



DEPARTEMENT DE PHARMACIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR
L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE

THÈME

**Formulation d'une préparation galénique à base de niosomes d'acide
cinnamique et de nanoparticules d'oxyde de zinc**

Présenté par

BILLAMI Rajaa Meriem El batoul
BOUMEDIENNE Amel

Soutenu le

13-10-2020

Le Jury

Président

Dr ABBAD Sarra

Maître de conférences B en Génie Pharmaceutique

Membres

Dr AISSAOUI Nadia

Docteur en Microbiologie

Dr BENATTA Dalila

Maître-assistante en Pharmacie Galénique

Dr KADDOUR Faiza

Maître-assistante en Pharmacie Technologique

Encadrant

Dr GUENDOZ Souheyla

Maître-assistante en Pharmacie Galénique

Co-encadrant

Pr CHOUKCHOU BRAHAM Esma

Professeur en Chimie

**« *At At J J At At* le tout
puissant qui nous a
donné le courage, la
patience et la santé pour
arriver à ce qu'on est
maintenant »**

Remerciement

Nous tenons à remercier tout particulièrement :

Pr.Necib BERBER Doyen de la Faculté de Médecine de Tlemcen.

Dr Nesrine ABOURIJAL Chef de Département de Pharmacie de Tlemcen.

Nous remercions autant Pr. Samira SEKKAL, Directrice du Laboratoire de Recherche TOXICOMED, pour nous avoir accueillis chaleureusement au sein du laboratoire de recherche.

Nous remercions Pr. Nouredine CHOUKCHOU BRAHAM, Directeur du Laboratoire de Recherche LCSCO, pour nous avoir accueillis au sein de son laboratoire de recherche et mettre à notre disposition le matériel et le savoir faire nécessaire pour la caractérisation des échantillons préparés.

Nous remercions Pr Esmâ CHOUKCHOU BRAHAM, Professeur en Chimie, d'avoir accepté de codiriger ce travail, d'avoir mis à notre disposition l'ensemble du matériel nécessaire pour notre pratique, pour ses précieux conseils et pour le temps consacré durant la réalisation de cette thèse.

En second lieu, nous tenons particulièrement à manifester nos remerciements et notre profonde gratitude au Dr. Souheyla GUENDOZ, Maitre assistante en Pharmacie Galénique, notre encadrant, nous tenons à lui exprimer toute notre gratitude pour son encadrement de qualité et pour nous avoir accordé sa confiance, qui a pleinement participé à la réalisation de ce travail par son aide, sa volonté de transmettre son savoir et tout le temps consacré pour ses relectures critiques du mémoire.

Nous exprimons nos remerciements à l'ensemble du personnel du Laboratoire de Recherche TOXICOMED pour leur gentillesse notamment Mr TALEB Zouheir, l'ingénieur du laboratoire.

Nous exprimons également notre gratitude la plus profonde à Mme MOKRI Fatima Zahra, l'ingénieur du Laboratoire de Recherche LCSCO, pour son aide et le temps consacré pour la réalisation des différentes caractérisations.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance et notre respect le plus profond aux membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre modeste travail et de l'enrichir par leurs recommandations.

A Docteur ABBAD Sarra qui nous fait l'honneur de présider notre jury de thèse. Nous lui exprimons notre reconnaissance et notre profond respect.

A Docteur AISSAOUI Nadia qui nous fait l'honneur de siéger parmi les membres de notre jury. Qu'elle trouve ici le témoignage de toute notre reconnaissance.

A Docteur BENATTA Dalila qui nous fait l'honneur de participer à ce jury et de juger ce travail. Nous vous en remercions.

A Docteur KADDOUR Faiza qui fait l'honneur de siéger parmi les membres de notre jury. Qu'elle trouve ici l'expression de nos sincères remerciements.

Notre profond respect va à toute personne qui, de près ou de loin, a participé à la réalisation de ce travail et de clore ainsi avec nous ces six années d'études.

Grâce à la volonté d'Allah le tout puissant et bienveillant que ce travail s'est accompli.

Dédicace

Mé voilà donc au terme de ce mémoire qui présente un chapitre important de ma vie, avec ses hauts et ses bas, ses rires et ses larmes, ses souffrances et ses satisfactions, ses rencontres et ses départs. Ce chemin, jamais linéaire, aux embranchements multiples et aux détours nombreux, est celui d'un apprentissage professionnel, mais surtout personnel. J'ai la chance d'avoir été accompagnée à chaque étape de ce périple et d'avoir avancé avec les personnes que j'aime.

Je m'incline devant Dieu le tout puissant qui m'a ouvert la porte du savoir et m'a aidé à la franchir.

À la plus chère femme de ma vie qui m'a appris le succès, la patience et à surmonter l'ensemble des obstacles et avoir toujours pris ma main vers un chemin lumineux grâce à des conseils judicieux, à celle qui j'avais perdue face à des difficultés ; à la mémoire, mon défunt ma chère mère « RAHIMAH ALLAH » ;

À mon très cher respectueux et magnifique père pour leur aide, soutien, leurs sacrifices et tous les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien-être. J'espère être toujours à la hauteur de vos espérances ;

À mes très chères sœurs : IKRAM et MERIEM pour leurs soutiens et leurs encouragements ;

À mon neveu : ADEM SOULÉÏMEN, j'espère que vous allez suivre les pas de votre tante, je vous souhaite beaucoup de chance et de succès ;

À tous les membres de ma famille, petits et grands : veuillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affectation ;

À mon binôme BILLAMI Rajaa merci de m'avoir partagé ce mémoire de fin d'études ;

À mon enseignante et mon exemple Dr. GUENDOUC : Merci de m'avoir toujours incité à aller de l'avant par ton aide, tes précieux conseils et tes encouragements illimités ;

À tous mes enseignants qui ont contribué à ma formation tout au long de mon cursus universitaire ;

À tous les étudiants de 6^{ème} année Pharmacie promotion 2014/2015 ;

Que ceux que j'aurais pu oublier puissent m'en excuser !

Merci à toutes et à tous !

Dans cette épreuve où seuls le courage et la maîtrise des connaissances ne suffisent pas, la force qui donne l'impulsion ne peut provenir que du BON DIEU ;

Comme toute production scientifique exécutée « pour la gloire ». Ce modeste travail a été réalisé grâce à la volonté du BON DIEU.

Amel

Dédicace

Du plus profond de mon cœur, je dédie ce travail a ceux qui me sont chers.

*A la lumière de mes jours, la source d'amour, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, celle qui m'a arrosé de tendresse et d'espairs et m'a béni par ses prières ... **ma mère***

*A mon support dans ma vie, qui m'a appris, m'a supporté et m'a dirigé vers la gloire... pour tout son amour, sa compréhension et surtout la complicité qui nous réunit tous les deux, que dieu te garde pour moi... **mon cher papa***

A mes chères grandes mères, mes oncles, et mes adorables tantes, je vous remercie tous pour tout l'amour que vous me portez depuis mon enfance ainsi que pour votre soutien. J'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours et que dieu vous donne une longue et joyeuse vie.

*A mes chères sœurs **Houda, Douaa et Abir** qui m'ont toujours soutenu, encouragé durant ces années d'études pour leur amour et soutien,*

Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès.

*A ma source de joie et de bonheur, a ma meilleur amie **chikhi chahinez**.*

*A mon soutien moral **Sihem Kehil** je te dédie ce travail au nom de l'amitié qui nous réunit et au nom de nos souvenirs inoubliables, merci infiniment pour ton aide.*

*A mon binôme **Boumedienne Amel***

Et a tous mes amies de la promotion de pharmacie 2020...pour leur sympathie, leur humour et leur solidarité

Veillez tous, accepter mes hautes salutations et considérations.

Que Dieu vous protège

Rajaa Meriem El Batoul

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|-----|
| TABLE DES MATIERES | i |
| LISTE DES FIGURES | iii |
| LISTE DES TABLEAUX | v |
| LISTE DES ABRÉVIATIONS | vi |
| INTRODUCTION..... | 1 |
| PARTIE THEORIQUE | 3 |
| Chapitre I : Les nanoparticules | 4 |
| I.1 Historique | 5 |
| I.2 Définition..... | 5 |
| I.3 Classification | 6 |
| I.3.1 Classification selon la nature chimique | 6 |
| I.3.2 Classification selon le mécanisme d'action | 7 |
| I.4 Niosomes | 9 |
| I.4.1 Définition | 10 |
| I.4.2 Composition..... | 10 |
| I.4.3 Type de niosomes | 14 |
| I.4.4 Méthodes de préparation..... | 15 |
| I.4.5 Applications | 19 |
| I.5 Nanoparticules d'oxyde de zinc | 20 |
| I.5.1 Définition et structure | 20 |
| I.5.2 Les propriétés de ZnO..... | 20 |
| I.5.3 Synthèse des nanoparticules de ZnO | 22 |
| I.6 Caractérisation des nanoparticules | 25 |
| Chapitre II : Acide cinnamique..... | 26 |
| II.1 Définition et structure chimique | 27 |
| II.2 Propriétés physico-chimiques..... | 28 |
| II.3 Propriétés thérapeutiques..... | 28 |
| PARTIE PRATIQUE | 30 |
| Chapitre I : Matériel et Méthodes | 31 |
| I.1 Type et lieu d'étude | 32 |
| I.2 Matières premières et Matériel | 32 |

| | |
|--|----|
| I.3. Méthodes | 33 |
| I.3.1 Préformulation | 33 |
| I.3.2 Préparation et contrôle des niosomes chargés d'acide cinnamique..... | 35 |
| I.3.3 Synthèse et caractérisation de nanoparticules d'oxyde de zinc (NPs-ZnO)..... | 39 |
| Chapitre II: Résultats et Discussion | 46 |
| II.1 Les niosomes chargés d'acide cinnamique | 47 |
| II.1.1 Etude de solubilité de l'acide cinnamique..... | 47 |
| II.1.2 Détermination des taux d'encapsulation | 48 |
| II.1.3 Étude par FTIR..... | 54 |
| II.2 Les NPs-ZnO | 58 |
| II.2.1 Calcination | 58 |
| II.2.2 Calcul de rendement..... | 59 |
| II.2.3 Etude par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier..... | 59 |
| CONCLUSION | 63 |
| REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES | 64 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Classification des nanobiomatériaux(NBM) utilisés dans les systèmes d'administration de médicaments (15)..... | 7 |
| Figure 2 : Représentation schématique des deux principaux éléments susceptibles de doter les nanovecteurs de fonctionnalités « intelligentes »: le cœur et la couronne (17). | 8 |
| Figure 3 : Les différentes générations de nanovecteurs (18)..... | 9 |
| Figure 4 : Structure de niosome (24)..... | 10 |
| Figure 5 : Exemples d'agents de surface non ioniques(30). | 12 |
| Figure 6 : Structure chimique - monoester de sorbitan(31)..... | 12 |
| Figure 7 : Structure chimique esters de sorbitan polyéthoxylés (31). | 13 |
| Figure 8 : Structure schématique des SUV, des LUV et des MLV(35). | 14 |
| Figure 9 : Méthodes de préparation des niosomes (35)..... | 15 |
| Figure 10 :Protocole de préparation des niosomes par la méthode d'hydratation en couche mince(35) | 16 |
| Figure 11 : Protocole de préparation des niosomes par la méthode d'injection d'éther(35) ... | 16 |
| Figure 12 : Schéma de préparation des niosomes par la méthode de microfluidisation(23).... | 17 |
| Figure 13 : Préparation des niosomes par la méthode d'évaporation en phase inversée (20). . | 18 |
| Figure 14 : Schéma de préparation des niosomes par la méthode de la "bulle"(19)..... | 19 |
| Figure 15 : Représentation schématique des différentes structures cristallines du ZnO(41, 42). | 20 |
| Figure 16 : Différents mécanismes possibles de l'activité antibactérienne des NPs-ZnO (41).21 | 21 |
| Figure 17 : Stratégie de développement des nanomatériaux (43). | 22 |
| Figure 18 : Méthodes de synthèse des NPs-ZnO(43)..... | 23 |
| Figure 19 : Structure de l'acide cinnamique(49). | 27 |
| Figure 20 : Isomères (E) et (Z) de l'acide cinnamique..... | 28 |
| Figure 21 : formule de l'acide cinnamique..... | 33 |
| Figure 22 : Structure de cholestérol. | 34 |
| Figure 23 : Acétate de zinc..... | 35 |
| Figure 24 : Acétate de zinc dihydraté..... | 35 |
| Figure 25 : Etat de gel (P _{4,4}). | 42 |
| Figure 26 : Etape de sonication | 43 |
| Figure 27 : Etape de centrifugation | 43 |
| Figure 28 : Etape de calcination | 44 |
| Figure 29 : Solubilité de l'AC dans le méthanol. | 47 |
| Figure 30 : Solubilité de l'AC dans le chloroforme. | 47 |
| Figure 31 : Variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde d'une solution d'AC. | 48 |
| Figure 32 : Courbe d'étalonnage de l'AC. | 49 |
| Figure 33 : Le film lipidique formé à des vitesses de rotation élevées..... | 51 |
| Figure 34 : Le film lipidique formé à une vitesse de rotation de 110 tr/min..... | 52 |
| Figure 35 : Spectre IR de l'acide cinnamique..... | 55 |

| | |
|--|----|
| Figure 36 : Spectres FTIR de niosomes vierges synthésisé avec T ₈₀ (essai 02) et avec S ₈₀ (essai 04). | 57 |
| Figure 37 : Spectres FTIR de niosomes chargés d'acide cinnamique et synthésisés avec T ₈₀ (essai 03) et avec S ₈₀ (essai 05). | 57 |
| Figure 38 : Echantillons P _{4.4b} et P _{2b} avant calcination | 58 |
| Figure 39 : Echantillons après calcination à 500 °C pendant 1h..... | 58 |
| Figure 40 : Spectre infrarouge des échantillons P _{4.4b} et P _{2b} avant calcination..... | 60 |
| Figure 41 : Spectre FTIR des NPs-ZnO synthésisés par la méthode sol-gel (P _{4.4b}) après calcination. | 61 |
| Figure 42 : Spectre FTIR des NPs-ZnO synthésisés par la méthode de précipitation (P _{2b}) après calcination. | 61 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|---|----|
| Tableau 1: Classification des agents de surface (15, 25, 26). | 11 |
| Tableau 2 : Nom chimique et valeurs HLB des Spans (33). | 13 |
| Tableau 3 : Caractéristiques des Tweens (34). | 13 |
| Tableau 4: Les méthodes de caractérisation des différents paramètres (20). | 25 |
| Tableau 5 : Les propriétés physiques, chimiques et thermochimique de l'AC (47, 49, 52)... | 28 |
| Tableau 6 : Activité antibactérienne de l'acide cinnamique (56). | 29 |
| Tableau 7 : Les solvants utilisés. | 35 |
| Tableau 8 : Formulation de niosomes avec des concentrations différentes de Tween/Span et de cholestérol ($Masse_T = 200$ mg). | 36 |
| Tableau 9 : Optimisation de quelques variables liées au processus de synthèse pour la formulation de niosomes vierges. | 37 |
| Tableau 10 : Conditions expérimentales de synthèse de nanoparticules d'oxyde de zinc par la méthode de précipitation et la méthode sol-gel. | 40 |
| Tableau 11 : Solubilité de l'acide cinnamique. | 47 |
| Tableau 12: Le tableau montre les résultats obtenus après la mesure spectrophotométrique. | 49 |
| Tableau 13: Les effets des différents rapports molaires (cholestérol/tensioactif) sur l'efficacité de piégeage % (EE %). | 50 |
| Tableau 14 : Résultats de l'analyse en spectroscopie infrarouge de l'acide cinnamique. | 55 |
| Tableau 15: Les résultats de l'analyse FTIR des nanoparticules synthétisées par les deux procédés. | 60 |

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AC:L'acide cinnamique
CMI : La concentration minimale inhibitrice
Cp : Capacité thermique
D : Dilution
DO : Densité optique
Ec : Les essais chargés
EE : L'efficacité de piégeage
EIM : Méthode d'injection d'éther
EPA : L'agence Américaine pour la protection de l'environnement
EROs : Espèces réactives de l'oxygène
Ev :Essai vierge
FTIR : Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
H/E : Des émulsions d'huile dans eau
HLB : La balance hydrophile lipophile
IR : Infrarouge
LCSCO : Laboratoire de recherche Catalyse et Synthèse en Chimie Organique
LUV : Large unilamellar vesicles
MEB : Microscopie électronique à balayage à émission de champ
MLV : Multi-lamellar vesicles
m_{PA} :La masse du principe actif
NBM: Les nanobiomatériaux
nm : Nanomètres
NNI: National Nanotechnology Initiative
NPs : Les nanoparticules
NPs-ZnO :Les nanoparticules d'oxyde de zinc
P₂ :Procédé de précipitation
P_{2a} :Procédé de précipitation et sonication pendant 15 minute
P_{2b} :Procédé de précipitation et sonication pendant 30 minute
P_{4,4a} :Procédé de sol-gel et sonication pendant 15 minute
P_{4,4b} :Procédé de sol-gel et sonication pendant 30 minute
P_{4,4} :Procédé de sol-gel
PA : Le principe actif
PBS : Phosphate buffered saline
PEG : Les polyéthylèneglycols
QDs : Quantum dots
R : Le rendement
REV :Reverse phase évaporation
SUV : Small unilamellar vesicles
T°C :Température d'hydratation
T°éb : Température d'ébullition
T°f : Température de fusion

TA : Tensioactif
TFH :Thin film hydration
Tg : Température de transition de phase
UV : Ultraviolet
UV-Vis :Ultraviolet-visible
ZnO : L'oxyde de zinc
 λ_{max} :La longueur d'onde maximale

INTRODUCTION

Le monde médico-pharmaceutique actuel fait face à l'un de ces plus grands défis de santé publique qui est : « le problème de résistance des agents infectieux aux antibiotiques ». Les pathogènes bactériens et fongiques ont développé de nombreux mécanismes de défense contre les agents antimicrobiens (1), et par conséquent, de nombreuses études ont été rapportées pour améliorer les solutions antimicrobiennes actuelles.

Il est connu que la majorité des germes responsables des infections bactériennes sont résistants à un ou plusieurs antibiotiques généralement utilisés pour éradiquer l'infection. Ce phénomène, qui souvent complique la prise en charge de certaines maladies, a justifié plusieurs recherches scientifiquement sophistiquées en ce domaine pour pallier au manque d'alternatives thérapeutiques (2).

A l'issue de ces travaux, une poussée de connaissances a fait éclore une nouvelle technologie d'administration des principes actifs à savoir « les systèmes des nanoparticules » ce qui offre des avantages inédits en matière d'efficacité, de biocompatibilité et d'amélioration de la pharmacocinétique des principes actifs. Récemment, parmi les applications les plus avancées dans ce domaine, on note les systèmes de délivrance de médicaments (3).

La nature est une source généreuse d'agents médicinaux depuis des milliers d'années. Actuellement, l'acide cinnamique (AC) est au centre d'intérêt de certaines entreprises qui sont à la recherche de nouveaux médicaments antimicrobiens (1). L'AC est un composé organique naturel présent dans une multitude de plantes ayant une faible toxicité et un large spectre d'activité biologique (4). Son activité antimicrobienne est la propriété centrale de notre étude. Cependant, la faible biodisponibilité de l'AC due à sa caractéristique hydrophobe et sa faible solubilité dans l'eau est un facteur limitant dans les études *in vivo*. C'est pourquoi une formulation niosomale dans le but de palier ce problème a été réalisée.

Ainsi, l'exploitation des nanoparticules de métaux et des oxydes métalliques tels que l'oxyde de zinc pourrait être considérée comme un moyen pour remédier au problème de résistance aux antibiotiques (2, 5). Elles présentent une activité antimicrobienne considérable en inhibant la croissance d'un large spectre microbien à faible concentration. Elles sont généralement non toxiques pour l'homme (5).

En conséquence, tout notre travail de mémoire a consisté à étudier et à analyser de manière procédurière cette technologie récente et d'essayer de produire une forme galénique à base de nanoparticules d'oxyde de zinc (NPs-ZnO) et d'une formule niosomale chargée d'acide cinnamique ce qui représente en soi un modèle pharmaceutique au pouvoir antibactérien, antifongique prêts à tester.

Pour ce faire, il serait judicieux d'éclairer notre lecteur sur les démarches de notre mémoire. Commençons par architecturer notre travail.

Outre l'introduction et la conclusion générales, notre mémoire comporte deux parties : théorique et pratique.

La partie théorique comprend deux chapitres : le premier est consacré aux nanoparticules, le second à l'acide cinnamique.

Le chapitre des nanoparticules comporte un petit historique, une classification, les structures des niosomes et des nanoparticules de ZnO étudiés et détaillés sous plusieurs angles et enfin leurs méthodes de préparation. Dans le chapitre de l'acide cinnamique on détail sa structure chimique, ses propriétés physico-chimiques et thérapeutiques.

La partie pratique est aussi divisée en deux chapitres. Au premier chapitre, nous vous présenterons tous les modes opératoires et les méthodes de synthèse choisies au cours de notre pratique (méthode d'hydratation en couche mince pour la préparation des niosomes, et les deux méthodes : sol-gel et précipitation pour la synthèse des NPs-ZnO) ainsi que les méthodes de caractérisation des produits obtenus. Au chapitre dernier, nous allons résumer les résultats des tests effectués, les interpréter et les discuter.

PARTIE THEORIQUE

Chapitre I : Les nanoparticules

I.1 Historique

L'objectif principal d'un système de délivrance est de permettre une libération des agents thérapeutiques au niveau du site d'action souhaité, à une concentration appropriée et pendant la durée souhaitée. En 1857, M. Faraday réalisa la première étude complète sur les propriétés optiques des nanoparticules d'or synthétisées par réduction chimique (6) et en 1861, T. Graham fut le premier à employer le mot «colloïde» pour les caractériser (7). Puis le 29 décembre 1959, Feynman a donné une conférence à l'*American Physical Society* intitulé «*There's Plenty of Room at the Bottom*» décrivant les immenses possibilités offertes par la miniaturisation. Cette conférence est maintenant considérée comme la pierre angulaire de l'invention des nanotechnologies. En outre, ses travaux ont été également récompensés par le prix Nobel de physique en 1965 (8), suivis de la conception de systèmes à libération prolongée des médicaments dans les années 1970 (9).

En 1974, Eric Drexler popularise le terme de « nanotechnologie », après que le mot ait été forgé par Norio Taniguchi (10). C'est à partir des années 1980, lorsque le développement de nouveaux moyens d'imagerie permet la visualisation de la matière à l'échelle atomique, que les nanotechnologies prennent véritablement leur envol (11).

En 1985, la découverte du Fullerène par Sir Harold Walter Kroto (prix Nobel 1996) donne le véritable coup d'envoi (11). Suivi en 1991, par la mise en évidence du nanotube de carbone par le physicien japonais Sumio Ijima (10).

En 2000, Bill Joy, l'inventeur du langage informatique Java, s'inquiète publiquement de l'effet viral des nanotechnologies dont l'homme pourrait perdre le contrôle. Du coup, Bill Clinton lance *National Nanotechnology Initiative* (NNI) en 2001 (10). Et en 2005, l'Agence américaine pour la protection de l'environnement (EPA) décide de collecter toutes les informations nécessaires pour mieux définir les risques et établir des règles de sécurité (10).

I.2 Définition

Les nanotechnologies constituent un champ de recherche multidisciplinaire impliquant l'utilisation de nouveaux dispositifs permettant d'étudier la matière au niveau moléculaire ou supramoléculaire : les échelles caractéristiques des nanotechnologies vont de 1 à 100 nanomètres (nm). À ces échelles, la matière acquiert des propriétés inattendues et souvent différentes de celles des mêmes matériaux à l'échelle micro ou macroscopique (12).

Récemment, les nanomatériaux et les nanoparticules (NPs) ont été utilisés pour diagnostiquer, prévenir et traiter diverses maladies (13).

Selon la définition de la NNI, les nanoparticules sont des matériaux infimes ayant une taille nanométrique inférieurs à 100 nm et dont les propriétés physico-chimiques les rendent très intéressantes pour des applications médicales. Ces composés ont été évalués en tant que médicaments potentiels pendant plusieurs décennies (13, 14).

Ces nanoparticules peuvent solubiliser, piéger, encapsuler ou fixer des agents thérapeutiques, tandis que leur taille nanométrique fait en sorte qu'elles peuvent être absorbées par les cellules plus facilement que les molécules plus grosses (15).

I.3 Classification

Une large gamme d'agents thérapeutiques basés sur les nanotechnologies, a été largement explorée pour améliorer les propriétés pharmacocinétiques, de biodistribution et thérapeutiques des médicaments. Les approches de nanomédecine couvrent une grande variété de matériaux, de tailles, ainsi que des formes diverses, telles que les nanostructures organiques et les NPs inorganiques(16). Plusieurs classifications ont été publiées dans la littérature.

I.3.1 Classification selon la nature chimique

On distingue des NPs composées d'un noyau inorganique, et d'une enveloppe organique située dans la partie la plus externe de la particule. Selon la composition, la forme, la taille et la cristallinité du noyau inorganique, ces molécules ont un certain nombre de propriétés physiques modulables, telles que l'absorption optique (par exemple, les NPs métalliques), la fluorescence (par exemple, les semi-conducteurs : *quantum dots* (QDs)) et le moment magnétique (comme les oxydes de fer). Inversement, l'enveloppe organique confère non seulement une stabilité à ces nanomatériaux dans les milieux biologiques, mais peut également être conçue pour fournir des groupes réactifs utiles pour sa fonctionnalisation ultérieure avec différentes biomolécules afin d'obtenir une fonctionnalité biologique particulière, telle que le ciblage actif des tissus ou des cellules (16).

Il existe aussi, un grand nombre de nanostructures basées sur des protéines (par exemple, l'albumine), des poly (acides aminés), des polysaccharides (par exemple, le dextran,

le chitosan), des tensioactifs, des dendrimères, des cristaux solides de médicaments (nanocristaux) et des polymères synthétiques. D'autres matériaux organiques ont été proposés pour être utilisés comme systèmes d'administration de médicaments particuliers ou macromoléculaires. Le matériau organique choisi pour préparer les nanostructures organiques doit être de préférence biodégradable, non toxiques et biocompatible (16).

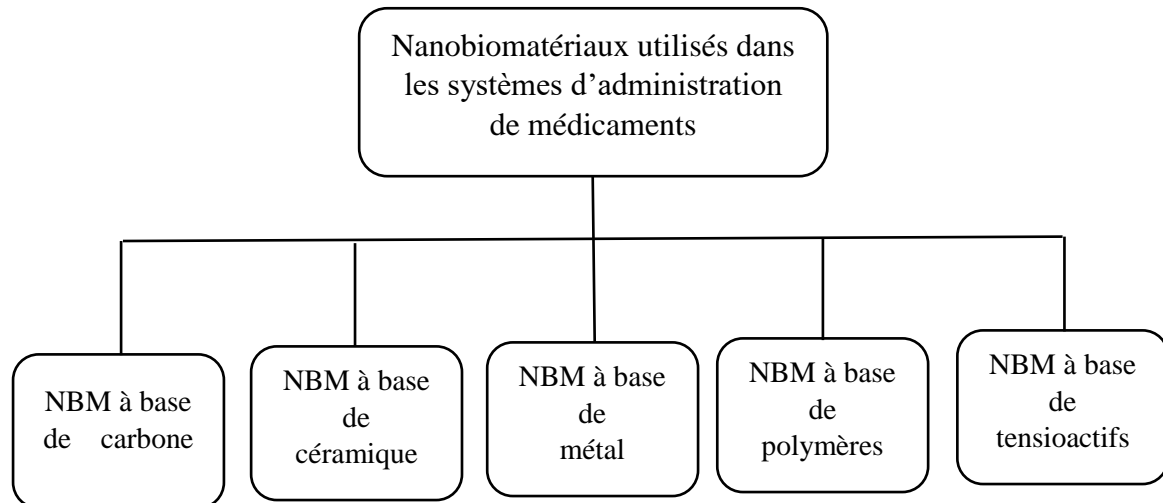


Figure 1 : Classification des nanobiomatériaux(NBM) utilisés dans les systèmes d'administration de médicaments (15).

I.3.2 Classification selon le mécanisme d'action

Les nanovecteurs comprennent deux composants principaux : un cœur et une couronne qu'il est possible d'équiper de fonctionnalités adaptées à l'objectif thérapeutique (fig 2) (17) :

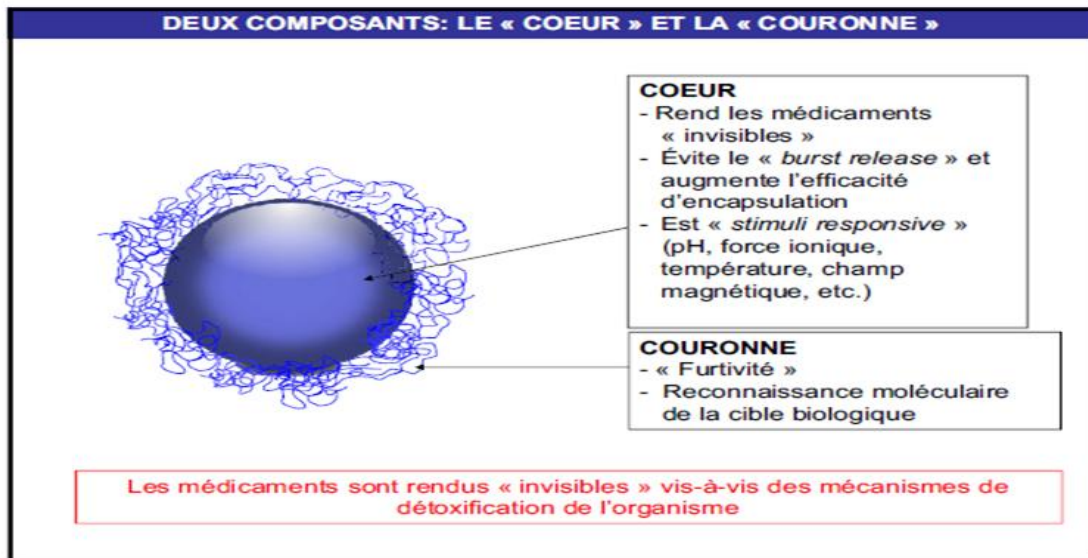


Figure 2 : Représentation schématique des deux principaux éléments susceptibles de doter les nanovecteurs de fonctionnalités « intelligentes »: le cœur et la couronne (17).

Actuellement, les NPs se différencient les unes des autres par le type de cœur qui leur constitue pour la protection et le relargage des PA, et par le contrôle de leur surface permettant aux NPs de véhiculer les agents d'intérêt vers leur cible. Afin d'améliorer la fonction biologique des NPs, celles-ci ont été classées selon trois générations :

I.3.2.1 Les vecteurs de 1^{ère} génération

Le cœur des nanovecteurs permet d'encapsuler des molécules biologiquement actives pour les rendre invisibles vis-à-vis des mécanismes de détoxification. Après administration intraveineuse, tous ces nanovecteurs particuliers sont opsonisés, c'est-à-dire recouverts par des protéines qui constituent une signature moléculaire indiquant aux macrophages du foie (cellules de Kupffer) et de la rate qu'il s'agit de particules étrangères à l'organisme. Tous les vecteurs n'ayant subi aucune modification chimique de leur surface sont dits de première génération(17).

I.3.2.2 Les vecteurs de 2^{ème} génération

Il est possible d'éviter l'adsorption des opsonines à la surface des vecteurs en les recouvrant de polymères hydrophiles et flexibles comme les polyéthylène glycols (PEG). Cet effet réduit la clairance plasmatique des nanovecteurs en les rendant non reconnus par les

macrophages hépatiques. Ces nanotechnologies de deuxième génération, dites aussi furtives, séjournent donc beaucoup plus longtemps dans la circulation générale (17).

I.3.2.3 Les vecteurs de 3^{ème} génération

Enfin, la fonctionnalisation des nanovecteurs peut être réalisée pour le ciblage actif d'un tissu ou d'une cellule cible. Ces vecteurs de troisième génération portent des ligands capables de reconnaître de manière sélective et avec une forte affinité les cibles biologiques (récepteurs par exemple) qui s'expriment à la surface des cellules malades visées. De nature moléculaire (vitamines, hormones) ou macromoléculaires (peptides, anticorps), ces ligands sont généralement fixés à l'extrémité de PEG pour les rendre accessibles (17).

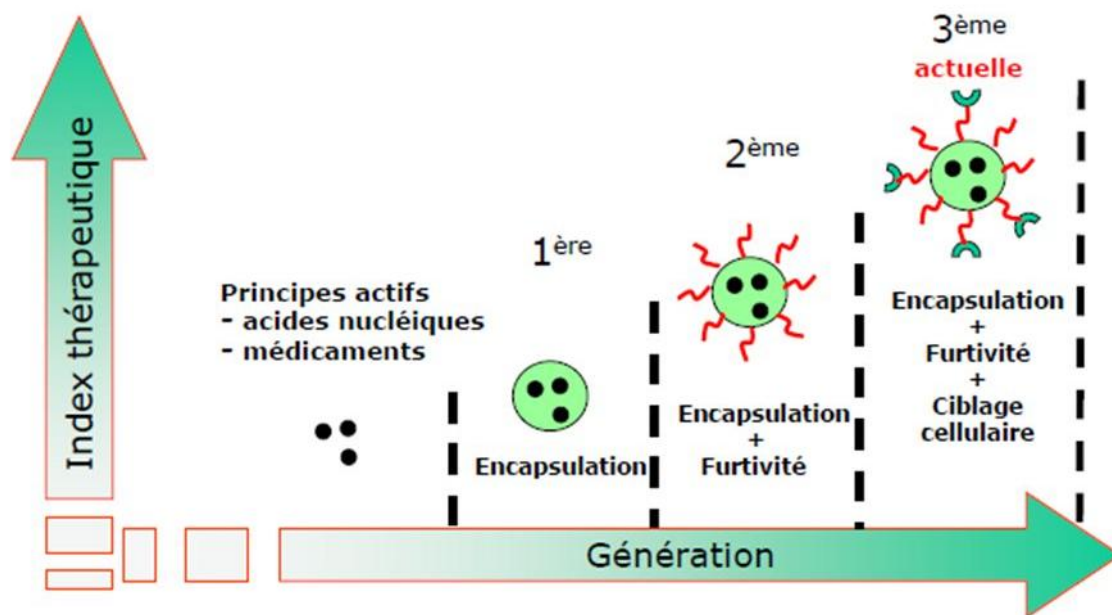


Figure 3: Les différentes générations de nanovecteurs (18).

I.4 Niosomes

Dans le domaine de la pharmacie, plusieurs études ont été portées sur les niosomes en tant que nanovecteurs pour l'administration des médicaments. Les niosomes peuvent être une alternative aux liposomes dans le but d'augmenter leur stabilité. Contrairement aux autres nanoparticules, les liposomes et les niosomes présentent de nombreuses similitudes structurelles et peuvent tous être chargés de médicaments hydrophiles et hydrophobes. Par

conséquent, ils peuvent délivrer conjointement des médicaments hydrophiles et hydrophobes dans une même vésicule.

Par rapport aux liposomes, les niosomes présentent des avantages tels qu'une bonne stabilité, un faible coût, une facilité de formulation et de transposition à l'échelle industrielle. Les niosomes sont beaucoup plus stables car leurs matériaux de formation, les tensioactifs, sont plus stables que les phospholipides des liposomes, tant en termes de stabilité physique que chimique (15, 19, 20).

Ces dernières années, les niosomes ont été largement étudiés pour leur capacité à servir de vecteurs pour l'administration de produits pharmaceutiques, d'antigènes, d'hormones et d'autres agents bioactifs. En outre, les niosomes ont été utilisés pour résoudre le problème de l'insolubilité, de l'instabilité et de la dégradation rapide des substances actives (21).

I.4.1 Définition

Les niosomes sont des vésicules à base d'agents de surface non ioniques qui sont formés par l'auto-assemblage d'amphiphiles non ioniques dans un milieu aqueux pour donner des structures bicouches fermées (15, 21, 22). La plupart des niosomes sont de taille nanométrique ou submicronique (colloïdale) (23).

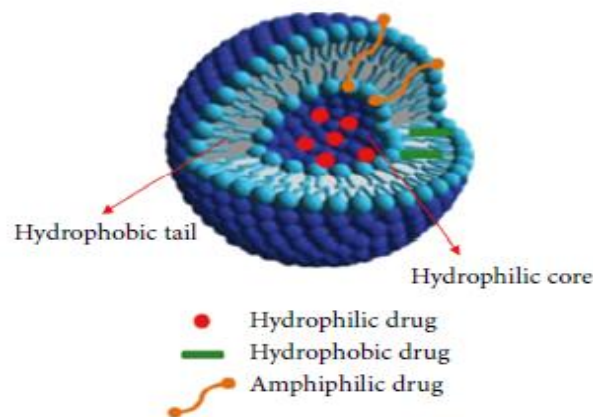


Figure 4: Structure de niosome (24).

I.4.2 Composition

Les niosomes contiennent principalement deux types de composants, à savoir des agents de surface non ioniques et des additifs. Les tensioactifs non ioniques forment la couche vésiculaire et les additifs les plus utilisés sont le cholestérol et les molécules chargées (21).

Les molécules de tensioactifs peuvent être classées en fonction de leur nature chimique et leurs propriétés hydrophiles ou hydrophobes. Une classification des tensioactifs selon leur nature est proposée dans le tableau 1.

Tableau 1: Classification des agents de surface (15, 25, 26).

| | Type de tensioactifs | Exemples |
|----------------------------------|-----------------------------------|--|
| Tensioactifs ioniques | Anioniques | <ul style="list-style-type: none"> • les savons • les dérivés sulfatés • les dérivés sulfonés |
| | Cationiques | <ul style="list-style-type: none"> • sels d'ammonium quaternaire |
| | Amphotères | <ul style="list-style-type: none"> • Bétaïnes • les dérivés de l'imidazoline • les polypeptides • Lécithines |
| Tensioactifs non ioniques | Les éthers alkyliques | <ul style="list-style-type: none"> • Ethers alkyliques de glycérol. • Ethers alkyliques de polyoxyéthylène glycol (Brij) |
| | Les esters alkyliques | <ul style="list-style-type: none"> • Esters d'acides gras de sorbitan (Spans). • Esters d'acides gras de polyoxyéthylène sorbitan (Tweens). |
| | Les alkylamides | <ul style="list-style-type: none"> • Glycoside. • Polyglucosides d'alkyle |
| | Alcools gras Ou acides gras | <ul style="list-style-type: none"> • Alcool stéarylique, alcool cétylique, alcool myristylique. • Acide stéarique, acide palmitique, acide myristique. |
| | Copolymère | <ul style="list-style-type: none"> • Pluronic Pluronic L64, Pluronic 105. |

I.4.2.1 Agents de surface non ioniques

Les agents de surface non ioniques, principalement utilisés pour la préparation des niosomes, sont les spans (span 20, 40, 60, 80 et 85), les tweens (tweens 20, 40, 60 et 80) et les Brij (30, 35, 52, 58, 72 et 76)(24, 27).

➤ Propriétés

Les agents de surface non ioniques sont le type d'agent de surface le plus communément utilisé dans la préparation des niosomes. Ils présentent de plus grands avantages que leurs homologues anioniques, amphotères ou cationiques, notamment une meilleure stabilité et une meilleure compatibilité. Ils sont généralement moins toxiques, moins hémolytiques et moins irritants pour les yeux et la peau. En outre, en solution, ils ont tendance à maintenir un pH proche de pH physiologique. Ils ont de nombreuses fonctions, notamment celles de solubilisants, d'agents mouillants et d'émulsifiants (15, 28).

Les niosomes à base de tensioactifs sont biodégradables, biocompatibles et non immunogènes(19).

➤ Structure

Les agents de surface non ioniques ont une tête hydrophile et une queue hydrophobe (24, 29).

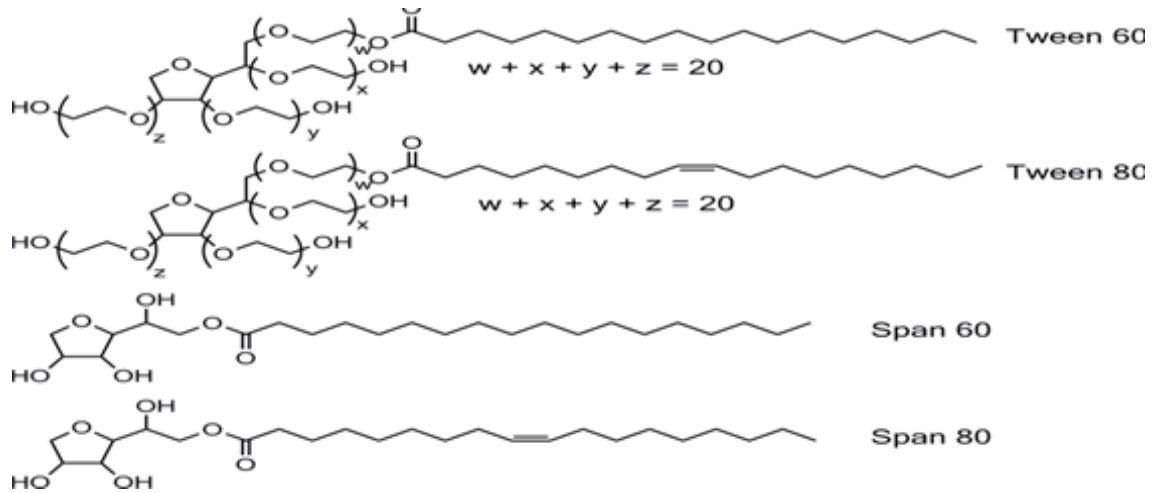


Figure 5 : Exemples d'agents de surface non ioniques(30).

✓ Spans : Esters d'acides gras de sorbitane

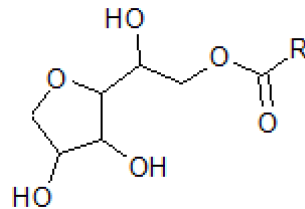


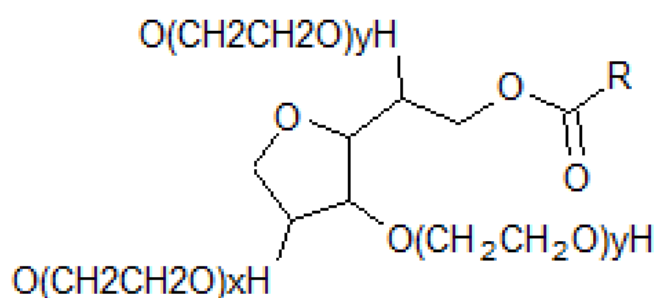
Figure 6 : Structure chimique - monoester de sorbitan(31).

Ces dérivés d'esters sont souvent utilisés dans les cosmétiques pour solubiliser les huiles essentielles dans les produits à base d'eau. Les esters de sorbitan ordinaire (non PEG-ylé) avec des acides gras sont généralement désignés sous le nom de Spans. Leur température de transition du gel augmente avec la longueur de la chaîne acyle. Ainsi, le monolaurate de sorbitan (Span 20) à chaîne C9 est liquide à température ambiante ; le monopalmitate de sorbitan (Span 40) à chaîne C13 a une température de transition du gel de 46-47 °C ; le monostéarate de sorbitan (Span 60) à chaîne C18 a une température de transition du gel de 56-58 °C. Les vésicules préparées à partir des tensioactifs à poids moléculaire plus élevé ont moins de fuites et sont plus stables aux gradients osmotiques (32).

Tableau 2 : Nom chimique et valeurs HLB des Spans (33).

| Span | Nom chimique | HLB | Température de transition |
|------|------------------------|-----|---------------------------|
| 20 | Sorbitan monolaurate | 8,6 | / |
| 40 | Sorbitan monopalmitate | 6,7 | 46-47 °C |
| 60 | Sorbitan monostéarate | 4,7 | 56-58 °C |
| 80 | Sorbitan mono-oléate | 4,3 | 53-57 °C |

✓ Tweens : esters d'acides gras de polyoxyéthylène sorbitan

**Figure 7** : Structure chimique esters de sorbitan polyéthoxylés (31).

Les polysorbates sont des liquides dérivés du sorbitan PEG-ylé estérifié avec des acides gras. En termes simples, les Tweens sont des Spans éthoxylés.

Les polysorbates sont de nature hydrophile et sont solubles ou dispersibles dans l'eau et les solutions diluées d'électrolytes. La solubilité des polysorbates dans les solutions aqueuses augmente avec le degré d'éthoxylation. Pour un degré d'éthoxylation fixe, la solubilité aqueuse diminue à mesure que le nombre de groupements d'esters augmente. Pour un degré d'éthoxylation et d'estérification fixe, la solubilité aqueuse diminue à mesure que la masse moléculaire de l'acide gras augmente.

Tableau 3 : Caractéristiques des Tweens (34).

| Tween | Formule moléculaire | Poids moléculaire ($g \cdot mol^{-1}$) | Groupe hydrophobe | HLB |
|-------|-----------------------|--|------------------------------|------|
| 20 | $C_{58}H_{114}O_{26}$ | 1228 | Laurate (C12) | 16,7 |
| 40 | $C_{62}H_{122}O_{26}$ | 1284 | Palmitate (C16) | 15,6 |
| 60 | $C_{64}H_{126}O_{26}$ | 1312 | Stéarate (C18) | 14,9 |
| 80 | $C_{58}H_{124}O_{26}$ | 1310 | Oléate (C18), double liaison | 15,0 |

I.4.2.2 Cholestérol

Divers additifs sont inclus dans la formulation afin de préparer des niosomes stables. Le plus courant des additifs est le cholestérol(29). Le cholestérol est un composé amphiphile qui peut coopérer avec un surfactant pour construire une liaison hydrogène entre les groupes hydroxyles du cholestérol et la tête hydrophile du surfactant. Ceci permet d'améliorer la rigidité mécanique des vésicules et la cohésion de la membrane ainsi que son étanchéité. Finalement, il permet d'augmenter l'efficacité du piégeage des niosomes (24).

I.4.3 Type de niosomes

Il existe de nombreux types de niosomes mentionnés dans la littérature, qui sont classés en différents groupes selon leur taille ou le nombre de couches lamellaires. Selon leur taille, il existe de petites vésicules unilamellaires de 10 à 100 nm (SUV) et de grandes vésicules unilamellaires de 100 à 3000 nm (LUV). En fonction du nombre de bicouches, il existe des vésicules multilamellaires (MLV) (23). En plus de la caractérisation par taille, plusieurs types de niosomes spécialisés sont mentionnés dans la littérature, notamment les proniosomes et éthosomes tensioactifs, les niosomes élastiques, les niosomes polyédriques, les discomes (vésicules en forme de disque), les aspasomes (vésicules de palmitate d'ascorbyle), etc. (35).

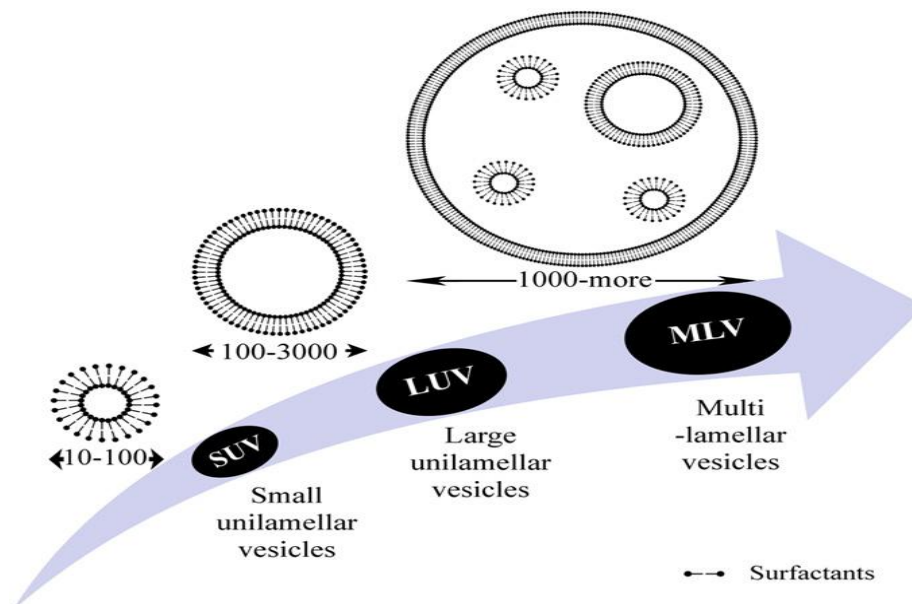


Figure 8 : Structure schématique des SUV, des LUV et des MLV(35).

I.4.4 Méthodes de préparation

Les niosomes sont préparés par différentes méthodes, comme le montre la figure 9 (35). Pour former des vésicules, une certaine énergie, par exemple mécanique (agitation ou sonique) ou thermique, est nécessaire (24).

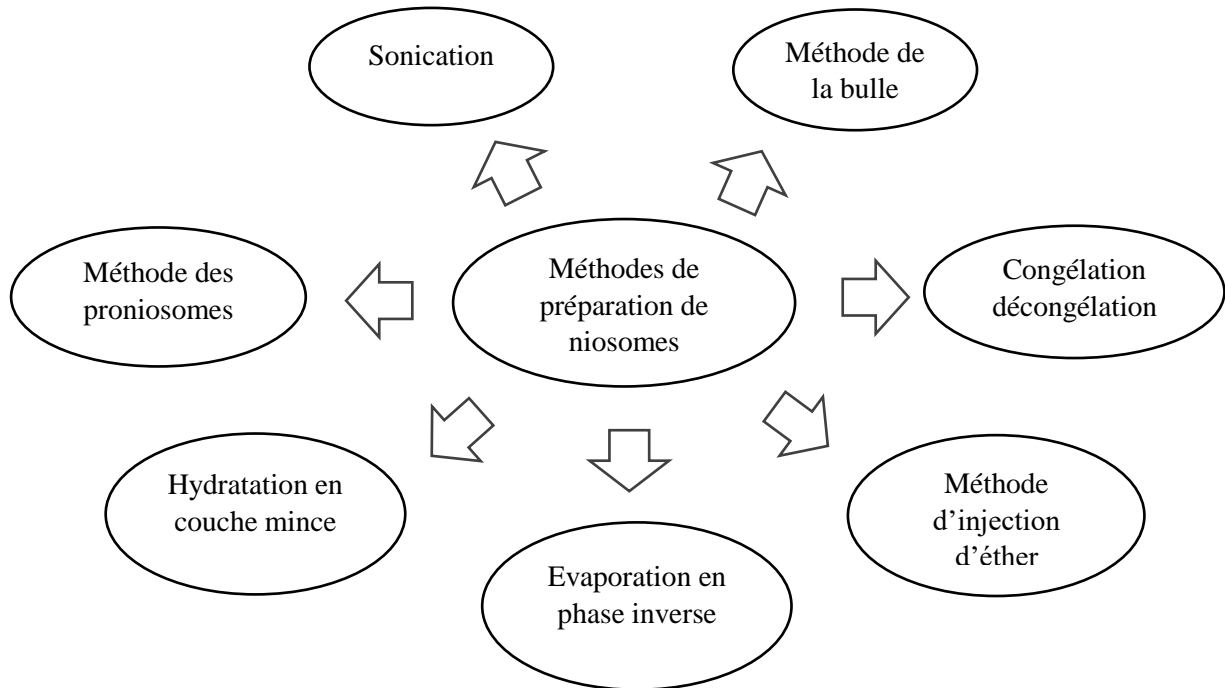


Figure 9 : Méthodes de préparation des niosomes (35).

I.4.4.1 Méthode d'hydratation en couche mince (TFH)

Une méthode simple et très efficace qui est couramment utilisée dans la préparation des niosomes. Les agents tensioactifs, le PA lipophile et le cholestérol, sont dissous dans des solvants organiques : chloroforme, méthanol ou éther diéthylique. La solution est mélangée sous vide et à une certaine température dans un ballon à fond rond. Un film mince se forme sur la paroi du ballon suite à l'élimination sous vide du solvant organique à l'aide d'un évaporateur rotatif. Pour l'hydratation du film sec, de l'eau ou une solution saline tamponnée au phosphate (PBS) est ajoutée à une température supérieure à la température de transition de phase de l'agent de surface sous légère agitation. Le PA hydrophile est ajouté au mélange à ce stade (29, 32, 36). Cette méthode permet d'obtenir des MLV et présente un faible taux d'encapsulation des solutés hydrosolubles. Ces MLV sont ensuite traités pour produire des vésicules unilamellaires (23, 29). Le schéma du protocole de préparation des niosomes par TFH est présenté dans la figure suivante :

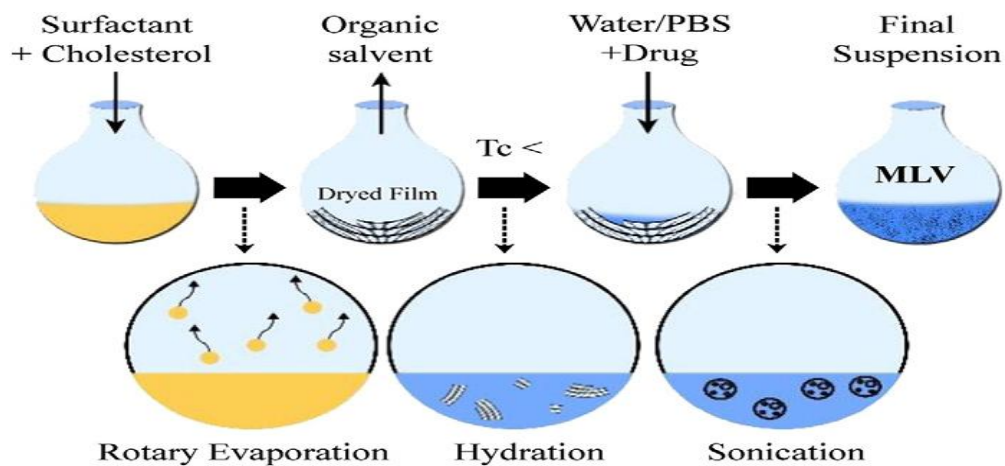


Figure 10: Protocole de préparation des niosomes par la méthode d'hydratation en couche mince(35) .

I.4.4.2 Méthode d'injection d'éther (EIM)

Dans cette méthode, une solution contenant un rapport particulier d'agent tensioactif et de cholestérol dans un solvant organique, tel que l'éther diéthylique, est lentement injectée dans une solution aqueuse du PA, qui est maintenue à une température supérieure au point d'ébullition du solvant organique. L'évaporation progressive de l'éther provoque la formation de niosomes monocouches. Selon les conditions de la réaction, le diamètre des niosomes est compris entre 50 et 1000 nm (19, 35, 36).

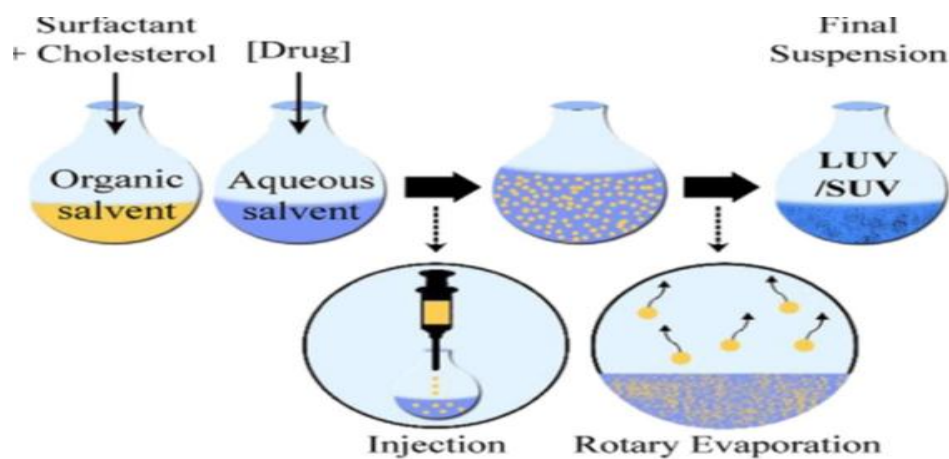


Figure 11 : Protocole de préparation des niosomes par la méthode d'injection d'éther(35) .

I.4.4.3 Sonication

La sonication est une méthode efficace pour la production de petites vésicules. Dans cette méthode, l'apport d'une énergie élevée (ultrason) par sonication peut réduire la taille moyenne des niosomes. Il existe deux possibilités de sonication : la sonication par sonde est utilisée pour la préparation de suspension de petit volume, mais elle présente le risque de relargage des particules de la tige dans la suspension, tandis que la sonication en bain est plus adaptée à la formation d'un grand volume de dispersion (36). L'efficacité du piégeage des vésicules est plus faible avec la sonication par rapport à la méthode d'injection d'éther (29).

I.4.4.4 Méthode de microfluidisation

Cette méthode est basée sur le principe du jet submergé dans lequel deux courants fluidisés (l'un contenant un agent tensioactif et l'autre le principe actif) interagissent à très grande vitesse dans des micro-canaux précisément définis dans la chambre d'interaction. Le fluide collecté peut être recyclé par la pompe jusqu'à l'obtention de vésicules sphériques. La formation d'une fine feuille de liquide le long d'un front commun est disposée de manière à ce que l'énergie fournie au système reste dans la zone de formation des niosomes. Il en résulte une meilleure reproductibilité avec l'obtention des niosomes de petite taille et d'une grande uniformité (29, 36).

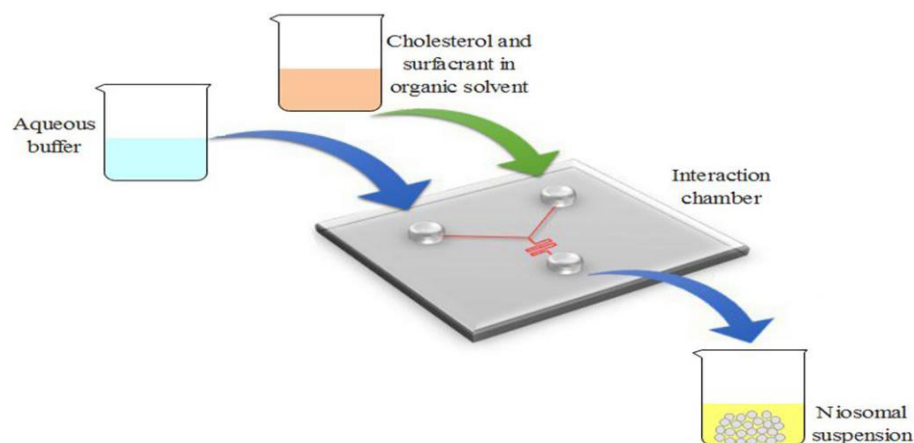


Figure 12: Schéma de préparation des niosomes par la méthode de microfluidisation(23).

I.4.4.5 Méthode d'évaporation en phase inversée

La méthode d'évaporation en phase inversée (REV) consiste à dissoudre l'agent de surface non ionique et d'autres additifs dans un solvant organique. Le PA est dissous dans une solution aqueuse telle que l'eau ou le PBS, puis ajouté à la phase organique pour former une émulsion sous sonication. Le solvant organique est éliminé par un évaporateur rotatif sous vide à 40-60 °C pour former les niosomes. Par rapport à la méthode TFH, les vésicules préparées par la méthode REV pourraient donner des nanoparticules de taille uniforme et de structure unilamellaire(20).

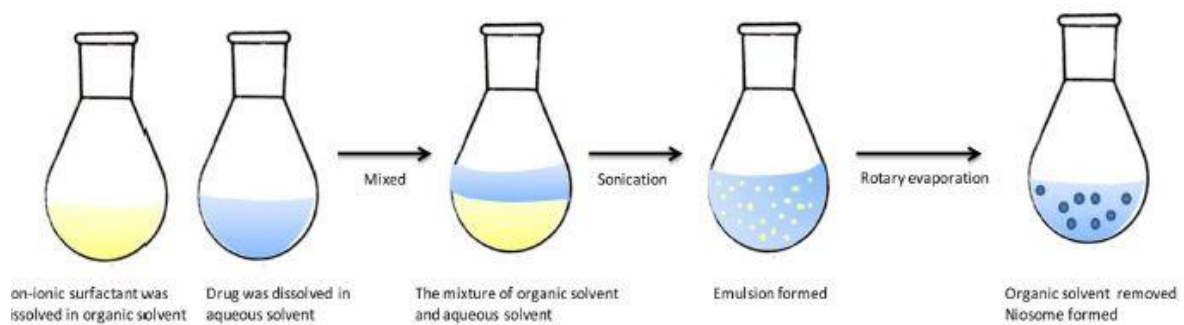


Figure 13: Préparation des niosomes par la méthode d'évaporation en phase inversée (20).

I.4.4.6 La méthode de la "bulle"

Il s'agit d'une nouvelle technique pour la préparation en une seule étape des niosomes sans l'utilisation de solvants organiques(37). Les tensioactifs, les additifs et le PBS sont transférés dans un ballon à trois cols placé dans un bain d'eau thermostaté. Pour éviter toute perte d'eau, une colonne de reflux d'eau refroidie est reliée au premier col du ballon à fond rond. Un thermomètre pour le contrôle de la température est placé dans le deuxième col et l'azote gazeux dans le troisième col. Les différents composants sont mélangés puis soumis à un barbotage d'azote gazeux à 70°C pour donner des niosomes(24, 36).

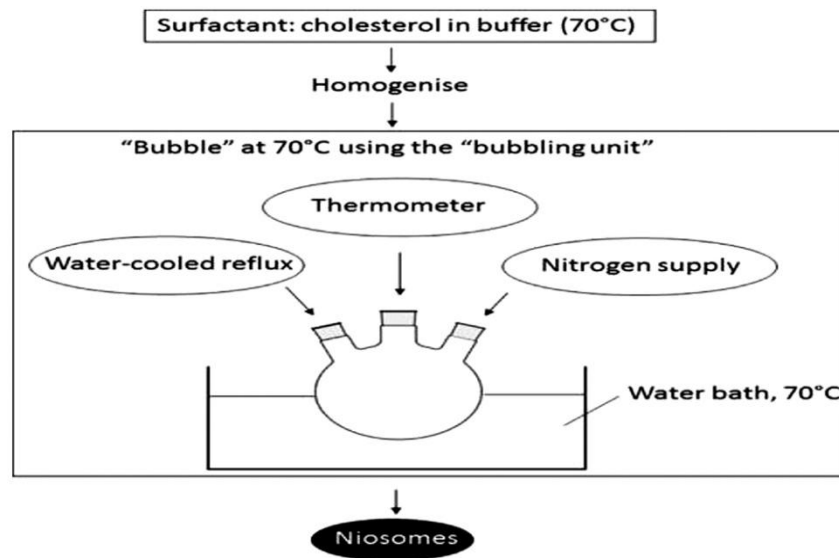


Figure 14 : Schéma de préparation des niosomes par la méthode de la "bulle"(19).

Certaines autres méthodes conventionnelles sont également utilisées pour la préparation des niosomes, comme le gradient de pH transmembranaire et la méthode par chauffage...

Ces méthodes sont similaires aux méthodes de formulation des liposomes. Par rapport à la formulation des liposomes, la préparation des niosomes est beaucoup plus facile en raison de la bonne stabilité des agents de surface.

I.4.5 Applications

Les niosomes sont apparus pour la première fois dans le domaine des cosmétiques et attirent aujourd'hui l'attention des industries pharmaceutiques en tant que système d'administration de médicaments en raison de leur capacité à piéger les PA hydrophobes et hydrophiles. Ils sont largement utilisés pour l'encapsulation des PA appartenant à plusieurs classes thérapeutiques (par exemple, anticancéreux, antioxydants, antidiabétiques et antimicrobiens) et peuvent être administrés par différentes voies, telles que par la voie intraveineuse, orale ou transdermique (20).

I.5 Nanoparticules d'oxyde de zinc

En les comparant aux agents organiques, les oxydes métalliques sont plus stables aux hautes températures et pressions et ont une durée de vie plus longue(38). Ces composants inorganiques de taille nanométrique sont connus pour leur activité antimicrobienne assez prononcée même à des faibles doses, grâce à un rapport surface/volume assez élevé et des propriétés chimiques et physiques uniques. Parmi les différentes nanoparticules d'oxyde métallique, les nanoparticules d'oxyde de zinc (NPs-ZnO) ont une importance particulière en raison de leur haute sélectivité et de leur biocompatibilité (39, 40).

I.5.1 Définition et structure

L'oxyde de zinc est un corps ionique composé d'oxygène et de zinc de formule chimique ZnO. Cet oxyde quasiment insoluble dans l'eau se présente généralement sous la forme d'une poudre blanche inodore.

L'oxyde de zinc cristallise principalement selon trois structures cristallographiques : la structure cubique nommée rocksalt, la structure blende, et la structure hexagonale nommée Würtzite (figure 15). La plus stable thermodynamiquement est de type « Würtzite » (41, 42).

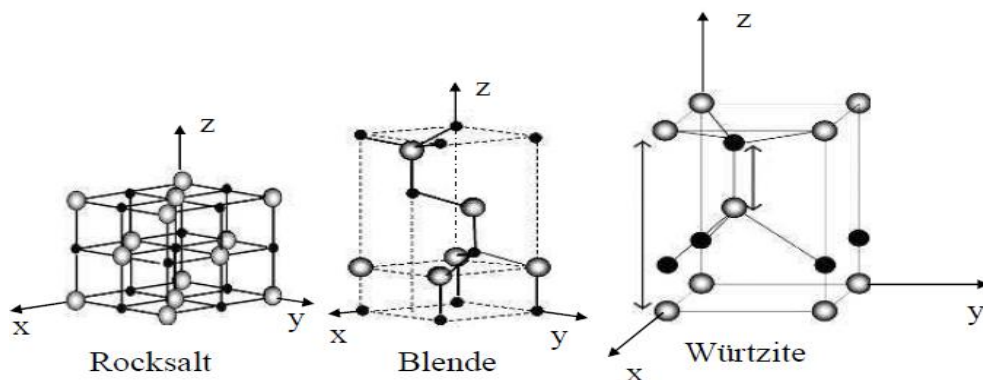


Figure 15 : Représentation schématique des différentes structures cristallines du ZnO(41, 42).

I.5.2 Les propriétés de ZnO

Le ZnO est un matériau polyvalent grâce à ses diverses propriétés chimiques et physiques uniques telles qu'une grande stabilité chimique et thermique, une haute sélectivité, une large gamme d'absorption de radiations UV et une photo-stabilité élevée(39) . Il est classé comme un semi-conducteur de type II-VI, puisque Zn et O sont classés dans les groupes deux

et six du tableau périodique, respectivement(41). L'oxyde de zinc est sur la frontière entre un semi-conducteur ionique et covalent(39) . Il est caractérisé par une température de fusion élevée (1975 °C) et une densité de 5,6 g/cm³ (40).

NPs-ZnO sont reconnues comme des substances non-toxiques et biocompatibles(41) et elles sont dotées de propriétés antibactériennes et antifongiques uniques. Les NPs-ZnO possèdent des activités catalytiques et photochimiques élevées, une absorption optique élevée dans les régions UVA (315-400 nm) et UVB (280-315 nm) qui est bénéfique dans la réponse antibactérienne et utilisée comme protecteur UV dans les cosmétiques(41).

✓ Propriétés antibactérienne et mécanisme d'action

Les NPs-ZnO présentent des propriétés antibactériennes intéressantes en raison de l'augmentation de la surface spécifique, car la réduction de la taille des particules entraîne une réactivité accrue de leur surface(41).

Le ZnO est un matériau bio-sécuritaire qui possède des effets de photo-oxydation et de photocatalyse sur les espèces chimiques et biologiques. Le mécanisme d'action antibactérien des NPs-ZnO fait intervenir trois modes différents à savoir : la génération d'espèces réactives de l'oxygène (EROs), la libération des ions Zn²⁺ et l'interaction entre les bactéries et les NPs-ZnO (41).

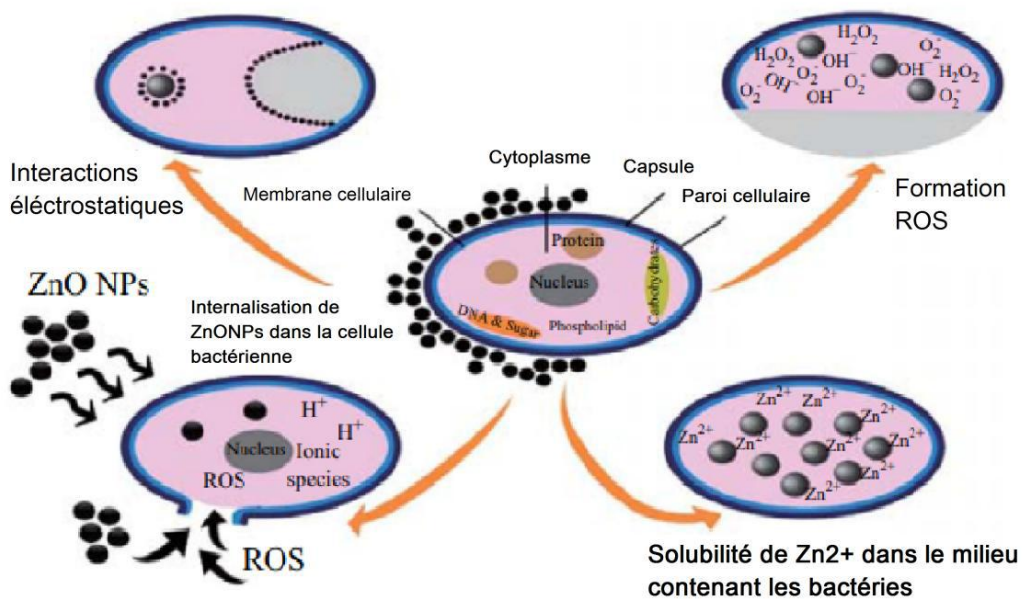


Figure 16: Différents mécanismes possibles de l'activité antibactérienne des NPs-ZnO (41).

I.5.3 Synthèse des nanoparticules de ZnO

Deux stratégies ont été développées dans la littérature scientifique pour élaborer des nanomatériaux :

- La stratégie descendante nommée : « Top-Down » qui regroupe les méthodes physiques consistant à fragmenter un matériau massif jusqu'à la taille nanométrique. Les particules ainsi synthétisées présentent généralement une grande disparité en tailles et en formes ;
- La stratégie opposée, dite ascendante ou « Bottom-Up », concerne les méthodes chimiques. Ces méthodes partent plutôt de l'atome pour aller vers le nanomatériau et sont généralement assez faciles à mettre en œuvre. Ces méthodes sont également moins exigeantes en énergie que les précédentes et permettent un meilleur contrôle de la taille, de la composition et de la forme.

Les deux méthodes sont utilisées pour préparer des nanostructures à grande échelle (43).

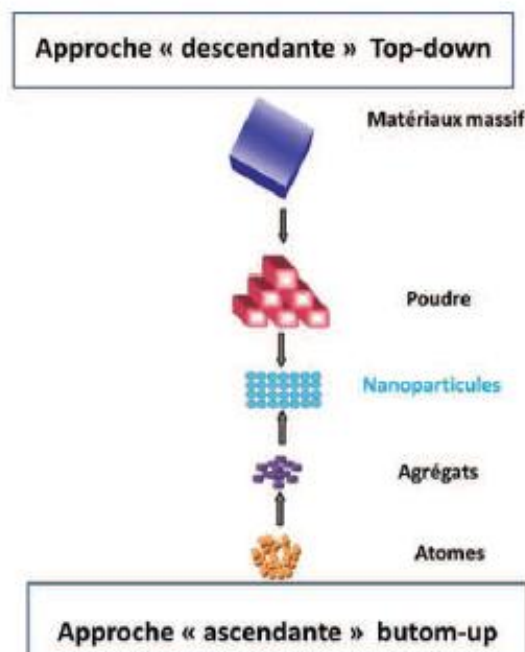


Figure 17 : Stratégie de développement des nanomatériaux (43).

Les différentes approches utilisées pour la synthèse des NPs-ZnO peuvent être classées en deux catégories, les procédés chimiques et les procédés physiques. Généralement, les procédés chimiques sont plus simples à mettre en œuvre avec un grand nombre de paramètres permettant un meilleur contrôle de la morphologie et de la taille des particules(41). En effet, les techniques de synthèse chimiques en solution telles que la

méthode de précipitation, microémulsion ou la méthode sol-gel sont efficaces et sont les plus couramment utilisées car peu coûteuses et respectueuses de l'environnement (42). La méthode sol-gel a la plus grande utilisation industrielle par rapport aux autres méthodes mentionnées(44).

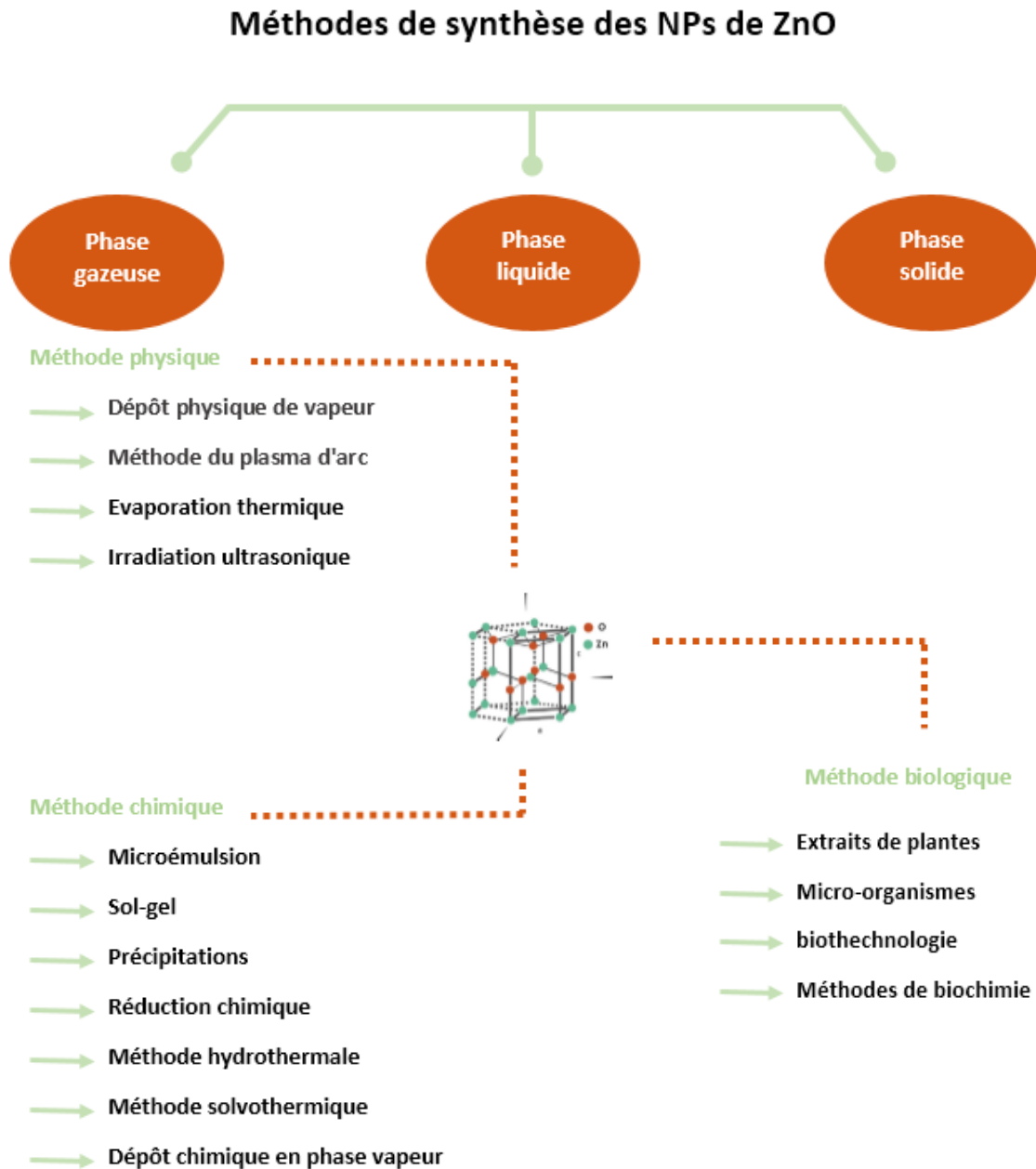


Figure 18 : Méthodes de synthèse des NPs-ZnO(43).

I.5.3.1 Le procédé sol-gel

Ce procédé correspond à la transformation d'un système liquide appelé «sol» vers un état colloïdal appelé «gel». Le sol correspond à la dispersion d'un précurseur organométallique ou d'un sel dans un solvant organique (alcool: méthanol, éthanol, etc...). Le passage du «sol» au «gel» s'effectue dans un premier temps par une série de réactions d'hydrolyse et de polymérisation inorganique pour former une suspension colloïdale et dans un deuxième temps par un processus de vieillissement. L'état solide est obtenu par calcination du « gel » (42).

Pour la synthèse d'oxyde de zinc, plusieurs précurseurs de zinc ont été utilisés : le nitrate de zinc, le chlorure de zinc, l'acétylacétonate de zinc, l'acétate de zinc ou des alcoxydes de zinc tels que l'éthoxyde de zinc $Zn(CH_3CH_2O)_2$, ou le propoxyde de zinc $Zn(CH_3CH_2CH_2O)_2$. Les sels métalliques sont souvent plus utilisés en raison de leurs faibles coûts, de leur facilité d'utilisation, et de leurs disponibilités(42).

I.5.3.2 Méthode de précipitation

La précipitation est un procédé rapide, consistant en l'addition dans la solution contenant un précurseur de zinc un agent rendant le produit insoluble ou modifiant le pH. D'après les données de la littérature, la synthèse d'oxyde de zinc à l'échelle nanométrique, par la réaction de précipitation, peut être considérée comme une succession de plusieurs étapes. L'acétate de zinc ($Zn(CH_3COO)_2 \cdot nH_2O$) est parmi les précurseurs les plus utilisés.

La première étape de synthèse correspond à une dissolution préalable du précurseur dans l'éthanol ou dans l'eau en présence d'une base. La deuxième étape est une réaction chimique entre les espèces présentes en solution pour former la précipitation d'hydroxyde métallique. La dernière étape de vieillissement est suivie d'un traitement thermique pour convertir les particules d'hydroxyde de zinc en oxyde de zinc. De nombreux paramètres expérimentaux peuvent influencer la morphologie et la taille des particules (42).

I.6 Caractérisation des nanoparticules

Diverses techniques sont utilisées pour caractériser les nanoparticules, à savoir la taille, la forme, la charge de surface, la contenance en substance active. Chacune d'entre elles nécessite souvent des outils séparés et précis (43).

La structure est évaluée par diffraction des rayons X, la morphologie et la taille des particules sont analysées par spectroscopie électronique à transmission et par microscopie électronique à balayage à émission de champ (MEB). L'étude du spectre d'absorption et de l'activité photocatalytique des nanoparticules synthétisées est effectuée par spectrophotomètre UV-Vis et par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) (44, 45). Le potentiel zêta (ζ - zeta, potentiel électrocinétique) est un outil important pour déterminer la charge de surface, il permet de comprendre l'état de la surface des nanoparticules et prévoir leur stabilité à long terme(43).

Pour utiliser les niosomes pour l'administration des médicaments, le facteur le plus important à caractériser est l'efficacité de piégeage qui est définie comme la quantité totale de PA contenue dans les niosomes(36).

Après avoir préparé la dispersion niosomale, le PA non piégé est séparé par dialyse, centrifugation ou filtration sur gel. Le PA restant piégé dans les niosomes est libéré suite à une rupture complète de la vésicule en utilisant 50 % de n-propanol ou 0,1 % de Triton X-100 et puis quantifié avec une méthode d'analyse appropriée. L'efficacité de piégeage (EE) est exprimée en pourcentage : $EE = (\text{la quantité piégée} / \text{la quantité totale}) \times 100$ (24).

Tableau 4: Les méthodes de caractérisation des différents paramètres (20).

| Paramètres de niosome | Mesure |
|-----------------------------------|--|
| Taille | DLS, SEM, AFM, STM, CLS |
| Potentiel zêta | DLS, Mobilité électrophorétique |
| Efficacité de l'encapsulation (%) | L'efficacité de piégeage = $\frac{\text{Quantité encapsulée}}{\text{Quantité totale}} \times 100\%$ La quantité de médicament encapsulée est déterminée par HPLC, UV/VIS, Fluorescence. |
| Stabilité | DLS (détermination de la taille et du potentiel zêta à 37°C, ou dans le sérum pour mimer la situation in vivo) ; Fuite du PA encapsulé, tests de stabilité en temps réel et accélérés. |

Chapitre II : Acide cinnamique

La nature est une source d'agents médicinaux depuis des milliers d'années. Au cours des trois dernières décennies, le problème de la résistance aux antibiotiques est apparu. Les agents pathogènes bactériens et fongiques ont développé de nombreux mécanismes de défense contre les agents antimicrobiens, et aujourd'hui le besoin de découvrir de nouveaux agents plus puissants comme accessoires ou alternatives à l'antibiothérapie est plus grand.

L'activité antimicrobienne de certains composés phénoliques a été décrite. L'acide P-hydroxybenzoïque est le plus abondant des acides phénoliques, ainsi que l'acide cinnamique (AC) (1). Les acides benzoïques, contiennent sept atomes de carbone (C6-C1), et les acides cinnamiques neuf atomes de carbone (C6-C3). Ces derniers ont été classés comme constituants structurels et fonctionnels des parois cellulaires des plantes et également comme ingrédients bioactifs dans l'alimentation (46). Ils ont été isolés pour la première fois sous forme de cristaux à partir d'huile de cannelle par TROMMSDORF en 1780. Il pensait qu'il s'agissait d'acide benzoïque. DUMAS et PELIGOT l'ont identifié en 1835, et en 1856 BERTAGNINI a réussi à le synthétiser à partir de benzaldéhyde et de chlorure d'acétyle (47).

II.1 Définition et structure chimique

L'acide cinnamique (acide 3-phénylprop-2-énoïque, acide 3-phénylacrylique) est un composé organique de formule $C_6H_5CH=CHCOOH$. C'est un composé cristallin blanc qui est très faiblement soluble dans l'eau, soluble dans les solvants organiques polaires (47). Il apparaît naturellement dans le règne végétal(48). Il rentre comme un intermédiaire dans la voie de la biosynthèse de l'acide shikimique et de tous les phénylpropanoïdes.

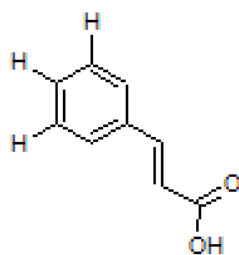


Figure 19: Structure de l'acide cinnamique(49).

Le terme "cinnamique" dérive de l'épice cannelle (*Cinnamomum zeilanicum*) qui est utilisée depuis l'antiquité comme agent aromatisant et pour ses propriétés stimulantes, carminatives, antiseptiques et insecticides (50). L'AC est largement utilisé comme matière première. Son extrait naturel se trouve souvent sous forme libre ou sous forme d'ester. On le

trouve également dans l'huile de cannelle, l'huile de basilic, le baume et la feuille de coca. En outre, il peut être synthétisé chimiquement (51).

II.2 Propriétés physico-chimiques

L'AC existe sous deux formes diastéréoisomériques *trans*- et *cis*- (E et Z en nomenclature IUPAC) comme indiqué sur la figure 20. A noter que ces deux formes (E) et (Z) peuvent être en équilibre suivant les conditions de synthèse (49).

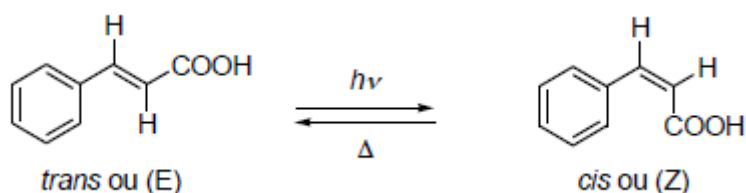


Figure 20: Isomères (E) et (Z) de l'acide cinnamique.

Tableau 5 : Les propriétés physiques, chimiques et thermochimique de l'AC (47, 49, 52).

| Propriétés physiques | | Propriétés chimiques | | Propriétés thermochimique | |
|-----------------------|-------------------------------|----------------------|--|---|------------------------|
| T° d'ébullition | 300 °C | Formule brute | C ₉ H ₈ O ₂ | ΔfH° solide (l'enthalpie standard de formation) | -325,3 kJ/mol |
| T° de fusion | 134 °C | Masse molaire | 148,16 | | |
| Solubilité dans l'eau | 0,4 g/l | pKa | 4,44 | Cp (Capacité thermique) | 197,5 J/mol·K (solide) |
| Densité | 1,25 g/cm ³ (4 °C) | | | | |
| La pression de vapeur | < 0,001 mmHg à 20 °C | | | | |
| Point d'éclair | > 93,3 °C | | | | |

II.3 Propriétés thérapeutiques

Les dérivés de l'AC sont largement utilisés dans les cosmétiques, comme parfum, aromatisant, dénaturant, absorbant et filtrant des UV ou comme antioxydant (48). Mais plusieurs études et analyses ont également été publiées dans la littérature sur une application médicale particulière de l'AC en raison de leurs bioactivités à large spectre, telles que leur application anticancéreuses, antidiabétiques, antibactériennes, antifongiques, antiparasitaires, antimycobactériennes, anti-inflammatoires et inhibitrices d'enzymes. Toutefois, la faible

biodisponibilité de l'AC, due à son caractère hydrophobe, est un facteur limitant dans les modèles *in vivo* (4, 53, 54).

➤ Propriétés antimicrobiennes

Il a été prouvé que l'AC contenu dans la cannelle combat les éléments fongiques, bactériens et viraux renfermés dans les aliments, mais ces propriétés ne se limitent pas à l'alimentation. En effet, l'AC et ses dérivés, isolés à partir des matières végétales ou synthétiques, sont considérés comme sûrs pour leur activité antibactérienne. Ils exercent leur effet contre une large gamme de bactéries(55). L'AC inhibe la prolifération des bactéries en endommageant leurs membranes cellulaires par inhibition de sa porosité ou en modifiant sa perméabilité et en altérant son profil lipidique (inhibition du métabolisme énergétique). Selon des experts, cette molécule ainsi que ses dérivés peuvent être utilisés pour le traitement des problèmes pulmonaires ou du rhume. Ils peuvent aider à résoudre les problèmes de congestion pulmonaire et aident aussi à éliminer le mucus et favoriser la fonction nasale(4, 55).

Les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) des acides cinnamiques naturels contre différentes bactéries, déterminées par différents chercheurs à l'aide de différentes méthodes, sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6 : Activité antibactérienne de l'acide cinnamique (56).

| Composé | Souche microbienne | CMI |
|--------------------------------|---|---------|
| Acide cinnamique | <i>Aeromonas hydrophila</i> MTCC 646 | 7.7 mM |
| | <i>Aeromonas salmonicida</i> MTCC 1522 | 5.6 mM |
| | <i>Edwardiella tarda</i> MTCC 2400 | 7.0 mM |
| | <i>Enterococcus faecalis</i> | 6.75 mM |
| | <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 | 9.0 mM |
| | <i>Listeria monocytogenes</i> | 13.5 mM |
| | <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv | 675 µM |
| | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 6.75 mM |
| | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 6.75 mM |
| | <i>Salmonella</i> sp. | 6.75 mM |
| | <i>Salmonella typhimurium</i> LT2 | 7.5 mM |
| | <i>Staphylococcus aureus</i> | 6.75 mM |
| | <i>Staphylococcus epidermis</i> | 6.75 mM |
| | <i>Streptococcus pyogenes</i> 10535 | 844 µM |
| <i>Vibrio parahaemolyticus</i> | 6.75 mM | |

PARTIE PRATIQUE

Chapitre I : Matériel et Méthodes

I.1 Type et lieu d'étude

Il s'agit d'une étude prospective expérimentale réalisée durant la période allant du Novembre au Mars 2020.

Le travail a été effectué au niveau du laboratoire de galénique et au niveau du laboratoire de recherche Toxicomed de la Faculté de médecine- Tlemcen.

Les contrôles ont été réalisés au niveau du laboratoire de recherche Catalyse et Synthèse en Chimie Organique (LCSCO)-Université de Tlemcen.

I.2 Matières premières et Matériel

Les matières premières utilisées sont : acide cinnamique de synthèse, Span 80 et Tween 80, cholestérol, phosphate disodique Na_2HPO_4 , phosphate de monopotassium KH_2PO_4 , chlorure de sodium NaCl , acétate de zinc dihydraté $[\text{Zn}(\text{OOCCH}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$, chloroforme, méthanol, hydroxyde de sodium, eau distillée.

Nous avons utilisé le matériel suivant :

- Agitateur magnétique
- Bain ultrasons IsoLab
- Balance analytique OHAUS
- Capsule en porcelaine
- Etuve
- Four à moufle
- Mortier en porcelaine
- pH-mètre OHAUS Starter3000
- Rotavapeur IsoLab
- Spectrophotomètre Infrarouge à Transformé de Fourier
- Spectrophotomètre UV-Visible
- Thermomètre
- Ultracentrifugeuse réfrigérée
- Verreries : Eprouvettes, béchers, fioles.

I.3. Méthodes

I.3.1 Préformulation

A. Acide cinnamique

L'acide cinnamique de formule $C_6H_5-CH=CHCOOH$ est un acide organique plus précisément phénolique qui se présente sous la forme d'une poudre blanche.

La structure de l'AC est divisée en trois unités : acide carboxylique, oléfine et un anneau benzène (fig 21).

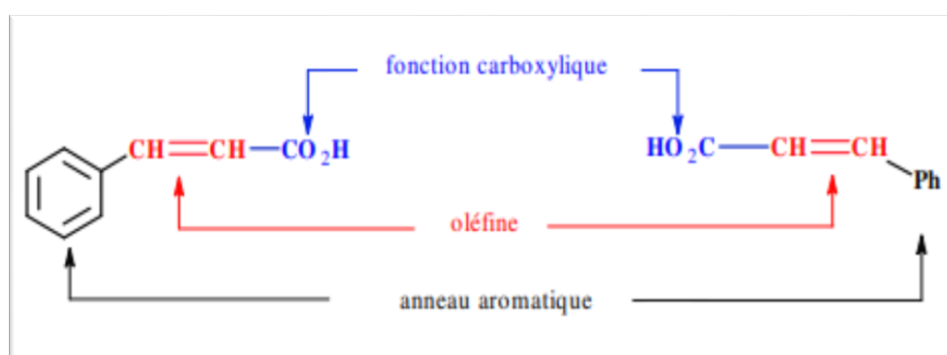


Figure 21 : formule de l'acide cinnamique.

Son poids moléculaire est 148,16 g/mol et sa densité est 1,25 g/cm³.

Il résiste au chauffage. Sa température de fusion est 134°C et son point d'ébullition est de 300°C.

Il n'est pas sensible ni à la lumière ni à l'oxygène.

B. Les agents de surface : Span 80 et Tween 80

Le monooléate de sorbitane (Span 80) et son dérivé éthoxylé le polysorbate 80 (Tween 80), sont des tensioactifs non ioniques. Leurs formules chimiques sont $C_{24}H_{44}O_6$ et $C_{58}H_{124}O_{26}$ et leurs masses molaires sont 428,6 g/mol et 1310 g/mol respectivement.

Ils se présentent sous forme de liquides jaune visqueux. Le Tween 80 est hydrosoluble avec un HLB égale à 15, alors que le Span 80 est liposoluble et son HLB est de 4,3 (33, 34). Ces deux tensioactifs ont une chaîne hydrophobe de 18 carbones qui est le siège d'une insaturation.

Le Span 80 est dispersible dans l'eau et soluble dans les solvants organiques. Sa température de transition de phase est 53-57°C (57).

Le Tween 80 est soluble dans l'eau et dans l'éthanol. Sa température de transition de phase est 65°C (57).

C. Le cholestérol

Le cholestérol de formule $C_{27}H_{46}O$ est un lipide de la famille des stérols. Sa structure chimique comprend quatre cycles carbonés notés A, B, C et D (noyau cyclopentano-perhydro-phénanthrénique). Cette structure possède un groupe hydroxyle -OH sur le carbone 3 (C3). Ce groupe constitue la tête polaire et donc la partie hydrophile du cholestérol. La fonction -OH du cholestérol peut être estérifiée par un acide gras qui rend la molécule totalement insoluble dans l'eau.

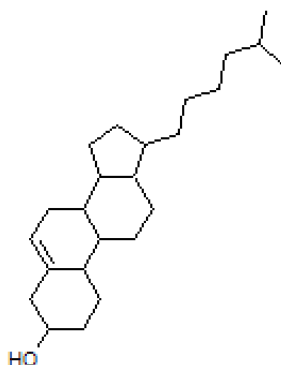


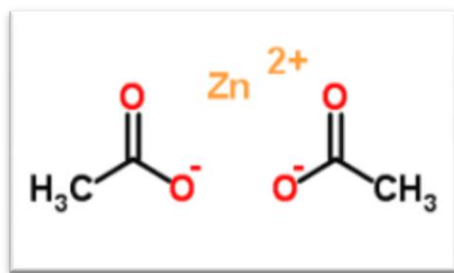
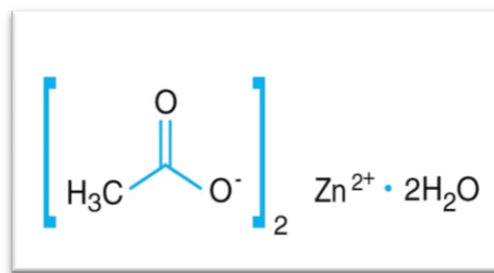
Figure 22: Structure de cholestérol.

Le point de fusion est 147–150°C. Il est soluble dans le chloroforme (1 partie dans 4,5 parties à 20°C) et faiblement soluble dans le méthanol (1 partie dans 153 parties à 20°C) (57).

D. Acétate de zinc

L'acétate de zinc est un composé chimique de formule $Zn(OOCCH_3)_2$ ayant souvent la structure d'un dihydrate $Zn(OOCCH_3)_2 \cdot 2H_2O$. Sa formule brute est $C_4H_6O_4Zn \cdot 2H_2O$ et sa masse molaire est de 219,50 g/mol.

L'acétate de zinc se présente sous l'aspect d'un solide cristallisé blanc à faible odeur acétique.

**Figure 23** : Acétate de zinc.**Figure 24** : Acétate de zinc dihydraté.

Il est soluble dans l'eau (1 partie dans 2,3 parties à 20°C). Par contre sa solubilité dans l'éthanol est plus faible (1 partie dans 30 parties à 20°C) (57).

Au dessus de 100°C, l'acétate de zinc perd son eau d'hydratation (57).

E. Les solvants organiques

Les solvants organiques proposés sont les plus couramment utilisés au laboratoire, les moins toxiques et dont les règles de sécurité sont maîtrisées.

Tableau 7 : Les solvants utilisés.

| Solvants | Formule chimique | T éb (°C) | Tf (°C) | PM (g/mol) | Densité |
|-------------|----------------------------------|-----------|---------|------------|---------|
| Méthanol | CH ₃ OH | 65 | -98 | 32,04 | 0,791 |
| Ethanol | C ₂ H ₅ OH | 78-79 | -117 | 46,07 | 0,812 |
| Chloroforme | CHCl ₃ | 61,2 | -63,5 | 119,38 | 1,478 |

I.3.2 Préparation et contrôle des niosomes chargés d'acide cinnamique

Pour la préparation des niosomes chargés d'acide cinnamique nous avons choisi la méthode d'hydratation du film en couche mince.

I.3.2.1 La Préparation des niosomes

Nous avons suivi les étapes ci-dessous :

- Tout d'abord, un mélange d'agent tensioactif et de cholestérol (à différents rapports molaires) a été dissous dans un volume de solvants organiques volatils dans une fiole à fond rond ;
- Les solvants organiques ont été évaporés sous pression réduite à une certaine température en utilisant un évaporateur rotatif jusqu'à l'obtention d'un film mince lipidique sur la paroi du ballon ;

- Le film mince formé sur la paroi intérieure était laissé à l'obscurité pendant 24h afin de se débarrasser des résidus de solvants et pour que le film sèche complètement ;
- Ensuite, une étape d'hydratation était réalisée avec 10 ml d'une solution préparée de PBS (pH 7,4), à une température supérieur à la température de transition de phase du tensioactif utilisé ($T\text{ }^{\circ}\text{C} > T_g$), et sous une agitation douce pendant 1h ;
- Enfin, les échantillons ont été soniqués pendant 5 min pour obtenir des niosomes de taille uniforme.
- Les échantillons ont été conservés dans un réfrigérateur (4°C) pour leur maturation.

Après la préparation des niosomes vierges représentés par les essais (E_v : vierge), on a procédé par la suite à la préparation des niosomes chargés (E_{1C} , E_{2C} , E_{3C} , E_{4C} , E_{5C} , E_{6C}) en suivant le même protocole. Une quantité fixe ($m_{PA} = 0,0001\text{ g}$) d'acide cinnamique (nature hydrophobe) est introduite au mélange composé de tensioactifs, de cholestérol, et de solvant au début de la préparation.

Tableau 8 : Formulation de niosomes avec des concentrations différentes de Tween/Span et de cholestérol ($Masse_T = 200\text{ mg}$).

| Tensioactifs | Tween 80 | | Span 80 | |
|--------------------------|--|----------|----------|----------|
| Essai | E_{T1} | E_{T2} | E_{S1} | E_{S2} |
| Ratio cholest/TA | 1 : 1 | 1 : 2 | 1 : 1 | 1 : 2 |
| Quantité | Masse $T = 200\text{ mg}$ | | | |
| Solvants | Chloroforme/Méthanol : 2V/1V $V_T = 15\text{ ml}$ | | | |
| Paramètres du rotavapeur | Agitation : 160 RPM Température : 65 °C Temps : 20 min | | | |
| Hydratation | 10 mL de PBS (pH 7,4), pendant 1 h | | | |
| | à 65 °C | | à 60 °C | |

Dans un deuxième temps, on a fixé la quantité de cholestérol à 20 μmol et on a varié les quantités des tensioactifs avec quelques modifications des paramètres de procédé.

Tableau 9 : Optimisation de quelques variables liées au processus de synthèse pour la formulation de niosomes vierges.

| TA | Tween 80 | | | Span 80 | | |
|--------------------------|--|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Essai | E _{1V} | E _{2V} | E _{3V} | E _{4V} | E _{5V} | E _{6V} |
| Ratio (Cholest / TA) | 1 : 1 | 1 : 2 | 1 : 3 | 1 : 2 | 1 : 2 | 1 : 3 |
| Quantité | m _{Cholest} = 0,0077 g | | | | | |
| | m _{T80} = 0,0262 g | m _{T80} = 0,0524 g | m _{T80} = 0,0786 g | m _{S80} = 0,0086 g | m _{S80} = 0,0171g | m _{S80} = 0,0257g |
| Solvant | V _{chlorofome} = 10 ml | | | | | |
| Paramètres du rotavapeur | Agitation : 110 RPM Température : 62 °C Temps : 40 min | | | | | |
| Hydratation | 10 mL de PBS (pH 7,4), pendant 1 h | | | | | |
| | à 65 °C | | | à 60 °C | | |

I.3.2.2 Méthodes de caractérisation

A. Taux d'encapsulation EE

L'efficacité de piégeage des niosomes ou taux d'encapsulation est représenté par la capacité des niosomes à retenir les molécules médicamenteuses dans le noyau aqueux ou dans la membrane bicouche des vésicules. Il s'agit d'un paramètre important pour la caractérisation des vésicules niosomales. Pour la détermination du taux d'encapsulation on a besoin de la quantité de l'acide cinnamique encapsulé, ce dernier est déterminé par spectrophotométrie en utilisant un spectrophotomètre Uv-Visible.

➤ Détermination de la longueur d'onde d'absorption de l'acide cinnamique

Une espèce chimique est caractérisée en spectroscopie UV-visible par la longueur d'onde λ_{\max} du maximum d'absorption. L'AC est une molécule qui absorbe dans l'ultra-violet. La longueur d'onde maximale est obtenue directement par balayage automatique entre 200 et 400 nm. Des cuves en quartz de 1 cm de trajet optique sont utilisées.

➤ Préparation d'une gamme d'étalonnage (calibration)

Lorsqu'on réalise une gamme étalon, la loi de Beer-Lambert doit être vérifiée, pour nous avons utilisé des solutions limpides, non fluorescentes, sans réaction chimique sous l'effet de la lumière.

Pour obtenir une courbe d'étalonnage linéaire et qui obéit à la loi de Beer-Lambert, on a démarré à partir d'une solution mère de concentration connue de 100 µg/ml, et on a réalisé une succession de dilutions (5 dilutions de $\frac{3}{4}$ suivi de 10 dilutions de $\frac{1}{2}$), au total nous avons une série de 15 préparations. Celles-ci sont, par la suite analysées par spectrophotométrie UV-visible en mesurant leurs absorbances après avoir effectué un blanc à la longueur d'onde trouvée.

Toutes les mesures effectuées sont regroupées dans le tableau N°12 et une courbe représentative de l'absorbance en fonction de la concentration de l'acide cinnamique est tracée par la suite (fig 32).

➤ Détermination de la quantité de PA encapsulé

Après avoir préparé les dispersions niosomales, une certaine quantité de PA n'est pas encapsulée. L'élimination du PA non piégé dans les vésicules a été réalisée par une centrifugation à 15 000 tr/min pendant 15 min à l'aide d'une centrifugeuse réfrigérée à 4 °C.

Le PA restant piégé dans les niosomes est déterminé par la rupture complète des vésicules restées au culot en ajoutant 5 mL d'éthanol. Sa concentration a été déterminée par spectrophotomètre UV-visible à la longueur d'onde caractéristique. L'efficacité de piégeage (EE) est ensuite calculée et exprimée en pourcentage.

Chacune de ses étapes était accompagnée par une expérience avec un simple blanc du système niosomal c'est-à-dire avec des niosomes vierges traités de la même manière.

✓ Calcul de l'EE

La concentration du PA encapsulé a été déterminée à partir de la courbe d'étalonnage réalisée pour l'acide cinnamique. L'efficacité d'encapsulation pour le niosome a été calculée à partir de l'équation suivante : L'efficacité de piégeage = $\frac{\text{Quantité encapsulée}}{\text{Quantité totale}} \times 100\%$

B. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) est la technique la plus appliquée dans les sciences chimiques et pharmaceutiques. Son champ d'application comprend de nombreuses applications, notamment pour déterminer la compatibilité entre les

ingrédients pharmaceutiques actifs et inactifs, condition préalable à la conception et à la formulation des médicaments. Les spectres FTIR des composants individuels, des mélanges physiques et des formulations niosomales ont été enregistrés et interprétés pour découvrir toute interaction. Ce travail visait à mettre en évidence la présence ou l'absence d'une éventuelle incompatibilité de certains agents de surface non ioniques avec l'acide cinnamique. Les spectres obtenus ont été enregistrés à l'aide d'un spectrophotomètre FTIR dans la région de 550 à 4000 cm^{-1} .

I.3.3 Synthèse et caractérisation de nanoparticules d'oxyde de zinc (NPs-ZnO)

I.3.3.1 Procédés de synthèse

Dans le tableau suivant, nous détaillons pour chaque méthode de synthèse des NPs-ZnO (précipitation ou sol-gel) les divers protocoles proposés par la littérature.

Notre choix de protocole était décidé selon la simplicité relative d'exécution du protocole et surtout selon le matériel disponible au niveau du laboratoire. Nous avons opté pour l'acétate de zinc dihydraté $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ comme précurseur et source de zinc.

Tableau 10 : Conditions expérimentales de synthèse de nanoparticules d'oxyde de zinc par la méthode de précipitation et la méthode sol-gel.

| Méthodes | Précurseur | Solvants | Solution acide | Solution basique | pH | Additifs | Séchage °C / h Agitation rpm/h | Traitement thermique °C / h | Morphologie et taille des particules | Notes | Références |
|---------------|--|--------------------------|--------------------------------|--------------------|-----|----------|-----------------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|---|------------|
| Précipitation | Acétate de zinc dihydraté 1M | Eau Distillée | Acide acétique | / | 7 | / | 400 rpm/5h 90 °C/9h | 650°C / 4h | / | / | (58) |
| | Acétate de zinc 0,3M | Ethylène-glycol | Acide nitrique | NaOH | 9,5 | / | 150°C/6h | 600°C / 4h | Sphérique 40 nm | La forme aciculaire a une activité antifongique plus efficace | (59) |
| | | Acide acétique | / | NH ₄ OH | 8,5 | | 250°C/2h | 400°C / 4h | Aciculaire 40×500 nm | | |
| | Acétate de zinc dihydraté 2 g | Eau distillée Ethanol | / | NaOH 8 g | / | / | / | / | 81,28-84,98 nm | / | (60) |
| Sol-gel | Acétate de zinc dihydraté 10,9 g | Ethanol | Acide oxalique dihydraté 12,6g | / | / | / | 80°C/24h | 500°C / 2h | 44 A° | / | (61) |
| | Acétate de zinc 0,11g | Iso-propanol | / | NaOH 0,5g | / | PVP 2g | 120°C/12h | 350°C / 2h | / | / | (62) |
| | Nitrate de zinc hexahydraté (9,8% p/v) | Amidon 30g | / | / | / | / | 80°C / 12h | 600°C / 4h | / | / | (63) |

| | | | | | | | | | | | | |
|--|--|----------------------|-------------------------------|------------|---|----------------------------|---------------------------------------|------------|--------------------|--|--|------|
| | Acétate de zinc 0.15mol/l | Ethylene glycol | Acide citrique 2.5mol/L | / | / | / | 130°C / 5h | 500°C | / | 21,5 nm | | |
| | Acétate de zinc dihydraté | Iso-propanol | / | / | / | Mono- éthanol- amine | 65°C / 2h | / | Couche mince | Zone d'inhibition 24 mm (E.coli) 15mm (S.aureus) | (64) | |
| | Acétate de zinc dihydraté (ZnO ≥0,3) 0,1/0,2/0,3/ 0,4/0,5/0,75/1/1,5 (mol/L) | Propan- 2-ol | / | / | / | Mono- éthanol- amine | 60°C / 2h | / | Non cristalline | ZnO et CuO ont un effet synergique CuO plus efficace que ZnO CMI 0,1mol/L pour CuO 0,3mol/L pour ZnO | (2) | |
| | Acétate de zinc dihydraté 0,2M | Methanol/ éthanol | / | NaOH 1M | 9 | / | Ultra- sonication | 100°C / 2h | / | Ultrasonication : NPs uniformes. ↓ agrégation et la taille de NPs. | (44) | |
| | | | | | | Agitation | | | | | | |
| | Acétate de zinc dihydraté 12,6 g | Alcool | NH ₄ OH | / | / | / | H ₂ O ₂ 6 mL | 80 °C | / | Taille moyenne 58,3 nm | F.sphérique : NH ₄ OH Fils métallique : NaOH | (65) |

A. Synthèse par méthode sol-gel (P4.4)

Pour la synthèse des NPs-ZnO par la méthode sol-gel nous avons varié le temps de sonication des échantillons.

Les étapes de synthèse sont les suivantes :

- Tout d'abord, une solution d'acétate de zinc dihydraté (0,2 M) a été préparée en mélangeant 4,4 g de précurseur avec 100 mL de méthanol ;
- Le mélange avait été agité à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 10 minutes à 140rpm jusqu'à dissolution complète de soluté. La solution produite est transparente et son pH est 7,40 ;
- Ensuite, une solution de NaOH 1M, préalablement préparée, était ajoutée progressivement au mélange précédant jusqu'à l'obtention d'un liquide laiteux et visqueux (gel fig 25) d'un pH = 9 ($V_{\text{versé}} = 35 \text{ mL}$) tout en maintenant l'agitation pendant 15 min à température ambiante ;
- Dans l'étape suivante, le gel obtenu a été soniqué pendant 15 min (échantillon P_{4,4a}) puis jusqu'à 30 min (échantillon P_{4,4b}) ;
- Une centrifugation à 5000 rpm pour une durée de 15 min suivi d'un lavage puis d'un séchage dans l'étuve à 80 °C pendant toute la nuit ont été effectués ;
- A la fin, une étape de calcination était réalisée, c'est au cours de ce processus de séchage que la conversion complète de l'oxyde de zinc avait lieu.



Figure 25 : Etat de gel (P_{4.4}).

B. Synthèse par précipitation (P2)

Dans une deuxième démarche, une autre procédure, celle de précipitation a été réalisée afin de synthétiser des NPs-ZnO. Les étapes de la deuxième méthode sont les suivantes :

- Premièrement, une masse de 2g d'acétate de zinc dihydraté a été dissoute dans un volume de 15 mL d'eau distillée. Ce mélange a été désigné comme solution A ;
- En parallèle, 8g d'hydroxyde de sodium a été ajouté à 10 mL d'eau distillée et le mélange a été désigné comme solution B ;
- Par la suite, les deux solutions ont été mélangées séparément sous agitation constante pendant environ 5 min chacune ;
- Puis, après une bonne homogénéisation, la solution d'hydroxyde de sodium a été versée dans la solution contenant de l'acétate de zinc sous agitation constante par un agitateur magnétique pendant environ 5 min ;
- Dans un second temps, une burette a été remplie avec un volume de 100 mL de méthanol. Un précipité blanc s'est formé au fur et à mesure que les gouttes de solvant se mélangent avec la préparation contenant à la fois de l'hydroxyde de sodium et l'acétate de zinc ;
- La solution obtenue a été divisée en deux parties, la première solution a été placée dans le système ultrasonique pour une durée de 15 min (échantillon P_{2a}), et la seconde pour une durée de 30 min (échantillon P_{2b}) (fig 26) ;
- La récupération de précipité se fait ensuite par centrifugation (fig 27) ;
- Une fois récupéré, le précipité est rincé avec de l'eau distillée, séché à l'étuve à environ 80 °C pendant quelques heures avant d'être broyé avec le mortier ;
- Afin de compléter le processus de synthèse, la poudre obtenue est soumise à une calcination ce qui permet de former les NPs-ZnO.

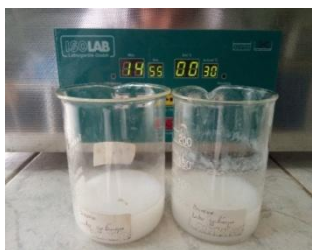


Figure 26: Etape de sonication



Figure 27: Etape de centrifugation

C. Calcination

Au cours de ce processus, les matériaux sont soumis à un cycle thermique, éventuellement sous atmosphère contrôlée afin d'éliminer les résidus de synthèse adsorbés à la surface des grains et afin d'obtenir le composé voulu. Au cours de cette réaction il y a dégagement de dioxyde de carbone ou de dioxyde d'oxygène et éventuellement d'un peu de vapeur d'eau.

Après le traitement thermique, la poudre est rebroyée afin de réduire la taille des grains, de l'homogénéiser et augmenter sa réactivité.

Une première préparation a été réalisée avec un seul lavage et un traitement thermique d'environ 1h à 500 °C, à la différence des nouvelles préparations où plusieurs étapes de lavages par de l'eau distillée ont été effectués et elles ont été portées à une calcination plus prononcée à 400 °C pendant 4h.

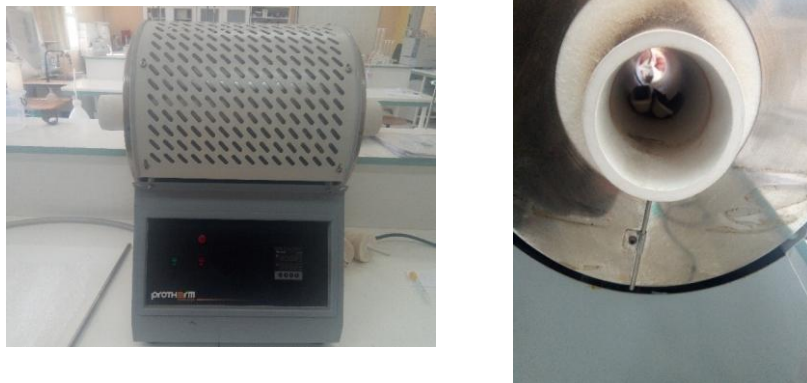


Figure 28 : Etape de calcination

I.3.3.2 Calcul de rendement

Le rendement (R) correspond au rapport entre la masse des nanoparticules obtenues et la masse théorique attendue. Il est exprimé en pourcentage.

I.3.3.3 Caractérisation des NPs-ZnO

Diverses techniques sont utilisées pour caractériser les nanoparticules et pour étudier leurs propriétés, une de ces méthodes utilisées pour la caractérisation de nos nanoparticules synthétisées est la FTIR.

La spectroscopie infrarouge est une méthode d'identification basée sur l'absorption ou la réflexion par l'échantillon des radiations électromagnétiques. C'est une technique utile utilisée pour distinguer les types de groupes fonctionnels et de liaisons chimiques que l'on trouve dans les composés.

La FTIR est une véritable carte d'identité de la molécule, extrêmement riche en informations. Les longueurs d'onde auxquelles l'échantillon absorbe sont caractéristiques des groupements chimiques présents dans le produit analysé. La consultation des tables et le croisement des résultats permettent à ce stade une attribution probable des bandes et une identification des groupements chimiques correspondants. Les spectres FTIR des NPs-ZnO synthétisés par les deux méthodes de précipitation et de sol-gel ont été enregistrés dans la gamme $400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ et ils ont été interprétés par la suite.

Chapitre II: Résultats et Discussion

II.1 Les niosomes chargés d'acide cinnamique

Dans ce chapitre, nous allons définir les différents facteurs utiles à notre étude à savoir : le taux d'encapsulation, les facteurs modifiant ce taux, l'étude FTIR... Pour chaque facteur, nous allons détailler notre méthodologie de calcul, résumer les résultats obtenus et finir par une lecture analytique et critique de notre bilan de travail.

II.1.1 Etude de solubilité de l'acide cinnamique

Pour choisir le solvant utilisé pour la synthèse des niosomes, un test de solubilité de l'AC dans deux solvants méthanol et chloroforme a été réalisé.

Tableau 11 : Solubilité de l'acide cinnamique

| Solvant | Volumes approximatifs de solvants en mL par masse d'acide cinnamique | Termes descriptifs |
|-------------|--|------------------------|
| Eau | 0,01 g non dissoute dans plus de 100mL | Pratiquement insoluble |
| Chloroforme | 1g dissoute dans 12 mL | Soluble |
| Méthanol | 1g dissoute dans 140mL | Peu soluble |

La faible solubilité de l'AC dans le méthanol par rapport au chloroforme peut être due à sa nature lipophile et au fait que le méthanol est plus polaire que le chloroforme.

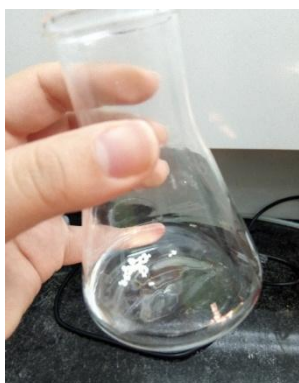


Figure 29 : Solubilité de l'AC dans le méthanol.



Figure 30 : Solubilité de l'AC dans le chloroforme.

II.1.2 Détermination des taux d'encapsulation

Le taux d'encapsulation est un paramètre primordial pour la caractérisation des niosomes, il est donné par le rapport $\frac{\text{Quantité de Ac cinnamique encapsulée}}{\text{quantité totale utilisée}}$ en pourcentage. La quantité encapsulée correspond à la concentration de PA piégé se trouvant dans le culot. Allons de la courbe d'étalonnage, il est facile de déduire cette concentration à partir de l'absorbance de la solution étudiée selon la relation $DO = f(C)$. Rappelant que cette lecture se fait à la longueur d'onde d'absorption maximale de l'AC.

➤ Détermination de la longueur d'onde d'absorption maximale de l'acide cinnamique

Les solutions préparées ont été étudiées contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre UV/Visible dans la gamme de 200-400 nm. Le λ_{max} correspond à la longueur d'onde où se produit un pic d'absorbance par l'AC. Celle-ci est de l'ordre de 280 nm (Fig 31), ce qui est conforme à la valeur décrite par la littérature (66), et elle est choisie par la suite comme longueur d'onde analytique pour une analyse plus approfondie.

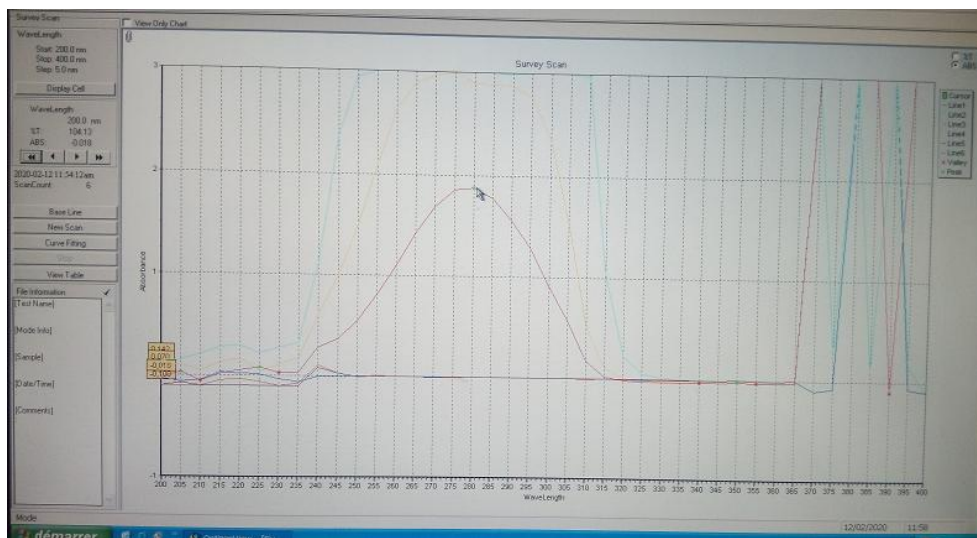


Figure 31 : Variation de l'absorbance en fonction de la longueur d'onde d'une solution d'AC.

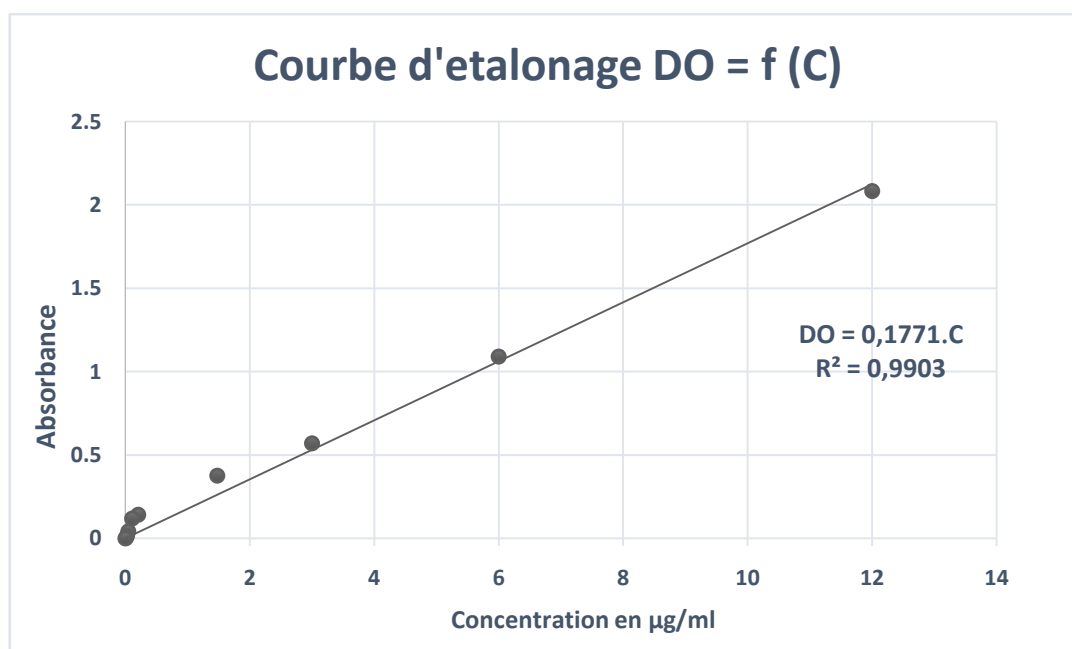
➤ Courbe d'étalonnage

La courbe d'étalonnage de l'AC a été réalisée en préparant quinze concentrations différentes d'AC et en mesurant l'absorbances de chacune d'elles à 280 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

Tableau 12: Le tableau montre les résultats obtenus après la mesure spectrophotométrique

| | Solutions | Densité optique (DO) |
|----------------------------------|---------------|----------------------|
| | Solution mère | 3 |
| Série de dilutions $\frac{3}{4}$ | D1 | 3 |
| | D2 | 3 |
| | D3 | 3 |
| | D4 | 3 |
| | D5 | 2,942 |
| Série de dilutions $\frac{1}{2}$ | D6 | 2,084 |
| | D7 | 1,09 |
| | D8 | 0,57 |
| | D9 | 0,377 |
| | D10 | 0,142 |
| | D11 | 0,12 |
| | D12 | 0,043 |
| | D13 | 0,015 |
| | D14 | 0,004 |
| | D15 | 0 |

Le tracé de la variation de l'absorbance en fonction de la concentration de l'acide cinnamique est représenté sur la figure suivante :

**Figure 32:** Courbe d'étalonnage de l'AC.

La courbe d'étalonnage de l'AC (Fig 32) est une droite d'équation : $A=0,1771.C$ ($R^2 = 0,9903$).

A : l'absorbance de l'AC à $\lambda_{\max} = 280$ nm contre un blanc de réactif.

C : la concentration de l'AC dans les solutions préparés (en $\mu\text{g/mL}$).

La courbe permet de déterminer la concentration d'une solution inconnue à partir de la mesure de son absorbance à 280nm.

La courbe est linéaire sur l'intervalle de concentration choisis (fourchette de 0 à 12 $\mu\text{g/mL}$), donc la loi de Beer Lambert est vérifiée pour la détermination du coefficient d'extinction molaire.

➤ Quantité de PA encapsulé

Le tableau ci-dessous représente les résultats obtenues après la synthèse des niosomes en utilisant deux types de tensioactifs non ioniques (Tween 80 ; Span 80).

Le taux d'encapsulation le plus élevé a été obtenu avec l'essai E_{5C} qui correspond à un ratio (cholestérol/ Span 80) de 1:2. Les taux d'encapsulation obtenus avec le Tween 80 étaient nettement inférieurs à ceux obtenus avec le Span 80.

Tableau 13: Les effets des différents rapports molaires (cholestérol/tensioactif) sur l'efficacité de piégeage % (EE %).

| TA | Tween 80 | | | Span 80 | | |
|-----------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Essai | E _{1C} | E _{2C} | E _{3C} | E _{4C} | E _{5C} | E _{6C} |
| Ratio Cholest/TA | 1 : 1 | 1 : 2 | 1 : 3 | 1 : 1 | 1 : 2 | 1 : 3 |
| DO culot | 0,919 | 1,218 | 1,214 | 1,886 | 2,850 | 1,960 |
| [PA] $\mu\text{g/ml}$ | 5,19 | 6.88 | 6.85 | 10,65 | 16,09 | 11,07 |
| EE % | 25,95 | 34,39 | 34,27 | 53,25 | 80,46 | 55,34 |

Des essais ont été réalisés avec du cholestérol et des agents de surface non ioniques (Tween 80 et Span 80) avec différentes proportions de 1:1, 1:2 et 1:3 par la méthode d'hydratation en couche mince. Dans chaque essai, 100 μg d'acide cinnamique ont été ajoutés. Le film mince ne s'est pas formé avec les échantillons E_{T1}, E_{T2}, E_{S1} et E_{S2}, même en augmentant le temps d'évaporation du solvant. Les variables liées au procédé, à savoir le type

de solvant, le temps d'évaporation, la température et la vitesse de rotation de rotavapeur, les conditions de l'étape d'hydratation, ont été modifiées et le film lipidique s'est formé dans chacun des essais E_{1C} , E_{2C} , E_{3C} , E_{4C} , E_{5C} , E_{6C} .

D'après les études ci-dessus, la formulation avec un rapport cholestérol/Span80 de 1:2 (quantité de cholestérol fixée à 20 μ M), 10 mL de chloroforme comme solvant, un temps d'hydratation de 1 heure avec une solution saline tamponnée au phosphate à pH 7,4, une vitesse de rotation de 110 tr/min et 5 min de sonication a donné un piégeage maximal de PA de 80,46 %. Ces paramètres peuvent être ultérieurement utilisés afin de formuler une préparation galénique à base de niosomes d'AC.

II.1.2.1 Facteur influençant la formation de film lipidique

➤ Vitesse de rotation du rotavapeur

L'épaisseur et l'uniformité du film dépendaient de la vitesse de rotation du ballon. Il a été observé qu'une rotation de plus de 120 tr/min produit des films épais et irréguliers (fig33), ce qui favorise la formation des agrégats. Une vitesse de 110 tr/min donnait un film lipidique uniformément mince (fig34).



Figure 33 : Le film lipidique formé à des vitesses de rotation élevées



Figure 34: Le film lipidique formé à une vitesse de rotation de 110 tr/min.

II.1.2.2 Facteurs influençant la formation des niosomes

Une mauvaise sélection de la température, du temps et du volume du milieu d'hydratation produit des niosomes fragiles et des problèmes de fuite de PA peuvent survenir par la suite.

➤ Température d'hydratation

La taille et la forme du niosome sont influencées par la température d'hydratation. Pour des conditions idéales, cette dernière doit être supérieure à la température de transition de la phase gel à la phase liquide du système. Le changement de température affecte l'assemblage des agents de surface en vésicules et induit également une transformation de la forme des vésicules. Pour cela, la synthèse des niosomes avec le Span 80 a été réalisée à 60°C ce qui est nettement supérieur au T_g de cet tensioactif. Alors que les préparations de Tweens 80 ont été portées à 65 °C.

➤ Milieu d'hydratation

Outre les facteurs mentionnés ci-dessus, le volume du milieu d'hydratation et le temps d'hydratation des niosomes sont également des facteurs critiques. En analysant les paramètres fixés par la littérature, un volume de 10 mL de solution saline tamponnée au phosphate d'un pH 7,4 a été utilisé pour former les vésicules. Nous avons sélectionné une durée d'hydratation d'une heure en se basant sur les travaux publiés dans la littérature (23, 35, 36, 67).

II.1.2.3 Facteurs influençant l'efficacité de piégeage de l'acide cinnamique

L'efficacité d'encapsulation (EE) de l'AC dans les niosomes s'est avérée plus grande dans les formulations de type Span 80 (53 - 80 %) que dans les formulations de type Tween 80 (25 - 34 %) Tableau N°13. L'efficacité d'encapsulation des vésicules niosomales dépend principalement du type d'agents de surface, de sa structure chimique, de ses propriétés intrinsèques comme la valeur HLB et la lipophilie. Elle dépend aussi de la nature de PA et de la quantité de cholestérol formant les bicouches. Nos interprétations sont basées sur les études rapportées dans la littérature.

➤ La nature de PA encapsulé

Le piégeage du PA dans les niosomes dépend du poids moléculaire, de la structure chimique, ainsi que de l'hydrophilie et de la lipophilie (68). L'AC possède un faible poids moléculaire (MW : 148,16 g/mol) et il est de nature lipophile. Le taux d'encapsulation élevé de l'AC dans l'E_{5C} (Span 80, ratio 1:2, EE 80,46 %) pourrait être attribué à la capacité accrue de l'environnement lipophile dans la bicouche de l'agent tensioactif résultant de l'augmentation de la longueur de la chaîne alkyle ainsi que la présence des groupes de tête lipophiles. Son taux d'encapsulation est plus faible dans les niosomes de Tween 80 (formulations E_{1C}, E_{2C}, E_{3C}) qui ont des groupes de tête hydrophiles plus grands et se situait entre 25 % et 34 %.

➤ Nature et type d'agent tensioactif

Les données du tableau N°13 révèlent que les taux d'encapsulation des niosomes préparés à l'aide de Span 80 étaient supérieurs à ceux préparés à l'aide de Tween 80. Ceci peut être dû à la nature lipophile de Span (HLB inférieur) où l'acide cinnamique lipophile est facilement piégé. En plus, le Tween 80 avec une valeur HLB relativement plus élevée nécessite plus de cholestérol non seulement pour maintenir la rigidité de la membrane, mais aussi pour former les niosomes (67).

Nos résultats sont conformes aux résultats rapportés par l'étude de Baziri et al (69) qui indiquent que les niosomes préparés avec les agents de surface ayant de faibles valeurs d'HLB ont montré une efficacité de piégeage plus élevée, et aux études de Gharbavi et al. et de Mehta et al (24, 68) qui montre aussi que les tensioactifs ayant des HLB entre 14-17 n'étaient pas adapté à la formulation des niosomes.

➤ Effet de cholestérol

Les formulations de niosomes ont été préparées en faisant varier le rapport molaire des tensioactifs non ioniques et du cholestérol. L'incorporation de cholestérol dans le niosome était connue pour améliorer la stabilité des vésicules. En effet, le cholestérol s'intercalait entre les bicouches et entraînait une rigidité accrue, une diminution de la perméabilité des vésicules et une augmentation de l'efficacité de piégeage du PA à l'intérieur des vésicules (67, 70), ce qui explique pourquoi les résultats obtenus avec un rapport molaire de 1:2 étaient meilleurs que le rapport 1:3. En revanche, une quantité plus élevée de cholestérol (rapport 1:1) entre en concurrence avec le PA pour l'espace de piégeage et l'exclut de la bicouche, ce qui entraîne une diminution de taux d'encapsulation. Cela pourrait également être dû au fait qu'au-delà d'une certaine concentration, le cholestérol peut réduire la perméabilité de la membrane en augmentant sa rigidité (67) ou carrément détruire la structure bicouche régulière des membranes vésiculaires (71). Ceci a été démontré dans l'étude de Waddad et al. (67) lorsqu'ils ont obtenu une réduction de l'efficacité du piégeage à partir d'une certaine quantité de cholestérol lors de l'encapsulation du Morin hydrate dans des niosomes à base de Tween 60, Span 60 et Span 80.

II.1.3 Étude par FTIR

Le spectre FTIR de l'AC seul est présenté dans le tableau 14 et la figures 35. Alors que les résultats des formulations niosomales sont illustrés dans les figures 36 et 37.

II.1.3.1 Études de compatibilité entre les excipients et l'ingrédient actif

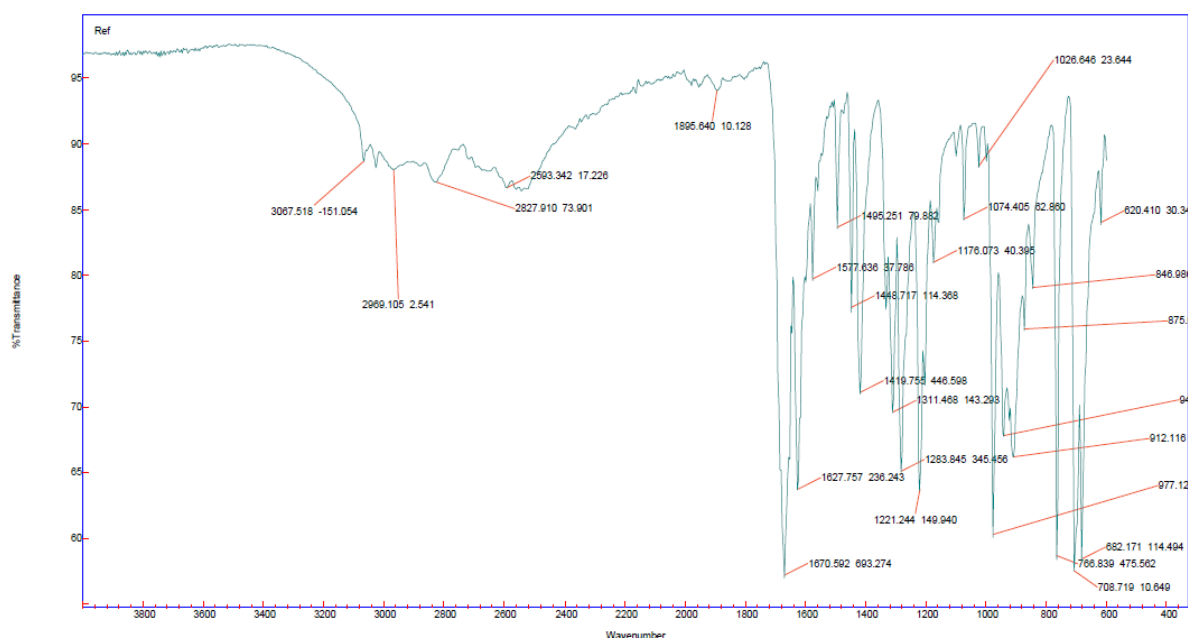
➤ Spectre FTIR de l'acide cinnamique pur

Le spectre FTIR de l'échantillon de PA a montré la présence de tous les groupes fonctionnels, qui sont présents dans la structure chimique de l'AC. En outre, les valeurs obtenues à partir du spectre FTIR de l'échantillon du produit utilisé sont conformes aux valeurs rapportées dans la littérature, ce qui montre l'authenticité du PA.

Tableau 14 : Résultats de l'analyse en spectroscopie infrarouge de l'acide cinnamique.

| Liaison du groupe fonctionnel | Fréquences expérimentales cm^{-1} | Fréquences de la littérature cm^{-1} |
|-------------------------------|-------------------------------------|--|
| O-H acide carboxylique | $2909cm^{-1}$ | $2500-3200cm^{-1}$ |
| C_{sp^2} -H aromatique | $3087cm^{-1}$ | $3030-3080cm^{-1}$ |
| C=C aromatique | Variable, 3 ou 4 bandes | $1450-1600cm^{-1}$ |
| C=O acide | $1670cm^{-1}$ | $1680-1710cm^{-1}$ |
| C=C | $1627cm^{-1}$ | $1625-1685cm^{-1}$ |

Le spectre FTIR de l'échantillon de l'acide cinnamique est illustré dans la figure suivante :

**Figure 35** : Spectre IR de l'acide cinnamique.

Le spectre IR de l'acide cinnamique indique des bandes d'absorption des groupements carbonyles (C=O) à environ 1670 cm^{-1} et les groupements C_{sp^2} -H aromatiques à environ 3087 cm^{-1} . De plus, une large bande d'absorption importante à environ 2909 cm^{-1} correspondante à la fonction hydroxyde (O-H) de l'acide carboxylique. Le spectre (figure 36) a aussi montré une bande d'absorption près de 1627 cm^{-1} due à la double liaison (C=C), et celle de C=C aromatiques 3 à 4 bandes sont apparues dans l'intervalle de $1450-1600\text{ cm}^{-1}$.

1. Etude des spectres FTIR des formulations niosomales

Les spectres des formulations niosomales montrent que l'AC est piégé avec succès dans les niosomes. Les spectres FTIR de niosomes vierges (fig 36, essai 2 et 4) et de niosomes chargés d'AC (fig 37, essai 3 et 5) ont montré que dans la région du nombre d'ondes comprise entre 3600 cm^{-1} et 3200 cm^{-1} , ce qui explique la formation de liaisons hydrogène avec les groupes fonctionnels C=O et OH de PA et des agents de surface. Cependant, ces interactions peuvent favoriser l'obtention de la forme vésiculaire, stabiliser les structures et ralentir la libération du PA encapsulé.

Les niosomes chargés d'AC ont montré la disparition des pics caractéristiques de l'AC, ce qui a montré le piégeage du PA dans la structure vésiculaire.

En ajoutant de l'AC dans les niosomes vierges, les nouveaux spectres FTIR des niosomes chargés ne montrent pas une grande différence avec ceux des niosomes vierges, ce qui signifie qu'aucune réaction chimique supplémentaire n'a eu lieu. L'AC a été piégé dans la membrane bicouche des niosomes en raison de son hydrophobicité, et les spectres de tous les échantillons ont montré des bandes caractéristiques d'élongation de groupe alcène C=C ($1651\text{-}1654\text{ cm}^{-1}$) et de groupe hydroxyl en plus de l'élongation OH lié à H ($3327\text{-}3373\text{ cm}^{-1}$). Un déplacement du pic a été observé dans les spectres IR des niosomes chargés d'acide cinnamique (fig 37. essai 3 et 5) de 588 cm^{-1} à 735 cm^{-1} ce qui peut être due au fait que l'AC en raison de son hydrophobicité a été piégé dans la membrane bicouche des niosomes et de ce fait une bande d'absorbance caractéristique d'un benzène monosubstitué a été apparue.

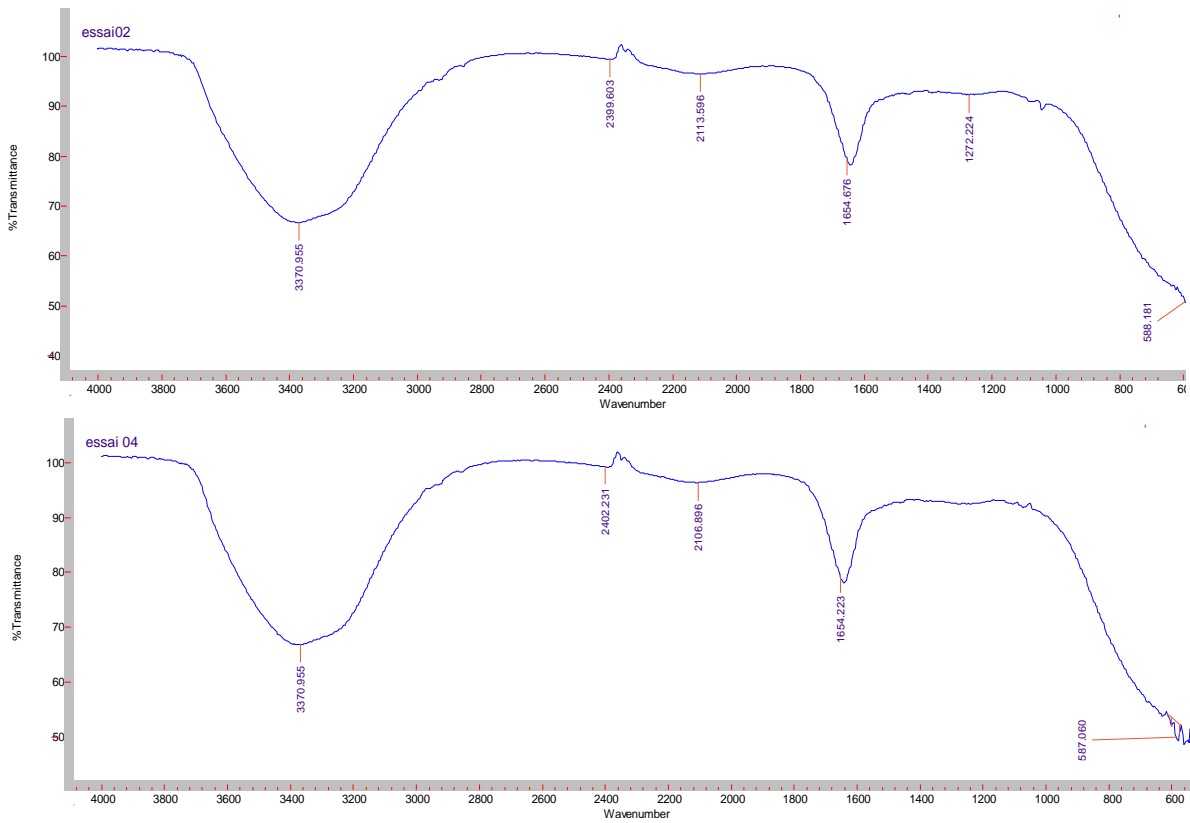


Figure 36 : Spectres FTIR de niosomes vierges synthétisé avec T₈₀ (essai 02) et avec S₈₀ (essai 04).

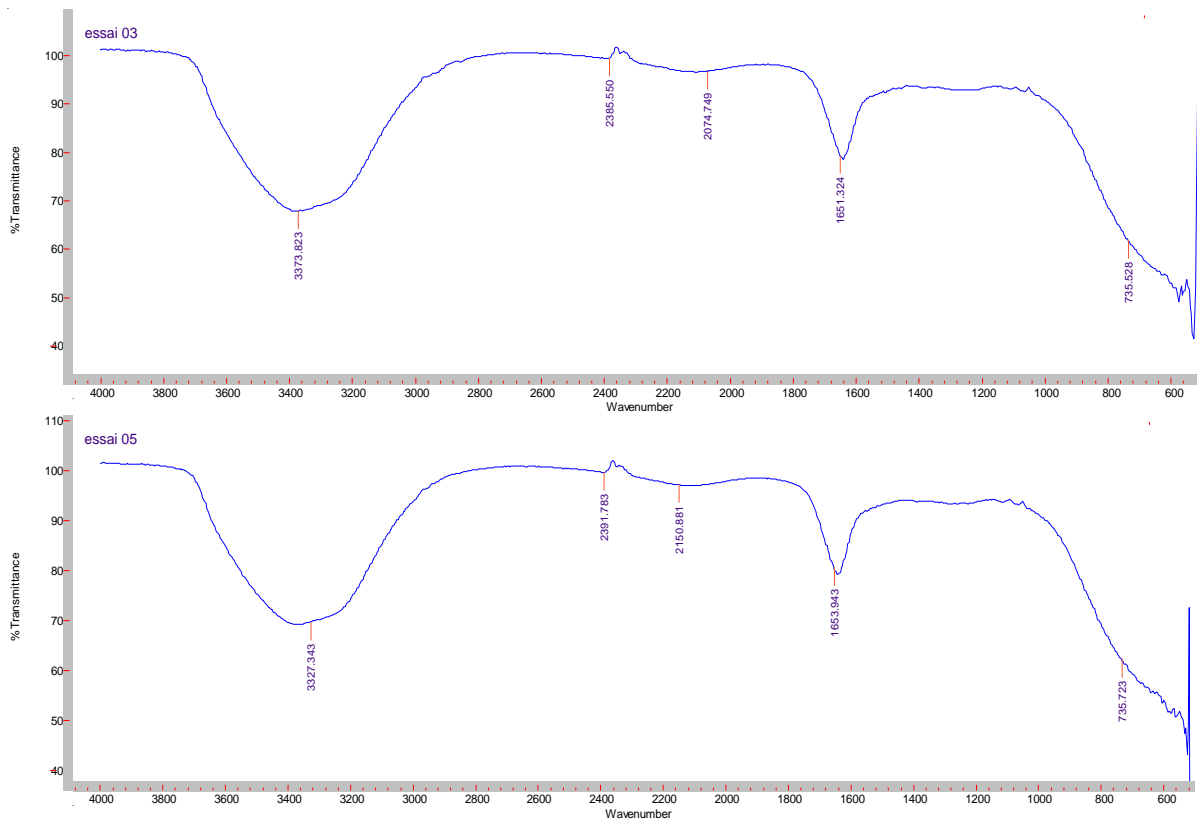


Figure 37: Spectres FTIR de niosomes chargés d'acide cinnamique et synthétisés avec T₈₀ (essai 03) et avec S₈₀ (essai 05).

II.2 Les NPs-ZnO

Dans cette partie, nous allons présenter ce qu'on a obtenu de la synthèse de nanoparticules d'oxyde de zinc par les deux procédés sol-gel et précipitation à partir d'acétate de zinc comme précurseur, ainsi que les résultats et l'interprétation de l'analyse spectrophotométrique du produit synthétisé.

II.2.1 Calcination

Lors du chauffage, il se produit diverses réactions qui modifient l'échantillon :

- à 100 °C : l'eau libre se vaporise ;
- Au-dessus de cette température, l'eau liée se libère ;
- Vers 550 °C : sous air ou atmosphère oxydante, la matière organique se brûle donnant du dioxyde de carbone (CO₂) et des métaux oxydés.

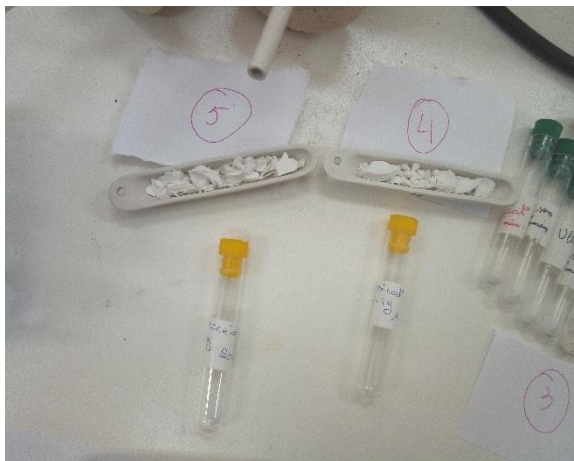


Figure 38 : Echantillons P_{4.4b} et P_{2b} avant calcination



Figure 39 : Echantillons après calcination à 500 °C pendant 1h

La poudre alors soumise à un traitement thermique à haute température et pour une courte durée (500 °C pendant 1h), n'a pas permis d'obtenir le produit désiré (fig 39). Cela peut être dû à un certain nombre de problèmes liés à cette technique notamment, l'augmentation rapide et désordonnée de la température ce qui a provoqué une mauvaise répartition de la chaleur au niveau des particules synthétisées. Un mélange mal préparé, particules de taille trop grande, broyage inefficace sont à l'origine d'une mauvaise distribution des constituants et du coup à un défaut d'homogénéité du mélange. Sans oublier les nombreuses phases parasites (impuretés) qui peuvent interférer avec nos échantillons au cours du traitement thermique.

Par contre, en améliorant le traitement des échantillons ainsi que les paramètres reliés au procédé à savoir la température, le temps de chauffage (400 °C pour 4h) ainsi que l'appareil utilisé, de meilleurs résultats étaient obtenus.

II.2.2 Calcul de rendement

A présent, nous allons nous lancer dans une étude comparative du rendement de synthèse des nanoparticules par les deux procédés utilisés c'est-à-dire : sol-gel et précipitation.

Il est judicieux de constater que pendant la phase de calcination, des perturbations de la masse du produit fabriqué peuvent s'opérer, à savoir :

- Une perte de masse par évaporation des espèces chimiques volatiles. On appelle ce phénomène : « La perte au feu » ;
- Un gain de masse suite à l'incorporation d'atomes d'oxygène par oxydation. On parle alors de « perte au feu négative » ou parfois de « gain au feu ».

Après rebroyage de la poudre obtenue par les deux procédés de synthèses et sa pesée, le rendement trouvé était de 46,15 % par la méthode sol-gel et de 73,28 % par la méthode de précipitation. On remarque que le rendement obtenu par la méthode sol-gel est plus faible ce peut être expliqué par une perte considérable de masse au cours de la synthèse.

II.2.3 Etude par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

Des études dans l'infrarouge ont été enregistrées dans la région de 400-4000 cm^{-1} et ont été menées afin de vérifier la pureté et la nature des nanoparticules métalliques. Les oxydes métalliques donnent des pics d'absorbance généralement dans la région de l'empreinte digitale, c'est-à-dire en dessous de 1000 cm^{-1} .

Tableau 15: Les résultats de l'analyse FTIR des nanoparticules synthétisées par les deux procédés.

| Groupement fonctionnel | Fréquences expérimentale (cm^{-1}) | | Fréquences de la littérature (cm^{-1}) | Réf |
|---|--|-------------------------|---|----------|
| | Spectre P _{4.4b} | Spectre P _{2b} | | |
| Vibration de la liaison O-H | 3394 cm^{-1} | 3743 cm^{-1} | $\sim 3426 cm^{-1}$ | (72) |
| Vibration d'élongation symétrique du groupe COOH | 1452 cm^{-1} | 1449 cm^{-1} | 1400 – 1012 cm^{-1} 1350 – 1450 cm^{-1} | (73, 74) |
| Vibration d'élongation asymétrique du groupe COOH | 884 cm^{-1} | 883 cm^{-1} | Une bande supplémentaire entre 850 – 950 cm^{-1} | (61) |
| Vibration d'élongation de la liaison Zn-O | 478 cm^{-1} | 424 cm^{-1} | 400 – 600 cm^{-1} $\sim 445 cm^{-1}$ $\sim 471 cm^{-1}$ | (74, 75) |
| Vibration d'élongation de la liaison C-O | 1072 cm^{-1} | 1107 cm^{-1} | $\sim 1030 cm^{-1}$ | (75) |

Les résultats de l'analyse FTIR (tableau N°15) réalisées sur les poudres issues des deux méthodes de synthèse : sol-gel(P_{4.4b}) et précipitation(P_{2b}) avant et après calcination sont représentés dans les figures suivantes :

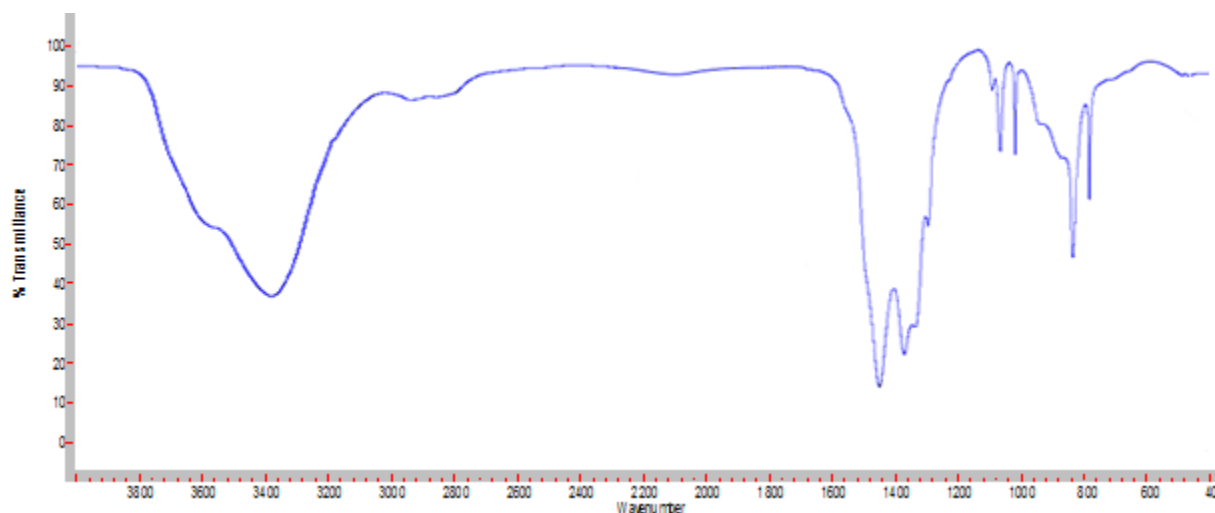


Figure 40 : Spectre infrarouge des échantillons P_{4.4b} et P_{2b} avant calcination.

Les spectres IR des deux échantillons (P_{4.4b} et P_{2b}) réalisés avant calcination (fig 40) présentent de larges bandes d'absorption, la plus caractéristique est à 3450 cm^{-1} . La large bande évidente qui apparaît à environ 3450 cm^{-1} peut être attribuée à la vibration d'élongation

d'hydroxyde (O-H) de l'eau absorbée par les molécules ou attribuée au (O-H) de solvant (méthanol) utilisé pour la synthèse, ou même à des liaisons hydrogène. Les spectres présentent également une bande intense à environ 1420 cm^{-1} avec une bande supplémentaire à 800 cm^{-1} qui sont dus à un étirement symétrique et asymétrique des vibrations de la fonction carboxyle suggérant la présence des groupements anioniques d'acétate (COO^-). Le pic d'absorption observé à 1030 cm^{-1} peut être attribué au C-O de l'alcool primaire saturé.

Les spectres infrarouges des échantillons ($\text{P}_{4.4b}$ et P_{2b}) calcinés à une température de 400 °C pendant 4h sont représentés sur les figures suivantes :

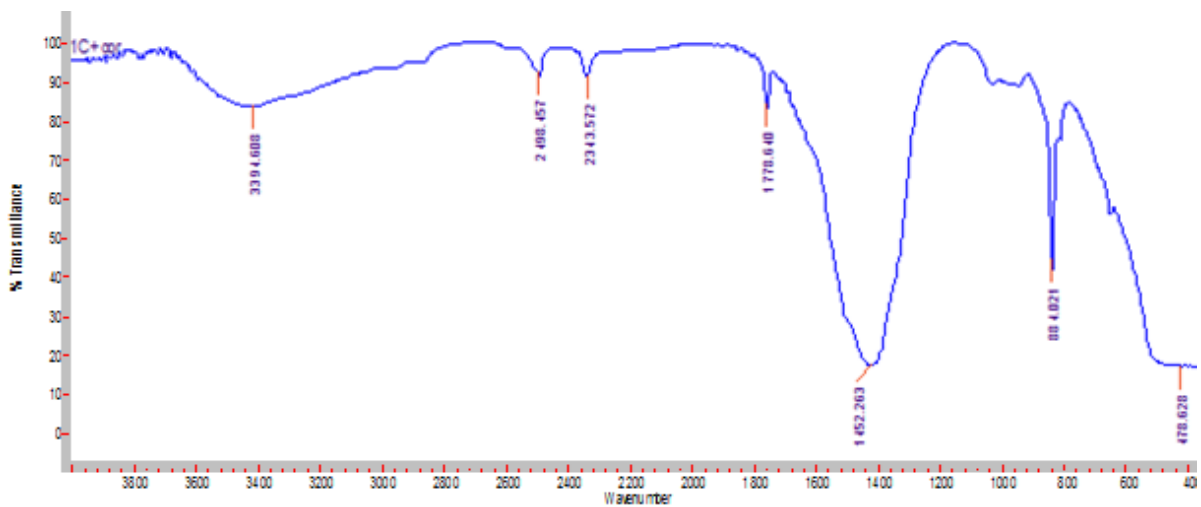


Figure 41 : Spectre FTIR des NPs-ZnO synthétisés par la méthode sol-gel ($\text{P}_{4.4b}$) après calcination.

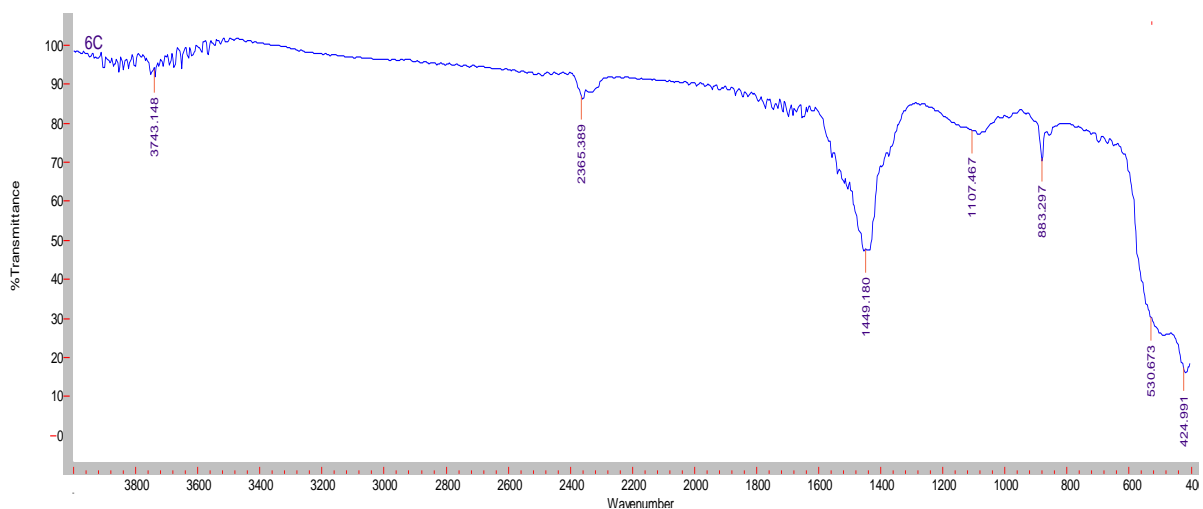


Figure 42 : Spectre FTIR des NPs-ZnO synthétisés par la méthode de précipitation (P_{2b}) après calcination.

Après calcination à 500 °C, l'intensité des bandes associées à la présence de résidus organiques ainsi que des impuretés provenant des intermédiaires de réaction, ont été considérablement réduites. Ces résidus peuvent être identifiés comme étant les bandes liées aux fonctions des molécules d'eau et du précurseur de zinc.

Les pics à 478 cm^{-1} pour la méthode sol-gel ($P_{4.4b}$) et 424 cm^{-1} pour la méthode de précipitation (P_{2b}) sont devenus à l'opposé fortement apparents. Ils sont attribués aux vibrations d'élongation de la liaison Zn-O. ce qui confirme la formation des nanoparticules d'oxyde métallique.

Le spectre infrarouge P_{2b} (méthode de précipitation) montre de meilleurs résultats et présente une pureté satisfaisante des NPs-ZnO synthétisés, contrairement à ceux obtenus par la méthode sol-gel ($P_{4.4b}$). Cela est constaté en remarquant la diminution de l'intensité des pics attribués aux groupements fonctionnels du solvant ou des liaisons hydrogène (diminution des bandes larges caractéristiques des liaisons O-H), ainsi que les pics de l'acétate. Cela peut être dû au fait que l'état gel au cours de la préparation $P_{4.4b}$ n'a pas facilité l'étape de lavage et de broyage par rapport au précipité, et du coup, une meilleure calcination, donc une meilleure élimination des résidus de synthèse a été obtenue avec le procédé de précipitation.

CONCLUSION

Le problème de la résistance aux antibiotiques présente un grand challenge dans le domaine médical. Les agents pathogènes bactériens et fongiques ont développé de nombreux mécanismes de défense contre les agents antimicrobiens et antifongiques. Le développement de nouveaux agents antimicrobiens efficaces semble être une importance primordiale.

En vue d'améliorer l'efficacité et diminuer les effets secondaires des traitements antibactériens, des molécules amphiphiles sont des candidates naturelles à l'encapsulation, d'où le développement des niosomes. Ces vésicules à base de tensioactifs sont biodégradables, biocompatibles et non immunogènes et permettent de résoudre les problèmes d'insolubilité et d'instabilité. L'acide cinnamique est un composé lipophile ayant une activité antimicrobienne. Nous avons réalisé son encapsulation dans des niosomes en utilisant deux tensioactifs non ioniques (Tween 80 et Span 80) selon le procédé d'hydratation en couche mince suivi d'une sonication. Le meilleur taux d'encapsulation de l'AC est 80,46% obtenu avec le rapport 1:2 cholestérol/Span 80.

Les nanoparticules ZnO ont une importance particulière en raison de leur haute sélectivité, leur biocompatibilité, leurs propriétés antibactériennes et antifongiques. Leur synthèse a été réalisée par deux méthodes : méthode sol-gel et méthode par précipitation. La méthode de précipitation a permis d'obtenir un rendement plus élevé (73,28 %) et un produit présentant une grande pureté.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Heleno SA, Ferreira IC, Esteves AP, Ciric A, Glamoclija J, Martins A, et al. Antimicrobial and demelanizing activity of Ganoderma lucidum extract, p-hydroxybenzoic and cinnamic acids and their synthetic acetylated glucuronide methyl esters. *Food Chem Toxicol.* 2013;58:95-100.
2. Dadi R, Azouani R, Traore M, Mielcarek C, Kanaev A. Antibacterial activity of ZnO and CuO nanoparticles against gram positive and gram negative strains. *Materials Science & Engineering C.* 2019;104:109968.
3. Soussan E, Cassel S, Blanzat M, Rico-Lattes I. Drug delivery by soft matter: matrix and vesicular carriers. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2009;48(2):274-88.
4. Sova M. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Cinnamic Acid Derivatives. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry.* 2012;12:749-67.
5. Krol A, Pomastowski P, Rafinska K, Railean-Plugaru V, Buszewski B. Zinc oxide nanoparticles: Synthesis, antiseptic activity and toxicity mechanism. *Adv Colloid Interface Sci.* 2017;249:37-52.
6. Faraday M. The Bakerian Lecture.—Experimental Relations of Gold (and other Metals) to Light. 1857.
7. Graham T. Liquid Diffusion applied to Analysis. 1861.
8. Allen M, Pieter Cullis R. Drug Delivery Systems: Entering the Mainstream. *Science.* 2004;303:1818-22.
9. Langer R, Folkman J. Department of surgery, children's hospital medical center and harvard medical school. *Nature.* 1976;263:797-800.
10. Said H. Synthèse et caractérisation optique des nanoparticules d'or pour des applications en optoélectroniques. Tlemcen: Université Abou - Bekr Belkaid 2014.
11. Singh S, Singh Nalwa H. Nanotechnology and Health Safety – Toxicity and Risk Assessments of Nanostructured Materials on Human Health. *Nanoscience and Nanotechnology.* 2007;7(9):3048-70.
12. Chuto G, Chaumet-Riffaud P. Les nanoparticules. *Médecine Nucléaire.* 2010;34(6):370–6.
13. Kavooosi F, Modaresi F, Sanaei M, Rezaei Z. Medical and dental applications of nanomedicines. *APMIS.* 2018;126:795-803.
14. Wilczewska AZ, Niemirowicz K, Markiewicz KH, Car H. Nanoparticles as drug delivery systems. *Pharmacological Reports.* 2012;64:1020-37.
15. Keservani RK, Sharma AK. Nanoconjugate nanocarriers for drug delivery. press Aa, editor 2019. 1-543 p.
16. Grazu V, Moros M, Sanchez-Espinel C. Nanocarriers as Nanomedicines: Design Concepts and Recent Advances. *Frontiers of Nanoscience.* 2012;4:337-440.
17. Couvreur P. Les nanotechnologies pour la conception de nouveaux médicaments. *Biologie Aujourd'hui.* 2012;206(4):237–48.
18. Esparsa C, Margaux D, T. A. TPE: La vectorisation des médicaments. <https://onconano.webnode.fr/generations-de-nanovecteurs/> Consulté le 02/03/2020.

19. Yeo PL, Lim CL, Chye SM, Kiong Ling AP, Koh RY. Niosomes: a review of their structure, properties, methods of preparation, and medical applications. *Asian Biomed.* 2017;11(4):301–14.
20. Ge X, Wei M, He S, Yuan WE. Advances of Non-Ionic Surfactant Vesicles (Niosomes) and Their Application in Drug Delivery. *Pharmaceutics.* 2019;11(2):1-16.
21. Rajera R, Nagpal K, Singh SK, Mishra DN. Niosomes: A Controlled and Novel Drug Delivery System. *Biol Pharm Bull.* 2011;34(7):945-53.
22. Uchegbu IF, Vyas SP. Non-ionic surfactant based vesicles (niosomes) in drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics.* 1998;172:33-70.
23. Chen S, Hanning S, Falconer J, Locke M, Wen J. Recent advances in non-ionic surfactant vesicles (niosomes): fabrication, characterization, pharmaceutical and cosmetic applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.* 2019;144:1-83.
24. Gharbavi M, Amani J, Kheiri-Manjili H, Danafar H, Sharafi A. Niosome: A Promising Nanocarrier for Natural Drug Delivery through Blood-Brain Barrier. *Advances in Pharmacological Sciences.* 2018;2018:6847971.
25. Ag Seleci D, Seleci M, Walter JG, Stahl F, Scheper T. Niosomes as Nanoparticulate Drug Carriers: Fundamentals and Recent Applications. *Nanomaterials.* 2016;2016:1-14.
26. Hutin A. les tensioactifs. *ResearchGate.* 2019:1-5.
27. Sharma DM. Niosomes as Novel Drug Delivery System: Review Article. *Pharma Tutor.* 2018;6(3):57-65.
28. Mahale NB, Thakkar PD, Mali RG, Walunj DR, Chaudhari SR. Niosomes: Novel sustained release nonionic stable vesicular systems — An overview. *Advances in colloid and interface science.* 2012;183-184:46-54.
29. Azeem A, Anwer MK, Talegaonkar S. Niosomes in sustained and targeted drug delivery: some recent advances. *Journal of Drug Targeting.* 2009;17(9):671–89.
30. Bartelds R, Nematollahi MH, Pols T, Stuart MCA, Pardakhty A, Asadikaram G, et al. Niosomes, an alternative for liposomal delivery. *PLOS ONE.* 2018;13(4):1-18.
31. Dwivedi M, Blech M, Presser I, Garidel P. Polysorbate degradation in biotherapeutic formulations: Identification and discussion of current root causes. *International Journal of Pharmaceutics.* 2018;552:422-36.
32. Kumar GP, Rajeshwarrao P. Nonionic surfactant vesicular systems for effective drug delivery—an overview. *Acta Pharmaceutica SinicaB.* 2011;1(4):208-19.
33. Yoshioka T, Sternberg B, Florence AT. Preparation and properties of vesicles (niosomes) of sorbitan monoesters (Span 20,40,60 and 80) and a sorbitan triester (Span 85). *International Journal of Pharmaceutics.* 1994;105(1994):1-6.
34. Mehta SK, Bhasin KK, Kaur G. Tween-Embedded Microemulsions-Physicochemical and Spectroscopic Analysis for Antitubercular Drugs. *AAPS PharmSciTech.* 2010;11:142-53.
35. Moghassemi S, Hadjizadeh A. Nano-niosomes as nanoscale drug delivery systems: An illustrated review. *Journal of Controlled Release.* 2014;185(2014):22-36.
36. Khoee S, Yaghoobian M. NIOSOMES: A NOVEL APPROACH IN MODERN DRUG DELIVERY SYSTEMS. 2017:208-37.
37. Pranshu T, Shaffi K. NIOSOMES: FORMULATION AND EVALUATION. *International Journal of Biopharmaceutics.* 2011;2(1):47-53.

38. Shi LE, Li ZH, Zheng W, Zhao YF, Jin YF, Tang ZX. Synthesis, antibacterial activity, antibacterial mechanism and food applications of ZnO nanoparticles: a review. *Food Additives & Contaminants: Part A*. 2014;31(2):173-86.
39. Kolodziejczak-Radzimska A, Jesionowski T. Zinc Oxide—From Synthesis to Application: A Review. *Materials & Design*. 2014;7:2833-81.
40. Vaseem M, Umar A, Hahn YB. ZnO Nanoparticles: Growth, Properties, and Applications.5:1-36.
41. Sirelkhatim A, Mahmud S, Seeni A, Kaus NHM, Ann LC, Bakhori SKM, et al. Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nano-Micro Lett* 2015;7(3):219-42.
42. Giang Ngo V. Nanoparticules hybrides oxydes métalliques/polymères : synthèse et caractérisation: Université du sud Toulon-Var; 2012.
43. Krol A, Pomastowski P, Rafinska K, Railean-Plugaru V, Buszewski B. Zinc oxide nanoparticles: Synthesis, antiseptic activity and toxicity mechanism. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2017;249(2017):37-52.
44. Mahdavi R, Ashraf Talesh SS. The effect of ultrasonic irradiation on the structure, morphology and photocatalytic performance of ZnO nanoparticles by sol-gel method. *Ultrason Sonochem*. 2017;39:504-10.
45. Jurablu S, Farahmandjou M, Firoozabadi TP. Sol-Gel Synthesis of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles: Study of Structural and Optical Properties. *Journal of Sciences*. 2015;26(3):281-5.
46. Teixeira J, Gaspar A, Garrido EM, Garrido J, Borges F. Hydroxycinnamic Acid Antioxidants: An Electrochemical Overview. *BioMed Research International*. 2013;2013:1-12.
47. Garbe D. Cinnamic Acid. *Encyclopedia of industrial chemistry*. Germany2000. p. 193-6.
48. Gunia-Krzyzak A, Sloczynska K, Popiol J, Koczurkiewicz P, Marona H, Pekala E. Cinnamic acid derivatives in cosmetics - current use and future prospects. *Int J Cosmet Sci*. 2018;40(4):356-66.
49. Hoskins JA, Holliday SB, Greenway AM. The Metabolism of Cinnamic Acid by Healthy and Phenylketonuric Adults: A Kinetic Study. *BIOMEDICAL MASS SPECTROMETRY*. 1984;11(6):296-300.
50. Guzman JD. Natural Cinnamic Acids, Synthetic Derivatives and Hybrids with Antimicrobial Activity. *Molecules*. 2014;19:19292-349.
51. Wang Y, Sun Y, Wang J, Zhou M, Wang M, Feng J. Antifungal activity and action mechanism of the natural product cinnamic acid against *Sclerotinia sclerotiorum*. 2019:1-37.
52. Letizia CS, Cocchiara J, Lapczynski A, Lalko J, Api AM. Fragrance material review on cinnamic acid. *Food and Chemical Toxicology*. 2005;43(2005):925–43.
53. Anwar A, Siddiqui R, Shah MR, Khan NA. Gold Nanoparticle-Conjugated Cinnamic Acid Exhibits Antiacanthamoebic and Antibacterial Properties. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018;62(9).
54. Chiriac CI, Tanasa F, Onciu M. A Novel Approach in Cinnamic Acid Synthesis: Direct Synthesis of Cinnamic Acids from Aromatic Aldehydes and Aliphatic Carboxylic Acids in the Presence of Boron Tribromide. *Molecules*. 2005;10:481–7.

55. Yilmaz S, Sova M, Ergun S. Antimicrobial Activity of Trans-Cinnamic Acid and Commonly Used Antibiotics Against Important Fish Pathogens and Non-Pathogenic Isolates. 2018;1-39.
56. Guzman JD. Natural cinnamic acids, synthetic derivatives and hybrids with antimicrobial activity. *Molecules*. 2014;19(12):19292-349.
57. Rowe R, Sheskey P, Quinn M. *Handbook of Pharmaceutical Excipients* 6th edition Pharmaceutical Press. London, England. 2009:551-3.
58. Sagheer R, Khalil M, Abbas V, Kayani ZN, Tariq U, Ashraf F. Effect of Mg doping on structural, morphological, optical and thermal properties of ZnO nanoparticles. *Optik - International Journal for Light and Electron Optics*. 2020;200:163428.
59. Erazo A, Mosquera SA, Rodriguez-Paez JE. Synthesis of ZnO nanoparticles with different morphology: Study of their antifungal effect on strains of *Aspergillus niger* and *Botrytis cinerea*. *Materials Chemistry and Physics*. 2019;234:172–84.
60. Hasnidawani JN, Azlina HN, Norita H, Bonnia NN, Ratim S, Ali ES. Synthesis of ZnO Nanostructures Using Sol-Gel Method. *Procedia Chemistry*. 2016;19:211 – 6.
61. Podporska-Carroll J, Myles A, Quilty B, McCormack DE, Fagan R, Hinder SJ, et al. Antibacterial properties of F-doped ZnO visible light photocatalyst. *J Hazard Mater*. 2017;324(Pt A):39-47.
62. Yang MZ, Dai CL, Wu CC. Sol-gel zinc oxide humidity sensors integrated with a ring oscillator circuit on-a-chip. *Sensors (Basel)*. 2014;14(11):20360-71.
63. Balcha A, Yadav OP, Dey T. Photocatalytic degradation of methylene blue dye by zinc oxide nanoparticles obtained from precipitation and sol-gel methods. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2016:1-9.
64. Dadi R, Azouani R, Traore M, Mielcarek C, Kanaev A. Élaboration de nanomatériaux fonctionnels pour des applications biomédicales. *Récents Progrès en Génie des Procédés*. 2017;110:231-9.
65. Alwan RM, Kadhim QA, Sahan KM, Ali RA, Mahdi RJ, Kassim NA, et al. Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles via Sol – Gel Route and Their Characterization. *Nanoscience and Nanotechnology*. 2015;5(1):1-6.
66. Sandris C. SUR L'ISOMERIE GEOMETRIQUE D'ACIDES ALPHA BETA-ETHYLENIQUE-I CONTRAINTES STERIQUES DES ACIDES ALPHA ET BETA METHYLCENNAMIQUES. *Tetrahedron*. 1968;24:3569-82.
67. Waddad AY, Abbad S, Yu F, Munyendo WL, Wang J, Lv H, et al. Formulation, characterization and pharmacokinetics of Morin hydrate niosomes prepared from various non-ionic surfactants. *International journal of pharmaceutics*. 2013;456(2):446-58.
68. Mehta HR, Raval AG, Patel YK, Pandit VD. Niosome: a controlled and novel targeted drug delivery system. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. 2018;7(9):1320-40.
69. Basiri L, Rajabzadeh G, Bostan A. α -Tocopherol-loaded niosome prepared by heating method and its release behavior. *Food Chemistry*. 2016:1-32.
70. Sambhakar S, Kumar Paliwal S, Sharma S, Sati B, Singh B. Formulation and development of risperidone loaded niosomes for improved bioavailability: in vitro and in vivo study. *Acta Poloniae Pharmaceutica ñ Drug Research*. 2017;74:1859-73.

71. Fetihi G. Fluconazole-loaded niosomal gels as a topical ocular drug delivery system for corneal fungal infections. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2016:1-32.
72. Sriharan N, Senthil TS, Senthilnathan V, Jeyachitra R. Effect of Ni doping on structural, optical and photocatalytic properties of Zn_{1-x}Ni_xO nanoparticles prepared by different pH conditions. *Journal of Advances in Chemistry*. 2017;12(6):4097-107.
73. Singh J, Kaur S, Kaur G, Basu S, Rawat M. Biogenic ZnO nanoparticles: a study of blueshift of optical band gap and photocatalytic degradation of reactive yellow 186 dye under direct sunlight. *Green Process Synth*. 2019;8:272–80.
74. Yakout SM, El-Sayed AM. Synthesis, Structure, and Room Temperature Ferromagnetism of Mn and/or Co Doped ZnO Nanocrystalline. *J Supercond Nov Magn*. 2016:1-8.
75. Dobrucka R, Dugaszevska J. Biosynthesis and antibacterial activity of ZnO nanoparticles using *Trifolium pratense* flower extract. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2016;23:517–23.

RÉSUMÉ

La résistance aux antibiotiques présente un problème de santé majeure. Le développement de nouveaux agents antimicrobiens efficaces semble être une importance primordiale. Le recours aux nouvelles substances ayant une activité antibactérienne et l'emploi des concepts de nanomédecine semble une approche prometteuse.

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire Galénique et laboratoire Toxicomed de la Faculté de Médecine. Nous avons réalisé l'encapsulation de l'acide cinnamique dans des niosomes en utilisant la méthode d'hydratation en couche mince. Deux tensioactifs ont été utilisés : Span 80 et Tween 80. Afin de déterminer la meilleure formule nous avons utilisé trois rapports cholestérol/tensioactif : 1/1, 1/2 et 1/3. Des nanoparticules de ZnO ont été également préparé par deux méthodes différentes : sol-gel et précipitation.

L'efficacité d'encapsulation de l'acide cinnamique dans les niosomes à base de Span 80 est plus élevée par rapport aux niosomes à base de Tween 80. Le taux d'encapsulation le plus élevé (80,46%) a été obtenu avec le ratio cholestérol/Span 80 : 1/2.

La méthode de préparation des NPs-ZnO par précipitation a permis de donner un rendement plus élevé (73%) par rapport à celui obtenu par la méthode sol-gel (46%). Après analyse des spectres FTIR des NPs-ZnO nous pouvons déduire que la synthèse par méthode de précipitation permet d'obtenir un produit plus pur.

Mots clés : acide cinnamique, nanoparticules, Oxyde de zinc.

SUMMARY

The resistance of antibiotic presents a major health problem. The development of new effective antimicrobial agents appears to be of paramount importance. The use of new substances with antibacterial activity and the use of nanomedicine concepts seems a promising approach.

Our work was carried out at the Galenic and Toxicomed laboratories of the Faculty of Medicine. We realized the encapsulation of cinnamic acid in niosomes using the thin film hydration method. Two surfactants were used: Span 80 and Tween 80. In order to determine the best formula we used three ratios cholesterol/surfactant : 1/1, 1/2 and 1/3. ZnO nanoparticles were also prepared by two different methods: sol-gel and precipitation.

The encapsulation efficiency of cinnamic acid in Span 80 based niosomes is higher compared to Tween 80 based niosomes. The highest encapsulation rate (80.46%) was obtained with the ratio cholesterol/Span80 :1/2.

The method for preparing NPs-ZnO by precipitation resulted in a higher yield (73%) compared to that obtained by the sol-gel method (46%). After analysis of the FTIR spectra of the NPs-ZnO we can deduce that the synthesis by precipitation method allows obtaining a purer product.

Keywords : Cinnamic acid, nanoparticles, zinc oxide.

ملخص

تمثل مقاومة المضادات الحيوية مشكلة صحية كبيرة . تطوير عوامل فعالة جديدة مضادة للميكروبات له أهمية قصوى . يعتبر استخدام مواد جديدة ذات نشاط مضاد للبكتيريا وتوظيف مفاهيم نانوطبية نهجًا مباشرًا .

تم تنفيذ عملنا في مختبر فالينيك ومختبر توكسيكوماد بكلية الطب . قمنا بوضع حمض السيناميك في النيزوم باستخدام طريقة ترطيب الطبقة الرقيقة . تم استخدام مادتين خافضة للتوتر السطحي: سبان 80 و توين 80 . من أجل تحديد أفضل صيغة استخدمنا ثلاث نسب كولسترول / خافض للتوتر السطحي: 1/1 ، 2/1 و 3/1 . كما تم تحضير جزيئات اكسيد الزنك النانوية بطريقتين مختلفتين: سول-جل والترسيب . كفاءة احتواء حمض السيناميك في النيزوم المصنوع بالسبان 80 أعلى مقارنة مع النيزوم المصنوع بالتوين 80 . تم الحصول على أعلى معدل احتواء (80,46%) باستخدام نسبة الكوليسترول / سبان 80 : 2/1 .

أعطت طريقة تحضير جزيئات نانوية اكسيد الزنك بواسطة الترسيب محصول أعلى (73%) مقارنة بتلك التي تم الحصول عليها بطريقة سول-جل (46%). بعد تحليل أطيف FTIR لجزيئات نانوية اكسيد الزنك يمكننا أن نستنتج أن عمل بواسطة طريقة الترسيب يساعد على الحصول على منتج أنقى .

الكلمات المفتاحية: حمض سيناميك، جزيئات نانوية، أكسيد الزنك.