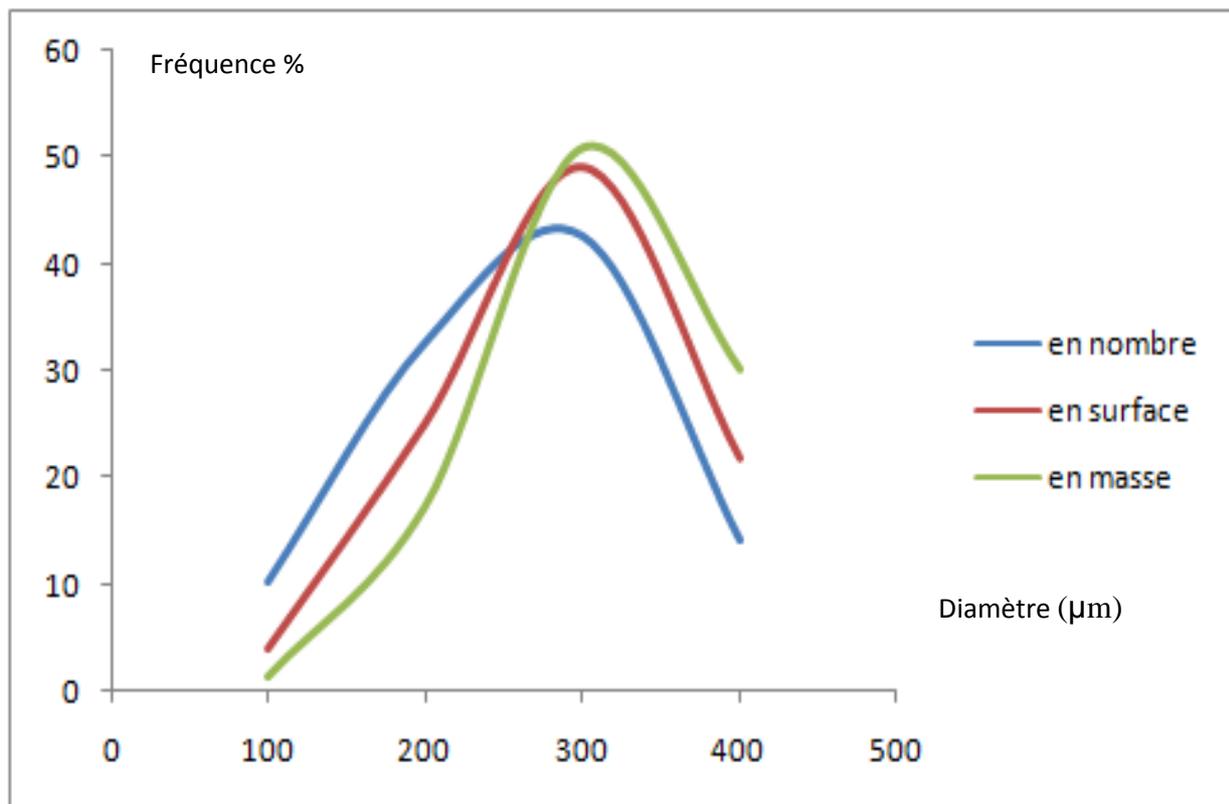


Figure 15 : Les courbes de distribution en taille des microsphères 2.

En vue de ces courbes, on peut déduire que le système est aussi polydispense car elles sont éloignées.

➤ Analyse thermique différentielle DSC :

L'analyse thermique différentielle permet de déterminer les températures de transition vitreuses (T_g), de cristallisation (T_c) et de fusion (T_f) pour chaque polymère synthétisé. Le principe de la mesure repose sur la différence de chaleur que l'on doit fournir à un échantillon donné par rapport à une référence inerte pour les amener à une même température. Dans notre étude, on a essayé de comparer des courbes DSC d'AMP pure, d'EC pure et des microsphères. Les courbes sont données dans les figures (16-18).

Les températures T_g de nos produits ont été déterminées sur un appareil DSC de type Sétaram à l'université de Rennes 1 (Service Pr J-F carpentier – UMR 6226 CNRS)

Les courbes DSC ont été déterminées sur les courbes de chauffage et de refroidissement entre 30 et 310°C sur des échantillons 5 à 10 mg. Les vitesses utilisées ont été de +10°C pour le chauffage et de -20°C pour le refroidissement.

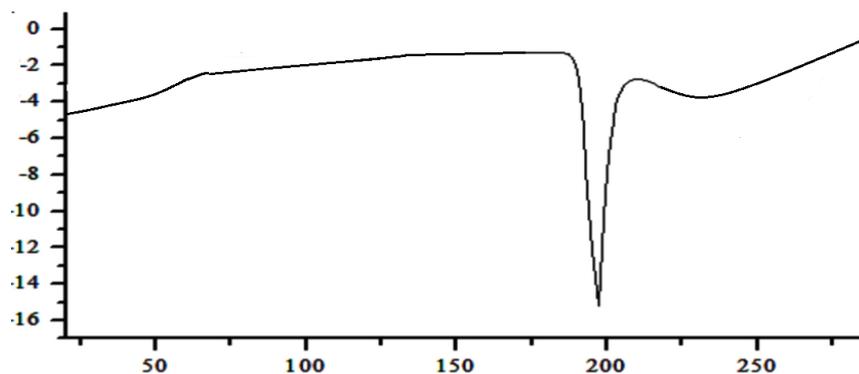


Figure 16: DSC d'Ampicilline.

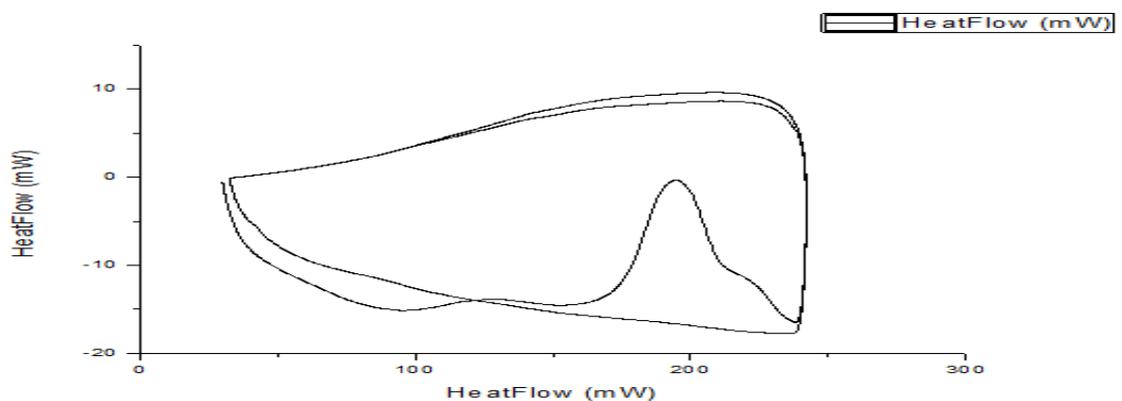


Figure 17 : DSC d'Ethylcellulose.

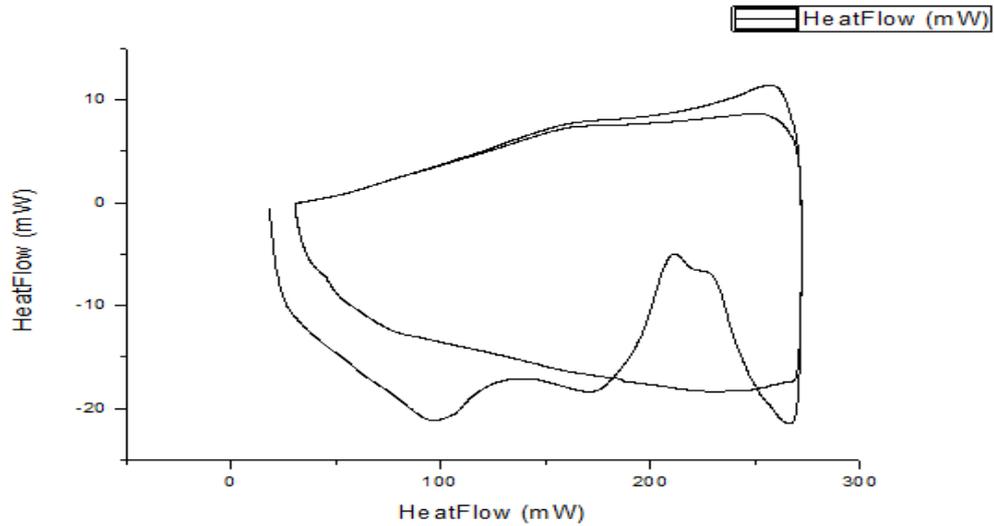


Figure 18 : DSC des microsphères 1.

Sur la courbe DSC des microsphères, on note la présence de pic de la température de fusion de l’Ampicilline qui est un peut décaler de 198°C vers 179°C, cela explique que la cristallinité de l’AMP, diminue en présence de l’EC.

On note aussi la présence de température de transition vitreuse d’EC qui apparaît vers 98°C, et la Tc qui est un peu décalé .La forme de ce pic est approximativement changé du à la présence d’une quantité d’AMP dans la partie cristalline d’EC.

Ces résultats permettent de confirmer la présence du mélange polymère – principe actif dans les microsphères.

➤ **Diffraction des rayons X (DRX) :**

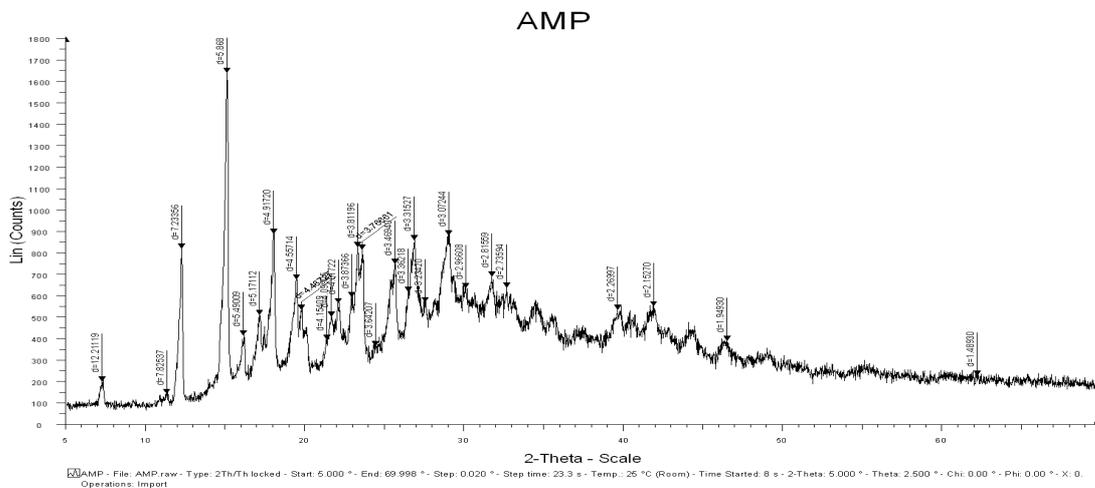


Figure 19 : spectre DRX de l’ampicilline pure.

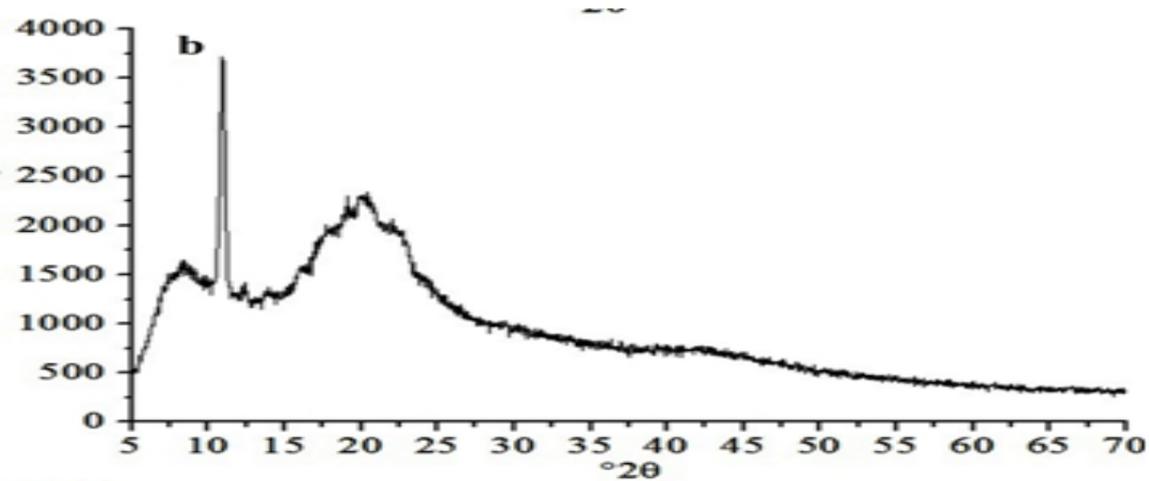


Figure 20: Spectre DRX de l'ethylcellulose pure.

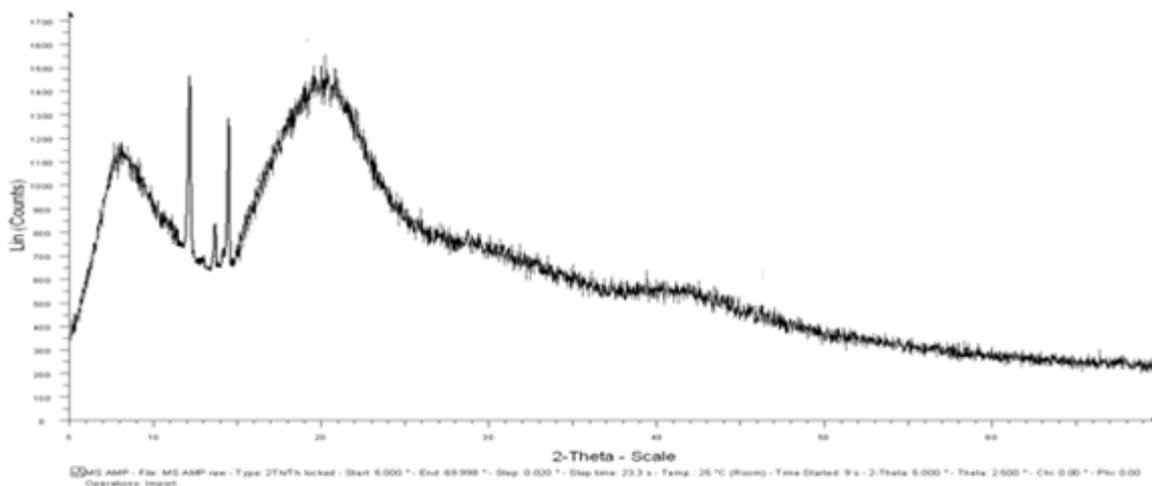


Figure21: Spectre DRX des microsphères d'ethylcellulose

Dans notre étude, on a réalisé les diffractogrammes DRX de l'agent actif, d'EC et des microsphères.

Sur le diffractogramme de l'ampicilline, on confirme clairement sa cristallinité par les pics caractéristiques DRX qui sont bien définis entre 2θ de 3°C à 40°C .

Les pics des microsphères sont moins intenses que celles de l'ampicilline pure. Par contre, les microsphères chargées d'AMP.

La présence des rayons α qui sont plus faible dans les microsphères indique que l'AMP se présente dans la partie cristalline de la matrice polymérique et la présence d'EC réduit la cristallinité d'AMP.

➤ **Spectrophotomètre infrarouge à transformé de Fourier :**

Nous avons utilisé un spectrophotomètre infrarouge à transformé de Fourier type 8300 Shimadzu (Université Oran) pour caractériser les microparticules préparées, l'analyse par spectroscopie FTIR a été effectuée sur des pastilles obtenues en ajoutant quelques mg de la substance à analyser dans le KBr. Le spectre FTIR de chaque échantillon est enregistré à la température ambiante dans la plage de 400-4000 cm^{-1} .

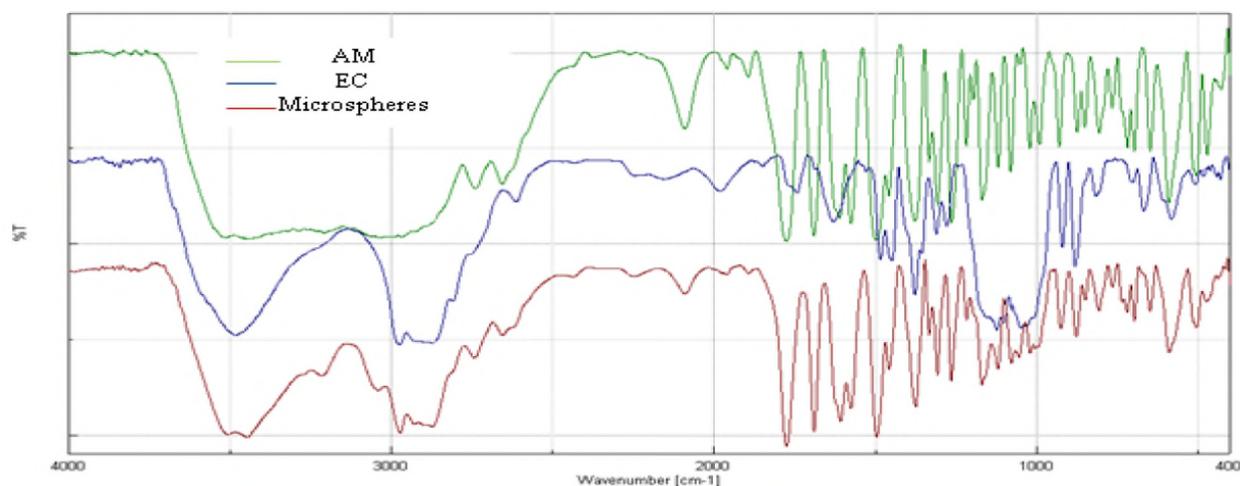


Figure 22 : Superposition des spectres IR d'ampicilline, de l'ethylcellulose et des microsphères 1.

Le spectre IR des microparticules établies a été superposé et comparé aux spectres du polymère matrice utilisé et de l'agent actif (AMP). Les résultats montrent que le spectre des microsphères n'est que la somme des deux spectres FTIR d'ampicilline et d'ethylcellulose. Les principales bandes d'absorption d'AMP qui apparaissent nettement dans le spectre des microsphères sont :

- La bande 1375 cm^{-1} correspond à la liaison N – C aromatique,
- La bande 1610 cm^{-1} correspond à la liaison C = C aromatique,
- Les bandes 1775 cm^{-1} et 3208 cm^{-1} correspondent aux liaisons C = O et O – H de l'acide carboxylique.
- La bande 2090 cm^{-1} correspond à la liaison S – C , 3450 cm^{-1} et 3500 cm^{-1} correspondent à la fonction amine .

- Microscopie électronique à balayage (MEB) :

La microscopie électronique à balayage a été employée pour déterminer la morphologie et la taille des microparticules. Ces derniers ont été analysés par MEB Quanta 200 (FEI, France) au centre d'Imagine à l'université de Bordeaux 1.

Un échantillon est caractérisé après la libération de l'ampicilline dans le milieu physiologique pH=1,2 à T°=37°C.

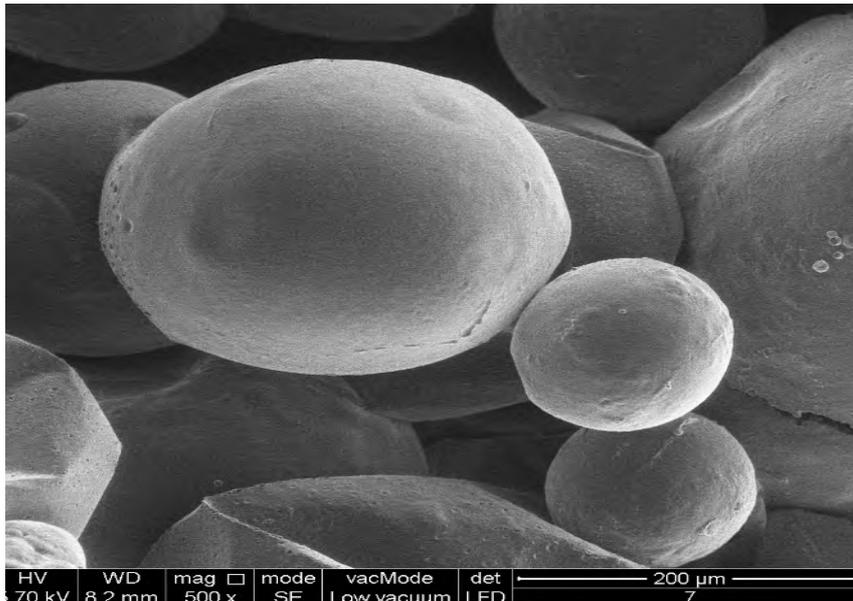


Figure 23: Photo MEB des Microsphères 1.

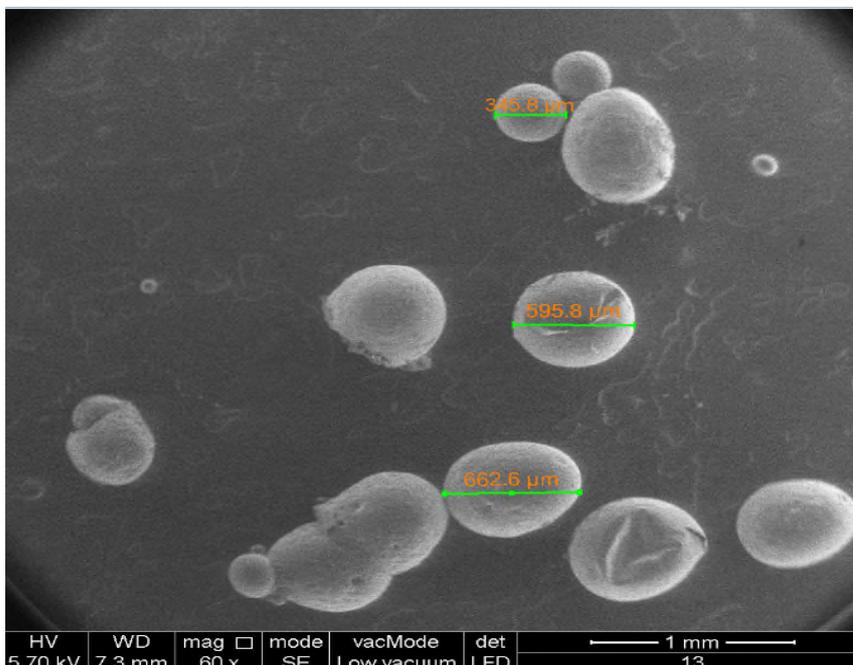


Figure 24: Photo MEB des Microsphères 2.

L'analyse MEB des microparticules a été réalisée, et il nous a indiqué que les microsphères préparées avec l'ethylcellulose (figure 23) ont une forme bien sphérique une surface lisse avec peu de pores, alors que les microsphères préparées avec l'HPMC (figure 24) ne sont pas sphériques avec une surface aussi lisse et contiennent peu de pores.

Les microsphères caractérisées par MEB après libération ont été récupérées du milieu (pH=1,2) par filtration puis séchées à l'étuve (T=40°C) pendant 1 heures pour éliminer toutes traces de liquide trouvés sur la surface ou dans les pores des microsphères

L'analyse MEB de microsphères1 après libération en milieu acide (T=37 °C) montre que la totalité des microsphères devienne non sphériques avec des trous très large. Elles sont devenues comme une grille. L'image prise par MEB montre que les microparticules préparées par évaporation de solvant sont de type matriciel, car ce qui est présent sur la photo MEB après libération représente la matrice polymérique non soluble dans le milieu d'étude et les trous représentent l'emplacement de principe actif qui quitte la microsphère après la pénétration de l'eau à l'intérieur de particule et sa solubilité.

On remarque aussi que les formes des microparticules après libération sont différentes les uns par rapport aux autres en volume totale, volume de pores, taille de solide restant. Ce résultat est expliqué par l'hétérogénéité de la composition "éthylcellulose- principe actif" d'une microsphère à une autre.

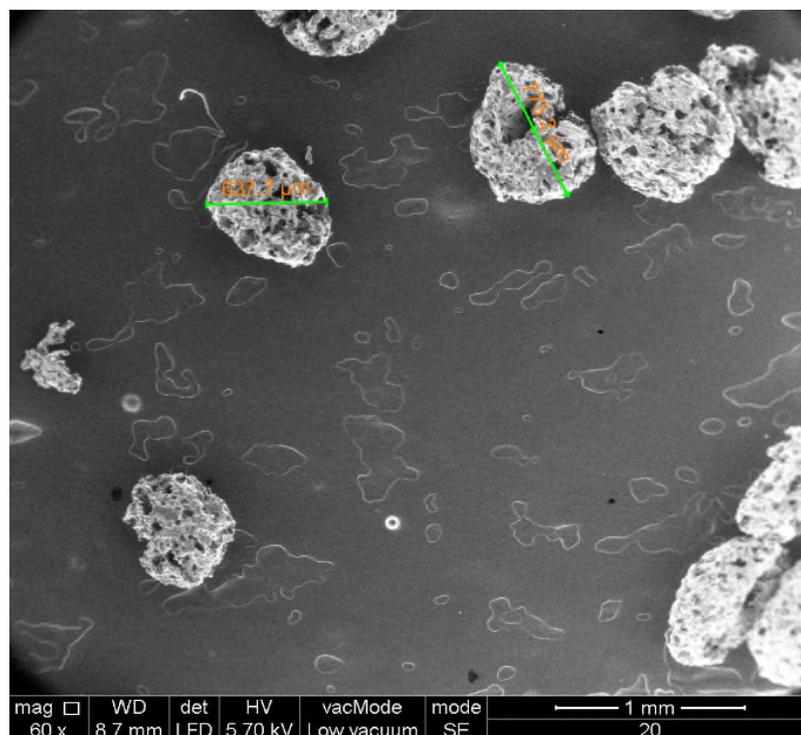


Figure 25: Photo MEB des Microsphères 1 après libération d'AMP (pH=1,2 à T°=37°C).

b) Caractérisation des disques :

Les disques qui se caractérisent par la mesure de leurs poids seront séchés pendant un temps suffisamment nécessaire jusqu'à l'évaporation totale de l'Ethanol.

Les disques seront pesés continuellement et séparément jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Les résultats sont classés dans *le tableau 9*.

	Composition	Masse théorique du Disque (g)	Masse théorique d'ampicilline (g)	Masse théorique d'EC (g)	Masse expérimentale du disque (g)	Masse expérimentale approximative d'AMP (g)	Masse expérimentale approximative d'EC (g)	d(cm)	h(mm)
Disque 1	Microsphères d'EC	0,2	0,066	0,133	0,165	0,055	0,109	0,9	2
Disque 2	AMP + EC	0,2	0,066	0,133	0,179	0,059	0,119	0,9	2

Tableau 9: Compositions et tailles des disques préparés.

**Etude de la cinétique de la libération
à partir des microsphères
et les disques obtenus**

II.2. Etude de la cinétique de la libération à partir des microsphères et les disques obtenus :

Dans cette partie, On a étudié la libération d'AMP à partir des formes pharmaceutiques préparés (Disques et microsphères) pour but de comparer l'effet retard pour chaque échantillon et étudier l'influence des paramètres modifiés (polymère, forme, pH) sur le pourcentage de libération. Pour cela, on a préparé deux milieux d'étude pour réaliser nos cinétiques d'une solution.

II.2.1. Préparation des milieux d'étude :

On a choisi deux milieux physiologiques reconstitués de pH=1,2 (gastrique) et pH=7,7 (intestinal), ces milieux sont préparés comme suit :

✓ Préparation du milieu gastrique pH=1,2 :

80mL de la solution d'acide chlorhydrique à 1N sont ajoutés à une masse de 2g de NaCl. Ensuite on complète avec de l'eau jusqu'à 1L, finalement, on ajuste le pH à l'aide d'un pH-mètre jusqu'à la valeur 1,2.

✓ Préparation du milieu intestinal pH=7,7 :

500mL de la solution de Borax à 0,025N sont mélangés avec 20mL de la solution d'acide chlorhydrique à 0,1N, puis on ajoute de l'eau distillée jusqu'à 1000mL. On ajuste le pH à l'aide d'un pH-mètre jusqu'à la valeur 7,7.

II.2.2. Détermination de la valeur λ_{\max} dans les deux pH :

Les valeurs des longueurs d'ondes sont déterminées en faisant les spectres U.V (10^{-3} mole/ L) d'ampicilline dans les deux pH. Les spectres de principe actif ont été réalisés sur un appareil JENWAY 7305, Spectrophotomètre au laboratoire de chimie de la Faculté des Sciences de la Matière à l'Université Ibn-Khaldoun, Tiaret Les longueurs d'ondes sont exprimées en nm.

On donne ci-dessous les courbes spectrales d'absorption de la solution d'AMP dans les milieux de pH=1,2 et pH=7,7

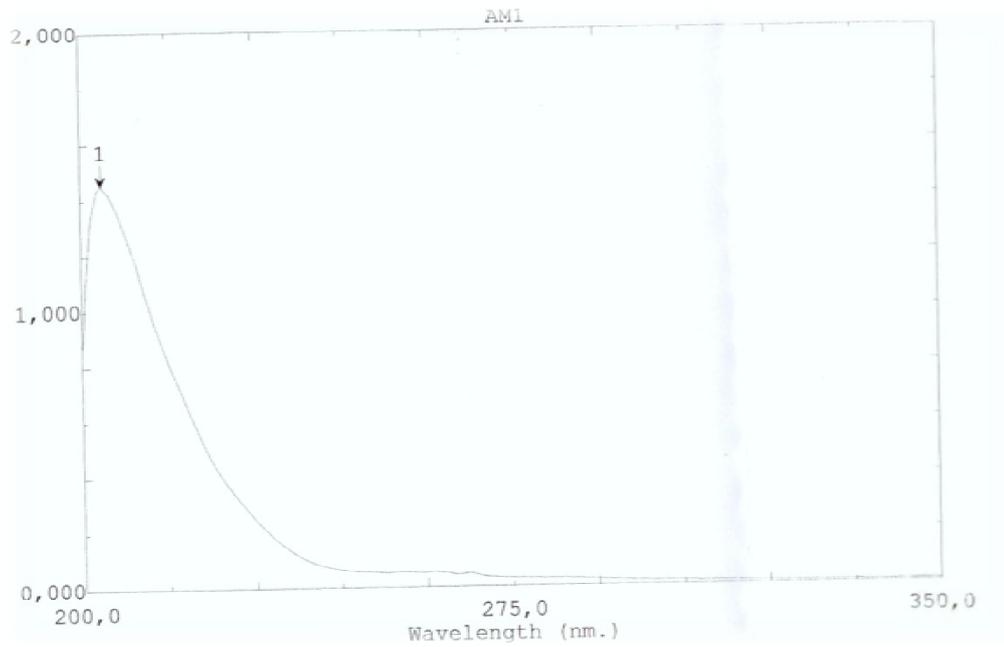


Figure26 : Courbe spectrale d'absorption de la solution d'AMP dans le milieu pH=1,2.

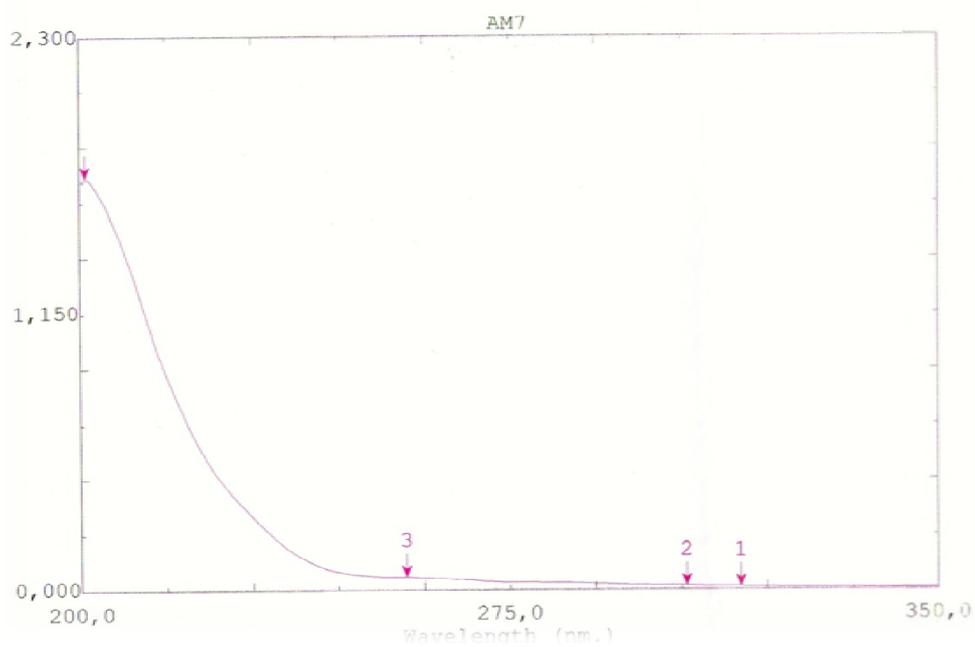


Figure27: Courbe spectrale d'absorption de la solution d'AMP dans le milieu pH=7,7.

pH du milieu	1,2	7,7
λ_{\max}	203	203

Tableau 10: Valeurs de λ_{\max} pour chaque pH.

Les valeurs de λ_{\max} ainsi trouvées sont maintenues constantes pour suivre le relargage du principe actif étudié (AMP).

II.2.3. Courbe d'étalonnage de l'Ampicilline à chaque valeur de pH :

Une solution mère a été d'abord préparée de concentration donnée (10^{-2}). Ensuite, autres solutions de concentrations différentes (10^{-4} - 10^{-5} mol/l) ont été préparées par dilution les absorbances (A) correspondantes ou solution préparées ont été déterminées à l'aide du spectrophotomètre UV-Visible.

Nous établissons ainsi la droite d'étalonnage représentant la densité optique, au maximum de la bande d'absorption, en fonction de la concentration C et qui obéit à la relation de Beer Lambert.

$$A = \varepsilon \cdot C \cdot l$$

Où :

ε : Coefficient d'absorption spécifique ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$).

C : La concentration en mol/L de la solution.

l : La longueur de la cellule en quartz (1cm).

Le tracé de $DO_{\max} = f(C)$ nous a permis d'avoir les courbes d'étalonnage correspondantes (figures 28 et 29).

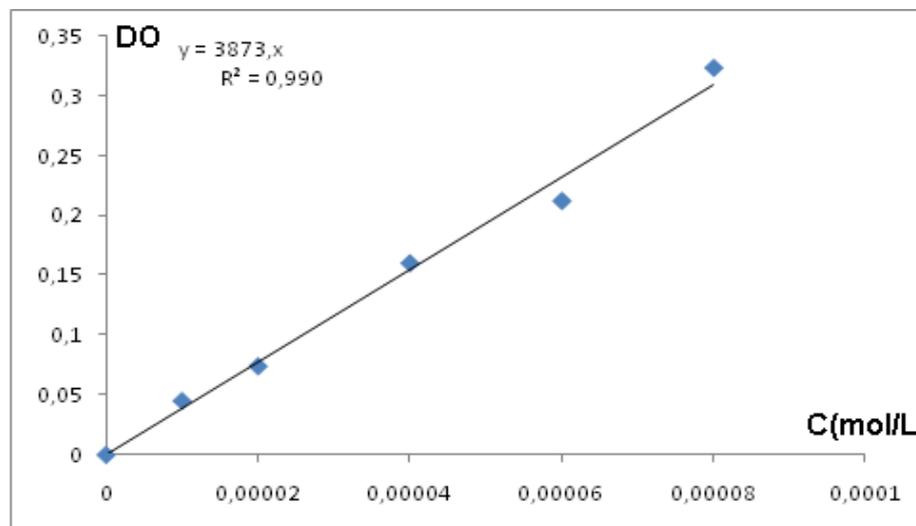


Figure 28 : Courbe d'étalonnage d'AMP à pH=1,2 et T°=37°C.

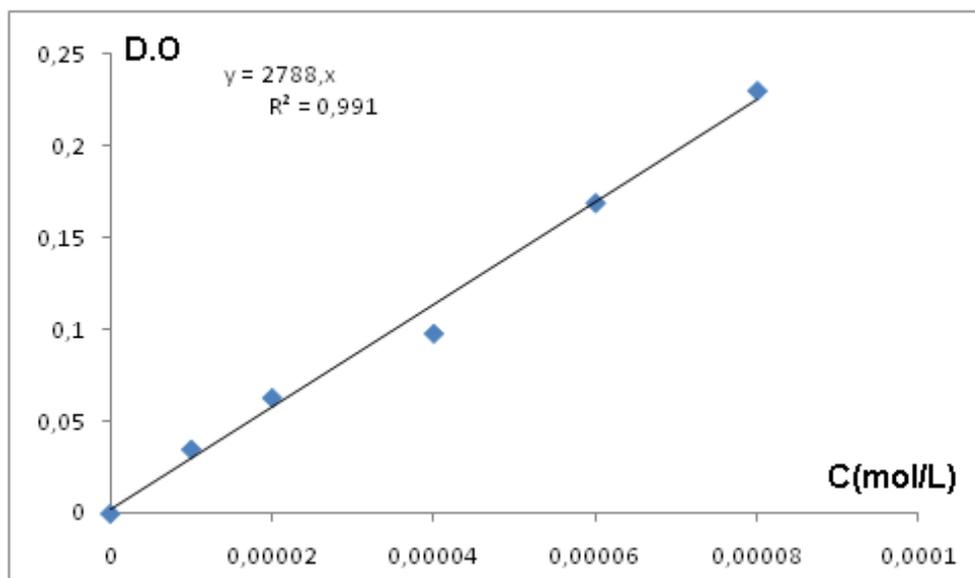


Figure 29 : Courbe d'étalonnage d'AMP à pH=7,7 et T°=37°C.

En traçant ces courbes d'étalonnage, on peut déterminer la valeur de ϵ_{\max} qui correspond à la valeur de la tangente de la droite $DO_{\max} = f(C)$.

Les valeurs des coefficients d'absorption spécifiques trouvées sont données dans le **tableau 10** :

pH du milieu	1,2	7,7
ϵ (L. mol⁻¹.cm⁻¹)	3873	2788

Tableau 11 : Valeurs de ϵ_{\max} du principe actif à pH=1,2 et pH=7,7 à 37°C.

Analyse des quantités transférées

II.2.4 Analyse des quantités transférées :

a. Calcul de la quantité du PA libéré au cours du temps :

La cinétique de libération du principe actif à partir des formes galéniques, a été suivie par spectrophotométrie U.V, dans différents milieux physiologiques artificiellement reconstitués à pH =1,2 et 7,7 à 37°C.

Le dosage du principe actif libéré s'effectue au cours du temps à partir de solutions diluées obtenues avec les prises (V_p) du milieu physiologique étudié afin de pouvoir évaluer le taux libéré en fonction du temps. Ce dernier est calculé par rapport à la masse initiale du principe actif greffé dans les différents supports.

La masse libérée à l'instant t (m_t) est donnée par la relation :

$$m_t = D.O \times V_d \times M_M / \varepsilon \cdot V_f$$

D.O : Densité Optique lue à chaque prélèvement

ε : Coefficient d'extinction moléculaire

V_d : Volume de dilution du prélèvement (10 cm³) ;

V_f : Volume du flacon (réacteur) (100 mL)

M_M : Masse Molaire du principe actif.

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.

$$\% P.A = \frac{m_t}{m_i} \cdot 100$$

b. Calcul de la quantité du liquide absorbé par la forme galénique :

La quantité du liquide absorbé par la forme galénique « disque » est calculée par la méthode classique du « suivi pondéral ».

Pour calculer la masse du liquide absorbé (m_t'), on applique l'équation suivante :

$$m_t = m_{t',bille} - m_0$$

m_t' : masse du liquide absorbé par la forme galénique au temps « t ».

$m_{t,bille}$: masse de la forme galénique à l'instant « t » de la pesée.

m_0 : masse initiale de la forme galénique « sèche ».

Le pourcentage du liquide absorbé par la forme galénique est calculé par rapport à la masse initiale de la forme galénique.

$$\% \text{ liq abs} = \frac{m_t'}{m_0} \cdot 100$$

II.2.5. Recherche de l'espèce prédominante d'ampicilline :

Puisqu'on étudie la libération du principe actif dans le milieu pH=1,2 très acide et pH=7,7 basique, la connaissance de la particule diffusante dans le milieu d'étude est importante. Cela se fait en tenant compte des pK du principe actif (AMP)

L'ampicilline à deux pK = 2,5 et 7,2 correspond respectivement aux fonctions acides carboxyliques et le groupe amine. On applique l'équation d'Henderson pour apprécier les rapports des concentrations



A titre exemple, on donne les calculs pour le pK 2,5 à pH=1,2.

$$\begin{aligned} \text{pH} &= \text{pK} + \log \frac{[B]}{[BH^+]} \Rightarrow 1,2 = 2,5 + \log \frac{[B]}{[BH^+]} \\ &\Rightarrow \log \frac{[B]}{[BH^+]} = - 1,3 \\ &\Rightarrow \frac{[B]}{[BH^+]} = 0,27 \\ &\Rightarrow [BH^+] = 3,66 [B] \end{aligned}$$

Les autres valeurs sont classées dans le **tableau 11** :

pK	2,5	7,2
pH=1,2	3,66	403,42
pH=7,7	0,0055	0,61

Tableau 12 : Les valeurs de A de l'équation $[BH^+] = A [B]$ dans le pH=1,2 et pH=7,7.

Dans le pH=1,2, la concentration de la particule protonée $[BH^+]$ est importante par rapport à la concentration de $[B]$.

Dans le $\text{pH}=7,7$, la concentration de la particule neutre [B] correspond à la structure acide est importante par rapport à la concentration de la particule protonée $[\text{BH}^+]$.

Les longueurs d'ondes λ_{max} utilisées dans notre étude correspondent aux particules majoritaires (la forme acide) dans les milieux d'étude.

II.2.6.a. Cinétique de libération d'AMP à partir des microsphères :

Les quantités libérées dans les milieux d'études ont été calculées par analyse UV-Vis ou λ_{max} d'ampicilline dans le milieu correspondant.

Une masse de 0,2g des microsphères chargées d'Ampicilline est introduite dans un réacteur bien bouché contenant 100mL du milieu physiologique ($\text{pH}=1,2$ ou $\text{pH}=7,7$) thermostaté à 37°C avec une agitation magnétique contrôlée (500 r.p.m).

Le liquide va passer par le verre fritté et acenser dans le tube en verre par capillarité, ce qui permet le prélèvement à l'aide d'une seringue de 5 mL, 1 mL du milieu d'étude est prélevé du ballon et dilué dans une fiole de 10mL de même solution.

L'absorbance est ensuite mesurée par U.V pour chaque prélèvement.

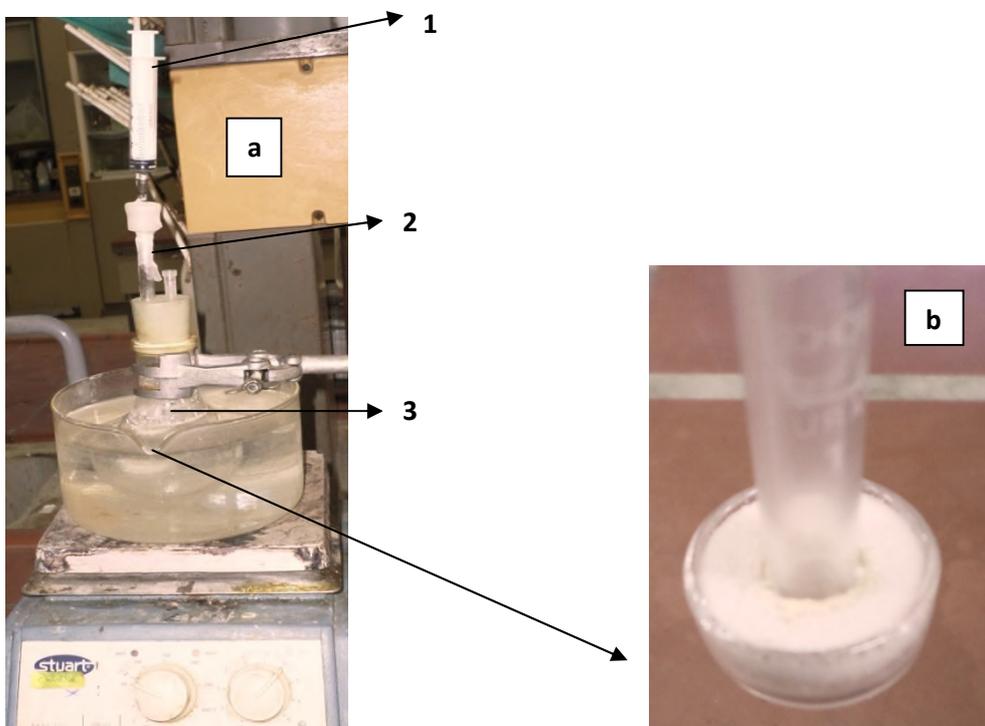


Figure30: (a) Montage utilisé pour la libération des microsphères : 1. Seringue, 2. Tube en verre, 3. Réacteur de 100mL ; (b) : Verre fritté.

II.2.6.b. Cinétique de libération de PA à partir des disques :

Dans un flacon de capacité 500mL, la forme galénique a été placée dans 100mL du milieu d'étude (pH=1,2). Le milieu a été maintenu à 37°C et agité à une vitesse de rotation de 500 r.p.m à l'aide d'un agitateur magnétique.

A chaque instant « t » le disque est retiré du flacon, roulé sur du papier Joseph pour enlever la pellicule de liquide qui s'est formée, puis pesée, et en même temps un volume $V_p = 1\text{mL}$ du milieu liquide est prélevé.

Le volume V_p est dilué par un volume $V_d = 10\text{mL}$ du même milieu physiologique.

La densité optique (DO) est ensuite déterminée par UV pour chaque prélèvement.

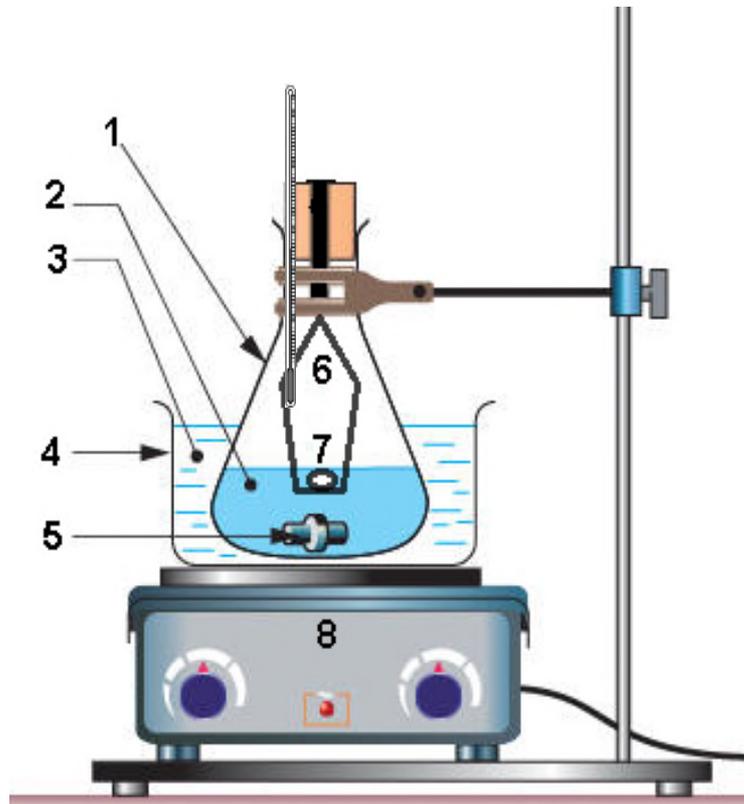


Figure31 : Dispositif expérimental pour la libération des disques : 1.Flacon, 2. Milieu d'étude (pH=1,2), 3.Thermomètre, 4.Cristalliseur, 5.Barreau aimanté ,6.Support en fibre de verre (nacelle), 7.Forme galénique (disque), 8.Agitateur magnétique.

II.3.Facteurs influençant les transferts de matières :

Dans la cinétique de libération d'un principe actif dans un milieu d'étude donné, il existe plusieurs facteurs influençant les transferts de matières. On les citera ci après :

➤ L'agitation du milieu :

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

➤ La température du milieu :

L'influence de la température est très importante dans les phénomènes de diffusion (intervient dans la solubilité du principe actif et facilite la diffusion) .Toutes nos expériences ont été effectuées à température constante 37°C (Température du corps humain), à l'aide d'un agitateur chauffant.

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

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

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

Méthode « non sink » : où le volume choisi (100mL) est utilisé pour toute l'expérience. La concentration du principe actif augmente au cours de l'expérience.

Méthode « sink » : le volume est constamment renouvelé par du liquide vierge le volume utilisé est donc plus grand.

La première méthode (non sink) est beaucoup plus facile à réaliser, et c'est cette méthode que nous avons utilisée dans toutes nos expériences.

II.4. Conditions de mesures :

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 :

- **La préparation des formes galénique :** est faite de la même manière expliquée. Pour les microsphères et les disques.
- **Le support de la forme galénique :** il est en fibre de verre, un peu élevé par rapport au barreau aimanté afin d'éviter les chocs qui peuvent s'y produire et permet aussi une bonne agitation et circulation du liquide autour de la forme galénique.
- **La composition du milieu d'étude :** la préparation du milieu liquide environnant se fait par quantité de 5 litres afin d'assurer toutes les dilutions nécessaires pour une même expérience avec le même liquide.
- **La température :** maintenue constante à 37°C à l'aide d'un agitateur chauffant.
- **L'agitation :** constante durant toutes nos expériences, et fixée sur 500 rpm à l'aide d'un agitateur magnétique.
- **La longueur d'onde maximale :** les mesures sont effectuées à l'aide d'un appareil UV. Vis calibré à une longueur d'onde fixe propre au principe actif étudié.

CHAPITRE III

**Etude cinétique de relargage
d'ampicilline**

III.1. Introduction:

Les cinétiques de libération ont été suivies à l'aide d'un spectromètre UV-Vis Cet appareil étant préalablement calibré à la longueur d'onde λ_{\max} de l'Ampicilline dans le milieu considéré.

Dans le cas où le médicament est dispersé seul dans la matrice d'enrobage, sa libération par diffusion à travers cette matrice dépend de trois facteurs essentiels :

- La vitesse de « pénétration » du liquide dans la forme galénique à travers la structure du polymère-matrice.
- La vitesse de « dissolution » du principe actif dans le liquide piégé.
- La « diffusion » du principe actif à travers l'Ethylcellulose ou l'Hydroxypropyl-méthylcellulose.

L'objectif de cette étude cinétique est de comparer l'effet « retard » quant à la libération de ce principe actif à travers différentes formes galéniques.

III.2. Etude de la libération d'Ampicilline :

Afin de pouvoir évaluer le taux relargage d'AMP dans un milieu choisi pH=1,2 ou pH=7,7, en fonction du temps et de la composition massique, on a réalisé des formes galéniques disques et des microsphères.

La méthode de préparation de ces formes galéniques et leurs caractéristiques sont résumées en pages **30-45**.

Les cinétiques correspondantes aux différentes formes ont été réalisées dans les mêmes conditions opératoires de température (37°C), d'agitation (500 r.p.m), de volume initial dans le flacon (100mL) et de volume des prises d'essais (1mL), afin de pouvoir comparer les résultats.

Les cinétiques d'absorption du liquide par les formes galéniques disques sont obtenues par un suivi pondéral des formes galéniques (on pèse celles-ci à des intervalles de temps donnés).

a) *Etude de la libération d'AMP à pH = 1,2 :*

Pour illustrer cette libération, on trace le pourcentage de l'agent actif (AMP) calculé en fonction du temps dans le milieu acide à pH=1,2. Ces résultats sont présentés dans les **figures 32,33** pour les microsphères (EC), (HPMC) et pour les deux formes galéniques préparées dans les **figures 34,35**.

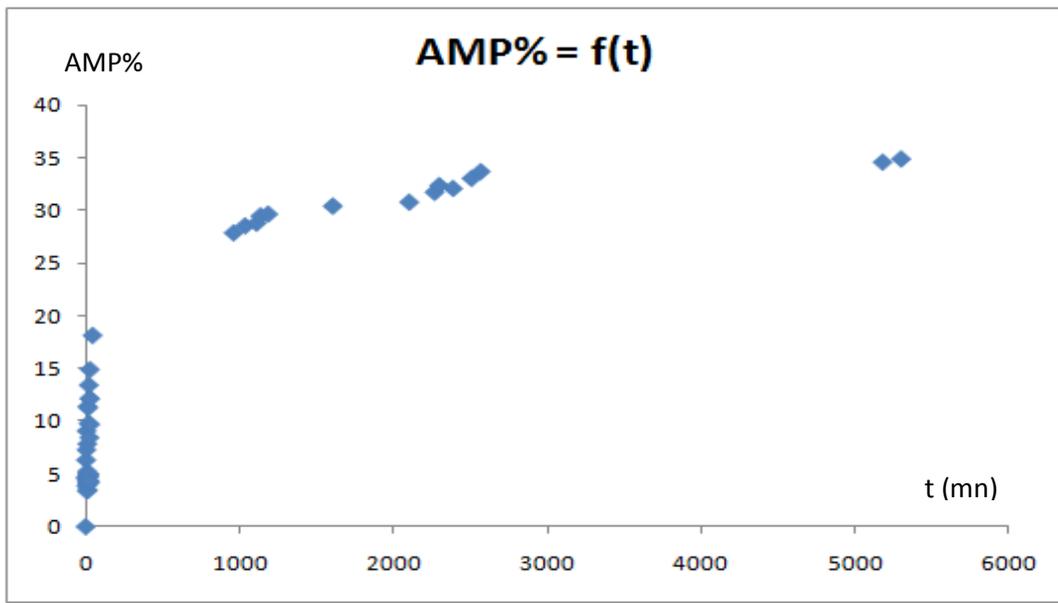


Figure 32: % principe actif (AMP) libéré en fonction du temps (microsphères d'EC)
(pH =1,2 à T= 37°C, 500 r.p.m).

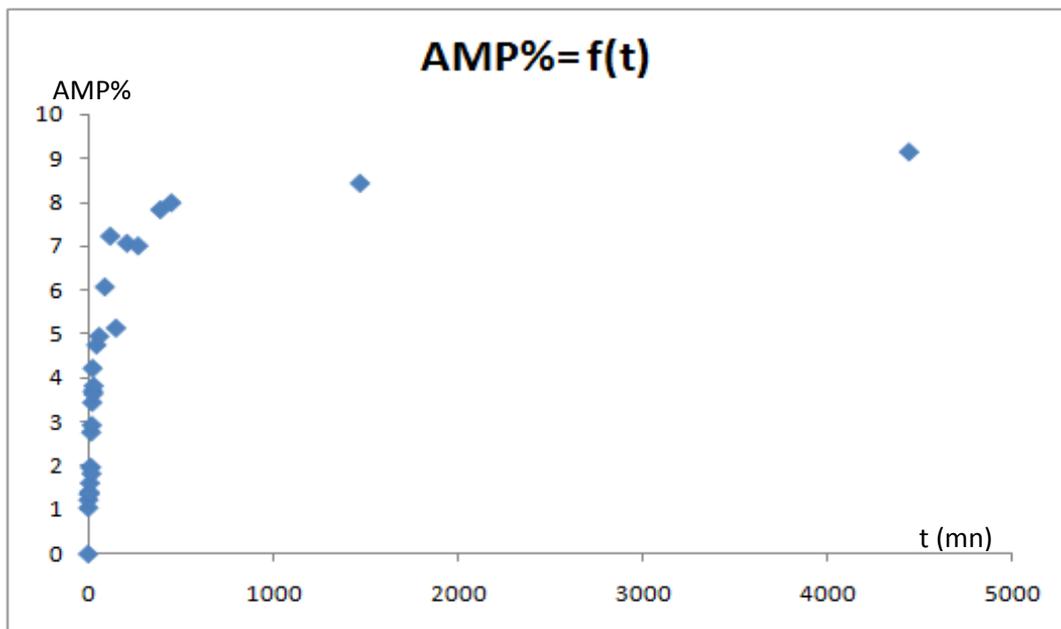


Figure 33: % principe actif (AMP) libéré en fonction du temps (microsphères d'HPMC)
(pH =1,2 à T=37°C, 500 r.p.m).

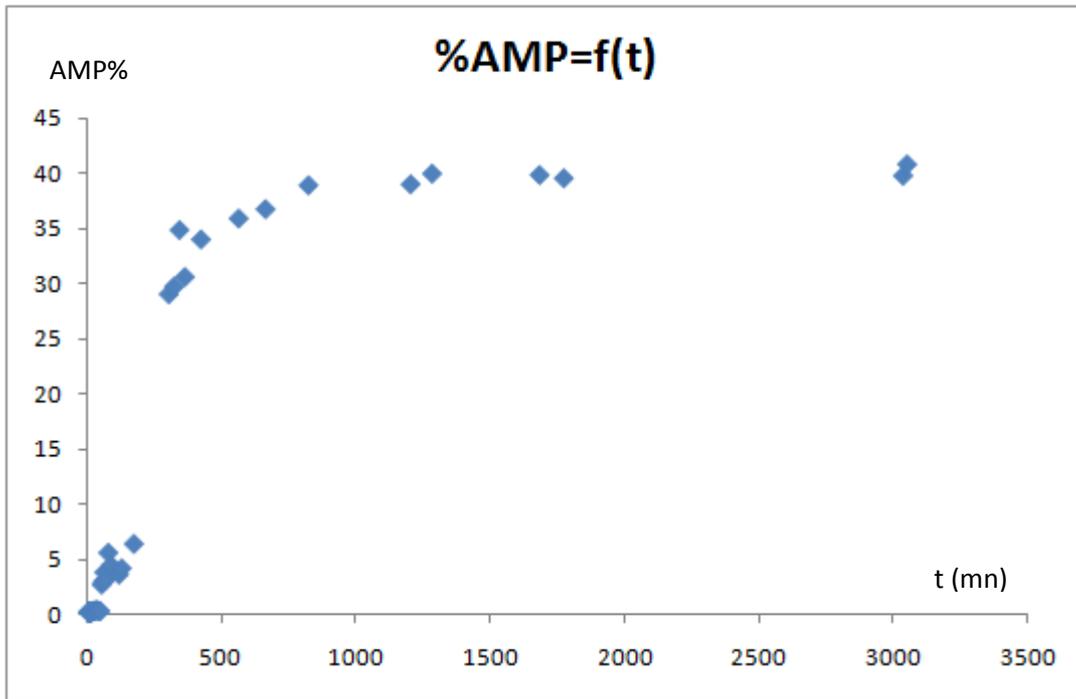


Figure 34: % principe actif (AMP) libéré en fonction du temps (disque EC + AMP)

(pH =1,2 à T=37°C, 500 r.p.m).

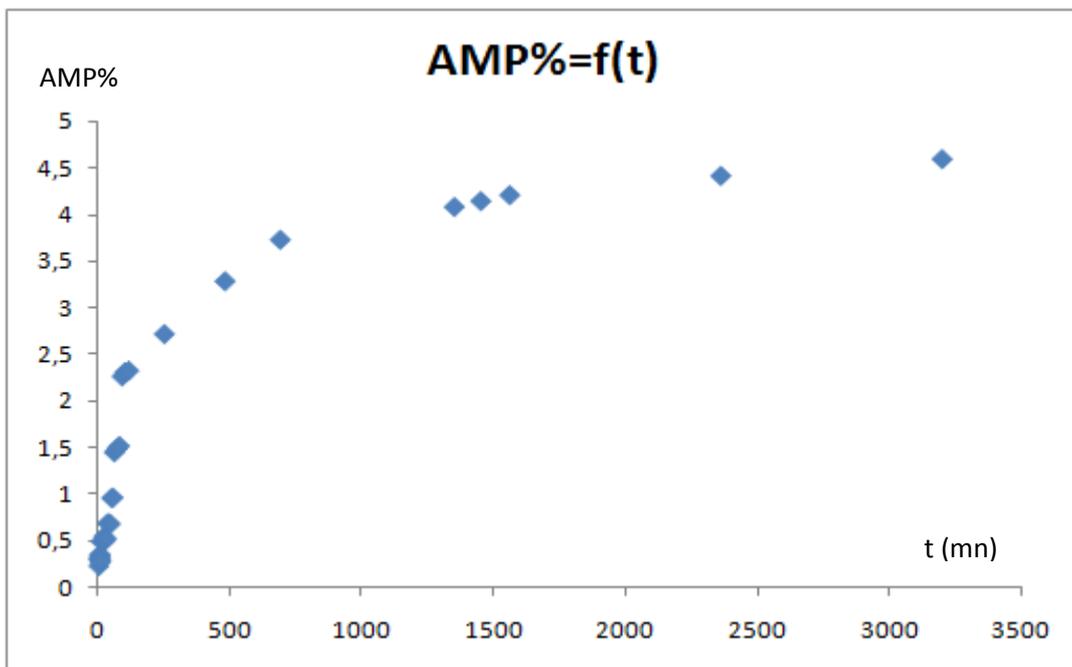


Figure 35: % principe actif (AMP) libéré en fonction du temps (disque microsphères d'EC)

(pH =1,2 à T=37°C, 500 r.p.m).

❖ **Absorption du liquide :**

En même temps que les prises de 1mL sont effectuées pour déterminer la quantité d'AMP libérée, on a pesé préalablement les disques retiré du liquide, on obtient la masse des disques plongés dans le liquide. Quelques valeurs sont classées dans les deux tableaux suivant :

temps (min)	1	2	9	65	185	340	1590	1770	3048
%liquide	10,05	5,02	2,23	4,46	3,91	5,58	1,11	1,67	3,91

Tableau 13 : %liquide absorbé dans le disque1 (EC+AMP) en fonction du temps à pH=1,2 à T°=37°C.

temps (min)	6	9	10	20	250	690	1450	2360	3200
%liquide	1,21	3,63	9,69	5,45	2,42	3,30	4,24	3,13	6,66

Tableau 14: %liquide absorbé dans le disque2 (microsphères d'EC) en fonction du temps à pH=1,2 à T°=37°C.

Les tableaux 12 et 13 donnent le pourcentage du liquide calculé qui représente la masse du liquide absorbé dans la forme galénique, elle varie de 1% à 10% pour le 1^{er} disque et de 1% à 9% pour le 2^{eme} disque. Ce qui montre que la matrice polymérique absorbe du liquide qui conduit à la dissolution du principe actif enrobé.

b) *Etude de la libération d'AMP à pH = 7,7 :*

Les résultats des cinétiques de libération d'AMP dans le pH = 7,7 à partir des microsphères à base d'EC et d'HPMC sont regroupés dans les figures 36,37.

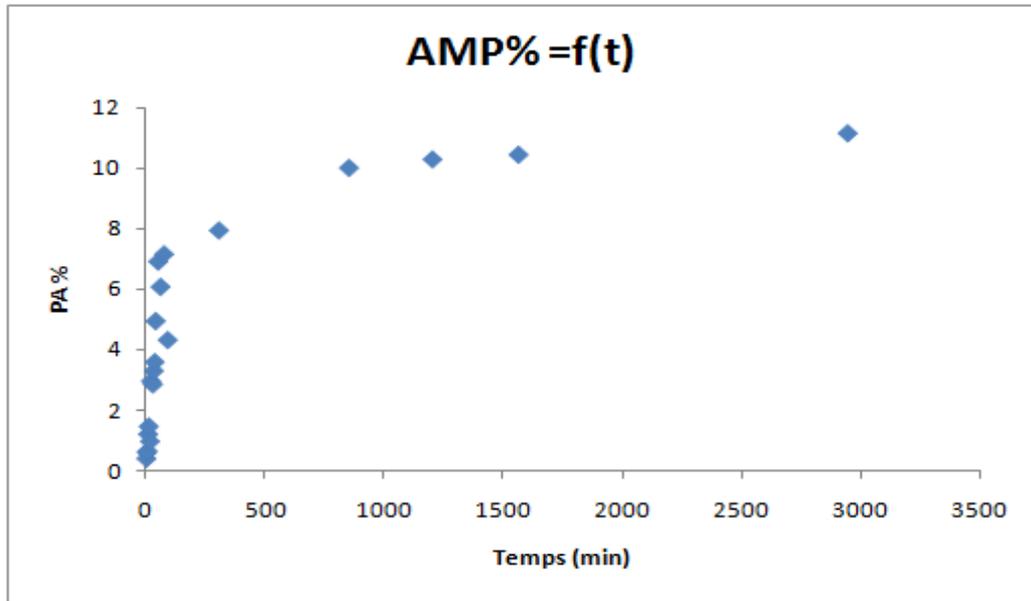


Figure 36: % principe actif (AMP) libéré en fonction du temps (microsphères d'EC) (pH =7,7 à T= 37°C, 500 r.p.m).

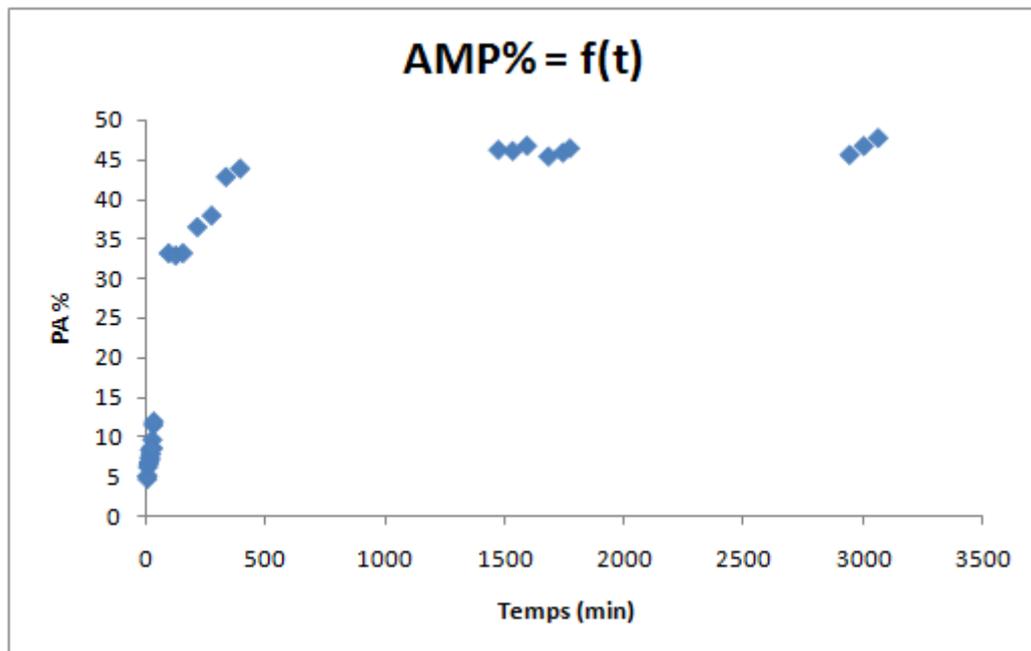


Figure 37: % principe actif (AMP) libéré en fonction du temps (microsphères d'HPMC) (pH =7,7 à T= 37°C, 500 r.p.m).

III.3. Modélisation des cinétiques selon les lois classiques :

On a essayé d'attribuer un ordre réactionnel classique à ces différentes cinétiques. On donne ci-dessous, à titre d'exemple, les courbes obtenues pour les ordres cinétiques classiques : $n = 0$, $n = 1$ et $n = 2$ pour les microsphères à base d'EC (pH=1,2). Les autres courbes sont classées en annexe.

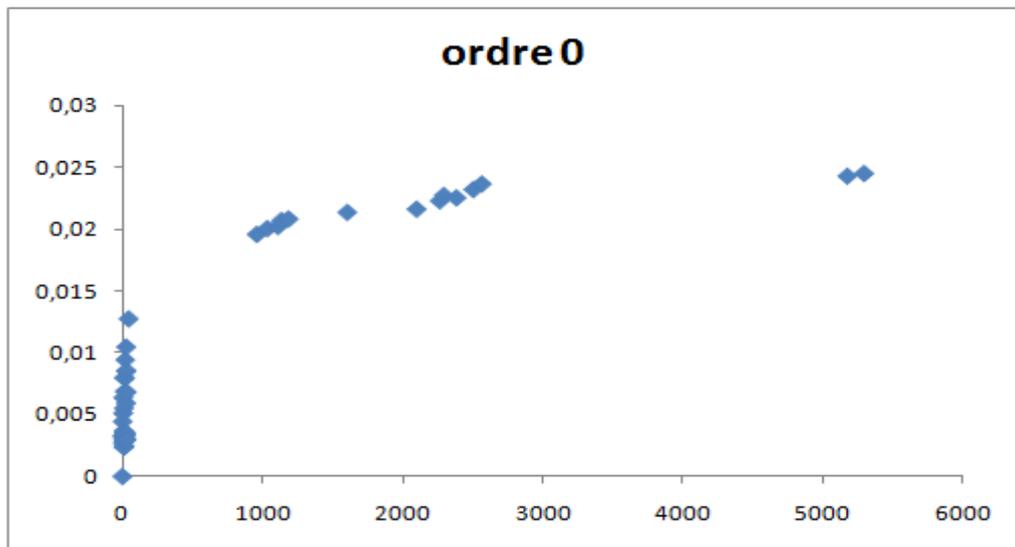


Figure 38 : Concentration d'AMP libéré en fonction du temps (microsphères d'EC)
(pH =1,2 à T°= 37°C).



Figure 39 : $\ln [(m_i^0 - m_t) / m_i^0]$ en fonction du temps (microsphères d'EC)
(pH= 1,2. T=37°C ,500 r.p.m).



Figure 40: $1/(m_i^0 - m_t) - 1/m_i^0$ en fonction du temps (microsphères d'EC)
(pH= 1,2. T=37°C ,500 r.p.m).

La libération d'AMP ne subit aucun ordre cinétique classique (0,1 ou 2) pour tout les cinétiques comme le montrent les figures 38-40 par contre, on trace le pourcentage d'AMP en fonction de la racine carrée du temps, on note une nette linéarisation surtout, ou temps courts de libération, cela nous a permis de dire que nos cinétiques subissent un caractère diffusional

On donne ci-après , à titre d'exemple, la courbe obtenue pour les microsphères à base d'EC dans le pH=1,2 (les autres sont classées en annexe).

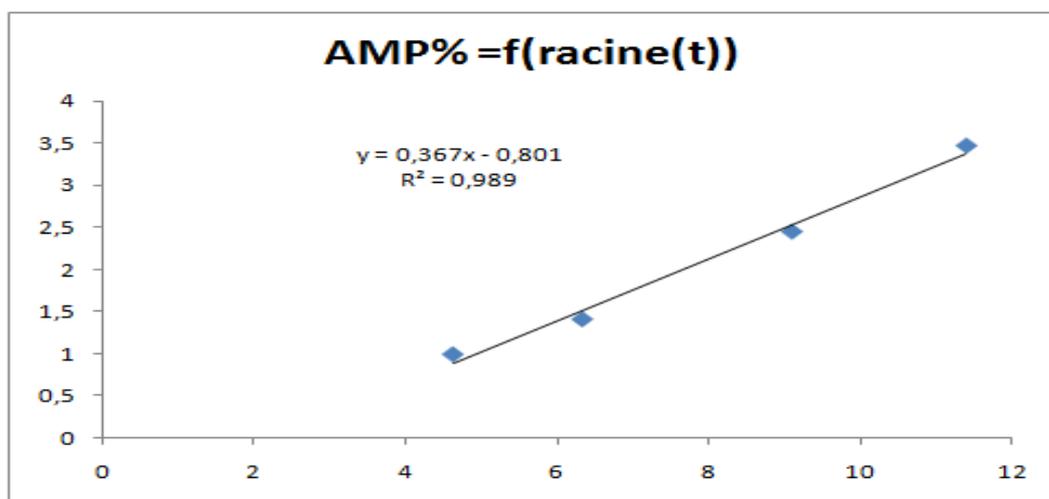


Figure 41 : %AMP libéré en fonction de la racine carrée du temps (microsphères d'EC)
(pH= 1,2 à T=37°C ,500 r.p.m).

On a essayé de modéliser les cinétiques à pH= 7,7 par les ordres réactionnel classique, on n'a pas eu des droites linéaires (les courbes sont classés en annexe). Par contre, si on trace le pourcentage d'Ampicilline (AMP%) en fonction de la racine carrée du temps court, on obtient une droite qui ne passe pas par l'origine.

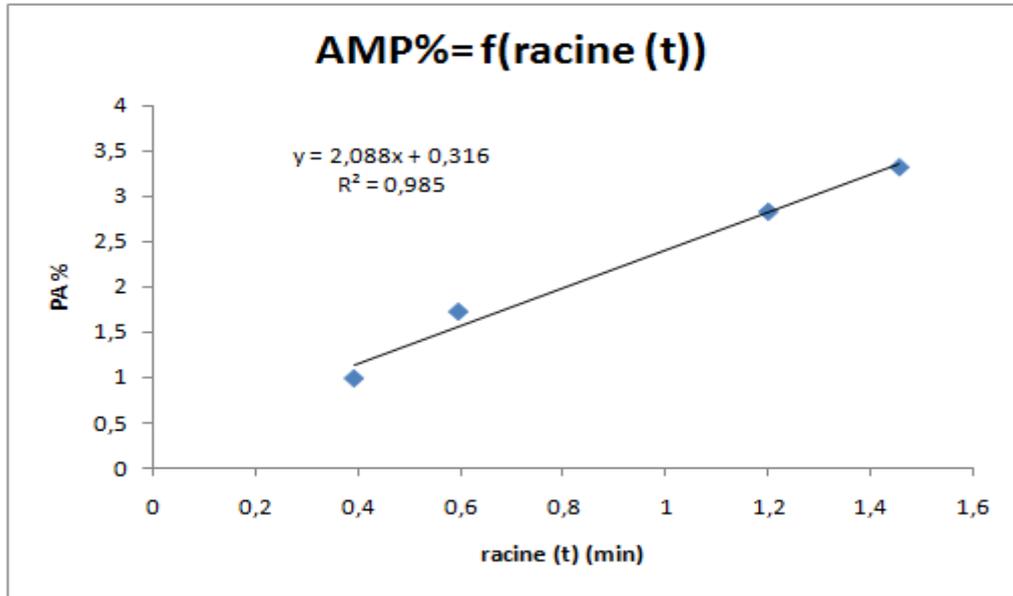


Figure 42 : %AMP libéré en fonction de la racine carrée du temps (microsphères d'EC) (pH= 7,7 à T=37°C ,500 r.p.m).

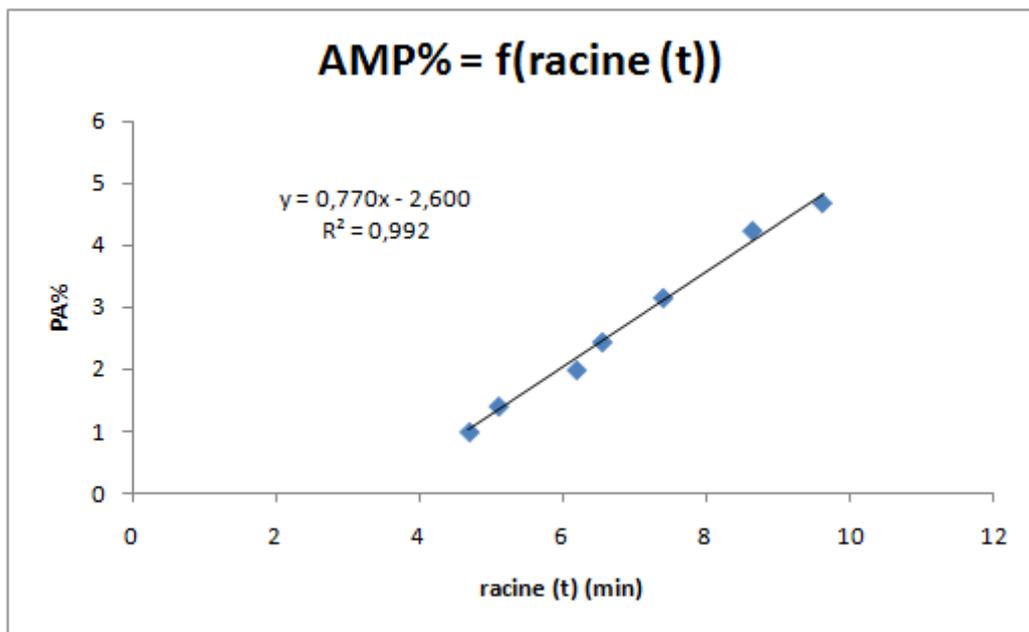


Figure43 : %AMP libéré en fonction de la racine carrée du temps (microsphères d'HPMC) (pH= 7,7 à T=37°C ,500 r.p.m).

Le suivi de la libération d'AMP dans les milieux d'études pH=1,2 et pH=7,7 a confirmé la linéarisation des points expérimentaux de la quantité de matière transférée en fonction de la racine carrée du temps. Ce qui nous amène à dire que ces cinétiques admettent une étape limitante diffusionnelle, type Fickienne.

Les droites obtenues ne passent pas par l'origine, on remarque une légère courbure aux premiers temps d'immersion de la forme galénique.

Cette courbure peut être expliquée par une mise en équilibre de la forme galénique dans le milieu d'étude : contact de la forme galénique avec le liquide, pénétration du liquide à travers les pores, solubilisation du principe actif piégé à la surface et formation d'une pellicule d'eau à la surface de la forme galénique.

On remarque que la quantité diffusée d'AMP à partir du disque est légèrement faible par rapport à celle libérée par les microsphères, cela dû à la surface de contact avec le liquide.

III.4. Modélisation des cinétiques de relargage selon l'équation de Higuchi :

Dans cette partie, on a essayé de modéliser les cinétiques de relargage d'ampicilline réalisées dans les milieux physiologiques gastrique et intestinal selon l'équation d'Higuchi .

Les résultats trouvés sont regroupés dans le tableau 14 suivant :

pH	Formes galénique	Equation d'Higuchi $Q_t = K_h t^{1/2} + c$
1,2	Microsphères 1	$Q_t = 0,367 t^{1/2} - 0,801$
	Microsphères 2	$Q_t = 2,675 t^{1/2} - 1,792$
	Disque 1	$Q_t = 19,83 t^{1/2} - 36,84$
	Disque 2	$Q_t = 7,417 t^{1/2} - 0,333$
7,7	Microsphères 1	$Q_t = 2,088t^{1/2} + 0,316$
	Microsphères 2	$Q_t = 0,770t^{1/2} - 2,600$

Tableau 15: Modélisation des cinétiques selon l'équation d'Higuchi.

Les résultats donnés par les équations d'Higuchi, montrent que la valeur de la constante de libération d'Higuchi (k_H) de l'ordre de 0 – 2 $mn^{1/2}$ pour les microsphères dans les deux milieux , et elle varie de 7 – 19 $mn^{1/2}$ pour les disques.

Les vitesses de libérations à partir des disques dans les différents milieux d'étude sont plus élevées par rapport aux valeurs des microsphères.

Nous avons constaté que la constante « c » est positive pour la cinétique de libération dû à l'existence du principe actif (AMP) sur la surface de la forme galénique étudiée, qui accélère alors la libération de ce dernier aux premiers moments de la réaction,

autrement dit au premier contact de la forme galénique avec le milieu réactionnel ; ce phénomène est appelé le « burst effect » (67).

Lorsque nous reportons le pourcentage d'ampicilline libéré en fonction du temps, nous remarquons que quel que soit la forme ou le pH, les profils de libération sont sensiblement identiques, en particulier sur les premières heures. Les cinétiques de libération d'AMP semblent au temps courts généralement confondues, mais allons plus loin, ils sont néanmoins différentes. En effet, les disques possèdent des cinétiques de libération rapides que les microsphères dans les deux milieux physiologiques de pH=1,2 ou pH=7,7.

Pour avoir l'effet du pH sur la libération de l'AMP, nous avons suivi le comportement des formes galéniques de même composition à différents pH : pH=1,2 et 7,7. Les résultats des profils de libération sont regroupés dans les figures 32 -37.

Les résultats montrent que les formes galéniques absorbent pratiquement la même quantité de liquide soit dans le milieu pH=1,2 ou dans le milieu pH=7,7. Par contre, nous remarquons que le taux de principe actif libéré au temps long est important dans le milieu acide . Ainsi , la diffusion à partir de ces systèmes est favorisée par sa solubilité dans les milieux acides (l'acidité favorise la libération d'ampicilline) .

III.5. Calcul de m_∞ :

Les valeurs de m_∞ sont obtenus en traçant les graphes $\log (m_t/m_i) = f (1/t)$. Quand t tend vers l'infini $1/t$ tend vers 0, l'ordonnée à l'origine représente alors $\log (m_\infty/m_i)$, connaissant m_i , la masse initiale, on peut facilement calculer m_∞ .

Ce calcul a été repris pour l'ensemble des formes galéniques (microsphères et disques) étudiées.

On donnera à titre d'exemple la détermination de m_∞ pour les microsphères à base d'EC dans le pH =1,2. (Les autres sont en annexe).

Caractéristiques de ces microsphères d'EC : $d_{10} = 0,012$ cm, $m_{bille} = 0,2g$, $m_i Pa = 0,077g$.

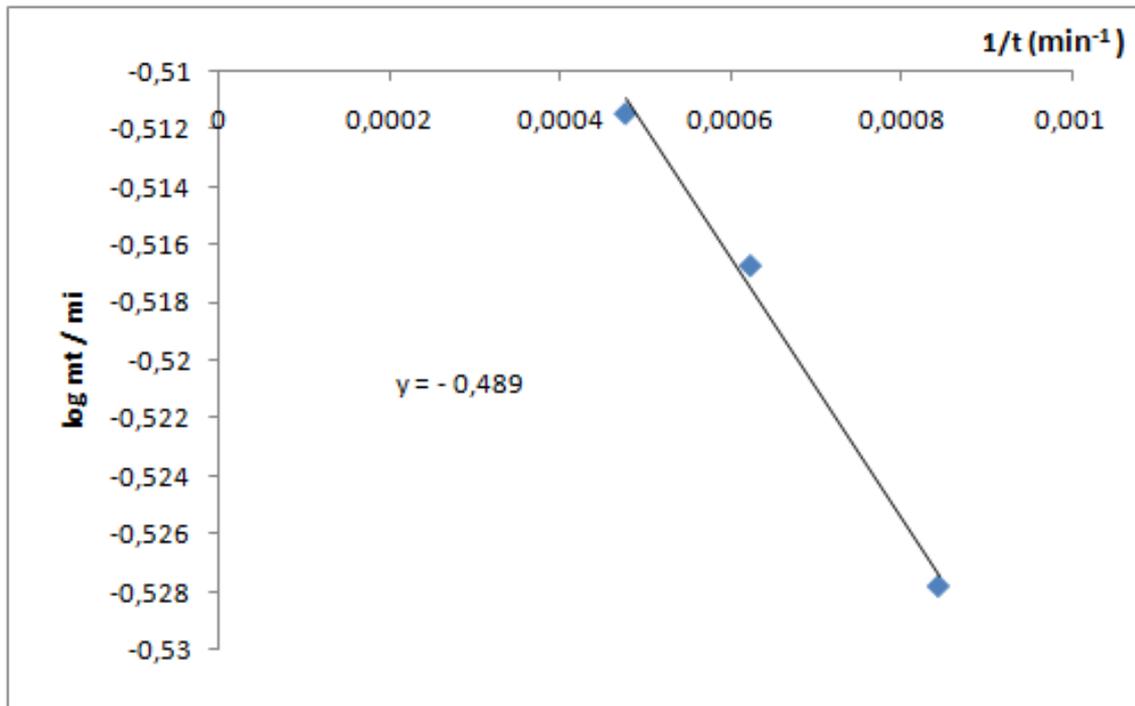


Figure44: $\log (m_t/m_i)$ en fonction de $1/t$ du Pa libéré par les microsphères d'EC dans pH=1,2 (37°C et 500 r.p.m).

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

$1/t \rightarrow 0$; $\log (m_\infty/m_i) = -x$ (x : l'ordonnée à l'origine)

$$\Rightarrow m_\infty/m_i = \exp(-x)$$

$$\Rightarrow m_\infty = \exp(-x) m_i$$

Principe actif : $x = -0,489 \Rightarrow m_{\infty} = \exp(-x) \cdot 0,07 = 0,043 \text{ g.}$

Les différentes valeurs de m_{∞} sont rassemblées dans les Tableaux suivants :

Echantillon	Masse initiale (g)	Masse initiale. en AMP (g)	Masse à l'infini du PA (g)
Microsphères d'EC	0,200	0,077	0,043
Microsphères d'HPMC	0,200	0,077	0,024
Disque d'un mélange physique EC+AMP	0,179	0,066	0,058
Disque à base des microsphères d'EC	0,165	0,495	0,130

Tableau 16 : Caractéristiques des microsphères et les formes galéniques étudiées à pH=1,2

Echantillon	Masse initiale (g)	Masse init. en Pa (g)	Masse à l'inf du Pa (g)
Microsphères d'EC	0,2	0,077	0,027
Microsphères d'HPMC	0,2	0,077	0,021

Tableau 17 : Caractéristiques des microsphères étudiées à pH=7,7 .

III.6. Calcul des diffusivités aux temps courts de la réaction :

La diffusivité est obtenue par l'équation [13] de la page 26.

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

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

Exemple de détermination de $D_{t,c}$ (t,c : temps courts) pour les microsphères à base d'EC dans $pH = 1,2$.

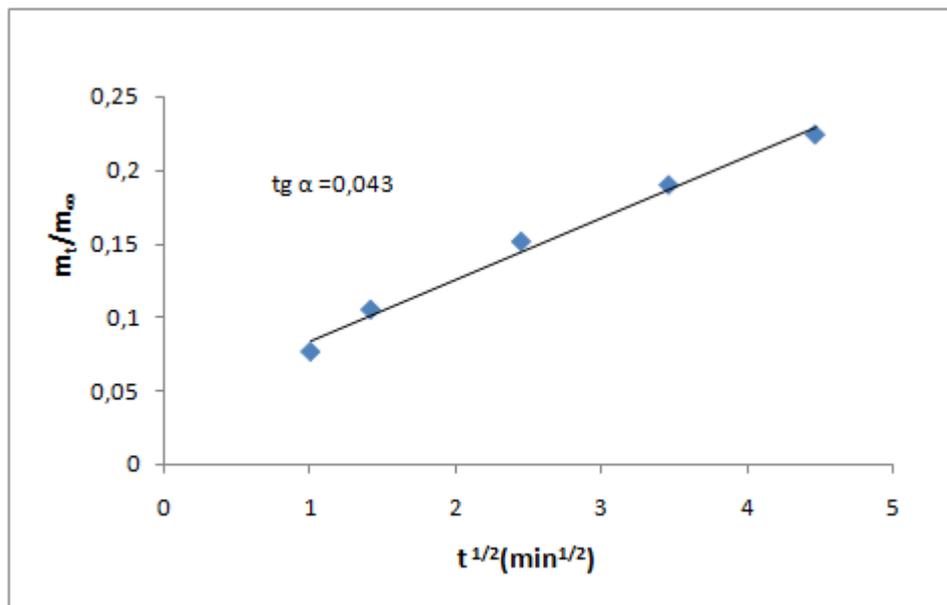


Figure 45: m_t/m_∞ du principe actif (Pa) en fonction de la racine carrée du temps pour les microsphères d'EC, $pH= 1,2$; $T^\circ= 37^\circ\text{C}$.

Les valeurs des coefficients de diffusion du Pa, sont regroupées dans les tableaux suivants :

Echantillon	p.a. libéré à $pH=1,2$	p.a. libéré à $pH=7,7$
	$D_{t,c}$ ($\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	$D_{t,c}$ ($\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)
Microsphères d'EC	$2,32 \cdot 10^{-8}$	$9,15 \cdot 10^{-9}$
Microsphères d'HPMC	$2,43 \cdot 10^{-8}$	$0,04 \cdot 10^{-9}$
Disque d'un mélange physique EC+AMP	$2,76 \cdot 10^{-2}$	/
Disque à base des microsphères d'EC	$0,21 \cdot 10^{-2}$	/

Tableau 18: Valeurs des diffusivités pour les formes galéniques (microsphères, disques) étudiées à $pH=1,2$ et $T^\circ=37^\circ\text{C}$.

Le coefficient de diffusion décrit la mobilité de la matière diffusante à travers les pores et les segments des chaînes polymériques, après sa solubilisation ; le mécanisme de diffusion varie donc selon la structure de la matrice (porosité et taille de pores).

La porosité des microsphères préparées varie d'un échantillon à un autre selon les polymères utilisés et d'une forme à autre (microsphère ou disque).

On note que les coefficients de diffusion sont calculés à base de diamètre d_{10} . Les résultats de diffusivités d'ampicilline calculés aux temps courts sont faibles d'ordre de 10^{-8} à 10^{-9} dans les deux milieux (pH=1,2 et pH=7,7) pour les microsphères, et ils sont de l'ordre de 10^{-2} pour les disques.

Théoriquement, le coefficient de diffusion efficace dépend de certains facteurs comme la porosité, la taille des pores et leur distribution ; ceci implique que la structure interne des microsphères est influencée par les paramètres de l'encapsulation.

Pour les formulations microsphère, on note que les coefficients de diffusion sont pratiquement identiques, cela est expliqué par l'équivalence en volume de pores entre les deux formes. On peut conclure que la technique d'évaporation de solvant nous permet d'avoir des microsphères poreux en utilisant les deux dérivés de cellulose.

En vue des diffusivités d'ampicilline libéré à partir des disques, on note qu'elles sont grandes par rapport à celle des microsphères, cela probablement expliqué par la faible pression appliquée lors de la préparation des disques qui induit à une porosité forte et par la suite une diffusion rapide de principe actif dispersé dans la surface de contact avec le milieu.

Et lorsqu'on comparant les coefficients de diffusion entre les deux disques, on note que le disque préparé avec un mélange physique à une valeur grande par rapport à l'autre, cela est expliqué par la dispersion du principe actif dans la matrice polymérique. Dans le mélange physique, l'ampicilline est probablement placé dans les paroi de disque, alors que dans l'autre, il est sûrement à l'intérieur.

Résultats et discussion

III.7. Résultat et discussion :

Les formes galéniques à libération contrôlée, ont été mises en point à fin de diminuer le nombre de prises quotidiennes du principe actif tout en restant dans la zone thérapeutique. L'objectif est de maintenir la concentration en principe actif dans cette zone thérapeutique. Plus la marge thérapeutique est grande, plus la sécurité d'utilisation du principe actif est grande : une augmentation de la concentration peut permettre dépasser le seuil toxique.

Dans notre travail, on a préparé des formes galéniques "disques" et "des microsphères" pour l'étude de la libération d'ampicilline dans deux milieux physiologiques gastrique et intestinal à $T^{\circ}=37^{\circ}\text{C}$. Les disques sont préparés par compression mécanique des produits, le premier disque est composé d'un mélange physique "ethylcellulose-ampicilline" et le deuxième contient une masse désirée de microsphères. Les disques ont des compositions massiques approximativement égales à la composition de départ.

On comparant les deux polymères, on note que la taille des microsphères préparées avec l'ethylcellulose est inférieure à celui préparées avec l'HPMC. Cela est expliqué principalement par les masses moléculaires des polymères, il est notable que les polymères de grande masses moléculaire permet d'avoir des microsphères de taille importante. En vue des rendements d'AMP encapsulé, il est nécessaire de citer que l'enchevêtrement des substituant sur l'HPMC empêche d'emprisonner l'AMP, pour cela, on obtient un rendement de 32% pour les microsphères 2 et 37% pour les microsphères 1.

L'analyse MEB des microparticules a été réalisée, et il nous a indiqué que les microsphères préparées avec l'ethylcellulose ont une forme bien sphérique une surface lisse avec peu de pores, alors que les microsphères préparées avec l'HPMC ne sont pas sphériques avec une surface aussi lisse et contiennent peu de pores.

Le diamètre moyen obtenue des microsphères est en moyenne de $120\mu\text{m}$ pour les microsphères1 et de $220\mu\text{m}$ pour les microsphères 2, Il est bien connu que l'agent tensioactif réduit la tension superficielle de la phase continue, permet d'éviter la coalescence et l'agglomération des gouttes et stabilise l'émulsion.

Résultats et discussion

Quelque soit les formulations de départ (microsphères ou disques), les cinétiques observées présentent toutes un caractère hétérogène. Il s'est avéré qu'aucune des cinétiques observées n'admette d'ordre cinétique classique tels 0, 1, 2 ou n. Le relargage d'AMP ne peut donc être décrit par une équation cinétique classique. Il répond à un phénomène de transfert de matière limité par un processus diffusionnel décrit par la 1^{ère} loi de Fick ainsi confirmé par l'équation d'Higuchi. L'allure des courbes du pourcentage relargé d'AMP en fonction du temps correspond à un phénomène contrôlé plutôt par la diffusion avec tangente presque verticale au début du processus comme le montrent toutes nos courbes. Cela est largement confirmé par nos droites donnant les pourcentages d'AMP libéré en fonction de la racine carrée du temps. Ainsi les transferts des solutions physiologiques et la molécule active AMP à l'intérieur des formes galéniques ou sont tous contrôlés par diffusion en régime transitoire.

A partir des résultats cinétique, on note que :

- Les pourcentages de principe actif diminuent dans le pH basique, cela est principalement dû à la nature de la molécule libérée dans le pH 7,7 « la molécule neutre » qui est différente de celle libérée dans le pH 1,2 « la molécule protonnée ». Ces résultats sont justifiés par l'identité de forme : une molécule acide est très soluble dans le milieu acide (pH=1,2), alors que le pH=7,7, on trouve une différence de structure entre la molécule libérée et le milieu d'étude.
- Les pourcentages de principe actif libéré à partir des microsphères préparées avec l'ethylcellulose est important par rapport à celle préparées avec l'HPMC, ce résultat est expliqué par la différence d'enchevêtrements des chaînes polymériques car il est évident que l'HPMC est plus enchevêtré en présence des groupements « hydroxyl, propyl et methyl » qui rendent la libération difficile, par contre l'ethylcellulose ne contient qu'un seul substrat qui permet la libération facile si on la compare avec l'HPMC.
- Les pourcentages libérés en principe actif est presque les mêmes dans le disque préparé par le mélange physique « AMP-EC » et dans les microsphères dans le pH=1,2, on peut dire que la surface de diffusion dans les deux formes est identique.

Résultats et discussion

- Le disque préparé à base des microsphères libère l'AMP à des concentrations très faibles, à cause de la pression appliquée sur les microsphères qui emprisonne le principe actif au centre de disque, et bloque sa diffusion.
- Le pourcentage de liquide absorbé varie différemment avec le disque utilisé. Il est plus important pour le 2^{ème} que pour le 1^{er} à pH=1,2.

Conclusion générale

Conclusion générale

La première partie de ce travail a été consacrée à la préparation des formes pharmaceutiques : disques et microsphères supports de principe actif "ampicilline". Dans la préparation de ces formes, deux polymères matrices ont été utilisés l'ethylcellulose "EC" et l'hydroxypropylmethylcellulose "HPMC".

Les microsphères ont été préparées par microencapsulation par évaporation de solvant. Ce procédé est basé sur l'évaporation progressive du solvant (Dichloromethane) sous l'effet d'une agitation mécanique à $T=37^{\circ}\text{C}$. Les microsphères obtenues ont été caractérisées par IR, microscope optique, microscope électronique à balayage, DSC et DRX.

Les disques élaborés dans notre étude ont été préparés par une compression mécanique avec des pulvérisations d'alcool. Le premier disque est composé initialement d'une quantité désirée des microsphères, et le deuxième contient un mélange physique de polymère (EC) et de principe actif (AMP). Après évaporation complète de l'alcool pulvérisé, on a déterminé la composition finale, la hauteur, et le diamètre de chaque disque.

La deuxième partie a exposé l'étude cinétique de la libération d'ampicilline dans les conditions expérimentales suivantes :

- Dispersion des Microsphères (0,2g) dans les milieux physiologiques $\text{pH}=1,2$ et $\text{pH}=7,7$ porté à 37°C .
- Dispersion des disques de masses approximatives de 200 mg dans le milieu d'étude $\text{pH}=1,2$ à 37°C .

La solubilisation et le passage du principe actif vers le liquide physiologique à montré une libération contrôlée par la diffusion.

La libération a été suivie par spectrophotométrie UV-VIS. Toutes nos cinétiques de relargage de l'ampicilline et d'absorption de la solution d'étude ont été réalisées dans les mêmes conditions opératoires de température, de volume et de vitesse d'agitation.

Les résultats de cette étude cinétique nous a montré l'existence simultanée de deux transferts de matières au niveau de la forme pharmaceutique choisie :

- Le principe actif solubilisé diffusant hors de la matrice polymérique.

Conclusion générale

- Le liquide artificiel diffusant de pH=1,2 ou de pH=7,7 dans la structure enchevêtrée de la matrice.

Les profils de relargage déterminés montrent qu'il y a une différence de pourcentage en ampicilline libéré expliquée par la différence des paramètres modifiés : matrice, type de forme pharmaceutique et de morphologie, nature de la molécule libérée et pH du milieu.

Ces transferts de matières n'admettent aucun ordre cinétique classique et présentent des étapes limitantes diffusionnelles du type Fickien. A partir des différentes solutions numériques et analytiques proposées par Cranck, basées sur les lois de Fick.

Il a été possible de déterminer les coefficients de vitesse de diffusion pour les cinétiques de la libération d'ampicilline utilisant la loi d'Higuchi. Les coefficients de diffusion ont été ensuite calculés passant par le calcul des m_{∞} en chaque cinétique.

Toutes nos hydrolyses ont été réalisées in-vitro, dans un milieu physiologique reconstitué artificiel, loin des conditions réelles de l'organisme humain. Les résultats expérimentaux ne donnent en réalité qu'une idée générale sur les phénomènes de diffusion.

Cette étude ne sera complète qu'avec une étude in-vivo vu l'importance de l'activité des enzymes (gastriques) sur la dégradation du bol alimentaire, en essayant de se rapprocher le plus fidèlement possible des conditions physiologiques réelles par l'addition de certains ingrédients tels que les sels biliaires, les enzymes..., car la diffusion dans ce cas, pourrait être « accélérée » ou « retardée ».

Pour des essais in-vivo, il est impératif de disposer d'une animalerie afin d'avoir une meilleure approche.

Annexes

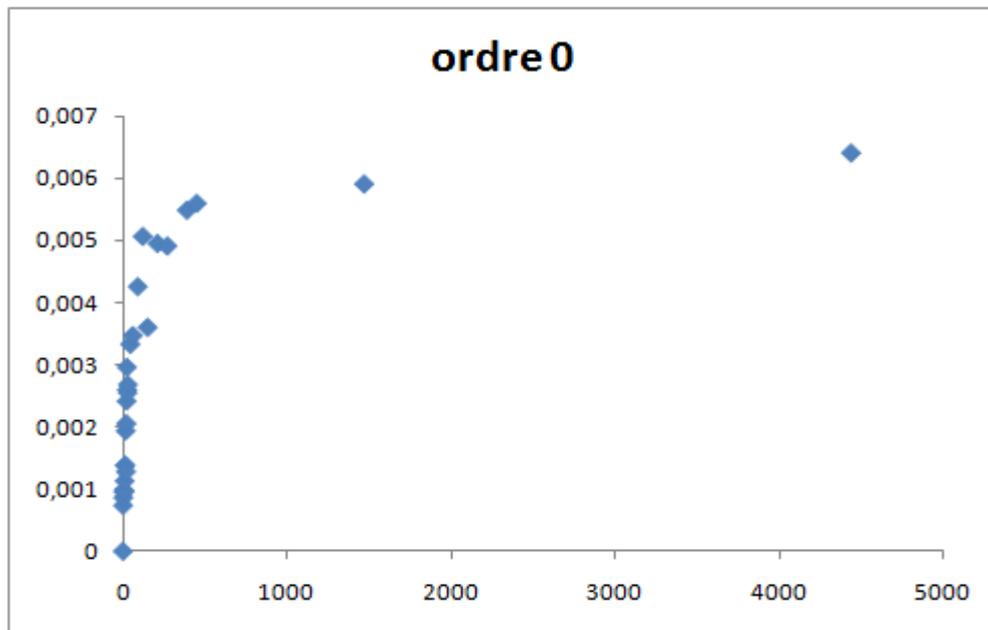
Annexe :

Figure : Concentration d'AMP libéré en fonction du temps (microsphères d'HPMC)
(pH =1.2 à 37°C).

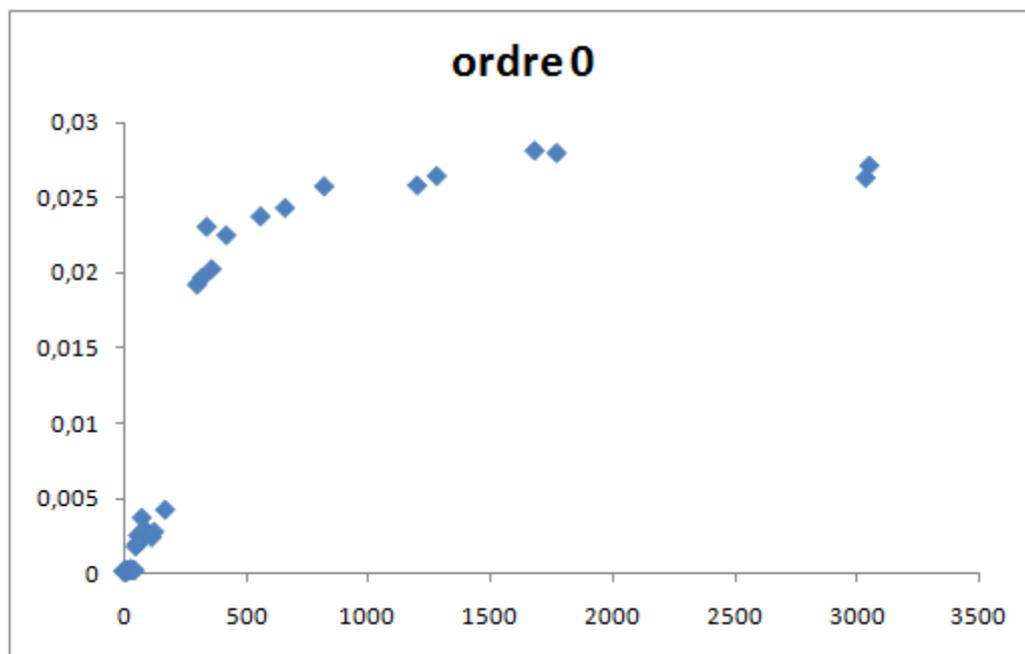


Figure : Concentration d'AMP libéré en fonction du temps (disque EC+AMP)
(pH =1.2 à 37°C).

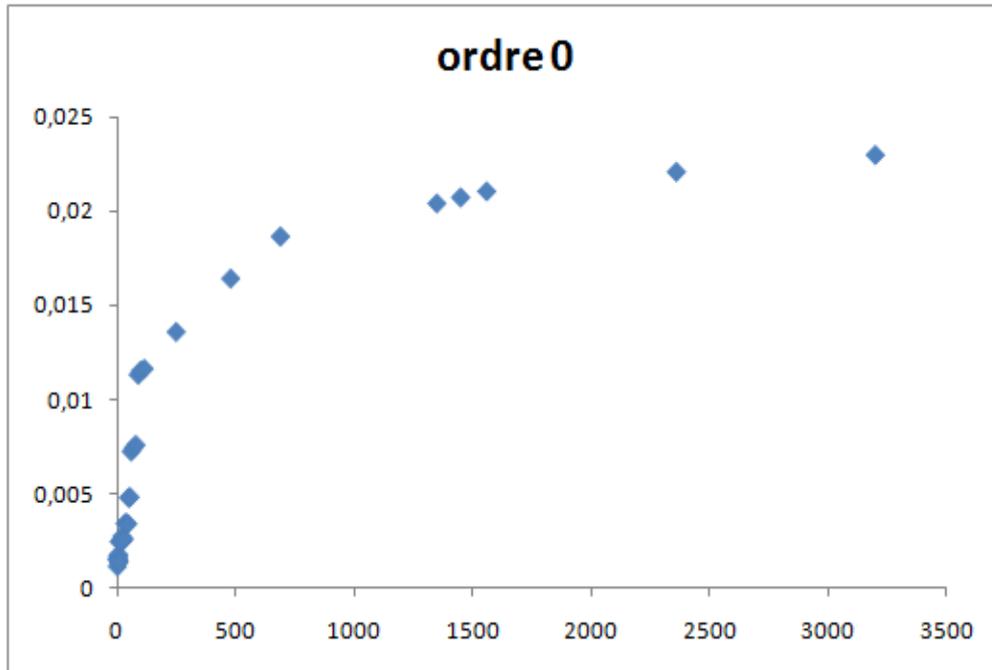


Figure : Concentration d'AMP libéré en fonction du temps (disque microsphères d'EC)
(pH =1.2 à 37°C).



Figure : $\ln [(m_i^0 - m_t) / m_i^0]$ en fonction du temps (microsphères d'HPMC)
(pH= 1.2, T=37°C ,500 r.p.m).

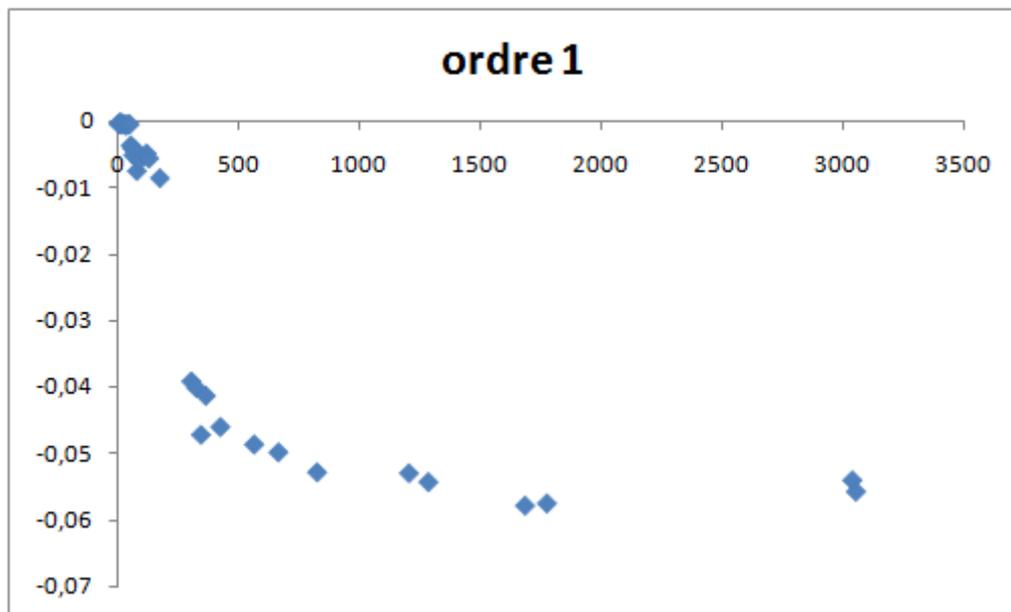


Figure : $\ln [(m_i^0 - m_t) / m_i^0]$ en fonction du temps (disque EC + AMP)
(pH= 1.2, T=37°C ,500 r.p.m).

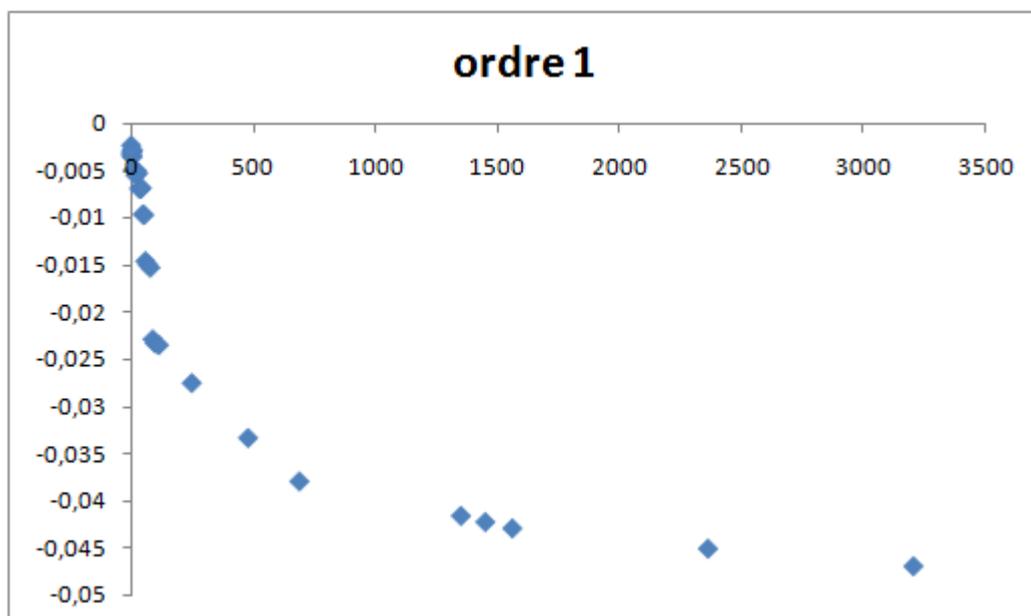


Figure : $\ln [(m_i^0 - m_t) / m_i^0]$ en fonction du temps (disque des microsphères EC)
(pH= 1.2, T=37°C ,500 r.p.m).

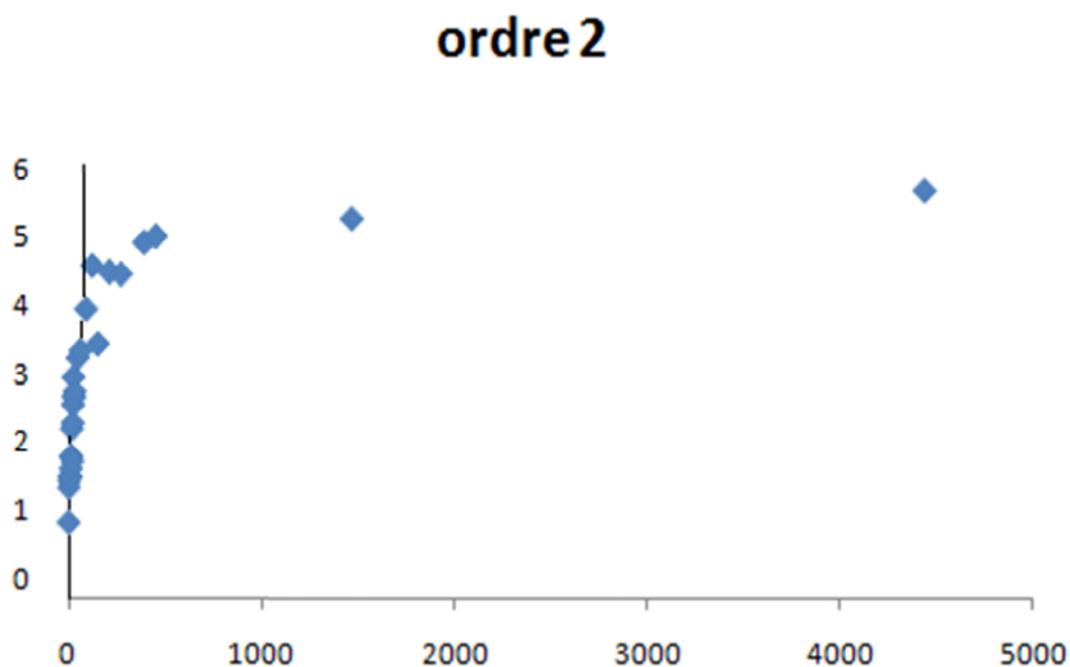


Figure : $1/(m_i^0 - m_t) - 1/m_i^0$ en fonction du temps (microsphères d'HPMC)

(pH= 1.2, T=37°C ,500 r.p.m).



Figure : $1/(m_i^0 - m_t) - 1/m_i^0$ en fonction du temps (disque EC+AMP)

(pH= 1.2, T=37°C ,500 r.p.m).

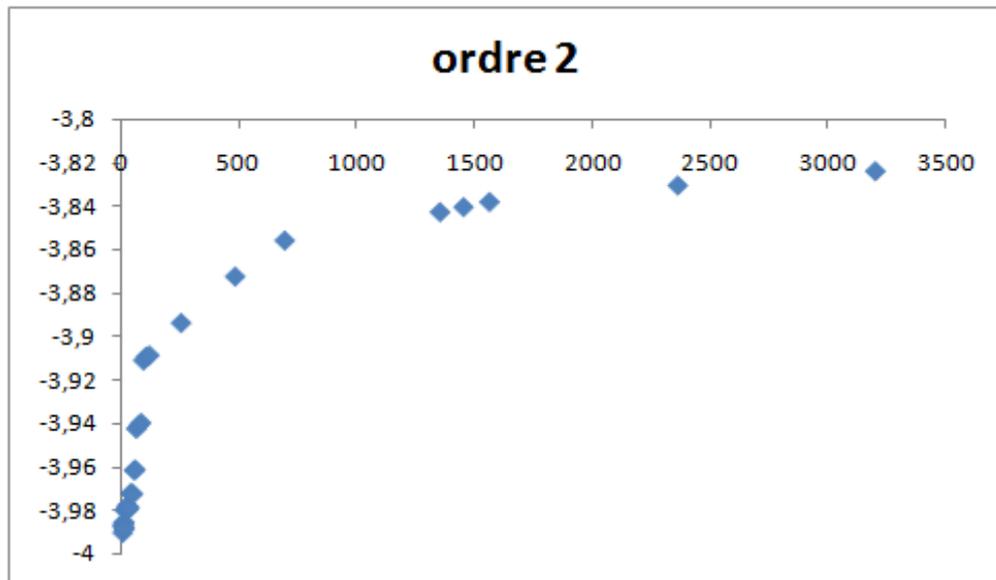


Figure : $1/(m_i^0 - m_t) - 1/m_i^0$ en fonction du temps (disque des microsphères d'EC)
(pH= 1.2, T=37°C ,500 r.p.m).

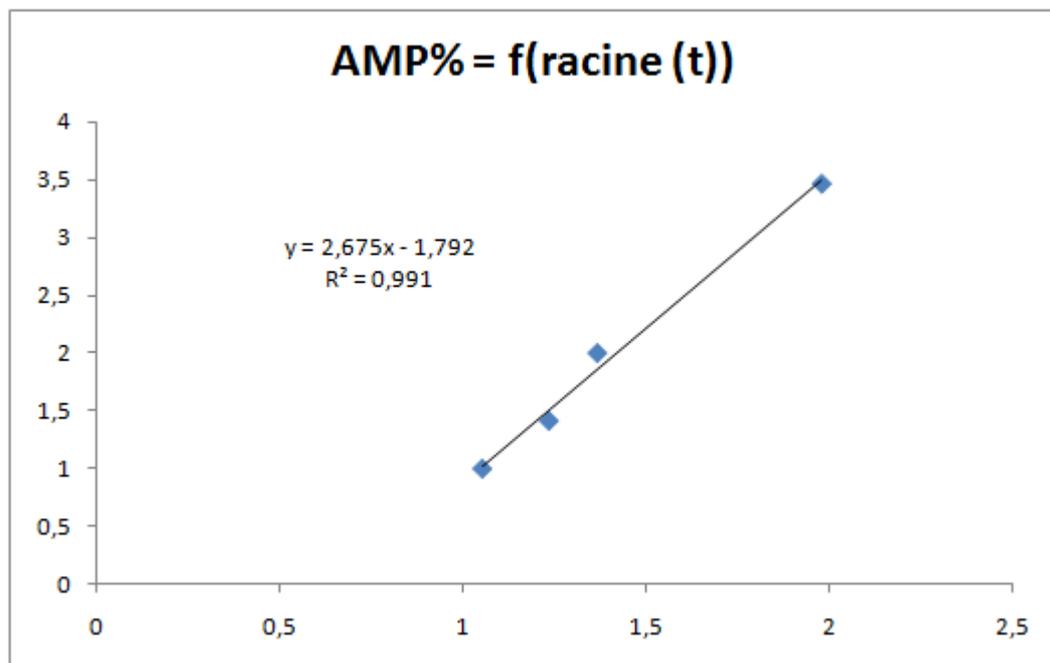


Figure : %AMP libéré en fonction de la racine carrée du temps (microsphères d'HPMC)
(pH= 1.2, T=37°C ,500 r.p.m).

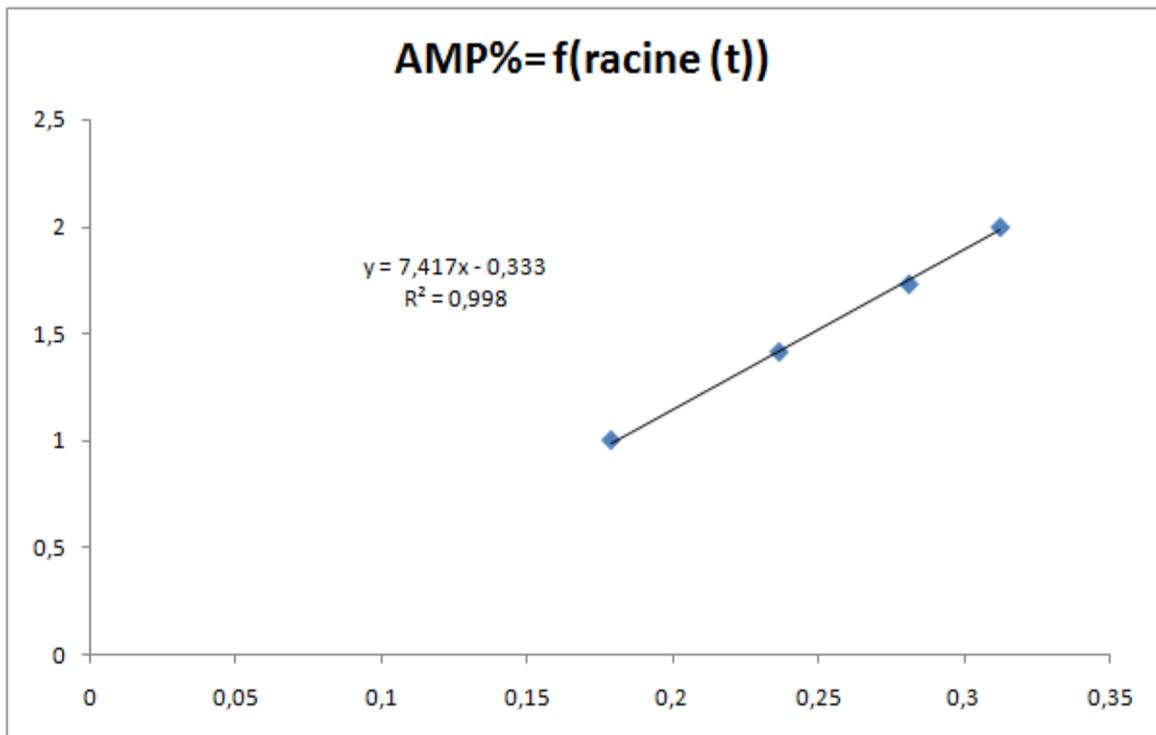


Figure : %AMP libéré en fonction de la racine carrée du temps (disque EC+AMP)

(pH= 1.2, T=37°C ,500 r.p.m).

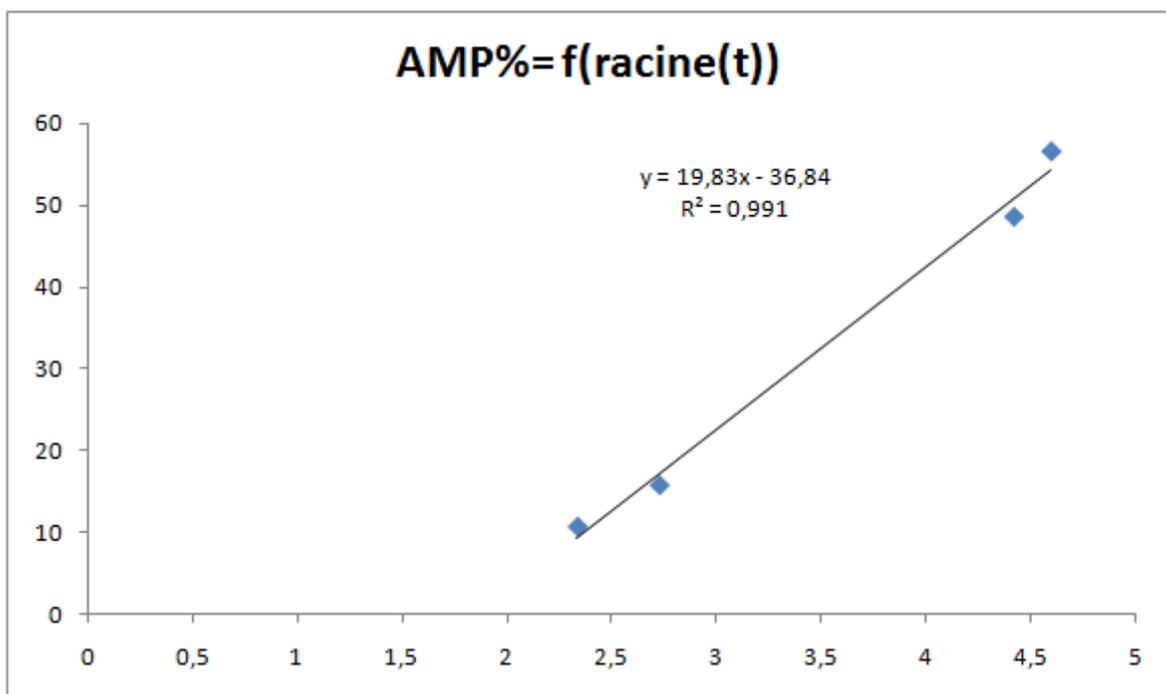


Figure : %AMP libéré en fonction de la racine carrée du temps

(disque microsphère d'EC) (pH= 1.2, T=37°C ,500 r.p.m).

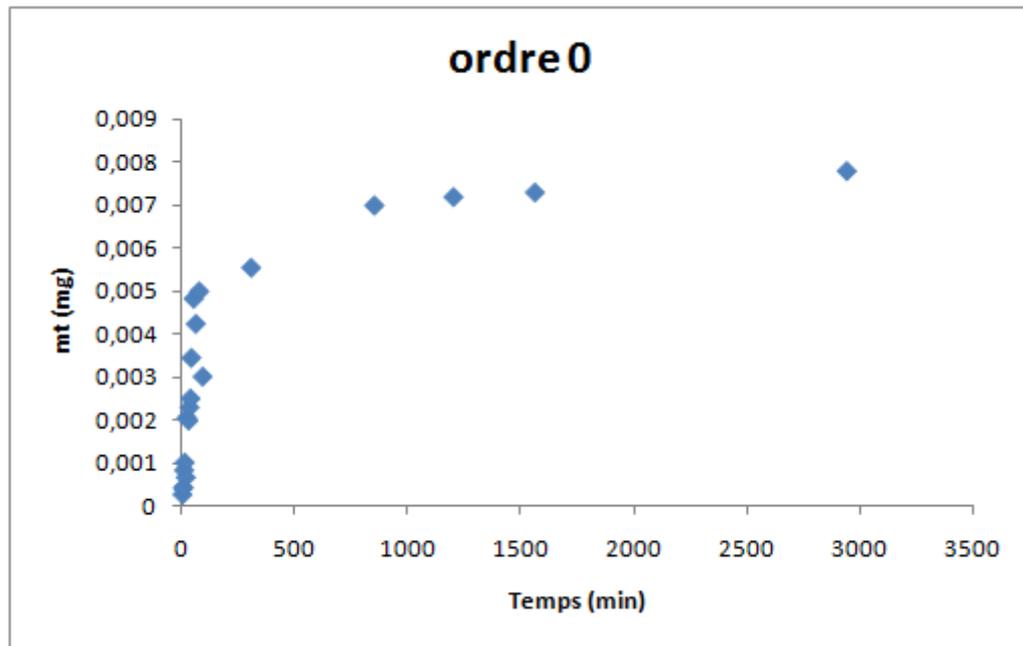


Figure : Concentration d'AMP libéré en fonction du temps (microsphères d'EC)
(pH =7,7 à 37°C).

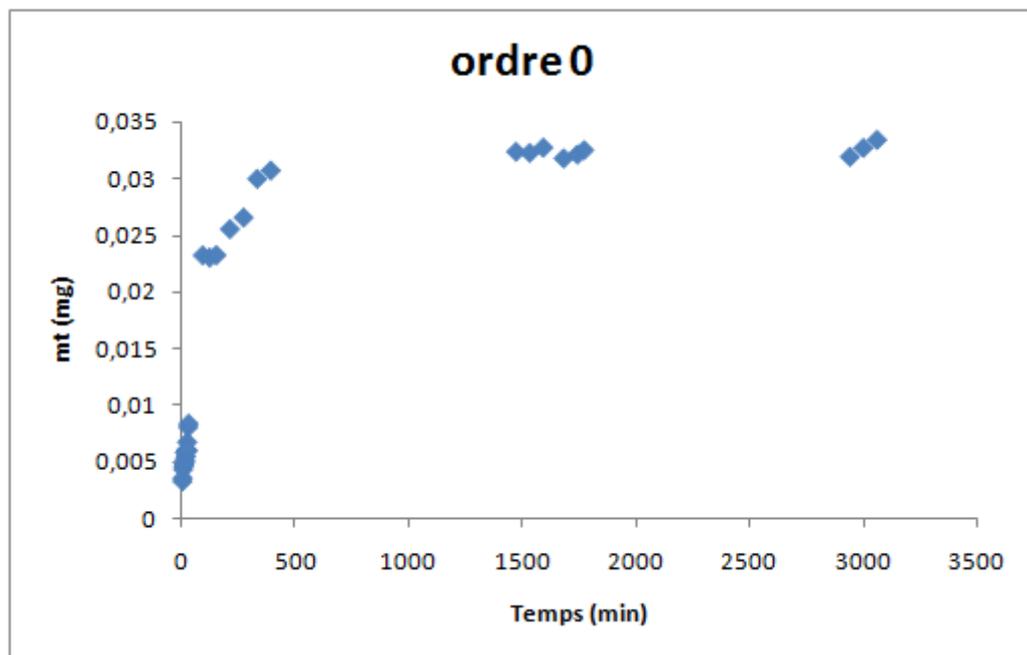


Figure : Concentration d'AMP libéré en fonction du temps (microsphères d'HPMC)
(pH =7,7 à 37°C).

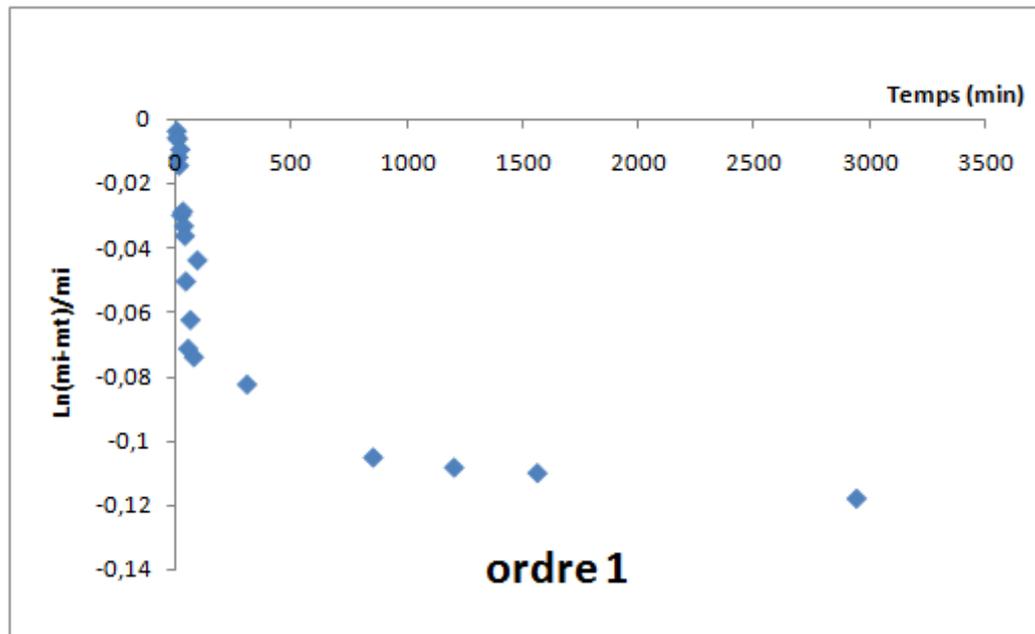


Figure : $\ln [(m_i^0 - m_t) / m_i^0]$ en fonction du temps des microsphères EC
(pH= 7,7 à T=37°C ,500 r.p.m).

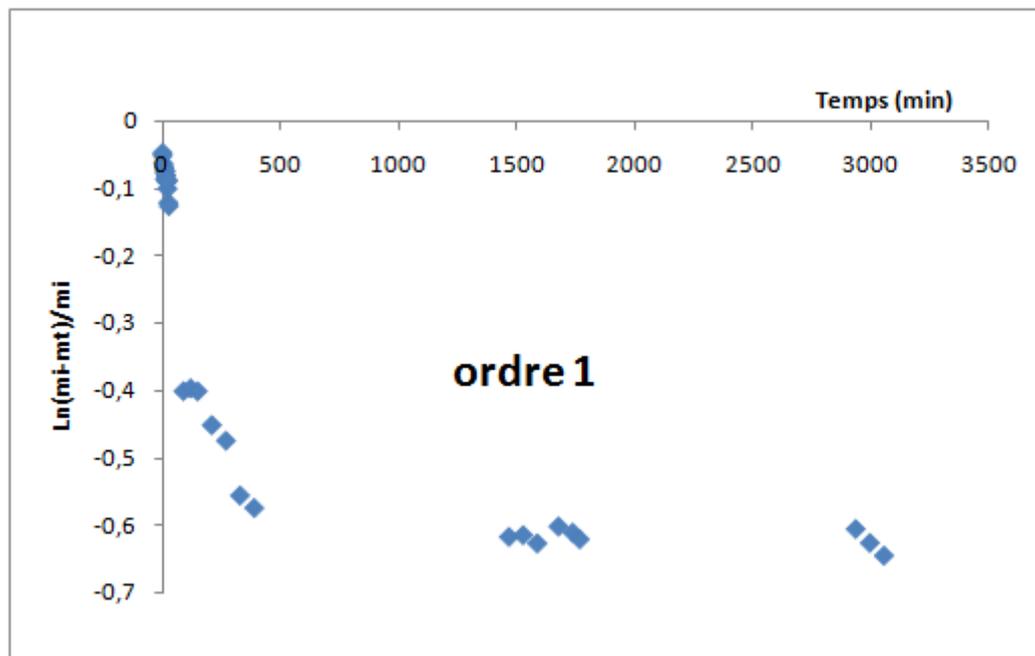


Figure : $\ln [(m_i^0 - m_t) / m_i^0]$ en fonction du temps des microsphères HPMC
(pH= 7,7 à T=37°C ,500 r.p.m).

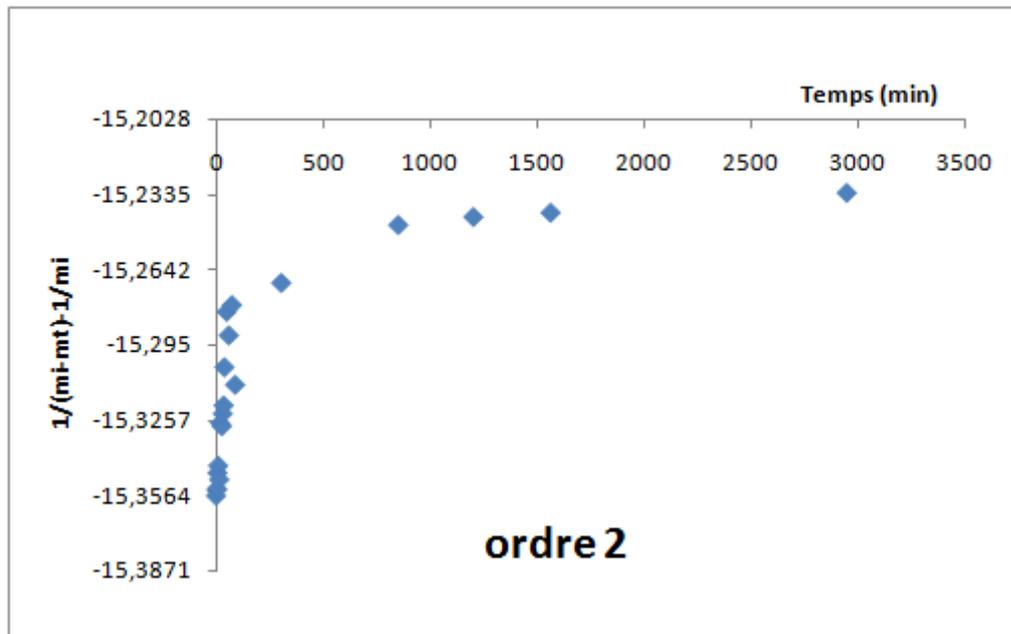


Figure : $1/(m_i^0 - m_t) - 1/m_i^0$ en fonction du temps des microsphères d'EC
(pH= 7,7 à T=37°C ,500 r.p.m).

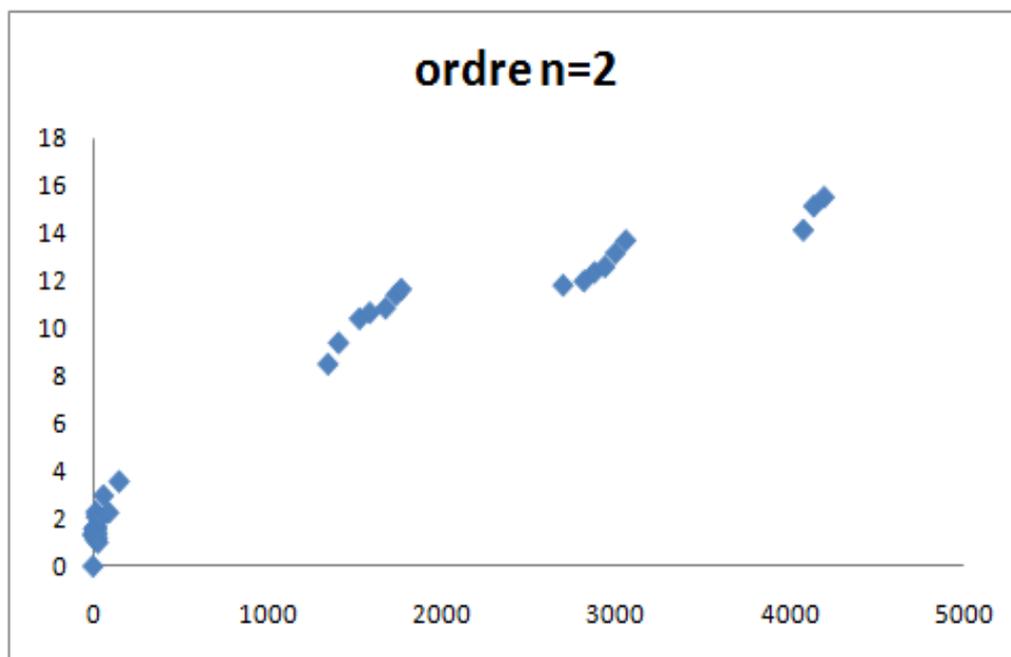


Figure : $1/(m_i^0 - m_t) - 1/m_i^0$ en fonction du temps des microsphères d'HPMC
(pH= 7,7 à T=37°C ,500 r.p.m).

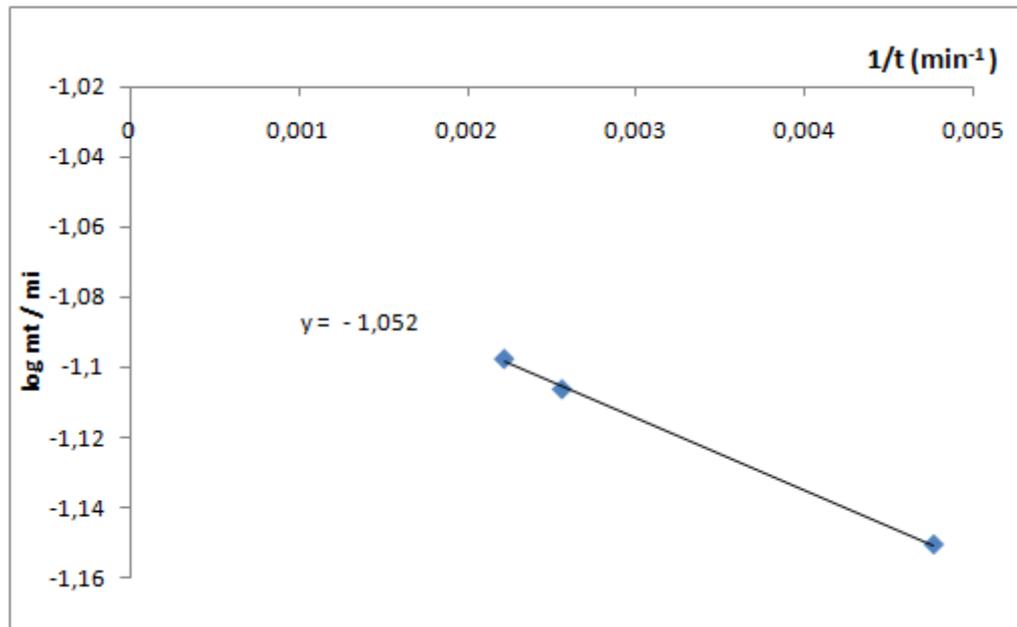


Figure: $\log (m_t/m_i)$ en fonction de $1/t$ de l'AMP libéré par les microsphères d'HPMC dans pH=1,2 (37°C et 500 r.p.m).

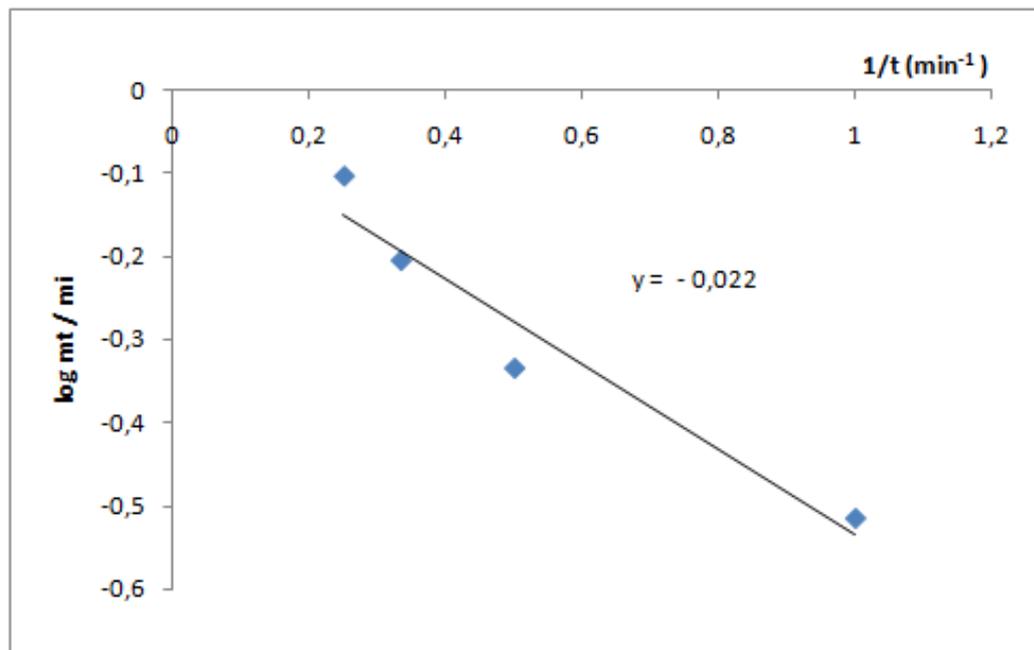


Figure: $\log (m_t/m_i)$ en fonction de $1/t$ de l'AMP libéré par le disque à base d'EC + AMP dans pH=1,2 (37°C et 500 r.p.m).

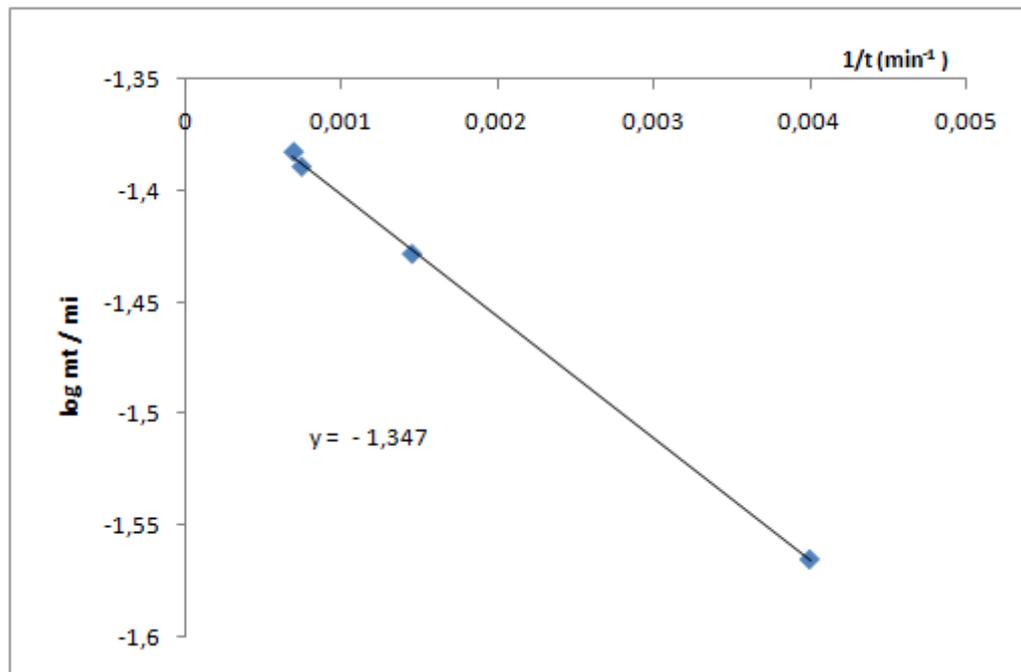


Figure: $\log (m_t/m_i)$ en fonction de $1/t$ de l'AMP libéré par le disque à base des microsphères d'EC dans $\text{pH}=1,2$ (37°C et 500 r.p.m.).

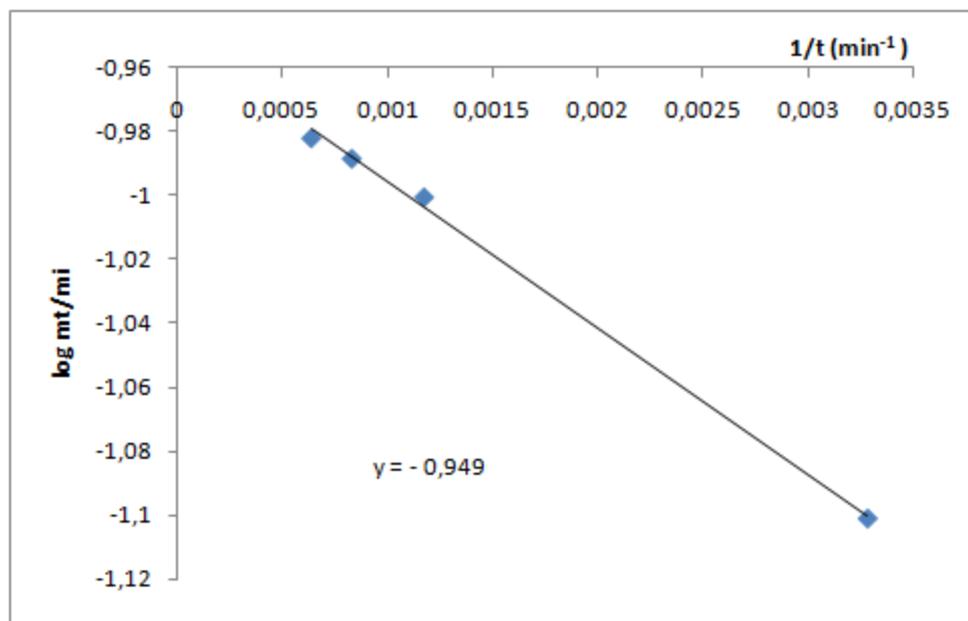


Figure: $\log (m_t/m_i)$ en fonction de $1/t$ de l'AMP libéré par les microsphères d'EC dans $\text{pH}=7,7$ (37°C et 500 r.p.m.).

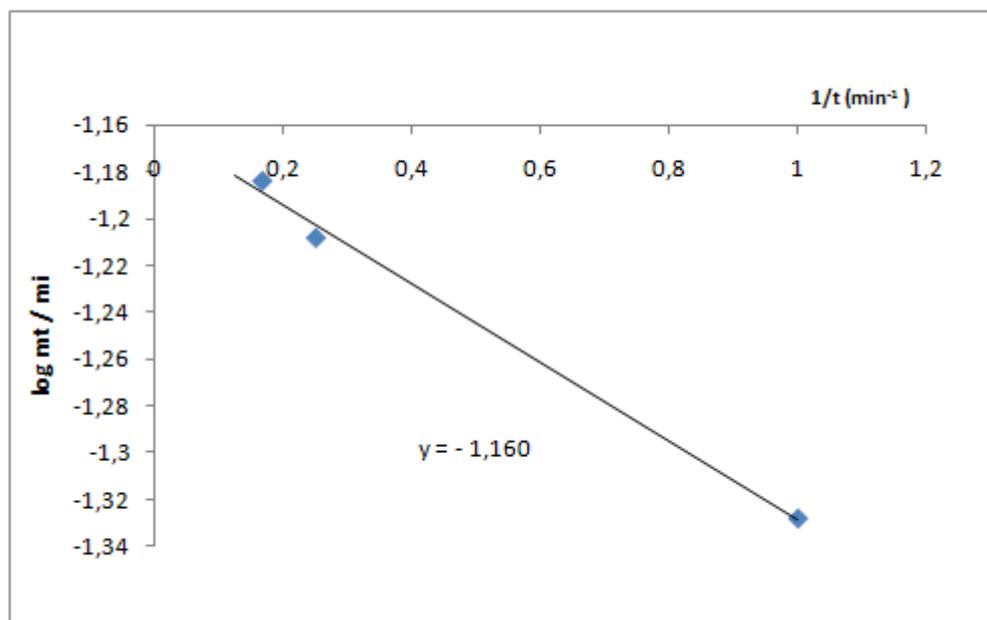


Figure: $\log (m_t/m_i)$ en fonction de $1/t$ de l'AMP libéré par les microsphères d'HPMC dans pH=7,7 (37°C et 500 r.p.m).

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- [1]. Donaruma L G, Vogel O, « Polymeric Drugs », 1978 ; Academic Press ; New-York.
- [2]. Baker R, « Controlled Release of Bioactive Materials », 1980; Academic Press ; New-York.
- [3]. Chien Y W, « New Drug Systems : fundamental developmental concepts and biomedical assessments », 1982, New – York , Marcel Dekker.
- [4]. Duncan R, Kopecek J, Advances in Polymer Science, 1984 ; 57 ; 51-101.
- [5]. Heilmann K, « Therapeutic Systems, Rate Controlled Drug Delivery, Concept and Development » 1984, Stratton, New – York : Thieme.
- [6]. Kopecek J, « Recent Advances in Drug Delivery Systems » 1984, New – York : Plenum Press.
- [7]. Droin A, Channat C, Rollet M, Taverdet J L , Vergnaud J M, Int J Pharm , 1985 ;27 ;233.
- [8]. Bichara A, Monthard J P, Taverdet J L, Die Angewandte Makromolékulare Chemie, 1998 ; 254 ; 47-54.
- [9]. Chafi N, Benghalem A, Mesli A, European Polymer Journal, 2003 ; 39 ; 1063.
- [10]. Kopecek J , Velbrich K, Prog Polym Sci, 1983 ; 9 ; 1.
- [11]. Kasuya Y, Lu Z R , Kopéčhova P, Mniko T, Tabibi S E, Journal of Controlled Release, 2001 ; 74 ; 203.
- [12]. Schiavon O, Pasut G, Moro S , Orsolini P, Guitto A, Veronese F M , European Journal of Medicinal Chemistry, 2004 ; 39 ; 123.
- [13]. Vandamme T, Poncelet D, Subra – Paternault P , « microencapsulation » , 2007, Ed Lavoisier, Paris.
- [14]. Dombroski J R, Donaruma L G , Appl Polym Sc, 1971 ; 15 ; 1219.

- [15]. Van der Does L, Van der Verden P M , Mulder M H V, Smolders C A, J Polym Sci Polym Letters, 1976 ; 14 ; 5.
- [16]. Hueper W C, Archs Path , 1959 ; 67 ; 589.
- [17]. Bischoff F, J Chin Chem Soc, 1972 ; 18(9) ; 869.
- [18].Murtaza G, Ahmad M. Pak. J. Chem. Soc, 2009 ; 31 ; 511.
- [19]. Rowe R C, Sheskey R J, Weller P J « Handbook of Pharmaceutical Excipients », 4th edn., Royal Publishers, London 2003.
- [20].Murtaza G, Ahmad M., Waheed Asghar M., Naeem Aamir M. DARU , 2009 ; 17 ; 209.
- [21].Emeje M. O, Kunle O. O, Ofoefule S. I : AAPS PharmSciTech, 2006, 7(58), E1.
- [22].Colombo P, Adv. Drug Deliv. Rev, 1993 ; 11 ; 37-57.
- [23].Maderuelo C, Zarzuelo A., Lanao J M, J. Control. Release, 2011 ; 154 ; 2-19.
- [24].Shanghai Huiguang Fine Chemical Industry Co.,LTD.products-168066-0-item-218990.
- [25]. J.Richard and J-P.Benoit. Microencapsulation. Techniques de l'Ingénieur,J 2210,2000.
- [26].Boh B, Sumiga B, 2008, RMZ Materials and Geoenvironment, 55 (3),329-344.
- [27].Swapan Kumar Ghosh. Functional Coatings and Microencapsulation: A General Perspective. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. ISBN 3-527-31296-X.
- [28]. Finch CA, Chem. Ind, 1985; 22 ; 752-756.
- [29].Li SP, Kowarski CR, Feld KM , Grim WM, Drug Dev. Ind. Pharm., 1988; 14, 353-376.
- [30]. Failloux N , Contribution of encapsulation on the biodisponibility of retinol.International journal of cosmetic science,2004.
- [31]. Bernard F G, Selim K, Inteaz A, International Journal of Food Sciences and Nutrition, 1999 ; 50, 213-217.
- [32]. Zimmermann H, Current Diabetes Reports, 2007 ; 4 ; 314-320.

- [33]. Aubri J M, Charpentier J C, Dalpont J-P, Julian S ,2013 ; 81-104.
- [34]. Finch, C A., Bodmeier R, J Microencapsulation, 2005; Weinheim 10. 1002/14356007 a16_575.
- [35]. Bédié G K, Turgeon S L. and Makhoul J ; Food Hydrocolloid, 2008 ; 22 ; 836-844.
- [36].Weib G, Knoch A, Laicher A, Stanislaus F, Daniels R, Int J Pharm, 1995 ; 124 ; 87-96.
- [37].Freitas S, Merkle H P, Gander B, J Control Release, 2005 ; 102 ; 313-332.
- [38]. Augustin M A, Hemar Y, Chem Soc Rev, 2009 ; 38 ; 902-912.
- [39].Heidebach T, Forst P, Kulozik U, Food Hydrocolloid, 2009 ; 23 ; 1670-1677
- [40].Silva C M, Ribeiro A J, Figueiredo I V, Goncalves A R, Int J Pharm, 2006 ; 311 ; 1-10.
- [41].Pitaksuteepong T , Davies N M , Tucker L G and Rades T ,Eur J Pharm Biopharm, 2002 ; 53 ; 335-342.
- [42].Zydowicz N , Chaumont P , Soto-Portas M L , J Membrane Sci, 2001 ; 189 ; 41-58.
- [43].Dewettinck K , Huyghebaert A., Trends Food Sci Tech, 1999 ; 10 ; 163-168.
- [44]. Yuliani S , Torley P J, D'Arcy B, Nicholson T, Bhandari B, Food Res Int, 2006 ; 39 ; 318-331.
- [45]. Gurny R , Peppas N A , Harrington D D et Banker G S , Drug Development and Industrial Pharmacy, 1981 ;(7) ;1-25.
- [46]. Freitas S, Merkle H P et Gander B , Journal of Controlled release, 2005 ;102 ;313-332.
- [47]. Li M , Rouaud O et Poncelet D, International Journal of Pharmaceutics, 2008 ;(363) ;26-39.
- [48]. Zambaux M F, Bonneaux F, Gref R, Maincent P, Dellacherie E, Alonso M J, Labrude P et Vigneron C , Journal of Controlled Release, 1998 ; 50 ;31-40.
- [49]. Pistel K F, Bittner B, Koll H , Winter G, et Kissela T, Journal of Controlled Release, 1999 ;59 ;309-325.
- [50].monzer fanun " colloids in biotechnology" 2001 by taylor & francis group LLC.
- [51]. Dichloromethane , fiche de sécurité du Programme International sur la Sécurité des Substances Chimiques , consultée le 9 mai 2009.
- [52]. Lazko J , Etude des mécanismes et de procédé de formation des microparticules à partir des protéines végétales. In Thèse de doctorat, Université de Nantes ;2004.
- [53].Yoon Y , Kinam P , Journal of controlled Release,2004 ;100 ;379-388.

- [54]. Tetty K , Emil B , Bambang S , Arabian Journal of Chemistry, 2012 ;5 ;103-108.
- [55]. Wade A, Well PJ, Handbook of pharmaceutical Excipients, 2nd. Ed. The Pharmaceutical Press, 1997, Washington DC, 186-190.
- [56]. Winkel D R , Hendrick S A, J Pharm.Sci., 1984 ;73 ;115-117.
- [57]. Vuillemin P, Antibiose et symbiose, Association française pour l'avancement des sciences, compte rendu de la 18e session, seconde partie, Notes et mémoires, (11) ; 1890 ; 525-543.
- [58]. Penicillin Man: Alexander Fleming and the Antibiotic Revolution, by Kevin Brown, St Mary's Trust Archivist and Alexander Fleming Laboratory Museum Curator ;2004.
- [59]. The Merck Index-11th edition, 622, 1230.
- [60]. Volmer P J, Chastoney R, Haneke C. Journal of Association of Official Analytical Chemists, 1977 ; 1345-1349.
- [61]. Farag S A, J AOAC Int 1998;81:381-5.
- [62]. Gao M , Zhang P , Hong G, Guan X , Yan G , Deng C i et Zhang X, *Journal of Chromatography A*, In Press, Corrected Proof:–, 2009.
- [63]. Smith K L et Herbig S M ; *Controlled Released*, chapitre 47, 915–935. Van Nostrand Rein- hold, 1992.
- [64]. Baker R W et Lonsdale H K ; *Controlled release : mecanisms and rates*, 15–71. Plenum Press, 1974.
- [65]. Costa P, and Lobo J M S, European Journal of pharmaceutical Sciences, 2001 ; (13)123-133.
- [66]. Higuchi T , J.Pharm. Sci. 84, 1464 (1963).
- [67]. Crank J, « The Mathematics of Diffusion », Clarendon, Oxford, 2nd. Chap.6 ;1975;85-95.
- [68]. Kaczmarek K , & Bellot, J C , Acta Chromatographica, 2003 ;13 ;22-37.

Formulation et caractérisation des microsphères. Etude de la libération de principe actif encapsulé

ملخص: إن هذا البحث يتعلق بالدراسة الحركية للإفراج عن أمبسيلين (AMP) في اوساط غير متجانسة في درجة الحموضة 1.2 و 7.7 و درجة حرارة 37° . لذلك استخدمت تركيبتين خلال هذه الدراسة :
· الإفراج عن AMP من أقراص في الوسط الفسيولوجي.
· الإفراج عن AMP من الجسيمات المجهرية في الوسط الفسيولوجي.
يوضح تطبيق نتائجنا بالحلول التحليلية ل : هيجوتشي أو كرانك أن الإفراج عن أمبسيلين مسير بها ويؤثر على نشرها ويمكن حساب ثابت معدل الإفراج و سرعته في كل حالة .
وتشير هذه النتائج أن تأخير الإفراج ممكن بهذه الصيغ المستعملة.

Résumé: Le travail faisant l'objet de ce mémoire concerne l'étude cinétique de la libération d'ampicilline (AMP) en milieu hétérogène à pH=1,2, pH= 7,7 et T=37°C. Deux formulations ont été utilisées au cours de cette étude :

- Libération d'AMP à partir des disques dispersés dans les pH physiologiques.
- Libération d'AMP à partir des microsphères préparées par évaporation de solvant immergées dans les pH physiologiques.

L'application à nos résultats des solutions analytiques proposées par Crank et Higuchi pour la diffusion démontre que la libération de principe actif (AMP) est réglée par la diffusion ce qui nous permet de déterminer les coefficients de diffusion et les constantes de vitesses dans chaque cas.

Ces résultats laissent envisager un effet retard conséquent pour les formes testées.

Abstract: The aim of this work is the study of the release of ampicillin in heterogeneous medium at pH = 1.2, pH = 7.7 and T = 37 ° C.

Two formulations were used during this study:

- Release of AMP from discs dispersed in physiological pH.
- Release of AMP from the microspheres prepared by solvent evaporation method immersed in pH.

The modelisation of our results with Higuchi's and Crank's equations demonstrates that the release of active agent is controlled by the diffusion. And we can also find the diffusion constants and the rate constant in each case.

This study considers a delay effect for tested forms.

Mots clés : Microencapsulation- Diffusion -Forme pharmaceutique- Lois de Fick et d'Higuchi

Par : *M^{lle} Nour El Wiam AIT HAMMOU & Meriem BEN ALI*

Département de Chimie

Faculté des sciences de la Matière

Université Ibn Khaldoun

- Tiaret -