



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

Mémoire

Présenté par :

Melle KHANE Nihal Hamra

Melle SERGUINE Ibtissam Nour El Houda

Pour obtenir le diplôme de

Master II

Filière : Chimie

Spécialité: Chimie Organique

Sujet :

***Étude de la libération d'amoxicilline aux pH
physiologiques à partir de microparticules
préparées et caractérisées***

Soutenu le :28/06/2018

Devant le jury:

Mr B.DAHO	MAA	Président	UNIV .Tiaret
Mme H.BALEH	MAA	Examinatrice	UNIV. Tiaret
Mme I.ABDELMALEK	MCB	Encadreur	UNIV .Tiaret
Mlle L.BENNABI	MCB	Co-encadreur	UNIV .Tiaret



REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Chimie, Département de Chimie, Université IBN KHALDOUN TIARET.

Tout d'abord, on rend grâce à Allah, le tout puissant, qui nous a donné la force, le courage, la volonté et la patience pour accomplir ce travail.

*En second lieu, on remercie chaleureusement notre promoteur **Mme Ilham ABDELMALEK**, de nous avoir données la possibilité de réaliser ce travail sous Sa suivie et pour le temps qu'elle nous a consacré, sa patience, ses précieux conseils, son soutien tout le long de la réalisation de notre mémoire ainsi que pour sa gentillesse, sa bienveillance et ses qualités profondément humaines qui ont été remarquables.*

*Nous sommes particulièrement reconnaissants à notre co-encadreur **Melle Lamia BENNABI**. Votre immense culture, vos qualités humaines et vos conseils judicieux ont été d'un grand secours dans la conception de ce mémoire. Nous vous prions de trouver ici, l'assurance de nos dévouements et l'expression de notre respectueuse gratitude.*

*Nous sincères remerciements vont à notre président de jury, **Mr B. Dafo**, de nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de notre soutenance.*

*Un grand merci à l'examinatrice de ce mémoire **Mme H. Balesh** pour avoir accepté d'examiner et évaluer notre travail.*

*Nos vifs remerciements à l'ensemble du personnel de laboratoire surtout : **Mlle S. KOUADRIA**, **Mr A. LARBI**, **Mme F.BABOU**, **Mr A. HADIDI** et **Mlle N. SAHNOUNE** pour leur disponibilité et leur soutien durant toute la période de notre expérimentation.*

Nous profitant de l'occasion pour remercier tous ceux qui ont collaboré de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Un grand Merci à tous

Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut.....

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance...

Aussi, c'est tout simplement que je dédie ce projet de fin d'étude ...

*À l'âme de mon frère **ARSLANE**, ton absence nous torture mais les souvenirs des jours heureux apaisent la douleur, que Dieu garde ton âme dans son vaste paradis.*

À mes chers parents, que nulle dédicace ne puisse exprimer mes sincères sentiments.

*À mes ange gardiens : ma sœur **MAHA** et mon frère **ISLAM** je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous, ni la gratitude et ma reconnaissance envers les innombrables et immenses sacrifices que vous avez déployé pour moi*

À mon fiancé, Pour sa présence, son aide et ces précieux conseils, Mon profond amour et respect pour toi.

À ma belle-famille

A ma belle-mère pour son soutien et ces conseils judicieuse.

A ma chère grand-mère, que se modeste travail soit l'expression des vœux que tu n'avais cessé de formuler dans tes prières. Que dieu te préserve santé et longue vie.

NIHAL.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

À très chers parents,

*Qui ont su me donner les ailes nécessaires pour réussir mon
envol dans la vie, tout en sachant la peine qu'ils auraient le jour de
me voir partir au loin...*

À mes frères, à mes sœurs,

*Pour toutes les épreuves que nous avons endurées et aussi
pour toutes les joies que nous avons partagées.*

À toute ma famille et À tous mes amis,

*À tous ceux qui sont de près ou de loin ont
contribué à ma formation, la vie nous a parfois séparés, mais qu'ils
voient ici, le témoignage de toute ma reconnaissance et de mon
amitié.*

IBTISSAM.

Sommaire

Introduction générale.....	01
Chapitre I : Rappels bibliographiques.	
I .1.Généralités sur les formes galéniques	03
I.1.1. Introduction	03
I.1.2. Un médicament.....	03
I.1.3.La forme galénique	04
II. Généralités sur la microencapsulation	05
II .1.Introduction	05
II. 2.Les buts d'encapsulation	06
II .3.Les différents procédés de microencapsulation	07
II.4.La microencapsulation par évaporation du solvant	08
II.5. Les différents domaines d'applications de la microencapsulation	09
III. Les Système de libérations	10
III.1. Introduction	10
III.2.Les différentes formes de libération seront citer dans la suite	11
III.2.1. Les formes à libération accélérée	11
III.2.2. Les formes à libération modifiée	11
III.2.3. Les formes à libération prolongée.....	12
III.2.4.Les formes à libération contrôlée	13
III.2.5. Les formes à libération ciblée.....	14
IV. Les ordres Cinétiques de la libération	15
IV.1. Mathématiques.....	17
IV.2. Traitement mathématique du modèle de diffusion	18
IV.3.Modélisation des cinétiques selon les équations d'Higuchi, de Korsmeyer-Peppas et de Hixon Crowell	20
V. Généralité sur les antibiotiques	22
V.1.Définition d'un antibiotique	22
V.2. Les modes d'action des antibiotiques.....	22
V.3. Sensibilité des bactéries aux antibiotiques	23
V.4. Antibiogramme.....	24
V.4.1.Méthodes de dilution	24
V.4.2. Méthode de la diffusion en disque	26
V.4.2.1. Procédure de diffusion en gélose	27
V.4.2.2. Intérêts pour l'utilisation de la méthode de diffusion par disque ...	30
V.5. Classification des antibiotiques	31
VI. Les β -lactamine.....	32
VII . Amoxicilline	34
VII.1.Procédé d'obtention	34
VIII. Les excipients	36

VIII.1.Le rôle d'excipient	36
VIII.2.Le saccharose	37
VIII.3.Benzoate de sodium	37
VIII.4.Citrate de sodium	38
VIII.5.La silice.....	39
VIII.6.Les aromes	40
VIII.7.L'éthylcellulose	41
Chapitre II : Partie Expérimentale	
I.I. Préparation physico-chimique des microsphères chargée d'amoxicilline.....	42
I.1.1. Les produits.....	42
I.1.2. Matériels utilisées (Dispositif expérimental	42
I.1.3. Formulation des microcapsules.....	43
I.1.4.Méthodes de caractérisation	43
II. Etude cinétique du relargage d'amoxicilline.....	47
II.1. Mode opératoire	47
II .2.Préparation des milieux	48
II .3. Facteurs influençant les transferts de matières	49
II .4. Conditions de mesures	50
II .5.Analyse du principe actif	51
II.5.1. Recherche de λ max.....	51
II .5.2.Courbe d'étalonnage et Calcul de ϵ_{\max}	51
II .5.3. Recherche de l'espèce prédominante d'amoxicilline	52
III .L'activité antibiotique.....	55
III .1.1. Préparation de la suspension.....	55
III.1.2. La méthode de diffusion par disque	55
Chapitre III : résultats et discussions	
III.1. Caractérisation des microparticules.....	56
III.1.1. Détermination de la quantité d'amoxicilline encapsulée.....	56
III.1.2. Les diamètres moyens (μm) et la dispersion des microsphères.....	56
III.1.3. Observation par microscope optique.....	57
III.1.4. Spectroscopie Infrarouge.....	58
III.1.5. microscope électronique à balayage (MEB).....	59
III.1.6. Diffraction des rayons X (DRX)	61
III.2. Etude de la libération d'amoxicilline	62
III.3. Modélisation des cinétiques selon les lois classiques	64
III.3.2. Calcul de m_{∞}	66
III.3.3.Calcul des diffusivités	67
III.3.4. Modélisation des cinétiques par les lois d'Higuchi, korsmeyer_pepass, Hixon_crowell	70
IV. L'activité antibiotique	71
Conclusion générale	73



Introduction Générale

De nos jours les microsciences et les microtechnologies sont un secteur stratégique essentiel, en croissance rapide avec une énorme recherche scientifique. Ce secteur est en effet porteur d'une évolution industrielle majeure qui permet d'organiser la matière à l'échelle des molécules. Les applications sont considérables dans tous les domaines : santé, matériaux, agroalimentaire... Dans le domaine de la santé, le développement de systèmes médicamenteux complexes de taille micrométrique (des microparticules qui permettent la délivrance de médicaments à des doses moins toxiques en raison de leur ciblage privilégié) fait appel à la pharmacie galénique qui est la science et l'art de préparer, de conserver, et de présenter les médicaments. Actuellement, ce terme concerne la totalité des médicaments contenant un principe actif qui nécessite une mise en forme galénique pour son administration. Cette forme existait sous plusieurs présentations mises sur le marché (1).

L'encapsulation est parmi les préparations pharmaceutiques en cours d'élaboration par les grandes firmes médicamenteuses, qui consiste à encapsuler selon un procédé déterminé un principe actif dans une autre matière inactive afin d'améliorer les propriétés de conservation, de présentation et de biodisponibilité (2, 3).

Les recherches développées dans ce domaine sont essentiellement basées sur l'étude expérimentale des procédés d'encapsulation (procédés conduisant à l'inclusion de substances au sein d'un matériau support). Une partie de ces recherches consiste en la mise au point de techniques de caractérisation de ces systèmes (taille, forme, état de surface, stabilité,...) et une autre partie consacre sur les phénomènes de délivrance des agents encapsulés.

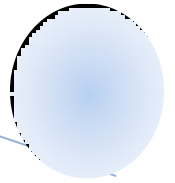
Le but précis de ce mémoire de master est de préparer différentes formulations à base d'une molécule médicamenteuse (l'amoxicilline); ainsi l'étude de la libération à partir des différents systèmes microparticulaires obtenus, la modélisation de ces cinétiques selon les modèles d'Higuchi, de Korsmeyer-Peppas et de Hixon_crowell. et la réalisation de l'activité antibiotique .

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

Introduction Générale



- Le chapitre 1 sera consacré à la présentation d'un rappel bibliographique sur les systèmes des libérations contrôlées, et sur des principaux systèmes d'encapsulation, leurs propriétés ainsi que l'intérêt qu'ils représentent au niveau industriel.
- Nous commençons le chapitre deux par une étude expérimentale de la procédé " la microencapsulation par évaporation de solvant" afin d'étudier l'influence du volume de la phase aqueuse sur les formulations préparées. Les systèmes obtenus sont ensuite caractérisés par IR, Microscopie (Optique et électronique), et DRX. Et on termine cette partie par l'étude de la libération de principe actif encapsulé dans différents milieux d'études, et la réalisation des tests antibactérienne.
- Dans le chapitre trois nous présentons les résultats de synthèse et celle de l'étude de la libération de principe actif à partir des microparticules préparées et les modèles de transfert de matière. Nous discutons enfin les résultats des tests biologiques réalisés.
- Une conclusion générale résumera les principaux résultats obtenus et dressera les propriétés d'avenir qui découlent du présent travail.



I.1.Généralités sur les formes galéniques :

I.1.1.Introduction :

La pharmacie galénique est l'art de formuler un principe actif pour le rendre administrable au patient sous une forme qualifiée de galénique. C'est une science sans laquelle le médicament ne peut exister. Elle s'intéresse aux propriétés physicochimiques des principes actifs et des excipients de façon à ce qu'ils soient compatibles, aux propriétés des matériaux utilisés pour le conditionnement primaire du médicament. La pharmacie galénique s'intéresse aux procédés de pulvérisation, granulation, enrobage, dessiccation, lyophilisation, tamisage, compression... Elle est en lien avec la pharmacocinétique, de façon à la modifier par modification de forme galénique ou d'excipient utilisé. Elle est pour but de trouver pour chaque substance active, la présentation la mieux adaptée au traitement d'une maladie déterminée. Connaître leurs différences permet de mieux les comprendre et de les manipuler correctement(1).

I.1.2.Un médicament :

Un médicament est toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologique, immunologique ou métabolique. Il est aussi un produit complexe dont la partie active ou encore 'drogue' sera aménagée à l'aide d'excipient ou substance auxiliaire pour lui permettre une efficacité optimale.

Un médicament est défini par sa formule galénique qui énumère en qualité et quantité les différents éléments qui entrent dans sa composition, on distingue :

- Le principe actif (PA) : seul ou en association, qui est le support de l'activité thérapeutique
- Les excipients : ou adjuvants ou véhicules ou substances auxiliaires, dépourvus d'activité thérapeutique, qui sont destinés à faciliter la fabrication, l'administration ou la conservation du médicament, on trouve comme excipient :
 - Des liants ou émulsifiants, lubrifiants, délitants, gélifiants...
 - Des colorants
 - Des édulcorants et aromatisants
 - Des conservateurs

I.1.3. La forme galénique :

Correspond à la forme sous laquelle on prend le médicament Galien, médecin grec du 2^{ème} siècle, a donné son nom à la pharmacie galénique, science de la mise en forme des médicaments. Chaque forme galénique présente des spécificités et un usage particulier, il existe sous plusieurs formes (2, 3) :

3. a. Les comprimés :

Ce sont les formes les plus utilisées. En effet, en plus des comprimés normaux, certains comprimés ne doivent surtout pas être écrasés. Il est très important de prendre un verre d'eau pour avaler des comprimés, car cela évite qu'ils ne collent pas à la paroi de l'estomac et provoquent des ulcérations sauf pour certains comprimés à laisser fondre dans la bouche.

3. b. Les gélules :

Ces formes sont utiles pour les médicaments sensibles à la lumière ou qui ont un mauvais goût. Aussi, la prise d'un verre d'eau est très importante pour éviter que la gélule ne colle pas à l'estomac. Certaines gélules à libération prolongée peuvent dans certains cas être ouvertes pour être administrées plus facilement aux personnes ayant des difficultés à déglutir.

3. c. Les formes ophtalmique et forme ORL :

Il s'agit de liquides (collyres) ou de pommades qui sont appliqués directement. Avec ces formes, il est important de bien respecter la durée maximale de conservation après ouverture. Ces préparations peuvent facilement être contaminées par des microbes, de plus, pour éviter quelque contamination, il est vivement recommandé de ne pas toucher l'organe ou la paupière avec l'embout du flacon ou du tube. Le respect d'un intervalle de 15min entre l'application de 2 collyres ou de 2 pommades différents car l'un peut nuire à l'efficacité de l'autre.

3. d. La forme vaginales et formes rectale :

Ces formes sont généralement sensibles à la chaleur et doivent être conservées dans un endroit frais. Ils ont un temps d'action rapide et efficace due à la présence des agonistes sous une forme active.

3. e. Les sirops :

Ce sont des formes liquide déjà préparées, facile à être utilisées par les patients malades, pour toute les catégories dû à la composition bien choisie (gouts et odeur..). Elle peut être des solutions, des suspensions ou des émulsions.

3. f. Formes injectables :

Médicament déposé à l'intérieur des tissus ou dans le torrent circulatoire. Elle doit avoir les propriétés suivantes : stérilité (absence de germe), neutralité (PH le plus proche du PH sanguin), iso-tonicité (même pression osmotique /plasma) solution isotonique, limpidité (solution seulement) solvant aqueux ou huileux. Elles peuvent se retrouver selon plusieurs présentations : solutions, suspensions, émulsions.

3. g. Formes pulmonaires :

Deux actions possibles : **action général** (anesthésie). Gaz (protoxyde d'azote), liquides volatils (anesthésiques halogénés) et **action locale (asthme)** aérosols.....

3. h. Formes cutanées :

Pommades, crèmes, gels ou pates dermiques à appliquer sur peau propre ou plaie nettoyée.

3. i. Formes sublinguales :

Le médicament est croqué ou se délite dans la bouche (sans être avalé)..... Sucé, mastiqué ou laissé fondre qui dissout au contact de la salive son délai d'action est très court.

II. Généralités sur la microencapsulation :

II .1.Introduction :

La microencapsulation regroupe l'ensemble des procédés conduisant à l'obtention de μ particules et ce sont généralement sphériques, creuses (réservoir) ou solides (matrice) et servent à contenir de nombreux types de produits solides ou liquides. La terminologie « microparticules» sous-entend des entités dont le diamètre est compris entre 1 et 1000 μm .
(4).

Les microparticules peuvent se présenter sous deux types de morphologies distinctes (**Figure1**) :

• Les microsphères(Matriciels) :

Qui sont des particules constituées d'un réseau macromoléculaire ou lipidique continu formant une matrice dans laquelle se trouve finement dispersée la matière active. Cette dernière peut se présenter sous forme de fines particules solides ou encore de gouttelettes de solutions.

• Les microcapsules(Réservoirs) :

Qui sont des particules réservoirs constituées d'un cœur de matière active liquide ou solide, entourées d'une enveloppe solide continue de matériau enrobant.

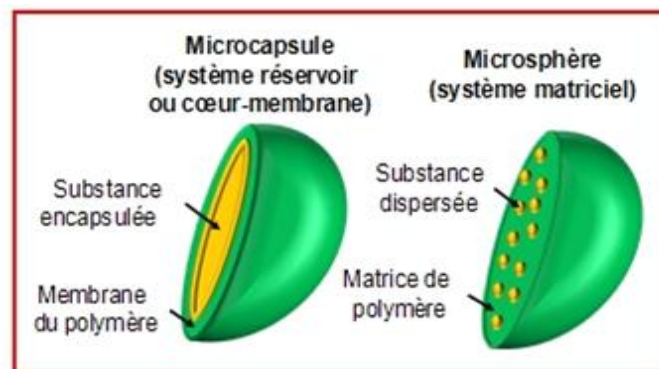


Figure 01: Représentation schématique des 2 Types de microparticules.

II. 2.Les 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 (5).

Ainsi, il existe plusieurs raisons qui expliquent pourquoi les substances peuvent être encapsulées (6,7). 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.

II .3.Les différents procédés de microencapsulation :

Il existe plusieurs manières de classer les procédés de la microencapsulation selon différents critères (8) :

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

Les procédés de la microencapsulation sont classés en 3 catégories selon Richardes et Benoit(8) :

- **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** : 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.

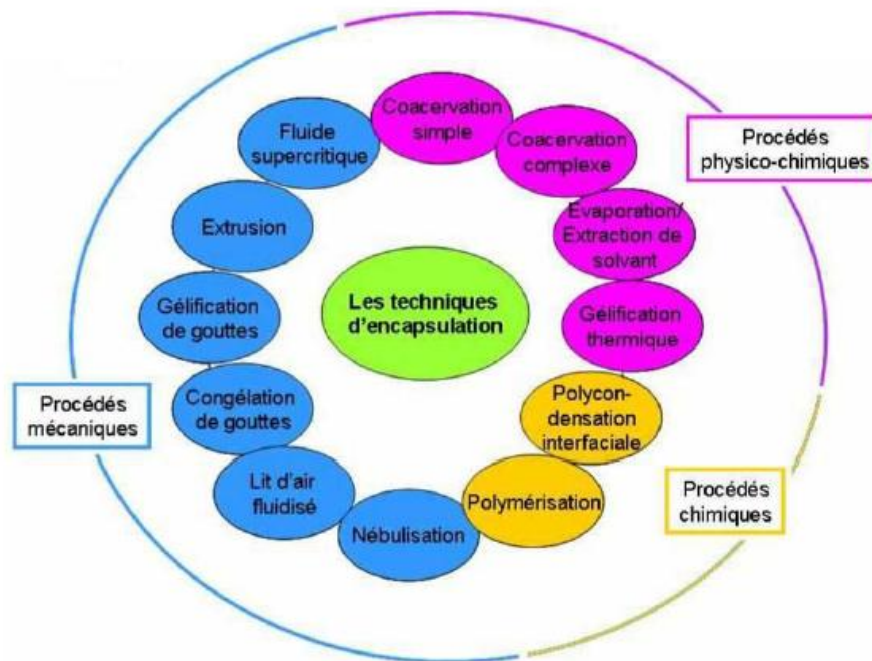


Figure 02 : Les Procédés de la microencapsulation.

II.4. La microencapsulation par évaporation du solvant :

Le procédé de la microencapsulation par évaporation de solvant est une méthode physico-chimique qui est à rattacher à l'extraction de solvant. 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 contrôlées (9).

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 3.1**). La solution organique est dispersée dans le milieu aqueux contenant un agent tensioactif (**Figure 3.2**) 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 3.3**).

La concentration du solvant organique dans la phase intermédiaire diminue au cours du temps par agitation mécanique et le polymère commence à précipiter encapsulant le principe actif (**Figure 3.4**).

Les microparticules sont séparées par filtration (**Figure 3.5**) 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 (8)

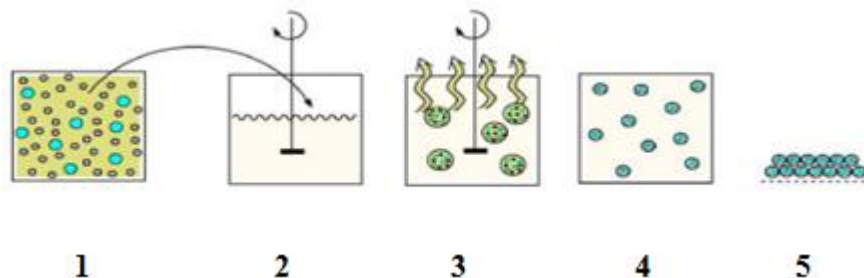


Figure 03: Principe du procédé de la microencapsulation par évaporation du solvant :

(1) matière active dispersée dans la solution organique de polymère, (2) mise en émulsion de la phase organique dans la phase aqueuse, (3) évaporation du solvant organique de la phase dispersée, (4) formation d'enrobage de polymère et (5) séchage des microparticules.

Dans cette technique, l'évaporation de solvants est utilisée pour faciliter la mise en place de la formation des microparticules, elle a aussi comme avantages : un simple équipement, un rendement élevé et les phases évaporées peuvent être récupérées.

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.

II.5. Les différents domaines d'applications de la microencapsulation : La microencapsulation a été développée et appliquée dans de nombreux domaines:

- **Domaine pharmaceutique et médicales :** Les microcapsules sont principalement conçues pour contrôler la durée de la libération du principe actif. Elles sont véhiculées dans le corps, puis par la dispersion et l'infiltration du médicament vers l'endroit ciblé, une concentration propre et une durée spécifique de la libération permettent de donner pleinement les effets du médicament, tels que les Antibiotiques, les enzymes, les analgésiques, les sédatifs, les contraceptifs, les interférons, les sulfonamides (10).

- **Domaine cosmétique:** des microcapsules ont déjà été intégrées dans différentes crèmes, des shampooings, parfums, huiles essentielles, agents mouillants, extraits de plantes, antiseptiques, dissolvant pour vernis à ongles, mousses à raser ou des gels, afin de prolonger la stabilité chimique et microbiologique du principe actif(11,12).
- **Domaine alimentaire:** la microencapsulation est principalement utilisée pour des additifs alimentaires, tels que des arômes, des édulcorants, des colorants, huiles essentielles, des colorants, Extraits de plantes, les antioxydants, les conservateurs, les levures, les enzymes et les microorganismes (11,12).
- **Domaine Agriculture :** herbicides, fongicides, macroéléments, insecticides...
- **Domaine textile:** les microcapsules peuvent rendre des textiles hydratants, désinfectants, parfumés,...etc. Récemment des tissus contenant des microcapsules à base de paraffine permettent d'ajuster automatiquement la température en fonction de la chaleur du corps humain (11,12).
- **Domaine Industrie des détergents :** parfums, agents décolorants, les enzymes, les antistatiques, détachants, silicones, cires... (11,12).
- **Domaine Biotechnologie :** les enzymes immobilisées, complexes multienzymatiques, les cellules artificielles, les cellules vivantes, microorganismes, produits radio-diagnostiques, Adsorbants... (11,12).
- **Domaine Graphisme et peinture :** des colorants, les révélateurs, adhésifs, les composés sensibles à la chaleur, cristaux liquides (11,12)

III. Les Système de libérations :

III.1. Introduction :

Il est important de noter que le principe actif ne peut pas être absorbé plus rapidement, ni plus complètement, qu'il ne s'est préalablement libéré de son support galénique puis dissous dans le milieu biologique du site d'administration.

En thérapeutique, une libération rapide du principe actif est généralement recherchée afin d'obtenir une activité thérapeutique dans un délai court et pour soulager le malade rapidement. Pour ce faire, une forme à libération conventionnelle ou accélérée sera choisie. Cependant, dans certains cas, une libération du principe actif ralentie ou différée

peut être souhaitée afin de prolonger la durée de l'action thérapeutique. C'est dans cette optique, que les formes à libération modifiée ont été développées (13-15).

Les formes à libération modifiée font partie des systèmes de délivrance des médicaments qui englobent tout ou partie d'un dispositif médical visant à améliorer le ratio bénéfice/risque d'un médicament grâce à la maîtrise de la vitesse, du moment ou du site de libération dans l'organisme de la substance pharmacologiquement active (16).

Toutes ces formes sont rendues possibles grâce aux progrès réalisés dans la granulation et à la disponibilité d'une gamme de polymères ayant différentes propriétés physico-chimiques (17).

III.2. Les différentes formes de libération seront citées dans la suite :

III 2.1. Les formes à libération accélérée : Quand on souhaite une action aussi rapide que possible par exemple pour les antalgiques, les comprimés à libération accélérée, bien que d'aspect classique, doivent être dissous ou dispersés dans de l'eau avant administration ou en présence de salive. Ils présentent donc, en complément des avantages des comprimés conventionnels, une biodisponibilité comparable à celle des formes liquides. La première solution est venue des comprimés effervescents dans les années soixante (18).

2.1.a. Les comprimés solubles : Comprimés non enrobés ou comprimés pelliculés destinés à être dissous ou dispersés dans l'eau avant administration. La solution obtenue peut être légèrement opalescente en raison de la présence de substances auxiliaires ajoutées lors de la fabrication de comprimés (19).

2.1. b. Les comprimés dispersibles : Comprimés destinés à être dispersés dans l'eau avant administration en donnant une dispersion homogène. L'essai de désagrégation se fait dans l'eau à 15-25 °C en moins de 3 minutes. Les particules dispersées doivent être assez fines pour passer à travers un tamis de maille maximale de 710 µm (20).

2.1.c. Les comprimés orodispersibles : Ce sont des comprimés non enrobés destinés à être placés dans la bouche où ils se dispersent rapidement avant d'être avalés. Leur formulation basée sur l'introduction de « superdésintégrants » (dérivés amylics, cellulosiques ou de PVP réticulés) qui accélèrent la dissolution ou la dispersion du principe actif par éclatement du comprimé lors de son contact avec l'eau ou avec la salive (18).

III .2. 2. Les formes à libération modifiée : Les comprimés gastro-résistants sont des comprimés à libération modifiée destinés à l'action du suc gastrique et à libérer le ou les principes actifs dans le suc gastrique protégeant contre la dégradation à pH acide.

Les premiers doivent répondre à l'essai de désagrégation et les seconds doivent subir un essai approprié pour démontrer que la libération du ou des principes actifs se fait dans des conditions satisfaisantes (18).

Les substances d'enrobages sont telles que le comprimé ne se délite que dans l'intestin. En général parce que le principe actif serait détruit sous l'action du suc gastrique. Elles doivent être insolubles dans le suc gastrique c'est-à-dire en milieu chlorhydrique mais se dissoudre en milieu neutre ou légèrement alcalin.

Les avantages des formes à libération modifiée sont nombreux:

- Avantage thérapeutique: maintien d'un niveau plasmatique stable du principe actif pendant une période prolongée.
- Réduction des effets secondaires et amélioration de la tolérance (pas de pics de concentration aigus).
- Confort et complaisance du patient (diminution de la fréquence des prises).
- Réduction du coût des soins médicaux (21).

III .2.3. Les formes à libération prolongée : La libération prolongée d'un principe actif est celle pour laquelle la dose unitaire totale est retenue au sein d'un système contrôlant la vitesse de libération. La rétention du principe actif peut être faite par son inclusion dans un excipient insoluble dans les liquides de l'organisme qui forme ainsi une espèce de matrice à partir de laquelle le principe actif sera libéré lentement.

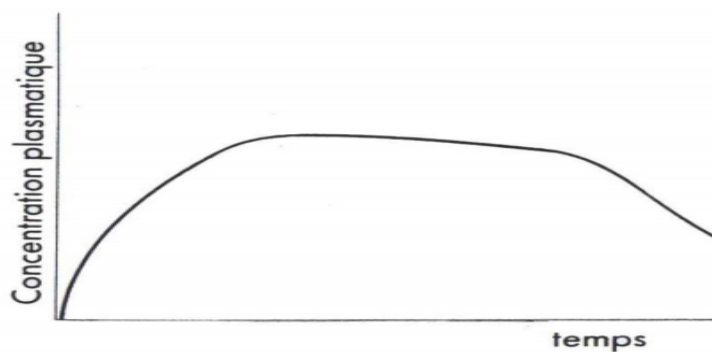


Figure 04 : Représentation du profil de libération prolongée.

La vitesse de libération du principe actif à partir de la forme galénique est plus lente que dans le cas de libération conventionnelle. Cette étape est préalable aux étapes de

dissolution et d'absorption. Elle correspond donc au facteur limitant qui contrôle la dissolution et l'absorption. La durée de cette libération est étalée dans le temps.

Ces formes galéniques, présentent, sans toujours les réunir tous à la fois, plusieurs avantages par rapport aux formes conventionnelles (15).

III .2.3. 1. Avantages

- Diminution du nombre de prises quotidiennes d'où gain de temps en milieu hospitalier, simplification pour le malade.
- Maintien sur un temps prolongé de taux sanguins efficaces pour, des principes actifs de demi-vie relativement courte permettant, par exemple, un traitement continu, même la nuit, sans réveiller le malade, la libération continuant pendant la période nocturne.
- Diminution voire suppression des effets secondaires indésirables provoqués par de fortes concentrations de médicaments libérées rapidement au lieu d'administration ou d'absorption (22, 23).

III .2.3 .2. Inconvénients :

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

- Risque d'accumulation de principe actif si la vitesse d'élimination est lente et si la présence du médicament dans l'organisme est nécessaire 24 heures par jour.
- Difficulté d'interrompre le traitement rapidement en cas d'intoxication grave ou d'intolérance et mal absorbé au niveau du site d'administration ou de libération.
- Risque de toxicité dû au relargage de toute la dose pour les principes actifs de faible index thérapeutique et de toxicité élevée car les vitesses d'absorption, de biotransformation ou d'élimination varient souvent beaucoup d'un sujet à l'autre.

Cette énumération montre bien que toute substance médicamenteuse ne doit pas systématiquement faire l'objet d'une formulation en forme à libération prolongée (22,23).

III.2.4. Les formes à libération contrôlée : La libération contrôlée appelée aussi programmée ou soutenue est une libération prolongée et constante dans le temps ; elle présente un profil qui correspond à une cinétique dite d'ordre zéro(24,25), indépendante du temps. En pratique les frontières ne sont pas bien définies entre libération prolongée, libération soutenue et libération contrôlée (26) et offre plusieurs avantages

comparativement aux formes posologiques menant à des principes de libération traditionnelle. En effet, ces derniers ne contrôlent ni le taux de principe actif relâché, ni l'endroit où la libération s'effectue à cause de la désagrégation rapide de la forme posologique (27).

La technologie de formulation des systèmes de libération contrôlée, quant à elle offre plusieurs moyens d'améliorer la biodisponibilité de molécules actives. En effet, ces systèmes permettent un retardement ou une extension dure lâchement de principes actifs administrés par voie orale, permettent de les protéger contre la dégradation causée par les composantes des fluides biologiques impliquée dans la digestion parce que la désagrégation de la forme posologique est retardée (28).

III.2.4.1. Les différentes formes à libération contrôlée :

4.1.1-Systèmes à libération contrôlée par diffusion :

- Le système réservoir (à membrane).
- Le système matriciel (monolithique).

4.1.2- Systèmes à libération contrôlée par réaction chimique :

- Le système biodégradable.
- Le système à chaînes polymères greffées.

4.1.3- Systèmes à libération contrôlée par activation par le solvant :

- Le système à gonflement.
- Le système à pression osmotique (pompe osmotique).

III.2.4.2. Les avantages de la libération contrôlée sont nombreux:

- La réduction des prises journalières.
- Accroissement du confort du malade.
- Amélioration de l'observance du traitement.
- Diminution des effets secondaires indésirables par suppression des pics plasmatiques.

III .2.5. Les formes à libération ciblée : L'intestin grêle est le site principal pour l'absorption du médicament mais on peut avoir intérêt à provoquer cette absorption au niveau du colon, parce que au niveau du colon, l'activité protéolytique est réduite, cela épargne les principes actifs qui y sont sensibles, le traitement topique des carcinomes et des

maladies inflammatoires de l'intestin nécessite une grande concentration de principe actif à ce niveau-là. On y arrive de deux manières:

- En utilisant des enrobages à dissolution pH dépendante (acétophtalate de cellulose, Eudragit L).
- En utilisant des enrobages à dissolution dépendante du temps (pompe osmotique).

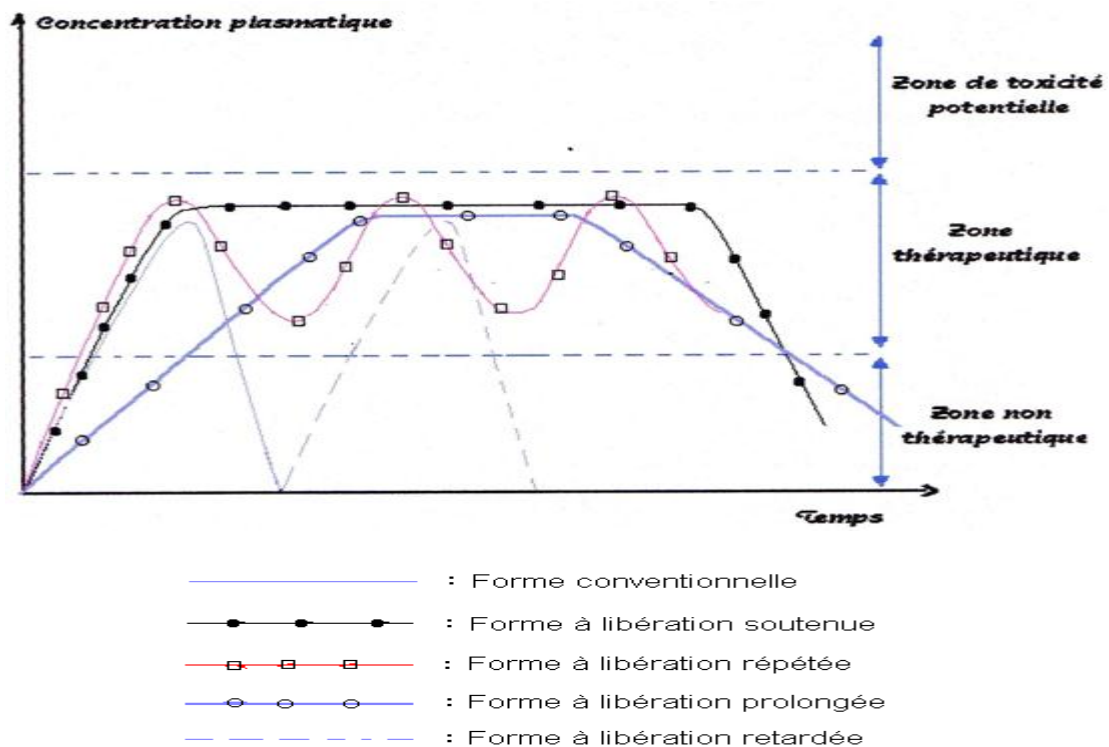


Figure 05 : Profil des concentrations plasmatiques obtenues à partir des différentes formes à libération modifiée.

IV. Les ordres Cinétiques de la libération :

Le système idéal voudrait que l'on obtienne une cinétique de libération d'ordre zéro. Or ce n'est pratiquement jamais le cas car les conditions de diffusion varient généralement au cours du temps avec l'apparition de phénomènes d'érosion, de gonflement ou la création de canaux engendrés par la dissolution progressive du principe actif à l'intérieur de la matrice ou à la surface de l'enrobage (29).

Lorsque la quantité de l'agent actif diffusant à travers la matrice est directement proportionnelle au gradient de concentration, la libération est régie par un ordre 1. Si la diffusion devient indépendante du gradient de concentration, la cinétique peut évoluer vers un ordre 0. Lorsqu'apparaissent les phénomènes de relaxation liés à l'érosion et/ou au

démantèlement des chaînes de polymère, la libération est régie par une loi exponentielle non-Fickienne (30, 31).

Dans certains cas, la libération initiale ne suit jamais une cinétique d'ordre 1.

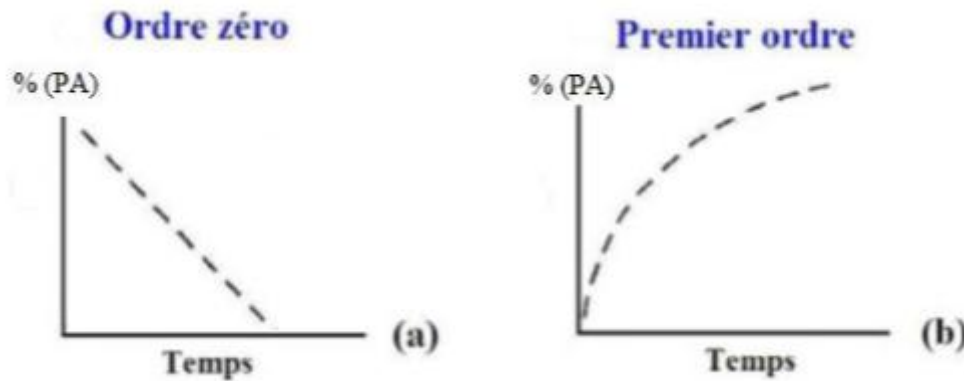


Figure 06 : Cinétiques de libération d'ordre 0 (a) et d'ordre 1 (b) après administration orale d'une forme à libération prolongée.

Comme illustré à la **figure 07**, il arrive qu'une importante quantité de principe actif soit libérée dès que la forme entre en contact avec le liquide de dissolution. Cette importante libération initiale est alors suivie d'une diffusion prolongée du principe actif.

Ce phénomène s'appelle le « burst effect ». Se produisant essentiellement en présence des formes matricielles, il peut être à l'origine d'un échec lors du développement d'une forme à libération prolongée. Même si ce phénomène reste difficilement contrôlable, il est possible de réduire ses effets en augmentant, par exemple, la force de compression, en incorporant des corps gras, des polymères gélifiants de haut poids moléculaire ou en évitant l'utilisation d'agents désintégrant.

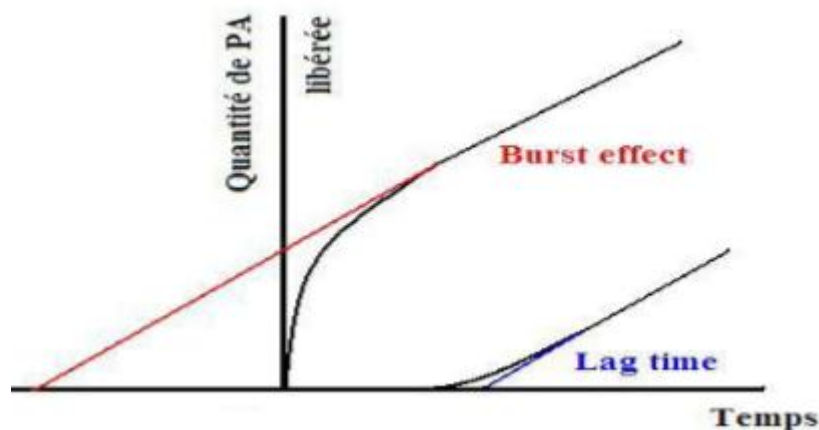


Figure 07 : Représentations graphiques du « Burst effect » et du « Lag time », délai de libération.

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

- Conditions de fabrication : le principe actif peut se concentrer en surface lors de la fabrication ou du stockage de la forme matricielle, surtout lorsqu'il est incorporé en concentration importante. Dans le cas des formes enrobées, de mauvaises conditions de préparation peuvent conduire à une non homogénéité de l'enrobage,
- Manque de cohésion de la matrice : force de compression trop faible, teneur en agent liant insuffisante,
- Hétérogénéité de la matrice : un burst effect peut apparaître si des pores ou des fissures apparaissent à l'intérieur et/ou en surface de la matrice lors de la fabrication.

IV.1. Mathématiques :

Notre travail a porté sur la réalisation de systèmes microparticulaires. Dans ce type de systèmes, la libération est souvent contrôlée par une étape d'ordre diffusionnel suivant les lois fondamentales de Fick portant sur la diffusion de la matière. Nous avons modélisé nos résultats expérimentaux par des modèles qui utilisent les solutions analytiques ou numériques décrites par Crank (32) et permettent de calculer aisément les diffusivités selon les deux cas :

- *Cas simple où la diffusivité est constante :*

Dans ce cas, l'équation de transfert, en régime transitoire, admet une solution analytique en tenant compte d'une condition particulière limite qui est : « l'équilibre des concentrations est atteint à la surface dès que le processus de diffusion démarre ».

L'application de cette solution permet de calculer la masse du liquide transférée et la concentration en tout point de la matière et à tout instant t , en fonction des paramètres caractérisant le phénomène : le rayon de la microparticule, la diffusivité et la capacité d'absorption du liquide par le copolymère matriciel.

- *Cas complexe où la diffusivité est variable :*

Dans ce cas, il n'existe pas de solutions analytiques car le coefficient de diffusion varie en fonction de la concentration. Pour résoudre ce type de phénomène, on fait appel aux solutions numériques, comme par exemple, celles utilisant une méthode de calcul aux différences finies.

Dans ce cas, tous les paramètres intervenant dans le processus de transfert de matières entrent en considération dans la résolution des différentes équations proposées par Cranck (32). Pour cela, et quel que soit le cas, il est nécessaire de faire un petit rappel théorique des lois de Fick. Ce modèle nous a permis de calculer et d'évaluer les différents coefficients de diffusion des principes actifs étudiés.

IV.2. Traitement mathématique du modèle de diffusion :

Selon Fick, la diffusion de la matière dans un milieu isotrope est basée sur l'hypothèse que le flux de matière est proportionnel au gradient de concentration. La première loi de Fick est alors énoncée comme suit (33) :

$$\Phi = -D.S.\frac{\partial C}{\partial X} \tag{1}$$

ϕ est le flux de matière diffusante, C : la concentration de la matière diffusante, X : la distance de transfert normale à la section considérée, S : la surface totale de transfert et D : le coefficient de diffusion (Diffusivité).

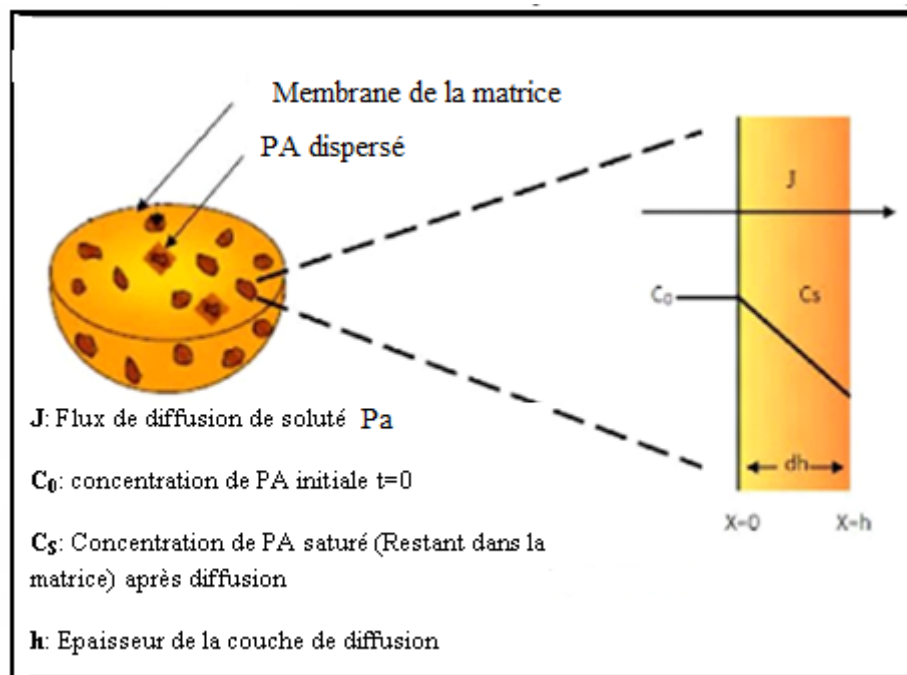


Figure 08 : Représentation schématique d'une paroi matricielle.

La densité de flux J_s est donnée par l'équation suivante :

$$J_s = -D \frac{\partial C}{\partial X} \quad [2]$$

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

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

Appliquons ces deux lois pour les microparticules. La diffusion dans un disque est décrite selon les solutions proposées par Crank pour la résolution des équations de Fick [2] et [3].

Pour les microparticules, le transfert de matière est décrit comme suit :

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

La solution de l'équation (**2ème loi de Fick**) est donnée par l'équation [5] :

$$\frac{C - C_1}{C_0 - C_1} = 1 - \frac{4}{\pi} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{2n+1} \cos \frac{(2n+1)\pi x}{h} \exp \left(-\frac{(2n+1)^2 \pi^2 D t}{h^2} \right) \quad [5]$$

Où C_0 est la concentration finale à l'équilibre supposée atteinte à la surface des microparticules dès l'instant où ces dernières sont en contact avec le liquide diffusant. La diffusion dans les temps courts, si « $M_t / M_\infty < 10\%$ », est exprimée par :

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 4 \left(\frac{Dt}{h^2} \right)^{1/2} \left\{ \pi^{-1/2} + 2 \sum_{n=1}^{\infty} (-1)^n \operatorname{ierfc} \frac{nh}{2\sqrt{Dt}} \right\} \quad [6]$$

L'équation [6] est encore simplifiée au premier terme dans les temps les plus courts de la cinétique :

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 4 \left(\frac{Dt}{\pi h^2} \right)^{1/2} \quad [7]$$

Cette équation simplifiée permet de déterminer le coefficient de diffusion ($D_{t,c}$).

Il est alors calculé à partir de la pente P de la droite $M_t/M_\infty = f(\sqrt{t})$:

$$D_{t,c} = \frac{P^2 h^2 \pi}{16} \quad [8]$$

IV.3. Modélisation des cinétiques de relargage du principe actif selon les équations d'Higuchi et de Korsmeyer-Peppas :

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

Les modèles mathématiques les plus utilisés par les pharmaciens pour décrire la libération des principes actifs des systèmes matriciels sont ceux de Higuchi et Peppas (32-37).

- **Modèle d'Higuchi** : Higuchi a développé des modèles décrivant la libération des principes actifs solubles et peu solubles incorporés dans des matrices solides. L'équation [9] ci-dessous résume le modèle d'Higuchi et elle est connue comme le modèle simplifié d'Higuchi. Selon lui, la libération de médicament dépend de la racine carrée du temps en obéissant à la loi de Fick qui décrit la diffusion.

Cette approche est utilisée pour plusieurs formes pharmaceutiques dont les matrices contenant des principes actifs solubles (38).

$$Q_t = k_H t^{1/2} \quad [9]$$

Q_t : quantité de médicament libéré au temps t.

k_H : constante de libération d'Higuchi.

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

- **Modèle de Korsmeyer-Peppas:** En 1983, Korsmeyer et al (39) donnent une relation simple qui décrit la libération du médicament à partir du système polymère. Ce modèle permet d'attribuer aux cinétiques de libération le type de diffusion sur la base de la valeur de l'exposant n selon l'équation suivante :

$$M_t/M_\infty = k t^n \quad [10]$$

M_t/M_∞ : fraction de médicament libérée au temps t.

k: constante de vitesse de libération.

n : exposant de libération.

Dans ce modèle, la valeur de n caractérise le mécanisme de libération du médicament. Les valeurs donnant le type de mécanisme sont citées (40, 41) :

$n \leq 0,45$: correspond à un mécanisme de diffusion Fickien,

$0,45 < n < 0,89$: transport matière non Fickien,

$n = 0,89$ Cas II (Relaxation) de transport,

$n > 0,89$ Super-Cas II de transport.

- **Modèle d'Hixon- Crowell :** En 1931, Hixon et Crowell ont proposé une équation qui décrit la libération des principes actifs à partir de systèmes où la géométrie reste constante mais la surface change et le diamètre diminue. Cette équation découle du fait que la surface des particules est proportionnelle à la racine cubique de leur volume (42).

$$Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = K_s t$$

Où :

Q_0 : représente la quantité de principe actif initialement introduit dans le vecteur.

Q_t : est la quantité de principe actif restante dans le vecteur à l'instant t

K_s : est une constante incorporant la réaction volume - surface du vecteur.

Ce modèle s'applique généralement aux produits pharmaceutiques à posologie comme les comprimés où la dissolution se fait selon les plans (couches) couvrant directement le principe actif. De ce fait, les dimensions d'un comprimé diminuent proportionnellement de tel sorte que la géométrie initiale reste constante au cours du temps (43).

Pour étudier la cinétique de libération de tels systèmes, les données expérimentales de libération peuvent être tracées sous forme de la racine cubique du pourcentage libéré en fonction du temps

V. Généralité sur les antibiotiques :

V.1. Définition d'un antibiotique :

Un antibiotique, d'après le Dictionnaire de Biologie de Jacques Berthet (44), est "une substance ayant la capacité de tuer les bactéries (effet bactéricide) ou d'inhiber leur multiplication (effet bactériostatique). Ils sont prescrits chez les patients ayant une infection dans n'importe quelles parties du corps, qu'elles soient supposées ou prouvées. Il y a l'antibiothérapie probabiliste et l'antibiothérapie ciblée si l'on sait d'où vient l'infection. 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 (45).

V.2. Les modes d'action des antibiotiques :

Le principe d'action des antibiotiques consiste à bloquer sélectivement une étape d'un mécanisme essentiel à la survie ou à la multiplication des microorganismes. Le mécanisme ciblé par l'antibiotique est le plus souvent spécifique des bactéries et n'a pas d'équivalent chez les eucaryotes et en particulier chez l'homme. Ainsi, idéalement, l'antibiotique tue ou bloque la multiplication des bactéries mais n'a pas d'impact sur les cellules du patient traité. Il existe ainsi quelques grandes familles de mécanisme d'action pour les antibiotiques, ce qui permet de les regrouper en grandes classes décrites ci-après (46) :

- Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne
- Action sur la membrane des cellules
- Inhibition de la synthèse protéique

- Inhibition de la synthèse des acides nucléiques (ADN)

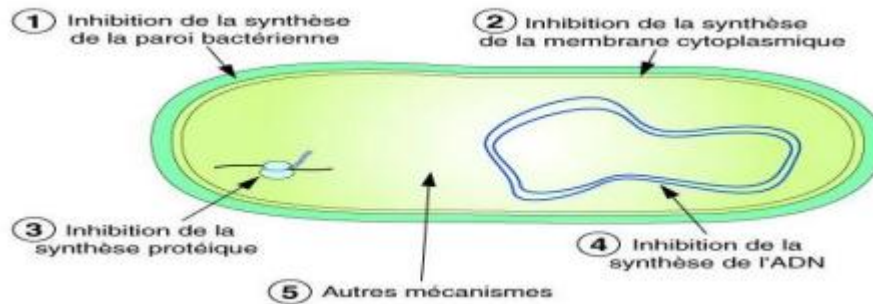


Figure 09 : Schéma représentant les modes de fonctionnement des antibiotiques.

V.3. Sensibilité des bactéries aux antibiotiques :

Deux concentrations ont été définies pour voir la sensibilité des bactéries envers les antibiotiques :

3.1. La Concentration minimale inhibitrice ou CMI : Elle se définit comme la plus faible quantité d'antibiotique nécessaire et suffisante *in vitro* pour inhiber le développement d'une population bactérienne donnée.

3.2. La Concentration minimale bactérienne ou CMB : Elle se définit comme la plus faible concentration d'antibiotique qui tue 99.9 % de la population bactérienne après une incubation de 24 heures à 37°C.

Les antibiotiques sont actifs soit :

- par effet bactériostatique : il s'agit de l'arrêt de la multiplication bactérienne, sans entraîner la mort de la bactérie ; cette action est obtenue lorsque la concentration de l'antibiotique dans l'organisme atteint la valeur de la CMI.

- Soit par bactéricide : il s'agit dans ce cas de la mort bactérienne obtenue lorsque la concentration de l'antibiotique atteint la valeur de la CMB.

Un antibiotique est dit bactéricide lorsque les CMI sont proches des CMB (rapport CMB/CMI voisin de 1).

L'action antibactérienne des antibiotiques *in vivo* dépend de la sensibilité de la souche bactérienne mais également d'autres critères qui peuvent être groupés en deux rubriques :

- la diffusion et la pénétration de l'antibiotique au niveau du foyer infectieux.
- les facteurs propres à la bactérie : dans quelques cas, des populations bactériennes paraissent manifester une véritables « indifférence » vis-à-vis de Concentration pourtant élevées d'antibiotique (47).

V.4 Antibiogramme : L'antibiogramme a pour but de déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) d'une souche bactérienne vis-à-vis de divers antibiotiques. La détermination de cette valeur est peu précise, mais elle est consacrée par l'usage et elle bénéficie d'une masse importante d'informations recueillies à son sujet.

V.4.1.Méthodes de dilution :

Les méthodes de dilution sont effectuées en milieu liquide ou en milieu solide. Elles consistent à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques selon une progression géométrique de raison 2.

A) En milieu liquide : L'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes (méthode de macrodilution) ou de cupules (méthode de microdilution) contenant l'antibiotique. Il reste un tube (contrôle) ou témoin de croissance de la souche à tester. La galerie ainsi préparée sera incubée à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, la CMI est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où aucune croissance n'est visible.

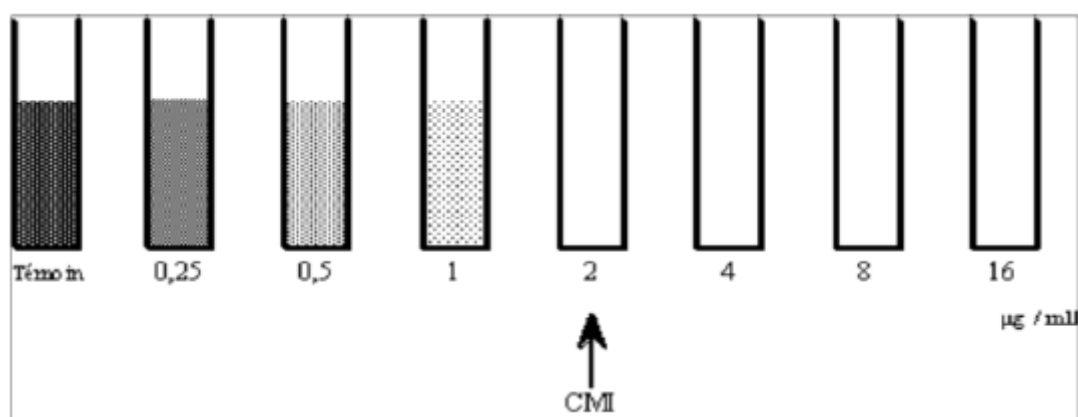


Figure 10 : Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide.

La CMI de la souche testée est de 2 µg/mL (premier tube dans lequel aucune croissance n'est visible à l'oeil nu).

B) En milieu solide : Consiste à incorporer l'antibiotique à une concentration donnée dans la gélose, maintenue liquide à 42°C. Une série de boîtes de Pétri est préparée avec des concentrations d'antibiotique variant selon une progression géométrique de base de 2, comme précédemment. Puis sont préparées les suspensions des différentes bactéries à examiner qui sont alors distribuées dans les microcupules métalliques (exemple d'un système à 20 cupules).

Des tiges métalliques stériles plongent dans chaque cupule. Puis par un mouvement de translation sont déposées les différentes bactéries sous le même volume (de l'ordre du microlitre) à la surface du milieu gélosé ou solide.

Après avoirensemencé la série de boîtes, celles-ci sont incubées dans une étuve jusqu'au lendemain. La lecture est alors effectuée: il est facile de repérer l'emplacement de chaque souche et de noter croissance ou absence de croissance.

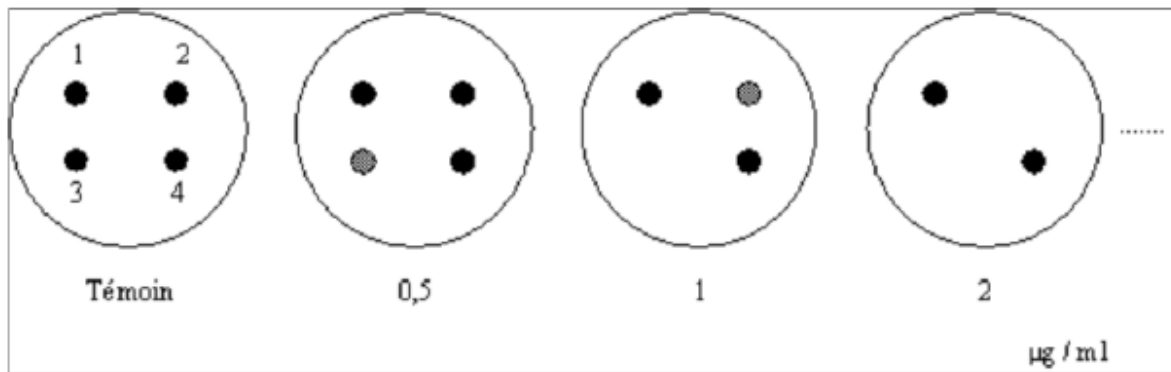


Figure 11 : Détermination de la CMI par dilution en milieu gélosé.

Une boîte de Pétri permet de tester jusqu'à 30 souches différentes. Dans l'exemple présenté ci-dessus, le nombre de souches est limité à quatre.

La CMI de la souche 3 vis-à-vis de l'antibiotique incorporé à la gélose est de $1 \mu \text{g/mL}$.

La CMI de la souche 2 est de $2 \mu \text{g/mL}$. Les déterminations des CMI des souches 1 et 4 nécessiteraient de tester des concentrations plus fortes en antibiotique (48).

✓ **Les avantages de la dilution en gélose comprennent :**

- La capacité de tester plusieurs bactéries sur le même ensemble de boîtes de gélose en même temps (à l'exception des bactéries envahissantes) ;
- Le potentiel d'améliorer l'identification des points finaux de la CMI et de développer la gamme de concentration antibiotique ;
- La possibilité de semi-automatiser la méthode en utilisant un appareil de réplique des inoculum. Des appareils de réplique des inoculum sont disponibles

commerciallement et ils peuvent transférer entre 32 et 36 inoculums bactériens différents sur chaque boîte de gélose (49).

V.4.2. Méthode de la diffusion en disque :

La diffusion en disque se réfère à la diffusion d'un agent antimicrobien d'une concentration spécifique à partir de disques, tablettes ou bandes, dans le milieu de culture solide, qui a été ensemencé avec l'inoculum choisi et isolé en culture pure. La diffusion en disque est basée sur la détermination d'une zone d'inhibition proportionnelle à la sensibilité bactérienne à l'antimicrobien présent dans le disque.

La diffusion de l'agent antimicrobien dans le milieu de culture ensemencé résulte d'un gradient de l'antimicrobien. Quand la concentration de l'antimicrobien devient si diluée qu'il ne peut plus inhiber la croissance de la bactérie testée, la zone d'inhibition est démarquée. Le diamètre de cette zone d'inhibition autour du disque d'antimicrobien est corrélée avec la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour la combinaison particulière bactérie / antimicrobien, la zone d'inhibition correspond inversement à la CMI de l'essai.

Généralement, plus la zone d'inhibition est importante, plus la concentration d'antimicrobien nécessaire pour inhiber la croissance bactérienne des organismes est faible. Cependant, cela dépend de la concentration d'antibiotique contenue dans le disque et de sa diffusibilité.

Note : Les essais de diffusion en disque qui sont basés uniquement sur la présence ou l'absence d'une zone d'inhibition en négligeant la taille de la zone d'inhibition ne sont pas acceptables pour les méthodologies AST (50).

V.4.2.1. Procédure de diffusion en gélose (51, 52) :

La méthode de diffusion en milieu gélosé présentée dans ce chapitre a été standardisée par le Comité national des normes pour laboratoires cliniques (NCCLS) et elle est exécutée exactement comme l'indique le protocole ci-après.

- **Gélose de Mueller-Hinton :** La gélose de Mueller-Hinton est le seul milieu de culture solide pour l'étude de sensibilité qui ait été validé par le NCCLS. Il est recommandé de toujours utiliser la gélose Mueller-Hinton pour les épreuves de diffusion en gélose, en fonction des directives internationales et du NCCLS. Étant donné que la manière dont la gélose Mueller-Hinton est préparée peut affecter les résultats de la procédure de diffusion par disque, il est très important de se reporter à

la section C ci-après pour des instructions sur la préparation et le contrôle de qualité de ce milieu (52).

- **Préparation du standard de turbidité McFarland** : Un standard de McFarland 0,5 doit être préparé et un contrôle de la qualité sera effectué avant de commencer le test de sensibilité. S'il est hermétiquement fermé et gardé dans le noir, le standard peut être conservé pendant 6 mois. Le standard McFarland est utilisé pour ajuster la turbidité de l'inoculum pour le test de sensibilité.
- **Préparation de l'inoculum** : Chaque culture doit être ensemencée en stries sur une gélose non inhibitrice (gélose au sang, gélose d'infusion de cœur et de cerveau ou gélose trypticase soja) pour obtenir des colonies isolées. Après une incubation d'une nuit à une température comprise entre 35 et 37°C, choisir 4 à 5 colonies bien isolées avec une anse ou une aiguille d'inoculation et les transférer dans un tube de solution salée stérile ou dans un bouillon non sélectif (bouillon de Mueller-Hinton, bouillon d'infusion de cœur ou trypticase soja).

Émulsionner une quantité suffisante de culture bactérienne dans la solution salée ou le bouillon pour que la turbidité avoisine celle du standard McFarland 0,5. Cette comparaison peut être faite plus facilement si les tubes sont observés contre une fiche de papier blanc avec lignes noires (voir Figures III.24). Si c'est nécessaire, la turbidité peut être diminuée en ajoutant plus de solution saline stérile ou de bouillon.

La méthode de culture peut aussi être utilisée pour préparer l'inoculum. Quatre ou cinq colonies issues de la culture développée pendant une nuit sur la gélose sont inoculées dans le bouillon (bouillon de Mueller-Hinton, infusion de cœur ou bouillon trypticase soja). Incuber le bouillon à 35°C jusqu'à ce qu'il devienne trouble et ensuite ajuster la turbidité à la bonne densité.

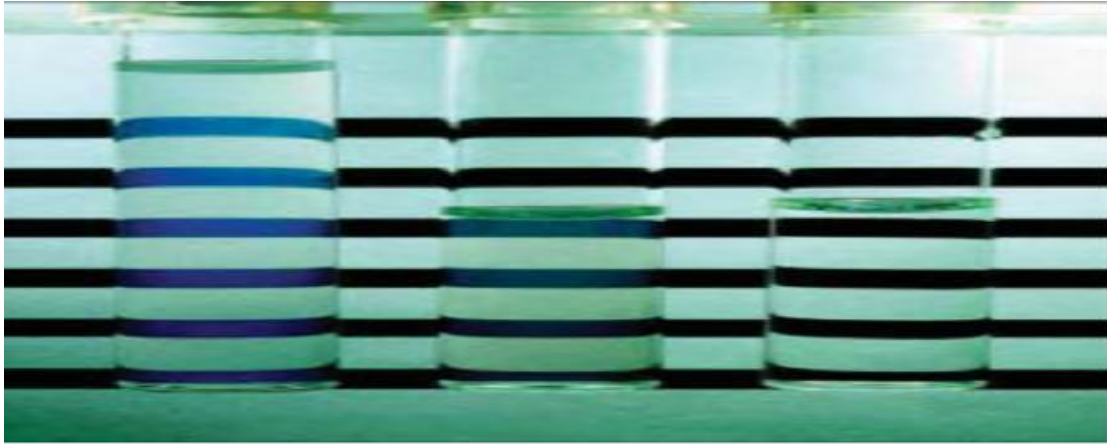


Figure 12 : Comparaison de McFarland 0,5 avec la suspension de l'inoculum. De gauche à droite, les tubes sont le standard McFarland 0,5, E. Coli ATCC 25922 ajusté à la turbidité McFarland 0,5 et la solution saline non inoculée

- **Procédure d'inoculation** : Dans les 15 minutes suivant l'ajustement de la turbidité de la suspension servant d'inoculum, tremper un écouvillon de coton dans la suspension. Presser fermement contre la paroi intérieure du tube juste au-dessus du niveau du liquide, tourner l'écouvillon pour enlever les liquides excédentaires. Étaler à trois reprises sur la surface entière de la gélose, en tournant la boîte à environ 60° après chaque application pour obtenir une distribution égale de l'inoculum (Figure III.25). Enfin, écouvillonner partout autour du bord de la surface de la gélose.

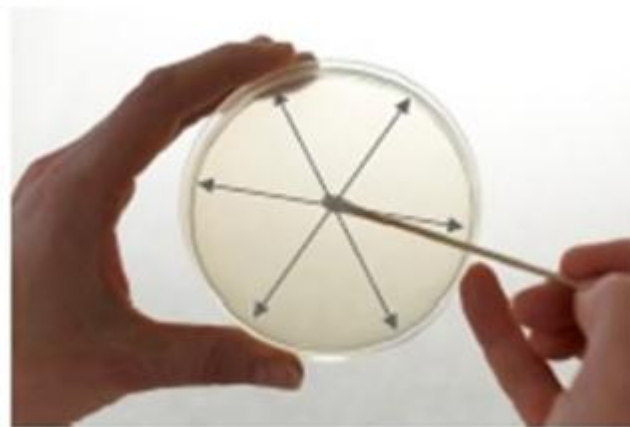


Figure 13: Inoculation des boîtes de Petri

- **Disques imprégnés d'antibiotiques** : Les réserves de disques imprégnés d'antibiotiques doivent être gardées au réfrigérateur (4°C). Une fois les disques retirés du réfrigérateur, laissés à température ambiante, les récipients fermés pendant environ une heure pour permettre à la température de s'équilibrer. Cela limite la condensation qui se produit quand l'air entre en contact avec les disques. Si on utilise

un distributeur, son couvercle doit fermer et parfaitement il doit être conservé au réfrigérateur. Il faut également le laisser se réchauffer à température ambiante avant l'utilisation.

Appliquer les disques d'antibiotiques sur les boîtes de Pétri dès que possible mais pas plus de 15 minutes après l'inoculation. Placer les disques individuellement avec des pinces stériles ou avec un distributeur mécanique et les placer doucement contre la gélose. En général, il ne faut pas placer plus de 12 disques sur une boîte de 150 mm et pas plus de 4 disques sur une boîte de 100 mm. Cela évite le chevauchement des zones d'inhibition et une erreur possible de mesurer. Certains antimicrobiens du disque diffusent presque immédiatement et par conséquent, une fois que le disque entre en contact avec la surface de la gélose, il ne doit plus être déplacé.

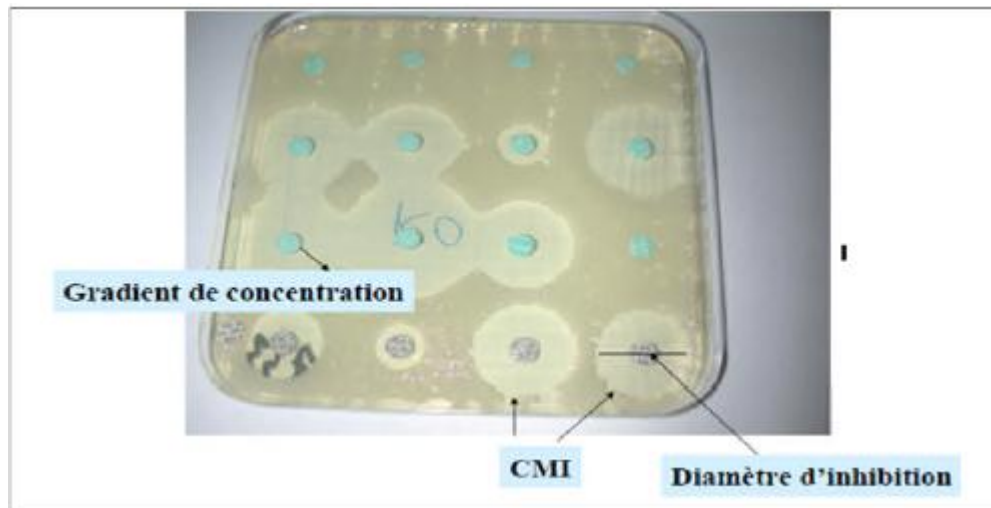


Figure 14 : Application des disques d'antibiotiques.

- **Lecture et interprétation des résultats :** Une fois que les disques sont placés sur la gélose, il faut incuber la boîte à 35°C pendant 16 à 18 heures. Après une nuit d'incubation, le diamètre de chaque zone d'inhibition (diamètre du disque compris) est mesuré en mm et noté. Les mesures peuvent être prises avec une règle sur le fond de la boîte sans enlever le couvercle.

Dans la pratique, les résultats de la technique des disques doivent être considérés comme uniquement qualitatifs en raison de la variabilité expérimentale des diamètres et de l'erreur sur les valeurs de la pente et de l'ordonnée à l'origine des droites de régression. Ces droites de concordance sont tracées expérimentalement à l'aide de nombreuses souches.

En général, on utilise un minimum de 100 souches appartenant au moins à quatre genres bactériens différents.

Une droite de concordance n'est valable que pour un disque contenant une quantité déterminée d'un antibiotique donné.

Les zones d'inhibition doivent être comparées au tableau d'interprétation des tailles des zones et notées en fonction des catégories suivantes : sensible (S), intermédiaire (I) et résistant (R) pour chaque antibiotique testé.



Figure 15 : Lecture des zones d'inhibition.

V.4.2.2. Intérêts pour l'utilisation de la méthode de diffusion par disque :

La diffusion en disque est facile à mettre en oeuvre, reproductible et ne nécessite pas d'équipement onéreux. Ses principaux avantages sont :

- Un faible coût ;
- Une facilité de modification des disques antimicrobiens si nécessaire ;
- Elle peut être utilisée comme test de tri lorsqu'il y a un grand nombre d'isolats ;
- Elle peut identifier un sous-groupe d'isolats destinés à des tests ultérieurs par d'autres méthodes, telle que la détermination de la CMI.

La mesure manuelle des zones de d'inhibition peut prendre du temps. Les dispositifs automatisés avec zone de lecture sont disponibles et peuvent être intégrés avec le rapport de laboratoire et les systèmes de manipulation de données. Les disques devraient être distribués également de sorte que les zones d'inhibition autour des disques antimicrobiens dans l'essai de diffusion en disque ne se chevauchent pas et qu'ainsi la zone d'inhibition puisse être déterminée. Généralement cela peut être effectué si les disques sont distants d'au moins 24 mm de centre à centre, bien que cela dépende de la concentration du disque et de la capacité de l'antimicrobien à diffuser dans la gélose (53).

V.5. Classification des antibiotiques :

Pour pouvoir mieux connaître les antibiotiques afin qu'ils soient utilisés à bon escient, on a procédé à leur classification selon certains critères :

- Les antibiotiques ayant une même structure chimiques, à l'origine de leur mécanisme d'action, se classent dans une même famille ;
- au sein d'une même famille, les antibiotiques peuvent se différencier par leur spectre d'activité et sont réunis alors dans des groupes ;
- au sein d'un même groupe, l'activité antimicrobienne est identique mais les antibiotiques peuvent se différencier par leur propriété pharmacologique ou leur tolérance. (54)

On a 5 grandes familles des antibiotiques :

- ✓ **β - lactamines** : Les bêta lactamines constituent la famille d'antibiotiques la plus utilisée en antibiothérapie. Ils représentent une vaste famille d'antibiotiques bactéricides qui possèdent comme structure de base le cycle bêta-lactame
- ✓ **Glycopeptides** : Les antibiotiques importants que renferme cette famille sont la Vancomycine et Teicoplanine. Ces deux molécules n'agissent que sur les bactéries à Gram positif en inhibant la synthèse du peptidoglycane et donc la croissance des bactéries (55)
- ✓ **Aminosides** : Leur structure est à base de sucres aminés Les principales molécules sont : Streptomycine, Gentamicine, Netilmicine, Tobramycine, Amikacine. Est un antibiotique bactéricide. Ils se fixent de façon irréversible sur le ribosome des bactéries et inhibent la traduction en provoquant des erreurs de lecture de l'ARN messenger (56).
- ✓ **Macrolides** : Les antibiotiques macrolides sont caractérisés par le cycle lactone relié aux molécules de sucres .Il y a une grande variété d'antibiotiques macrolides, le plus connu est l'érythromycine. Il est un inhibiteur de synthèse de protéine au niveau de la sous-unité 50S du ribosome (bactériostatiques (57).
- ✓ **Quinolones** : Les quinolones sont des antibiotiques bactéricides à large spectre, on distingue les antibiotiques de :

- 1ère génération : Acide nalidixique ;
- 2ème génération : fluoroquinolones : Norfloxacin, Ofloxacin, Ciprofloxacin ;
- 3ème génération : Lévofoxacin, Moxifloxacin (**58**).

VI. Les β -lactamines :

Les β -lactamines constituent la famille d'antibiotique la plus vaste et la plus importante, aussi bien par le nombre que par la diversité des molécules utilisables par leurs indications en thérapeutique et en prophylaxie des infections bactériennes. Cette famille comprend un grand nombre de molécules, toutes caractérisées par une structure de base : le noyau de base est le cycle β -lactame (**59**).

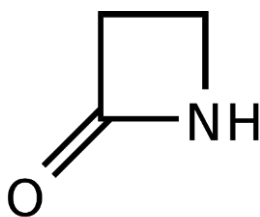


Figure16 : Cycle β -lactame

Elles partagent une structure commune qui comprend de façon constante un cycle β -lactame et, pour la plupart d'entre elles, un second cycle (**Figure I.16**). Ainsi, en fonction des cycles et des chaînes latérales associées, on distingue (**59**):

- Les pénicillines également appelées les pénames : les molécules de ce groupe possèdent un cycle thiazolidine accolé au noyau β -lactame. Elles diffèrent par la nature de leur chaîne latérale (**60**).
- Les céphalosporines : constituées d'un noyau β -lactame associé à un noyau dihydrothiazine (**61**).
- Les carbapénèmes : se distinguent des pénicillines par la présence d'un atome de carbone au lieu d'un soufre en position 1 et une liaison insaturée en C2-C3, également présentée sur les céphalosporines
- (**62**).
- Les monobactames : le noyau est limité au cycle β -lactame. Seul l'aztréonam est à l'heure actuelle utilisé en clinique humaine (**57**).

- Les clavames : leur représentant est l'acide clavulanique. Ces molécules sont des inhibiteurs β -lactamases, ayant une structure de pénicilline mais dépourvues d'activité antibiotique significative, ont la propriété de se lier à certaines β -lactamases et de les inhiber de manière irréversible (63).

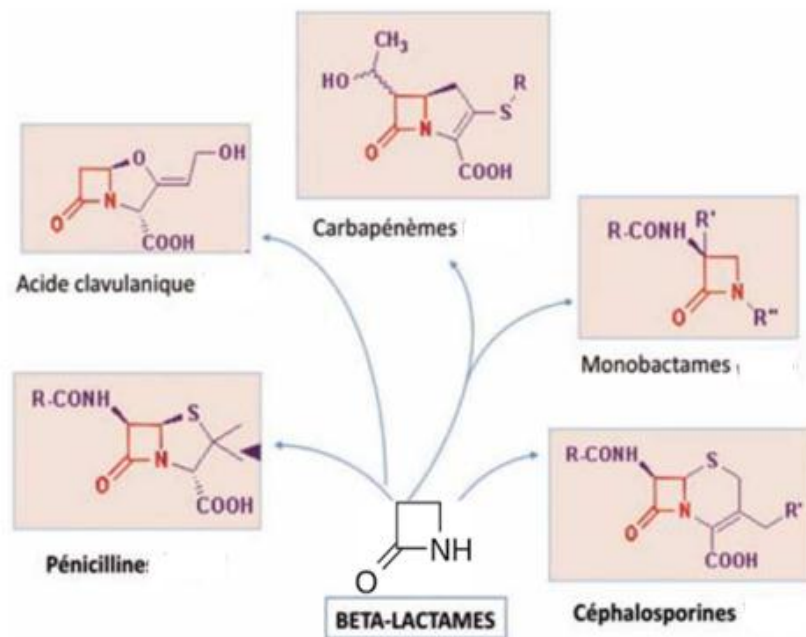


Figure 17 : Classification des β -lactamines.

VII. Amoxicilline :

L'amoxicilline est une molécule dont la masse moléculaire est de 365,4 g/mol .Tel qu'illustré à la figure ci-dessous, elle possède trois groupements ionisables : le groupement acide carboxylique COOH sur le cycle thiazolidine, le groupement hydroxyle OH du cycle para-hydroxyphényle et le groupement amine primaire sur la chaîne latérale du cycle β -lactame (64)

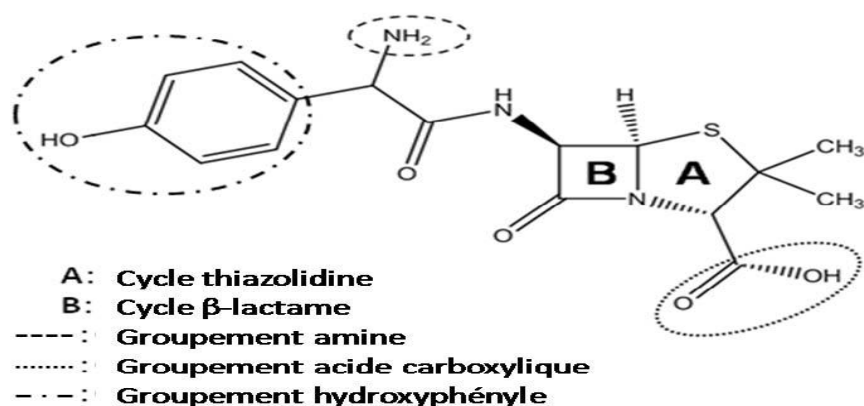


Figure 18 : Structure semi-développée de l'amoxicilline.

La structure des pénicillines dérive du noyau péname, qui comporte un cycle azétidine-2-one. L'acide 6-aminopénicillanique (6-APA) constitue la structure de base des pénicillines, la substitution par acylation de la fonction amine conduisant à des dérivés se distinguant par leur pharmacocinétique, leur stabilité, le spectre antibiotique et la résistance aux β -lactamine

VII.1.Procédé d'obtention :

Au niveau des productions industrielles décrites dans la littérature, les procédés d'obtention de l'amoxicilline trihydratée à partir de l'intermédiaire clé 6-APA sont chimiques ou enzymatiques (65). Le 6-APA est quant à lui obtenu à partir de pénicilline G (PEN G / Benzyl-pénicilline) après rupture de la liaison amide [-CONH-], via l'utilisation de méthodes enzymatiques ou chimiques.

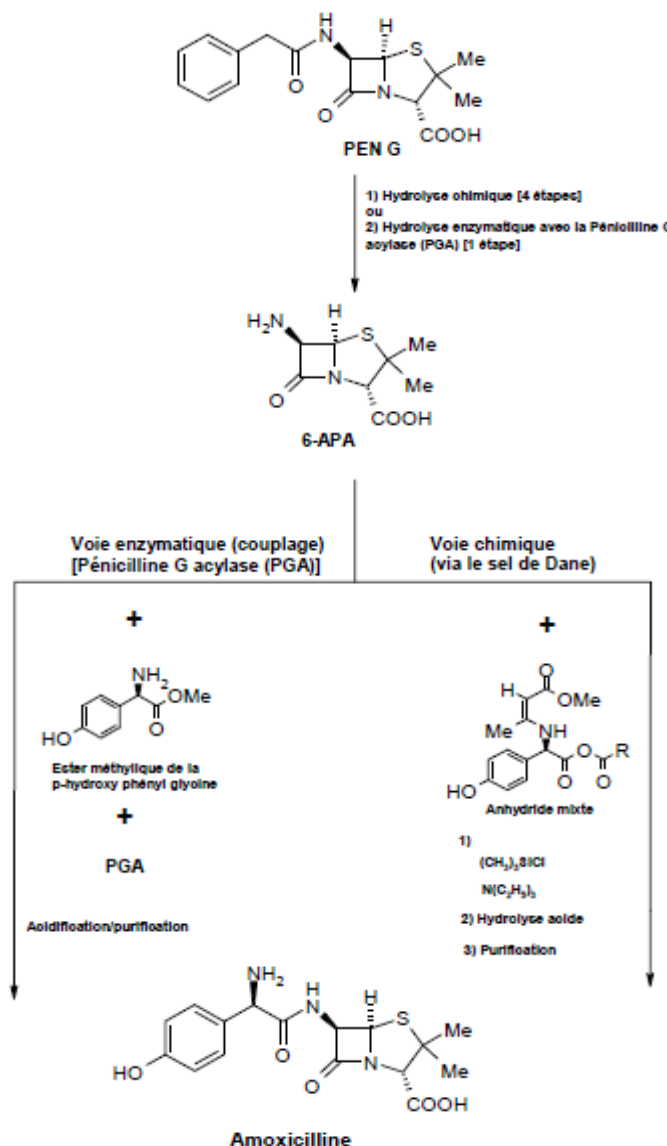


Figure 19: exemple de procédés d'obtention de l'amoxicilline

Les méthodes d'obtention classiques par voie chimique (via le sel de Dane) de l'amoxicilline impliquent typiquement plus de 10 étapes, nécessitent des températures réactionnelles basses (-30°C), et utilisent des solvants toxiques comme le chlorure de méthylène ainsi que des réactifs de silylation. Il est reporté que la production d'un kilogramme d'amoxicilline génère jusqu'à environ 70 kg de déchets non recyclables (66). au contraire, les méthodes enzymatiques nécessitent beaucoup moins d'étapes, utilisent des conditions réactionnelles plus douces, et génèrent moins de déchets. Cette dernière approche est en voie d'implantation pour les productions industrielles : la synthèse enzymatique est utilisée par (De Staats Mijnen) depuis 2006, et le sera prochainement par (GlaxoSmithKline) sur son site de Singapour (67) Il est à noter dans la littérature des essais d'obtention «one-pot» d'amoxicilline directement à partir de PEN G7.

De nombreuses voies de synthèse d'Amoxicilline sodique à partir d'amoxicilline trihydratée sont décrites dans la littérature (par exemple traitement par l'hydroxyde de sodium, ou le 2-éthyl hexanoate de sodium, ou le diéthyl oxaloacétate de sodium) (68).

L'amoxicilline est une molécule amphotère : les valeurs de pKa de ces groupes donateurs de protons respectivement (-COOH et -OH) et celui de son groupe receveur de protons (-NH₂) sont respectivement de 2,4 et 7,4 et 9,6 (69) Le point isoélectrique (pI) est la valeur de pH à laquelle la charge nette de la molécule est nulle. Sa valeur pour l'amoxicilline est égale à 6,0 car la valeur de pKa du groupement hydroxyle n'est pas prise en compte étant donné sa proximité avec la valeur du pH sanguin.

Cette valeur de pI indique qu'une grande proportion des molécules d'amoxicilline présentes dans le plasma et en proximité immédiate avec les microvillosités de l'intestin grêle posséderaient une charge ionique neutre, ce qui favoriserait leur diffusion transmembranaire et, par conséquent, leur absorption intestinale et leur diffusion extravasculaire

VIII. Les excipients :

Les excipients, nommés également « véhicules » ou « adjuvants », sont des substances inactives par elles-mêmes, mais qui facilitent l'administration et la conservation du principe médicamenteux. Une des qualités principales recherchées pour un excipient est son inertie ; en effet, il doit être dans la mesure du possible, inerte vis-à-vis des PA, des matériaux de conditionnement et de l'organisme (70).

Tout composant autre que le(s) principe(s) actif (s) présent dans un médicament, on utilise pour sa fabrication, la fonction d'un excipient est de servir le vecteur « véhicule ou base » ou principe actif, on entre dans la composition du vecteur contribuant à certaines produit tel que, la stabilité, l'aspect et l'acceptabilité pour le patient. Le médicament contient un ensemble d'excipient.

VIII.1.Le rôle d'excipient :

- Le transport du principe actif vers la cellule malade.
 - La protection du principe actif lors de l'administration.
 - Les excipients améliorent l'efficacité du principe actif: c'est le cas d'un excipient pour forme à libération prolongée qui augmente la durée d'activité.
- dans cette partie, on va présenter les excipients utilisés dans notre travail.
-

VIII.2. Le saccharose :

Le saccharose, notre sucre de table habituel, est un disaccharide de formule $C_{12}H_{22}O_{11}$ constitué d'une unité glucose (cycle à 6 atomes) et d'une unité fructose (cycle à 5 atomes), isomères de structure $C_6H_{12}O_6$. Son nom chimique est le β -D-fructofuranosyl-(2 \leftrightarrow 1) α -D-glucopyranoside. Avec une production mondiale de l'ordre de 170 Mt/an, c'est la première molécule organique de l'industrie (71).

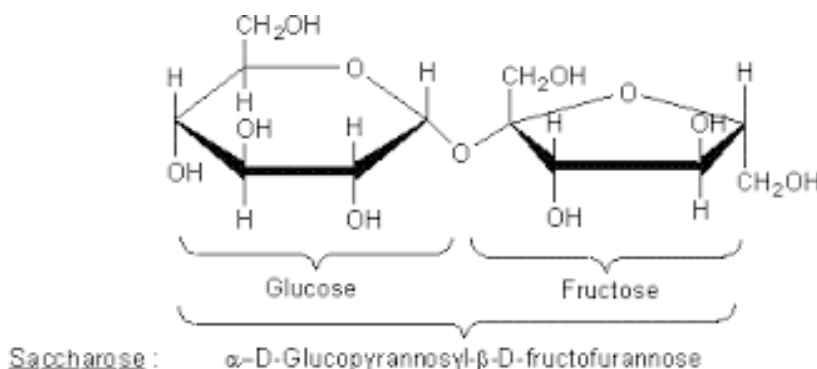


Figure 20 : structure chimique du saccharose.

La majorité des comprimés sont sans sucre (notamment ceux du **diabète**), plusieurs produits contiennent du lactose au pouvoir sucrant 1000 fois moins élevé que le saccharose...ou du sorbitol, du mannitol, du lactitol moins nocif pour vous, sans oublier les édulcorants comme l'**aspartam**. Ceci pour masquer le mauvais goût des substances chimiques, et parfois pour optimiser l'action des principes actifs. Les granules homéopathiques contiennent 0,21 g de saccharose pour 5 granules, une dose 0,85 g de saccharose, ce qui est peu, sachant qu'un morceau de sucre fait 5 g (72).

VIII.3. Benzoate de sodium :

Le benzoate de sodium a pour formule chimique $NaC_7H_5O_2$ ou $C_6H_5COO^- ; Na^+$. Il s'agit du sel de sodium de l'acide benzoïque qui a pour formule C_6H_5COOH . Le benzoate de sodium est une base faible ($pK_a = 4,2$) ayant pour solubilité 630g/L à 20°C. Le benzoate de sodium précipite en présence d'acides forts comme l'acide sulfurique libérant dans le milieu son acide conjugué : l'acide benzoïque, il est commercialisé sous forme de poudre cristalline ou de granulé(72).

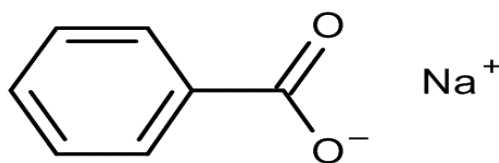


Figure 21 : Structure chimique du benzoate de sodium

Industriellement, des procédés de chimie organique sont utilisés pour synthétiser l'acide benzoïque. Trois procédés sont principalement employés :

- Obtention de l'anhydride phtalique par oxydation de naphthalène. Un catalyseur est nécessaire : l'oxyde de vanadium. L'acide benzoïque est ensuite produit par décarboxylation de l'anhydride phtalique.
- Obtention d'acide benzoïque par oxydation de toluène en présence d'acide nitrique.
- Obtention d'acide benzoïque par hydrolyse du trichlorobenzène. Le benzoate de sodium est finalement obtenu par une réaction acido-basique entre l'acide benzoïque et l'hydroxyde de sodium, ayant pour formule chimique NaOH. L'hydroxyde de sodium est appelé couramment soude.

Il est retrouvé naturellement dans certains fruits comme les airelles, les canneberges, la cannelle, les pruneaux, les clous de girofles. Le benzoate de sodium est également retrouvé dans certains médicaments comme les trophires pour les nourrissons. En effet, le benzoate de sodium est un expectorant car il élimine les sécrétions bronchiques. Il est généralement le principal agent actif du médicament. Il est également utilisé comme antiseptique dans certains médicaments (72).

VIII.4.Citrate de sodium :

Le citrate de sodium se présente sous la forme d'une fine poudre blanche. Le citrate de sodium est très efficace pour lutter contre l'acidité. Il est ainsi employé en tant qu'additif alimentaire dans différentes préparations (bonbons, gelées, boissons gazeuses...) pour en stabiliser l'acidité. Sur l'emballage, il est désigné sous la nomenclature E331. On le trouve aussi dans certains produits cosmétiques. La consommation de citrate de sodium, si elle reste limitée, ne représente apparemment pas de danger particulier pour la santé (73).

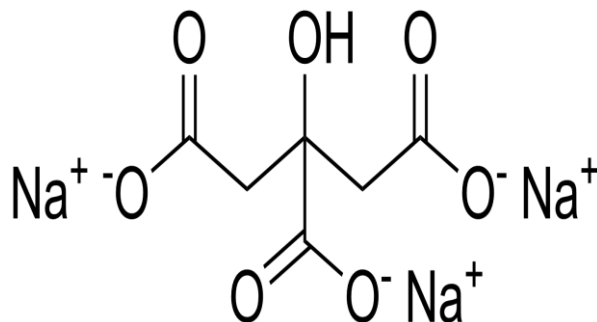


Figure 22 : Structure chimique du citrate de sodium

Le citrate de sodium est listé comme régulateur de l'acidité, séquestrant, émulsifiant et stabilisant au standard international du Codex alimentarius et peut, selon ses critères, être ajouté à de nombreux aliments sans limite de dosage autre que celle estimée nécessaire par le producteur (74).

Il peut également être utilisé dans la fabrication d'enzymes alimentaires, de nutriments (vitamines, minéraux, ...) pour adultes et pour enfants et ne sera, dans ce cas, pas étiqueté avec les ingrédients (75).

On peut aussi le trouver dans les cosmétiques entre autres comme agent masquant pour inhiber l'odeur ou le goût ainsi que dans les pharmaceutiques (76,77).

VIII.5.La silice :

La silice (silicium) est un oligo-élément dont la forme naturelle est le dioxyde de silicium, lequel est présent dans de nombreux minéraux. On retrouve de la silice dans divers aliments complets mais également dans nos os, nos muscles ou notre cartilage. De nombreux produits de santé sont à base de silice et notamment de silicium organique. Ce dernier est réputé bénéfique pour la santé des articulations et des os (par exemple en cas d'arthrose, d'ostéoporose) mais aussi de la peau et des cheveux et des ongles. Le silicium organique pourrait aussi renforcer le système immunitaire.

La matière première de la silice provient de l'oxygène (48,8%) et du silicium (28%) de l'écorce terrestre. La silice dont la forme naturelle est le quartz est présente dans de nombreuses roches et constitue 12% de la masse de l'écorce terrestre. En pratique on utilise soit de la silice naturelle (matériau brut) soit de la silice synthétique.

Les silices synthétiques sont constituées de dioxyde de silicium de grande pureté. Elles se présentent sous forme d'une poudre blanche et leurs propriétés dépendent de leur mode de fabrication. On distingue généralement les procédés par voie humide permettant

d'obtenir la silice précipitée, le gel et le sol de silice, des procédés par voie thermique permettant d'obtenir la silice pyrogénée, la silice à l'arc et la microsilice. Ces silices, amorphes, ne présentent pas de risque élevé de silicose comme les silices cristallisées.

Les monocristaux de quartz sont constitués de silice ultrapure cristallisée sous la forme alpha du quartz. Ils sont préparés par croissance hydrothermale, en général, sur des cristaux de quartz naturel (78).

VIII.6. Les arômes :

Tous les aliments sont composés de protéines lipides, glucides, sels minéraux, vitamines. Cependant, aucun de ces composants ne donnent de goût. C'est pourquoi la perception des aliments est le résultat d'une combinaison de composés volatils odorants. L'organisme peut alors les discerner de deux manières : par voie nasale directe (ce qui correspond à l'odeur) ou par voie rétro nasale lorsque l'aliment est placé dans la bouche, ce qui donne alors naissance à l'arôme. L'arôme d'un aliment est l'ensemble des substances qui y sont présentes au moment de sa consommation et capables de passer dans le torrent gazeux respiratoire pour créer des sensations olfactives. (79, 80).

Les arômes ne possèdent aucune qualité nutritive, mais jouent cependant un rôle essentiel. En effet, le goût et l'odeur d'une denrée sont les facteurs qui déterminent l'acceptation de celle-ci par un individu et stimule son appétit. Les arômes sont présents dans les aliments en très faible quantité, voir à l'état de traces, sauf dans le cas des épices et des aromates où leur concentration peut être parfois très élevée. (Voir tableau 1). Par exemple le clou de girofle compte 15 à 20% d'arômes (81).

Type d'aliment	Quantité d'arome
Viandes, fruits et légumes	50 ppm
Herbes aromatique	0.1 à 1 %
Epices	1 à 20 %

Tableau1 : quantité d'arôme en fonction du type d'aliment.

Dans notre travail, on va utiliser l'arôme de citron et l'arôme de fraise comme excipients.

Chapitre I

Rappels bibliographiques

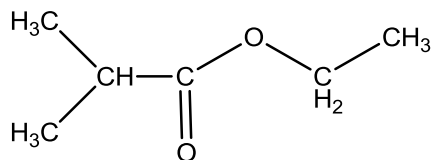


Figure 23 : Structure semi-développée d'arôme fraise

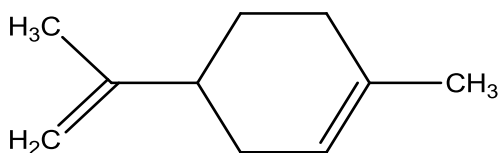


Figure 24 : Structure semi-développée d'arôme citronne (limonène).

VII.7. L'éthylcellulose :

L'éthylcellulose est un polymère biocompatible et non-biodégradable, elle est utilisée pour libérer des principes actifs à partir des formes orales par la formation d'une matrice ou film perméable. Elle est largement utilisée dans la préparation des microparticules pour contrôler les odeurs, protéger les médicaments contre l'oxydation et la volatilité, modifier la solubilité, et suivre la libération des principes actifs.

L'éthylcellulose est un dérivé de la cellulose dans lequel une partie des groupes hydroxyles des unités glucosiques ont été convertis en groupes éthyloxyliques. Elle est fabriquée à partir de cellulose végétale, partiellement éthyloxyliée, après un traitement alcalin, par réaction avec du chloroéthane . Elle est pratiquement insoluble dans l'eau (82).

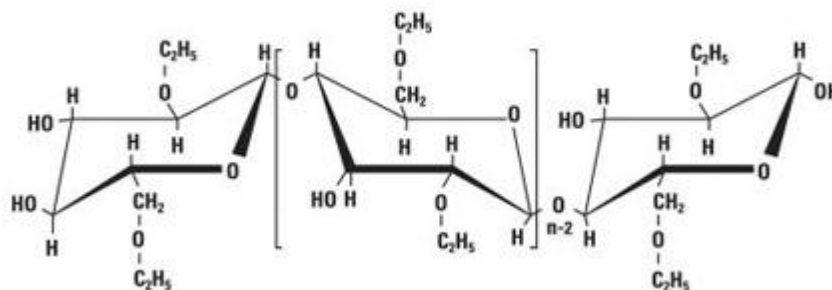


Figure 25: Structure chimique de l'éthylcellulose.

I. Partie Expérimentale :

I.I. Préparation physico-chimique des microsphères chargée d'amoxicilline :

I.1.1. Les produits :

- ❖ Ethyle cellulose (ET) est obtenue à partir de Fluka Analytical (produit USA)
- ❖ Solvants organiques : Dichlorométhane(DCM) (PROLABO. CHEMICALS)
- ❖ Amoxicilline est provient de Sigma (St. Louis, MO, USA)
- ❖ Tension actif : Tween80 (Polyethylene Glycol sorbitan monooleate) est obtenue de Sigma-Aldrich (USA).
- ❖ Saccharose, Benzoate de sodium, Citrate de sodium, Silice, Arome fraise et Arome citron sont obtenues à partir de de Sigma (St. Louis, MO, USA).

I.1.2. (Dispositif expérimental) :

Dans notre expérience, deux phase ont été utilisé, une organique et autre aqueuse qui ont émulsionnés dans un réacteur cylindrique en verre (volume : 1000 mL, diamètre externe =80 mm) sous agitation mécanique avec une turbine d'agitation de 4 pales (longueur de la pale= 50 mm, largeur de la pale = 08 mm, type : IKA RW20 digital, UK). L'agitateur et la pale sont présentés sur la figure 26.



Figure 26 : Dispositif expérimental utilisé pour la microcapsulation par évaporation de solvant

I.1.3. Formulation des microcapsules :

- **Préparation de la Phase organique (interne) :** Des quantités précises de différents excipients (**0,75 g** d'amoxicilline, **6g** saccharose, **0,015g** benzoate de sodium, **0,02g** citrate de sodium, **0,25g** de silice, **0,2** arôme fraise, **0,2 g** arôme citron et **1,5 g Ethyle cellulose**) ont été solubilisées dans **100mL** de dichlorométhane (DCM). La solution est maintenue sous agitation magnétique pendant 1heure.
- **Préparation de la Phase aqueuse (externe) :** 1 % de tween 80 a été solubilisé dans 100mL d'eau distillée. La solution est maintenue sous une agitation mécanique. Cette solution aqueuse représente la phase continue de l'émulsion

Une fois le tween 80 est solubilisé, on introduit la phase organique dans le réacteur mécanique. L'agitation est maintenue à une vitesse de 750 rpm (retour par minute) jusqu'à l'évaporation totale de solvant, la durée atteinte les 3heures. Les microsphères ont été récupérées par filtration sous vide et lavées trois fois avec l'eau distillée, suivi par un séchage à l'air libre.

On a préparé trois formulations en variant le volume de la phase aqueuse (100mL, 200mL et 300mL) pour voir son influence sur la morphologie, la taille et le taux de libération du principe actif libéré.

I.1.4. Méthodes de caractérisation :

➤ **Détermination de la quantité d'amoxicilline encapsulé :** La quantité de l'agent actif encapsulé dans les microsphères fabriquées a été déterminée par la technique d'extraction dans un solvant bien choisi. Après un temps suffisant pour la solubilisation et le transfert du principe actif vers le solvant, la solution obtenue est analysée par spectrométrie UV-Vis à fin 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'AMO déterminée par extraction sur la quantité introduite initialement pour l'encapsulation.

$$\text{Rdt}\% = (\text{m AMO extrait} / \text{m AMO initial}) * 100 \quad [1]$$

On a effectué l'extraction d'AMO des 3 formulations dans le pH=1,2(voir le tableau 03 page 48) . Ces microsphères de masse 0,1g sont broyées et plongées dans un volume de

100 mL dans un flacon bien bouché, agitées pendant 48 heures à une température ambiante. 1 mL de chaque solution a été prélevé, dilué dans le même milieu et analysé par UV-Vis, à une longueur d'onde fixée à 276 nm. La quantité d'AMO déterminée par ce dosage représente alors la quantité réelle en principe actif encapsulé.

➤ **Distribution de taille** : La connaissance de la taille et la distribution en taille des particules est essentielle pour la description des systèmes d'émulsion, les suspensions, et les poudres. Cette caractérisation physique du système dépendante des conditions opératoires de fabrication peu 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 poly dispersé 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 diamètre 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, en masse. Ces diamètres sont calculés comme suit (83) :

Si : - « **i** » est la classe des particules.

- « **ni** » nombre de particules de classe **i**.

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

$$d_{10} = \frac{\sum ni di}{\sum ni} \quad [4]$$

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

$$d_{32} = \frac{\sum ni di^3}{\sum ni di^2} \quad [5]$$

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

$$d_{43} = \frac{\sum ni di^4}{\sum ni di^3} \quad [6]$$

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

$$\text{Dispersion} = \frac{d_{43}}{d_{10}} \quad [7]$$

Un système monodisperse correspond à une dispersion égale à 1; plus s'éloigne de l'unité, plus le système devient polydispersé. La taille des microsphères est déterminée par microscope optique (OPTIKA 4083. B1) (VDL-Sidi Bel Abbès).

Un échantillon de plus de 500 microsphères est analysé. Cette population est divisée en classes de diamètres d_i qui correspond à un centre de classe. On dénombre alors l'effectif dans chaque classe ce qui nous permet le calcul statistique, on calcul ensuite les fréquences, en nombre, en surface et en masse, ainsi la dispersion.

A titre exemple, les résultats des distributions des microsphères de la formulation 01 sont donnés dans le tableau suivant. Les autres tableaux sont classés en annexes. Les résultats ont été ainsi tracés sous forme des courbes représentative de distribution en taille des microsphères.

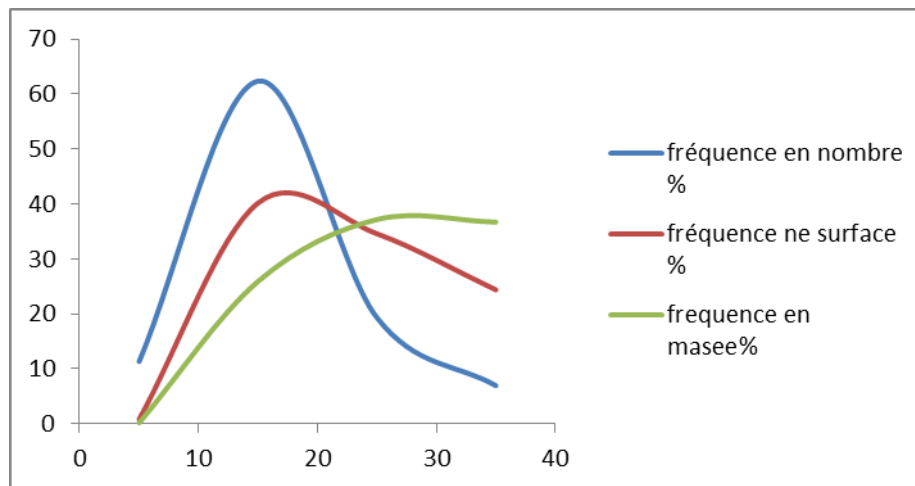


Figure 27: Les courbes de distribution en taille des microsphères AMOF01

En vue de ces courbes, on peut déduire que les systèmes obtenus sont polydispersés car chaque présentation est représentée par des courbes éloignées. Dans le cas contraire, on doit avoir une superposition de ces courbes.

A partir de ces résultats on peut aussi déterminer les diamètres moyens pour calculer la polydispersité de système de microsphère.

Chapitre II

Partie expérimentale

Classe (μm)	Centre de classe Di	Effectif ni	$ni \cdot di$	fréquence en nombre %	$ni \cdot di^2$	fréquence en surface %	$ni \cdot di^3$	fréquence en masse %	$ni \cdot di^4$
[0-10]	5	67	335	11,3559322	1675	0,8133042	8375	0,174861677	41875
[10-20]	15	368	5520	62,37288136	82800	40,20393299	1242000	25,93172565	18630000
[20-30]	25	114	2850	19,3220339	71250	34,59577567	1781250	37,19072972	44531250
[30-40]	35	41	1435	6,949152542	50225	24,38698713	1757875	36,70268295	61525625
somme		590	10140	100	205950	100	4789500	100	124728750

Tableau 02: Résultats Granulométriques des microsphères AMOF01

- **Observation par microscope optique** : La forme et la taille des microsphères ont été déterminées par microscope optique (OPTIKA 4083. B1) (VDL-Sidi Bel Abas).
- **Spectroscopie Infrarouge** : Nous avons utilisés un spectrophotomètre infrarouge a transformé de Fourier type 8400-Schimadzu (Laboratoire de Génie Physique à l'Université Ibn Khaldoun-Tiaret), pour caractériser les microparticules préparées. L'analyse par spectroscopie FTIR a été effectuée sur des pastilles obtenues en ajoutant 0,002g de la substance à analyser dispersée dans du bromure de potassium Kbr (0,2g) parfaitement sec. Le spectre FTIR de chaque échantillon est enregistré à la température ambiante dans la plage de 400-4000 cm^{-1} .
- **Observation par microscope électronique à balayage (MEB)**: Afin d'étudier la morphologie et la taille des microcapsules, l'analyse par microscopie électronique à balayage a été réalisée sur deux formulations (AMOF01 et AMOF02) avec un MEB (JSM-6360LV) localisé au centre de développement et technologie avancée à l'université Baba AHCEN, Alger.
- **Diffraction des rayons X (DRX)** : L'analyse DRX des microsphères a été réalisée à l'aide d'un diffractomètre à poudre (Rigaku – Mini Flex 600) (Laboratoire synthèse et catalysé, université Ibn Khaldoun, Tiaret). Les analyses ont été réalisées à température ambiante. L'échantillon à analyser est placé sous forme de poudre sur un support plat. Les conditions générales d'acquisition correspondent à une plage angulaire en 2θ allant jusqu'à 70° sous un potentiel de 40 kV et une intensité du courant de 30 mA. La raie $K\alpha$ du cuivre a été utilisée comme source des rayons X.

II. Etude cinétique du relargage d'amoxicilline

II.1. Mode opératoire :

Dans cette partie, un dispositif spécial a été utilisé qui permet de réaliser des prélèvements du liquide seul, sans perte de masse des microparticules.

0,1g de microsphères sont immergées dans une solution de pH 1,2. Des prélèvements de 1mL ont été réalisés pendant 5h. Ensuite, on filtre les microsphères et on renouvèle le pH acide par le pH=4,5. De même, des prélèvements ont été réalisés pendant 10min. Le pH=4,5 a été remplacé par le pH 6,7 et 7,3 pendant 4h et 12h respectivement. La température a été fixée à 37°C avec une agitation de 400 r.p.m. Des prélèvements ont été toujours réalisés à chaque pH.

Le 1ml prélevé du ballon est dilué dans une fiole de 10 mL de la même solution pH. L'absorbance est ensuite mesurée par le spectrophotomètre (SHIMADZU, UV-1650PC).



Figure 28: Le dispositif expérimental de la libération du principe actif

II .2.Préparation des milieux :

On a choisi de préparer des solutions qui ressemblent aux milieux physiologiques de l'être humain. Les quantités nécessaires à la reconstitution des milieux sont présentées dans le tableau suivant.

Milieu	pH	La composition
Estomac	1, 2	HCl (1N) :80mL + NaCl : 02g + Ajusté avec l'eau distillée jusqu'à 1L
Dirodimum	4, 5	Dissoudre 6,80 g de dihydrogène phosphate de potassium dans 1000 ml d'eau distillée
Jéjunum	6, 7	250 mL de dihydrogénophosphat de 0.2M + 89ml d'hydroxyde de sodium de 0,2M, ajusté avec l'eau distillée jusqu'à 1L
Intestinal Colon	7, 3	Borax (0,025N) :2,5g + HCl (0,1 N) :20ml+ Ajustée avec l'eau distillée

Tableau 03: Préparation des milieux reconstitués

Ces compositions sont conformes aux normes décrites par la pharmacopée Américaine U.S. P(8).

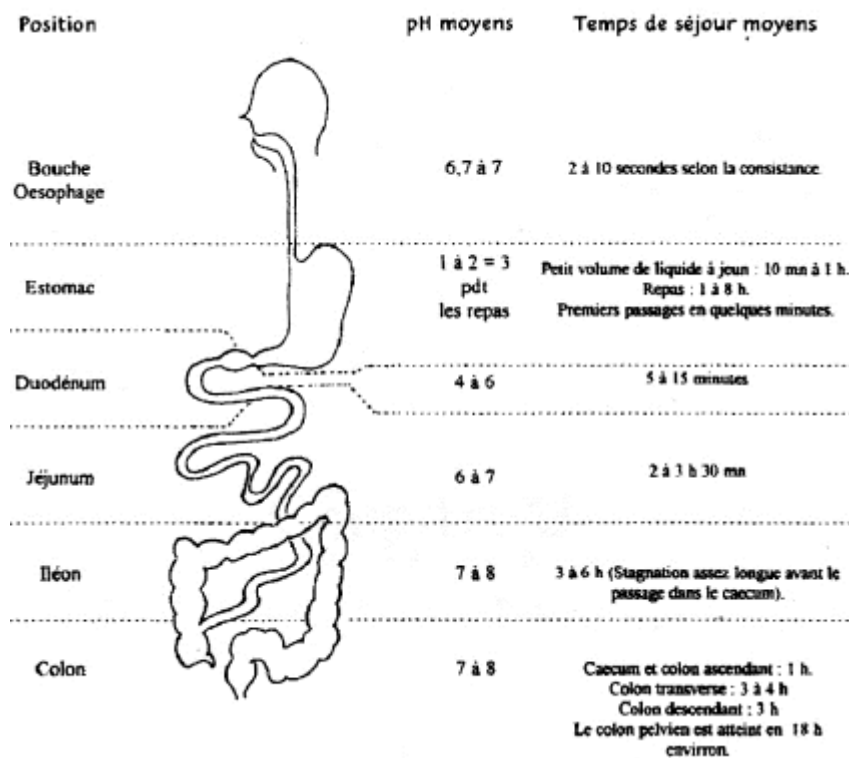


Figure 29: pH et temps de séjour des matières solides le long du tractus digestif

II .3. Facteurs influençant les transferts de matières :

- **L'agitation du milieu :**

La concentration de la solution devrait être uniforme en tout point de la solution, et cette uniformité est maintenue grâce à l'action d'un agitateur magnétique dans le flacon (vitesse de rotation fixée à 750 r.p.m pour toutes les expériences). Puisque le 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 U.V.

- **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'autre 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 (100 ml) 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 microsphères :** est faite de la même manière expliquée.
- **Le verre fritté :** il est utilisé pour empêcher l'acensement des microsphères lors du prélèvement et éviter la perte de masse des microsphères.
- **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 750 r.p.m 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.

II .5.Analyse du principe actif :

II.5.1 Recherche de λ_{\max} : La valeur de la longueur d'onde est déterminée en faisant les spectres U.V d'une solution préparée d'amoxicilline (10^{-4} mole. Litre $^{-1}$) dans les différents pH. On donne ci-dessous la courbe spectrale d'absorption de la solution d'amoxicilline dans le milieu de pH=1 ,2.

Abs

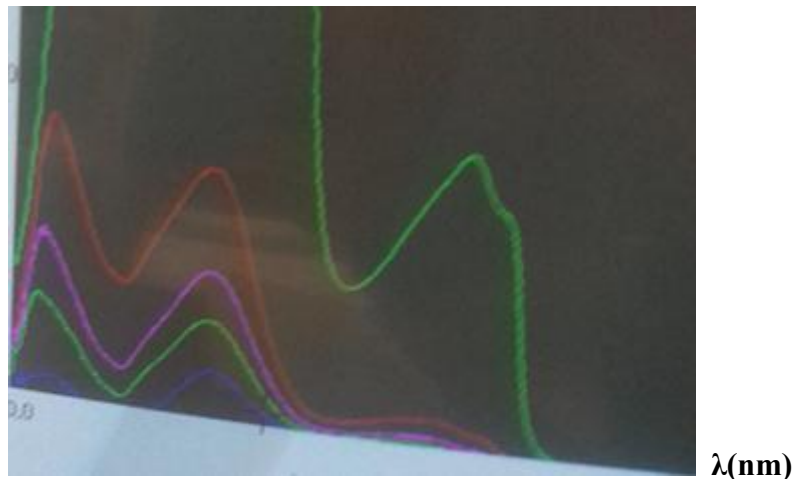


Figure 30 : Le spectre (vert) d'absorption d'amoxicilline dans le milieu pH=1,2.

La valeur de λ_{\max} ainsi trouvée ($\lambda_{\max}(\text{AMO}) = 228$) est maintenue constante pour suivre le relargage du principe actif étudié (AMO). L'appareil utilisé est le spectrophotomètre (JSM-6360LV) du Laboratoire de recherche de l'Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

II. 5.2.Courbe d'étalonnage et Calcul de ϵ_{\max} :

Une courbe d'étalonnage d'amoxicilline est réalisée afin de déterminer ϵ_{\max} du principe actif. Le spectrophotomètre utilisé est de marque UV-1650PC (SHIMADZU). Des solutions à des concentrations connues (10^{-3} - 10^{-4} mole. Litre $^{-1}$) d'amoxicilline ont été analysées entre 200 nm et 400 nm.

La Densité Optique (D.O) ou l'Absorbance (A) et la concentration (mole/litre) sont liées par la loi de Beer- Lambert :

$$(D.O)_{\max} = \log (I_{\max}/I_0) = \epsilon_{\max}.l.C \quad , \quad (D.O)_{\max} = \epsilon_{\max}.l.C,$$

Où:

- * I_{\max}/I_0 : est la transmittance.
- * ϵ_{\max} : le coefficient d'absorption spécifique (L.cm $^{-1}$.mole $^{-1}$).
- * C : la concentration en mol/l de la solution.
- * l : la longueur de la cellule en quartz (1cm).

A partir de 5 solutions de concentrations connues, il est possible de tracer la «Droite d'Etalonnage », permettant de déterminer la valeur de ϵ_{max} d'amoxicilline. La valeur de ϵ_{max} correspond à la valeur de la tangente de la droite (D.O) $\max=f(C)$.

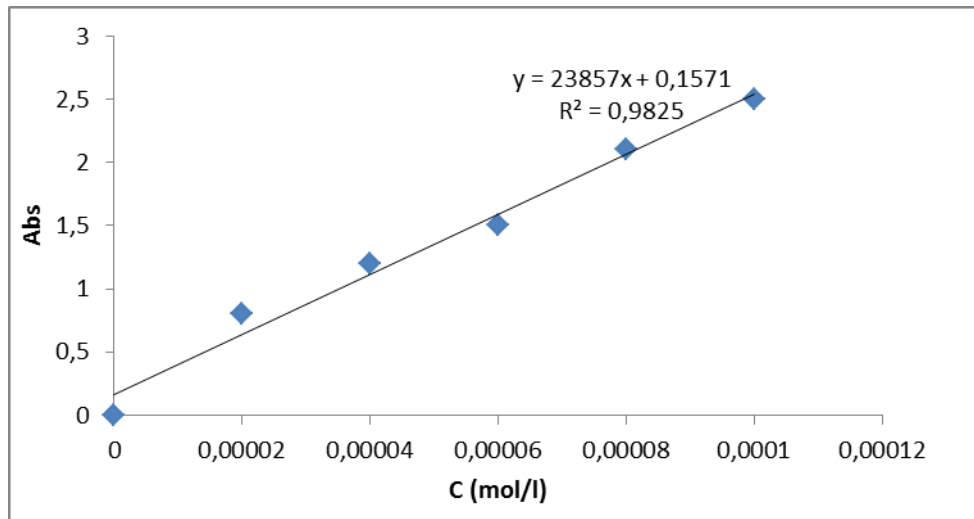


Figure 31 : Courbe d'étalonnage d'amoxicilline à pH=1,2 et T 37°C.

Les valeurs des coefficients d'absorption spécifiques trouvées sont données dans le **tableau4 :**

PH milieu	1.2	4.5	6.7	7.3
ξ (L. mol ⁻¹ .cm ¹)	23857	26143	18714	22429

Tableau04: Valeurs de ξ_{max} d'amoxicilline pure dans chaque pH à 37°C.

II .5.3. Recherche de l'espèce prédominante d'amoxicilline :

Puisqu'on étudie la libération du principe actif dans différents milieux, la connaissance de la particule diffusante dans le milieu d'étude est importante. Cela se fait en tenant compte des pks du principe actif (AMO). L'amoxicilline a trois pka = 2,4, 6,71 et 9,6 corresponds respectivement aux fonctions acides carboxylique, le phénol et l'amine (83).

On applique l'équation d'Henderson pour apprécier les rapports des concentrations $(C_{16} H_{19} N_3 O_5 S) / (C_{16} H_{15} N_2 O_5 S, NH_3^+) = (Base) / (Acide)$. A titre exemple, on donne les calculs pour le pK 2,4 à pH=1,2.

$$pH = pK + \log \frac{[base]}{[acide]}$$

$$\rightarrow 1,2 = 2,4 + \log \frac{[base]}{[acide]}$$

$$\rightarrow \text{Log} \frac{[\text{base}]}{[\text{acide}]} = -1.2$$

$$\rightarrow \frac{[\text{base}]}{[\text{acide}]} = 0.30$$

Les autres valeurs sont classées dans le tableau suivant :

pH	pK	2,4	6,71	9,6
1,2		0,30	247,1	$4,4 \cdot 10^3$
4,5		0,12	9,11	$1,64 \cdot 10^2$
6,7		0,013	1,01	18,1
7,3		$7,44 \cdot 10^{-3}$	0,55	2,3

Tableau 05 : Les valeurs [base] / [acide] dans les reconstitués

En vue des valeurs classées dans le tableau. On déduit que :

➤ Dans le pH = 1,2, l'AMO est libéré sous forme :

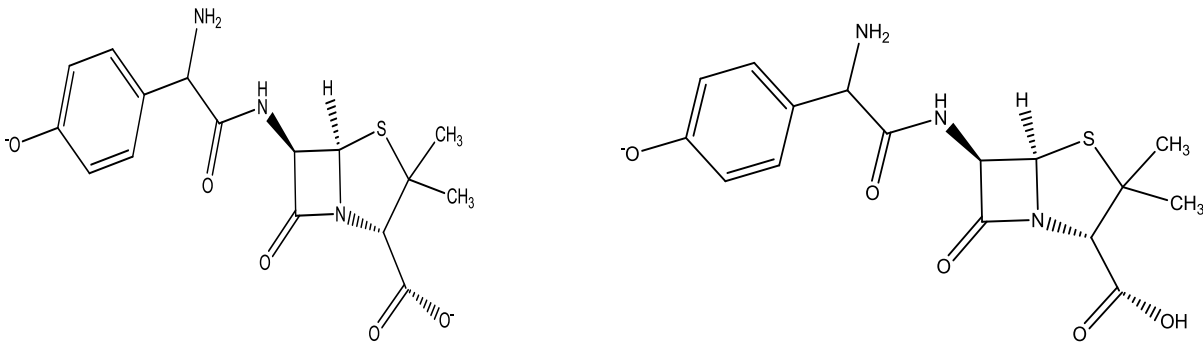


Figure 32 : Structures semi-développées de l'amoxicilline dans le pH=1,2

➤ Dans le pH= 4,5, on retrouve les deux structures suivantes :

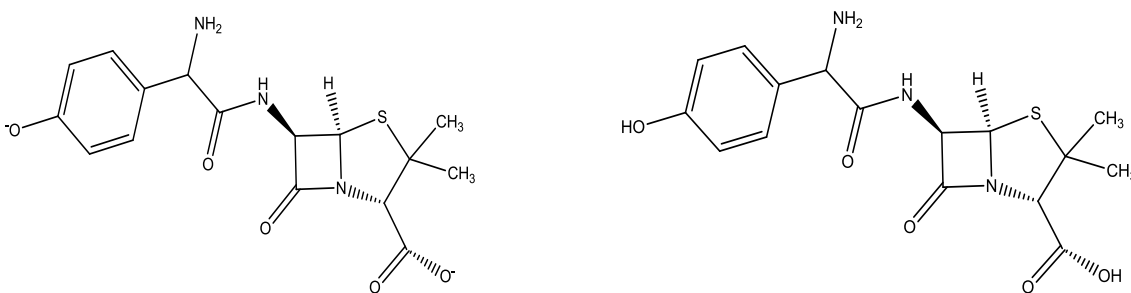


Figure 33 : Structures semi-développées de l'amoxicilline dans le pH=4,5

➤ Dans le pH=6,7, plusieurs formes se retrouvent au même temps les fonctions suivantes :

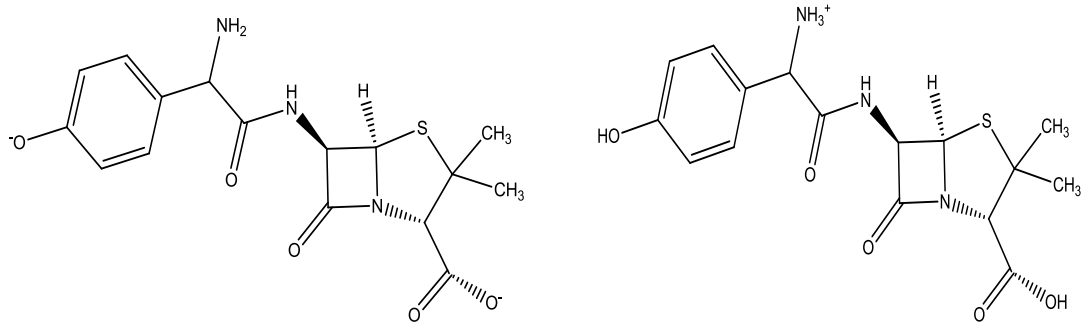


Figure 34 : Structures semi-développées de l'amoxicilline dans le pH=6,7

➤ Dans le pH =7,3, l'AMO est libéré sous les formes suivantes :

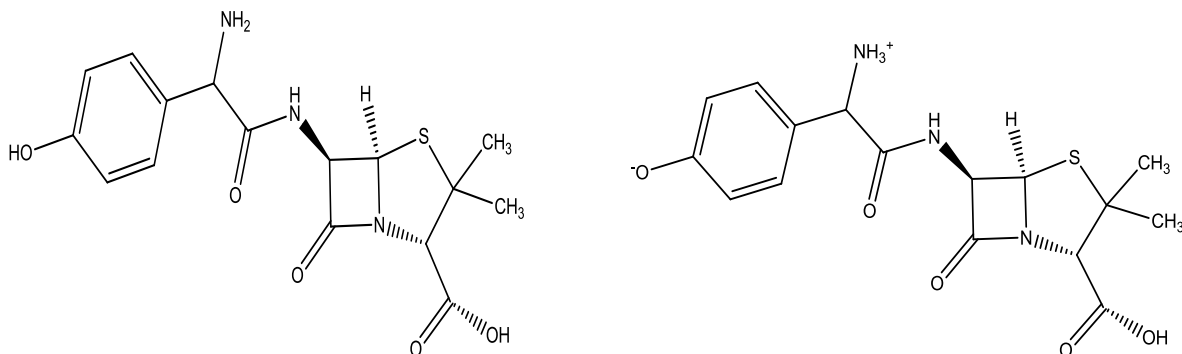


Figure35 : Structures semi-développées de l'amoxicilline dans le pH=7,3

III . L'activité antibiotique

III .1.1. Préparation de la suspension :

Une suspension bactérienne de densité équivalente au standard de 0,5 Mac Farland (0,1-0,08) est préparée puis diluée avec l'eau physiologique jusqu'à avoir une DO= 0,095 pour la souche de Pseudomonas aeruginosa. Pour les souches Staphylococcus aureus et Escherichia coli, la densité après la dilution est DO= 0,091. Les observations ont été réalisées à $\lambda=630\text{nm}$

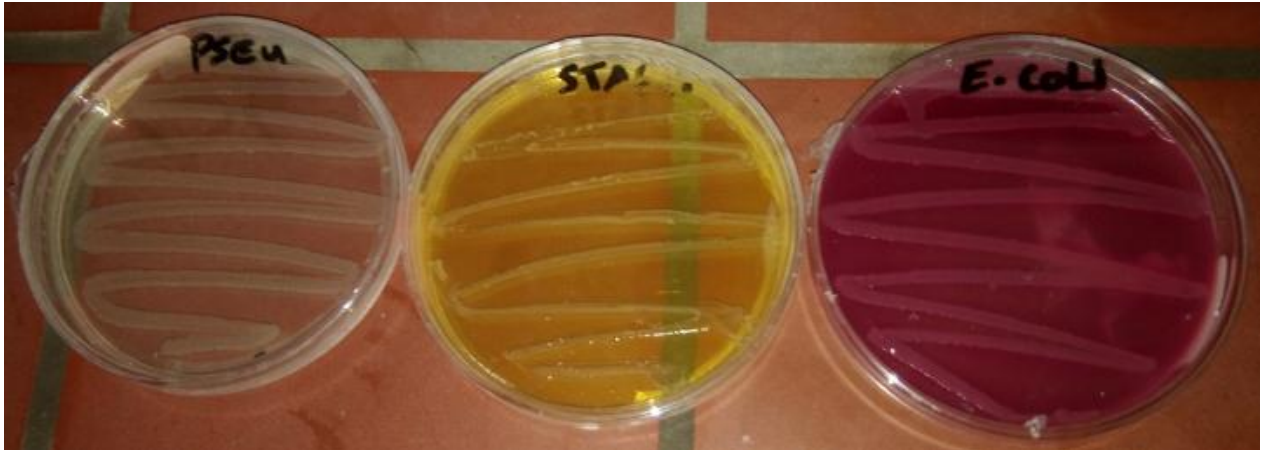


Figure 36: Les 3 souches bactériennes Pseudomonas ; S. aureus et E. coli

III.1.2. La méthode de diffusion par disque :

La gélose de Mueller-Hinton a été préparée, autoclavée pendant 20mn à 130°C, ensuite écoulee dans des boites de Pétri. Après l'ensemencement, trois disques stériles de 6 mm de diamètre sont déposés sur la gélose M.H, le 1er disque est imbibé d'une solution qui contient (0,01g d'AMOF02 et 2ml de dichlorométhane.

Le 2ème disque est imbibé d'une solution qui contient (0,04 g d'AMOF02 et 2ml d'eau distille

Un disque témoin chargé de 15 μg de sephadex est incubé avec les autres disques, pour comparer ensuite les diamètres. Afin de tester l'activité inhibitrice des disques imbibés avec les microsphères de la formulation (AMOF02)

Les boites pétries ont été incubées à 30°C pendant 48 heures. Après incubation, le diamètre d'inhibition est mesuré en centimètres avec un pied à coulisse.

III.1. Caractérisation des microparticules :

Les microparticules à libération contrôlée ont été mises au point afin de diminuer le nombre de prises quotidiennes du médicament tout en maintenant un taux plasmatique constant dans une zone thérapeutique plus large, pour cela plusieurs recherches sont effectuées sur la libération de principes actifs dans les milieux hétérogène et homogène. Pour cela, il est nécessaire d'étudier l'influence des paramètres modifiés sur les microparticules obtenus. Dans notre travail on a étudié l'influence du volume de la phase aqueuse sur les caractéristiques des microsphères préparées ainsi sur la libération de l'agent actif.

III.1.1 Détermination de la quantité d'amoxicilline encapsulé :

Sur le tableau suivant, on donne le taux d'encapsulation d'amoxicilline dans les formulations préparées calculé par extraction.

Formulation	Rdt%
AMOF01	35
AMOF02	20,15
AMOF03	15,72

Tableau 06: Rdt% de la microencapsulation.

Il est connu que la microencapsulation par évaporation de solvant est favorable lorsque le transfert est rapide à l'interface microgouttelettes/phase aqueuse, et cela sera réalisé lorsque le volume de la phase aqueuse est faible. L'augmentation de volume de la phase aqueuse induit à une diminution de taux d'encapsulation. Ces résultats sont expliqués par la diminution de transfert de solvant organique, une solidification lente de microsphères et une diffusion de principe actif vers la phase aqueuse en cas d'excès d'eau.

III.1.2. Les diamètres moyens (μm) et la dispersion des microsphères :

D'après la distribution en taille des microsphères, on a déterminé les diamètres moyens pour chaque formulation. Ils sont classés dans le tableau ci-dessous :

	d10	d32	d43	Dispersion
AMOF01	17,19	23,26	26,04	1,52
AMOF02	12,35	18,71	21,66	1,76
AMOF03	28,74	35,44	38,42	1,34

Tableau 07: Les diamètres moyens (μm) et la dispersion des microsphères.

Les résultats de distribution de ces systèmes montrent que :

- La taille des microsphères obtenues (d_{10}) varie entre 12-29 μm en changeant le volume de la phase aqueuse.
- La dispersion obtenue est différente de 1 dans tous les échantillons préparés. ce qui nous amène à dire que les systèmes obtenus sont polydispersés.

En effet, la microencapsulation par évaporation de solvant a permis d'atteindre une quantité de 35% en matière active dans les microsphères préparées, avec des tailles faibles et différentes. Selon plusieurs travaux(84), ils ont montrés que le volume de la phase aqueuse n'as pas d'influence sur le rendement de la microencapsulation.

III.1.3 Observation par microscope optique :

L'analyse par microscope optique montre la forme sphérique des microparticules préparées, il nous donne information sur la variété de la taille des particules, et il nous montre aussi l'absence des agrégats dans toutes formulations.

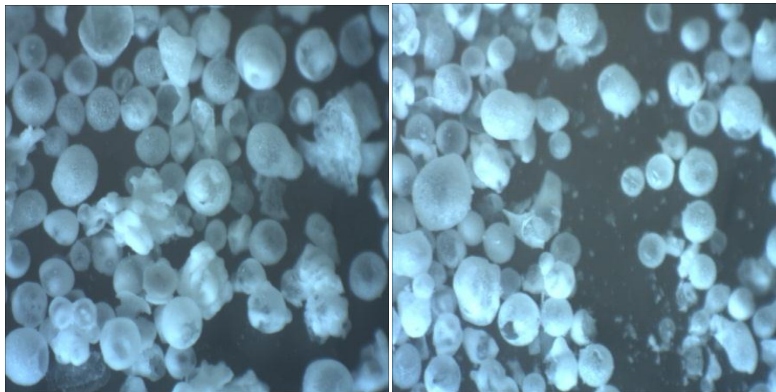


Figure 37: Observation des microsphères d'AMOF01 par microscope optique.

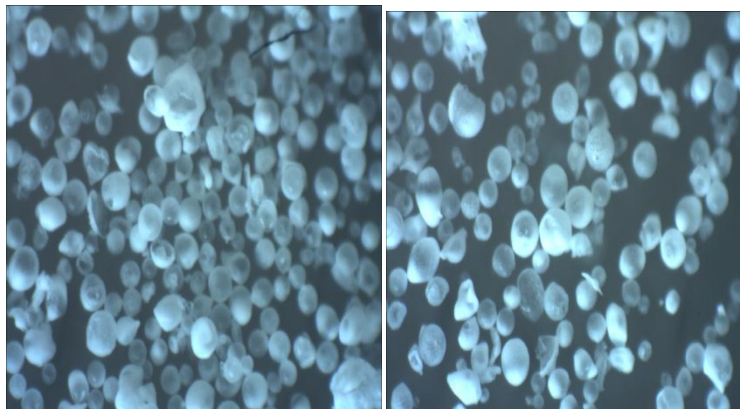


Figure38: Observation des microsphères d'AMOF02 par microscope optique

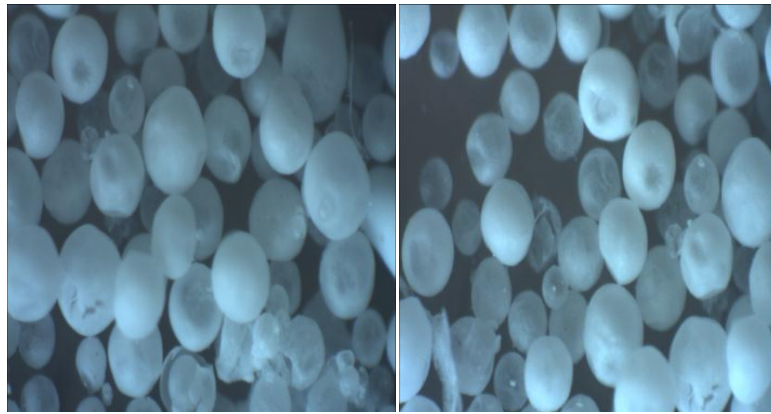


Figure 39: Observation des microsphères d'AMOF03 par microscope optique

III.1.4. Spectroscopie Infrarouge :

Les spectres FTIR caractéristiques de 3 formulations sont présentés ci-dessous. Ils sont comparés à celle d'amoxicilline et d'éthylcellulose pur (classés en annexe).

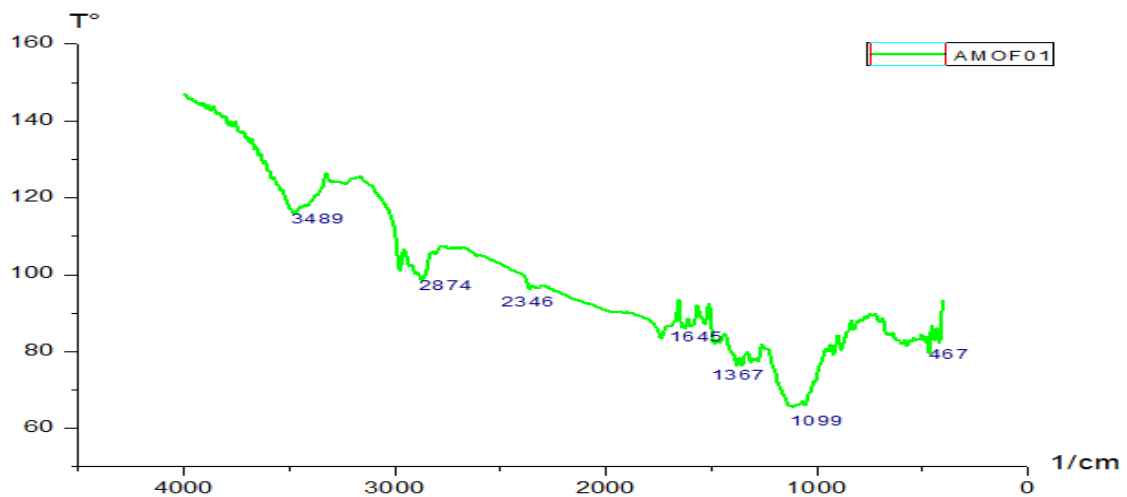


Figure40: Spectre Infrarouge des Microsphères AMOF01

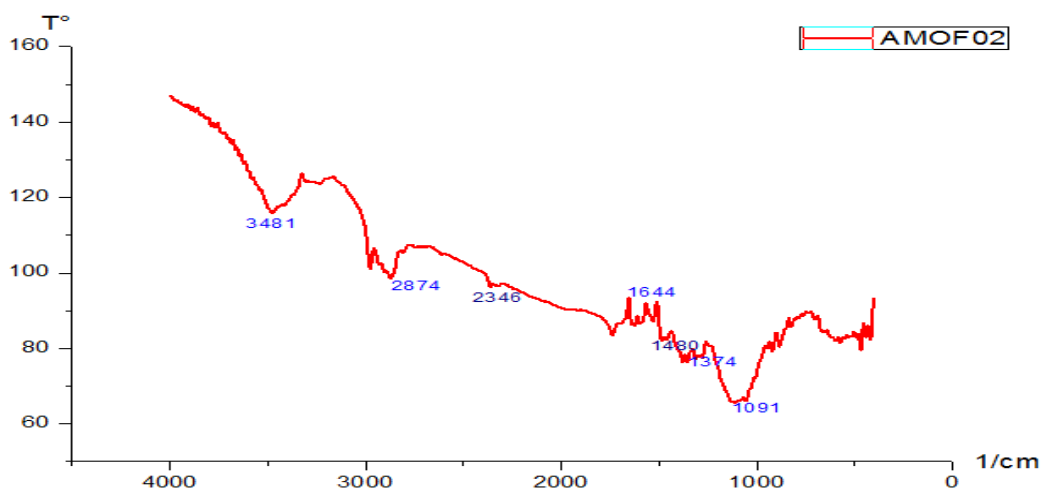


Figure 41 : Spectre Infrarouge des Microsphères AMOF02

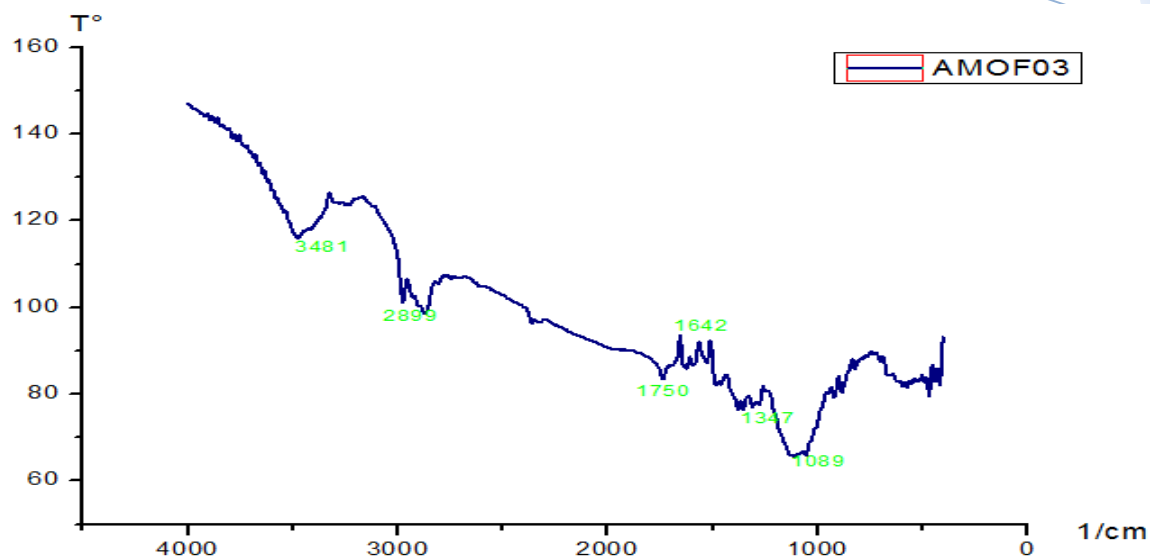


Figure42: Spectre Infrarouge des Microsphères AMOF03

Les spectres IR des microparticules établis ont été comparés aux spectres des polymères matrices utilisés et de l'agent actif (amoxicilline). Les résultats montrent que le spectre des microsphères n'est que la somme des spectres FTIR d'amoxicilline et des polymères d'enrobage.

Les principales bandes d'absorption d'amoxicilline qui apparaissent nettement dans le spectre des microsphères sont :

Les formulations	Las bandes caractéristiques d'AMO
AMOF01	1367 cm^{-1} : N – C élongation, 3489 cm^{-1} : OH alcool, 1645 cm^{-1} : N–H déformation,
AMOF02	1347 cm^{-1} : N – C élongation, 3481 cm^{-1} : OH alcool, 1644 cm^{-1} : N–H déformation,
AMOF03	1374 cm^{-1} : N – C élongation, 3481 cm^{-1} : OH alcool, 1642 cm^{-1} : N–H déformation

Tableau 08: Bandes caractéristiques correspondants aux trois formulations

III.1.5. Microscope électronique à balayage (MEB):

La morphologie et la taille des microcapsules de la formulation AMOF01 et AMOF02 ont été analysées par microscope électronique à balayage(MEB).

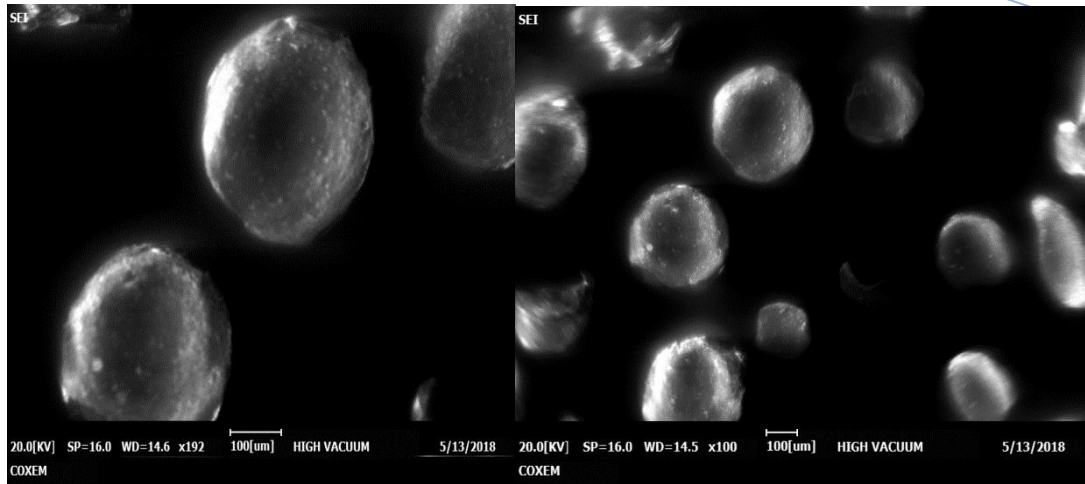


Figure43: Micrographies par MEB d'AMOF01

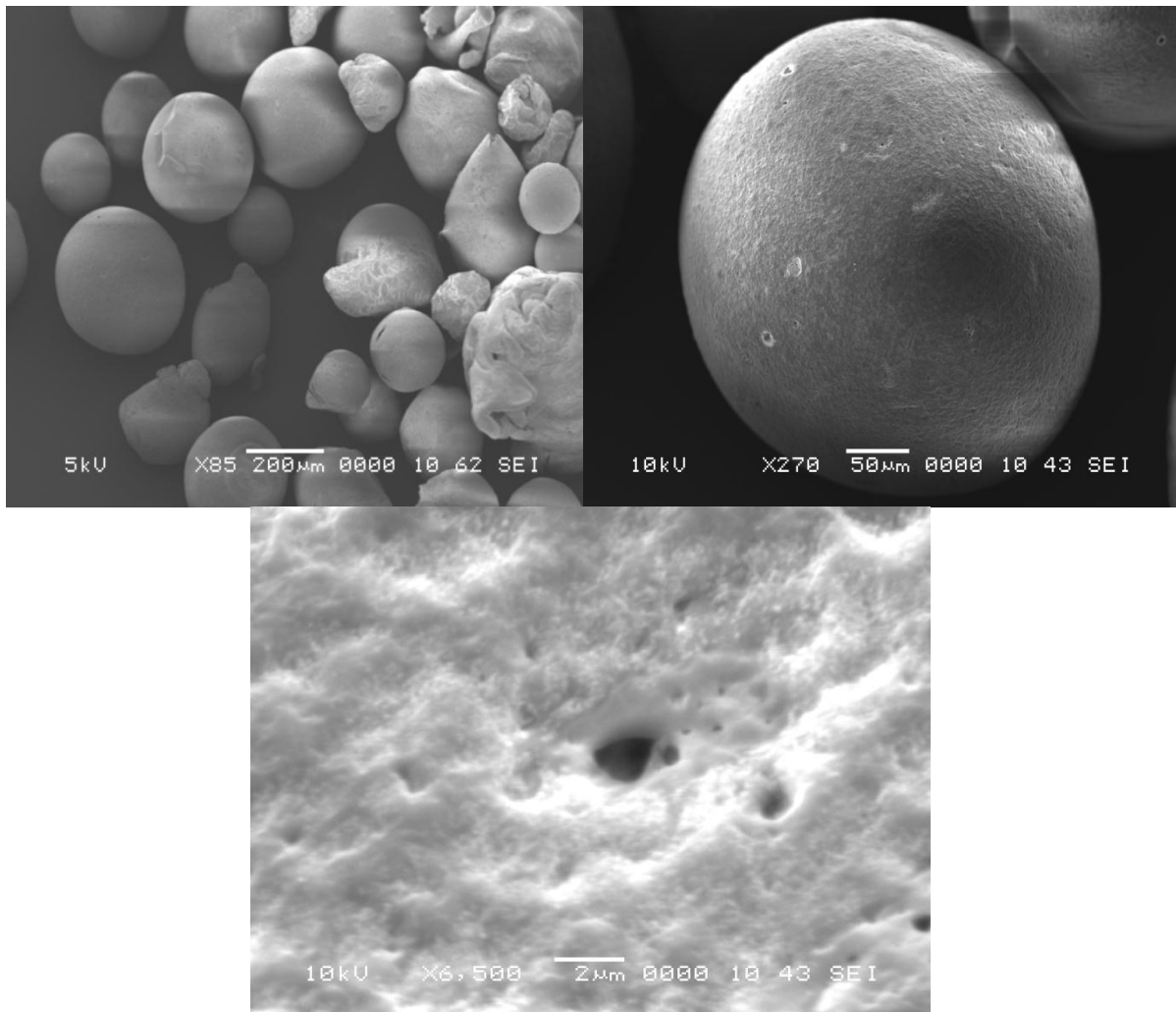


Figure44: Micrographies par MEB d'AMOF02.

L'analyse par microscope électronique à balayage MEB des microparticules nous a indiquée que les microsphères ont une forme sphérique, une variété de taille, une surface lisse et poreuse.

III.1.6. Diffraction des rayons X (DRX) :

Les figures (48-50) représentent le diffractogramme RX des microparticules composées d'un mélange polymérique comme matériau d'enrobage, et d'AMO comme principe actif.

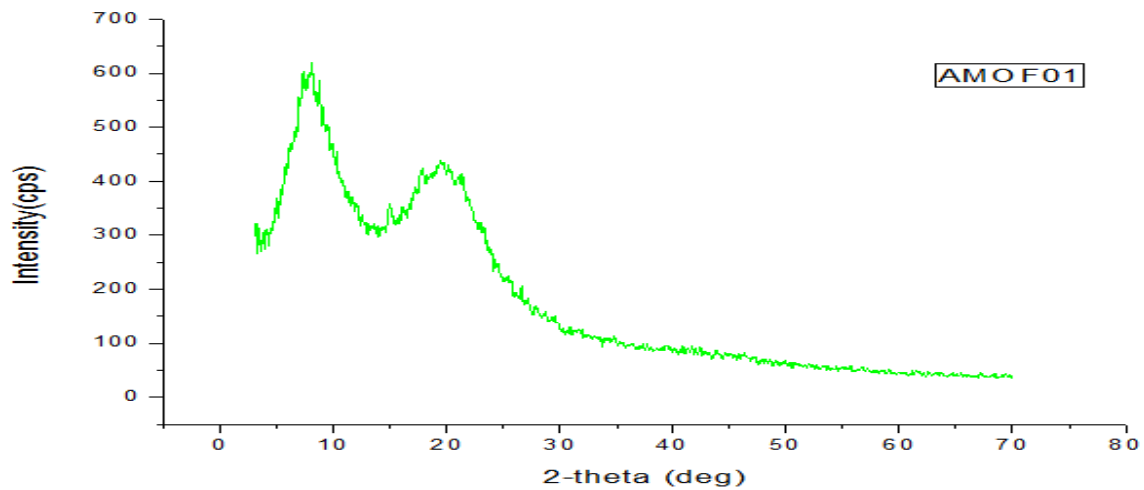


Figure 45 : Spectre DRX des Microsphères AMOF01

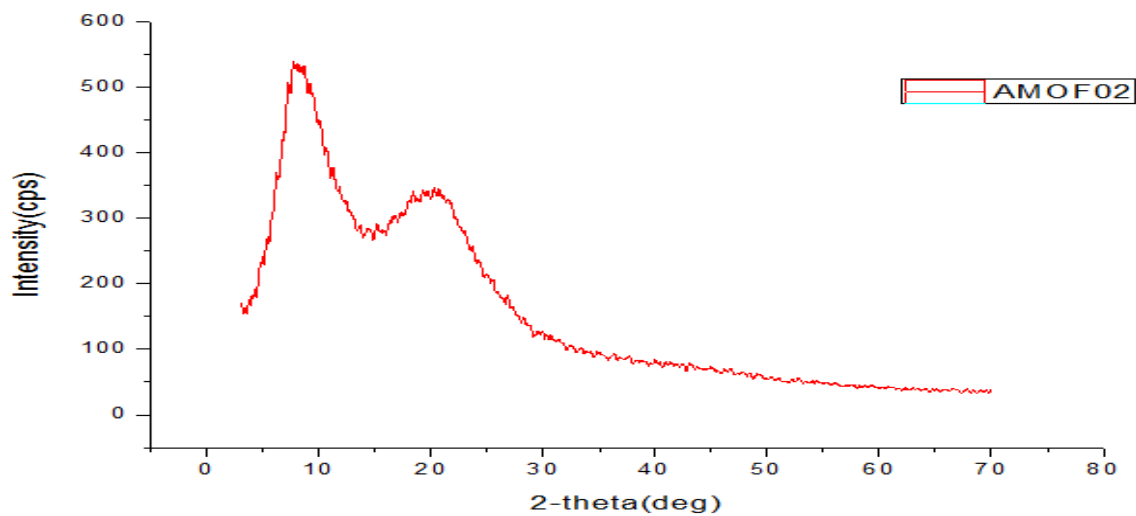


Figure 46: Spectre DRX des Microsphères AMOF02

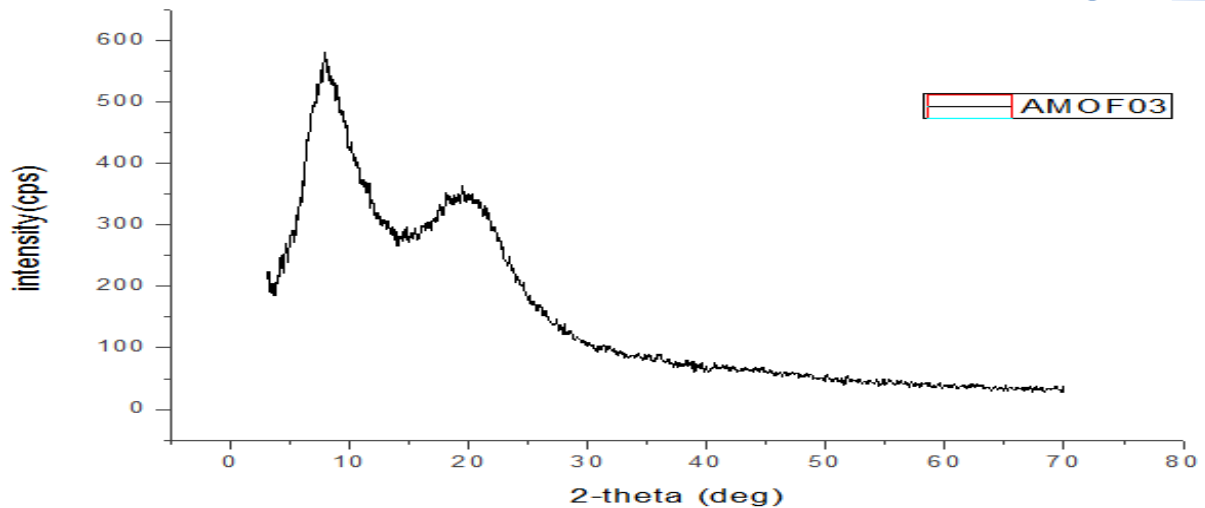


Figure 47: Spectre DRX des Microsphères AMOF03

A partir de ces diffractogramme, on observe que nos formulation présentent une structure amorphe, Vue les diffractogramme de l'amoxicilline qui montre que le principe actif est un produit cristallin et les diffractogrammes des polymères qui sont semi-cristallin, on peut déduire que l'AMO s'inclue dans la partie amorphe de la matrice polymérique, ce qui amène à la diminution de sa cristallinité.

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

Afin de pouvoir évaluer le taux libéré d'AMO dans les milieux reconstitués, en fonction du temps, on a réalisé une forme galénique de type microsphères.

Les cinétiques correspondantes aux différentes formes ont été réalisées dans les mêmes conditions opératoires de température (37°C), d'agitation (750 r.p.m) et de volume des prises d'essais (1 ml), afin de pouvoir comparer les résultats.

Les résultats des cinétiques de libération d'AMO dans les pH (1,2 - 4,5 - 6,7 - 7,3) à partir de toutes les formulations sont regroupés dans les figures (51- 53)

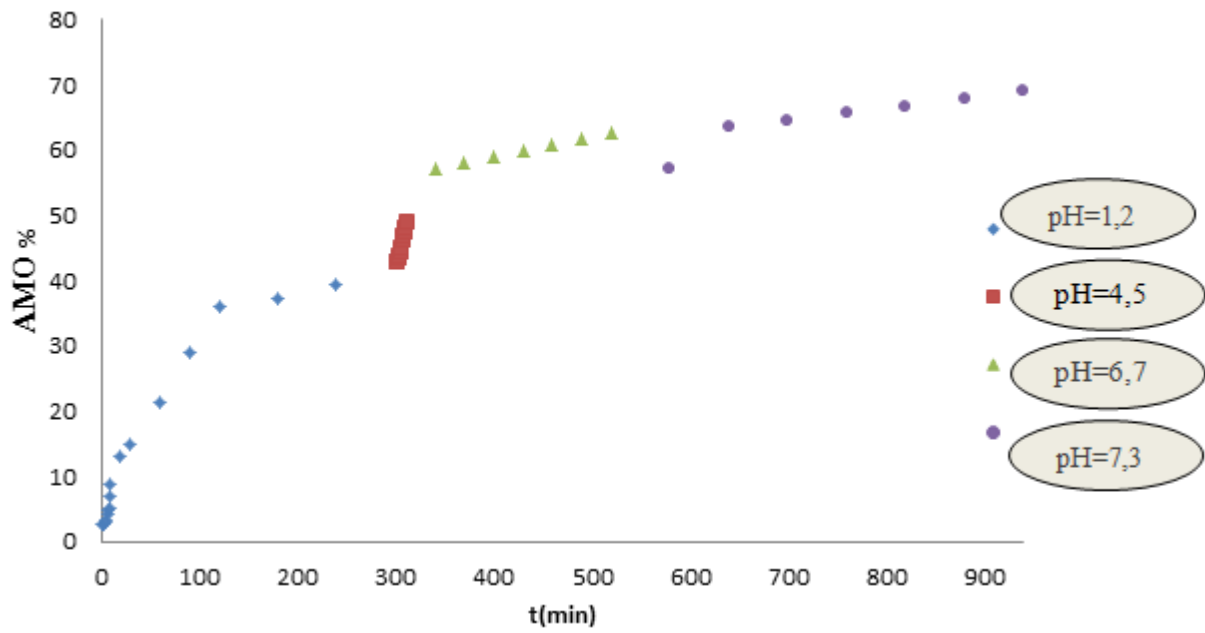


Figure 48: AMO % libéré en fonction du temps à partir d' AMOF1 (T = 37°C, 500 r.p.m).

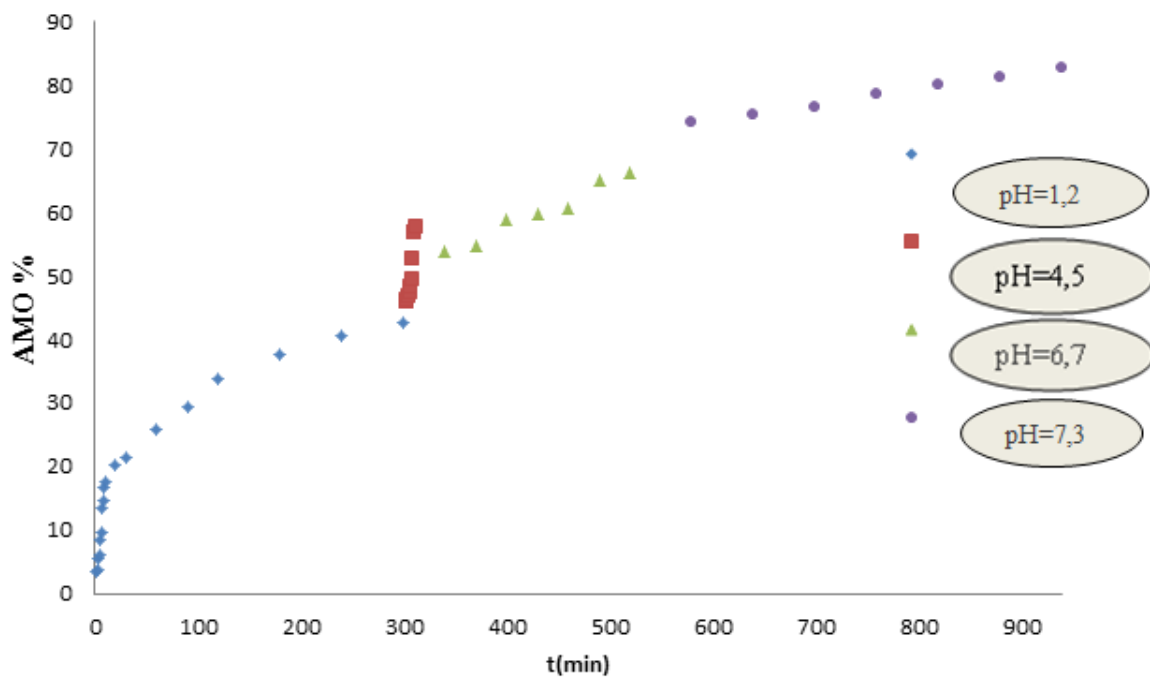


Figure 49: AMO % libéré en fonction du temps à partir d' AMOF2 (T = 37°C, 500 r.p.m).

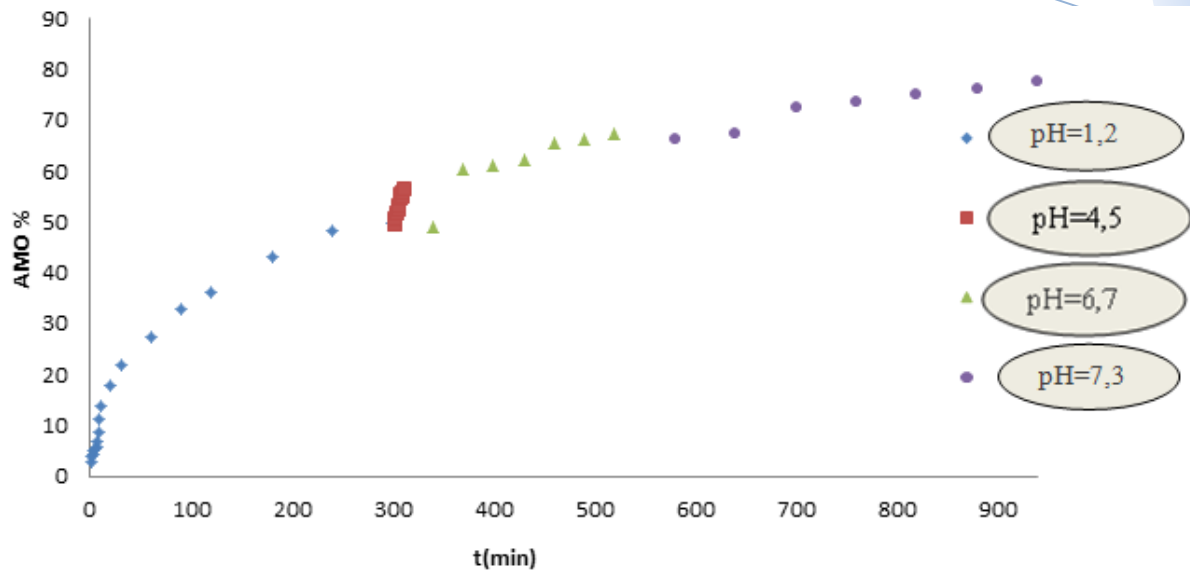


Figure 50: AMO % libéré en fonction du temps à partir d' AMOF3 (T = 37°C, 500 r.p.m).

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 AMOF01, Les autres courbes sont classées en annexe

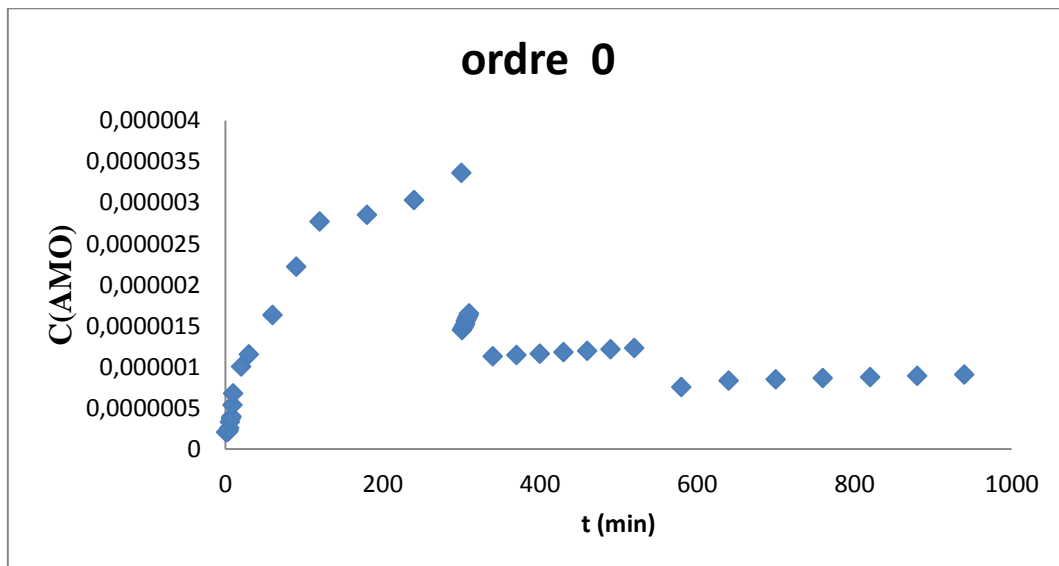


Figure 51: Concentration d'amoxicilline libéré en fonction du temps (AMOF01) (à T°= 37°C).

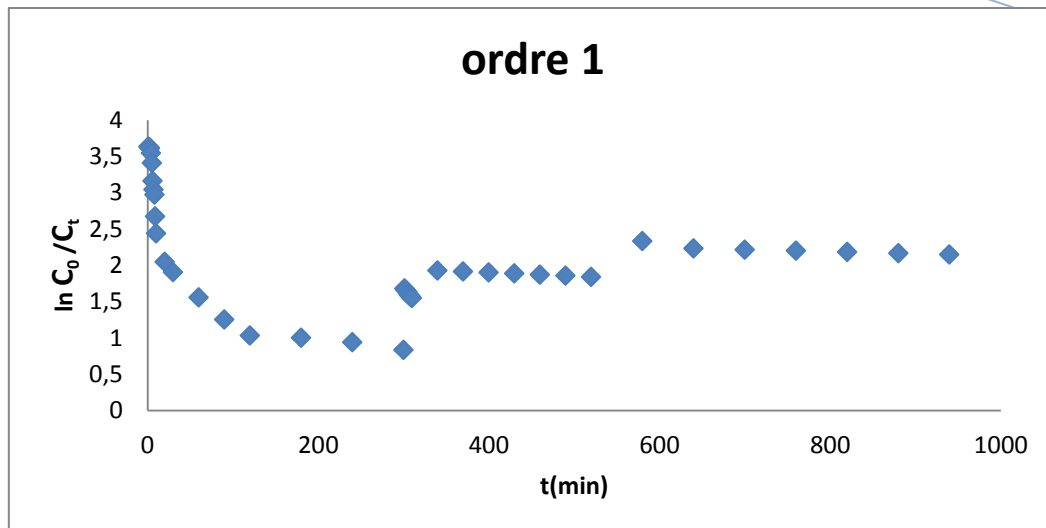


Figure 52: $\ln(C_0/C_t)$ en fonction du temps (AMOF01) (T=37°C).

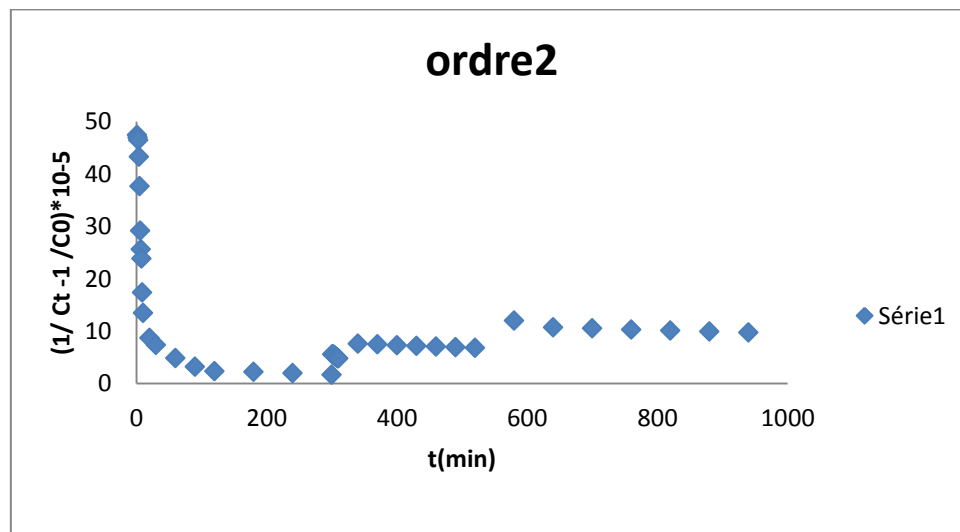


Figure53: $[(1/C_t)-(1/C_0)] \cdot 10^{-5}$ en fonction du temps (AMOF01) (T=37°C).

La libération d'amoxicilline ne subit aucun ordre cinétique classique (0,1 ou 2) pour tous les cinétiques comme le montrent les figures (54, 55, 56) par contre, en traçant le pourcentage du principe actif libéré en fonction de la racine carrée du temps, on obtient une nette linéarité avec des points expérimentaux, au temps courts de libération, On donne ci-après, à titre d'exemple, la courbe obtenue pour les microsphères AMOF01. (les autres sont classées en annexe).

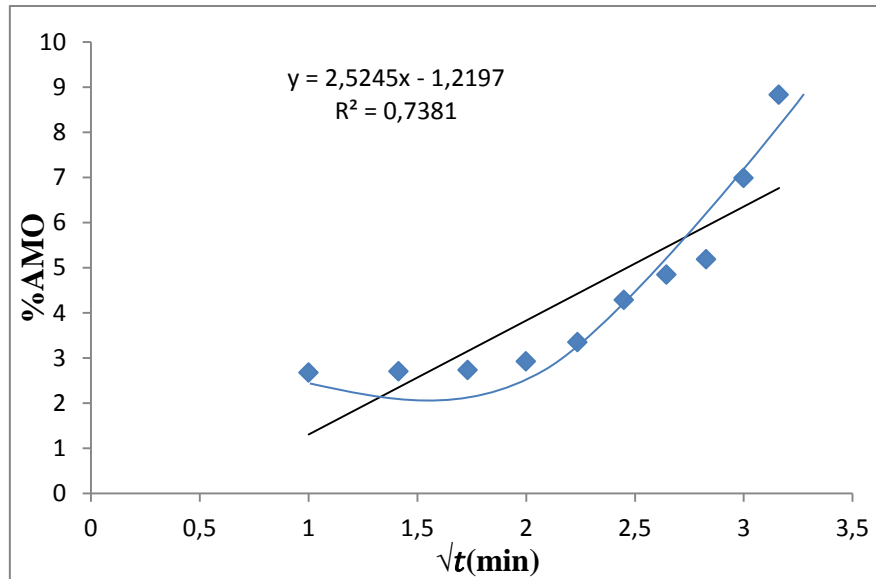


Figure 54 : %AMO libéré en fonction de la racine du temps (AMOF01)
($T=37^{\circ}\text{C}$).

Le suivi de la libération d'AMO dans le milieu d'étude a confirmé la linéarisation des points expérimentaux de la quantité de matière transférée en fonction de la racine carrée du temps. Ce qui nous amène à dire que ces cinétiques admettent une étape limitant 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 microparticule dans le milieu d'étude : contact de la microsphère 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.

Le phénomène de diffusion a été confirmé et les constantes de diffusion au temps courts et au temps long peuvent être calculées utilisant les lois de Fick.

Pour ces calculs, il est nécessaire de déterminer d'abord le m_{∞} . On donne à titre exemple, les calculs pour AMOF01.

III.3.2. 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) étudiées.

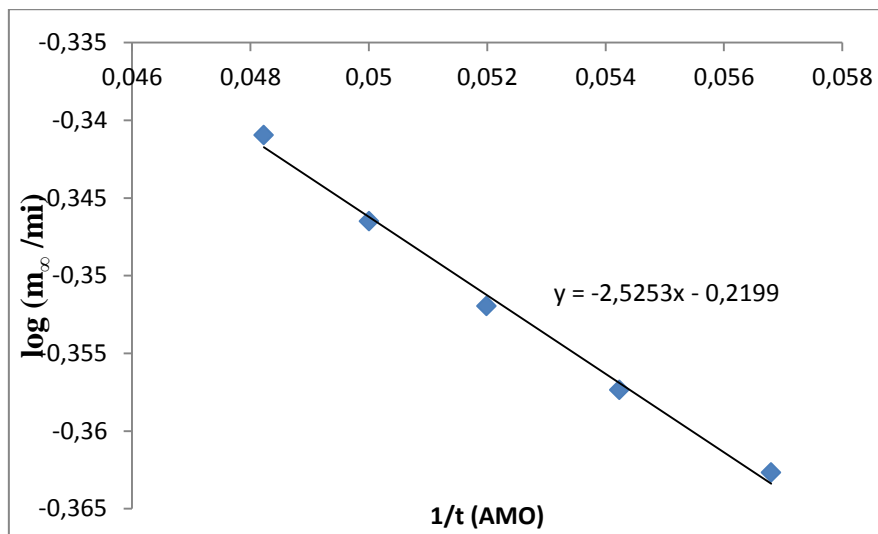


Figure 55: $\log (m_{\infty} / m_i)$ en fonction de $1/t$ du Pa libéré par les microsphères AMOF01

Par extrapolation si : $1/t \rightarrow \infty$ veut dire : $t=0$

Donc l'ordonnée à l'origine présente m_{∞} / m_i

- $\ln (m_{\infty} / m_i) = -x$
- $m_{\infty} / m_i = \exp (-x)$
- $m_{\infty} = 0,0022$

Principe actif : $x = -0,2199$

$m_i = 0,0028$

Les différentes valeurs de m_{∞} et m_i sont rassemblées dans le tableau suivant :

Formulation	m_i	m_{∞}
AMOF01	0,0028	0,0022
AMOF02	0,001653	0,0013
AMOF03	0,001305	0,001176

Tableau 09: les valeurs de m_i , m_{∞} des microsphères étudiées

III.3.3. Calcul des diffusivités :

➤ **aux temps courts de la réaction :**

Au temps court de la réaction on trace $\ln (m_t / m_i)$ en fonction de la racine t . on donne la courbe (AMOF01) ci-dessus, les courbe des autres formulations sont classées en annexe.

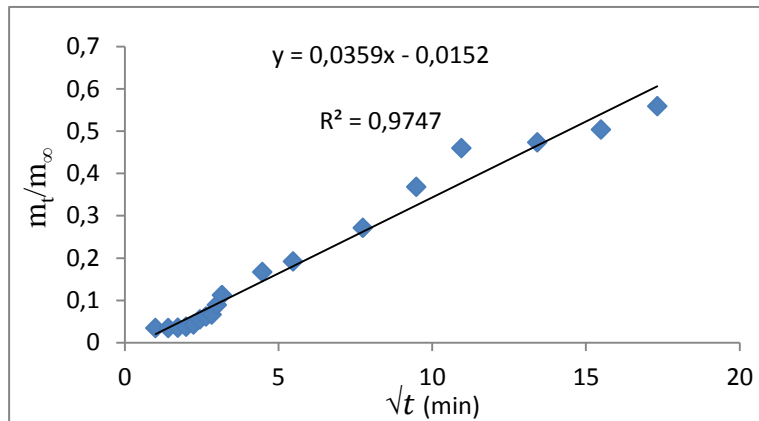


Figure 56: m_t/m_∞ en fonction de la racine du temps pour AMOF01, $T^\circ = 37^\circ\text{C}$.

Pour les temps courts d'une réaction étudiée, La diffusivité **D** est obtenue par l'équation suivant :

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

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

D'après le graphe représenté dans la figure, on obtient :

$$D = \frac{\pi}{36} R^2 (0,0359)^2$$

➤ **aux temps longs de la réaction :**

Au temps longs de la réaction on trace $\ln \left[1 - \left(\frac{m_t}{m_\infty} \right) \right] = f(t)$. On donne la courbe de la formulation (AMOF01) ci-dessus, les courbes des autres formulations sont classées en annexe.

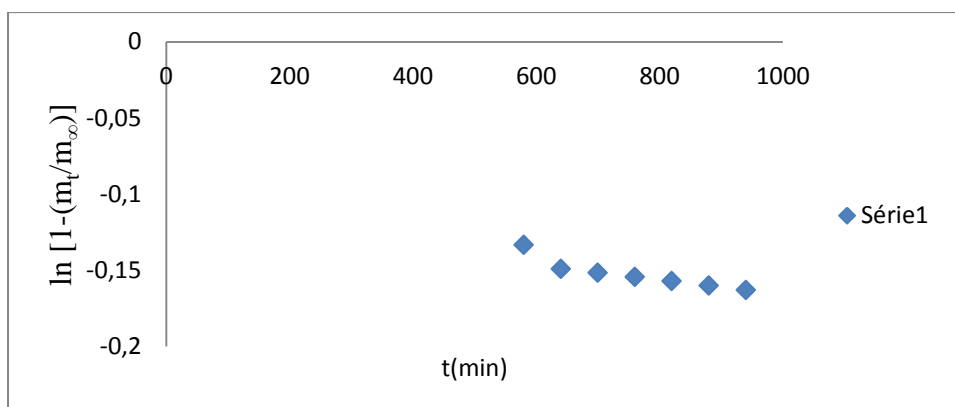


Figure 57: $\ln [1 - (m_t/m_\infty)]$ en fonction de temps des microsphères AMOF01.

La pente de ce graphe est utilisée pour le calcul de la diffusivité **D** au temps long selon l'équation suivant :

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

R : le diamètre moyen en nombre des microsphères

$$D = -(-0,00007) R^2 / \pi^2$$

Les valeurs des coefficients de diffusion au temps courts et au temps longs des 3 formulations, sont regroupées dans le tableau suivant :

formulation	Dtc (cm ² .s ⁻¹)	Dtl (cm ² .s ⁻¹)
AMOF01	3,31936.10 ⁻⁸	2,09695.10 ⁻¹¹
AMOF02	1,12079.10 ⁻⁸	9,23663.10 ⁻¹²
AMOF03	8,62268.10 ⁻⁸	6,702.10 ⁻¹¹

Tableau 10: Valeurs des diffusivités pour les microsphères étudiées.

D_{tc} (t, c : temps courts)

D_{tl} (t, l : temps longs)

Le coefficient de diffusion décrit la mobilité de la matière de 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.

On note que les coefficients de diffusion sont calculés à base de diamètre d_{10} . Les résultats de diffusivités d'amoxicilline calculés aux temps long sont faibles d'ordre de 10^{-11} à 10^{-12} par rapport à la diffusivités d'amoxicilline calculés aux temps courts, ils sont de l'ordre de 10^{-8} .

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 pour le même temps, cela est expliqué par l'équivalence en volume de pores entre les trois formes. On peut conclure que la technique d'évaporation de solvant nous permet d'avoir des microsphères poreux en utilisant différents excipients.

III.3.4. Modélisation des cinétiques par les lois d’Higuchi, korsmeyer_pepass, Hixon_crowell :

Utilisant les concentrations d’AMO libérés, on a arrivé à modéliser nos cinétiques selon les lois proposées par Higuchi, korsmeyer_pepass et Hixon_crowell. Sur le tableau suivant, on classe les valeurs déterminées :

	Higuchi		Korsmeyer_pepass			Hixon_crowell		
	K_h	R^2	K_{Hp}	n	R^2	K_s	R^2	$Q_0^{1/3}$
AMOF01	1,51	0,86	0,016	0,33	0,862	$1,10^{-5}$	0,831	0,060
AMOF02	1,36	0,99	0,032	0,24	0,990	$6,10^{-6}$	0,994	0,054
AMOF03	1,78	0,94	0,016	0,34	0,942	$8,10^{-6}$	0,922	0,050

Tableau 11: Modélisation des cinétiques selon l’équation d’Higuchi, korsmeyer_pepass et Hixon_crowell.

Les résultats donnés par l’équation d’Higuchi, montrent que les valeurs de la constante de libération (k_H) d’AMO à partir des formulations préparées est de l’ordre de 1,36-1,78 $mn^{1/2}$.

Nous avons constaté que la constante « c » pour les cinétiques de libération dû à l’existence du principe actif (amoxicilline) au milieu des microsphères étudiées, Elles prennent de temps pour déclencher des quantités importantes du principe actif dans le milieu d’étude; ce phénomène est appelé : « Burst effect ».

Pour les résultats donnés par les équations de Korsmeyer-Peppas, les valeurs des constantes cinétiques k ne peuvent pas être comparées parce qu’elles dépendent de l’exposant n, qui n’est pas le même pour l’ensemble des cinétiques de libérations étudiées. Par ailleurs, selon la valeur de n, on peut spécifier le mécanisme de diffusion s’il est du type Fickien ou non. Les valeurs données dans montrent que « n » varie de 0,24 à 0,34 qui nous permet d’en déduire que nos cinétiques sont de type Fickien.

Le model Hixon_crowell assure que la libération est limité par la diffusion. On note que les valeurs de constantes cinétiques K_s de l’ordre de 10^{-5} et 10^{-6} .

En général, on déduit que les cinétiques de libération d’AMO à partir des microparticules préparées sont limitées par la diffusion Fickienne. Ce résultat a été confirmé par les lois d’Higuchi, de korsmeyer_pepass et d’Hixon_crowell.

IV. L'activité antibiotique :

Les diamètres des zones d'inhibitions de chaque concentration ont été déterminés pour les 3 souches, les résultats sont montrés sur les figures suivantes. Ces derniers ont été comparés avec le témoin chargé de 15 µg sephadex qui est incubé avec les autres disques.

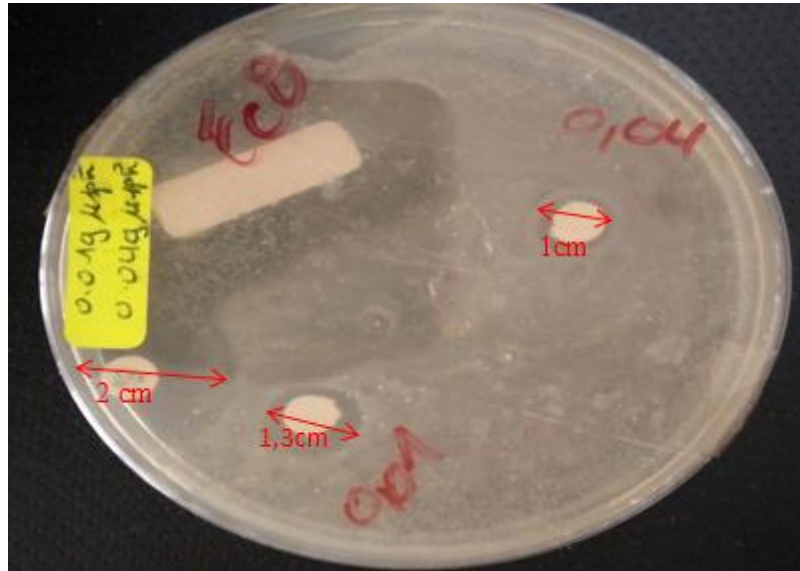


Figure 58: Diamètre d'inhibition obtenu pour l'Escherichia coli

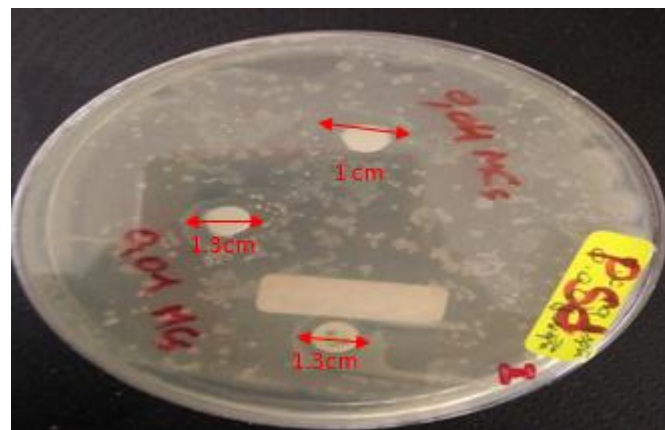


Figure 59: Diamètre d'inhibition obtenu pour Pseudomonas aeruginosa

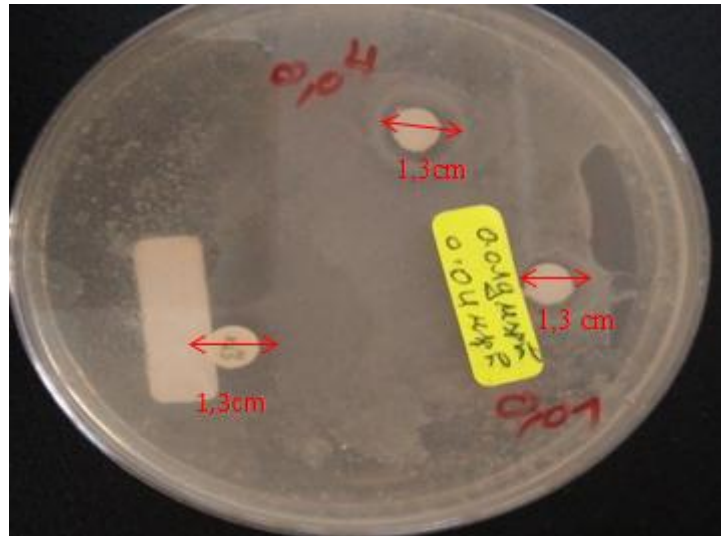


Figure 60 : Diamètre d'inhibition obtenu pour *Staphylococcus aureus*

D'après le diamètre d'inhibition « D », on remarque que nos microparticules chargées d'amoxicilline représente une activité antibiotique, puisque on a trouvé :

- Pour la souche *E. coli* : $D_{0,01}=1,3\text{cm}$, $D_{0,04}=1\text{cm}$,
- Pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* $D_{0,01}=1,3\text{cm}$, $D_{0,04}=1\text{cm}$,
- Pour la souche *Staphylococcus aureus* $D_{0,01}=1\text{cm}$, $D_{0,04}=1,3\text{cm}$.

La souche STP et la souche PSD sont les plus résistants selon la littérature.

Nous avons trouvés que la concentration utilisée des microsphères a influencé sur les diamètres puisqu'ils sont différents.

Le diamètre d'inhibition trouvé a été comparé avec un disque chargé de l'antibiotique sephadex qui fait partie de la même famille que l'amoxicilline, le résultat est encourageant puisque les diamètres du disque commercial et le disque chargé des microsphères à différente concentration sont très comparable.

Ceci nous permet de constater que l'amoxicilline est bien encapsulé à des taux important pour que l'action de celle-ci soit efficace, les résultats obtenus montrent que l'amoxicilline ne perde pas son activité antibiotique après encapsulation.

Conclusion Générale

Conclusion Générale

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

Pour cela, l'amoxicilline a été encapsulé par évaporation de solvant avec changement du volume de la phase aqueuse. Les microparticules préparées ont été caractérisées par FTIR, Microscopie Optique et Électronique à balayage et DRX.

Les microsphères réservées à nos principes actifs solides sont de type "matriciel" préparées selon la méthode de l'évaporation de solvant (O/W) engageant comme matrice l'éthylcellulose et le saccharose polymères biocompatibles et autres différents excipients utilisant en pharmacologie. Les microsphères décrites dans ce travail sont de morphologie sphérique rigide, de porosité et de taux d'encapsulation variable.

Le relargage de principe actif encapsulé a été étudié à partir des microparticules préparées plongées dans les milieux d'étude agités aux pH physiologiques reconstitués aux pH=1,2- 4,5 - 6,7 et 7,3 à T=37°C.

L'application des modèles mathématiques d'Higuchi, de Korsmeyer –Peppas, et de Hixon_crowell à nos résultats montre que la libération des agents actifs est régie essentiellement par le phénomène de diffusion.

Les tests biologiques réalisés sur plusieurs souches bactériennes nous ont permis de vérifier le maintien de l'efficacité de l'antibiotiques "Amoxicilline" après l'encapsulation, avec une prolongation substantielle de leur action sur la destruction totale des bactéries. Notre étude confirme que la microencapsulation de l'antibiotique est une méthode meilleure pour l'utilisation de formulations à libération prolongée.

L'utilisation des excipients permet le prolongement substantiel de libération d'amoxicilline à partir des microsphères préparées. Cette étude à été comparée avec l'utilisation seul du polymère. Il confirme l'effet retard avec la modification d'autre propriétés tel que le goût.

Liste des abréviations



AMO	Amoxicilline
AMOF01	formulation 01
AMOF02	formulation 02
AMOF03	formulation 03
CMB	La Concentration minimale bactérienne
CMI	La Concentration minimale inhibitrice
C_0	Concentration de principe actif
C_i	Concentration initiale de principe actif
C_t	Concentration de principe actif à l'instante t
D	Diamètre d'inhibition
$D_{0,01}$	Diamètre d'inhibition de solution (C=0,01g/ml)
$D_{0,04}$	Diamètre d'inhibition de solution (C=0,04g/ml)
Dtc	Le coefficient de diffusion au temps courts
Dtl	Le coefficient de diffusion au temps longs
DMC	Dichlorométhane
DRX	Diffusion des rayons X
d10	Le diamètre moyen en nombre
d32	Le diamètre moyen en surface
d43	Le diamètre moyen en masse
DO	Densité optique
EC	Ethyle cellulose
E. coli	Eshiréchia coli
FTIR	Fourier Transform Infra Red(l'Infra Rouge a Transformée de Fourier
g	Gramme
IR	Infrarouge
i	La classe des particules
J_s	La densité de flux
KBr	Bromure de Potassium
k_H	Constante de libération d'Higuchi.
K_s	Constante incorporant la réaction volume - surface du vecteur
L	Litre
(MEB)	Microscope électronique à balayage
MO	Microscope Optique

Liste des abréviations

M-H	Gélose de Mueller-Hinton
ml	Millilitre
mi	Masse initiale de principe actif
mt	Masse de principe actif à l'instante t
m_{∞}	Masse finale de principe actif
n	Nombre de particules
(PA)	Principe actif
Pa%	Le pourcentage du principe actif libéré
Psd	Pseudomonas aeruginosa
pH	Potentiel Hydrogène
Ppm	Partie Par million
pk	Cst caractérisant le potentiel dissociation ionique d'un électrolyte a une température donnée.
Qt	Quantité de médicament libéré au temps
Q ₀	Quantité de principe actif initialement introduit dans le vecteur.
Q _t	Quantité de principe actif restante dans le vecteur à l'instant t
(Rdt%)	Le rendement
r.p.m	Retour par minute
S. aureus	Staphylococcus aureus
T	La température T °C
t	Temps
UV-Vis	Spectroscopie ultraviolet-visible
Vf	Volume de flacon de 100 mL
Vd	Volume de la fiole de dilution (10cm ³)
Vp	Volume prélevé
µm	Micromètre
(6-APA)	L'acide 6-aminopénicillanique

Liste des figures

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Représentation schématique des 2 Types de microparticules	06
2	Les Procédés de la microencapsulation	08
3	Principe du procédé de la microencapsulation par évaporation du solvant	09
4	Représentation du profil de libération prolongée.	12
5	Profil des concentrations plasmatiques obtenues à partir des différentes formes à libération modifiée.	15
6	Cinétiques de libération d'ordre 0 (a) et d'ordre 1 (b) après administration orale d'une forme à libération prolongée	16
7	Représentations graphiques du « Burst effect » et du « Lag time », délai de libération	17
8	Représentation schématique d'une paroi matricielle.	18
9	Schéma représentant les modes de fonctionnement des antibiotiques.	23
10	Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide.	24
11	Détermination de la CMI par dilution en milieu gélosé.	25
12	Comparaison de McFarland 0,5 avec la suspension de l'inoculum.	28
13	Inoculation des boîtes de Pétri	28
14	Application des disques d'antibiotiques.	29
15	Lecture des zones d'inhibition.	30
16	Cycle β -lactame	32
17	Classification des β -lactamine.	33
18	Structure semi-développée de l'amoxicilline.	34
19	Exemple de procédés d'obtention de l'amoxicilline	35
20	Structure chimique du saccharose.	37
21	Structure chimique du benzoate de sodium	38
22	Structure chimique du citrate de sodium	39
23	Structure semi-développée d'arôme fraise	41
24	Structure semi-développée d'arôme citronne (limonène)	41
25	Structure chimique de l'éthylcellulose.	41
26	Dispositif expérimental utilisé pour la microencapsulation par évaporation de solvant.	42
27	Les courbes de distribution en taille des microsphères AMOF01	45
28	Le dispositif expérimental de la libération du principe actif	48
29	pH et temps de séjour des matières solides le long du tractus digestif	49
30	Le spectre d'absorption d'amoxicilline dans le milieu pH=1,2.	51
31	Courbe d'étalonnage d'amoxicilline dans le pH=1,2 et T 37°C.	52
32	Structure semi-développée de l'amoxicilline dans le pH=1,2	53
33	Structure semi-développée de l'amoxicilline dans le pH=4,5	54

Liste des figures

34	Structure semi-développée de l'amoxicilline dans le pH=6,7	54
35	Structure semi-développée de l'amoxicilline dans le pH=7,3	54
36	Les 3 souches bactériennes Pseudomonas ; S. aureus et E. coli	55
37	Observation des microsphères d'AMOF01 par microscope optique	57
38	Observation des microsphères d'AMOF02 par microscope optique	57
39	Observation des microsphères d'AMOF03 par microscope optique	58
40	Spectre Infrarouge des Microsphères AMOF01	58
41	Spectre Infrarouge des Microsphères AMOF02	58
42	Spectre Infrarouge des Microsphères AMOF03	59
43	Micrographies par MEB d'AMOF01	60
44	Micrographies par MEB d'AMOF02	60
45	Spectre DRX des Microsphères AMOF01	61
46	Spectre DRX des Microsphères AMOF02	61
47	Spectre DRX des Microsphères AMOF03	62
48	AMO % libéré en fonction du temps à partir d'AMOF01 (T = 37°C, 500 r.p.m).	63
49	AMO % libéré en fonction du temps à partir d'AMOF01 (T = 37°C, 500 r.p.m).	63
50	AMO % libéré en fonction du temps à partir d'AMOF3 (T = 37°C, 500 r.p.m).	64
51	Concentration d'amoxicilline libéré en fonction du temps (AMOF01) , à T°= 37°C.	64
52	$\ln (C_0/C_t)$ en fonction du temps (AMOF01) ,T=37°C.	65
53	$[(1/C_t) - (1/C_0)] * 10^{-5}$ en fonction du temps (AMOF01) ,T=37°C.	65
54	%AMO libéré en fonction de la racine du temps (AMOF01) (T=37°C)	66
55	$\log (m_\infty/m_t)$ en fonction de 1/t du Pa libéré par les microsphères AMOF01	67
56	m_t/m_∞ en fonction de la racine du temps pour AMOF01, T°= 37°C.	68
57	$\ln [1-(m_t/m_\infty)]$ en fonction de temps des microsphères AMOF01	68
58	Diamètre d'inhibition obtenu pour l'Escherichia coli	71
59	Diamètre d'inhibition obtenu pour Pseudomonas aeruginosa	71
60	Diamètre d'inhibition obtenu pour Staphylococcus aureus	72

Liste des tableaux

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Quantité d'arôme en fonction du type d'aliment.	40
02	Résultats Granulométriques des microsphères AMOF01	46
03	Préparation des milieux reconstitués	48
04	Valeurs de ξ max d'amoxicilline pure dans chaque PH à 37°C.	52
05	Les valeurs [base] / [acide] dans les reconstitués	53
06	Rdt% de la microencapsulation	56
07	Les diamètres moyens (μm) et la dispersion des microsphères	56
08	Bandes caractéristiques correspondants aux trois formulations	59
09	les valeurs de m_i , m_∞ des microsphères étudiées	67
10	Valeurs des diffusivités pour les microsphères étudiées	69
11	Modélisation des cinétiques selon l'équation d'Higuchi, kosméyr-pepass, Hixon_crowell	70

Références bibliographiques



- (1) Jonnathan..J’’ Développement et évaluation de mini comprimés flottants à libération prolongée’’, 2008,thèse de doctorat en science pharmaceutique, université de Bruxelles.
- (2) Weiner B Z, Zilkha A, J Med Chem, 1973 ,16 ,573-574.
- (3) Weiner B Z, Zilkha A, Porath G, Grunfeld Y, Eur J Med Chem, 1976,11(6),525-532.
- (4) Diaf K, El Bahri Z, Chafi N, Belarbi L, Mesli A, Chemical Papers,2012, 66 (8), 779–786.
- (5) Wiley-Vch V , Co. KGa A, Weinheim I. Swapan Kumar G, “Functional Coatings and Microencapsulation”:A General Perspective.2005
- (6) Finch CA, Chem. Ind, 1985,22, 752-756.
- (7) Li SP, Kowarski CR, Feld KM , Grim WM, Drug Dev. Ind. Pharm., 1988,14, 353-376.
- (8) Richard J, Benoît J-P, J of Microencapsulation, 2000 2,201-210.
- (9) Augustin M A, Hemar Y, ChemSoc Rev, 2009 ,38 902-912.
- (10) Vandamme T, Poncelet D, Subra – Paternault P , « microencapsulation » , 2007, EdLavoisier, Paris.
- (11) Bansode S S, Banarjee S K, Gaikwad D D, Jadhav S L , Thorat R , M. Microencapsulation: A Review, Vishal Institute of Pharmaceutical Education and Research, V 1, Article 008, ISSN 0976 – 044X, 2010
- (12) Rama D , Shami T.C., BhaskerRao K.U, “Microencapsulation Technology and Applications”, Defence Science Journal, 59, No. 1, 82-95, 2009.
- (13) Brahmankar D.M , Jaiswal , B. " Un Traité biopharmaceutique et pharmacocinétique", Vallabhprakashan,2002, 335-337.
- (14) Lee T Y, Robinson J R, " Controlled- Release Drug-DeliverySystems", ch 47, 20^{ème} Ed 1,903.
- (15) Gendle R. Al., "Paramètres requises pour système à libération prolongée de médicaments", 2009, 68-87.
- (16) Jain K K, "Drug Delivery Technologies and Markets", Informa, Publishing Group, 2000,144.
- (17) Chem J,"Evaluation ADME dans la découverte de médicaments", 2003 ,43,1058-1067.
- (18) Denine R, "Cours de pharmacie galénique", OPU, Alger, 2008,233.
- (19) Cohen Y, "Initiation à la connaissance du médicament",1995, 2^{ème} Ed ,Masson, Paris ,172
- (20) Le Hir A, "Pharmacie galénique : bonne pratiques de fabrication des médicaments", 8^{ème} Ed, Masson, Paris,2001,251.
- (21) Mukherji G, Wilson C, "Enteric Coating for Colonic Delivery", 2002, India, Scotland, Marcel Dekker.
- (22) Khar R.K, Vyas S. P,"Diffusion contrôlée de médicament", 2002 ,1-50.
- (23) Brahmanker D. M, Jaiswal S. B, "Biopharmaceutics and Pharmacokinetics", 1995,1^{ère}Ed, Vallabh Prakashan, 347-352

Références bibliographiques



- (24) Uchizono J.A, "Application of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics in the design of Controlled Delivery Systems", 2006, McGraw Hill,1-39.
- (25) Buri P, "Introduction, in Formes Pharmaceutiques nouvelles" Aspects Technologique, Biopharmaceutique et Médical, 1985, TEC & DOC Lavoisier: Paris. 3-4.
- (26) Santus G, Baker R.W, Robert A. M. "Pharmaceuticals, Controlled Release of, in Encyclopedia of Physical Science and Technology", 2001, Academic Press: New York.. 791- 803.
- (27) Kim C.J , " Controlled release dosage form design, Technomic publishing Co" ,2000, Lancaster PA, 1-12.
- (28) Hassan I, "L'amylose réticulé comme matrice pour la libération contrôlée de médicaments. Aspects structuraux", 1997,Mémoire de Maîtrise en Chimie, Université du Québec à Montréal,7.
- (29) Hui H-W, Robinson J R, Lee V, H, "Design and Fabrication of Oral Controlled Release Drug Delivery Systems, Drugs and the Pharmaceutical Sciences : Controlled Drug Delivery Fundamentals and Applications",1987; Ed. D.L. Wise; Marcel Dekker; New York, 373-432.
- (30) Jantzen G. W, Robinson J R, "Sustained- and Controlled-Release Drug-Delivery Systems, Drugs and Pharmaceutical Sciences; Modern Pharmaceutics", 2002Ed. G.S. Banker; C.T. Rhodes; Marcel Dekker; New York; 501-528.
- (31) Welling P G, Dobrinska M R, "Dosing Consideration and Bioavailability Assessment of Controlled Drug Delivery Systems, Drugs and the Pharmaceutical Sciences : Controlled Drug Delivery Fundamentals and Applications",1987; Ed. D.L. Wise; Marcel Dekker; New York; 253-291.
- (32) Crank J, "The Mathematics of Diffusion, Clarendon",1975; Oxford; 2^{ème} Ed; Ch 6,85.
- (33) Banker G. S, Rhodes C T, "Modern Pharmaceutics", 2002; Marcel Dekker;NewYork, 4^{ème} Ed 7-11.
- (34) Tahara K, Yamamoto K, Nishihata T, "Journal of Controlled Release", 1995,35,59- 66.
- (35) Mourao S C, Da Silva V, Bresolin T M B, Serra C H R, Porta V, "International Journal of Pharmaceutics", 2010,386,201-207.
- (36) Kalam M A, Humayun M, Parvez N, Yadav S, GargS, Amin S, Sultanaand Y, Ali A, Continental J. Pharmaceutical Sciences, 2007,130-35.
- (37) Akhter D T, Uddin R, Sutradhar K B, Shohel Rana M D,"Journal of Chemical and Pharmaceutical Research", 2012; 4(3) ,1573-1579.
- (38) Akhter M, Banik S, Salim Hossain M, "Journal of Applied Pharmaceutical Science", 2012; 02(05); 188-194.
- (39) Costa P, Lobo J M S, "European Journal of pharmaceutical Sciences, 2001,13,123-133.
- (40) Korsmeyer R W, Gurny R, Doelker E, Buri P , Peppas N A, Int. J. Pharm, 1983,15,25-35.
- (41) Dash S, Murthy P N, Nath L, Chowdhury P, Acta Poloniae Pharmaceutica- Drug Research, 2010; 67(3),217-223.
- (42) Riger P L, Peppas N A, J. Control. Rel, 1987,5,37-42.

Références bibliographiques



- (43) Hixon A.W.,Crowell J.H. "Dependence of reaction velocity upon surface and agitation Ind .Eng.Chem.1931,23,923.931
- (44) Chen S.,Zhu J., Cheng J. Pharmazie .2007,62,907
- (45) Penicillin Man: Alexander Fleming and the Antibiotic Revolution, by Kevin Brown, St Mary's Trust Archivist and Alexander Fleming Laboratory Museum Curator ,2004.
- (46) Baron E.J, Pfaller M, Tenover F.C, Yolken R-H, Murray P-R. "American Society for Microbiology ". 1995,520.
- (47) Marc T,Gérard ,W. Roselyne G , "Guide Pharmaco", 8^{ème}Ed ,2010,781,782
- (48) Rabetafika H.N., Paquot M ., Dubois P,Progress in polymer Science 1998 ; 23(7)1273-353.
- (49) Chandra R., Rustgi R . Progress in polymer science 1998,3(7) ,1273-353.
- (50) Nair L.S., Laurencin C.T, Progress in polymer Science 2007 ;32(8-9) :762-98.
- (51) Keller A, Wintermantel E., Riffieux L., Rapports FAT n° 503, 2003.
- (52) Averous L., Polymer Reviews 2004, Vol C4 ,N°3,231-74.
- (53) Doumene S., Fiche technique emballage 2004.
- (54) Talbert .M, Willoquet.G et Gervais.R. Pharmaco clinique, Wolters Kluwer France,2009. 648,655
- (55) Mouton .Y, Bingen .E, Deboxker .Y et Dubreuil.L, "Antiviraux Anti-infectieux",2000,Edition John Libbey Eurotext. Paris, 116.
- (56) Archambaud . M. Laboratoire Bactériologie-Hygiène .CHU Rangueil Toulouse, 2009,23-34.
- (57) Madigan .M et Martinko. J. Biologie de Micro-organismes. 2007. 702- 862.
- (58) Prescott, H. Kilien ,H "Microbiologie " 2^{ème} Ed française, 2007. 806-819.
- (59) Cavallo J-D, Fabre R, Jehl F, Rapp C, Garrabé E, Bêtalactamines. EMC Maladies infectieuses 1, 2004. 129-202.
- (60) Chaabane A, Aouama K, Boughattas NA, Chakroun M, ," Allergie aux bêtalactamines: mythe et réslités". Elsevier Masson. Médecine et maladies infectieuses,2009,39 ,278-287.
- (61) Nauciel C. "Bactériologie médicale" ,2000,Ed ellipses, ,56.
- (62) Yala D, Merad A-S, Mohameddi D, Ooar Korich M-N. "Classification et mode d'action des antibiotiques",2001. Ed Médecine du Maghreb, 91,1.
- (63) Perronne .C. Maladies infectieuses, V1,1999,1,65.
- (64) Axel K, Jürgen E, Bernhard K, Dietmar R, "Pharmaceutical Substances", 2006,5^{ème} Ed Stuttgart. New York). 68-71,
- (65) Qi Wu. "Appl Biochem Biotechnol" 2010, 160,2026-2035.
- (66) Derrieu G, Raynier B, Ascher F, Gardey L, Revue Méd. Vét, 2000, 151, 2, 109-117.
- (67) Leclerc A H, Zhang X, Topaloglu H, Cruaud C, Tesson F, Weissenbach J, Tomé F M, Nat Genet 1995, 11, 216-218..
- (68) Brevet EP 0009845 B2 "Procédé pour la fabrication de préparations de sodium amoxicilline", date de dépôt 11 novembre 1979.

Références bibliographiques



- (69) Chain, E, Florey, H.W., Gardner, A.D. "Penicillin as a chemotherapeutic agent". 1940, 236, 226-228.
- (70) Limousin Association INTERCHIMIE 99.
- (71) Yoneyama H, Ocaktan A, Tsuda M, Nakae T. La chimie et l'alimentation, EDP Sciences et L'Actualité Chimique-Livres, 2010
- (72) Lobenberg, "European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics" 2000, 50, 3-12.
- (73) Shargel, L.; Yu, A.B.C., "Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics", 1999, 4^{ème} Ed, McGraw-Hill Medical Publishing, 208-226.
- (74) Crowley. P, C. Martini., Drug – excipient interactions, Pharmaceutical Techn. Europe, 2001, 26-34.
- (75) Codex alimentarius Food and Drugs Administration, agence officielle des Etats-Unis responsable de la régulation des aliments, des compléments alimentaires et des médicaments.
- (76) Directives et Règlements de l'Union Européenne relatifs aux additifs alimentaires, Règlement 1130/2011 Additifs autorisés dans les additifs alimentaires (dits Supports d'additifs, ou Auxiliaires technologiques), les enzymes, les arômes et les nutriments.
- (77) Site retiré début 2017. Archive en ligne [disponible \(valide 12-2017\)](#).
- (78) European Commission › Health and Consumers › Cosmetics-CosIng, Base de données de l'U.E. des ingrédients cosmétiques. Accès par no. CAS.
- (79) Federation of European Producers of Abrasives (FEPA), 20 Av. Reille, 75014 Paris.
- (80) Centre Européen des Silicones, Av. van Nieuwenhuyse 4, box 2, B-1160 Bruxelles, Belgique.
- (81) Tsutsumi. Y et al., J. Pharmacol. Exp. Ther, 1996, 1006- 1011.
- (82) Mahmood I, Chengzhi C, Kalsoom M, Yan H, Hui L, Muhammad A, J Chem Soc Pak, 2011; 33(5), 634-639.
- (83) Kaczmarek, K., & Bellot, J. C. Acta Chromatographica, 2003, 13, 22-37.
- (84) Abdelmalek I., Mesli A., Bendahmane M., Chafi N., Simonneaux G., J. Mater. Environ. Sci. 5 (1), 2014, 49-56

Classe (μm)	Centre de classe d_i	Effectif n_i	$n_i * d_i$	Fréquence en nombre	$n_i * d_i^2$	Fréquence en surface	$n_i * d_i^3$	Fréquence en masse	$n_i * d_i^4$
[0-10]	5	285	1425	36,30573248	7125	4,674430048	35625	1,249178172	178125
[10-20]	15	439	6585	55,92356688	98775	64,80236182	1481625	51,95266272	22224375
[20-30]	25	47	1175	5,987261146	29375	19,271773	734375	25,75060267	18359375
[30-40]	35	14	490	1,78343949	17150	11,25143513	600250	21,04755643	21008750
somme		785	9675	100	152425	100	2851875	100	61770625

Tableau: Résultats Granulométriques des microsphères AMOF02

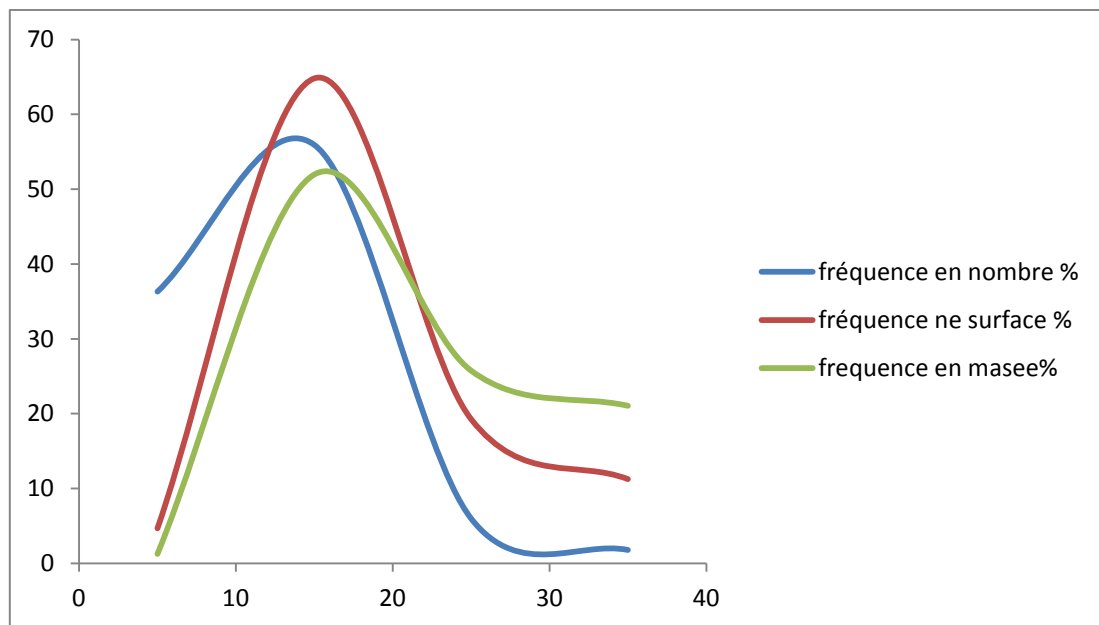


Figure 2 : Les courbes de distribution en taille des microsphères AMOF02

Classe (μm)	Centre de classe d_i	Effectif n_i	$n_i * d_i$	Fréquence en nombre	$n_i * d_i^2$	Fréquence en surface	$n_i * d_i^3$	Fréquence en masse	$n_i * d_i^4$
[0-10]	5	58	580	16,57142857	5800	1,773700306	58000	0,500431406	580000
[10-20]	15	257	7710	73,42857143	231300	70,73394495	6939000	59,87057808	2,08E+08
[20-30]	25	34	1700	9,714285714	85000	25,99388379	4250000	36,66954271	2,13E+08
[30-40]	35	1	70	0,285714286	4900	1,498470948	343000	2,9594478	24010000
Somme		350	10060	100	327000	100	11590000	100	4,45E+08

Tableau: Résultats Granulométriques des microsphères AMOF03

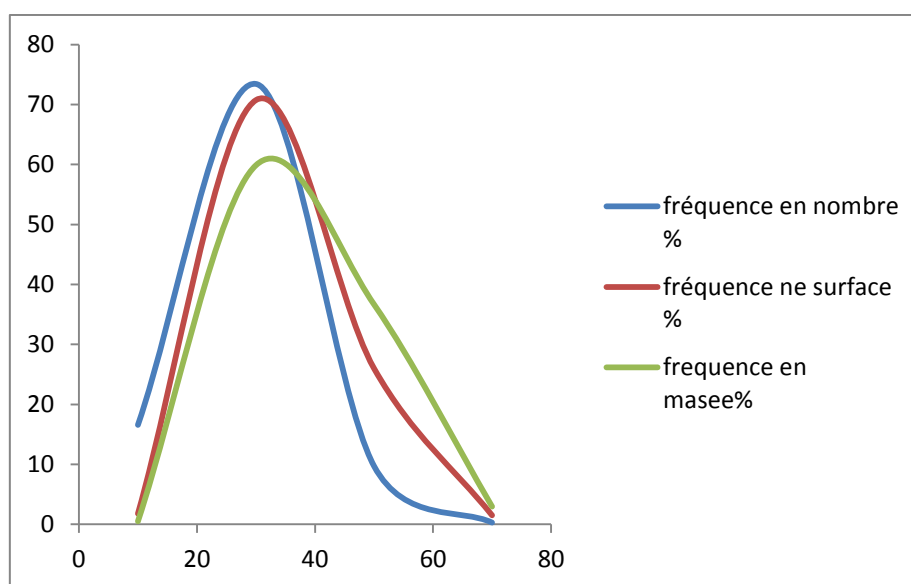


Figure: Les courbes de distribution en taille des microsphères AMOF03

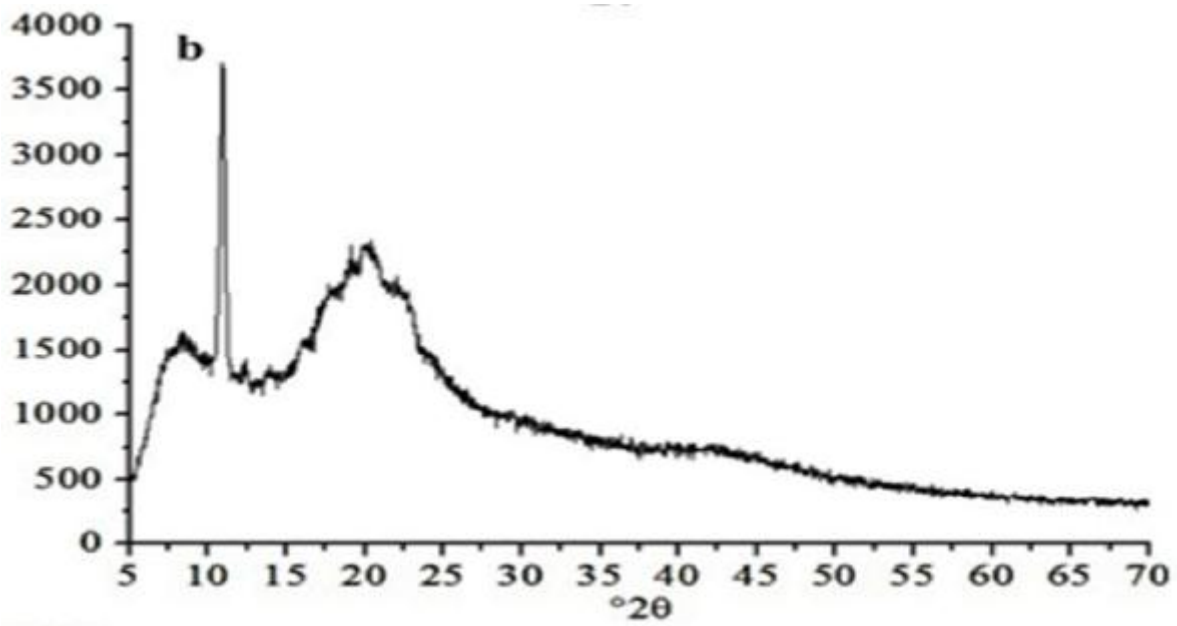


Figure : Spectre DRX de l'ethylcellulose pure (EC).

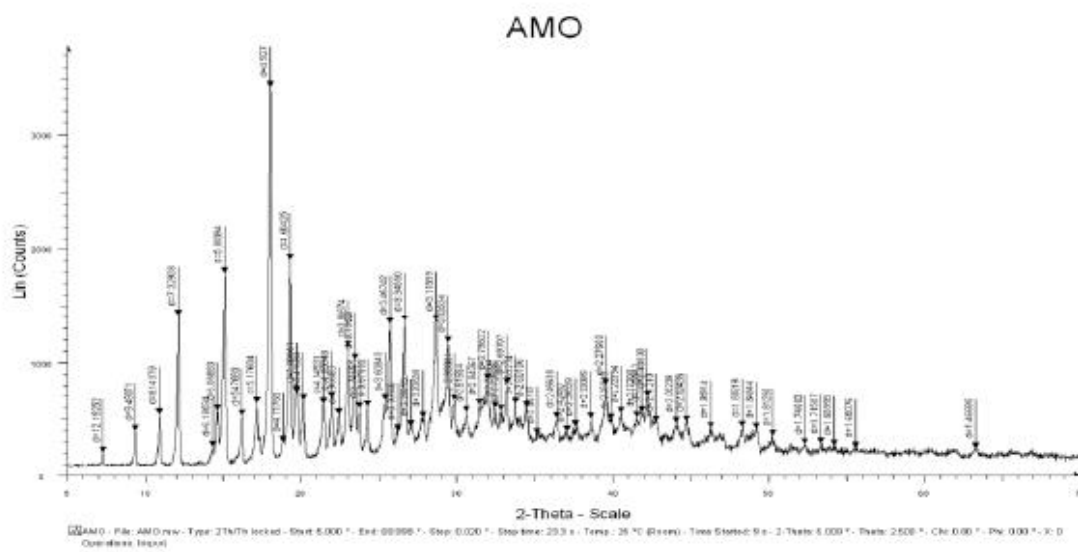


Figure : Spectre DRX de l'amoxicilline pure .

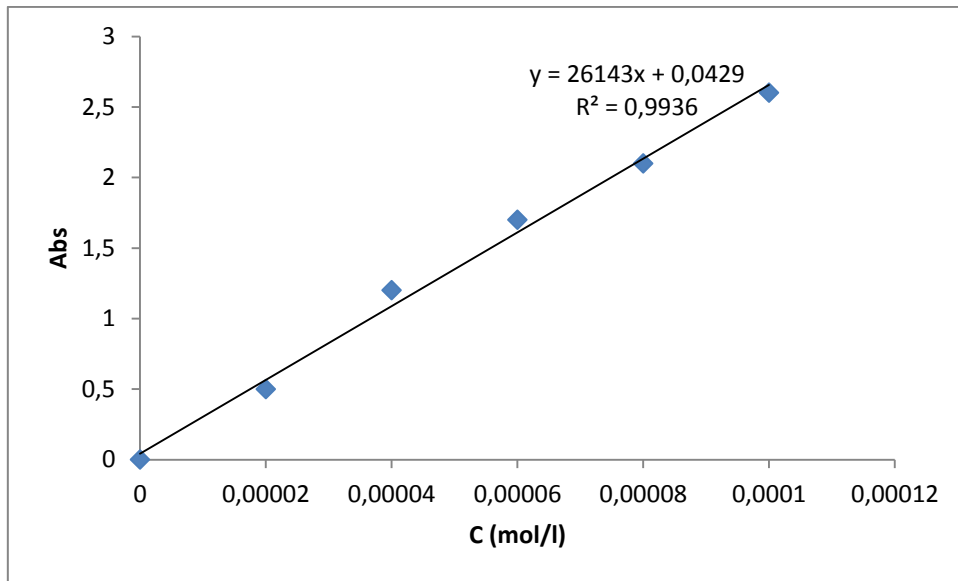


Figure: Courbe d'étalonnage d'amoxicilline à pH=4.5 et T 37°C.

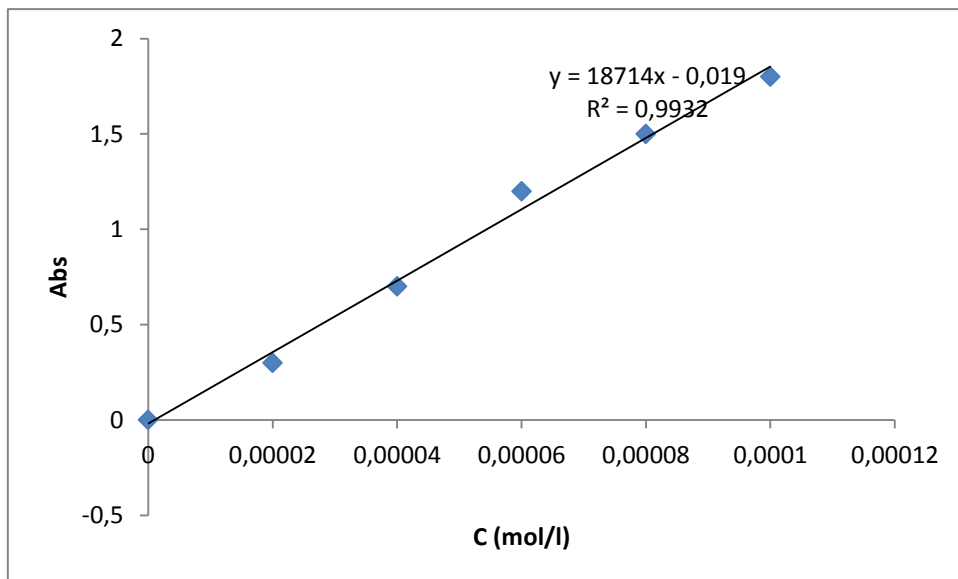


Figure: Courbe d'étalonnage d'amoxicilline à pH=6.7 et T 37°C.

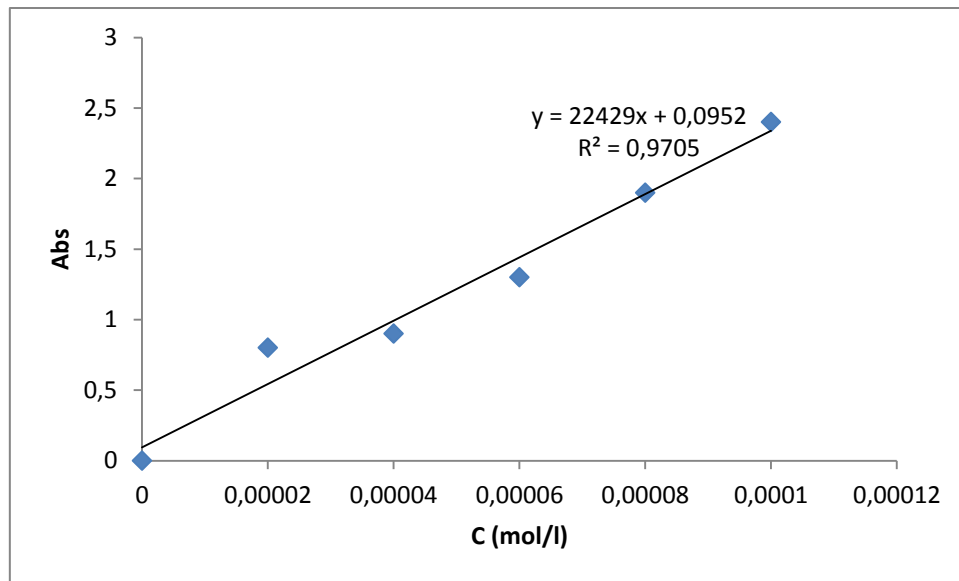
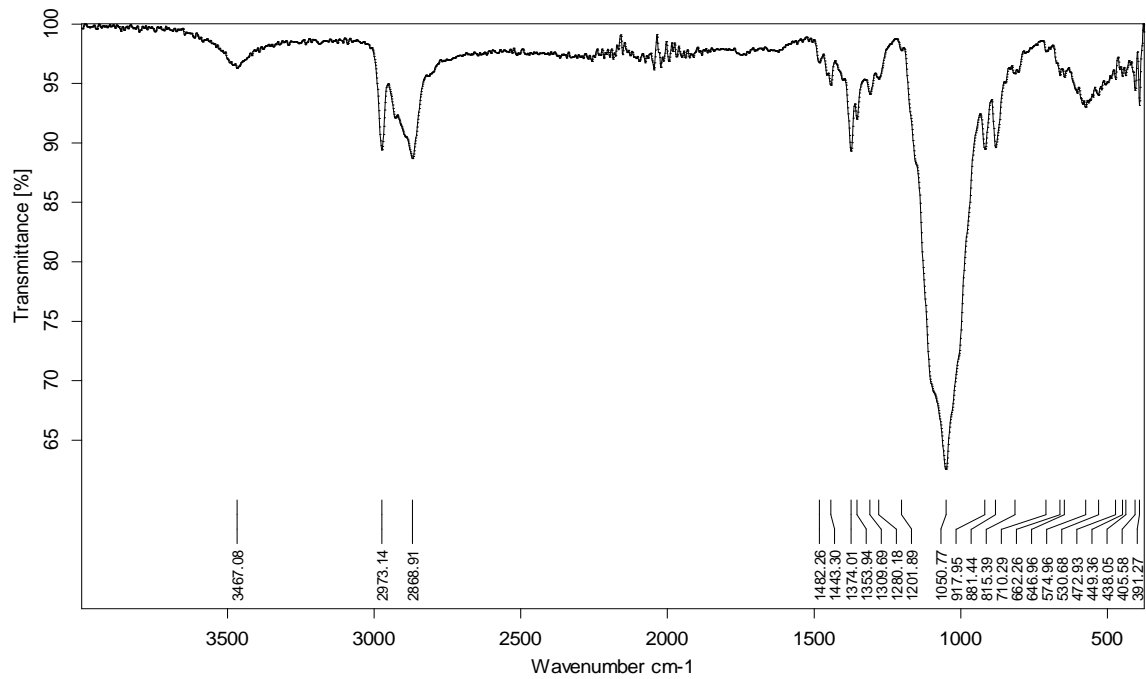


Figure: Courbe d'étalonnage d'amoxicilline à pH=7.4 et T 37°C



C:\Program Files\OPUS_65\MEAS\EC.3	EC	Instrument type and / or accessory	10/03/2015
------------------------------------	----	------------------------------------	------------

Figure : Spectre IR de l'éthylcellulose pure (EC).

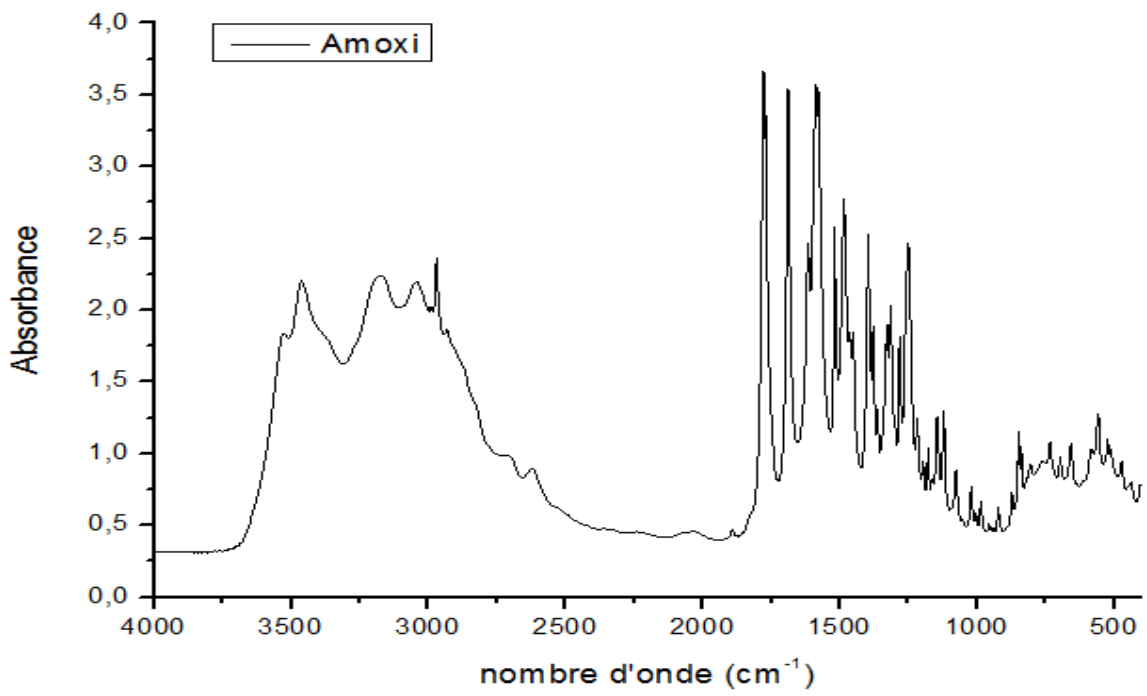


Figure : Spectre IR de l'amoxicilline pure

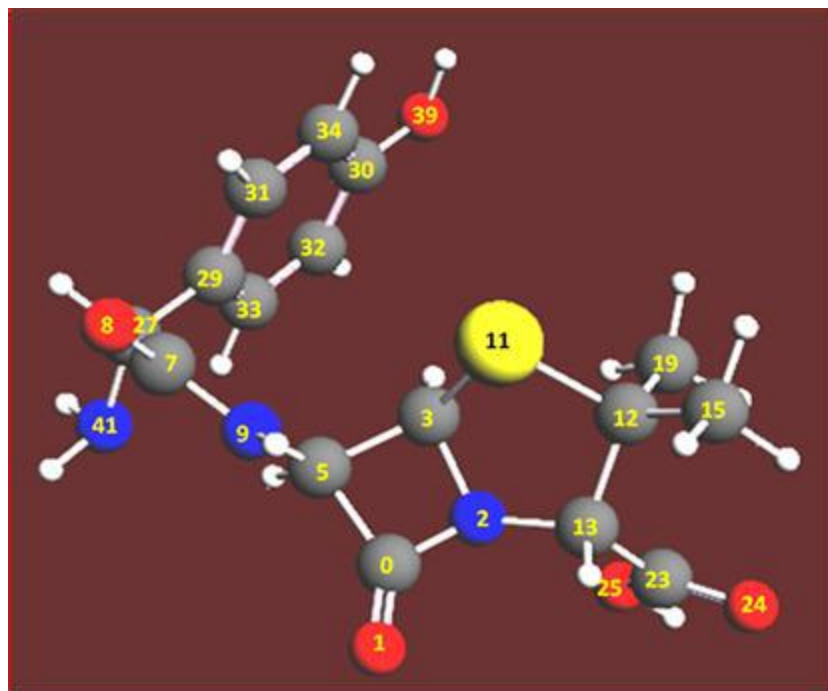


Figure : La structure géométrique en 3D optimisée par ADF de l'Amoxicilline

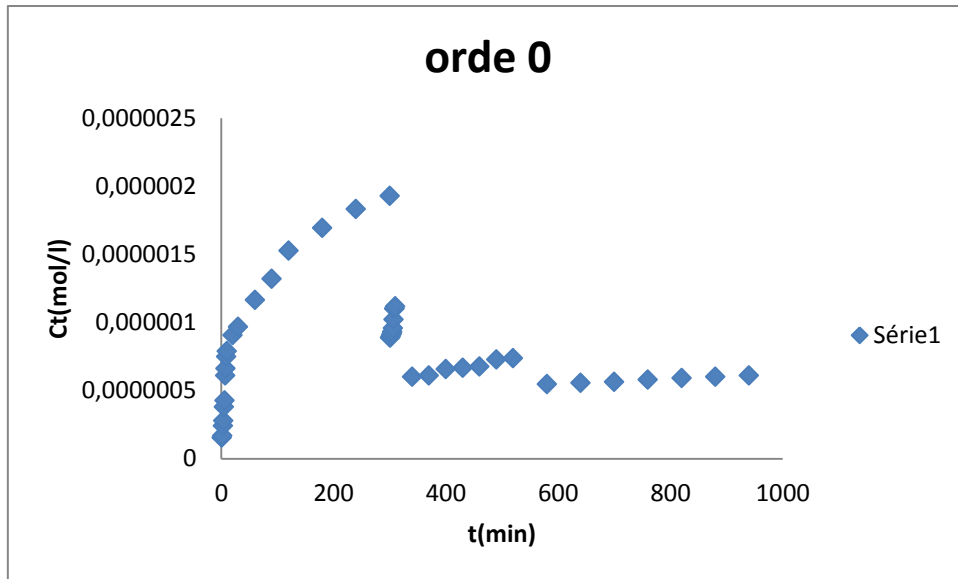


Figure : Concentration d'amoxicilline libéré en fonction du temps (AMOF02), $T^\circ = 37^\circ\text{C}$

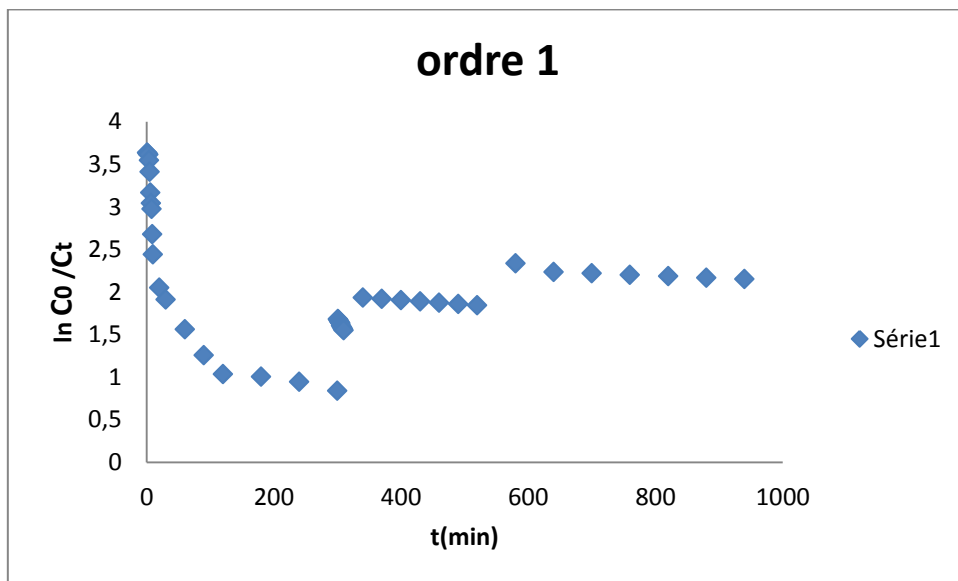


Figure : $\ln(C_0/C_t)$ en fonction du temps (AMO02), $T=37^\circ\text{C}$.

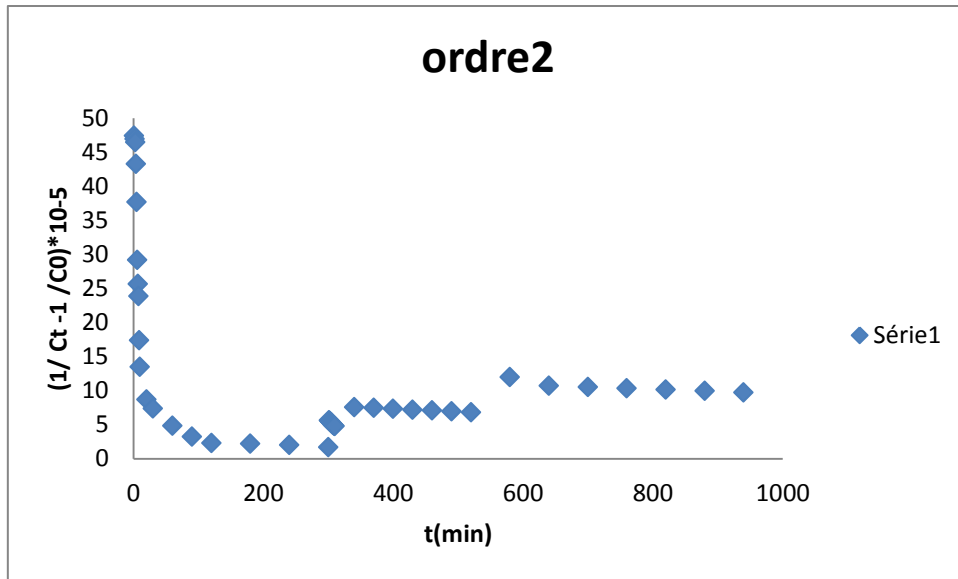


Figure: $[(1/C_t) - (1/C_0)] \cdot 10^{-5}$ en fonction du temps (AMOF01), $T=37^\circ\text{C}$.

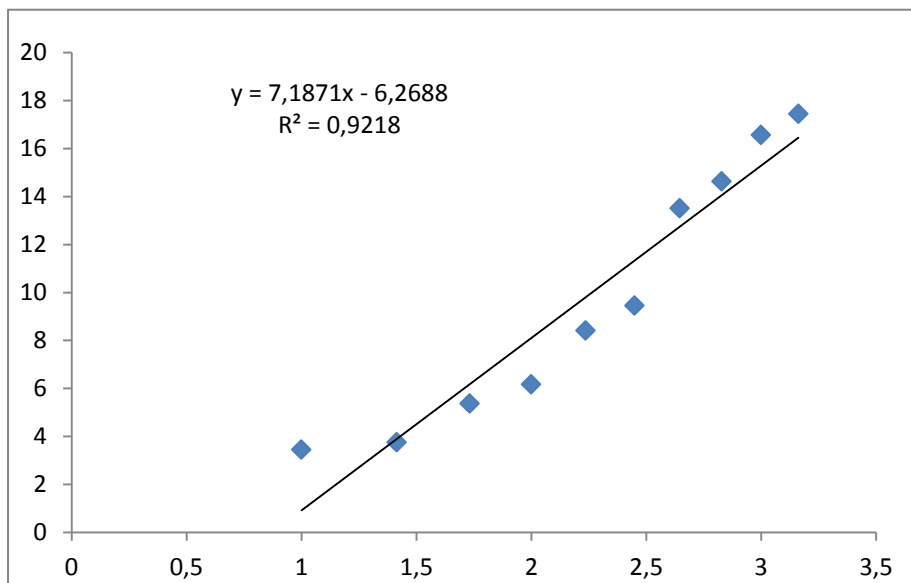


Figure : % AMO libéré en fonction de la racine du temps (AMOF02)

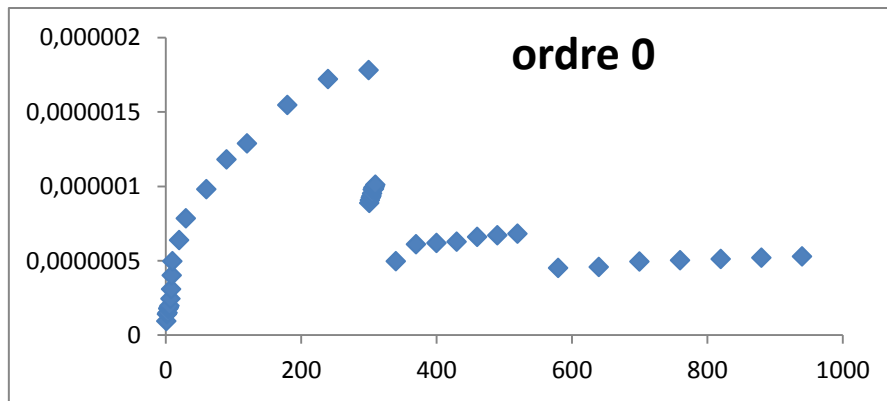


Figure : Concentration d'amoxicilline libéré en fonction du temps (AMOF03), $T^{\circ} = 37^{\circ}\text{C}$

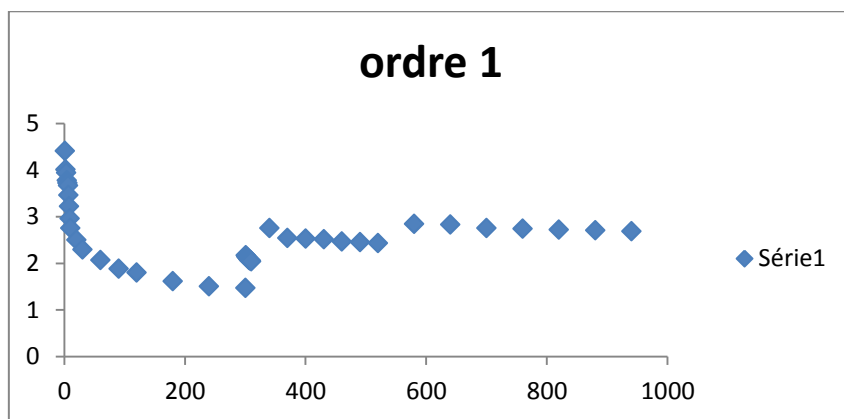


Figure : $\ln(C_0/C_t)$ en fonction du temps (AMOF03), $T=37^{\circ}\text{C}$.

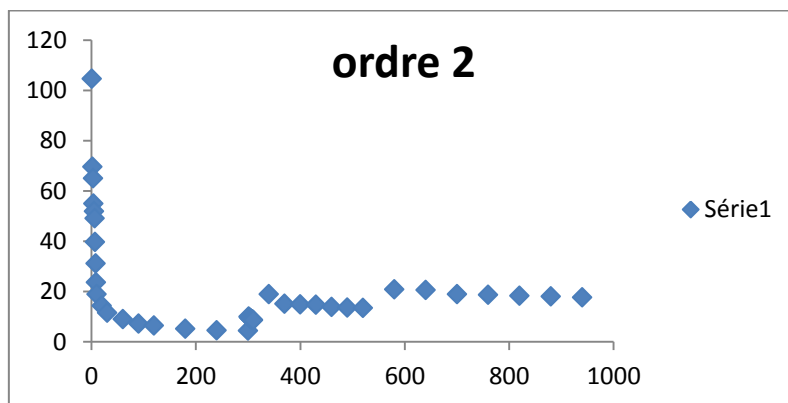


Figure : $[(1/C_t) - (1/C_0)] * 10^5$ en fonction du temps (AMOF01) ($T=37^{\circ}\text{C}$).

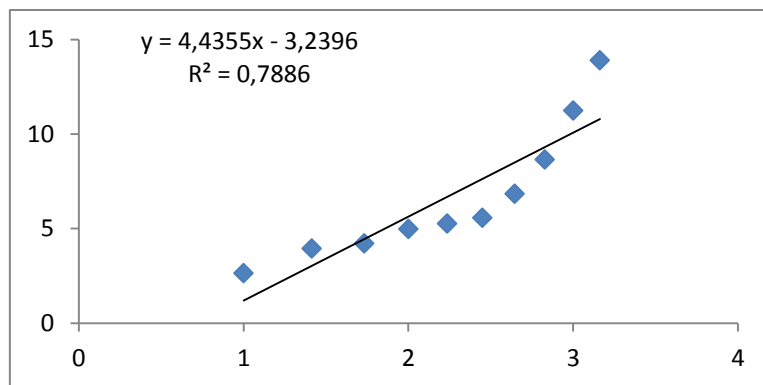


Figure : % AMO libéré en fonction de la racine carrée du temps (AMOF03)
(pH= 1,2 à T=37°C).

Étude de la libération d'amoxicilline aux pH physiologiques à partir de microparticules préparées et caractérisées

الخلاصة: يتعلق عمل هذه الأطروحة بالدراسة الحركية لإطلاق الأموكسيسيلين عند مستويات الأس الهيدروجيني المعاد تكوينها من جسيمات دقيقة معدة ومميزة. تم تغليف AMO عن طريق تبخير المذيبات الملزمة مثل *éthylcellulose* المصفوفة والبوليمرات المتوافقة حيويًا السكروز وغيرها من السواغات المختلفة. تم معاينة الجسيمات الدقيقة المعدة بواسطة FTIR و DRX و (MO و SEM) Microscopie. من نتائج هذه التقنيات، فإن المجهرية هي ذات مورفولوجيا كروية جامدة، ومسامية ومعدل تغليف متغير. يتم تنفيذ إصدار AMO من الكريات المجهرية "المصفوفة"، والتي يتم غمرها في قيم الأس الهيدروجيني المعاد تكوينها عند درجة الحموضة $T = 37^\circ$ عند 7,3 و 6,7-4,5-1,2. إن تطبيق النماذج الرياضية من Higuchi و Korsmeyer-Peppas و Hixon_crowell على نتائجنا يظهر أن إطلاق العوامل النشطة يحكم أساساً من خلال ظاهرة الانتشار. جزء من عملنا، يركز على دراسة نشاط المضادات الحيوية من خلال طريقة نشر القرص، مع ثلاثة سلالات موحدة: *S.aureus*، *E. coli*، *Pseudomonas*. تؤكد هذه الدراسة أن الكبسلة المصغرة لل-AMO هي طريقة أفضل لاستخدام تركيبات الإطلاق المستمرة.

Résumé : Le travail faisant l'objet de ce mémoire concerne l'étude cinétique de la libération d'amoxicilline aux pH reconstitués à partir de microparticules préparées et caractérisées. L'AMO a été encapsulé par évaporation de solvant engageant comme matrice l'éthylcellulose et le saccharose polymères biocompatibles et autres différents excipients.

Les microparticules préparées ont été caractérisées par FTIR, DRX, et Microscopie (MO et MEB). D'après les résultats de ces techniques, les microsphères sont de morphologie sphérique rigide, de porosité et de taux d'encapsulation variable.

Le relargage d'AMO est réalisé à partir des microsphères de type "matriciel", qui sont plongées dans les pH reconstitués aux pH=1,2- 4,5 - 6,7 et 7,3 à T=37°C.

L'application des modèles mathématiques d'Higuchi, de Korsmeyer –Peppas, et de Hixon_crowell à nos résultats montre que la libération des agents actifs est régie essentiellement par le phénomène de diffusion. Une partie de notre travail, se concentre sur l'étude de l'activité antibiotique par la méthode de diffusion par disques, avec trois souche standardisées ; *E. Coli*, *S.aureus*, *Pseudomonas*. Cette étude confirme que la microencapsulation de l'AMO est une méthode meilleure pour l'utilisation de formulations à libération prolongée.

Abstract: the aim of this Work is the drug release of amoxicillin from prepared and characterized microparticles at different reconstituted pH. The AMO was encapsulated in ethylcellulose and sucrose bpolymers and other different excipients by evaporation of solvent technique.

The prepared microparticles were characterized by FTIR, AXS and Microscopy (MO and SEM). The obtenued microspheres are spherical, rigid with variable porosity and encapsulation rate.

The release of AMO is carried out from the microspheres, which are immersed in the reconstituted pH (1,2-4,5-6,7 and 7,3(at T = 37°C.

The application of mathematical models of Higuchi, Korsmeyer-Peppas, and Hixon_crowell to our results shows that the release of active agents is governed mainly by the diffusion phenomenon.

Part of our work, focuses on the study of antibiotic activity by the disk diffusion method, with three standardized strain; *E. coli*, *S.aureus*, *Pseudomonas*. This study confirms that microencapsulation of AMO is a better method for the use of sustained release formulations.

Mots-clés : Microparticules- Loi d'Higuchi, Korsmeyer –Peppas, Hixon_crowell activité antibiotique.

Par : *M^{elle} KHANE Nihal Hamra & M^{elle} SERGUINE Ibtissam Nour El Houda*
Département de Chimie
Faculté des sciences de la Matière
Université Ibn Khaldoun
– Tiaret -



Sommaire

Introduction

Général

Chapitre I

Rappels

Bibliographiques

Chapitre II

Partie

Expérimentale

Chapitre III

Résultats

Et

Discussions

Annexes

Références

Bibliographiques

Conclusion

Générale