

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAÏD FACULTE
DE M EDECINE
DR . B. BEN ZERDJ EB - TLEM CEN



وزارة التعليم العالي
والبحث العلمي
جامعة أبو بكر
بلقايد كلية الطب
د. ب. بن زرجب - تلمسان

DÉPARTEMENT DE PHARMACIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES POUR
L'OBTENTION DU DIPLÔME DE DOCTEUR EN
PHARMACIE

THÈME :

Encapsulation du fluconazole par la gélification ionique

Présenté par :

Chérifi Fatiha

Nouacer Delel

Soutenu le 12-10-2021

Le Jury

Président :

Pr Choukchou Braham Esmâ

Professeur en chimie

Membres :

Dr Benatta Dalila

Maitre assistante en Pharmacie galénique

Dr Louzim Habiba

Maitre assistante en Chimie Thérapeutique

Encadrante :

Dr Guendouz Souheyla

Maitre assistante en Pharmacie Galénique

Co-encadrante :

Dr Aissaoui Nadia

Docteur en Microbiologie

Remerciements

Ce travail a été effectué au sein du laboratoire de Toxicomed et le laboratoire de pharmacie galénique à la faculté de médecine Tlemcen.

*Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à madame **GUENDOUZ Souheyla** qui nous a fait l'honneur de diriger ce travail, aussi pour sa disponibilité, sa patience, ses encouragements, ses précieux conseils et toute l'attention qu'elle nous a accordées et tous les efforts qu'elle a consentis le long de la réalisation de ce travail. Nous tenons aussi à remercier notre co- encadrante madame **AISSAOUI Nadia**, docteure en microbiologie, pour sa contribution dans ce travail.*

*Nous tenons également à remercier Madame la professeure en chimie **CHOUKCHOU BRAHAM Esma** qui a bien voulu nous faire l'honneur de présider le jury.*

*Nous souhaitons exprimer toute notre gratitude envers les membres du jury qui ont bien voulu consacrer à notre thèse une partie de leur temps : madame **BENATTA Dalila** maitre assistante en galénique, madame **LOUZIM Habiba** maitre assistante en chimie thérapeutique*

*Nous remercions l'ensemble des membres du laboratoire Toxicomed pour leur accueil, leur aide et leur disponibilité constante dans une ambiance amicale et toujours encourageante, en particulier l'ingénieur de laboratoire **Mr. TALEB ZOHEIR** et **BELKHOUDJA Abdelmadjid** doctorant en chimie. Aussi, nous adressons nos remerciements à l'ingénieur du laboratoire de pharmacie galénique **Mr. BENAISSA Zakarya**, nous lui sommes profondément reconnaissants pour sa confiance, sa patience, son dynamisme, sa sympathie et aussi son dévouement.*

*Nos vifs remerciements vont à **SID AHMED**, ingénieur de laboratoire de Recherche sur les Macromolécules, et madame **OUMILOUD Soumia**, ingénieure du laboratoire catalyse et chimie fine, pour les caractérisations IR et DRX de nos échantillons.*

Dédicaces

A mes très chers parents à qui je dois ma réussite, sans leurs sacrifices et leur encouragement, je n'aurai jamais pu arriver à réussir dans mes études. Nulle expression ne saurait exprimer ma reconnaissance et ma gratitude envers eux.

Puisse dieu le tout puissant leur accorde longue vie et bonne santé.

A mes frères

A ma sœur, à toute ma famille, à toutes mes amies

*Vos encouragements constants ont toujours été pour moi
les plus précieux.*

Fatiha

Dédicaces

Je dédie ce travail à mes parents qui m'ont dotée d'une éducation digne, leur amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui. A mon très cher père, tu as toujours été à mes cotés pour me soutenir et m'encourager, tu es mon modèle d'ambition et de persévérance. A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse ; que dieu te bénisse.

*A mon bras droit, le plus adorable : mon frère Yacine
A ma chère sœur Fatima Zohra, à mon petit frère que j'aime Alaadin A
l'homme mon précieux offre du dieu : mon mari Abdelhafid
A l'âme de ma cher tante Rachida : tu as laissé beaucoup de vide derrière
toi : que dieu te bénisse*

Delel

Liste des abréviations

C. : Candida

DRX : Diffractomètre à rayon X

FLZ : Fluconazole

FTIR : *Fourier transform infrared spectroscopy*

GI : Gélification ionique

HPMC : Hydroxypropylmethylcellulose

NP : Nanoparticule

p/p : Poids par poids

p/v : Poids par volume

PBS : *Phosphate buffered solution*

PDI : Indice de polydispersité

Rpm. : *Rounds per minute*

UV-Vis : Spectroscopie ultraviolet-visible

Liste des figures

Figure 1 : La structure chimique du FLZ	6
Figure 2 : L'interaction électrostatique entre le -COO^- de l'alginate et le Ca^{++}	11
Figure 3 : La structure cristalline du kaolin.....	17
Figure 4 : La structure moléculaire de l'alginate de sodium.....	19
Figure 5 : La structure moléculaire de l'HPMC.....	21
Figure 6 : La structure chimique de l'amidon	22
Figure 7 : Diffractogramme DRX du kaolin gris foncé.....	42
Figure 8 : Diffractogramme DRX des billes du FLZ	43
Figure 9 : La courbe d'étalonnage du FLZ à $\lambda \text{ max} = 260 \text{ nm}$	47
Figure 10 : La vitesse de libération du FLZ en fonction du temps.....	48

Liste des tableaux

Tableau 1: Les propriétés physico-chimiques du FLZ	24
Tableau 2 : Les propriétés physico-chimiques du kaolin	26
Tableau 3 : Les propriétés physico-chimiques de l'HPMC	27
Tableau 4 : Les propriétés physico-chimiques de l'alginate de sodium	27
Tableau 5 : Les propriétés physico-chimiques de l'amidon.....	28
Tableau 6 : Les pourcentages du kaolin	30
Tableau 7 : Les pourcentages de l'HPMC et de l'alginate	31
Tableau 8 : La morphologie des billes.....	37
Tableau 9 : La composition du kaolin gris clair	41
Tableau 10 : La composition du kaolin gris foncé	42
Tableau 11 : Les résultats de gonflement des billes dans le PBS.....	44
Tableau 12 : Les résultats de gonflement dans l'eau distillée.....	45
Tableau 13 : Les pourcentages de gonflement dans l'eau distillée et le PBS	45

Sommaire

Liste des abréviations	i
Liste des figures.....	ii
Liste des tableaux	iii
Sommaire.....	iv
Introduction	1
Chapitre I : Rappels bibliographiques	5
I.1. Le fluconazole	6
I.1.1. Définition	6
I.1.2. Structure chimique	6
I.1.3. Applications en pharmacie.....	7
I.2. La nanoencapsulation	7
I.2.1. Historique.....	8
I.2.2. Définition	8
I.2.3. Techniques de nanoencapsulation.....	8
I.2.4. La gélification ionique	11
I.2.5. La caractérisation des nanoparticules	13
I.2.6. Applications en pharmacie.....	14
I.3. Le kaolin	15
I.3.1. Définition	16
I.3.2. Source	16
I.3.3. Structure chimique	17
I.3.4. Application en pharmacie	18
I.4. Alginate	18
I.4.1. Définition	18
I.4.2. Source et structure chimique.....	19
I.4.3. Mécanismes de gélification.....	19
I.4.4. Application en pharmacie	19
I.5. L'hydroxypropylmethylcellulose	20
I.5.1. Définition	20
I.5.2. Structure chimique	20
I.5.3. Application en pharmacie	21
I.6. Amidon	21
I.6.1. Définition	21
I.6.2. Structure chimique	21
I.6.3. Application en pharmacie	22

Chapitre II : Matériels et méthode	23
II.1. Matière première et méthodes	24
II.1.1. Préformulation	24
II.1.2. Formulation	24
II.1.3. Appareillages	28
II.2. Méthode.....	29
II.2.1. Le choix du polymère	29
II.2.2. L'influence du kaolin.....	29
II.2.3. L'effet de l'HPMC et de l'alginate.....	31
II.3. La caractérisation	32
II.3.1. Analyse par FTIR	32
II.3.2. Analyse par DRX.....	32
II.3.3. Test de gonflement des billes	33
II.3.4. Test de libération du fluconazole.....	34
Chapitre III : Résultats et discussions.....	36
III.1. La morphologie des billes.....	37
III.1.1. L'effet de la viscosité	38
III.1.2. L'influence du kaolin	39
III.1.3. L'influence de l'HPMC et de l'alginate	39
III.2. L'étude FTIR	40
III.3. Analyse DRX	41
III.3.1. Analyse DRX des matières premières : Kaolin.....	41
III.3.2. Analyse DRX des produits finis : Billes	42
III.4. Le test de gonflement des billes.....	44
III.4.1. L'influence du kaolin	45
III.4.2. L'influence de l'HPMC.....	45
III.4.3. L'influence de l'alginate	46
III.4.4. L'effet synergique des composants	46
III.4.5. L'influence du milieu de dissolution.....	46
III.5. Le test de libération du FLZ.....	47
III.5.1. Détermination de la longueur d'onde d'une solution de FLZ.....	47
III.5.2. La courbe d'étalonnage du FLZ	47
III.5.3. La libération du fluconazole dans le PBS	47
Conclusion.....	49
Références bibliographiques.....	51
Annexes	53

Introduction

Le fluconazole est un antifongique qui a un profil thérapeutique exceptionnel présentant un large spectre contre les infections à *Candida*. Il s'agit d'un antifongique de choix grâce à son activité puissante, de son excellent profil d'innocuité et de ses caractéristiques pharmacocinétiques favorables. Pour l'administration orale, le fluconazole est disponible dans le marché sous forme de comprimés à libération immédiate.

Or, la thérapie orale nécessite des doses de fluconazole élevées pour atteindre des concentrations plasmatiques efficaces, ce qui peut causer des effets secondaires indésirables y compris les nausées, les vomissements, les ballonnements et l'inconfort abdominal. Tout cela donne à penser à l'encapsuler dans des nanoparticules à fin d'assurer une libération prolongée pendant un temps bien déterminé, ce qui permet d'améliorer l'efficacité thérapeutique.

Dans la recherche de stratégies plus efficaces pour traiter les maladies, une approche qui a fait l'objet d'études actives au cours des trois dernières décennies est le développement des nanoparticules et de microparticules qui améliorent l'efficacité d'un médicament en termes de biodisponibilité avec moins d'effets secondaires tout en assurant une protection des molécules actives.

Récemment, de nombreux efforts de recherche ont été concentrés pour développer des billes d'alginate de calcium chargées de divers agents thérapeutiques de faible poids moléculaire. Une propriété importante des billes d'alginate est leur capacité de gonflement pH dépendante. Par conséquent, la libération peut être maîtrisée en fonction de la cible voulue.

Parmi les méthodes de l'encapsulation les plus connues pour donner des billes est la gélification ionique. Depuis les années 1990, la gélification ionique est utilisée dans la synthèse de nanoparticules polymères pour des applications biomédicales. Une procédure relativement simple, sa flexibilité pour produire des particules dans une large gamme de tailles, moyenne à haute efficacité d'encapsulation de médicament, les particules stables en suspension et l'utilisation de polymères biocompatibles et biodégradables sont parmi les raisons favorisant son utilisation.

La biocompatibilité de la formulation est essentielle et commence le plus souvent par l'utilisation de matériaux biocompatibles et biodégradables pour la synthèse des particules chargées de médicaments. Il y a plusieurs matériaux qui peuvent être utilisés pour assurer la biodégradabilité et la biocompatibilité par exemple : les hydrogels, les argiles et les polysaccharides.

Certaines argiles entre autres le kaolin ont le potentiel de se disperser sous formes de particules unitaires nanométriques dans une phase polymère et donc elles ont une grande importance pour former de nouveaux matériaux nanocomposites aux propriétés thermomécaniques supérieures.

Le contrôle de la libération peut aussi être régi par les propriétés de gonflement et de biodégradation des hydrogels à base de polymères hydrophiles comme l'HPMC grâce à leur structure réticulée apte à absorber de grandes quantités d'eau.

L'objectif de cette étude est de développer des billes, composées de kaolin, d'HPMC et d'alginate de sodium, biodégradables et biocompatibles par la technique de gélification ionique pour une libération prolongée du fluconazole au niveau intestinal. Nous avons prévu d'étudier les effets de différentes concentrations de chaque constituant sur la consistance et la forme des billes, leurs comportements de gonflement et la libération du principe actif. Ces matériaux ont été choisis pour une éventuelle libération prolongée du fluconazole dans le milieu intestinal à pH= 6,8.

Dans le chapitre I, nous présenterons dans une revue bibliographique les différentes méthodes de nanoencapsulation développées ainsi que leur intérêt pour la vectorisation de principes actifs. Nous nous intéresserons essentiellement à la gélification ionique en citant son principe, ses avantages et ses inconvénients et les principaux polymères utilisés pour cette technique. Enfin, nous discuterons l'utilisation de différents matériaux biodégradables et biocompatibles pour l'encapsulation et leurs propriétés.

Dans le chapitre II, nous présenterons notre démarche pour la synthèse des billes à partir de différentes formules en variant leur composition et les pourcentages de leurs constituants. Ensuite, nous avons caractérisé nos échantillons par FTIR pour confirmer l'encapsulation du fluconazole dans les nanoparticules et par DRX pour vérifier la cristallinité du Kaolin. Puis, nous avons étudié le comportement de gonflement de ces billes dans un pH intestinal et nous avons déterminé le profil de libération du fluconazole à 24h et à 48h.

Dans le chapitre III, nous présenterons et discutons les différents résultats quantitatifs et qualitatifs obtenus. Finalement, nous terminerons notre étude par une conclusion générale résumant les différents résultats obtenus.

Chapitre I : Rappels bibliographiques

I.1. Le fluconazole

Les azoles sont parmi les classes de médicaments qui sont largement utilisés en particulier les triazoles par exemple : Kétoconazole, Fluconazole, Itraconazole, Voriconazole. Ils sont métabolisés lentement et ont moins d'effets sur la synthèse de stéroïdes humains que l'imidazole.

I.1.1. Définition

Le fluconazole (FLZ) est un bis-triazole de première génération, synthétisé en 1982. C'est un agent antifongique à large spectre qui inhibe la déméthylation de 14 α -lanostérol cytochrome P450 dépendante, une étape essentielle de la synthèse de l'ergostérol dans la membrane cellulaire. Malgré son activité pharmacologique avantageuse, le FLZ peut causer plusieurs effets secondaires cliniquement significatifs, notamment des maux de tête, de l'urticaire, des démangeaisons ou des éruptions cutanées, des douleurs abdominales et une hématurie.

I.1.2. Structure chimique

Le FLZ est chimiquement connu sous le nom de 2-(2,4-difluorophényl)-1,3-bis (1,2,4-triazole-1-yl) propane-2-ol.

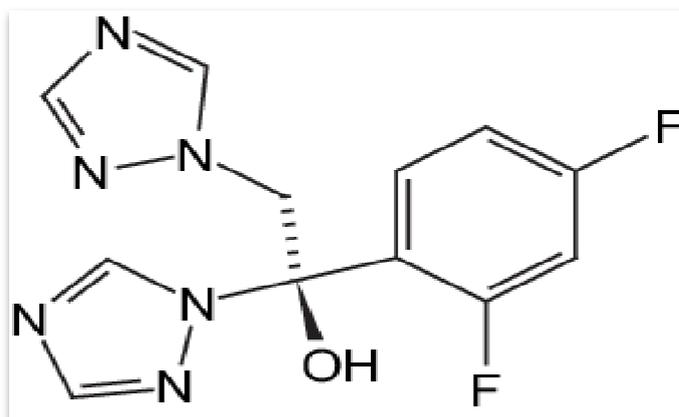


Figure 1 : La structure chimique du FLZ

Sa forme moléculaire est $C_{13}H_{12}F_2N_6O$ (C = 50,98 %, H = 3,95 %, F = 12,41 %, N = 27,44 %, O = 5,22 %) et sa masse moléculaire est de 306,27 g/mol.

La présence d'un groupe halogène-phényle augmente son activité antifongique et sa solubilité aqueuse, ce qui augmente sa biodisponibilité. En outre, sa haute stabilité métabolique a été obtenue par l'association de trois caractéristiques structurales : la force de l'anneau de triazole à l'attaque oxydative, le blocage de l'hydroxylation aromatique par la présence de deux atomes de fluor et l'obstruction stérile du site hydroxyle à partir d'une combinaison possible. (1)

I.1.3. Applications en pharmacie

Le FLZ est actif contre toutes les espèces de *Candida*, à l'exception du *C. glabrata*, qui a acquis une résistance, et du *C. krusei*, qui est intrinsèquement résistant au médicament.

Il est indiqué dans les cas des candidoses cutanées, cutanéomuqueuses, oropharyngées, oesophagiennes, vaginales et profondes. Il est également utilisé dans les cas de méningite cryptococcique, et il est le médicament de choix pour le traitement de *Coccidioides meningitis*.

Il peut être aussi utilisé pour la prophylaxie chez les patients neutropéniques afin de réduire les infections fongiques par *Candida sp.* chez cette population de patients.

I.2. La nanoencapsulation

L'encapsulation est une technologie en pleine expansion qui offre de nombreuses applications potentielles dans des domaines tels que l'industrie pharmaceutique et l'industrie alimentaire. Elle peut offrir plusieurs avantages tels que la protection de l'agent actif, sa libération contrôlée et prolongée, l'augmentation de l'effet thérapeutique et la diminution des effets secondaires.

Les nanoparticules (NPs) peuvent être formées à partir de plusieurs matériaux entre autres les lipides et les polymères. Ces derniers, ont reçu une attention particulière en raison de la polyvalence des techniques pouvant être utilisées pour modifier leurs structures et plusieurs autres facteurs dont la taille et la charge superficielle qui affectent l'interaction NP avec les cellules cibles, l'absorption cellulaire, et donc, la biodisponibilité et l'efficacité.

I.2.1. Historique

Inspiré par la création de la nature, l'homme avait conçu des nanomatériaux pour le progrès et la prospérité de l'humanité. Le concept de la nanoencapsulation émane du modèle cellulaire dans lequel l'information génétique contenue dans le noyau est protégée du milieu externe et une membrane semi-perméable contrôle le transport de plusieurs agents.

En 1959, Richard Feynman propose le concept de nanostructures et en 1974, Nario Taniguchi invente le terme nanotechnologie pour la manipulation de particules submicroniques. (2)

I.2.2. Définition

L'institution britannique de normalisation définit la nanotechnologie comme la conception, la caractérisation, la production et l'application de structures, de dispositifs et de systèmes en contrôlant la forme et la taille à l'échelle nanométrique.

Les NPs sont des particules de taille colloïdale dont le diamètre varie de 10 à 1000 nm et qui sont exprimées soit sous forme de nanocapsules ou de nanosphères.

Ainsi, la nanoencapsulation a le potentiel d'améliorer la biodisponibilité, d'améliorer la libération contrôlée et de permettre un ciblage précis des composés bioactifs dans une plus grande mesure que la microencapsulation.

I.2.3. Techniques de nanoencapsulation

Il est essentiel de choisir la technique d'encapsulation appropriée et le meilleur polymère en fonction de la taille requise, des propriétés physicochimiques, de la nature du matériau de base et du matériau de paroi pour obtenir un taux d'encapsulation efficace du médicament.

I.2.3.1. L'encapsulation à partir des monomères

I.2.3.1.1. La polymérisation par émulsification

Les nanoémulsions sont des dispersions colloïdales comprenant deux liquides non miscibles, dont l'un est dispersé dans l'autre, avec des gouttelettes de taille extrêmement petite allant de 50 à 1000 nm, d'où leur grande stabilité cinétique. Le mécanisme de polymérisation est un processus anionique par lequel des ions monomères ou des radicaux

monomères initiés entrent en collision avec d'autres molécules.

Des exemples de médicaments encapsulés avec ce système sont la triamcinolone, la fluorescéine, la pilocarpine et le timolol... (3)

I.2.3.1.3. La polycondensation interfaciale

La polymérisation par condensation se produit à une interface entre une solution aqueuse contenant un monomère et une solution organique contenant un second monomère.

Si les chaînes polymériques formées sur l'interface sont solubles dans les gouttelettes, alors la matrice polymérique aura lieu à l'intérieur des gouttelettes et donnera donc des nanosphères. Si le polymère est insoluble dans les gouttelettes, la membrane polymérique se forme autour de la gouttelette et donnera donc des nanocapsules.

Les méthodes de polymérisation des monomères donnent des polymères lentement biodégradables ou non biodégradables. De plus, elles régénèrent des molécules résiduelles qui peuvent être plus ou moins toxiques, nécessitant une purification méticuleuse de la matière colloïdale. A cet égard, l'utilisation de polymères préformés est préférable à celles nécessitant des réactions de polymérisation.

I.2.3.2. L'encapsulation à partir des polymères préformés

I.2.3.2.1. Le déplacement du solvant

La méthode de déplacement du solvant est également appelée nanoprécipitation. Elle implique la précipitation du polymère à partir d'une solution organique et la diffusion du solvant organique comme l'acétone, l'éthanol ... dans le milieu aqueux. La nanoprécipitation aura lieu instantanément en raison de la diffusion rapide du solvant organique dans l'eau.

I.2.3.2.2. L'émulsification-diffusion de solvants (ESD)

Cette méthode consiste en la dilution de l'émulsion pour favoriser la diffusion du solvant de la phase dispersée lorsque le solvant organique est partiellement miscible avec de l'eau, pour finalement produire la précipitation du polymère et la formation consécutive de

nanoparticules.

Plusieurs médicaments ont été encapsulés par la technique ESD, y compris la doxorubicine, l'ADN plasmidique, la coumarine, la cyclosporine. (3)

I.2.3.2.3. Le salting-out

Le salting-out est considéré comme une modification de la diffusion des solvants. Lorsque l'émulsion est diluée avec un excès d'eau, un solvant miscible à l'eau est séparé de la solution aqueuse par l'effet de salting-out.

Le choix de l'agent salin est important (électrolytes, tels que le chlorure de magnésium, le chlorure de calcium et l'acétate de magnésium, ou non électrolytes comme le saccharose), car il peut jouer un rôle important dans l'efficacité d'encapsulation du médicament. Le salting-out ne nécessite pas d'augmentation de la température et peut donc être utile lorsque des substances sensibles à la chaleur doivent être traitées. (3)

I.2.3.2.4. La coacervation

Cette technique implique la séparation de phase d'un ou de plusieurs hydrocolloïdes de la solution initiale et le dépôt subséquent de la phase coacervate (la phase la plus concentrée) nouvellement formée autour du PA en suspension ou émulsionné dans le même milieu de réaction. Après durcissement, la paroi des nanocapsules forme une structure réticulée; ainsi les nanocapsules ont de bonnes propriétés thermiques, sont résistants à l'humidité et peuvent être utilisés pour la libération contrôlée des PA.

I.2.3.2.5. La complexation d'inclusion

La complexation d'inclusion désigne généralement l'encapsulation d'une association d'un ligand (ingrédient encapsulé) dans un substrat porteur de cavité (un environnement relativement hydrophobe, alors que sa surface externe possède une propriété hydrophile) par liaison hydrogène, force van der Waals ou liaison covalente.

La technique de complexation d'inclusion est principalement utilisée dans l'encapsulation de molécules organiques volatiles (huiles essentielles et vitamines). Cependant, seuls quelques composés moléculaires particuliers comme la β -cyclodextrine et la

β -lactoglobuline conviennent à l'encapsulation par cette méthode. (4)

I.2.3.2.6. La technique du fluide supercritique

Les fluides supercritiques sont utilisés pour l'encapsulation de composés thermosensibles. Cette technologie est appelée nouvelle technologie verte, car aucun solvant organique n'est utilisé pendant le traitement des matériaux. Le solvant le plus couramment utilisé est le dioxyde de carbone (CO_2) dans son état supercritique en raison de sa température critique et de ses conditions de pression plus basses.

Outre les conditions de température critique et de pression plus basses, l'utilisation de solvants non toxiques, non inflammables et peu coûteux a rendu cette technologie attrayante dans le domaine industriel. (5)

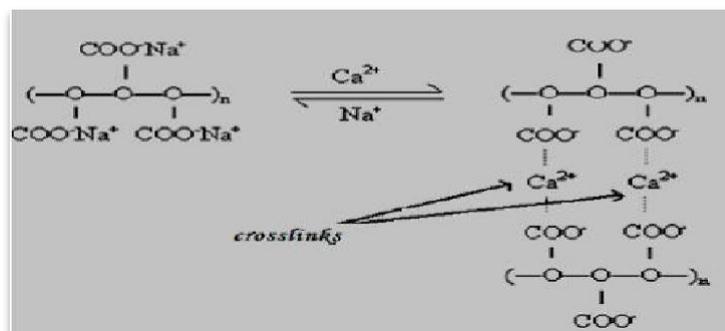
I.2.4. La gélification ionique

Le potentiel élevé de cette procédure le maintiendra en vigueur parmi les méthodes les plus modernes ou automatisées, comme une variante abordable et cohérente.

I.2.4.1. Le principe de la gélification ionique

La technique de GI peut être définie comme un processus physicochimique de durcissement des gouttelettes par chélation de polyélectrolyte avec des ions polyvalents. Elle implique simplement l'interaction d'un polymère ionique avec l'ion de charge opposée pour initier la réticulation tout en formant une coquille sous forme de gel polymérique.

Le polysaccharide est dissous dans une solution aqueuse pour obtenir son ion. Cette solution est ensuite ajoutée goutte à goutte sous agitation continue à la solution polyanionique. En raison de la complexation entre les charges opposées, le polysaccharide



subit une gélification ionotropique et se précipite pour former des particules sphériques. (6)

Figure 2 : L'interaction électrostatique entre le $-\text{COO}^-$ de l'alginate et le Ca^{++} (7)

La préparation de NPs d'alginate par cette méthode ne nécessite pas d'équipement spécial et peut être effectuée à température ambiante.

I.2.4.2. Les polymères utilisés dans la gélification ionique

Ensemble ou séparément, l'alginate, le chitosane sont les polymères les plus couramment utilisés dans les procédures GI. D'autres espèces polymériques telles que la gomme gellane, la fibrine, le collagène, la gélatine, l'acide hyaluronique, le dextran, la pectine, la carboxyméthylcellulose, le dextran, l'amidon, la gomme guar, la gomme xanthane et la gomme arabique ont également été utilisées.

I.2.4.4. Avantages de la gélification ionique

Au-delà des améliorations significatives de l'encapsulation des formulations médicamenteuses en termes de biodisponibilité, la méthode de GI présente d'autres avantages. :

- Une efficacité d'encapsulation élevée, proche de 100 %, est atteinte lorsque les interactions entre le polymère et le médicament sont optimales.
- La préparation n'a pas besoin d'équipement coûteux ou de réactifs coûteux, et la technique est relativement peu coûteuse et rapide (peut être effectuée en moins de 10 h).
- Les conditions de la synthèse peuvent être ajustées pour obtenir des nanoparticules ou des microparticules, changer le rapport des réactifs, ajouter un stabilisateur etc.

I.2.4.5. Inconvénients

- Les indices de polydispersité (PDI) des nanoparticules obtenues par GI sont généralement supérieurs à 0,1 atteignant des valeurs allant jusqu'à 0,5. Cela veut dire que la GI donne une distribution granulométrique large.
- Le nombre limité d'études avec différents polymères. Cela peut se transformer en potentialité : trouver de nouvelles alternatives, décrire de nouvelles paires ioniques et produire de nouvelles réactions avec des résultats intéressants. Cela permettra de développer les capacités de la technique encore plus.
- La production de particules toujours en dispersion aqueuse, en particulier lorsqu'une technique de séchage ultérieure n'est pas recommandée.

- Certaines exigences critiques telles que la chute de solutions à une vitesse constante et la nécessité d'un brassage contrôlé.

I.2.5.La caractérisation des nanoparticules

La caractérisation des particules en termes de taille, de forme, de potentiel zéta et de libération de médicament fournit une connaissance précise du système et permet d'estimer son comportement à long terme. Une plus grande spécificité biologique de la formulation est parfois souhaitable pour assurer un ciblage correct des médicaments. Parmi les techniques qui sont très utilisées pour cette fin sont : La technique de diffusion dynamique de la lumière (DLS), la technique de microscopie à force atomique (AFM), la technique de microscopie électronique à transmission (TEM), la technique de microscopie électronique à balayage (SEM). Pour notre étude, on a caractérisé nos échantillons par les techniques et les tests suivants :

I.2.5.1.Analyse par Fourier transform infrared (FTIR)

La spectroscopie IR fournit des informations sur les modes vibrationnels des groupes fonctionnels dans les chaînes moléculaires. Cette technique peut être utilisée pour la caractérisation chimique des échantillons et l'identification des changements dans différentes conditions de réaction. Aussi, elle révèle la présence de composés encapsulés dans les nanoparticules en analysant les groupes fonctionnels. La comparaison du spectre FTIR des particules avec ceux des réactifs purs est un moyen de trouver et d'étudier les interactions chimiques par lesquelles les particules sont formées.

I.2.5.2. Diffraction des rayons X (DRX)

Son principe est d'envoyer un flux de rayons X selon un angle donné par rapport à la surface du matériau considéré. Un capteur permet ensuite de compter les photons qui ont été diffractés par le matériau. En utilisant la loi de Bragg, et connaissant l'organisation atomique du matériau étudié, il est possible d'en déduire la distance des plans inter-réticulaires, et de démontrer la nature cristalline ou amorphe d'un solide ou une poudre, ainsi qu'à en déterminer les différentes phases cristallines.

I.2.5.3. L'efficacité d'encapsulation (EE%)

C'est un autre aspect important qui caractérise les systèmes de NPs. En général, la quantité de matériau qui est efficacement encapsulé peut être mesurée indirectement en soustrayant la masse des molécules dans le surnageant après la collecte de NPs de la quantité initiale ajoutée à la réaction GI. Une formule peut être utilisée est :

$$EE = ((M_t - M_f) / M_t) * 100$$

Où

- M_t est la masse totale du principe actif utilisé dans la synthèse
- M_f est la masse de matière libre (non encapsulée) mesurée dans le surnageant après centrifugation, à la fin de la synthèse.

I.2.5.4. Le test de gonflement et de libération

Le principe de ce test est de tester le comportement des NPs formées dans différents pH (1.2, 6.8, et 7.4) dans le but de simuler les milieux que traversent les NPs au cours de leur trajet du site d'administration jusqu'à le site d'absorption. A partir des résultats de ce test, on peut conclure la cinétique et le lieu de libération des principes actifs. De ce fait, on peut contrôler la libération des PA par l'incorporation de matériaux pH-sensibles ou pH-résistants selon nos besoins, ou par les enrobages pour protéger les PA de la dégradation par le suc gastrique.

La spectroscopie UV-Visible

Pour doser le FLZ dans les milieux de libération dans lesquels les billes avaient gonflé et suivre sa libération pendant 48h, nous avons utilisé la spectroscopie UV-Visible, une technique largement utilisée dans le domaine médical grâce à la facilité de sa mise en œuvre, son champ d'application vaste, sa sensibilité et son exactitude. Le principe cette technique repose sur l'absorption du rayonnement par les molécules dans le domaine allant de 190 à 800 nm, ce qui correspond à l'ultraviolet (190-400 nm) et au visible (400-800 nm).

I.2.6. Applications en pharmacie

I.2.6.1. La vectorisation des médicaments

L'objectif de l'utilisation des nanoparticules pour le ciblage des tissus est de délivrer une dose concentrée de médicament à proximité des cibles tumorales via l'effet amélioré de

perméabilité et de rétention, donc les NPs réduiront l'exposition des tissus sains aux médicaments en limitant leur distribution à l'organe cible.

On a démontré chez des souris traitées par la doxorubicine incorporée dans des nanosphères de polyisohexyloacrylate que des concentrations plus élevées de doxorubicine se manifestent dans le foie, la rate et les poumons que chez des souris traitées à la doxorubicine libre. Ainsi, les cellules de Kupffer, après une absorption massive de NP par phagocytose, ont pu induire la libération de doxorubicine, conduisant à un gradient de concentration du médicament, favorable à une diffusion prolongée du médicament libre et encore actif vers les cellules métastatiques voisines. En outre, les NP conventionnelles peuvent également améliorer l'efficacité des médicaments anticancéreux en ciblant les tumeurs au niveau des organes riches en cellules du système phagocytaire mononucléé (SPM) entre autres la moelle osseuse. (8)

I.2.6.2. Les nanoparticules pour l'administration orale

Les NPs polymériques permettent l'encapsulation des molécules bioactives et les protègent contre la dégradation enzymatique et hydrolytique.

Il a été constaté que les NPs chargées d'insuline ont préservé l'activité insulinique et ont produit une réduction de la glycémie chez les rats diabétiques jusqu'à 14 jours après l'administration orale.

La nanotechnologie s'est révélée efficace pour améliorer l'activité des médicaments antifongiques contre les levures résistantes. Il a été démontré que les nouvelles formulations de médicaments de petite taille puissent éviter la reconnaissance des médicaments par les protéines de pompe d'efflux, en gardant le médicament loin des transporteurs. Aussi, les résultats actuels ont démontré que la nanoencapsulation de FLZ dans les NP à noyau lipidique présentait des avantages tels que la réduction de la dose efficace de FLZ, diminuer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de différentes espèces de *Candida* et la réversion de résistance de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* et *C. tropicalis*. (9)

I.3. Le kaolin

Le terme « argile » désigne une matière d'origine naturelle composée principalement de minéraux à grains fins dont le diamètre est $< 2 \mu\text{m}$. Les argiles sont reconnues comme les matériaux du XXI^e siècle parce qu'elles sont abondantes, peu coûteuses et non polluantes.

On distingue quatre types d'argiles : les bentonites avec montmorillonite comme principal constituant minéral argileux, les kaolins contenant de la kaolinite, le palygorskite et la sépiolite, et les « argiles communes » qui contiennent souvent des minéraux à couche mixte illite/smectite et qui sont largement utilisées pour la céramique. (10)

Les argiles sont classées selon différents paramètres entre autres leur nombre des feuillets tétraédriques et octaédriques empilées. Donc, il est possible de les regrouper en trois grandes familles structurales : un feuillet de la famille 1:1 ou T.O, dont une couche tétraédrique (T) est liée à une couche octaédrique (O), par exemple : la kaolinite, la dickite, l'halloysite, la nacrite. Le feuillet de la famille 2:1 ou T.O.T, dont une couche d'octaèdres est insérée entre deux couches de tétraèdres, comme l'illite, la smectite, la bentonite, la saponite et l'hectorite. Un feuillet de type 2:1 avec une couche d'octaèdres supplémentaires, isolée dans l'espace interfoliaire: 2:1:1 ou T.O.T.O. (11)

I.3.1. Définition

Le kaolin est un silicate d'aluminium hydraté natif, un diluant et absorbant poreux, non toxique et non irritant. Il est composé de mélanges hétérogènes des minéraux dont la kaolinite est le constituant majoritaire. Sa structure dotée de couches arrangées lui confère une surface élevée par rapport à d'autres classes de minéraux argileux.

Le kaolin est très utilisé en raison de ses propriétés échangeuses d'ions et de sa grande capacité d'absorption due à la force électrostatique des interactions entre ses ions (12). Les propriétés absorbantes du kaolin peuvent influencer l'absorption d'autres médicaments administrés par voie orale : l'amoxicilline, l'ampicilline, la cimétidine, la digoxine, la lincomycine, la phénytoïne et la tétracycline. L'inhalation chronique de poussière de kaolin peut causer des maladies pulmonaires (silicose ou kaolinose), donc une protection oculaire et un masque antipoussière sont recommandés. (13)

I.3.2. Source

Le kaolin est principalement formé par la décomposition de roches feldspathiques. Les gisements de kaolin peuvent être d'origine primaire ou secondaire :

- Les gisements primaires sont les dépôts résiduels provenant de l'altération de roches riches en feldspath, sous l'influence de différents paramètres entre autres les agents météoriques. La kaolinisation lente de feldspath potassique donne des teneurs en kaolin qui varient généralement de 15% à 50 %. (14)

- Les gisements secondaires sont les dépôts sédimentaires provenant du transport et de la

sédimentation de la kaolinite issue des gisements primaires. Les gisements secondaires sont plus riches en kaolinite que les gisements primaires. Aussi, la kaolinite s'y présente en cristaux plus fins. (15)

I.3.3. Structure chimique

La formule théorique pour la kaolinite est $\text{Si}_2\text{Al}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ (39,8 % d'alumine, 46,3 % de silice, 13,9 % d'eau) avec une masse moléculaire de 258,071 g/mol.

Le kaolin a une structure de feuille 1:1 composée de feuilles tétraédriques SiO_4 et de feuilles octaédriques $\text{Al}(\text{O},\text{OH})$ liées par des liaisons hydrogènes et par le partage des oxygènes apicaux avec une symétrie pseudo-hexagonale. (16)

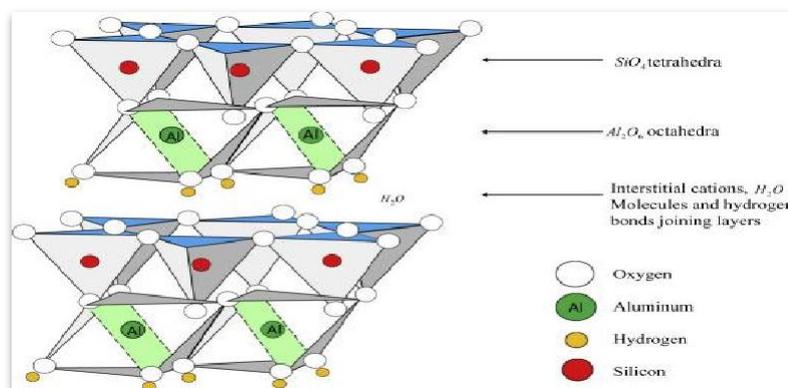


Figure 3 : La structure cristalline du kaolin

Le kaolin est constitué de cristaux tricliniques pseudo-hexagonaux d'un diamètre de 0,2 à 10 μm , d'une épaisseur de 0,7 nm et d'une densité de 2,6 g/cm^3 , et les paramètres du réseau sont $a = 0,515 \text{ nm}$, $b = 0,895 \text{ nm}$, $c = 0,740 \text{ nm}$, $\alpha = 91,68^\circ$, $\beta = 104,87^\circ$, $\gamma = 89,9^\circ$ (17).

En raison de sa structure bien remplie, les particules de kaolin ne sont pas facilement décomposées et les couches de kaolin ne sont pas facilement séparées. Par conséquent, la plupart des activités d'adsorption se produisent le long des bords et des surfaces de la structure.

I.3.4. Application en pharmacie

Dans les médicaments oraux, le kaolin a été utilisé comme diluant dans les comprimés et les capsules. Il a également été utilisé comme véhicule de suspension.

Dans les préparations topiques, le kaolin stérilisé a été utilisé dans les cataplasmes et comme poudre à saupoudrer.

Sur le plan thérapeutique, le kaolin a été utilisé dans des préparations anti diarrhéiques orales (2 à 6 g / 4 heures).

I.4. Alginate

La GI est basée sur la propriété qu'ont les groupes carboxyles de certains polysaccharides, entre autres l'alginate, de chélater les ions divalents (Ca^{2+} , Ba^{2+}), portant à la formation de réticules tridimensionnels rigides.

I.4.1. Définition

L'alginate de sodium est une macromolécule polysaccharidique marine hydrophile et soluble. Elle peut former un réseau réticulé en interagissant avec des cations multivalents et améliorer sa résistance, cohésion et rigidité. En raison de sa biocompatibilité, de sa non-toxicité, de son faible coût et de sa capacité à obtenir un gel fonctionnel grâce à l'ajout de cations polyvalents. L'alginate de sodium est largement utilisé dans les cosmétiques, les produits alimentaires et les formulations pharmaceutiques, comme les comprimés et les produits topiques, y compris les pansements.

I.4.2. Source et structure chimique

L'acide alginique est extrait des algues brunes appartenant aux Phéophycées et est neutralisé avec du bicarbonate de sodium pour former de l'alginate de sodium.

L'alginate de sodium se compose principalement du sel de sodium de l'acide alginique, qui est un mélange d'acides polyuroniques $[(C_6H_8O_6)_n]$ composé d'unités d'acide D-mannuronique et d'acide L-gulononique.

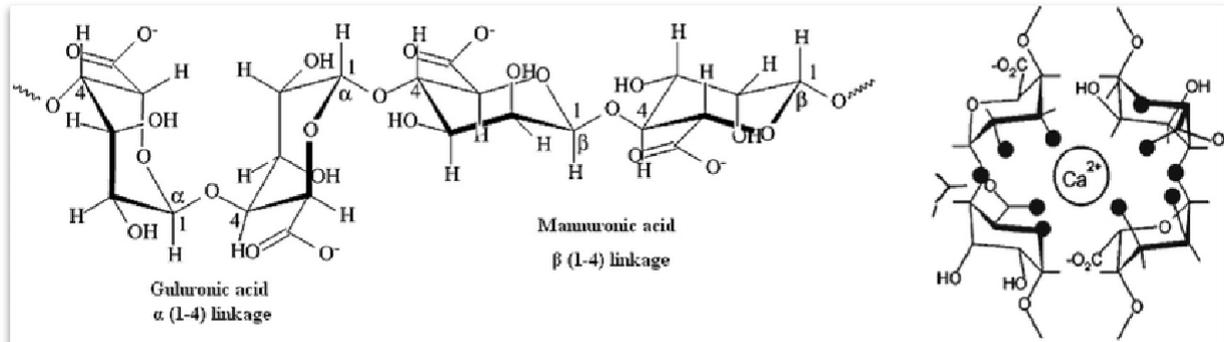


Figure 4 : La structure moléculaire de l'alginate de sodium

I.4.3. Mécanismes de gélification

La capacité de l'alginate à former du gel par l'échange d'ions sodium de l'acide guluronique avec des cations divalents (le calcium, le baryum, ou de strontium) et par la formation de liaisons électrostatiques entre les résidus guluroniques, a été appliquée pour préparer les billes par méthode de GI où la dispersion de l'alginate et du matériau à encapsuler est ajoutée goutte à goutte dans une solution d'ions multivalents. Le contact de gouttelettes avec des ions multivalents entraîne la formation instantanée de sphères de gel contenant de la matière uniformément dispersée dans toute la matrice d'alginate réticulé. (18)

I.4.4. Application en pharmacie

L'alginate de sodium est utilisé dans diverses formulations pharmaceutiques orales et topiques comme agent stabilisant, agent de suspension, liant et désintégrant des comprimés, agent masquant le goût et agent augmentant la viscosité. Il a également été utilisé dans la préparation de formulations orales à libération prolongée, car il peut retarder la dissolution d'un médicament.

Sur le plan thérapeutique, l'alginate de sodium a été utilisé comme antiacide en association avec un antagoniste des récepteurs H2 dans la gestion du reflux gastro-

œsophagien. Aussi, la bioadhérence œsophagienne des suspensions d'alginate de sodium peut constituer une barrière contre le reflux gastrique ou l'administration d'agents thérapeutiques spécifiques au site.

Les autres nouveaux systèmes d'administration contenant de l'alginate de sodium comprennent : les solutions ophtalmiques qui forment un gel in situ lorsqu'elles sont administrées à l'œil, un gel in situ contenant du paracétamol pour administration par voie orale, des systèmes d'administration nasale basés sur des microsphères mucoadhesives, un dispositif lyophilisé destiné à l'administration de facteurs de croissance osseuse et des pansements pour les plaies exsudatives.

I.5. L'hydroxypropylmethylcellulose

I.5.1. Définition

L'hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) est un polymère semi-synthétique inerte, dérivé de la cellulose par modification chimique : c'est l'éther 2-hydroxypropylique de la cellulose. Il est le plus important matériau hydrophile utilisé pour la préparation de systèmes d'administration de médicaments contrôlés par voie orale. L'une de ses caractéristiques les plus importantes est la grande capacité de gonflement, qui a un effet significatif sur la cinétique de libération d'un médicament incorporé.

Au contact de l'eau ou du liquide biologique, ce dernier se diffuse dans l'appareil, ce qui entraîne une relaxation de la chaîne polymère avec expansion volumique. Ensuite, le médicament incorporé se diffuse hors du système. La poudre d'hypromellose doit être entreposée dans un endroit bien fermé dans un endroit frais et sec. (19)

I.5.2. Structure chimique

La structure moléculaire de l'HPMC est $C_{56}H_{108}O_{30}$, et son poids moléculaire est de 1261.45 g/mol.

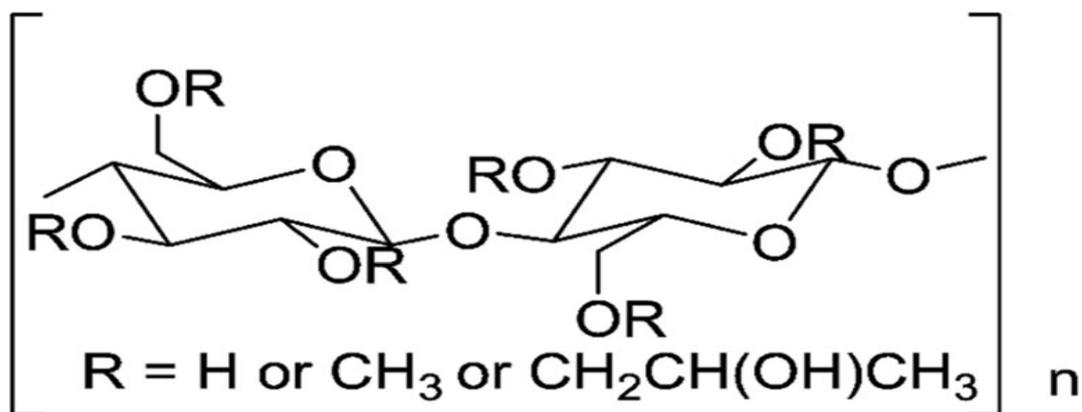


Figure 5 : La structure moléculaire de l'HPMC

I.5.3. Application en pharmacie

L'HPMC est un matériau bioadhésif, dispersant, émulsifiant, stabilisant, filmogène, et il est principalement utilisé comme liant, dans le pelliculage et comme matrice pour utilisation dans les formulations de comprimés à libération prolongée.

Des grades de viscosité élevée peuvent être utilisés pour retarder la libération de médicaments provenant d'une matrice à des concentrations de 10 à 80 % p/p dans les comprimés et capsules.

I.6. Amidon

I.6.1. Définition

L'amidon est un polymère naturel, biodégradable produit par de nombreuses plantes comme source d'énergie emmagasinée. Il est constitué d'amylose linéaire et d'amylopectine ramifiée, deux polysaccharides à base de glucose α -(D). Les deux polymères sont organisés dans une structure semi-cristalline.

L'amidon sec est stable s'il est protégé de l'humidité élevée. Il est considéré comme chimiquement et microbiologiquement inerte sous conditions normales d'entreposage. Il doit être entreposé dans un contenant hermétique dans un endroit frais et sec.

I.6.2. Structure chimique

La formule moléculaire de l'amidon est $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$ où $n = 300-1000$.

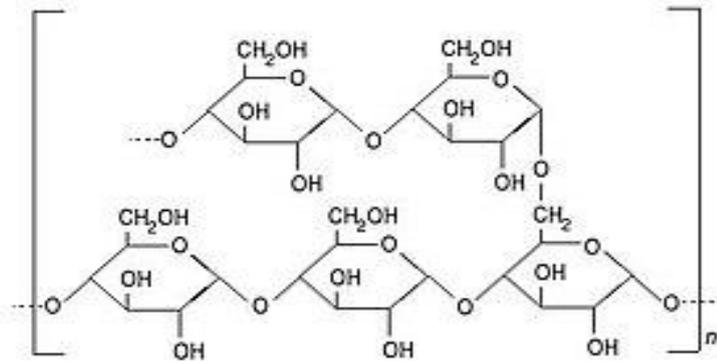


Figure 6 : La structure chimique de l'amidon

I.6.3. Application en pharmacie

L'amidon est un excipient polyvalent utilisé principalement dans les formulations orales comme liant, diluant et désintégrant. Il est également utilisé dans les préparations topiques pour son absorption des liquides. La pâte d'amidon est utilisée dans les formulations d'onguent, habituellement dans la présence de taux plus élevés de glycérine.

L'amidon, en particulier l'amidon de riz, a également été utilisé comme traitement des maladies diarrhéiques des enfants.

Chapitre II : Matériels et méthode

II.1. Matière première et méthodes

II.1.1. Préformulation

Dans cette partie nous allons étudier à partir de la littérature, les propriétés de notre PA nécessaires pour choisir les excipients, le conditionnement et la méthode pour l'encapsuler.

Le FLZ utilisé dans cette étude est un don d'un producteur algérien de médicaments. Il est hygroscopique, non sensible à la lumière et non sensible à l'oxydation et il doit être stocké dans des flacons hermétiquement scellés à une température en dessous de 30°C. (1)

Tableau 1: Les propriétés physico-chimiques du FLZ

Etat physique	Solide
Aspect	Une poudre blanche cristalline
Formule chimique	$C_{13}H_{12}F_2N_6O$
Poids moléculaire (g/mol)	306,27
Solubilité dans l'eau à 37 °C (mg/ml)	8
Solubilité dans les solvants	Soluble dans l'alcool, l'acétone, le méthanol et le toluène.
pH en NaOH (1,1 M).	Base faible dont le pKa = 1,76
Point de fusion (°C)	223 à 224

II.1.2. Formulation

En fonction des caractéristiques du FLZ, nous allons effectuer une succession de choix dans le but de définir les composants nécessaires pour obtenir une préparation galénique encapsulant puis libérant efficacement le PA.

II.1.2.1. Choix de la voie d'administration

Le traitement des infections fongiques graves, (les méningites à cryptocoques, coccidiomycoses, la candidose invasive, la candidose des muqueuses : oropharyngée, œsophagienne, la candidurie), par le FLZ par voie orale nécessite une forte dose entretenue quotidiennement pendant une longue période allant des semaines jusqu'à des mois, ce qui peut altérer l'observance thérapeutique des patients et par conséquent, on se trouve face à une inefficacité thérapeutique et une aggravation de la maladie. Donc on a envisagé de formuler des billes à base de FLZ, pouvant par la suite être administrées sous forme de gélules, pour pallier ce problème en diminuant le nombre des prises par semaines pour une plus grande conformité des patients, une dose et une toxicité plus faibles.

II.1.2.2. Choix de la forme galénique

Les billes ont été choisies comme forme galénique grâce à leurs propriétés importantes notamment la possibilité de moduler leur capacité de gonflement en fonction du pH. Par conséquent, les médicaments destinés à la libération intestinale peuvent atteindre leur site de libération sans être libérés en grande quantité dans l'estomac.

II.1.2.3. Choix de la méthode de préparation

L'avantage qui nous a fait choisir la GI pour l'encapsulation du FLZ est le fait qu'elle est simple, rapide et ne nécessite pas d'équipement coûteux. En outre, les conditions de la synthèse peuvent être ajustées selon notre besoin : changer le rapport des réactifs, ajouter un stabilisateur etc.

II.1.2.4. Choix des excipients

Choisir le bon excipient ne se limite pas à travailler sur l'esthétisme et le goût d'un médicament. Les excipients font l'objet d'une surveillance vigoureuse pour garantir la sécurité des médicaments. La biocompatibilité de la formulation est essentielle et commence le plus souvent par l'utilisation de matériaux biocompatibles et biodégradables pour la synthèse des particules chargées de médicaments.

II.1.2.4.1. Kaolin

L'argile à utiliser est le Kaolin naturel du gisement de Djebel Debagh- Guelma. Deux lots prélevés de la même zone ont été procuré : Kaolin gris foncé et Kaolin gris clair. L'analyse DRX des deux échantillons nous sera de grande utilité pour choisir le Kaolin le plus pur et proposer les traitements nécessaires pour une éventuelle utilisation médicale (il faut s'assurer par ailleurs de faibles taux en métaux lourds tels que Pb, As ou Cd et quartz).

Il n'est pas attaqué par les acides et les bases diluées, mais il se décompose sous l'action de l'acide sulfurique concentré. Il est hydrophile et il se disperse aisément dans l'eau. Lorsqu'il est humidifié avec de l'eau, le kaolin noircit et devient plastique. À des humidités relatives comprises entre 15 et 65 %, la teneur en humidité d'équilibre à 25 °C est d'environ 1 % p/p, mais à des humidités relatives supérieures à environ 75 %, le kaolin absorbe de petites quantités d'eau. Il doit être conservé dans des contenants bien fermés dans un endroit frais et sec. (13)

Tableau 2 : Les propriétés physico-chimiques du kaolin (13)

Poids moléculaire (g/mol)	258,071
Hygroscopicité si humidité 15%-65% à 25°C	1% p/p
Solubilité	Insoluble dans l'eau, éther diéthylique, alcool, acides dilués, les hydroxydes
Distribution granulométrique mm	0,6-0,8
Point de fusion (°C)	1750
Dureté (Mohs)	2
Viscosité dynamique d'une suspension aqueuse à 70% p/v (mPa)	300

II.1.2.4.2. Hydroxypropylmethylcellulose

L'HPMC utilisé pour cette étude est une poudre blanche fourni par Alfa Aesar. Cette matière contient 28-30% de méthoxyl et 7-12% d'hydroxypropyl. Sa viscosité dans une solution aqueuse à 2% à 20°C est 7500-14000 mPa.s.

Les principales caractéristiques sont résumées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 3 : Les propriétés physico-chimiques de l'HPMC (13)

Apparence	Poudre blanc cassée à beige
Poids moléculaire (g/mol)	1261,4387
pH solutions aqueuse à 1% p/p	5,5 – 8
Solubilité	Soluble dans l'eau froide
Point de fusion (°C)	190-200
Viscosité dynamique	Variable
Densité (g/cm ³)	1,326

II.1.2.4.3. Alginate de sodium

L'alginate utilisé dans cette étude est d'une basse viscosité fourni par Biochem.

Tableau 4 : Les propriétés physico-chimiques de l'alginate de sodium (13)

Etat physique	Solide
Aspect	Une poudre blanche à brun jaunâtre pâle inodore et insipide
Poids moléculaire (/mol)	20 000 à 240 000
Masse volumique (g/cm ⁻³)	1,601
Solubilité dans l'eau	Lente
Solubilité dans les solvants	Insoluble dans l'alcool 95%, l'éther et le chloroforme.
pH d'une solution aqueuse de 1 % p/v	7,2
Viscosité d'une solution aqueuse de 1 % p/v (mPa/s)	20 à 400

II.1.2.4. Amidon

Les principales caractéristiques de l'amidon sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Les propriétés physico-chimiques de l'amidon (13)

Etat physique	Solide
Aspect	poudre fine blanche insipide et inodore
Poids moléculaire (Da)	50 et 500 millions
Densité (g/cm ³)	1.478
Solubilité dans l'eau	Insoluble dans l'eau froide Soluble dans l'eau chaude
Solubilité dans les solvants	insoluble dans l'éthanol froid (96%)
pH	4-8

II.1.3. Appareillages

Afin de réaliser nos préparations, les caractériser et les contrôler nous avons utilisé les équipements ci-dessous :

- Etuve : LabTech
- Agitateur : WiseStir
- Plaque chauffante agitatrice : ISOLAB (laboratoire GmbH)
- Balance électronique : OHAUS
- Spectrophotomètre UV : Optizen
- Logiciel pour l'acquisition des données de spectrophotomètre UV : Optizenview
- Dessiccateur
- pH mètre : OHAUS (Starter 3000)
- Diffractomètre à rayons X : Rigaku Miniflex
- FTIR : Agilent Technologies (Cary 600)

Les courbes ont été tracées par l'outil Microsoft Excel 2007 et le traitement des données DRX a été réalisé par le logiciel Origin Lab 9.0.

II.2. Méthode

II.2.1. Le choix du polymère

On voulait commencer notre étude par tester différents polymères et leur rôle éventuel dans la formulation des billes. Donc, on a choisit l'HPMC et l'amidon grâce à leurs propriétés physico-chimiques et mécaniques entre autres l'hydrosolubilité, l'hydrophilie et la capacité de gonflement. Pour ce faire, on a procédé ainsi :

- Pour préparer la solution de l'amidon nous avons chauffé sous reflux à 90°C l'amidon préalablement dispersé dans l'eau distillée pendant 30 min sous agitation à 700 rpm. Puis, nous avons maintenu le mélange sous agitation. (20)

- Pour préparer la solution de l'HPMC nous avons soumis ce dernier sous agitation à 700 rpm à T° ambiante dans l'eau distillée jusqu'à dissolution complète. Puis nous avons ajouté de l'alginate à la solution d'HPMC sous agitation pour l'homogénéisation complète. (21)

- Pour préparer les billes, nous avons procédé comme suit:

- Nous avons introduit les solutions formées dans une pipette en plastique en vue de former des gouttes.
- Nous avons placé un bêcher de 20mL de solution CaCl₂ 5% au dessous de la pipette.
- Nous avons ouvert l'extrémité de la pipette, préalablement bouchée, pour permettre l'écoulement de la solution dans le CaCl₂.

II.2.2. L'influence du kaolin

En se basant sur le test précédent et sur les recherches faites, nous avons proposé de nouvelles formules contenant du kaolin pour tirer profit de ses capacités de gonflement et d'absorption de l'eau et aussi stabilisant de formulations polymériques.

Pour toutes les préparations nous avons choisit l'HPMC à 1% pour continuer notre étude, tout en écartant l'amidon, le FLZ à 0,5%, l'alginate à 1% et le CaCl₂ à 5%.

Nous avons aussi diminué la vitesse de l'agitation de 700 rpm à 400 rpm pour éviter la formation des bulles d'air.

Les pourcentages du kaolin utilisés sont détaillés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 6 : Les pourcentages du kaolin

	Kaolin (%)
P1	0
P2	2.5
P3	5
P4	10

II.2.2.1. La préparation d'une suspension de kaolin

Nous avons commencé par mettre de l'argile en suspension en ajoutant une quantité déterminée de kaolin à 20 mL d'eau distillée. Cette suspension est laissée sous agitation magnétique à 400 rpm à 90°C pendant 15 min jusqu'à l'homogénéisation.

II.2.2.2. La préparation de la suspension dispersante

Nous avons introduit progressivement l'HPMC ou l'alginate à la suspension du kaolin déjà formée. Pour les préparations qui contiennent les 2 polymères nous avons ajouté tout d'abord l'HPMC puis après 15 min d'agitation à 90°C nous avons rajouté l'alginate. Puis, nous avons laissé la suspension s'homogénéiser sous agitation magnétique à 400 rpm à 90°C pendant 15 min. (21)

II.2.2.3. L'ajout de Fluconazole

Nous avons rajouté 0,5 % de FLZ après retour de la suspension polymérique du kaolin à la température ambiante tout en gardant l'agitation magnétique à 400 rpm pendant 15 min.

II.2.2.4. La préparation des billes

Nous avons essayé de formuler des billes avec plus de précision en mettant en considération tous les paramètres influençant la formation des billes. Pour cela, nous avons monté un seul montage fixe pour toute l'étude en plaçant une seringue (5mL) à 20 cm au dessus du bêcher d'une solution de CaCl₂ maintenue sous agitation douce. A chaque fois, nous nous sommes assurées que la seringue est bien fixée sur le support et à la même hauteur. Donc les billes ont été formées par extrusion à partir de la seringue d'une façon spontanée, sous l'effet de la pesanteur et à un débit régulier. Nous avons ensuite maintenues les billes

formées dans la solution de CaCl₂ pendant 24 heures pour leur solidification. (22)

Après 24 heures, nous avons lavé les billes trois fois par de l'eau distillée, et nous les avons séchées dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Les billes obtenues ont été maintenues dans un dessiccateur en présence de la silice pour éviter qu'elles absorbent de l'humidité atmosphérique.

II.2.3. L'effet de l'HPMC et de l'alginate

A partir des résultats obtenus par l'essai précédent, nous avons décidé de garder le même protocole pour toutes les étapes, à l'exception d'une modification qui touche l'étape de préparation de la suspension du kaolin.

Dans l'essai précédent, nous avons rencontré un problème de séparation des phases due à l'insolubilité du kaolin dans l'eau ce qui a gêné la formation des billes. Pour prévenir la séparation des phases et améliorer l'homogénéité de la suspension, nous avons augmenté la durée de chauffage du kaolin de 15 min à 1h à 90°C sous agitation magnétique à 400 rpm.

Nous avons aussi varié les pourcentages de quelques formulations en alginate et en HPMC pour avoir plus d'idées sur leur effet sur la formation et le gonflement des billes, l'encapsulation du FLZ et sa libération à pH=6.8.

Les pourcentages de l'HPMC et de l'alginate sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 7 : Les pourcentages de l'HPMC et de l'alginate

	HPMC %	Alginate %
P5	0	1
P6	2	1
P7	1	2
P8	2	2

II.3. La caractérisation

La caractérisation n'a été faite que sur les préparations P2, P3, P4, P6, P7 et P8 parce qu'on n'a pas pu récupérer les billes des préparations P1 (absence de kaolin, 1% d'HPMC et 1% d'alginate) et P5 (absence d'HPMC, 5% de kaolin et 1% d'alginate) après chauffage dans l'étuve à 37°C pendant 24h.

II.3.1. Analyse par FTIR

La spectroscopie FTIR est une technique de spectroscopie vibratoire qui peut être utilisée pour sonder optiquement les changements moléculaires. Les bandes spectrales dans les spectres vibratoires sont spécifiques à la molécule et fournissent des informations directes sur la composition chimique. Les pics FTIR sont relativement étroits et, dans de nombreux cas, peuvent être associés à la vibration d'une liaison chimique particulière (ou d'un seul groupe fonctionnel) dans la molécule. Les spectrophotomètres infrarouges sont adaptés aux mesures du spectre dans la région de 400 cm^{-1} - 4000 cm^{-1} , correspondant au domaine des énergies et des nombres d'onde d'absorption des liaisons, en produisant leurs vibrations et leurs rotations autour de leurs éléments de symétrie. Les spectrophotomètres à transformée de Fourier utilisent un rayonnement poly-chromatique dans le domaine de l'infrarouge moyen. Le spectre est généralement présenté en fonction de la transmittance, c'est-à-dire, le rapport de l'intensité du rayonnement transmise à celle du rayonnement incident. Tandis que l'absorbance est définie comme étant le logarithme décimal de l'inverse de la transmittance. Le calcul du spectre dans le domaine des fréquences IR à partir des données obtenues, par transformée de Fourier, permet d'accéder avec une grande précision aux différentes informations concernant soit la structure soit la concentration de la molécule.

Les formules ont été analysées par Agilent Technologies, Cary 600 au niveau du laboratoire de recherche sur les macromolécules (LRM).

II.3.2. Analyse par DRX

C'est une méthode qualitative et structurale facile à mettre en œuvre, nécessitant de faibles quantités de composés. Elle repose sur la détection de rayons de diffraction d'un réseau cristallin, pour obtenir des informations sur la maille et ses paramètres linéaires et angulaires, sur la symétrie les éléments de symétrie et la périodicité de la maille dans le réseau, en spécifiant son groupe. Cet ensemble d'informations cristallographiques permettent

d'élucider la structure d'un solide. La formation d'un complexe peut être mise en évidence et définie par la diffraction de rayon X, si elle est sous forme cristallisée.

La mesure de la DRX a été réalisée au niveau du laboratoire catalyse et chimie fine à l'aide d'un diffractomètre Rigaku Miniflex 600. Les rayons X sont produits à partir d'une source de radiations $\text{Cu}\alpha$, de longueur d'onde de 1,5418 Å et d'une tension d'accélération de 40 kV avec un courant de 15 mA. Le balayage a été effectué dans une plage d'analyse comprise entre $2^\circ < 2\theta < 80^\circ$, avec un angle d'incidence $\theta = 0,5^\circ$ et un pas de déplacement de 0.02° avec une vitesse de $2^\circ/\text{mn}$.

II.3.3. Test de gonflement des billes

Pour étudier le comportement des billes dans différents milieux, nous les avons testées dans le PBS à pH = 6,8 et dans l'eau distillée.

II.3.3.1. Test de gonflement dans le tampon phosphate PBS

Le tampon PBS à pH = 6,8 a été préparé selon la pharmacopée Européenne 6^{ème} édition. Nous avons suivi les étapes décrites ci-dessous : (23)

- Nous avons pesé 50 mg de billes de chaque formulation.
- Nous avons mis la quantité pesée dans 10 mL de PBS et l'avons laissée à T° ambiante.
- Nous avons pesé les billes après chaque 24 heures jusqu'à la désintégration complète des billes.

Pour chaque formulation nous avons réalisé le test deux fois.

II.3.3.2. Test de gonflement dans l'eau distillée

- Nous avons choisi au hasard 10 billes de chaque préparation, puis nous avons déterminé leur poids initial.
 - Nous avons introduit les billes dans 10 mL d'eau distillée et nous les avons laissées à T° ambiante.
 - A la fin du test, 24 heures après gonflement, nous avons pesé de nouveau les billes.
- (24)

II.3.4. Test de libération du fluconazole

La détermination de quantité du FLZ libérée par les billes a été réalisée par le dosage du FLZ dans les milieux de libération : le PBS et l'eau distillée, par spectroscopie ultraviolet-visible.

La spectrométrie ultraviolet-visible est une technique de spectroscopie qui met en jeu les photons dont les longueurs d'onde sont dans le domaine de l'ultraviolet (100 nm - 400 nm), du visible (400 nm - 750 nm) ou du proche infrarouge (750 nm - 1 400 nm).

Cette technique d'analyse est souvent utilisée dans un mode quantitatif pour déterminer la concentration d'une entité chimique en solution, en utilisant la Loi de Beer-Lambert.

La loi de Beer Lambert : $A = \epsilon \times l \times C$, dont :

- A : l'absorbance ou densité optique.
- ϵ : le coefficient d'extinction molaire ($l.mol/cm$), il dépend de la longueur d'onde, de la nature chimique de l'entité et de la température.
- l : la longueur du trajet optique ou l'épaisseur de la cuvette utilisée (cm).
- C : la concentration molaire de la solution (mg/mL).

II.3.4.1. La libération du FLZ dans le PBS

Afin de déterminer les quantités du FLZ libéré dans le milieu nous avons procédé comme suit : (23)

- Nous avons pesé 50 mg de billes de chaque formulation
- Nous avons mis les billes pesées dans 10 mL de PBS et les avons laissées à T° ambiante.
- Après 24 heures :
 - Nous avons récupéré le milieu de libération.
 - Nous avons dosé le FLZ libéré dans ce milieu par spectroscopie UV.
 - Nous avons remis les billes dans un nouveau milieu contenant 10 mL de PBS.
- Nous avons dosé et renouvelé le milieu chaque 24 heures jusqu'à la désintégration complète des billes.
- Nous avons répété le test deux fois pour chaque préparation.

II.3.4.2. La courbe d'étalonnage du FLZ

Avant de vérifier la linéarité de la courbe d'étalonnage, nous avons déterminé la longueur d'onde maximale de FLZ à partir d'une solution aqueuse de FLZ de concentration 5mg/mL, en utilisant comme blanc l'eau distillée.

Ensuite, nous avons préparé 6 concentrations différentes de solution aqueuse de FLZ. L'absorbance de chaque dilution est déterminée par spectrophotométrie UV/Vis à $\lambda_{\max}=260$ nm.

II.3.4.3. Le dosage du FLZ

Une méthode de dosage par UV/Vis est mise au point pour déterminer la quantité du FLZ libéré dans le milieu.

Le dosage par UV/Vis a été effectué sous les conditions opératoires suivantes :

- La longueur d'onde : 260 nm.
- Le blanc pour le FLZ libéré dans le PBS : PBS.
- Le blanc pour le FLZ libéré dans l'eau distillée : eau distillée.
- L'échantillon : les milieux récupérés des préparations P2, P3, P4, P6, P7 et P8.

Malheureusement la quantité totale de PA encapsulé n'a pas pu être déterminée suite à des difficultés rencontrées lors de la récupération des mélanges à partir du ballon avant leurs introductions dans la seringue et formation des billes.

Nous avons déterminé, par dosage spectrophotométrique, les concentrations du FLZ libéré dans le milieu PBS pour suivre la vitesse de libération après 24 heures et 48 heures.

Chapitre III : Résultats et discussions

Les billes de FLZ ont été préparées par la méthode de gélification ionique (GI). Comme matériaux, nous avons utilisé le kaolin, l'HPMC et l'alginate. Leurs pourcentages ont été variés afin de choisir la meilleure formulation pour l'encapsulation.

III.1. La morphologie des billes

Tableau 8 : La morphologie des billes

	
P1 (absence de kaolin)	P2 (2.5% de kaolin)
	
P3 (5% de kaolin)	P4 (10% de kaolin)

Tableau 8 (suite) : La morphologie des billes

	
<p>P5 (absence de l'HPMC, 1% d'alginate)</p>	<p>P6 (2% d'HPMC, 1% d'alginate)</p>
	
<p>P7 (1% d'HPMC, 2% d'alginate)</p>	<p>P8 (2% d'HPMC, 2% d'alginate)</p>

III.1.1. L'effet de la viscosité

Les billes formulées par toutes les préparations sont de taille hétérogène ayant une queue à l'une de leurs extrémités, cela pourrait être dû au fait que les suspensions formées contenant plusieurs matériaux étaient collantes et visqueuses. Lorsque les suspensions visqueuses sont sorties à travers l'aiguille, les têtes des billes ont quitté la pointe de la seringue, mais les extrémités des billes y étaient toujours adhérentes. Cependant, en raison de la gravité, les billes ont quitté la seringue avec une queue. Cette constatation est conforme aux données déclarées par d'autres auteurs (22). Cependant, la basse viscosité de la formulation P5 préparée sans HPMC qui a une haute viscosité n'a pas aussi donné des billes. Cela est confirmé par l'observation des formulations qui contiennent de l'HPMC où les billes ont été bien formées. Donc la viscosité est un paramètre que l'on doit prendre en considération pour formuler des billes.

III.1.2. L'influence du kaolin

La consistance des billes n'était pas la même pour toutes les préparations. En comparant les préparations P2, P3, P4, (contenant 1% HPMC, 1% alginate et des pourcentages variables de kaolin), on constate que plus la concentration du kaolin est élevée plus les billes sont consistantes et rigides. Et cela est prouvé par la préparation P1 préparée sans kaolin qui a donné des billes transparentes moins consistantes et qui ont totalement perdu leurs formes après le chauffage dans l'étuve à 37°C. Cela révèle le grand rôle mécanique qu'a joué le kaolin pour maintenir les billes en forme.

Dans plusieurs formulations des billes par GI pour des fins non médicales, l'ajout du glutaraldehyde est indispensable pour améliorer la rigidité des billes et maintenir leur forme. Suite à notre constatation ci-dessus, on peut proposer une alternative moins coûteuse et surtout non toxique, non polluante : le Kaolin.

III.1.3. L'influence de l'HPMC et de l'alginate

L'effet de l'HPMC a été observé en comparant P3, P6 et P7 (voir les tableaux n°6 page 30 et n°7 page 31) où l'augmentation des pourcentages de l'HPMC et l'alginate a amélioré la consistance des billes grâce à leur capacité de former des réseaux solides considérés comme des supports pour les billes.

Par contre, la préparation P8 a donné des billes de faible consistance. Cela peut être justifié par la haute viscosité de la préparation contenant 2% HPMC et 2% alginate, ce qui a empêché la réaction de gélification entre l'alginate et les ions Ca^{2+} .

En résumé, on peut conclure que la faible résistance mécanique des billes peut être surmontée en augmentant la concentration des alginates, ou en utilisant de nouvelles formulations incorporant de différents matériaux en l'occurrence, le kaolin et l'HPMC.

En plus de la composition qualitative et de la viscosité de la dispersion polymérique, plusieurs paramètres opératoires influencent aussi, la forme et la rigidité des billes : le diamètre de la buse, la distance entre le sommet d'une aiguille, à travers laquelle la dispersion a été lancée, ainsi que la solution et le temps de durcissement, la température de séchage et son mode. (18)

Au début de l'étude préliminaire, nous avons essayé d'utiliser une burette pour maîtriser le débit de chute de la préparation et en même temps obtenir une taille faible des billes, mais les préparations n'ont pas pu s'écouler. Nous avons par la suite essayé de travailler avec les seringues insulines mais la taille des billes était très faible même avant leur séchage. A la fin, nous avons conclu qu'une seringue 5ml présente une ouverture dont le diamètre satisfait nos besoins.

Le prolongement du temps de durcissement favorise une réticulation plus étendue de l'alginate qui contribue par la suite à l'amélioration de la sphéricité de la bille et à la diminution de son diamètre. (18)

Le flux tourbillonnaire créé par les vitesses d'agitation élevées permet d'éviter l'agglomération entre les billes. Aussi, il donne des billes sphériques quelle que soit la concentration de CaCl_2 utilisée (22). Nous avons utilisé une vitesse douce constante pour toutes les formulations sans la varier, ce qui nous laisse soupçonné que la forme non sphérique ainsi obtenue n'est pas due seulement à la viscosité plus au moins élevée des préparations mais aussi à la faible vitesse d'agitation de la solution CaCl_2 .

La température de séchage a une grande influence sur l'état physique des billes. Dans un essai préliminaire, les billes placées dans l'étuve pendant 24 heures à une température de 80°C ont été totalement détériorées et ont perdu leur forme, par contre un séchage doux à 37°C a permis de leur conserver la forme.

Il faut aussi rajouter que nous n'avons pas varié la concentration de la solution CaCl_2 et qui a une grande influence sur la distribution de l'alginate à la surface des billes. En effet, l'homogénéité du gel est régie par le taux de diffusion relatif entre les ions Ca^{2+} et le polymère alginate dans la zone gélifiée. À faible concentration de CaCl_2 , l'alginate diffuse rapidement à la surface de la bille pour la réticulation, tout en laissant une distribution inégale de polymère d'alginate dans les billes. Par contre, à forte concentration de CaCl_2 , la diffusion des ions Ca^{2+} est plus rapide ce qui limite celle de l'alginate vers la surface, et une structure de gel plus homogène se forme (22). La concentration de 5% a été retenue en se basant sur les résultats de plusieurs études expérimentales.

III.2. L'étude FTIR

La compatibilité du fluconazole dans ces formulations a été évaluée qualitativement par l'analyse FTIR (Annexes).

Dans les spectres FTIR obtenus à partir des 6 préparations P2, P3, P4, P6, P7 et P8, nous avons remarqué une bande large autour de 3500 cm^{-1} attribuée au groupement hydroxyle OH, une bande intense à 1617 cm^{-1} caractéristique du groupement C=N, Une bande à 1275cm^{-1} et correspond au C-F et enfin une bande située environ 908cm^{-1} caractéristique de la liaison C-H du cycle triazole. En se référant à la littérature (25) (26), on constate que ces bandes sont caractéristiques de notre principe actif le FLZ. Ces pics vibratoires de fluconazole ont été détectés dans tous les spectres IR obtenus à partir de toutes les préparations avec des différences de fréquences mineures. Cela confirme que le FLZ est encapsulé dans les billes, et il n'y a pas de modification dans sa structure donc il est stable en présence des matériaux utilisés.

La bande à 3696 cm^{-1} a été assignée aux groupes hydroxyles intercalaires (OH) et la bande à 3619 cm^{-1} est liée aux liaisons OH pointant dans les couches vers les feuilles tétraédriques. Les bandes autour de 1117 et 1006 cm^{-1} ont été attribuées aux vibrations asymétriques d'étirement des liaisons Si-O. Ces bandes caractéristiques fournissent des renseignements sur la présence du kaolin selon la littérature. (27)

Les spectres FTIR d'alginate montrent généralement un pic autour de 1602cm^{-1} et 1406 cm^{-1} indiquant la présence du groupement $-\text{COO}^-$ de l'alginate. Tous les spectres obtenus présentent une bande à 1432 cm^{-1} qui correspond, peut être, au groupement $-\text{COO}^-$ de l'alginate. Ce déplacement s'est peut être produit en raison de la liaison ionique entre Ca^{2+} et le groupe carboxylique de l'alginate au cours de la gélification. (28)

III.3. Analyse DRX

III.3.1. Analyse DRX des matières premières : Kaolin

D'après les résultats des Kaolins analysés par DRX nous avons décidé d'utiliser le Kaolin de couleur gris foncé car il est plus pur que le kaolin gris clair. En plus, ce kaolin ne nécessite aucun traitement préalable à son utilisation car il est exempt de métaux et d'autres impuretés toxiques.

Tableau 9 : La composition du kaolin gris clair

Nom de la phase	Formule
Dickite	$\text{Al}_2\text{H}_4\text{O}_9\text{Si}_2$
Boromuscovite	$\text{Al}_{0.82}\text{B H}_2\text{K}_{0.2}\text{O}_{12}\text{Si}_3$

Tableau 10 : La composition du kaolin gris foncé

Nom de la phase	Formule
Dickite	$\text{Al}_2 \text{H}_4 \text{O}_9 \text{Si}_2$

Il faut noter que la dickite, le composant unique de notre Kaolin sélectionné, est un polymorphe de la kaolinite. Le nom de dickite a été proposé et confirmé par (Ross, 1931). Ce minéral a une composition identique à celle de la kaolinite, est rare et généralement liés aux gîtes hydrothermaux, ce qui est expliqué par la localisation du gisement proche du Hammam Debagh au niveau de la wilaya de Guelma- Algérie. Il ne diffère que par la structure de son réseau qui est monoclinique.

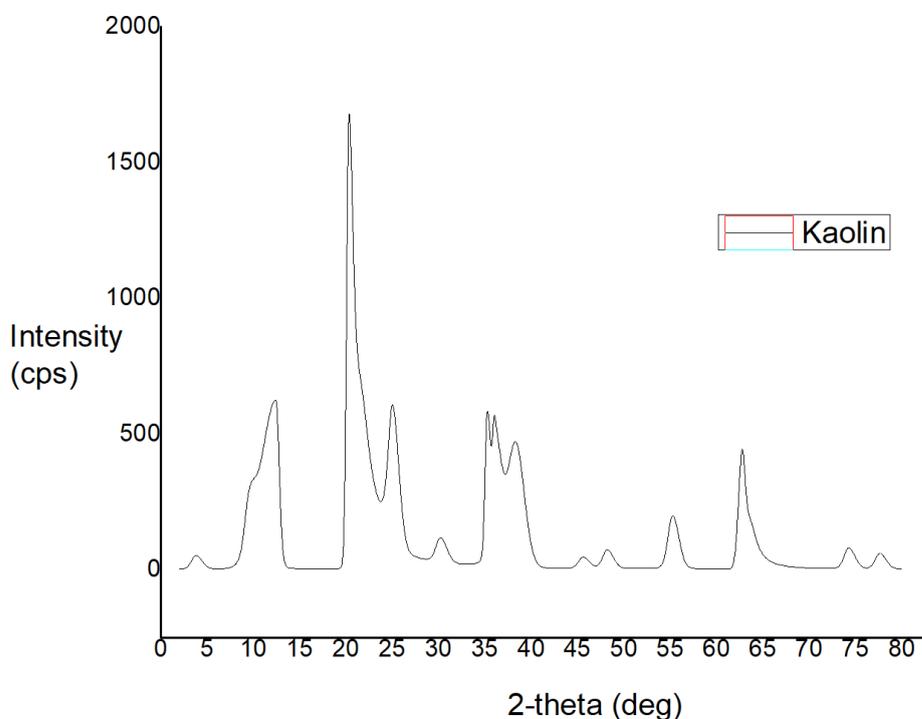


Figure 7 : Diffractogramme DRX du kaolin gris foncé

Le diffractogramme ci-dessus confirme l'existence des pics caractéristiques du kaolin dont les réflexions sont : d001 aux environs de 7,14 Å (2-theta = 12,4 deg) correspondant à la distance interlamellaire et d002 aux environs de 3,57 Å (2-theta= 25 deg), et leurs raies dérivées.

III.3.2. Analyse DRX des produits finis : Billes

Les diffractogrammes DRX des billes permettent de suivre l'évolution de la distance

interfoliaire.

La figure ci-dessous illustre les diffractogrammes DRX de toutes les préparations.

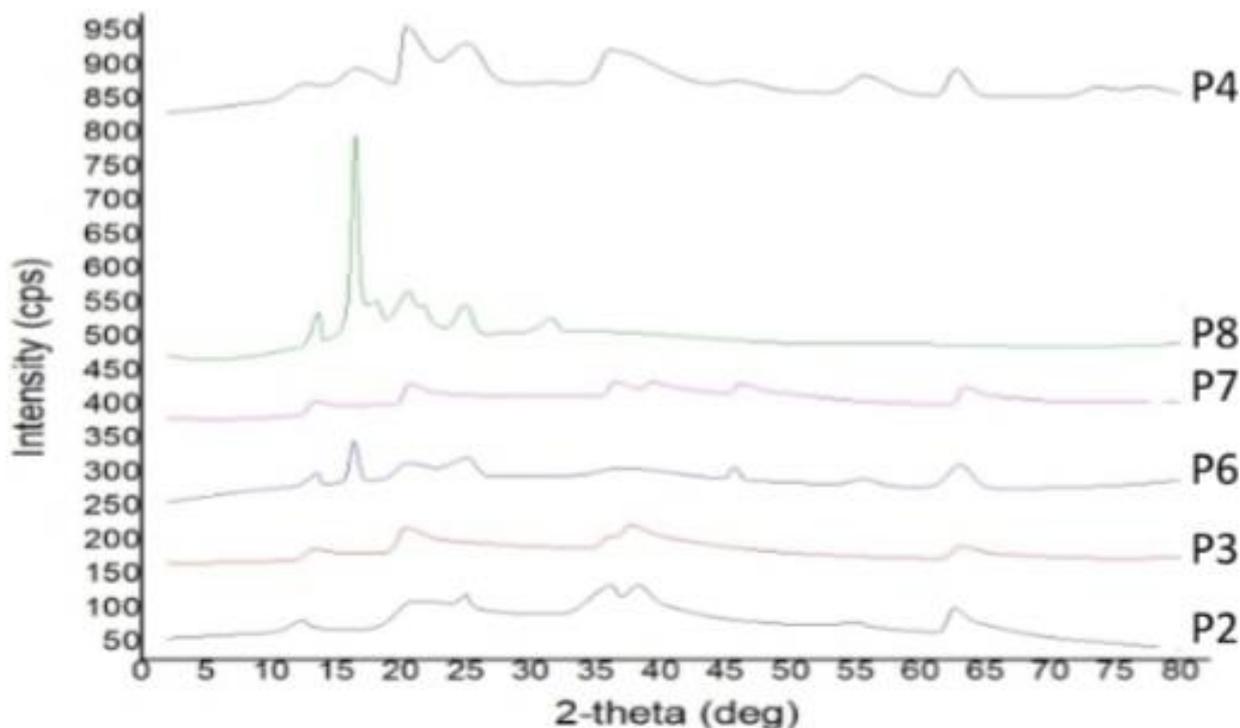


Figure 8 : Diffractogramme DRX des billes du FLZ

Pour la préparation P2 (voir tableau n°6 page 30), on observe un léger décalage du pic caractéristique situé à $2\theta = 12,4$ deg vers la région des faibles angles, correspondant à ($2\theta = 11,87^\circ/d=7,5\text{\AA}$). Aucun décalage de ce pic n'a été observé pour la formulation P4 (voir tableau n°7 page 31).

Par contre, pour les formules P3, P6, P7 et P8 (voir les tableaux n°6 page 30 et n°7 page 31) nous constatons un léger décalage vers la région des hautes angles avec une légère diminution de la distance inter lamellaire où 2θ a augmenté à $13,64^\circ$ avec $d=6,49\text{\AA}$.

Pour le deuxième pic caractéristique des kaolins, situé initialement à $2\text{-theta} = 25$ deg avec une distance interfoliaire $d=3,57\text{\AA}$, nous constatons que ce pic n'a pas subi un déplacement pour les préparations P2, P4, P6 et P8 (voir les tableaux n°6 page 30 et n°7 page 31). Par contre, nous remarquons la disparition totale de ce pic dans les préparations P3 et P7

(5% kaolin, 1% HPMC et des pourcentages variables d'alginate) qui pourra être attribué à une exfoliation du kaolin dans le polymère alginate. Les minéraux argileux sont un groupe de minéraux qui ont la capacité de s'exfolier : capacité qu'ont les feuillets qui composent les particules primaires de l'argile à s'écarter les uns de autres jusqu'à se séparer irréversiblement.

En effet, plusieurs études ont démontré que les particules de kaolin ne sont pas facilement décomposées et les couches de kaolin ne sont pas facilement séparées. Par conséquent, la plupart des activités d'adsorption se produisent le long des bords et des surfaces de la structure (29). Mais d'après nos résultats il est possible d'exfolier le kaolin pour des rapports kaolin/ alginate de l'ordre de 5/1.

III.4. Le test de gonflement des billes

Les billes ont totalement désintégré dans le PBS après 48h donc nous avons arrêté le test de gonflement dans les deux milieux après 48h. Par conséquent, nous n'avons pas pu peser les billes après 48h vu leur désintégration complète.

Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux ci-dessous :

Tableau 11 : Les résultats de gonflement des billes dans le PBS

	La masse après 24h (mg)
P2	98.3
P3	74,15
P4	109
P6	107
P7	69,9
P8	129,5

Tableau 12 : Les résultats de gonflement dans l'eau distillée

	La masse des billes avant le gonflement (mg)	La masse des billes après 24h (mg)	La masse des billes après 48h (mg)
P2	86,1	95	126,4
P3	84	93,5	72,3
P4	165.5	231.6	208.6
P6	122,2	193	190
P7	94,5	103,8	108,8
P8	54,6	88,3	86,4

Tableau 13 : Les pourcentages de gonflement dans l'eau distillée et le PBS

	Milieu PBS (%)	Milieu eau distillée (%)	
	Après 24H	Après 24H	Après 48H
P2	96,6	10,34	46,81
P3	100,3	11,31	-13,93
P4	118	39,94	26,04
P6	114	57,94	55,48
P7	39,8	9,84	15,13
P8	159	61,72	58,24

III.4.1. L'influence du kaolin

En comparant les préparations P2, P3 et P4 (1% HPMC, 1% alginate et des pourcentages de kaolin différents) on remarque que le taux de gonflement des billes augmente avec l'élévation du pourcentage de kaolin. Cela pourrait être justifié selon une étude (30) par la haute porosité de la structure de kaolin et l'arrangement de ses couches.

III.4.2. L'influence de l'HPMC

Après avoir comparé les préparations P3, P6, P7 et P8 (seuls les pourcentages de HPMC qui sont différents) on a remarqué une nette corrélation entre le pourcentage de l'HPMC et le taux de gonflement où l'on a observé une grande augmentation après avoir

augmenté la concentration de l'HPMC, ce qui a été aussi démontré par une autre étude (28). Les propriétés de gonflement de l'HPMC sont principalement liées à l'élasticité de son réseau, à la présence de groupes fonctionnels hydrophiles dans les chaînes de polymères, à l'étendue de la réticulation et à sa porosité. Les caractéristiques physiques de l'HPMC, y compris leur taux de gonflement, dépendent également de l'équilibre entre les interactions ioniques attractives et répulsives et les effets liés aux solvants.

III.4.3. L'influence de l'alginate

En comparant les formules P3 et P7 et les formules P6 et P8 (voir les tableaux n°6 page 30 et n°7 page 31), nous constatons une augmentation du pourcentage du gonflement en augmentant le pourcentage d'alginate.

III.4.4. L'effet synergique des composants

Les billes formulées avec une quantité croissante d'HPMC, kaolin et l'alginate présentaient un gonflement important (formulations P2, P3 et P8) (voir les tableaux °6 page 30 et n°7 page 31).

III.4.5. L'influence du milieu de dissolution

Pour toutes les formules, les billes se sont bien gonflées dans un tampon alcalin (pH 6,8) par rapport à l'eau distillée. Ce phénomène peut être expliqué selon une étude (23) par la sensibilité de l'alginate à un pH alcalin, donc il se gonfle facilement à un pH alcalin, ce qui conduit à une dissolution complète et selon Dainty et al. (31) les billes d'alginate réticulées avec Ca^{2+} n'étaient pas stables à un pH basique, en raison de l'action chélatante des ions phosphate qui ont plus d'affinité pour le calcium que pour celle l'alginate. L'utilisation de ces billes sera plus fructueuse dans la libération de FLZ dans l'environnement intestinal. Il faut noter que les billes sont restées toujours intactes jusqu'à la fin de cette étude et n'ont pas subi de dégradation (plus de 03 mois après leur introduction dans l'eau distillée).

La préparation qui présente le meilleur gonflement est la P8 (5% de kaolin, 2% d'HPMC et 2% d'alginate) avec 159% dont le comportement de gonflement est principalement attribué à l'hydratation des groupes hydrophiles de l'HPMC, du kaolin et de l'alginate. Dans ce cas, l'eau libre pénètre à l'intérieur des billes pour remplir les pores inertes, contribuant à un plus grand degré de gonflement.

III.5. Le test de libération du FLZ

La courbe d'étalonnage est établie après avoir déterminé la longueur d'onde maximale d'absorption.

III.5.1. Détermination de la longueur d'onde d'une solution de FLZ

Dans la courbe du balayage sur le logiciel du spectrophotomètre, nous observons un pic de maximum d'absorption à 260 nm qui correspond au FLZ. Cette longueur d'onde correspond bien à la longueur d'onde décrite dans la littérature.

III.5.2. La courbe d'étalonnage du FLZ

La courbe de l'absorbance en fonction de la concentration du FLZ montre que la droite de régression passe par la majorité des points. L'équation de la courbe est sous forme $y = a x + b$, donc la linéarité est vérifiée.

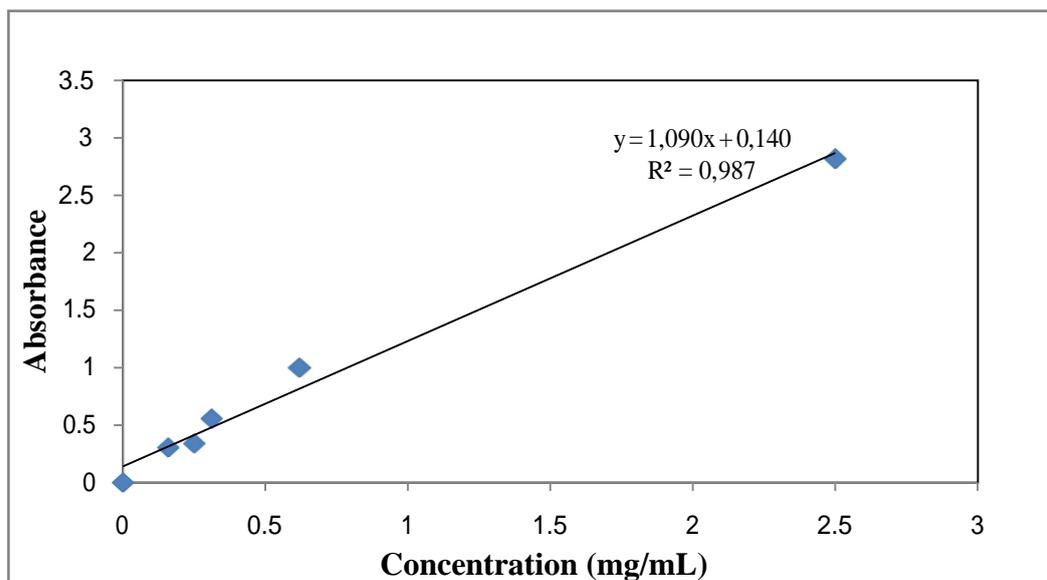


Figure 9 : La courbe d'étalonnage du FLZ à $\lambda_{\max} = 260$ nm

III.5.3. La libération du fluconazole dans le PBS

On a constaté une libération soutenue de FLZ encapsulé pendant 48h pour toutes les préparations.

Les résultats sont présentés dans la courbe ci-dessous :

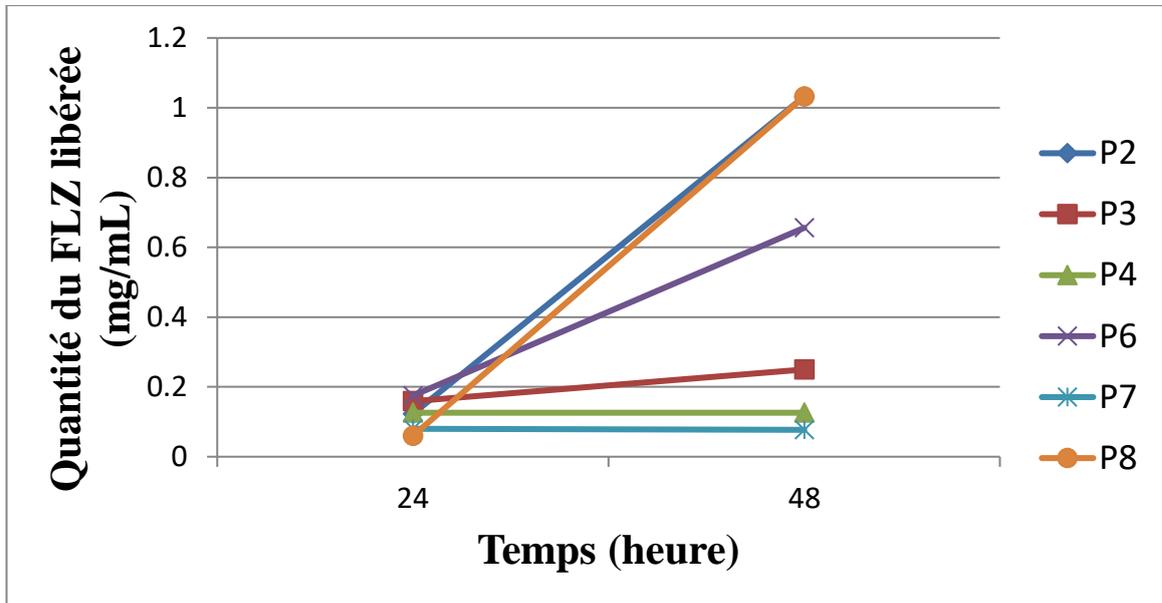


Figure 10 : La vitesse de libération du FLZ en fonction du temps

L'étude de libération a également suivi la même tendance que celle du comportement de gonflement de ces billes. Une libération soutenue de FLZ encapsulé a été constatée avec des augmentations successives du gonflement, ce qui a conduit à la désintégration des billes au pH alcalin. La formule P8 (5% de kaolin, 2% d'HPMC et 2% d'alginate) ayant le pourcentage de gonflement le plus élevé (159%) a présenté la vitesse de libération la plus rapide. Par contre, la libération était lente pour la préparation P7 (5% de kaolin, 1% d'HPMC et 2% d'alginate) présentant le taux de gonflement le plus bas (40%).

La libération du médicament varie en fonction de la modification dimensionnelle des matrices pendant la libération. Il a été constaté par une étude (23) que la cinétique de libération est contrôlée par l'augmentation de la zone de libération produite par le phénomène de gonflement.

Conclusion

L'objectif de ce travail était d'étudier l'influence des différents paramètres sur l'encapsulation du FLZ par GI dans des billes destinées à la voie orale. Ceci dans le but de rechercher une forme galénique à libération prolongée pour traiter les infections graves à candida et à cryptocoques. Pour cela, nous avons fait le choix d'utiliser plusieurs matériaux selon leurs propriétés physico-chimiques et mécaniques.

- Pour l'encapsulation du FLZ, plusieurs matériaux : alginate, HPMC, l'amidon et le kaolin à différents pourcentages ont été testés afin de déterminer leurs effets sur la formation des billes.

- La technique d'encapsulation utilisée est la GI qui est basée sur la propriété qu'ont les groupes carboxyles de certains polysaccharides, en l'occurrence l'alginate, de chélater les ions divalents (Ca^{2+} , Ba^{2+}), portant à la formation de réticules tridimensionnels rigides.

- Les pourcentages du FLZ et de CaCl_2 ont été fixés à 0.5% et 5% respectivement.

Suite aux observations macroscopiques, des études de caractérisation par FTIR et DRX, des tests de gonflement dans le PBS et l'eau distillée et un test de libération du PA en milieu intestinal, nous avons conclu que :

- La morphologie des billes est améliorée par l'augmentation des pourcentages du kaolin, de l'HPMC et d'alginate.

- Le meilleur taux de gonflement des billes est de 159 % obtenu avec la formulation P5 (5% de kaolin, 2% d'HPMC, 1% de SA).

- La vitesse de libération est en corrélation avec le taux de gonflement. Elle était la plus rapide pour la formule P8 et la plus lente pour la formule P7 (5% de kaolin, 2% de SA et 1% d'HPMC) dont le taux de gonflement était de 40%.

- Toutes les préparations ont considérablement libéré le FLZ d'une manière soutenue après 48h. Selon ces résultats, notre PA peut être libéré d'une façon prolongée dans l'intestin (pH=6.8)

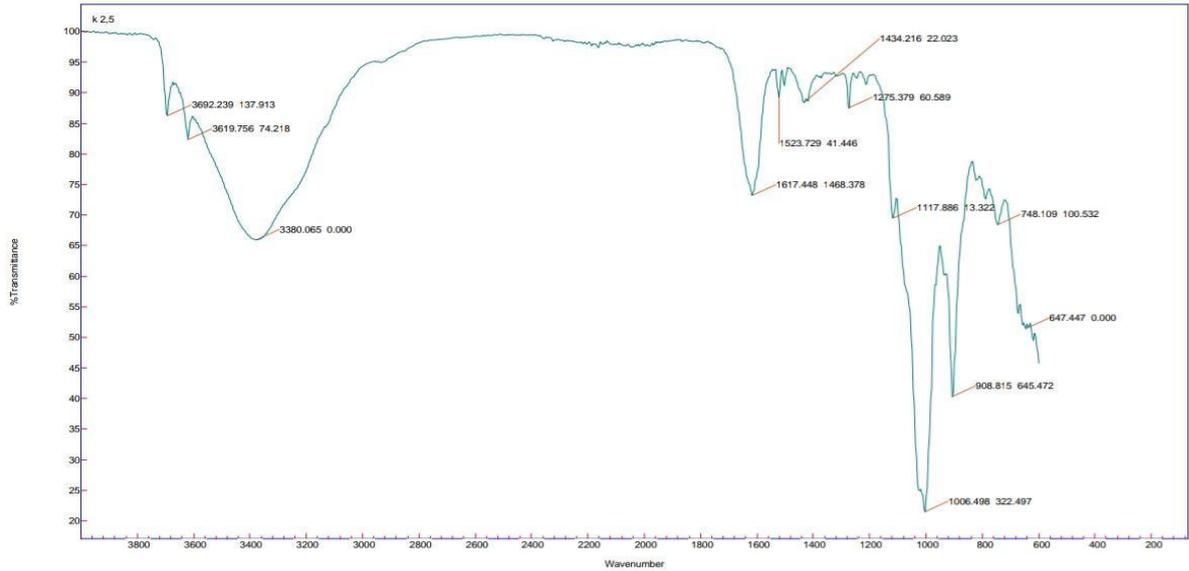
Références bibliographiques

1. Corrêa JCR, Reichman C, Vianna-Soares CD, Salgado HRN. Stability study of fluconazole applying validated bioassay and stability-indicating LC methods. *Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques*. 2011;1-6.
2. Ezhilarasi P, Karthik P, Chhanwal N, Anandharamakrishnan C. Nanoencapsulation techniques for food bioactive components: a review. *Food and Bioprocess Technology*. 2013;6(3):628-47.
3. Reis CP, Neufeld RJ, Ribeiro AJ, Veiga F. Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 2006;2(1):8-21.
4. Nelson G. Microencapsulated colourants for technical textile application. *Advances in the Dyeing and Finishing of Technical Textiles: Elsevier*; 2013. p. 78-104.
5. Jadav N, Paradkar A. Solid dispersions: technologies used and future outlook. *Nanopharmaceuticals: Elsevier*; 2020. p. 91-120.
6. Giri T. Nanoarchitected Polysaccharide-Based Drug Carrier for Ocular. *Nanoarchitectonics for smart delivery and drug targeting*. 2016:119.
7. Ahirrao SP, Gide PS, Shrivastav B, Sharma P. Iontropic gelation: a promising cross linking technique for hydrogels. *J Pharm Nanotechnol*. 2014;2:1-6.
8. Kumar S, Dilbaghi N, Saharan R, Bhanjana G. Nanotechnology as emerging tool for enhancing solubility of poorly water-soluble drugs. *Bionanoscience*. 2012;2(4):227-50.
9. Bianchin MD, Borowicz SM, Machado GdRM, Pippi B, Guterres SS, Pohlmann AR, et al. Lipid core nanoparticles as a broad strategy to reverse fluconazole resistance in multiple *Candida* species. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2019;175:523-9.
10. Bergaya F, Lagaly G. General introduction: clays, clay minerals, and clay science. *Developments in clay science*. 2006;1:1-18.
11. Ombaka O. Characterization and classification of clay minerals for potential applications in Rugi Ward, Kenya. *African Journal of environmental science and Technology*. 2016;10(11):415-31.
12. Cheng Y, Lin H, Chen Z, Megharaj M, Naidu R. Biodegradation of crystal violet using *Burkholderia vietnamiensis* C09V immobilized on PVA–sodium alginate–kaolin gel beads. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2012;83:108-14.
13. Rowe RC, Sheskey P, Quinn M. *Handbook of Pharmaceutical Excipients sixth edition ed: Libros Digitales-Pharmaceutical Press*; 2009.
14. Bristow CM. The genesis of the china clays of Southwest England-A multistage story. *Special Publication, The Clay Minerals Soc*. 1993;1:171-203.
15. Prasad M, Reid K, Murray H. Kaolin: processing, properties and applications. *Applied clay science*. 1991;6(2):87-119.
16. Panda AK, Mishra BG, Mishra DK, Singh RK. Effect of sulphuric acid treatment on the physico-chemical characteristics of kaolin clay. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2010;363(1-3):98-104.
17. Varga G. The structure of kaolinite and metakaolinite. *Epitoanyag*. 2007;59(1):6-9.
18. Smrdel P, Bogataj M, Mrhar A. The influence of selected parameters on the size and shape of alginate beads prepared by ionotropic gelation. *Scientia Pharmaceutica*. 2008;76(1):77-90.
19. Siepmann J, Peppas NA. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Advanced drug delivery reviews*. 2012;64:163-74.
20. Nezami S, Sadeghi M. pH-sensitive free AgNPs composite and nanocomposite beads based on starch as drug delivery systems. *Polymer Bulletin*. 2020;77(3):1255-79.
21. Rehman S, Gilhotra R, Mahendra P. Development and evaluation of colon specific sustained release gel beads of Aceclofenac. 2016
22. Li ZQ, Hou LD, Li Z, Zheng W, Li L, editors. Study on shape optimization of calcium–alginate beads. *Advanced Materials Research*; 2013: Trans Tech Publ.
23. Mukhopadhyay P, Sarkar K, Soam S, Kundu P. Formulation of pH-responsive carboxymethyl chitosan and alginate beads for the oral delivery of insulin. *Journal of Applied Polymer Science*. 2013;129(2):835-45.

24. Liang R, Liu M. Preparation of poly (acrylic acid-co-acrylamide)/kaolin and release kinetics of urea from it. *Journal of Applied Polymer Science*. 2007;106(5):3007-15.
25. Fetih G. Fluconazole-loaded niosomal gels as a topical ocular drug delivery system for corneal fungal infections. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2016;35:8-15.
26. Teleginski LK, Maciel AB, Mendes C, Silva MAS, Bernardi LS, de Oliveira PR. Fluconazole–excipient compatibility studies as the first step in the development of a formulation candidate for biowaiver. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2015;120(1):771-81.
27. Khan MI, Khan HU, Azizli K, Sufian S, Man Z, Siyal AA, et al. The pyrolysis kinetics of the conversion of Malaysian kaolin to metakaolin. *Applied Clay Science*. 2017;146:152-61.
28. Yadava SK, Patil JS, Mokale VJ, Naik JB. Sodium alginate/HPMC/liquid paraffin emulsified (o/w) gel beads, by factorial design approach; and in vitro analysis. *Journal of sol-gel science and technology*. 2014;71(1):60-8.
29. Miranda-Trevino JC, Coles CA. Kaolinite properties, structure and influence of metal retention on pH. *Applied Clay Science*. 2003;23(1-4):133-9.
30. Pradhan AK, Rana PK, Sahoo PK. Biodegradability and swelling capacity of kaolin based chitosan-g-PHEMA nanocomposite hydrogel. *International journal of biological macromolecules*. 2015;74:620-6.
31. Dainty A, Goulding K, Robinson P, Simpkins I, Trevan M. Stability of alginate-immobilized algal cells. *Biotechnology and bioengineering*. 1986;28(2):210-6.

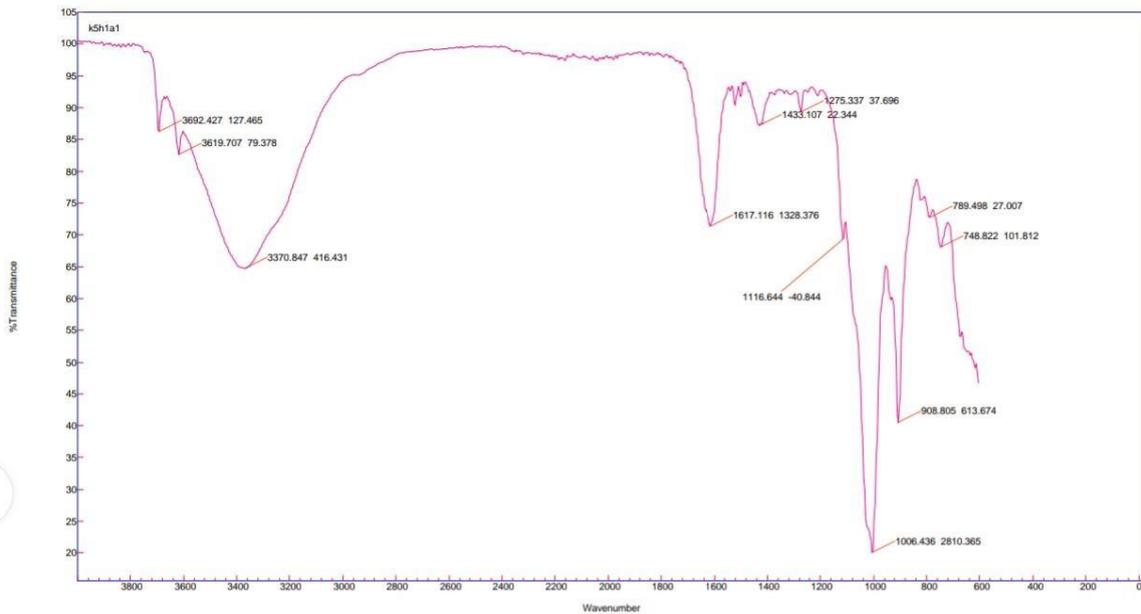
Annexes

Agilent Resolutions Pro



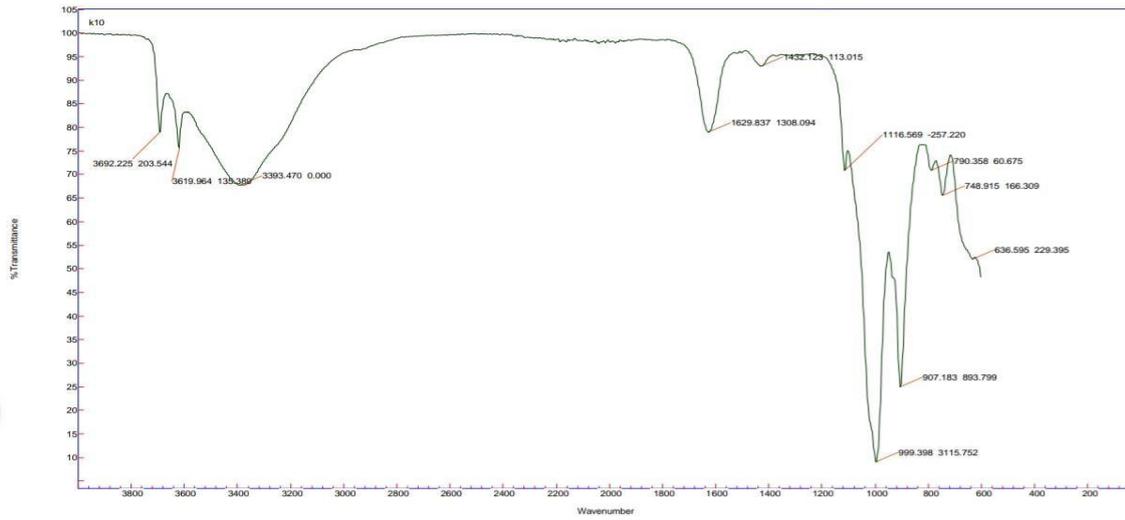
Annexe 1: Le spectre FTIR de la formule P2 (2.5% kaolin, 1% HPMC, 1% alginate)

Agilent Resolutions Pro



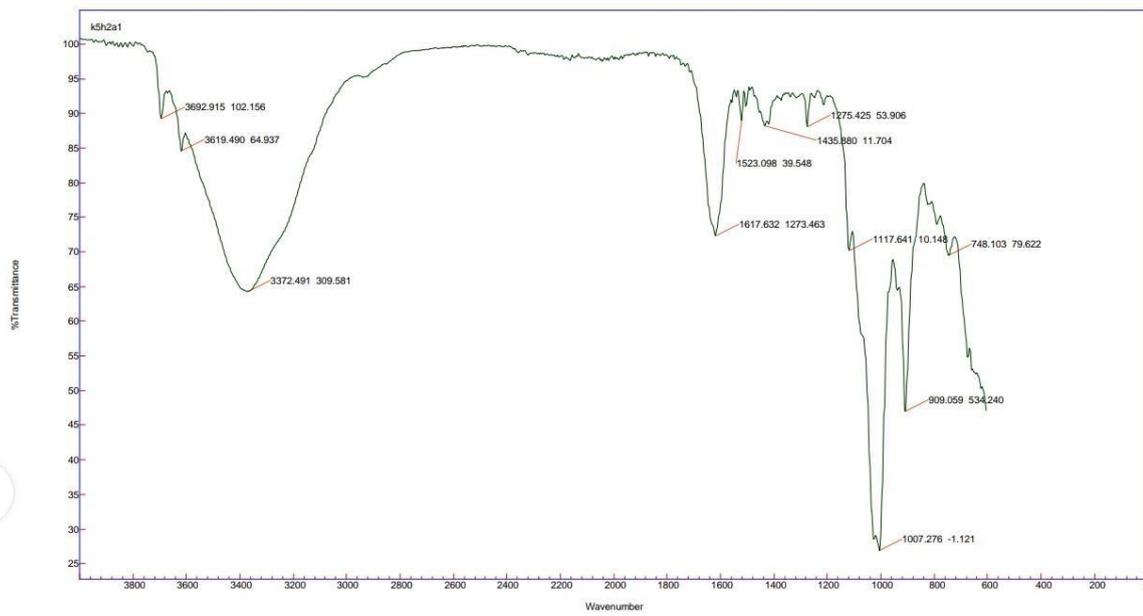
Annexe 2: Le spectre FTIR de la formule P3 (5% kaolin, 1% HPMC, 1% alginate)

Agilent Resolutions Pro



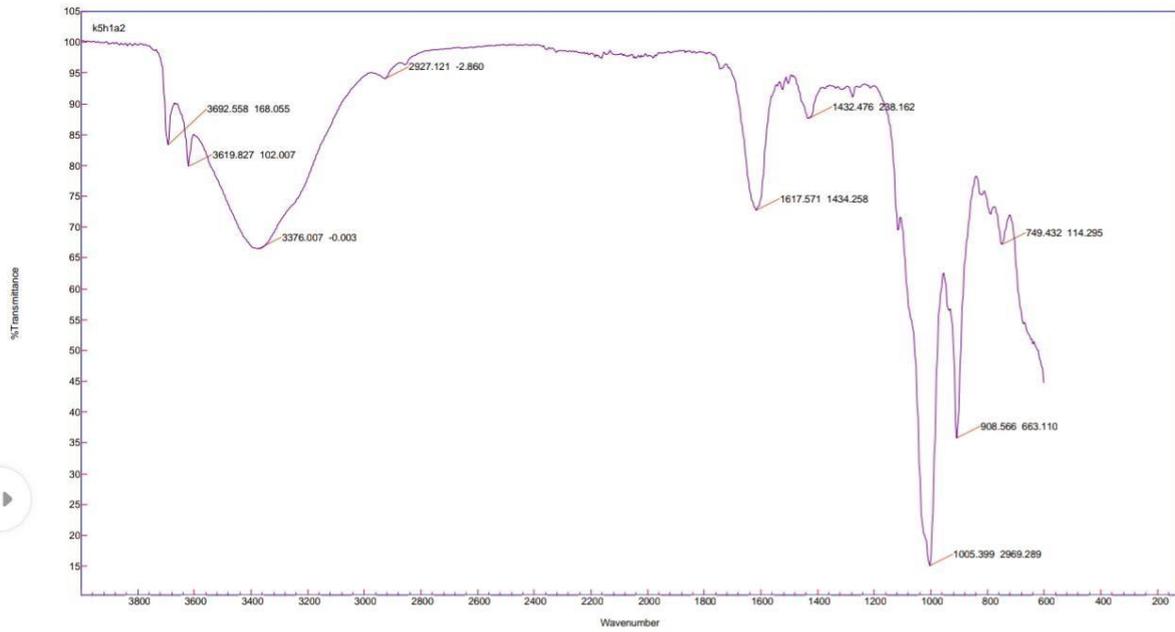
Annexe 3 : Le spectre FTIR de la formule P4 (10% kaolin, 1% HPMC, 1% alginate)

Agilent Resolutions Pro



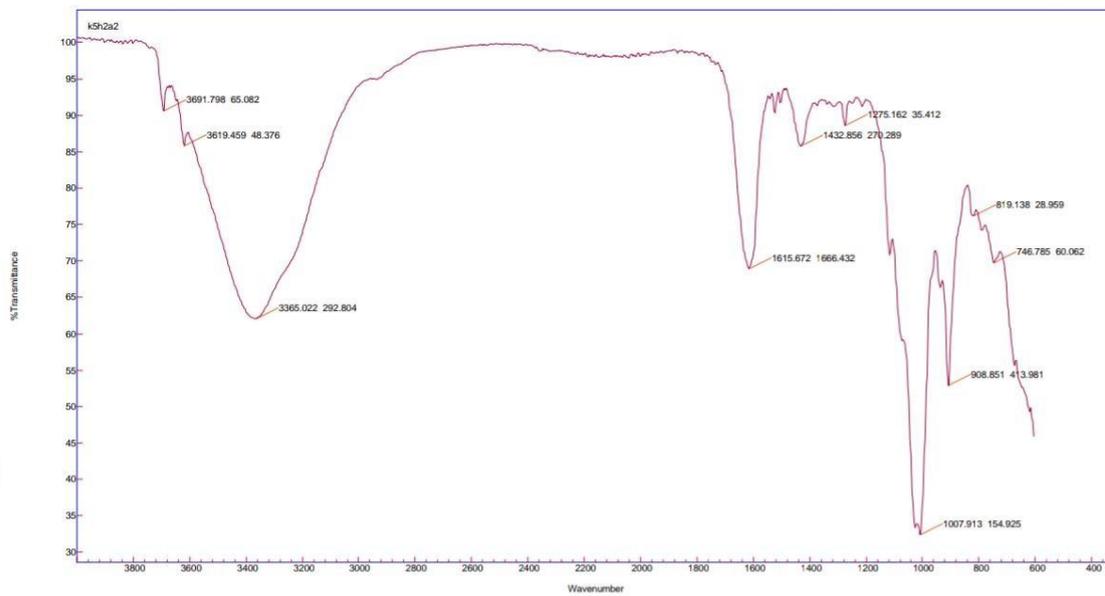
Annexe 4: Le spectre FTIR de la formule P6 (5% kaolin, 2% HPMC, 1% alginate)

Agilent Resolutions Pro



Annexe 5: Le spectre FTIR de la formule P7 (5% kaolin, 1% HPMC, 2% alginate)

Agilent Resolutions Pro



Annexe 6 : Le spectre FTIR de la formule P5 (5%kaolin, 2% HPMC, 2% alginate)

Résumé :

L'encapsulation du fluconazole a été réalisée dans des billes à base du kaolin, de l'HPMC et d'alginate de sodium. La méthode de gélification ionique a été utilisée pour l'obtention de ces billes. Le kaolin a été dispersé dans la suspension par le chauffage à reflux à 90°C pendant 1H sous agitation à 400 rpm. L'HPMC et le SA ont été ajoutés progressivement sous agitation à 90°C. Les billes ont été formées par extrusion à partir d'une seringue placée à 20 cm au dessus d'une solution de CaCl₂ à 5%. Les rapports kaolin/HPMC/alginate ont été variés afin de déterminer leur influence sur les billes et leur comportement de gonflement et sur la libération du FLZ. Le taux de gonflement a été calculé suite à la pesée des billes à des intervalles du temps réguliers (24H et 48H). Le taux de libération a été déterminé par un dosage du fluconazole par spectrophotométrie ultraviolet/visible à 260 nm. Le gonflement dans le PBS était meilleur que dans l'eau distillée. Le meilleur taux de gonflement a été obtenu avec la formule P5 en utilisant le rapport HPMC/Alginate 2%/2%. Le taux a atteint 159 %. Les billes ont donné une vitesse de libération rapide pendant 48h.

Mots-clés : Billes, encapsulation, fluconazole, gélification ionique, gonflement, libération.

Abstract:

Encapsulation of fluconazole was performed in kaolin, HPMC and sodium alginate beads. The ionic gelification method was used to obtain these beads. Kaolin was dispersed in the suspension by the reflux heater at 90 °C for 1H under agitation at 400 rpm. HPMC and SA were added gradually under agitation at 90°C. The beads were extruded from a syringe placed at 20 cm above a 5% CaCl₂ solution. The kaolin/HPMC/alginate ratios were varied in order to determine their influence on the beads and their swelling behavior and on the release of FLZ. The swelling rate was calculated by the weighing of the beads at regular time intervals (24H and 48H). The release rate was determined by a fluconazole assay using ultraviolet/visible spectrophotometry at 260 nm. The swelling in the PBS was better than in the ED. The best swelling rate was obtained with the P5 formula using the HPMC/Alginate 2%/2% ratio. The rate reached 159%. The beads gave speed release rates for 48h.

Keywords: Beads, encapsulation, fluconazole, ionic gelification, release, swelling.

المخلص

تم إجراء تغليف الفلوكونازول في كريات تحتوي على كل من الكاولين هيدروكسي بروبييل السليلوز وألجينات الصوديوم. تم استخدام طريقة إنتاج الهلام الأيونية للحصول على هذه الكريات بحيث يتم تشتيت الكاولين في المعلق بالتسخين تحت التكتيف الراجع عند 90 درجة مئوية لمدة ساعة مع التحريك عند 400 دورة في الدقيقة. تمت إضافة هيدروكسي بروبييل السليلوز وألجينات الصوديوم تدريجياً مع التحريك عند 90 درجة مئوية. تم تقطير المعلق من حقنة موضوعة فوق محلول محلول 5٪ من كلوريد الكالسيوم. تباينت نسب الكاولين هيدروكسي بروبييل السليلوز وألجينات الصوديوم من أجل تحديد تأثيرها على الكريات و انتفاخها وعلى تحرير الفلوكونازول. تم حساب معدل الانتفاخ بعد قياس وزن الكريات على فترات زمنية منتظمة (24 ساعة و 48 ساعة). تم تحديد معدل التحرير عن طريق قياس كمية الفلوكونازول عن طريق قياس الطيف الضوئي فوق البنفسجي عند 260 نانومتر. كان الانتفاخ في محلول متعادل الفوسفات أفضل منه في الماء المقطر. تم الحصول على أفضل معدل للانتفاخ باستخدام الصيغة (ب5) التي تحتوي على كل من هيدروكسي بروبييل السليلوز وألجينات الصوديوم بنسبة 2 مئوية حيث بلغت النسبة 159 مئوية. أعطت الكريات معدل إطلاق متوسط لمدة 48 ساعة.

الكلمات المفتاحية: التغليف ، الفلوكونازول ، الجيلاتين الأيوني ، الكريات ، الانتفاخ ، التحرير