

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
People's Democratic Republic of Algeria
The Minister of Higher Education and Scientific Research
ⵜⴰⴳⴷⴰⵢⵜ ⵜⴰⵎⴳⴷⴰⵢⵜ ⵜⴰⵏⵔⴰⵢⵜ ⵜⴰⵎⴳⴷⴰⵢⵜ ⵜⴰⵏⵔⴰⵢⵜ ⵜⴰⵎⴳⴷⴰⵢⵜ

ABOU BEKR BELKAID UNIVERSITY
TLEMCEM
FACULTY OF MEDICINE- Dr. B.
BENZERDJEB
PHARMACY DEPARTMENT



جامعة أبو بكر بلقايد - تلمسان
كلية الطب - د. ب. بن زرجب
قسم الصيدلة

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

THÈME :

Etude de la libération in vitro d'une crème cosmétique

Présenté par :

BAGHLI Ikram

ELACHACHI Ilhem

Soutenu le **28 juin 2022**

Jury

Président :

Dr ABOUREJEL. N

Maitre de conférences en toxicologie

Membres :

Dr GUENDOZ. S

Maitre assistante en pharmacie galénique

Dr YUCEF. A

Maitre assistante en pharmacologie

Encadrant :

Dr BENATTA. D

Maitre assistante en pharmacie galénique

Année universitaire : 2021-2022

Remerciements

Louange à Dieu tout puissant qui nous a donné la foi, la santé et le courage pour pouvoir réaliser ce mémoire de fin d'étude.

On aimerait remercier très sincèrement notre encadrante madame D.BENATTA pour le sujet passionnant qu'elle nous a accordé, pour son temps, son soutien, sa patience et ses conseils tout au long de ce travail.

On tient également à remercier les membres du jury qui ont accepté d'évaluer notre travail. Merci à la Présidente Docteur N.ABOURIJEL maitre de conférences en toxicologie, aux examinatrices, Docteur S.GUENDOUZ maitre assistante en pharmacie galénique et Docteur A.YOUCEF maitre assistante en pharmacologie.

Nos remerciements vont aussi au directeur de laboratoire de chimie et électrochimie de l'université ABOU BEKR BELKAID, le Professeur Y.HAREK d'avoir mis à notre disposition le laboratoire et l'équipement et en collaboration avec le laboratoire de pharmacie galénique de nous avoir fournis le matériel. Ceci nous a permis de faire les manipulations nécessaires à nos expérimentations.

Nous exprimons notre reconnaissance à tous les enseignants et enseignantes qui ont assuré notre formation.

Ces remerciements ne seraient pas complets sans une pensée à nos familles. Merci à vous tous et particulièrement à nos parents pour leurs soutiens moraux et leurs encouragements.

Enfin, on ne peut que partager la satisfaction et la joie avec ceux qui, pour une raison ou pour une autre, nous ont aidés à la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

C'est avec une extrême gratitude et un louage à DIEU que je dédie ce mémoire ;

À ma merveilleuse et tendre mère,

Qui a toujours été près de moi et a toujours veillé à me soutenir, m'encourager, m'épauler, m'aimer telle que je suis. Elle a été ma force tout au long de ce parcours, Aucune dédicace ne pourrait être assez éloquente pour lui exprimer tout mon amour.

À mon très cher père,

Mon exemple de persévérance, qui m'a soutenu dans mes choix, fait en sorte de m'offrir le meilleur et veille à ce que je ne manque de rien, je lui exprime toute ma reconnaissance.

À mes frères Taha et Elhadi

Ma source de joie et de bonheur, toujours à mes côtés, je vous exprime ma gratitude.

À mes tantes ; Zeyneb, Syhem et Hayet,

Bien plus que des tantes, merci de me soutenir et de prendre soin de moi.

À ma belle-sœur Djazia

Qui a ajouté sa bonne énergie à la famille.

À mes grands-parents,

Pour leur sagesse, leurs conseils et leurs Douaa'. Je vous exprime toute mon affection.

À toutes mes tantes et oncles, mes cousins et cousines,

À chaque membre de ma famille petit et grand, je suis chanceuse de vous avoir dans ma vie.

À toutes mes amies et à mon amie Ikram,

Sans toi ce travail n'aurait pu voir le jour, je te remercie pour ta bonté et ta bienveillance.

À tous ceux qui ont contribué à ce travail de près ou de loin, merci.

Shem

Dédicaces

Je dédie mon mémoire

À mon très cher père

D'avoir toujours été à mes côtés, de m'avoir enseigné, encouragé, de l'amour qu'il me porte et à être avant tout le meilleur des pères.

À ma très chère mère

Pour ses précieux conseils, son soutien, l'amour qu'elle me porte et d'être la meilleure des mamans.

À mon frère Mehdi, ma sœur Ismahan, à Wafaa et Selmane

Leurs encouragements, leurs bienveillances, leurs amours et chouchoutements m'ont aidé

À mes nièces Afnene, Nouha, Bayane et Jinene

Qui depuis leurs naissances ont illuminé ma vie et qui par leurs présences me donnent la force de donner le meilleur de moi-même.

À mes grands-parents et à toute ma famille

Qui m'ont toujours soutenu, encouragé et ont fait des vœux pour moi.

À mon binôme Ilhem

Qui par sa gentillesse, par son sérieux au travail et par sa jovialité, on a pu accomplir ce travail.

À mes amies Khaoula, Amina, Ghizlene, Faiza, Youssra, Ismehene

Avec lesquelles j'ai partagé de bons moments, qui m'ont encouragé et ont été à mes côtés.

Ikram

Table des matières

REMERCIEMENTS	I
DEDICACES	II
DEDICACES	III
TABLE DES MATIERES	III
Liste des tableaux	IX
Liste des figures	X
Liste des symboles	XII
ACRONYMES ET ABREVIATIONS	XIII
INTRODUCTION GENERALE	1

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : LA PEAU	5
I.1 STRUCTURE GENERALE.....	6
I.1.1 L'épiderme.....	7
I.1.2 La jonction dermo-épidermique.....	7
I.1.3 Le derme	8
I.1.4 L'hypoderme.....	8
I.1.5 Annexes cutanées.....	9
I.2 ROLE ET FONCTION DE LA PEAU	9
I.2.1 Fonction barrière.....	9
I.2.2 Rôle de perception	10
I.2.3 Rôle de maintien de la température corporelle	10
I.2.4 Rôle de défense	10
I.2.5 Rôle de stockage des substances lipidiques	10
I.2.6 Rôle de réservoir.....	10
I.2.7 Rôle esthétique.....	10
I.2.8 La flore cutanée	11
I.3 LES NIVEAUX D'ALTERATION DE LA PEAU PAR LE VIEILLISSEMENT.....	11
I.3.1 Au niveau de l'épiderme.....	12
I.3.2 Au niveau de la jonction dermo-épidermique.....	12

I.3.3	Au niveau du derme	13
I.3.4	Au niveau de l'hypoderme.....	13
I.4	LA PENETRATION CUTANEE.....	13
I.4.1	Le partage	14
I.4.2	La diffusion.....	14
I.4.2.1	La diffusion transmembranaire	14
I.4.2.2	Le transport actif	14
I.4.2.3	Les lois de diffusion.....	15
CHAPITRE II : LIBERATION D'UNE CREME DESTINEE A LA VOIE		
TRANSCUTANEE	17
II.1	LES TYPES DE LIBERATION EN DERMOCOSMETOLOGIE	18
II.1.1	La libération en rafale.....	18
II.1.2	La libération prolongée.....	19
II.2	LES ETUDES DE LIBERATION	19
II.2.1	La libération in vivo	19
II.2.2	La libération in vitro	20
II.2.2.1	Test de libération in vitro (IVRT)	20
II.2.2.2	Test de perméation in vitro (IVPT)	21
II.2.2.3	Le système Side-Bi-Side (SBS).....	21
II.2.2.4	Chambre de culture cellulaire.....	22
II.3	L'EQUIPEMENT UTILISE DANS L'ETUDE DE LIBERATION IN VITRO	22
II.3.1	La membrane	22
II.3.1.1	Les membranes naturelles	22
II.3.1.1.1	La peau humaine.....	22
II.3.1.1.2	La peau des animaux	23
II.3.1.2	Les membranes modifiées ou synthétiques	23
II.3.1.2.1	Equivalentes de la peau humaine	23
II.3.1.2.2	Les membranes synthétiques ou artificielles.....	23
II.3.2	La substance d'essai	24
II.4	LA CINETIQUE DE LIBERATION IN VITRO.....	24
II.4.1	Méthodes statistiques.....	24
II.4.1.1	Approche multivariée (MANOVA)	24
II.4.1.2	L'analyse de la variance (ANOVA).....	24
II.4.2	Méthodes dépendantes des modèles	24

II.4.2.1	Modèle d'ordre zéro	25
II.4.2.2	Modèle cinétique de premier ordre.....	25
II.4.2.3	Modèle de Higuchi	25
II.4.2.4	Modèle de Korsmeyer-Peppas.....	26
II.5	LES PARAMETRES INFLUENÇANT LA LIBERATION IN VITRO	26
II.5.1	L'hydratation de la membrane de diffusion	27
II.5.2	Concentration du diffusant	27
II.5.3	Dommages dans les membranes utilisées.....	27
II.5.4	Nature physicochimique de la substance active	27
II.5.5	Formation de la couche limite de diffusion.....	28
II.5.6	La vitesse d'agitation	29
II.5.7	La composition du compartiment donneur et récepteur	29
II.5.8	La viscosité.....	29
CHAPITRE III	: LES PRODUITS DERMOCOSMETIQUES	30
III.1	DÉFINITIONS.....	31
III.2	ROLE D'UN PRODUIT COSMETIQUE DESTINEE A LA VOIE CUTANEE.....	32
III.3	COMPOSITION D'UN PRODUIT COSMETIQUE	32
III.3.1	Substances actives	33
III.3.2	Excipients	33
III.3.3	Additifs.....	33
III.4	LES FORMES GALÉNIQUES SEMI-SOLIDES POSSIBLES POUR LES COSMÉTIQUES	34
III.4.1	Pommades	34
III.4.2	Gels	35
III.4.3	Pâtes	35
III.4.4	Crèmes.....	35

DEUXIEME PARTIE : ÉTUDE EXPERIMENTALE

I.	INTRODUCTION	38
II.	MATERIELS ET METHODOLOGIE	39
II.1	Matériels et réactifs	39
II.2	Protocole expérimental	41
II.2.1	Principe de l'étude.....	42
II.2.2	La molécule étudiée.....	42

II.2.2.1 Définition et structure	42
II.2.2.2 Utilisation de la vitamine C en cosmétologie.....	43
II.2.2.3 Méthode de dosage de la vitamine C.....	43
II.2.2.3.1 Méthode titrimétrique	43
II.2.2.3.2 Méthode spectrophotométrique	44
II.2.2.3.3 Méthode chromatographique.....	44
II.3 Les conditions d'expérimentation	45
II.3.1 Le système de diffusion.....	45
II.3.2 La membrane	47
II.3.3 La solution réceptrice	48
II.3.4 La nature et la quantité des crèmes.....	49
II.3.5 La température et la vitesse d'agitation.....	49
II.3.6 l'échantillonnage	50
II.3.7 La méthode de dosage	50
II.3.8 Traitement des résultats	50
II.3.9 Protocole expérimental d'étude de la cinétique de libération	51
III. RESULTATS.....	55
III.1 Etablissement de la courbe d'étalonnage	55
III.2 Résultats de la libération in vitro de la crème 1	56
III.3 RESULTATS DE LA LIBERATION IN VITRO DE LA CREME 2.....	58
III.4 Résultats de la libération in vitro de la crème 3	60
III.5 Étude comparative des trois crèmes	62
III.5.1 Les profils des pourcentages des quantités cumulées libérés.....	62
III.5.2 Les modèles cinétiques des trois crèmes.....	63
III.5.2 Les coefficients de détermination R^2 et les coefficients de libération k	64
III.5.3 Le temps de latence et coefficient de perméabilité :	65
IV. DISCUSSION.....	66
CONCLUSION	70
REFERENCES.....	73

Liste des tableaux

Tableau I : Mécanisme de libération selon exposant n	26
Tableau II : Les concentrations, quantités, quantités cumulées, perméation, pourcentage de la quantité cumulée en fonction du temps de la crème 1	56
Tableau III : Les concentrations, quantités, quantités cumulées, perméation, pourcentage de la quantité cumulée en fonction du temps de la crème 2	58
Tableau IV : Les concentrations, quantités, quantités cumulées, perméation, pourcentage de la quantité cumulée en fonction du temps de la crème 3	60
Tableau V : Comparaison des paramètres des modèles cinétiques	65
Tableau VI : Résultats de l'exposant "n" du modèle Korsmeyer Peppas	65
Tableau VII : Flux, temps de latence et coefficient de perméabilité des trois crèmes.....	65

Liste des figures

Figure 1 : Schéma représentant les différents constituants de la peau	6
Figure 2 : Représentation d'un vieillissement cutané.....	12
Figure 3 : Schéma de la cellule de Franz	21
Figure 4 : Les différents types d'émulsion	36
Figure 5 : Laboratoire de recherche Tlemcen	39
Figure 6 : La cellule de Franz.....	40
Figure 7 : Le spectrophotomètre UV.....	40
Figure 8 : La plaque chauffante.....	40
Figure 9 : Le pH mètre	40
Figure 10 : Bain à ultrasond	40
Figure 11 : Thermomètre électronique.....	40
Figure 12 : Balance électronique.....	41
Figure 13 : Ordinateur	41
Figure 14 : Structure chimique du L-ascorbique.....	42
Figure 15 : Schéma dimensionnel de la cellule Franz utilisée	47
Figure 16 : Image réelle de la cellule de Franz utilisée.....	47
Figure 17 : Le montage de la cellule avec membrane et crème	52
Figure 18 : La mise en marche du système de libération	53
Figure 19 : Echantillonnage	53
Figure 20 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique	55
Figure 21 : Courbe de la quantité cumulée en fonction du temps de la crème 1	57
Figure 22 :Modèle d'ordre 0 de la crème 1	57
Figure 23 : Modèle d'ordre 1 de la crème 1	57
Figure 24 : Modèle Higuchi de la crème 1	58

Figure 25: Modèle de Korsmeyer Peppas de la crème 1	58
Figure 26: Courbe de la quantité cumulée en fonction du temps de la crème 2	59
Figure 27 : Modèle d'ordre 0 de la crème 2	59
Figure 28 : Modèle d'ordre 1 de la crème 2	59
Figure 29 : Modèle de Higuchi de la crème 2	60
Figure 30 : Modèle de Korsmeyer Peppas de la crème 2.....	60
Figure 31 : Courbe de la quantité cumulée en fonction du temps de la crème 3	61
Figure 32 : Modèle d'ordre 0 de la crème 3	61
Figure 33: Modèle d'ordre 1 de la crème 3	61
Figure 34: Modèle Higuchi de la crème 3	62
Figure 35: Modèle de Korsmeyer Peppas de la crème 3.....	62
Figure 36: Comparaison des pourcentages des quantités cumulées en fonction du temps des trois crèmes	62
Figure 37: Comparaison du modèle d'ordre 0 des trois crèmes	63
Figure 38 : Comparaison du modèle d'ordre 1 des trois crèmes	63
Figure 39 : Comparaison du modèle de Higuchi des trois crèmes.....	64
Figure 40 : Comparaison du modèle de Korsmeyer-Peppas des trois crèmes	64

Liste des symboles

E/H : émulsion huile dans l'eau.

E/H/E : émulsion eau dans l'huile dans l'eau.

H/E : émulsion eau dans l'huile.

H/E/H : émulsion huile dans l'eau dans l'huile.

A : absorbance.

ϵ : constante nommée absorptivité molaire.

λ : longueur d'onde.

l : longueur du trajet parcouru par la lumière dans le milieu considéré.

t : temps.

A₀ : quantité initiale de la substance dans la solution.

A_t : quantité de de la substance libérée au cours du temps "t".

K₀ : Constante de libération d'ordre zéro.

K₁ : Constante de libération du premier ordre.

K_H : constante de libération du modèle de Higuchi

K_P : constante de libération du modèle de Korsmeyer Peppas.

n : exposant de libération.

J : flux.

C : la concentration de la substance diffusante.

D : le coefficient de diffusion.

x : la distance de mouvement perpendiculaire à la surface de la barrière.

l : l'épaisseur.

T_{Lag} : le temps de latence.

% : pourcentage.

R² : coefficient de détermination.

tr/min : tour par minute.

°C : degré Celsius.

Acronymes et abréviations

- AMM** : Autorisation de Mise sur le Marché.
- ANOVA** : Analyse de la variance.
- CA** : membrane d'acétate de cellulose.
- CE** : Communauté européenne.
- CL** : Chromatographie liquide.
- DC** : compartiment donneur.
- DCIP** : 2,6-dichlorophenolindophenol.
- EMA** : Agence européenne des médicaments.
- FDA** : l'organisme Food and Drug Administration des États-Unis.
- HPLC** : chromatographie en phase liquide à haute performance.
- IVPT** : Test de perméation in vitro.
- IVRT** : Test de libération in vitro.
- OCDE** : l'Organisation de coopération et de développement économiques.
- PA** : principe actif.
- PAMPA** : test de perméabilité à membrane artificielle parallèle.
- PBS** : tampon phosphate.
- pH** : potentiel d'hydrogène.
- RC** : compartiment receveur.
- SBS** : système Side-Bi-Side.
- ST**: startum corneum.
- USP** : Pharmacopée des États-Unis.

Introduction générale

L'enjeu majeur des industries pharmaceutiques et dermocosmétiques est d'établir la meilleure forme galénique qui répond à l'effet recherché. Ceci met en jeu l'implication de plusieurs paramètres dont les propriétés physicochimiques du principe actif, le choix des excipients utilisés ainsi que le type de formulation.

Pour atteindre la cible, le principe actif doit d'abord quitter son support galénique, ceci est appelé la libération. Les vitesses de libération, depuis le support galénique peuvent être modulées à la fois par les propriétés du support lui-même et de celles du principe actif. Un grand nombre de systèmes a été mis au point et développé dont les émulsions qui offrent un réel potentiel par leur stabilité et leur capacité importante de solubilisation de molécules hydrophiles (1).

Les études de libération sont exposées dans de nombreux travaux et illustrées sous différentes classes en étude *in vivo*, *ex vivo* et *in vitro*. Ces dernières sont les plus approuvées car elles comportent plusieurs intérêts dont la facilité de l'étude, la disponibilité du matériel, la prédiction du comportement *in vivo* et l'analyse des mécanismes impliqués (2, 3). De plus, les tests de libération *in vitro* sont recommandés par l'organisme Food and Drug Administration des États-Unis (FDA) comme une mesure de l'homogénéité du produit pendant la mise à l'échelle des formes semi-solides (4).

Il est connu que les méthodes de libération exigent l'éviction de la dissolution ou la dispersion du semi-solide dans le récepteur pour éviter la perturbation physique du milieu. Cet inconvénient est soulevé par l'application d'une membrane appropriée entre le semi-solide et le récepteur ce qui n'était pas le cas dans les études les plus anciennes. De plus, le transport à travers la membrane poreuse est beaucoup plus rapide qu'à travers le semi-solide seul (4). Une des techniques récentes utilisant cela, est la technique de Franz qui est une cellule de diffusion statique largement utilisée dans les études de libération *in vitro*. Cette méthode présente des avantages, tels que peu de manipulation des tissus, pas de prélèvement continu d'échantillons, une faible quantité de médicaments nécessaire à l'analyse et l'évaluation des formules transdermiques. En conséquence, elle est préférable pour modéliser la libération des médicaments dans le cas des systèmes d'administration par voie cutanée (5-8).

Le test de libération *In vitro* permet d'établir une véritable comparaison entre les différentes molécules et les différentes formulations car il caractérise et évalue la performance des formes semi-solides. Ainsi, il est sensible aux changements physico-

chimiques des produits pharmaceutiques (9). D'où l'intérêt de poser la question qui fera l'objet de la problématique « Est-ce que la libération d'une même molécule dans une forme crème dépend du type d'émulsion ? ».

De nombreuses études ont été réalisées afin de cibler la différence de libération entre les émulsions comme celles de Ferreira et al, 1994 (10) et 1995 (11), de Gomes et al, 2004 (12), de Claudio Nastruzzi et al, 1993 (13) et de Zsikó et al, 2020 (7). D'où l'objectif principal de cette étude est la comparaison de la libération in vitro de trois crèmes qui sont différentes par le type d'émulsion en utilisant la cellule de diffusion de Franz. L'influence de la formulation sur le taux de libération et les paramètres cinétiques de libération du principe actif (vitamine C) sont déterminés par cette manipulation. Dans le même contexte que ce travail,

Ce mémoire est présenté en une partie bibliographique et une autre expérimentale.

Dans la partie bibliographique, au premier chapitre, la peau a été abordée avec ses types et ses fonctions car c'est le lieu de l'application des formulations dermocosmétiques. Au deuxième chapitre, le processus de libération d'une forme galénique destinée à la voie cutanée a été évoqué pour connaître les caractéristiques de l'étude. Les produits dermocosmétiques ont été détaillés dans un troisième chapitre.

La partie expérimentale est consacrée aux conditions d'expérimentation, à la mise en marche du système et à la méthode analytique utilisée. Les résultats de chaque crème ont été exposés et discutés.

Et enfin une conclusion générale a été donnée.

Première partie : étude bibliographique



Chapitre I : La peau

La peau, organe vivant, en renouvellement constant, appelée aussi tégument. La peau constitue l'interface entre l'organisme et l'environnement extérieur. Sa mission principale est d'assurer une protection en formant une véritable barrière qui est vitale.

La peau est l'organe le plus lourd et le plus étendu de l'organisme pesant 4 kg avec une surface de 2 m². L'épaisseur de la peau la plus fine est de 1 mm se trouvant au niveau des paupières. Au niveau des paumes et des plantes, considérée comme la plus épaisse, elle est de 4 mm (14). Par convention, une peau est dite épaisse ou fine selon l'épaisseur de son épiderme (15). Il se trouve que dans 1cm² de peau il y a : 10 poils, 10 nerfs, 100 glandes sébacées, 150 glandes sudoripares et 3 millions de cellules (16).

Ceci dit la peau constitue beaucoup plus qu'une simple enveloppe recouvrant le corps, Elle est en effet le siège de nombreuses fonctions : fonction de protection, de thermorégulation, fonction sensorielle, fonction d'échanges, fonctions métaboliques (14).

I.1 structure générale

La structure cutanée est constituée de trois tissus superposés (figure 1) : le tissu le plus externe est l'épiderme (du grec « epi », dessus, et « derma », la peau), la jonction dermo-épidermique comme son nom l'indique sépare l'épiderme du derme, le tissu intermédiaire qui est le derme et enfin le tissu le plus profond est l'hypoderme (du grec « hypo », en dessous). Les phanères (poils et ongles) et de nombreuses glandes exocrines leur sont annexés (14, 15).

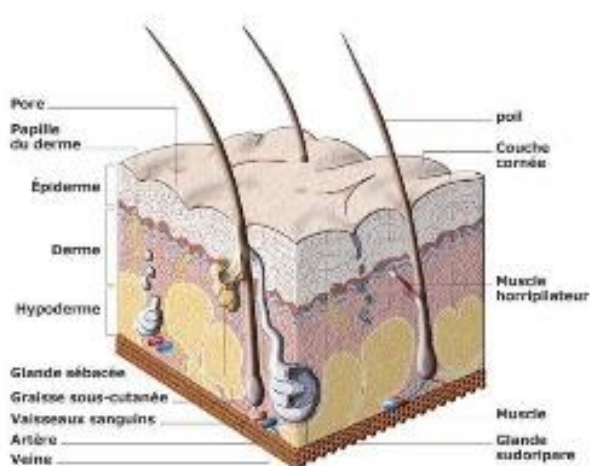


Figure 1 : Schéma représentant les différents constituants de la peau (17)

I.1.1 L'épiderme

L'épiderme est un épithélium de revêtement. Sa fonction principale est la protection de la peau contre les agressions extérieures. Cette fonction est assurée grâce à la cohésion des cellules épithéliales et à la production d'une protéine fibreuse et résistante appelée kératine (14, 15).

Les kératinocytes représentent 80% de l'ensemble des cellules de l'épiderme. En migrant, elles lui confèrent ses caractéristiques morphologiques : stratification en plusieurs couches (15). Ces cellules vivantes ont la particularité de se transformer au cours de la kératinisation pour former différentes couches ayant chacune leur spécificité. Elles finissent par perdre leur noyau pour fournir des cellules quasi-mortes les cornéocytes (18). En général le processus de migration des kératinocytes dure trois semaines (16).

Les cellules de l'épiderme sont attachées entre elles par des structures intercellulaires. Les desmosomes sont attachées au derme par la jonction dermo-épidermique. L'épiderme n'étant pas vascularisé, les substances nutritives et l'eau l'atteignent en transitant par le derme (14, 16). Il contient aussi les mélanocytes qui permettent la pigmentation de la peau, les cellules de langerhans qui garantissent la veille immunitaire, les cellules de Merkel qui sont impliquées dans la sensation mécanique (16, 19).

La couche cornée ou stratum cornéum est la partie la plus superficielle de l'épiderme et la plus fine. Cette partie de la peau est la plus intéressante en cosmétologie, car elle reçoit les produits dermocosmétiques (16).

I.1.2 La jonction dermo-épidermique

La jonction dermo-épidermique est la région acellulaire qui réalise une certaine adhérence entre le derme et l'épiderme. Cette barrière sélective est constituée par deux minces feuillets : la lame basale et la lame réticulaire. La lame basale est composée principalement de fibres de collagènes de type IV et de glycoprotéines. La lame réticulaire est constituée de collagènes de type III. La membrane basale sert d'ancrage aux cellules épithéliales. Elle sert de filtre permettant leur maintien et leur survie (18).

La jonction dermo-épidermique a pour rôle le contrôle des échanges moléculaires et cellulaires entre les deux compartiments. Elle a également un rôle fondamental lors de la

réépidermisation au cours de la cicatrisation cutanée, servant, au travers des glycoprotéines qui la constituent, de support pour l'adhésion et la migration des kératinocytes (20).

L'ensemble couche basale et jonction dermo-épidermique a une structure ondulée caractéristique des peaux jeunes. Au cours du vieillissement, cette structure s'aplatit et la peau se distend (18).

I.1.3 Le derme

Le derme est un tissu conjonctif constitué d'une substance fondamentale, d'une abondante matrice extracellulaire dans laquelle baignent des cellules qui sont les fibroblastes, des fibres de collagène et des fibres élastiques (18, 21). On distingue le derme papillaire, le plus proche de la jonction épidermique, et le derme réticulaire, plus profond, qui représente 80% de l'épaisseur totale du derme (18).

La fonction principale des fibres élastiques est de donner à la peau son élasticité. Leur morphologie et leur composition biochimique sont influencées par le vieillissement intrinsèque et extrinsèque (21). Par ailleurs, la fonction des fibres de collagène est de donner au derme son épaisseur et sa résistance aux forces de traction. La substance fondamentale amorphe est composée de gel de protéoglycanes, contenant de l'acide hyaluronique, C'est à partir de ce réservoir que l'épiderme pompera l'eau nécessaire à son hydratation (16, 21). Enfin les fibroblastes sont des cellules mécano-sensibles. Ce sont des cellules sentinelles, modulant les phénomènes immunitaires locaux ; jouant un rôle fondamental lors des processus de cicatrisation, notamment en se transformant en myofibroblastes (21).

Contrairement à l'épiderme, le derme est traversé par un grand nombre de vaisseaux et, outre son rôle de soutien, il joue un rôle nutritif. Il garantit également un apport en oxygène et assure la thermorégulation (14, 16, 21) .

I.1.4 L'hypoderme

En dessous du derme se trouve une couche de tissu adipeux formant l'hypoderme. Il n'existe pas de solution de continuité entre le derme et l'hypoderme. On observe seulement un changement progressif dans la nature du tissu conjonctif (18).

L'hypoderme possède la même structure que le derme contenant surtout du collagène et un gel de protéoglycane. Il est de plus chargé en adipocytes sous forme d'amas qui

stockent les triglycérides (18). Il constitue la réserve énergétique par ses cellules graisseuses traversées par des vaisseaux et des nerfs (16).

Cette couche hypodermique a essentiellement une fonction d'amortisseur des chocs et de protection du froid par isolation (22).

I.1.5 Annexes cutanées

Dans la peau se trouvent aussi des annexes cutanées comprenant des glandes et des phanères. Les phanères, du mot grec « phaneros » qui signifie apparent, sont les poils et les ongles (14). Les glandes existent en deux sortes : les glandes sudoripares qui excrètent la sueur et les glandes sébacées qui excrètent le sébum. Les glandes sudoripares sont de deux types eccrines et apocrines (15). Les follicules pileux et les glandes sudoripares correspondent à une invagination de l'épiderme, qui se prolonge au niveau du derme profond (23).

Les glandes sudoripares apocrines sont annexées aux follicules pilosébacés. Elles ont une sécrétion opaque grasse et alcaline. Par contre, les glandes sudoripares eccrines sont indépendantes des poils et s'ouvrent directement à la surface de la peau. Elles élaborent un liquide aqueux, incolore et salé que l'on appelle la sueur (22).

I.2 Rôle et fonction de la peau

La peau est un organe complexe dont le fonctionnement a deux finalités : la première, assurer la communication entre l'organisme et le milieu environnant ; la deuxième, protéger l'organisme des agressions extérieures (22).

I.2.1 Fonction barrière

La couche cornée est l'élément protecteur principal de la peau. Elle réalise une barrière quasi imperméable grâce à sa structure et à sa constitution chimique, si son intégrité est conservée (16).

C'est l'ensemble kératine, lipides et structure anatomique qui est responsable de l'effet barrière. Cet effet se manifestera en empêchant la pénétration à travers la peau de substances exogènes mais également en ralentissant la diffusion de l'eau en provenance des couches profondes du derme. Il participe donc de façon active à l'hydratation cutanée (18). Le film cutané de la peau contribue aussi à la protection. Derrière celui-ci se cache ce

que l'on appelle les sécrétions de la peau, qui existent par l'acidité de la peau et les glandes sébacées (22).

I.2.2 Rôle de perception

Les terminaisons nerveuses ressentent chaleur, froid, tact, douleur et prurit. Ces perceptions ont un intérêt de défense et d'adaptation au milieu environnant (mobilisation, échanges thermiques) (15).

I.2.3 Rôle de maintien de la température corporelle

La sécrétion de la sueur aide à réguler la température corporelle. Elle augmente avec la température et provoque un rafraîchissement grâce à son évaporation en surface (22).

I.2.4 Rôle de défense

La défense assure la protection contre les entrées ou les sorties d'eau, la pénétration de substances chimiques ou d'agents infectieux et la photoprotection (15). Bien que la peau est continuellement exposée aux bactéries, la structure des cellules de sa couche cornée prévient leur pénétration (22). Enfin, la peau constitue une protection contre les rayons du soleil, notamment grâce à sa pigmentation (22).

I.2.5 Rôle de stockage des substances lipidiques

La peau assure aussi le renouvellement (épiderme, cycle pileux), la synthèse de la vitamine D sous l'action des UV, l'élimination et les échanges (thermorégulation) (15).

I.2.6 Rôle de réservoir

Les substances liposolubles peuvent être stockées au niveau du ciment lipidique intercellulaire contenant principalement des céramides. Ce sont des sphingolipides plus ou moins polaires, s'organisant en structure lamellaire capable d'intégrer d'autres molécules à l'intérieur de la bicouche ou entre les bicouches (18).

I.2.7 Rôle esthétique

Le stratum corneum est la couche la plus externe de la peau, elle est exposée à une plus grande visibilité. Son rôle en esthétique est en relation avec l'état de surface qui dépend en premier lieu de l'eau fixée et de la desquamation qui est conditionnée par les

facteurs intrinsèques mais aussi le vieillissement et/ou les états pathologiques de la peau. L'état d'hydratation est aussi un facteur important (18).

I.2.8 La flore cutanée

La peau humaine est colonisée par un grand nombre d'espèces bactériennes et fongiques constituant la flore commensale cutanée. La composition de cette dernière résulte d'un équilibre entre les conditions locales et les propriétés métaboliques des micro-organismes. Cette flore se répartit en deux populations distinctes : la flore résidente dont la quantité et la répartition est relativement stable et la flore transitaire qui provient de sources exogènes ou d'autres flores commensales de l'organisme (24).

Une flore microbienne réside de façon stable sur la peau, le plus souvent au niveau de la couche cornée ou au niveau du follicule pileux et varie de manière qualitative et quantitative selon les paramètres d'humidité, de pH et de température (15).

Cette flore saprophyte, participe à la défense de la peau vis-à-vis d'invasions massives et ne doit pas être supprimée. Seule une prolifération exagérée de ces germes est dangereuse (18).

I.3 Les niveaux d'altération de la peau par le vieillissement

Le vieillissement cutané est un processus complexe qui n'est pas complètement élucidé à ce jour. Il résulte de nombreuses interactions biologiques, biochimiques et physiques (25) et se manifeste principalement par le dessèchement cutané. C'est la première altération tangible du revêtement cutané associée à une perte de l'élasticité. Sous l'effet d'une traction, la peau forme un pli durable et ne retrouve que lentement sa position initiale. Au début, seul un examen attentif révèle de très légères plicatures et un relâchement à peine perceptible. Par la suite, ce dessèchement s'accroît donnant naissance à une peau fine, rugueuse, terne, pâle et finement squameuse. Les rides, de plus en plus profondes s'installent (18).

Ce processus physiologique multifactoriel atteint les différentes couches de la peau et des tissus de support induisent un amincissement global de la peau et un affaiblissement de son support adipo-musculaire, conduisant au relâchement cutané (26) (figure 2). Il se manifeste à plusieurs niveaux.

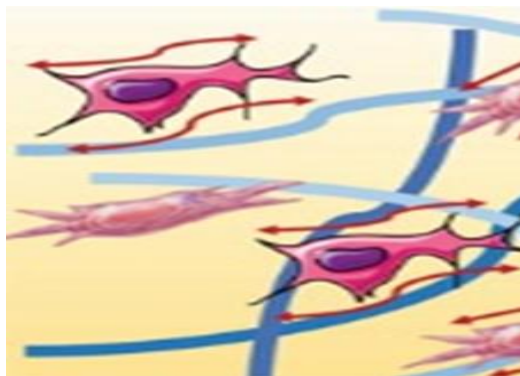


Figure 2 : Représentation d'un vieillissement cutané (27)

I.3.1 Au niveau de l'épiderme

Le relâchement se manifeste au niveau de l'épiderme par un épiderme affiné. Le renouvellement cellulaire est diminué : la prolifération kératinocytaire est ralentie (26). Les fonctions de kératinisation et de transformation des lipides demeurent normales. Le processus de desquamation du SC est altéré par suite de dysfonctionnement des protéinases assurant la disparition des cornéosomes et probablement par la présence de sulfate de cholestérol en excès (18). La couche cornée s'épaissit, devient terne et plusieurs études ont montré une diminution quantitative des stérolestes et triglycérides nécessaires à l'hydratation de la peau. Le nombre de mélanocytes diminue ce qui diminue la protection vis à vis des rayonnements UV. Les mélanocytes restants s'accumulent ou disparaissent totalement, créant des taches achromiques. De plus les cellules de Langerhans diminuent avec l'âge développant une sensibilité aux infections cutanées (28). Enfin la diminution de la sécrétion sébacée intervient pour beaucoup dans l'aspect desséché de la peau, elle contribue à la modification de la composition du film hydrolipidique, en conséquence, à la variation du pH qui devient plus acide et à la moindre capacité de résistance aux agressions de l'environnement et des micro-organismes. En revanche, alors que la sécrétion sébacée diminue, la taille des glandes augmente (18).

I.3.2 Au niveau de la jonction dermo-épidermique

La jonction dermo-épidermique est fragilisée (26). Elle s'aplatit avec dédoublement de la lame basale et une perte des extensions cytoplasmiques des kératinocytes basaux au niveau du derme. En conséquence il y aura une minime cohésion au niveau de l'interface épiderme-derme (18).

I.3.3 Au niveau du derme

Le derme s'atrophie, avec une diminution de la cellularité, de la vascularisation et de la matrice extracellulaire (désorganisation, fragmentation et réduction des fibres de collagène) (26). Une réduction de son épaisseur peut aller jusqu'à 20 % de son épaisseur initiale. Ses constituants sont en grande partie modifiés. Certaines molécules sont produites en plus grande quantité comme le collagène type III, les fibronectines, l'élastase et la collagénase. Les fibres d'élastine du derme papillaire sont touchées en premier lieu et auront tendance à diminuer voire disparaître, alors que celles du derme réticulaire ne sont touchées que plus tard par le vieillissement cutané et auront tendance à augmenter en gardant un aspect désorganisé, fragmenté et dissocié (28). Les fibres de collagène se fragmentent et tendent à s'orienter parallèlement à la surface du derme papillaire. Le vieillissement du collagène correspond à la réticulation des molécules, ce qui rend insoluble, moins résistant et moins élastique (18).

Enfin la substance fondamentale, aussi appelée gel de protéoglycane se modifie en qualité par perte de l'acide hyaluronique et en dermatane sulfate, et en quantité, conduisant à une moindre capacité de fixation de l'eau (18, 28).

I.3.4 Au niveau de l'hypoderme

Le tissu adipeux sous-cutané s'atrophie également (par des mécanismes de sénescence, de lipolyse, et de redistribution viscérale), tout comme les masses musculaires qui s'amyotrophient (26). Au cours du vieillissement il a été observé l'apparition d'une redistribution des graisses avec une diminution de celle du visage. Au niveau de la régression des cellules adipeuses il a été constaté qu'un affaissement de la peau se développe ce qui entraîne l'apparition des rides, des poches sous les yeux (28).

I.4 La pénétration cutanée

Le terme de pénétration cutanée ou « perméation » décrit le chemin qu'entreprend une molécule depuis sa fixation dans les premières couches du stratum corneum jusqu'à son absorption transcutanée. C'est un phénomène de diffusion passive (18) dans lequel le transport actif ne joue aucun rôle (29).

Le passage d'une molécule active suit plusieurs étapes de distribution et de diffusion.

I.4.1 Le partage

Une molécule placée sur la peau subira d'abord le partage entre la formulation et la couche cornée. Quand la substance étudiée possède une solubilité supérieure dans la couche cornée que dans la formulation, le coefficient de partage est important. La couche cornée constitue une barrière lipophile à cause de présence des lipides intercellulaires. Les molécules lipophiles auront un coefficient de partage en faveur de la couche cornée. Ce résultat est inversé pour des molécules hydrophiles. Pour des molécules trop lipophiles un effet de rétention dans la couche cornée peut apparaître. Finalement, la vitesse de perméation d'une substance et son taux d'absorption sont influencés par la solubilité des molécules dans les lipides de la couche cornée (30, 31).

I.4.2 La diffusion

Les études de diffusion permettent de caractériser le potentiel d'absorption d'un composé par la voie cutanée (2). Il existe deux types de diffusion, transmembranaire et transport actif.

I.4.2.1 La diffusion transmembranaire

C'est un processus passif par nature, nécessitant une force motrice qui représente la différence de concentration entre deux milieux. La libération d'une molécule à travers une membrane, se déroule comme suit ; La molécule doit diffuser à travers le véhicule qui la contient jusqu'à l'interface de la membrane où elle se sépare de lui, puis elle sera transportée vers la couche supérieure du milieu. Ensuite, elle diffuse à l'intérieur de la membrane, en s'équilibrant latéralement et doit émerger de la surface distale du milieu. L'interaction adsorptive peut être importante dans cette couche, formant un réservoir de la molécule. Enfin, les molécules sont distribuées aux couches membranaires adjacentes sous l'influence du gradient de concentration, et l'adsorption peut se reproduire à nouveau (32).

I.4.2.2 Le transport actif

Les molécules actives peuvent traverser la peau par trois mécanismes différents, à savoir trans-cellulaire ou intracellulaire, intercellulaire et transappendiculaire (33).

En intracellulaire, un passage direct est emprunté surtout par les molécules de petite taille traversant les cornéocytes recouverts de kératine en se répartissant à l'intérieur et à l'extérieur de la membrane cellulaire (18, 29, 33).

Les ions et les grosses molécules polaires préfèrent la voie transépidermique pour contourner le SC et pénétrer par les glandes sudoripares et sébacées et les follicules pileux mais ce passage est rarement mis en évidence (18, 33).

Le passage intercellulaire est la voie la plus utilisée par les molécules amphiphiles ou lipophiles, ces molécules se propagent autour des kératinocytes à travers des régions extracellulaires riches en lipides (29).

I.4.2.3 Les lois de diffusion

La diffusion d'une substance active à travers une membrane est dépendante du gradient de concentration. Elle chemine du milieu le plus concentré vers le moins concentré (34). La diffusion obéit à loi de Fick (équation 1.1 et 1.2) (18) :

$$J_{eq} = -D \frac{dC}{dx} \quad (\text{Équation 1.1})$$

$$D = \frac{l^2}{6T_{Lag}} \quad (\text{Équation 1.2})$$

J : flux percutané qui peut s'exprimer en $\mu\text{g} / \text{cm}^2 \cdot \text{h}$

C : la concentration de la substance diffusante en $\mu\text{g}/\text{cm}^3$

D : le coefficient de diffusion en cm^2 / h

x : la distance de mouvement perpendiculaire à la surface de la barrière en cm

l : l'épaisseur de la couche cornée en cm

T_{Lag} : le temps de latence en h.

Le signe négatif signifie que la diffusion se produit dans une direction opposée à celle de l'augmentation de la concentration, le flux est donc toujours positif (27).

La première loi de Fick (Équation 1.1) est spécifique à une condition de dose infinie, qui est décrite pour une quantité topique supérieure à $100 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ (ou supérieure à $10 \text{mg}/\text{cm}^2$) (29, 35, 36). Dans ces conditions, le *dC* peut être remplacé par la concentration connue du donneur et la masse perméable par unité de temps est supposée être constante. Par conséquent, un tracé de la quantité cumulée par unité de surface en fonction du temps donne une fonction linéaire avec une pente qui représente le flux en régime permanent. Le temps nécessaire pour atteindre l'état d'équilibre, dans des conditions de dose infinie, est appelé le temps de latence (35).

La deuxième loi de Fick concerne les conditions de dose finie (quantité topique inférieure à 100 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$). La forme la plus conventionnelle de la loi de Fick est le coefficient de perméation apparent (P_{app}) qui représente une mesure indépendante de la résistance de la peau à la perméation de l'ingrédient actif examiné. Il est fréquemment calculé comme montré dans l'équation 2 (29, 35, 36) :

$$P_{app} = J_{ss}/cD \text{ ou } J_{ss} = Kp \cdot C_0 \quad (\text{Equation 2})$$

J_{ss} est le flux à l'état d'équilibre par unité de surface.

Kp est le coefficient de perméabilité pour un soluté donné dans un véhicule donné ($\text{cm} \cdot \text{h}^{-1}$).

L'interprétation de la cinétique souligne la biodisponibilité prévue de l'ingrédient actif, ce qui est important pour garantir l'efficacité des produits semi-solides (35).



Chapitre II : Libération d'une crème destinée à la voie transcutanée

La libération d'une crème par voie cutanée consiste à la délivrance de ses actifs à travers un véhicule pour ensuite diffuser à travers la peau. Lorsqu'il s'agit d'une action thérapeutique de ces actifs, l'augmentation de l'absorption transcutanée est recherchée, pour une action cosmétique, c'est au contraire l'éviction de l'absorption systémique qui est souhaitée en maintenant l'ingrédient actif dans les couches superficielles de la peau (18, 33, 37).

Selon les excipients présents et la nature des composants, il peut exister plusieurs types de libération, dans la dermocosmétique c'est essentiellement la libération prolongée et la libération en rafale les plus communément retrouvées (38).

Les études de libération sont généralement classées selon leur conception et le type de barrière utilisé, en *in vitro* (lignées cellulaires ou membranes artificielles) ; *ex vivo* (tissu disséqué) ; *in vivo* (organisme vivant) (37).

II.1 Les types de libération en dermocosmétique

Pour une application cutanée, deux types de libération sont intéressantes à connaître. La libération en rafale et la libération prolongée (39).

II.1.1 La libération en rafale

La libération en rafale désigne le phénomène selon lequel un bolus initial important d'une substance est libéré à partir des formulations immédiatement après avoir été placé dans le milieu de libération. Elle est souvent considérée comme une conséquence négative dans la libération contrôlée à long terme mais dans d'autres cas elle est utilisée pour améliorer la pénétration des substances actives (taux de libération élevés) (38-40).

Cette libération est surtout aperçue dans le cas des crèmes de type émulsion simple où le principe actif est disponible en phase externe (41).

Dans le cas où la libération en rafale est non souhaitée, elle peut être prévenue en attachant les protéines actives aux hydrogels ou en incorporant des micro/nanosphères chargées en protéines dans une matrice d'hydrogel *in vacuo* (40, 42).

II.1.2 La libération prolongée

C'est le phénomène souhaité en utilisant le système de libération contrôlée. Cette libération est essentielle pour les molécules actives irritantes à hautes concentrations, pour nourrir la peau à un temps allongé, ou bien pour réduire l'absorption systémique (38, 39).

Ce type de libération est retrouvé surtout dans les crèmes à émulsion multiple car le PA dans ce cas-là est obligé de passer par les trois phases ce qui allonge son temps de délivrance (43-45).

II.2 Les études de libération

Les études de libération n'ont pas cessé d'évoluer. Nombreuses sont décrites en littérature, dont la libération in vivo et in vitro.

II.2.1 La libération in vivo

Pour connaître l'interaction d'un composé avec la peau et sa pénétration dans celle-ci, les essais doivent être obtenus in vivo chez l'homme (46). Cet essai consiste à utiliser la technique de stripping du SC humain au ruban adhésif.

La méthode consiste à appliquer uniformément une dose bien déterminée du composé sur des sites cutanés non poilus délimités à l'aide de marqueur sur les avant-bras de volontaires en bonne santé dont le consentement est exigé par écrit. Les échantillons testés sont laissés en contact avec la peau pendant un temps déterminé puis après avoir été soumis à une pression uniforme, la couche du SC est retirée en continu à l'aide d'un ruban à surface constante. Chaque bande est pesée sur une balance de haute précision avant et après l'opération pour quantifier la couche du SC retirée (47, 48).

Connaissant la surface décapée et la densité du SC (1 g/cm³), la différence de poids est facilement convertie en épaisseur de la couche du SC retirée sur chaque bande (masse de SC retirée = surface décapée x épaisseur de la couche du SC retirée x densité du SC) (47, 48).

Hélas, ces procédés reviennent chers, sont longs à réaliser, présentent une grande variabilité biologique et doivent répondre à une approbation éthique (46). C'est pour cela que le modèle in vivo est étudié, surtout pour évaluer la toxicité, l'irritation et l'efficacité du produit. Ainsi, les modèles in vitro sont conçus pour remplacer ces tests, car ils sont nécessaires pour garantir la sécurité et l'efficacité du procédé (49).

II.2.2 La libération in vitro

La libération in vitro d'un composé à partir d'une forme semi-solide donne un aperçu sur la quantité active libre disponible pour se répartir dans le SC. C'est un complément précieux aux études in vivo où les cellules à diffusion statique ou dynamique peuvent indifféremment être utilisées (7, 32, 50). Les caractéristiques communes des études transdermiques in vitro sont ainsi conçues par (29):

- Une chambre réceptrice qui renferme une solution réceptrice généralement agitée;
- Une chambre donneuse qui contient l'échantillon à tester ;
- Une membrane séparant les deux chambres.

La diffusion de la substance du compartiment donneur vers le compartiment récepteur est suivie analytiquement en fonction du temps. Le milieu donneur expose la membrane à une concentration constante de la substance active et la solution réceptrice est supposée maintenir des conditions d'élimination de puits (32, 51).

Il existe plusieurs types d'étude de libération in vitro dont les plus utilisées sont IVRT, IVPT mais également le système SBS et chambre de culture cellulaire :

II.2.2.1 Test de libération in vitro (IVRT)

C'est un système statique qui utilise la cellule de diffusion verticale. Ce dispositif est nécessaire pour la démonstration du taux de libération in vitro car il caractérise et évalue la performance des formes semi-solides. Ainsi, il est sensible aux changements physico-chimiques (9).

La cellule de Franz reste un système de diffusion statique verticale simple, peu coûteux, reproductible, économique, donne des résultats précis analogues à ceux des modèles animaux et est parmi les installations les plus couramment utilisées (35, 46, 52). Elle comprend deux compartiments ; le compartiment supérieur est le compartiment donneur ; le compartiment inférieur est le compartiment récepteur, séparés par une membrane à travers laquelle la diffusion se fait (figure 3).

Concernant le fonctionnement, il est nécessaire d'abord de remplir le compartiment récepteur par une solution appropriée puis faire le montage de la cellule et allumer le système d'agitation. Des prélèvements successifs dans le compartiment récepteur permettent d'établir le profil cinétique de passage au cours du temps (7, 29, 32, 35, 53, 54).

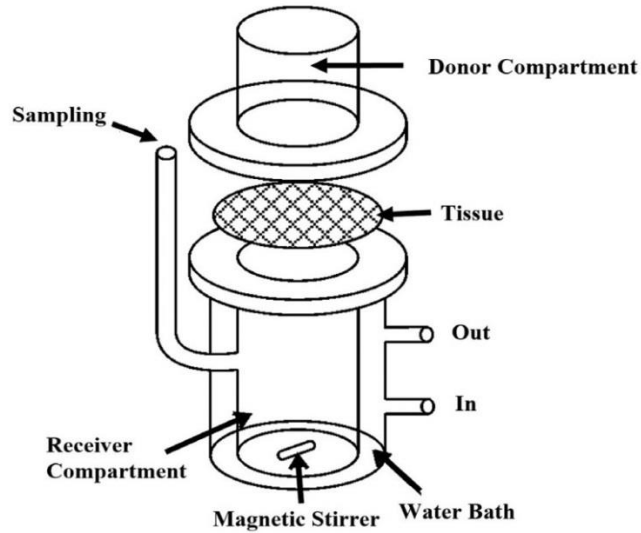


Figure 3 : Schéma de la cellule de Franz (35)

II.2.2.2 Test de perméation in vitro (IVPT)

Ce test de référence permet de comparer la pharmacocinétique cutanée d'un médicament provenant des produits d'essai et de référence en utilisant la peau humaine excisée montée sur un système de cellules de diffusion type cellule de Franz (7, 9). Ce test est une étude parallèle, à répétitions multiples, à dose unique, nécessitant une section de peau témoin non-dosée et un échantillon zéro pré-dosé (9).

L'une des principales différences entre les tests IVRT et IVPT est la membrane utilisée. Dans le cas de l'IVRT, la membrane est synthétique (membranes modèles lipidiques ou non lipidiques), tandis que dans le cas des tests IVPT, la membrane est biologique (par ex. l'épiderme humain). Une IVRT utilisant des cellules de diffusion évalue la vitesse et l'étendue de la libération d'une substance active de la formulation proposée. Une IVPT est utilisée pour caractériser le profil de perméation du médicament (7).

II.2.2.3 Le système Side-Bi-Side (SBS)

C'est un système de diffusion statique horizontal entre deux cellules en demi-verre de même volume et séparées par une membrane. L'une des cellules sert de chambre réceptrice (RC) et l'autre de chambre donneuse (DC) (52).

II.2.2.4 Chambre de culture cellulaire

C'est un dispositif utilisant ou des tissus vivants ou des membranes artificielles dans des conditions physiologiques, fournissant une circulation fluide multiple qui imite le système circulatoire humain avec la vascularisation du tissu d'intérêt. Ce système sert à l'étude des médicaments transdermiques à effet systémique (35).

II.3 L'équipement utilisé dans l'étude de libération in vitro

II.3.1 La membrane

Selon l'USP et FDA, la membrane est destinée à maintenir le produit et le milieu récepteur séparés et distincts. Elle doit offrir le moins de résistance possible à la diffusion et doit être chimiquement inerte, perméable à la substance et ne doit pas limiter la vitesse de libération de l'ingrédient actif (51). Il existe une grande variété de membranes :

II.3.1.1 Les membranes naturelles

II.3.1.1.1 La peau humaine

La peau humaine est le meilleur milieu qui évoque les situations in vivo à condition que la couche cornée reste intacte. Par conséquent, il devrait être possible de concevoir un système in vitro représentatif à partir de tissus humains ou animaux excisés. Cependant, les difficultés rencontrées se résument à la disponibilité limitée de la peau, aux exigences légales pour l'obtenir, à la perméabilité de la peau qui varie selon son obtention à partir des sites anatomiques identiques ou différents et entre des sujets analogues ou distincts (52).

L'utilisation d'un récepteur liquide dans des expériences transdermiques avec de la peau de cadavres humains peut entraîner une dégradation de la peau. Un gonflement irréaliste, une prolifération microbienne en particulier si ces expériences durent plus de 24 heures. De plus, l'exposition de la peau à un liquide entraînerait une hydratation beaucoup plus importante que celle qui se produirait in vivo (32, 51).

Lorsque la peau biologique est utilisée, l'espèce et la partie du corps d'où provient la peau doivent être spécifiées. Les conditions de stockage et l'épaisseur de la peau utilisée doivent être expliquées et justifiées (55). Ces conditions étant difficiles à l'obtenir, il est donc important de disposer de membranes biologiques ou synthétiques qui imitent la peau humaine (35).

II.3.1.1.2 La peau des animaux

La peau animale diffère de celle des humains par l'épaisseur, la composition biochimique de la couche cornée et la densité des follicules pileux. Malgré ces différences, généralement les données in vitro utilisant la peau des animaux de laboratoire concordent étroitement avec les observations in vivo (52).

Concernant la peau d'oreille de porc, elle est recommandée par la ligne directrice de l'OCDE pour les études de pénétration cutanée ex vivo car elle imite la pénétration percutanée humaine (similitudes dans sa morphologie et ses capacités de pénétration) (35).

L'Union européenne et les législations nationales ont mentionné qu'il fallait éviter les expériences sur les animaux conformément à l'approche des 3R (réduire, remplacer, raffiner). Aussi, les études sur les animaux sont à éviter (35).

II.3.1.2 Les membranes modifiées ou synthétiques

II.3.1.2.1 Equivalents de la peau humaine

Ce sont des substituts de la peau, développés en cultivant des kératinocytes humains sur des substrats appropriés pour étudier la pénétration de la peau et limiter l'emploi des animaux. Par conséquent, certains tissus reconstruits ont déjà été validés dans des applications spécifiques, telle que l'irritation cutanée (35).

L'équivalent de la peau humaine est utilisé généralement pour la diffusion passive des PA dans les cellules de diffusion de Franz (35).

II.3.1.2.2 Les membranes synthétiques ou artificielles

Ce sont des modèles non biologiques rentables et reproductibles pour étudier les mécanismes physico-chimiques de la diffusion passive. Ils permettent des criblages à haut débit, sans variabilité d'un lot à l'autre, ni limitations de sécurité et de stockage (35).

L'absorption cutanée de certains composés peut être simulée par le test de perméabilité à membrane artificielle parallèle (PAMPA). Grâce à leur fonction de barrière plus faible, les membranes artificielles ont généralement une capacité et un taux de pénétration plus élevé. Exemple : La membrane d'acétate de cellulose (CA), qui est un polymère synthétique important, idéal pour une membrane de production efficace, dérive de la cellulose qui est un polysaccharide naturel et renouvelable (35, 56, 57).

II.3.2 La substance d'essai

La substance d'essai est le produit dont on étudie les caractéristiques de pénétration. Idéalement, elle peut être radiomarquée. Elle est introduite dans le compartiment donneur sous forme d'une solution, d'une suspension, d'une crème, d'un gel, d'une pommade... (55, 58).

II.4 La cinétique de libération in vitro

L'évaluation cinétique est un bon complément à l'expérience de diffusion de Franz. Cette évaluation est une modélisation mathématique très utile car elle permet de prédire le mécanisme de libération (6, 59).

Les approches mathématiques peuvent être classées en deux méthodes: les méthodes statistiques et les méthodes dépendant d'un modèle (59).

II.4.1 Méthodes statistiques

C'est les méthodes d'analyse des données exploratoires.

II.4.1.1 Approche multivariée (MANOVA)

Cette approche est basée sur les mesures répétées où le temps est le facteur répété et le pourcentage dissous est la variable dépendante. Le principal avantage de ce modèle est qu'il permet d'obtenir des résultats de précision accrue (59).

II.4.1.2 L'analyse de la variance (ANOVA)

Ce sont des mesures répétées largement utilisés comme outil expérimental. Ces tests sont valides et leurs utilisations faciliteront les analyses dans la pratique. Exemple, les procédures de comparaison multiple sont disponibles dans de nombreux logiciels gratuits (60-62).

II.4.2 Méthodes dépendantes des modèles

Ces méthodes sont basées sur différentes fonctions mathématiques. Une fois qu'une fonction appropriée est retrouvée, les profils sont évalués en fonction des paramètres du modèle dérivé. Elles comprennent le modèle ordre zéro, premier ordre, Higuchi, Korsmeyer-Peppas et d'autres modèles encore (59).

II.4.2.1 Modèle d'ordre zéro

Ce modèle est graphiquement représenté par le pourcentage cumulé de libération de la substance en fonction du temps (équation 2) (63-65):

$$A_t = A_0 + K_0 \cdot t \quad (\text{Équation 2})$$

Où A_0 est le pourcentage de libération à $t=0$; A_t est le pourcentage de libération cumulée au temps t ; K_0 est la constante de libération d'ordre zéro et t est le temps (en heures) (63-65).

Application : Cette relation peut être utilisée pour décrire la dissolution et la libération du médicament de plusieurs formes pharmaceutiques à libération modifiée, comme dans le cas de certains systèmes transdermiques (59).

II.4.2.2 Modèle cinétique de premier ordre

Ce modèle est graphiquement représenté par le logarithme du pourcentage cumulé restant de la substance en fonction du temps. Ce qui donne une courbe linéaire avec une pente de $K/2,303$ (équation 3) (63-65) :

$$\text{Log } A_t = \text{Log } A_0 + K_1 \cdot t / 2.303 \quad (\text{Équation 3})$$

A_t est le pourcentage de libération cumulé au temps t , K_1 est la constante de libération (constante de vitesse) de premier ordre et $t =$ temps (en heures) (63-65).

Application : Cette relation peut être utilisée pour décrire la dissolution des substances solubles dans des matrices poreuses ou pour décrire l'absorption et/ou l'élimination de certaines substances, quoiqu'il soit difficile de conceptualiser ce mécanisme sur une base théorique (59).

II.4.2.3 Modèle de Higuchi

Ce modèle est graphiquement représenté par le pourcentage cumulé de libération du médicament en fonction de la racine carrée du temps (63-65). L'expression du modèle est donnée par l'équation 4 :

$$A = K_H \cdot \sqrt{t} \quad (\text{Équation 4})$$

A_t est le pourcentage de libération cumulée au temps " t ", K_H Constante de libération de Higuchi et $t =$ temps en heures (63-65).

Application : ce modèle est utilisé pour décrire la dissolution de la substance à partir des formes à libération modifiée comme les systèmes transdermiques ou les comprimés à matrice contenant des médicaments hydrosolubles. Il est également utilisé pour décrire la vitesse de libération contrôlée d'une substance par une membrane synthétique. Ce modèle définit le processus de diffusion basé sur la loi de Fickienne, constante (5, 59, 66).

II.4.2.4 Modèle de Korsmeyer-Peppas

Graphiquement représenté par log du pourcentage cumulé de libération de la substance par rapport au log du temps ; (63-65) , ce modèle utilise l'équation 5 suivante :

$$\frac{A_t}{A_\infty} = K_p t^n \quad (\text{Équation 5})$$

A_t est le pourcentage de libération cumulé au temps t , A_∞ est la quantité totale de la substance dans la forme posologique, K_p est la Constante de Korsmeyer-peppas , n est l'exposant de diffusion ou de libération qui indique le mécanisme de transport de la substance et t est le temps (en heures). L'exposant de libération n caractérise le mécanisme de libération du médicament. Selon la valeur de n , la libération peut être Fickienne, non Fickienne ou super casuelle II (6, 65, 67-71). La valeur de n varie comme suit (tableau I).

Tableau I : Mécanisme de libération selon exposant n (59, 64, 66, 72)

Exposant de libération « n »	Mécanisme de libération
$n = 0.5$	libération Fickienne
$0.5 < n < 1$	libération non Fickienne
$n > 1$	transport super casuelle

Application : ce modèle élucide la libération de la substance à partir d'un système polymérique (59).

II.5 Les paramètres influençant la libération in vitro

Des paramètres peuvent influencer l'étude in vitro au cours de l'expérimentation comme la solubilisation et/ou la diffusion de la substance qui limitent la vitesse de libération. Le véhicule et la présence d'agents de pénétration affectent d'une manière significative la libération des substances actives. La diffusion intrinsèque de la molécule,

sa relation structure-activité et son coefficient de diffusion apparent affectent aussi la libération in vitro. De même, le potentiel de barrière intrinsèque et la variabilité interspécimen entre les membranes du même type exposent la diffusion à une plus grande résistance car elle limite la vitesse d'absorption (18, 29, 32). Ou encore les facteurs physico-chimiques cités ci-dessous :

II.5.1 L'hydratation de la membrane de diffusion

Le maintien d'une hydratation adéquate par le contact constant avec le fluide récepteur de la membrane est essentiel pour la dissolution et la diffusion des substances. Par conséquent, l'hydratation affecte la libération des substances, en particulier dans les tissus biologiques (32, 49, 73).

II.5.2 Concentration du diffusant

En général, la libération est modifiée par tout facteur physico-chimique pouvant changer la concentration du médicament à la surface de la membrane. Le taux de diffusion est proportionnel à la concentration de la substance active présente dans la solution du donneur (32).

II.5.3 Dommages dans les membranes utilisées

Lorsque la peau est utilisée, son intégrité, son taux d'humidité, son site d'application, son âge et la race influencent la libération. Cependant, l'utilisation des milieux synthétiques n'est pas aussi problématique car elles sont relativement résistantes aux dommages physiques (32, 33).

II.5.4 Nature physicochimique de la substance active

Les paramètres physico-chimiques de la substance active sont :

- La stabilité chimique, la stabilité physique, la forme chimique (acide/base/sel), la forme physique (liquide/solide) de la substance active (33).

- La nature chimique joue aussi un rôle : les substances lipophiles se séparent difficilement d'un véhicule lipidique et inversement, les substances hydrophiles ne peuvent traverser que si la membrane est hydratée au maximum. De plus, elles ont tendance à demeurer dans les véhicules aqueux sauf si ces derniers s'évaporent. Les molécules les plus aptes à pénétrer sont donc amphiphiles (18).

- La quantité du principe actif, la charge de surface (potentiel zêta) et la structure influencent la libération (33).
- La taille et la forme de la substance influencent la libération. En effet, les molécules de forme simple sont facilement pénétrables par rapport aux molécules ramifiées (18).
- La solubilité de la substance dans la membrane influencera son affinité pour ce milieu. Les molécules les plus lipophiles ont une plus grande affinité pour la peau et se répartissent plus facilement que les molécules polaires. Cependant, une certaine bipolarité demeure essentielle (32).
- Les molécules tensioactives présentes dans le véhicule donneur peuvent améliorer le partage en réduisant la tension superficielle entre le véhicule et la membrane mais elles peuvent également affecter la barrière de la membrane (32).

II.5.5 Formation de la couche limite de diffusion

Les gradients de concentration étant le moteur de la diffusion, toute augmentation de la concentration de la substance active du côté récepteur réduit l'amplitude du gradient et retarde la pénétration. Cependant, si cette augmentation n'est pas significative, on peut supposer que les conditions de puits ne sont pas compromises (32).

Les propriétés du transfert de masse dans la chambre réceptrice de la cellule de diffusion sont déterminées par la nature du mouvement du liquide (32):

- L'écoulement laminaire est un caractère homogène avec peu de variation de la vitesse des tourbillons de fluide dans la chambre.
- L'écoulement turbulent est irrégulier par rapport à la direction et la vitesse et le transfert de masse se fait dans ces cas-là par des pulsations irrégulières du fluide.

Dans les deux cas, les propriétés de l'écoulement du fluide sont importantes car les molécules diffusantes qui se répartissent dans le fluide récepteur à partir de la surface distale de la membrane, doivent être rapidement emportées par le mouvement de ce fluide en vrac afin que la différence de concentration puisse être maintenue à travers la barrière. Cette couche de fluide proche de la membrane qui n'est pas agitée au même rythme que le fluide en vrac, est appelée couche de diffusion limite (32).

II.5.6 La vitesse d'agitation

La vitesse d'agitation est l'un des principaux déterminants de l'épaisseur de la couche limite. Plus le degré d'agitation du fluide en vrac est élevé, plus la contrainte de cisaillement sur les couches de fluide adjacentes sera importante et plus la couche limite sera plus mince. Inversement, une agitation lente du fluide de la chambre générera des couches de diffusion stationnaires beaucoup plus épaisses avec une diminution plus graduelle de la vitesse du fluide. L'écoulement turbulent est généralement considéré comme plus efficace que l'écoulement laminaire pour la dispersion de ces couches de fluide relativement stationnaires. Ce n'est que dans des conditions d'agitation optimale du fluide que les couches limites de diffusion dans la chambre réceptrice seront réduites au minimum et n'auront donc qu'une influence négligeable sur la résistance globale au transfert de masse (32). De plus, un taux d'agitation élevé peut entraîner un changement à l'interface de la membrane et du milieu récepteur, ce qui peut affecter la diffusion. S'il est trop faible, la substance dans la solution réceptrice peut ne pas être homogène (9).

II.5.7 La composition du compartiment donneur et récepteur

Ce paramètre doit être évalué en détail afin d'obtenir des informations systématiques sur les propriétés de diffusion et, par conséquent, sur l'efficacité des membranes (46).

II.5.8 La viscosité

La viscosité du véhicule peut être un autre facteur qui affecte la libération de la substance puisqu'elle peut réduire la vitesse de diffusion de la substance à partir du véhicule. De plus, la viscosité gêne la diffusion du principe actif et conduit à une diminution continue de la concentration à l'interface membranaire (32, 74).



Chapitre III : Les produits dermocosmétiques

La dermocosmétologie est une science qui touche différents aspects de la biologie, la pharmacologie, la physique et la chimie ; en entamant une progression qui ne cesse de s'agrandir pendant ces dernières années. Le cosmétique, dont la fonction première est de nettoyer et d'embellir le corps humain, a été longtemps considéré comme sans activité thérapeutique curative ou confondu avec le médicament.

III.1 Définitions

Selon le décret exécutif n° 97-37 du 14 janvier 1997 du journal officiel Algérien définissant les conditions et les modalités de fabrication , de conditionnement, d'importation, et de commercialisation sur le marché national des produits cosmétiques et d'hygiène corporelle section 1 article 2 stipule que le : «Produit cosmétique et d'hygiène corporelle» est toute substance ou préparation, autre que les médicaments, destinée à être mise en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain tels que l'épiderme, le système pileux et capillaire, les ongles, les lèvres, les paupières, les dents et les muqueuses, en vue de les nettoyer, de les protéger, de les maintenir en bon état, d'en modifier l'aspect, de les parfumer ou d'en corriger l'odeur (36).

La phrase « destinée à être mise en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain » était censée séparer distinctement le produit cosmétique de la définition du médicament. Pendant longtemps, on a considéré que le produit cosmétique ne pénétrait pas alors qu'actuellement le développement de la cosmétique traitante (ou de soins) implique la notion de pénétration au moins jusqu'au derme. Toutefois, et bien que l'on considère qu'une certaine absorption soit possible, aucun effet systémique ne doit en résulter et par là, le cosmétique diffère du médicament (18).

Un médicament est défini par le code de la santé publique, selon l'article 309 chapitre 1 des principes et définitions relatif à la pharmacie, comme suit : « On entend par médicament toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que toute substance ou composition pouvant être utilisée chez l'homme ou chez l'animal ou pouvant leur être administrée, en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions physiologiques en exerçant une action pharmacologique, immunologique ou métabolique ». Ceci dit, pour différencier le médicament d'un cosmétique, le médicament possède une efficacité thérapeutique alors que le produit cosmétique possède une efficacité physiologique au niveau de l'enveloppe cutanée ou des

muqueuses. Les produits cosmétiques ne sont pas soumis à une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) comme les médicaments. Les fabricants sont dans l'obligation de fournir un dossier pour toutes fabrications de nouveaux cosmétiques. Ce dossier est beaucoup moins lourd et beaucoup plus court à réaliser qu'une AMM qui prend plusieurs années (28).

Avec la naissance des « cosméceutiques », ou cosmétiques « actifs », les produits cosmétiques peuvent revendiquer un rôle cosmétique complémentaire, bénéfique pour le patient et avec un risque cutané très faible. Cette nouvelle classe de cosmétiques est définitivement reconnue avec la directive européenne relative aux cosmétiques (76 /768 Communauté européenne (75).

III.2 Rôle d'un produit cosmétique destinée à la voie cutanée

Les préparations semi solides sont destinées à l'application cutanée. Elles sont également utilisées pour leur action émolliente ou protectrice. Elles présentent aussi un aspect homogène (76). Étant donné la diversité des modifications de la structure cutanée observées à tous les niveaux, les produits susceptibles d'améliorer ou de ralentir les détériorations seront de nature très variée. Ce sont des agents de desquamation capables d'éliminer l'excès de cornéocytes accumulés, des stimulants et des nutriments cellulaires agissant sur les fibroblastes et leur capacité de synthèse, des raffermissants et des tenseurs susceptibles d'améliorer les propriétés mécaniques de la peau ou permettant de faire disparaître momentanément les ridules superficielles, des anti-âges de type oestrogénique se fixant sur les récepteurs épidermiques, des anti radicalaires et des anti solaires assurant la protection de la peau vis-à-vis des radiations actiniques, des dépigmentants chargés d'éclaircir les zones hyper pigmentées (18).

III.3 Composition d'un produit cosmétique

Le produit cosmétique est composé d'une substance active qui exercera l'effet recherché sur la peau ou certaines muqueuses localement, à laquelle s'ajoutent des additifs, des adjuvants, des conservateurs. On distinguera évidemment les principes actifs thérapeutiques des ingrédients actifs cosmétiques. La frontière étant ici parfois difficile à préciser.

III.3.1 Substances actives

Les substances actives cosmétiques se répartissent en deux groupes : les substances spécifiques et les substances non spécifique séparés arbitrairement en substances protéiques et en substances non protéiques (18).

➤ Les substances de type protéique représentées par les acides aminés nutritifs pour la cellule ont un rôle tampon ; sous forme d'hydrolysats de protéines ayant un pouvoir plastifiant et un effet filmogène ; les enzymes qui ont un rôle dans le métabolisme et la respiration cellulaire cutanée ; les complexes antiâges constitués d'hydrolysat de protéines associés à des extraits biologiques et des substances diverses telles que les vitamines : vitamine C, et vitamine E par exemple. Les principales matières premières présentes sur le marché sont essentiellement le collagène, l'élastine, la gélatine, les protéoglycanes, la glycosaminoglycane, l'acide hyaluronique, les lipoprotéines et autres (18).

➤ Les substances de type non protéique dont les plus répandues sont les antiradicalaires et antisolaires, rétinoïdes, polyphénols, polysaccharides et alpha-hydroxyacides(AHA) (18).

III.3.2 Excipients

L'excipient est tout composant, autre que le principe actif qui a un rôle de vecteur (véhicule ou base) (76), toutefois il a une fonction de protection ou de restitution de la peau avec ses propriétés physiologiques. Le choix de l'excipient se fera selon les principes actifs à véhiculer et leur nature physico-chimique ; la nécessité ou non d'une pénétration satisfaisante du produit actif ; la durée d'application au niveau de la peau ; les critères de tolérance cutanée et les facilités de réalisation de la préparation prescrite (77).

III.3.3 Additifs

Les additifs apportent un plus au produit cosmétique et regroupent les colorants, les parfums, les conservateurs.

- Les conservateurs ont pour but d'empêcher la prolifération des microorganismes. Aujourd'hui, ils sont majoritairement d'origine synthétique, mais de plus en plus de «conservateurs » d'origine naturelle sont présents dans les cosmétiques (18, 78).

- Les parfums sont des compositions liposolubles de substances odorantes, participant au plaisir de l'utilisation du produit. Ils apportent également une spécificité propre au produit. De plus, certaines huiles essentielles peuvent être utilisées (18, 78).

- Les colorants confèrent au produit une couleur adaptée et un aspect plus attractif (18, 78).

III.4 Les formes galéniques semi-solides possibles pour les cosmétiques

Les formes semi-solides sont constituées d'un excipient simple ou composé dans lequel sont habituellement dissous ou dispersés un ou plusieurs principes actifs. Selon la composition de cet excipient, il peut avoir un effet sur la préparation ou la libération du principe actif (76, 79). Les excipients utilisés peuvent être d'origine naturelle ou synthétique et selon leurs natures, la préparation peut avoir des propriétés hydrophiles ou hydrophobes (lipophiles). Ils peuvent être constitués d'un système à une seule phase ou à plusieurs phases. La préparation peut contenir également d'autres excipients appropriés tels que des agents antimicrobiens, des antioxydants, des agents stabilisants, émulsifiants ou épaississants (76, 79). Les préparations semi solides pour application cutanée se distinguent en plusieurs catégories : pommades, crèmes, gels.

III.4.1 Pommades

Selon la pharmacopée européenne « les pommades se composent d'un excipient monophasé dans lequel peuvent être dispersées des substances liquides ou solides ». Trois types de pommade peuvent être retrouvés :

- Les pommades hydrophobes (lipophiles) ne peuvent absorber que de petites quantités d'eau. Les substances les plus communément employées pour la formulation de telles pommades sont la vaseline, la paraffine, les huiles végétales ou les graisses animales, les glycérides synthétiques, les cires et les polyalkylsiloxanes liquides (76, 79).

- Les pommades absorbant l'eau peuvent absorber des quantités plus importantes d'eau. Leurs excipients sont ceux d'une pommade hydrophobe dans lesquels sont incorporés des émulsifiants du type eau dans huile tels que les graisses de laine, des alcools de graisse de laine, des esters de sorbitane, des mono glycérides et des alcools gras (76, 79).

• Les pommades hydrophiles qui sont des préparations dont les excipients sont miscibles à l'eau. Ces derniers sont constitués habituellement par des mélanges de polyéthyléneglycols (macrogols) liquides et solides (76, 79).

III.4.2 Gels

Les gels sont constitués par des liquides gélifiés à l'aide d'agents gélifiants appropriés. On distingue les gels hydrophobes (oléogels) dont les excipients sont habituellement l'eau, le glycérol, et le propylène glycolgélifiés (76).

III.4.3 Pâtes

Les pâtes sont des préparations semi solides contenant de fortes proportions de poudres finement dispersées dans l'excipient (76)

III.4.4 Crèmes

Les crèmes sont des préparations avec un système à plusieurs phases composées d'une phase lipophile ou dite hydrophobe et d'une phase aqueuse ou dite hydrophile.

Les crèmes hydrophobes, dont la phase externe est la phase lipophile, contiennent des agents émulsifiants eau dans huile (76, 79). Tandis que les crèmes hydrophiles dont la phase externe est une phase aqueuse, contiennent des agents émulsifiants huile dans eau en combinaison éventuellement avec des agents émulsifiants eau dans huile (76, 79).

Plus de 90% des crèmes ont pour base l'émulsion. Le grand avantage des émulsions est qu'elles sont bien tolérées par la peau car leur composition est très proche de celle du film hydrolipidique de l'épiderme (80). La plupart de ces formulations sont des émulsions huile-eau (H/E), des émulsions eau-huile (E/H) ou des émulsions doubles (huile/eau/huile ou eau/huile/eau) voir figure 4. D'un point de vue dermatologique, l'émulsion E/H est un meilleur choix, car le film lipidique formé sur la peau favorise la pénétration des principes actifs liposolubles. Habituellement, les lotions sont composées d'une émulsion H/E, car elles ont une teneur en eau plus élevée que les crèmes. Les émulsions H/E sont également plus appréciées par le consommateur car elles sont moins grasses. D'autre part, elles peuvent provoquer une sensation de refroidissement due à l'évaporation de l'eau (38).

Les émulsions simples sont constituées d'un liquide dispersé sous forme de fines gouttelettes dans un liquide non miscible au premier appelée phase dispersante, les

émulsions huile dans eau sont les plus fréquentes et sont qualifiées d'émulsions normales alors que les émulsions eau dans huile sont qualifiées d'émulsions inverses (79).

Les émulsions multiples sont des systèmes dispersés dans lesquels la phase dispersée contient des gouttelettes internes plus petites de même nature avec la phase continue (81). Les émulsions multiples eau/huile/eau comprennent des globules d'huile internes contenant des gouttelettes d'eau et sont entourés d'une phase aqueuse externe. Les émulsions multiples huile/eau/huile, sont constituées de globules d'eau internes contenant des gouttelettes d'huile et sont entourés d'une phase aqueuse externe. Les émulsions multiples les plus couramment étudiés sont de type eau/huile/eau qui sont largement utilisées à des fins pharmaceutiques employées pour la libération contrôlée et prolongée de médicaments (45). L'huile utilisée est l'un des principaux facteurs qui affectent les formulations des émulsions multiples, les huiles végétales sont plus facilement biodégradables et sont riches en nutriments (72).

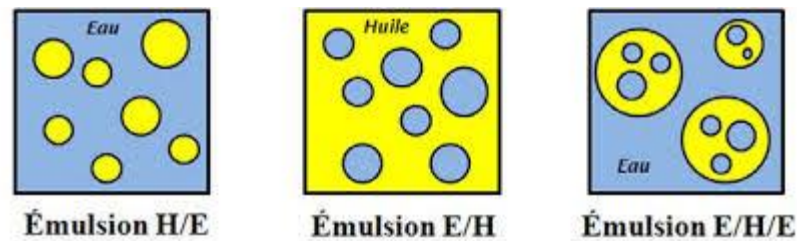


Figure 4 : Les différents types d'émulsion (17)

Deuxième partie : Étude expérimentale

I. Introduction

Lorsqu'une substance active est appliquée localement au niveau cutané, elle doit d'abord être libérée par le véhicule avant de pénétrer à travers la première couche de l'épiderme appelé le stratum corneum.

L'étude de la libération in vivo correspond à l'étude et le suivi de la pénétration des molécules actives sur la peau humaine. Cette étude est une procédure délicate, lente et éthiquement désapprouvée. Les études dans ce domaine ont continué à progresser et elles ont été appliquées par la suite sur la peau animale. La similitude des deux peaux, bien qu'elle représente un avantage n'a pas été bien acceptée par les organismes de protection des animaux. La meilleure solution était de trouver une alternative, c'est ainsi que les études de libération in vitro ont vu le jour, elles simulent les conditions physiologiques en utilisant une cellule de diffusion et une membrane synthétique. Cette méthode est simple, reproductible et a prouvé de nombreux avantages (9, 53, 82).

Dans le cadre d'une étude expérimentale basée sur de la libération in vitro à travers une cellule de diffusion type cellule de Franz, les essais ont été fait sur différentes formulations galéniques de crèmes contenant de la vitamine C. Pour cela trois types d'émulsions à base du même PA (l'émulsion H/E, E /H, E/H/E) ont été étudiées.

L'objectif principal est la comparaison de la libération in vitro de trois crèmes dont le type d'émulsion est différent. Il en découle des objectifs secondaires tels que la maîtrise de la cellule de Franz ainsi que les différents paramètres techniques pouvant influencer l'expérimentation et l'exploration de la cinétique de libération de la vitamine C.

Il s'agit d'une étude expérimentale qui s'est effectuée au niveau du laboratoire de recherche de chimie et électrochimie à l'université Aboubekr Belkaid de Tlemcen en collaboration avec le laboratoire de galénique de la faculté de médecine de Tlemcen dans la période du 01 Février au 01 Mai 2022.



Figure 5 : Laboratoire de recherche Tlemcen

II. Matériels et méthodologie

II.1 Matériels et réactifs

II.1.1 Matériels

- Cellule de Franz: 2 chambres, pince, 2 élastiques ;
- Membrane synthétique d'acétate de cellulose 0.22 μm ;
- Spectrophotomètre UV/Visible « Spectronic unicam » ; relié à un ordinateur « hp » muni du logiciel de lecture de l'absorbance « visio »;
- pH mètre « Denver instrument 215 » ;
- Plaque chauffante avec agitateur magnétique « Labtech Daihan »;
- Barreau magnétique type PTFE ;
- Balance de précision ;
- Thermomètre. ;
- Bain à ultrason : Ultrasonic cleaner « ATU » ;
- Seringue de 2.5 ml, Papier film ;
- Les accessoires : micropipettes et cuvettes.

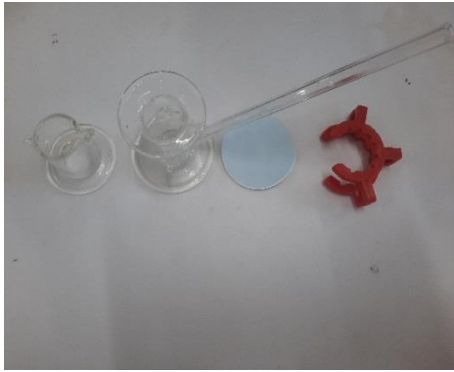


Figure 7 : La cellule de Franz



Figure 6 : Le spectrophotomètre UV



Figure 8 : La plaque chauffante



Figure 9 : Le pH mètre



Figure 10 : Bain à ultrason



Figure 11 : Thermomètre électronique



Figure 12 : Balance électronique



Figure 13 : Ordinateur

II.1.2 Réactifs

- Hydrogénophosphate disodique.
- Dihydrogénophosphate de potassium.
- Chlorure de sodium.
- Eau distillée
- Acide chlorhydrique.
- Acide ascorbique en poudre.

II.2 Méthodologie

II.2.1 Principe de l'étude

Le principe de base de cette étude de libération in vitro à travers une cellule de diffusion type cellule de Franz repose sur le suivi d'un passage d'une substance libérée à partir de son véhicule, dans ce cas la vitamine C contenue dans une crème type émulsion, qui diffusera à travers une membrane choisie selon les critères souhaités pour simuler les conditions in vivo et répondre à l'objectif de l'étude. Le suivi s'est effectué par le dosage de la substance à différents temps de sa diffusion par une méthode analytique.

Le système de diffusion in vitro est standardisé par les directives décrivant les systèmes cellulaires de Franz et d'autres organismes encore dont l'OCDE. Les caractéristiques de la membrane et la composition de la phase réceptrice, ainsi que d'autres paramètres tels que le pH et la température peuvent influencer la libération de la substance à partir des formulations topiques.

II.2.2 La molécule étudiée

II.2.2.1 Définition et structure

La vitamine C, appelé aussi acide ascorbique est l'une des vitamines hydrosolubles essentielles, vitale pour le maintien d'une bonne santé par ses fonctions antioxydante, neuroprotectrice, neurorégulatrice et participe à de nombreuses fonctions biochimiques (83, 84).

Chimiquement, la vitamine C est une lactone insaturée acide dibasique, qui consiste en une fraction d'enediol C2 - C3 riche en électrons dans un cycle à cinq membres sa structure est représentée dans la figure 11 (85).

L'acide ascorbique est hydrophile et donc une meilleure affinité est attendue dans les membranes hydrophiles par rapport aux membranes hydrophobes, c'est une molécule photosensible qui se dégrade en solution aqueuse en acide dehydroascorbique (46, 86).

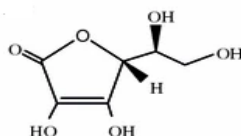


Figure 14 : Structure chimique du L-ascorbique (87)

II.2.2.2 Utilisation de la vitamine C en cosmétologie

L'utilisation de la vitamine C en tant qu'ingrédient actif en cosmétologie a gagné une immense popularité ces dernières années car elle favorise la reconstruction des tissus cutanés en stimulant la synthèse du collagène, protège les cellules contre le stress oxydatif, agit comme un inhibiteur de la mélanogénèse, accélère la cicatrisation des plaies, prévient les dommages induits par les radiations et elle a des effets anti-inflammatoires potentiels, des effets anti-vieillessement et photoprotecteurs sur la peau (88, 89).

L'activité antioxydante de la vitamine C est appréciée en cosmétologie car elle protège les cellules contre les dommages oxydatifs en piégeant les radicaux libres et en régénérant d'autres antioxydants tel que la vitamine E. Dans les systèmes biologiques, elle neutralise les radicaux libres par le don séquentiel d'électrons jusqu'à la formation de formes relativement non réactives de la vitamine C. D'autre part, en raison de ses propriétés antioxydantes, l'acide ascorbique est très utile pour prolonger la stabilité des cosmétiques et des produits pharmaceutiques (89) .

Malgré ces avantages, l'application de la vitamine C reste limitée car d'une part, elle est instable en solution aqueuse ou à haute température. D'autre part, l'exposition à des conditions oxydatives (lumière, ions métalliques, ascorbate oxydase, etc.) va accélérer sa dégradation. Pour ces raisons, l'acide ascorbique a fait l'objet de modifications et plusieurs de ses dérivés sont actuellement utilisés en cosmétiques. Parmi les dérivés hydrophiles, les plus populaires ces dernières années : l'ascorbyl glucoside et l'acide 3-O-éthyl ascorbique, moins sensible à l'oxydation et donc ils ont la capacité d'absorption percutanée ainsi que l'inhibition de la mélanogénèse. En outre, le glucoside d'ascorbyle a la capacité de la photoprotection. Néanmoins, les différences de stabilité chimique, les propriétés antioxydantes de l'acide ascorbique et de ses dérivés dans les cosmétiques dépendent également de la présence d'autres ingrédients, qui peuvent renforcer ou inhiber son activité (83, 89).

II.2.2.3 Méthode de dosage de la vitamine C

Trois méthodes sont utilisées pour le dosage de la vitamine C.

II.2.2.3.1 Méthode titrimétrique

Les méthodes titrimétriques sont nombreuses et différentes par l'utilisation des divers titrants. La détermination de l'acide ascorbique se fait par l'iode, l'iodure de potassium ou le bromure de potassium, avec l'amidon comme indicateur. Cependant,

l'inconvénient dans ce cas est que l'amidon diminue le taux de réaction entre l'acide ascorbique et l'iode (90).

Une méthode oxydimétrique alternative utilise la chloramine-T pour titrer l'acide ascorbique avec le 2,6-dichlorophenolindophenol (DCIP) comme indicateur. La méthode est fondée sur la réduction de DCIP avec l'acide ascorbique dans la solution acide. C'est une méthode officielle mais qui n'est applicable que pour les multivitamines qui ne contiennent pas de minéraux (90).

Les méthodes titrimétriques sont simples à utiliser mais elles ne conviennent pas aux échantillons colorés (90).

II.2.2.3.2 Méthode spectrophotométrique

Les méthodes spectrophotométriques sont fondées sur les propriétés de réduction, d'oxydation, ou la capacité de s'accoupler avec les dérivés diazotes d'aniline. L'acide ascorbique a des spectres d'absorption UV caractéristiques et ses maximums sont selon le pH : $4 < \text{pH} < 7$, λ est de 265 nm ; $\text{pH} = 2$, λ est de 243, 244, 245 nm. Les méthodes spectrophotométriques dans le domaine visible sont recommandées pour le dosage d'acide ascorbique des produits de multi vitamine (86, 90-93).

L'absorption de lumière dans une solution de l'échantillon est exprimée par la loi de Beer Lambert (90, 93):

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (\text{Équation 6})$$

Cette procédure analytique est simple, bon marché et aucun agent supplémentaire n'est nécessaire pour la performance de l'épreuve (93). Et elle est recommandée par pharmacopée européenne 10ème édition.

II.2.2.3.3 Méthode chromatographique

La chromatographie liquide (CL) est utilisée pour la séparation et la détermination d'acide ascorbique. Plusieurs procédures de CL utilisent des colonnes extrêmement polaires et des phases mobiles qui se composent de dimensions différentes d'acétonitrile et de méthanol en présence d'acide citrique – phosphate – acide acétique (90). Les méthodes chromatographiques sont souvent utilisées dans les préparations pharmaceutiques contenant des vitamines à cause de leurs simplicité, sélectivité et sensibilité (93).

La HPLC couplée à la détection par absorptiométrie UV revêt un potentiel intéressant et serait la technique la plus compatible avec la quantification de vitamine C dans les préparations pharmaceutiques (90).

II.2.3 Les conditions d'expérimentation

Selon l'OCDE 428, le rapport d'essai doit préciser les conditions établies dans le protocole, justifier le choix du système d'essai utilisé et également contenir les informations suivantes (55) :

- L'état physique, les propriétés physico-chimiques, les informations d'identification et la solubilité dans le fluide récepteur de la substance d'essai ;
- Les justifications de l'utilisation et l'homogénéité des formulations de l'essai ;
- Les conditions expérimentales utilisées : la conception de la cellule de diffusion, la composition du fluide récepteur, la vitesse d'agitation, le temps et les procédures d'échantillonnage, les détails de la préparation d'essai et la quantification de la dose appliquée, la durée de l'exposition, les procédures de nettoyage de la cellule et du matériel et les méthodes de dosages.

II.2.3.1 Le système de diffusion

Les lignes directrices internationales EMA, FDA, OCDE et l'étude de Franz, 1975 recommandent les cellules à circulation ou à diffusion statique pour mesurer la libération et la diffusion des substances de formes topiques et transdermiques (32, 55, 94-96). Les techniques de manipulation et la conception d'une cellule de diffusion statique ont été décrites par Franz (94). Selon l'USP, habituellement, un ensemble de 6 cellules est utilisé en même temps (97).

Selon les exigences de l'OCDE 428, la cellule doit répondre à plusieurs objectifs : assurer une bonne étanchéité sur le pourtour de la membrane, permettre un échantillonnage aisé et un bon mélange de la solution dans le compartiment récepteur en contact avec le dessous de la membrane et enfin garantir le maintien de la température voulue au niveau de la cellule (55).

Les compartiments donneurs sont laissés sans occlusion pendant l'exposition à une dose finie d'une préparation d'essai. Toutefois, pour les applications infinies, l'occlusion du compartiment donneur peut être envisagée (55).

Les expériences à dose finie représentent une utilisation clinique dans laquelle l'épuisement de la dose, l'évaporation des excipients et le changement progressif de la composition du véhicule peuvent se produire. L'hypothèse de conditions d'état d'équilibre ne s'applique pas aux expériences à dose finie car un taux d'évaporation élevé des solvants appliqués se produit après l'application. En général, une évaporation rapide des solvants se produit, ce qui modifie considérablement la zone de diffusion effective de la formulation appliquée. En revanche, la majorité des études réalisées pour évaluer la diffusion ainsi que la libération l'ont été dans des conditions de dose infinie. La pénétration des produits chimiques à partir de véhicules aqueux à dose infinie dans des conditions d'équilibre peut généralement être prédite sur la base de leurs propriétés physicochimiques (98).

Les cellules de Franz sont de deux types : les cellules de Franz commerciales ; coûteuses et offrant le moins de variabilité, et les cellules Franz soufflées à la main ; qui sont de bon marché et dont la variabilité dépend du technicien (58). Selon l'USP, Les diamètres des orifices de la chambre donneuse et réceptrice, qui définissent la surface de délivrance de la dose pour le test, doivent être dimensionnés à $\pm 5\%$ du diamètre spécifié. Ces diamètres peuvent varier en fonction de l'application. L'orifice de la chambre du récepteur ne doit jamais être plus petit que l'orifice de la chambre du donneur (97).

La conception de la cellule de diffusion doit faciliter l'alignement correct de la chambre du donneur et de l'orifice du récepteur. La chambre réceptrice doit être fabriquée de manière cohérente, avec une hauteur et une géométrie uniformes (97).

La cellule utilisée dans cette étude a été conçue manuellement selon des dimensions justifiées montrés dans la figure 15.

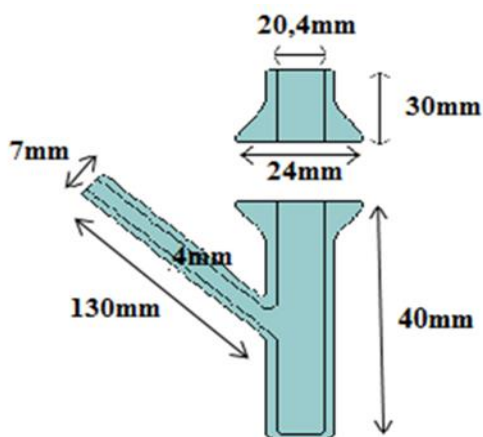


Figure 15 : Schéma dimensionnel de la cellule Franz utilisée



Figure 16 : Image réelle de la cellule de Franz utilisée

Selon l'USP, la qualification de l'appareil est vérifiée par les analystes qui déterminent si la température et le taux d'agitation de l'essai sont conformes aux exigences spécifiées et qu'un essai de vérification des performances satisfaisant (c'est-à-dire le taux de libération du médicament) est obtenu. Par ailleurs, il faut dégazer le milieu en utilisant une technique appropriée et à la fin déterminer la quantité de médicament dans le milieu récepteur (97).

II.2.3.2 La membrane

Pour l'étude de perméation ou libération in vitro, l'utilisation de la peau humaine, la peau animale ou d'une membrane synthétique est acceptable. Cependant, les membranes synthétiques sont couramment utilisées pour les études de libération des substances actives contrairement à la peau naturelle (humaine ou animale) qui est utilisée pour les études de diffusion (5, 58). L'utilisation de membranes synthétiques minimise non seulement la variabilité observée avec la peau animale ou humaine, mais aussi la méthode est prometteuse en tant que procédure de contrôle garantissant l'uniformité des produits topiques d'un lot à l'autre (99).

L'USP exige que la membrane soit chimiquement inerte, perméable au médicament, doit offrir le moins de résistance possible à la diffusion et ne doit ni limiter la vitesse ni contrôler le débit de libération du médicament. De plus, la FDA recommande pour les études de libération in vitro, une membrane synthétique inerte, poreuse, disponible dans le

commerce, de taille appropriée (une surface allant de 0,5 à 2 cm² est souhaitée pour s'adapter au diamètre de la cellule de Franz) (32, 58, 97).

Le choix dans cette étude s'est porté sur une membrane synthétique d'acétate de cellulose (7, 12, 74, 100), de porosité de 0.22 um (46) et de diamètre de 3 cm et donc une surface de 7 cm² mais pour de meilleurs résultats la membrane a été découpée pour avoir une surface adaptée à l'ouverture de la chambre réceptrice qui est de 3.26 cm² (diamètre 2.04 cm) ; ces surfaces ont été calculées par la relation suivante :

$$S = \pi r^2$$

Où S : surface en cm², r : le rayon de la membrane en cm.

II.2.3.3 La solution réceptrice

Le fluide récepteur doit être capable de solubiliser le médicament et ne doit ni altérer la forme pharmaceutique par rétrodiffusion à travers la membrane, ni affecter l'intégrité de la membrane utilisée dans l'étude et par conséquent, l'utilisation de tensioactifs dans le milieu récepteur est limitée par son potentiel à affecter l'intégrité de la membrane. Il est essentiel de maintenir dans la chambre réceptrice une concentration de substances actives ne dépassant pas 10 à 30 % de la concentration saturée (32, 58, 101).

Selon l'OCDE, dans la cellule statique, le fluide doit être remué et échantillonné régulièrement car il ne doit pas affecter l'intégrité de la membrane contrairement au système dynamique, dont la vitesse de l'écoulement ne va pas gêner la diffusion de la substance ; sans oublier qu'il faut minimiser la variabilité du volume intercellulaire et échantillonner à des intervalles réguliers tout au long de l'essai (55, 97).

Le choix du milieu dépend des caractéristiques physicochimiques de la substance active et de la formule mais il est recommandé par l'EMA d'utiliser un tampon aqueux pour les actifs hydrosolubles (32, 96) pour cela le PBS (phosphate buffer salin): tampon phosphate 7.4 a été utilisé, car c'est un milieu neutre qui maintient les conditions de la peau humaine et qui était également utilisé dans les articles suivants (5, 7, 12, 46, 48, 94, 100, 102).

La préparation du PBS dans cette expérimentation s'est faite selon la pharmacopée européenne 10eme édition (Dissolution de 2,38 g de phosphate disodique, 0,19 g de phosphate monopotassique et 8 g de chlorure de sodium dans de l'eau puis complétion jusqu'à 1000,0 ml, enfin ajustement du pH si nécessaire avec du NaOH ou HCl) (91).

La mesure des pH a été effectuée par le pH mètre.

II.2.3.4 La nature et la quantité des crèmes

Selon la FDA, une quantité d'environ 300 mg de la préparation semi-solide doit être placée uniformément sur la membrane et maintenue occlusive pour éviter l'évaporation du solvant et les changements de composition (32, 102). Cela correspond à une condition de dose infinie (quantité topique supérieure à 10 mg/cm²) (29, 35, 36).

Dans le cas de cette expérience la quantité utilisée a été optimisée à 500 mg répondant ainsi aux conditions de dose infinie. Les crèmes utilisées sont les suivantes :

- crème 1 : émulsion simple huileuse (E /H) dont la phase externe est lipophile;
- crème 2 : émulsion simple aqueuse (H /E) dont la phase externe est hydrophile : un mélange d'eau et de glycéryl stéarate ;
- crème 3 : émulsion multiple (E/H/E) dont la phase externe est l'eau.

L'émulsion simple eau dans l'huile et l'émulsion multiple ont été formulées au laboratoire par contre l'émulsion simple huile dans l'eau est une crème commerciale. Les trois crèmes ont en commun la substance active qui est la vitamine C.

II.2.3.5 La température et la vitesse d'agitation

Selon l'USP et l'OCDE, la température a une incidence sur la diffusion passive des produits semi-solides, par conséquent, la cellule de diffusion et la membrane doivent être maintenues à une température constante proche de la température normale de la peau, soit 32 ± 1 °C. Cette température est aussi choisie pour éviter l'évaporation du milieu récepteur et peut engendrer une dégradation de l'actif. Selon la conception de la cellule, la température du bain ou du bloc de chauffage peut varier, l'objectif étant de maintenir la membrane et le compartiment récepteur aux normes physiologiques. De préférence, l'humidité doit être maintenue entre 30 et 70 pour cent (29, 32, 48, 55, 97).

Selon l'USP, la vitesse d'agitation doit assurer un mélange adéquat du milieu récepteur pendant l'essai et la tolérance de sa vitesse doit être de $\pm 10\%$ de la vitesse prévue par la méthode (97).

Sur ces bases et selon les conditions des différents articles et les recommandations de la FDA et l'OCDE, la température durant la pratique est maintenue à 32 ± 1 °C (7, 29, 46, 48, 50, 71) et la vitesse d'agitation est réglée à 600 tr/min (50, 71, 94, 100, 103, 104) .

II.2.3.6 L'échantillonnage

Suivant les recommandations de l'OCDE, il faut échantillonner et analyser le fluide récepteur pour mesurer l'absorption de la substance d'essai au cours d'une période de temps donnée pour permettre une caractérisation adéquate du profil d'absorption, cette durée est de 24 heures (cela correspond au temps limite de la détérioration de la membrane) mais généralement une période de 4 à 6 heures est suffisante pour les substances d'essai à pénétration rapide. La fréquence d'échantillonnage du fluide récepteur doit être choisie de manière adéquate pour permettre la détermination du taux d'absorption et d'établir une représentation graphique du profil d'absorption de la substance d'essai qui est d'un minimum de six aliquotes recommandé par la FDA et l'EMA afin de pouvoir estimer la cinétique d'absorption et déterminer la vitesse de libération de la formulation topique. Enfin le volume de prise est choisi pour une détermination suffisante puis remplacé par le milieu récepteur de base (29, 32, 46, 55, 58) , Le volume équivalent du milieu récepteur de base est remplacé jusqu'au niveau de la marque d'étalonnage sur le bras d'échantillonnage (97).

Pour ces raisons, un espace de temps de 30 min entre chaque prélèvement a été choisi tout au long de cette étude (105). L'aliquote de 1ml a été effectué pendant chaque échantillonnage (5, 52, 74, 105).

II.2.3.7 La méthode de dosage

La procédure analytique pour analyser les échantillons et déterminer la concentration et la quantité de la substance libérée doit être appropriée, validée, spécifique et sensible telle que la spectrophotométrie UV-visible : méthode recommandée par la pharmacopée européenne 10ème édition facile à mettre en œuvre rapide et disponible. Le maximum d'absorption lors du dosage de la vitamine C par méthode spectrophotométrique U.V est influencé par le pH. Pour un pH de 4 à 7 d'une formulation à base de vitamine C, la longueur maximale d'absorption est de 265 nm, or le dosage de l'acide ascorbique dans du méthanol acidifié pH=2 selon la méthode spectrophotométrique UV de Zeng et al, un maximum d'absorption est de 243, 244, 245 nm (86, 91, 92).

II.2.3.8 Traitement des résultats

Selon les directives de l'OCDE, le rapport d'essai doit contenir les informations suivantes concernant les résultats (55):

- Des tableaux ou des graphes indiquant les données relatives à l'absorption ou la masse de substance d'essai atteignant le fluide récepteur (sous forme de taux, de quantité ou de pourcentages) dans une période de temps donnée.

- La quantité de médicament libérée (mg/cm^2) à chaque temps d'échantillonnage (t_1 , t_2 etc.) est déterminée, et la quantité cumulative libérée est tracée en fonction du temps, sa pente est une ligne droite représentant le flux. Le tracé de la quantité de la substance libérée par unité de surface de la membrane en fonction de la racine carrée du temps doit donner une ligne droite. La pente de cette ligne (régression) représente la vitesse de libération du produit (32, 50).

- Le flux est calculé en évaluant la concentration d'actif qui atteint le compartiment récepteur de la cellule de Franz une fois l'état stationnaire atteint. Cet état est obtenu en se plaçant en condition de saturation dans le compartiment donneur (concentration élevée de la substance active dans le compartiment donneur est considérée constante) et au contraire en très faible concentration (considérée nulle) dans le compartiment récepteur « sink conditions » (52).

- Concernant le temps de latence, il donne une indication sur le temps nécessaire au démarrage de la diffusion ou de la perméation ; Enfin, le coefficient de perméabilité traduit la vitesse de libération et selon l'USP, l'essai est souvent réalisé avec un groupe de 6 ou 12 cellules par essai, la moyenne des 6 pentes pour chaque test est une mesure de la vitesse de libération de la substance de la forme galénique (9, 34, 97, 106).

II.2.3.9 Protocole expérimental d'étude de la cinétique de libération

La première étape de l'évaluation d'une préparation cutanée est de procéder à un examen physique des échantillons à tester, en excluant les échantillons inappropriés

Selon les recommandations de l'USP, avant de commencer l'essai, le volume du compartiment récepteur doit être déterminé avec le dispositif d'agitation interne en place (97), le volume du compartiment récepteur de la cellule de Franz qui fera l'objet de cette étude est de 15 ml.

Pour tester le mécanisme, le barreau magnétique est placé dans la chambre réceptrice et cette dernière a été remplie par le milieu PBS pH 7,4 (0,01 M); Il est possible d'effectuer une filtration du milieu récepteur à travers un filtre à membrane en nylon de $0,45 \mu\text{m}$ avant utilisation mais la solution tampon PBS utilisée venait tout juste d'être préparée et n'a pas nécessité une filtration (104) .

Entre temps la membrane a été saturée dans le milieu récepteur qui est le PBS pendant 30 minutes avant l'application de la dose; ceci a été effectué avant chaque essai de diffusion (46) .

Pour le montage de la cellule, la membrane de diffusion de porosité $0.22 \mu\text{m}$ a été placée entre les deux compartiments, sur la face du compartiment donneur, la crème à étudier a été mise au-dessus de la membrane en étalant de manière à remplir la cavité puis l'assemblage des deux chambres (donneuse et réceptrice) a été effectué par pince et les élastiques, toutes les ouvertures de la cellule ont été obstruées par du parafilm afin d'éviter l'évaporation (105) (figure 17).



Figure 17 : Le montage de la cellule avec membrane et crème

Le bain marie étant préparé, il est nécessaire de laisser le temps au milieu de s'équilibrer à la température spécifiée soit $32 \pm 1^\circ\text{C}$ recommandée par l'OCDE, l'USP, et la FDA (32, 55). Pour ce faire, un thermomètre électronique a été mis au bain marie tout au long de l'essai afin de contrôler la température et de la maintenir la plus stable possible. Un flacon rempli de solution tampon PBS a été mis également au bain marie, pour le garder à la même température car des volumes y seront ajoutés après les échantillonnages. Pendant cette procédure, il est important de s'assurer qu'il n'y a pas de bulles sous la membrane. Enfin la mise en marche du dispositif d'agitation a été faite, ce qui témoigne le début de l'essai où le temps zéro et le suivi de la procédure d'échantillonnage spécifiée a commencé (figure 18).



Figure 18 : La mise en marche du système de libération

Toutes les 30 min, l'agitateur est arrêté, puis le prélèvement d'une aliquote de 1 ml du compartiment récepteur a été prélevé à l'aide d'une seringue (figure 19) puis remplacé par un volume égal du milieu récepteur « le PBS », ensuite l'agitation a été reprise à nouveau (46).

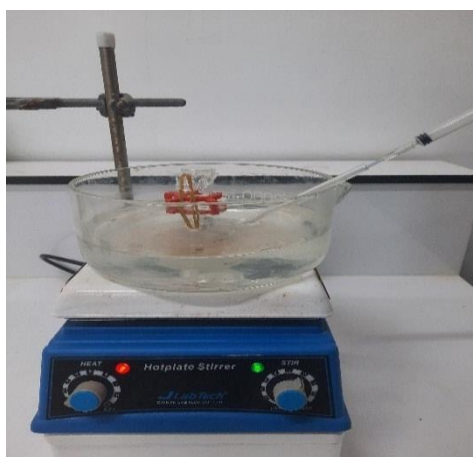


Figure 19: Echantillonnage

Pendant l'échantillonnage et le(s) processus de réapprovisionnement en milieu, il faut s'assurer qu'aucune bulle d'air ne soit introduite dans la cellule. Les bulles d'air qui se sont formées sous la membrane pendant l'expérience ont été éliminées via le bras latéral en inclinant soigneusement la cellule.

L'absorbance de la vitamine C dans cette étude est mesurée par spectrophotométrie UV-Visible après des dilutions appropriées des échantillons. La longueur d'onde maximale d'absorption obtenue est de 266 nm.

Les pourcentages cumulés de la quantité libérée en fonction du temps ont été tracés (64).

Le flux a été calculé en évaluant la concentration d'actif qui atteint le compartiment récepteur. Il est représenté par la pente de la partie linéaire du tracé de la quantité cumulée de l'acide ascorbique par unité de surface en fonction du temps.

Les différents modèles ont été tracés selon le pourcentage de la quantité libérée (63-65):

- Modèle d'ordre zéro est tracé selon le pourcentage cumulatif de la quantité libérée de la substance en fonction du temps.
- Modèle cinétique de premier ordre est tracé par le logarithme du pourcentage cumulatif de la substance restant en fonction du temps.
- Modèle de Higuchi est tracé par le pourcentage cumulatif de libération de la substance en fonction de la racine carrée du temps.
- Modèle de Korsmeyer-Peppas tracé par logarithme du pourcentage cumulatif de libération de la substance par rapport au logarithme du temps.

III. Résultats

Après avoir réalisé trois essais de libération in-vitro sur chaque crème, la moyenne obtenue a été prise; Les différentes concentrations en acide ascorbique ont été obtenues par extrapolation de l'absorbance sur la courbe d'étalonnage.

Différents paramètres ont été calculés afin de déterminer la cinétique et le mécanisme de libération de chaque crème parmi lesquels :

- Les quantités libérées à des temps différents ont été calculées à partir des concentrations ;
- Le pourcentage cumulé de libération a été calculé à partir des quantités cumulées ;
- Le flux et le temps de latence ont été obtenus à partir de la pente et l'intercepte respectivement de la partie linéaire des courbes de la quantité cumulée par unité de surface en fonction du temps ;
- Les coefficients de détermination « R^2 », les constantes de libération « K » des modèles cinétiques de l'ordre zéro, du premier ordre, Higuchi et de Korsmeyer-Peppas et l'exposant de libération « n » du modèle de Korsmeyer Peppas ont été calculés en utilisant les équations des modèles.

III.1 Etablissement de la courbe d'étalonnage

La courbe d'étalonnage a été tracé à partir des dilutions d'une solution mère :0,12g/l et illustrée dans la figure 20 , la droite de régression a donné l'équation : $y = 58,082x + 0,0174$; $R^2 = 0,9969$.

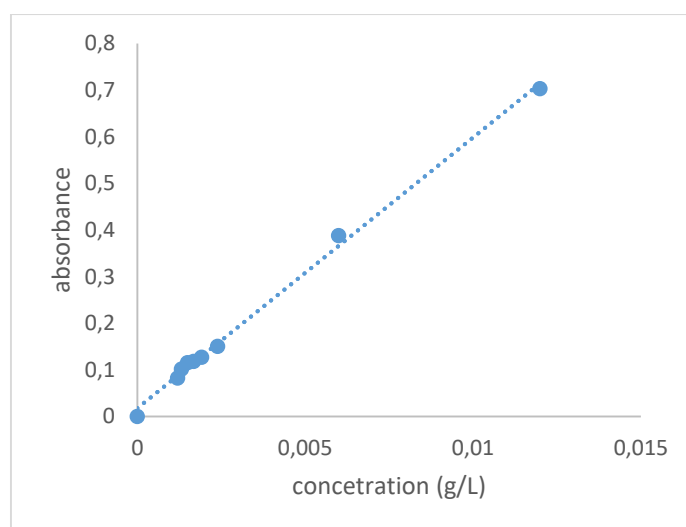


Figure 20 : Courbe d'étalonnage d'acide ascorbique

III.2 Résultats de la libération in vitro de la crème 1

La crème 1 est une émulsion simple huileuse E/H. Le tableau II des résultats est représenté ci-dessous.

Tableau II : Les concentrations, quantités, quantités cumulées, perméation, pourcentage de la quantité cumulée en fonction du temps de la crème 1

Temps (h)	Concentration (g/L)	Quantité (mg)	Quantité cumulée (mg)	Quantité cumulée par surface (mg/cm ²)	Pourcentage libéré (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,5	0,033	0,495	0,495	0,152	0,750
1	0,040	0,600	1,095	0,336	1,659
1,5	0,033	0,488	1,583	0,485	2,398
2	0,054	0,816	2,399	0,736	3,634
2,5	0,112	1,683	4,081	1,252	6,184
3	0,178	2,676	6,757	2,073	10,238
3,5	0,142	2,134	8,892	2,728	13,472
4	0,104	1,554	10,445	3,204	15,826
4,5	0,153	2,297	12,743	3,909	19,307
5	0,159	2,391	15,134	4,642	22,930
5,5	0,108	1,614	16,748	5,137	25,376
6	0,101	1,514	18,262	5,602	27,670

La courbe de la quantité cumulée en fonction du temps de la crème 1 est représentée dans la figure 21.

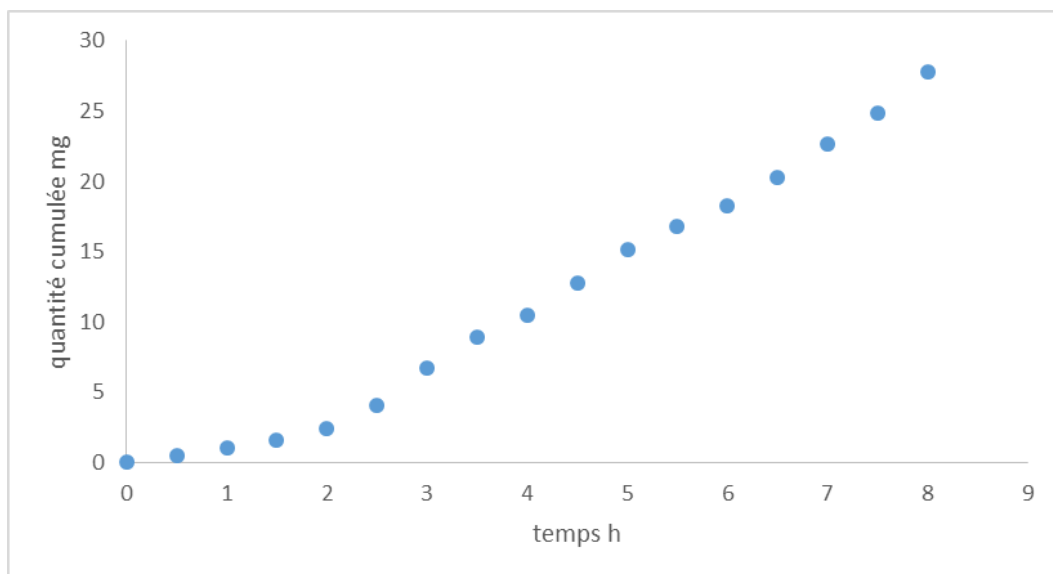


Figure 21: Courbe de la quantité cumulée en fonction du temps de la crème 1

Les données appliquées aux quatre modèles cinétiques sont représentées dans les figures (22-25)

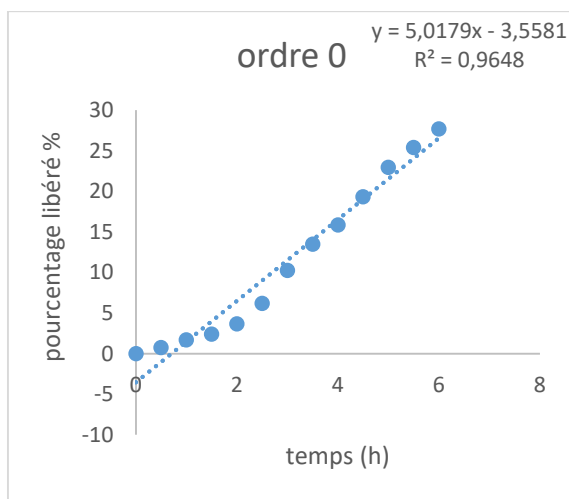


Figure 22: Modèle d'ordre 0 de la crème 1

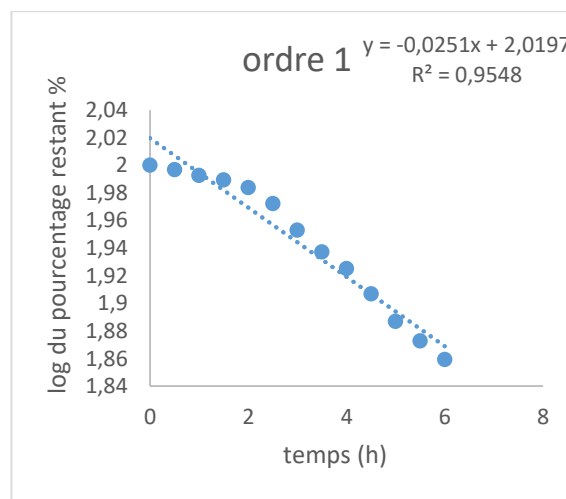


Figure 23 : Modèle d'ordre 1 de la crème 1

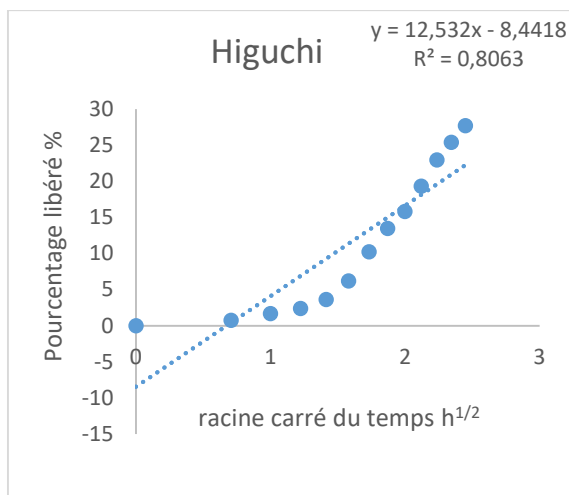


Figure 24 : Modèle Higuchi de la crème 1

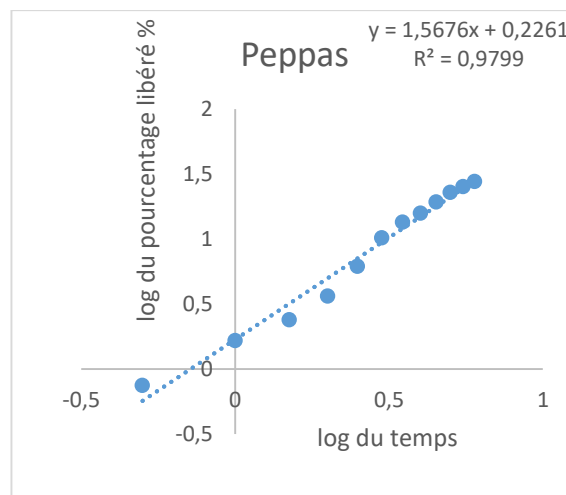


Figure 25: Modèle de Korsmeyer Peppas de la crème 1

III.3 Résultats de la libération invitro de la crème 2

La crème 2 est une émulsion simple aqueuse H/E. Le tableau III des résultats est représenté ci-dessous.

Tableau III : Les concentrations, quantités, quantités cumulées, perméation, pourcentage de la quantité cumulée en fonction du temps de la crème 2

Temps (h)	Concentration (g/L)	Quantité (mg)	Quantité cumulée (mg)	Quantité cumulée par surface (mg/cm ²)	Pourcentage libéré (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,5	0,084	1,264	1,264	0,388	23,623
1	0,048	0,722	1,986	0,609	37,110
1,5	0,027	0,412	2,397	0,735	44,805
2	0,029	0,432	2,830	0,868	52,884
2,5	0,035	0,518	3,348	1,027	62,572
3	0,004	0,065	3,413	1,047	63,796
3,5	0,007	0,105	3,519	1,079	65,762
4	0,010	0,143	3,662	1,123	68,434
4,5	0,013	0,195	3,856	1,183	72,071
5	0,019	0,281	4,137	1,269	77,317
5,5	0,026	0,395	4,532	1,390	84,704
6	0,023	0,344	4,876	1,496	91,125

La courbe de la quantité cumulée en fonction du temps de la crème 2 est représentée dans la figure 26.

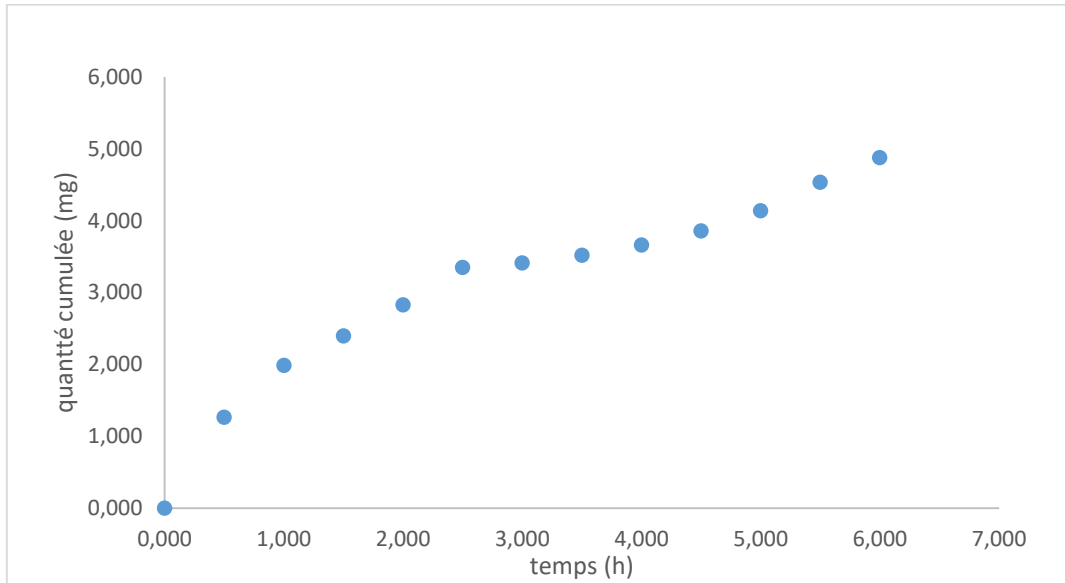


Figure 26: Courbe de la quantité cumulée en fonction du temps de la crème 2

Les données appliquées aux quatre modèles cinétiques sont représentées dans les figures (27-30).

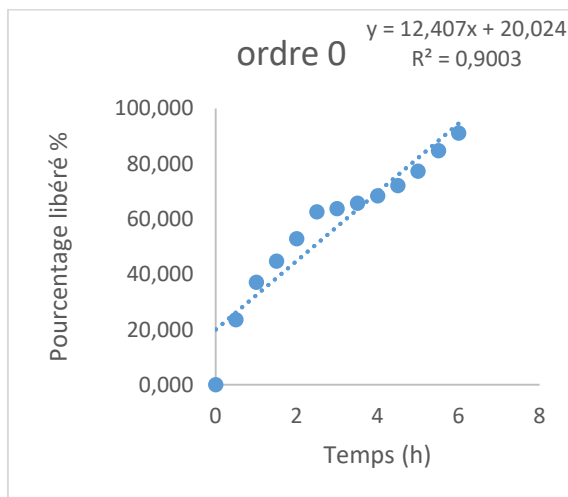


Figure 27 : Modèle d'ordre 0 de la crème 2

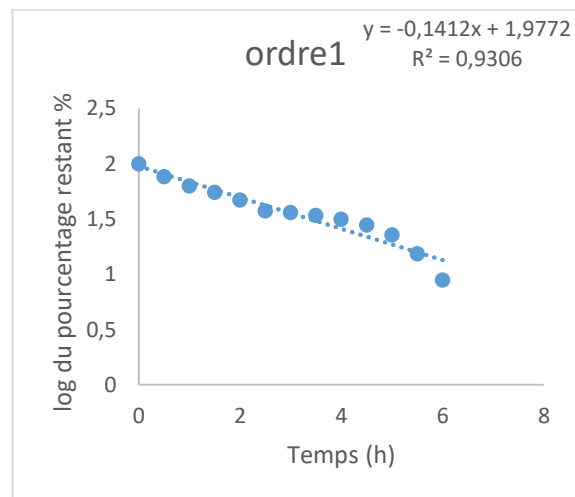


Figure 28 : Modèle d'ordre 1 de la crème 2

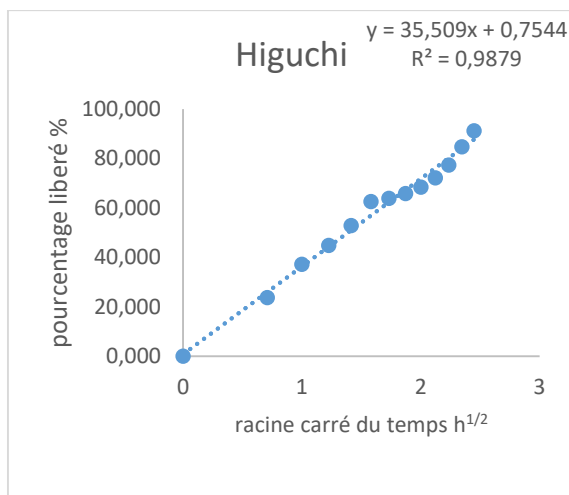


Figure 29 : Modèle de Higuchi de la crème 2

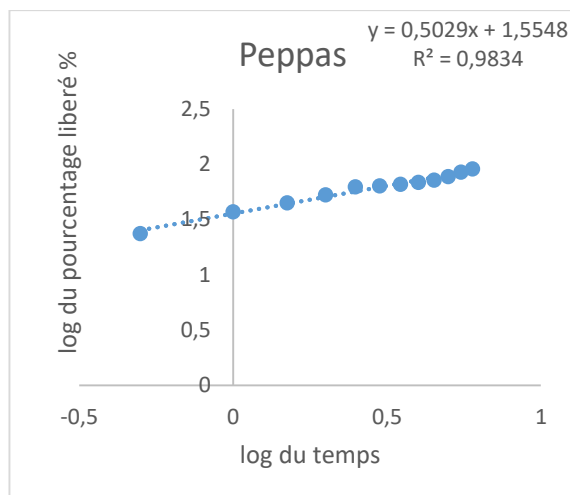


Figure 30 : Modèle de Korsmeyer Peppas de la crème 2

III.4 Résultats de la libération invitro de la crème 3

La crème 3 est une émulsion multiple aqueuse. Le tableau IV des résultats est représenté ci-dessous.

Tableau IV : Les concentrations, quantités, quantités cumulées, perméation, pourcentage de la quantité cumulée en fonction du temps de la crème 3

Temps (h)	Concentration (g/L)	Quantité (mg)	Quantité cumulée (mg)	Quantité cumulée par surface (mg/cm ²)	Pourcentage libéré (%)
0	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
0,5	0,084	1,255	1,255	0,385	3,138
1	0,164	2,461	3,716	1,140	9,290
1,5	0,197	2,960	6,676	2,048	16,689
2	0,112	1,686	8,362	2,565	20,904
2,5	0,170	2,555	10,917	3,349	27,292
3	0,151	2,266	13,183	4,044	32,957
3,5	0,105	1,574	14,757	4,527	36,891
4	0,099	1,483	16,239	4,981	40,598
4,5	0,113	1,694	17,934	5,501	44,834
5	0,080	1,195	19,129	5,868	47,822
5,5	0,053	0,799	19,928	6,113	49,819
6	0,041	0,613	20,541	6,301	51,352

La courbe de la quantité cumulée en fonction du temps de la crème 2 est représentée dans la figure 31.

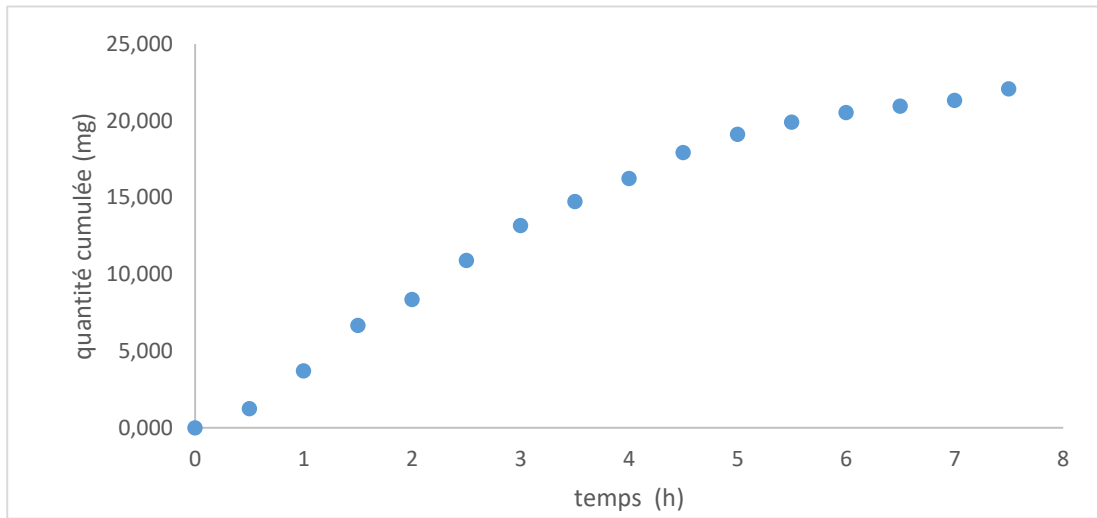


Figure 31 : Courbe de la quantité cumulée en fonction du temps de la crème 3

Les données appliquées aux quatre modèles cinétiques sont représentés dans les figures (32-35).

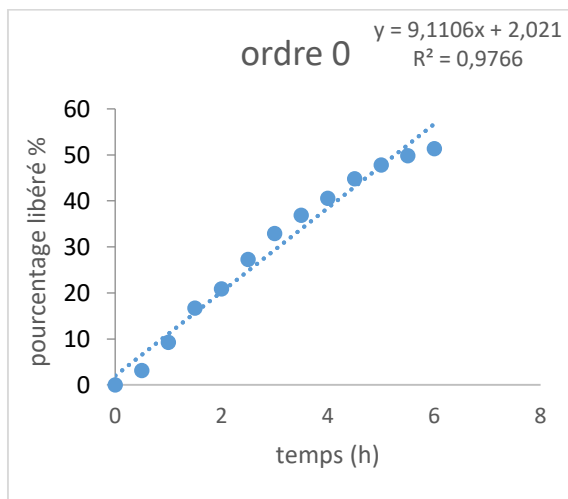


Figure 32 : Modèle d'ordre 0 de la crème 3

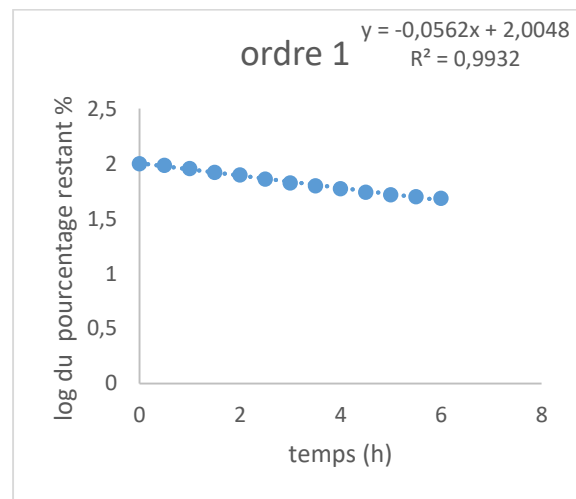


Figure 33: Modèle d'ordre 1 de la crème 3

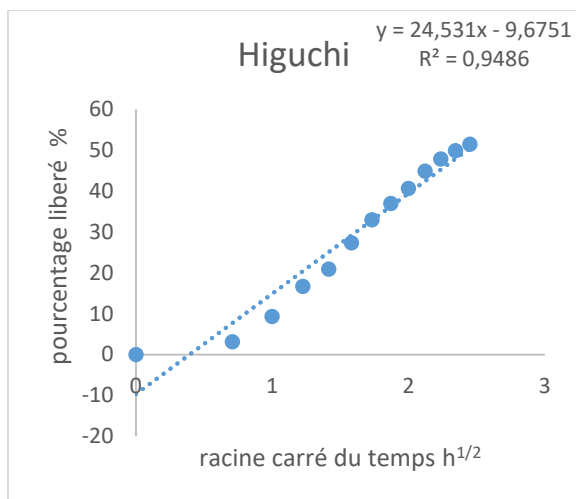


Figure 34: Modèle Higuchi de la crème 3

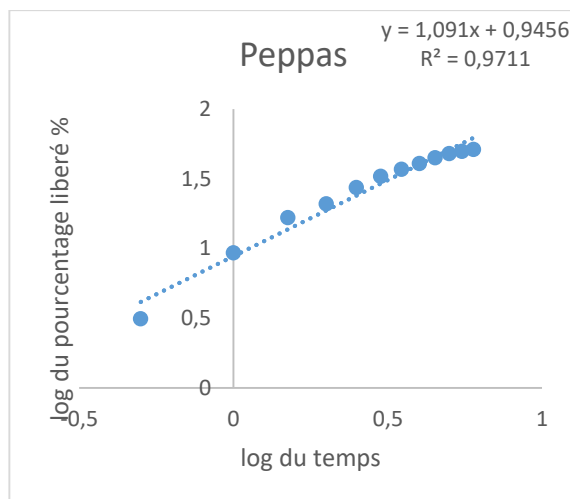


Figure 35: Modèle de Korsmeier Peppas de la crème 3

IV.5 Étude comparative des trois crèmes

IV.5.1 Les profils des pourcentages des quantités cumulées libérés

Les profils des pourcentages des quantités cumulées libérés en fonction du temps des trois crèmes sont représentés dans la figure 36.

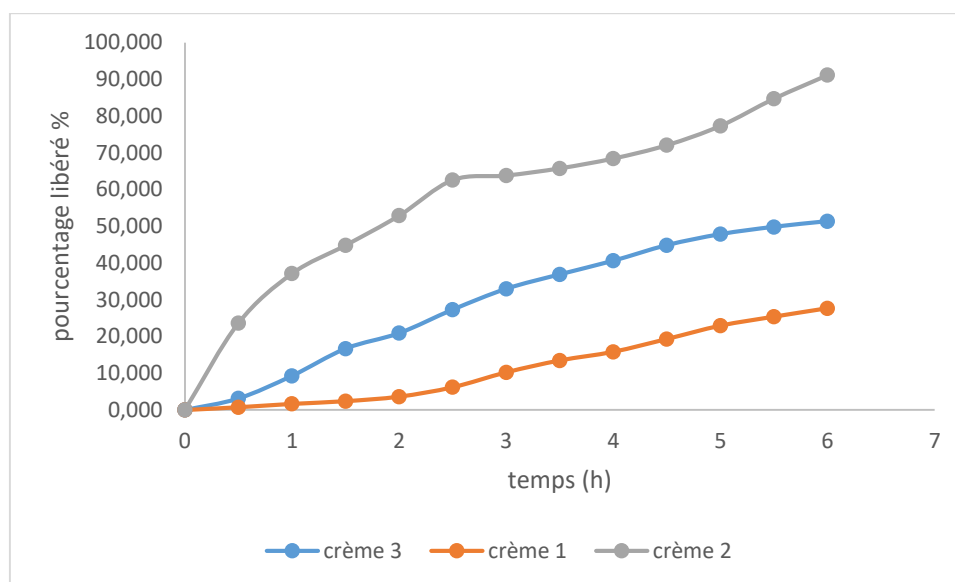


Figure 36: Comparaison des pourcentages des quantités cumulées en fonction du temps des trois crèmes

III.5.2 Les modèles cinétiques des trois crèmes

Les modèles cinétiques des trois crèmes ont été comparés et représentés dans les figures 37-40.

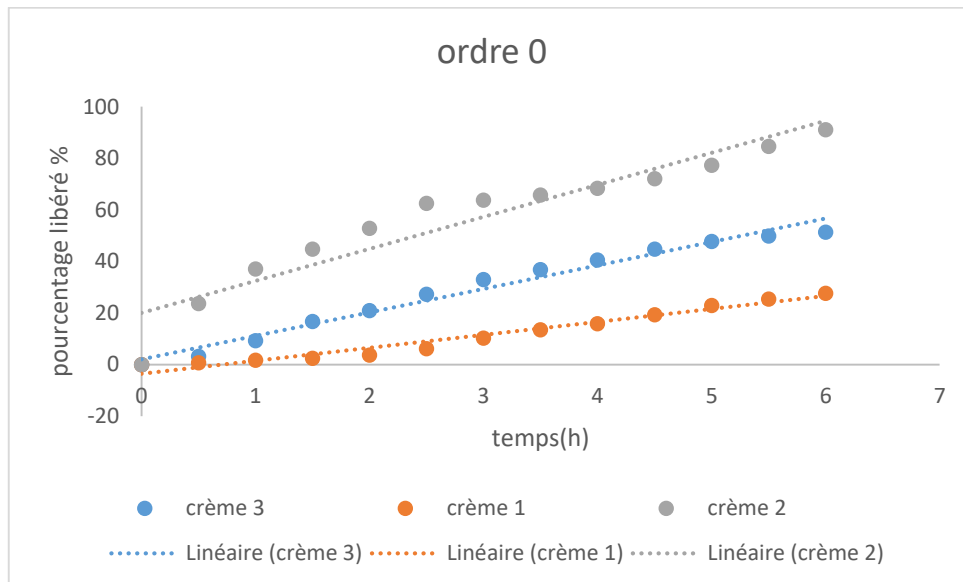


Figure 37: Comparaison du modèle d'ordre 0 des trois crèmes

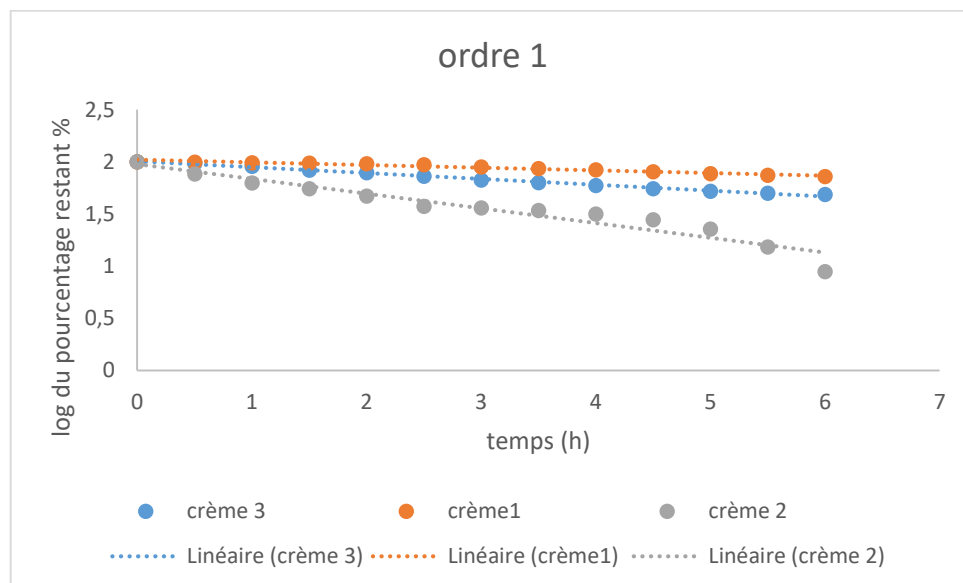


Figure 38 : Comparaison du modèle d'ordre 1 des trois crèmes

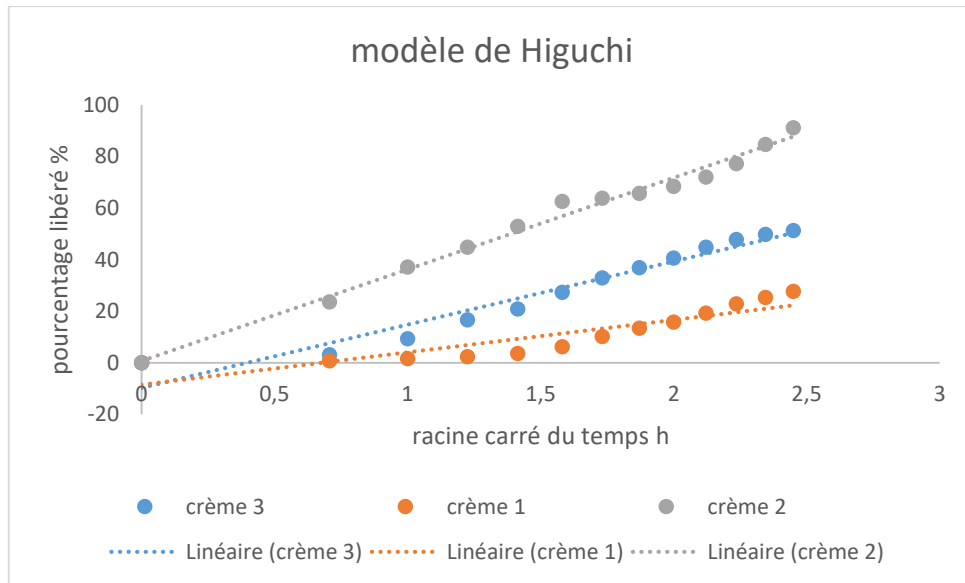


Figure 39 : Comparaison du modèle de Higuchi des trois crèmes

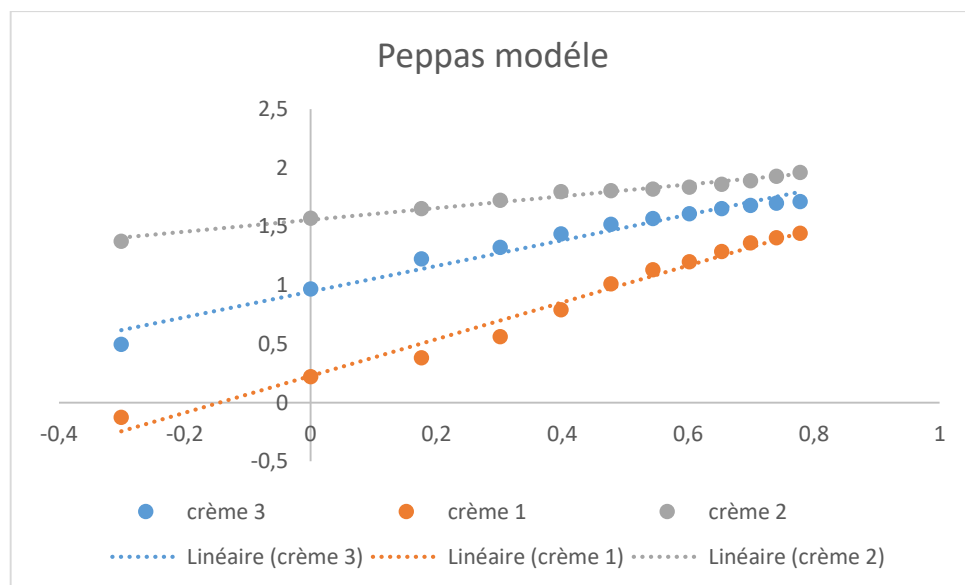


Figure 40 : Comparaison du modèle de Korsmeyer-Peppas des trois crèmes

III.5.2 Les coefficients de détermination R^2 et les coefficients de libération

K

Les coefficients de détermination R^2 et les coefficients de libération de chaque modèle K des trois crèmes sont reportés sur le tableau V.

Tableau V : Comparaison des paramètres des modèles cinétiques

Emulsion	Modèle ordre 0		Modèle ordre1		Modèle Higuchi		Modèle Korsmeyer Peppas	
	R ²	K	R ²	K	R ²	K	R ²	K
Crème 1	0.964	5.017	0.954	-0.025	0.806	12.532	0.9799	0.2261
Crème 2	0.900	12.40	0.930	-0.141	0.987	35.509	0.9834	1.5569
Crème 3	0.976	9.110	0.993	-0.056	0.948	24.531	0.9711	0.9456

Les résultats de l'exposant n du modèle de Korsmeyer Peppas ont été comparés par les données du tableau VI.

Tableau VI : Résultats de l'exposant "n" du modèle Korsmeyer Peppas

Crème	Exposant de libération « n »	Mécanisme de libération
Crème1	1.5676 (n >1)	transport super casuelle
Crème2	0.5 (n =0.5)	libération fickienne
Crème3	1.091 (n >1)	transport super casuelle

III.5.3 Le temps de latence et coefficient de perméabilité :

Le tableau VII représente le flux, le temps de latence et le coefficient de perméabilité des trois crèmes.

Tableau VII : Flux, temps de latence et coefficient de perméabilité des trois crèmes

	Flux (mg/cm ² .h)	Coefficient de perméabilité (cm/h)	Temps de latence (h)
Crème 1	1.258	0.018	1.788
Crème 2	0,278	0.03	0,463
Crème 3	1,36	0.019	0,123

IV. Discussion

La libération in-vitro de trois crèmes à base de vitamine C et dont le type d'émulsion est différent a été étudiée, la différence de pourcentage de libération et l'évaluation des paramètres des différents modèles cinétiques a permis d'identifier le modèle de libération le plus approprié.

Le coefficient de détermination R^2 du plus haut degré établit le modèle cinétique qui correspond au mieux à la libération du PA (43, 63, 68, 69) et l'exposant « n » du modèle de Korsmeyer Peppas indique le mécanisme de libération (107).

À 6 h, le pourcentage de libération des trois crèmes en fonction du temps par ordre de décroissance est de 91.125 %, 51.352 % et 27.67% correspondant respectivement à la crème 2 (H/E), la crème 3 (E/H/E) et la crème 1 (E/H). Cet enchaînement de pourcentage a été retrouvé dans les deux études de Ferreira et al, sur la libération du métronidazol, 1994 (10) et sur la libération du glucose, 1995 (11). À 2h les pourcentages de libération ont été retrouvés plus faibles pour E/H (3.634%) et E/H/E (20.904%) par rapport à H/E qui avait déjà libéré plus que la moitié de son contenu (52.884%). Le taux de libération a gardé le même enchaînement tout au long du processus de libération.

La plus grande libération a été retrouvée pour la crème 2. Le taux était 2.5 fois plus élevé que la crème 3 et 14.5 fois plus élevé que la crème 1 à 2h. À 6 h, le taux était 1.77 fois plus élevé que la crème 3 et 3.29 fois plus élevé que la crème 1. Il en résulte que la différence de libération entre les trois crèmes est restée la même avec une diminution du rapport des taux de libération.

Le pourcentage de libération de l'émulsion H/E dont la phase externe est hydrophile a été retrouvé plus élevé que l'émulsion E/H dont la phase externe est lipophile. Sachant que le PA ; la vitamine C ; est une molécule hydrosoluble, sa libération sera alors directe dans l'émulsion H/E du fait de la disponibilité du PA dans la phase externe, ceci a été confirmé par l'étude de Takashima et al, 1983 sur la libération de Fluocinolone qui a montré que le taux de libération à partir des crèmes augmente lorsque la concentration du PA libre dans la phase aqueuse externe d'émulsions H/E augmente (41). Contrairement à l'émulsion E/H dont le PA se trouve dans la phase interne ; dans ce cas ; la membrane huileuse agit comme une barrière entraînant une prolongation de la diffusion du PA de la phase interne vers la phase externe. Ceci a été retrouvé dans de nombreuses études comme

l'étude IVRT de Zsikó et al, 2020 (7), sur Diclofenac de sodium ; l'étude de Fredo-Kumbaradzi et al, 1991 sur la libération de Sulfacetamide de sodium (108) ou encore l'étude in vitro de Ferreira et al, 1994 sur le Métronidazole (10). S'ajoute à cela l'étude de Zillich OV et al, 2013 sur la libération des polyphénols qui a montré que l'émulsion à faible teneur en phase huileuse a fourni des taux de libération plus élevés (109).

Le pourcentage de libération de l'émulsion H/E a été retrouvé plus élevé que l'émulsion E/H/E. La différence de pourcentage peut être attribuée à la disponibilité du PA dans l'émulsion simple, contrairement à l'émulsion multiple où il est dissous dans la phase interne, en effet la libération étant plus lente à partir de l'émulsion multiple car le PA doit obligatoirement passer par plusieurs phases (de l'interne vers l'intermédiaire puis à la phase externe), la phase intermédiaire huileuse est l'étape limitante de la libération. Ceci a été aussi retrouvé par l'étude de Gomes et al, 2004 (12) et l'étude de Laugel C et al, 1998 sur la libération de l'hydrocortisone (44).

L'ingrédient actif de la crème 1 n'est pas encapsulé dans des supports polymériques, De ce fait, elle ne correspond pas aux hypothèses initiales du modèle Ritger et Peppas, 1987 (59, 107, 110), par conséquent, la description du mécanisme de libération par le modèle de Korsmeyer-Peppas peut être abandonnée comme dans le cas de l'étude de Dymek M et al, 2021 sur la libération de l'Astaxanthin dans les applications topiques (111). Donc, le modèle d'ordre 0 est peut être le mieux adapté pour cette émulsion E/H ($R^2=0.9648$). Ce modèle est largement utilisé pour les systèmes de dosage pharmaceutiques qui ne se désintègrent pas et dont la libération du médicament est très lente (6), l'étude de Yeneyer, 2009 sur la libération du Meloxicam à travers les différentes formes topiques a montré que l'émulsion E/H suivait un modèle de Higuchi ce qui n'est pas notre cas (69), La valeur de « n » supérieure à 1 signifie un mécanisme de type super casuel (67) ou une cinétique d'ordre zéro et peut suggérer la présence de facteurs limitant la libération tels que : l'interaction de la substance active avec la membrane ou la dissolution de la substance active (70, 109), dans notre cas le facteur limitant était la membrane huileuse.

La crème 2 suit un modèle Higuchi ($R^2=0.9879$) ce qui correspond à une libération par diffusion (67) l'étape contrôlant la vitesse de libération est la diffusion du PA dissous à travers le véhicule (Higuchi, 1962) (47, 112). Ceci a été retrouvé également dans l'étude de de Jaksic et al, 2012 pour la molécule de Kétoprofène (47) et dans l'étude

de Dimek et al, 2021 pour les émulsions H/E (111). Par contre, l'étude de Yeneyer et al, 2009 sur la libération du Meloxicam à travers les différentes formes topiques a montré que l'émulsion H/E suit l'ordre 0 (69) ainsi que l'étude de Mekawy et al, 2013 du Fluconazole a révélé que l'émulsion H/E est d'ordre 1 et est non fickienne (113), alors que l'exposant « n » de cette crème est de 0.5 c'est-à-dire que le transport du PA se fait selon la loi de Fick et le taux de libération dépend du temps (109).

La crème 3 suit une libération d'ordre 1 ($R^2 = 0.9932$), qui est une libération indépendante de la concentration, c'est le cas d'une molécule soluble dans une matrice poreuse (67). D'autres études ont obtenus différents modèles comme celle de Mishra B, 2011 sur la Lamotrigine (43) et celle de Sonakpuriya et al, 2013 sur le valsartan (63) qui ont suivi le modèle d'ordre 0, l'étude de Yeneyer, 2009 sur la libération du Meloxicam à partir des formes topiques a suivi le modèle de Higuchi (69). L'exposant « n » est retrouvé supérieur à 1 ce qui correspond à une libération de type transport super casuel (107) ce qui n'a pas été retrouvé dans le cas des deux études de Mishra B, 2011 (43) et celle de Ogundipe OD, 2019 sur l'Ibuprofene (72) dont la libération a été retrouvée non Fickienne.

Le flux est retrouvé par ordre de décroissance dans la crème 3 E/H/E (1.36 mg/cm².h), la crème 1 E/H (1.258 mg/cm².h), la crème 2 H/E (0.268 mg/cm².h). l'étude de Claudio Nastruzzi et al, 1993, de la libération du Methyl-nicotinate a montré un flux plus élevé pour l'émulsion E/H par rapport à l'émulsion H/E ce qui est similaire à notre étude (13) contrairement à l'étude de Zsiko et al 2020 sur la libération du Diclofenac de sodium à partir d'une crème qui a montré un flux plus élevé de l'émulsion H/E par rapport à l'émulsion E/H (7). Ainsi l'étude de Polonini et al 2014, a révélé que le taux de flux assez élevé peut être attribué à la nature même de la molécule et donc à sa plus grande solubilité dans l'eau (dans la matrice de la crème), qui faciliterait la libération de l'émulsion dans le milieu récepteur (114). S'ajoute à cela l'étude de Shah et al, 1989 qui a mentionné que la différence de flux est attribuée à la différence de formulation des produits (99). Ceci peut être attribué à la délivrance continue de l'émulsion multiple qui subit une libération prolongée, et donc le flux sera plus important contrairement à l'émulsion simple H/E qui se caractérise par une rapidité de libération ayant pour conséquence un épuisement et donc un flux plus faible (12).

Le temps de latence reflète une séquence complexe d'événements comprenant la libération de la substance active de son véhicule, la réorganisation des barrières cutanées et

la diffusion de la substance (115). Le temps de latence de la crème 1 est de 1.78 h, la crème 2 est de 0.46 h et crème 3 est de 0.123h, le temps de latence est beaucoup plus court dans l'émulsion E/H/E que l'émulsion E/H ce qui concorde avec l'étude de Tokgoz et al,1996 (116), où un temps de latence moins prolongé a été retrouvé dans l'émulsion multiple par rapport à l'émulsion simple .

Le temps de latence était plus court dans l'émulsion E/H/E que l'émulsion H/E ce qui n'est pas le cas de l'étude de Doucet et al,1998 qui a montré un temps de latence pour l'émulsion multiple plus élevé qu'une émulsion H/E (117).

Un temps de latence plus court dans l'émulsion H/E par rapport à l'émulsion E/H peut être attribué à la présence de la substance active, molécule hydrophile, de l'émulsion H/E sous forme libre et le partage peut avoir lieu immédiatement (118). Ceci est comparable à l'étude de Jaber SA et al, 2020 avec le Flurbiprofen ; molécule lipophile, qui a révélé qu'un temps de latence plus court est retrouvé dans l'émulsion E/H que l'émulsion H/E .Ceci est expliqué par la solubilité élevée de leur PA dans la phase huileuse et sa plus faible solubilité dans l'eau (50).

Suite à ce qui est venu ci-dessus, il s'est avéré qu'il n'y a pas de relation entre le flux et le temps de latence de chaque crème. Ce résultat est confirmé par l'étude de Bolzinger MA et al ,2008 qui a montré que le temps de latence ne varie pas en fonction du flux (115).

Le coefficient de perméabilité qui traduit la vitesse de libération, a été retrouvé par ordre de décroissance de 0.03 cm/h pour la crème 2, de 0.019 cm/h pour la crème 3 et de 0.018 cm/h pour la crème 1. La vitesse de libération est de ce fait plus importante dans le cas de l'émulsion H/E que de l'émulsion E/H/E. Ce qui concorde avec l'étude de Doucet et al, 1998 (117) . Cependant l'étude de Kalayoun Welin-berger et al, 2001 a montré que la vitesse de perméation des deux types d'émulsion H/E et E/H était du même ordre (119) . La vitesse de libération, est spécifique à la formulation et peut être utilisé pour contrôler la qualité du produit (114).

L'analyse des données statistiques a été effectuée à l'aide de la variance statistique ANOVA. Elle a montré qu'il existe une différence significative entre les trois crèmes ($P=2.07 < 0.05$). La libération de chaque crème dépend donc fortement du type d'émulsion (10).



Conclusion

Conclusion

La libération d'une crème présentée dans la majorité des cas sous forme d'émulsions ; consiste à la diffusion de ses actifs à partir de sa formulation pour passer ensuite dans le stratum cornéum et pour quantifier cette substance active libre, des études de libération in vitro et in vivo sont apparues dont la libération in vitro a pris une grande place ces dernières années, d'où l'intérêt de ce travail est d'étudier la libération in vitro d'une même molécule active à partir des crèmes à usage cosmétique.

Rappelant que l'objectif de ce travail était de révéler l'influence du type de l'émulsion sur le taux de libération en fonction du temps ainsi que sur les paramètres cinétiques de libération. L'influence de la phase lipophile de l'émulsion a été constatée par la présence d'une membrane huileuse agissant comme une barrière prolongeant la diffusion du PA. Quant à l'influence de la nature de la substance active a été prouvée par l'augmentation de la libération suite à la disponibilité du PA dans la phase externe. Ce résultat a été confirmé par un taux de libération de l'émulsion H/E qui est supérieur à celui de l'émulsion E/H et celui de l'émulsion E/H/E.

Le flux, le temps de latence ainsi que le coefficient de perméabilité ont pu illustrer davantage la tendance de libération. Le flux étant influencé par l'épuisement ou la prolongation de la libération de la crème. Quant au temps de latence et au coefficient de perméabilité, les résultats et les différentes études citées nous amènent à conclure qu'ils dépendent de plusieurs facteurs ; dont la libération du PA à partir de son véhicule, le caractère hydrophile ou lipophile de la substance, la nature de l'émulsion. La vitesse de libération sera alors spécifique à la formulation.

Concernant les modèles cinétiques, il n'y a pas eu de relation directe entre le type d'émulsion et le modèle de libération. Cependant, il a été démontré que leur détermination est une bonne possibilité de décrire ou de prédire certains processus de libération. L'analyse statistique ANOVA a révélé que la libération de chaque crème dépend fortement du type d'émulsion. Toutefois, les résultats de cette étude ne peuvent être corrélés directement à d'autres études qui ont été réalisées sur d'autres molécules à cause de l'intervention des autres facteurs comme la nature de la molécule étudiée, les différents composants de formulation, et les conditions expérimentales spécifiques à chaque étude.

Enfin, comme toute expérience, quelques limites rencontrées peuvent être citées comme l'indisponibilité de certains matériels, la présence d'une seule cellule de diffusion de Franz ainsi que le manque de variétés de membranes.

Conclusion

Les perspectives pouvant être retirées à l'issue de cette étude :

- L'étude de l'influence du type de membrane sur la libération ;
- La comparaison de la libération entre différentes cellules de diffusion ;
- L'étude de l'effet des véhicules choisis à la formulation sur la libération ;
- La comparaison entre la libération des différentes molécules actives pour un même type de formulation ;
- L'influence de changement des conditions d'expérimentation à savoir la température, la vitesse d'agitation et la quantité de crème.

Références

1. Fersadou H. Etude de la libération de principes actifs depuis les émulsions concentrées: caractérisation et modélisation: Institut National Polytechnique de Lorraine; 2011.
2. Majid H, Bartel A, Burckhardt BB. Predictivity of standardized and controlled permeation studies: Ex vivo – In vitro – In vivo correlation for sublingual absorption of propranolol. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2021;169:12-9.
3. Soriano-Ruiz JL, Suñer-Carbó J, Calpena-Campmany AC, Bozal-de Febrer N, Halbaut-Bellowa L, Boix-Montañés A, et al. Clotrimazole multiple W/O/W emulsion as anticandidal agent: Characterization and evaluation on skin and mucosae. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2019;175:166-74.
4. Olejnik A, Goscianska J, Nowak I. Active compounds release from semisolid dosage forms. *Journal of pharmaceutical sciences*. 2012;101(11):4032-45.
5. Simon A, Amaro MI, Healy AM, Cabral LM, de Sousa VP. Comparative evaluation of rivastigmine permeation from a transdermal system in the Franz cell using synthetic membranes and pig ear skin with in vivo-in vitro correlation. *International Journal of Pharmaceutics*. 2016;512(1):234-41.
6. Salamanca CH, Barrera-Ocampo A, Lasso JC, Camacho N, Yarce CJ. Franz diffusion cell approach for pre-formulation characterisation of ketoprofen semi-solid dosage forms. *Pharmaceutics*. 2018;10(3):148.
7. Zsikó S, Csányi E, Kovács A, Budai-Szűcs M, Gácsi A, Berkó S. Novel in vitro investigational methods for modeling skin permeation: Skin PAMPA, Raman mapping. *Pharmaceutics*. 2020;12(9):803.
8. Supe S, Takudage P. Methods for evaluating penetration of drug into the skin: A review. *Skin Research and Technology*. 2021;27(3):299-308.
9. Patel A, Iliopoulos F, Caspers PJ, Puppels GJ, Lane ME. In Vitro–In Vivo Correlation in Dermal Delivery: The Role of Excipients. *Pharmaceutics*. 2021;13(4):542.
10. Ferreira L, Seiller M, Grossiord J, Marty J, Wepierre J. Vehicle influence on in vitro release of metronidazole: role of w/o/w multiple emulsion. *International journal of pharmaceutics*. 1994;109(3):251-9.
11. Ferreira LAM, Seiller M, Grossiord JL, Marty JP, Wepierre J. Vehicle influence on in vitro release of glucose: w/o, w/o/w and o/w systems compared. *Journal of Controlled Release*. 1995;33(3):349-56.
12. Gomes SFdO, Nunan EdA, Ferreira LAM. Influence of the formulation type (o/w, w/o/w emulsions and ointment) on the topical delivery of paromomycin. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2004;40:345-52.
13. Nastruzzi C, Esposito E, Pastesini C, Gambari R, Menegatti E. Comparative study on the release kinetics of methyl-nicotinate from topic formulations. *International Journal of Pharmaceutics*. 1993;90(1):43-50.

14. Méliopoulos A, Levacher C. La peau. Structure et physiologie Editions Médicales Internationales, Allée de la Croix Bossée, F-94234 Cachan cedex, Tec et doc, Paris. 1998;11.
15. Crickx B. Comprendre la peau. Ann dermatol veneréol. 2005;132:8S3.
16. HILL-SYLVESTRE DM-P, OTTAVY DF. La peau La dermatologie au service de la beauté Ellipses edition marketing S.A. ed. ellipses, editor. 32, rue bargue 75740 Paris cedex 152013. 270 p.
17. Paruta Tuarez EA. Émulsions inverses très concentrées: formulation, comportement rhéologique et modélisation: Vandoeuvre-les-Nancy, INPL; 2010.
18. martini M-c. Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie LAVOISIER ed. édition e, editor2011. 500 p.
19. Rorteau J, Chevalier FP, Fromy B, Lamartine J. Vieillesse et intégrité de la peau. Med Sci (Paris). 2020;36(12):1155-62.
20. Démarchez M. La jonction dermo-épidermique. 2015.
21. Prost-Squarcioni C, Fraitag S, Heller M, Boehm N, editors. Histologie fonctionnelle du derme. Annales de Dermatologie et de Vénérologie; 2008: Elsevier.
22. Dréno B, editor Anatomie et physiologie de la peau et de ses annexes. Annales de Dermatologie et de Vénérologie; 2009: Elsevier.
23. Georgel A. Pénétration transcutanée des substances actives : application en dermocosmétologie. hal-01732837f université de Lorraine 2018.
24. Teyssou R, Koeck JL, Buisson Y. La flore cutanée. Revue Française des Laboratoires. 1997;1997(291):49-55.
25. Harman D. The aging process. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1981;78(11):7124-8.
26. Boismal F, Serron K, Dobos G, Zuelgaray E, Bensussan A, Michel L. Vieillesse cutané. Med Sci (Paris). 2020;36(12):1163-72.
27. Boismal F, Serron K, Dobos G, Zuelgaray E, Bensussan A, Michel L. [Skin aging: Pathophysiology and innovative therapies]. Med Sci (Paris). 2020;36(12):1163-72.
28. Montagnat-Rentier C. Vieillesse de la peau et les produits cosmétiques anti-âge actuels en pharmacie: la réglementation, leur composition, leur efficacité et l'attente des clients. Sciences pharmaceutiques. 2014.
29. Bartosova L, Bajgar J. Transdermal drug delivery in vitro using diffusion cells. Current medicinal chemistry. 2012;19(27):4671-7.
30. Hodgson E. A Textbook of Modern Toxicology. 2004.
31. Potts RO, Guy RH. Predicting skin permeability. Pharmaceutical research. 1992;9(5):663-9.
32. Purdon CH. In vitro passage of ibuprofen through synthetic and biological membranes: Rhodes University; 2001.
33. Pillai SK, Kleyi P, De Beer M, Mudaly P. Layered double hydroxides: An advanced encapsulation and delivery system for cosmetic ingredients-an overview. Applied Clay Science. 2020;199:105868.

34. Esposito C. Développement de nouveaux systèmes de délivrance de substances actives administrées par la voie transcutanée. 2021.
35. Pulsoni I, Lubda M, Aiello M, Fedi A, Marzagalli M, von Hagen J, et al. Comparison Between Franz Diffusion Cell and a novel Micro-physiological System for In Vitro Penetration Assay Using Different Skin Models. *SLAS Technology*. 2022.
36. Naegel A, Hahn T, Schaefer UF, Lehr C-M, Heisig M, Wittum G. Finite dose skin penetration: a comparison of concentration-depth profiles from experiment and simulation. *Computing and Visualization in Science*. 2011;14(7):327-39.
37. Majid H, Bartel A, Burckhardt BB. Predictivity of standardized and controlled permeation studies: Ex vivo–In vitro–In vivo correlation for sublingual absorption of propranolol. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2021;169:12-9.
38. Costa R, Santos L. Delivery systems for cosmetics - From manufacturing to the skin of natural antioxidants. *Powder Technology*. 2017;322:402-16.
39. Jennings V, Schäfer-Korting M, Gohla S. Vitamin A-loaded solid lipid nanoparticles for topical use: drug release properties. *Journal of Controlled Release*. 2000;66(2):115-26.
40. Xu S, Wang W, Li X, Liu J, Dong A, Deng L. Sustained release of PTX-incorporated nanoparticles synergized by burst release of DOX·HCl from thermosensitive modified PEG/PCL hydrogel to improve anti-tumor efficiency. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2014;62:267-73.
41. Takashima Y, TANAKA S, YOSHIZAWA H. Distribution of fluocinolone acetonide in oil-in-water creams and its release from the creams. *Chemical and pharmaceutical bulletin*. 1983;31(11):4040-7.
42. Bae KH, Lee F, Xu K, Keng CT, Tan SY, Tan YJ, et al. Microstructured dextran hydrogels for burst-free sustained release of PEGylated protein drugs. *Biomaterials*. 2015;63:146-57.
43. Mishra B, Sahoo BL, Mishra M, Shukla D, Kumar V. Design of a controlled release liquid formulation of lamotrigine. *Daru: Journal of Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences*. 2011;19(2):126.
44. Laugel C, Baillet A, P. Youenang Piemi M, Marty JP, Ferrier D. Oil–water–oil multiple emulsions for prolonged delivery of hydrocortisone after topical application: comparison with simple emulsions. *International Journal of Pharmaceutics*. 1998;160(1):109-17.
45. Paul S, Kumar A, Yedurkar P, Sawant K. Design and development of multiple emulsion for enhancement of oral bioavailability of acyclovir. *Drug development and industrial pharmacy*. 2013;39(11):1809-17.
46. Jung YJ, Yoon J-H, Kang NG, Park SG, Jeong SH. Diffusion properties of different compounds across various synthetic membranes using Franz-type diffusion cells. *Journal of Pharmaceutical Investigation*. 2012;42(5):271-7.
47. Jaksic I, Lukic M, Malenovic A, Reichl S, Hoffmann C, Müller-Goymann C, et al. Compounding of a topical drug with prospective natural surfactant-stabilized pharmaceutical bases: physicochemical and in vitro/in vivo characterization—a ketoprofen case study. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*. 2012;80(1):164-75.
48. Ilić T, Pantelić I, Lunter D, Đorđević S, Marković B, Ranković D, et al. Critical quality attributes, in vitro release and correlated in vitro skin permeation—in vivo tape

stripping collective data for demonstrating therapeutic (non)equivalence of topical semisolids: A case study of “ready-to-use” vehicles. *International Journal of Pharmaceutics*. 2017;528(1):253-67.

49. Costa R, Santos L. Delivery systems for cosmetics-From manufacturing to the skin of natural antioxidants. *Powder technology*. 2017;322:402-16.

50. Jaber* SA, Sulaiman HT, Rajab NA. Preparation, Characterization and In-Vitro Diffusion Study of Different Topical Flurbiprofen Semisolids.

51. Levintova Y, Plakogiannis FM, Bellantone RA. An improved in vitro method for measuring skin permeability that controls excess hydration of skin using modified Franz diffusion cells. *International journal of pharmaceutics*. 2011;419(1-2):96-106.

52. Trbojevich RA, Fernandez A, Watanabe F, Mustafa T, Bryant MS. Comparative study of silver nanoparticle permeation using Side-Bi-Side and Franz diffusion cells. *Journal of Nanoparticle Research*. 2016;18(3):1-12.

53. Haigh JM, Smith EW. The selection and use of natural and synthetic membranes for in vitro diffusion experiments. *European journal of pharmaceutical sciences*. 1994;2(5-6):311-30.

54. Förster M. Évaluation de la pénétration cutanée des ingrédients de systèmes dispersés: utilisation combinée des cellules de diffusion et de la microscopie confocale Raman. Lyon I: Université Claude Bernard; 2010.

55. . O. Skin absorption: in vitro method. In: Development OfECa, editor. *Guideline for the testing of chemicals* 428. Paris, (2004).

56. Thomas RT, Del Río de Vicente JI, Zhang K, Karzarjeddi M, Liimatainen H, Oksman K. Size exclusion and affinity-based removal of nanoparticles with electrospun cellulose acetate membranes infused with functionalized cellulose nanocrystals. *Materials & Design*. 2022;217:110654.

57. Wu J, Yuan Q. Gas permeability of a novel cellulose membrane. *Journal of Membrane Science*. 2002;204(1):185-94.

58. Neupane R, Boddu SH, Renukuntla J, Babu RJ, Tiwari AK. Alternatives to biological skin in permeation studies: Current trends and possibilities. *Pharmaceutics*. 2020;12(2):152.

59. Dash S, Murthy PN, Nath L, Chowdhury P. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Pol Pharm*. 2010;67(3):217-23.

60. Lamboni M. Weak derivative-based expansion of functions: ANOVA and some inequalities. *Mathematics and Computers in Simulation*. 2022;194:691-718.

61. Kalepu S, Nallu R. Optimization of Speed and weight fraction parameters for Al2O3-NITINOL composites through ANOVA. *Materials Today: Proceedings*. 2022.

62. Meyners M, Hasted A. On the applicability of ANOVA models for CATA data. *Food Quality and Preference*. 2021;92:104219.

63. Sonakpuriya P, Bhowmick M, Pandey GK, Joshi A, Dubey B. Formulation and evaluation of multiple emulsion of Valsartan. *International Journal of PharmTech Research*. 2013;5:132-46.

64. Zhao L, Wei Y, Mei Y, Yang L, You Y, Yang X, et al. Preparation and in vitro drug release evaluation of once-daily metformin hydrochloride sustained-release tablets. *Pharmacology & Pharmacy*. 2012;3(04):468.
65. Cascone S. Modeling and comparison of release profiles: Effect of the dissolution method. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2017;106:352-61.
66. Kumari V, Tyagi P, Sangal A. In-Vitro kinetic release study of illicium verum (Chakraphool) polymeric nanoparticles. *Materials Today: Proceedings*. 2021.
67. Paarakh MP, Jose PA, Setty C, Christopher GP. Release kinetics—concepts and applications. *Int J Pharm Res Technol*. 2018;8(1):12-20.
68. Ekenna IC, Abali SO. Comparison of the Use of Kinetic Model Plots and DD Solver Software to Evaluate the Drug Release from Griseofulvin Tablets. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2022;12(2-S):5-13.
69. Yener G, Dal Ö, Üner M. Effect of Vehicles on Release of Meloxicam from Various Topical Formulations *The Open Drug Delivery Journal*. 2009;3:19-23.
70. Dyja R, Jankowski A. The effect of additives on release and in vitro skin retention of flavonoids from emulsion and gel semisolid formulations. *International journal of cosmetic science*. 2017;39(4):442-9.
71. Bourdon F. Développement de formes transdermiques à usage hospitalier, à partir de véhicules prêts à l'emploi, pour le traitement des nausées et vomissements chimio-induits: Université du Droit et de la Santé-Lille II; 2015.
72. Ogundipe OD, Oladimeji FA. Water-in-Oil-in-Water multiple emulsions of ibuprofen for paediatrics using african walnut seed oil. *Journal of Applied Pharmaceutical Research*. 2019;7(1):08-22.
73. Liu X, Yousef S, Anissimov YG, van der Hoek J, Tsakalozou E, Ni Z, et al. Diffusion modelling of percutaneous absorption kinetics. Predicting urinary excretion from in vitro skin permeation tests (IVPT) for an infinite dose. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2020;149:30-44.
74. Yener G, Dal Ö, Üner M. Effect of vehicles on release of meloxicam from various topical formulations. *The Open Drug Delivery Journal*. 2009;3(1).
75. Villette B B-. Définition du cosmétique : frontières entre cosmétiques et médicaments. 2000 [
76. HIR AL. pharmacie galénique bonne pratique de fabrication des médicaments masson ed. masson ée, editor.
77. Galénique des excipients. In: Goetz P, editor. *La phytocosmétologie thérapeutique*. Paris: Springer Paris; 2007. p. 63-76.
78. Ibtissem DM, Mohammed B. Essais de mise au point de formulation d'une crème cosmétique hydratante anti âge 2017.
79. Wehrle P. pharmacie galénique formulation et technologie pharmaceutique 2^e édition ed. pharmacie Eede, editor 2012.
80. Stiens. R. Guide pratique : La vérité sur les cosmétiques naturels. Editions LS, editor. Clamecy. 2007.

81. Madaan V, Chanana A, Kataria MK, Bilandi A. EMULSION TECHNOLOGY AND RECENT TRENDS IN EMULSION APPLICATIONS. *International research journal of pharmacy*. 2014;5:533-42.
82. ZISSU D. Tests in vitro pour l'évaluation de la tolérance cutanée aux substances chimiques. *Les Cahiers de notes documentaires-Institut national de sécurité*. 2003;192:23-7.
83. Zhang W, Huang Q, Yang R, Zhao W, Hua X. 2-O-D-glucopyranosyl-L-ascorbic acid: Properties, production, and potential application as a substitute for L-ascorbic acid. *Journal of Functional Foods*. 2021;82:104481.
84. Liu X-x, Wang X-x, Cui L-l. Association between Oral vitamin C supplementation and serum uric acid: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Complementary Therapies in Medicine*. 2021;60:102761.
85. Iliopoulos F, Sil BC, Moore DJ, Lucas RA, Lane ME. 3-O-ethyl-l-ascorbic acid: Characterisation and investigation of single solvent systems for delivery to the skin. *International Journal of Pharmaceutics: X*. 2019;1:100025.
86. Ahmad I, Sheraz MA, Ahmed S, Bano R, Vaid FH. Photochemical interaction of ascorbic acid with riboflavin, nicotinamide and alpha-tocopherol in cream formulations. *International journal of cosmetic science*. 2012;34(2):123-31.
87. Wei Y, Zhang Z, Zhang Y, Sun Y. Simple LC Method with Chemiluminescence Detection for Simultaneous Determination of Arbutin and l-Ascorbic Acid in Whitening Cosmetics. *Chromatographia*. 2007;65(7):443-6.
88. Gref R, Deloménie C, Maksimenko A, Gouadon E, Percoco G, Lati E, et al. Vitamin C–squalene bioconjugate promotes epidermal thickening and collagen production in human skin. *Scientific reports*. 2020;10(1):1-12.
89. Kwaśniewska D, Kiewlicz J. Study of interaction between cationic surfactant (CTAB) and ascorbic acid/ascorbic acids derivatives by tensiometric and spectroscopic methods. *Journal of Molecular Liquids*. 2022;354:118917.
90. Hossu A-M, Scripcariu M, Radulescu C, Moater EI, Ionita I. DETERMINATIONS CHROMATOGRAPHIQUES, SPECTROPHOTOMETRIQUES ET TITRIMETRIQUES DE VITAMINE C DANS PHARMACEUTIQUES♦.
91. pharmacopée européenne 10^{ème} édition ed.
92. Ahmad I, Sheraz MA, Ahmed S, Shaikh RH, Vaid FH, ur Rehman Khattak S, et al. Photostability and interaction of ascorbic acid in cream formulations. *AAPS PharmSciTech*. 2011;12(3):917-23.
93. Hossu A-M, Radulescu C, Ionita I, Moater EI. METHODES SPECTROPHOTOMETRIQUES ET CHROMATOGRAPHIQUES POUR LA DETERMINATION DE LA VITAMINE C♦.
94. Franz TJ. Percutaneous absorption on the relevance of in vitro data. *The Journal of investigative dermatology*. 1975;64(3):190-5.
95. Skelly JP, Shah VP, Maibach HI, Guy RH, Wester RC, Flynn GL, et al. FDA and AAPS Report of the Workshop on Principles and Practices of In Vitro Percutaneous Penetration Studies: Relevance to Bioavailability and Bioequivalence. *Pharmaceutical Research*. 2004;4:265-7.

96. EMA. Guideline on quality of transdermal patches. In: Medicines E, Agency ECQ, editors. 2012.
97. 37 USP. SEMISOLID DRUG PRODUCTS—PERFORMANCE TESTS. 2014. p. 1273-84.
98. Arce F, Asano N, See GL, Oshizaka T, Itakura S, Todo H, et al. Prediction of skin permeation and concentration of rhododendrol applied as finite dose from complex cosmetic vehicles. *International Journal of Pharmaceutics*. 2020;578:119186.
99. Shah VP, Elkins J, Lam S-Y, Skelly JP. Determination of in vitro drug release from hydrocortisone creams. *International Journal of Pharmaceutics*. 1989;53(1):53-9.
100. Ansari M, Kazemipour M, Aklamli M. The study of drug permeation through natural membranes. *Int J Pharm*. 2006;327(1-2):6-11.
101. Abdeltawab H, Svirskis D, Boyd BJ, Hill A, Sharma M. Injectable thermoresponsive gels offer sustained dual release of bupivacaine hydrochloride and ketorolac tromethamine for up to two weeks. *International Journal of Pharmaceutics*. 2021;604:120748.
102. Goebel K, Sato MEO, Souza DFd, Murakami FS, Andrezza IF. In vitro release of diclofenac diethylamine from gels: evaluation of generic semisolid drug products in Brazil. *Brazilian journal of pharmaceutical sciences*. 2013;49(2):211-9.
103. Elewski BE. Percutaneous absorption kinetics of topical metronidazole formulations in vitro in the human cadaver skin model. *Advances in Therapy*. 2007;24(2):239-46.
104. Katakam LNR, Katari NK. Development of in-vitro release testing method for permethrin cream formulation using Franz Vertical Diffusion Cell apparatus by HPLC. *Talanta Open*. 2021;4:100056.
105. Ng SF, Rouse JJ, Sanderson FD, Meidan V, Eccleston GM. Validation of a static Franz diffusion cell system for in vitro permeation studies. *AAPS PharmSciTech*. 2010;11(3):1432-41.
106. Samingan AS, Leong E-C, Rahardjo H. A flexible wall permeameter for measurements of water and air coefficients of permeability of residual soils. *Canadian geotechnical journal*. 2003;40(3):559-74.
107. PREETHY, PAARAKH MP, SETTY C, PETERCHRISTOPER GV. RELEASE KINETICS - CONCEPTS AND APPLICATIONS. *International Journal of Pharmacy Research & Technology* 2018;8.
108. Fredo-Kumbaradzi, E. S, M., Vuleta, G. and Simov, A. Release of sulfacetamide sodium from multiple w/o/w emulsions. *Pharmazie*. 1991.
109. Zillich OV, Schweiggert-Weisz U, Hasenkopf K, Eisner P, Kerscher M. Release and in vitro skin permeation of polyphenols from cosmetic emulsions. *International journal of cosmetic science*. 2013;35(5):491-501.
110. Ritger PL, Peppas NA. A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. *Journal of Controlled Release*. 1987;5(1):23-36.
111. Dymek M, Sikora E. Emulsions as vehicles for the controlled release of astaxanthin in topical application. *Chemical and Process Engineering*. 2021:439-50--50.
112. Higuchi WI. Analysis of data on the medicament release from ointments. *J Pharm Sci*. 1962;51:802-4.

- 113.Mekkawy AI, Fathy M, El-Shanawany S. Study of fluconazole release from o/w cream and water soluble ointment bases. *British Journal of Pharmaceutical Research*. 2013;3(4):686.
- 114.Polonini HC, de Almeida Bastos C, de Oliveira MAL, da Silva CGA, Collins CH, Brandão MAF, et al. In vitro drug release and ex vivo percutaneous absorption of resveratrol cream using HPLC with zirconized silica stationary phase. *Journal of Chromatography B*. 2014;947:23-31.
- 115.Bolzinger MA, Briançon S, Pelletier J, Fessi H, Chevalier Y. Percutaneous release of caffeine from microemulsion, emulsion and gel dosage forms. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2008;68(2):446-51.
- 116.Tokgoz NS. Optimisation d'une émulsion multiple H/L/H renfermant de l'acide ascorbique, étude de libération et évaluation cosmétique: Paris 11; 1996.
- 117.Doucet O, Ferrero L, Garcia N, Zastrow L. O/W emulsion and W/O/W multiple emulsion: physical characterization and skin pharmacokinetic comparison in the delivery process of caffeine. *International journal of cosmetic science*. 1998;20(5):283-95.
- 118.Ferreira LAM, Seiller M, Grossiord JL, Marty JP, Wepierre J. Vehicle influence on in vitro release of metronidazole: role of w/o/w multiple emulsion. *International Journal of Pharmaceutics*. 1994;109(3):251-9.
- 119.Welin-Berger K, Neelissen J, Bergenståhl B. In vitro permeation profile of a local anaesthetic compound from topical formulations with different rheological behaviour—verified by in vivo efficacy data. *European journal of pharmaceutical sciences*. 2001;14(3):229-36.

Résumé

Cette étude est basée sur la libération in vitro de la vitamine C à travers une cellule de diffusion type cellule de Franz à partir de trois crèmes, une émulsion simple E/H, une émulsion simple H/E et une émulsion multiple E/H/E dont l'objectif principal est de déceler la différence de libération entre les trois émulsions.

La première étape est le lancement de la diffusion à travers une membrane synthétique d'acétate de cellulose par la mise en place de la crème entre le compartiment donneur et le compartiment récepteur de la cellule de Franz, la deuxième étape est le suivi de cette libération par le dosage spectrophotométrique UV-visible de la vitamine C à intervalle de temps précis.

Les résultats obtenus ont permis de comparer les pourcentages cumulés libérés des trois crèmes, il a été constaté que l'émulsion H/E a eu le plus grand taux de libération, dû à la disponibilité du principe actif dans la phase externe, contrairement aux émulsions E/H et E/H/E dont la membrane huileuse agissait comme une barrière. La détermination du flux, le temps de latence et le coefficient de perméabilité ont été ajoutés ainsi que les modèles cinétiques qui ont illustré davantage le profil de libération. Cette exploration a permis de conclure que la libération de chaque crème dépend fortement du type d'émulsion.

Mots clés : libération, cellule de Franz, vitamine c, crème, émulsion, diffusion.

Abstract

This study is based on the in vitro release of vitamin C through a Franz diffusion cell from three creams with different emulsion types, a simple emulsion W/O, a simple emulsion O/W and a multiple emulsion W/O/W. whose main objective is to detect the difference in release between the three emulsions.

The first step is the initiation of diffusion through a synthetic cellulose acetate membrane by applying the cream between the donor and receptor compartments of the Franz cell, the second step is the monitoring of this release by UV-visible spectrophotometric determination of vitamin C at specific time interval.

The results obtained allowed a comparison of the cumulative percentages released from the three creams, it was found that the O/W emulsion had the highest rate of release, due to the availability of the active ingredient in the external phase, unlike the W/O and W/O/W emulsions, where the oily membrane acted as a barrier. Determination of the flux, lag time and permeability coefficient were added as well as kinetic models which further illustrated the release profile. This exploration led to the conclusion that the release of each cream is highly dependent on the type of emulsion.

Keywords: release, franz cell, vitamin c, cream, emulsion, diffusion

المخلص

تعتمد هذه الدراسة على إطلاق فيتامين ج من ثلاثة كريمات بأنواع مختلفة من المستحلب باستعمال خلية انتشار فرانز ، مستحلب متعدد W/O/W, مستحلب بسيط W/O ومستحلب بسيط O/W. هدفه الرئيسي اكتشاف الفرق بين المستحلبات الثلاثة من حيث الإطلاق.

تتمثل الخطوة الأولى في بداية إطلاق الانتشار من خلال غشاء اصطناعي من أسيتات السليلوز بوضع الكريمة بين مقصورة المتبرع ومقصورة المستقبل لخلية فرانز. أما الخطوة الثانية فتكمن في متابعة هذا الإطلاق عن طريق الفحص الطيفي المرئي للأشعة فوق البنفسجية لفيتامين ج بين فترات زمنية محددة.

سمحت النتائج التي تم الوصول إليها بمقارنة النسب المئوية التراكمية المنبعثة من الكريمات الثلاث، وخلصنا إلى أن مستحلب O/W يحظى بأعلى معدل للإطلاق نظرًا لتوفر المكون النشط في المرحلة الخارجية، على عكس مستحلب W/O/W و W/O حيث شكل الغشاء الزيتي حاجزًا. تمت إضافة كل من تحديد التدفق ووقت التأخير ومعامل النفاذية بالإضافة إلى النماذج الحركية التي توضح ملف تعريف الإطلاق بشكل أكبر. أدى هذا الاستكشاف إلى استنتاج أن إطلاق كل من الكريمات يعتمد بشكل كبير على نوع المستحلب.

الكلمات المفتاحية: إفراز ، خلية فرانز ، فيتامين ج ، كريم ، مستحلب ، انتشار