

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



**UNIVERSITE FERHAT ABBAS SETIF 1**

**FACULTE DE TECHNOLOGIE**

## **THÈSE**

**Présentée au Département de Génie des Procédés**

**Pour l'obtention du diplôme de**

**DOCTORAT**

**Domaine : Sciences et Technologie**

**Filière : Génie des Procédés**

**Option : Génie des Procédés  
Pharmaceutiques**

**Par**

**ASSAS Nedjma**

## **THÈME**

**Elaboration et caractérisation de microparticules chargées de principe actif thérapeutique par encapsulation. Optimisation et modélisation des transferts de matières**

Soutenue le 05 / 11 / 2019 devant le Jury :			
BOUTAHALA Mokhtar	Professeur	Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Président
BAITICHE Milad	Professeure	Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Directrice de thèse
EL BAHRI Zineb	Professeure	Univ. Djilali Liabès Sidi-Bel-Abbès	Co-Directrice
BENTOUHAMI Embarek	Professeur	Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Examineur
DIAF Kheira	M.C.A	Univ. Djilali Liabès Sidi-Bel-Abbès	Examinatrice
DJERBOUA Ferhat	Professeur	Univ. Ferhat Abbas Sétif 1	Invité

**Résumé :**

Le but de ce travail était de développer une nouvelle forme de dosage pharmaceutique à base de microsphères pour une administration prolongée de l'acide niflumique (AN) en utilisant les techniques de microencapsulation. Des progrès importants dans la technologie de délivrance de médicaments ont été réalisés afin de surmonter le problème des formes conventionnelles (insolubilité des principes actifs, effets indésirables, faible biodisponibilité). Ainsi, le recours à des nouvelles formulations, notamment de produits encapsulés est la stratégie proposée dans cette thèse. Le procédé de l'évaporation de solvant en émulsion simple et le séchage par atomisation ont été utilisés pour la préparation des microsphères à base d'Ethylcellulose, Ethylcellulose/Hydroxypropylméthylcellulose, Ethylcellulose/ $\beta$ -Cyclodextrine et Chitosane. Plusieurs facteurs influençant les propriétés physiques des microsphères ont été étudiés. Les analyses et les techniques suivies pour caractériser les microsphères élaborées étaient : FTIR, UV-VIS, SEM, DRX, DSC, Taille des particules par Microscopie Optique et Diffraction Laser, Potentiel Zeta, Teneur en principe actif, Rendement du procédé de microencapsulation ainsi que les cinétiques et les taux de libération du médicament en milieu gastro-intestinal avec et sans pepsine ou pancréatine. Les diamètres moyens de Sauter ont été calculés et la morphologie aussi bien que la topographie des microsphères ont été évaluées. L'étude par DRX a montré que la cristallinité de l'AN n'a pas été complètement perdue après l'encapsulation par les deux procédés. Les microsphères exhibent des libérations prolongées et une meilleure solubilité de l'AN a été obtenue pour le complexe d'inclusion avec la  $\beta$ -Cyclodextrine. Les microsphères à base d'Ethylcellulose ont suivi la cinétique du modèle Crowell-Hixson, Higuchi et Korsmeyer Peppas. Pour le modèle de Korsmeyer Peppas il a été approprié pour les microsphères à base de chitosane dont le mécanisme de biodégradation n'est pas bien élucidé. Toutes les analyses montrent qu'avec les deux méthodes, les paramètres du processus n'entraînent aucun changement structurel de l'acide niflumique. Le plan d'expériences a été utilisé pour évaluer les interactions entre des variables choisies à l'aide du logiciel Minitab.

**Mots Clés :** Microencapsulation, Libération contrôlée, Acide niflumique, Evaporation de solvant, Polymères, Séchage par atomisation, Plan d'expériences.

## **Remerciements**

*Je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir donnée la force et le courage de finir ce travail, qui est le fruit de mes années de quête de savoir.*

*Je tiens à adresser mes plus sincères remerciements, à ma directrice de thèse, **Pr. BAITICHE Milad** pour m'avoir fait confiance très tôt dans la conduite de mon projet, qui m'a fait profiter d'une remarquable ouverture d'esprit et m'a transmis son insatiable curiosité scientifique de m'avoir prodiguée d'utiles conseils qui m'ont grandement aidée dans la conduite de mon travail, sa constante disponibilité, ses précieux conseils et l'intérêt qu'elle avait témoigné pour suivre ce travail, permettez- moi de vous exprimer ici l'expression de ma profonde reconnaissance.*

*Je remercie très chaleureusement Professeur **EL BAHRI Zineb** pour sa disponibilité, son Co-encadrement efficace, sa compréhension, sa grande gentillesse et surtout pour la grande confiance qu'elle m'a témoignée tout au long de cette étude.*

*Je remercie vivement Professeur **DJERBOUA Ferhat** pour sa contribution dans la réalisation de cette thèse, pour sa patience et ses conseils judicieux qui m'ont été d'un grand secours dans la conception de ce travail.*

*Je tiens à remercier vivement Professeur **ACOSTA Niuris** et Docteur **ARANAZ Inmaculada** chercheurs à l'Université Complutence-Madrid, de m'avoir accueillie dans leur équipe de recherche. Pendant mon stage en Espagne, elles ont été toujours disponibles pour m'aider à sortir des périodes pénibles. Elles ont toujours été présentes pour me fournir tout dont j'avais besoin et surtout la facilité d'avancement de ma thèse, je suis fière d'avoir partagé leurs expériences précieuses et leurs connaissances.*

*Je remercie Professeur **VISERAS IBORRA Cesar**, Professeur à l'Université de Grenade-Espagne qui m'a permis de caractériser certains de mes échantillons dans son laboratoire.*

*Je remercie également sincèrement les membres de jury qui ont accepté de juger ce travail :*

*Professeur **BOUTAHALA Mokhtar**, Professeur à l'Université de Ferhat Abbas Sétif 1 ; d'avoir accepté d'être président de jury de ma soutenance de thèse. Vous m'aviez beaucoup aidée en me considérant comme votre étudiante et en me permettant d'utiliser tous les appareils de votre laboratoire. Merci pour vos qualités humaines, je vous dois tout mon respect.*

*Professeur **BENTOUHAMI Embarek**, Professeur à l'Université Ferhat Abbas Sétif 1 ;  
Docteur **DIAF Kheira**, Maitre de conférences à l'Université Djillali Liabès de Sidi-Bel-  
Abbès, je vous remercie d'avoir accepté d'être examinateurs de ce travail.*

*A tout le personnel des laboratoires (LMPMP, LGPC) et celui du laboratoire de la  
graduation, pour leurs aides, leurs patiences et le réconfort qu'ils m'ont toujours réservée. Je  
leur présente mes vifs remerciements et les assure de ma profonde gratitude.*

*J'exprime mes sincères remerciements à ma famille pour leur soutien et leur encouragement  
tout au long de mes pérégrinations doctorales.*



Remerciement

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Abréviations

## Introduction générale

### Partie I : bibliographie *Microencapsulation : Etat de l'art et stratégies*

1. Introduction.....	7
2. Classification des microparticules .....	8
3. Objectifs et avantages de la microencapsulation.....	9
4. Limites de la microencapsulation.....	10
5. Procédés de la microencapsulation. ....	11
5.1 Technique de la microencapsulation par évaporation de solvant.....	12
5.1.1 Polymères enrobants.....	14
5.1.2 Travaux de recherche publiés sur l'EC et la méthode par.....	18
évaporation de solvant	
5.1.3 Travaux de recherche publiés avec l'HPMC et l'EC/HPMC par.....	24
la méthode d'évaporation de solvant	
5.1.4 Travaux de recherche sur l'inclusion de PA dans la $\beta$ -CD .....	25
5.2 Microencapsulation avec séchage par atomisation (Spray-drying) .....	25
5.2.1 Les agents réticulants .....	27
5.2.2 Caractéristiques des matériaux réticulés ... ..	28
5.2.3 Travaux de recherche publiés dans la réticulation du chitosane .....	29
5.2.4 Mécanisme de la réticulation.....	30
5.2.4 Travaux de recherche sur la réticulation du chitosane avec le STPP .....	31
par Spray Drying	
6. Conclusion .....	33

Références

### Partie II : Expérimental

#### Chapitre 1 : Description des protocoles expérimentaux

1. Matériels et Méthodes .....	45
1.1 Matériels.....	45
1.2 Méthodes .....	46
1.2.1 Description du dispositif expérimental .....	46

1.2.2 Préparation des microsphères à base d'éthylcellulose par émulsion / évaporation de solvant	47
1.2.3 Préparation des microsphères d'acide niflumique à base EC/HPMC et EC/ $\beta$ -CD par émulsion/évaporation de solvant	48
1.2.4 Préparation des microsphères de l'AN à base de chitosane	49
2. Caractérisation des microsphères	52
2.1 Analyse par spectroscopie UV de l'acide niflumique	52
2.2 Quantification de l'actif encapsulé	56
2.2.1 Dans la matrice d'éthylcellulose	56
2.2.2 Dans la matrice de chitosane	56
2.3 Identification de l'agent encapsulé par spectroscopie Infrarouge	57
2.4 Caractérisation par Microscopie Electronique à Balayage (MEB)	57
2.5 Détermination de la taille des microsphères de l'EC	57
2.5.1 Introduction	57
2.5.2 Méthode	58
2.6 Détermination de la taille des microsphères de chitosane : Distribution particulaire et potentiel Zeta (DLS)	59
2.7 Caractérisation par diffraction des rayons X (DRX)	59
2.8 Caractérisation par Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)	59
2.9 Test de dissolution	60
2.9.1 Protocole de libération de l'AN à partir des microsphères de l'EC	60
2.9.2 Protocole de libération de l'AN à partir des microsphères de Chitosane	60

## Références

### Chapitre 2 : Caractérisation des microsphères EC/AN

1. Introduction	65
2. Résultats de quantification des microsphères à base d'EC	66
2.1 Etude de l'effet des différents paramètres du procédé sur le rendement	66
2.1.1 Effet de vitesse d'agitation	67
2.1.2 Effet de la concentration du stabilisant de l'émulsion	67
2.1.3 Effet de la concentration du polymère	67
2.2 Etude de l'effet des différents paramètres du procédé sur la teneur en acide niflumique encapsulée	68
2.2.1 Effet de la vitesse d'agitation	68
2.2.2 Effet de la concentration de l'agent stabilisant	69
2.2.3 Effet de la concentration du polymère	69
3. Résultats de la caractérisation des microsphères à base d'EC	70

3.1 Taille et distribution en taille des microparticules .....	70
3.1.1 Effet de la vitesse d'agitation sur la taille des microsphères .....	73
3.1.2 Effet de la concentration de l'émulsifiant (PVA) sur la taille des microsphères. ....	73
3.1.3 Effet de la concentration de polymère sur la taille des microsphères .....	74
3.2 Sphéricité et Morphologie de surface des microsphères.....	74
3.3 Identification de l'agent encapsulé par spectroscopie Infrarouge.....	77
3.4 Caractérisation par Calorimétrie différentielle à balayage (DSC).....	79
3.5 Caractérisation par diffraction des rayons X (DRX).....	81
3.6 Etude de la cinétique de libération de l'AN à partir des microsphères de l'EC .....	83
3.6.1 Suivi de la libération de l'AN à partir des microsphères d'EC dans le milieu acide (pH=1,2) .....	84
3.6.2 Suivi de la libération de l'AN à partir des microsphères d'EC dans .....	91
le milieu basique (pH=6,8)	
4. Conclusion .....	93
Références	
<b>Chapitre 3 : Caractérisation des microsphères à base d'EC/HPMC/AN et d'EC/β-CD/AN</b>	
1. Introduction .....	100
2. Résultats de quantification des microsphères à base EC/HPMC et EC/β-CD.....	102
2.1 Effet de la variation des paramètres du procédé sur le rendement.....	103
2.1.1 Effet de la vitesse d'agitation .....	103
2.1.2 Effet de la concentration du polymère .....	103
2.2 Effet de la variation des paramètres du procédé sur la teneur en acide niflumique.....	104
2.2.1 Effet de la vitesse d'agitation.....	104
2.2.2 Effet de la concentration d'HPMC ou de la β-CD.....	104
2.2.3 Effet de la concentration de la substance active (AN).....	105
3. Résultats de la caractérisation des microsphères de l'AN à base EC/HPMC et EC/β-CD ...	105
3.1 Taille et distribution en taille des microparticules .....	105
3.1.1 Effet de la vitesse d'agitation.....	107
3.1.2 Effet de la concentration de l'HPMC ou de la β-CD.....	107
3.2 Morphologie, sphéricité et surface des microsphères .....	108
3.3 Identification de l'agent encapsulé par spectroscopie Infrarouge .....	110
3.4 Caractérisation par Calorimétrie différentielle à balayage (DSC).....	113
3.5 Caractérisation par diffraction des rayons X (DRX) .....	116
3.6 Etude de la cinétique de libération de l'AN à partir des microsphères de .....	119
l'EC/HPMC et EC/β-CD	

3.6.1 Suivi de la libération de l'AN à partir des microsphères d'EC/HPMC et EC/β-CD dans le milieu acide (pH=1,2)	119
3.6.2 Suivi de libération de l'AN à partir des microsphères d'EC/HPMC et d'EC/β-CD dans le milieu basique (pH=6,8)	125
4. Conclusion	127
Références	
<b>Chapitre 4 : Caractérisation des microsphères d'acide niflumique à base de chitosane</b>	
1. Introduction	133
2. Résultats et discussion	133
2.1 Résultats de la méthode 1	133
2.2 Résultats de la méthode 2 (diffusion de solvant dans l'émulsion simple)	133
2.2.1 Résultats de quantification des microsphères à base de CH/AN	133
2.2.2 Identification de l'agent encapsulé par spectroscopie Infrarouge	134
2.2.3 Sphéricité et Morphologie de surface des microsphères de chitosane	137
2.3 Résultats de la méthode 3 (Séchage par pulvérisation)	138
2.3.1 Le rendement en pourcentage	139
2.3.2 Teneur en principe actif	140
2.3.3 Potentiel Zêta	141
2.3.4 Diamètre moyen des microcapsules	142
2.3.5 Identification de l'agent encapsulé par spectroscopie Infrarouge	142
2.3.6 Caractérisation par Microscopie Electronique à Balayage (MEB)	144
2.3.7 Caractérisation par diffraction des rayons X (DRX)	145
2.3.8 Etude de la cinétique de libération de l'acide niflumique à partir des microsphères de chitosane préparées avec le séchage par pulvérisation	149
4. Conclusion	158
Références	
<b>Chapitre 5 : Modélisation de la libération de l'acide niflumique</b>	
1. Introduction	162
2. Modélisation de la libération de l'acide niflumique	164
2.1 Modélisation de la libération de l'acide niflumique à partir des microsphères base d'EC dans le milieu acide (pH=1,2)	164
2.2 Modélisation de la libération de l'AN à partir des microsphères à base d'EC/HPMC et EC/β-CD dans le milieu acide (pH=1,2)	168
2.3 Modélisation de la libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane dans le milieu acide (pH=1,2)	170
3. Conclusion	171
Références	

**Chapitre 6 : Evaluation des effets des paramètres du procédé par la méthode des plans d'expériences**

1. Introduction .....	174
2. Évaluation des microsphères d'éthylcellulose (EC) par le plan d'expériences .....	175
2.1 Facteurs étudiés et réponses mesurées .....	175
2.2 Construction du plan d'expériences .....	175
2.3 Réalisation des essais et analyse statistique .....	175
2.3.1 Plan d'expériences 1 .....	177
2.3.2 Plan d'expériences 2 .....	186
3. Évaluation des microsphères d'EC/HPMC par le plan d'expériences .....	193
3.1 Construction du plan d'expériences .....	193
4. Évaluation des microsphères d'EC/ $\beta$ -CD par le plan d'expériences .....	202
4.1 Construction du plan d'expériences .....	202
5. Conclusion .....	210
Références	
<b>Conclusion générale</b> .....	216
<b>Annexes</b> .....	218



<b>Tableau I.1.1:</b> Techniques d'encapsulation selon les différents procédés.....	11
<b>Tableau II.1.1:</b> Différentes caractéristiques du chitosane utilisé .....	44
<b>Tableau II.1.2:</b> Différents paramètres et formulations préparées (EC/AN).....	46
<b>Tableau II.1.3:</b> Différents paramètres et formulations préparées (EC/HPMC/AN,EC/ $\beta$ -CD/AN).....	47
<b>Tableau II.1.4:</b> Différents paramètres et formulations préparées (CH/AN, CH-G.A/AN) .....	49
<b>Tableau II.1.5:</b> Différents paramètres et formulations préparées (CH/AN, CH-STPP/AN).....	50
<b>Tableau II.1.6:</b> Valeurs expérimentales des maximums d'absorption et des coefficients d'extinction de l'acide niflumique .....	54
<b>Tableau II.1.7:</b> Description des diamètres caractérisant la taille des microparticules.....	56
<b>Tableau II.2.1:</b> Rendements (%) et teneur en substance active (%) des formulations F1-F12.....	64
<b>Tableau II.2.2:</b> Résultats granulométriques 'F1' .....	69
<b>Tableau II.2.3:</b> Diamètre moyen en nombre ( $d_{10}$ ), en surface ( $d_{32}$ ), en masse ( $d_{43}$ ) et. dispersion ( $\delta$ ) des différentes microsphères (EC/AN) préparées .....	70
<b>Tableau II.2.4:</b> Résultats des taux de libération de l'AN dans le milieu acide après 120min.....	82
<b>Tableau II.2.5:</b> Résultats des taux de libération de l'AN dans le milieu basique après 360min.....	88
<b>Tableau II.3.1:</b> Rendements %, teneur % en principe actif des microsphères d'EC/HPMC et d'EC/ $\beta$ -CD préparées .....	99
<b>Tableau II.3.2:</b> Diamètre moyen en nombre ( $d_{10}$ ), en surface ( $d_{32}$ ), en masse ( $d_{43}$ ) et la dispersion $\delta$ des différentes microsphères EC/HPMC et EC/ $\beta$ -CD préparées .....	103
<b>Tableau II.3.3:</b> Résultats des taux de libération de l'AN à partir des microsphères EC/HPMC..... et EC/ $\beta$ -CD dans le milieu acide pH=1,2.	117
<b>Tableau II.3.4:</b> Résultats des taux de libération de l'AN à partir des microsphères EC/HPMC,..... EC/ $\beta$ CD dans le milieu basique pH=6,8.	123
<b>Tableau II.4.1:</b> Rendement (%) des formulations réticulées avec le Glutaraldéhyde.....	132
<b>Tableau II.4.2:</b> Formulation des microcapsules de chitosane et caractéristiques principales .....	137
<b>Tableau II.4.3:</b> Résultats des taux de libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane dans le milieu acide sans enzyme, pH=1,2 .....	148

<b>Tableau II.4.4:</b> Résultats des taux de libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane dans le milieu basique sans enzyme, pH=7,2	152
<b>Tableau II.4.5:</b> Résultats des différents taux de libération de l'AN dans les différents milieux sans et avec enzyme	156
<b>Tableau II.5.1:</b> Résultats de la modélisation de la libération de l'AN pour les microsphères d'EC selon les modèles d'Higuchi, Korsmeyer-P et Crowell-H des différentes formulations préparées, pH=1,2.	166
<b>Tableau II.5.2:</b> Résultats de la modélisation de la libération de l'AN à partir des microsphères de l'EC/HPMC et l'EC/ $\beta$ -CD selon les modèles d'Higuchi, Korsmeyer-P et Crowell-H des différentes formulations préparées, pH=1,2.	167
<b>Tableau II.5.3:</b> Modélisation de la libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane selon le modèle de Korsmeyer Peppas.	169
<b>Tableau II.6.1:</b> Paramètres expérimentaux (facteurs) du plan factoriel 1	175
<b>Tableau II.6.2:</b> Paramètres expérimentaux (facteurs) du plan factoriel 2	175
<b>Tableau II.6.3:</b> Plan factoriel 2 <sup>2</sup> et caractéristiques des microparticules obtenues (taille, teneur en AN, constante de libération $K_H$ ) pour les microsphères EC/AN (2/1).	176
<b>Tableau II.6.4:</b> Plan factoriel 2 <sup>2</sup> et caractéristiques des microparticules obtenues (taille, teneur en AN, constante de libération $K_H$ ) pour les microsphères EC/AN (%PVA=0,25%).	176
<b>Tableau II.6.5 :</b> Paramètres expérimentaux (facteurs) du plan factoriel 2 <sup>2</sup> (EC/HPMC)	193
<b>Tableau II.6.6:</b> Plan factoriel 2 <sup>2</sup> et caractéristiques des microparticules obtenues (taille, teneur en AN, constante de libération $K_H$ ) pour les microsphères EC/HPMC:AN.	194
<b>Tableau II.6.7:</b> Paramètres expérimentaux (facteurs) du plan factoriel 2 <sup>2</sup> (EC/ $\beta$ -CD)	202
<b>Tableau II.6.8:</b> Plan factoriel 2 <sup>2</sup> et caractéristiques des microparticules obtenues (taille, teneur en AN, constante de libération $K_H$ ), pour les microsphères EC/ $\beta$ -CD.	202
<b>Tableaux en Annexe</b>	
<b>Tableau 1:</b> Résultats granulométriques 'F2'	218
<b>Tableau 2:</b> Résultats granulométriques 'F3'	219
<b>Tableau 3:</b> Résultats granulométrique 'F4'	220

<b>Tableau 4:</b> Résultats granulométriques ‘F5’ .....	221
<b>Tableau 5:</b> Résultats granulométriques ‘F6’ .....	222
<b>Tableau 6:</b> Résultats granulométriques ‘F7’ .....	223
<b>Tableau 7:</b> Résultats granulométriques ‘F8’ .....	224
<b>Tableau 8:</b> Résultats granulométriques ‘F9’ .....	225
<b>Tableau 9:</b> Résultats granulométriques ‘F10’ .....	226
<b>Tableau 10:</b> Résultats granulométriques ‘F11’ .....	227
<b>Tableau 11:</b> Résultats granulométriques ‘F12’ .....	228
<b>Tableau 12:</b> Résultats granulométriques ‘Lot 01’ .....	229
<b>Tableau 13:</b> Résultats granulométriques ‘Lot 02’ .....	230
<b>Tableau 14:</b> Résultats granulométriques ‘Lot 03’ .....	231
<b>Tableau 15:</b> Résultats granulométriques ‘Lot 04’ .....	232
<b>Tableau 16:</b> Résultats granulométriques ‘Lot 05’ .....	233
<b>Tableau 17:</b> Résultats granulométriques ‘Lot 06’ .....	234
<b>Tableau 18:</b> Résultats granulométriques ‘Lot 07’ .....	235
<b>Tableau 19:</b> Résultats granulométriques ‘Lot 08’ .....	236
<b>Tableau 20:</b> Résultats granulométriques ‘Lot 09’ .....	237
<b>Tableau 21:</b> Résultats granulométriques ‘Lot 10’ .....	238
<b>Tableau 22:</b> Résultats granulométriques ‘Lot 11’ .....	239
<b>Tableau 23:</b> Résultats granulométriques ‘Lot 12’ .....	240
<b>Tableau 24:</b> Résultats granulométriques de la formulation EC/ $\beta$ -CD-5% à 300rpm .....	241
<b>Tableau 25:</b> Résultats granulométriques de la formulation EC/ $\beta$ -CD-5% à 800rpm .....	242
<b>Tableau 26:</b> Résultats granulométriques de la formulation EC/ $\beta$ -CD-30% à 300rpm .....	243
<b>Tableau 27:</b> Résultats granulométriques de la formulation EC/ $\beta$ -CD-30% à 800rpm .....	244

<b>Figure I.1.1</b> : Morphologie des particules obtenues par microencapsulation :.....	9
a) microcapsule simple, (b) microsphère simple	
<b>Figure I.1.2</b> : Images MEB de microcapsules (a) et de microsphères (b) .....	9
<b>Figure I.1.3</b> : Principes de base de la microencapsulation par évaporation de solvant .....	13
<b>Figure I.1.4</b> : Structure chimique de l'éthylcellulose (EC) .....	15
<b>Figure I.1.5</b> : Structure chimique de l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC) .....	15
<b>Figure I.1.6</b> : Structure chimique des cyclodextrines (CDs) .....	17
<b>Figure I.1.7</b> : Structure chimique du chitosane .....	26
<b>Figure I.1.8</b> : Réticulation ionique du chitosane par le STPP .....	28
<b>Figure II.1.1</b> : Schéma du dispositif expérimental utilisé dans l'encapsulation.....	47
<b>Figure II.1.2</b> : Spectre UV-Vis de l'acide niflumique dans une solution HCl (0.1N), pH=1,2 .....	53
<b>Figure II.1.3</b> : Spectre UV-Vis de l'acide niflumique dans une solution tampon de pH=6,8 .....	53
<b>Figure II.1.4</b> : Spectre UV-Vis de l'acide niflumique dans l'éthanol absolu .....	54
<b>Figure II.1.5</b> : Courbe d'étalonnage de l'AN dans l'HCl, pH=1,2 à $\lambda=254\text{nm}$ .....	54
<b>Figure II.1.6</b> : Courbe d'étalonnage de l'AN dans l'éthanol absolu à $\lambda=288\text{nm}$ .....	55
<b>Figure II.1.7</b> : Courbe d'étalonnage de l'AN dans la solution tampon, pH=6,8 à $\lambda=286\text{nm}$ .....	55
<b>Figure II.2.1</b> : Distribution en taille de microsphères chargées par l'acide niflumique (F1) .....	72
<b>Figure II.2.2</b> : Photo des microsphères prise par microscopie optique pour F2 .....	75
<b>Figure II.2.3</b> : Photo des microsphères prise par microscopie optique pour F10 .....	75
<b>Figure II.2.4</b> : Micrographies MEB des microsphères (F2), (a) : surface extérieure (100 $\mu\text{m}$ ) , .....	76
(b) : surface extérieure (1 $\mu\text{m}$ ), (c) et (d) : surface intérieure.	
<b>Figure II.2.5</b> : Micrographies MEB des microsphères (F10), (a) : surface extérieure (100 $\mu\text{m}$ ),.....	76
(b): surface extérieure (20 $\mu\text{m}$ ), (c): surface extérieure (1 $\mu\text{m}$ ) et (d): surface intérieure(2 $\mu\text{m}$ )	
<b>Figure II.2.6</b> : Spectre FTIR de l'acide niflumique pur (AN) .....	78
<b>Figure II.2.7</b> : Spectre FTIR de l'éthylcellulose (EC) .....	78
<b>Figure II.2.8</b> : Spectre FTIR des microsphères EC/AN (F3) .....	78
<b>Figure II.2.9</b> : Spectre FTIR des microsphères EC/AN (F12) .....	79
<b>Figure II.2.10</b> : Thermogramme (DSC) de l'acide niflumique pur (AN) .....	80
<b>Figure II.2.11</b> : Thermogramme (DSC) de l'éthylcellulose pur (EC) .....	80
<b>Figure II.2.12</b> : Thermogramme (DSC) de la formulation F2 .....	81

<b>Figure II.2.13</b> : Thermogramme (DSC) de la formulation F10 .....	81
<b>Figure II.2.14</b> : Diffractogramme de DRX de l'AN pur .....	82
<b>Figure II.2.15</b> : Diffractogramme de DRX de l'EC pur .....	82
<b>Figure II.2.16</b> : Diffractogramme de DRX de la formulation F3.....	83
<b>Figure II.2.17</b> : Diffractogramme de DRX de la formulation F10 .....	83
<b>Figure II.2.18</b> : Profils de libération des microsphères préparées 800 rpm, pH=1,2 .....	85
<b>Figure II.2.19</b> : Profils de libération des microsphères préparées à 1300 rpm, pH=1,2 .....	85
<b>Figure II.2.20</b> : Profils de libération des microsphères préparées à 1700 rpm, pH=1,2 .....	86
<b>Figure II.2.21</b> : Profils de libération des microsphères préparées dans les conditions :.....	87
0.1% PVA, EC/AN : 2/1, pH=1,2	
<b>Figure II.2.22</b> : Profils de libération des microsphères préparées dans les conditions :.....	87
0.25% PVA, EC/AN :2/1, pH=1,2	
<b>Figure II.2.23</b> : Profils de libération des microsphères préparées dans les conditions :.....	87
0.5% PVA, EC/AN 2/1, pH=1,2	
<b>Figure II.2.24</b> : Profils de libération des microsphères préparées dans les conditions : .....	88
0.25% PVA, EC/AN : 1/1, pH=1,2	
<b>Figure II.2.25</b> : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères EC/AN dans les conditions : .....	89
F2 (EC/AN :2/1) et F10 (EC/AN :1/1) à 800 rpm, 0.25% PVA, pH=1,2	
<b>Figure II.2.26</b> : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères EC/AN dans les conditions : .....	90
F5 (EC/AN : 2/1) et F11 (EC/AN :1/1) à 1300rpm, 0.25% PVA, pH=1,2	
<b>Figure II.2.27</b> : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères EC/AN dans les conditions : .....	90
F8 (EC/AN : 2/1) et F12 (EC/AN : 1/1) à 1700rpm, 0.25% PVA, pH=1,2	
<b>Figure II.2.28</b> : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères EC/AN : 2/1 ; .....	92
F2 (0.25% PVA, 800rpm), F5 (0.25% PVA, 1300rpm), F7 (0.1% PVA, 1700rpm) et F8 (0.25% PVA, 1700rpm), pH=6,8	
<b>Figure II.3.1</b> : Micrographies des microsphères prise par microscopie optique pour .....	108
les formulations : Lot 04 et Lot 12 (EC/HPMC/AN)	
<b>Figure II.3.2</b> : Micrographies des microsphères prise par microscopie optique pour.....	109
le Lot 14 (EC/ $\beta$ -CD/AN)	
<b>Figure II.3.3</b> : Micrographies MEB des microsphères à base EC/HPMC (Lot 04, Lot 12) .....	109
<b>Figure II.3.4</b> : Micrographies MEB des microsphères à base d'EC/ $\beta$ -CD (Lot 15) .....	110
<b>Figure II.3.5</b> : Spectre FTIR de l'acide niflumique pur (AN) .....	111

<b>Figure II.3.6</b> : Spectre FTIR de l'éthylcellulose pur (EC) .....	111
<b>Figure II.3.7</b> : Spectre FTIR de l'HPMC pur .....	112
<b>Figure II.3.8</b> : Spectre FTIR de la $\beta$ -CD .....	112
<b>Figure II.3.9</b> : Spectre FTIR des microsphères de la formulation Lot 09 (EC/HPMC/AN) .....	112
<b>Figure II.3.10</b> : Spectre FTIR des microsphères de la formulation Lot 14 (EC/ $\beta$ CD/AN) .....	113
<b>Figure II.3.11</b> : Thermogramme (DSC) de l'acide niflumique pur (AN) .....	114
<b>Figure II.3.12</b> : Thermogramme (DSC) de l'éthylcellulose pur (EC) .....	114
<b>Figure II.3.13</b> : Thermogramme (DSC) de l'HPMC .....	115
<b>Figure II.3.14</b> : Thermogramme (DSC) de la $\beta$ -CD .....	115
<b>Figure II.3.15</b> : Thermogramme (DSC) de Lot02 (EC/HPMC/AN) .....	115
<b>Figure II.3.16</b> : Thermogramme (DSC) du Lot 13 (EC/ $\beta$ CD/AN) .....	116
<b>Figure II.3.17</b> : Diffractogramme de DRX de l'acide niflumique (AN) .....	117
<b>Figure II.3.18</b> : Diffractogramme de DRX de l'éthylcellulose (EC) .....	117
<b>Figure II.3.19</b> : Diffractogramme DRX de l'hydroxypropylméthyle cellulose (HPMC) .....	118
<b>Figure II.3.20</b> : Diffractogramme DRX de $\beta$ -CD pur .....	118
<b>Figure II.3.21</b> : Diffractogramme DRX des lots 05, 06 (EC/HPMC/AN) et des lots 13,15 (EC/ $\beta$ -CD/AN) .....	118
<b>Figure II.3.22</b> : Profils de libération des microsphères préparées avec 5% HPMC, pH=1,2 .....	121
<b>Figure II.3.23</b> : Profils de libération des microsphères préparées avec 30% HPMC, pH=1,2 .....	121
<b>Figure II.3.24</b> : Profils de libération des microsphères préparées avec 5% $\beta$ -CD, pH=1,2 .....	122
<b>Figure II.3.25</b> : Profils de libération des microsphères préparées avec 30% $\beta$ -CD, pH=1,2 .....	122
<b>Figure II.3.26</b> : Profils de libération des microsphères EC/HPMC préparées à 300rpm, pH=1,2 .....	123
<b>Figure II.3.27</b> : Profils de libération des microsphères EC/HPMC préparées à 800 rpm, pH=1,2 .....	124
<b>Figure II.3.28</b> : Profils de libération des microsphères EC/ $\beta$ -CD préparées à 300 rpm, pH=1,2 .....	124
<b>Figure II.3.29</b> : Profils de libération des microsphères EC/ $\beta$ -CD préparées à 800 rpm, pH=1,2 .....	125
<b>Figure II.3.30</b> : Profils de libération des microsphères EC/HPMC, pH=6,8 .....	126
<b>Figure II.3.31</b> : Profils de libération des microsphères EC/ $\beta$ -CD, pH=6,8 .....	126
<b>Figure II.4.1</b> : Spectre FTIR de l'acide niflumique pur (AN) .....	135
<b>Figure II.4.2</b> : Spectre FTIR du Chitosane pur (CH) .....	135
<b>Figure II.4.3</b> : Spectre FTIR des microsphères CH-AN-G.A 1% .....	136

<b>Figure II.4.4</b> : Spectre FTIR des microsphères CH-AN-G.A 5% .....	137
<b>Figure II.4.5</b> : Image des microsphères prise par microscopie optique pour le Lot 07' selon la méthode 2 .....	137
<b>Figure II.4.6</b> : Micrographies MEB des microsphères de CH-G.A (Lot 07') par la méthode 2.....	138
<b>Figure II.4.7</b> : Micrographies MEB de la surface des microsphères CH-G.A de la formulation (Lot 07') par la méthode 2 .....	138
<b>Figure II.4.8</b> : Spectre FTIR du STPP .....	143
<b>Figure II.4.9</b> : Spectre FTIR des microsphères CH-AN-STPP (pH=9, 0.5%).....	143
<b>Figure II.4.10</b> : Spectre FTIR des microsphères CH-AN-STPP (pH=9, 0.1%) .....	143
<b>Figure II.4.11</b> : Micrographies MEB des microsphères CH/AN non réticulées par STPP .....	144
<b>Figure II.4.12</b> : Micrographies MEB des microsphères réticulées par le STPP, pH=9 .....	144
<b>Figure II.4.13</b> : Micrographies MEB des microsphères réticulées par le STPP, pH=6 .....	145
<b>Figure II.4.14</b> : Micrographies MEB des microsphères réticulées par le STPP, pH=4 .....	145
<b>Figure II.4.15</b> : Diffractogramme de DRX de l'acide niflumique (AN) pur .....	146
<b>Figure II.4.16</b> : Diffractogramme de DRX de chitosane pur. ....	147
<b>Figure II.4.17</b> : Diffractogramme de DRX des microsphères de CH non réticulées sans AN .....	147
<b>Figure II.4.18</b> : Diffractogramme de DRX de l'agent réticulant STPP .....	147
<b>Figure II.4.19</b> : Diffractogramme de DRX de microsphères de CH-STPP (0.5%, pH=9) .....	148
<b>Figure II.4.20</b> : Diffractogramme de DRX des microsphères CH-AN non réticulées .....	148
<b>Figure II.4.21</b> : Diffractogramme de DRX des microsphères réticulées CH-AN-STPP (pH=9).....	148
<b>Figure II.4.22</b> : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères préparées à..... (STPP, pH=9) en milieu acide (pH=1,2). .....	151
<b>Figure II.4.23</b> : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères préparées (STPP, pH=4) en milieu acide (pH=1,2). .....	151
<b>Figure II.4.24</b> : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères préparées (STPP, pH=6) en milieu acide (pH=1,2). .....	151
<b>Figure II.4.25</b> : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères préparées à 0.1% de STPP, (pH=1,2). .....	152
<b>Figure II.4.26</b> : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères préparées à 0.5% de STPP, (pH=1,2). .....	153
<b>Figure II.4.27</b> : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane non réticulées (S01) et réticulées (S02, S03 ; STPP à pH=9), pH=7.2 .....	154

<b>Figure II.4.28</b> : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane non réticulées (S01) et réticulées (S04, S05 ; STPP à pH=6), pH=7,2	155
<b>Figure II.4.29</b> : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane non réticulées (S01) et réticulées (S06, S07 ; STPP à pH=4), pH=7,2	155
<b>Figure II.4.30</b> : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane non réticulées (S01) et réticulées (S04, S06, S09) à 0.1% de STPP, pH=7,2	156
<b>Figure II.4.31</b> : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane non réticulées (S01) et réticulées (S03, S05, S07) à 0.5% de STPP, pH=7,2	156
<b>Figure II.5.1</b> : Application du modèle Korsmeyer-P. pour les microsphères F1 (EC/AN:2/1), pH=1,2	164
<b>Figure II.5.2</b> : Application du modèle d'Higuchi à partir des microsphères F1 (EC/AN:2/1), pH=1,2	165
<b>Figure II.5.3</b> : Application du modèle de Crowell-H pour les microsphères F1 (EC/AN:2/1), pH=1,2	165
<b>Figure II.6.1</b> : Graphique des effets de % PVA et la vitesse d'agitation sur le diamètre moyen ( $d_{10}$ ) en AN dans les microparticules EC /AN 2 :1	178
<b>Figure II.6.2</b> : Graphique des effets du % PVA et de la vitesse d'agitation sur la teneur (%T) en AN dans les microparticules EC/AN 2 :1	179
<b>Figure II.6.3</b> : Graphique des effets du % PVA et de la vitesse d'agitation sur la constante de libération de l'AN à partir des microsphères EC/AN 2 :1	179
<b>Figure II.6.4</b> : Graphique des effets des interactions du %PVA et de la vitesse d'agitation sur la teneur en AN pour les microsphères (EC/AN, 2 :1)	180
<b>Figure II.6.5</b> : Graphique des effets des interactions du %PVA et de la vitesse d'agitation sur la taille des microsphères (EC: AN, 2 :1)	180
<b>Figure II.6.6</b> : Graphique des effets des interactions du %PVA et de la vitesse d'agitation sur la constante libération de l'AN à partir des microsphères (EC/AN, 2 :1)	181
<b>Figure II.6.7</b> : Surface de réponse illustrant % T en fonction du % PVA et de la vitesse d'agitation des microsphères (EC/AN, 2:1)	182
<b>Figure II.6.8</b> : Représentation en contour des effets du % PVA et de la vitesse d'agitation sur la % T dans les microsphères (EC/AN, 2:1)	183
<b>Figure II.6.9</b> : Surface de réponse illustrant le diamètre moyen ( $d_{10}$ ) en fonction du % PVA et de la vitesse d'agitation des microsphères (EC/AN, 2:1)	183
<b>Figure II.6.10</b> : Représentation en contour des effets du % PVA et de la vitesse d'agitation sur la taille des microsphères (EC/AN, 2:1)	184
<b>Figure II.6.11</b> : Surface de réponse illustrant la constante de libération en fonction du % PVA et de la vitesse d'agitation des microsphères (EC/AN, 2:1)	184

<b>Figure II.6.12</b> : Représentation en contour des effets du % PVA et de la vitesse d'agitation sur.....	185
la constance de libération de l'AN à partir des microsphères (EC/AN, 2:1)	
<b>Figure II.6.13</b> : Graphique des effets du rapport EC/AN et de la vitesse d'agitation sur .....	186
la teneur (%T) en AN dans les microparticules (EC/AN, 0.25% PVA).	
<b>Figure II.6.14</b> : Graphique des effets du rapport EC/AN et la vitesse d'agitation sur.....	187
le diamètre moyen ( $d_{10}$ ) des microparticules (EC /AN, 0.25% PVA).	
<b>Figure II.6.15</b> : Graphique des effets du rapport EC/AN et de la vitesse d'agitation sur.....	187
la constante $K_H$ pour les microsphères (EC/AN, 0.25% PVA).	
<b>Figure II.6.16</b> : Graphique des effets des interactions entre le rapport EC/AN et la vitesse d'agitation.....	188
dans la teneur en AN pour les microsphères (EC/AN, 0.25% PVA)	
<b>Figure II.6.17</b> : Graphique des effets des interactions entre rapport EC/AN et la vitesse d'agitation.....	189
sur la taille des microsphères (EC/AN, 0.25% PVA)	
<b>Figure II.6.18</b> : Graphique des effets des interactions entre le rapport EC/AN et la vitesse d'agitation .....	189
sur la libération des microsphères (EC/AN, 0.25% PVA)	
<b>Figure II.6.19</b> : Surface de réponse illustrant % T en fonction du rapport EC/AN et de la vitesse d'agitation.....	190
des microsphères (EC/AN, 0.25% PVA)	
<b>Figure II.6.20</b> : Représentation en contour des effets du rapport EC/AN et la vitesse d'agitation .....	191
sur la % T en AN des microsphères (EC/AN, 0.25% PVA)	
<b>Figure I.6.21</b> : Surface de réponse illustrant le diamètre moyen ( $d_{10}$ ) en fonction du .....	191
rapport EC/AN et de vitesse d'agitation des microsphères (EC/AN, 0.25% PVA)	
<b>Figure II.6.22</b> : Représentation en contour des effets du rapport EC/AN et la vitesse d'agitation sur.....	192
le diamètre moyen ( $d_{10}$ ) des microsphères (EC/AN, 0.25% PVA)	
<b>Figure II.6.23</b> : Surface de réponse illustrant la constante de libération en fonction de .....	192
rapport EC/AN et la vitesse d'agitation et des microsphères (EC/AN, 0.25% PVA).	
<b>Figure II.6.24</b> : Représentation en contour des effets du rapport EC/AN et de la vitesse d'agitation .....	193
sur la constance de libération des microsphères (EC/AN, 0.25% PVA).	
<b>Figure II.6.25</b> : Graphique des effets du % HPMC et la vitesse d'agitation sur la teneur .....	195
en AN dans les microparticules (EC/HPMC).	
<b>Figure II.6.26</b> : Graphique des effets du % HPMC et la vitesse d'agitation sur $d_{10}$ des microparticules .....	196
(EC/HPMC)	
<b>Figure II.6.27</b> : Graphique des effets du % HPMC et la vitesse d'agitation sur .....	196
la constante de libération des microsphères (EC/HPMC)	
<b>Figure II.6.28</b> : Graphique des effets des interactions entre % HPMC et la vitesse d'agitation .....	197
sur la teneur en AN des microsphères (EC/HPMC)	

<b>Figure II.6.29</b> : Graphique des effets des interactions entre %HPMC et la vitesse d'agitation .....197 sur la taille des microsphères (EC/HPMC)	197
<b>Figure II.6.30</b> : Graphique des effets des interactions entre le %HPMC et la vitesse d'agitation .....198 sur la constante de libération de l'AN des microsphères (EC/HPMC)	198
<b>Figure II.6.31</b> : Surface de réponse illustrant % T en fonction du % HPMC et de la vitesse d'agitation .....199 pour les microsphères EC/HPMC	199
<b>Figure II.6.32</b> : Représentation en contour des effets du % HPMC et la vitesse d'agitation .....199 sur le % T en AN pour les microsphères EC/HPMC.	199
<b>Figure II.6.33</b> : Surface de réponse illustrant le diamètre moyen ( $d_{10}$ ) en fonction du % HPMC .....200 et de la vitesse d'agitation pour les microsphères EC/HPMC.	200
<b>Figure II.6.34</b> : Représentation en contour des effets du % HPMC et la vitesse d'agitation sur .....200 la taille des microsphères EC/HPMC	200
<b>Figure II.6.35</b> : Surface de réponse illustrant la constante de libération ( $K_H$ ) en fonction du .....201 % HPMC et de la vitesse d'agitation pour les microsphères EC/HPMC.	201
<b>Figure II.6.36</b> : Représentation en contour des effets du % HPMC et la vitesse d'agitation sur .....201 la constance de libération ( $K_H$ ) à partir des microsphères EC/HPMC.	201
<b>Figure II.6.37</b> : Graphique des effets du % $\beta$ -CD et la vitesse d'agitation sur la teneur .....203 en AN des microsphères (EC/ $\beta$ -CD).	203
<b>Figure II.6.38</b> : Graphique des effets du % $\beta$ -CD et la vitesse d'agitation sur la taille des .....204 microsphères (EC/ $\beta$ -CD).	204
<b>Figure II.6.39</b> : Graphique des effets du % $\beta$ -CD et la vitesse d'agitation sur la constante de .....204 libération de l'AN à partir des microsphères (EC/ $\beta$ -CD).	204
<b>Figure II.6.40</b> : Graphique des effets des interactions entre le % $\beta$ -CD et la vitesse d'agitation .....205 sur la teneur en AN dans les microsphères (EC/ $\beta$ -CD).	205
<b>Figure II.6.41</b> : Graphique des effets des interactions entre le % $\beta$ -CD et la vitesse d'agitation .....205 sur la taille des microsphères (EC/ $\beta$ -CD).	205
<b>Figure II.6.42</b> : Graphique des effets des interactions entre le % $\beta$ -CD et la vitesse d'agitation .....206 sur la constante de libération de l'AN à partir des microsphères (EC/ $\beta$ -CD).	206
<b>Figure II.6.43</b> : Surface de réponse illustrant la teneur en AN en fonction du % $\beta$ -CD et de .....207 la vitesse d'agitation pour les microsphères EC/ $\beta$ -CD.	207
<b>Figure II.6.44</b> : Représentation en Contour des effets du % $\beta$ -CD et la vitesse d'agitation sur .....207 la teneur en AN (%T) pour les microsphères EC/ $\beta$ -CD.	207
<b>Figure II.6.45</b> : Surface de réponse illustrant la taille des microparticules EC/ $\beta$ -CD en fonction du .....208 % $\beta$ -CD et de la vitesse d'agitation.	208

<b>Figure II.6.46</b> : Représentation en contour des effets du % $\beta$ -CD et la vitesse d'agitation sur la taille des microsphères EC/ $\beta$ -CD.	208
<b>Figure II.6.47</b> : Surface de réponse illustrant la vitesse de libération de l'AN en fonction du % $\beta$ -CD et de la vitesse d'agitation pour les microsphères EC/ $\beta$ -CD.	209
<b>Figure II.6.48</b> : Représentation en contour des effets du % $\beta$ -CD et la vitesse d'agitation sur la constante de libération de l'AN ( $K_H$ ) à partir des microsphères EC/ $\beta$ -CD	209

### Figures en Annexe

<b>Figure 1</b> : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F2)	218
<b>Figure 2</b> : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F3)	219
<b>Figure 3</b> : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F4)	220
<b>Figure 4</b> : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F5)	221
<b>Figure 5</b> : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F6)	222
<b>Figure 6</b> : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F7)	223
<b>Figure 7</b> : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F8)	224
<b>Figure 8</b> : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F9)	225
<b>Figure 9</b> : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F10)	226
<b>Figure 10</b> : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F11)	227
<b>Figure 11</b> : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F12)	228
<b>Figure 12</b> : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (lot 01)	229
<b>Figure 13</b> : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (Lot 02)	230
<b>Figure 14</b> : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (Lot 03)	231
<b>Figure 15</b> : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (Lot 04)	232
<b>Figure 16</b> : Distribution en taille de microsphères à base EC/HPMC chargées d'AN (Lot 05)	233
<b>Figure 17</b> : Distribution en taille de microsphères à base EC/HPMC chargées d'AN (Lot 06)	234
<b>Figure 18</b> : Distribution en taille de microsphères à base EC/HPMC chargées d'AN (Lot 07)	235
<b>Figure 19</b> : Distribution en taille de microsphères à base EC/HPMC chargées d'AN (Lot 08)	236
<b>Figure 20</b> : Distribution en taille de microsphères à base EC/HPMC chargées d'AN (Lot 09)	237
<b>Figure 21</b> : Distribution en taille de microsphères à base EC/HPMC chargées d'AN (Lot 10)	238
<b>Figure 22</b> : Distribution en taille de microsphères à base EC/HPMC chargées d'AN (lot 11)	239
<b>Figure 23</b> : Distribution en taille de microsphères à base EC/HPMC chargées d'AN (lot12)	240

<b>Figure 24</b> : Distribution en taille de microsphères à base EC/ $\beta$ -CD chargées d'AN (lot 13) .....	241
<b>Figure 25</b> : Distribution en taille de microsphères à base EC/ $\beta$ -CD chargées d'AN (lot14) .....	242
<b>Figure 26</b> : Distribution en taille de microsphères à base EC/ $\beta$ -CD chargées d'AN (lot15) .....	243
<b>Figure 27</b> : Distribution en taille de microsphères à base EC/ $\beta$ -CD chargées d'AN ((lot16) .....	244
<b>Figure 28</b> : Application du modèle d'Higuchi pour les microsphères (EC/AN:2/1),pH=1,2 .....	245
<b>Figure 29</b> : Application du modèle Korsmeyer-P. pour les microsphères (EC/AN:2/1), pH=1,2.....	245
<b>Figure 30</b> : Application du modèle de Crowell-H pour les microsphères (EC/AN:2/1), pH=1,2 .....	246
<b>Figure 31</b> : Application du modèle Korsmeyer-P. pour les microsphères (EC/AN:1/1), pH=1,2 .....	246
<b>Figure 32</b> : Application du modèle d'Higuchi pour les microsphères (EC/AN:1/1), pH=1,2 .....	247
<b>Figure 33</b> : Application du modèle de Crowell-H pour les microsphères (EC/AN:1/1), pH=1,2.....	247
<b>Figure 34</b> : Application du modèle Korsmeyer-P. pour les microsphères des Lot5-Lot8 .....	248
(EC/HPMC/AN: 2/0.5), pH=1,2	
<b>Figure 35</b> : Application du modèle d'Higuchi pour des microsphères des Lot5-Lot8 .....	248
(EC/HPMC/AN:2/0.5), pH=1,2	
<b>Figure 36</b> : Application du modèle de Crowell-H pour les microsphères des Lot5-Lot8 .....	248
(EC/HPMC/ AN:2/0.5), pH=1,2	
<b>Figure 37</b> : Application du modèle Korsmeyer-P. pour les microsphères Lot9-Lot12 .....	249
(EC/HPMC/AN:2/1), pH=1,2	
<b>Figure 38</b> : Application du modèle d'Higuchi pour des microsphères des Lot9-Lot12 .....	249
(EC/HPMC/AN:2/1), pH=1,2	
<b>Figure 39</b> : Application du modèle de Crowell-H pour les microsphères des Lot9-Lot12 .....	249
(EC/HPMC/AN:2/1), pH=1,2	
<b>Figure 40</b> : Application du modèle Korsmeyer-P. pour les microsphères Lot13-Lot16 .....	250
(EC/ $\beta$ -CD/AN:2/0.5), pH=1,2	
<b>Figure 41</b> : Application du modèle d'Higuchi pour les microsphères des Lot13-Lot16 .....	250
(EC/ $\beta$ -CD/AN:2/0.5), pH=1,2	
<b>Figure 42</b> : Application du modèle de Crowell-H pour les microsphères des Lot13-Lot16.....	250
(EC/ $\beta$ -CD/AN:2/0.5), pH=1,2	
<b>Figure 43</b> : Application du modèle Korsmeyer-P. pour les microsphères de chitosane S01-S07, pH=1,2.....	251

**AA** : Acide ascorbique

**AINS** : Anti-inflammatoire non stéroïdien

**AM** : Acide méfénamique

**AN** : Acide niflumique

**CA** : Acide citrique

**CAP** : Acetate phtalate de cellulose

**CDs** : Cyclodextrines

**CH** : Chitosane

**COX2** : Cyclooxygénase 2

**DCM** : Dichlorométhane

**DD** : Degré de déacétylation

**DLS** : Diffusion dynamique de la lumière

**DOE**: Design of Experiment

**DRX**: Diffraction des rayons X

**DSC**: Calorimétrie différentielle à balayage

**EC** : Ethylcellulose

**EE** : Efficacité d'encapsulation

**FA** : Formaldéhyde

**FLB** : Flurbiprofène

**G.A** : Glutaraldéhyde

**GIT** : Tractus gastro-intestinal

**HCl** : Acide chlorhydrique

**HPMC** : Hydroxypropylméthylcellulose

**HP-β-CD** : Hydroxylpropyle-βeta- cyclodextrine

**IBU** : Ibuprofene

**IR** : Spectroscopie infra-rouge

**K<sub>H</sub>** : Constante d'Higuchi

**LX** : Loxoprofène

**MA** : Acide Mefenamique

**MCC** : Cellulose microcristalline

**MEB** : Microscopie Electronique à balayage

**MH** : Chlorhydrate de metformine

**MPE** : Méthodologie des plans d'expériences

**MS** : Métoprolol succinique

**M $\beta$ -CD** : Méthyl- $\beta$ -cyclodextrine

**P.A** : Principe actif

**PABA** : Acide p-amino-benzoïque

**PLGA** : Acide poly lactique co-glycolique

**PLGA**: Poly Lactic-co-Glycolic Acid

**PPT**: Tripolyphosphate

**PVA**: Polyvinyle alcool

**PVP**: Polyvinyl pyrrolidone

**RMN**: Résonance magnétique nucléaire

**STPP** : Tripolyphosphate de sodium

**TA** : Acide tartrique

**TBS** : Sulfate de terbutaline

**TPP** : Tripolyphosphate

**UV** : Spectrophotomètre UV-Vis

**$\beta$ -CD** :  $\beta$ -cyclodextrine

# Introduction générale



## Introduction générale

L'absorption d'une molécule active médicamenteuse est régie par deux facteurs principaux : les caractéristiques de solubilité et de dissolution de la molécule dans les fluides digestifs et sa capacité à traverser les membranes intestinales. Etant donné qu'un principe actif doit au préalable se dissoudre dans le tractus gastro-intestinal avant d'être absorbé et que les molécules apolaires présentent de faibles solubilités dans l'eau, celles-ci ont souvent une biodisponibilité non suffisante pour obtenir l'effet thérapeutique recherché. Le développement de systèmes d'administration par voie orale, permettant de formuler des molécules apolaires pour une utilisation en thérapeutique, représente donc un grand défi pour l'industrie pharmaceutique notamment pour l'acide niflumique qui présente une demi-vie d'élimination courte (de 4 à 6h) et une très faible solubilité dans le milieu physiologique.

L'acide niflumique (AN) nommé selon « the Medical Subject Headings », Nifluril est un dérivé de l'acide anthranilique pratiquement insoluble dans l'eau, lipophile et très perméable. Classé dans la catégorie des anti-inflammatoires non stéroïdiens et doté des propriétés analgésiques et antipyrétiques, l'acide niflumique agit en bloquant la synthèse des prostaglandines en inhibant la cyclooxygénase, la phospholipase A2 et la COX-2, qui convertissent l'acide arachidonique en endopéroxydes cycliques, précurseurs des prostaglandines. L'inhibition de la synthèse des prostaglandines explique leurs actions analgésiques, antipyrétiques et inhibitrices des plaquettes, d'autres mécanismes peuvent contribuer à leurs effets anti-inflammatoires. L'AN est utilisé pour traiter les douleurs liées aux rhumatismes, en particulier la polyarthrite rhumatoïde et l'arthrose ; en plus de son application topique, il est également prescrit pour une administration par voie orale.

Des progrès importants dans la technologie de délivrance de médicaments ont été réalisés afin de surmonter le problème des formes conventionnelles. En fait, en plus des nausées et des vomissements qui causent une gêne grave, d'autres effets secondaires de l'AN sont identifiés, tels que des troubles du système nerveux central, des réactions d'hypersensibilité, des troubles rénaux / hépatiques, des troubles gastro-intestinaux, des réactions cutanées, l'agranulocytose et la neutropénie. En outre, parmi ses effets indésirables, on note la rétention d'eau, la photosensibilité, les alvéolites, l'éosinophilie pulmonaire, la pancréatite, le syndrome de Stevens-Johnson et l'exacerbation de la colite. Différentes stratégies ont été développées pour obtenir des propriétés pharmacodynamiques optimales, notamment l'apparition rapide de l'effet du médicament. Pour les formes galéniques solides telles que les comprimés et les gélules, la réduction de la taille des particules entraîne une augmentation de la surface, ce qui

améliore et facilite la dissolution du médicament et augmente ainsi le taux d'absorption. Ainsi, le recours à des nouvelles formulations, notamment de produits encapsulés est la stratégie proposée dans cette thèse. Ce travail s'articule autour de la génération et de la caractérisation de microsphères d'acide niflumique obtenues par la méthode d'émulsion par évaporation de solvants ainsi que par séchage par atomisation et destinées à permettre la délivrance contrôlée d'un principe actif après administration par voie orale.

De nombreux travaux ont valorisé l'intérêt de la microencapsulation : en biologie pour l'encapsulation de matière vivante (cellules), dans l'industrie pétrochimique, dans le domaine alimentaire pour la structuration des huiles végétales, en cosmétologie et dans le domaine pharmaceutique pour les systèmes d'administration des médicaments. Ce dernier est un domaine interdisciplinaire qui nécessite la connaissance de la science des polymères et de la technologie des émulsions ainsi qu'une compréhension approfondie de la stabilité des substances encapsulées.

L'évaporation de solvant est principalement utilisée pour la préparation des microsphères. Dans ce procédé, le polymère est tout d'abord dispersé dans un solvant volatil et n'est pas miscible avec la phase aqueuse constituant ainsi une émulsion Huile dans l'Eau. Le principe actif à encapsuler est dissous dans la solution de polymère puis le mélange est émulsionné en présence d'un agent émulsifiant comme le (PVA). Après cela, le mélange est soumis à une agitation pour évaporer le solvant et rétrécir le polymère autour du P.A.

Le séchage par pulvérisation est largement utilisé dans l'industrie pharmaceutique pour la préparation des microparticules. C'est un processus continu en une seule étape, facile, rapide et présente un gain de temps à utiliser et ne dépendant que légèrement de la solubilité du médicament et du polymère.

Dans la majorité des recherches, pour augmenter la dissolution et la solubilité de l'AN, des complexes ou des co-évaporats ont été produits à l'aide de la cyclodextrine et du polyvinylpyrrolidone, il a été démontré que la diminution de la cristallinité et de la taille des particules ont été les facteurs les plus importants permettant d'atteindre cet objectif.

L'objectif de cette recherche visait d'une part, à examiner l'effet du processus de microencapsulation par évaporation de solvant en utilisant l'EC, l'HPMC et la  $\beta$ -CD sur les propriétés physicochimiques des formulations obtenues. D'autre part, à étudier l'effet de la concentration d'un agent réticulant qui est le STPP et sa variation de pH sur l'obtention des

nouvelles formulations pharmaceutiques de chitosane chargées de l'AN à l'aide de la technique de séchage par atomisation.

Les microsphères de l'AN ont été élaborées dans le but d'étudier l'effet de certaines variables choisies et du processus lui-même sur les caractéristiques des microparticules, notamment la taille, la teneur du médicament, la morphologie et la libération du médicament en utilisant l'approche du plan d'expériences (logiciel Minitab16.1).

Ce travail de thèse est divisé à deux parties :

Dans la première partie nous nous intéresserons au positionnement de cette thèse vis-à-vis de l'état de l'art de la microencapsulation. Nous discuterons des techniques actuellement utilisées en vue d'améliorer la biodisponibilité de molécules de faible solubilité dans l'eau, ainsi que des techniques d'encapsulation classiques. Dans un deuxième temps nous décrirons les procédés de fabrication de particules matricielles (sphères) et noyau-membrane (capsules). A la fin de ce chapitre, nous présentons les travaux de recherche réalisés avec l'EC, l'HPMC, le chitosane avec des principes actifs modèles à faible solubilité dans l'eau.

La deuxième partie est organisée en six sous chapitres et constitue la partie expérimentale.

Le premier chapitre présente les différentes descriptions des dispositifs et protocoles expérimentaux et/ou les méthodes de préparation des microsphères d'AN dans l'éthylcellulose (EC) ou dans le chitosane (CH) comme matrices. Différentes techniques de caractérisation ont été adaptées afin de permettre la caractérisation de ces produits à savoir : DSC, DRX, MEB, FTIR, UV-VIS, Granulométrie Laser, Potentiel Zéta, mesure des diamètres par microscopie optiques, etc... Nous nous sommes penchés par la suite sur l'étude de la libération du principe actif à partir de notre forme pharmaceutique, en milieu gastro-intestinal. Nous avons mis en évidence l'influence de certains paramètres de la formulation sur les cinétiques de libération,

Le deuxième chapitre présente les résultats d'encapsulation de l'AN dans l'EC par émulsion évaporation de solvant et l'effet des principaux paramètres choisis : concentration en tensioactif (PVA), vitesse d'agitation d'émulsion et le rapport EC/AN sur les caractéristiques des microsphères en termes de rendement, taille particulaire, morphologie des microsphères et résultats de cinétique de libération,

Le troisième chapitre a été consacré sur les résultats d'encapsulation et de caractérisation des microsphères de l'AN dans une matrice combinée d'EC/HPMC et EC/ $\beta$ CD

par la méthode d'évaporation de solvant en émulsion simple ainsi que l'étude de l'influence de la concentration de l'HPMC, la  $\beta$ -CD et la vitesse d'agitation sur les microparticules élaborées,

Dans le quatrième chapitre, nous présentons les résultats expérimentaux obtenus de l'encapsulation de l'AN dans la matrice de chitosane par la méthode de séchage par pulvérisation (spray drying) et l'effet de concentration de l'agent réticulant (STPP) et son pH sur les caractéristiques physico-chimiques des microparticules réticulées et non réticulées ainsi que sur les profils de libération,

Au sein du cinquième chapitre, nous avons testé les phénomènes de diffusion de l'AN à partir des microsphères préparées et nous présentons les résultats de régression issus de la modélisation des cinétiques de la libération des différentes formulations dans le milieu acide par trois modèles d'Higuchi, Hixson-Crowell, et Korsmeyer-Peppas,

Le sixième chapitre, traite l'effet et les interactions des facteurs choisis sur les caractéristiques des microparticules formulées avec le plan d'expériences (DOE) en utilisant le logiciel Minitab 16.1.



# Partie I : Bibliographie



# Microencapsulation : Etat de l'art et stratégies

## 1. Introduction

La Microencapsulation est le processus qui permet l'emprisonnement de principes actifs et dans lequel les petites gouttelettes ou particules du matériel liquide ou solide sont entourées ou enduites par un film continu de matériau polymère (Bansole et al. 2010; Obeidat 2009; Deepa et al. 2018). L'encapsulation combine deux disciplines de manière intime : la formulation et le génie des procédés. Elle résulte donc de la préparation de particules individualisées constituées d'un matériau enrobant contenant un principe actif. La matrice enrobante représente une barrière permettant la protection du principe actif ainsi que le contrôle de sa libération.

La première application basée sur la technologie de l'encapsulation a été commercialisée il y a 60 ans dans le domaine de l'imprimerie. Il s'agit du papier carbone sans carbone aussi appelé papier autocopiant permettant la duplication d'un texte ou d'une figure sous l'effet d'une faible pression. Ce produit contient des microparticules de colorant réalisées par coacervation complexe entre la gélatine et la gomme arabique qui se brisent sous l'effet de la pression d'une tête d'imprimante ou d'un stylo (Nestronko et al, 2012 ; Dubey et al. 2009).

A la fin des années cinquante la technologie de la microencapsulation fut utilisée dans le domaine pharmaceutique pour les médicaments analgésiques à libération prolongée par exemple, ainsi que pour d'autres applications industrielles telles que les colles. Au cours des années qui suivirent, la microencapsulation devint un domaine de recherche dynamique tant au niveau académique qu'industriel. Le système de délivrance contrôlée des médicaments permet de réduire les problèmes liés à la thérapie conventionnelle et d'améliorer l'efficacité thérapeutique dans un taux optimal pour un tissu cible causant peu de toxicité et un minimum d'effets secondaires. (Kumari et al. 2016 ; Venkatesan et al. 2009, Gattani et al. 2010 ; Benita 2005).

Pour délivrer une substance thérapeutique jusqu'à un site cible selon une libération contrôlée ou soutenue, diverses approches sont employées, l'une consiste à utiliser des microsphères comme des systèmes vecteurs pour transporter les médicaments.

Les microsphères sont considérées comme des poudres à écoulement libre se composant de polymères qui sont biodégradables en nature (Vyaset al. 2004). Le processus de la microencapsulation aide à convertir les liquides en solides, modifier les propriétés colloïdales et de surface, protéger de l'environnement et contrôler les caractéristiques de libération de différents matériaux ainsi revêtus. Certaines de ces propriétés peuvent être réalisées par des

techniques de macro emballage dans le domaine des engrais par exemple, mais dans la microencapsulation, les petites particules enrobées servent à fabriquer des formes posologiques qui ne sont pas encore commercialisées (Agnihotri et al. 2012 ; Shekhar et al. 2010). De nouveaux systèmes de délivrance de médicaments ont été initiés au cours de l'optimisation de la biodisponibilité par la modification de la concentration de médicament dans le sang (Ankit et al. 2011). Avec des produits à libération soutenue et contrôlée, la thérapie médicamenteuse peut être améliorée, ce qui est l'objectif commun de nombreux chercheurs dans le monde (Jian et al. 2006).

Les produits microencapsulés sont les petites entités de l'agent actif qui forment un noyau entouré d'un matériau appelé matériau de revêtement (d'enrobage) ou dispersé dans une structure matricielle. La plupart des matériaux enrobant des microparticules sont des polymères organiques, mais les cires et les lipides sont également utilisés. Généralement la taille des microparticules varie entre 1µm et 1000 µm de diamètre (Kumari et al. 2016 ; Tiwari et al. 2011, Rajput et al. 2012 ; Ahmad et al. 2011).

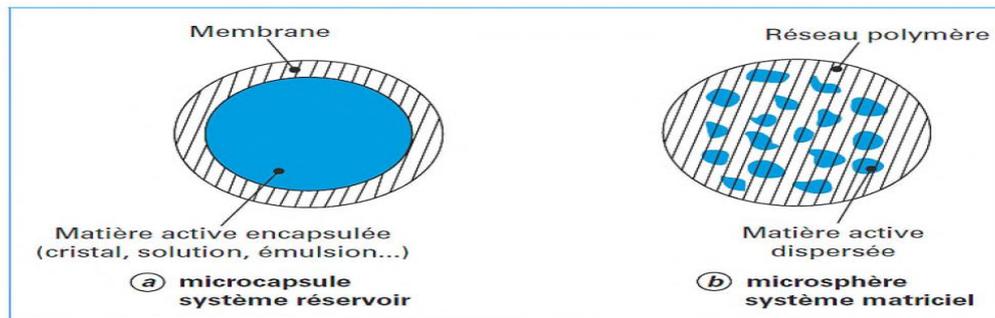
De nombreux produits peuvent être encapsulés tels que les cellules vivantes, les adhésifs, les arômes, les produits agrochimiques, les enzymes et les produits pharmaceutiques (Mishra et al. 2013; Kreitz et al. 1999). Le résultat le plus récent de la recherche pharmaceutique est que le taux d'absorption d'un médicament peut être contrôlé par son taux de libération à partir de la forme posologique. Les formes galéniques à libération contrôlée sont conçues et formulées de manière à avoir une action soutenue, prolongée ou retardée (Gupta et al. 2012). Ceci a conduit au développement de nouvelles formulations médicamenteuses, en découvrant de nouveaux matériaux polymères qui sont appropriés pour prolonger la libération du médicament, sa sécurité et l'amélioration de son efficacité thérapeutique (Gohel et al. 1998).

## **2. Classification des microparticules**

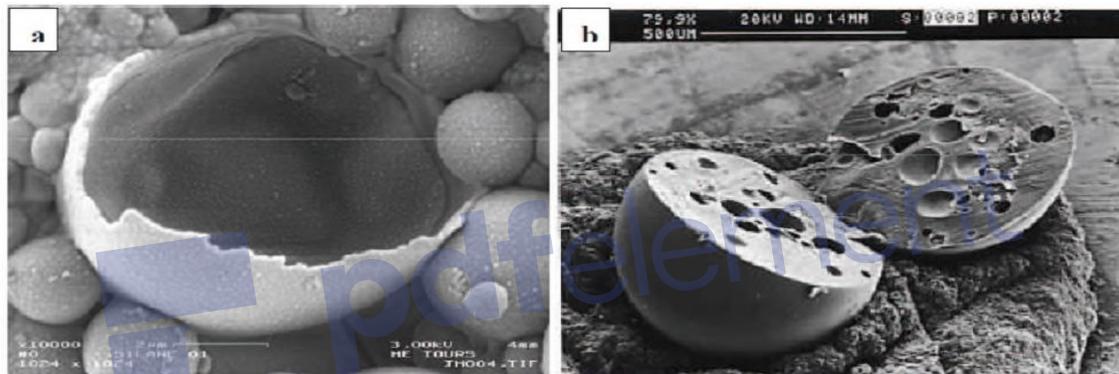
Le type de particules obtenues par microencapsulation dépend des propriétés physico-chimiques de la matière active et de la matière enrobante, de leurs compositions et de la technique utilisée. Les microparticules peuvent se présenter sous différentes structures dont les deux plus simples sont la structure réservoir (microcapsule) et la structure matricielle (microsphère) (Rajput et al. 2012 ; Gasmi 2015 ; Dubey et al. 2009).

- La microcapsule est une particule réservoir constituée d'un cœur (noyau) de matière active liquide ou solide entouré d'une enveloppe solide continue de matériau enrobant ;

-La microsphère est constituée d'un réseau macromoléculaire continu formant une matrice dans laquelle la matière active est finement dispersée, à l'état de fines particules solides ou encore de gouttelettes liquides.



**Figure I.1.1** : Morphologie des particules obtenues par microencapsulation :  
 a) microcapsule simple, (b) microsphère simple



**Figure I.1.2** : Images MEB de microcapsules (a) et de microsphères (b)

### 3. Objectifs et avantages de la microencapsulation (Garg et al. 2018; Agnihotri et al. 2012)

La raison principale de la microencapsulation est pour acquérir une libération soutenue ou prolongée des médicaments, mais d'autres objectifs sont également visés :

- Réduction de la taille des particules pour améliorer la solubilité du médicament hydrophobe insoluble.
- C'est une technique qui a été largement utilisée pour masquer les propriétés organoleptiques telles que le goût et l'odeur de nombreux médicaments et améliorer ainsi la compliance du patient.
- Par l'utilisation des techniques de microencapsulation, les médicaments liquides peuvent être convertis en des poudres à écoulement libre.

- Les médicaments qui sont sensibles à humidité, la lumière, l'oxygène et la température, peuvent être protégés par microencapsulation.
- La technique de la microencapsulation est également utile pour empêcher l'incompatibilité entre les substances actives et les excipients.
- Les médicaments qui sont de nature volatile peuvent se vaporiser à la température ambiante ceci peut être empêché par microencapsulation.
- La microencapsulation a également été utilisée pour modifier le site d'absorption. Cette application a été utile pour les médicaments qui présentent une toxicité à pH faible.
- Elle permet d'améliorer la dispersion d'une substance hydrophobe dans les milieux aqueux (Dubey et al. 2009 ; Pavan Kumar et al. 2011).
- Elles peuvent être utilisés pour produire des médicaments amorphes avec des propriétés physiques souhaitables (Madhavet al. 2011).
- Elle permet de préparer des cellules immobilisées ou des enzymes.
- Facilite l'injection à cause de la forme sphérique et de la petite taille des particules(Subedi et al. 2016).
- La teneur en médicament est relativement élevée et les médicaments peuvent être incorporés dans les systèmes sans aucune réaction chimique ; c'est un facteur important pour la préservation de l'activité du médicament (Kumari et al. 2016).

#### **4. Limites de la microencapsulation** (Manabendra et al. 2017; Dalbanjan 2018)

- C'est un processus coûteux qui nécessite des compétences.
- Il est difficile d'obtenir un film d'enrobage uniforme ou continu.
- Les formulations à libération contrôlée contiennent généralement une teneur de substance active plus élevée et donc toute perte d'intégrité des caractéristiques de libération de la forme posologique peut conduire à une toxicité potentielle.
- Les microparticules ne doivent pas être soumises à une pression physique telle que la compression, une mastication, etc., car cela peut dénaturer la morphologie et donc les propriétés physiques des microsphères.
- La vitesse de libération de la forme posologique à libération contrôlée peut varier en raison de divers facteurs, tels que les aliments et le taux de transit dans l'intestin.

-Les microparticules présentent une grande surface spécifique et donc, il y a plus de possibilité pour leur agrégation.

-Les principes actifs encapsulés ont plus de chance de se libérer par éclatement en raison de leur taille extrêmement petite et de leur grande surface.

## 5. Procédés de la microencapsulation

Diverses techniques sont utilisées pour piéger des substances actives solides ou liquides dans des revêtements ou des matrices polymères, comme indiqué dans le tableau I.1.1.

Le choix de la méthode de préparation des microsphères et/ou des microcapsules dépend essentiellement de la matière première destinée à être utilisée et des caractéristiques de solubilité de la substance active à associer aux particules. Les procédés de la microencapsulation peuvent être divisés en trois catégories : Méthodes chimiques, méthodes mécaniques et méthodes physicochimiques (Bile 2015; Jamekhorshid et al. 2014; Nesterenko 2012). Les principales méthodes d'encapsulation sont regroupées dans le tableau présenté ci-dessous,

**Tableau I.1.1** : Techniques d'encapsulation selon les différents procédés (Nesterenko 2012)

Type de procédé	Mode d'encapsulation	Tailles de microcapsules obtenues	Types de produits obtenus
<b>Procédés physico-chimique</b>	Séparation de phases ou coacervation (simple ou complexe)	2 – 1200 $\mu\text{m}$	Microcapsules Microsphères
	Evaporation – extraction de solvant	0,5 – 200 $\mu\text{m}$	Microsphères
	Gélification thermique d'émulsions (hot melt)	0.5-200 $\mu\text{m}$	Microsphères
<b>Procédés chimiques</b>	Polycondensation interfaciale	2-2000 $\mu\text{m}$	Microcapsules
	Polymérisation interfacial	2-2000 $\mu\text{m}$	Microcapsules
<b>Procédés mécaniques</b>	Nébulisation/séchage (spray drying)	1-200 $\mu\text{m}$	Microsphères
	Gélification ou congélation de gouttes (prilling)	200 – 800 $\mu\text{m}$	Microsphères
	Enrobage en lit fluidisé (spray-coating)	35 – 5000 $\mu\text{m}$	Microcapsules
	Extrusion/sphéronisation	$\geq 200 \mu\text{m}$	Microsphères

La technique d'évaporation de solvant a été entièrement développée à la fin des années 1970. Cette technique classique a été améliorée par Bodmeier et McGinity 1987; Ogawa et al. 1988; Benoit et al. 1999; Jeffery et al. 1991; Iwata et McGinity 1991 et différentes variations plus récentes ont été introduites sur le procédé d'encapsulation pour diverses substances pharmaceutiques simples et complexes. Les microsphères de polymère obtenues avec le médicament piégé à l'intérieur peuvent se dégrader et libérer le médicament encapsulé lentement avec un profil de libération spécifique. Cette libération contrôlée de médicament présente des avantages cliniques remarquables : réduction de la fréquence des doses, plus pratique et plus acceptable pour les patients. La vectorisation et le ciblage des médicaments sur des sites spécifiques entraînant une plus grande efficacité (Berkland et al. 2002; Freiberg et al. 2004). Il existe différentes méthodes d'utilisation de la microencapsulation par la technique d'évaporation de solvant. Le choix du procédé qui donnera lieu à une encapsulation efficace du médicament dépend de l'hydrophilicité ou de l'hydrophobicité du médicament (Singh et al. 2014).

Dans ce travail la microencapsulation par évaporation de solvant (procédé physico-chimique) et celle par séchage par atomisation (procédé mécanique) ont été sélectionnées en raison de la facilité de formulation et de l'aptitude à diverses modifications des paramètres de la préparation des systèmes micro-sphériques aux propriétés améliorées.

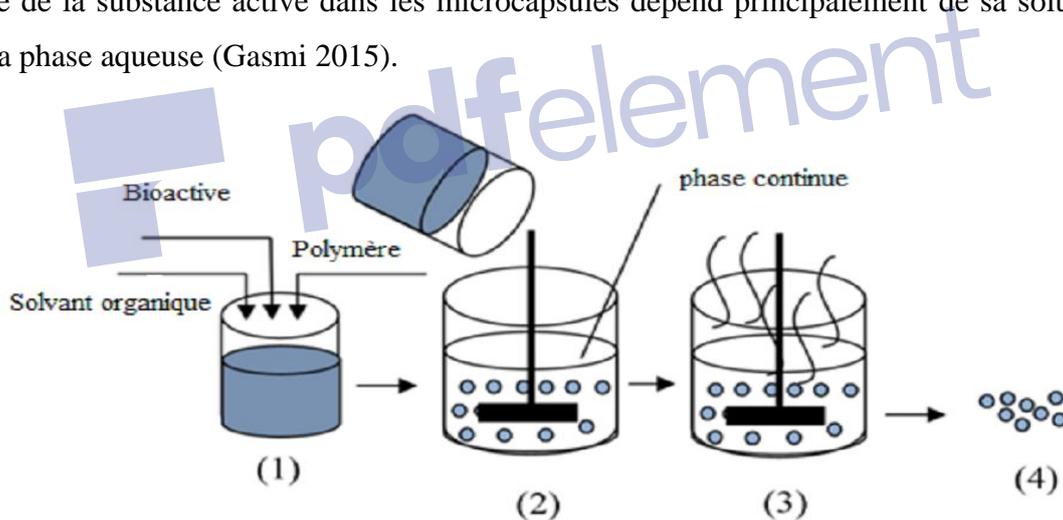
### **5.1 Technique de la microencapsulation par évaporation de solvant**

La microencapsulation par évaporation de solvant d'un produit pharmaceutique comporte quatre étapes principales : l'incorporation des produits pharmaceutiques, formation de gouttelettes, élimination du solvant et finalement le séchage (Singh et al. 2014; Ansari et al. 2012; Freitas et al. 2005; Kumari et al. 2014 ; Manabendra et al. 2017).

L'évaporation de solvant elle-même peut s'effectuer dans l'émulsion simple : de type huile dans l'eau (O/W) ou multiple de type : eau-huile-eau (W/OW), eau-huile-huile (W/O/O), eau-huile-huile-huile (W/O/O/O) et peut-être multiple émulsion modifiée (Hwisa et al. 2013 ; Manabendra et al. 2017, Tiwari et al. 2011; Naik et al. 2012). Le procédé en émulsion simple est basé sur l'évaporation de la phase interne d'une émulsion type huile-dans-eau entraînant ainsi la précipitation du polymère préalablement dissous dans cette phase organique, sous forme de microparticules. Le polymère est d'abord dissous dans un solvant organique volatil, peu miscible à l'eau comme le dichlorométhane (le plus couramment utilisé), puis la substance active est dispersée ou dissoute dans le système polymère-solvant.

Le mélange (avec des conditions d'agitation et de chauffage appropriées) est ensuite émulsionné dans un grand volume d'eau contenant un tensioactif tel que l'alcool polyvinylique, afin d'obtenir une émulsion de type huile-dans-eau (kumari et al. 2014). Le système est agité jusqu'à ce que le solvant se sépare et éliminé par évaporation. Ce processus aboutit à une microsphère durcie, qui contient les agents à encapsuler (Dash et al. 2009 ; Neeta et al. 2016).

Les microsphères sont par la suite lavées et collectées par filtration et/ou centrifugation puis lyophilisées pour éliminer le solvant résiduel. Le problème majeur lié à cette technique est sa faible capacité à encapsuler les substances actives solubles dans l'eau. Celles-ci pourraient diffuser à partir de la phase organique vers la phase continue aqueuse et une partie pourrait se déposer à la surface des microparticules sous forme de cristaux. Ces derniers seraient, par la suite, responsables de la libération initiale rapide de la substance rapide appelée «effet burst ». En revanche, cette méthode décrite ci-dessus est appropriée pour l'encapsulation de substances actives lipophiles telle que l'acide niflumique. L'occlusion réussie de la substance active dans les microcapsules dépend principalement de sa solubilité dans la phase aqueuse (Gasmi 2015).



**Figure I.1.3** : Principes de base de la microencapsulation par évaporation de solvant (Singh et al. 2014)

Le procédé de microencapsulation par émulsion évaporation de solvant et la qualité du produit final sont influencés par plusieurs paramètres (Dhakar et al. 2012; kumari et al. 2014; Tiwar et al. 2011; Hwissa et al. 2013; Naik et al. 2012) tels que :

- La nature et la solubilité de la substance active encapsulée,
- Le solvant organique utilisé,

- La concentration du tensioactif,
- La température et la vitesse d'agitation du procédé d'émulsification,
- La concentration du polymère dans la phase organique

### 5.1.1 Polymères enrobants (Yang et al. 2000)

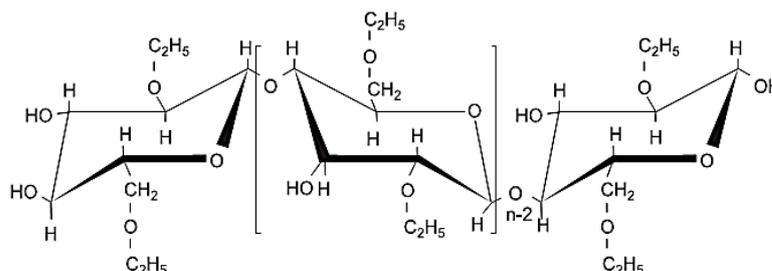
Les polymères sont les matériaux les plus utilisés pour former des microcapsules. Le choix du matériau enrobant dépendra, dans une certaine mesure, de la méthode de préparation de la microsphère, mais d'autres facteurs sont également importants. Différents polymères ont été utilisés pour la microencapsulation et pourraient agir comme une barrière pour protéger la matière active contre l'oxygène, l'eau et la lumière ou pourraient éviter le contact avec d'autres ingrédients ou contrôler la diffusion. Le polymère doit avoir la masse moléculaire convenable, la température de transition et la structure moléculaire désirées, afin de garantir les vitesses de diffusion et de libération souhaitées du principe actif encapsulé. Les matériaux enrobants de la microencapsulation doivent généralement satisfaire les conditions suivantes (Mahdavi et al. 2014 ; Poshadri 2010).

- a- Bonnes propriétés rhéologiques à haute concentration et faciles à utiliser pendant l'encapsulation.
- b- Le polymère ne devrait pas réagir avec la substance active.
- c- La capacité de libérer complètement le solvant utilisé au cours du processus d'encapsulation.
- d- Doit avoir une qualité alimentaire et n'est pas coûteux.
- e- Le polymère devrait être stable pendant le stockage et l'utilisation générale dans les applications biologiques et environnementales.
- f- le polymère doit être biocompatible, biodégradable et les produits de dégradation ne doivent pas être toxiques.

Les éthers de cellulose sont employés couramment en tant qu'excipients importants pour concevoir des comprimés matriciels. En ce qui concerne leur contact avec l'eau, les éthers de cellulose commencent à gonfler et la couche d'hydrogel commence à se développer autour du P.A sec du comprimé. L'hydrogel présente une barrière diffusionnelle, les molécules d'eau pénétrant dans la matrice du polymère et les molécules de l'agent actif étant libérées. Dans cette thèse les dérivés cellulosiques utilisés sont l'éthylcellulose et l'hydroxypropylméthyle cellulose.

## L'Éthylcellulose

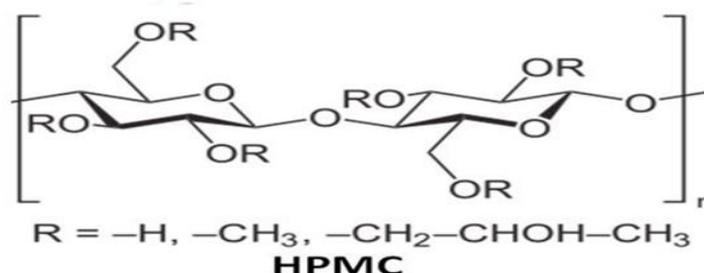
L'Éthylcellulose(EC) est un dérivé de cellulose dans lequel certains des groupes d'hydroxyyles sur l'anhydroglucose de répétition sont modifiés en des groupes d'éther éthylique, appelés en tant qu'éther éthylique non ionique de cellulose (Fig. I.1.4) (Murtaza 2012)



**Figure I.1.4 :** Structure chimique de l'éthylcellulose (EC)

## L'Hydroxypropylméthylcellulose

L'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC) est un autre dérivé semi-synthétique de l'éther de cellulose utilisé dans cette étude (Fig. I.1.5). En raison de sa nature non toxique, de sa facilité de compression et d'accommodation à des niveaux élevés de teneur en P.A, il a été utilisé comme véhicule hydrophile dominant sous forme de dosage à libération contrôlée (Fu et al. 2004). Le taux de L'hydratation de l'HPMC augmente avec l'augmentation de la teneur en hydroxypropyle et la solubilité est indépendante du pH (Akash et al. 2013). Il présente de nombreuses applications en formulation ou technologie pharmaceutique : (Banker et al. 1981).



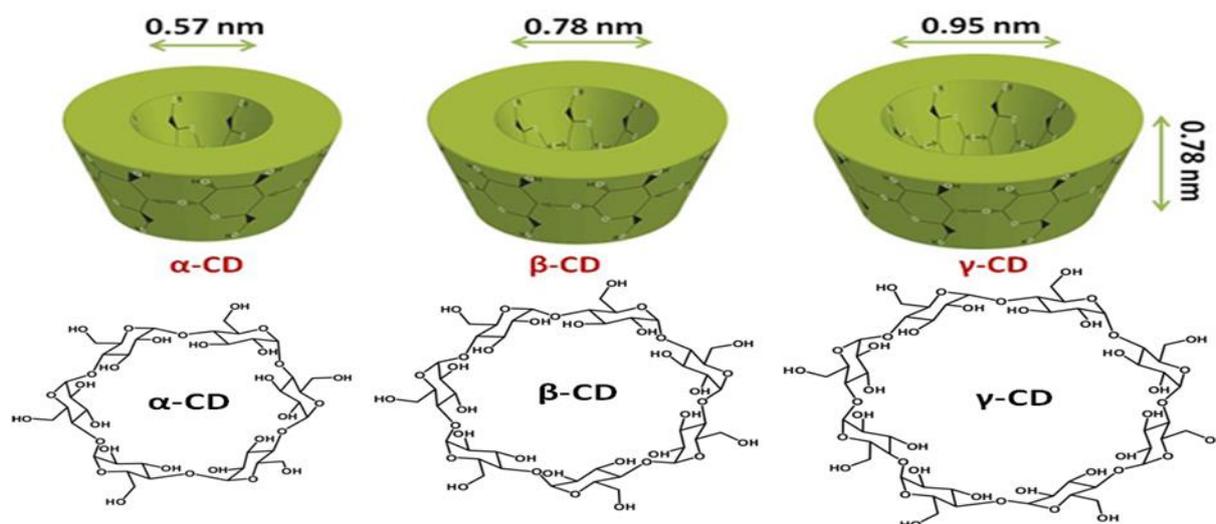
**Figure I.1.5 :** Structure chimique de l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC)

- Il est largement utilisé dans les formulations pharmaceutiques orales et topiques.
- Il est utilisé dans les formulations orales, est principalement utilisé comme liant pour comprimés, dans l'enrobage des pellicules et dans les produits de santé naturels comme matrice de comprimés à libération prolongée ;
- Selon le grade de viscosité, une concentration de 2 à 20 % m/m est utilisée pour les solutions filmogènes des comprimés pelliculés. Les grades à faible viscosité sont utilisés dans les solutions de pelliculage aqueux, tandis que les grades de viscosité plus élevée sont utilisés avec des solvants organiques ;
- L'HPMC à une concentration comprise entre 0,45 et 1,0 % m/m peut être ajouté comme agent épaississant pour les gouttes ophtalmiques et les solutions pour larmes artificielles ;
- Il est utilisé comme émulsifiant, agent de suspension et agent stabilisant (Sovilj et al. 2004) dans les gels topiques et dans les gels et onguents topiques ;
- On le trouve également dans la fabrication de capsules, comme adhésif dans les bandages plastiques et comme agent mouillant pour les lentilles de contact dures, en cosmétique et en produits alimentaire.

### **Les cyclodextrines (CDs)**

Ce sont des oligosaccharides cycliques cristallins non réducteurs qui, à proximité d'un noyau tronqué, produisent une surface externe hydrophile et une cavité interne lipophile qui offre une interaction avec des molécules de taille appropriée pour donner lieu à la formation d'un complexe d'inclusion. Les cyclodextrines sont capables de former des complexes hôte-invité avec des molécules hydrophobes en raison de la nature unique que leur structure confère.

Les CDs sont des groupes de glucanes cycliques composé de  $\alpha$ -1, 4 unités de glucose liées. Ils sont obtenus par l'action de la cyclodextrine glucanotransférase sur l'amidon ou des substrats similaires pour produire un mélange de cyclodextrines comprenant 6, 7 et 8 unités de glucose :  $\alpha$ ,  $\beta$ , et  $\gamma$ -cyclodextrine, respectivement. (Ali et al. 2012) (Fig. I.1.6)



**Figure I.1.6** : Structure chimique des cyclodextrines (CDs)

Les CDs ont un large éventail d'applications dans différents domaines de l'administration des médicaments et de l'industrie pharmaceutique en raison de leur utilisation comme agent complexant pour de nombreuses raisons : (Salústio et al. 2011):

- Augmenter la solubilité aqueuse des médicaments peu solubles et améliorer leur biodisponibilité et leur stabilité,
- La complexation des CDs améliore la stabilité chimique, physique et thermique des médicaments,
- Les CDs ont été utilisées dans des formulations pharmaceutiques afin d'améliorer le taux de dissolution, la stabilité, la biodisponibilité et l'absorption orale ou pour moduler l'activité biologique des médicaments,
- De plus, les CDs ont également été utilisés pour réduire ou prévenir l'irritation oculaire, pour dissimuler l'odeur désagréable et le goût amer des médicaments, pour prévenir les interactions médicament-médicament ou médicament-additif, ou pour transformer des médicaments huileux et liquides en poudres microcristallines ou amorphes,

Plusieurs recherches ont été effectuées sur l'utilisation intensive des CDs comme polymère dans la conception de divers nouveaux systèmes d'administration comme les liposomes, les microsphères et les nanoparticules qui devraient améliorer l'efficacité thérapeutique des médicaments.

### 5.1.2 Travaux de recherche publiés sur l'EC et la méthode par évaporation de solvant

**Kotadiya et al. (2009)** avait pour but de préparer et évaluer des microparticules de sulfate de terbutaline (TBS) à libération contrôlée par voie orale dans un système de délivrance en utilisant l'EC par la méthode d'émulsion double (w/o / w). Un factoriel de  $3^2$  a été utilisé pour étudier l'effet de variables indépendantes, la teneur de P.A et le contenu en polymère sur les variables dépendantes : l'efficacité d'encapsulation de P.A, temps requis pour la libération du P.A à 50 % et le temps requis pour 70 % de libération de P.A. Les résultats montrent que les microsphères sont relativement lisses et sphériques dans la forme et coulent librement avec des gammes de dimension particulaire de 17  $\mu\text{m}$  à 24  $\mu\text{m}$ , le rendement varie de 48 à 76 % et l'analyse de régression linéaire multiple a montré que pour obtenir une libération contrôlée et une efficacité d'encapsulation de P.A élevée, les microsphères doivent être préparés à l'aide des taux relativement bas de P.A et des taux plus élevés de polymère.

**Patel et al., (2010)** ont préparé des microcapsules de chlorhydrate de Tramadol avec l'éthylcellulose comme matrice par la méthode d'émulsion multiple (W/O/W). Un plan factoriel  $3^2$  a été employé pour étudier l'effet des deux variables : rapport EC/P.A. et volume de la phase externe (contenant l'agent émulsifiant PVA à 1 %) sur la teneur, le % de rendement, le % de l'efficacité d'encapsulation, le diamètre moyen et le taux de libération de P.A. Les résultats ont montré l'effet significatif des variables sur le rendement, l'efficacité d'encapsulation, la taille des microparticules, et le taux de libération de P.A. La taille des particules varie de 46,2 à 132 $\mu\text{m}$ , elle a été augmentée en augmentant le rapport EC/P.A et en diminuant le volume de la phase externe. Un rendement élevé était à 77,4% et l'efficacité d'encapsulation atteint 31% dans le rapport EC/P.A. : 4/1. Les microsphères d'éthylcellulose contenant le Tramadol ont montré l'effet burst au départ suivi par une libération prolongée.

**Nath et al. (2010)** ont encapsulé le sulfate de salbutamol dans la matrice de l'EC par la méthode d'émulsion évaporation de solvant (w/o/o). L'efficacité de l'encapsulation a été également influencée par la variation de la vitesse d'agitation au cours de l'émulsification secondaire. La libération in-vitro de sulfate de Salbutamol à partir des microsphères d'EC a présenté un effet burst initial qui était dû à la présence de P.A sur la surface des microsphères. Cet effet de l'explosion initiale peut être parfois désiré afin d'assurer la concentration plasmatique thérapeutique initiale de P.A. D'autres facteurs tels que le rapport Polymère/P.A, le volume de la phase externe et la vitesse du processus d'émulsification secondaire régissent sur la libération de médicament à partir des microsphères. L'évaluation des données cinétiques de libération a montré une plus forte corrélation dans le modèle d'Higuchi,

indiquant que la libération du médicament à partir des microsphères est contrôlée par la diffusion.

**Jelvehari et al. (2011)** ont élaboré des microsphères chargées d'acide méfénamique (AM) à libération soutenue par la méthode d'émulsion/évaporation de solvant modifiée. L'interaction Polymère/AM par l'utilisation de deux polymères avec différentes caractéristiques comme l'éthylcellulose et l'acétate phtalate de cellulose (CAP) a été étudiée. Les microsphères de l'AM (contenant une combinaison de CAP et d'EC) pourraient être préparées avec une efficacité d'encapsulation élevée et le rapport polymère/ AM a influencé la sphéricité des microsphères. Il a été remarqué que l'augmentation de la concentration de polymère donne une augmentation de la taille des particules des microsphères. Dans la dissolution in-vitro, les microsphères préparées avec le mélange EC/CAP a exhibé une libération soutenue semblable au produit commercial. Donc, le profil de libération optimal pourrait être obtenu par la combinaison des microsphères d'EC et de CAP. Un effet burst a été observé et les mécanismes de la libération de médicament (diffusion et érosion) ont été contrôlés.

**Venkatesan et al. (2011)** dans leurs travaux de recherche, les microsphères d'éthylcellulose du Loxoprofène (LX) ont été préparées par la technique d'émulsion/évaporation de solvant à divers rapports EC/LX (1:1, 1:2 et 1:3). Un pourcentage plus élevé en teneur de matière encapsulée a été obtenu en augmentant la quantité du polymère. La taille moyenne des particules se situe entre 266,16 et 329,18 $\mu$ m. Les microsphères préparées présentaient une bonne géométrie sphérique avec un aspect lisse. Les études de la dissolution in vitro ont montré que les microsphères de rapport EC/LX : 1/3 ont montré une libération plus soutenue (86,17 %) sur une période de 8 heures à pH=7,2.

**Bag et Reddy (2012)** ont préparé des nanoparticules d'éthylcellulose chargées d'aspirine par la méthode d'évaporation de solvant en utilisant le tween 20 comme agent émulsifiant et l'acétate d'éthyle comme solvant. Trois formulations ont été préparées par la variation de la concentration de polymère. Chaque série d'expériences ont été menées pour comprendre l'influence des paramètres du processus comme le mélange des solvants, la composition, la concentration de l'agent émulsifiant et la vitesse d'agitation. La propriété de la libération prolongée a été améliorée, la libération du principe actif a diminué dans la formulation (EC/Aspirine 2 :1). Ceci a été interprété par le fait qu'une augmentation de la concentration du polymère augmente la viscosité de la phase organique qui est principalement responsable de la nature de la libération prolongée du médicament. Mais avec une concentration élevée du polymère la libération complète de la substance active n'est jamais atteinte.

**Diaf et al. (2012)** se sont focalisés sur la préparation des formulations à libération contrôlée de piroxicam comme un agent actif, dans le but d'obtenir des taux de libération prolongée du médicament. L'effet de la matrice sur la libération de P.A a été remarquable. La libération de piroxicam peut être améliorée en utilisant des mélanges Eudragit et Poly (caprolactone) comme support, mais elle peut être ralentie par l'éthylcellulose, en fonction des propriétés souhaitées et de la forme posologique. En outre l'utilisation des microparticules d'éthylcellulose permet la libération d'un pourcentage important de piroxicam dans le milieu intestinal.

**Gosmawiet al. (2012)** ont préparé et évalué des microsphères flottantes de chlorhydrate de valacyclovir afin de localiser le médicament dans la partie supérieure du tractus gastro-intestinal(GIT) en vue d'une meilleure absorption. Des microsphères ont été préparées par un procédé d'évaporation de solvant dans l'émulsion simple, en utilisant l'éthylcellulose en tant que polymère pour contrôler la vitesse de libération. Des études de compatibilité et une caractérisation de la surface des excipients ont été réalisées en utilisant la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), la calorimétrie différentielle à balayage (DSC) et la microscopie électronique à balayage (MEB). Des études *in vitro* et *in vivo* ont confirmé un comportement flottant et ont conclu que des microsphères flottantes chargées de chlorhydrate de valacyclovir pouvaient constituer une alternative appropriée à la formulation conventionnelle, en localisant le médicament à la partie supérieure du tractus gastro-intestinal.

**Sriram et Bindu (2013)** dans le but de formuler des microsphères de glimépiride (anti-diabétique) pour l'administrer par voie orale et en vue d'améliorer sa biodisponibilité et sa libération prolongée, des microsphères d'EC, Eudragit RS 100 et Eudragit RL 100 ont été préparées par évaporation de solvant dans l'émulsion simple. L'analyse granulométrique a démontré que la taille des microsphères augmentait avec l'augmentation de la concentration de polymère. La combinaison des formulations préparées avec l'EC, Eudragit RS 100 et Eudragit RL 100 a donné de grosses particules de taille moyenne de  $250.6 \pm 1.34 \mu\text{m}$ , la microscopie électronique à balayage a montré que les microsphères de P.A avec cette combinaison ont des surfaces lisses et une forme sphérique.

**Pandit et al. (2013)** ont mis au point des microsphères flottantes de chlorhydrate de metformine (MH) à l'aide d'un polymère d'éthylcellulose par la méthode émulsion/d'évaporation de solvant. L'objectif de cette étude était d'élaborer des microsphères flottantes afin d'augmenter le temps de séjour au site d'absorption et donc améliorer sa biodisponibilité et de prolonger la durée d'action ainsi que des possibilités de réduction de la

dose. La pharmacocinétique et l'évaluation pharmacodynamique de la formulation choisie étaient réalisées chez des rats. Les données ont été analysées statistiquement et les études in vivo ont montré une biodisponibilité accrue et une action soutenue pour plus de 24h avec une demi-vie biologique de 14 h.

**Dupinder et al. (2013)** ont conçu des microsphères chargées de lovastatine en utilisant l'Eudragit L100 et l'éthylcellulose. Le rapport de l'EC/P.A et la vitesse d'agitation du système étaient importants pour obtenir des particules sphériques avec des surfaces lisses. Les microsphères préparées avec une faible quantité de médicament produit un rendement plus élevé et une meilleure efficacité d'encapsulation. Il a été observé que l'augmentation de la concentration du polymère engendre une augmentation de la taille moyenne des microsphères et diminue la libération de médicament.

**Patel et al. (2013)** Des microparticules d'éthyle cellulose chargées de la chlorhydrate de Metformine, ont été préparées par la technique d'évaporation de solvant en émulsion simple pour étudier l'influence de la variation de la de viscosité d'EC (EC1 :18–22 cps, EC2 :40-42 cps) et le rapport de P.A/EC (1 :2, 1 :4 et 1 :6) sur les propriétés des microparticules comme l'efficacité d'encapsulation, la taille des particules, la morphologie de surface et les profils de libération. Les paramètres de formulation optimisés ont montré des microparticules poreuses et sphériques de diamètre 67  $\mu\text{m}$  à 127  $\mu\text{m}$  avec une teneur élevée de 93% à 97 % qui augmente par l'augmentation de concentration de l'EC. La libération du P.A à partir des microparticules a varié de 85.7 % à 98.3 % pour la durée de 12 h. Les microsphères étaient plus sphériques dans la forme pour la formulation P.A/EC2. Ainsi, la libération de P.A à partir des microsphères EC/P.A : 1/6 était faible, ce qui est dû principalement à la quantité et la viscosité élevé de l'EC.

**Sundar et al. (2014)** ont formulé et évalué des microsphères à base d'EC et de chlorhydrate de pioglitazone pour la libération soutenue/contrôlée par la technique d'émulsion/évaporation de solvant. Ils ont obtenu des microsphères sphériques avec une taille moyenne de 19 à 31 $\mu\text{m}$ . Les microsphères présentent un écoulement libre avec une morphologie de surface idéale. La DSC a prouvé la compatibilité du médicament et du polymère. Des études in vitro sur la libération révèlent que les microsphères préparées avec une concentration croissante de polymère présentent plus de contrôle de libération que les formulations préparées avec de faibles concentrations.

**Sharma et al. (2014)** ont formulé des microcapsules d'EC contenant différentes concentrations de povidone (PVP), de cellulose microcristalline (MCC) et de pectine chargées d'indométacine à libération soutenue par la technique d'émulsion/évaporation de solvant. Ces formulations retardent la libération de l'indométacine à partir des microcapsules et produisent une libération soutenue. La distribution des microcapsules était entre 318.8  $\mu\text{m}$  et 521.2  $\mu\text{m}$ . L'augmentation de la quantité de MCC et de pectine dans l'EC provoque une libération de P.A jusqu'à 24 h et 20 h respectivement.

**Vysloužil et al. (2014)** ont préparé des microsphères de PLGA chargées d'ibuprofène (IBU) pratiquement insoluble. Plusieurs paramètres de formulation du processus d'émulsion de l'huile dans l'eau (o/w) ont été modifiés, tels que l'effet de la vitesse d'agitation au cours de l'évaporation de solvant, la concentration de l'émulsifiant (PVA) et le type de solvant organique (dichlorométhane, acetate d'éthyle) afin d'améliorer l'encapsulation de l'ibuprofène. La méthode de la régression des moindres carrés et du factoriel a été choisie pour évaluer l'impact de plusieurs formulations et traiter des paramètres utilisés pendant le processus. Les résultats confirment la complexité du processus par la méthode d'évaporation de solvant.

**Parida et al. (2016)** ont établi que les microsphères d'éthylcellulose chargées de la nifédipine peuvent être préparées par la méthode d'évaporation de solvant. Leur taille varie de 50 à 1000  $\mu\text{m}$ , et avec la comparaison de l'analyse de la composition élémentaire, ils ont constaté que les variations des teneurs en carbone et en oxygène illustraient le degré d'interaction. Les microsphères contenant de la nifédipine étaient partiellement cristallines au cours du traitement. Ils ont également conclu que les spectres RMN identifient la présence de composé actif dans la formulation.

**Mouffok et al. (2016)** ont démontré les effets des paramètres du procédé de formulation sur les caractéristiques et le comportement de la libération in vitro des microsphères d'éthylcellulose chargées par l'acide p-amino-benzoïque (PABA) préparées par la microencapsulation en utilisant la technique d'évaporation de solvant. Ils ont démontré que la nature de l'agent tensioactif pouvait réduire au minimum les pertes de PABA, affectant la taille et la morphologie des microsphères. Le PVA donne des microsphères parfaitement sphériques avec une surface lisse et poreuse tandis que le tween 80 a conduit à des formes légèrement sphériques avec une surface rugueuse et de larges pores. Des systèmes avec la taille de 47 à 165  $\mu\text{m}$  pour le PVA et de 793 à 870  $\mu\text{m}$  pour le tween 80, ont été obtenus en modifiant les conditions du procédé. La taille des particules et la dispersion ( $\delta$ ) peuvent être

contrôlées avec succès par le choix de la nature et de la concentration de l'agent tensioactif, la vitesse d'agitation et la quantité du polymère. L'efficacité d'encapsulation (EE) peut être améliorée, notamment en augmentant la concentration de PVA et la quantité de l'EC.

**Biswas et al. (2018)** ont élaboré et caractérisé des microsphères d'EC chargées par un extrait de plantes. L'élaboration de la formulation et l'optimisation des rendements des microsphères ainsi que la libération du médicament soutenue pendant 12 h ont été étudiées. Les propriétés rhéologiques montrent que toutes les microsphères présentent un écoulement libre. Les images MEB confirment la forme sphérique des microparticules. Les résultats de FTIR, DSC et DRX ont révélé que les conditions expérimentales ont permis une distribution uniforme de l'extrait dans des microsphères d'EC n'ayant aucun effet significatif sur l'interaction médicament-polymère. La taille des particules obtenues était dans la gamme de 34,25 – 176,25  $\mu\text{m}$  et la granulométrie était uniforme. Enfin, les résultats de cette recherche ont élucidé que les variables du processus et de la formulation pourraient être effectivement modifiés pour obtenir les caractéristiques désirées des microsphères de l'EC pour une nouvelle formulation d'un médicament à base de plantes.

**Abatti Kasper et al. (2018)** des microparticules d'EC contenant le piroxicam ont été préparées par la technique d'évaporation de solvant dans l'émulsion simple (O/W). Ils ont étudié l'effet de la variation des paramètres du rapport EC/PA, % PVA et le volume la phase externe sur les caractéristiques physico-chimiques des microparticules et sur les profils de libération in-vitro sous différents pH. Ils ont démontré qu'une teneur de 54% a été atteinte pour la formulation qui contient une quantité élevée d'EC dans la phase organique et de faible volume de phase externe (PVA) et pour des concentrations élevées de cette dernière. Il a été noté que les conditions choisies donnent des microsphères de formes sphériques avec absence de pores sur la surface. La libération de P.A était lente pour les microsphères contenant plus d'EC.

Les éthers de cellulose hydrosolubles sont principalement employés dans la préparation des comprimés à libération contrôlée comme l'HPMC. La viscosité de l'HPMC est une variable principale responsable de la libération contrôlée. L'hydratation et les capacités gélifiantes de l'HPMC peuvent être employées pour prolonger la libération de la substance active.

### 5.1.3 Travaux de recherche publiés avec l'HPMC et l'EC/HPMC par la méthode d'évaporation de solvant

**Hardenia et al. (2011)** ont produit des microsphères d'EC/HPMC, EC/carbomer et EC/HPMC/carbomer contenant la ciprofloxacine en émulsion simple. Les caractéristiques morphologiques de surface des microsphères ont été influencées par la variation du rapport polymère/P.A. La vitesse d'agitation et la température ont affecté surtout la taille des particules, leur forme et leur morphologie. Il a été démontré que le diamètre moyen augmente par l'augmentation de la concentration du polymère dans la phase organique de 1% à 3%, la diminution de la taille des microparticules par l'augmentation de la vitesse d'agitation de 900 à 1500rpm et la température de 10°C- 15°C. Les microsphères à base d'EC/HPMC présentent un taux de libération de P.A de 84% après 24h.

**Padalkar et al. (2012)** dans le but d'améliorer la solubilité de l'hydrochlorothiazide, des dispersions solides de ce P.A insoluble dans l'eau ont été produites par la technique d'évaporation de solvant en utilisant le PVP K-30 et/ou l'HPMC. L'étude a montré la compatibilité du PVP K-30 et de l'HPMC avec l'hydrochlorothiazide. Les dispersions solides préparées montrent de bons profils de dissolution et la technique de l'évaporation de solvant peut être employée pour l'amélioration des profils de dissolution et la stabilité ainsi que la solubilité des dispersions solides des médicaments insolubles dans l'eau.

**Akash et al. (2013)** ont préparé des microsphères d'EC/HPMC chargées par le flurbiprofène (FLB) avec la technique d'évaporation de solvant et optimisé leurs profils de libération. Les concentrations d'EC/HPMC peuvent influencer l'efficacité d'encapsulation, l'hydratation et la teneur qui augmentent avec les concentrations élevées d'EC/HPMC. La libération de P.A augmente par l'augmentation de la concentration de l'HPMC dans l'EC et les microsphères d'EC/HPMC suivent le modèle d'ordre zéro.

**Raut et al. (2013)** ont étudié l'effet de la modification du pH sur l'incorporation du métoprolol succinique (MS) dans la méthode de l'évaporation de solvant. Les microsphères qui ont été préparées avec l'utilisation de l'EC, l'HPMC, et l'EC/HPMC, montrent une libération rapide en utilisant l'acide fumarique (FA), l'acide citrique (CA), l'acide ascorbique (AA) et l'acide tartrique (TA) (à 5-20 % w/w). Ces systèmes ont été utilisés pour préparer des microsphères flottantes dans le liquide simulé gastrique et ont été évaluées pour leur rendement, la teneur en métoprolol et le taux de libération. La formulation à libération rapide a été obtenue avec la combinaison MS/HPMC/EC : 1/1/2. Elle a été choisie pour l'évaluation

de l'influence des modificateurs de pH sur la libération de P.A. Les microsphères de MS/HPMC/EC (1: 1: 2) présentent une teneur plus élevée ( $74,36 \pm 2,18$ ). Le meilleur pourcentage de rendement a été obtenu avec des microsphères P.A/HPMC (1: 1) et avec la combinaison de P.A/HPMC/EC (1: 1: 2). La libération de P.A à partir des microsphères varie avec la variation du rapport P.A/polymère ainsi que la concentration des modificateurs de pH.

Par Ailleurs les cyclodextrines (CDs) peuvent être utilisées intensivement en tant que polymères dans des microsphères qui devraient améliorer la solubilité, l'efficacité thérapeutique d'un médicament (Ali et al. 2012).

#### 5.1.4 Travaux de recherche sur l'inclusion de PA dans la $\beta$ -CD

**Kang et al. (2003)** ont démontré que la  $\beta$ -CD présente un effet stabilisant sur les microsphères qui serait dû à une augmentation de l'hydrophilie des protéines provoquée par la protection de leur résidu hydrophobe par l'hydroxylpropyle- $\beta$ -cyclodextrine (HP- $\beta$ -CD).

**Castellanos et al. (2005)** ont étudié le potentiel des CDs à stabiliser l' $\alpha$ -chymotrypsine lors de l'encapsulation dans des microsphères d'acide poly-lactique co-glycolique (PLGA) et de (HP- $\beta$ -CD) à l'aide de la technique d'encapsulation (S/O/W) dans l'émulsion multiple. Les résultats suggèrent que la méthyl  $\beta$ -cyclodextrine (M $\beta$ -CD) serait un excipient approprié pour améliorer la stabilité des protéines dans la procédure d'encapsulation. L'HP- $\beta$ -CD agissait comme un agent prometteur pour la stabilisation du lysozyme et de l'albumine du sérum bovin au cours de l'émulsification primaire et la préparation de microsphères de PLGA.

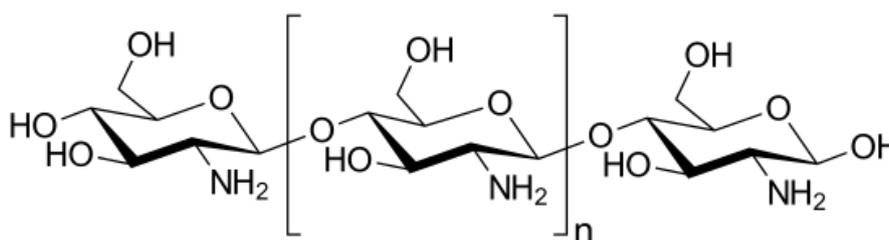
**Zhang et al. (2007)** ont préparés des microsphères de chitosane /  $\beta$ -cyclodextrine chargées de théophylline à libération prolongée par la méthode de séchage par pulvérisation. L'effet de plusieurs variables de formulation sur les caractéristiques des microsphères a été étudié. Les microsphères présentaient des profils de libération prolongée avec un taux de libération de 60,20% (pH 6,8) après 8 h.

#### 5.2 Microencapsulation avec séchage par atomisation (Spray-drying)

Dans cette partie le chitosane a été choisi comme matrice enrobante et qui est bien connue pour convenir à la microencapsulation avec séchage par atomisation.

Le chitosane est un polysaccharide obtenu par désacétylation alcaline d'un polysaccharide abondant d'origine naturelle, la chitine. Il est biodégradable, biocompatible, non immunogène et non cancérigène, ce qui le rend idéal pour les applications pharmaceutiques (Hejazi et al. 2003). En milieu acide, les groupes amines du chitosane (Fig.

I.1.7) sont protonnés, ce qui donne un polysaccharide soluble chargé positivement et qui présente une densité de charge élevée (une charge pour chaque unité de D-glucosamine). Le chitosane peut former des gels en interagissant avec différents types d'ions divalents et polyvalents 'anions' (Sinha et al. 2004). En utilisant cette propriété, des micro ou nanoparticules à base de chitosane ont été préparées car ces systèmes d'administration de médicaments à base de particules ont beaucoup gagné en efficacité. Une attention particulière leur a été accordée pour leurs propriétés uniques et leurs applications par rapport aux formes galéniques conventionnelles (Mi et al. 2003 ; Ko et al. 2002)



**Figure I.1.7** : Structure chimique du chitosane

Avec l'utilisation des technologies innovantes de microencapsulation et en faisant varier les paramètres de formulation, les microsphères de chitosane peuvent être développées pour donner un système de délivrance de médicament optimal qui fournira le profil de libération souhaité (Kumar 2000 et Sinha et al. 2004). Plusieurs méthodes sont disponibles pour la préparation des microparticules de chitosane, le séchage par pulvérisation qui est largement utilisé dans l'industrie pharmaceutique (Masters, 1991). Il a été utilisé pour produire des poudres sèches, des granulés ou des agglomérats à partir des solutions et suspensions excipient/P.A (Wang et al. 2002).

Cette technique peut être utilisée à la fois pour les médicaments résistant à la chaleur ou sensibles à la chaleur, pour les médicaments solubles ou insolubles dans l'eau et pour les polymères hydrophiles ou hydrophobes (Fu et al. 2001). En outre, il s'agit d'un processus continu en seule étape, facile à mettre en œuvre à l'échelle du laboratoire aussi bien qu'à l'échelle industrielle et peu dépendant de la solubilité du médicament et du polymère (Desai, et Park, 2005).

La taille des particules des microsphères préparées par la méthode de séchage par atomisation varie de quelques microns à plusieurs dizaines de microns et avait une distribution relativement étroite. Les microsphères préparées par la technique de séchage par

atomisation (pulvérisation) peuvent être administrés par voie orale, parentérale ou nasale (Heet al. 1999)

Récemment, des microparticules séchées par pulvérisation ont été utilisées en tant que supports de libération contrôlée pour des médicaments solubles et insolubles dans l'eau (Palmieri et al. 2001). Les microsphères de chitosane préparées par la technique de séchage par pulvérisation ne peuvent pas être maintenues en suspension dans l'eau en raison de leur gonflement et de leur dissolution plus importante (He et al. 1999). Par conséquent, les microsphères de chitosane non réticulées préparées par une technique de séchage par pulvérisation ne conviennent pas pour les systèmes d'administration prolongée (Desai et Park 2005). En revanche, le séchage par atomisation est un processus continu en une seule étape et largement utilisé dans l'industrie pharmaceutique en raison de ses nombreux avantages par rapport aux autres méthodes.

### 5.2.1 Les agents réticulants

Afin de préparer des microsphères de chitosane stabilisées par séchage par atomisation, des agents de réticulation tels que le formaldéhyde et le glutaraldéhyde ont été utilisés comme agents réticulants (He et al. 1999). Cependant, ces agents chimiques de réticulation ont la possibilité d'induire des effets indésirables. Par exemple, le glutaraldéhyde peut causer une irritation des muqueuses en raison de sa toxicité (Lim et al. 1997). Pour surmonter cet inconvénient de la réticulation chimique, la réticulation ionique (Fig. I.1.8) a été adoptée. Par exemple, les micro ou nanoparticules de chitosane peuvent être produites par réticulation ionique avec du PPT (tripolyphosphate) (Mi et al. 2003).

Ces méthodes impliquent des processus fastidieux et ne conviennent pas à une production à grande échelle car elles ne donnent pas de résultats reproductibles. Par conséquent, ces méthodes ont des applications limitées dans l'industrie pharmaceutique (Kumar 2000).

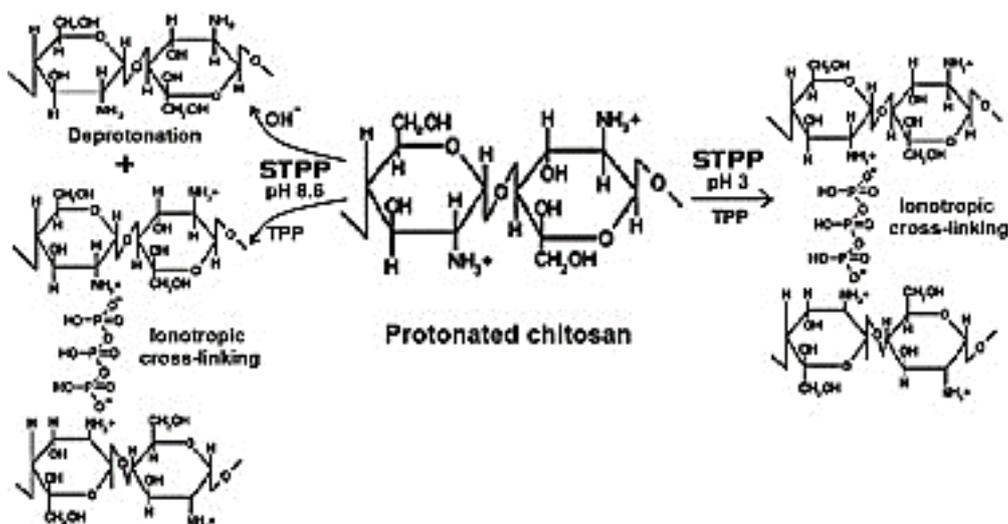


Figure I.1.8 : Réticulation ionique du chitosane par le STPP

### 5.2.2 Caractéristiques des matériaux réticulés

Les matériaux réticulés homogènes sont faciles à préparer avec des réactifs relativement peu coûteux et sont disponibles dans une variété de structures avec des propriétés multiples, ainsi que dans de nombreuses formes, par exemple : gels, particules de forme irrégulière ou perles régulières, membranes, revêtements, films, fibres, capsules et éponges. Ils sont insolubles dans les milieux acides et alcalins ainsi que dans les solvants organiques. Les gels réticulés sont des polymères hydrophiles très stables. Ils deviennent plus résistants au cisaillement, aux températures élevées et au pH bas par rapport aux polysaccharides non réticulés. Après réticulation, ces matériaux conservent leurs propriétés, leurs caractéristiques d'origine (à l'exception de la cristallinité) et leur résistance dans les solutions acides et basiques. Ces caractéristiques sont importantes pour un adsorbant car il peut être utilisé dans un environnement à pH inférieur (Shweta et al. 2013).

Il a été démontré que la réticulation réduit la quantité des domaines cristallins dans le polysaccharide. Par ailleurs les billes réticulées présentent également d'autres avantages, tels qu'une cinétique plus rapide, une facilité d'utilisation accrue et des propriétés de diffusion souhaitables. En raison de la nature hydrophile de leurs unités de réticulation, les matériaux ont une capacité de gonflement remarquablement élevée dans l'eau et, par conséquent, leurs réseaux sont suffisamment larges pour permettre un processus de diffusion rapide des principes actifs.

### 5.2.3 Travaux de recherche publiés dans la réticulation du chitosane

Les microsphères de chitosane non réticulées ne donnent pas des formulations à libération prolongée/contrôlée par rapport aux microsphères de chitosane réticulées, qui présentent des meilleurs résultats.

**He Ping et al. (1999)** avaient pour objectif de préparer des microsphères de chitosane réticulées et non réticulées contenant des antagonistes des récepteurs H<sub>2</sub>, telles que la cimétidine, la famotidine et la nizatidine, par le procédé de séchage par pulvérisation. Des microsphères de chitosane non réticulées d'une taille de 4 à 5 µm, et des microsphères de chitosane réticulées avec une taille de 2 à 10 µm et un potentiel zêta positif ont été obtenues avec une bonne sphéricité et une distribution uniforme. La taille des particules et le potentiel zêta positif ont été influencés par la quantité de l'agent réticulant utilisé. Avec une diminution de la quantité d'agent de réticulation (glutaraldéhyde ou formaldéhyde), la taille des particules et le potentiel zêta ont augmenté. Les paramètres de préparation elle-même (taille du bec, débit de la pompe d'alimentation, température d'entrée et débit d'air comprimé) ont influencé la taille des particules des microsphères. Des grosses particules peuvent être formées à un débit de pompe d'alimentation plus rapide avec un bec plus grand, en revanche, de petites particules sont formées quand le volume d'air d'entrée est grand. En effet, la température d'entrée influence un peu sur la taille des particules dans la gamme de 140 à 180 °C. La taille des particules des microsphères de chitosane, préparées à partir des concentrations élevées de chitosane et de poids moléculaires élevés sont importantes, par rapport aux microsphères préparées à partir des faibles concentrations en chitosane et de poids moléculaires. La DSC a montré que la cimétidine, ainsi que la famotidine, ont été dispersées dans les microsphères de chitosane sous la forme d'une solution solide. La libération des médicaments modèles (cimétidine, famotidine ou nizatidine) à partir de ces microsphères a été rapide et accompagnée avec l'effet d'éclatement. La quantité de médicament libérée a été légèrement influencée par la quantité d'agent réticulant et sa solubilité. Lorsque la quantité de l'agent réticulant augmente ou la solubilité du P.A diminue la quantité de P.A libérée a été légèrement réduite.

**Mi et al. (2002)** ont préparé un système de chitosane injectable à faible cytotoxicité. Les microsphères de chitosane ayant de petites tailles de particules, une faible cristallinité et une bonne sphéricité ont été préparées par un procédé de séchage par atomisation suivi d'une réticulation avec un agent de réticulation naturel (génipine). Les résultats de l'étude ont montré que les microsphères de chitosane réticulées avaient une biocompatibilité supérieure et

un taux de dégradation plus lent que ces microsphères de chitosane réticulées au glutaraldéhyde. Il a été conclu que les microsphères de chitosane réticulées par la génipine pourraient constituer un support polymérique approprié pour l'administration injectable de médicaments à longue durée.

**Filipović-Grčić et al. (2003)** ont utilisé du chitosane et de l'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC) de poids moléculaire faible, moyen et élevé, dans différents rapports P.A/polymère, pour la préparation de microsphères de chitosane séchées par pulvérisation. Les résultats ont indiqué que l'efficacité d'encapsulation et le profil de libération de la carbamazépine dépendaient de la composition du polymère et des rapports P.A/polymère des microsphères préparées. Les meilleurs rendements en P.A dans les microsphères ont été obtenus pour le chitosane de faible poids moléculaire. Les microsphères à faible teneur en carbamazépine (6,3%) ont montré un meilleur contrôle de la libération du médicament par rapport à celles avec des teneurs plus élevées.

**Wang et al. (2014)** ont pu déterminer les conditions optimales de séchage par atomisation, par exemple la concentration de la solution de chitosane, le poids moléculaire du chitosane et le type du bec de séchage par atomisation, pour la préparation des nanoparticules chargées d'amoxicilline. Ces paramètres présentent un effet considérable sur : la distribution en taille, le potentiel zêta, l'activité antibactérienne du chitosane-amoxicilline. Les résultats montrent que des nanoparticules de tailles entre 95 et 358  $\mu\text{m}$ , ont un potentiel zêta très élevé. Il est facile de contrôler leurs propriétés en ajustant la concentration de la solution initiale de chitosane utilisée, la taille du bec de pulvérisateur et le poids moléculaire du chitosane. Les microparticules de chitosane ont une forte activité antibactérienne et leur teneur en amoxicilline est élevée. Il a été conclu que les nanoparticules de chitosane préparées par séchage par atomisation ont plus de potentiel comme agent antibactérien et se présentent comme un nouveau moyen d'administration de l'amoxicilline.

#### 5.2.4 Mécanisme de la réticulation

La réaction de réticulation dépend principalement de la taille et du type de l'agent de réticulation et des groupes fonctionnels du chitosane. Plus la taille moléculaire de l'agent de réticulation est petite, plus la réaction de réticulation est rapide, car sa diffusion est plus facile. Selon la nature de l'agent de réticulation, les principales interactions constituant le réseau sont des liaisons covalentes ou ioniques (Kavanagh et al. 1998).

Les hydrogels à réticulation covalence présentent le degré de réticulation comme paramètre principal influençant des propriétés importantes telles que la résistance mécanique, le gonflement et la libération du médicament. Ces gels présentent un gonflement sensible au pH et une libération de médicament par diffusion à travers leur structure poreuse (Shweta et al., 2013). Par conséquent, les hydrogels à base de chitosane réticulé en covalence ou par ionisation peuvent être considérés comme de bons candidats pour l'administration orale de médicaments (Hasan et al. 2002). Des préoccupations liées à la désintégration des microparticules de chitosane ont conduit à leur modification par réticulation pour former un polymère rigide à utiliser comme matériau de revêtement dans la recherche sur la libération contrôlée des médicaments. Ko et al. ont rapporté que l'utilisation de la complexation entre le poly-anion tripolyphosphate et le chitosane cationique par des forces électrostatiques résulte en une structure plus homogène en raison du processus de réticulation plus homogène.

#### **5.2.5 Travaux de recherche sur la réticulation du chitosane avec le STPP par Spray Drying:**

Le STPP agit en augmentant le pH et la force ionique de la solution, en formant un gel et en favorisant l'interaction ionique entre les groupes amines du chitosane et les groupes anioniques du TPP

**Asada et al. (2004)** ont obtenu des particules matricielles de chitosane chargées de théophylline préparées avec le séchage par atomisation. Les particules de la matrice de ce système étaient sphériques. Une libération prolongée et une dissolution lente des particules obtenues par séchage par atomisation ont été obtenues dans un milieu de pH 6,8. A partir de l'analyse FT-IR, des liaisons hydrogènes ont été formé entre le groupe carbonyle de Théophylline et le groupe amine de chitosane. Les particules des systèmes élaborées Théophylline/Chitosane ont montré une possibilité d'administration pharmaceutique pour les poumons.

**Desai et Park a, (2005)** ont préparé des microsphères de chitosane par réticulation ionique (chitosane-TPP) par la méthode de séchage par atomisation chargées par l'acétaminophène comme modèle de substance active. Il est bien connu que le TPP est un poly anion non toxique qui interagit avec le chitosane en milieu acide via des forces électrostatiques pour former des réseaux réticulés ioniques. Les microsphères de chitosane – TPP produites sont de forme sphérique avec une surface lisse et une efficacité d'encapsulation élevée. Il a été constaté que la morphologie de la surface des microsphères de chitosane-TPP séchées par

pulvérisation et la vitesse de libération du P.A à partir de ces microsphères pouvaient être correctement contrôlée en variant la cristallinité du médicament, le volume de la solution de TPP et le poids moléculaire du chitosane, dont les variations appropriées entraînaient des variations dans la morphologie de surface et des profils de libération.

**Desai et Park** <sup>b</sup>, (2005) ont élaboré des microsphères de chitosane-TPP, de chitosane-FA et de chitosane-GA à deux concentrations (1%, 2% de l'agent réticulant) chargées de l'acétaminophène en utilisant le séchage par pulvérisation, ainsi ils ont examiné l'influence des trois différents agents de réticulation sur les propriétés des microsphères. La taille des particules et les rendements d'encapsulation des microsphères de chitosane préparées varient entre 4,1 et 4,7  $\mu\text{m}$  et 95,12 à 99,17%, respectivement. La nature de la réticulation (chimique ou ionique) a une influence remarquable sur la morphologie de surface, le pourcentage d'érosion, le pourcentage d'absorption d'eau et la libération du médicament des microsphères de chitosane séchées par pulvérisation. Les microsphères réticulées avec le TPP présentent une capacité de gonflement, un pourcentage d'absorption d'eau, un pourcentage d'érosion et un taux de libération du médicament plus élevés, dans les deux cas de réticulation (1% et 2% STPP) par rapport à ceux réticulés avec FA et GA. Des microsphères de surface lisse et sphériques de chitosane séchées par pulvérisation ont été perdues lorsque la concentration de l'agent réticulant était de 1% à 2%.

**Desai et Park** (2006) ont formulé des microsphères de vitamine C à base de chitosane –TPP en utilisant le séchage par pulvérisation. Ils ont étudié l'effet des paramètres de préparation de la solution TPP(0.1% m/v) avec des volumes de 5, 10 et 15ml et une concentration de chitosane (0.5%, 1%) sur le diamètre, la morphologie de surface, la teneur et le potentiel zêta, ainsi que les profils de libération de vitamine C. La taille et le rendement des microsphères de chitosane-TPP varient de 3,9 à 7,3  $\mu\text{m}$  et de 54,5 à 67,5%, respectivement. L'efficacité de l'encapsulation variait de 45,72 à 68,7% et diminuait avec l'augmentation du volume de la solution de TPP à 1% m /v. Pour la même concentration de STPP, l'efficacité d'encapsulation des microsphères de chitosane-TPP augmentait lorsque la concentration en chitosane augmente de 0,5 à 1% m /v. Les résultats montrent que les microsphères de CH-TPP réticulées avec 15ml de STPP à 1% m/v produisaient des microsphères plus poreuses que celles réticulées avec des volumes faibles. Le taux de libération de la vitamine C des microsphères de CH-TPP diminue lorsque la concentration en chitosane augmente de 0,5 à 1,0% m /v. En plus, le taux de libération de la vitamine C à partir des microsphères de CH-TPP diminue avec l'augmentation du volume de STPP.

**Aranaz et al. (2017)** avaient pour objectifs de préparer de nouvelles microcapsules de chitosane/TPP chargées de Venlafaxine pour l'administration orale par la technique de séchage par pulvérisation pour obtenir une libération contrôlée. L'effet des propriétés physicochimiques du chitosane, la concentration de STPP et du rapport chitosane / TPP sur la libération du médicament ont été évalués. Les résultats ont montré que les propriétés physicochimiques du chitosane ont un effet sur le rendement et l'efficacité de l'encapsulation, mais de faible impact sur les profils de libération du médicament. Le rapport chitosane-TPP a un effet principal sur la libération de Venlafaxine. Les microsphères formulées à base de chitosane à faible viscosité et avec un rapport CH/TPP (1:1) ont montré une libération contrôlée avec un taux maximal de 60% après 6h.

## 6. Conclusion

La microencapsulation est l'une des techniques de préservation de la qualité des substances sensibles et une méthode de production de médicaments ayant de nouvelles propriétés pharmaceutiques. Elle consiste à enfermer le P.A dans une enveloppe de polymère ce qui s'avère très intéressant pour prolonger la libération du médicament dans le tractus gastro-intestinal tout en réduisant ses effets secondaires et tout en augmentant la solubilité des molécules hydrophobes insolubles.

L'importance de la microencapsulation s'étend aussi à masquer les propriétés organoleptiques telles que le goût et l'odeur de nombreux médicaments et améliore ainsi la compliance du patient, ainsi les médicaments sensibles à la lumière, à l'oxygène, à l'humidité sont facilement stabilisés.

Dans cette partie, nous avons présenté les deux techniques d'encapsulation qui seront exploitées dans la partie expérimentale. Les polymères qui ont été utilisés pour encapsuler l'acide niflumique (EC, HPMC,  $\beta$ -CD, Chitosane) ont été brièvement décrits en donnant dans chaque les travaux de recherche établis dans l'encapsulation de différents principes actifs par les méthodes déjà citées.

## Références

Abatti Kasper, D. S., , Da Rosa, A.A., Delmônego, L., , De Sousa D., , Bazzo, G.C., and Buzzi, V., (2018), Ethylcellulose -Piroxicam microparticules: Effect of Process parameters on encapsulation efficiency and release profile at different pH, World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences, 7(1), 1417-1433

Agnihotri, N., Mishra, R., Goda, C., & Arora, M. (2012). Microencapsulation—a novel approach in drug delivery: a review. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2(1), 1-20.

Ahmad, M., Madni, A., Usman, M., Munir, A., Akhtar, N., & Khan, H. S. (2011). Pharmaceutical micro encapsulation technology for development of controlled release drug delivery systems. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 75(1), 384-387.

Akash, M., Iqbal, F., Raza, M., Rehman, K., & Ahmed, S. (2013). Characterization of ethylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose microspheres for controlled release of Flurbiprofen. *Journal of Pharmaceutics & Drug Delivery Research*, 2(1), 2.

Ali, N., Harikumar, S. L., & Kaur, A. (2012). Cyclodextrins: An excipient tool in drug delivery. *International Research Journal of Pharmacy*, 3(4), 44-50.

Ansari, T., Farheen, M., Hoda, M., & Nayak, A. K. (2012). Microencapsulation of pharmaceuticals by solvent evaporation technique: a review. *Elixir International Journal Pharmacy*, 47, 8821-8827.

Aranaz, I., Paños, I., Peniche, C., Heras, Á., & Acosta, N. (2017). Chitosan spray-dried microparticles for controlled delivery of venlafaxine hydrochloride. *Molecules*, 22(11), 1980.

Asada, M., Takahashi, H., Okamoto, H., Tanino, H., & Danjo, K. (2004). Theophylline particle design using chitosan by the spray drying. *International Journal of pharmaceutics*, 270(1-2), 167-174.

Azeredo, H. D. (2008). Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, 16(1), 89-97.

Bag, P. P., & Reddy, C. M. (2012). Screening and selective preparation of polymorphs by fast evaporation method: a case study of aspirin, anthranilic acid, and niflumic acid. *Crystal Growth & Design*, 12(6), 2740-2743.

Banker, G., Peck, G., Ja, S., Pirakitikulr, P., & Taylor, D. (1981). Evaluation of hydroxypropyl cellulose and hydroxypropylmethyl cellulose as aqueous based film coatings. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 7(6), 693-716.

Bansode, S. S., Banarjee, S. K., Gaikwad, D. D., Jadhav, S. L., & Thorat, R. M. (2010), Microencapsulation: a review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 1(2), 38-43.

- Basan, H., Gümüşdereliöglu, M., & Orbey, T. (2002). Diclofenac sodium releasing pH-sensitive monolithic devices. *International Journal of Pharmaceutics*, 245(1-2), 191–198.
- Benita, S. (2nd Ed.). (2005). *Microencapsulation: methods and industrial applications*. Crc Press.
- Benoit, M. A., Baras, B., & Gillard, J. (1999). Preparation and characterization of protein-loaded poly ( $\epsilon$ -caprolactone) microparticles for oral vaccine delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 184(1), 73-84.
- Berkland, C., King, M., Cox, A., Kim, K. K., & Pack, D. W. (2002). Precise control of PLG microsphere size provides enhanced control of drug release rate. *Journal of controlled release*, 82(1), 137-147.
- Bile, J. (2015). *Microencapsulation d'agent antimicrobien pour le développement de conditionnements primaires fonctionnalisés*, Ecole Doctorale de Chimie, (Thèse Doctorat), Université Claude Bernard-Lyon I, 21-31.
- Biswas, R., and Kumar, K., S., (2018). Development and Characterization of Novel Herbal Formulation (Polymeric Microspheres) of *Syzygium Cumini* Seed Extract. *International Journal of Applied Pharmaceutics* 10(5): 226–34.
- Bodmeier, R., & McGinity, J. W. (1987). The preparation and evaluation of drug-containing poly (dl-lactide) microspheres formed by the solvent evaporation method, *Pharmaceutical research*, 4(6), 465-471.
- Castellanos, I. J., Flores, G., & Griebenow, K. (2005). Effect of the molecular weight of poly (ethylene glycol) used as emulsifier on  $\alpha$ -chymotrypsin stability upon encapsulation in PLGA microspheres. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 57(10), 1261-1269.
- Dalbanjan, N. S., (2018); *Microsphere: A complete review*, *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(11), 786-817.
- Dash, V., MISHRA, S., Singh, M., GOYAL, A., & Rath, G. (2009). Release kinetic studies of aspirin microcapsules from ethyl cellulose, cellulose acetate phthalate and their mixtures by emulsion solvent evaporation method. *Scientia pharmaceutica*, 78(1), 93-102.
- Deepa, N., Bipul N., (2018), *Review on solvent evaporation technique: A PROMISING METHOD FOR MICROENCAPSULATION* , *World Journal of Pharmaceutical Research*, (7-11), 356-372.
- Desai, K. G. H., & Park, H. J. (2005)a., Preparation and characterization of drug-loaded chitosan–tripolyphosphate microspheres by spray drying. *Drug Development Research*, 64(2), 114-128.

Desai, K. G. H., & Park, H. J. (2005)b, . Preparation of cross-linked chitosan microspheres by spray drying: effect of cross-linking agent on the properties of spray dried microspheres. *Journal of microencapsulation*, 22(4), 377-395.

Desai, K. G., & Park, H. J. (2006). Effect of manufacturing parameters on the characteristics of vitamin C encapsulated tripolyphosphate-chitosan microspheres prepared by spray-drying. *Journal of microencapsulation*, 23(1), 91-103.

Dhakar, R. C. (2012). From formulation variables to drug entrapment efficiency of microspheres: a technical review. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 2(6), 128-133.

Diaf, K., El Bahri, Z., Chafi, N., Belarbi, L., & Mesli, A. (2012). Ethylcellulose, polycaprolactone, and eudragit matrices for controlled release of piroxicam from tablets and microspheres. *Chemical Papers*, 66(8), 779-786.

Dubey, R., Shami T.C. and Bhasker Rao, K.U., (2009), Microencapsulation technology and application, *Defence Science Journal*, 59(1), 82-95.

Dupinder, K., & Seema, S. (2013). Development and characterization of lovastatin loaded microspheres. *International Research Journal of Pharmaceutical and Applied*, 3(5), 197-205.

Filipović-Grčić, J., Perissutti, B., Moneghini, M., Voinovich, D., Martinac, A., & Jalšenjak, I. (2003). Spray-dried carbamazepine-loaded chitosan and HPMC microspheres: preparation and characterisation. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 55(7), 921-931.

Freiberg, S., & Zhu, X. X. (2004). Polymer microspheres for controlled drug release. *International Journal of Pharmaceutics*, 282(1-2), .1–18

Freitas, S., Merkle, H. P., & Gander, B. (2005). Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology. *Journal of controlled release*, 102(2), 313-332.

Fu, F.-L. Mi, T.-B. Wong, S.-S. Shy, Y.-J. (2001). Characteristic and controlled release of anticancer drug loaded poly (D,L-lactide) microparticles prepared by spray drying technique. *Journal of Microencapsulation*, 18(6), 733–747.

Fu, X. C., Wang, G. P., Liang, W. Q., & Chow, M. S. S. (2004). Prediction of drug release from HPMC matrices: effect of physicochemical properties of drug and polymer concentration. *Journal of controlled release*, 95(2), 209-216.

Garg, A., ; Chhipa, K., and Kumar, L., (2018). Microencapsulation techniques in IN pharmaceutical formulation, *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 5(3), 199-206.

Gasmi, H. (2015). Controlled release microparticles: impact of swelling on the drug release kinetics (Doctoral dissertation).

- Gattani, Y. S. (2010). Floating multiparticulate drug delivery systems: an overview. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 1(2), 1-14.
- Gohel, M. C., & Amin, A. F. (1998). Formulation optimization of controlled release diclofenac sodium microspheres using factorial design. *Journal of controlled release*, 51(2-3), 115-122.
- Goswami, N., Joshi, G., & Sawant, K. (2012). Floating microspheres of valacyclovir HCl: Formulation, optimization, characterization, in vitro and in vivo floatability studies. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 4, 8-10.
- Gupta, A. K., & Dey, B. K. (2012). Microencapsulation for controlled drug delivery: a comprehensive review. *Sunsari Technical College Journal*, 1(1), 48-54.
- Hardenia, S. S., Jain, A., Patel, R., & Kaushal, A. (2011). Formulation and evaluation of mucoadhesive microspheres of ciprofloxacin. *Journal of Advanced Pharmacy Education and research*, 1(4), 214-224.
- He, P., Davis, S. S., & Illum, L. (1999). Chitosan microspheres prepared by spray drying. *International journal of pharmaceutics*, 187(1), 53-65.
- Hejazi, R., & Amiji, M. (2003). Chitosan-based gastrointestinal delivery systems. *Journal of controlled release*, 89(2), 151-165.
- Hwisa, N. T., Katakam, P., Chandu, B. R., & Adiki, S. K. (2013). Solvent evaporation techniques as promising advancement in microencapsulation. *Vedic Research International Journals, Vedic Research Internatioc, Biological Medicinal Chemistry*, 1(2), 8-22.
- Iwata, M., & McGinity, J. W. (1991). Preparation of multi-phase microspheres of poly (D, L-lactic acid) and poly (D, L-lactic-co-glycolic acid) containing a W/O emulsion by a multiple emulsion solvent evaporation technique. *Journal of microencapsulation*, 9(2), 201-214.
- Jamekhorshid, A., Sadrameli, S. M., & Farid, M. (2014). A review of microencapsulation methods of phase change materials (PCMs) as a thermal energy storage (TES) medium. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 31, 531-542.
- Jeffery, H., Davis, S. S., & O'hagan, D. T. (1991). The preparation and characterisation of poly (lactide-co-glycolide) microparticles. I: Oil-in-water emulsion solvent evaporation. *International Journal of Pharmaceutics*, 77(2-3), 169-175.
- Jelvehgari, M., Hassanzadeh, D., Kiafar, F., Loveym, B. D., & Amiri, S. (2011). Preparation and determination of drug-polymer interaction and in-vitro release of mefenamic acid microspheres made of celluloseacetate phthalate and/or ethylcellulose polymers. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 10(3), 457- 467.
- Jian You, Fu-de Cui, Xu Han, Yongsheng Wang, Lei Yang, Ying-Wei Yu, Qing-po. *Literature of Biointerfaces*, 2006; pp 35-41.

Kang, F., & Singh, J. (2003). Conformational stability of a model protein (bovine serum albumin) during primary emulsification process of PLGA microspheres synthesis. *International journal of pharmaceutics*, 260(1), 149-156.

Karnchanajindanun, J., Srisa-ard, M., Srihanam, P., & Baimark, Y. (2010). Preparation and characterization of genipin-cross-linked chitosan microparticles by water-in-oil emulsion solvent diffusion method. *Natural Science*, 2(10), 1061.

Kavanagh, G. M., & Ross-Murphy, S. B. (1998). Rheological characterisation of polymer gels. *Progress in Polymer Science*, 23(3), 533-562.

Kavanagh, G. M., & Ross-Murphy, S. B. (1998). Rheological characterisation of polymer gels. *Progress in Polymer Science*, 23(3), 533-562.

kit, K., Kumar, S. P., & Arunabha, B. (2011). Microencapsulation as a novel drug delivery system. *Int Pharm Sci*, 1(1), 1-7.

Ko, J. A., Park, H. J., Hwang, S. J., Park, J. B., & Lee, J. S. (2002). Preparation and characterization of chitosan microparticles intended for controlled drug delivery. *International journal of pharmaceutics*, 249(1-2), 165-174.

Kotadiya, R., Patel, V., Patel, H., & Salaniya, B. (2009). Evaluation of terbutaline sulphate encapsulated ethylcellulose microspheres: a factorial approach. *Int J PharmTech Res*, 1(4), 1271-8.

Kreitz, M., Brannon-Peppas, L., & Mathiowitz, E. (1999). Microencapsulation. *Encyclopedia of controlled drug delivery*.

Kumar, M. N. V. R. (2000). Nano and microparticles as controlled drug delivery devices. *J. Pharm. Pharm. Sci*, 3(2), 234-258.

Kumari, S., Bhandari, A., Sharma P.K., (2014) . Solvent evaporation as a imposing method for microencapsulation - A review, 2 (19) 2014, 13-20

Kumari, S., Nagpal, M., Aggarwal, G., Puneet, G., Jain, U. K., & Sharma, P. (2016). Microparticles Drug Delivery System: A Review (2016). *World Journal Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 5, 543-566.

Leo, E., Pecquet, S., Rojas, J., Couvreur, P., & Fattal, E. (1998). Changing the pH of the external aqueous phase may modulate protein entrapment and delivery from poly(lactide-co-glycolide) microspheres prepared by a w/o/w solvent evaporation method. *Journal of Microencapsulation*, 15(4), 421-430.

Lim, L. Y., Wan, L. S., & Thai, P. Y. (1997). Chitosan microspheres prepared by emulsification and ionotropic gelation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 23(10), 981-985.

- Madhav, N. S., & Kala, S. (2011). Review on microparticulate drug delivery system, *International Journal of PharmTech Research*, 3(3), 1242-1254.
- Mahdavi, S. A., Jafari, S. M., Ghorbani, M., & Assadpoor, E. (2014). Spray-drying microencapsulation of anthocyanins by natural biopolymers: a review. *Drying technology*, 32(5), 509-518.
- Manabendra, R., Bipul N., (2017). Microspheres - A Novel drug delivery system, *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 6(1), 510-520.
- Masters, K. *Spray Drying Handbook*, (1991). New York: Longman Scientific and Technical. Harlow, Essex, England, New York .5 edition
- Mi, F. L., Sung, H. W., Shyu, S. S., Su, C. C., & Peng, C. K. (2003). Synthesis and characterization of biodegradable TPP/genipin co-crosslinked chitosan gel beads. *Polymer*, 44(21), 6521-6530.
- Mi, F. L., Tan, Y. C., Liang, H. F., & Sung, H. W. (2002). In vivo biocompatibility and degradability of a novel injectable-chitosan-based implant. *Biomaterials*, 23(1), 181-191.
- Mishra, D. K., Jain, A. K., & Jain, P. K. (2013). A review on various techniques of microencapsulation. *International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences* 2 (2), 962-977.
- Mouffok, M., Mesli, A., Abdelmalek, I., & Gontier, E. (2016). Effect of the formulation parameters on the encapsulation efficiency and release behavior of p-aminobenzoic acid-loaded ethylcellulose microspheres. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 81(10), 1183-1198.
- Murtaza, G. (2012). Ethylcellulose microparticles: a review. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 69(1), 11-22.
- Naik, J. B., Lokhande, A. B., Mishra, S., & Kulkarni, R. D. (2012). Development of sustained release micro/nanoparticles using different solvent emulsification technique: A review. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 3(4), 573-590.
- Nath, B., Nath, L. K., Mazumder, B., Kumar, P., Sharma, N., & Sahu, B. P. (2010). Preparation and characterization of salbutamol sulphate loaded ethyl cellulose microspheres using water-in-oil-oil emulsion technique. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 9(2), 97-105.
- Neeta, M. M., Satija, S., Pandey, P., & Dahiya, M. (2016). Solvent evaporation technique: An innovative approach to increase gastric retention. *International Journal of Advanced Scientific Research*, 1(4), 60-67.
- Nesterenko, A., Françoise, S., Vanessa, D., (2012), Etude et fonctionnalisation de protéines végétales en vue de leur application en microencapsulation, Thèse de doctorat en sciences des agroressources, Institut National Polytechnique de Toulouse, 20-21.

- Obeidat, W. (2009). Recent Patents Review in Microencapsulation of Pharmaceuticals Using the Emulsion Solvent Removal Methods. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 3(3), 178–192.
- Ogawa, Y., Yamamoto, M., Okada, H., YASHIKI, T., & SHIMAMOTO, T. (1988). A new technique to efficiently entrap leuprolide acetate into microcapsules of polylactic acid or copoly (lactic/glycolic) acid. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 36(3), 1095-1103.
- Padalkar, A. N., Shahi, S. R., Kale, A. G., Thube, M., & Padalkar, V. A. (2012). Formulation and characterization of novel solid dispersions of hydrochlorothiazide by solvent evaporation technique. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 2(11), 49-56.
- Palmieri, G. F., Bonacucina, G., Di Martino, P., & Martelli, S. (2001). Spray-Drying as a Method for Microparticulate Controlled Release Systems Preparation: Advantages and Limits. I. Water-Soluble Drugs. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 27(3), 195–204.
- Pandit, V., Pai, R. S., Yadav, V., Devi, K., Surekha, B. B., Inamdar, M. N., & Suresh, S. (2013). Pharmacokinetic and pharmacodynamic evaluation of floating microspheres of metformin hydrochloride. *Drug development and industrial pharmacy*, 39(1), 117-127.
- Parida, P., Mishra, S. C., Sahoo, S., Behera, A., & Nayak, B. P. (2016). Development and characterization of ethylcellulose based microsphere for sustained release of nifedipine. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(5), 341-344.
- Patel, K. D., & Patel, N. K. (2013). Formulation and evaluation of metformin hydrochloride microparticles by emulsion solvent evaporation technique. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 3(2), 125-130.
- Patel, K., Patel, V., Patel, M., Patel, P., Ajmera, A., & Rathod, K. (2010). Preparation and characterization of Tramadol hydrochloride microspheres. *International Journal of Drug Development & Research*, 2(3), 605-611.
- Pavan Kumar, B., Sarath Chandiran, I., Bhavya, B., & Sindhuri, M. (2011). Microparticulate drug delivery system: a review. *Indian J Pharm Sci Res*, 1(1), 19-37
- Poshadri, A., & Aparna, K. (2010). Microencapsulation technology: a review. *Journal of Research ANGRAU*, 38(1), 86-102.
- Rajput, S., Agrawal, P., Pathak, A., Shrivastava, N., Baghel, S. S., & Baghel, R. S. (2012). A Review on microspheres: methods of preparations and evaluation. *World Journal Of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 1, 422-438.
- Raut, N. S., Somvanshi, S., Jumde, A. B., Khandelwal, H. M., Umekar, M. J., & Kotagale, N. R. (2013). Ethyl cellulose and hydroxypropyl methyl cellulose buoyant microspheres of metoprolol succinate: Influence of pH modifiers. *International journal of pharmaceutical investigation*, 3(3), 163-170.

Salústio, P. J., Pontes, P., Conduto, C., Sanches, I., Carvalho, C., Arrais, J., & Marques, H. M. C. (2011). Advanced technologies for oral controlled release: cyclodextrins for oral controlled release. *AAPS PharmSciTech*, 12(4), 1276-1292.

Sharma, K. S. C., & Naresh, Y. (2014). Formulation and In-vitro characterization of sustained release of Indomethacin microcapsules. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1(1), 17-25.

Shekhar, K., Madhu, M. N., Pradeep, B., & Banji, D. (2010). A review on microencapsulation. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res*, 5(2), 58-62.

Shweta, A., & Sonia, P. (2013). Pharmaceutical relevance of crosslinked chitosan in microparticulate drug delivery. *Int. Res. J. Pharm*, 4(2), 45-51.

Singh, C., Purohit, S., & Pandey, B. L. (2014). MadhuSingh. Solvent Evaporation Technique of Microencapsulation: A Systemic Review. *International Journal of Advances in Pharmaceutical Analysis*, 4(3), 96-104.

Sinha, V. R., Singla, A. K., Wadhawan, S., Kaushik, R., Kumria, R., Bansal, K., & Dhawan, S. (2004). Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs. *International journal of pharmaceutics*, 274(1-2), 1-33.

Sovilj, V. J., Šaletić, J. V., Petrović, L. B., & Dokić, P. P. (2004). Properties of hydroxypropylmethyl cellulose stabilized emulsion in the presence of sodium dodecylsulfate. *Acta Periodica Technologica (Serbia and Montenegro)*.

Sriram, N., & Bindu, R. H. (2013). Formulation and evaluation of glimepiride microspheres. *International Journal of Pharmaceutical Development & Technology*, 3(1), 7-12.

Subedi, G., Shrestha, A. K., & Shakya, S. (2016). Study of effect of different factors in formulation of micro and nanospheres with solvent evaporation technique. *Open Pharmaceutical Sciences Journal*, 3(1), 182-195.

Sundar V., D., Sathyamoorthy, N., Madhuri, M., Dhanaraju, M., D., (2014). Preparation and evaluation of ethyl cellulose of microspheres of pioglitazone HCl for sustained drug delivery, *International Journal of Pharmacy*, 4(1), 189-193

Tiwari, S., & Verma, P. (2011). Microencapsulation technique by solvent evaporation method (Study of effect of process variables). *International journal of pharmacy & life sciences*, 2(8).

Venkatesan, P., Manavalan, R., & Valliappan, K. (2009). Microencapsulation: a vital technique in novel drug delivery system. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 1(4), 26-35.

Venkatesan, P., Manavalan, R., & Valliappan, K. (2011). Preparation and evaluation of sustained release loxoprofen loaded microspheres. *Journal of basic and clinical pharmacy*, 2(3), 159.

Vyas, S. P., & Khar, R. K. (2004). Targeted & controlled drug delivery: Novel carrier systems. CBS publishers & distributors.

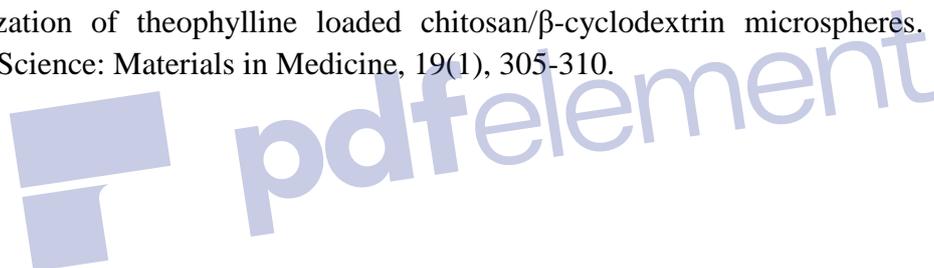
Vysloužil, J., Doležel, P., Kejdušová, M., Mašková, E., Mašek, J., Lukáč, R. Dvořáčková, K. (2014). Influence of different formulations and process parameters during the preparation of drug-loaded PLGA microspheres evaluated by multivariate data analysis. *Acta Pharmaceutica*, 64(4), 403–417.

Wang, F. J., & Wang, C. H. (2002). Effects of fabrication conditions on the characteristics of etanidazole spray-dried microspheres. *Journal of microencapsulation*, 19(4), 495-510.

Wang, S. L., Hiep, Đ. M., Luong, P. M., Vui, N. T., Đinh, T. M., & Dzung, N. A. (2014). Preparation of chitosan nanoparticles by spray drying, and their antibacterial activity. *Research on Chemical Intermediates*, 40(6), 2165-2175.

Yang, C. Y., Tsay, S. Y., & Tsiang, R. C. (2000). An enhanced process for encapsulating aspirin in ethyl cellulose microcapsules by solvent evaporation in an O/W emulsion. *Journal of microencapsulation*, 17(3), 269-277.

Zhang, W. F., Chen, X. G., Li, P. W., He, Q. Z., & Zhou, H. Y. (2008). Preparation and characterization of theophylline loaded chitosan/ $\beta$ -cyclodextrin microspheres. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 19(1), 305-310.



# Partie II : Etude expérimentale



# Chapitre 1

## Description des protocoles expérimentaux



## 1. Matériels et Méthodes

### 1.1 Matériels

#### *Principe Actif :*

Acide niflumique (AN):  $C_{13}H_9F_3N_2O_2$ ,  $M=282.2$  g/mole, Sigma-Aldrich.

#### *Polymères :*

-Ethylcellulose (EC) : Viscosité  $22c_p$  (5% dans le mélange Toluène /éthanol 80/20), Contenance en éthoxyle 48%, Sigma-Aldrich.

-Chitosane (CH):  $M_w= 197000$  g/mole,  $DD= 92\%$ , Idebio S.L. (Salamanca, Spain).

-Hydroxypropylméthylcellulose (HPMC), (H7509, viscosité  $2600-5600 c_p$ , 2 % dans H<sub>2</sub>O Sigma-Aldrich).

- $\beta$ -cyclodextrine ( $\beta$ -CD) : Sigma Aldrich (USA).

#### *Agents réticulants :*

-Triphosphosphate de Sodium (STPP), grade 90-95%, sigma-Aldrich,

-Glutaraldéhyde : solution aqueuse 25% w/w, Sigma-Aldrich

#### *Agents tensioactifs :*

-Alcool polyvinylique (PVA) :  $(CH_2CHOH)_n$ , 87–89 % hydrolysé ( $M_w = 13000-23000$  g/mole), Sigma-Aldrich.

-Span 80 : Sigma-Aldrich

#### *Solvants :*

- Dichlorométhane (DCM):  $M=84,93$  g/mole,  $d=1,32$ ,  $T_{eb}$ : 39-40°C, Merck.

-Chloroforme : anhydre ( $\geq 99\%$ ), Sigma-Aldrich.

-Ethanol absolu 99%, Marck.

-Acétate d'éthyle :  $C_4H_8O_2$ ,  $M=88,11$  g/mole,  $T_{eb}$  : 77.1°C, Merck.

-Solution d'acide chlorhydrique HCl (0.1M),

- Huile de paraffine : Sigma-Aldrich.

#### ➤ **Caractérisation du chitosane (CH)**

- Les résultats de GPC : du poids moléculaire ( $M_w$ ) de Chitosane et la polydispersité (PDI) ont été déterminés par la chromatographie d'exclusion de taille (SEC-HPLC). SEC-HPLC. Elle a été

réalisée dans une pompe de système waters 625-LC avec une colonne d'Ultra hydrogel (I.D : 7,8 mm, L: 300 mm) thermostatée à 35 °C et connectée à un détecteur d'indice de réfraction Waters (Waters Corp, Milford, USA). Les échantillons ont été dissous à 3 mg/ mL dans l'éluant (tampon acide acétique 0,2 M / acétate d'ammonium 0,15 M (pH 4,5). Le kit standard Dextran (WAT054392, Waters Milford, MA, États-Unis) a été utilisé pour produire la courbe standard pour déterminer le poids moléculaire moyen des échantillons de chitosane. Données viscosimétriques : Poids moléculaire moyen de viscosité (Mv) a été déterminé par des mesures de viscosité en utilisant la relation de Mark-Houwink (Kasaai 2007; Wang et al., 1991). La Viscosité intrinsèque est de 2,75 dl /g; et Mv: 54,8 kDa

Le degré de déacétylation (DD) du chitosane a été déterminé par la spectroscopie UV (Specord 205 modèle , Analytkjena, Jena, Allemagne) de première dérivée (Muzzarelli et al., 1997). Les caractéristiques du chitosane utilisé ont été regroupées dans le tableau suivant :

**Tableau II.1.1** : Les différentes caractéristiques du chitosane utilisé

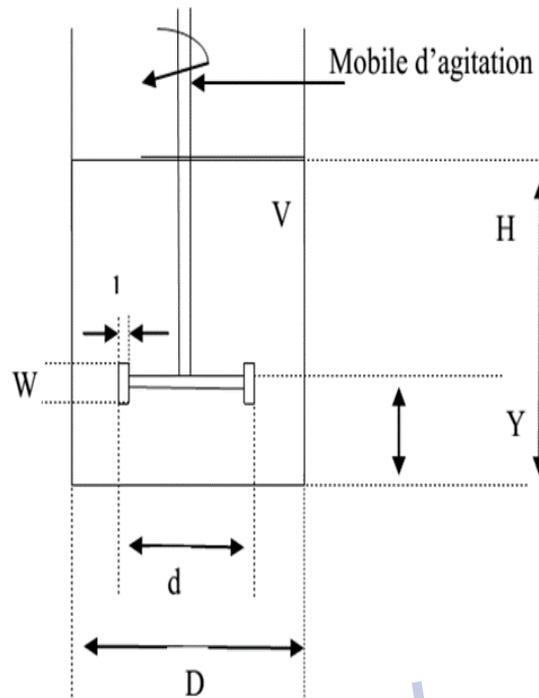
Sample	Mn,(KDa)	Mw,(KDa)	MP, (KDa)	Polydispersité (PDI)	DD	$\eta$ (dl/g)	MV (KDa)
chitosane	35	197	80	5.65	0.92	2.75	54.8

## 1.2 Méthodes

### 1.2.1 Description du dispositif expérimental

La microencapsulation de l'agent actif par émulsion/évaporation de solvant a été réalisée dans un bécher en verre de capacité 1000ml, d'un diamètre de 90 mm et d'une hauteur de 1300 mm sans couvercle. L'agitation est assurée par un agitateur mécanique de type (HeidoLph RZR 2041) muni d'un mobile d'agitation avec un pas à 3 pales. Les pales ont été immergées dans le bécher à une distance de 20 mm entre la pale et le fond du bêche. La figure II.1.1 ci-dessous montre le montage adopté.

- V : Volume du liquide = 500ml ;
- H : Hauteur du liquide=650mm ;
- D : Diamètre externe du réacteur = 90mm ;
- d : Diamètre du mobile d'agitation =50mm,
- W : Hauteur des pales d'agitation =10mm ;
- P : pas du mobile (nombre de pales=3) ;
- Y : Hauteur du mobile par rapport au fond= 20mm ;
- l : largeur des pales=1mm.



**Figure II.1.1:** Schéma du dispositif expérimental utilisé dans l'encapsulation

### 1.2.2 Préparation des microsphères à base d'éthylcellulose par émulsion/évaporation de solvant

Des microsphères d'éthylcellulose ont été préparées par évaporation de solvant en émulsion simple (Donnell et McGinity 1997; Li et al. 2008) à la température ambiante (Guo et al. 2015). Différentes concentrations d'alcool polyvinylique PVA (0.1 %, 0.25%, et 0.5%) ont été préparées par la dissolution d'une masse de l'agent émulsifiant dans 500g d'eau distillée sous forte agitation et chauffage à 90°C(phase aqueuse). Dans un erlenmeyer, la phase organique a été préparée par la dissolution du polymère (EC) et du principe actif (AN) dans 20 ml de dichlorométhane (DCM) sous léger chauffage et agitation pendant 30min, l'erlenmeyer a été couvert de parafilm pour éviter l'évaporation de solvant. Après, le refroidissement des deux phases à température ambiante, la phase aqueuse est placée dans un bécher long (capacité plus de 1L), sous agitation mécanique fixée à N (rpm). Ensuite, la phase organique est émulsionnée dans la phase aqueuse contenant le tensioactif (l'alcool polyvinylique) afin d'obtenir une émulsion de type huile-dans-eau (Oil /Water : O/W). L'évaporation du solvant se fait sous agitation lente pendant 3heures (Venkatesan et al. 2011; Sudhamani et al. 2010) après diffusion progressive dans la phase continue jusqu'au

durcissement des gouttelettes sous forme de microsphères. Ces dernières ont été récupérées par filtration de la solution sur papier wattman puis lavées 2 à 3 fois à l'eau distillée pour éliminer le solvant résiduel et finalement séchées à l'air libre jusqu'à constance du poids. Les paramètres qu'on a fait varier sont représentés dans le tableau II.1.2 ci-dessous

**Tableau II.1.2** : Différents paramètres et formulations préparées (EC /AN)

EC :AN (m/m)	N° formulation	% PVA (dans l'eau)	Vitesse (Nrpm)
<b>2 : 1</b>	F1	0.1% (0.5g dans 500 ml)	800
	F2	0.25% (1.25g dans 500 ml)	800
	F3	0.5 % (2.5g dans 500 ml)	800
	F4	0.1% (0.5g dans 500 ml)	1300
	F5	0.25% (1.25g dans 500 ml)	1300
	F6	0.5% (2.5g dans 500 ml)	1300
	F7	0.1% (0.5g dans 500 ml)	1700
	F8	0.25% (1.25g dans 500 ml)	1700
	F9	0.5% (2.5g dans 500 ml)	1700
<b>1 : 1</b>	F10	0.25% (1.25g dans 500 ml)	800
	F11	0.25% (1.25g dans 500 ml)	1300
	F12	0.25% (1.25g dans 500 ml)	1700

### 1.2.3 Préparation des microsphères d'acide niflumique à base EC/HPMC et EC/ $\beta$ -CD par émulsion/évaporation de solvant

La microencapsulation de l'acide niflumique a été procédée avec la même méthode et le même dispositif décrit précédemment. La phase organique contenant 5% ou 30% d' HPMC ou de  $\beta$ -CD respectivement a été préparée par la dissolution de la matrice polymérique d'éthylcellulose (EC) et le principe actif (AN) sous agitation magnétique dans 20mL de dichlorométhane (DCM), sous léger chauffage, le bécher a été bien fermé pour éviter l'évaporation de solvant. Une quantité

## Description des protocoles expérimentaux

de 2.5% de PVA est dissoute dans 500g d'eau distillée sous forte agitation et chauffage jusqu'à 90°C, puis la phase organique a été ajoutée dans la phase aqueuse à l'aide d'une seringue. L'agitation mécanique est fixée à N (rpm) pendant 3 heures jusqu'à évaporation complète du solvant et la solidification des microparticules.

Les microparticules sont récupérées par filtration puis lavées 3 fois à l'eau distillée ensuite séchées à l'air libre jusqu'à constance du poids. Les paramètres qu'on a fait varier sont représentés dans le tableau II.I.3 ci-dessous :

**Tableau II.1.3** : Différents paramètres et formulations préparées (EC/HPMC/AN, EC/ $\beta$ -CD/AN)

Polymère : AN (m/m:m)	N° lot	% HPMC ou % $\beta$ CD dans EC	Vitesse (rpm)	% AN
<b>EC/HPMC:AN</b> <b>2:0.2</b>	Lot 01	5% (0.1g HPMC+1.9g EC)	300	10% (0.2g AN)
	Lot 02	5% (0.1g HPMC +1.9g EC)	800	
	Lot 03	30% (0.6gHPMC+1.4g EC)	300	
	Lot 04	30% (0.6g HPMC+1.4g EC)	800	
<b>EC/HPMC:AN</b> <b>2:0.5</b>	Lot 05	5% (0.1g HPMC + 1.9g EC)	300	25% (0.5g AN)
	Lot 06	5% (0.1g HPMC + 1.9g EC)	800	
	Lot 07	30% (0.6g HPMC+1.4g EC)	300	
	Lot 08	30% (0.6g HPMC +1.4g EC)	800	
<b>EC/HPMC:AN</b> <b>2:1</b>	Lot 09	5% (0.1g HPMC+1.9g EC)	300	50% (1g AN)
	Lot 10	5% (0.1g HPMC+ 1.9g EC)	800	
	Lot 11	30% (0.6g HPMC+1.4g EC)	300	
	Lot 12	30% (0.6g HPMC+1.4g EC)	800	
<b>EC/<math>\beta</math>-CD:AN</b> <b>2 :0.5</b>	Lot 13	5% (0.1g $\beta$ -CD+1.9g EC)	300	25% (0.5g AN)
	Lot 14	5% (0.1g $\beta$ -CD+1.9g EC)	800	
	Lot 15	30% (0.6g $\beta$ -CD+1.4g EC)	300	
	Lot 16	30% (0.6g $\beta$ -CD+1.4g EC)	800	

## 1.2.4 Préparation des microsphères de l'AN à base de chitosane

### Méthode 1: Préparation des microparticules de Chitosane avec l'huile de paraffine

La solution de chitosane (CH) à 2.5% (m/m) a été dissoute dans l'acide acétique à 2% (v/v), ensuite l'AN a été dispersé dans la solution de polymère avec un rapport de CH/AN 2 :1. La phase dispersée a été ajoutée goutte à goutte à l'aide d'une seringue dans une phase huileuse (huile de paraffine), qui contient 0.5% (m/v) de Span 80 pour former une émulsion W /O sous agitation mécanique de 2000 rpm par un agitateur mécanique de type (HeidoLph RZR 2041) pendant 30min. Ensuite un volume de 2.5ml de solution de glutaraldéhyde à 25%(v/v) a été ajouté comme agent réticulant goutte à goutte dans des intervalles de temps différents : 15, 30,45 et 60min sous agitation mécanique pendant 2.5h. Les microsphères ont été récupérées par filtration de la solution sur papier wattman puis lavées 2 à 3 fois à l'éther de pétrole et après à l'eau distillée pour éliminer l'huile de paraffine et le glutaraldéhyde résiduel et finalement séchées à l'air libre jusqu'à constance du poids.

### Méthode 2 : Préparation des microparticules de chitosane réticulé avec le glutaraldéhyde

Les microparticules de l'acide niflumique ont été préparées avec le même dispositif décrit précédemment . Une solution de chitosane à 4 % (m/v) a été préparée par l'utilisation d'une solution de l'acide acétique à 2% (v/v) comme solvant. Les microparticules de Chitosane ont été préparées par la méthode de diffusion de solvant dans l'émulsion simple. 1ml de la solution de chitosane à 0.5% m/v a été versé goutte-à-goutte à l'aide d'une seringue dans un bûcher de 500ml contenant 200 ml d'acétate d'éthyle (phase externe) sous agitation mécanique fixée à 900 rpm pendant 2h. Le bûcher a été couvert du papier parafilm pendant le processus d'émulsion-diffusion pour empêcher l'évaporation d'acétate d'éthyle. Après la diffusion complète de l'eau des gouttelettes d'émulsion de solution chitosane à la phase externe, les microparticules de chitosane ont été solidifiées, formées et suspendues dans l'acétate d'éthyle et ont été rassemblées après filtration puis séchées à la température ambiante pendant 6h. Les microparticules de chitosane réticulées avec le glutaraldéhyde (G.A) chargées par l'AN ont été produites par la même méthode. Une masse de l'acide niflumique (AN) a été ajoutée à 1ml de solution de chitosane sous agitation constante à la température ambiante (phase organique). Ensuite, 1ml de solution de l'agent réticulant (G.A) a été ajouté à l'acétate d'éthyle sous agitation mécanique jusqu'à l'homogénéisation. La phase organique dispersée a été ajoutée à l'aide d'une seringue dans la phase externe (acétate d'éthyle)

sous agitation mécanique de 900rpm. Les différentes concentrations de glutaraldéhyde (1%, 3% et 5% v/v) et le rapport CH/AN (1:1, 1:2) ainsi que les différentes formulations préparées et les paramètres variés sont représentées dans le tableau II.1.4

**Tableau II.1.4** : Les différents paramètres et formulations préparées (CH/AN, CH-G.A/AN)

<b>CH:AN (m/m)</b>	<b>N° lot</b>	<b>AN (g)</b>	<b>CH (g)</b>	<b>G.A %</b>
<b>CH/AN 1:1</b>	Lot 01'	0.1	0.1	/
	Lot 02'	0.1	0.1	1%
	Lot 03'	0.1	0.1	3%
	Lot 04'	0.1	0.1	5%
<b>CH/AN 1:2</b>	Lot 05'	0.2	0.1	1%
	Lot 06'	0.2	0.1	3%
	Lot 07'	0.2	0.1	5%

### **Méthode 3 : Préparation des microsphères de chitosane par le procédé de séchage par atomisation**

Des microsphères de chitosane ont été produites par le procédé de séchage par atomisation. Une solution de chitosane (4 % m/v) a été préparée par la dissolution de chitosane dans l'acide acétique à (5 % v/v). Une masse d'acide niflumique a été ajoutée dans la solution de chitosane sous agitation pendant 30min. Une solution de l'agent réticulant STPP (0.1%, 0.5% dans l'eau) a été préparée à différentes pH (Tab. II.1.5) et ajoutée à la solution de chitosane-AN sous agitation continue. Pendant l'addition du STPP, aucun agrégat n'a été observé. La suspension de CH-TPP-AN est ensuite soumise au séchage par pulvérisation pour obtenir des microsphères de chitosane réticulées par le STPP chargées de l'acide niflumique.

Le séchage par atomisation a été accompli dans l'atomiseur mini BUCHI (modèle B-290 Flawil, Switzerland) avec un bec standard de 0.5 mm. Les conditions de séchage par pulvérisation ont été maintenues comme suit : la température d'admission était à 160°C et la température de sortie était 60°C, le taux d'aspiration était commandé à 80% avec un débit de 32m<sup>3</sup>/h et le débit d'air comprimé 473 NL / h. Quand le liquide a été alimenté au bec avec la pompe péristaltique,

l'atomisation s'est produite par la force d'air comprimé, transformant le liquide en des petites gouttelettes. Celles-ci en présence d'air chaud, ont été soufflées dans une chambre où le solvant éliminé dans les gouttelettes par évaporation et déchargé dehors par un tube d'échappement. Le processus de séchage par atomisation a été complété en 20-30 min. Enfin, le produit sec a été alors rassemblé dans une bouteille de collection (cyclone). Pour toutes les expériences, le rapport de CH/AN a été maintenu (1:1 m/m) et CH/STPP était (30:30 m/m).

**Tableau II.1.5** : Différents paramètres et formulations préparées (CH/AN, CH-TPP/AN)

CH : AN (m/m)	formulation	AN (mg)	CH (mg)	STPP PH	STPP (mg)	CH:Stpp (m/m)
<b>1:1</b>	S01	41.5	41.5	/	/	/
	S02	41.5	41.5	9	15	30:30
	S03	41.5	41.5	9	75	30:30
	S04	41.5	41.5	6	15	30:30
	S05	41.5	41.5	6	75	30:30
	S06	41.5	41.5	4	15	30:30
	S07	41.5	41.5	4	75	30:30

## 2. Caractérisation des microsphères

### 2.1 Analyse par spectroscopie UV de l'acide niflumique

Le spectrophotomètre UV-Vis du type Shimadzu UV-1800 PC (Shimadzu, Japon) a été utilisé pour analyser quantitativement le principe actif libéré ou extrait, en se basant sur la loi de Beer-Lambert. Les spectres d'absorption du principe actif sont étudiés ainsi que les droites d'étalonnages dans le milieu considéré à la longueur d'onde du maximum d'absorption de principe actif. L'analyse d'acide niflumique (AN) a été effectuée dans trois milieux différents : milieu acide (HCl 0.1N, pH=1,2) et basique (pH= 6,8, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1M, NaOH 0.1M) pour l'étude de cinétique de libération et dans l'éthanol absolu pour quantifier l'agent actif contenu dans les microsphères préparées.

Les spectres d'absorption en UV de l'AN obtenus dans les trois milieux sont donnés dans les Fig. II.1.2, II.1.3 et II.1.4. Le spectre d'absorption de l'AN en milieu acide (pH=1,2) présente

deux maximums (254 et 328 nm). On note un seul maximum ( $\lambda = 286\text{nm}$ ) avec un épaulement (vers 340 nm) dans des conditions basiques (pH=6,8). Dans l'éthanol on observe un maximum d'absorption à 288nm et une bande à 330nm de faible absorption.

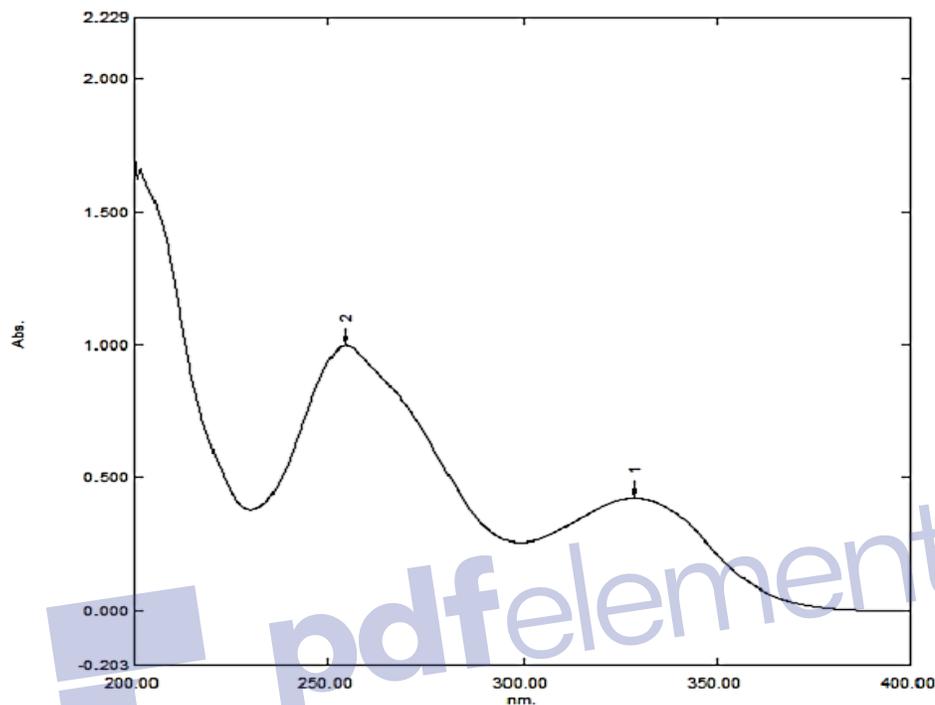


Figure II.1.2 : Spectre UV-Vis de l'acide niflumique dans une solution HCl (0.1N), pH=1,2

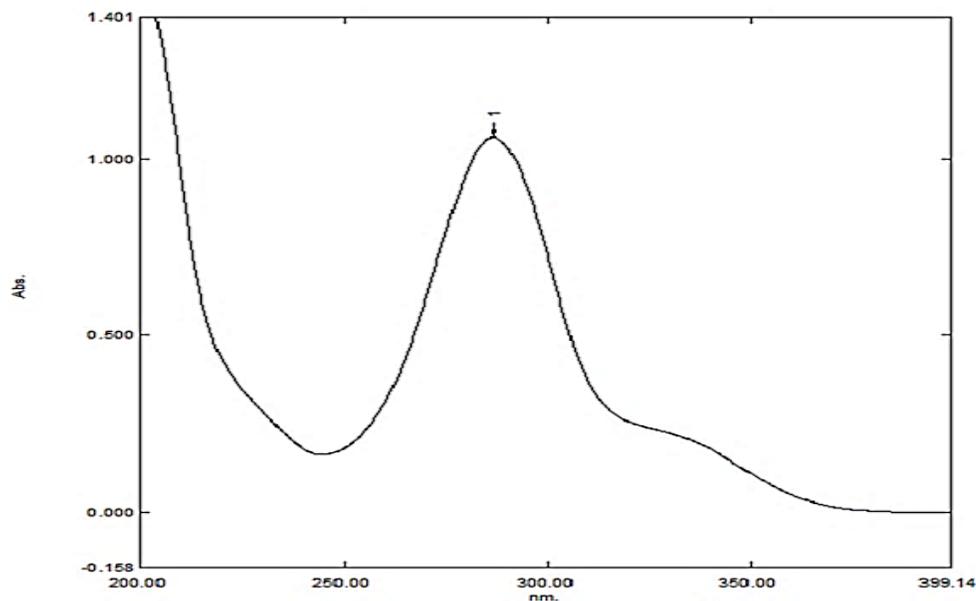
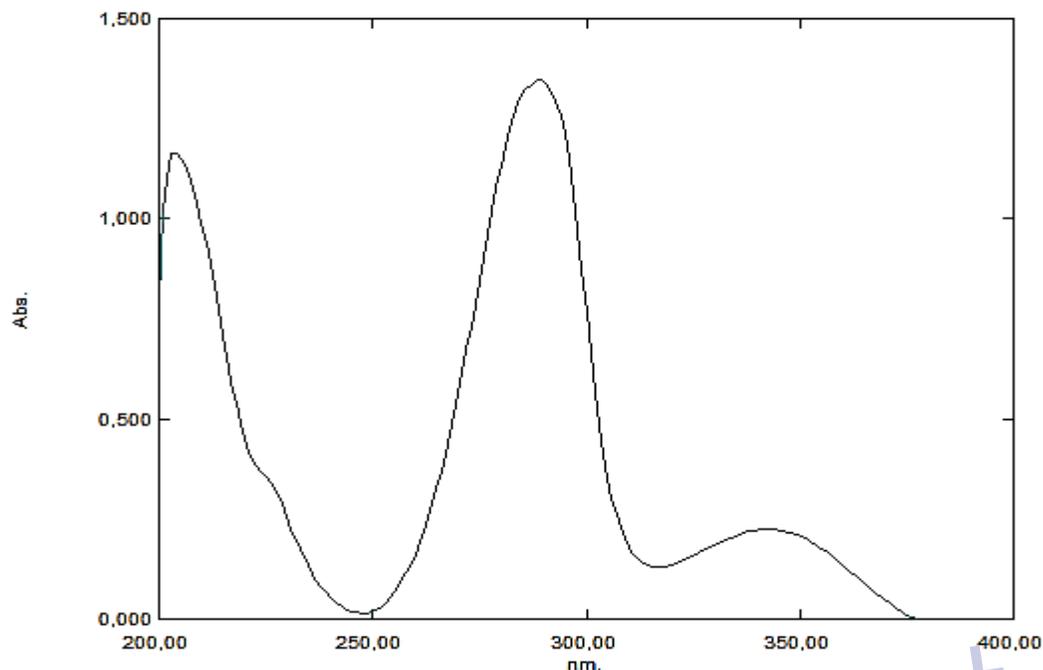
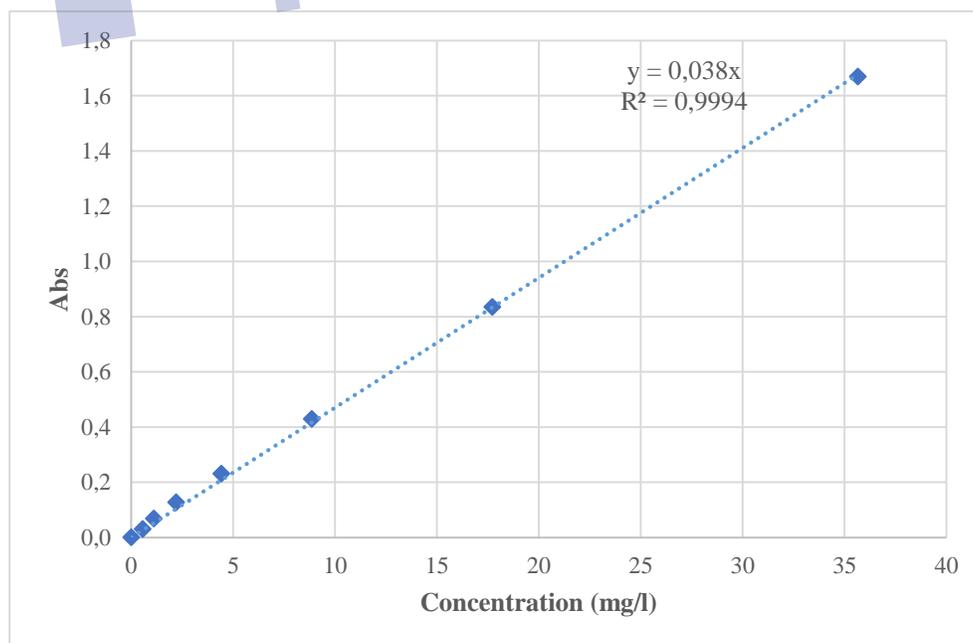


Figure II.1.3 : Spectre UV-Vis de l'acide niflumique dans une solution tampon de pH=6,8

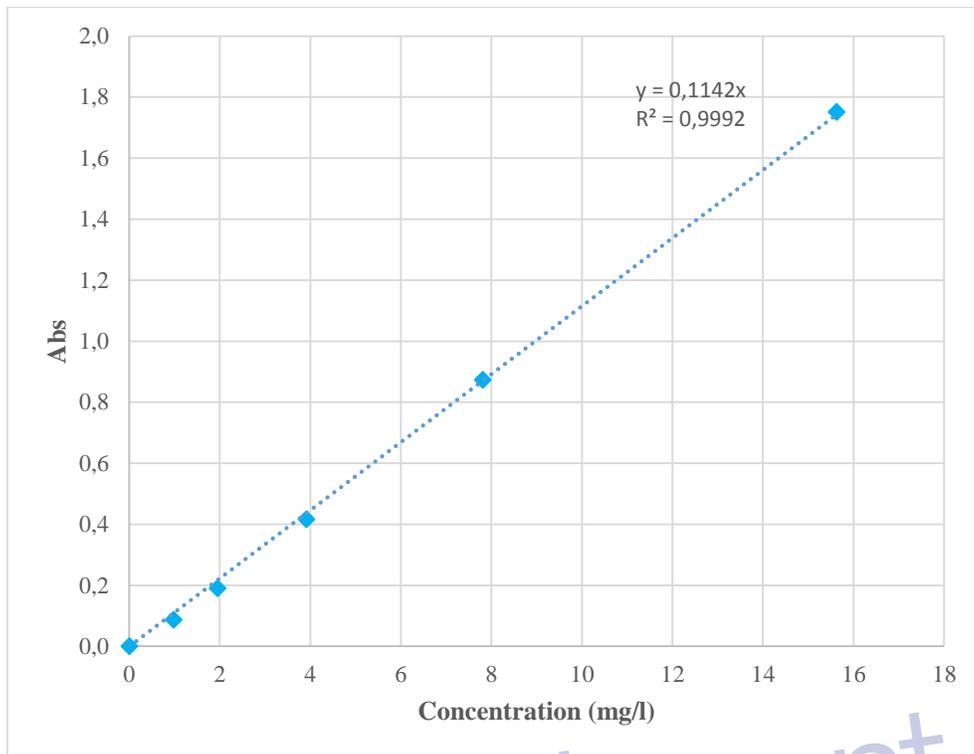


**Figure II.1.4:** Spectre UV-Vis de l'acide niflumique dans l'éthanol absolu

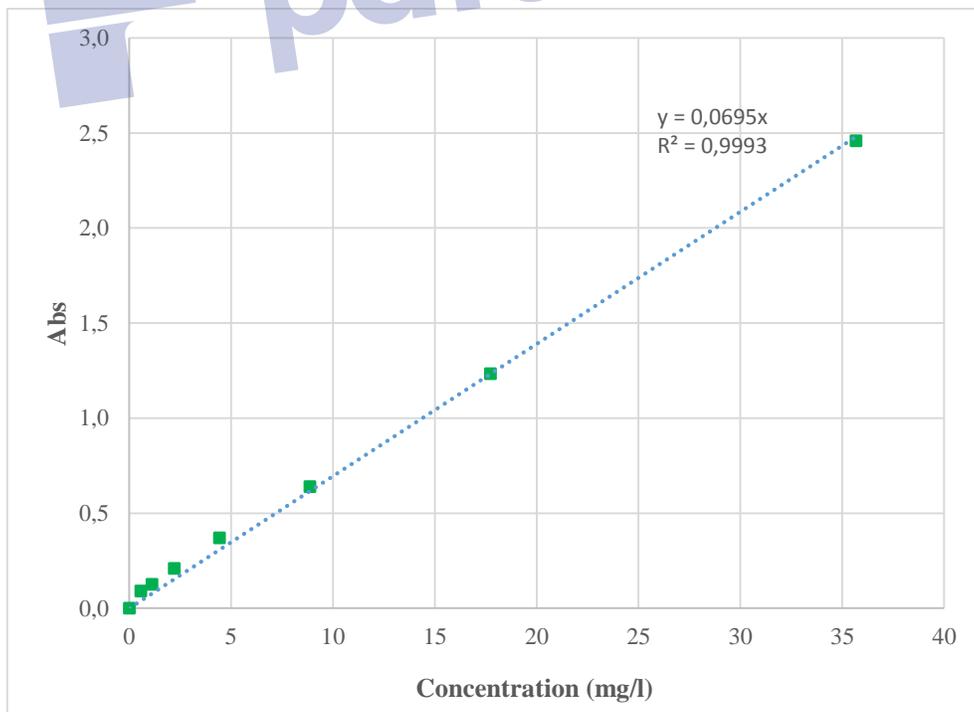
Les droites d'étalonnage de l'AN dans les trois milieux cités sont représentées dans les figures II.1.5, II.1.6 et II.1.7.



**Figure II.1.5 :** Courbe d'étalonnage de l'AN dans l'HCl, pH=1,2 à  $\lambda=254\text{nm}$



**Figure II.1.6** : Courbe d'étalonnage de l'AN dans l'éthanol absolu à  $\lambda=288\text{nm}$



**Figure II.1.7** : Courbe d'étalonnage de l'AN dans la solution tampon, pH=6,8 à  $\lambda=286\text{nm}$

**Tableau II.1.6** : Valeurs expérimentales des maximums d'absorption et des coefficients d'extinction de l'acide niflumique

Milieu	$\lambda$ max (nm)	$\epsilon$ (L.mg <sup>-1</sup> .cm <sup>-1</sup> )
pH= 1,2	254	0.038
pH= 6,8	286	0.069
Ethanol	288	0.114

## 2.2 Quantification de l'actif encapsulé

### 2.2.1 Dans la matrice d'éthylcellulose

La quantité d'agent actif contenu dans les microsphères de l'éthylcellulose a été déterminée par la technique d'extraction dans un solvant adéquat. Compte tenu de la polydispersité de ces microparticules, on a effectué les extractions en plusieurs fois (3 fois). 20mg des microsphères sont introduits dans 30mL d'éthanol absolu dans un erlen bouché hermétiquement et sous agitation magnétique pendant 4 à 5 heures pour la solubilisation et le transfert du principe actif vers le solvant, la solution obtenue est filtrée à travers un filtre de 0.45 $\mu$ m et analysée par spectrophotométrie UV-VIS après une dilution appropriée avec l'éthanol absolu à 288 nm où  $\epsilon = 0.114 \text{ L.mg}^{-1}.\text{cm}^{-1}$  (droite d'étalonnage dans l'éthanol) afin de déterminer la masse d'agent actif extrait des microparticules.

### 2.2.2 Dans la matrice de chitosane

5 mg des microsphères de chitosane ont été dissous dans 10 ml de HCl 0.1N sous agitation magnétique pendant 24h. La solution obtenue a été filtrée et diluée convenablement et analysée par la spectroscopie UV-VIS (spectro modèle ANALYTIQUE 205, Allemagne d'IEANA AG) à 254 nm où  $\epsilon = 0.038 \text{ l.mg}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ .

Le principe actif inclus dans des microparticules est caractérisé par plusieurs grandeurs (Gupta et Kumar 2001; Shu et al. 2006). La plus commune est le rendement d'encapsulation qui a pour formule :

$$\text{Rendement d'encapsulation (\%)} = \frac{\text{masse des microparticules obtenues}}{m(\text{polymères} + \text{principe actif introduit})} * 100 \quad (1)$$

La teneur en principe actif ou taux d'encapsulation, est définie comme suit :

$$\text{Teneur en principe actif (\%)} = \frac{m(\text{PA extrait})}{m(\text{microparticules introduit})} * 100 \quad (2)$$

### 2.3 Identification de l'agent encapsulé par spectroscopie Infrarouge

L'étude comparative des spectres IR des produits de départ et des microparticules, nous a permis de s'assurer de la présence effective de l'agent actif dans les microparticules. Les spectres ont été enregistrés avec un spectromètre de type *FT/IR-4200* qui est en mode de réflexion à l'aide d'un accessoire ATR (Attenuated Total Reflection). Les échantillons en poudre, ont été balayés par des rayons de longueur d'onde appartenant à la région 4000-500  $\text{cm}^{-1}$ .

### 2.4 Caractérisation par Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

La caractérisation de la surface et de la morphologie des microparticules à base d'EC a été effectuée par microscopie électronique à balayage à pression variable de type *GEM-INI (FESEM) CARL ZEISS* avec une source d'électron par l'émission de champ de Schottky (cathode chaude). Les microparticules ont été déposées sur un film de carbone et examinées avec métallisation à différents grossissements sous vide et avec une tension d'accélération de 10 kV-12kV.

## 2.5. Détermination de la taille des microsphères de l'EC

### 2.5.1 Introduction

La taille des particules de forme sphérique est représentée par un diamètre moyen. La littérature fait apparaître plusieurs types de diamètres calculés de différentes manières selon les techniques utilisées. Elle peut être faite par microscopie, analyse par tamisage, par la diffusion dynamique de la lumière (dynamic light scattering ou DLS) (Sameni et al. 2015), méthode de compteur Coulter, spectroscopie de corrélation de photon, etc .... Pour estimer la taille des microparticules élaborées dans notre travail, on a adopté la microscopie optique (*MOTIC, Germany*) afin d'éviter le comptage des agrégats et qui peut altérer la taille moyenne des microparticules. Plusieurs formules mathématiques (Chirani et al. 2017; Elbahri et Taverdet 2005; Kaczmarek et Bellot 2003) ont été employées pour calculer les différents paramètres caractéristiques comme : le diamètre moyen en nombre  $d_{10}$ , le diamètre moyen du sauter  $d_{32}$ , (le moyen de volume surface) et  $d_{43}$  le diamètre moyen de poids. Dans ce travail, on a utilisé les trois diamètres (Tab. II.1.7) pour caractériser la taille des microparticules.

**Tableau II.1.7** : Description des diamètres caractérisant la taille des microparticules

Diamètre	Equation mathématique
Moyen en nombre	$d_n = d_{10} = \sum ni di / \sum ni$ (3)
Moyen en surface ou 'diamètre de Sauter'	$d_s = d_{32} = \sum ni d_i^3 / \sum ni d_i^2$ (4)
Moyen en poids (en masse)	$d_w = d_{43} = \sum nid_i^4 / \sum nid_i^3$ (5)
Dispersion	$\delta = d_{43}/d_{10}$ (6)

\*« **i** » est la classe des particules.

\*« **ni** » nombre de particules de la classe **i**.

Le diamètre moyen en surface (diamètre de Sauter) est souvent utilisé pour caractériser la taille des particules car il se situe toujours entre le diamètre moyen en nombre et en masse.

La polydispersité « **d** » (ou Dispersion) d'un système de microparticules peut être calculée. Elle est définie par le rapport du diamètre moyen en masse sur le diamètre moyen en nombre : Dispersion =  $d_{43}/d_{10}$

Un système monodispersé correspond à une dispersion égale à 1, plus cette valeur s'éloigne de l'unité, plus le système devient polydispersé. La distribution en taille des particules est représentée par la fréquence (en nombre, en surface ou en masse) en fonction de la taille des particules. Elle peut être normale, étroite, large, oblique, bimodale, multimodale ou entre ces descriptions représentant graphiquement la polydispersité du système étudié.

### 2.5.2 Méthode

Pour établir une distribution en taille d'un lot de microparticules, l'observation et la mesure se font sur une population de 700 microparticules. Cette population est divisée en classes de microparticules de diamètres **di** qui correspond au centre de la classe.

On dénombre alors l'effectif dans chaque classe puis on réalise le calcul statistique à l'aide d'un Excel ; on calcule les fréquences pour chaque classe ce qui nous permet de tirer les diamètres moyens : en nombre **d<sub>10</sub>**, en surface **d<sub>32</sub>** et en masse **d<sub>43</sub>**, ainsi que de calculer la polydispersité du lot de microparticules exprimée par **d<sub>43</sub>/d<sub>10</sub>**. Puis les résultats sont tracés sous forme d'organigramme plus représentatif de la courbe de distribution en taille des microsphères.

## **2.6 Détermination de la taille des microsphères de chitosane : Distribution particulaire et potentiel Zeta (DLS)**

La distribution particulaire et la charge extérieure des microcapsules (potentiel zéta,  $\zeta$ ) ont été déterminés par la diffusion dynamique de la lumière (en anglais, dynamic light scattering ou DLS) et l'électrophorèse de laser Doppler, respectivement. Les déterminations ont été effectuées 03fois dans un système de Malvern Zetasizer Nano ZS (instruments Malvern, Herrenberg, Allemagne) à  $25.0 \pm 0.1$  °C. La dispersion colloïdale des microsphères de chitosane a été préparée dans une solution de NaCl (0.1N) et les mesures étaient effectuées à un voltage de 150 V à 25°C. Les données électrophorétiques de mobilité ont été automatiquement converties avec l'équation de Henry et l'approximation de Helmholtz-Smoluchowski (Müller, R.H.; 1996). Les mesures ont été effectuées 3 fois pour chaque essai.

## **2.7 Caractérisation par diffraction des rayons X (DRX)**

La diffraction des rayons X est effectuée pour déterminer une éventuelle variation de cristallinité du principe actif dans les formulations préparées. L'analyse par diffraction des rayons X a été réalisée avec un diffractomètre de type *BRUKER ADVANCED X-RAY SOLUTION* fonctionnant à 30 kV et 40 mA avec Cu à rayonnement de 0,154 nm (filtre nickel) à température ambiante (25°C). Les échantillons ont été numérisés dans la plage de 0° à 60° de  $2\theta$ .

## **2.8 Caractérisation par Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)**

La calorimétrie différentielle à balayage (DSC) est une méthode d'analyse thermique dans laquelle la différence de quantité de chaleur nécessaire pour augmenter la température d'un échantillon par rapport à celle d'une référence est mesurée en fonction de la température. L'étude du comportement thermique a été réalisée sur un calorimètre différentiel de type *SETARAM* (technologies d'instrumentation KEP, ITEM 560/58457 PROD DATE 2010). L'acide niflumique pur, la matrice (EC) et les microsphères élaborées ont été pesés et placés dans un récipient en aluminium et chauffés graduellement. Des thermogrammes ont été enregistrés sous atmosphère inerte (azote) de la température ambiante à 350°C et à une vitesse de chauffage de 10°C/min.

## 2.9 Test de dissolution

### 2.9.1 Protocole de libération de l'AN à partir des microsphères de l'EC

Le test de dissolution réalisé pour les microsphères préparées permet de fournir des informations essentielles sur la libération du médicament in vitro. Plusieurs facteurs influencent les résultats de test de dissolution, à savoir celles relatives aux caractéristiques physiques et chimiques du principe actif, type de polymère utilisé, le rapport polymère /PA ou bien les paramètres du test de dissolution lui-même tels que : le pH, la vitesse d'agitation et même la composition du milieu.

La libération de l'AN à partir des différentes formulations a été réalisée dans le même dispositif utilisé dans la microencapsulation. 200 mg de microsphères ont été introduits dans 900ml de solution contenant HCl 0.1N (pH= 1,2) ou bien dans une solution tampon (pH=6,8, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.1M, NaOH 0.1M). Le milieu de dissolution a été maintenu à  $37 \pm 0,5$  ° C et à une vitesse d'agitation de 400 rpm à l'aide d'un agitateur à pales tournante (HeidoLph RZR 2041). En utilisant une seringue munie d'un filtre de 0.45 µm pour faire des prélèvements de 3ml de la solution et ensuite dosés par UV à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis sans dilution à la longueur d'onde maximal d'absorption de l'acide niflumique. Le volume prélevé a été réintroduit dans le milieu de dissolution. Les cinétiques de libération de l'acide niflumique ont été faites pendant 2h dans le milieu acide (pH=1,2) et pendant 6h pour le milieu basique (pH=6,8) en tenant compte des droites d'étalonnage dans le milieu acide ( $\lambda=254\text{nm}$ ,  $\epsilon= 0.038 \text{ L.mg}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) et basique ( $\lambda= 286 \text{ nm}$ ,  $\epsilon=0.0695 \text{ L.mg}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ).

### 2.9.2 Protocole de libération de l'AN à partir des microsphères de Chitosane

Les essais de dissolution ont été réalisés dans un dissolutest de type Labnet-211DS (International, IncKorea). Le milieu de simulation gastrique pour le test de libération des microsphères de chitosane a été préparé d'une solution de HCl (0.1N) et pour une durée de 2h avec et sans pepsine. Le pH a été fixé à une valeur de 1.2. Le milieu de simulation intestinal a été fait par ajout d'une solution de BPS 0.01M. Le pH a été maintenu à 7,4 pour une durée de 6h sans l'enzyme de pancréatine. Une masse de microsphères a été introduite dans un sac de dialyse de cellulose (MW cut-off 14 kDa, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) qui contient 5ml de milieu de dissolution pour éviter la perte de microcapsules pendant l'essai de libération. Ensuite, le sac de

Description des protocoles expérimentaux

---

dialyse a été placé dans 500 ml de milieu de dissolution  $37\pm 0.5$  °C avec une vitesse de rotation de 100 rpm. Au temps désiré, des prélèvements de 2 ml de la solution ont été retirés et analysés par la spectroscopie UV (spectro modèle ANALYTIQUE 205, Allemagne d'IÉNA AG) sans dilution à  $\lambda=254\text{nm}$  dans le milieu acide et à  $\lambda=288\text{nm}$  dans le PBS, le volume prélevé a été réintroduit dans le milieu de dissolution. Afin de savoir l'effet de l'enzyme sur les microsphères de chitosane réticulé, Les résultats ont été comparés en milieux acide et basique en présence d'enzyme.



## Références

Chirani, S., Lebig, M. O., Bouameur, S., Mouffok, M., Chirani, N., Chafi, N., & Guemra, K. (2017). Elaboration of Microspheres' Capsules Based on Ethylcellulose and Synthesized Poly (Butylsuccinate) as Biodegradable Matrices for Drug Delivery of an Antithyroidian Agent. *Indian journal of pharmaceutical education and research* , 51(2), S79-S90.

Elbahri, Z., & Taverdet, J. L. (2005). Optimization of an herbicide release from ethylcellulose microspheres. *Polymer Bulletin*, 54(4-5), 353-363.

Guo, W., Quan, P., Fang, L., Cun, D., & Yang, M. (2015). Sustained release donepezil loaded PLGA microspheres for injection: Preparation, in vitro and in vivo study. *Asian journal of pharmaceutical sciences*, 10(5), 405-414.

Gupta, K. C., & Kumar, M. N. R. (2001). pH dependent hydrolysis and drug release behavior of chitosan/poly (ethylene glycol) polymer network microspheres. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 12(9), 753-759.

Kaczmarek, K., & Bellot, J. C. (2003). Effect of particule-size distribution and particle porosity changes on mass-transfer kinetics. (13), 22-37.

Kasaai, M. R. (2007). Calculation of Mark-Houwink-Sakurada (MHS) equation viscometric constants for chitosan in any solvent-temperature system using experimental reported viscometric constants data. *Carbohydrate polymers*, 68(3), 477-488.

Li, M., Rouaud, O., & Poncelet, D. (2008). Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches. *International Journal of pharmaceutics*, 363(1-2), 26-39.

Müller, R. H., & Hildebrand, G. E. (1996). *Zetapotential und Partikelladung in der Laborpraxis (Einführung in die Theorie praktische Messdurchführung Dateninterpretation)*. Paperback APV.

Muzzarelli, R.A.A. Rocchetti, R., Stanic, V., & Weckx, M. (1997). Methods for the determination of the degree of acetylation of chitin and chitosan, in *Chitin Handbook: R.A.A. Muzzarelli and M.G. Peter (Eds.)*, E. C. Society, Italy, pp. 109-115.

O'Donnell, P. B., & McGinity, J. W. (1997). Preparation of microspheres by the solvent evaporation technique. *Advanced drug delivery reviews*, 28(1), 25-42.

Sameni, J., Krigstin, S., & Sain, M. (2015). Effect of preparation parameters on the formation of lignin acetate microspheres. *Int. J. Eng. Innov. Technol*, 4, 102-113.

Shu, B., Yu, W., Zhao, Y., & Liu, X. (2006). Study on microencapsulation of lycopene by spray-drying. *Journal of Food Engineering*, 76(4), 664-669.

Sudhamani, T., Reddy, K. N., Kumar, V. R. R., Revathi, R., & Ganesan, V. (2010). Preparation and Evaluation of Ethyl Cellulose Microspheres of Ibuprofen. *International Journal of Pharma Researches Developments*, 4(8), 119–125.

Venkatesan, P., Manavalan, R., & Valliappan, K. (2011). Preparation and evaluation of sustained release loxoprofen loaded microspheres. *Journal of basic and clinical pharmacy*, 2(3), 159.

Wang, W., Bo, S., Li, S., & Qin, W. (1991). Determination of the Mark-Houwink equation for chitosans with different degrees of deacetylation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 13(5), 281-285.

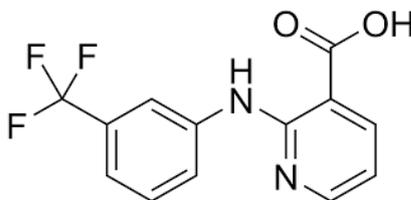


## Chapitre 2

# Caractérisation des microsphères à base d'éthylcellulose/acide niflumique (EC/AN)

## 1. Introduction

L'acide niflumique (AN) est un dérivé de l'acide anthranilique (voir structure au-dessous), pratiquement insoluble dans l'eau, et fortement perméable dans l'appareil gastro intestinal (Vane 2000).



Cependant, sa solubilité et sa dissolution aqueuse faibles sont des inconvénients qui limitent son application. Il est important pour ce type de médicament de réaliser les propriétés pharmacodynamiques optimales telles que la dissolution. Pour les formes galéniques tels que les comprimés et les capsules, la diminution des dimensions particulières avec une augmentation de la surface de contact spécifique améliore et facilite la dissolution et ainsi augmente le taux d'absorption. Le but de cette étude est d'améliorer la solubilité et la dissolution de l'AN par le développement des nouveaux systèmes à base d'un dérivé cellulosique par le procédé de la microencapsulation en utilisant la technique de l'évaporation de solvant dans l'émulsion simple.

Par ailleurs l'éthylcellulose (EC) a été fréquemment utilisé dans la technique de microencapsulation et particulièrement dans le procédé de l'évaporation de solvant. C'est un composé insoluble dans l'eau mais perméable à l'eau, ce qui lui confère de bonnes propriétés de libération prolongée de principe actif en fonction de son poids moléculaire et du contenu en éthoxy (Murtaza G. 2012). Il a été fortement utilisé dans la microencapsulation des principes actifs hydrophobes tels que acyclovir (Bhattacharyya et al. 2007), l'acéclofénac (Yadav et al. 2009), l'acide méfenamique (Jelvehgari et al. 2011), théophylline (Thakare et al. 2017), et piroxicam (Khoukhi et al. 2016). Il a été également combiné avec d'autres polymères pour augmenter la solubilité et la libération de la substance active tel que l'acétate phtalate de cellulose (CAP), les eudragits, et l'hydroxypropylméthyle cellulose (HPMC) (Huang et al. 2008; Khoukhi et al. 2016). L'EC a été également employé comme excipient en mélangeant physiquement l'EC et l'AN à différents rapports pour la préparation des comprimés (Barra et al. 2000).

Ce chapitre comporte les résultats de la microencapsulation de l'AN dans l'EC par la technique d'émulsion/évaporation de solvant, la caractérisation des microsphères et les résultats de cinétique de libération des formulations élaborées. Le travail est basé sur l'objectif suivant: Etude et évaluation des paramètres influençant la morphologie des microsphères obtenues et cinétiques des libérations résultantes.

## 2. Résultats de quantification des microsphères à base d'EC

Les résultats en pourcentage des rendements et de la teneur en substance active des différentes formulations préparées avec la méthode d'émulsion évaporation de solvant sont regroupés dans le tableau II.2.1

**Tableau II.2.1** : Rendement (%) et teneur en substance active (%) des formulations F1-F12

rapport EC:AN	N° Formulation	PVA (%)	Vitesse (rpm)	Rendement (%)	Teneur en PA (%)
2 :1	F1	0.1	800	80.66	27.88
	F2	0.25	800	85.33	32.85
	F3	0.5	800	84.00	26.08
	F4	0.1	1300	85.33	27.53
	F5	0.25	1300	91.33	35.64
	F6	0.5	1300	88.00	28.65
	F7	0.1	1700	89.33	31.23
	F8	0.25	1700	90.66	36.33
	F9	0.5	1700	88.00	27.84
1:1	F10	0.25	800	48.61	20.55
	F11	0.25	1300	50.70	20.64
	F12	0.25	1700	52.66	20.46

### 2.1 Etude de l'effet des différents paramètres du procédé sur le rendement

Des microsphères d'EC chargées par l'acide niflumique ont été obtenues par le procédé de microencapsulation par la technique d'émulsion/évaporation de solvant. Les résultats obtenus montrent que le rendement en pourcentage des différentes formulations de F1 à F12 varie de

48.61 % à 91.33% avec la variation des facteurs sélectionnés : vitesse d'agitation, concentration de PVA et la quantité de polymère dans la phase organique.

### **2.1.1 Effet de vitesse d'agitation**

Pour le rapport polymère/PA : 2/1, un effet positif et important sur le rendement a été obtenu (de 80.66% à 89.33% en comparant F1 et F7) avec l'augmentation de la vitesse d'agitation de 800 rpm à 1700 rpm. le même effet a été observé pour les formulations préparées avec le rapport EC/AN : 1/1 où le rendement atteint 52.6 % à 1700 rpm.

On peut conclure qu'une vitesse d'agitation élevée est en faveur de l'évaporation du solvant des gouttelettes d'émulsion par un processus rapide ce qui entraîne leur solidification et l'obtention d'une suspension. Par ailleurs, cette augmentation de la vitesse d'agitation peut réduire le temps du procédé de 18h à 3h, ce qui limitera les pertes (Izumikawa et al. 1991).

### **2.1.2 Effet de la concentration du stabilisant de l'émulsion**

L'augmentation de la concentration de l'agent émulsifiant PVA de 0.1% à 0.25% a un effet positif et notable sur le rendement où ce dernier varie de 80.66% à 85.33% pour (F1-F2, 800 rpm), de 85.33 à 91.33% pour (F4-F5, 1300 rpm) et un effet pas vraiment précis dans les vitesses élevées (1700 rpm) où le rendement atteint 89.33-90.66% (F7, F8). A plus de 0.25% de PVA, l'effet de l'agent stabilisant n'est pas remarquable sur le rendement où ce dernier varie de 85.33% à 84.00% (F2 et F3, 800 rpm) par exemple. Des meilleurs rendements ont été obtenus dans les formulations préparés avec 0.25% de PVA (F2, F5, F8, F12) où ce dernier atteint 91.33% (F5), la concentration de 0.25% PVA est convenable pour la préparation des microsphères de l'acide niflumique avec la technique d'émulsion/évaporation de solvant.

### **2.1.3 Effet de la concentration du polymère**

Des rendements meilleurs ont été obtenus dans les formulations préparées avec le rapport EC/AN : 2/1 où ce dernier atteint 91.33% (F5), ce résultat est en accord avec des travaux antérieurs (Desavathu et al., 2017) qui prouve que le rendement augmente avec l'augmentation de la concertation du polymère. Alors que des rendements faibles ont été observés dans les formulations préparées avec le rapport EC/AN : 1/1 ce qui est dû principalement à la faible quantité de l'EC dans la phase organique. Cette baisse dans le rendement peut être expliquée par le fait que la quantité de polymère qui est insuffisante pour couvrir entièrement le principe

actif et qui peut donc se dissoudre ou se disperser dans la phase aqueuse externe. Ce qui peut donner des microsphères ne contenant pas de principe actif ( Bile 2015).

En outre, il a été démontré (Li et al., 2008) qu'une faible quantité de polymère augmente les risques de perte à cause du manque d'espace disponible à l'intérieur des microparticules surtout après rétrécissement résultant de l'évaporation du solvant.

## **2.2 Etude de l'effet des différents paramètres du procédé sur la teneur en acide niflumique encapsulée**

Les résultats de la teneur en principe actif des microsphères pour les différentes formulations varient de 20,45% à 36.33% (tabl.II.2.1) avec la variation des paramètres choisis : la concentration de l'agent émulsifiant (% PVA), vitesse d'agitation (800-1700 rpm) et le rapport polymère/P.A.

### **2.2.1 Effet de la vitesse d'agitation**

La littérature a établi qu'il existe une influence de la variation de la vitesse d'agitation sur le taux d'encapsulation. En effet les travaux de (Le Corre et al. 1994) ont montré que pour le système PLA/Bupivacaine la concentration de l'encapsulé diminue en augmentant la vitesse d'agitation. En effet, ce phénomène entraîne aussi une diminution de la taille des particules, qui a pour conséquence de diminuer la surface de contact entre la phase organique et la phase aqueuse, ce qui favorise l'expulsion du principe actif vers l'extérieur (André-Abrant al., 2001).

Par contre, dans les formulations préparées avec le rapport EC/AN : **2/1**, l'effet de l'augmentation de la vitesse d'agitation sur la teneur en principe actif présente un impact plutôt positif où la teneur augmente de 27.53% à 31.23% (F1 et F7, 0.1% PVA) et de 32.85% à 36.33% (F2, F8, 0.25% PVA) avec l'augmentation de la vitesse de 800 rpm à 1700 rpm. Ces résultats ont été approuvés par les travaux de Sendil (sendil et al. 1998) qui a observé qu'une augmentation de la teneur en substance active avec une diminution de la taille des microsphères sont obtenues en augmentant la vitesse d'agitation. Il a été suggéré qu'une vitesse plus rapide permet une évaporation du solvant, donnant une occlusion rapide de la substance active.

Par ailleurs, on a observé que la vitesse d'agitation n'as pas un effet notable sur la teneur en principe actif encapsulé dans les formulations préparées avec le rapport EC/AN : 1/1. Il a été rapporté (Jeffery et al. 1993) qu'il y a une diminution dans le taux d'encapsulation pour le système PLG/Ovalbumine et qui est observée en diminuant la quantité du polymère. En effet,

pour des ratios PLG/ovalbumine de 1 :1 et de 2 :1 l'efficacité de l'encapsulation est de 65% et 70% respectivement.

### 2.2.2 Effet de la concentration de l'agent stabilisant

Kim et al. (2005) ont montré que l'utilisation du PVA permet une stabilisation maximale de l'émulsion relativement aux autres émulsifiants. Des travaux préliminaires testant plusieurs tensioactifs de type polysorbates ont montré une infériorité dans l'abaissement de la tension interfaciale par rapport au PVA (Jeffery et al. 1991).

Pour le rapport EC/AN : **2/1**, l'augmentation de la concentration du PVA de 0.1% à 0.25% a un effet important et positif sur la teneur en principe actif encapsulé, où cette dernière varie de 27.88% à 32.85% pour F1 et F2, de 27.53% à 35.64% pour F4 et F5 et de 31.23% à 36.33% pour F7 et F8 respectivement. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que l'alcool polyvinylique est un polymère de masse molaire importante et l'augmentation de sa concentration provoque une augmentation de la viscosité de la phase aqueuse externe ce qui permet de former un film sur la surface des gouttelettes empêchant ainsi la diffusion de l'AN de la phase organique vers la phase aqueuse durant le processus de la solidification des microsphères ( Bile 2015).

A plus de 0.25% de concentration de l'agent émulsifiant on observe un effet inverse et remarquable sur la teneur en principe actif qui diminue avec l'augmentation de la concentration du PVA ; par exemple de 35.64% à 28.65% pour F5, F0 à 1300 rpm. Ces résultats sont en concordance avec les travaux de (Benoit et al., 1989) et peuvent être expliqué par le fait que l'augmentation de la concentration de PVA diminue le diamètre moyen des microsphères ce qui engendre une augmentation de la surface de contact entre les deux phases et ensuite favorise la diffusion de l'AN vers la phase externe.

### 2.2.3 Effet de la concentration du polymère

Des travaux ont montré que l'augmentation de la quantité de PA mène à un taux d'encapsulation élevé jusqu'à une certaine limite (Thompson et al. 2007). En plus (Dhanaraju et al. 2010) a confirmé que la quantité encapsulée de l'étoposide (anticancéreux) dans le polycaprolactone est plus élevée pour un rapport polymère/PA de 10/1 par rapport à 5/1.

Des teneurs faibles du principe actif encapsulé sont observées pour les formulations préparées avec le rapport 1/1 où la valeur maximale est de 20.63% pour 0.25% de PVA à 1300 rpm et qui peut être due au faible rendement obtenu dans ces formulations à cause de la faible

concentration de polymère dans la phase organique. En effet, l'augmentation de la concentration en polymère dans un volume fixe de phase organique mène à l'augmentation de viscosité de cette dernière, ce qui augmente la résistance diffusionnelle et réduit la diffusion de solvant vers la phase aqueuse externe et par la suite la réduction de perte de la substance active et occlusion de plus de principe actif dans le polymère, ce qui conduit à une teneur élevée dans les formulations préparées dans le rapport EC/AN : 2/1. Des résultats similaires ont été approuvés par d'autres travaux (Yang et al. 2000). Les meilleures teneurs en substance active obtenus sont celles avec la concentration 0.25% de PVA (F2, F5 et F8) où la teneur en substance active atteint 32.85%, 35.64% et 36.33% respectivement.

### **3. Résultats de la caractérisation des microsphères à base d'EC**

#### **3.1 Taille et distribution en taille des microparticules**

Les microparticules composées d'acide niflumique pur, obtenues par la méthode d'émulsion évaporation de solvant sont de couleur blanche, le diamètre et la distribution pour toutes les formulations dépendent des paramètres étudiés : la vitesse d'agitation, % PVA et le rapport polymère/PA.

La distribution en taille, établie par microscopie optique, donne des courbes monomodales et larges pour la plupart des lots de microsphères. Le calcul suivant est celui pour la formulation F1 (Tab. II.2.2). Pour cette formulation 697 diamètres de microparticules ont été comptés et par la suite divisés en différentes classes. Dans ce lot on a distingué 14 classes de microsphères de diamètres différents (de 50  $\mu\text{m}$  jusqu'à 800  $\mu\text{m}$ ), puis on dénombre les microsphères de chaque classe ( $n_i$ ), le centre de classe ( $d_i$ ) puis l'effectif ( $n_i$ ).

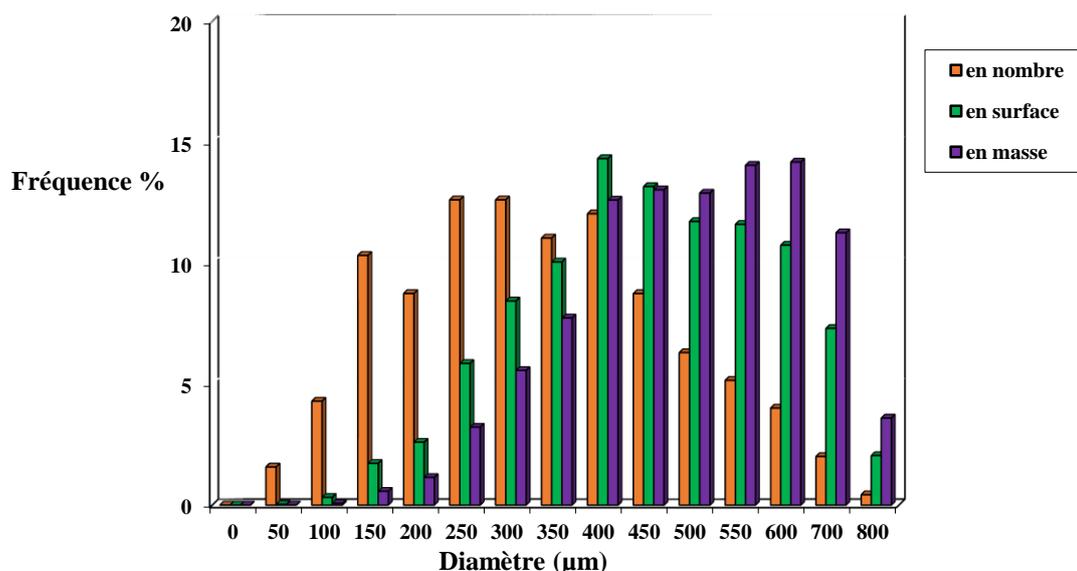
Ces résultats sont tracés sous forme d'histogrammes (Fig. II.2.1) plus représentatifs de la courbe de distribution en taille des microsphères. Les calculs des différentes formulations sont indiqués en annexe :

Tableau II.2.2 : Résultats granulométriques 'F1'

Classe i	centre de classe $d_i$ ( $\mu\text{m}$ )	effectif $n_i$	$n_i * d_i$	fréquence en nombre %	$n_i * d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i * d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i * d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	11	550	1,58	27500	0,03	1375000	0,00	68750000
2	100,0	30	3000	4,30	300000	0,32	30000000	0,07	3000000000
3	150,0	72	10800	10,33	1620000	1,73	243000000	0,57	36450000000
4	200,0	61	12200	8,75	2440000	2,60	488000000	1,14	97600000000
5	250,0	88	22000	12,63	5500000	5,86	1375000000	3,23	343750000000
6	300,0	88	26400	12,63	7920000	8,45	2376000000	5,57	712800000000
7	350,0	77	26950	11,05	9432500	10,06	3301375000	7,75	1155481250000
8	400,0	84	33600	12,05	13440000	14,33	5376000000	12,61	2150400000000
9	450,0	61	27450	8,75	12352500	13,17	5558625000	13,04	2501381250000
10	500,0	44	22000	6,31	11000000	11,73	5500000000	12,90	2750000000000
11	550,0	36	19800	5,16	10890000	11,61	5989500000	14,05	3294225000000
12	600,0	28	16800	4,02	10080000	10,75	6048000000	14,19	3628800000000
13	700,0	14	9800	2,01	6860000	7,31	4802000000	11,27	3361400000000
14	800,0	3	2400	0,43	1920000	2,05	1536000000	3,60	1228800000000
somme		697	233750	100,00	93782500	100,00	42624875000	100,00	21264156250000

Diamètre moyen de F1 ( $\mu\text{m}$ ) :

$d_{10}$	335.4	Dispersion
$(d_{20})^{1/2}$	366.8	
$(d_{30})^{1/3}$	394.0	
$d_{21}$	401.2	
$d_{32}$	454.5	
$d_{43}$	498.9	
		<b>1.49</b>



**Figure II.2.1** : Distribution en taille de microsphères chargées par l'acide niflumique (F1)

Les résultats de la taille en diamètres moyens en nombre ( $d_{10}$ ), en surface ( $d_{32}$ ), en masse ( $d_{43}$ ) ainsi que la dispersion sont donnés dans le Tab.II.2.3.

**Tableau II.2.3** : Diamètre moyen en nombre ( $d_{10}$ ), en surface ( $d_{32}$ ), en masse ( $d_{43}$ ) et dispersion ( $\delta$ ) des différentes microsphères (EC/AN) préparées

EC:AN	N° formulation	$d_{10}$ (µm)	$d_{32}$ (µm)	$d_{43}$ (µm)	Dispersion $\delta$
2 : 1	F1	335.4	454.5	498.9	1.49
	F2	278.8	330.5	360.7	1.29
	F3	259.8	416.5	468.0	1.80
	F4	253.2	337.3	378.7	1.50
	F5	248.3	381.1	440.1	1.77
	F6	227.0	351.1	401.5	1.77
	F7	203.5	250.6	272.8	1.34
	F8	199.6	390.8	466.6	2.34
	F9	196.5	286.5	345.3	1.76
1 : 1	F10	197.0	258.8	296.9	1.51
	F11	193.9	278.6	326.7	1.68
	F12	191.8	267.9	313.2	1.63

### 3.1.1 Effet de la vitesse d'agitation sur la taille des microsphères

L'agitation est un paramètre important qui influence la taille des microsphères. La théorie de rupture de Kolmogoroff (Hinze 1955) a été utilisée pour décrire l'évolution de la taille des particules en fonction de l'agitation. Cette théorie montre que si on augmente la vitesse d'agitation de l'émulsion, on augmente l'énergie apportée au système ce qui permet d'augmenter le nombre des gouttelettes de la phase dispersée par fracture. Les gouttelettes formées sont plus nombreuses et de plus petite taille ; ce qui a été remarqué dans nos résultats.

La taille des microsphères et le diamètre moyen en nombre ( $d_{10}$ ) varient de 191.8  $\mu\text{m}$  à 335.4  $\mu\text{m}$ . En effet, l'augmentation de la vitesse d'agitation engendre la diminution de la taille des microparticules. La vitesse d'agitation a un effet fort et remarquable sur la taille des microsphères où le diamètre moyen ( $d_{10}$ ) est effectivement diminué quand la vitesse d'agitation de l'émulsion est augmentée. Ces résultats sont confirmés dans d'autres travaux (Biswas et al. 2018; Vysloužil et al. 2014).

### 3.1.2 Effet de la concentration de l'émulsifiant (PVA) sur la taille des microsphères

L'utilisation du PVA comme agent émulsifiant dans le but de stabiliser l'émulsion en réduisant la tension interfaciale entre les deux phases organique et aqueuse est bien connue. Il évite ou limite également la coalescence et l'agglomération des gouttelettes d'émulsion qui affectent leurs tailles durant les premiers instants de l'évaporation de solvant (Dhanaraju et al. 2010). Des travaux préliminaires dans notre laboratoire (Banabid et al. 2017) ont démontré que la taille des particules obtenues avec le système PLA/Mésalazine diminue lorsque la concentration en PVA augmente. L'effet de l'élévation de la concentration de l'agent émulsifiant (PVA) de 0.1% à 0.5% a diminué le diamètre moyen des microsphères de 253.2  $\mu\text{m}$  à 227.0  $\mu\text{m}$  pour F4 et F6 à 1300 rpm par exemple.

Un effet plus important de l'augmentation de la concentration de l'agent émulsifiant (PVA) sur la taille des microsphères préparées est obtenu avec les basses vitesses d'agitation 800 rpm, où le diamètre diminue de 335.4  $\mu\text{m}$  à 259.8  $\mu\text{m}$ , donc le diamètre moyen dépend de la viscosité de la phase externe. L'augmentation de la concentration de PVA assure la stabilisation du système contre la coalescence de l'émulsion qui mène ensuite à la formation des petites microsphères (Capan et al. 1999; Jeffery et al. 1991) mais ceci à une certaine limite car une concentration trop importante augmente les probabilités d'interactions et donc l'agrégation des gouttelettes.

### 3.1.3 Effet de la concentration de polymère sur la taille des microsphères

Des diamètres moyens faibles ont été obtenus dans les formulations préparées avec le rapport EC/AN : 1/1 en comparaison aux diamètres moyens des formulations préparées avec le rapport polymère/PA : 2/1. C'est le cas de F10, F11 et F12 où un faible diamètre moyen de 191.8  $\mu\text{m}$  a été obtenu dans F12 avec 0.25% de PVA à 1700 rpm. Ce faible diamètre peut-être expliqué par la faible viscosité de la phase organique qui est liée donc à la faible concentration du polymère.

La viscosité de la phase dispersée peut donc être augmentée soit par une augmentation de la quantité du polymère soit par l'utilisation d'un polymère de masse moléculaire plus élevée. (André-Abrant et al. 2001), ont montré que le diamètre maximum des gouttelettes est proportionnel à la viscosité de la phase organique. En effet, une augmentation de la concentration en polymère engendre une phase organique visqueuse (Rodríguez et al. 1998) qui sera donc plus résistante au cisaillement qui résulte en une réduction de l'efficacité de rupture (Yang et al. 2001) donnant des microsphères de tailles plus importantes. C'est le cas des formulations dont le rapport est 2/1. Par ailleurs lorsque la quantité du polymère est faible (rapport 1 :1 polymère : PA) l'état de surface des microsphères se trouve poreux car la quantité du polymère est insuffisante pour entourer le P.A (Jeffrey et al. 1993).

### 3.2 Sphéricité et Morphologie de surface des microsphères

Les images enregistrées par le microscope optique (Fig. II.2.2, Fig. II.2.3) montrent des microparticules de forme sphérique. L'étude de l'influence de la vitesse d'agitation montre que la taille des microsphères est affectée par l'augmentation de cette dernière. En effet, les microparticules contenant le principe actif sont de forme sphérique (Bodmeier et al.1988) ; la haute immiscibilité du dichlorométhane avec l'eau confère aux particules formées une forme sphérique.



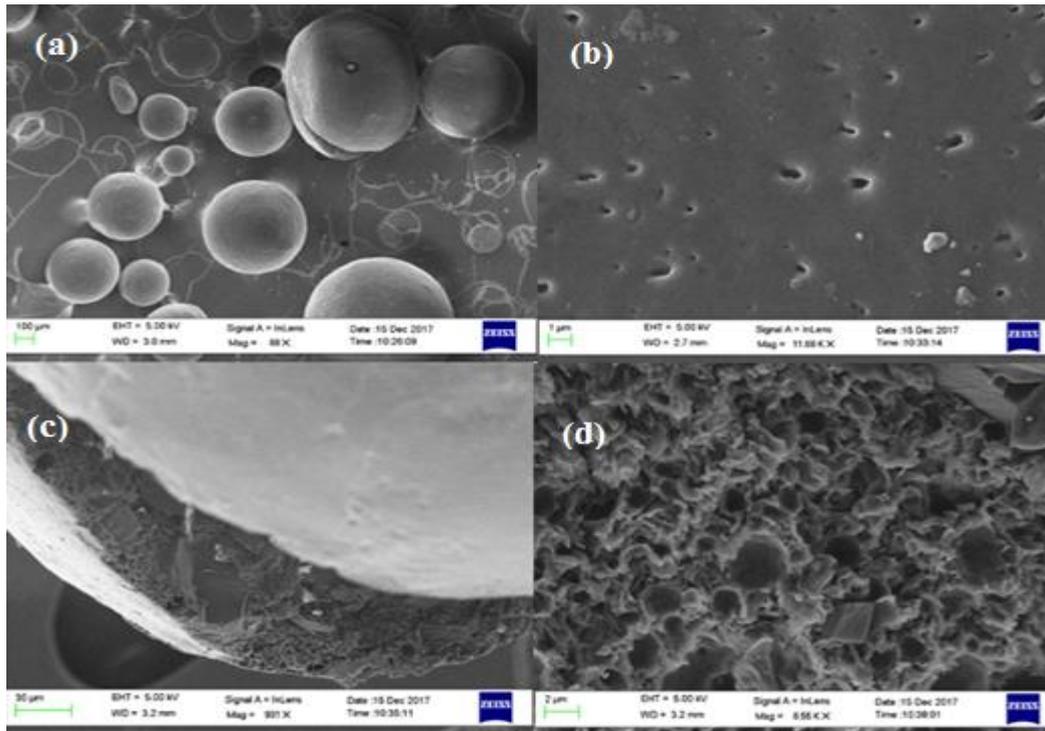
**Figure II.2.2:** Photo des microsphères prise par microscopie optique pour F2



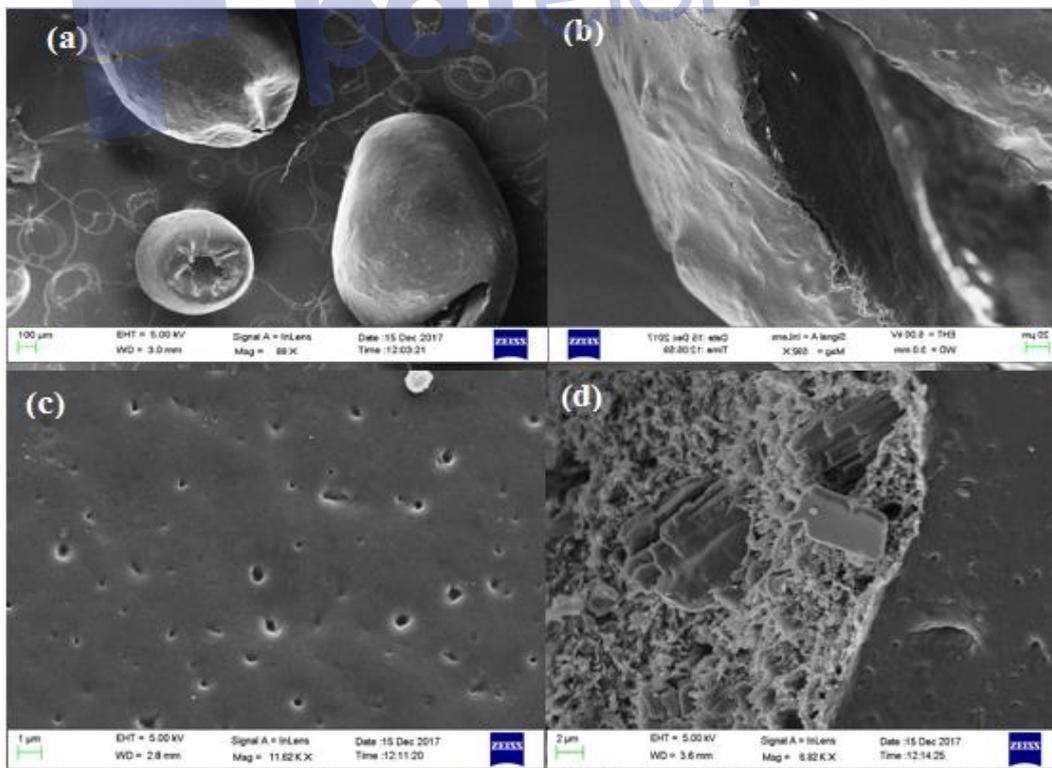
**Figure II.2.3 :** Photo des microsphères prise par microscopie optique pour F10

L'analyse par microscopie électronique à balayage confirme les observations de la microscopie optique (la sphéricité des microparticules) et donne des informations plus complètes sur la morphologie de surface. Des microsphères avec une porosité à la surface sont dues à la diffusion de solvant (DCM) des gouttelettes dans la phase aqueuse ce qui conduit à la formation des microsphères de formes sphériques et poreuses (Le Ray et al. 2003). Ainsi la MEB confirme que les formulations sont des microsphères où le PA est dispersé dans le polymère (Yang et al. 2001) (système matriciel) et non pas dans des microcapsules (système réservoir) (Fig. II.2.4, II.2.5.)

## Caractérisation des microsphères EC/AN



**Figure II.2.4 :** Micrographies MEB des microsphères (F2), (a) : surface extérieure (100µm) , (b) : surface extérieure (1µm), (c) et (d) : surface intérieure.



**Figure II.2.5 :** Micrographies MEB des microsphères (F10), (a) : surface extérieure (100µm), (b) : surface extérieure (20µm), (c) : surface extérieure (1µm) et (d) : surface intérieure (2µm)

Dans la formulation F10, la MEB présente des microsphères avec des cavités confirmant la perte de masse pour cette composition (EC/AN : 1/1).

### 3.3 Identification de l'agent encapsulé par spectroscopie Infrarouge

Les spectres infrarouges des microsphères préparées ont été comparés aux spectres du polymère utilisé et de l'agent actif pur.

Pour le spectre FTIR de l'AN (Fig. II.2.6). On observe une large bande dans l'intervalle 2500-3500  $\text{cm}^{-1}$ , qui est attribuée à la vibration de valence de OH (acide) et de N-H (amine) (Kacso et al. 2012). Un épaulement entre 3000  $\text{cm}^{-1}$  et 3100  $\text{cm}^{-1}$  prouve la présence d'une liaison C-H d'un cycle aromatique. Les deux bandes fines et intenses à 1530  $\text{cm}^{-1}$  et 1430  $\text{cm}^{-1}$  sont caractéristiques de la liaison double C=C du cycle aromatique. La bande fine intense à environ 1660  $\text{cm}^{-1}$  est attribuée à la fonction carboxylique (vibration d'élongation C=O) et à 1610  $\text{cm}^{-1}$  attribuée à la fonction amine primaire. Les bandes de C-N aliphatique à 1245  $\text{cm}^{-1}$  et 1150  $\text{cm}^{-1}$ . Deux bandes d'absorption asymétrique et symétrique à 1350  $\text{cm}^{-1}$  et 1100  $\text{cm}^{-1}$ , respectivement sont attribuées à la fonction C-F. Dans la région 1000-650  $\text{cm}^{-1}$  des bandes de déformation des liaisons C-H aromatique 1 à 5H adjacents.

Pour le spectre FTIR de l'EC pur (Fig. II.2.7) il montre les bandes suivantes : à 3450  $\text{cm}^{-1}$  vibrations d'élongation des liaisons OH de l'éthylcellulose, indiquant aussi la présence de liaison hydrogène entre les groupements OH ; cette bande est caractéristique dans tous les polysaccharides. Entre 2950-2800  $\text{cm}^{-1}$  vibrations d'élongation de la liaison C-H aliphatique. Une bande à 1160  $\text{cm}^{-1}$  correspond à la vibration d'élongation asymétrique de la liaison glycosidique C-O-C. Les bandes caractéristiques des fonctions éther C-O apparaissent entre 1275-1070  $\text{cm}^{-1}$  (Trivedi et al. 2015).

Le spectre FTIR des microsphères des formulations F3 et F12 (Fig. II.2.8, Fig. II.2.9) confirme l'existence des bandes d'absorption spécifiques de chacun des deux composés : EC, AN. Ceci est une preuve de l'existence effective du principe actif dans les microparticules. Les autres spectres des microparticules sont représentés en annexe.

Caractérisation des microsphères EC/AN

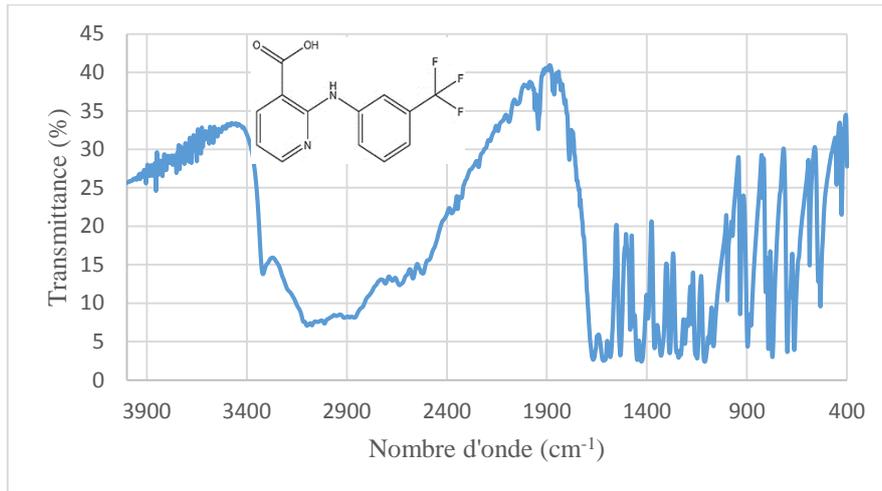


Figure II.2.6 : Spectre FTIR de l'acide niflumique pur (AN)

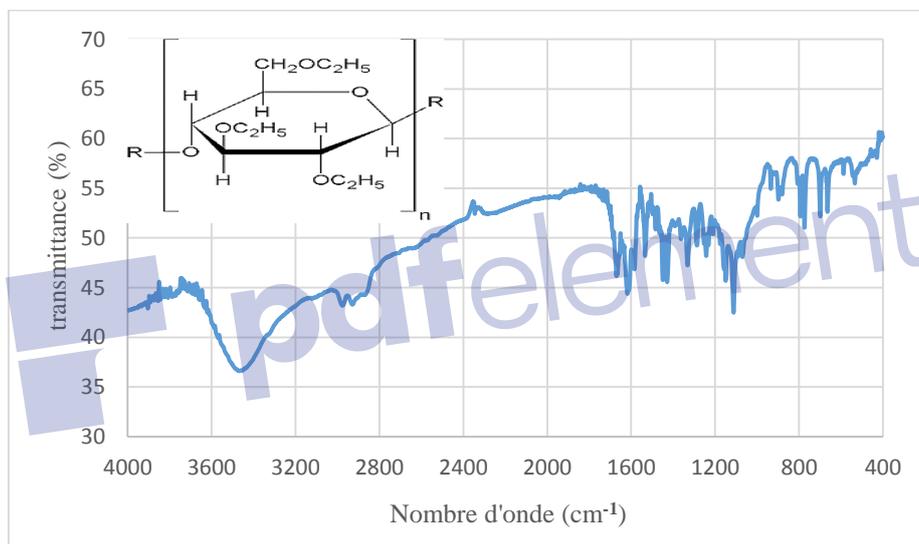


Figure II.2.7 : Spectre FTIR de l'éthylcellulose (EC)

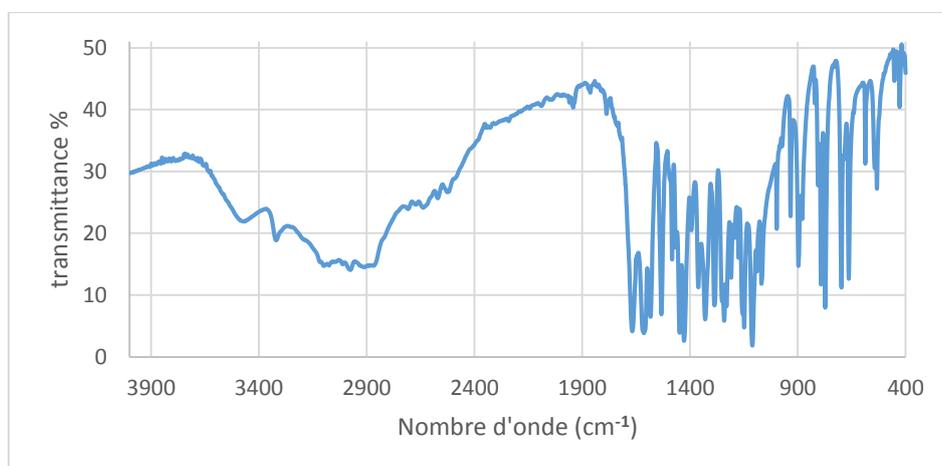
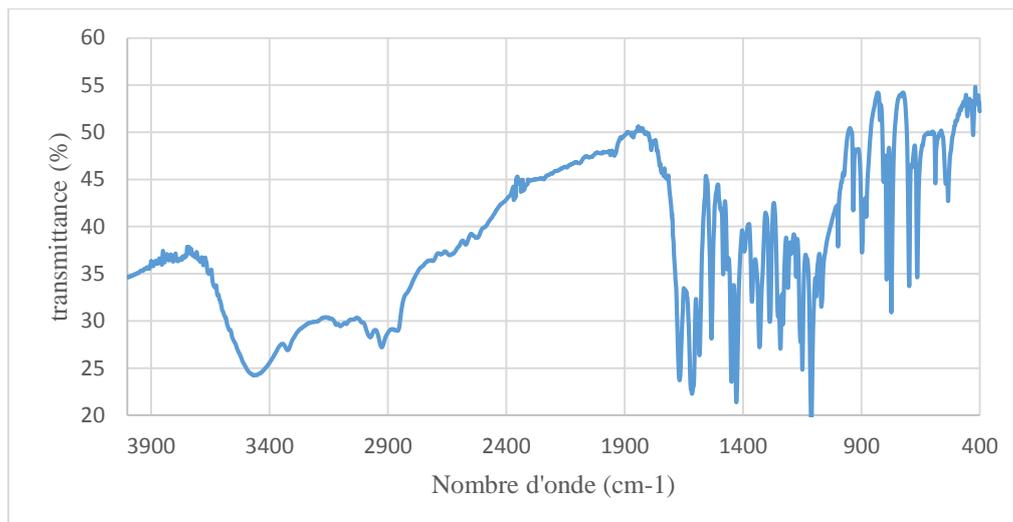


Figure II.2.8 : Spectre FTIR des microsphères EC/AN (F3)

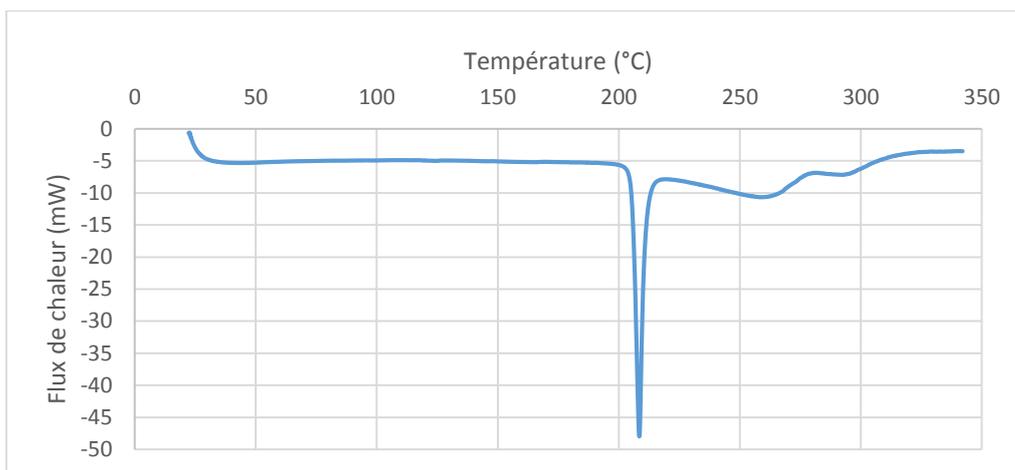


**Figure II.2.9** : Spectre FTIR des microsphères EC/AN (F12)

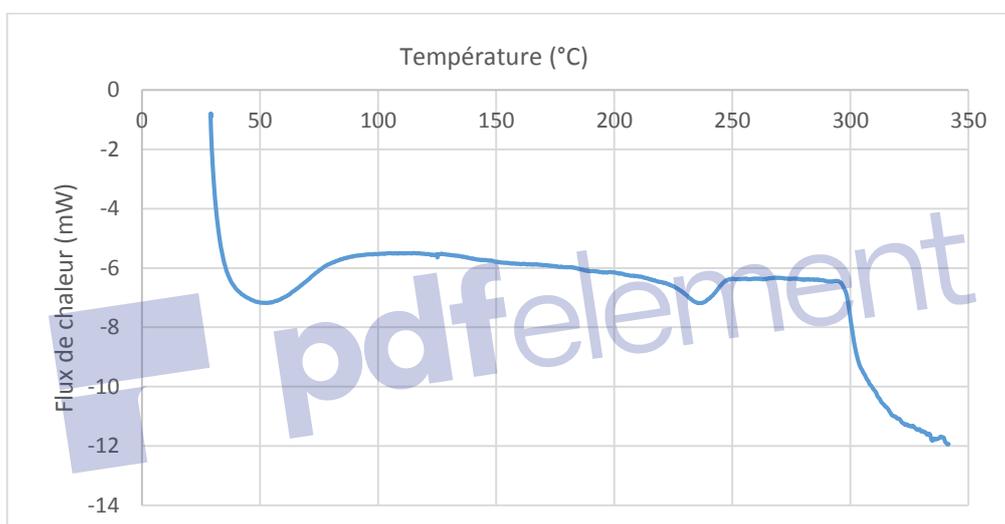
### 3.4 Caractérisation par Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

Cette technique est un outil pour explorer le comportement thermique des matériaux. Le thermogramme (DSC) de l'AN (Fig. II.2.10) montre un seul pic fin endothermique à 205 °C (Kacso et al. 2012) indiquant la fusion, vers 261 °C on assiste à un pic qui peut être associé à la décomposition.

Le thermogramme (DSC) de l'EC montre un pic endothermique large vers 50 °C pouvant être associé à l'évaporation de l'eau contenue dans cette matrice, un petit pic environ à 128 °C qui indique la transition vitreuse du polymère et vers 238°C, on trouve un pic assez faible qui peut être attribué à la fusion de la partie cristalline (Fig. II.2.11). Le chauffage ultérieur suivi d'un refroidissement a démontré la reproductibilité de l'événement par les mêmes transitions.

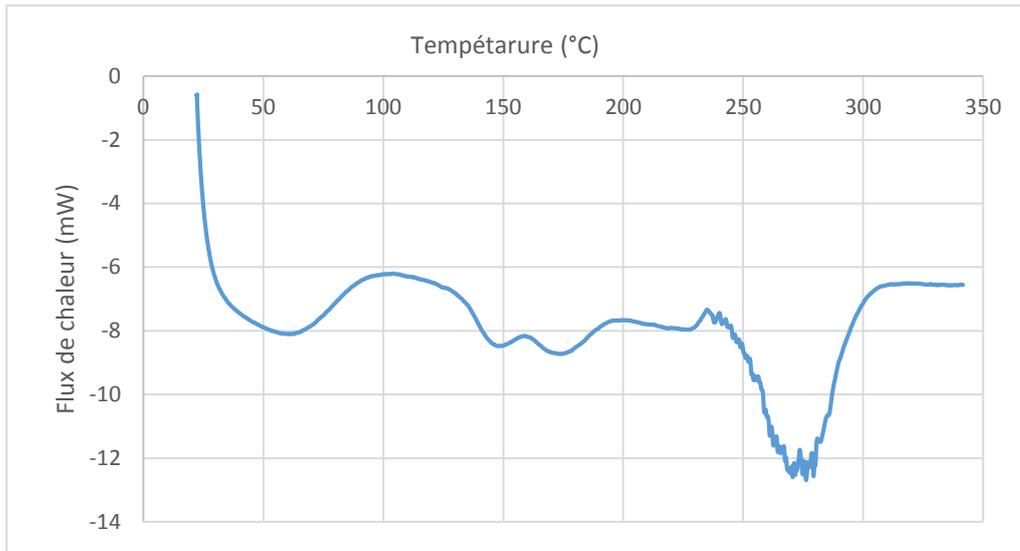


**Figure II.2.10** : Thermogramme (DSC) de l'acide niflumique pur (AN)

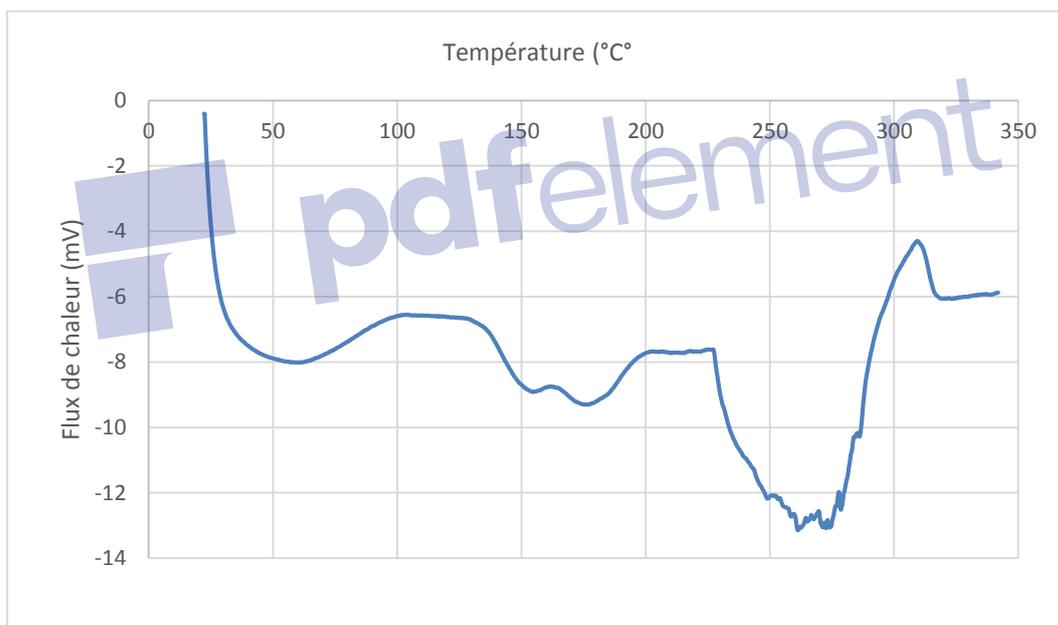


**Figure II.2.11** : Thermogramme (DSC) de l'éthylcellulose pur (EC)

Dans le thermogramme des microsphères, le pic endothermique de l'évaporation de l'eau présente un maximum vers 60°C (Fig. II.2.12 et Fig. II.2.13). Le pic de transition vitreuse de l'EC est représenté à 150°C et à 153°C dans les microsphères de formulation F2 et F10 respectivement. On observe aussi un pic faible endothermique à 173°C qui peut être dû à la formation de liaison hydrogène entre le groupement OH de l'AN et le stabilisant (PVA) utilisé dans la microencapsulation (El-Habashy et al., 2016). Le pic de fusion de l'acide niflumique qui était à 205°C (Fig. II.2.10) semble disparaître dans les thermogrammes des microsphères, ceci peut être attribué à la transformation de l'acide niflumique en une dispersion moléculaire et dans une forme amorphe. On observe un pic très large dans l'intervalle 230°C-300°C qui peut être associé à la décomposition de l'EC.



**Figure II.2.12** : Thermogramme (DSC) de la formulation F2



**Figure II.2.13** : Thermogramme (DSC) de la formulation F10

### 3.5 Caractérisation par diffraction des rayons X (DRX)

Le diffractogramme des rayons X de l'AN (Fig. II.2.14) pur montre des pics fins indiquant que le principe actif est de nature cristalline. Les pics les plus intenses sont situés à des valeurs de  $2\theta = 8^\circ, 11^\circ, 12^\circ, 16^\circ, 21^\circ, 23.1^\circ, 25.5^\circ, 29^\circ$  et  $37^\circ$ , ces pics sont également notés dans les travaux de (Kacso et al. 2012).

Le diffractogramme de l'EC (Fig. II.2.15) exhibe des pics plus larges avec un pic fin qui est situé à  $11^\circ$  indiquant que ce produit présente une faible cristallinité comme établi par (Mahnaj et al 2013; Trivedi et al. 2015). Lorsque le P.A est totalement dissous dans la phase organique au cours du procédé d'émulsification il peut précipiter lors de la solidification par évaporation sous une forme cristalline ou amorphe.

Dans le diffractogramme des microsphères des formulations F3 (Fig. II.2.16 et II.2.17), il est clair que les pics caractéristiques de l'AN à  $2\theta = 8^\circ, 12^\circ, 21^\circ, 25.5^\circ$  sont visibles dans les microsphères mais avec une faible intensité. Ceci peut-être expliqué par le fait que la microencapsulation se produit à un état moléculaire (Erkan et Sarıışık 2015) et que la cristallinité du P.A est affectée. Ceci confirme les résultats de DCS où le pic de fusion du P.A a disparu dans les microsphères en comparaison à sa forme pure.

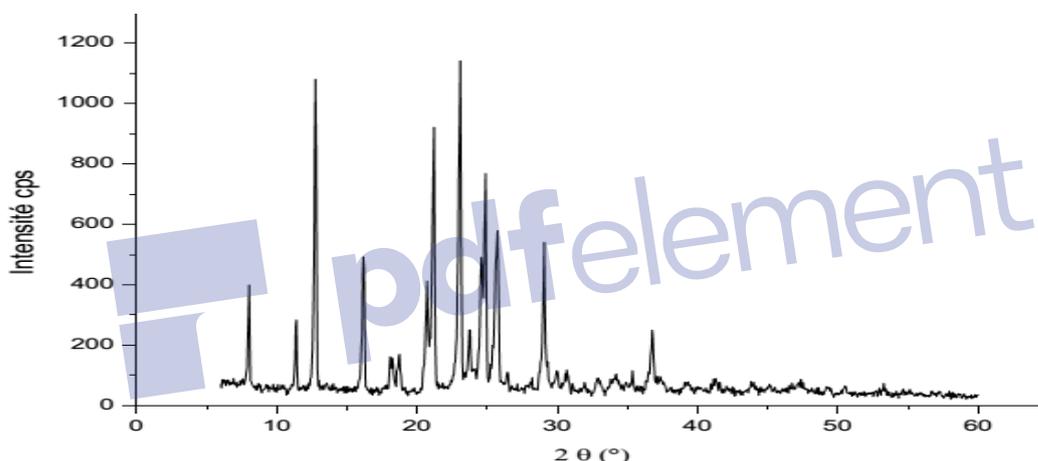


Figure II.2.14 : Diffractogramme de DRX de l'AN pur

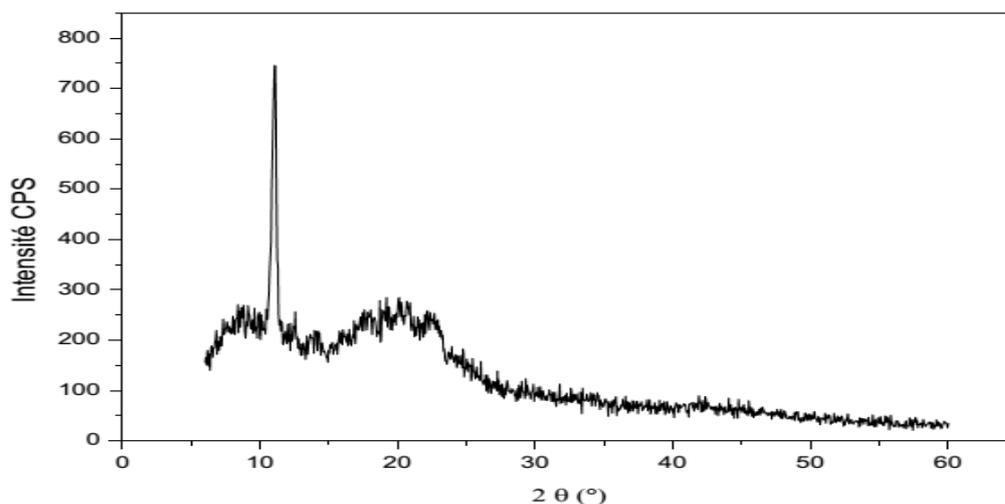


Figure II.2.15 : Diffractogramme de DRX de l'EC pur

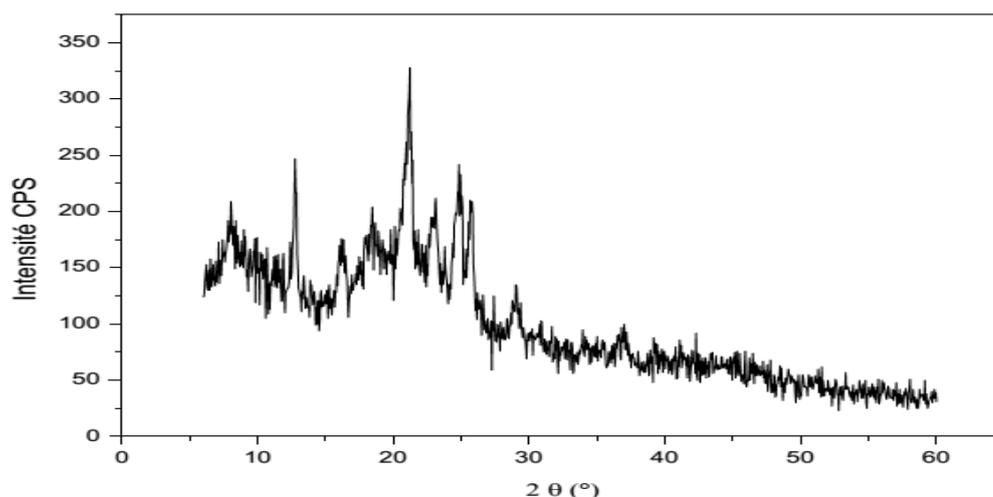


Figure II.2.16 : Diffractogramme de DRX de la formulation F3

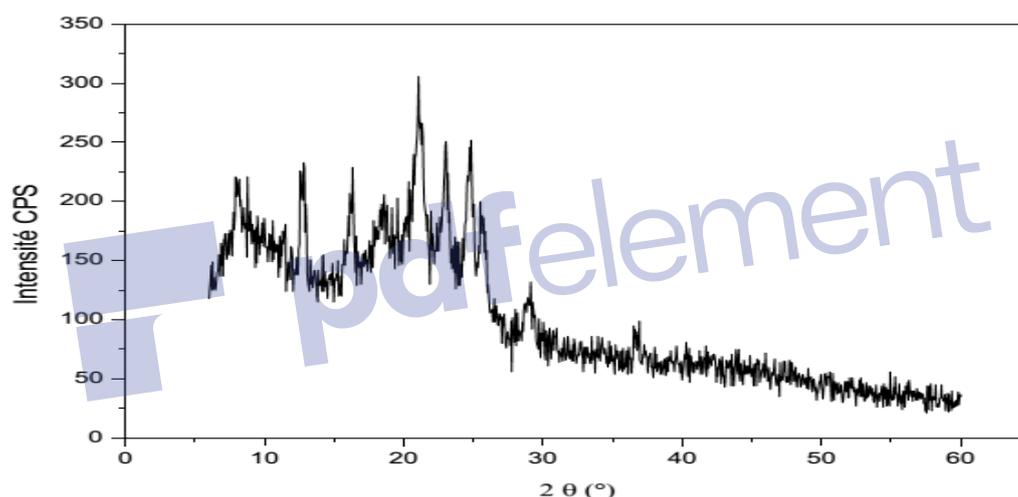


Figure II.2.17 : Diffractogramme de DRX de la formulation F10

### 3.6 Etude de la cinétique de libération de l'AN à partir des microsphères de l'EC

La dissolution est le processus par lequel des molécules d'un corps dissous peuvent être libérées d'une phase solide et peuvent entrer dans une phase de solution. La dissolution commence par la libération initiale des molécules du corps dissous à la surface de la matrice (réservoir). Ce réservoir pourrait être des P.A sous leur forme agrégée dans un polymère conçu pour commander le passage du corps dissous dans le solvant (connu comme milieu de dissolution) (Babu et al. 2010). Le principe fondamental pour l'évaluation de la cinétique de libération d'un principe actif a été établi la première fois par Noyes et Whitney (Noyes and

Whitney 1897). Dans cette partie différents paramètres sont discutés : la vitesse d'agitation et la concentration de l'agent émulsifiant.

### 3.6.1 Suivi de la libération de l'AN à partir des microsphères d'EC dans le milieu acide (pH=1,2)

La libération du principe actif à partir des microsphères a été faite dans un milieu acide (pH=1,2) pour une durée de deux heures. Les cinétiques de libération de l'acide niflumique ont été réalisées dans un réacteur de libération et dans les conditions citées précédemment. Les profils de libérations du PA ont été tracés avec le pourcentage de l'AN libéré en fonction du temps en se basant sur le spectre d'absorption de l'acide niflumique ( $\lambda=254$  nm) et en tenant compte de la droite d'étalonnage en milieu acide. Pour une meilleure présentation des résultats, les profils de libération ont été présentés dans les mêmes conditions avec la variation d'un seul paramètre. Les taux de libération de l'agent actif ont été regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau II.2.4** : Résultats des taux de libération de l'AN dans le milieu acide après 120min

Rapport EC/AN	N° formulation	Vitesse (rpm)	PVA (%)	% AN libéré Après 120min
2:1	F1	800	0.1	49.13
	F2	800	0.25	14.45
	F3	800	0.5	13.93
	F4	1300	0.1	32.37
	F5	1300	0.25	13.61
	F6	1300	0.5	26.46
	F7	1700	0.1	24.97
	F8	1700	0.25	11.66
	F9	1700	0.5	41.17
1:1	F10	800	0.25	59.24
	F11	1300	0.25	63.84
	F12	1700	0.25	85.66

### a. Effet de la concentration du PVA sur la libération de l'AN :

Les résultats des profils de libération des différentes formulations obtenues pour une même vitesse d'agitation sont représentés dans les Fig. II.2.18, II.2.19 et II. 2.20.

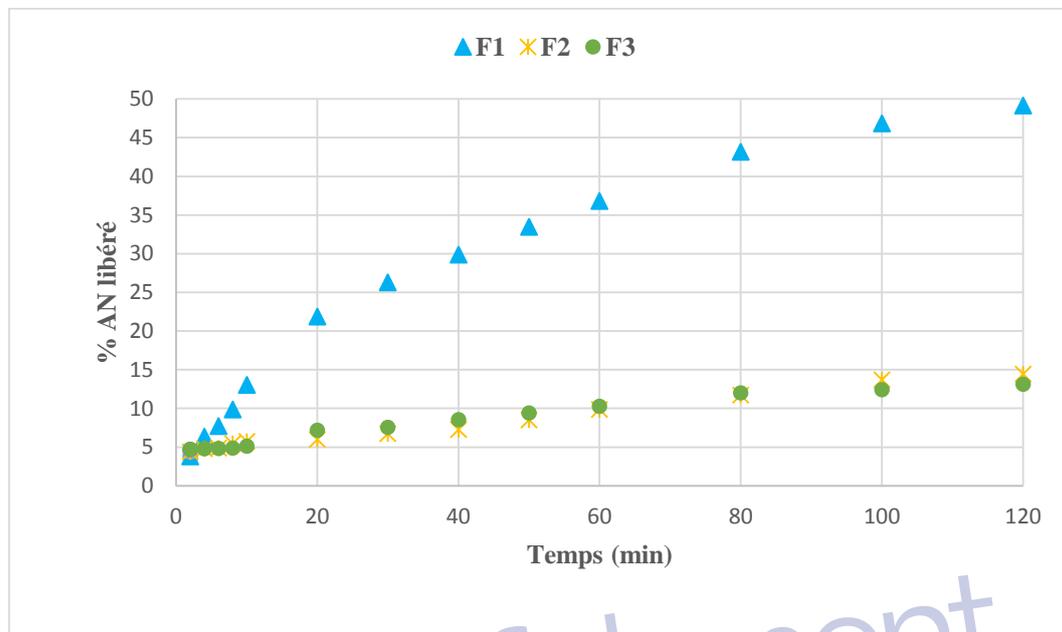


Figure II.2.18 : Profils de libération des microsphères préparées 800 rpm, pH=1,2

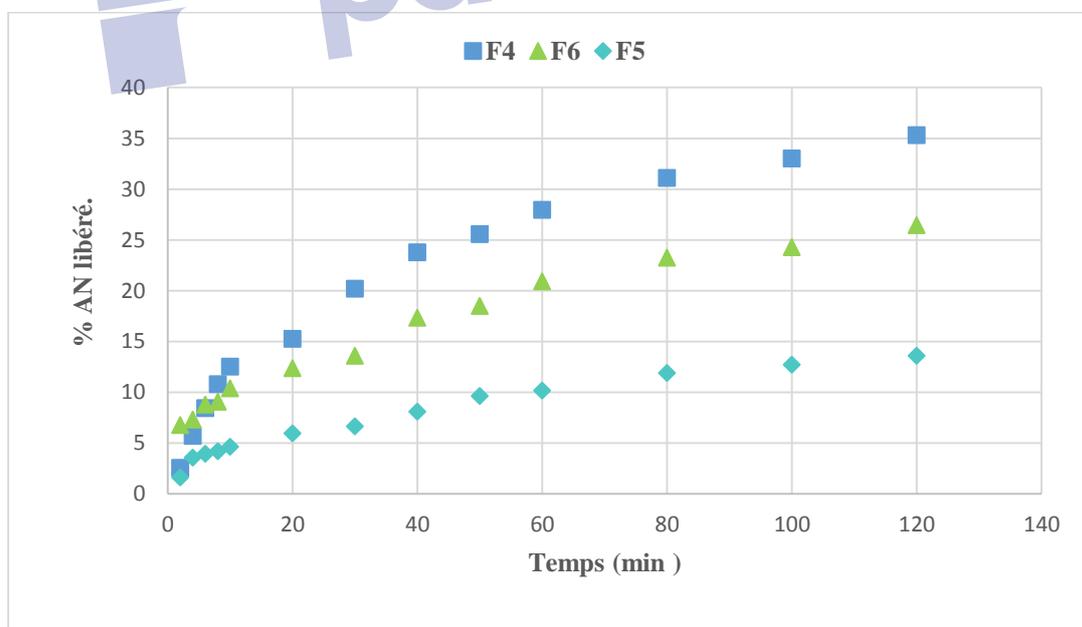
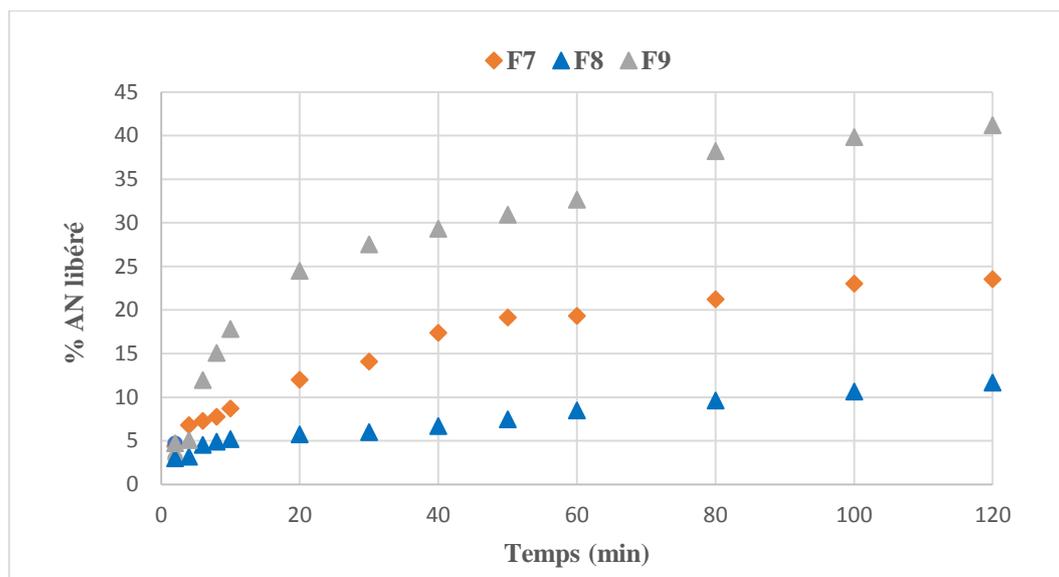


Figure II.2.19 : Profils de libération des microsphères préparées à 1300 rpm, pH=1,2



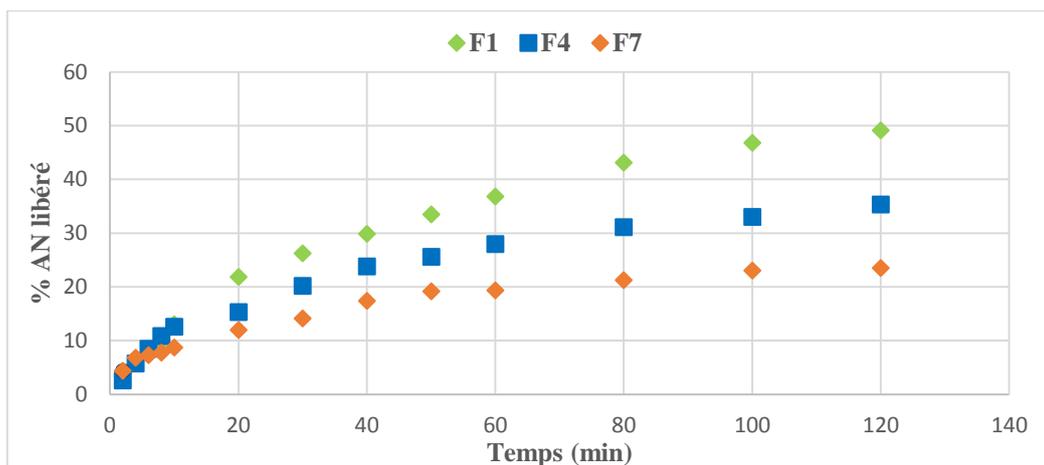
**Figure II.2.20** : Profils de libération des microsphères préparées à 1700 rpm, pH=1,2

Dans cette étude, à partir des profils de libération on observe que pour la même vitesse d'agitation, la vitesse de libération de l'AN diminue significativement avec l'augmentation de la concentration de l'agent émulsifiant (de 0.1% à 0.5%) pour les formulations préparées à 800 rpm et 1300 rpm, où le taux de libération diminue de 49% à 13% (F1, F3) et de 32% à 26% (F4, F6). Un effet inverse a été obtenu pour les vitesses élevées (1700 rpm), où le taux de libération de l'AN a augmenté de 24% à 41% par l'augmentation de la concentration de PVA en comparant F7 et F9. Il a été démontré que l'augmentation de la concentration en agent tensio-actif peut augmenter la libération de P.A à partir des microsphères. La raison évoquée pour expliquer ce phénomène est l'augmentation de la mouillabilité des microsphères et la meilleure pénétration de solvant à l'intérieur de la matrice. L'augmentation de la concentration en agent tensio-actif peut mener également à augmenter la déposition du P.A sur la surface des microsphères et par la suite favoriser la libération de la substance active (Pachua et al., 2009). Mais, dans notre recherche, seulement les microsphères préparées à 1700 rpm de vitesse d'agitation ont confirmé ce commentaire.

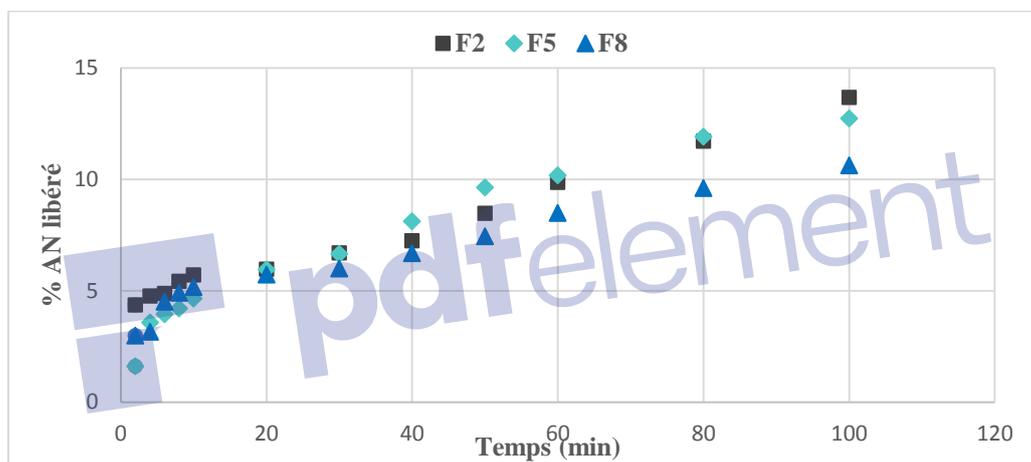
### **b. Effet de la vitesse d'agitation sur la libération de l'AN**

Les résultats des profils de libération des différentes formulations obtenus pour une même concentration de l'émulsifiant (PVA) sont représentés dans les Fig. II.2.21, II.2.22, II.2.23 et II.2.24

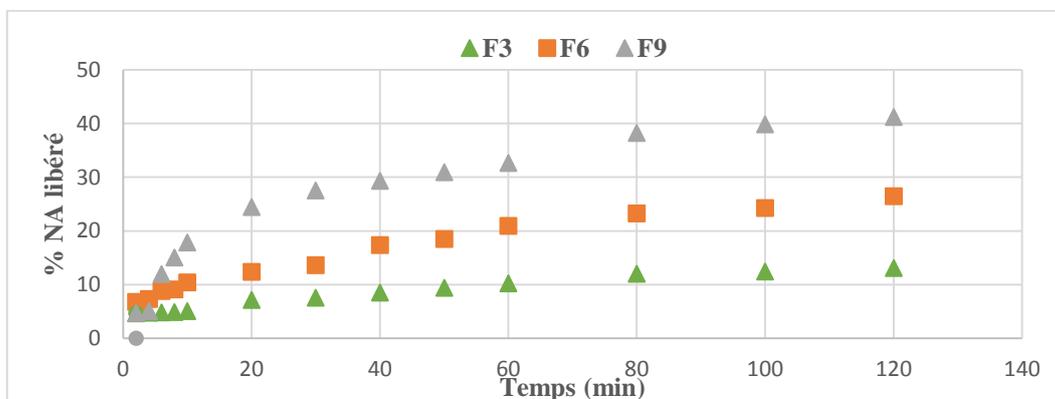
Caractérisation des microsphères EC/AN



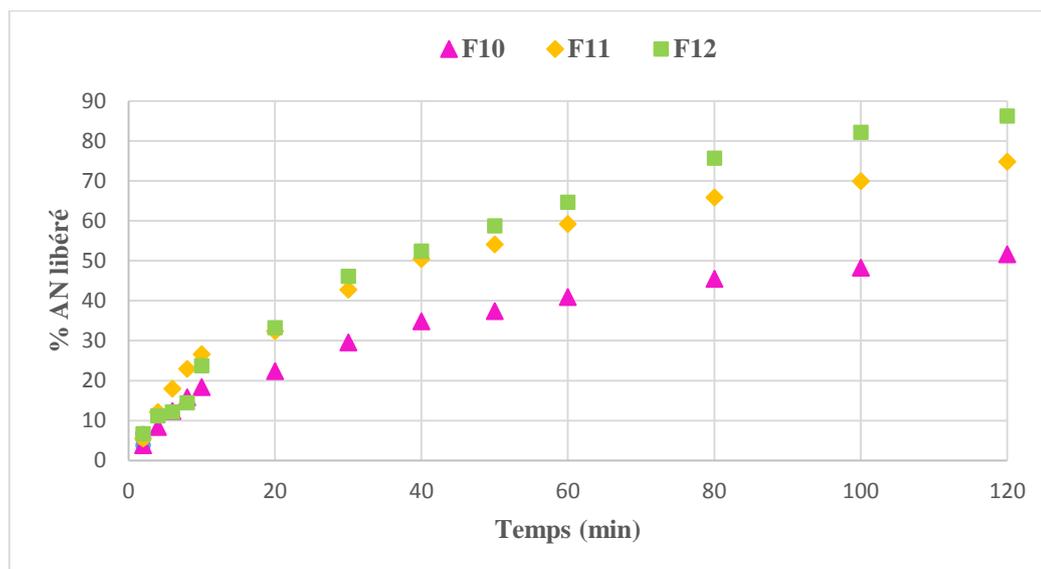
**Figure II.2.21** : Profils de libération des microsphères préparées dans les conditions :  
0.1% PVA, EC/AN : 2/1, pH=1,2



**Figure II.2.22** : Profils de libération des microsphères préparées dans les conditions :  
0.25% PVA, EC/AN :2/1, pH=1,2



**Figure II.2.23** : Profils de libération des microsphères préparées dans les conditions :  
0.5% PVA, EC/AN :2/1, pH=1,2



**Figure II.2.24** : Profils de libération des microsphères préparées dans les conditions :  
0.25% PVA, EC/AN : 1/1, pH=1,2

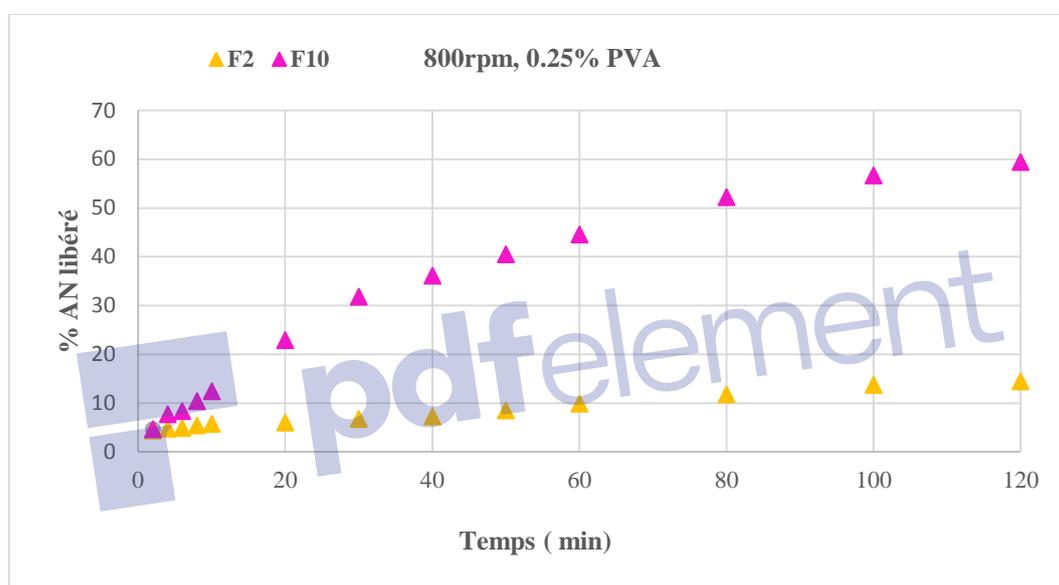
Pour des concentrations élevées de l'agent émulsifiant PVA 0.5% (Fig. II.2.23), on a constaté que l'augmentation de la vitesse d'agitation de 800 rpm à 1300 rpm engendre une libération rapide de l'AN à partir des microsphères formulées où le taux de libération augmente de 13% à 26% en comparant (F3 et F6) et de 26% à 41% en comparant (F6, F9). Les mêmes résultats sont obtenus pour les formulations préparées avec le rapport polymère/P.A **1:1** où le taux de libération augmente de 59% à 85% avec l'augmentation de la vitesse d'agitation de 800 rpm à 1700 rpm. En effet, ces résultats sont cohérents car, l'augmentation de la vitesse d'agitation produit des microsphères de petites tailles, dans ce cas la surface de contact des microsphères avec le milieu de dissolution est plus importante et donc l'AN est rapidement libéré dans le milieu (Barra et al. 2000; Khoukhi et al. 2016). Dans nos recherches seulement les microsphères préparées à 0.5% de PVA confirment cette constatation.

### c. Effet de la concentration en polymère

La concentration de polymère dans la phase organique joue un rôle important dans les profils de libération. Les profils de libération de l'AN à partir des microsphères préparées (F2 et F10), (F5 et F11) et (F8 et F12) ont été comparés en fonction du rapport EC/AN pour une même vitesse d'agitation et pour une même concentration de l'émulsifiant (0.25% PVA) et sont présentés dans les figures (Fig. II.2.25, II.2.26, et II.2.27). Les résultats montrent que l'augmentation de la concentration de polymère dans la phase organique engendre une libération lente de la substance active. En effet, les microsphères produites avec une grande

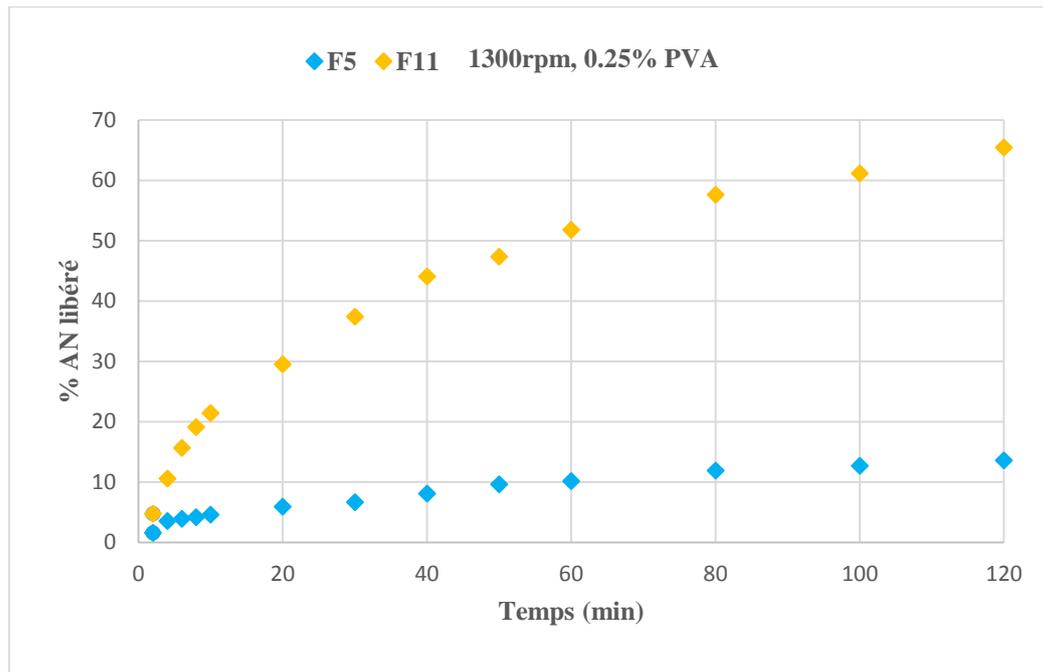
## Caractérisation des microsphères EC/AN

quantité de polymère (F2, F5 et F8) libèrent plus lentement la substance active. Une grande concentration de polymère, engendre une grande viscosité qui induit la formation d'une couche plus épaisse de gel après l'hydratation et donc d'une plus haute énergie pour pénétrer la matrice de polymère et par conséquent ralentit le taux de diffusion de l'eau dans la matrice, ce qui peut avoir comme conséquence le retard ou la diminution de la libération de l'AN vers le milieu de dissolution, le même résultat a été obtenu par (Tekade et al. 2013). En plus, l'augmentation de la concentration du polymère produit des microsphères de grande taille dans ce cas et la surface de contact avec le milieu de dissolution est plus faible et la libération devient lente.

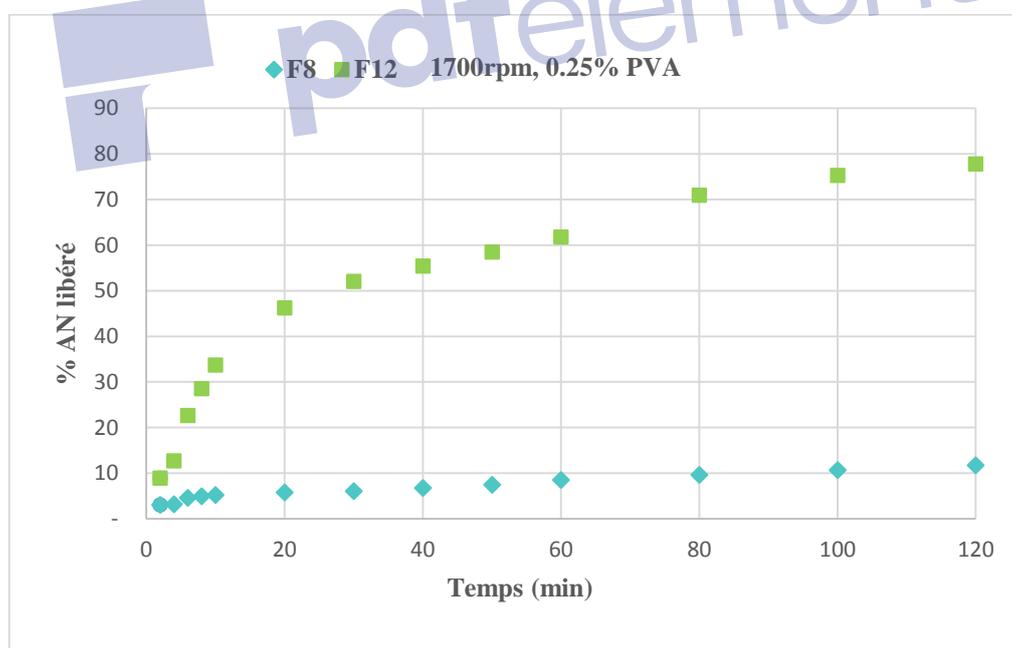


**Figure II.2.25** : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères EC/AN dans les conditions : F2 (EC/AN :2/1) et F10 (EC/AN :1/1) à 800 rpm, 0.25% PVA, pH=1,2

## Caractérisation des microsphères EC/AN



**Figure II.2.26** : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères EC/AN dans les conditions : F5 (EC/AN : 2/1) et F11 (EC/AN : 1/1) à 1300rpm, 0.25% PVA, pH=1,2



**Figure II.2.27** : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères EC/AN dans les conditions : F8 (EC/AN : 2/1) et F12 (EC/AN : 1/1) à 1700rpm, 0.25% PVA, pH=1,2

### 3.6.2 Suivi de la libération de l'AN à partir des microsphères d'EC dans le milieu basique (pH=6,8)

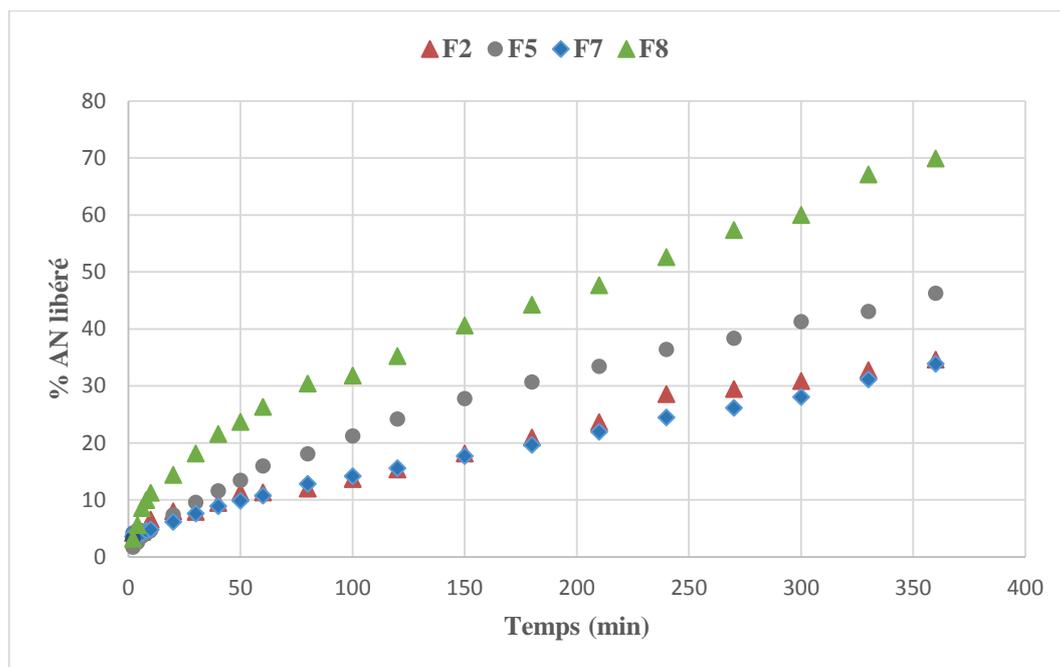
L'étude de la libération de l'AN est réalisée dans un milieu basique de pH=6,8 à base de (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/0.1M, NaOH/0.1M) à 37 °C selon le protocole détaillé précédemment. Les cinétiques de libération ont été réalisées dans un réacteur de libération. Les profils de libération de l'AN ont été tracés avec le pourcentage de l'AN libéré en fonction du temps. La libération en milieu basique a été faite pour les formulations ayant une meilleure teneur en principe actif (F2, F5, F7 et F8). Les taux de libération de l'agent actif ont été regroupés dans le tableau II.2.5.

**Tableau II.2.5** : Résultats des taux de libération de l'AN dans le milieu basique après 360min

Rapport EC/AN	N° formulation	Vitesse (rpm)	PVA (%)	% AN libéré
2:1	F2	800	0.25	34.61
	F5	1300	0.25	46.25
	F7	1700	0.1	33.86
	F8	1700	0.25	69.90

A partir des profils de libération (Fig. II.2.28) on observe que pour une même concentration d'agent émulsifiant (PVA, 0.25%), la vitesse de libération de l'AN augmente par l'augmentation de la vitesse d'agitation de 300 rpm à 1700 rpm de 34.61% à 69.90%. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que l'augmentation de la vitesse d'agitation produit des microsphères de petites tailles, et donc la surface de contact est plus importante ; donc l'actif encapsulé est rapidement libéré dans le milieu de dissolution (Subedi et al. 2016). En effet, l'augmentation de concentration de l'agent émulsifiant PVA de 0.1% à 0.25% engendre une augmentation de la libération de l'AN de 33.86% à 69.90% en comparant F7 et F8 pour les vitesses élevées. Les mêmes résultats ont été obtenus par les travaux de (Lee et al. 1999) qui ont démontré que l'augmentation de la concentration de PVA dans la phase aqueuse peut augmenter la surface de contact spécifique des microparticules qui sont de petites tailles.

En plus, le taux de libération dans le milieu basique est supérieur à celui observé en milieu acide mais reste toujours faible et surtout dans les formulations F2 et F7.



**Figure II.2.28** : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères EC/AN : 2/1 ; F2 (0.25% PVA, 800rpm), F5 (0.25% PVA, 1300rpm), F7 (0.1% PVA, 1700rpm) et F8 (0.25% PVA, 1700rpm), pH=6,8

Ces résultats montrent que chaque paramètre de formulation et du procédé impacte les propriétés des microsphères modifiant ainsi la cinétique de libération. L'essentialité repose sur le fait que la technique adaptée sous ces conditions opératoires nous a permis d'obtenir des libérations prolongées. Les données expérimentales tracées sur toutes les figures (pH=1,2) montrent que la concentration de l'AN évolue d'une façon presque linéaire jusqu'à 49% de libération au bout de 2h. Cette concentration atteindra ~70% après 5h en milieu simulé intestinal.

Pour aller plus loin dans nos investigations et pour comprendre le mécanisme de libération prolongée, plusieurs modèles mathématiques pour les profils de dissolution ont été sélectionnés afin d'évaluer la qualité de leur ajustement par rapport aux données de dissolution. Ils seront représentés dans la partie de modélisation.

#### 4. Conclusion

Dans le but de préparer des nouvelles formes pharmaceutiques à base d'un dérivé cellulosique qui est l'éthylcellulose chargées en acide niflumique nous avons utilisé le procédé de la microencapsulation. Des microsphères ont été élaborées par émulsion/évaporation de solvant. Plusieurs facteurs influencent la microencapsulation par évaporation de solvant dans l'émulsion simple tels que : type et concentration du polymère, nature du principe actif, le rapport polymère/PA., température, concentration de la phase externe, le solvant utilisé, la vitesse d'agitation... Des facteurs reliés au dispositif utilisé comme le type et le nombre des pales de l'agitateur peuvent avoir un impact sur le procédé. Dans ce travail, la vitesse d'agitation, la concentration de l'émulsifiant PVA et le rapport polymère/P.A ont été sélectionnés comme variables.

Les résultats expérimentaux ont confirmé l'encapsulation de l'agent actif dans l'éthylcellulose par FTIR, DRX et DSC et la formation des microsphères a été confirmée par analyse MEB. L'influence des paramètres adoptés sur les caractéristiques des microsphères (taille, morphologie et teneur en matière active, % libération) permettent de conclure que :

-La teneur en principe actif dépend surtout de la concentration du polymère dans la phase organique, des teneurs meilleures en principe actif ont été obtenues dans le rapport 2/1 où la teneur atteint 36.33 % pour la formulation F8 (1700 rpm, 0.25% PVA).

- La taille des microsphères a été affectée par les trois variables sélectionnées. L'augmentation de la vitesse d'agitation et la concentration de l'agent émulsifiant PVA engendrent une diminution de la taille des microsphères, en plus l'augmentation de la quantité du polymère dans la phase organique provoque une augmentation de la taille des microsphères.

La libération de l'AN à partir des différentes formulations est réalisée en milieu acide (pH= 1,2) et basique (pH=6,8) dans le but d'étudier l'influence des paramètres choisis sur les profils de libération, cette étude montre que :

- L'augmentation de la concentration de PVA influence la vitesse de libération de l'AN où cette dernière a été augmentée de 24% à 59% seulement dans les vitesses élevées (pH=1,2). En plus, l'augmentation de la concentration de l'agent émulsifiant PVA de 0.1% à 0.25% engendre une augmentation de la libération de l'AN de 33.86% à 69.90% dans le milieu basique (pH=6,8).

Caractérisation des microsphères EC/AN

---

- Pour les concentrations élevées de l'agent émulsifiant PVA (0.5%), l'élévation de la vitesse d'agitation engendre une libération rapide de l'AN à partir des microsphères (pH=1,2). Par contre, l'effet de la vitesse d'agitation est remarquable dans le milieu basique (pH=6,8) ; la libération de l'AN augmente par l'augmentation de la vitesse d'agitation de 34.61% à 69.90%.

-L'augmentation de la concentration du polymère produit des microsphères de grande taille dont la surface de contact est plus faible induisant une libération faible du P.A dans le milieu de dissolution. La libération de l'AN à partir des microsphères dans le milieu acide sera modélisée et traitée avec le plan d'expériences.



## Références

André-Abrant, A., Taverdet, J. L., & Jay, J. (2001). Microencapsulation par évaporation de solvant. *European polymer journal*, 37(5), 955-963.

Babu, V. R., Areefulla, S. H., & Mallikarjun, V. (2010). Solubility and dissolution enhancement: an overview. *Journal of pharmacy research*, 3(1), 141-145.

Banabid, W., Djerboua, F., Maiza, A., Bahri, Z. E., & Baitiche, M. (2017). Optimization and in-vitro evaluation of Poly (lactic acid)/Mesalazine microspheres as drug carriers. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 51(2), 46-63.

Barra, J., Falson-Rieg, F., & Doelker, E. (2000). Modified drug release from inert matrix tablets prepared from formulations of identical composition but different organisations. *Journal of controlled release*, 65(3), 419-428.

Benoit M.A., Baras B., Gillbard J., 1999. Preparation and characterization of protein-loaded poly( $\epsilon$ -caprolactone) microparticles for oral vaccine delivery, *Int. J. Pharm.*, 184, 73–84

Bhattacharyya, S., Ray, S., Gupta, B. K., & Ghosh, L. K. (2007). Design, evaluation and statistical optimisation of a controlled release multiparticulate acyclovir delivery system. *Latin American Journal of Pharmacy*, 26(6), 852.

Bile, J. (2015). Microencapsulation d'agent antimicrobien pour le développement de conditionnements primaires fonctionnalisés (Doctoral dissertation, Université Claude Bernard-Lyon I).

Biswas, R., and Kumar, K., S., (2018). Development and Characterization of Novel Herbal Formulation (Polymeric Microspheres) of Syzygium Cumini Seed Extract. *International Journal of Applied Pharmaceutics* 10(5): 226–34.

Bodmeier, R., & McGinity, J. W. (1988). Solvent selection in the preparation of poly (DL-lactide) microspheres prepared by the solvent evaporation method. *International journal of pharmaceutics*, 43(1-2), 179-186.

Capan, Yilmaz et al. 1999. "Influence of Formulation Parameters on the Characteristics of Poly(D,L-Lactide-Co-Glycolide) Microspheres Containing Poly(L-Lysine) Complexed Plasmid DNA." *Journal of Controlled Release* 60(2–3): 279–86.

Desavathu, Madhuri, Raghuvier Pathuri, and Mounika Chunduru. 2017. "Design, Development and Characterization of Valsartan Microsponges by Quasi Emulsion Technique and the Impact of Stirring Rate on Microsponge Formation." *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 7(1):193–98.

Dhanaraju, M. D., Sathyamoorthy, N., Sundar, V. D., & Suresh, C. (2010). Preparation of poly (epsilon-caprolactone) microspheres containing etoposide by solvent evaporation method. *Asian J. Pharm. Sci*, 5(3), 114-122.

El-Habashy, S. E., Allam, A. N., & El-Kamel, A. H. (2016). Ethyl cellulose nanoparticles as a platform to decrease ulcerogenic potential of piroxicam: formulation and in vitro/in vivo evaluation. *International journal of nanomedicine*, 11, 2369.

Erkan, G., & Sarıışık, M. (2015). Antifungal microcapsules of ethyl cellulose by solvent evaporation and their application to cotton fabric. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*.

Hinze, J. O. (1955). Fundamentals of the hydrodynamic mechanism of splitting in dispersion processes. *AIChE Journal*, 1(3), 289-295.

Huang, J., Wigent, R. J., & Schwartz, J. B. (2008). Drug-polymer interaction and its significance on the physical stability of nifedipine amorphous dispersion in microparticles of an ammonio methacrylate copolymer and ethylcellulose binary blend. *Journal of pharmaceutical sciences*, 97(1), 251-262.

Izumikawa, S., Yoshioka, S., Aso, Y., & Takeda, Y. (1991). Preparation of poly (l-lactide) microspheres of different crystalline morphology and effect of crystalline morphology on drug release rate. *Journal of controlled release*, 15(2), 133-140.

Jeffery H., Davis S.S., O'Hagan D.T., 1993. The preparation and characterization of poly(lactide-co-glycolide) microparticles: II. The entrapment of a model protein using a (water-in-oil)-in water emulsion solvent evaporation technique, *Pharm. Res.*, 10, 362-368.

Jeffery, H., S. S. Davis, and D. T. O'Hagan. 1991. "FACTORS INFLUENCING THE SIZE OF PLGA MPs." *International Journal of Pharmaceutics* 77(2-3): 169-75.

Jelvehgari, M., Hassanzadeh, D., Kiafar, F., Loveym, B. D., & Amiri, S. (2011). Preparation and determination of drug-polymer interaction and in-vitro release of mefenamic acid microspheres made of celluloseacetate phthalate and/or ethylcellulose polymers. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 10(3), 457.

Kacso, I., Rus, L., Pop, M., Borodi, G., & Bratu, I. (2012). Structural characterization of ambazone salt with niflumic acid. *Journal of Spectroscopy*, 27(1), 49-58.

Khoukhi, O. E., El Bahri, Z., Diaf, K., & Baitiche, M. (2016). Piroxicam/ $\beta$ -cyclodextrin complex included in cellulose derivatives-based matrix microspheres as new solid dispersion-controlled release formulations. *Chemical Papers*, 70(6), 828-839.

Kim, B. K., S. J. Hwang, J. B. Park, and H. J. Park. 2005. "Characteristics of Felodipine-Located Poly( $\epsilon$ -Caprolactone) Microspheres." *Journal of Microencapsulation* 22(2): 193–203.

Le Corre, P. et al. 1994. "Preparation and Characterization of Bupivacaine-Loaded Polylactide and Polylactide-Co-Glycolide Microspheres." *International Journal of Pharmaceutics* 107(1): 41–49.

Le Ray, A. M., Chiffolleau, S., Iooss, P., Grimandi, G., Gouyette, A., Daculsi, G., & Merle, C. (2003). Vancomycin encapsulation in biodegradable poly ( $\epsilon$ -caprolactone) microparticles for bone implantation. Influence of the formulation process on size, drug loading, in vitro release and cytocompatibility. *Biomaterials*, 24(3), 443-449.

Lee, S. C., Oh, J. T., Jang, M. H., & Chung, S. I. (1999). Quantitative analysis of polyvinyl alcohol on the surface of poly (D, L-lactide-co-glycolide) microparticles prepared by solvent evaporation method: effect of particle size and PVA concentration. *Journal of Controlled Release*, 59(2), 123-132.

Li, M., Rouaud, O., & Poncelet, D. (2008). Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches. *International Journal of pharmaceutics*, 363(1-2), 26-39.

Mahnaj, T., Ahmed, S. U., & Plakogiannis, F. M. (2013). Characterization of ethyl cellulose polymer. *Pharmaceutical development and technology*, 18(5), 982-989.

Murtaza, G. (2012). Ethylcellulose microparticles: a review. *Acta Pol Pharm*, 69(1), 11-22. Noyes, Arthur A., and Willis R. Whitney. 1897. "The Rate of Solution of Solid Substances in Their Own Solutions." *Journal of the American Chemical Society* 19(12): 930–34.

Noyes, A. A., & Whitney, W. R. (1897). The rate of solution of solid substances in their own solutions. *Journal of the American Chemical Society*, 19(12), 930-934.

Pachau, Laldusanga, and Bhaskar Mazumder. 2009. "A Study on the Effects of Different Surfactants on Ethylcellulose Microspheres." *International Journal of PharmTech Research* 1(4): 966–71.

Rodríguez, Marta, José L. Vila-Jato, and Dolores Torres. 1998. "Design of a New Multiparticulate System for Potential Site-Specific and Controlled Drug Delivery to the Colonic Region." *Journal of Controlled Release* 55(1): 67–77

Sendil, D., Gürsel, I., Wise, D. L., & Hasırcı, V. (1999). Antibiotic release from biodegradable PHBV microparticles. *Journal of Controlled Release*, 59(2), 207-217.

Subedi, G., Shrestha, A. K., & Shakya, S. (2016). Study of effect of different factors in formulation of micro and nanospheres with solvent evaporation technique. *Open Pharmaceutical Sciences Journal*, 3(1).

Tekade, B. et al. 2013. "Design and In-Vitro Evaluation of Ethyl Cellulose Based Floating Microspheres Containing Antidiabetic Drug." *Asian journal of biomedical and pharmaceutical sciences* 3(23): 33–37.

Thakare, M., Israel, B. E., Garner, S., Ahmed, H., Elder, D., & Capomacchia, A. (2017). Nonionic surfactant structure on the drug release, formulation and physical properties of ethylcellulose microspheres. *Pharmaceutical development and technology*, 22(3), 418-425.

Thompson, C. J., Hansford, D., Higgins, S., Rostron, C., Hutcheon, G. A., & Munday, D. L. Préparation des microsphères d'acide niflumique avec l'éthylcellulose (2007). Evaluation of ibuprofen-loaded microspheres prepared from novel copolyesters. *International journal of pharmaceutics*, 329(1-2), 53-61.

Trivedi, Mahendra Kumar et al. 2015. "Characterization of Physicochemical and Thermal Properties of Biofield Treated Ethyl Cellulose and Methyl Cellulose." *International Journal of Biomedical Materials Research* 3(6): 83–91.

Vane, J. R. (2000). The mechanism of action of anti-inflammatory drugs. In *Advances in eicosanoid research* (pp. 1-23). Springer, Berlin, Heidelberg.

Vysloužil, J., Doležel, P., Kejdušová, M., Mašková, E., Mašek, J., Lukáč, R., & Dvořáčková, K. (2014). Influence of different formulations and process parameters during the preparation of drug-loaded PLGA microspheres evaluated by multivariate data analysis. *Acta Pharmaceutica*, 64(4), 403-417.

Yadav, A. V., A. S. Shete, A. P. Dabke, and V. R. Shinde. 2009. "Formulation and In-Vitro Evaluation of Aceclofenac Microcapsules." *International Journal of PharmTech Research*, 1(2): 135–38.

Yang, C. Y., Tsay, S. Y., & Tsiang, R. C. (2000). An enhanced process for encapsulating aspirin in ethyl cellulose microcapsules by solvent evaporation in an O/W emulsion. *Journal of microencapsulation*, 17(3), 269-277.

Yang, Y. Y., Chung, T. S., & Ng, N. P. (2001). Morphology, drug distribution, and in vitro release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method. *Biomaterials*, 22(3), 231-241.

## Chapitre 3

# Caractérisation des microsphères à base d'EC/HPMC/AN et d'EC/ $\beta$ -CD/AN

## 1. Introduction

De nombreux efforts de recherche ont été faits pour prolonger le temps de rétention du médicament dans le tractus gastro-intestinal. Une des telles approches est la préparation d'une formulation qui demeure flottante dans le contenu de l'estomac à cause de sa faible densité par rapport aux fluides biologiques (Desai et al. 1993).

Un système de délivrance flottant peut surmonter la libération rapide dans l'estomac, notamment pour les AINS. Il a été rapporté qu'un système de matrices utilisé dans la préparation des microsphères est plus efficace dans la prolongation de la libération du P.A, tout en augmentant sa biodisponibilité, lorsque les microsphères résistent à l'attaque du milieu gastrique, flottent dans l'estomac et passent progressivement dans les intestins (Kumar et al. 2008).

Les microsphères des mélanges polymériques ont donc reçu une très grande attention pour leur capacité à prolonger la libération du P.A. L'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC) et l'EC ont été déjà exploré dans la microencapsulation par évaporation de solvant en utilisant la cimetidine comme P.A à des proportions EC/HPMC de 1/1 ; 1/2 et 1/3. Il a été rapporté que l'incorporation de la quantité d'HPMC (hydrophile et gonflable) dans l'EC (hydrophobe et non gonflable), permet d'obtenir des microsphères de faible densité, ce qui permet leur passage rapide dans le milieu intestinal sans avoir eu le temps de s'éroder dans l'estomac. Cependant à des taux élevés en HPMC, cet avantage diminue ( Kousar et al. 2013) . D'autres travaux ont pu établir que l'HPMC utilisé entre 0.4% et 2.4% joue le rôle d'un polymère tensioactif en stabilisant l'émulsion lors du procédé de microencapsulation (Sansdrap et Moës 1993).

L'utilisation de la  $\beta$ -cyclodextrine ou ses dérivées pour l'encapsulation d'un P.A dans le procédé d'émulsion évaporation de solvant est une méthode déjà utilisée (co-encapsulation) afin d'améliorer la solubilité de la dihydrocrotonine co-encapsulé dans la  $\beta$ -CD et le PLGA (Morais et al. 2017).

Dans ce chapitre nous avons présenté les résultats de la microencapsulation par évaporation de solvant dans l'émulsion simple de l'AN en utilisant l'EC comme polymère encapsulant de base et l'alcool polyvinylique (PVA) comme agent stabilisant dans la phase externe avec une concentration constante de 2.5%. Dans ces formulations, l'HPMC ou la  $\beta$ -CD ont été ajoutés dans l'éthylcellulose à différents rapports. L'HPMC a été utilisé comme copolymère mais à deux proportions seulement 5% et 30%.

La  $\beta$ -CD peut être employée pour améliorer la solubilité et la dissolution des substances actives hydrophobes comme l'AN (Kata et al. 2002). Nous avons choisi d'étudier l'influence des paramètres conditionnant l'encapsulation : la vitesse d'agitation, l'effet de la variation de concentration de l'HPMC ou de la  $\beta$ -CD dans l'éthylcellulose et le rapport polymère/AN dans les microsphères formulées dans les objectifs suivants :

- Préparation des microsphères d'EC par évaporation de solvant dans l'émulsion simple avec l'utilisation de l'HPMC comme co-polymère.
- Préparation des microsphères de l'EC et la complexation avec la  $\beta$ -CD par la méthode émulsion évaporation de solvant (double encapsulation).
- Evaluation des microsphères obtenues avec FTIR, DSC, DRX et études de l'influence des paramètres sélectionnés sur la morphologie, la taille et la teneur en matière active et ainsi sur les profils de libération.



## 2. Résultats de quantification des microsphères à base EC/HPMC et EC/ $\beta$ -CD

Des microparticules d'EC/HPMC et d'EC/ $\beta$ -CD chargées par l'acide niflumique ont été obtenues par le procédé de microencapsulation par émulsion évaporation de solvant. Les résultats de rendement et de teneur en substance active des différentes microparticules obtenues sont regroupés dans le tableau II.3.1 suivant en spécifiant les paramètres de préparation.

**Tableau II.3.1** : Rendement en %, Teneur du principe actif % dans les microsphères d'EC/HPMC et d'EC/ $\beta$ -CD

matrice : PA (m :m)	N° Lot	% HPMC ou $\beta$ -CD dans EC	Vitesse (rpm)	Rendement (%)	Teneur en PA (%)
EC/HPMC: AN 2 :0.2	Lot 01	5% HPMC	300	86.36	6.97
	Lot 02	5% HPMC	800	30.9	4.42
	Lot 03	30% HPMC	300	59.09	1.81
	Lot 04	30% HPMC	800	59.54	8.42
EC/HPMC: AN 2:0.5	Lot 05	5% HPMC	300	92.08	23.05
	Lot 06	5% HPMC	800	85.62	16.43
	Lot 07	30% HPMC	300	66.89	12.23
	Lot 08	30% HPMC	800	69.63	20.75
EC/HPMC: AN 2:1	Lot 09	5% HPMC	300	80.00	31.75
	Lot 10	5% HPMC	800	87.66	33.34
	Lot 11	30% HPMC	300	94.00	42.62
	Lot 12	30% HPMC	800	66.66	45.39
EC/ $\beta$ -CD: AN 2:0.5	Lot 13	5% $\beta$ -CD	300	91.92	18.69
	Lot 14	5% $\beta$ -CD	800	81.30	13.10
	Lot 15	30% $\beta$ -CD	300	96.80	18.98
	Lot 16	30% $\beta$ -CD	800	74.90	21.16

## 2.1 Effet de la variation des paramètres du procédé sur le rendement

Les résultats des différentes formulations montrent que : le rendement en pourcentage des microsphères à base d'EC/HPMC varie de 30.9% à 94.00% et de 74.90% à 96.80% pour les microsphères à base d'EC/ $\beta$ -CD. Ces valeurs sont affectées par les paramètres du procédé ainsi que par les formulations.

### 2.1.1 Effet de la vitesse d'agitation

Pour un même rapport EC/HPMC, l'augmentation de la vitesse d'agitation engendre une diminution du pourcentage de rendement (Lot 01 et Lot 02) et ceci pour la plupart des formulations (Lot 05, Lot 06) et (Lot 11, Lot 12). Cet impact n'est pas vraiment significatif pour les autres lots. La valeur de 94% observée pour le Lot11 avec un taux d'HPMC de 3% et une vitesse de 300 rpm est réconfortante quand à l'optimisation des conditions opératoires de ce procédé.

Il a été rapporté (Akash 2013) qu'une augmentation de la vitesse d'agitation peut diminuer le rendement de la microencapsulation ; ce qui est associé à la formation des microsphères de très faible taille qui sont perdues durant le processus de lavage.

Dans le cas des formulations contenant la  $\beta$ -CD, on remarque aussi que le rendement de la microencapsulation diminue en augmentant la vitesse d'agitation. Il a été démontré (Inoue et al. 2008) que la  $\beta$ -CD joue le rôle d'un agent émulsifiant en réduisant la taille des microparticules dispersées. On peut conclure que cet effet associé à une forte vitesse d'agitation peut engendrer des microparticules de très petites tailles qui pourront être éliminées après lavage, ce qui diminuera le rendement. Un meilleur rendement atteint 96% dans les concentrations élevées de  $\beta$ -CD à 300rpm (EC/ $\beta$ -CD-30%). Ces conditions de (rapport EC/AN :2/1 et la concentration de 30% de  $\beta$ -CD) sont retenues pour l'obtention des microsphères de l'AN à base EC/ $\beta$ -CD

### 2.1.2 Effet de la concentration du polymère

Pour les microsphères à base EC/HPMC, l'augmentation de la concentration d'HPMC dans l'EC engendre une diminution du rendement pour les vitesses basses où ce dernier diminue de 86% à 59% (Lot 01, Lot 03) mais un effet inverse a été obtenu dans les vitesses élevées (800 rpm) pour un même rapport (**2 :0.2**). Dans les microsphères préparées avec le rapport **2 :0.5**, la variation de concentration d'HPMC de 5% à 30% dans l'EC engendre une diminution de rendement en comparant (Lot 05, Lot 07) et (Lot06, Lot 08) respectivement.

## 2.2 Effet de la variation des paramètres du procédé sur la teneur en acide niflumique

Les résultats de la teneur en principe actif des différentes microsphères sont représentés dans le tableau (Tabl. II.3.1). Ils varient de 1.81 % à 45.39 % avec la variation de la concentration de l'AN, d'HPMC et de  $\beta$ -CD dans l'éthylcellulose et de la vitesse d'agitation (300-800 rpm)

### 2.2.1 Effet de la vitesse d'agitation

Dans les concentrations faibles (5%) d'HPMC ou de  $\beta$ -CD dans l'EC, l'augmentation de la vitesse d'agitation de 300 rpm à 800 rpm provoque une diminution de la teneur en principe actif où la teneur diminue de 6% à 4% (Lot 01, Lot 02) pour le rapport **2 :0.2** et de 23% à 16% (Lot 05, Lot 06) pour le rapport **2 :0.5** et de 18% à 13% pour les formulations à base d'EC/ $\beta$ -CD préparées avec le rapport **2 :0.5**. Ces résultats sont en concordance avec la littérature. Ils démontrent qu'une augmentation de la vitesse d'agitation a pour conséquence une diminution du taux du principe actif (Le Corre et al. 1994). En effet, lorsque la vitesse est accélérée la taille des particules diminue donc, la surface de contact entre la phase organique et la phase aqueuse augmente et le transfert du principe actif vers la phase externe est favorisé (André-Abrant et al. 2001).

Par ailleurs, on observe des effets inverses dans les formulations préparées avec le rapport **2:1** où l'augmentation de la vitesse d'agitation engendre une faible augmentation de la teneur en P.A qui varie de 31% à 33% (Lot 09, Lot 10). Les mêmes observations ont été signalées pour les concentrations élevées (30%) d'HPMC ou de  $\beta$ -CD; l'augmentation de la vitesse d'agitation améliore la teneur en principe actif dans toutes les formulations préparées à différents rapports polymère/P.A ; la teneur varie de 1% à 8% (Lot 03, Lot 04), de 12% à 20% (Lot 07, Lot 08), de 42% à 45% (Lot 11, Lot 12) et de 18% à 21% pour les microsphères à base EC/ $\beta$ -CD 30%.

### 2.2.2 Effet de la concentration d'HPMC ou de la $\beta$ -CD

Pour les vitesses basses d'agitation (300 rpm), l'augmentation de la concentration d'HPMC ou de la  $\beta$ -CD dans l'EC de 5% à 30% n'a pas d'effet remarquable sur la teneur en matière active. Un seul effet positif et important a été obtenu dans les formulations Lot 09 et Lot 11 préparées avec le rapport **2/1** où la teneur de substance active augmente de 31% à 42%. Le même résultat a été obtenu pour les vitesses accélérées d'agitation (800 rpm), l'effet de la concentration d'HPMC ou de la  $\beta$ -CD dans l'EC est important où la teneur en P.A dans les microsphères augmente significativement par l'augmentation de la concentration d'HPMC ou

de la  $\beta$ -CD dans l'EC pour toutes les formulations préparées avec différents rapports. En effet, l'augmentation de la quantité d'HPMC ou de la  $\beta$ -CD engendre une phase organique davantage visqueuse (Rodríguez et al. 1998) qui réduit la diffusion de solvant vers la phase aqueuse externe et par la suite la substance active a plus de probabilité de s'occlure dans le polymère ce qui résulte en une teneur élevée. En effet, les mêmes résultats ont été obtenus par d'autres auteurs ( Akash 2013; Khoukhi et al. 2016).

Pour les concentrations élevées d'HPMC ou de  $\beta$ -CD (30%), les formulations à bases EC/ $\beta$ -CD 30%, donnent des meilleures teneurs en principe actif en comparant avec celles qui sont préparées avec EC/HPMC30% formulées dans les mêmes conditions. Ceci peut être attribué à l'inclusion d'une partie de principe actif dans la couronne de la  $\beta$ -CD, et en même temps dans les microsphères.

### 2.2.3 Effet de la concentration de la substance active (AN)

Pour les microsphères à base d'EC/HPMC, les résultats obtenus montrent que l'augmentation de la quantité de la substance active dans la phase organique engendre une augmentation de la teneur en principe actif pour tous les différents rapports des deux polymères. En effet, une teneur importante a été obtenue dans les formulations préparées avec 50% de concentration de l'AN (Lot 09, Lot 10, Lot 11 et Lot 12) ce qui dû principalement à la quantité élevée de l'AN dans la phase organique dans ces microsphères par rapport aux autres formulations.

## 3. Résultats de la caractérisation des microsphères de l'AN à base EC/HPMC et EC/ $\beta$ -CD

### 3.1 Taille et distribution en taille des microparticules

Le diamètre et la distribution des formulations établies par microscopie optique dépendent des paramètres étudiés : la vitesse d'agitation, % HPMC ou  $\beta$ -CD et le rapport polymère/PA. Pour les formulations préparées on a distingué différentes classes de microsphères de diamètres différents, on compte le nombre de microsphères de chaque classe ( $n_i$ ), le centre de classe ( $d_i$ ) puis l'effectif ( $n_i$ ). Les calculs sont représentés dans l'annexe.

Les résultats les plus significatifs de la taille en termes de diamètres moyens en nombre ( $d_{10}$ ), en surface ( $d_{32}$ ), en masse ( $d_{43}$ ) et la dispersion sont donnés dans le Tab. II.3.2.

**Tableau II.3.2** : Diamètre moyen en nombre ( $d_{10}$ ), en surface ( $d_{32}$ ), en masse ( $d_{43}$ ) et la dispersion  $\delta$  des différentes microsphères EC/HPMC et EC/ $\beta$ -CD

polymère :AN (m:m)	N° Lots	Vitesse (rpm)	$d_{10}$ ( $\mu\text{m}$ )	$d_{32}$ ( $\mu\text{m}$ )	$d_{43}$ ( $\mu\text{m}$ )	Dispersion $\delta$
EC/HPMC:NA 2:0.2	Lot 01	300	825.0	1056.8	1113.1	1.35
	Lot 02	800	233.0	807.3	1126.4	4.84
	Lot 03	300	1004.2	1368.4	1430.0	1.42
	Lot 04	800	286.3	386.8	446.5	1.56
EC/HPMC:NA 2 :0.5	Lot 05	300	303.3	379.1	744.2	2.45
	Lot 06	800	230.5	369.4	474.8	2.06
	Lot 07	300	350.0	479.9	540.8	1.55
	Lot 08	800	295.0	426.7	577.4	1.96
EC/HPMC:NA 2:1	Lot 09	300	468.5	658.4	709.5	1.51
	Lot 10	800	271.4	328.1	345.5	1.27
	Lot 11	300	796.7	1,284.3	1,471.8	1.85
	Lot 12	800	477.0	625.9	691.4	1.45
EC/ $\beta$ CD:NA 2:0.5	Lot 13	300	326.8	520.1	602.2	1.84
	Lot 14	800	307.4	463.0	529.6	1.72
	Lot 15	300	356.8	466.6	522.8	1.47
	Lot 16	800	187.7	241.8	284.2	1.51

La taille des microparticules et le diamètre moyen en nombre ( $d_{10}$ ) varient de 187.7  $\mu\text{m}$  à 1004.2 $\mu\text{m}$  avec la variation des paramètres : vitesse d'agitation, concentration d'HPMC ou de la  $\beta$ -CD dans l'EC et le rapport polymère/PA sont discutés ci-après.

### 3.1.1 Effet de la vitesse d'agitation

Pour une même concentration d'HPMC, le diamètre moyen ( $d_{10}$ ) est effectivement diminué quand la vitesse d'agitation de l'émulsion a été augmentée. Par exemple le diamètre moyen diminue de 825.0  $\mu\text{m}$  à 233.0 $\mu\text{m}$  en comparant (Lot 01 et Lot 02), de 350 $\mu\text{m}$  à 295 $\mu\text{m}$  pour les (Lot 07 et Lot 08) et de 796.7 $\mu\text{m}$  à 477 $\mu\text{m}$  pour les lots (Lot 11 et Lot 12) respectivement. Le même résultat a été obtenu pour les formulations à base d'EC/  $\beta$ -CD où le diamètre moyen diminue de 326.8 $\mu\text{m}$  à 307.4 $\mu\text{m}$  en comparant Lot 13 et Lot 14 et de 356.8 $\mu\text{m}$  à 187.7 $\mu\text{m}$  en comparant Lot 15 et Lot 16. Ces résultats confortent la théorie de rupture des gouttelettes lors d'une émulsion (Hinze 1955). Cette observation a été prouvée dans les travaux de (Zhang et al. 2005) qui ont démontré que la taille des particules diminue lorsque la vitesse d'agitation augmente.

### 3.1.2 Effet de la concentration de l'HPMC ou de la $\beta$ -CD

Pour les microsphères à base d'EC/HPMC (pour une même vitesse d'agitation,) l'effet de l'augmentation de la concentration d'HPMC dans l'EC de 5% à 30% augmente nettement la taille des microsphères dans toutes les formulations préparées où le diamètre moyen est augmenté de 825.0 $\mu\text{m}$  à 1004.2 $\mu\text{m}$  (Lot 01, Lot 03, 800 rpm), de 230.5 $\mu\text{m}$  à 295.0 $\mu\text{m}$  (Lot 06, Lot 08, 800 rpm) et de 468.5  $\mu\text{m}$  à 796.7 $\mu\text{m}$  (Lot 09, Lot 11, 300 rpm) par exemple. Il a été rapporté qu'il est très probable qu'une concentration trop importante en polymère stabilisant dans le milieu augmente les probabilités d'interaction et donc de la coalescence (Maia et al. 2004).

Concernant les microsphères à base d'EC/  $\beta$ -CD, il a été obtenu que l'augmentation de la concentration de la  $\beta$ -CD de 5% à 30% dans l'EC augmente légèrement le diamètre moyen de 326.8 $\mu\text{m}$  à 356.8 $\mu\text{m}$  (Lot 13 et Lot 15) pour les vitesses basses d'agitation. Un effet inverse et remarquable a été obtenu pour les vitesses élevées, où le diamètre moyen diminue de 307.4 $\mu\text{m}$  à 187.7 $\mu\text{m}$  (Lot 14 et Lot 16) par l'augmentation de la concentration de la  $\beta$ -CD dans l'EC, l'effet de l'augmentation de la concentration de la  $\beta$ -CD et de la vitesse accélérée diminue fortement le diamètre moyen dans ces formulations.

À partir des résultats des diamètres moyens des microsphères à base d'EC/HPMC et d'EC/  $\beta$ -CD préparées dans les mêmes conditions, il a été conclu que l'augmentation de la concentration de la  $\beta$ -CD dans l'EC n'a pas d'effet remarquable sur le diamètre moyen ( $d_{10}$ )

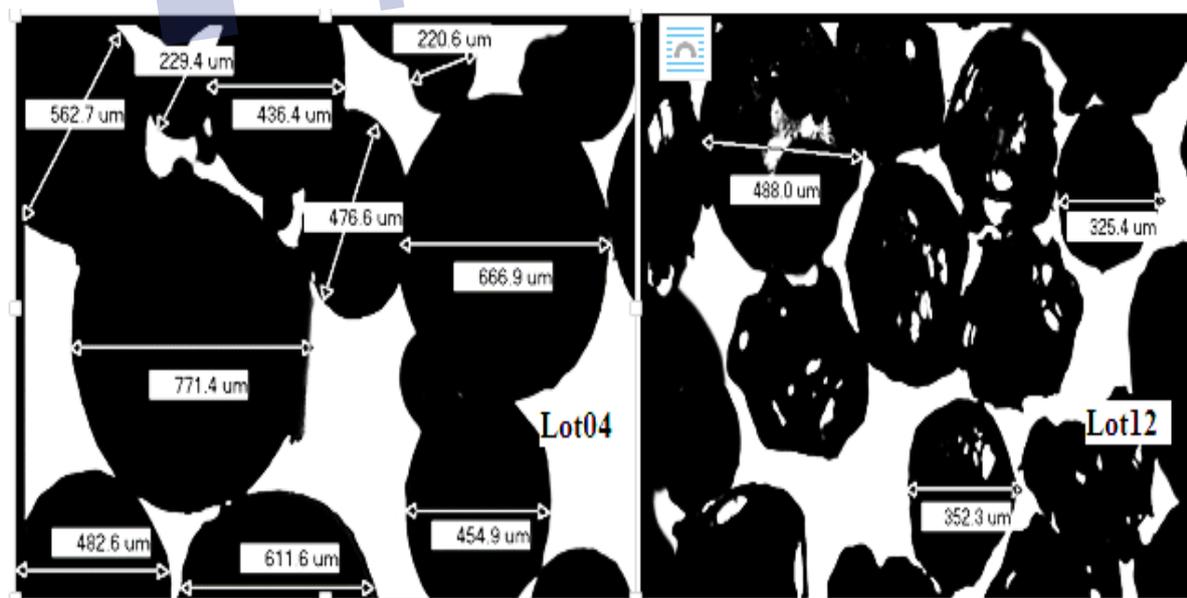
par contre l'utilisation de l'HPMC (co-matrice) augmente nettement le diamètre moyen des microsphères et donne des diamètres moyens supérieurs à ceux obtenus avec la  $\beta$ -CD.

### 3.2 Morphologie, sphéricité et surface des microsphères

Les images enregistrées sous microscope optique (Fig. II.3.1, II.3.2) montrent des microsphères dont le diamètre moyen varie d'un lot à un autre. La taille des microsphères est affectée par la vitesse d'agitation d'une part et par la concentration d'HPMC et de  $\beta$ -CD d'autre part comme il est démontré par le calcul de la taille moyenne de chaque formulation.

Des microsphères d'EC/HPMC et d'EC/ $\beta$ -CD obtenues dont le diamètre moyen  $d_{10}$  varie de 187.8  $\mu\text{m}$  à 1004.2  $\mu\text{m}$ , sont apparues avec une forme sphérique à l'exception des formulations (lot 11 et lot 12) préparées dans les concentrations élevées d'HPMC (30%) où l'on observe des formes irrégulières contenant de petites perforations. Ce résultat peut être expliqué par la solubilité aqueuse de l'HPMC, ce qui peut causer des cavités internes et externes et des irrégularités de surface.

L'analyse par microscopie électronique à balayage confirme ces observations, on remarque pour les microsphères à base d'EC/HPMC (Fig. II.3.3) la présence d'une surface rugueuse et des formes irrégulières, on constate aussi la porosité de la surface des microsphères à base d'EC/ $\beta$ -CD (Fig. II.3.4).



**Figure II.3.1** : Micrographies des microsphères prise par microscopie optique pour les formulations : Lot 04 et Lot 12 (EC/HPMC/AN)

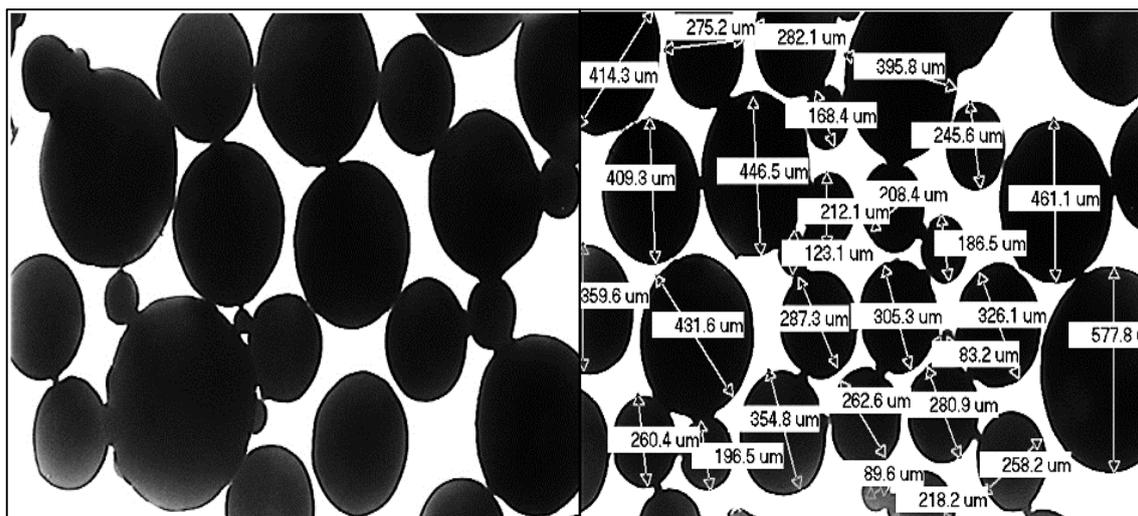


Figure II.3.2 : Micrographies des microsphères prise par microscopie optique pour le Lot 14 (EC/ $\beta$ -CD/AN)

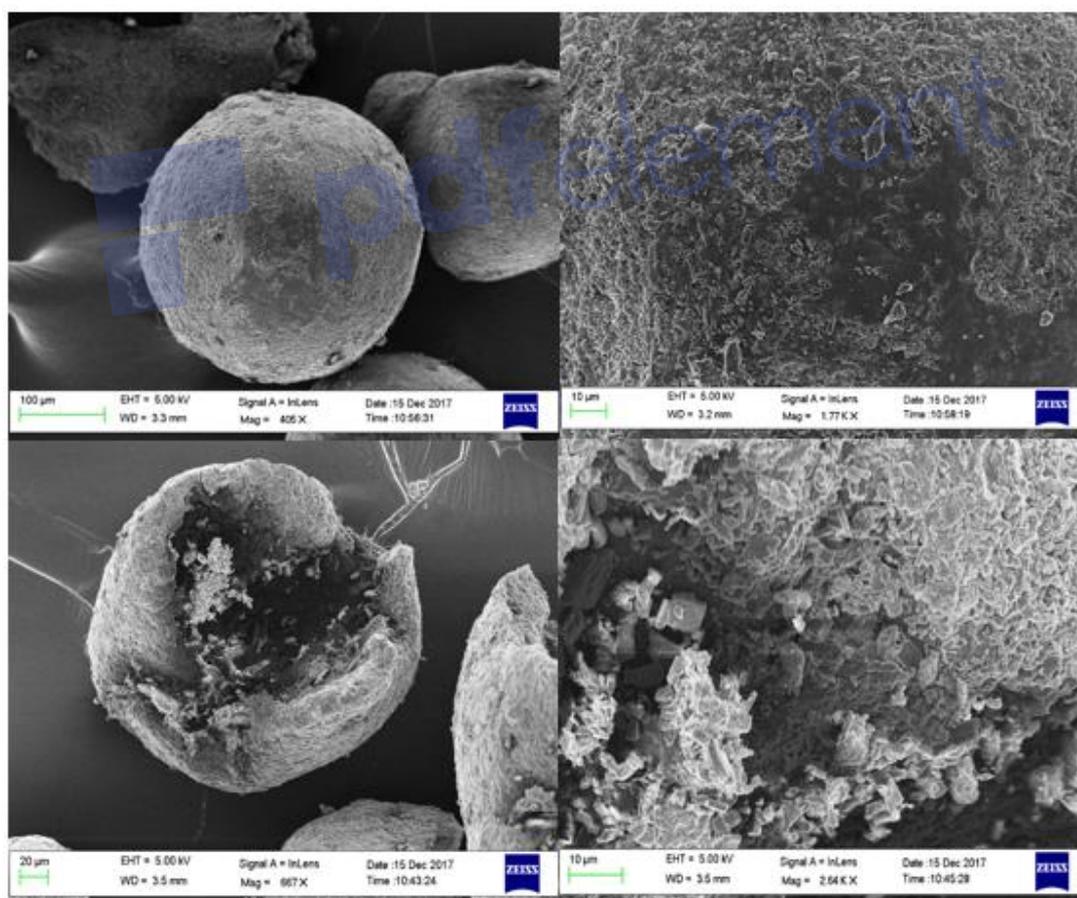
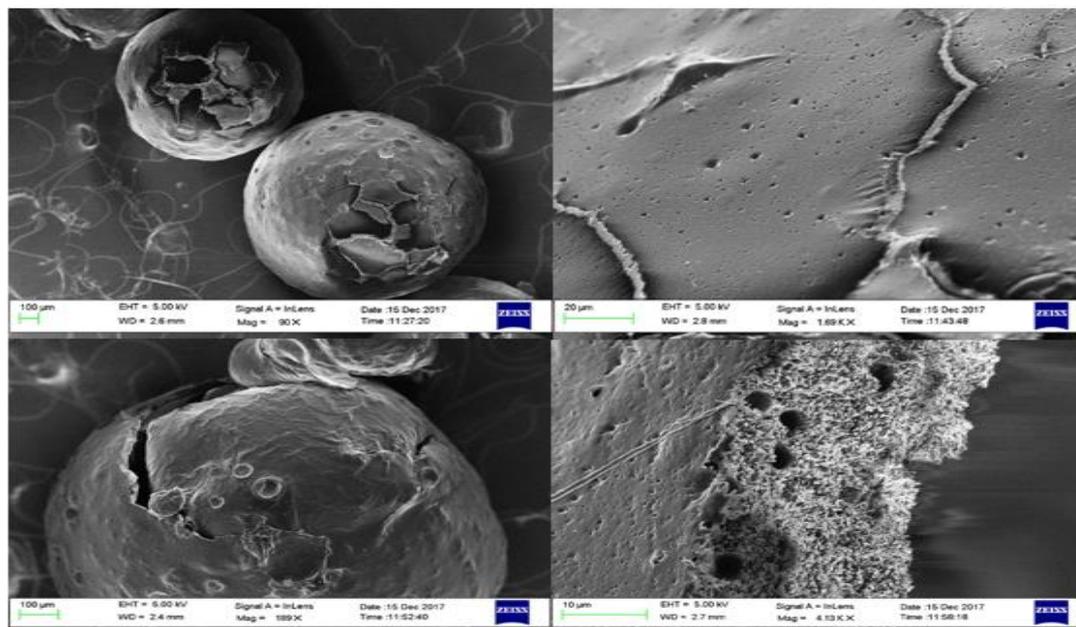


Figure II.3.3 : Micrographies MEB des microsphères à base EC/HPMC (Lot 04, Lot 12)



**Figure II.3.4** : Micrographies MEB des microsphères à base d'EC/ $\beta$ -CD (Lot 15)

### 3.3 Identification de l'agent encapsulé par spectroscopie Infrarouge

Les spectres FTIR de l'AN et de l'EC sont représentés dans les Figures (Fig. II.3.5 et II.3.6).

Pour le spectre FTIR de l'HPMC (Fig. II.3.7), une large bande à  $3450\text{ cm}^{-1}$  représente la vibration d'élongation des liaisons alcool (O-H) du cycle heteroside rappelant les structures d'un dérivé cellulosique. Des vibrations d'élongation  $\text{CH}_2$  du groupement  $\text{CH}_2\text{OH}$  à  $2929\text{ cm}^{-1}$ . A  $1065\text{ cm}^{-1}$ , on observe la déformation de l'eau liée présente dans les polysaccharides. A  $1220\text{ cm}^{-1}$  on trouve l'élongation (forte) C-O-C de la fonction ether.

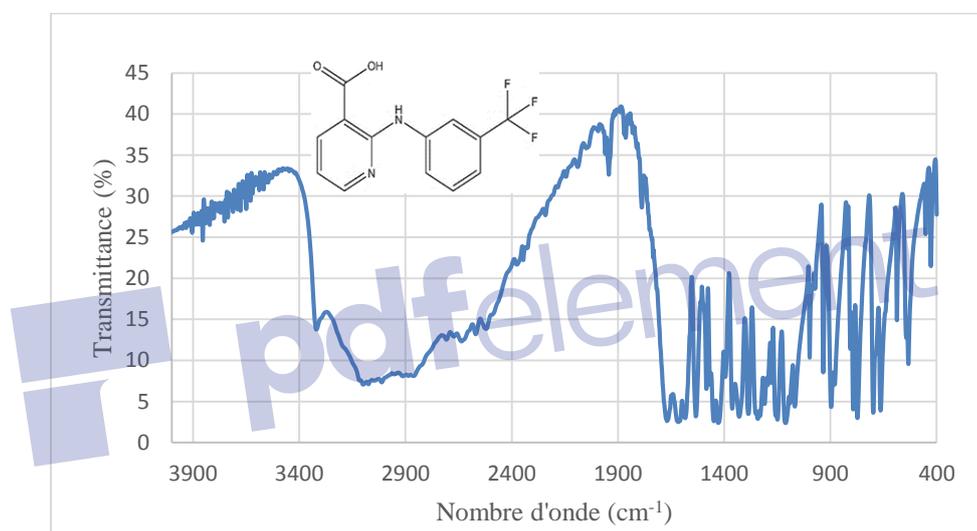
Le spectre FTIR de la  $\beta$ -CD pur (Fig. II.3.8) indique une large bande à  $3381\text{ cm}^{-1}$  correspondant à la vibration d'élongation des liaisons OH (forte), la bande à  $2918\text{ cm}^{-1}$  représente la vibration d'élongation de la liaison C-H aliphatique. La bande à  $1652\text{ cm}^{-1}$  est associée à la vibration des liaisons H-O-H dans la cavité de la  $\beta$ -CD. D'autres bandes sont observées à  $1418\text{ cm}^{-1}$  vibration de la liaison C-H du  $\text{CH}_2$ ,  $\delta$  C-H du (-O—CH-) à  $1337\text{ cm}^{-1}$  et  $\delta$  (-O—C-) à  $1302\text{ cm}^{-1}$ . Les bandes entre  $1158\text{--}1028\text{ cm}^{-1}$  correspondent aux vibrations d'élongation de C—O, à  $1078\text{ cm}^{-1}$  on attribue la vibration d'élongation de C-O-C (liaison  $\alpha$ -1,4) (Wang et al., 2011).

En observant les spectres FTIR des microsphères du lot 09 (HPMC/EC/AN) et des microsphères de la formulation du Lot 14 (EC/ $\beta$ -CD) (Fig. II.3.9 et II.3.10), on constate que les bandes spécifiques de l'AN comme : les deux bandes d'absorption asymétrique et symétrique à

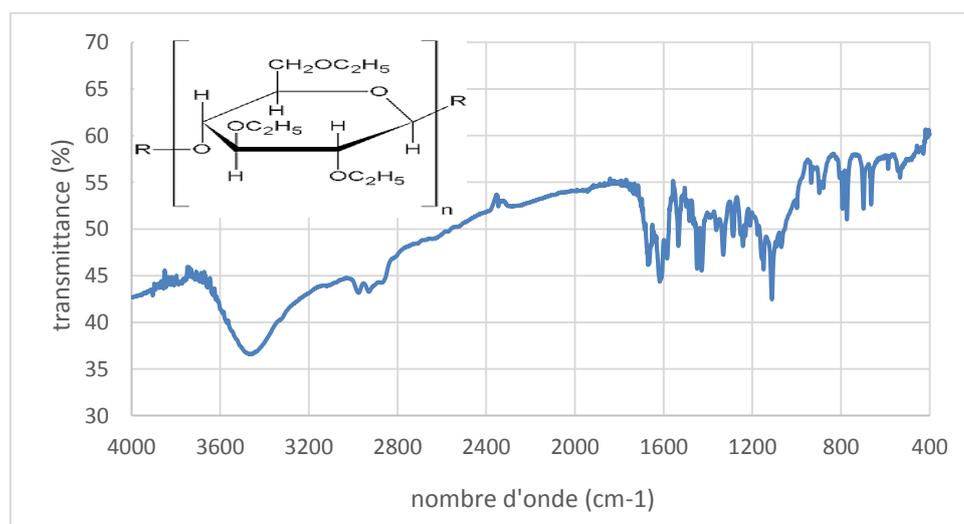
Caractérisation des microsphères à base d'EC/HPMC/AN et d'EC/ $\beta$ -CD/AN

1350  $\text{cm}^{-1}$  et 1100  $\text{cm}^{-1}$ , respectivement de la fonction C-F. Deux bandes fines intenses à 1670 $\text{cm}^{-1}$  et 1600  $\text{cm}^{-1}$  attribuées à la fonction carboxylique (vibration d'élongation C=O) et la fonction amine N-H secondaire. Ceci est une preuve de l'existence effective du principe actif dans les microsphères.

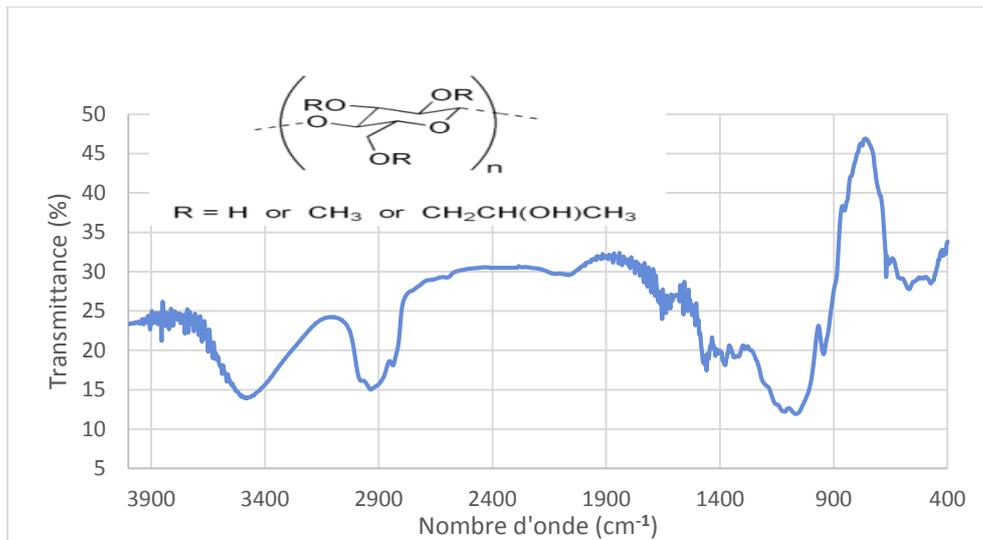
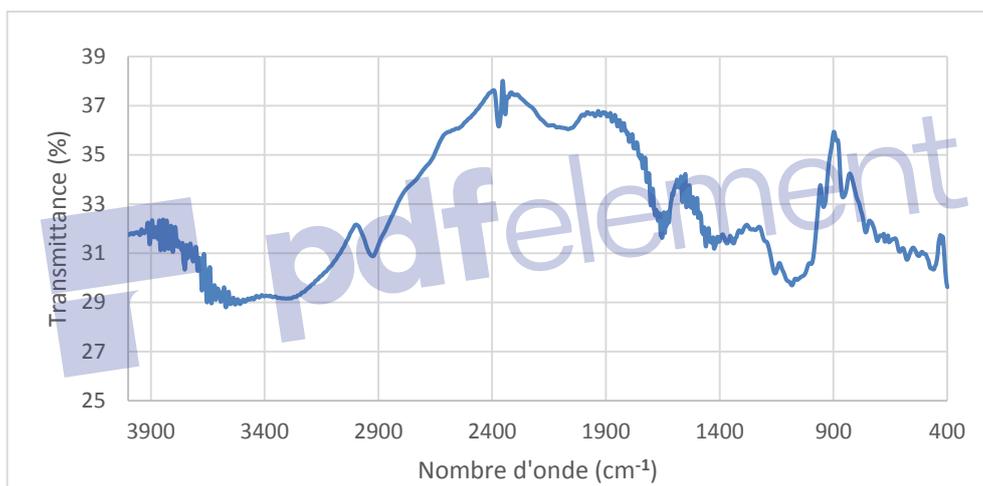
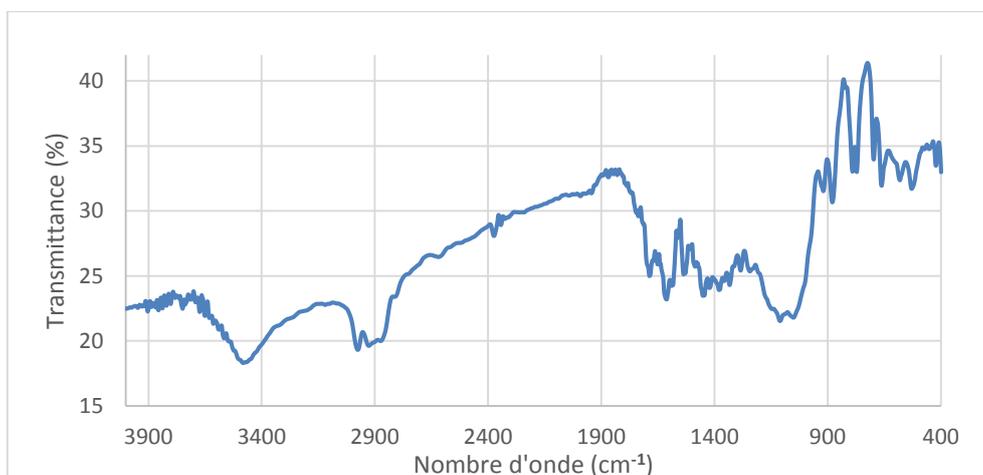
Les spectres FTIR n'ont montré aucune nouvelle bande, indiquant l'absence de la liaison chimique. Par ailleurs, un léger déplacement vers des fréquences faibles du groupement carbonyle indique que son environnement chimique est perturbé par la liaison hydrogène de la  $\beta$ CD, ceci confirme le complexe d'inclusion  $\beta$ -CD-AN. Ainsi sur la base de cette analyse, l'incorporation de l'AN n'a engendré aucune liaison chimique mais des interactions de type liaisons hydrogène.

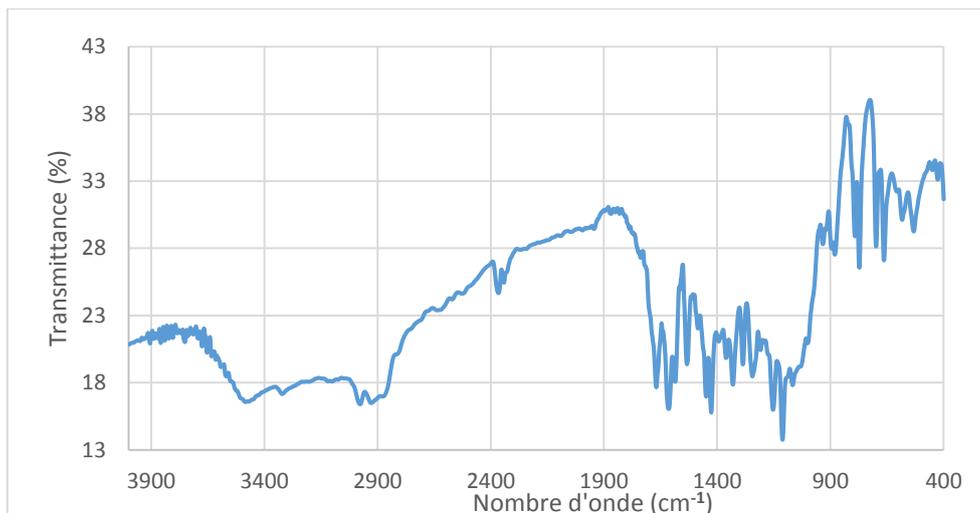


**Figure II.3.5** : Spectre FTIR de l'acide niflumique pur (AN)



**Figure II.3.6** : Spectre FTIR de l'éthylcellulose pur (EC)

**Figure II.3.7** : Spectre FTIR de l'HPMC pur**Figure II.3.8** : Spectre FTIR de la  $\beta$ -CD**Figure II.3.9** : Spectre FTIR des microsphères de la formulation Lot 09 (EC/HPMC/AN)



**Figure II.3.10** : Spectre FTIR des microsphères de la formulation Lot 14 (EC/ $\beta$ CD/AN)

### 3.4 Caractérisation par Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

L'analyse calorimétrique différentielle à balayage a été utilisée pour étudier les points de fusion de l'acide niflumique avant et après la microencapsulation. Le thermogramme (DSC) du principe actif pur et de l'EC sont représentés dans les figures (Fig II.3.11 et II.3.12).

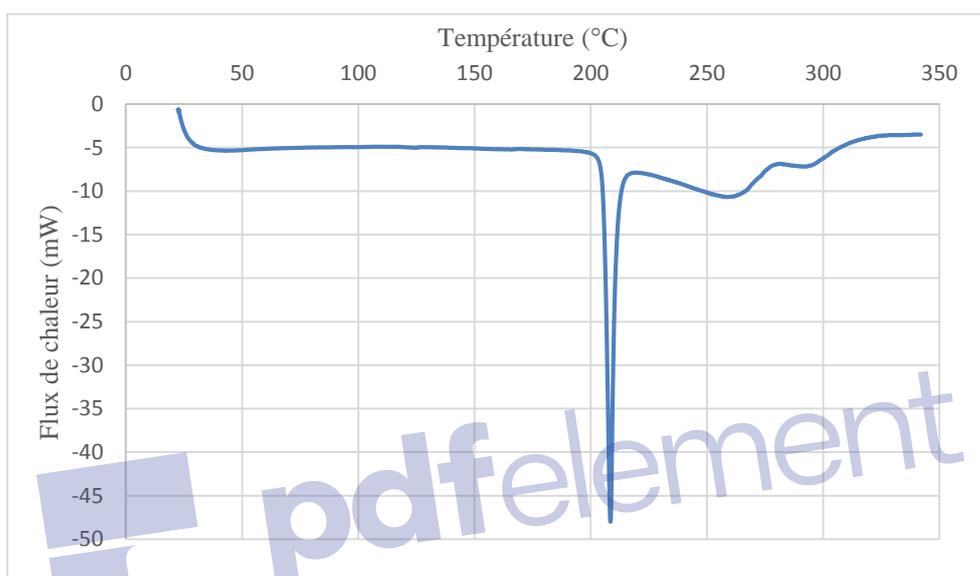
Le thermogramme (DSC) de l'HPMC indique un large pic endothermique qui est apparu entre 40 et 80 °C indiquant l'évaporation de l'eau (Fig. II.3.13). Ce polymère étant amorphe ne présente pas de température de fusion mais plutôt un état de transition vitreuse ( $T_g$ ) observé à 162°C (McPhillips et al. 1999).

La DSC peut être employée pour l'identification des complexes d'inclusion, quand des molécules d'invité ont été enfoncées dans des cavités de  $\beta$ -CD, généralement leurs point de fusion, d'ébullition ou de sublimation sont décalés à des températures différentes ou bien disparaissent complètement (Guo et al. 2015; Marques et al. 1999). La (DSC) de la  $\beta$ -CD (Fig. II.3.14) présente un pic endothermique à 129°C qui peut être associé à l'évaporation de l'eau présente dans cette matrice (Kohata et al. 1993 ; Marini et al., 1996).

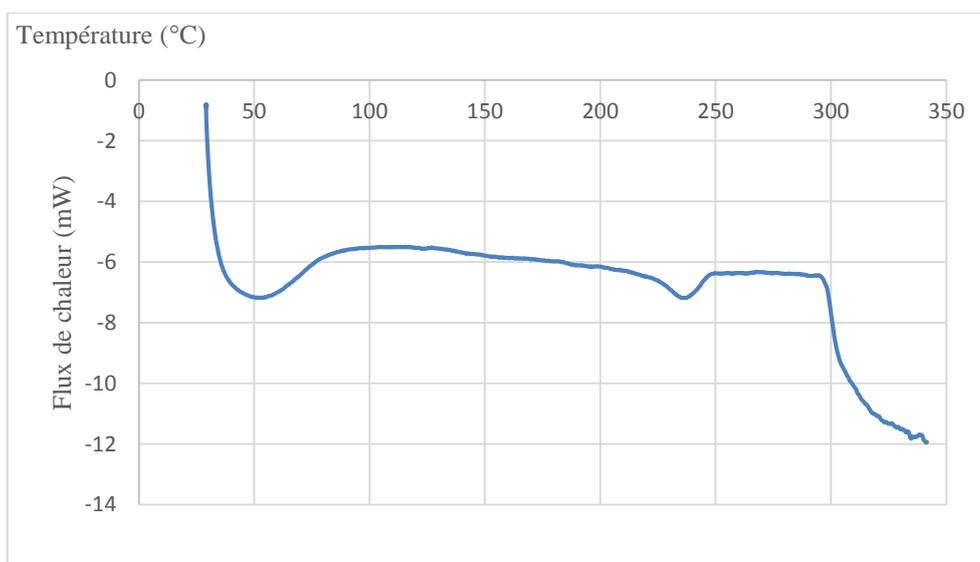
En observant le thermogramme (DSC) des microsphères EC/HPMC, le pic endothermique observé entre 30°C-90°C représente l'évaporation de l'eau de l'EC et de l'HPMC (Fig. II.2.12 et II.2.13). Le pic de transition vitreuse de l'EC est représenté à 150°C, un pic endothermique large entre 270 °C -300 °C qui peut être dû à la formation de liaison hydrogène entre le groupement OH de l'AN et le stabilisant et aussi pouvant être associé à la décomposition des matrices existantes ainsi que celle du principe actif (Fig.II.3.15).

Le pic de fusion de l'acide niflumique qui était à 205°C semble disparaître dans les thermogrammes des microsphères, ceci peut être attribué à la transformation de l'acide niflumique en une dispersion moléculaire et dans une forme amorphe (Jelvehgari et al., 2011).

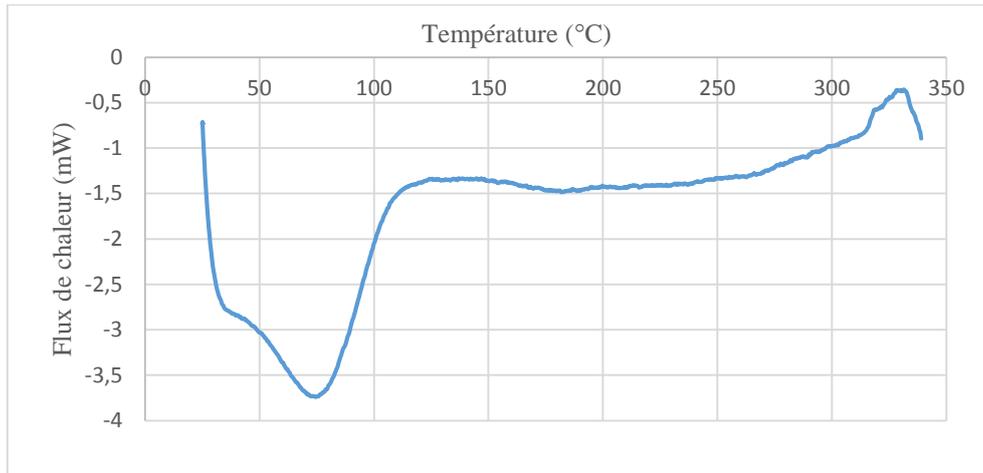
En observant le thermogramme (DSC) des microparticules à base EC/ $\beta$ -CD (lot 13), un pic large de l'évaporation de l'eau de l'EC présente entre 40°C-80°C, et l'évaporation de la  $\beta$ -CD à 150°C, le déplacement de ce dernier vers les températures élevées dû à la formation d'un complexe d'inclusion (AN/ $\beta$ -CD)(Fig.II.3.16).



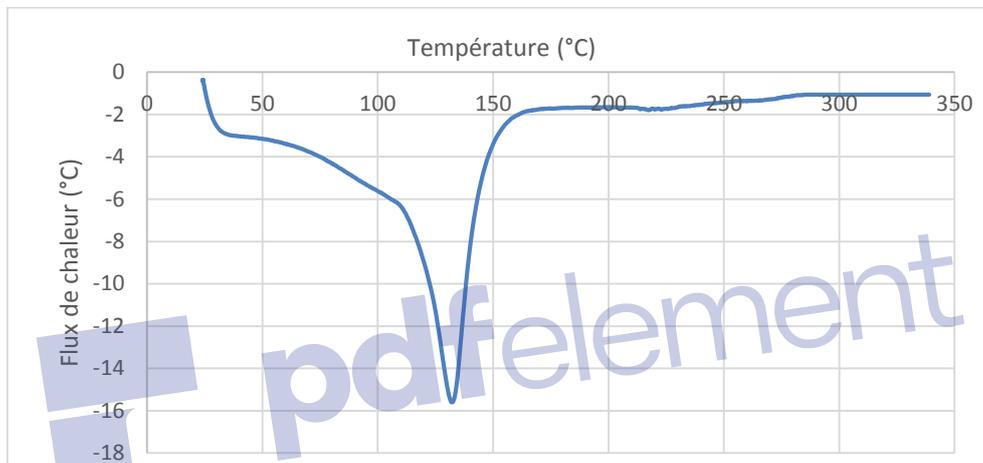
**Figure II.3.11 :** Thermogramme (DSC) de l'acide niflumique pur (AN)



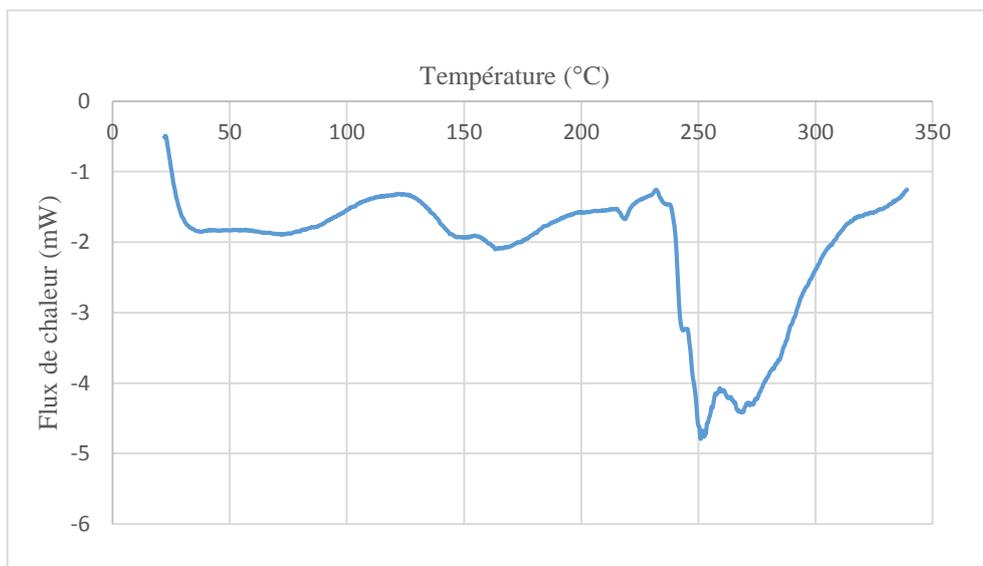
**Figure II.3.12 :** Thermogramme (DSC) de l'éthylcellulose pur (EC)



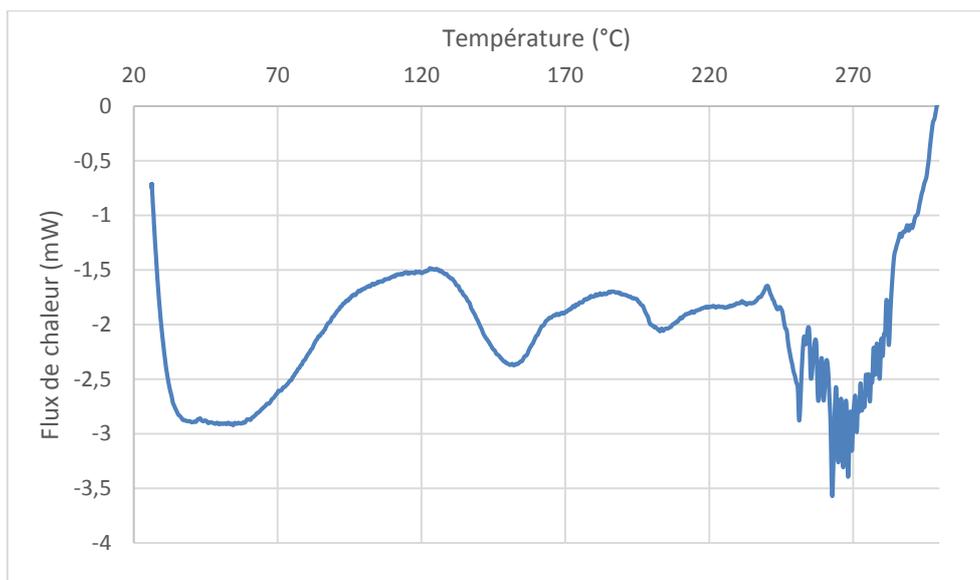
**Figure II.3.13** : Thermogramme (DSC) de l'HPMC



**Figure II.3.14** : Thermogramme (DSC) de la  $\beta$ -CD



**Figure II.3.15** : Thermogramme (DSC) de Lot02 (EC/HPMC/AN)



**Figure II.3.16:** Thermogramme (DSC) du Lot 13 (EC/ $\beta$ CD/AN)

### 3.5 Caractérisation par diffraction des rayons X (DRX)

Les diagrammes de diffraction des rayons X pour l'AN, l'EC pur sont représentés dans les figures II.3.17 et II.3.18.

Le diffractogramme d'HPMC a indiqué un seul pic diffus à  $2\theta=20^\circ$  et qui est associé à la phase amorphe (Fig. II.3.19).

Le diffractogramme de la  $\beta$ -cyclodextrine (Fig. II.3.20) présente une nature cristalline claire. On distingue des pics intenses et pointus à  $2\theta=8.4^\circ, 10.5^\circ, 12.3^\circ, 19.4^\circ, 20.7^\circ$  et  $22.8^\circ$  (Rotich et al. 2003), ces pics s'accordent avec l'organisation moléculaire des  $\beta$ -CD proposée par (Kayaci et al. 2014). Les pics pointus à  $2\theta=8^\circ$  et  $12^\circ$  seront suivis dans les diffractogrammes des microsphères pour vérifier leur disparition ou leur déplacement éventuels.

Le diffractogramme de DRX des microsphères préparées à base EC/HPMC (Lot 02, 06) présente une allure différente (Fig. II.3.21). Il montre quelques pics caractéristiques de l'acide niflumique comme  $12^\circ, 21^\circ$  et  $25.5^\circ$  mais avec une faible intensité, ceci est attribué à l'état cristallin de l'AN dans les microsphères qui a été affecté ; les polymères EC et HPMC ont provoqué la répartition et l'étalement de l'AN à l'état moléculaire (Akash 2013).

Pour les microsphères EC/  $\beta$ -CD (Fig. II.3.21), on observe des pics caractéristiques de l'AN avec une faible intensité (Lot 13, Lot 15) et même avec la comparaison de diffractogramme de  $\beta$ -CD pur on peut observer que les pics à  $2\theta= 8.8^\circ$  et  $10.6^\circ$  et  $12^\circ$  disparaissent, et d'autres pics à  $2\theta=13.3^\circ, 16.1^\circ, 18.62^\circ$  apparaissent. Ces pics ont pu être

associés aux changements de l'organisation moléculaire de la  $\beta$ -CD et la formation de complexe d'inclusion amorphe avec l'AN et par conséquent diminution de sa cristallinité (Abarca et al. 2016). L'AN inclus se trouve sans un état semi-cristallin et les résultats de DRX confirment ceux obtenues par de la DSC.

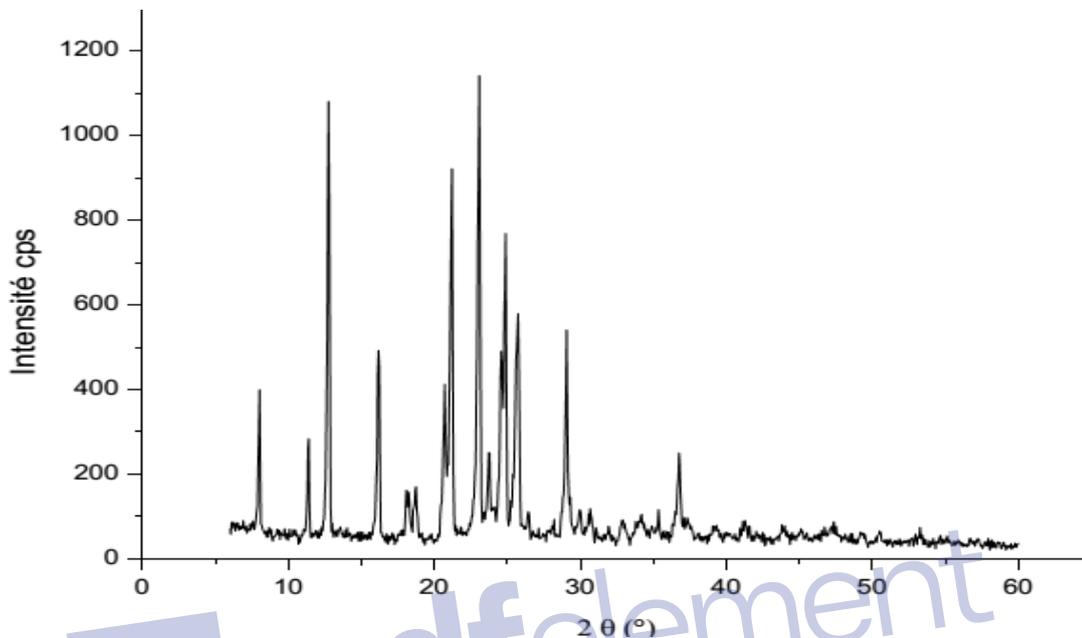


Figure II.3.17 : Diffractogramme de DRX de l'acide niflumique (AN)

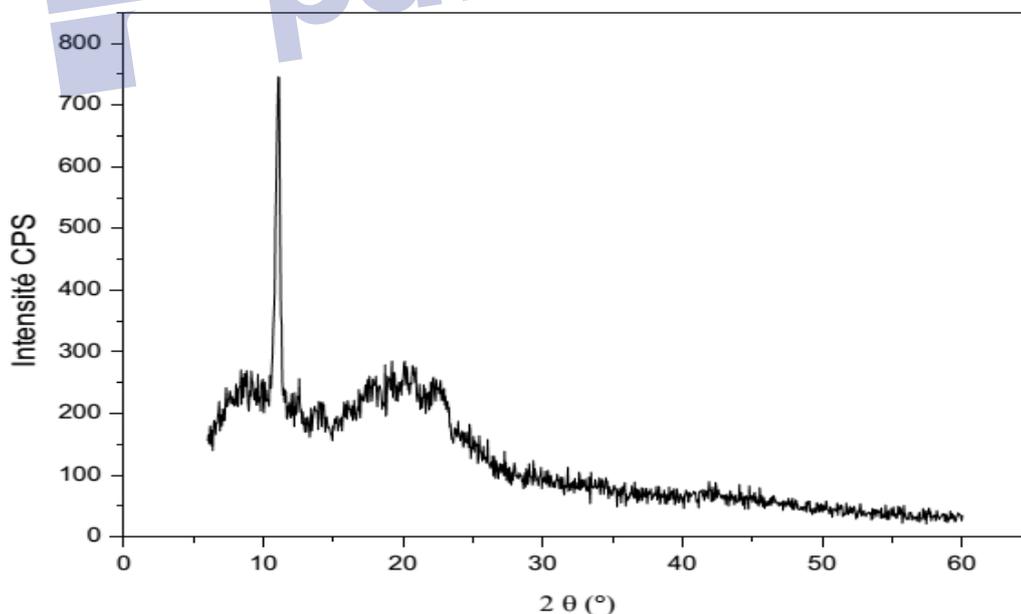


Figure II.3.18 : Diffractogramme de DRX de l'éthylcellulose (EC)

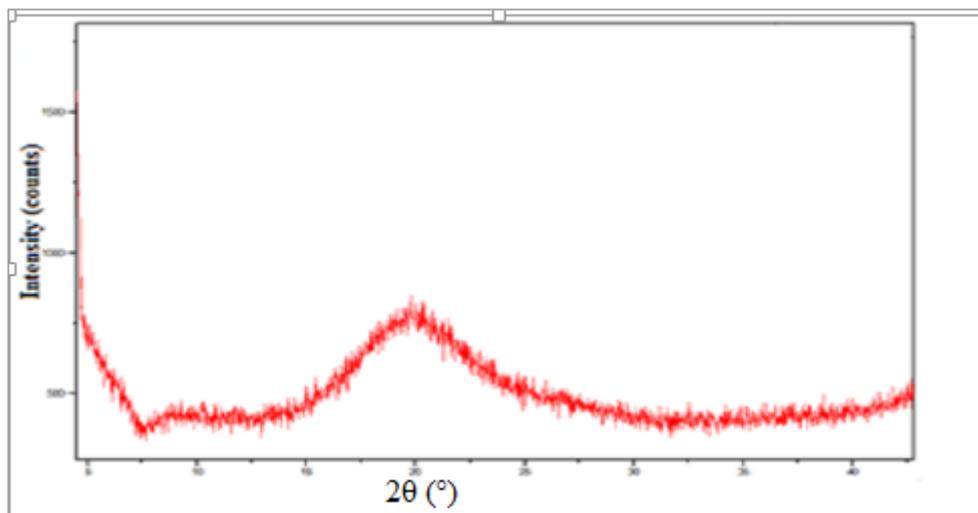


Figure II.3.19 : Diffractogramme DRX de l'hydroxypropylméthyle cellulose (HPMC)

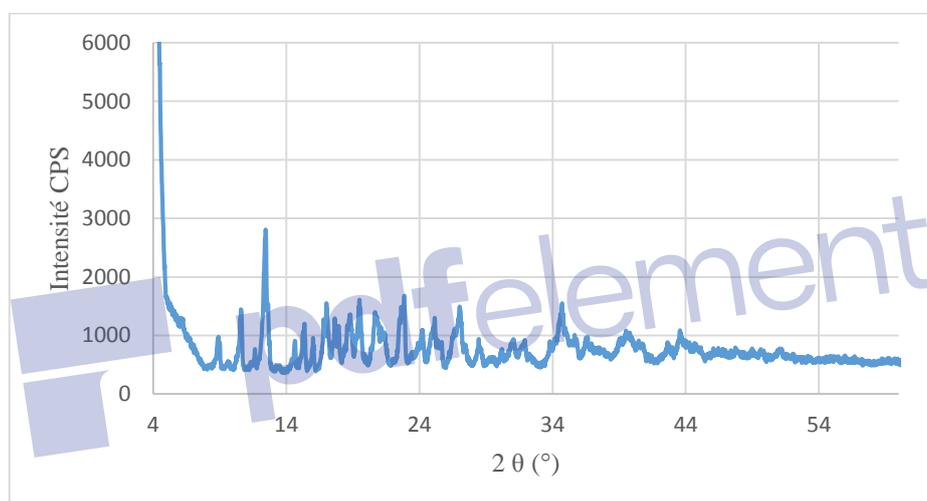


Figure II.3.20 : Diffractogramme DRX de  $\beta$ -CD pur

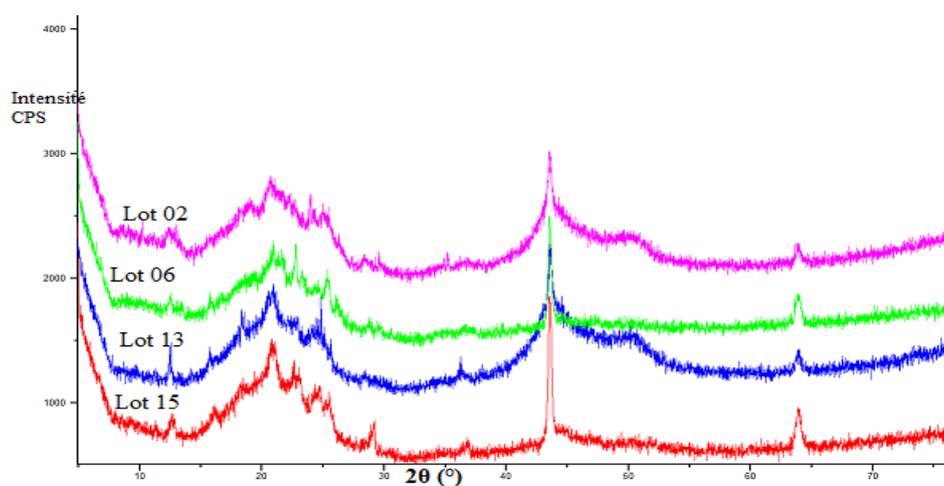


Figure II.3.21 : Diffractogramme DRX des lots 05, 06 (EC/HPMC/AN) et des lots 13,15 (EC/ $\beta$ -CD/AN)

A partir des résultats obtenus de l'analyse calorimétrique différentielle DSC et DRX, une interaction entre l'AN et la matrice a été fortement démontrée par la perte de la forme cristalline de l'AN. La formation possible de liaison l'hydrogène entre la fonction acide de l'AN et les groupes OH de l'EC et de l'HPMC peuvent justifier les résultats. Par conséquent, la solubilité de la substance active peut être augmentée parce que la cristallinité est un paramètre efficace qui peut changer les propriétés physico-chimiques d'une substance active pharmaceutique

### **3.6 Etude de la cinétique de libération de l'AN à partir des microsphères de l'EC/HPMC et EC/ $\beta$ -CD**

#### **3.6.1 Suivi de la libération de l'AN à partir des microsphères d'EC/HPMC et EC/ $\beta$ -CD dans le milieu acide (pH=1,2)**

La libération du principe actif à partir des microsphères a été maintenue dans un milieu de pH=1.2 pour une durée de deux heures à  $\lambda=254\text{nm}$  en se basant sur le spectre d'absorption uv-vis de l'acide niflumique en milieu acide (Chap.I). Les cinétiques de libération de l'agent actif sélectionné dans cette étude ont été réalisées selon les normes déjà mentionnées. La cinétique de libération a été faite seulement pour les lots où le pourcentage de matière active contenue dans les microsphères est supérieur à 10%. Dans cette partie, les différents paramètres discutés sont : la vitesse d'agitation, la concentration de l'HPMC ou de la  $\beta$ -CD dans l'éthylcellulose et le rapport polymère/AN. Les résultats des pourcentages de libération de l'AN à partir des différentes formulations ont été regroupés dans le tableau II.3.3 et les profils de dissolution sont représentés ci-après :

**Tableau II.3.3** : Résultats des taux de libération de l'AN à partir des microsphères EC/HPMC et EC/ $\beta$ -CD dans le milieu acide pH=1,2

polymère/AN	N° Lots	Vitesse (rpm)	HPMC/ $\beta$ -CD (%)	% AN libéré
2:0.5	Lot 05	300	5% HPMC	07.39
	Lot 06	800	5% HPMC	22.95
	Lot 07	300	30% HPMC	21.69
	Lot 08	800	30% HPMC	55.17
2:1	Lot 09	300	5% HPMC	27.31
	Lot 10	800	5% HPMC	20.41
	Lot 11	300	30% HPMC	22.9
	Lot 12	800	30% HPMC	51.50
2:0.5	Lot 13	300	5% $\beta$ -CD	04.47
	Lot 14	800	5% $\beta$ -CD	14.24
	Lot 15	300	30% $\beta$ -CD	07.88
	Lot 16	800	30% $\beta$ -CD	20.39

**a. Effet de la vitesse d'agitation**

On a comparé les cinétiques de libération des Lots préparés dans les mêmes concentrations d'HPMC ou de  $\beta$ -CD en variant seulement la vitesse d'agitation de l'émulsion. Il a été rapporté que l'augmentation de la vitesse d'agitation produit des particules de petites tailles, dans ce cas la surface de contact entre les microsphères et le milieu de dissolution est plus importante qui mène à une libération rapide de l'actif dans le milieu (Dhanaraju et al. 2010).

Pour une même concentration d'HPMC ou de  $\beta$ -CD, l'augmentation de la vitesse d'agitation engendre une libération rapide de l'AN à partir des microsphères élaborées. Le taux de libération de la substance active varie de 7.29% à 22.95% en comparant les Lot 05 et 06 pour les microsphères préparées à 5% d'HPMC (Fig. II.3.22), de 22.9% à 51.5% pour les Lot 11 et 12 pour les microsphères préparées à 30% d'HPMC (Fig.II.3.23). Les mêmes résultats ont été obtenus dans les microsphères à base EC/  $\beta$ -CD où le taux de libération de l'AN augmente de 4.47% à 14.27% en comparant (Lot 13 et Lot 14, 5%  $\beta$ -CD) et de 7.88% à 20.39% pour les lots (Lot 15 et Lot 16) à 30% $\beta$ -CD (Fig. II.3.24 et II.3.25).

Par ailleurs, (Le Roy et al. 1992) ont démontré que les cinétiques de libération sont inversement proportionnelles à la taille des particules. En effet, la libération de la matière active diminue lorsque la taille augmente et ceci pour deux raisons : d'une part, la surface de contact avec le milieu de dissolution diminue et d'autre part la distance à parcourir pour atteindre le milieu de libération est plus importante.

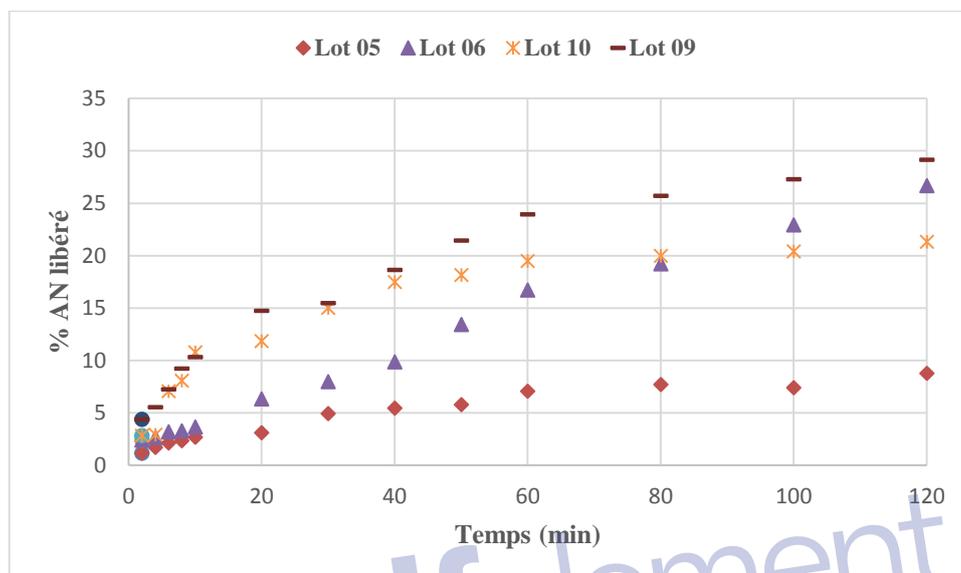


Figure II.3.22: Profils de libération des microsphères préparées avec 5% HPMC, pH=1,2

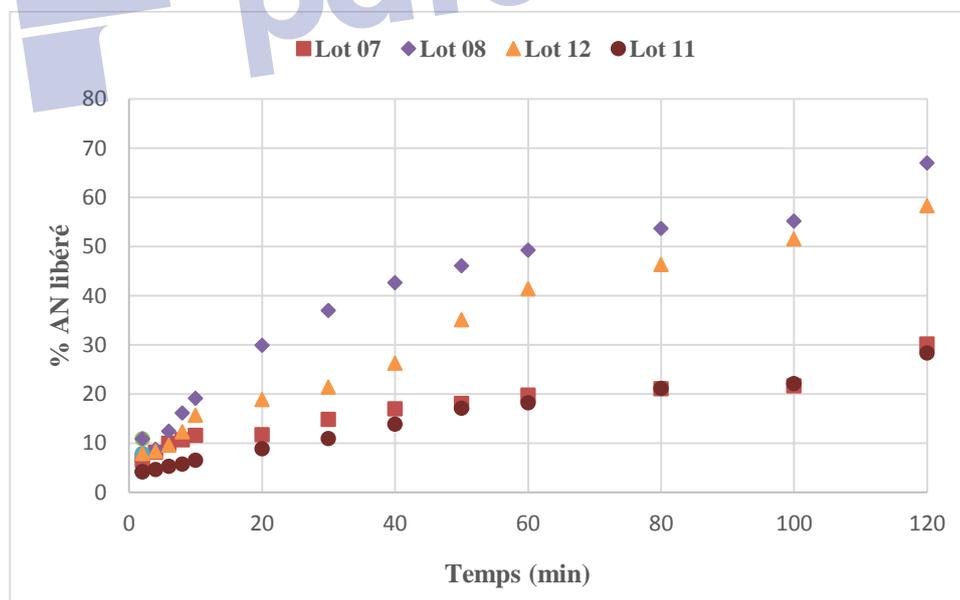
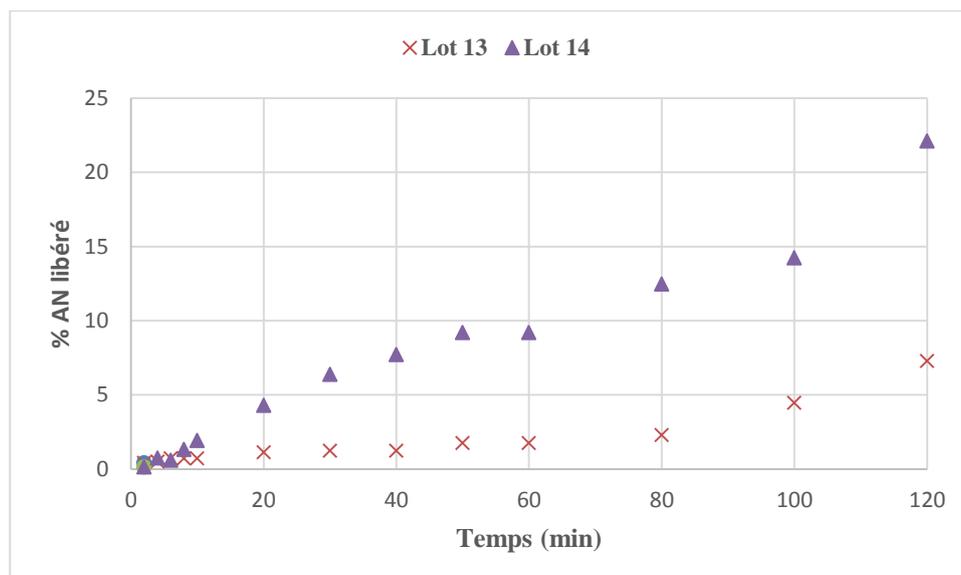
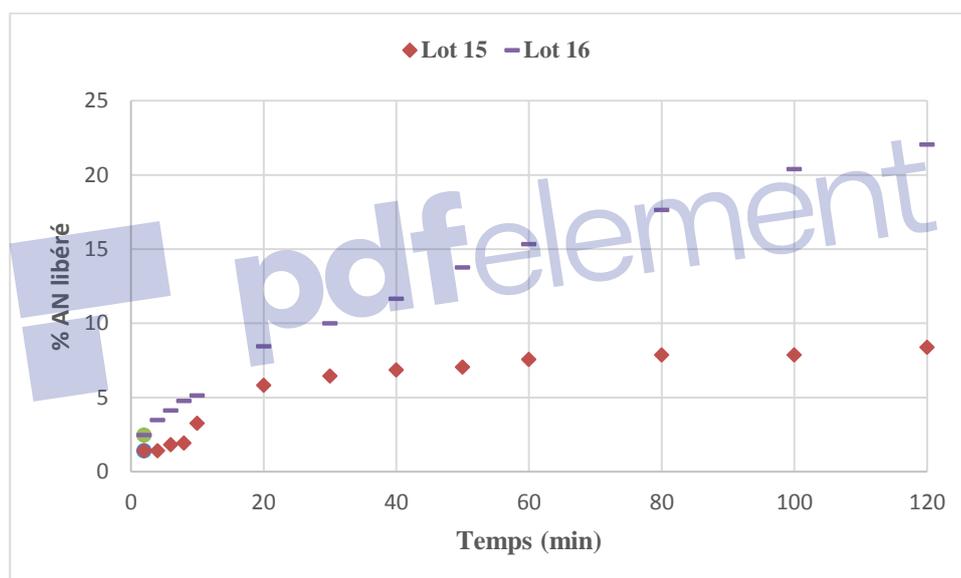


Figure II.3.23 : Profils de libération des microsphères préparées avec 30% HPMC, pH=1,2



**Figure II.3.24** : Profils de libération des microsphères préparées avec 5%  $\beta$ -CD, pH=1,2



**Figure II.3.25** : Profils de libération des microsphères préparées avec 30%  $\beta$ -CD, pH=1,2

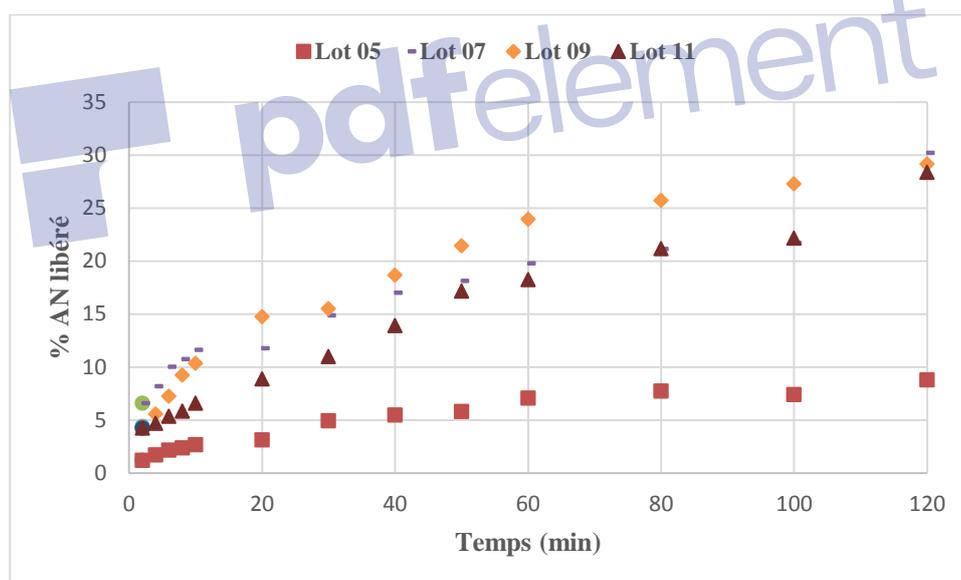
## b. Effet de la concentration de l'HPMC et de la $\beta$ -CD sur la libération de l'AN

### b.1 Effet de la concentration de l'HPMC sur la libération de l'AN

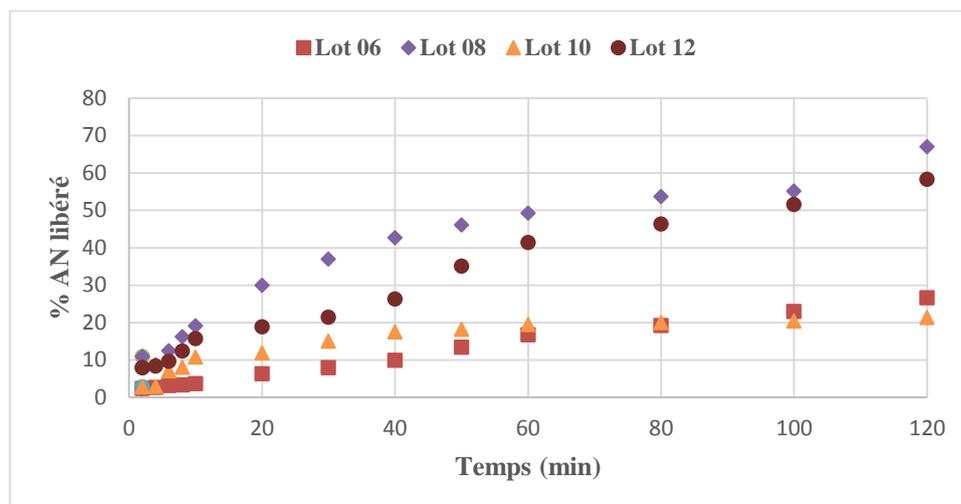
L'augmentation de la concentration d'HPMC provoque une libération rapide de l'AN pour toutes les formulations préparées où cette dernière varie de 7% à 21% en comparant les Lot 05 et 07 à 300 rpm (Fig. II.3.26), de 22% à 55% en comparant les Lot 06 et 08 à 800 rpm (Fig. II.3.27) par exemple. L'utilisation du co-polymère hydrophile comme l'HPMC provoque la pénétration rapide de l'eau dans les microsphères, ce qui se traduit par la diffusion rapide de l'AN vers le milieu de dissolution. Il a été rapporté que la cinétique de libération est très

influencée par la structure cristalline du polymère encapsulant (Zhang et al. 2005). En effet la libération est influencée au sein des matrices amorphes (tel que l'HPMC) qui se dégrade plus facilement. Les matrices cristallines étant imperméables à l'eau (Kim et al. 2005)

Un résultat contradictoire a été obtenu dans les formulations préparées avec le rapport **2 :1** où l'augmentation de la concentration d'HPMC de 5% à 30% engendre une libération lente où le taux de libération de l'AN diminue de 27.3% à 22.9% (Lot 09, Lot 11, 300 rpm). Ceci a été expliqué par (Izumikawa et al. 1991), qui a démontré que dans certains cas des microparticules davantage amorphes libèrent le P.A moins rapidement que les microparticules cristallines. Ce qui peut être expliqué par le fait que la baisse de cristallinité des microparticules favorise les interactions entre le P.A et la matrice enrobante. Dans notre cas l'EC a déjà été établi comme matrice exhibant une libération prolongée, en outre la présence de l'HPMC joue le rôle de barrière potentielle qui s'ajoute à l'effet de l'EC, en empêchant par des interactions avec l'AN sa sortie vers le milieu extérieur.



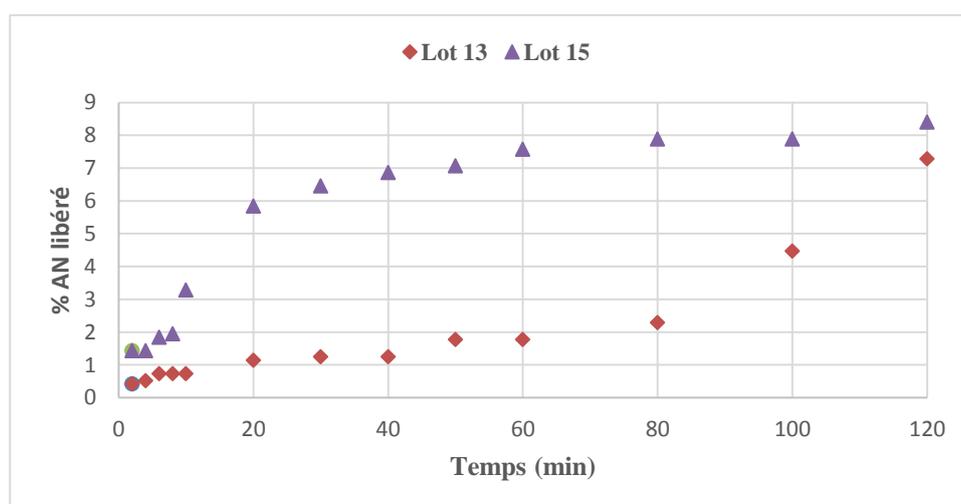
**Figure II.3.26** : Profils de libération des microsphères EC/HPMC préparées à 300 rpm, pH=1,2



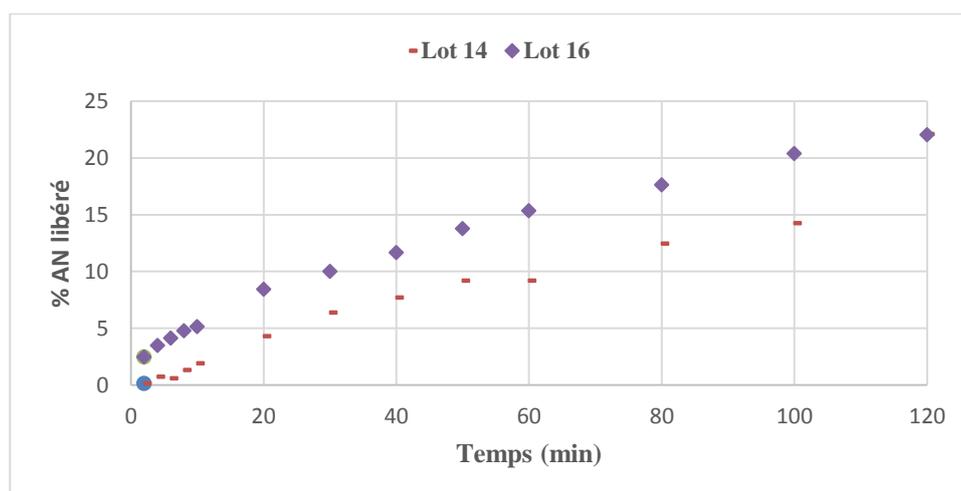
**Figure II.3.27** : Profils de libération des microsphères EC/HPMC préparées à 800 rpm, pH=1,2

### b.2 Effet de la concentration de la $\beta$ -CD sur la libération de l'AN

Pour les microsphères à base de  $\beta$ -CD, l'effet de l'augmentation de sa concentration dans la phase organique engendre une libération rapide dans toutes les formulations (Fig. II.3.28, II.3.29). La libération augmente de 4% à 7% (Lot 13, Lot 15, 300 rpm) et de 14% à 20% (Lot 14, Lot 16, 800 rpm) avec l'augmentation de la concentration de la  $\beta$ -CD de 5% à 30%. La littérature démontre que l'utilisation cette couronne améliore la solubilité et la dissolution des principes actifs hydrophobes comme l'AN par la formation du complexe d'inclusion ce qui augmente la dissolution des substances actives dans le milieu de dissolution. (Domańska et al. 2011; Patel et al. 2011).



**Figure II.3.28** : Profils de libération des microsphères EC/ $\beta$ -CD préparées à 300 rpm, pH=1,2



**Figure II.3.29** : Profils de libération des microsphères EC/ $\beta$ -CD préparées à 800 rpm, pH=1,2

### 3.6.2 Suivi de libération de l'AN à partir des microsphères d'EC/HPMC et d'EC/ $\beta$ -CD dans le milieu basique (pH=6,8)

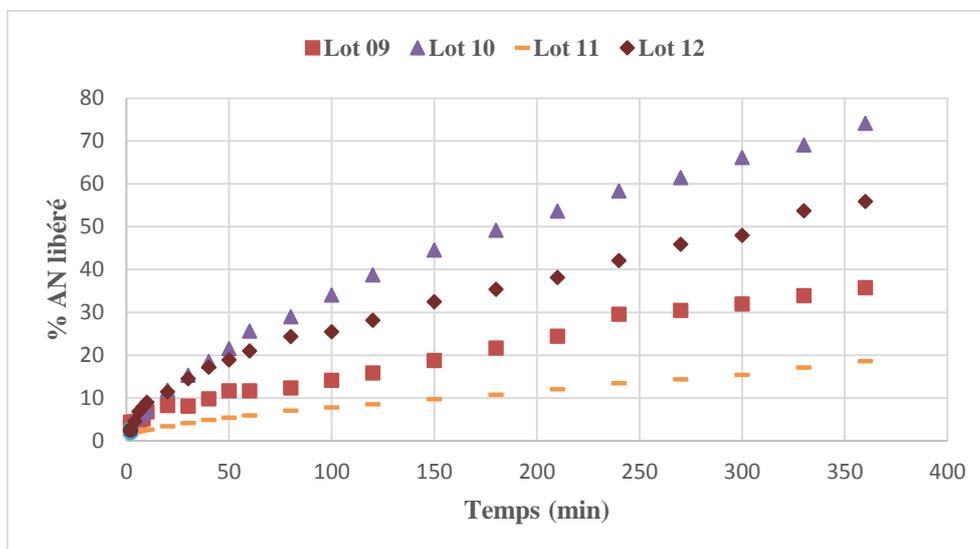
L'étude de la libération de l'AN est réalisée dans un milieu basique de pH=6,8 à base de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.1M et NaOH à 37 °C durant 6h en adoptant le protocole détaillé précédemment. Les profils de libérations ont été tracés avec le pourcentage de l'AN libéré en fonction du temps. La libération en milieu basique a été faite pour les formulations ayant les meilleures teneurs en principe actif (Lot 09, Lot 10, Lot 11, Lot 12) et les microsphères à base d'EC/ $\beta$ -CD exhibant une libération prolongée dans le milieu acide. Les résultats des taux de libération de l'agent actif dans le milieu basique (pH=6,8) ont été regroupés dans le tableau II.3.4.

**Tableau II.3.4** : Résultats des taux de libération de l'AN à partir des microsphères EC /HPMC, EC/ $\beta$ -CD dans le milieu basique, pH=6,8

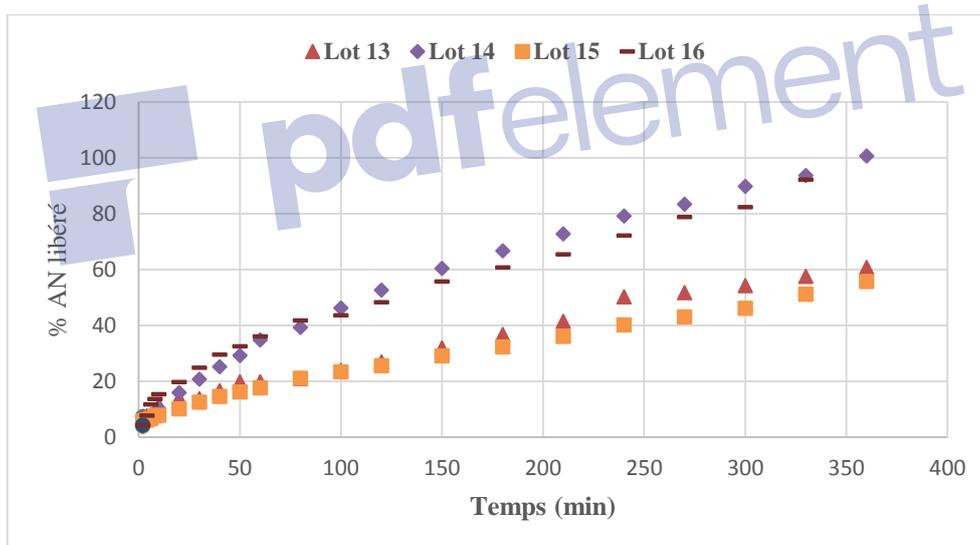
Polymère/AN	N° formulation	Vitesse (rpm)	HPMC/ $\beta$ CD (%)	% AN libéré après 6h
2:1	Lot 09	300	5% HPMC	35.81
	Lot 10	800	5% HPMC	74.16
	Lot 11	300	30% HPMC	37.22
	Lot 12	800	30% HPMC	55.9
2:0.5	Lot 13	300	5% $\beta$ -CD	57.61
	Lot 14	800	5% $\beta$ -CD	93.77
	Lot 15	300	30% $\beta$ -CD	51.20
	Lot 16	800	30% $\beta$ -CD	92.19

Caractérisation des microsphères à base d'EC/HPMC/AN et d'EC/ $\beta$ -CD/AN

Les profils de libération de l'AN à partir des microsphères à base d'EC/HPMC ou d'EC/ $\beta$ -CD, sont représentés dans les figures II.3.30 et II.3.31.



**Figure II.3.30** : Profils de libération des microsphères EC/HPMC, pH=6,8



**Figure II.3.31** : Profils de libération des microsphères EC/ $\beta$ -CD, pH=6,8

En comparant les résultats obtenus avec ceux du milieu acide, on remarque que les taux de libération sont plus élevés en milieu basique. Les matrices de nature saccharidiques gonflent dans les milieux basiques. Cette absorption d'eau entraîne une dissolution rapide du P.A par un mécanisme de diffusion. En outre, le pourcentage d'AN libéré (notamment pour les Lot 10 et 14) est de 30% pour la première heure de libération ce qui peut être attribué à l'érosion de la matrice en même temps.

#### 4. Conclusion

L'objectif de cette partie, était de préparer de nouvelles formes pharmaceutiques à base d'EC/HPMC et d'EC/ $\beta$ -CD chargées en acide niflumique afin d'obtenir une libération contrôlée de ce dernier sur une période de temps déterminée. D'autre part, d'étudier les conditions de préparation telles que la vitesse d'agitation, la concentration de l'HPMC et de la  $\beta$ -CD dans l'EC et la variation du rapport polymère/AN qui influence sur la formation des microsphères, la teneur et la quantité libérée de l'AN en fonction du temps. L'incorporation de l'AN dans les microsphères a été approuvée par les méthodes d'analyse (FTIR, DRX, DSC) qui a permis de démontrer la présence effective du principe actif dans la matrice sans la présence de liaisons chimiques entre les deux composants.

L'observation par microscopie optique des formulations préparées a permis de confirmer la morphologie sphérique des microsphères obtenues. L'influence des paramètres choisis sur les caractéristiques des microsphères (taille, morphologie, teneur en matière active, %libération) permettent de conclure que :

-La teneur en principe actif dépend de la quantité de l'HPMC surtout dans l'EC et de la concentration de l'AN dans la phase organique, des meilleures teneurs en principe actif ont été obtenues dans les microsphères à base EC/HPMC dont le rapport est 2/1 où la teneur atteint 45.39 % pour la formulation Lot12 (800rpm, 30 % HPMC).

- La taille des microsphères é été affectée par les trois variables sélectionnées. L'augmentation de la vitesse d'agitation engendre la formation des petites tailles des microsphères, en plus l'augmentation de la quantité du co-polymère dans la phase organique provoque une augmentation de la taille des microsphères.

La libération de l'AN à partir des différentes formulations est réalisé en milieu acide (pH= 1,2) et basique (pH=6,8) dans le but d'étudier l'influence des paramètres choisis sur les profils de libération. Cette étude montre que :

-l'augmentation de la vitesse d'agitation engendre une diminution de la taille des microparticules EC/HPMC et EC/  $\beta$ -CD qui ensuite augmente la surface de contact spécifique entre les microparticules et le milieu de dissolution donnant une libération rapide dans les deux milieux. L'effet de la vitesse n'est pas signifiant dans les formulations préparées dans le rapport polymère/AN : 2 :1 avec 5% d'HPMC (Lot 09, Lot 10). Le taux de libération de l'AN dans la composition EC/HPMC atteint 51.50% (Lot 12, 800 rpm, 30% HPMC) et le taux de libération

de l'AN dans la composition EC/  $\beta$ -CD atteint 20% pour le Lot 16 (800rpm, 30%  $\beta$ -CD) dans le milieu acide.

-L'augmentation de la concentration d'HPMC provoque une libération rapide de l'AN dans toutes les formulations préparées, et un seul effet contradictoire a été obtenu dans les microsphères préparées avec le rapport 2 :1 ou l'augmentation de concentration d'HPMC engendre une libération lente.

-L'augmentation de la concentration de la  $\beta$ -CD dans la phase organique engendre une libération rapide dans toutes les formulations, les résultats démontrent que l'utilisation de la  $\beta$ CD améliore la solubilité et la dissolution de l'AN par la formation du complexe d'inclusion qui augmente la dissolution dans le milieu de libération.

- La cinétique de libération peut être influencée par la nature du polymère enrobant avec une libération rapide obtenue pour des matrices amorphe et les matrices cristallines étant essentiellement imperméables à l'eau.

-Les taux de libération de l'AN dans le milieu basique atteint 74% pour la formulation du Lot 10 (% HPMC, 800 rpm,) et 93% pour le Lot 14 (800 rpm, 5%  $\beta$ -CD) ; ce qui a été associé au gonflement des matrices polysaccharidiques en milieu basique suivi de leur dégradation.

## Références

- Abarca, R. L., Rodriguez, F. J., Guarda, A., Galotto, M. J., & Bruna, J. E. (2016). Characterization of beta-cyclodextrin inclusion complexes containing an essential oil component. *Food chemistry*, 196, 968-975..
- Akash, M., Iqbal, F., Raza, M., Rehman, K., & Ahmed, S. (2013). Characterization of ethylcellulose and hydroxypropyl methylcellulose microspheres for controlled release of Flurbiprofen. *Journal of Pharmaceutics & Drug Delivery Research*, 2(1), 1-10.
- André-Abrant, A., Taverdet, J. L., & Jay, J. (2001). Microencapsulation par évaporation de solvant. *European polymer journal*, 37(5), 955-963.
- Desai, S., & Bolton, S. (1993). A floating controlled-release drug delivery system: in vitro-in vivo evaluation. *Pharmaceutical research*, 10(9), 1321-1325.
- Dhanaraju, M. D., Sathyamoorthy, N., Sundar, V. D., & Suresh, C. (2010). Preparation of poly (epsilon-caprolactone) microspheres containing etoposide by solvent evaporation method. *Asian J. Pharm. Sci*, 5(3), 114-122.
- Domańska, U., Pelczarska, A., & Pobudkowska, A. (2011). Effect of 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin on solubility of sparingly soluble drug derivatives of anthranilic acid. *International journal of molecular sciences*, 12(4), 2383-2394.
- Guo, W., Quan, P., Fang, L., Cun, D., & Yang, M. (2015). Sustained release donepezil loaded PLGA microspheres for injection: Preparation, in vitro and in vivo study. *asian journal of pharmaceutical sciences*, 10(5), 405-414.
- Hinze, J. O. (1955). Fundamentals of the hydrodynamic mechanism of splitting in dispersion processes. *AIChE Journal*, 1(3), 289-295.
- Inoue, M., Hashizaki, K., Taguchi, H., & Saito, Y. (2008). Formation and characterization of emulsions using  $\beta$ -cyclodextrin as an emulsifier. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 56(5), 668-671.
- Izumikawa, S., Yoshioka, S., Aso, Y., & Takeda, Y. (1991). Preparation of poly (l-lactide) microspheres of different crystalline morphology and effect of crystalline morphology on drug release rate. *Journal of controlled release*, 15(2), 133-140.
- Jelvehgari, M., Hassanzadeh, D., Kiafar, F., Loveym, B. D., & Amiri, S. (2011). Preparation and determination of drug-polymer interaction and in-vitro release of mefenamic acid microspheres made of celluloseacetate phthalate and/or ethylcellulose polymers. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 10(3), 457.

Kata, M., Ambrus, R., & Aigner, Z. (2002). Preparation and investigation of inclusion complexes containing niflumonic acid and cyclodextrins. *Journal of inclusion phenomena and macrocyclic chemistry*, 44(1-4), 123-126.

Kayaci, F., Sen, H. S., Durgun, E., & Uyar, T. (2014). Functional electrospun polymeric nanofibers incorporating geraniol–cyclodextrin inclusion complexes: High thermal stability and enhanced durability of geraniol. *Food Research International*, 62, 424-431.

Khoukhi, O. E., El Bahri, Z., Diaf, K., & Baitiche, M. (2016). Piroxicam/ $\beta$ -cyclodextrin complex included in cellulose derivatives-based matrix microspheres as new solid dispersion-controlled release formulations. *Chemical Papers*, 70(6), 828-839.

Kim, B. K., Hwang, S. J., Park, J. B., & Park, H. J. (2005). Characteristics of felodipine-located poly ( $\epsilon$ -caprolactone) microspheres. *Journal of microencapsulation*, 22(2), 193-203.

Kohata, S., Jyodoi, K., & Ohyoshi, A. (1993). Thermal decomposition of cyclodextrins ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, and modified  $\beta$ -CyD) and of metal—( $\beta$ -CyD) complexes in the solid phase. *Thermochimica acta*, 217, 187-198.

Kousar, R., Ahmad, M., Shujaat, A., Aamir, M. N., & Murtaza, G. (2013). Preparation and In Vitro Characterization of Microparticles Loaded with Cimetidine: Analysis of Dissolution Data using DDSolver. *Latin American Journal of Pharmacy*, 32(8), 1212-7.

Kumar, P., Singh, S., & Mishra, B. (2008). Floating osmotic drug delivery system of ranitidine hydrochloride: development and evaluation—a technical note. *AAPS PharmSciTech*, 9(2), 480-485.

Le Corre, P., Le Guevello, P., Gajan, V., Chevanne, F., & Le Verge, R. (1994). Preparation and characterization of bupivacaine-loaded polylactide and polylactide-co-glycolide microspheres. *International journal of pharmaceutics*, 107(1), 41-49.

Maia, J. L., Santana, M. H. A., & Ré, M. I. (2004). The effect of some processing conditions on the characteristics of biodegradable microspheres obtained by an emulsion solvent evaporation process. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 21(1), 01-12.

Marini, A., Berbenni, V., Bruni, G., Giordano, F., & Villa, M. (1996). Dehydration of  $\beta$ -cyclodextrin: facts and opinions. *Thermochimica acta*, 279, 27-33.

Marques, H. C., Hadgraft, J., & Kellaway, I. W. (1990). Studies of cyclodextrin inclusion complexes. I. The salbutamol-cyclodextrin complex as studied by phase solubility and DSC. *International Journal of Pharmaceutics*, 63(3), 259-266.

McPhillips, H., Craig, D. Q. M., Royall, P. G., & Hill, V. L. (1999). Characterisation of the glass transition of HPMC using modulated temperature differential scanning calorimetry. *International journal of pharmaceutics*, 180(1), 83-90.

Morais, W. A., Barros Neto, B. D., Cavalcanti, I. M., Xavier Junior, F. H., Santos-Magalhães, N. S., & Maciel, M. A. M. (2017). Coencapsulation of trans-Dehydrocrotonin and trans-Dehydrocrotonin: hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin into Microparticles. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 28(8), 1494-1505.

Patel, V P, M C Gohel, and R K Parikh. 2011. "In Vitro Dissolution Enhancement of Felodipine." *Indo-global journal of Pharmaceutical Science* 1(2): 194–205.

Rodríguez, M., Vila-Jato, J. L., & Torres, D. (1998). Design of a new multiparticulate system for potential site-specific and controlled drug delivery to the colonic region. *Journal of controlled release*, 55(1), 67-77.

Rotich, M., Brown, M., & Glass, B. (2003). Thermal studies on mixtures of aminosalicic acids with cyclodextrins. *Journal of thermal analysis and calorimetry*, 73(2), 687-706.

Roy, S., Pal, M., & Gupta, B. K. (1992). Indomethacin-loaded microspheres: design and preparation by a multiple-emulsification technique and their in vitro evaluation. *Pharmaceutical research*, 9(9), 1132-1136.

Sansdrap, P., & Moës, A. J. (1993). Influence of manufacturing parameters on the size characteristics and the release profiles of nifedipine from poly (DL-lactide-co-glycolide) microspheres. *International journal of pharmaceutics*, 98(1-3), 157-164.

Wang, J., Cao, Y., Sun, B., & Wang, C. (2011). Physicochemical and release characterization of garlic oil- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complexes. *Food chemistry*, 127(4), 1680-1685.

Zhang, J. X., Zhu, K. J., & Chen, D. (2005). Preparation of bovine serum albumin loaded poly (D, L-lactic-co-glycolic acid) microspheres by a modified phase separation technique. *Journal of microencapsulation*, 22(2), 117-126.

## Chapitre 4

Caractérisation des microsphères d'acide  
niflumique à base de Chitosane . Effet de la  
concentration et du pH de l'agent réticulant sur  
les propriétés des microparticules

## 1. Introduction

L'objectif de la présente étude est de préparer des microsphères à base de chitosane réticulées et non réticulées à savoir avec le glutaraldéhyde (GA) par la méthode de diffusion de solvant dans l'émulsion simple, ou bien avec le STPP par la méthode de séchage par pulvérisation et de les caractériser. Ainsi la morphologie externe des microsphères préparées a été examinée par microscopie optique et à balayage, la mesure de diamètre moyen, l'évaluation de la charge électrique sur la surface des particules et la teneur en PA des microsphères ont été étudiées. L'état physique de la substance active dans la matrice de chitosane a été observé par la DRX, l'influence de la concentration du STPP et de la variation de pH de ce dernier sur les profils de libération de l'AN ont été explorées. La libération du P.A était effectuée et simulé dans un milieu gastrique (pH=1,2) et intestinal (pH=7,2) avec et sans enzymes (Pepsine et pancréatine).

## 2. Résultats et discussion

### 2.1 Résultats de la méthode 1

La technique de réticulation en émulsion utilisée dans cette méthode a abouti à de faibles rendements (<10%) du procédé de microencapsulation. Par ailleurs la manipulation de l'huile de paraffine et son élimination lors du lavage par l'éther de pétrole sont délicates. Il a été rapporté qu'un lavage au méthanol en plusieurs fois permet d'éliminer l'huile de paraffine à une température de 0°C. Cependant, la suppression de glutaraldéhyde et de l'acide acétique des microsphères n'était jamais aboutie. Cette technique de micro encapsulation a été donc substituée par la méthode 2 .

### 2.2 Résultats de la méthode 2 (Diffusion de solvant dans l'émulsion simple)

#### 2.2.1 Résultats de quantification des microsphères à base de CH/AN

Les résultats en pourcentage des rendements des différentes formulations préparées avec la méthode de diffusion de solvant dans l'émulsion simple sont regroupées dans le tableau II.4.1

**Tableau II.4.1** : Rendement (%) des formulations réticulées avec le Glutaraldéhyde

CH:PA (m/m)	N° lot	AN (g)	CH (g)	G.A %	Rendement (%)
<b>CH/AN 1:1</b>	Lot 01'	0.1	0.1	/	15.0
	Lot 02'	0.1	0.1	1%	14.9
	Lot 03'	0.1	0.1	3%	16.1
	Lot 04'	0.1	0.1	5%	16.2
<b>CH/AN 1:2</b>	Lot 05'	0.2	0.1	1%	15.4
	Lot 06'	0.2	0.1	3%	16.0
	Lot 07'	0.2	0.1	5%	15.3

Des microsphères de chitosane chargées par l'acide niflumique ont été obtenues par le procédé de microencapsulation par la méthode de diffusion de solvant dans l'émulsion simple. Les résultats obtenus montrent les rendements en pourcentage des différentes formulations (du Lot01' au Lot07') sont faibles quelque soit le rapport polymère/PA, et pour tous les pourcentages de l'agent réticulant utilisé. Des essais sur des masses des produits de départ plus importantes (CH/AN) ont été tentés afin d'augmenter le rendement des microsphères mais l'obtention des agrégats et non de microparticules était inévitable. Bien que la libération n'a pas été étudiée en raison du faible rendement, la caractérisation des microsphères obtenues par cette méthodes est établie ci dessous :

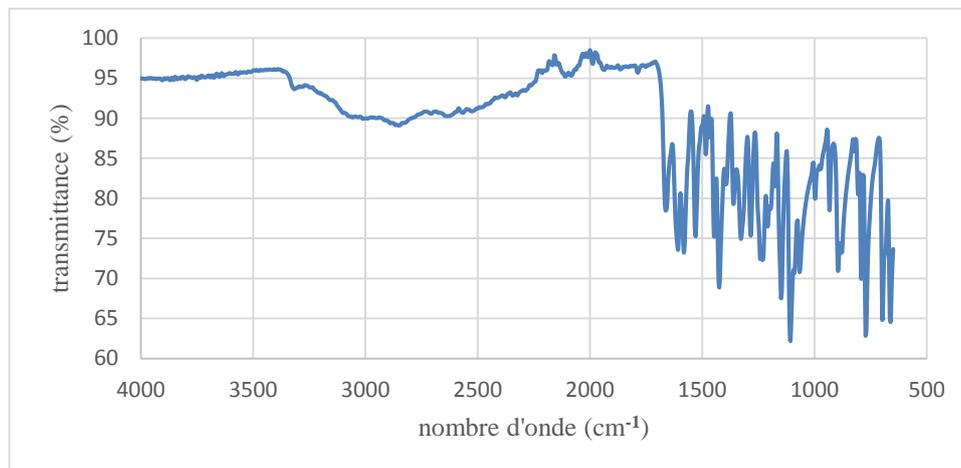
### 2.2.2 Identification de l'agent encapsulé par spectroscopie Infrarouge

Les spectres Infrarouge des microsphères réticulées ont été comparés aux spectres du chitosane (CH) et de l'agent actif (AN) pur est sont représentés dans les figures (Fig.II.4.1, II.4.2).

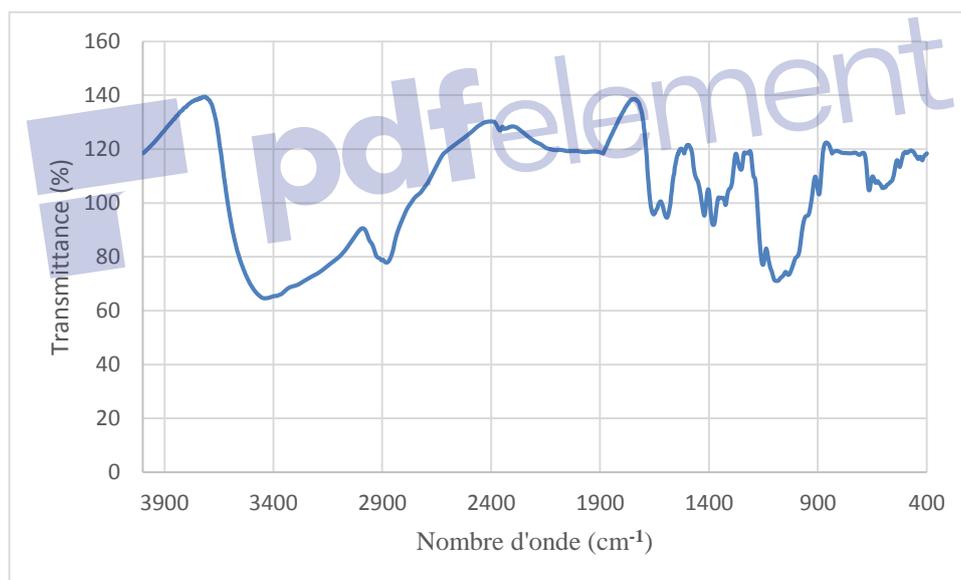
Une bande large et forte dans la région  $3500-3300\text{cm}^{-1}$  correspondant à l'élongation NH et OH aussi bien que les liaisons hydrogène intramoléculaire. Les bandes d'absorption à environ  $2912$  et  $2877\text{cm}^{-1}$  peuvent être attribuées aux élongations CH symétrique et asymétrique respectivement. La présence du groupe N acétyle résiduel est confirmé par les bandes aux alentours de  $1654\text{cm}^{-1}$  (élongation de C=O de l'amide I). Plusieurs petits pics se regroupant dans l'intervalle ( $1515-1575\text{cm}^{-1}$ ) sont attribuées à l'amide II. La bande d'absorption à  $1592\text{cm}^{-1}$  correspond à la vibration de déformation de la liaison NH de ( $\text{NH}_2$ )

## Caractérisation des microsphères d'acide niflumique à base de Chitosane

libre du chitosane et de C-N de l'amide II. Vers  $1322\text{cm}^{-1}$  on trouve les C-H de l'amide III. La vibration d'élongation de (C-O) présente une absorption à  $1083\text{cm}^{-1}$ , celle à  $894$  et  $1118\text{cm}^{-1}$  correspond à la structure du saccharide ( Trivedi., 2015).



**Figure II.4.1** : Spectre FTIR de l'acide niflumique pur (AN)



**Figure II.4.2** : Spectre FTIR du Chitosane pur (CH)

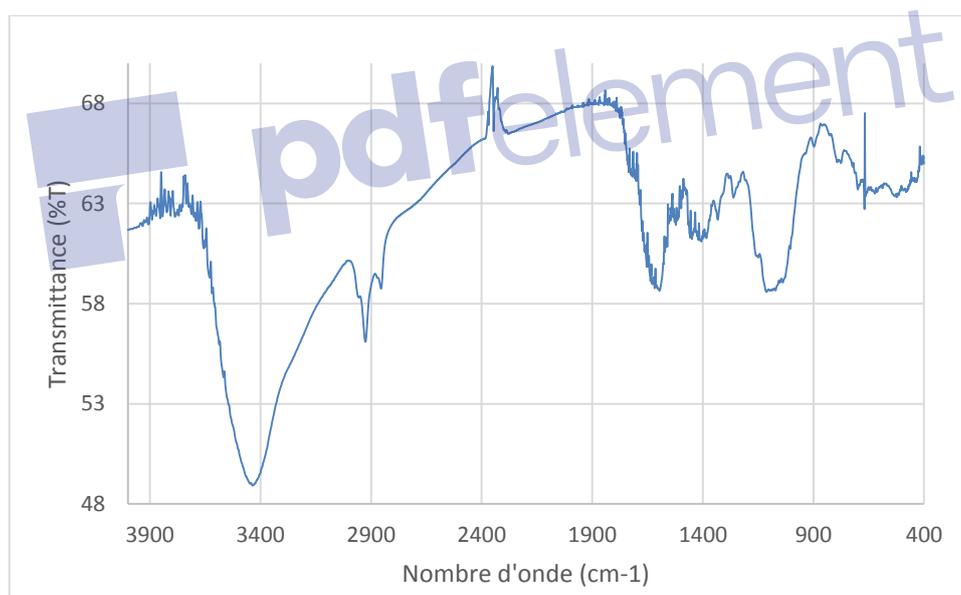
Dans les microsphères de chitosane réticulé avec G.A à 1%, les mêmes bandes caractéristiques de chitosane apparaissent avec le déplacement de la bande de  $1654\text{cm}^{-1}$ , vers les nombres d'ondes inférieurs ( $1598\text{cm}^{-1}$ ) correspondant à la fonction C=N (imine), résultant de la réaction entre le groupe amine ( $\text{NH}_2$ ) du chitosane et la fonction aldéhyde du glutaraldéhyde. Deux bandes à  $2854\text{cm}^{-1}$  et  $2926\text{cm}^{-1}$  correspondent aux vibrations de liaison C-H. Des bandes à  $1413\text{cm}^{-1}$  et  $1409\text{cm}^{-1}$  sont attribuées aux liaisons  $\text{CH}_2$  dans le

## Caractérisation des microsphères d'acide niflumique à base de Chitosane

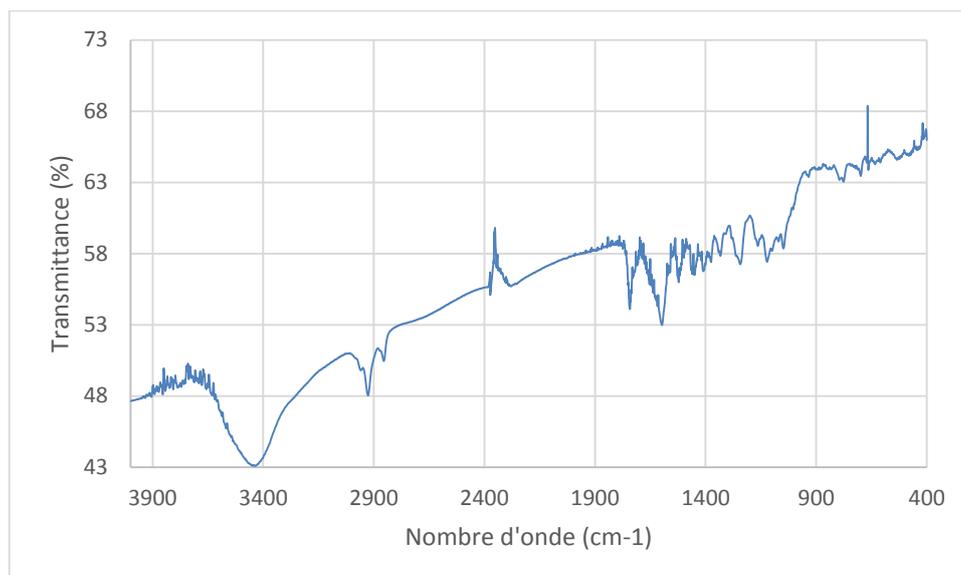
glutaraldéhyde ; à  $1384\text{cm}^{-1}$  vibration d'élongation de la liaison C-N. On note l'absence de la bande à  $1715\text{cm}^{-1}$  qui est relié à la fonction aldéhyde libre (Fig.II.4.3).

Les bandes caractéristiques de l'AN apparaissent surtout dans les microsphères préparées avec 5% de G.A : à  $1600\text{cm}^{-1}$  on attribue la fonction carbonyle C=O de l'AN ; la fonction de l'amine N-H secondaire à  $3315\text{cm}^{-1}$  a été masquée par les vibrations de N-H du chitosane. Les bandes d'absorption asymétrique et symétrique de la fonction C-F sont déplacées vers  $1376\text{cm}^{-1}$  et  $1121\text{cm}^{-1}$ , respectivement. Dans le spectre CH/AN/G.A on observe une bande à  $1742\text{cm}^{-1}$  attribuée à la fonction carbonyle C=O de l'aldéhyde, ce qui peut-être expliqué par l'existence de G.A après lavage intensif des microsphères et que l'utilisation de 5% de G.A (composé toxique) est à éviter.

De ce fait la technique de la microencapsulation avec le séchage par pulvérisation en utilisant le STPP (non toxique) comme agent réticulant a été adoptée.



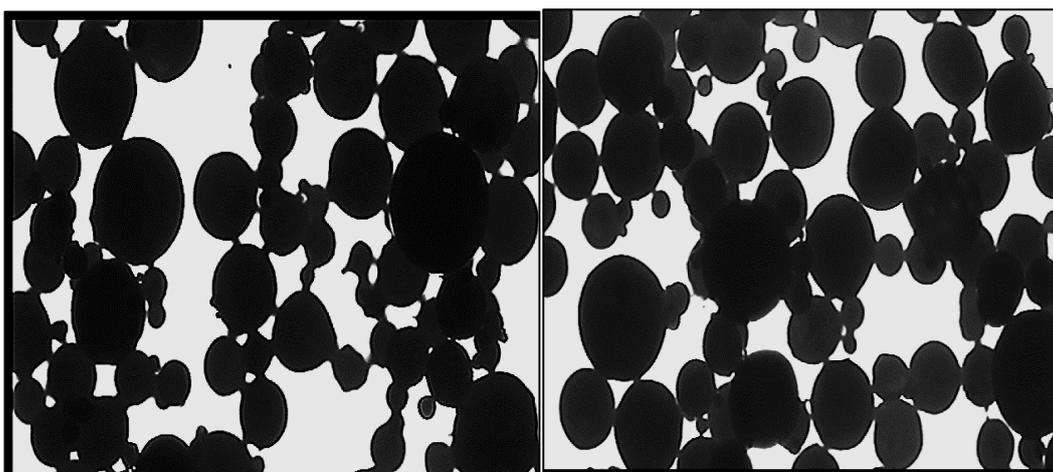
**Figure II.4.3 :** Spectre FTIR des microsphères CH-AN-G.A 1%



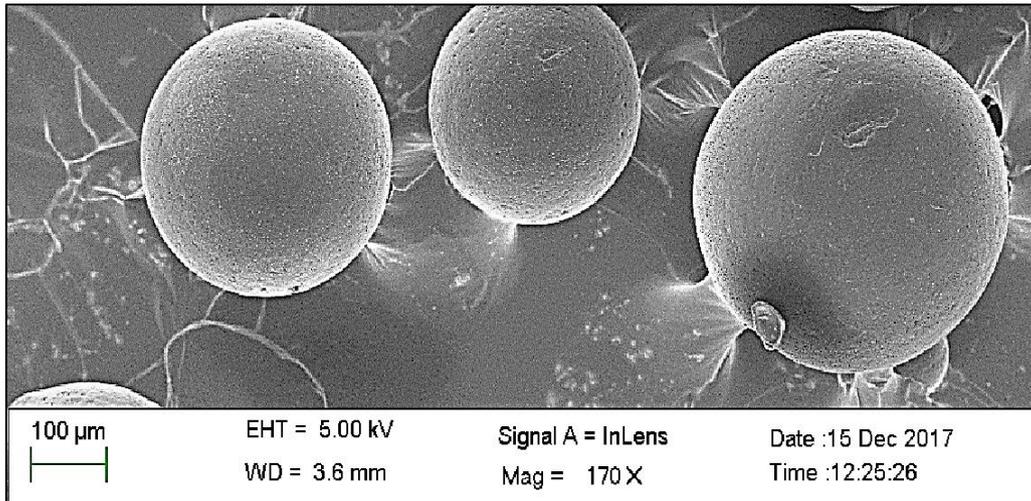
**Figure II.4.4** : Spectre FTIR des microsphères CH-AN-G.A 5%

### 2.2.3 Sphéricité et Morphologie de surface des microsphères de chitosane

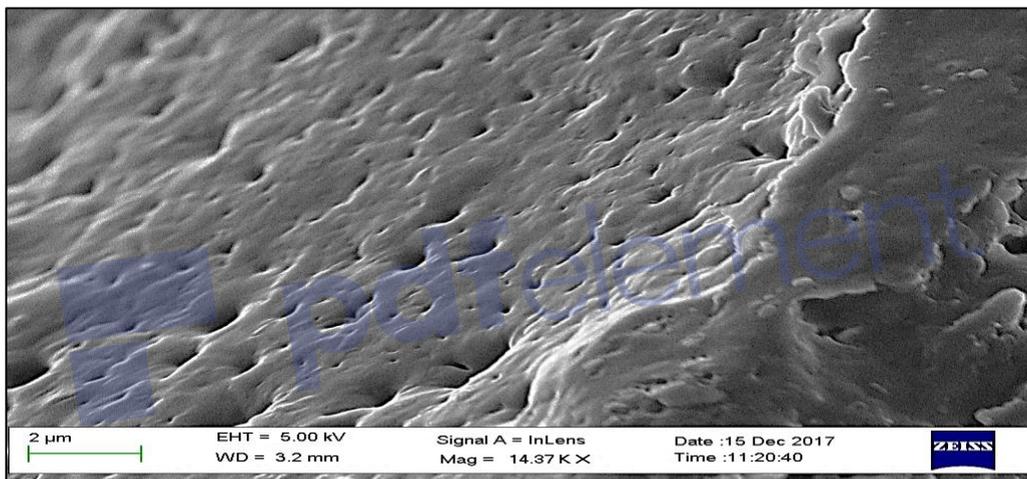
Les images enregistrées par le microscope optique montrent des microparticules de forme sphérique. Les figures II.4.6 et II.4.7 montrent des micrographies MEB des microsphères de chitosane-réticulé avec 5% de glutaraldéhyde ayant la forme sphérique avec une rugosité sur la surface. On peut expliquer les résultats, par le fait que l'addition de l'agent réticulant (G.A) peut augmenter la viscosité de la solution de CH par conséquent la diffusion de l'eau des gouttelettes réticulées vers l'extérieur était difficile.



**Figure II.4.5** : Image des microsphères prise par microscopie optique pour le Lot 07' selon la méthode 2



**Figure II.4.6** : Micrographies MEB des microsphères de CH-G.A (Lot 07') par la méthode 2



**Figure II.4.7** : Micrographies MEB de la surface des microsphères CH-G.A de la formulation (Lot 07') par la méthode 2

### 2.3 Résultats de la méthode 3 (Séchage par pulvérisation)

Plusieurs formulations ont été développées en modifiant la concentration et le pH de l'agent réticulant STPP dans les microsphères de chitosane préparées. Ces formulations ont été caractérisées en termes de rendement pratique, teneur en substance active, diamètre moyen et charge extérieure (potentiel zéta,  $\zeta$ ). Les résultats sont regroupés dans le tableau II.4.2

**Tableau II.4.2** : Formulations des microcapsules de chitosane et caractéristiques principales

formulation	Stpp	[Stpp]	Rendement	Teneur	Diamètre	$\zeta$
	PH	(%)	(%)	(%)	(nm)	Mv
<b>S01</b>	/	/	62.81	93.1± 1	4697	+13.3±0
<b>S02</b>	9	0.1	69.42	81.6±1	3883	+16.7±0
<b>S03</b>	9	0.5	72.39	98.9±1	767.4	+02.4±0
<b>S04</b>	6	0.1	72.26	99.2±5	2896	+20.7±0
<b>S05</b>	6	0.5	74.67	99.0±0	990.4	+11.6±0
<b>S06</b>	4	0.1	75.68	99.5±6	3365	+13.7±0
<b>S07</b>	4	0.5	68.15	99.8±8	8421	+13.0±0
<b>CH~</b>						~+55.0±5

### 2.3.1 Le rendement en pourcentage

À l'échelle de laboratoire, le séchage par pulvérisation montre un rendement relativement bas dû à l'adhérence de la poudre à la surface intérieur de cyclone et aussi aux petites et légères particules qui ne sont pas retenues par l'aspirateur du pulvérisateur. D'ailleurs, l'utilisation des solvants aqueux explique également les faibles rendements pratiques obtenus (Rohani et al., 2014).

Dans cette méthode, on a trouvé des rendements variés de 62% à 75% avec la variation des concentrations et des pH de l'agent réticulant STPP. Ces valeurs sont meilleures en comparant avec des résultats des laboratoires précédents obtenus dans le même laboratoire (Aranaz et al. 2017; Nerkar et al., 2012). Il faut aussi mentionner que des petits volumes de la solution d'alimentation ont été pulvérisés et perdus pendant la production de particules de chitosane (50 ml) qui expliquent cette baisse dans les rendements.

Il a été observé aussi, un faible rendement dans la formulation S01 où les microsphères ne sont pas réticulées. Ceci peut-être expliqué que l'addition de STPP dans la solution de chitosane augmente la viscosité de la solution de polymère et aide le système CH-AN à rester stable avec le chitosane réticulé qui résulte en une faible quantité de particules fines et légères

libres donc, une grande quantité retenue par l'aspirateur de pulvérisateur et ensuite un rendement relativement bon dans les formulations réticulées.

On note qu'une diminution de pH du STPP de 9, 6 à 4 augmente le rendement de 69%, 72% et 75% respectivement et ceci pour une concentration de 0.1% de l'agent réticulant. Des résultats similaires ont été observés par (Pati et al., 2011) et ont pu conclure que la limite de réticulation du chitosane avec le STPP est dépendante du pH. Il a été établi qu'un degré de réticulation par les ions STPP est relativement bas à pH élevé. En revanche, à faible pH les amines libres du chitosane sont davantage protonnées et se réticulent par les ions TPP. Cette réticulation est en faveur d'une augmentation du rendement comme il a été déjà mentionné ci-dessus.

### 2.3.2 Teneur en principe actif

Les résultats de teneur en principe actif des microsphères pour différentes formulations (Tabl.2.1) varient de 81.6% à 99.8%. Les résultats de la présente étude ont démontré que l'efficacité d'encapsulation des microsphères de chitosane-TPP a été affectée par la concentration de l'agent réticulant (% TPP) et le pH de ce dernier.

#### a. Effet de la concentration de l'agent réticulant STPP sur la teneur en AN

D'après les résultats, la teneur en principe actif des microsphères de chitosane-TPP a augmenté de 81.6% à 98.9% en comparant (S02 et S03) avec l'augmentation de la concentration de TPP de 0.1% à 0.5% à (pH=9) dans la solution de chitosane. Ces résultats sont en accord avec les travaux de (Aranaz et al. 2017), où on a observé une meilleure teneur en principe actif quand la quantité de TPP augmente de 0.1% à 0.2% dans les microsphères du chitosane pulvérisées. En plus, (Desai et al, 2006) ont démontré que l'augmentation du volume de STPP de 5ml à 15ml dans la solution de chitosane augmente la teneur de l'acétaminophène de 89.8% à 98.7%. Ceci peut être expliqué par le fait qu'une augmentation de la viscosité de la solution de chitosane avec l'augmentation de la concentration de STPP empêche l'AN de quitter la gouttelette. Dans notre étude, seules les formulations réticulées à pH=9 de STPP sont en accord avec cette constatation.

Les meilleures teneurs en matière active ont été obtenues avec l'utilisation de TPP comme agent réticulant où la teneur atteint 98%-99% en comparant avec la formulation S01 (non réticulée). Par contre, une seule formulation réticulée (S02) préparée dans les conditions (0.1% STPP, pH=9) a montré une teneur en principe actif inférieure à celle qui est préparée

avec le chitosane non réticulé (S01), ce qui est un résultat inattendu. Ceci peut être expliqué par le fait que, la concentration de 0.1% de STPP dans le pH=9 n'a pas vraiment changé la viscosité de la solution de chitosane ce qui résulte à une plus grande quantité des particules légères qui ne sont pas retenus par l'aspirateur du pulvérisateur. Il faut mentionner aussi que l'utilisation du rapport de CH-STPP (30:30) donne les meilleurs teneurs en principe actif selon les travaux précédents. Il est à noter que dans nos résultats, l'effet de la variation de pH de l'agent réticulant n'est pas précis sur la teneur de l'AN.

### 2.3.3 Potentiel Zêta

Le potentiel zêta représente la charge électrique qu'une particule acquiert grâce aux ions qui l'entourent quand elle est en solution. C'est la mesure de l'intensité de la répulsion/attraction électrostatique ou électrique entre particules. C'est l'un des paramètres fondamentaux connus pour affecter la stabilité. La mesure apporte une vision détaillée des causes de dispersion, d'agrégation ou de floculation et peut être appliquée pour améliorer la formulation de dispersions, d'émulsions ou de suspensions. Le potentiel zêta est utilisé comme moyen de mesurer la charge électrique sur la surface des particules, montrant la stabilité physique des systèmes colloïdaux. Le potentiel zêta est employé souvent comme indicateur de stabilité de la gouttelette, là où les valeurs sont entre +30mv et -30mv c'est une indication de la bonne stabilité du système contre la coalescence (Thanoo et al. 1992)

Pendant la production des microsphères par le procédé de séchage par pulvérisation, la surface des microsphères de l'acide niflumique est chargée positivement comme indique le potentiel zêta positif qui varie de +2.4 à +13.7 mv. Le nombre de groupes amine ( $\text{NH}_2$ ) libres dans le chitosane est responsable de la charge positive de la surface des microsphères. On observe que l'utilisation de STPP comme agent réticulant diminue la charge positive de chitosane de +40mv à +2 mv(S03) par exemple, c'est une indication que les  $\text{NH}_3^+$  libres du chitosane sont neutralisés par les ions  $\text{O}^-$  de TPP.

Dans nos résultats, il a été obtenu que l'augmentation de concentration de STPP dans les pH élevés diminue le potentiel zêta de +16.7 mv à +2 mv (S02, S03, pH=9) et de +20.7 mv à +11.6 mv (S04, S05). Le même résultat a été obtenu avec des travaux précédents (Gan et al. 2005, Liu et al., 2009). Par contre le potentiel zêta est faiblement diminué dans les pH faibles (pH=4) de +13.7 mv à +13.0 mv, et donc les microsphères préparées avec de fortes concentrations de STPP sont les plus stables par rapport à celles préparées dans des concentrations faibles (0.1% STPP).

### 2.3.4 Diamètre moyen des microcapsules

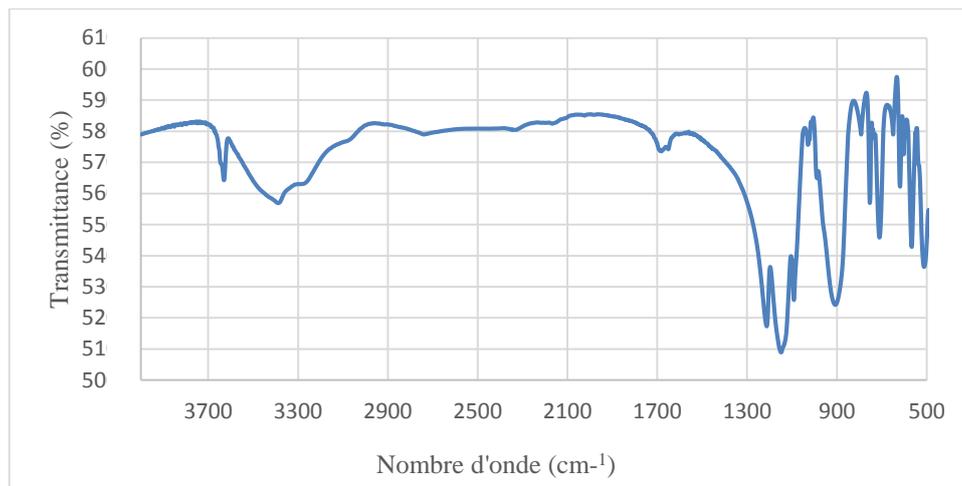
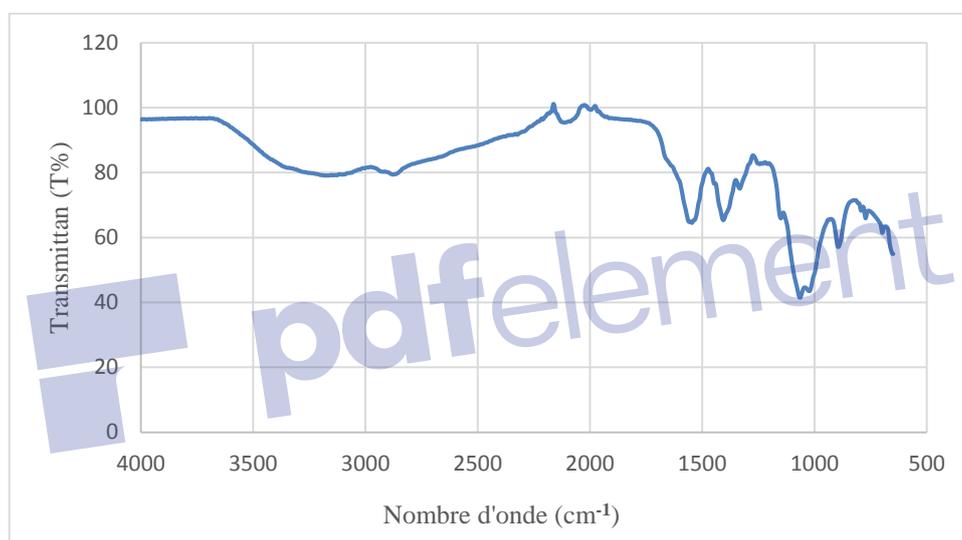
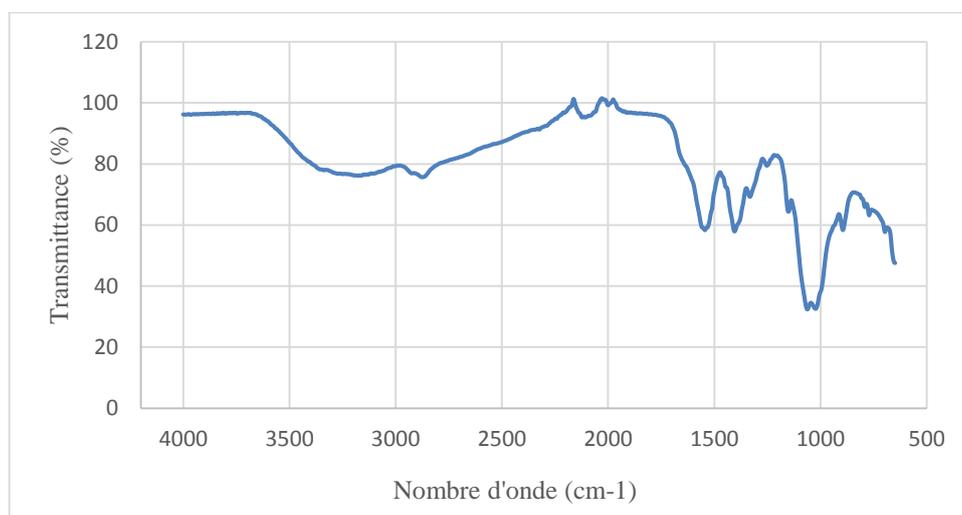
Le diamètre des microcapsules est légèrement grand parce qu'il a été mesuré par la diffusion dynamique de la lumière (DLS). Ceci peut être expliqué au gonflement provoqué par l'environnement de liquide. Quelques échantillons ont montré une distribution bimodale avec un deuxième pic. Ce résultat n'a pas été détecté dans la microscopie électronique à balayage (MEB), il indique la présence des agrégations des microparticules en solution. Les formulations produites ont montré une charge positive qui a été réduite quand la concentration de STPP était augmentée.

### 2.3.5 Identification de l'agent encapsulé par spectroscopie Infrarouge

Dans le spectre FTIR des microsphères de chitosane réticulé avec le STPP (Fig. II.4.8 II.4.9), la bande à  $1654\text{ cm}^{-1}$  disparaît et deux nouvelles bandes apparaissent à  $1596\text{ cm}^{-1}$  et  $1547\text{ cm}^{-1}$ . L'apparition de ces deux bandes est attribuée à la formation d'un couplage ionique entre les ions phosphoriques et d'ammonium, en plus le FTIR des microsphères réticulées a également montré une bande pour  $\text{P}=\text{O}$  à  $1062\text{ cm}^{-1}$  (Xu et al. 2003 ; Wang et al. 2001).

Les bandes caractéristiques de l'AN ne sont pas vraiment visibles dans les FTIR des microsphères de chitosane, mais on peut voir l'épaule entre  $3000$  et  $3100\text{ cm}^{-1}$  qui prouve la présence d'une liaison C-H d'un cycle aromatique. Les deux bandes fines et intenses à  $1620\text{--}1450\text{ cm}^{-1}$  sont caractéristiques de la liaison double C=C du cycle aromatique (vibration de valence) et chevauchent par les deux pics de couplage ionique ; la fonction amine N-H secondaire et les vibrations de O-H acide à  $3430\text{ cm}^{-1}$  sont incluses dans une large bande du chitosane qui est située entre  $3100\text{ cm}^{-1}$  et  $3370\text{ cm}^{-1}$ , aussi la fonction carbonyle de l'AN est masquée par la bande située à  $1654\text{ cm}^{-1}$  associée au carbonyle de la fonction amide du chitosane.

## Caractérisation des microsphères d'acide niflumique à base de Chitosane

**Figure II.4.8** : Spectre FTIR du STPP**Figure II.4.9** : Spectre FTIR des microsphères CH-AN-STPP (pH=9, 0.5%)**Figure II.4.10** : Spectre FTIR des microsphères CH-AN-STPP (pH=9, 0.1%)

### 2.3.6 Caractérisation par Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

Les microcapsules pulvérisées sont de formes sphériques, des impressions profondes sont observées sur la surface des microsphères. Les microsphères de chitosane non réticulées sont de surface lisse par rapport aux microsphères réticulées. On observe que l'augmentation de la concentration de STPP et le pH lui-même dans la solution de polymères engendre la sphéricité des microsphères, l'augmentation de la concentration et du pH de STPP influence sur la surface externe des microsphères réticulées, on observe comme des courbures sur la surface et la perte de la sphéricité pour les microsphères préparées à des concentrations et pH élevé de l'agent réticulant. (0.5%STPP, pH=9). Des travaux similaires ont été obtenus et les mêmes observations sont mentionnées avec l'utilisation de STPP comme agent réticulant.

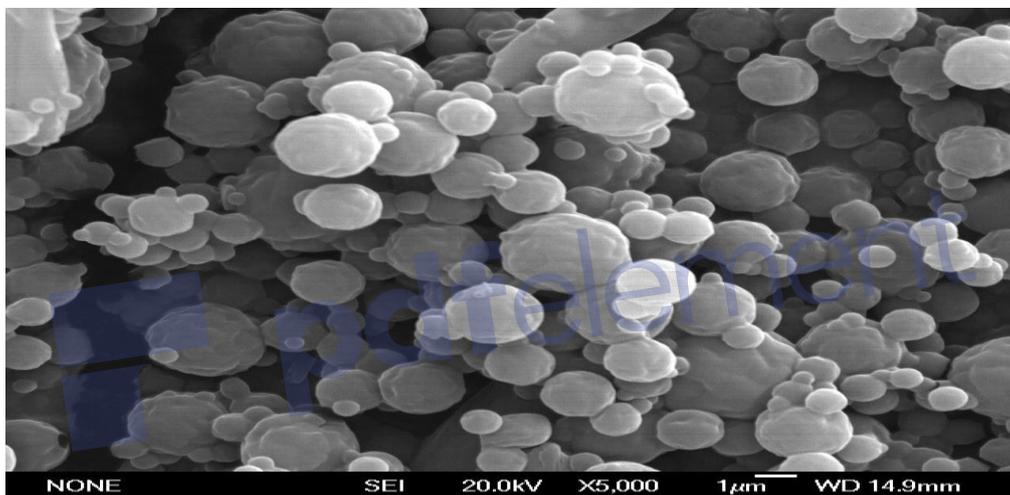


Figure II.4.11 : Micrographies MEB des microsphères CH/AN non réticulées par STPP

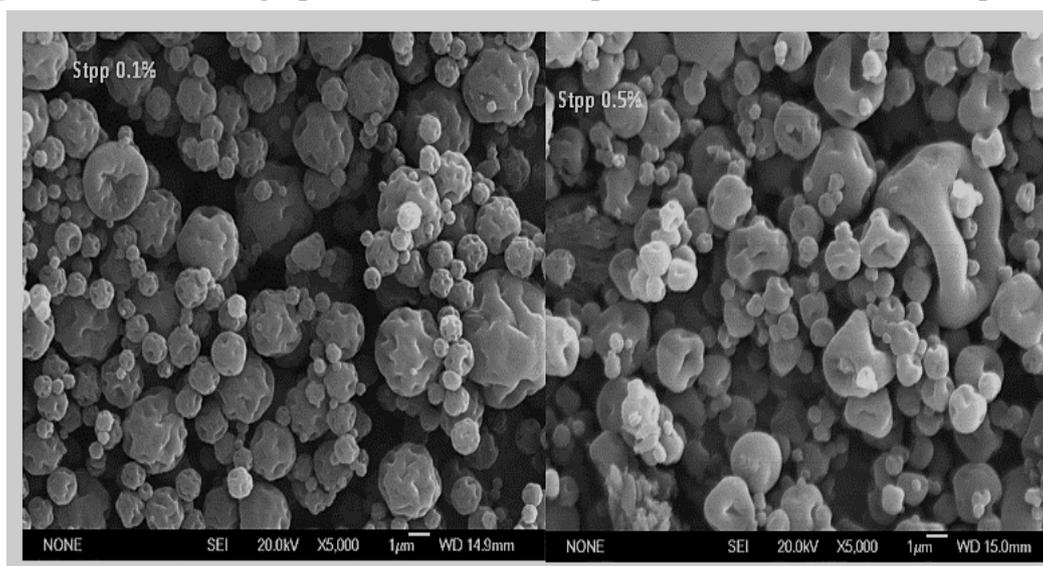
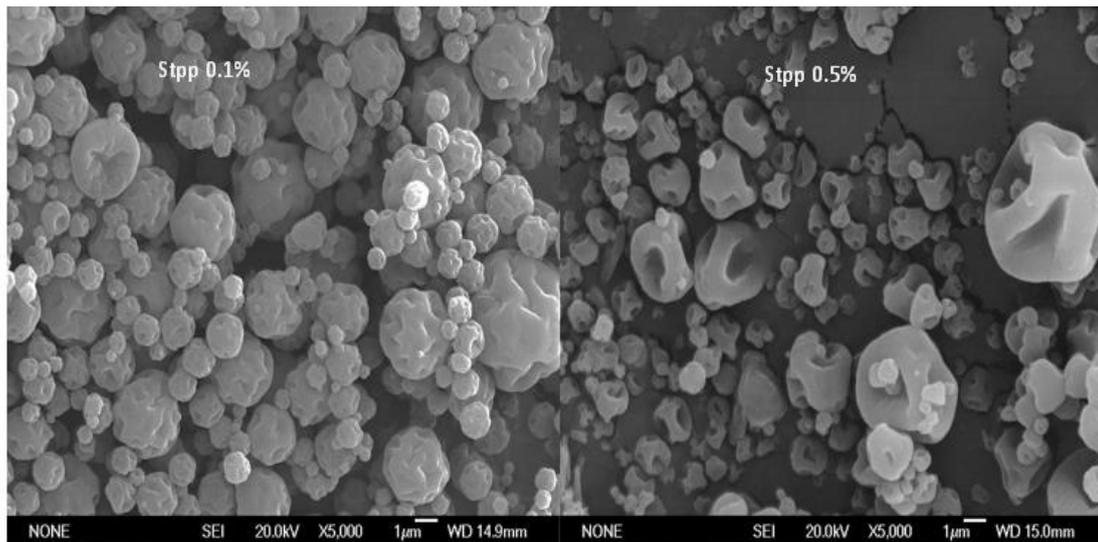
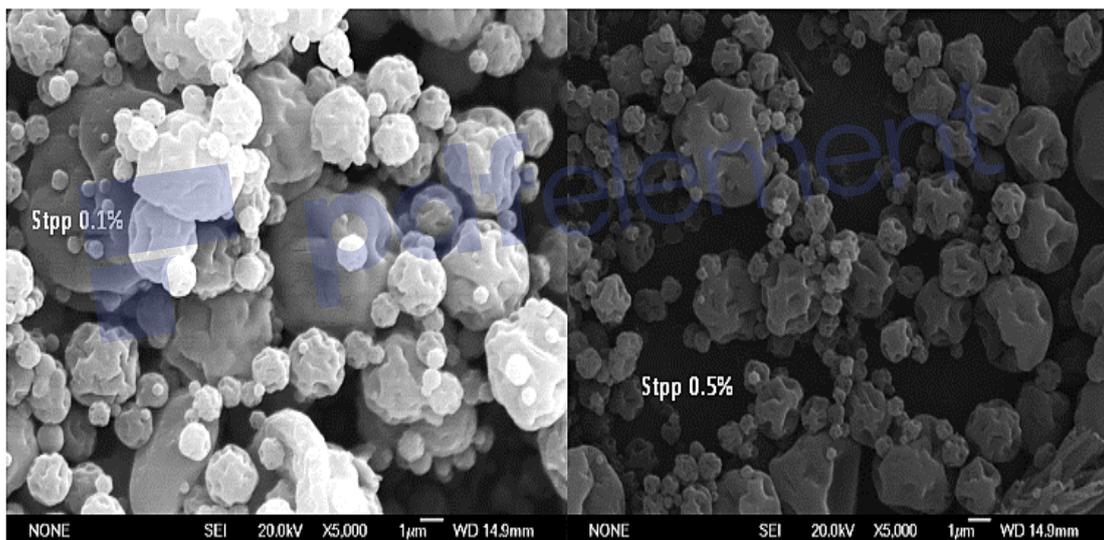


Figure II.4.12 : Micrographies MEB des microsphères réticulées par le STPP, pH=9



**Figure II.4.13** : Micrographies MEB des microsphères réticulées par le STPP, pH=6



**Figure II.4.14** : Micrographies MEB des microsphères réticulées par le STPP, pH=4

### 2.3.7 Caractérisation par diffraction des rayons X (DRX)

L'analyse de DRX des microsphères de CH-AN et CH-AN-STPP- a été effectuée afin de caractériser l'état physique de l'AN dans la matrice de chitosane réticulé ou non avec le STPP. Les diagrammes de diffraction des rayons X pour l'AN, CH, l'agent réticulant STPP et les microparticules préparées sont présentés dans les figures si dessous :

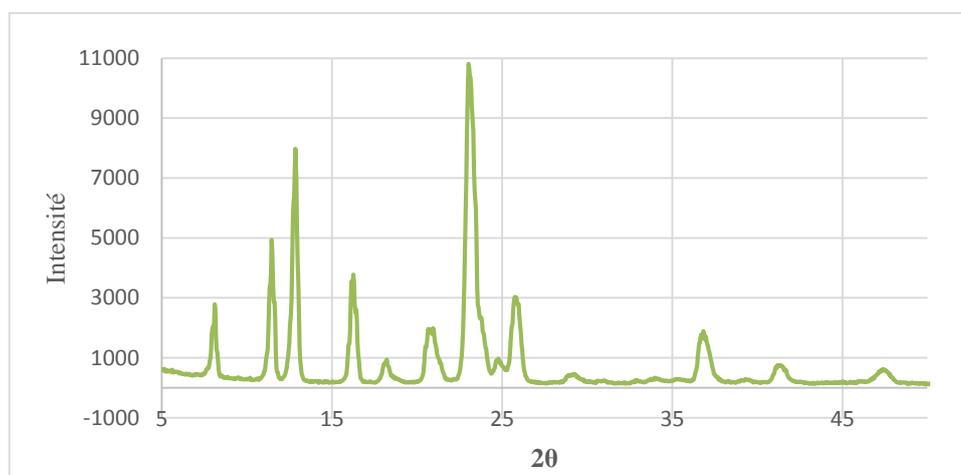
Le diffractogramme des rayons X de l'AN pur montre des pics fins indiquant que le principe actif est de nature cristalline. Les pics les plus intenses sont situés à des valeurs de  $2\theta=$

8.1°, 11.5°, 12.8°, 16.3°, 21°, 23.2°, 26°, et 37°, ces pics sont également notés dans les travaux de (Kacso et al. 2012)

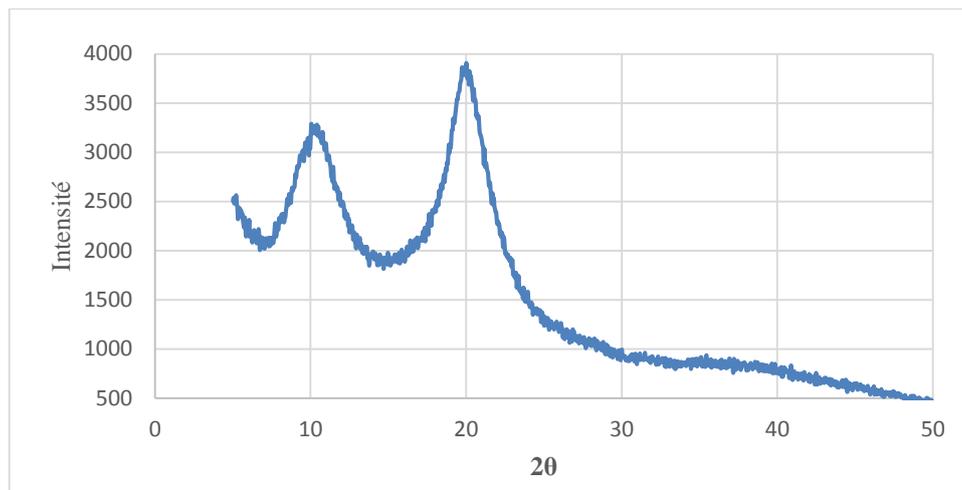
Le chitosane est un polymère semi-cristallin, la DRX de la poudre de chitosane montre deux pics de réflexion principaux pour  $2\theta = 10.4^\circ$  et  $20.1^\circ$ . Il a été rapporté que le motif élémentaire du chitosane est composé de deux chaînes antiparallèles liées par des liaisons hydrogènes intermoléculaires, formant une structure en bandes (Matet 2014).

Dans le cas du chitosane réticulé CH-STPP on remarque la diminution significative de l'intensité des pics caractéristiques du chitosane, ce résultat a été en accord avec les travaux rapportés par Wan et al. Les différences distinguées dans les diffractogrammes du chitosane et du chitosane réticulé peuvent être attribuées à des modifications dans l'arrangement de la molécule du cristal (Bhumkar et al. 2006).

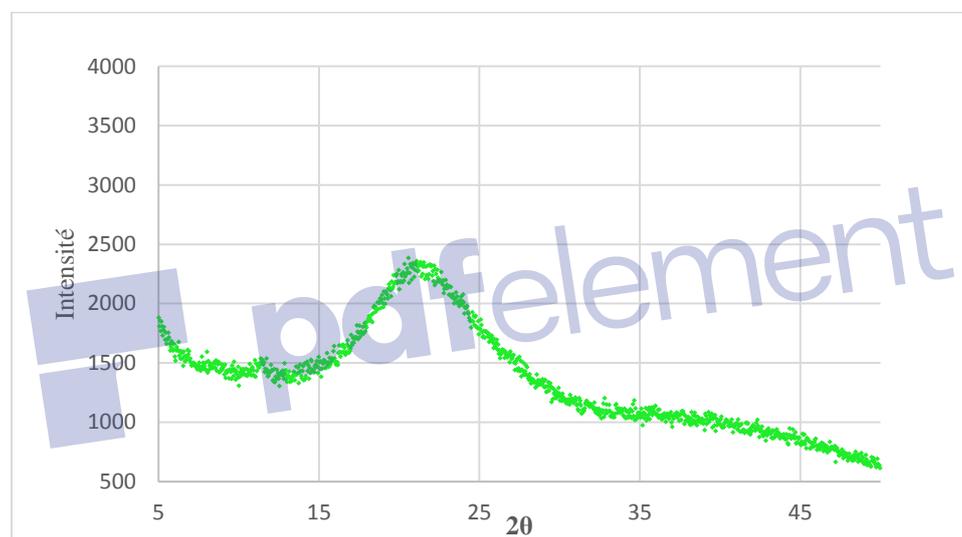
Dans les microsphères CH-AN non réticulées le diffractogramme présente des pics caractéristiques de l'AN à  $2\theta = 8^\circ, 11.5^\circ, 12.8^\circ, 21^\circ$  et  $26^\circ$  mais avec une faible intensité, ceci peut-être expliqué par le fait que la cristallinité de l'AN a été affectée après le procédé de séchage par atomisation, en plus ces pics sont absents dans les microsphères réticulées avec le STPP, ce qui peut être associé au fait que l'agent actif est complètement dispersé dans la matrice de chitosane. Ces résultats ont été en accord avec l'observation de MEB où aucun cristal de l'acide niflumique n'a été observé sur la surface de microcapsules. Le même résultat a été observé dans d'autres formulations basées sur le chitosane où des substances actives ont été présentées dans des dispersions moléculaires à l'intérieur de la matrice de polymère (Aranaz et al. 2017; Desai et Park 2006)



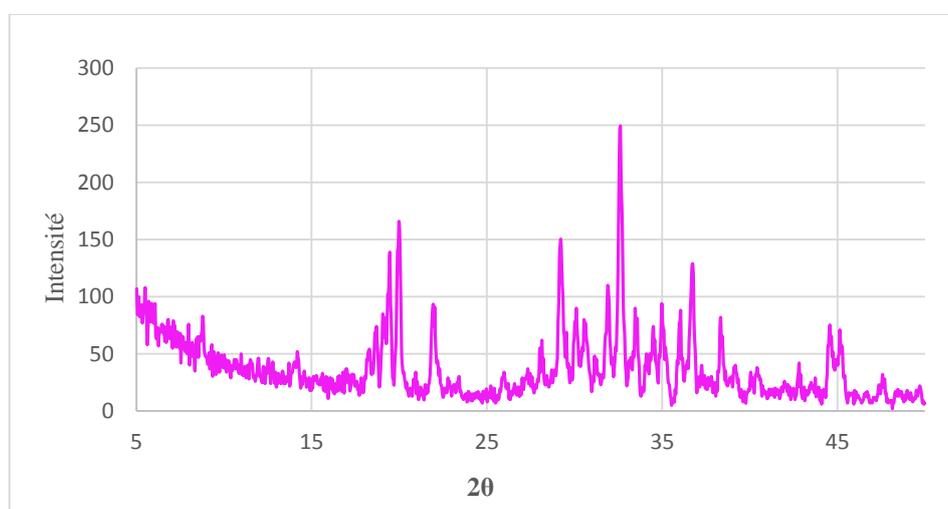
**Figure II.4.15** : Diffractogramme de DRX de l'acide niflumique (AN) pur



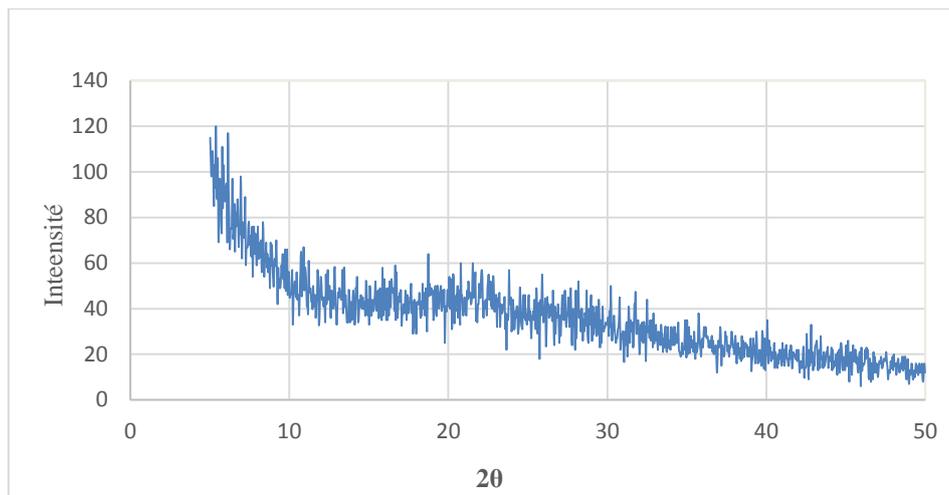
**Figure II.4.16** : Diffractogramme de DRX de chitosane pur.



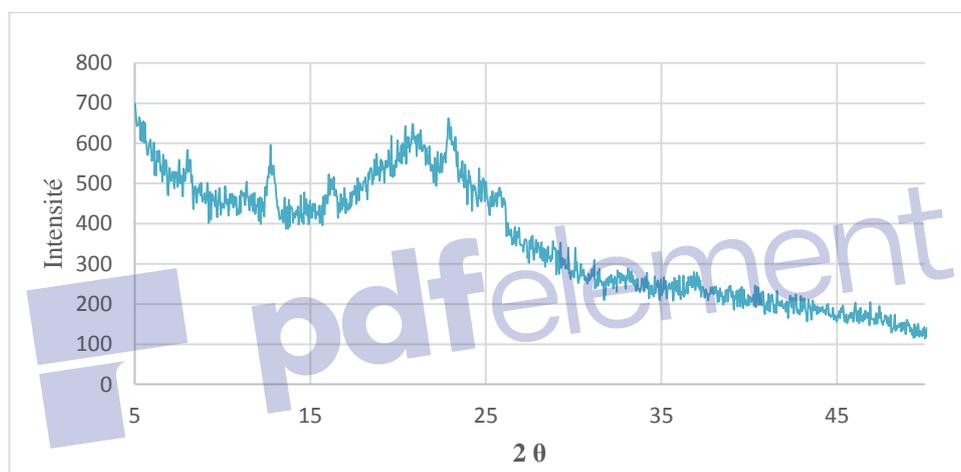
**Figure II.4.17** : Diffractogramme de DRX des microsphères de CH non réticulées sans AN



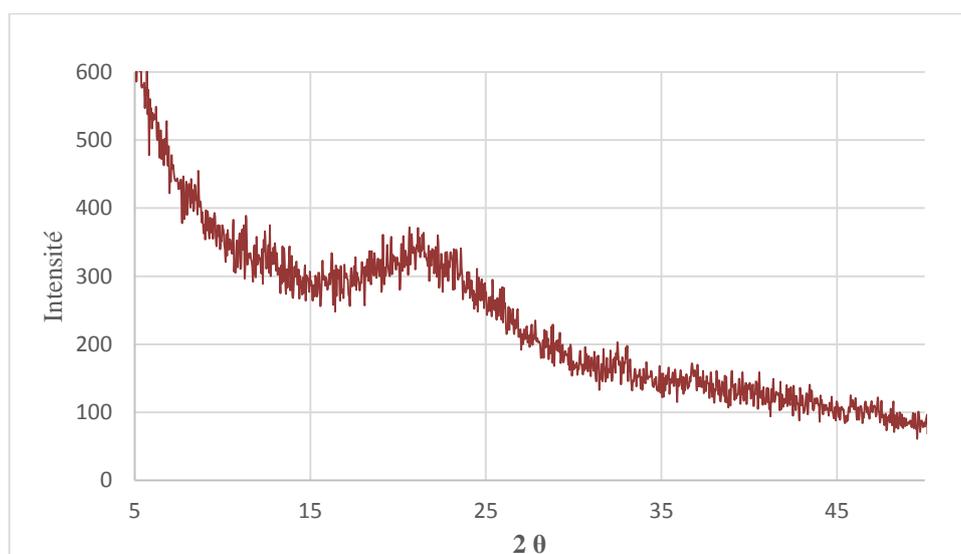
**Figure II.4.18**: Diffractogramme de DRX de l'agent réticulant STPP



**Figure II.4.19** : Diffractogramme de DRX de microsphères de CH-STPP (0.5% ,pH=9)



**Figure II.4.20** : Diffractogramme de DRX des microsphères CH-AN non réticulées



**Figure II.4.21**: Diffractogramme de DRX des microsphères réticulées CH-AN-STPP (pH=9)

### 2.3.8 Etude de la cinétique de libération de l'acide niflumique à partir des microsphères de chitosane préparées avec le séchage par pulvérisation

#### a. Suivi de la libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane dans le milieu acide (pH=1,2) sans enzyme.

La cinétique de libération de l'acide niflumique à partir des microsphères de chitosane a été établie en milieu acide (HCl 0.1N, pH=1.2) pour 2h et les profils de libération sont donnés dans les figures suivantes. On mentionne que toutes les cinétiques ont été répétées trois fois pour vérifier la répétabilité des résultats expérimentaux.

Les résultats ont été tracés par le pourcentage de l'AN libérée en fonction du temps. Les taux de libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane varie de 35% à 89 % après 2h avec la variation des concentrations et du pH de STPP dans la solution de chitosane (Tab. II.4.3).

**Tableau II.4.3** : Résultats des taux de libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane dans le milieu acide sans enzyme, pH=1,2

CH:AN	N° formulation	STPP (%)	pH, STPP	% AN libéré 120min
1:1	S01	/	/	72.25
	S02	0.1	9	45.36
	S03	0.5	9	65.55
	S04	0.1	6	88.67
	S05	0.5	6	89.60
	S06	0.1	4	42.81
	S07	0.5	4	35.09

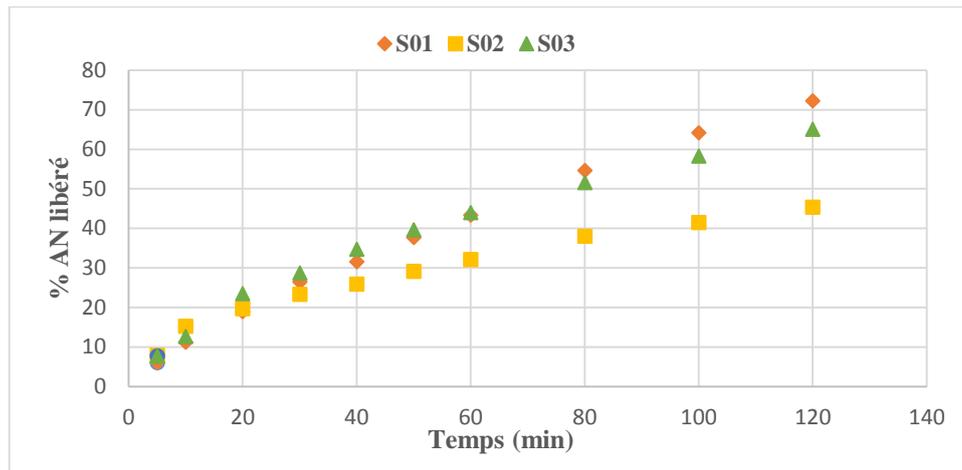
#### Effet de la concentration de l'agent réticulant (STPP) sur la libération de l'AN:

Nous avons comparé les cinétiques de libération des formulations préparées dans les mêmes conditions de pH de l'agent réticulant (STPP) mais en variant seulement sa concentration à la cinétique de libération de l'AN à partir de la formulation CH-AN utilisée comme référence pour mieux comprendre l'effet imposé par le STPP sur la libération.

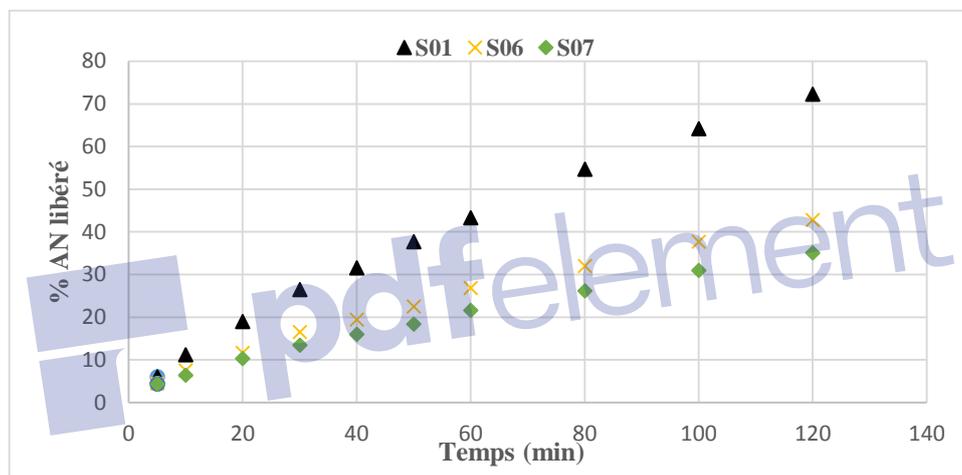
Pour les pH élevés de STPP (Fig. II.4.22), les microsphères réticulées (S02, S03) libèrent plus lentement le principe actif en comparaison avec les microsphères non réticulées (S01) ; avec la variation de la concentration de STPP il a été obtenu qu'à 0.1% STPP, et pour un pH de 9, le taux de libération est de 45.36 % mais en augmentant la concentration 0.5%, le taux de libération augmente à 65%. Ceci peut s'expliquer par les valeurs du potentiel Zeta qui sont de +16 mv et +2mv pour les formulations S02 et S03 respectivement. Il est évident que les microsphères dont le potentiel zêta est plus élevé sont plus stables, en milieu acide et donc libèrent moins de matière active.

Concernant les microsphères préparées dans les pH faibles de STPP (Fig. II.4.23), l'augmentation de concentration de STPP de 0.1% à 0.5% dans la solution de chitosane engendre une diminution de la libération de l'AN où ce dernier diminue de 42.8 % à 35% (S06, S07). Le chitosane dans les conditions de préparation (pH=4 . STTP=0.5 %) présente une plus grande réticulation en raison des  $\text{NH}_3^+$  disponibles comme sites d'association. Dans le milieu de libération acide, les microsphères de chitosane tendent à se solubiliser (les  $\text{NH}_2$  libres) puis à former un gel qui résiste à la libération de l'A.N. Par ailleurs, le potentiel zêta pour chacune de ces deux formulations sont de +13mv et qui confèrent aux microsphères une certaine stabilité en milieu acide et par conséquent donne des taux de libération relativement bas.

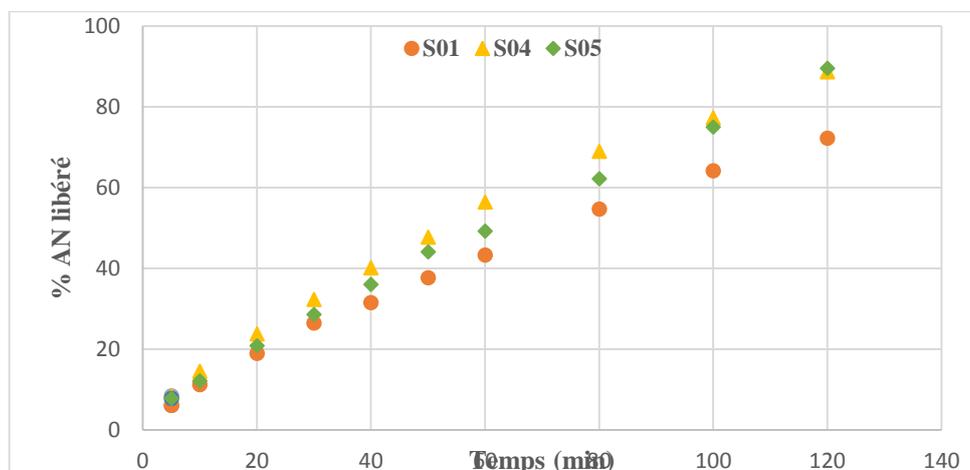
Pour les pH intermédiaires de STPP (Fig. II.4.24), les taux de libération sont de 89% pour chacune des formulations S04 et S05 ayant des taux de STTP de 0.1 et 0.5% respectivement. En comparant ces résultats avec le chitosane non réticulé (S01), celui-ci présente un taux de libération de 72% et qui reste inférieur à ceux de S04 et S05. On peut conclure qu'à cette valeur de pH et quelque soit la concentration de STTP, les microsphères sont instables, dans le milieu de libération acide. En outre, en regardant les valeurs des potentiels zêta pour S04 et S05 et qui sont de 20 et 11 mv respectivement, on peut dire que ces résultats inattendus restent difficiles à interpréter et méritent d'autres investigations.



**Figure II.4.22:** Profils de libération de l'AN à partir des microsphères préparées à (STPP, pH=9) en milieu acide (pH=1,2).



**Figure II.4.23:** Profils de libération de l'AN à partir des microsphères préparées (STPP, pH=4) en milieu acide (pH=1,2).

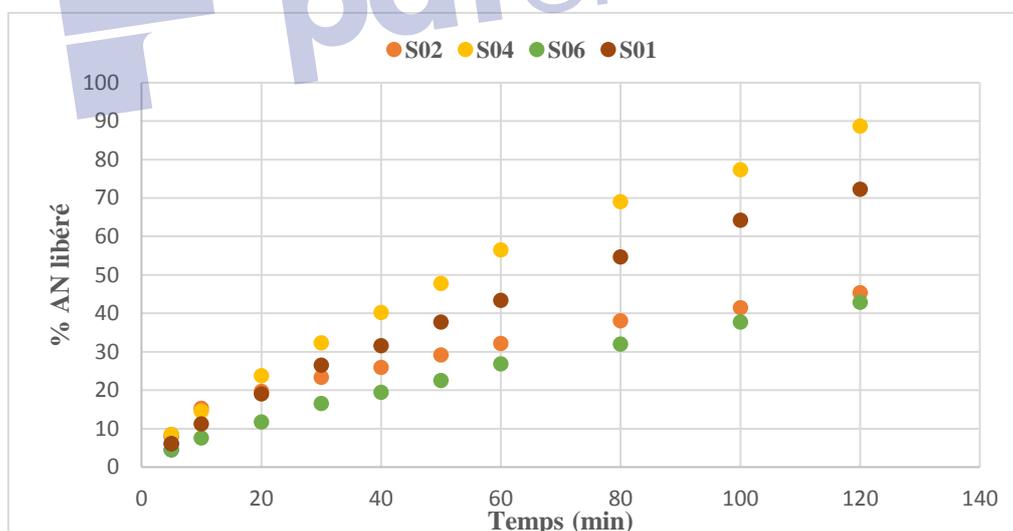


**Figure II.4.24 :** Profils de libération de l'AN à partir des microsphères préparées (STPP, pH=6) en milieu acide (pH=1,2).

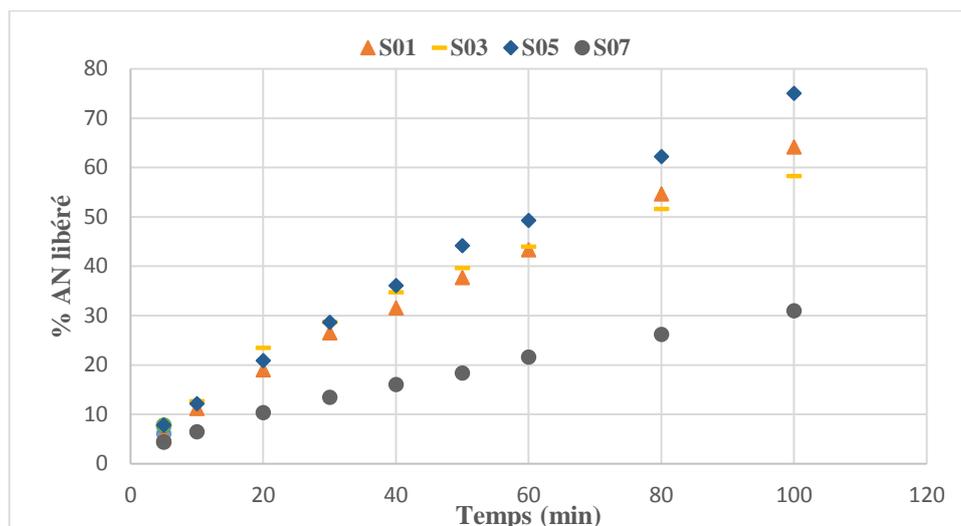
### Effet de la variation du pH de l'agent réticulant (STPP) sur la libération de l'AN

Les profils de libération ont été comparés en fonction des pH de STPP pour une même concentration et avec la formulation de référence non réticulée (S01) :

A partir des profils de libération et pour des concentrations faibles de STPP 0.1% (Fig. II.4.25), il a été observé que la diminution de pH de l'agent de réticulation de pH=9 à pH=4 dans la solution de chitosane, engendre une légère diminution de la libération de l'AN à partir des microsphères élaborées, où le taux de libération diminue de 45% (S02, 0.1%) % à 42% (S06, 0.1%). On comparant avec la formulation de référence non réticulé (S01), il a été observé que l'utilisation de 0.1% de STPP provoque une libération faible de l'AN à partir des microsphères de chitosane. Pour les concentrations élevées de STPP 0.5% (Fig. II.4.26), les résultats montrent que l'augmentation de pH de l'agent réticulant dans la solution de polymère engendre une libération rapide de l'AN à partir des microsphères de chitosane où le taux de libération augmente de 35% (S07) à 65% (S03) avec la variation de pH de STPP de pH=4 à pH=9 à 0.5%. Les formulations préparées dans les pH=6 de STPP ne présentent aucun effet sur les profils de la libération de l'AN, en plus la formulation non réticulée (S01) libère plus lentement le P.A par rapport aux formulations (S04, S05)



**Figure II.4.25** : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères préparées à 0.1% de STPP, (pH=1,2).



**Figure II.4.26** : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères préparées à 0.5% de STPP, (pH=1,2).

#### b. Suivi de la libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane dans le milieu basique (pH=7,2) sans enzyme

La cinétique de libération de l'acide niflumique à partir des microsphères de chitosane a été établie en milieu basique (PBS 0.1N, pH=7.2) pendant 6h. Toutes les cinétiques ont été répétées trois fois pour vérifier la répétabilité des résultats expérimentaux. Les résultats ont été tracés par le pourcentage de l'AN libérée en fonction de temps. Les taux de libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane varient de 95% à 98.9 % avec la variation des concentrations et des pH de l'agent réticulant dans la solution de chitosane (Tab.II.4.4).

**Tableau II.4.4** : Résultats des taux de libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane dans le milieu basique sans enzyme, pH=7,2

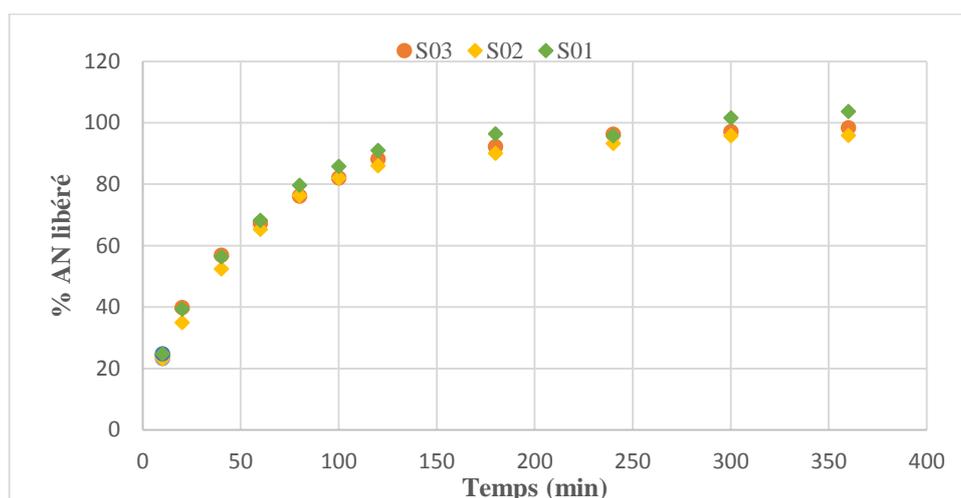
CH:AN	N° formulation	STPP (%)	pH , STPP	% AN libéré 6h
1:1	S01	/	/	98.9
	S02	0.1	9	95.7
	S03	0.5	9	97.1
	S04	0.1	6	93.3
	S05	0.5	6	94.8
	S06	0.1	4	97.6
	S07	0.5	4	97.7

### Effet de la concentration de l'agent réticulant (STPP) sur la libération de l'AN :

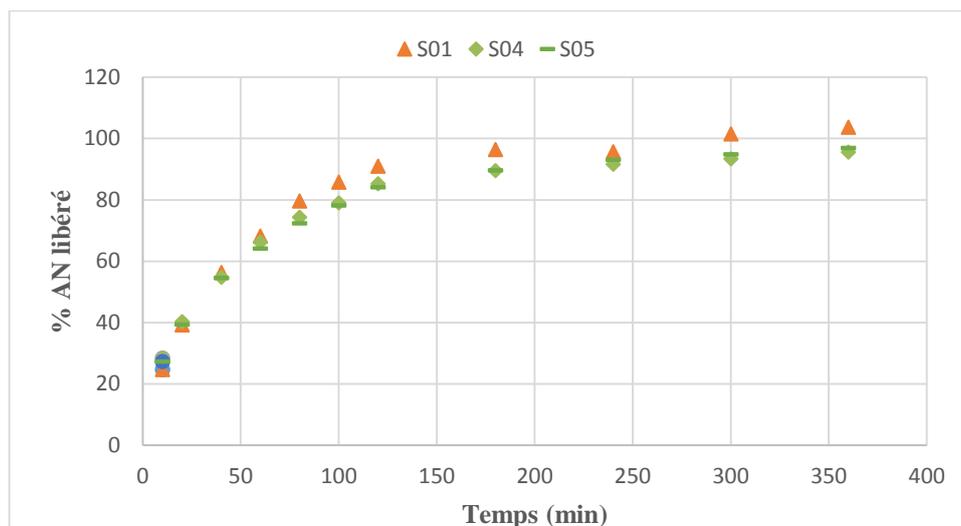
Les cinétiques de libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane dans les mêmes conditions de pH de l'agent réticulant en variant seulement la concentration de l'agent réticulant (STPP) ont été comparées à celle des microsphères non réticulées S01(CH-AN) utilisé comme référence .

Pour les pH élevés de STPP (Fig. II.4.27) l'augmentation de la concentration de STPP dans la solution de chitosane, engendre une libération de P.A légèrement supérieure à celles qui sont préparées avec 0.1% de STPP où le taux de libération varie de 95% à 97% (S02,S03 pH=9). Si on compare les cinétiques de libération avec la formulation de référence non réticulée (S01), on remarque que l'utilisation de STPP à faible concentration (0.1%) engendre une libération faible de l'AN dans le milieu de dissolution, où le taux de libération de l'AN diminue de 98% à 95% en comparant (S01, S02).

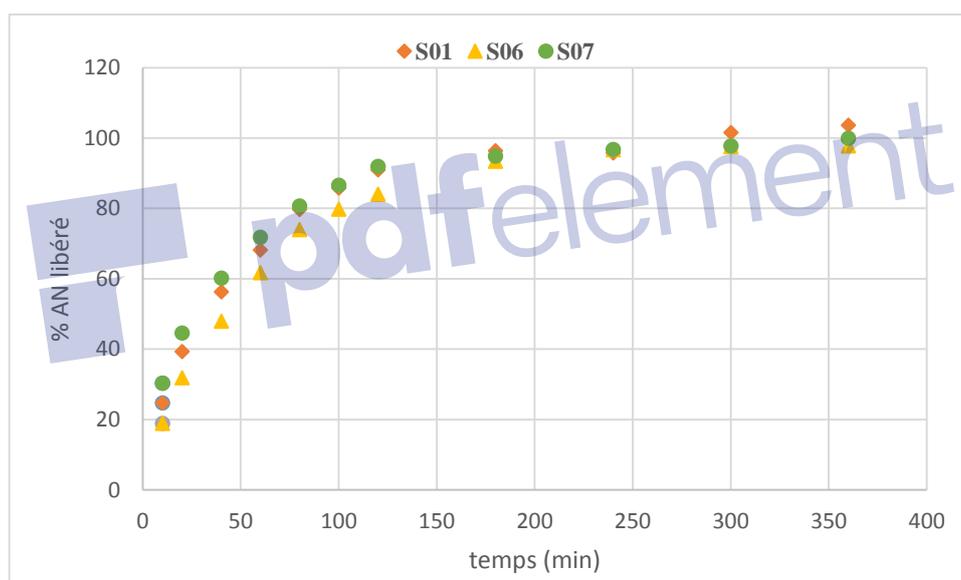
Concernant les microsphères de chitosane préparées dans les pH faibles de STPP (Fig. II.4.28, II.4.29), l'effet de la concentration de STPP sur la libération de l'AN n'est pas significatif. On comparant les formulations réticulées avec la formulation de référence (S01), il a été obtenu que l'utilisation d'une concentration de 0.1% de STPP provoque une libération lente dans le pH=6 où le taux de libération diminue de 98% à 93% (S01, S04). Le même résultat a été observé dans d'autres travaux (Liu et al. 2009).



**Figure II.4.27** : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane non réticulées (S01) et réticulées (S02, S03 ; STPP à pH=9), pH=7.2



**Figure II.4.28** : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane non réticulées (S01) et réticulées (S04,S05 ;STPP à pH=6), pH=7,2



**Figure II.4.29** : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane non réticulées (S01) et réticulées (S06,S07 ;STPP à pH=4), pH=7,2

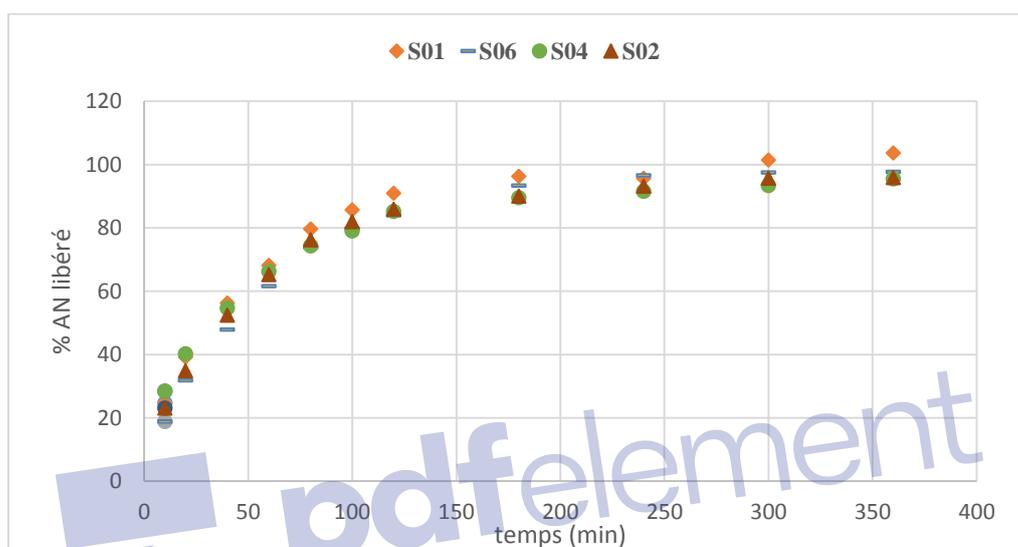
### Effet de la variation du pH de l'agent réticulant (STPP) sur la libération de l'AN

A partir des profils de libération et pour une même concentration de STPP, on a obtenu que l'augmentation de pH de la solution de STPP de pH=6 à pH=9 engendre une libération légèrement rapide, où le taux de libération de l'AN augmente de 93% à 95.7% (S04, S02, 0.1% STPP) et de 94% à 97% (S05, S03, 0.5% STPP). Ceci peut être attribué à l'ionisation du TPP,

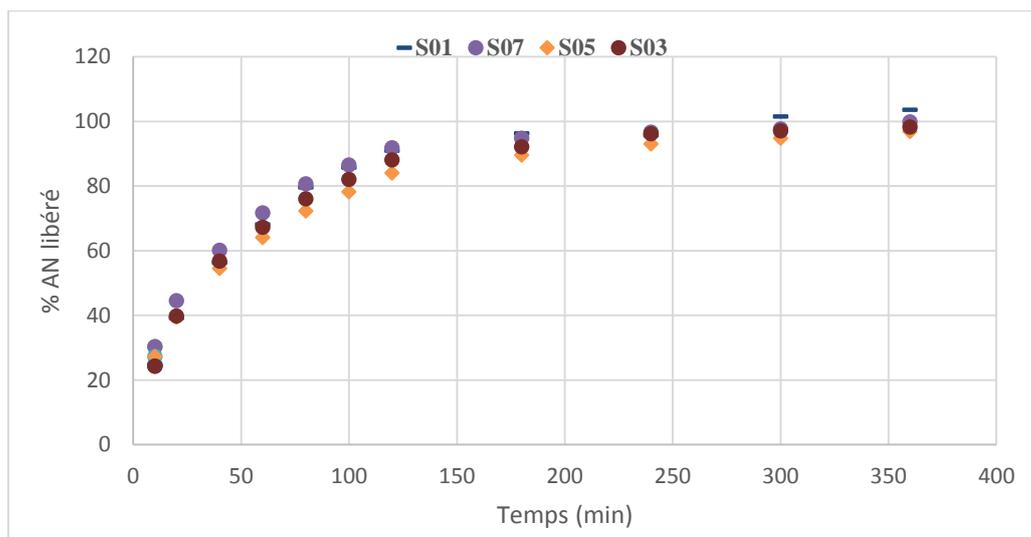
## Caractérisation des microsphères d'acide niflumique à base de Chitosane

qui est contrôlée par le pH de la solution. Le TPP était dissocié en ions  $\text{OH}^-$  et tripolyphosphates ( $\text{HP}_3\text{O}_{10}^{4-}$  et  $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$ ), où seul  $\text{P}_3\text{O}_{10}^{5-}$  est apparu à pH faible (Ko, et al., 2003).

De plus, lorsque le pH de la solution augmentait, l'ionisation du groupe amine du chitosane a diminué, entraînant une faible réticulation ionique qui résulte à une libération rapide. D'autre part, les microparticules de chitosane préparées dans une solution acide de TPP forment une matrice par réticulation ionique forte, permettant une libération contrôlée (Mi et al. 1999b ; Lee et al. 2001, Ko et al. 2002)



**Figure II.4.30** : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane non réticulées (S01) et réticulées (S04, S06, S09) à 0.1% de STPP, pH=7,2



**Figure II.4.31** : Profils de libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane non réticulées (S01) et réticulées (S03, S05, S07) à 0.5% de STPP, pH=7,2

Si on compare les cinétiques de libération avec la formulation non réticulée, on peut dire que l'utilisation de l'agent réticulant engendre une libération lente plus ou moins de l'AN par rapport aux microsphères non réticulées (S01), dans le milieu basique.

Le tableau suivant regroupe les taux de libération de l'acide niflumique à partir des microsphères de chitosane, dans le milieu acide et basique sans et avec enzyme

**Tableau II.4.5** : Résultats des différents taux de libération de l'AN dans les différents milieux sans et avec enzyme.

		pH=1,2		pH=7,2	
CH:AN	N° formulation	Sans enzyme	Avec enzyme	Sans enzyme	Avec enzyme
1:1	S01	72.25	91.3	98.9	89.34
	S02	45.36	97.08	95.7	84.73
	S03	65.08	95.9	97.1	85.42
	S04	88.67	98.70	93.3	83.00
	S05	89.60	98.40	94.8	88.29
	S06	42.81	99.04	97.6	83.22
	S07	35.09	99.10	97.7	86.16

Un effet burst est observé sur les profils de libération. Cependant on remarque que déjà dans les premières 10 minutes qu'on assiste à une quantité libérée de 20%. Ce comportement continue en fonction du temps où l'on obtient après seulement 50 min de libération 70% de PA libéré. En terme de microsphères réticulées par le STPP, il est évident que leur immersion dans un milieu de pH basique provoque une déprotonation du  $\text{NH}_3$  du chitosane. De ce fait l'ion de réticulation est brisé ce qui conduit à la délivrance du PA de la matrice et son évation vers le milieu de libération.

#### 4. Conclusion

D'après ces valeurs on peut conclure que :

Dans le milieu acide : l'augmentation de la concentration de STPP engendre une libération rapide dans les pH élevés et lente dans les pH faibles où le taux de libération atteint 65% (pH=9) et 35% (pH=4), l'utilisation de STPP même avec un faible volume (0.1%) engendre une libération lente de l'AN à partir des microsphères de chitosane. Il a été démontré que les microparticules de chitosane préparées avec des pH faibles où la concentration de TPP est plus élevée présentent une libération plus lente de felodipine, l'utilisation des pH=6 de STPP n'a pas un effet notable sur la libération. On présence de l'enzyme, l'augmentation de la concentration de l'agent réticulant de 0.1% à 0.5% engendre une libération légèrement lente dans les pH élevés, par contre l'effet de la concentration de STPP n'est pas précis dans les pH faible. Une libération lente de l'AN à partir des microsphères non réticulées par rapport aux formulations réticulées où le taux de libération atteint 93% pour la formulation S01 (non réticulée) et 99% pour S07 réticulée à 0.5% de STPP (pH=4).

Dans le milieu basique : Pour une même concentration de STPP, la diminution du pH du STPP de pH=9 à pH=6 engendre une libération plus ou moins lente et la libération de l'AN à partir des différentes formulations CH-AN réticulées ou non sont plus ou moins les mêmes. En présence de l'enzyme, l'effet de l'augmentation de la concentration de STPP n'est pas précis pour les pH élevés et notable sur la libération de l'AN dans les pH inférieurs et en comparaison avec la formulation de référence (S01), il est clair que l'utilisation des volumes de STTP élevés engendre des libérations lentes.

En présence de l'enzyme, la libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane réticulées dans le milieu basique est légèrement lente par rapport à celle obtenue dans le milieu acide où le taux de libération atteint 80% dans le milieu intestinal et <95% pour le milieu gastrique et la formulation de référence (S01 plus stable dans le milieu acide).

## Références

- Bhumkar, D. R., & Pokharkar, V. B. (2006). Studies on effect of pH on cross-linking of chitosan with sodium tripolyphosphate: a technical note. *Aaps Pharmscitech*, 7(2), E138-E143.
- Desai, K. G., Liu, C., & Park, H. J. (2006). Characteristics of vitamin C encapsulated tripolyphosphate-chitosan microspheres as affected by chitosan molecular weight. *Journal of microencapsulation*, 23(1), 79-90.
- Gan, Q., Wang, T., Cochrane, C., & McCarron, P. (2005). Modulation of surface charge, particle size and morphological properties of chitosan-TPP nanoparticles intended for gene delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 44(2-3), 65-73.
- Kacso, I., Rus, L., Pop, M., Borodi, G., & Bratu, I. (2012). Structural characterization of ambazone salt with niflumic acid. *Journal of Spectroscopy*, 27(1), 49-58.
- Ko, J. A., Park, H. J., Hwang, S. J., Park, J. B., & Lee, J. S. (2002). Preparation and characterization of chitosan microparticles intended for controlled drug delivery. *International journal of pharmaceutics*, 249(1-2), 165-174.
- Ko, J. A., Park, H. J., Park, Y. S., Hwang, S. J., & Park, J. B. (2003). Chitosan microparticle preparation for controlled drug release by response surface methodology. *Journal of microencapsulation*, 20(6), 791-797.
- Lee, S. T., Mi, F. L., Shen, Y. J., & Shyu, S. S. (2001). Equilibrium and kinetic studies of copper (II) ion uptake by chitosan-tripolyphosphate chelating resin. *Polymer*, 42(5), 1879-1892.
- Liu, H., & Gao, C. (2009). Preparation and properties of ionically cross-linked chitosan nanoparticles. *Polymers for Advanced Technologies*, 20(7), 613-619.
- Matet, M. (2014). Préparation de films à base de chitosane par voie fondue (Doctoral dissertation, École polytechnique de Montréal).
- Mi, F. L., Shyu, S. S., Lee, S. T., & Wong, T. B. (1999). Kinetic study of chitosan-tripolyphosphate complex reaction and acid-resistive properties of the chitosan-tripolyphosphate gel beads prepared by in-liquid curing method. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 37(14), 1551-1564.
- Nerkar, P., & Gattani, S. (2012). Spray-dried buccal mucoadhesive microparticles of venlafaxine based on cress seed mucilage: In vitro, in vivo evaluation in rabbits. *Drying Technology*, 30(9), 968-978.
- Pati, F., Adhikari, B., & Dhara, S. (2011). Development of chitosan-tripolyphosphate fibers through pH dependent ionotropic gelation. *Carbohydrate research*, 346(16), 2582-2588.

Rohani, S. S. R., Abnous, K., & Tafaghodi, M. (2014). Preparation and characterization of spray-dried powders intended for pulmonary delivery of insulin with regard to the selection of excipients. *International journal of pharmaceutics*, 465(1-2), 464-478.

Thanoo, B. C., Sunny, M. C., & Jayakrishnan, A. (1992). Cross-linked Chitosan microspheres: preparation and evaluation as a matrix for the controlled release of pharmaceuticals. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 44(4), 283-286.

Trivedi, M. K., Branton, A., Trivedi, D., & Nayak, G. (2015). Characterization of physicochemical and thermal properties of chitosan and sodium alginate after biofield treatment.

Wang, X., Ma, J., Wang, Y., & He, B. (2001). Structural characterization of phosphorylated chitosan and their applications as effective additives of calcium phosphate cements. *Biomaterials*, 22(16), 2247-2255.

Xu, Y., & Du, Y. (2003). Effect of molecular structure of chitosan on protein delivery properties of chitosan nanoparticles. *International journal of pharmaceutics*, 250(1), 215-226.



## Chapitre 5

# Modélisation de la libération de l'acide niflumique

## 1. Introduction

Les datas in vitro obtenues à partir des expériences de dissolution des microsphères préparées peuvent être adaptées à divers modèles cinétiques comme Higuchi, Hixson-Crowell, et Korsmeyer-Peppas..... Ils ont été présentés sous forme de courbes où la fraction cumulée de principe actif dissous ou libéré est exprimée en fonction du temps (t). L'application des modèles mathématiques facilite l'interprétation quantitative de ces résultats et la compréhension des mécanismes de libération du P.A à partir de la forme pharmaceutique. L'analyse de la régression peut être exécutée pour tous les modèles choisis. La valeur du coefficient de corrélation ( $r^2$ ) obtenue après la linéarisation détermine la validité du modèle choisi (plus ce coefficient est proche de l'unité plus le modèle est adéquat), en plus les résultats des valeurs  $r^2$  de corrélation peuvent être employés pour prévoir le mécanisme de la libération de substance active. Dans notre étude nous avons testé trois modèles :

### Le modèle d'Higuchi :

Higuchi a proposé le premier exemple d'un modèle mathématique qui a visé à décrire la libération du principe actif de système matriciel en 1961 (Higuchi 1963, Dash et al., 2010 ; Sigh et al., 2011). Ce modèle est basé sur les hypothèses suivantes :

- la concentration initiale en PA dans la matrice est beaucoup plus que la solubilité de PA
- les particules de PA sont beaucoup plus petites que l'épaisseur de système,
- le gonflement et la dissolution de la matrice sont négligeables
- la diffusivité de PA est constante,

En conséquence, l'expression du modèle d'Higuchi est donnée par l'équation :

$$M_t/M_i = K_H t^{1/2} + a$$

où, le  $K_H$  est la constante de dissolution de Higuchi (Arhewoh 2004). Pour étudier la cinétique de libération avec ce modèle, les données obtenues ont été tracées en tant que taux de P.A libéré en fonction de la racine carrée du temps (Silvina et al., 2002). Ce rapport peut être employé pour décrire la dissolution de PA de plusieurs types de formes galéniques pharmaceutiques de libération modifiées, comme le cas de certains systèmes à libération transdermique et les formes matricielles

comprimés (disques) avec des PA fortement hydrosolubles ou faiblement hydrosoluble (Libo 1996 ; Freitas et al. 2005).

### **Modèle de Korsmeyer-Peppas**

Korsmeyer et al 1983 ont dérivé une équation qui a décrit la libération des formes pharmaceutiques à base de polymère. Dans le but de découvrir le mécanisme de libération de P.A, juste les premières 60 % des data de libération de matière active peuvent être adaptées dans le modèle de Korsmeyer-Peppas (Korsmeyer 1983).

$$M_t / M_i = Kt^n$$

Pour étudier la cinétique de libération, les données obtenues à partir des études in vitro peuvent être tracées par le logarithme du pourcentage cumulé de P.A libéré en fonction du logarithme du temps. Dans ce modèle, la valeur de l'exposant « **n** » est utilisé pour caractériser le mécanisme de libération de P.A. Lorsque  $n=0.5$  ceci correspond à un mécanisme de diffusion Fickian, si  $n > 0.5$  la libération suit un mécanisme non-Fickien, dans ce cas plusieurs mécanismes peuvent être impliqués, la plupart du temps, une diffusion couplée à une érosion ou à des phénomènes d'hydratation et de gonflement des matrices polymériques, lorsque  $n < 0,5$  le mécanisme est caractérisé comme quasi-Fickien (Costa 2001).

### **Modèle de Hixson Crowell**

Hixson et Crowell (1931) ont identifié que lorsque les particules ont des surface régulières celles-ci sont proportionnelles à la racine cubique de leurs volumes. Ils ont dérivé l'équation :

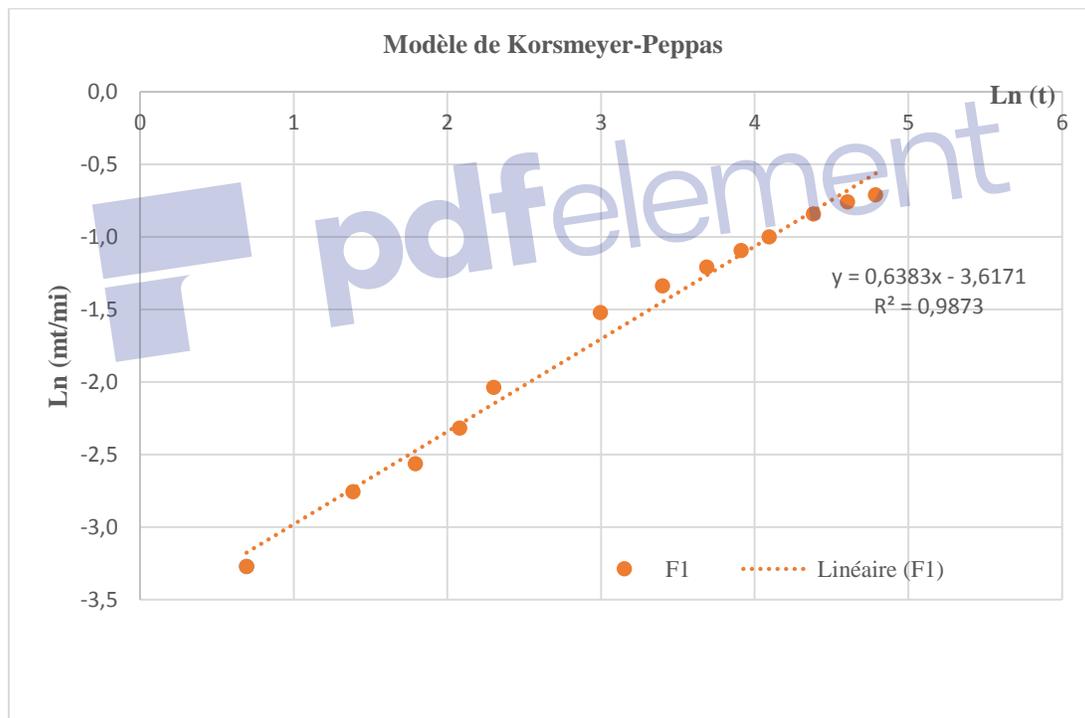
$$(M_t / M_i)^{1/3} = K_{hc}t + a$$

L'équation décrit la libération d'une substance active à partir des systèmes où il y a un changement de la surface spécifique et du diamètre des particules ou des comprimés (Hixson 1931). Pour étudier la cinétique de libération, les données obtenues à partir profils de libération de P.A ont été tracés par la racine cubique du pourcentage cumulé de P.A demeurant dans la matrice en fonction du temps. Cette expression s'applique à la forme galénique pharmaceutique telle que des comprimés, si les dimensions des comprimés diminuent proportionnellement, de façon que la forme géométrique initiale des substances reste constante à toute heure (Chen 2007) .

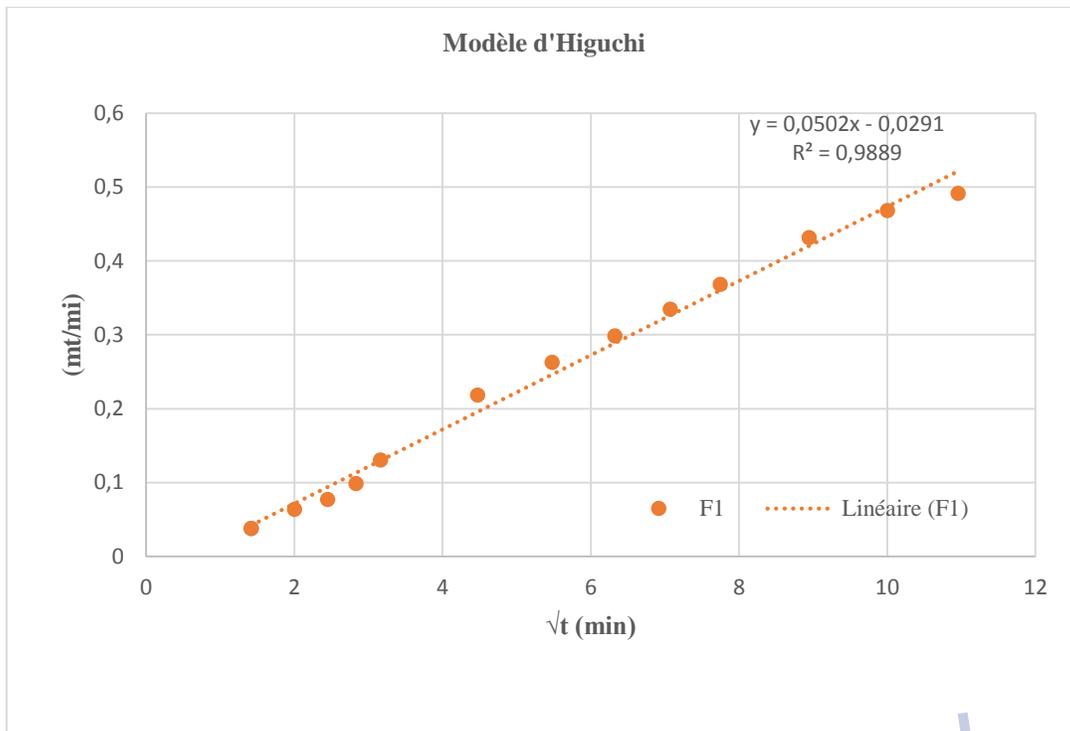
## 2. Modélisation de la libération de l'acide niflumique

### 2.1 Modélisation de la libération de l'acide niflumique à partir des microsphères base d'EC dans le milieu acide (pH=1,2)

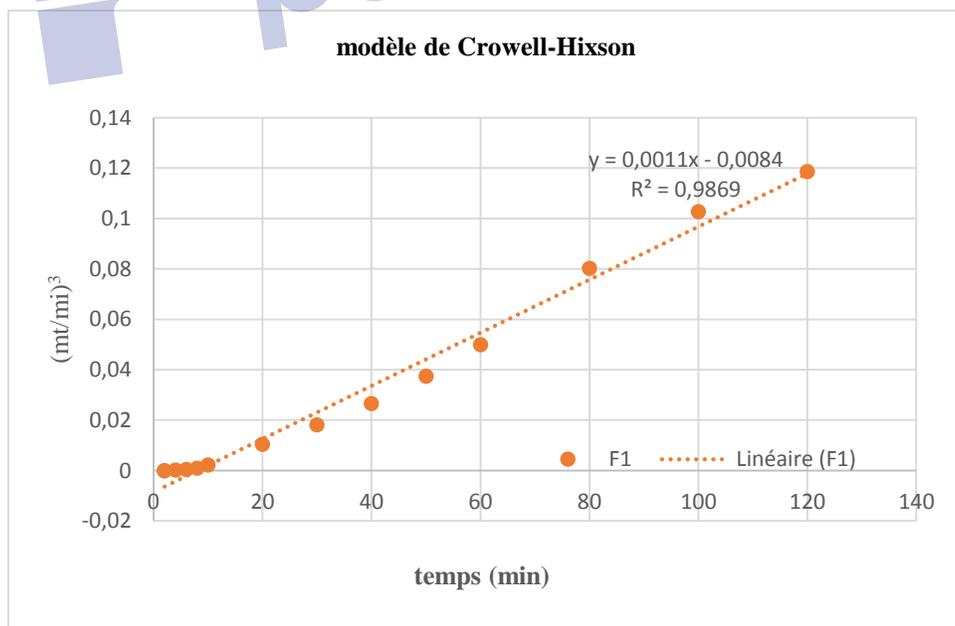
Pour le modèle d'Higuchi, nous avons tracé le taux de l'AN libéré en fonction de la racine carrée du temps,  $\ln(Mt/Mi)$  en fonction de  $\ln(t)$  pour le modèle de Korsmeyer–Peppas et  $(mt/mi)^3$  en fonction du temps pour le modèle de Crowell-Hixson (Fig. II.5.1, II.5.2 et II.5.3). Les résultats de corrélation dans le milieu acide des différentes formulations préparées avec l'utilisation de trois modèles : constantes de libération, l'exposant « n » et les coefficients de régression sont regroupés dans le tableau II.5.1. Les autres figures sont données en annexe.



**Figure II.5.1:** Application du modèle Korsmeyer-P. pour les microsphères F1 (EC/AN:2/1), pH=1,2



**Figure II.5.2 :** Application du modèle d'Higuchi à partir des microsphères F1 (EC/AN:2/1), pH=1,2



**Figure II.5.3 :** Application du modèle de Crowell-H pour les microsphères F1 (EC/AN:2/1), pH=1,2

**Tableau II.5.1** : Résultats de la modélisation de la libération de l'AN pour les microsphères d'EC selon les modèles d'Higuchi ,Korsmeyer-P. et Crowell-H (pH=1,2)

N° formulation	Higuchi			Hixson Crowell		Korsmeyer		
	$K_H$ (min <sup>1/2</sup> )	<b>a</b>	$r^2$	$K_{hc}$	$r^2$	$K_K$ (min <sup>1/2</sup> )	n	$r^2$
<b>F1</b>	0.0502	- 0.029	0.9889	0.0011	0.9869	0.0228	0.64	0.9873
<b>F2</b>	0.0121	0.025	0.9867	0.001	0.9852	0.0172	0.34	0.9949
<b>F3</b>	0.0119	0.004	0.9918	0.003	0.9851	0.0145	0.46	0.9903
<b>F4</b>	0.0300	0.004	0.9942	0.004	0.9959	0.0291	0.52	0.9875
<b>F5</b>	0.0251	0.006	0.9897	0.032	0.9871	0.0400	0.38	0.9837
<b>F6</b>	0.0228	0.018	0.9938	0.020	0.9876	0.0379	0.39	0.986
<b>F7</b>	0.0218	0.015	0.9831	0.011	0.9838	0.0400	0.39	0.9931
<b>F8</b>	0.0087	0.032	0.9767	0.024	0.9896	0.0097	0.27	0.994
<b>F9</b>	0.0419	0.004	0.9911	0.071	0.9905	0.0332	0.55	0.9857
<b>F10</b>	0.0543	-0.036	0.9897	0.0014	0.9819	0.0210	0.55	0.9857
<b>F11</b>	0.0726	-0.097	0.9675	0.0021	0.9831	0.0305	0.80	0.9853
<b>F12</b>	0.0795	0.012	0.9942	0.0043	0.9910	0.0456	0.51	0.9875

Les résultats de la modélisation des formulations préparées avec l'EC/AN montrent des coefficients de régression du modèle d'Higuchi qui dépassent 0,98 pour la majorité des formulations, sauf pour les formulations F8 et F11 dont la composition en PVA est de 0.25%, à 1700rpm et 1300rpm et qui ont donné respectivement  $r^2=0,9767$  et  $r^2= 0.9675$ . Cette linéarisation montre que le processus de libération du l'AN à partir de ces systèmes est gouverné par la diffusion.

Avec la constante de libération d'Higuchi ( $K_H$ ), on peut suivre la vitesse de la libération de l'AN. La vitesse de libération varie de 0.0087 jusqu'à 0.0795 min<sup>1/2</sup> cette variation de vitesse de libération dépend de la taille des microparticules qui est reliée à la vitesse d'agitation et à la concentration de l'agent émulsifiant ainsi que la quantité du polymère (EC) dans la phase organique.

Les résultats montrent que l'augmentation de la vitesse d'agitation engendre une libération rapide, seulement dans les concentrations élevées de l'émulsifiant 0.5%PVA (F3, F6 et F9) où la vitesse augmente de  $0.0119 \text{ min}^{1/2}$  à  $0.0419 \text{ min}^{1/2}$ . Dans les formulations préparées avec le rapport polymère/PA **1:1**, l'augmentation de la vitesse d'agitation de 800rpm à 1700 rpm provoque une libération rapide où la constante de libération d'Higuchi augmente de  $0.0543 \text{ min}^{1/2}$  à  $0.0795 \text{ min}^{1/2}$  ce qui est expliqué par la réduction de la taille des microparticules.

Malgré que la taille des microparticules a été diminué par l'augmentation de la vitesse d'agitation, cette dernière, provoque une diminution du taux de libération de l'AN pour les formulations préparées avec 0.1% et 0.25% de PVA où la constante de libération d'Higuchi diminue de  $0.0502 \text{ min}^{1/2}$  à  $0.0218 \text{ min}^{1/2}$  (F1 et F7) et de  $0.0121 \text{ min}^{1/2}$  à  $0.008 \text{ min}^{1/2}$  (F2 et F8).

L'augmentation de la concentration en PVA dans l'intervalle 0.1%-0.5% diminue la constante de libération  $K_H$  dans les formulations préparées à 800rpm et 1300rpm dont le rapport polymère/PA est 2/1, ce qui est dû à l'adsorption de l'émulsifiant sur la surface des microparticules, ce qui ralentit la diffusion de l'AN et ensuite cause la diminution de la constante de libération  $K_H$  de  $0.0502 \text{ min}^{1/2}$  à  $0.0119 \text{ min}^{1/2}$  (F1 et F3) et de  $0.0300 \text{ min}^{1/2}$  à  $0.0228 \text{ min}^{1/2}$  (F4 et F6). Un effet inverse a été observé dans les vitesses élevées (1700rpm) où la constante de libération  $K_H$  augmente de  $0.0218 \text{ min}^{1/2}$  à  $0.0419 \text{ min}^{1/2}$  avec l'augmentation de concentration de PVA de 0.1% à 0.5%. Il a été démontré que l'augmentation de la concentration de l'agent émulsifiant peut augmenter la libération de P.A à partir des microsphères ce qui est dû à l'augmentation de la mouillabilité et de la meilleure pénétration de solvant à l'intérieur de la matrice qui favorise la libération de la substance active. Ces résultats obtenus confirment nos précédentes discussions de libération (Chap.2).

Pour le modèle Korsmeyer-Peppas, on peut identifier le type de diffusion à partir des valeurs de l'exposant « n » qui varie de 0,27 à 0,80 (tab. I.6). La libération de l'acide niflumique est caractérisée par le mécanisme de diffusion quasi-Fickien pour la majorité des formulations où des valeurs de l'exposant  $n < 0.5$ . On trouve le mécanisme Fickien pour les formulations F4 et F12 dans la composition (0.1% PVA, 800rpm et 0.25%PVA, 1700rpm) respectivement puisque l'exposant n est proche de 0.5. Le mécanisme non Fickien est pour les formulations F1, F9, F10 et F11 puisque l'exposant  $n > 0,5$  ; la diffusion est anormale qui peut inclure des phénomènes de diffusion, d'érosion d'hydratation ou gonflement de matrices polymériques.

Une excellente corrélation a été obtenue par le modèle de Crowell Hixson ou le  $r^2$  dépasse 0.983 pour toutes les formulations préparées.

## 2.2 Modélisation de la libération de l'AN à partir des microsphères à base d'EC/HPMC et EC/ $\beta$ -CD dans le milieu acide (pH=1,2)

Les résultats de corrélation dans le milieu acide des différentes microsphères préparées sont regroupés dans le tableau II.5.2 les résultats de régression sont donnés en annexe.

**Tableau II.5.2** : Résultats de la modélisation de la libération de l' AN à partir des microsphères de l'EC/HPMC et l'EC/ $\beta$ -CD selon les modèles d'Higuchi ,Korsmeyer-P.(pH=1,2)

N° formulation	Higuchi		Hixson Crowell		Korsmeyer			
	$K_H$	a	$r^2$	$K_{hc} * 100$	$r^2$	$K_K(\text{min}^{1/2})$	n	$r^2$
Lot 05	0.008	0.0014	0.9763	0.0005	0.9526	0.0021	0.49	0.9868
Lot 06	0.0258	-0.0381	0.9633	0.01	0.8812	0.0321	0.64	0.9593
Lot 07	0.0203	0.0416	0.9458	0.02	0.8161	0.0012	0.32	0.9625
Lot 08	0.0606	0.0057	0.9766	0.23	0.9570	0.0521	0.51	0.9583
Lot 09	0.0404	0.0135	0.9854	0.02	0.9900	0.0320	0.47	0.9898
Lot 10	0.0269	-0.0255	0.9626	0.01	0.9872	0.0097	0.89	0.826
Lot 11	0.0371	0.0329	0.9916	0.01	0.9633	0.0466	0.33	0.969
Lot 12	0.201	0.0405	0.9777	0.84	0.9787	0.0533	0.52	0.9695
Lot 13	0.0051	-0.01	0.7093	0.0002	0.9234	0.0400	0.57	0.8621
Lot 14	0.0199	-0.0418	0.9371	0.006	0.9465	0.0241	0.63	0.9668
Lot 15	0.0082	0.0064	0.8827	0.0005	0.9078	0.0312	0.51	0.9199
Lot 16	0.021	-0.0103	0.9974	0.009	0.9590	0.0322	0.54	0.9970

Les résultats de la modélisation des microsphères préparées à base d'EC/HPMC et d'EC/ $\beta$ -CD donnent des coefficients de corrélation dans le modèle d'Higuchi qui dépassent 0,96, ce qui montre que le processus de libération de l'AN à partir de ces systèmes est gouverné par la diffusion. A l'exception du Lot 13, Lot14 et Lot 15 qui donne un  $r^2=0,7093$ ,  $r^2= 0.9371$  et  $r^2 0.8827$  respectivement.

La constante de libération d'Higuchi ( $K_H$ ) varie de  $0.0051\text{min}^{1/2}$  à  $0.0672\text{min}^{1/2}$  avec la variation de la concentration d'HPMC ou de  $\beta$ -CD et la quantité de P.A dans la phase organique, la taille des microparticules qui est reliée à la vitesse d'agitation.

Les résultats montrent que dans les concentrations faibles d'HPMC ou de  $\beta$ -CD, l'augmentation de la vitesse d'agitation engendre une libération rapide en comparant (lot 5, lot 6), et (Lot13, Lot14) où la constante de libération d'Higuchi  $K_H$  augmente de  $0.008\text{min}^{1/2}$  à  $0.0258\text{min}^{1/2}$  et de  $0.0051\text{min}^{1/2}$  à  $0.0199\text{min}^{1/2}$  respectivement. Par contre l'effet de la vitesse n'a pas été précis dans les formulations préparées dans le rapport polymère/AN : 2 :1 avec 5% d'HPMC (Lot 09, Lot10). Dans les concentrations élevées d'HPMC ou de  $\beta$ -CD, l'augmentation de la vitesse d'agitation provoque une libération rapide dans toutes les formulations préparées en comparant (Lot 7 et 8), (Lot11 et 12) et (Lot15 et 16) où la constante de libération d'Higuchi  $K_H$  augmente de  $0.0203\text{min}^{1/2}$  à  $0.0606\text{min}^{1/2}$ , de  $0.0672\text{min}^{1/2}$  à  $0.201\text{min}^{1/2}$  et de  $0.0082\text{min}^{1/2}$  à  $0.021\text{min}^{1/2}$  respectivement. L'augmentation des constantes de libération d'Higuchi est reliée à l'augmentation de la vitesse d'agitation qui diminue la taille des microparticules ensuite la surface de contact spécifique entre les microparticules et le milieu de dissolution augmente ce qui résulte en une libération rapide.

L'augmentation de la concentration d'HPMC comme co-polymère engendre une libération rapide pour une même vitesse d'agitation dans toutes les formulations, où la constante de libération d'Higuchi augmente de  $0.008\text{min}^{1/2}$  à  $0.0203\text{min}^{1/2}$  (Lot6, Lot7) et de  $0.0258\text{min}^{1/2}$  à  $0.0606\text{min}^{1/2}$  (Lot5, Lot8) par exemple. Un effet inverse a été obtenu dans les formulations préparées à 300rpm (Lot 09, Lot 11) où l'augmentation de la concentration d'HPMC de 5% à 30% engendre une libération lente qui produit une diminution de la constante de libération d'Higuchi de  $0.0404\text{min}^{1/2}$  à  $0.0371\text{min}^{1/2}$ . La concentration élevée de polymère mène à une grande viscosité qui aura comme conséquence le retardement ou la diminution de la libération de l'AN vers le milieu de dissolution. L'augmentation de la concentration de la  $\beta$ -CD dans la phase organique engendre une libération rapide dans toutes les formulations pour une même vitesse d'agitation. La constante de libération d'Higuchi ( $K_H$ ) augmente de  $0.0051\text{min}^{1/2}$  à  $0.0082\text{min}^{1/2}$  (Lot 13, Lot 15, 300rpm) et de  $0.0119\text{min}^{1/2}$  à  $0.021\text{min}^{1/2}$  (Lot 14, Lot 16, 800rpm) avec l'augmentation de la concentration de la  $\beta$ CD de 5% à 30%. Ces résultats confirment notre précédente discussion (Chp.3).

La libération de l'AN à partir des formulations : Lot7, Lot9 et Lot11 est régie par le mécanisme de diffusion quasi-Fickien où des valeurs de l'exposant  $n < 0.5$ . le mécanisme Fickien pour les formulations Lot1, Lot8, Lot12, Lot 15 puisque l'exposant  $n$  est proche de 0.5. Un mécanisme non Fickien pour les formulations Lot6, Lot10, Lot13, Lot14 et Lot16 ( $n > 0,5$ );

Le modèle de Crowell Hixson donne des corrélations  $r^2$  qui dépasse 0.9 pour la majorité les formulations préparées qui prouve que la libération de l'AN est proportionnelle à la dimension des systèmes préparés.

### 2.3 Modélisation de la libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane dans le milieu acide (pH=1,2)

En tenant compte des différents phénomènes, de libération de l'acide niflumique à partir des microsphères de chitosane et qui sont régis par plusieurs processus, on a adapté le modèle de Korsmeyer\_Peppas pour savoir le mécanisme de libération de l'agent actif dans cette matrice. Les résultats de corrélation dans le milieu acide sans enzyme des différentes microsphères de chitosane réticulées et non réticulées sont regroupés dans le tableau II.5.3. Les doites de régression sont données en annexe.

**Tableau II.5.3** : Résultats de la modélisation de la libération de l'AN à partir des microsphères de chitosane selon le modèle de Korsmeyer-P, (pH=1,2)

N° formulation	Korsmeyer-Peppas	
	n	r <sup>2</sup>
S 01	0.77	0.9989
S 02	0.51	0.9795
S 03	0.67	0.9928
S 04	0.74	0.9992
S 05	0.77	0.9984
S 06	0.71	0.9992
S 07	0.77	0.9984

Avec le modèle de Korsmeyer-Peppas, on peut identifier le type de diffusion à partir des valeurs de l'exposant « n ». L'exposant varie de 0,51 à 0,77 (tab. II.5.3). La libération de l'acide

niflumique est caractérisée par le mécanisme de diffusion quasi-Fickien pour des valeurs de l'exposant  $n < 0.5$ .

On trouve le mécanisme Fickien pour les formulations S02 dont la composition (STPP : pH=9, 0.1%) où l'exposant  $n = 0.1$ . Le mécanisme non Fickien pour la majorité des formulations puisque l'exposant  $n > 0,5$  ; la diffusion est anormale et peut inclure des phénomènes de diffusion, d'érosion d'hydratation ou gonflement de matrices polymériques.

### 3. Conclusion

Les cinétiques de libération de l'AN des différentes microsphères ont été réalisées en milieu acide à pH= 1,2 et ont été modélisées en utilisant trois modèles mathématiques qui permettent de renforcer la description et la compréhension des mécanismes de libération. Les résultats de la modélisation par le modèle Higuchi ont montré que la libération de la substance active est gouvernée par la diffusion pour l'ensemble des formulations préparées.

Le modèle Korsmeyer-Peppas permet d'identifier le type de diffusion à partir des valeurs de l'exposant «  $n$  » qui indique que le mécanisme de libération est quasi -Fickien pour les microsphères à base de l'EC, Fickien pour les formulations à base de l'EC/HPMC , le mécanisme de diffusion non Fickien pour les microsphères à base de l'EC/ $\beta$ -CD et de chitosane.

## Références

Arhewoh M.I., Okhamafe O.A.: *J. Med. Biomed. Res.* 3, 7 (2004).

Bravo, S. A., Lamas, M. C., & Salomón, C. J. (2002). In-vitro studies of diclofenac sodium controlled-release from biopolymeric hydrophilic matrices. *Journal Pharm Pharmaceut Sci* , 5(3), 213-219

Chen, S., Zhu, J., & Cheng, J. (2007). Preparation and in vitro evaluation of a novel combined multiparticulate delayed-onset sustained-release formulation of diltiazem hydrochloride. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62(12), 907-913.

Costa, P., & Lobo, J. M. S. (2001). Modeling and comparison of dissolution profiles. *European journal of pharmaceutical sciences*, 13(2), 123-133

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

Freitas, M. N., & Marchetti, J. M. (2005). Nimesulide PLA microspheres as a potential sustained release system for the treatment of inflammatory diseases. *International journal of pharmaceutics*, 295(1-2), 201-211.

Higuchi, T. (1963). Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *Journal of pharmaceutical sciences*, 52(12), 1145-1149.

Hixson, A. W., & Crowell, J. H. (1931). Dependence of reaction velocity upon surface and agitation. *Industrial & Engineering Chemistry*, 23(8), 923-931.

Korsmeyer, R. W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P., & Peppas, N. A. (1983). Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International journal of pharmaceutics*, 15(1), 25-35.

Libo Y., Reza F.: *J. Pharm. Sci.* 85, 170 (1996). release matrix tablets using SSR/R2 Technique. *Trend Appl Sci Res* 6:400–409.

Singh, J., Gupta, S., & Kaur, H. (2011). Prediction of in vitro drug release mechanisms from extended release matrix tablets using SSR/R2 technique. *Trends Applied Sci Res*, 6(4), 400-409.

## Chapitre 6

# Evaluation des effets des paramètres du procédé par la méthode des plans d'expériences

## 1. Introduction

La stratégie classique de l'expérimentation consiste à choisir un ensemble de paramètres à étudier où on varie successivement chaque facteur sur une gamme tout en maintenant les autres constants. C'est une stratégie qui nécessite un grand nombre d'expériences et qui ne peut donner aucune indication sur les interactions possibles entre les facteurs.

Alors que la méthodologie des plans d'expériences (**MPE**) (ou design of experiments, DOE) est une stratégie optimale permettant de prédire une réponse avec un minimum d'expériences et un maximum de précisions et d'évaluer les effets des facteurs et leurs interactions.

Les plans d'expériences sont applicables à de nombreuses disciplines et à tous les procédés industriels à partir du moment où l'on recherche le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt ( $y_i$ ) et des variables ( $x_i$ ). Donc, la méthode des plans d'expériences cherche à déterminer la relation entre deux types de grandeurs :

- La réponse ( $y_i$ ) : qui correspond à la grandeur ou caractéristique étudiée ;
- Les facteurs ( $x_i$ ): qui correspondent aux grandeurs modifiables par l'expérimentateur et sensées influencer sur les variations de la réponse.

Dans le domaine de la microencapsulation, la méthode des plans d'expériences est utilisée pour étudier l'influence des variables de formulation ou du procédé sur les propriétés des microparticules produites (Belmokhtar et al. 2018, Patel et al., 2007; Varshosaz et al. 2001; Sarisozen et al. 2010; Zhang et Fan . 2009). La majorité des auteurs ont utilisé des plans factoriels et les surfaces de réponse n'ont été que très peu représentées dans les différents travaux (Chattopadhyay et al. 2015 ; Rameshwar et al. 2014 ; Pravin et al. 2016).

Dans notre travail, nous avons adopté cette méthodologie et utilisé les plans factoriels afin d'optimiser les conditions expérimentales de préparation des microsphères et évaluer les effets des paramètres étudiés et leurs possibles interactions sur certaines caractéristiques choisies des microparticules.

## 2. Évaluation des microsphères d'éthylcellulos (EC) par le plan d'expériences

### 2.1 Facteurs étudiés et réponses mesurées

Les facteurs qui influencent la libération du principe actif sont nombreux. Dans le procédé de fabrication des microparticules d'EC, nous avons sélectionné deux facteurs ( $X_1$ ,  $X_2$ ) à 2 niveaux relatifs à la méthode (-1, +1). Les niveaux de chaque facteur sont choisis en fonction des conditions adoptés au départ. Les autres facteurs sont maintenus à un niveau constant pendant toute l'expérimentation. Nous avons choisi la taille des microparticules ( $d_{10}$ ), la teneur en matière active (T%) et la constante de libération du principe actif ( $K_H$ ) comme réponses (variables dépendantes) pour représenter l'effet quantitatif des facteurs ( $X_1$ ,  $X_2$ ).

### 2.2 Construction du plan d'expériences

Nous avons choisi un plan factoriel complet et simple  $2^2$  nécessitant 4 essais ou expériences. Ce plan peut être représenté sous forme géométrique ou sous forme matricielle 'feuille de travail de minitab'. Le nombre d'expériences exigées pour cette recherche dépend du nombre de variables indépendantes choisies. Pour la matrice de l'EC, il y a deux facteurs ( $X_1$ ,  $X_2$ ) qui définissent le domaine de notre étude dans chaque plan d'expériences.

Nous avons construit deux plans d'expériences et procédé à l'analyse statistique en utilisant le logiciel MINITAB. Dans le premier, il s'agit des microsphères EC/AN fabriquées dans rapport 2/1 où les variables  $X_1$  et  $X_2$  sont respectivement la vitesse d'émulsion et le % PVA. Dans le second, il s'agit de microsphères d'EC/AN fabriquées avec un %PVA = 0,25% et les variables  $X_1$  et  $X_2$  sont respectivement la vitesse d'émulsion et le rapport EC/AN.

### 2.3 Réalisation des essais et analyse statistique

Les microparticules ont été préparées par le procédé d'émulsion-évaporation de solvant (H/E) à température ambiante, selon le même mode opératoire décrit précédemment. Donc, il s'agit de quatre expériences. Par exemple, l'essai n°1 est réalisé avec une vitesse d'émulsion de 800 t/min (niveau -1) et un pourcentage de 0,1% de PVA (niveau -1), le deuxième avec une vitesse d'émulsion de 1700 t.min<sup>-1</sup> (niveau +1) et un pourcentage de 0,1% de PVA (niveau -1) et ainsi de suite. Les tableaux II.6.1 et II.6.2 donnent les plans factoriels 1 et 2 regroupant les différentes caractéristiques des microsphères obtenues en terme de taille ( $d_{10}$ ), teneur (%T) et de constante de libération d'Higuchi ( $K_H$ ) en fonction du niveau des variables étudiées  $X_1$  et  $X_2$ .

**Tableau II.6.1:** Plan factoriel  $2^2$  et caractéristiques des microparticules obtenues (taille, teneur en NA, constante de libération  $K_H$ ) pour les microsphères EC/AN (2/1)

Microsphères EC/AN (2/1)					
Expériences	$X_1$	$X_2$	Y1 : T%	Y2 : $d_{10}$ ( $\mu\text{m}$ )	Y3 : $K_H$
1	-1	-1	27.88	335,4	0,0520
2	+1	-1	31.23	203.5	0,0218
3	-1	1	25.38	259.8	0,0119
4	1	1	27,84	196,5	0,0419
Valeur Code/	Vitesse (t/min)	% PVA			
-1	800	0.1%			
+1	1700	0.5%			

**Tableau II.6.2:** Plan factoriel  $2^2$  et caractéristiques des microparticules obtenues (taille, teneur en NA, constante de libération  $K_H$ ) pour les microsphères EC/AN (0.25% PVA)

Microsphères EC/AN (0.25% PVA)					
Expériences	$X_1$	$X_2$	Y1 : T%	Y2 : $d_{10}$ ( $\mu\text{m}$ )	Y3 : $K_H$
1	-1	-1	20,55	197,0	0,5430
2	+1	-1	20,46	191,8	0,0795
3	-1	1	32,85	278,8	0,0121
4	1	1	36,33	199,6	0,0087
Valeur Code/	Vitesse (t/min)	EC/AN			
-1	800	1 :1			
+1	1700	2 :1			

L'évaluation statistique des effets des paramètres choisis a été exécutée en utilisant le Logiciel Minitab 16.1 (DOI factorial desing). Les réponses  $Y_i$  sont données selon le modèle mathématique postulé qui est un modèle du premier degré par rapport à chaque facteur et permettant d'identifier statistiquement les limites significatives pour chaque facteur :

$$y = a_0 + a_1 X_1 + a_2 X_2 + a_{12} X_1 X_2 + e$$

Où « y » est la réponse,  $a_0$  est la valeur de la réponse au centre du domaine d'étude ;  $a_i$  est l'effet (ou effet principal) du facteur  $X_i$ ,  $e$  est l'écart.

$a_i (i = 1,2)$  représente le coefficient des facteurs  $X (i = 1,2)$ ,

$(i = 1,2)$  représente l'effet du changement d'un facteur du niveau bas vers le niveau haut,

L'interaction  $X_1 X_2$  représente l'effet quand les deux facteurs varient en même temps.

Le logiciel MINITAB 16.1 est utilisé pour identifier statistiquement les facteurs (termes) les plus significatifs en déterminant les équations du modèle. Dans ce cas, les réponses  $Y_i$  correspondants aux : diamètre ( $d_{10}$ ), la teneur en matière active (% T) et la constante de libération d'Higuchi ( $K_H$ ) en fonction des facteurs étudiés sont données par les équations suivantes (10-12). Les calculs détaillés sont donnés en annexe.

### 2.3.1 Plan d'expériences 1

La modélisation mathématique par le logiciel « Minitab-DOE-analyse factorielle » donne les équations mathématiques suivantes :

$$T (\%) = 28,012 + 1,263X_1 - 0,1,26X_2 - 0,392X_1X_2 \quad (10)$$

$$d_{10} (\mu m) = 248,80 - 48,80 X_1 - 20,65X_2 + 17,15 X_1X_2 \quad (11)$$

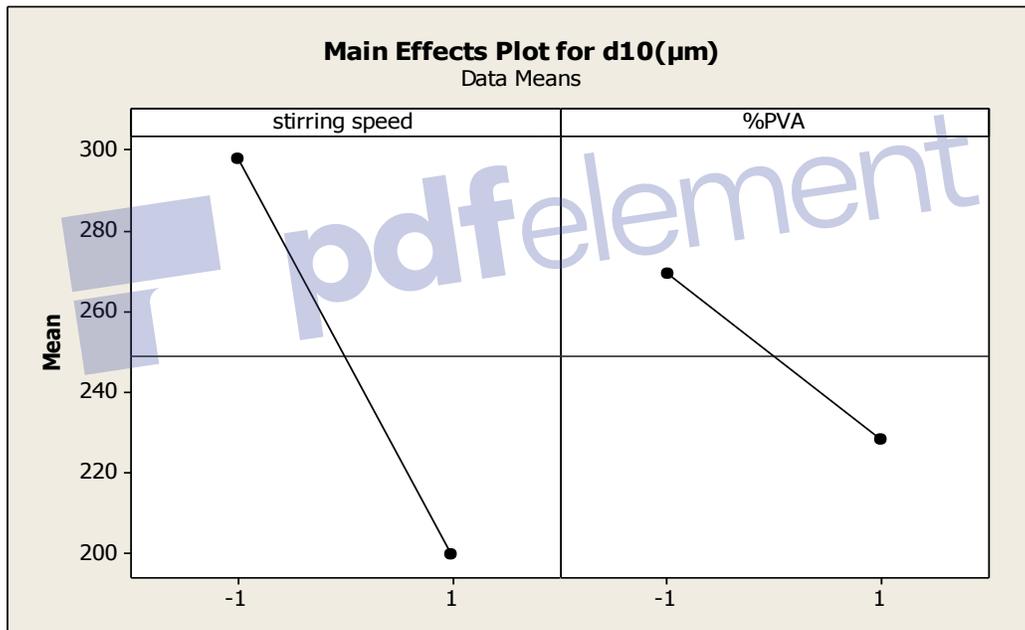
$$K_H = 0,031900 - 0,000050 X_1 - 0,0050X_2 + 0,01505 X_1X_2 \quad (12)$$

#### a. Graphiques des effets principaux

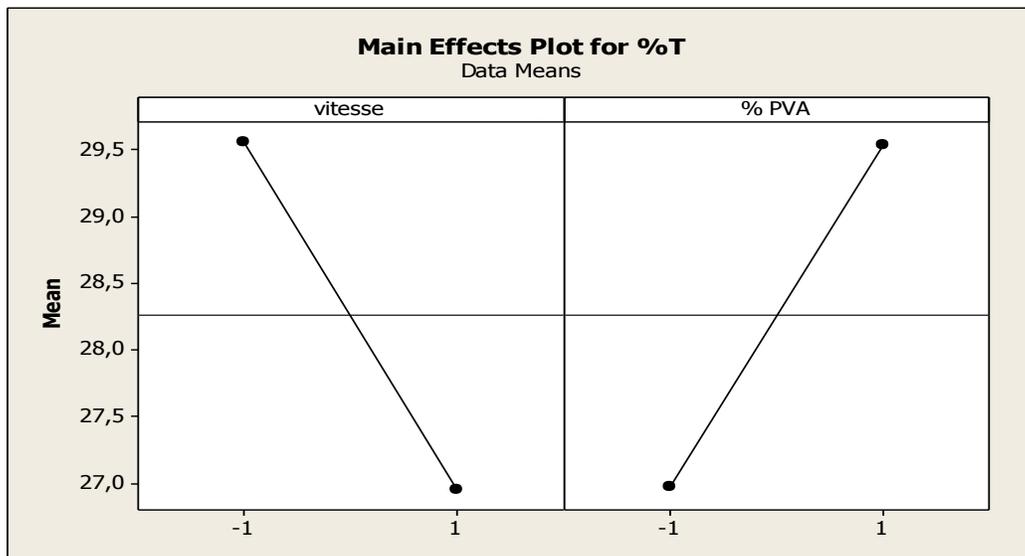
Pour une meilleure et facile compréhension des effets principaux des paramètres, nous les avons représentés graphiquement. Cette représentation des effets principaux (Fig. II.6.1, Fig. II.6.2 et Fig. II.6.3) montre un effet notable et négatif de la vitesse d'agitation sur le diamètre moyen ( $d_{10}$ ) des microparticules (EC/AN 2 : 1) et la teneur en matière active, par ailleurs l'effet de ce paramètre sur la vitesse de libération presque nul. En effet, la variation de la vitesse d'agitation de l'émulsion permet de modifier la taille des microparticules (Grandfils et al. 1992). Il a été prouvé, en accord avec la théorie de rupture des gouttelettes, que la taille des particules diminue lorsque la vitesse d'agitation augmente (Mateovic et al. 2002 ; Gabor et al. 1999). Le résultat montre aussi que l'effet de la vitesse d'agitation est négatif sur la teneur en principe actif; une augmentation de la vitesse

d'agitation a pour conséquence la diminution de la taille des particules et donc l'augmentation de la surface de contact avec le milieu externe, ce qui facilite le transfert du principe actif vers la solution aqueuse et donc la diminution de son taux d'encapsulation (Le Corre et al. 1994).

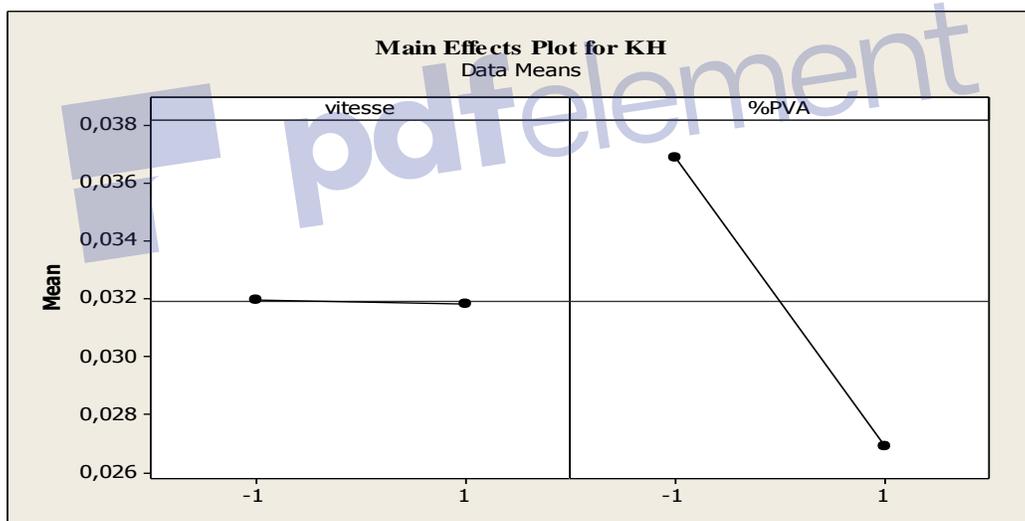
L'effet principal du %PVA est négatif et faible sur le diamètre moyen contrairement au taux d'encapsulation et la vitesse de libération (Fig. II.6.1-3) où l'effet du %PVA est grand et positif sur la teneur en matière active ; elle augmente en augmentant la concentration en PVA, et l'effet du %PVA est aussi grand mais négatif sur la vitesse de libération. En effet, l'effet de la concentration en PVA est relié au diamètre des microparticules donc la surface totale de contact avec le milieu et qui influe directement sur la libération.



**Figure II.6.1** : Graphique des effets de % PVA et la vitesse d'agitation sur le diamètre moyen ( $d_{10}$ ) en AN dans les microparticules EC /AN 2 :1



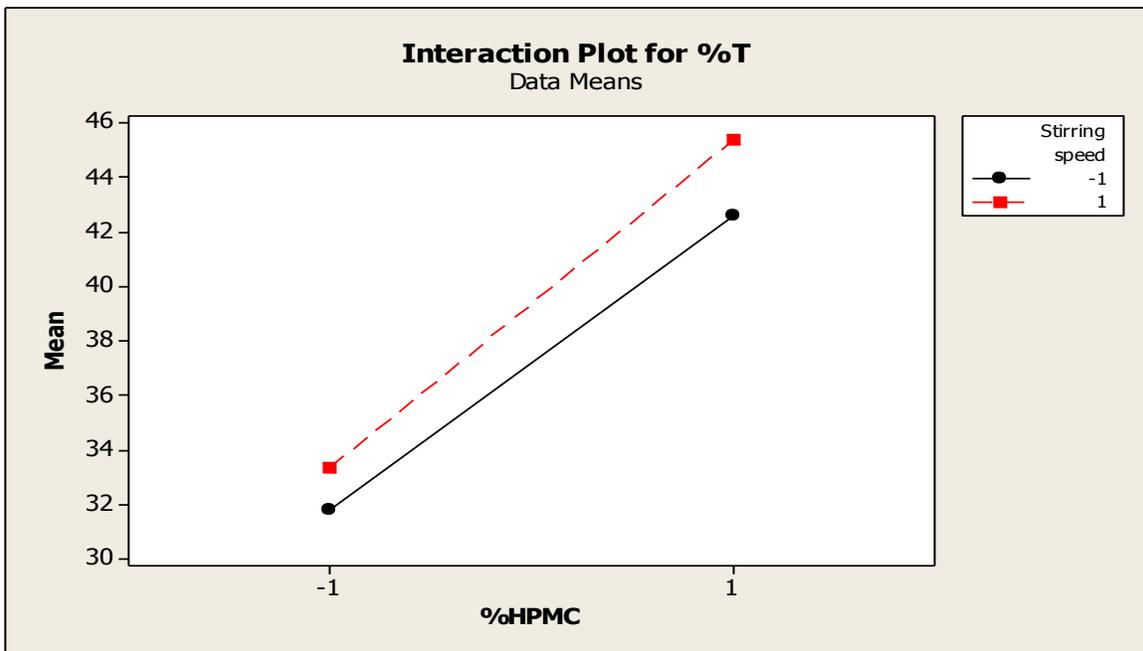
**Figure II.6.2** : Graphique des effets du % PVA et de la vitesse d'agitation sur la teneur (%T) en AN dans les microparticules EC/AN 2 :1



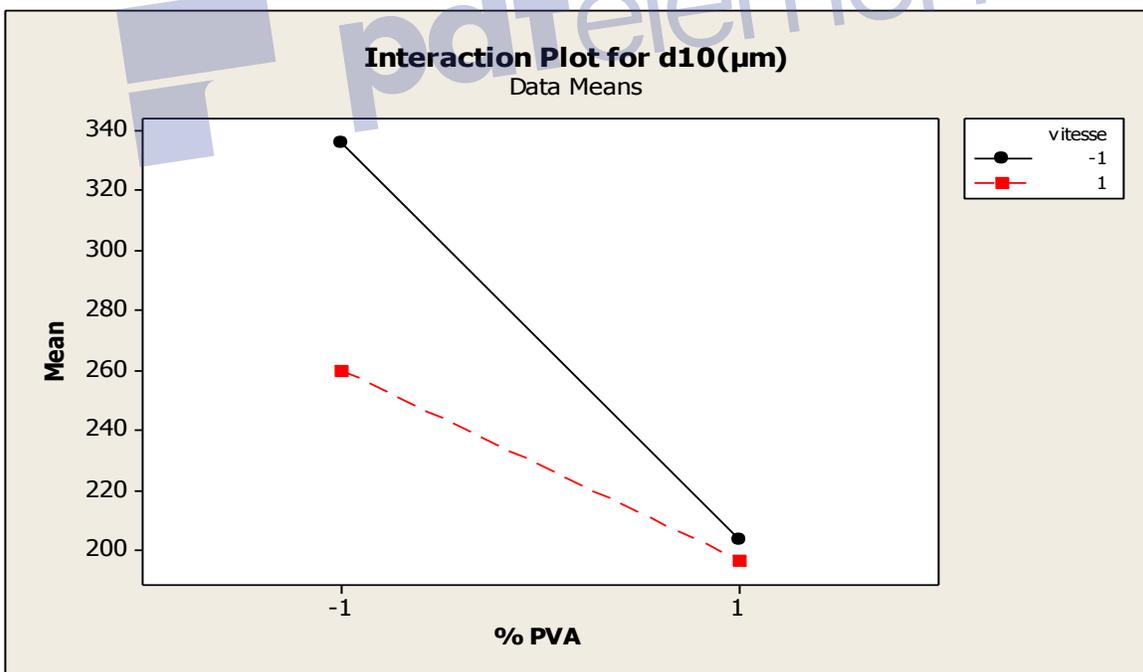
**Figure II.6.3** : Graphique des effets du % PVA et de la vitesse d'agitation sur la constante de libération de l'AN à partir des microsphères EC/AN 2 :1

### b. Graphiques des interactions des variables

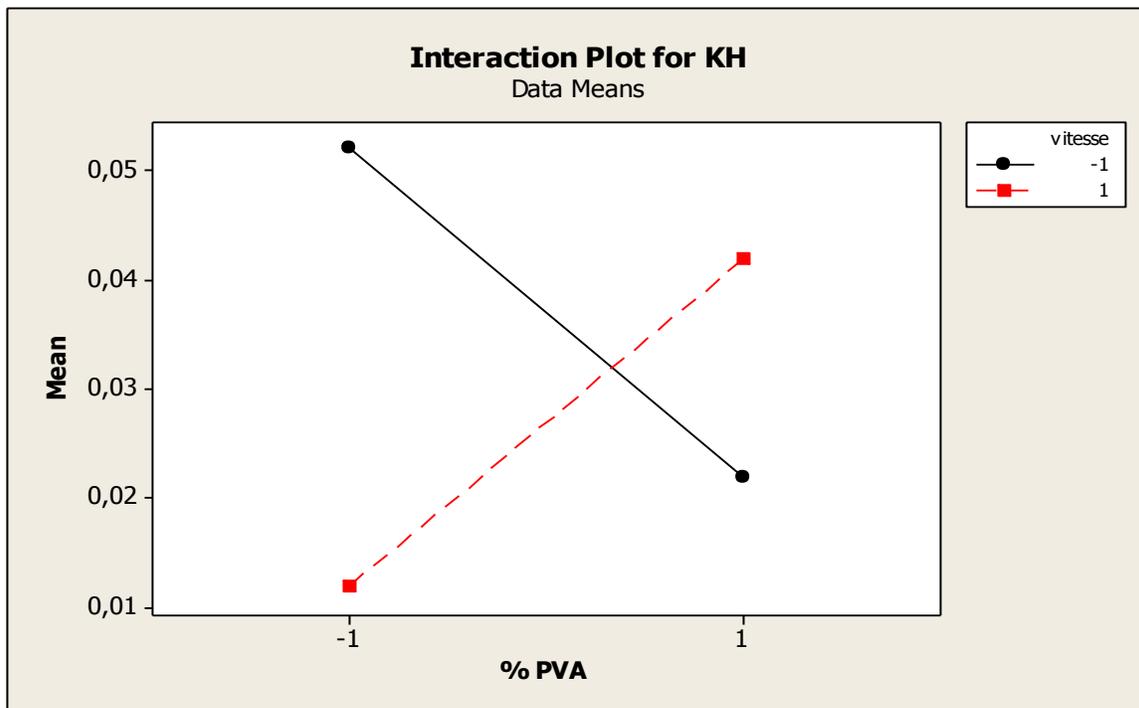
La réponse étudiée par le modèle mathématique évolue en fonction de chaque variable et de leur interaction. Cette interaction entre les variables est aussi représentée graphiquement comme le montre les représentations suivantes (Fig. II.6.4-6).



**Figure II.6.4:** Graphique des effets des interactions du %PVA et de la vitesse d'agitation sur la teneur en AN pour les microsphères (EC/AN, 2 :1)



**Figure II.6.5 :** Graphique des effets des interactions du %PVA et de la vitesse d'agitation sur la taille des microsphères (EC:AN, 2 :1)



**Figure II.6.6** : Graphique des effets des interactions du %PVA et de la vitesse d'agitation sur la constante libération de l'AN à partir des microsphères (EC/AN, 2 :1)

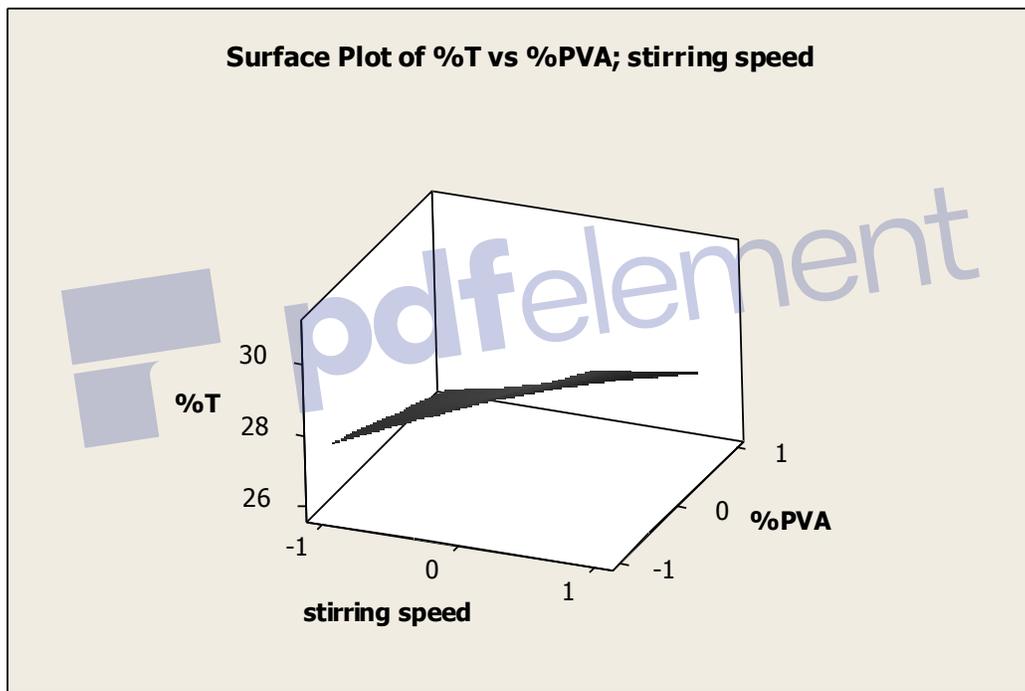
Dans la figure II.6.5, les deux droites sont pratiquement parallèles dans le domaine d'étude, on peut dire que l'interaction entre la vitesse d'émulsion et le %PVA est négligeable sur le diamètre des microparticules, les variables sont considérées indépendantes. Par contre, les figures II.6.6 et surtout II.6.7 montre une assez forte interaction entre ces variables sur le teneur en matière active et la vitesse de libération  $K_H$ , ce ci est traduit par l'intersection des deux droites. Dans ce cas, les effets des deux variables sont dépendants l'un de l'autre.

### c. Représentation en surface et en contour des résultats

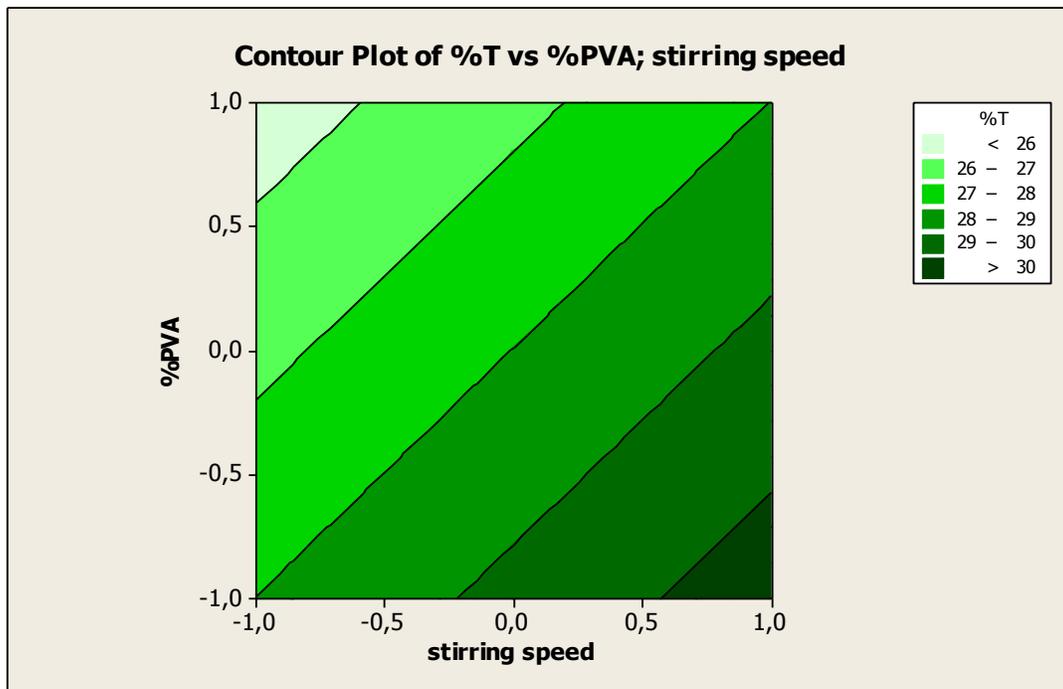
Les réponses étudiées sont représentées en 3 dimensions sous forme d'une surface de réponse en fonction de la concentration en HPMC et de la vitesse d'agitation et en deux dimensions sous forme d'une représentation topographique également en fonction de la concentration en HPMC et de la vitesse d'agitation. Ce type de représentation ne permet de visualiser que deux paramètres (ainsi que la réponse choisie) simultanément. Il a donc fallu fixer un des facteurs étudiés. Dans le cas où il n'existe pas d'interactions entre les variables, on obtient une surface de

réponse plane plus ou moins pointue, et une surface déformée en cas de présence d'interactions entre les facteurs.

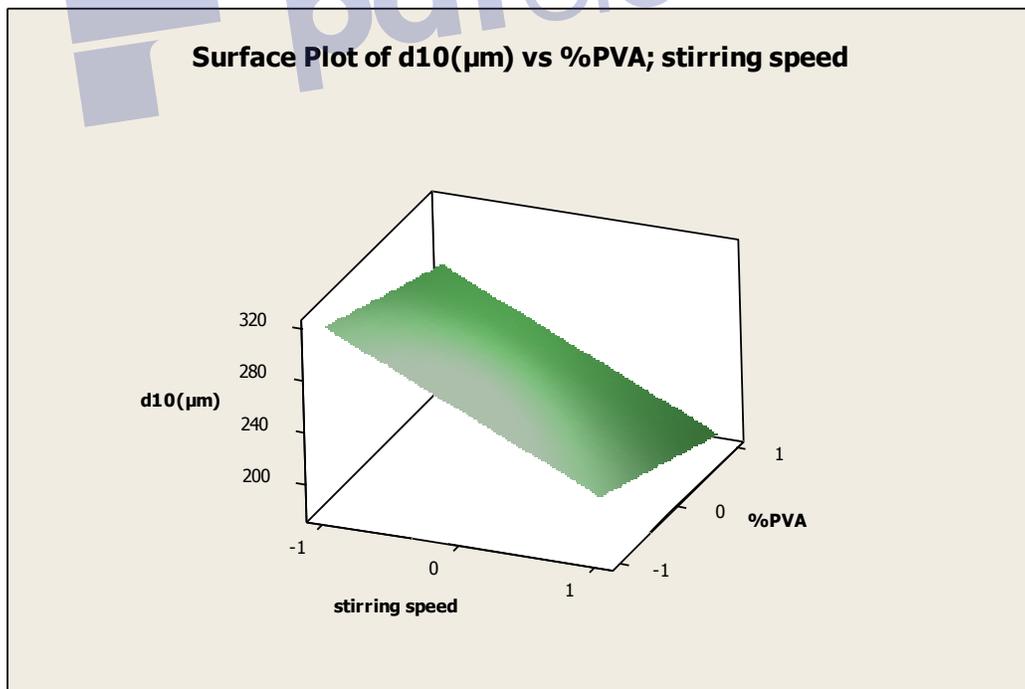
Les représentations en surface et en « contour » des résultats sont données dans les figures (II.6.7-II.9.12). Les graphiques de la surface est représentation tridimensionnelle des résultats et permettent de mettre en évidence l'importance des interactions entre les variables. De même, les graphiques « contour plot » qui sont une représentation bidimensionnelle des résultats permettent de choisir les conditions (variables) pour obtenir les microparticules avec les caractéristiques souhaitées. Ce type de représentation délimite des domaines de variation de la réponse en fonction des niveaux des facteurs étudiés.



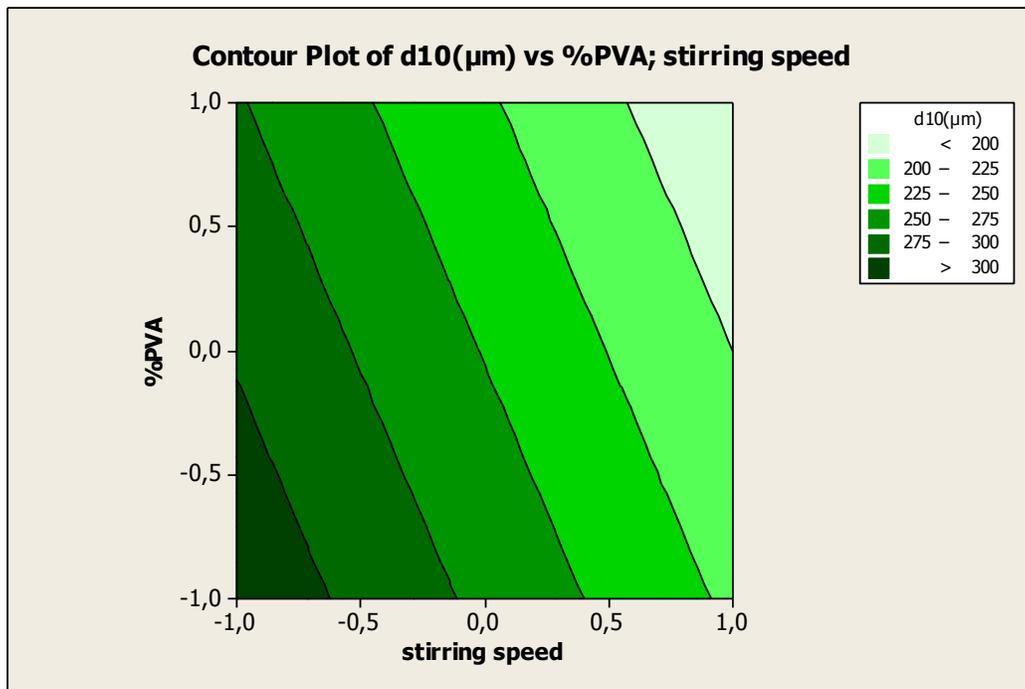
**Figure II.6.7 :** Surface de réponse illustrant % T en fonction du % PVA et de la vitesse d'agitation des microsphères (EC/AN, 2:1)



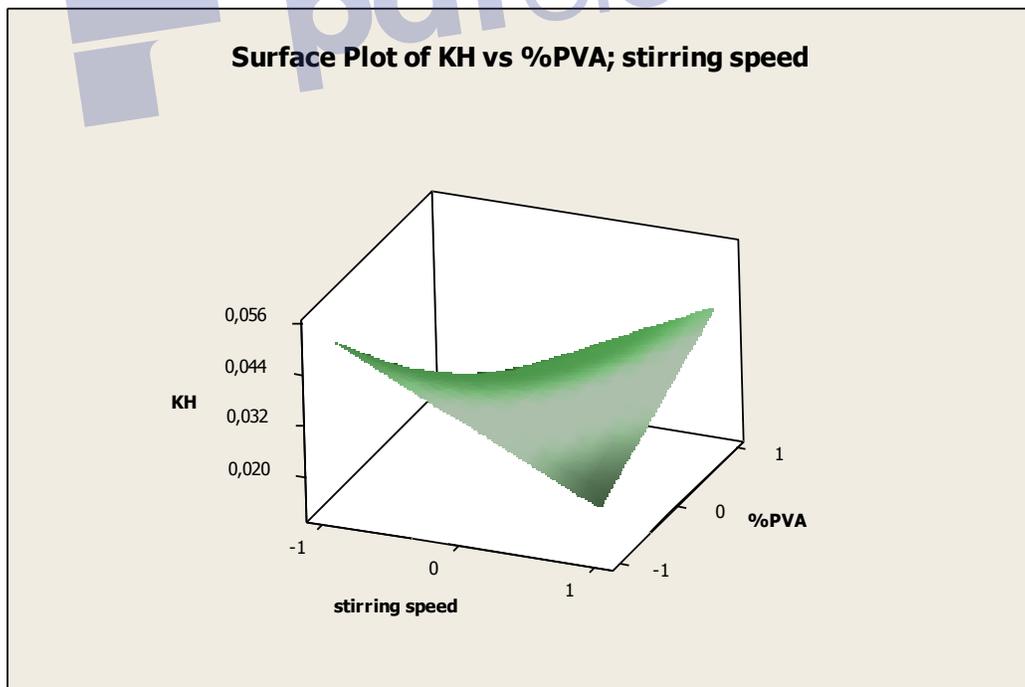
**Figure II.6.8:** Représentation en contour des effets du % PVA et de la vitesse d'agitation sur la % T dans les microsphères (EC/AN, 2:1)



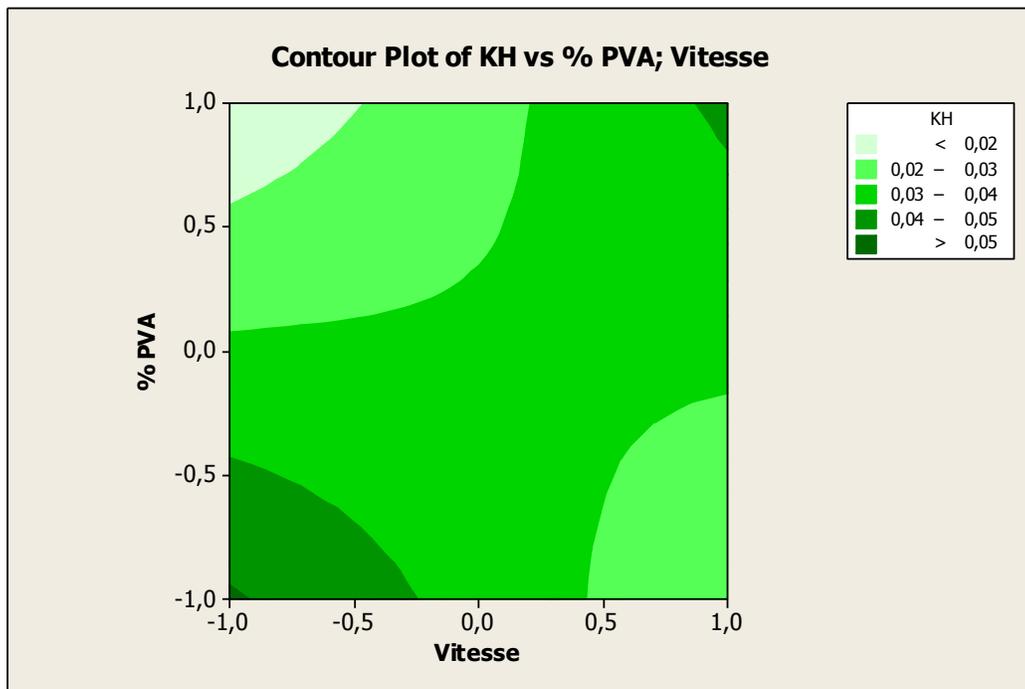
**Figure II.6.9:** Surface de réponse illustrant le diamètre moyen ( $d_{10}$ ) en fonction du % PVA et de la vitesse d'agitation des microsphères (EC/AN, 2:1)



**Figure II.6.10:** Représentation en contour des effets du % PVA et de la vitesse d'agitation sur la taille des microsphères (EC/AN, 2:1)



**Figure II.6.11:** Surface de réponse illustrant la constante de libération en fonction du % PVA et de la vitesse d'agitation des microsphères (EC/AN, 2:1)



**Figure II.6.12** : Représentation en contour des effets du % PVA et de la vitesse d'agitation sur la constance de libération de l'AN à partir des microsphères (EC/AN, 2:1)

D'une part, les représentations en surface confirment la présence des interactions entre les variables surtout sur la teneur en AN et sa vitesse de libération, cette interaction est traduite par une distorsion de la surface. D'autre part, le « contour plot » permet d'identifier les domaines de variation de chaque réponse en fonction des variables étudiées (%PVA, vitesse d'agitation). Par exemple, si on souhaite produire des microparticules avec une teneur en AN supérieure à 30%, il faut choisir des concentrations basses de PVA et un niveau haut de vitesse d'agitation (Fig. II.6.8).

Il faut bien évidemment noter que cette modélisation est réalisée dans un domaine bien précis de variables et qu'elle est donc valable seulement dans ce domaine et qu'on peut vérifier et étendre le domaine par la réalisation d'expériences supplémentaires avec des niveaux compris entre -1 et +1 et plus élargis.

### 2.3.2 Plan d'expériences 2

Dans ce plan d'expériences, les deux variables sont la vitesse d'agitation (rpm) et le rapport entre le polymère et le principe actif (EC/AN), les résultats de l'analyse factorielle sont représentés par les équations suivantes :

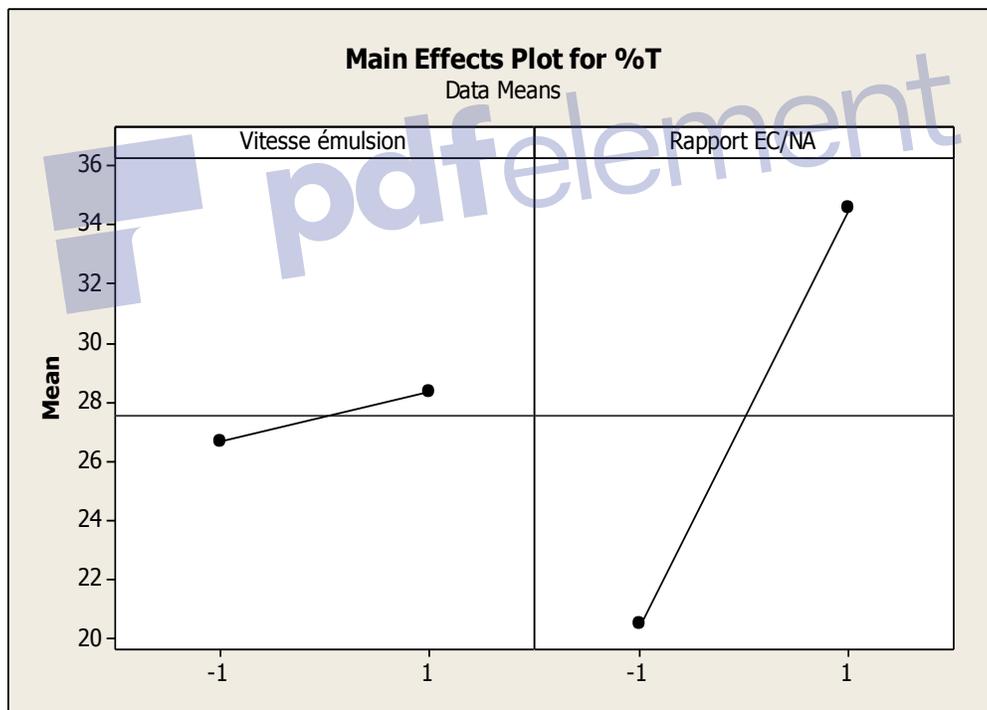
$$T(\%) = 27,547 + 0,847X_1 + 7,042X_2 + 0,893 X_1X_2 \quad (13)$$

$$d_{10} (\mu\text{m}) = 216,8 - 21,10 X_1 + 22,40X_2 - 18,50 X_1X_2 \quad (14)$$

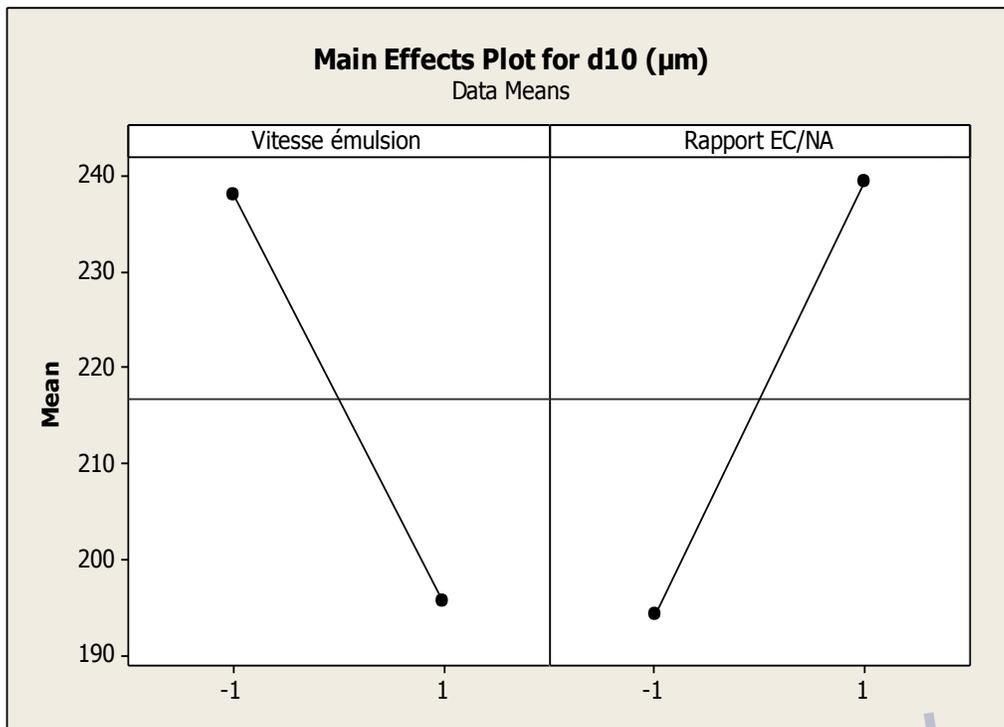
$$K_H = 0,1608 - 0,1167 X_1 - 0,1504X_2 + 0,1150 X_1X_2 \quad (15)$$

#### a. Graphiques des effets principaux

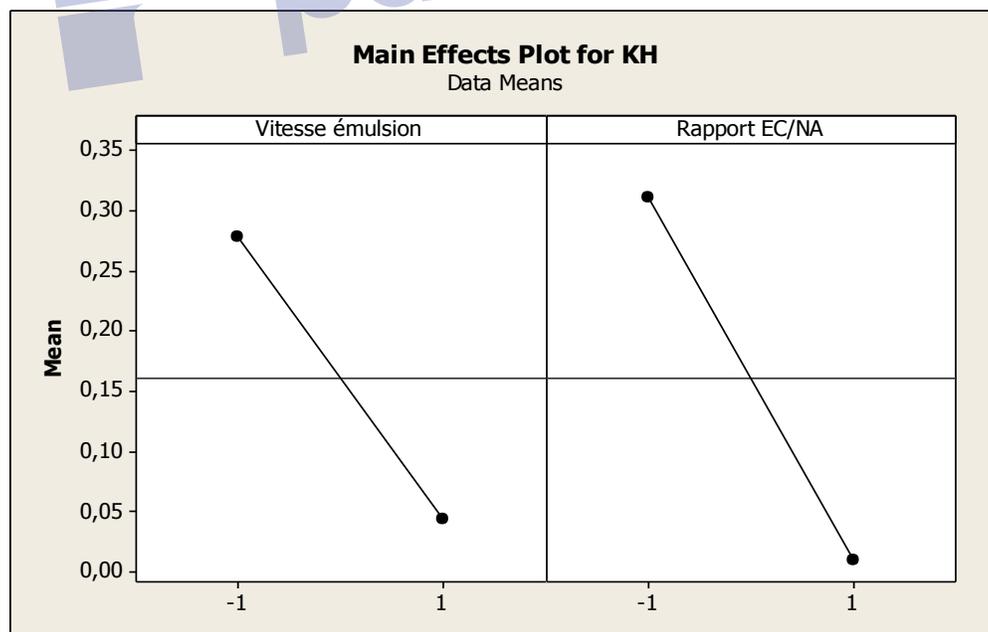
De même façon, on représente graphiquement les effets principaux des paramètres pour mieux les visualiser et discuter (Fig. II.6.13 à 15).



**Figure II.6.13** : Graphique des effets du rapport EC/AN et de la vitesse d'agitation sur la teneur (%T) en AN dans les microparticules (EC/AN, 0.25% PVA).



**Figure II.6.14** : Graphique des effets du rapport EC/AN et la vitesse d'agitation sur le diamètre moyen ( $d_{10}$ ) des microparticules (EC /AN, 0.25% PVA).



**Figure II.6.15** : Graphique des effets du rapport EC/AN et de la vitesse d'agitation sur la constante  $K_H$  pour les microsphères (EC/AN, 0.25% PVA).

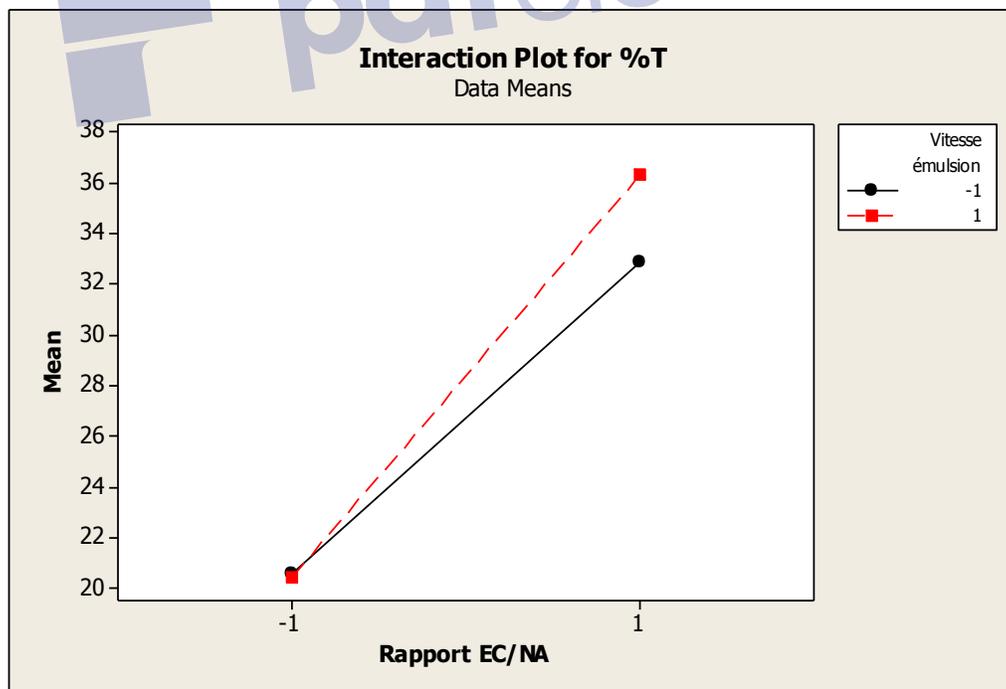
D'après la figure II.6.13 , l'effet de la vitesse d'émulsion est positif mais faible sur la teneur en AN, par contre, l'effet du rapport initial EC:AN paraît très fort sur la teneur en principe actif, il est positif; en doublant le rapport initial, la teneur finale est aussi presque doublée.

La figure II.6.14 montre des effets similaires importants mais inversés des deux variables étudiées sur le diamètre des microparticules; en effet l'effet de la vitesse d'émulsion est négatif, ce qui concorde avec la théorie et l'effet du rapport initial EC/AN est positif sur la taille, elle augmente avec ce rapport.

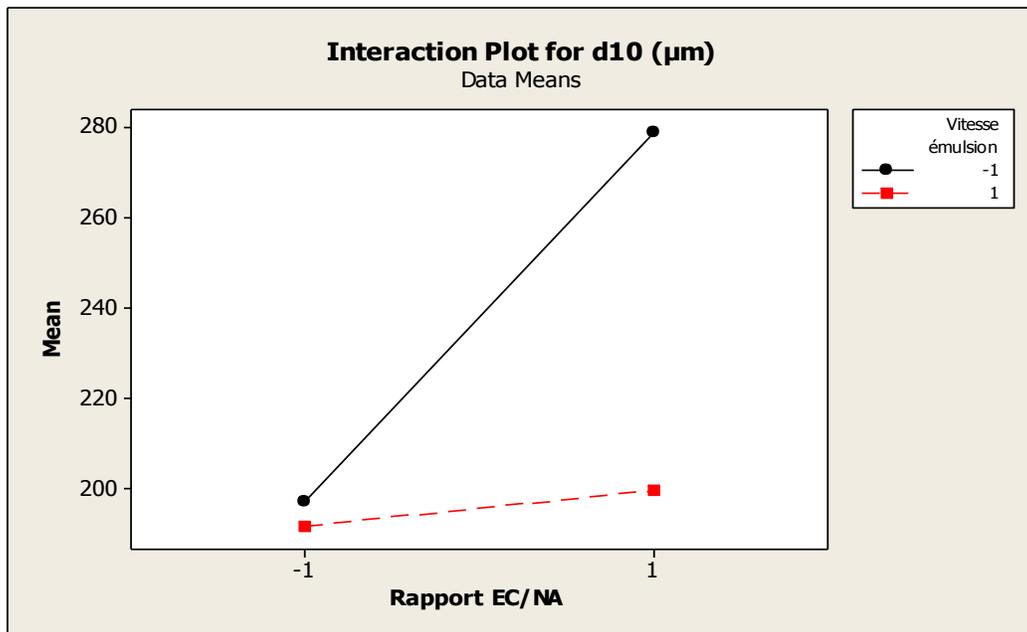
La figure II.6.15 présente des effets importants et négatifs des deux variables sur la vitesse de libération de l'AN; elle diminue notablement en choisissant des niveaux hauts de ces variables.

### b. Graphiques des interactions des variables

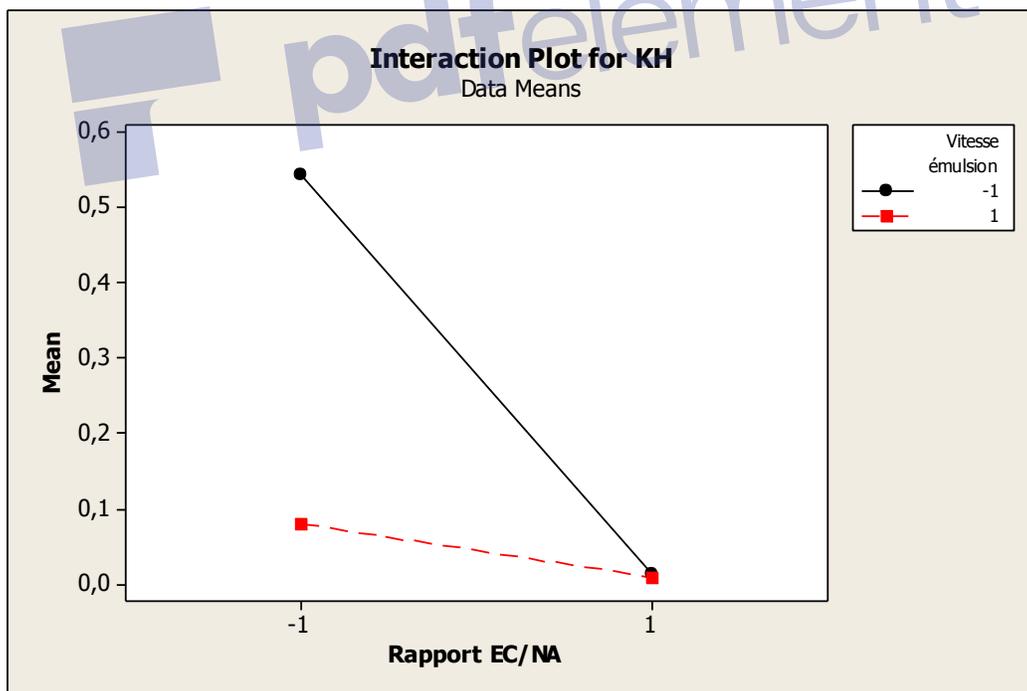
Dans les graphiques de la teneur T% , diamètre moyen ( $d_{10}$ ) et la constante de libération  $K_H$  (Fig.II.6.16, II.6.17 et II.6.18), on remarque une forte interaction traduite par l'intersection des deux droites dans les trois cas de réponse; les deux variables sont donc dépendantes et affecte simultanément les caractéristiques des microparticules.



**Figure II.6.16** : Graphique des effets des interactions entre le rapport EC/AN et la vitesse d'agitation dans la teneur en AN pour les microsphères (EC/AN, 0.25% PVA)



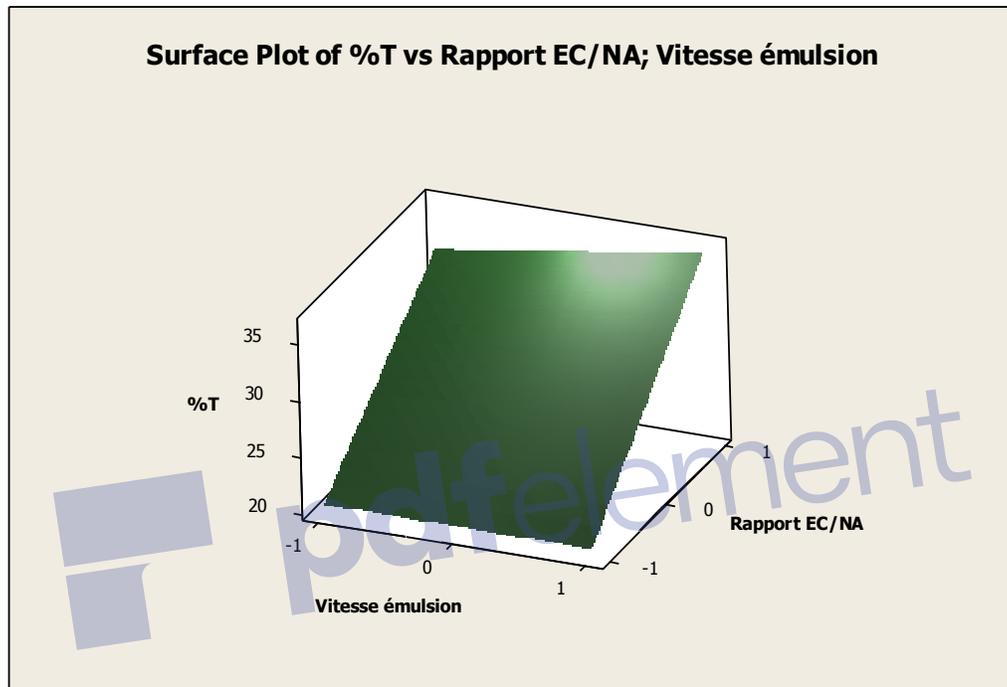
**Figure II.6.17** : Graphique des effets des interactions entre rapport EC/AN et la vitesse d'agitation sur la taille des microsphères (EC/AN, 0.25% PVA)



**Figure II.6.18** : Graphique des effets des interactions entre le rapport EC/AN et la vitesse d'agitation sur la libération des microsphères (EC/AN, 0.25% PVA).

### c. Représentation en surface et en contour des résultats

Afin d'optimiser les conditions opératoires, nous avons tracé les représentations en surface et en contour les réponses (caractéristiques des microparticules) en fonction des variables étudiés dans ce cas. Ces représentations sont données dans les figures II.6.19 à II.6.24.



**Figure II.6.19** : Surface de réponse illustrant % T en fonction du rapport EC/AN et de la vitesse d'agitation des microsphères (EC/AN, 0.25% PVA)

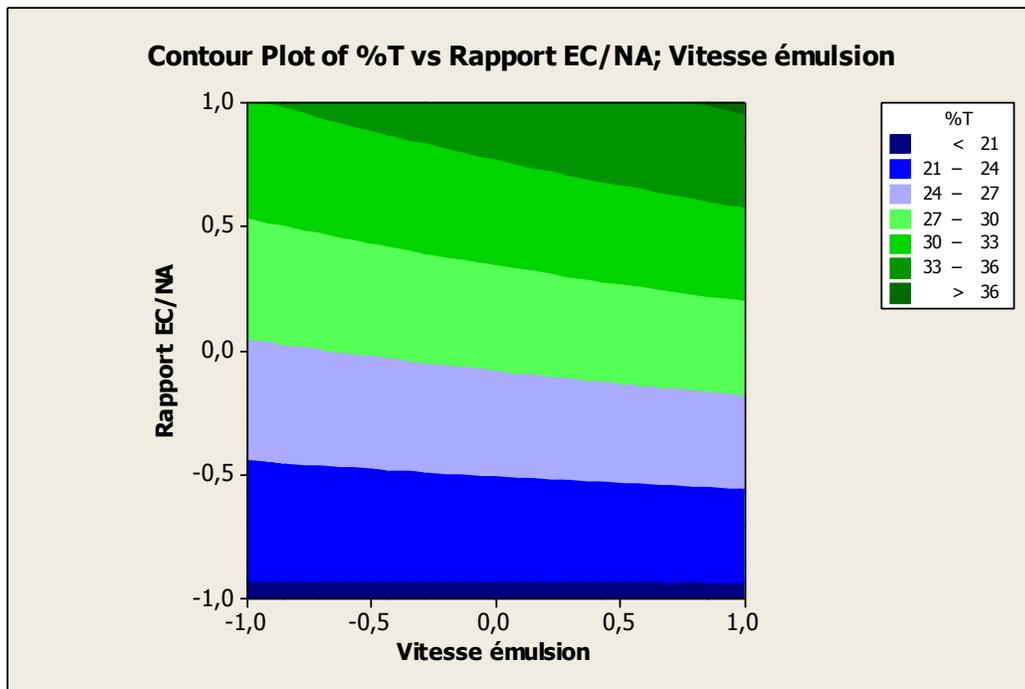


Figure II.6.20: Représentation en contour des effets du rapport EC/AN et la vitesse d'agitation sur la % T en AN des microsphères (EC/AN, 0.25% PVA)

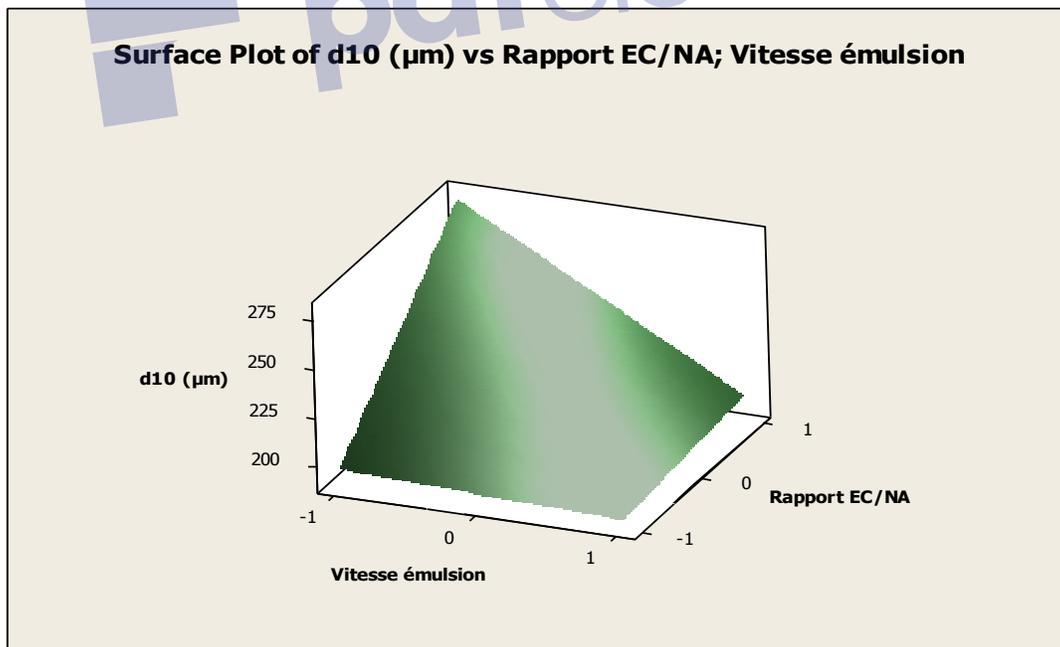


Figure I.6.21 : Surface de réponse illustrant le diamètre moyen ( $d_{10}$ ) en fonction du rapport EC/AN et de vitesse d'agitation des microsphères (EC/AN, 0.25% PVA)

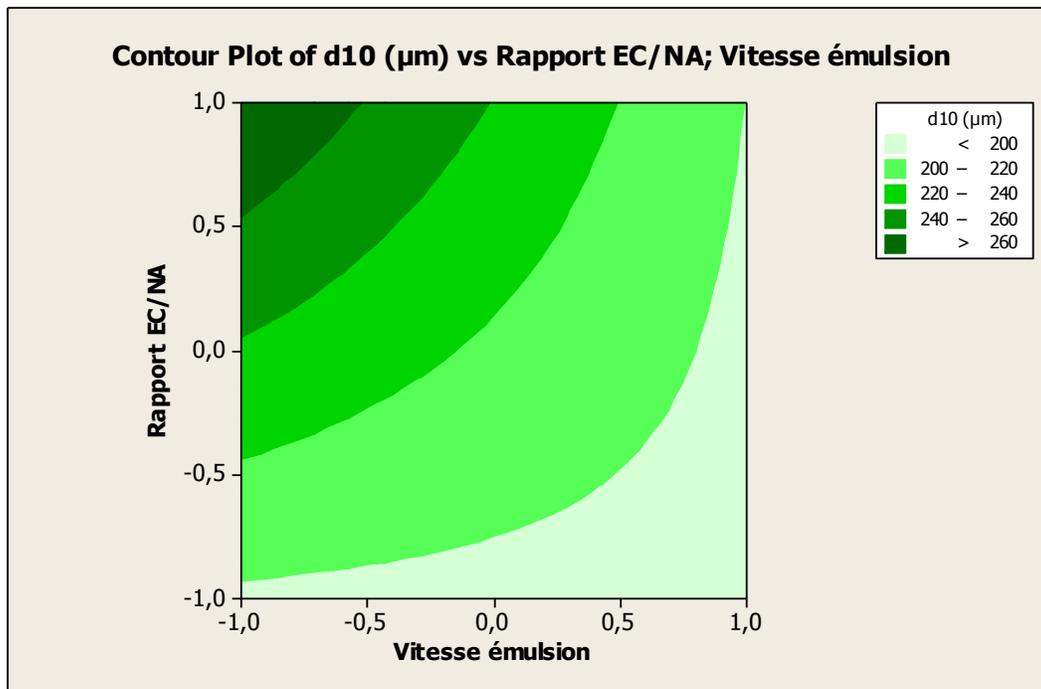


Figure II.6.22: Représentation en contour des effets du rapport EC/AN et la vitesse d'agitation sur le diamètre moyen ( $d_{10}$ ) des microsphères (EC/AN, 0.25% PVA)

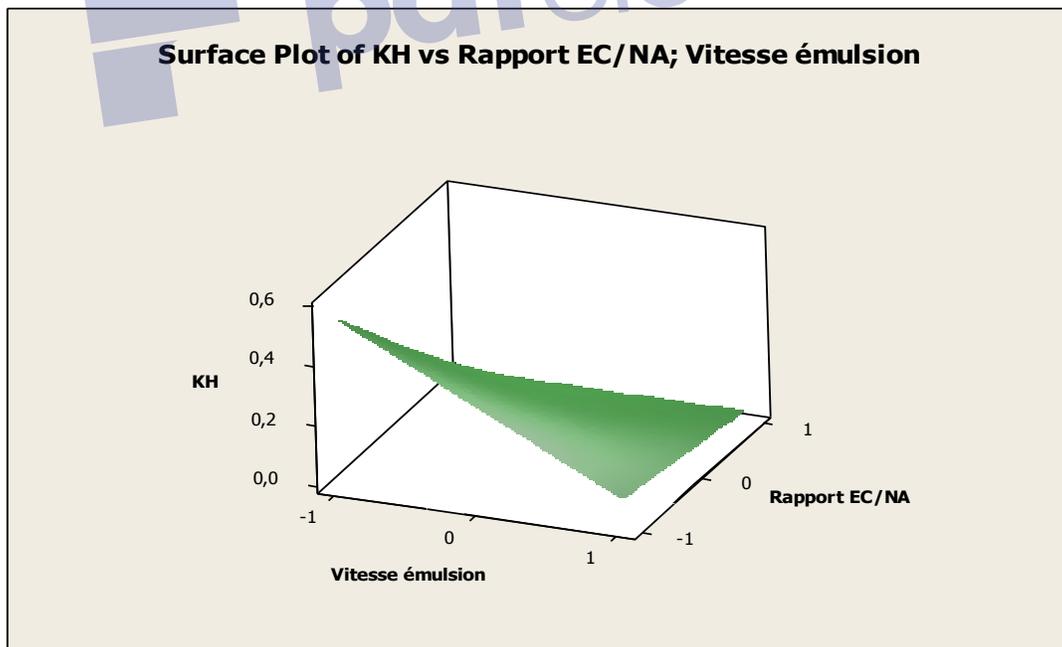
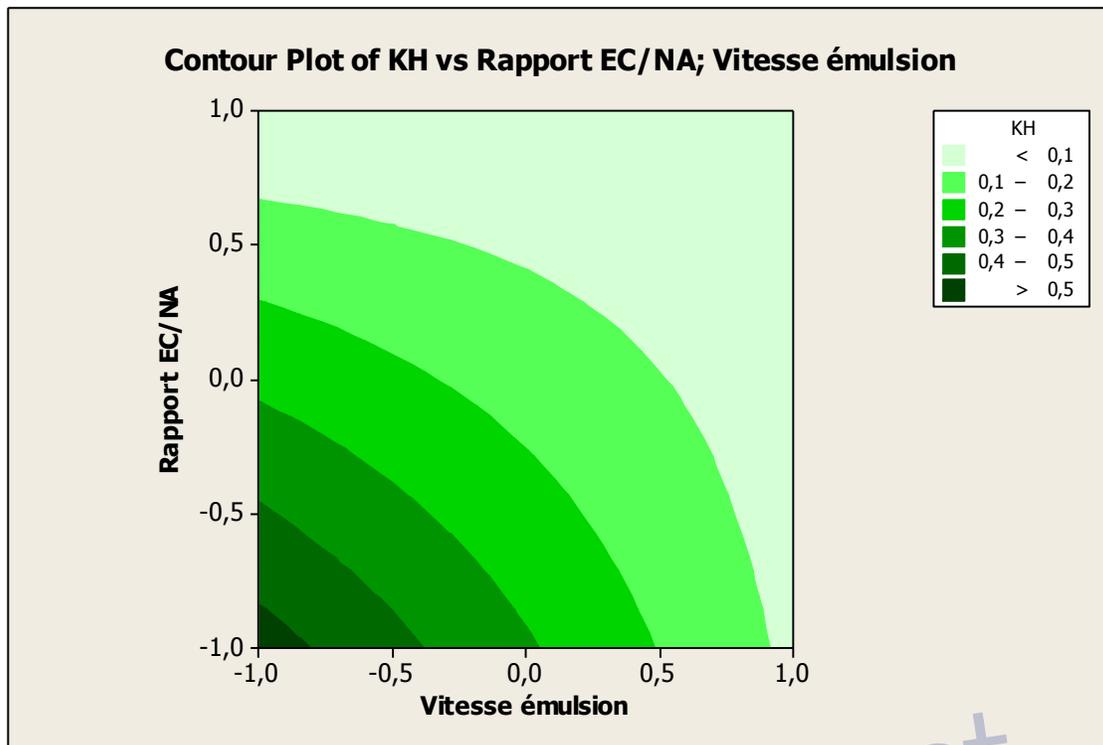


Figure II.6.23 : Surface de réponse illustrant la constante de libération en fonction de rapport EC/AN et la vitesse d'agitation et des microsphères (EC/AN, 0.25% PVA).



**Figure II.6.24** : Représentation en contour des effets du rapport EC/AN et de la vitesse d'agitation sur la constance de libération des microsphères (EC/AN, 0.25% PVA).

Les représentations en surface confirment la dépendance des deux variables et les représentations en contour permettent de choisir les conditions requises pour la préparation des microparticules désirées.

### 3. Évaluation des microsphères d'EC/HPMC par le plan d'expériences

Dans cette partie, nous avons sélectionné aussi deux facteurs ( $X_1$ ,  $X_2$ ) à 2 niveaux relatifs (-1, +1) à la méthode. La taille des microparticules ( $d_{10}$ ), la teneur en matière active (T%) et la constante de libération du P.A (KH) sont prises comme réponses pour représenter l'effet quantitatif des facteurs ( $X_1$ ,  $X_2$ ) qui sont la vitesse d'agitation et la concentration d'HPMC dans les microsphères (rapport HPMC/EC).

#### 3.1 Construction du plan d'expériences

Un plan factoriel complet simple  $2^2$  est sélectionné et le nombre d'expériences exigées pour cette recherche dépend du nombre de variables indépendantes choisies (4 essais). Pour la matrice

de l'EC/ HPMC, il y a deux facteurs ( $X_1$ ,  $X_2$ ) qui définissent le domaine de notre étude ; la vitesse d'agitation et la concentration en (%HPMC) respectivement.

**Tableau II.6.3:** Plan factoriel  $2^2$  et caractéristiques des microparticules obtenues (taille, teneur en NA, constante de libération  $K_H$ ) les microsphères EC/HPMC :AN

Microsphères EC/HPMC : AN (2:1)					
Expériences	$X_1$	$X_2$	$Y_1 : T\%$	$Y_2 : d_{10} (\mu m)$	$Y_3 : K_H$
1	-1	-1	31,75	468,5	0,0269
2	+1	-1	32,34	271,4	0,0404
3	-1	+1	42,62	796,7	0,0201
4	+1	+1	45,39	477	0,0672
Valeur Code/	Vitesse (t/min)	% HPMC			
-1	300	5 %			
+1	800	30 %			

Le logiciel MINITAB 16.1 est utilisé pour identifier statistiquement les facteurs (termes) les plus significatifs en déterminant les équations du modèle. Dans ce cas, les réponses  $Y_i$  correspondant aux : diamètre ( $d_{10}$ ), la teneur en matière active (% T) et la constante de libération d'Higuchi ( $K_H$ ) en fonction des facteurs étudiés sont données par les équations suivantes. Les calculs détaillés sont donnés en annexe. La modélisation par le logiciel « Minitab-DOE-analyse factorielle » donnent les équations mathématiques suivantes :

$$T (\%) = 38,275 + 1,09X_1 + 5,73X_2 + 0,295X_1X_2 \quad (16)$$

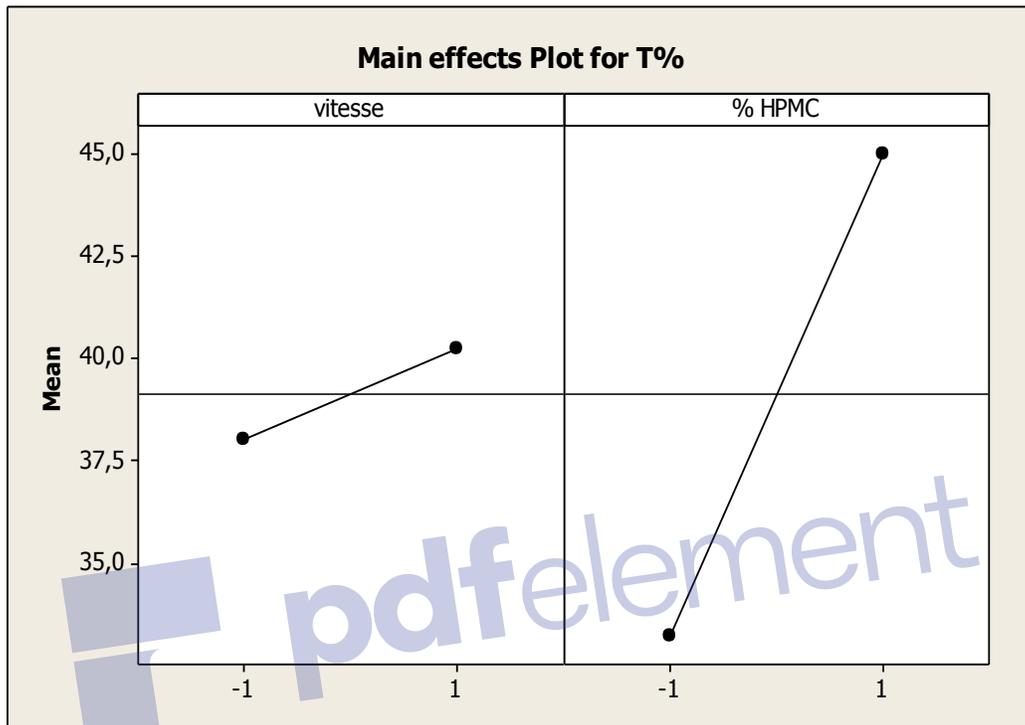
$$d_{10} (\mu m) = 503,4 - 129,2X_1 + 133,4X_2 - 30,7X_1X_2 \quad (17)$$

$$K_H = 0,03865 + 0,01515X_1 + 0,005X_2 + 0,0084X_1X_2 \quad (18)$$

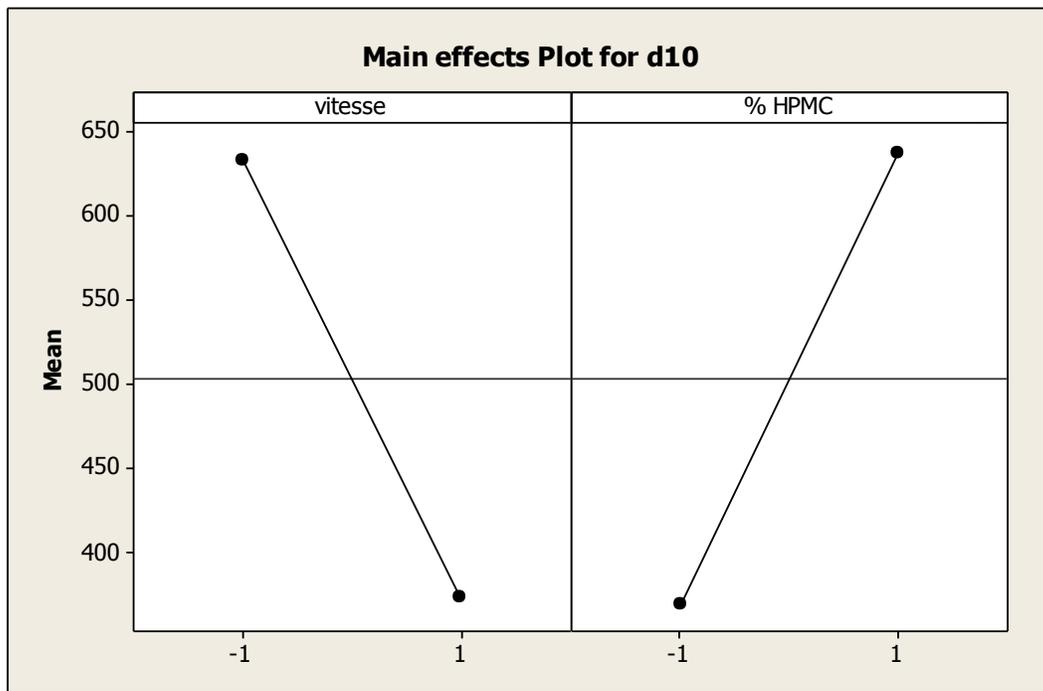
#### a. Graphiques des effets principaux

La représentation des effets principaux (Fig. II.6.25, Fig. II.6.26 et Fig. II.6.27) montre un effet positif et notable de la concentration d'HPMC sur la teneur en matière active et le diamètre des microparticules, cet effet devient faible sur la constante de libération. L'augmentation de

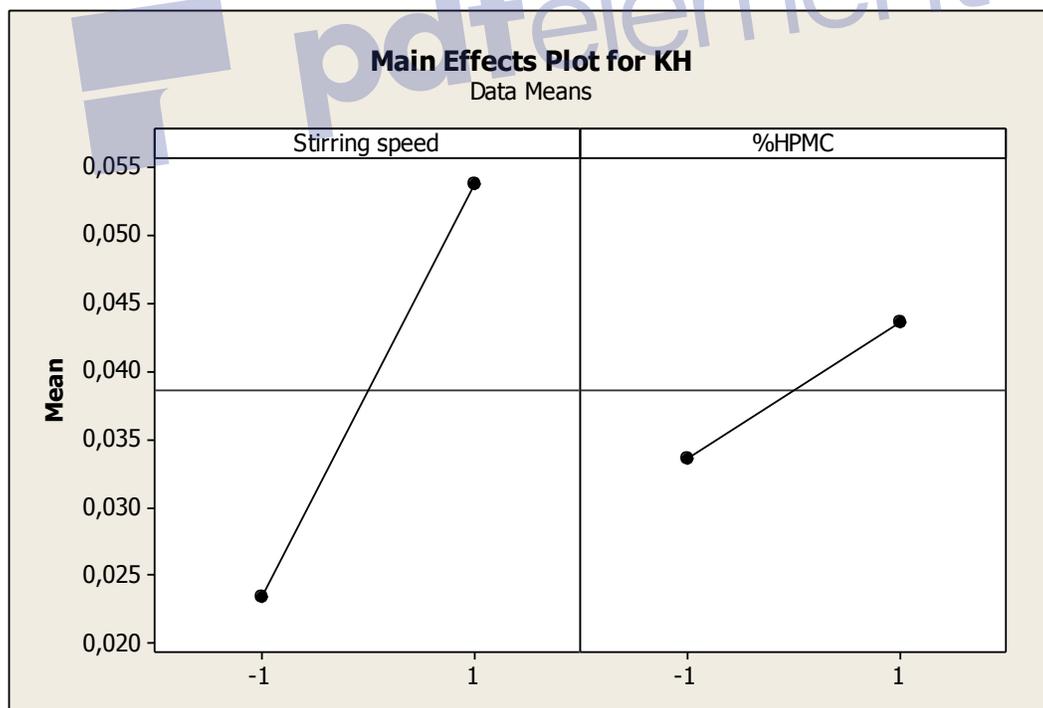
concentration en HPMC engendre une augmentation importante du diamètre moyen des particules et de la teneur en AN. Pour ces microparticules, l'effet de la vitesse d'agitation est négatif et aussi important. Ou bien, cet effet s'inverse sur la constante de libération. Ces effets sont quantifiés dans les équations modèles obtenues.



**Figure II.6.25** : Graphique des effets du % HPMC et la vitesse d'agitation sur la teneur en AN dans les microparticules (EC/HPMC).



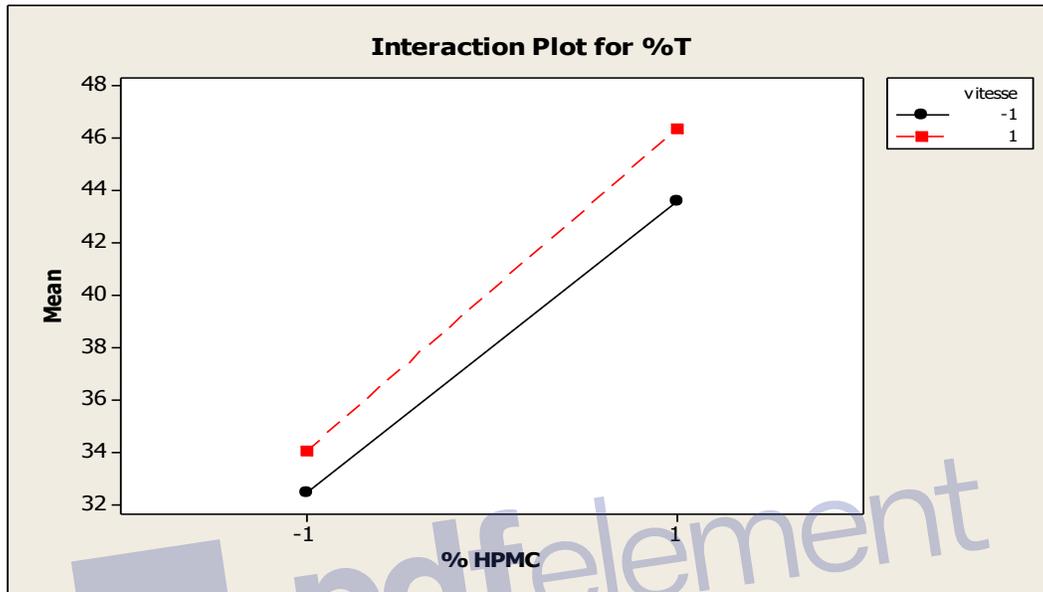
**Figure II.6.26 :** Graphique des effets du % HPMC et la vitesse d'agitation sur  $d_{10}$  des microparticules (EC/HPMC)



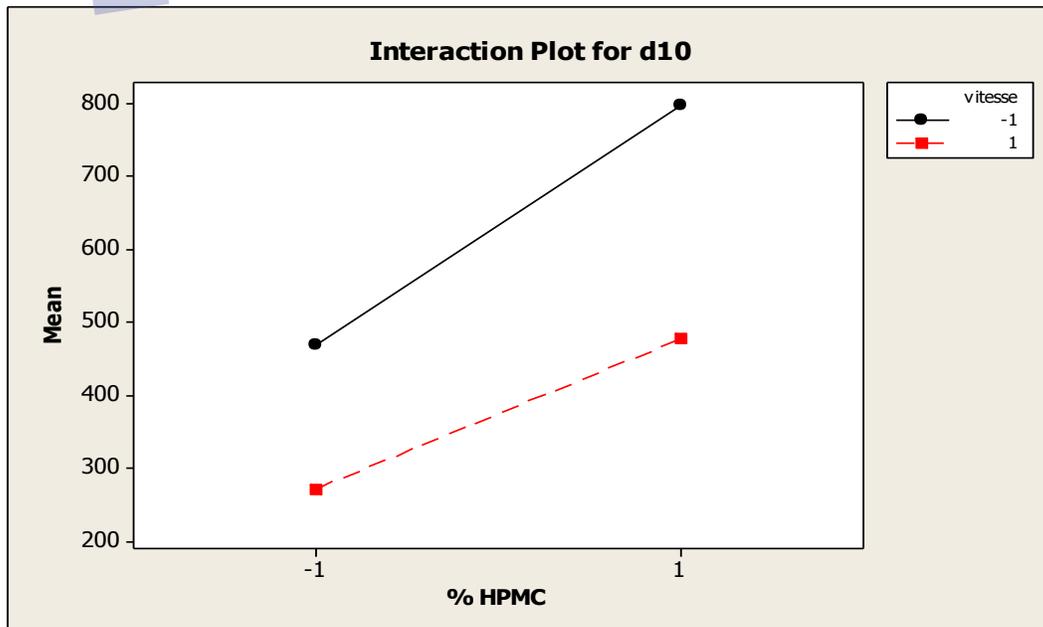
**Figure II.6.27 :** Graphique des effets du % HPMC et la vitesse d'agitation sur la constante de libération des microsphères (EC/HPMC)

**b. Graphique des interactions des variables**

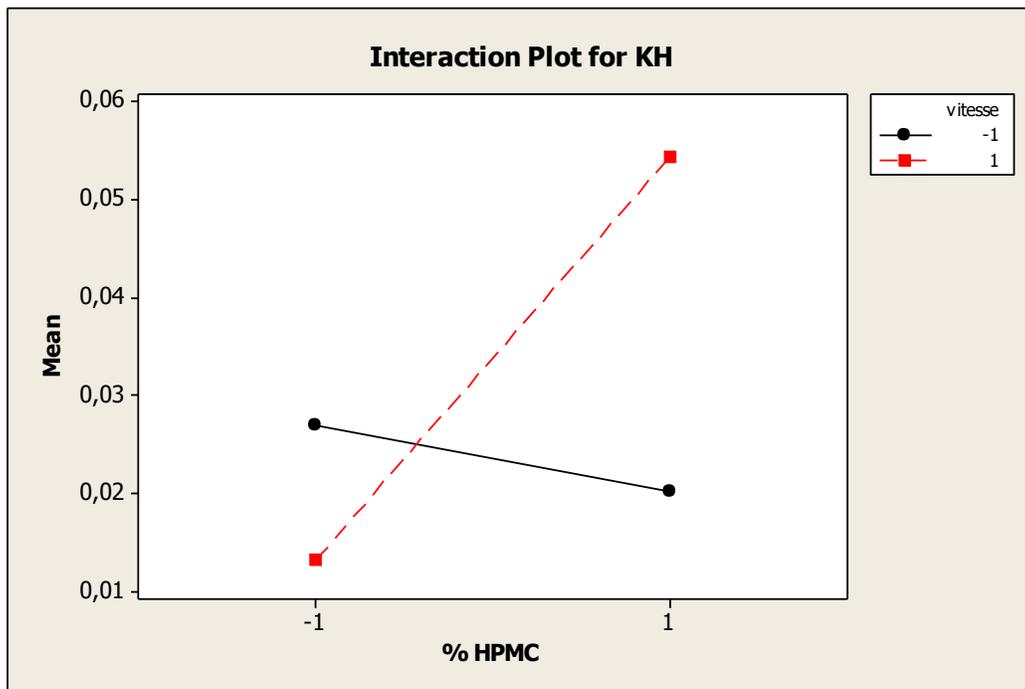
Les figures ci-dessous présentant les interactions entre ces deux variables montrent qu'elles sont dépendantes et agissent simultanément sur la constante de libération. Envers les autres réponses (taille et teneur en matière active), les variables sont très faiblement dépendantes.



**Figure II.6.28** : Graphique des effets des interactions entre % HPMC et la vitesse d'agitation sur la teneur en AN des microsphères (EC/HPMC)



**Figure II.6.29** : Graphique des effets des interactions entre %HPMC et la vitesse d'agitation sur la taille des microsphères (EC/HPMC)



**Figure II.6.30** : Graphique des effets des interactions entre le %HPMC et la vitesse d'agitation sur la constante de libération de l'AN des microsphères (EC/HPMC)

### c. Représentation en surface et en contour des résultats

Les résultats obtenus montrent bien que les interactions existent dans presque tous les cas de modélisation. Les graphiques « contour plot » Fig. II.6.32, Fig. II.6.34 et Fig. II.6.36 permettent de choisir les conditions (variables) pour obtenir les microparticules avec les caractéristiques souhaitées. La représentation délimite des domaines de variation de la réponse en fonction des niveaux des facteurs étudiés.

La représentation en surface et en « contour » des résultats est donnée par les figures suivantes :

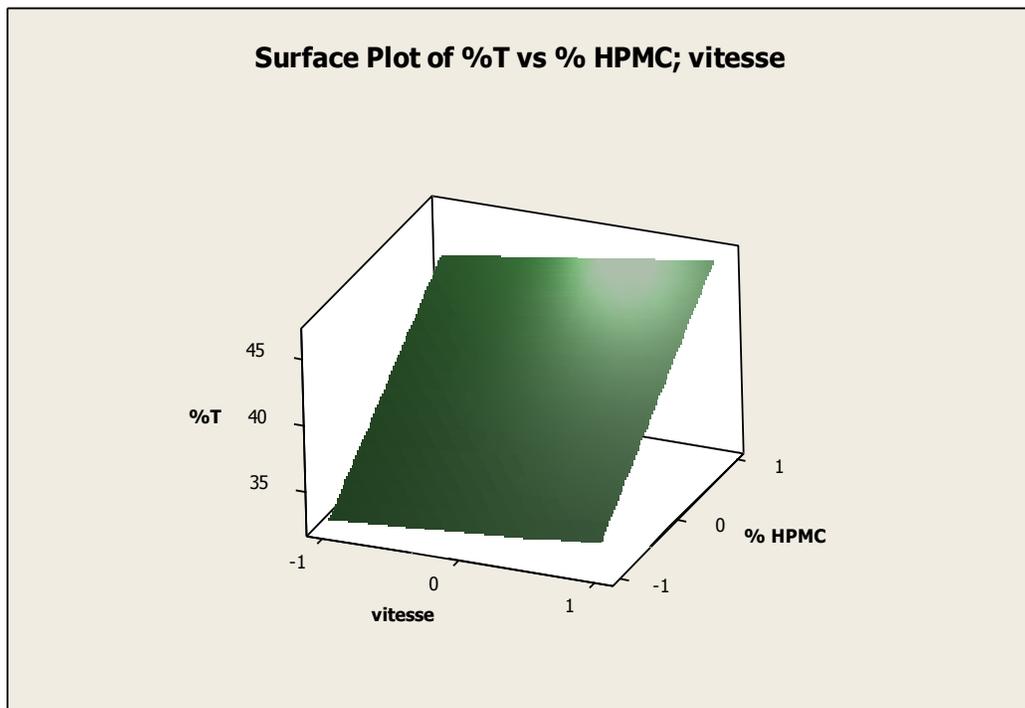


Figure II.6.31: Surface de réponse illustrant % T en fonction du % HPMC et de la vitesse d'agitation pour les microsphères EC/HPMC

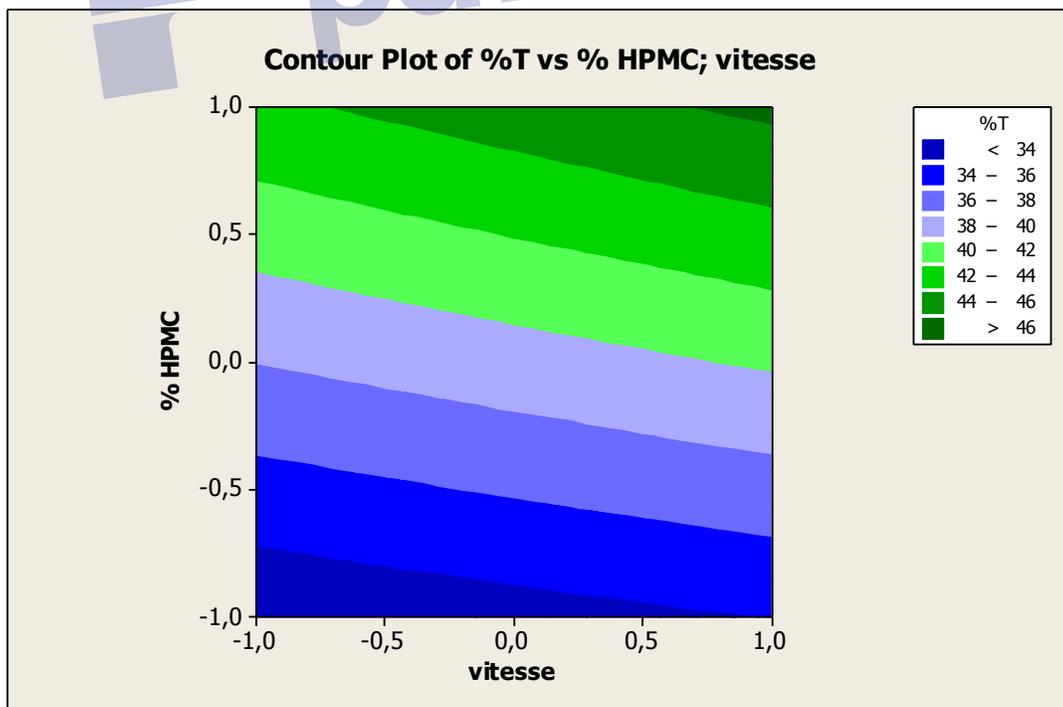
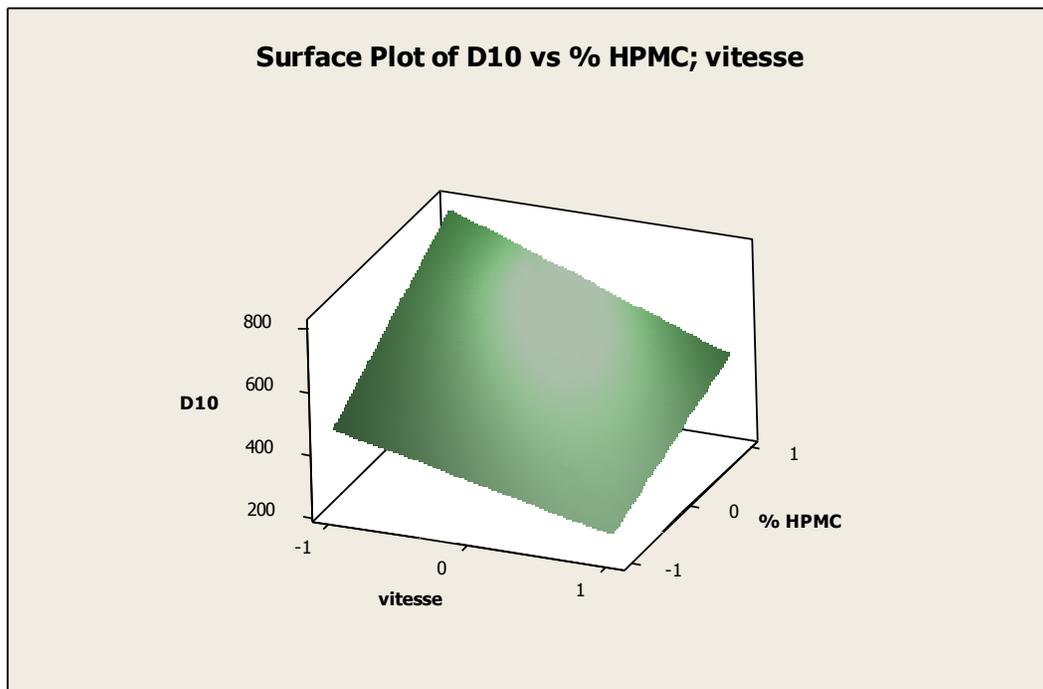
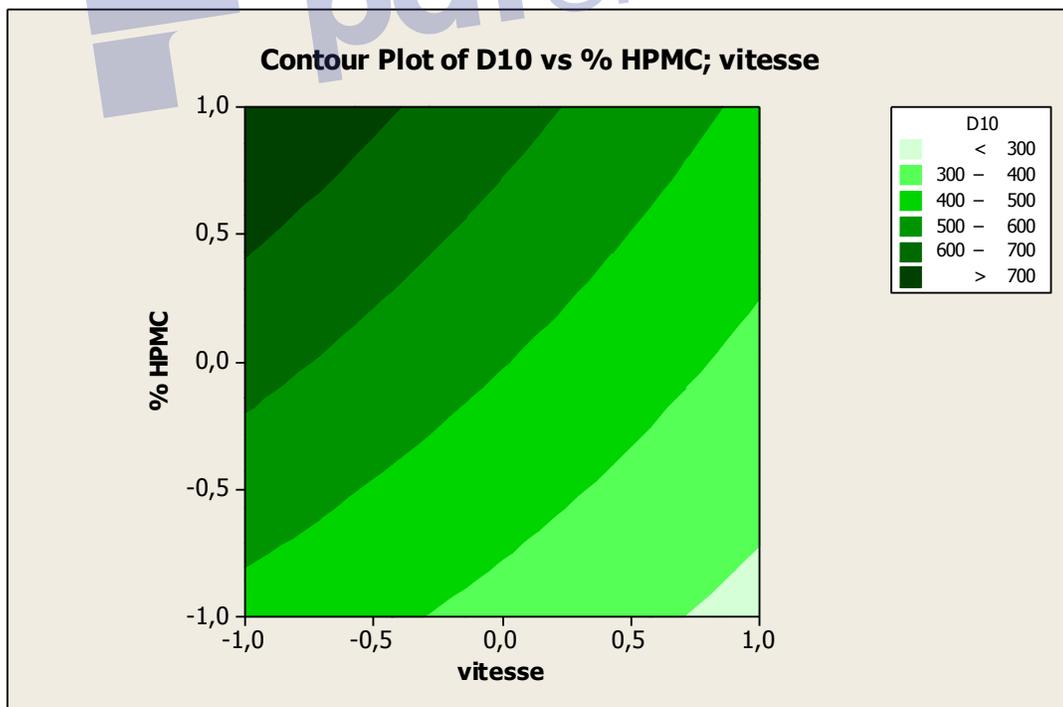


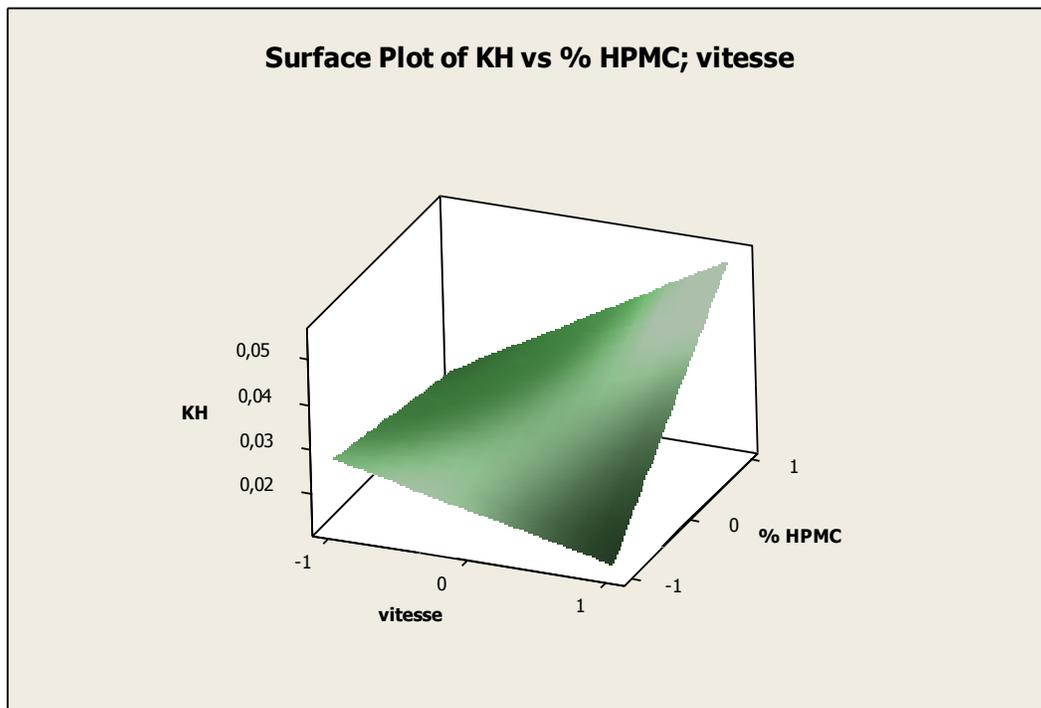
Figure II.6.32 : Représentation en contour des effets du % HPMC et la vitesse d'agitation sur le % T en AN pour les microsphères EC/HPMC.



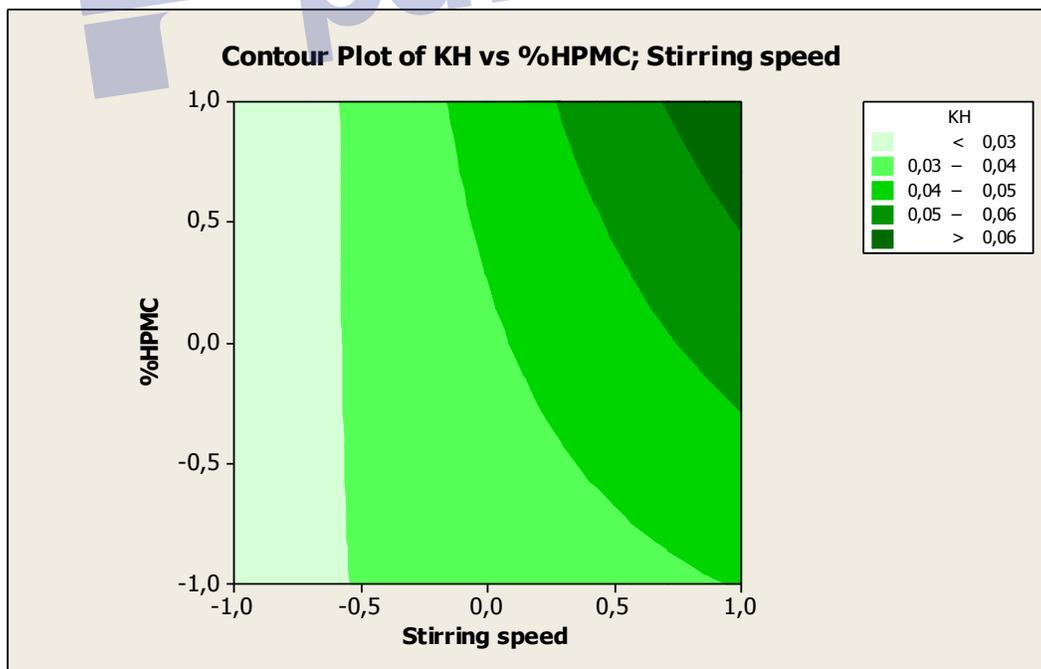
**Figure II.6.33** : Surface de réponse illustrant le diamètre moyen ( $d_{10}$ ) en fonction du % HPMC et de la vitesse d'agitation pour les microsphères EC/HPMC.



**Figure II.6.34** : Représentation en contour des effets du % HPMC et la vitesse d'agitation sur la taille des microsphères EC/HPMC



**Figure II.6.35** : Surface de réponse illustrant la constante de libération ( $K_H$ ) en fonction du % HPMC et de la vitesse d'agitation pour les microsphères EC/HPMC.



**Figure II.6.36** : Représentation en contour des effets du % HPMC et la vitesse d'agitation sur la constance de libération ( $K_H$ ) à partir des microsphères EC/HPMC.

Les représentations en surface confirment la présence d'interactions entre les variables surtout sur la réponse  $K_H$  (constante de libération). Le « contour plot » permet pour chaque réponse d'identifier les domaines de variation en fonction des variables (%HPMC, vitesse d'émulsion). Si on souhaite par exemple de produire des microparticules avec une teneur en AN supérieure à 46%, il faut choisir des niveaux hauts de %HPMC et de vitesse d'émulsion. Si on souhaite de produire des particules avec des diamètres moyens inférieurs de 300 $\mu\text{m}$ , il faut choisir des niveaux bas de %HPMC et un niveau haut de vitesse d'émulsion.

#### 4. Évaluation des microsphères d'EC/ $\beta$ -CD par le plan d'expériences

##### 4.1 Construction du plan d'expériences

De même, un plan factoriel complet simple  $2^2$  à (4 essais) a été construit pour évaluer les effets de deux variables choisies pour les microsphères EC/  $\beta$ -CD:AN (2:0,5). Pour ces microsphères, les deux facteurs ( $X_1$ ,  $X_2$ ) qui définissent le domaine de notre étude sont la vitesse d'agitation et la concentration en  $\beta$ -CD (% $\beta$ -CD) respectivement.

**Tableau II.6.4:** Plan factoriel  $2^2$  et caractéristiques des microparticules obtenues (taille, teneur en NA, constante de libération  $K_H$ ), pour les microsphères EC/ $\beta$ -CD

Microsphères EC/ $\beta$ -CD					
Expériences	$X_1$	$X_2$	Y1 : T%	Y2 : $d_{10}$ ( $\mu\text{m}$ )	Y3 : $K_H$
<b>1</b>	-1	-1	18,69	326,8	0,0051
<b>2</b>	+1	-1	13,10	307,4	0,0199
<b>3</b>	-1	1	18,98	356,8	0,0082
<b>4</b>	1	1	21,16	187,7	0,021
Valeur Code/	<b>Vitesse</b>	<b>% <math>\beta</math>CD</b>			
	<b>t/min</b>				
<b>-1</b>	300	5%			
<b>+1</b>	800	30%			

Les réponses  $Y_i$  correspondant aux : diamètre ( $d_{10}$ ), la teneur en matière active (% T) et la constante de libération d'Higuchi ( $K_H$ ) en fonction des facteurs étudiés sont données par les équations suivantes (19-21). Les calculs détaillés sont donnés en annexe.

La modélisation par le logiciel « Minitab-DOE-analyse factorielle » donnent les équations mathématiques suivantes :

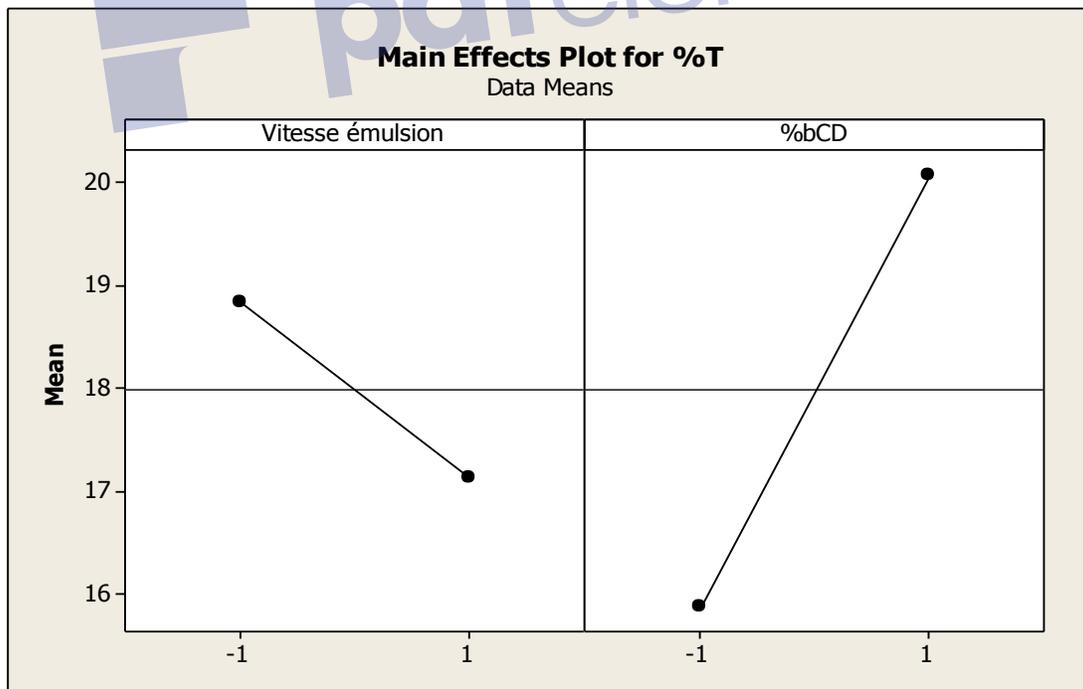
$$T (\%) = 17,9825 - 0,8525X_1 + 2,0875X_2 + 1,9425X_1X_2 \quad (19)$$

$$d_{10}(\mu\text{m}) = 294,68 - 47,13X_1 - 22,42X_2 - 37,42 X_1X_2 \quad (20)$$

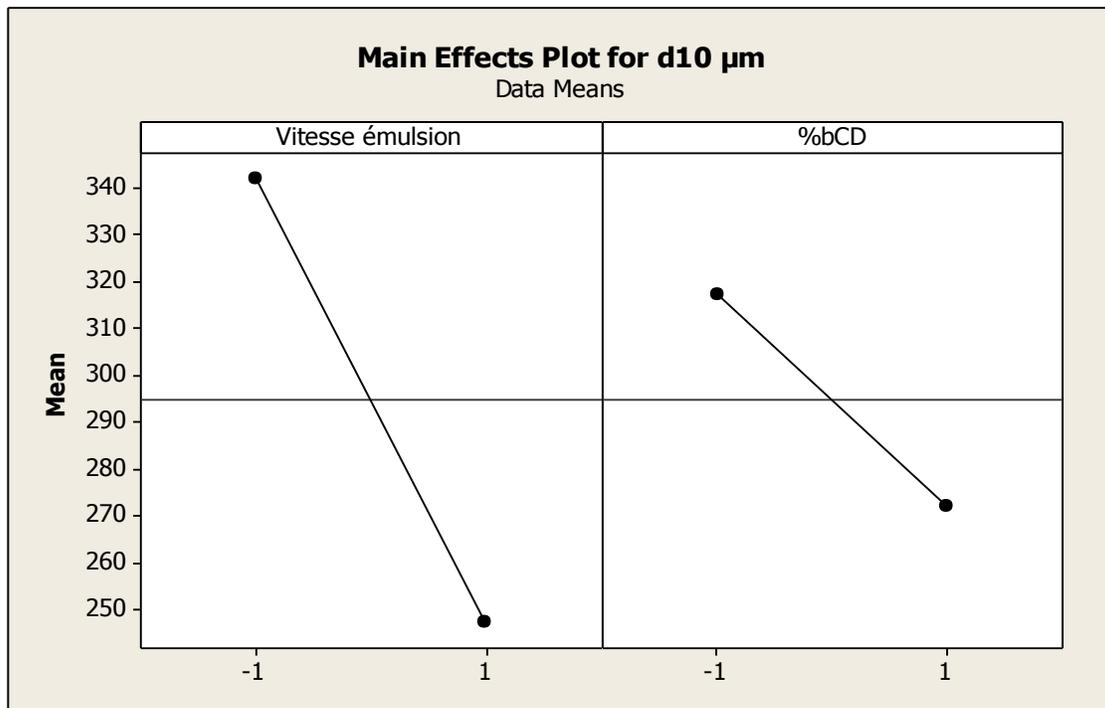
$$K_H = 0,01355 + 0,0069X_1 + 0,00105X_2 - 0,0005X_1X_2 \quad (21)$$

### a. Graphiques des effets principaux

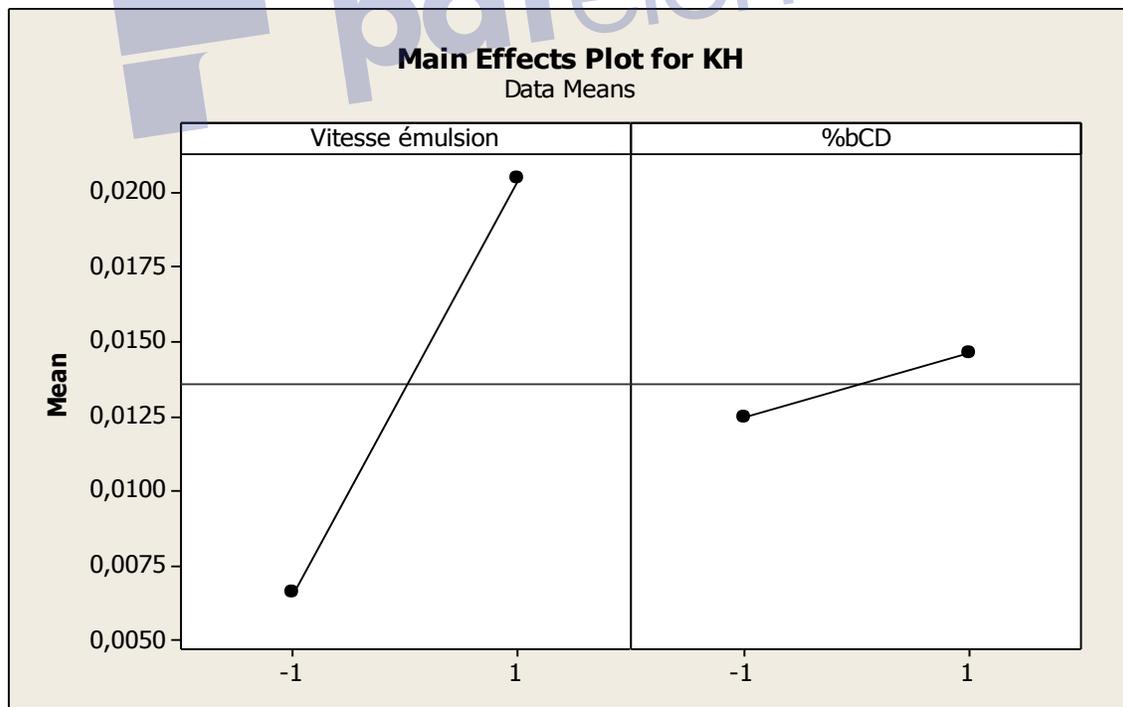
Les figures ci-dessous montrent l'effet important et positif du %  $\beta$ -CD sur la teneur en AN, l'effet important de la vitesse d'émulsion qui est négatif sur la taille des microparticules et positif sur la constante de libération de l'AN.



**Figure II.6.37** : Graphique des effets du %  $\beta$ -CD et la vitesse d'agitation sur la teneur en AN des microsphères (EC/ $\beta$ -CD).



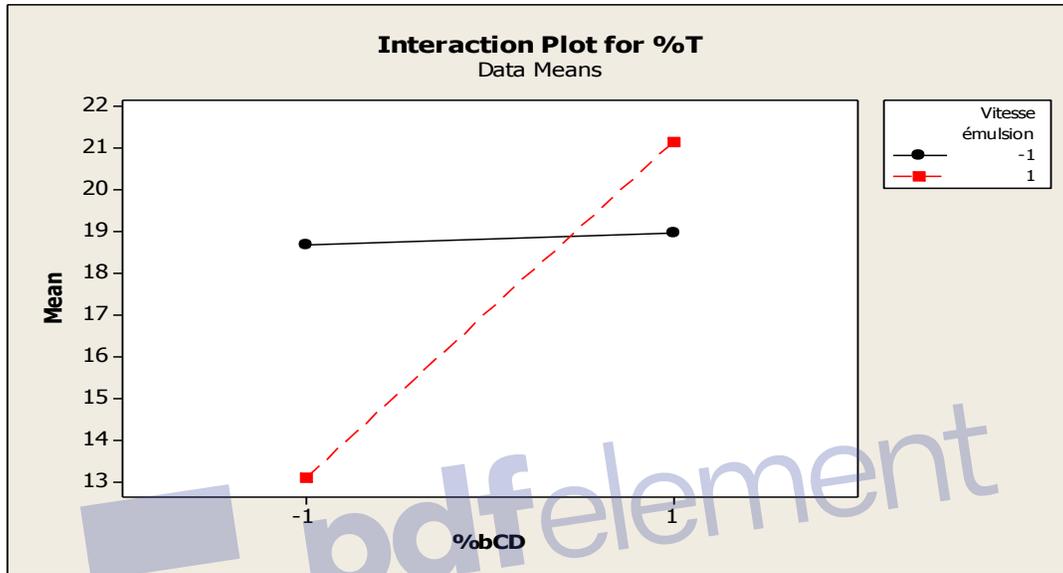
**Figure II.6.38** : Graphique des effets du % β-CD et la vitesse d'agitation sur la taille des microsphères (EC/β-CD).



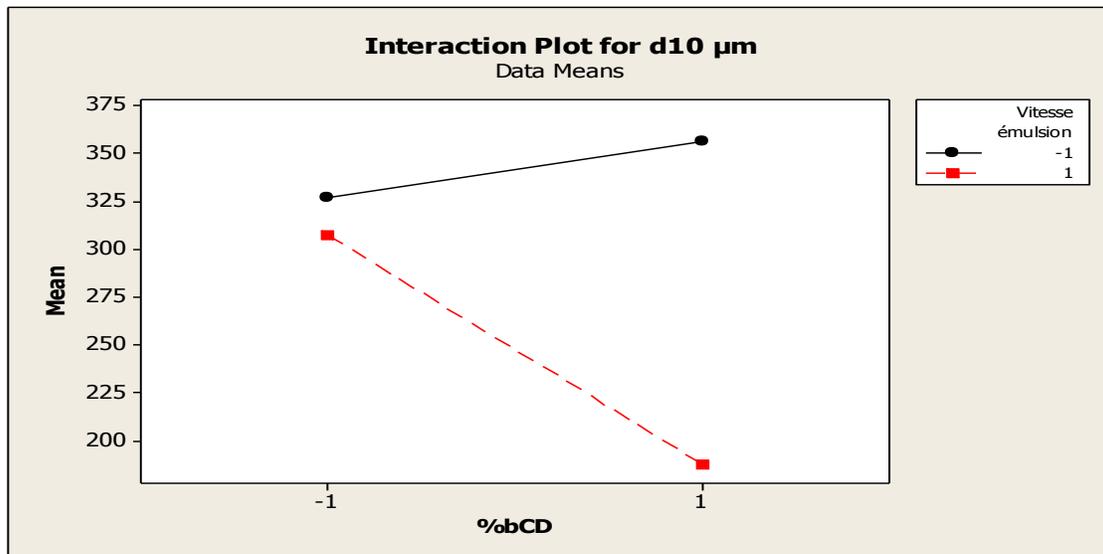
**Figure II.6.39** : Graphique des effets du % β-CD et la vitesse d'agitation sur la constante de libération de l'AN à partir des microsphères (EC/β-CD).

**b. Graphique des interactions des variables**

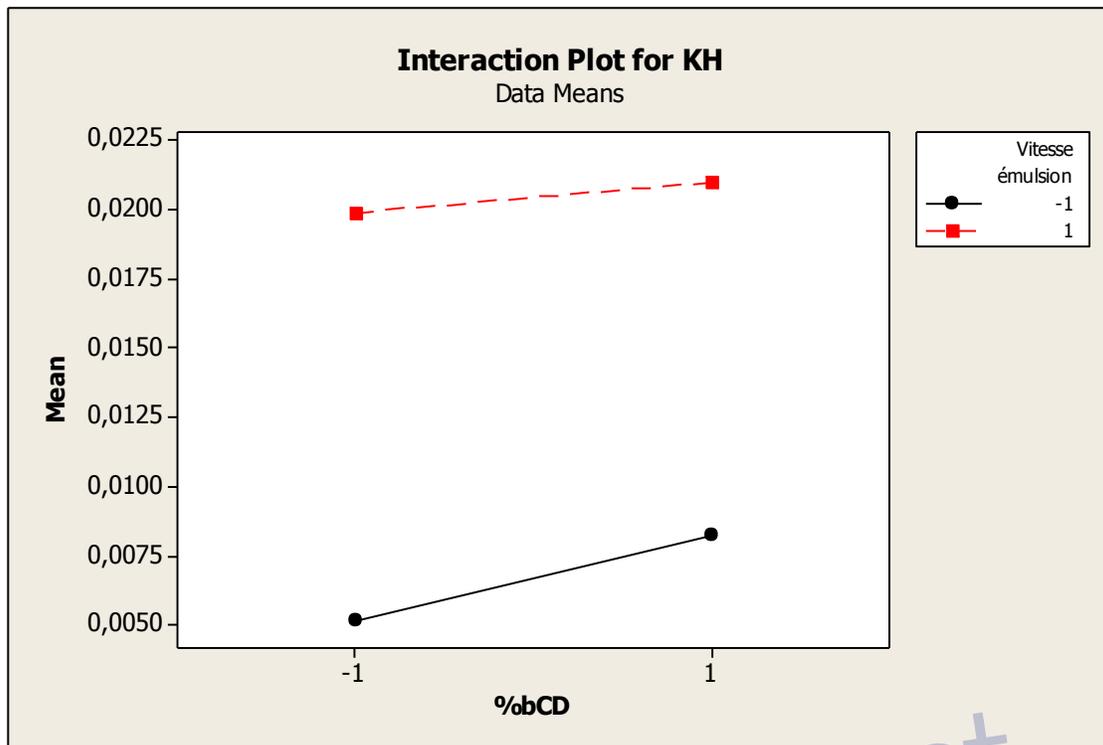
Les figures II.6.40 et II.6.41 montrent une très forte interaction entre les variables sur la teneur en AN et la taille des microparticules; pour ces deux réponses, les facteurs étudiés s'avèrent dépendants. Pour le  $K_H$ , les facteurs paraissent très faiblement dépendants dans le domaine d'étude (Fig. II.6.42).



**Figure II.6.40** : Graphique des effets des interactions entre le %  $\beta$ -CD et la vitesse d'agitation sur la teneur en AN dans les microsphères (EC/  $\beta$ -CD).



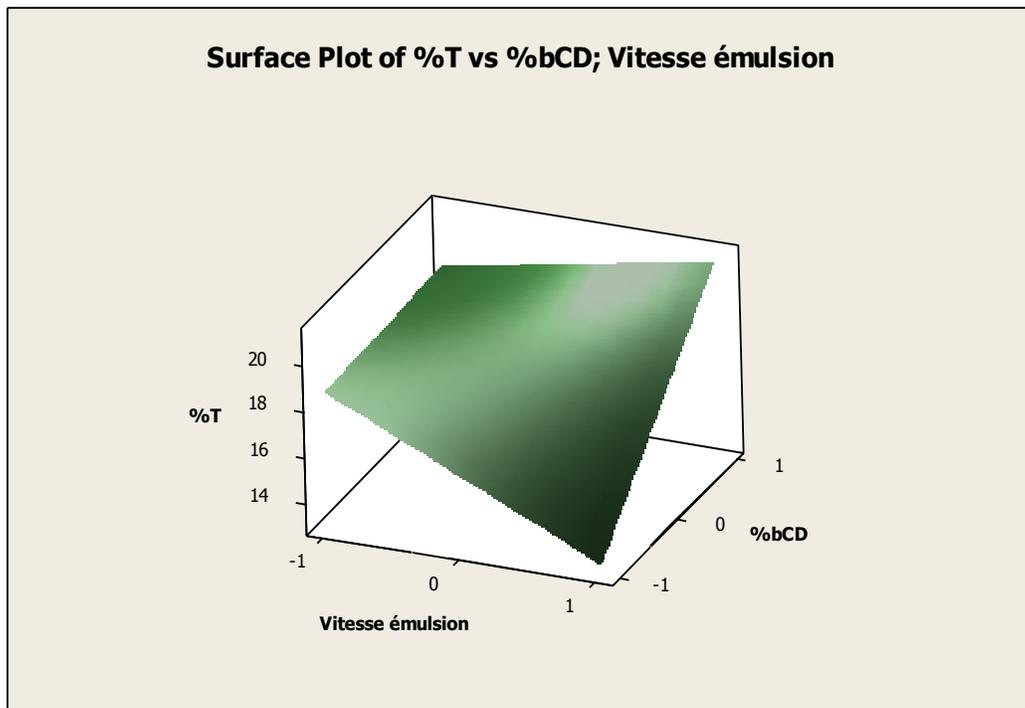
**Figure II.6.41** : Graphique des effets des interactions entre le %  $\beta$ -CD et la vitesse d'agitation sur la taille des microsphères (EC/  $\beta$ -CD)



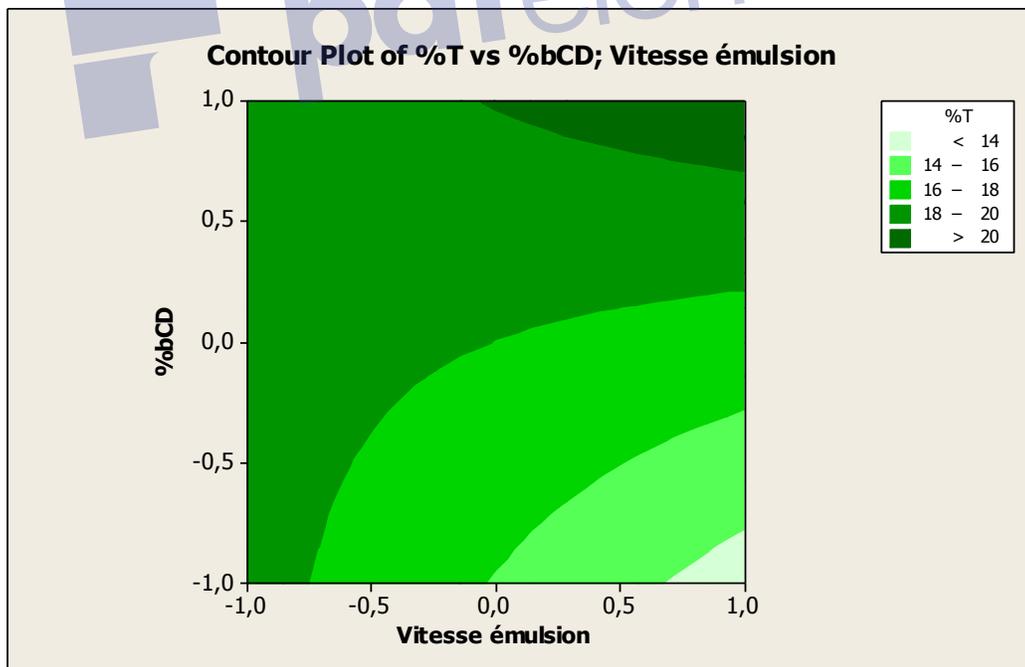
**Figure II.6.42** : Graphique des effets des interactions entre le %  $\beta$ -CD et la vitesse d'agitation sur la constante de libération de l'AN à partir des microsphères (EC/  $\beta$ -CD).

### c. Représentation en surface et en contour des résultats

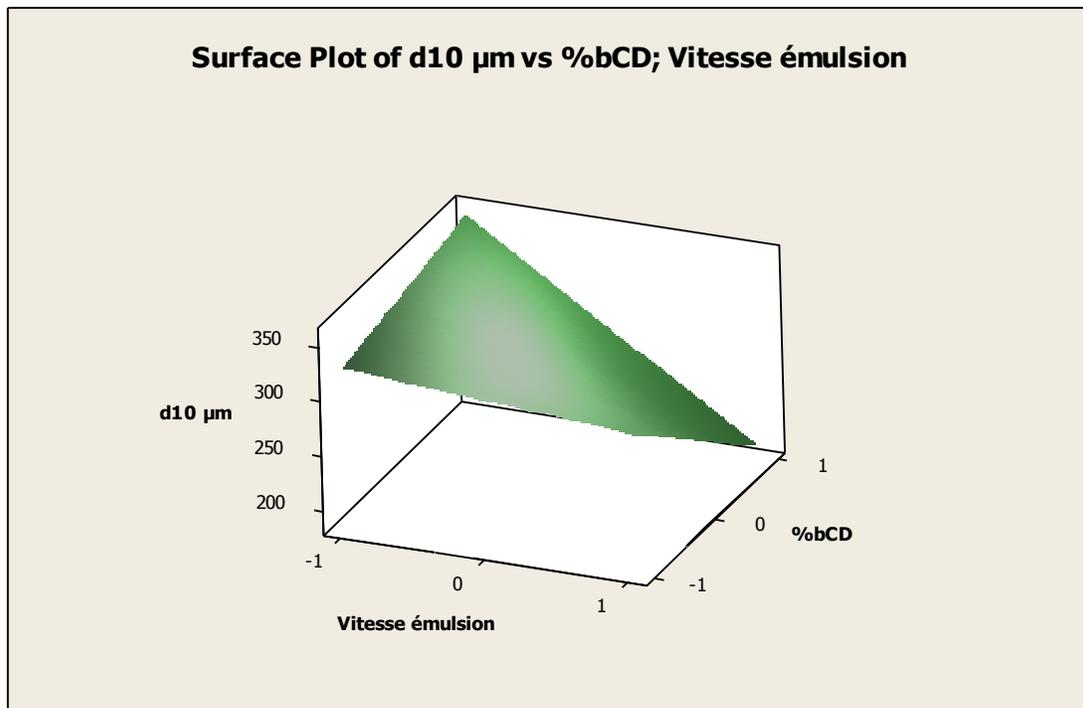
Les représentations en surface ci-dessous confirment les résultats des interactions entre les variables par la distorsion des surfaces pour les réponses %T et  $d_{10}$ . A partir des représentations en contour pour chaque réponse, il est facile de choisir les bonnes conditions et les sélectionner pour aboutir aux formulations EC/ $\beta$ -CD avec les propriétés souhaitées.



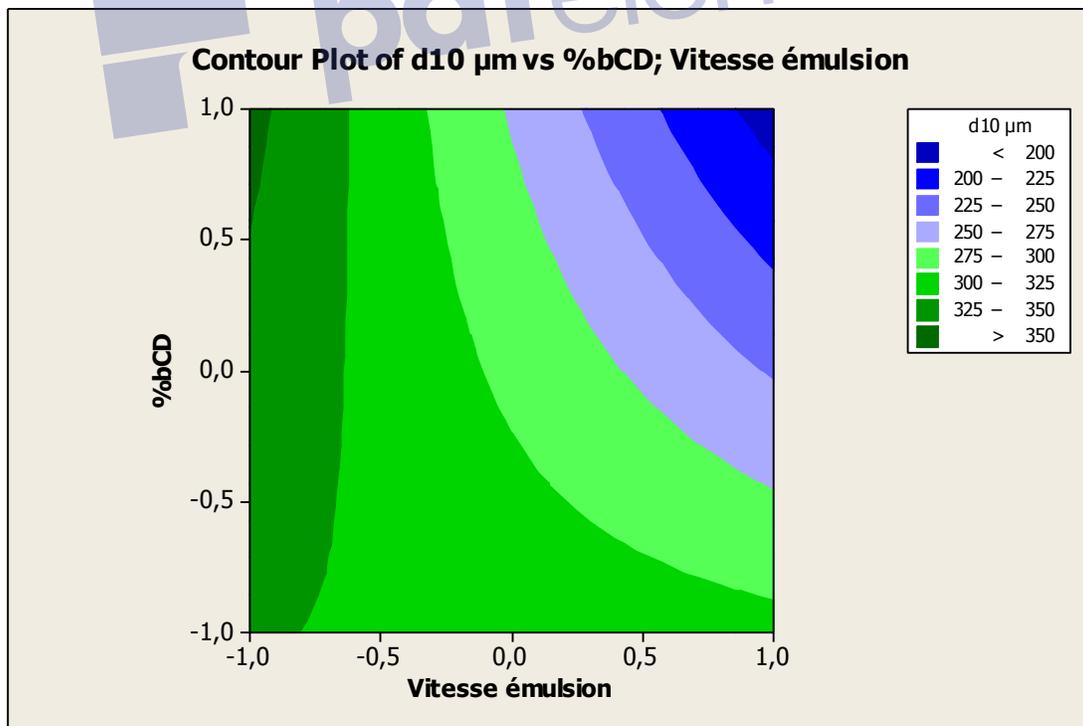
**Figure II.6.43** : Surface de réponse illustrant la teneur en AN en fonction du %  $\beta$ -CD et de la vitesse d'agitation pour les microsphères EC/  $\beta$ -CD.



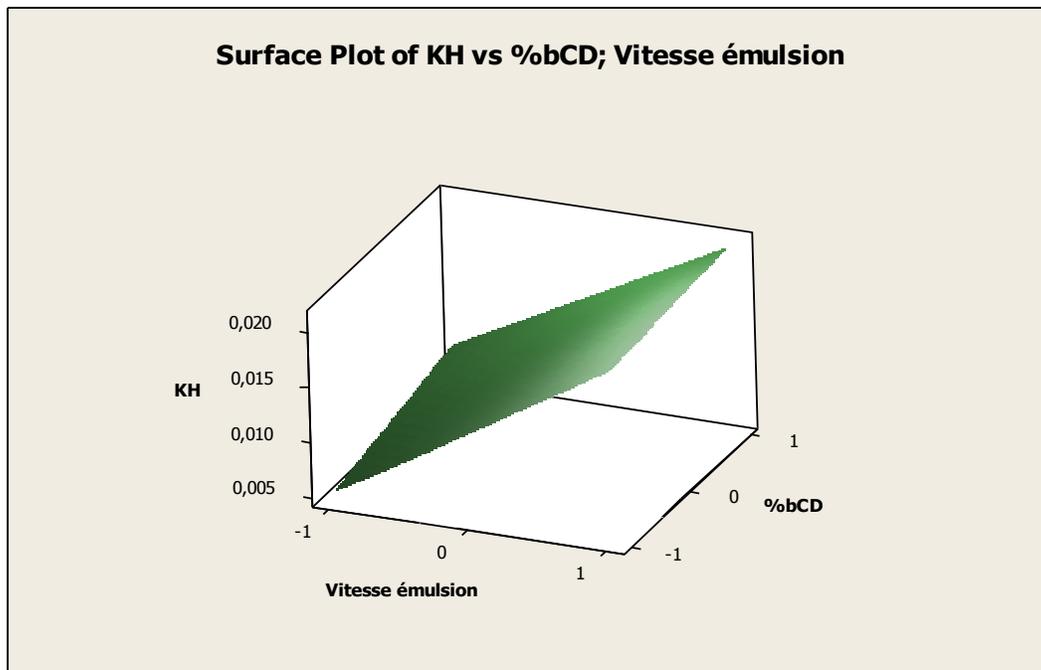
**Figure II.6.44** : Représentation en Contour des effets du %  $\beta$ -CD et la vitesse d'agitation sur la teneur en AN (%T) pour les microsphères EC/  $\beta$ -CD.



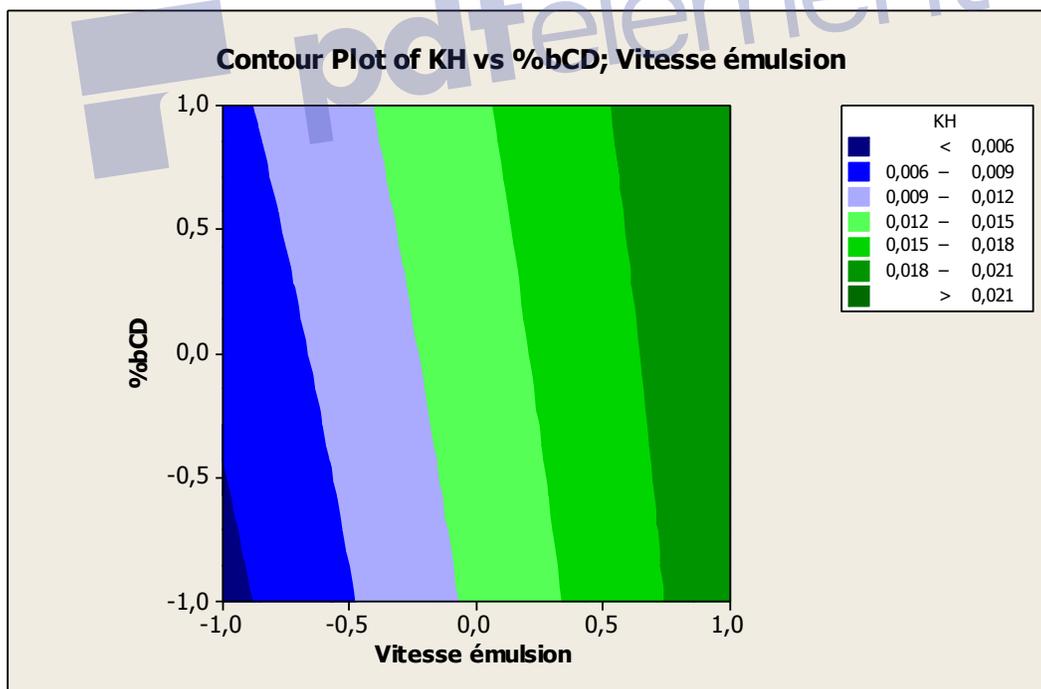
**Figure II.6.45** : Surface de réponse illustrant la taille des microparticules EC/  $\beta$ -CD en fonction du %  $\beta$ -CD et de la vitesse d'agitation.



**Figure II.6.46** : Représentation en contour des effets du %  $\beta$ -CD et la vitesse d'agitation sur la taille des microsphères EC/  $\beta$ -CD.



**Figure II.6.47** : Surface de réponse illustrant la vitesse de libération de l'AN en fonction du % $\beta$ -CD et de la vitesse d'agitation pour les microsphères EC/ $\beta$ -CD.



**Figure II.6.48** : Représentation en contour des effets du %  $\beta$ -CD et la vitesse d'agitation sur la constante de libération de l'AN ( $K_H$ ) à partir des microsphères EC/  $\beta$ -CD

## 5. Conclusion

Dans ce chapitre, la méthode des plans d'expériences a été appliquée pour évaluer et interpréter les effets des paramètres des procédés étudiés. Cette méthode permet de distinguer et de quantifier les effets en réalisant moins d'expériences.

Pour les microsphères d'EC, le %PVA affecte pratiquement toutes les caractéristiques des microparticules, notées réponses (%T,  $d_{10}$  et  $K_H$ ), la vitesse d'émulsion influe surtout sur la taille des microparticules et la vitesse de libération de l'AN. Le rapport EC/AN influe de façon significative simultanément sur la teneur en matière active, la taille des microparticules et la vitesse de libération de l'AN. Par ailleurs, la vitesse d'émulsion agit surtout sur la taille des microsphères et ainsi la constante de libération de l'AN.

S'agissant des microsphères EC/HPMC, l'effet de la variable %HPMC s'avère important sur la teneur en matière active et la taille des microparticules. Le même effet est observé concernant la vitesse de l'émulsion; elle agit significativement sur la taille des microparticules et la vitesse de libération du principe actif ( $K_H$ ).

Enfin, le plan d'expériences des microsphères EC/ $\beta$ -CD montre l'effet positif du %  $\beta$ -CD qui favorise le taux d'encapsulation de l'AN et l'effet négatif de la vitesse d'émulsion sur la taille des microparticules et par conséquent positif sur la vitesse de libération de l'AN.

Les représentations en contour permettent de délimiter les domaines de variation des caractéristiques des microparticules en fonction des variables étudiées et donc facilite et optimise le choix des formulations.

## Références

Belmokhtar, F. Z., Elbahri, Z., & Elbahri, M. (2018). Preparation and Optimization of Agrochemical 2, 4-D Controlled Release Microparticles using Designs of Experiments. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 62(1), 1-19.

Chattopadhyay H., De, A. K., & Datta, S. (2015) Novel Starch-PVA Polymer for Microparticle Preparation and Optimization Using Factorial Design Study. *International Scholarly Research Notices* . 2015, Article ID 261476, 8

Deshmukh, R., & Naik, J. (2014). Study of formulation variables influencing polymeric microparticles by experimental design. *ADMET and DMPK*, 2(1), 63-70.

Gabor, F. (1999). Ketoprofen-poly (D, L-lactic-co-glycolic acid) microspheres: influence of manufacturing parameters and type of polymer on the release characteristics. *Journal of microencapsulation*, 16(1), 1-12.

Grandfils, C., Flandroy, P., Nihant, N., Barbette, S., Jérôme, R., Teyssié, P., & Thibaut, A. (1992). Preparation of poly (D, L) lactide microspheres by emulsion-solvent evaporation, and their clinical applications as a convenient embolic material. *Journal of biomedical materials research*, 26(4), 467-479.

Keihanfar, J. V. M. (2001). Development and evaluation of sustained-release propranolol wax microspheres. *Journal of microencapsulation*, 18(3), 277-284.

Le Corre, P., Le Guevello, P., Gajan, V., Chevanne, F., & Le Verge, R. (1994). Preparation and characterization of bupivacaine-loaded polylactide and polylactide-co-glycolide microspheres. *International journal of pharmaceutics*, 107(1), 41-49.

Mateovic, T., Kriznar, B., Bogataj, M., & Mrhar, A. (2002). The influence of stirring rate on biopharmaceutical properties of Eudragit RS microspheres. *Journal of microencapsulation*, 19(1), 29-36.

Nalawade, P. B., & Gajjar, A. K. (2016). Microencapsulation of lutein extracted from marigold flowers (*Tagetes erecta* L.) using full factorial design. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 33, 75-87.

Patel, J. K., & Patel, M. M. (2007). Stomach specific anti-helicobacter pylori therapy: preparation and evaluation of amoxicillin-loaded chitosan mucoadhesive microspheres. *Current drug delivery*, 4(1), 41-50.

Sarisözen, C., Arıca, B., Orman, M. N., Hıncal, A. A., & Çalış, S. (2010). Optimization of prednisolone acetate-loaded chitosan microspheres using a 23 factorial design for preventing restenosis. *Drug delivery*, 17(3), 178-186.

Zhang, A. Y., & Fan, T. Y. (2009). Optimization of riboflavin sodium phosphate loading to calcium alginate floating microspheres by response surface methodology. *Beijing da xue xue bao. Yi xue ban= Journal of Peking University. Health sciences*, 41(6), 682-686.



# Conclusion générale

## Conclusion générale

Dans la présente thèse, des microsphères de d'éthylcellulose et de chitosane chargées d'acide niflumique comme médicament modèle, ont été préparées selon la technique d'évaporation de solvant en émulsion simple et la méthode de séchage par pulvérisation. Les résultats montrent que les propriétés physico-chimiques des microsphères élaborées ont été énormément influencées par les paramètres adoptées : nature et concentration du polymère, vitesse d'émulsion, concentration de l'agent émulsifiant, rapport polymère/principe actif et procédé de l'encapsulation lui-même.

La technique de séchage par pulvérisation est très attrayante à la fois en laboratoire et à l'échelle industrielle car elle est rapide, continue, reproductible et en une étape. Un autre avantage remarquable du séchage par atomisation est la possibilité de sécher un large éventail de composés, y compris des substances sensibles à la chaleur, sans effets de dégradation majeurs. Le séchage par pulvérisation a moins de risques d'erreurs manuelles que la méthode d'évaporation de solvant en émulsion simple. Alors que dans l'émulsion simple, la durée de préparation des microsphères est lente de 2-3h.

Du point de vue de l'efficacité de microencapsulation des deux méthodes, on ne peut pas faire une comparaison, car nous n'avions pas utilisé le même polymère. Mais chacune d'elles montre des avantages et des inconvénients. En plus chaque méthode présente ses paramètres de préparation des microsphères. Dans l'émulsion/évaporation de solvant, l'effet de la vitesse d'agitation, la concentration de l'agent stabilisant (PVA), la concentration de l'HPMC et la  $\beta$ CD, et le rapport polymère/AN sur les caractéristiques physico-chimiques des microsphères ont été étudiés. Dans la méthode de séchage par pulvérisation, l'effet de la concentration de l'agent réticulant et le pH de ce dernier ont été investigués.

En revanche, on peut discuter les résultats généraux des deux méthodes.

Généralement, le rendement du procédé dans la méthode de séchage par atomisation est plus élevé, comparativement à l'évaporation de solvant. Cela peut être dû au fait que la technique de séchage par pulvérisation permet une évaporation complète du solvant à une température élevée, ce qui n'est pas le cas dans la méthode l'émulsion/évaporation de solvant.

Dans cette étude, le procédé de séchage par pulvérisation donne des résultats similaires aux rendements d'encapsulation des microsphères par évaporation de solvant. Le rendement d'encapsulation est de ~80% pour les microsphères d'EC, ~70% dans les microsphères de chitosane et de 60-80% pour les microsphères EC/HPMC.

En terme de teneur en principe actif, différents résultats ont été obtenus à partir des différentes microsphères élaborées. Une teneur de 99% d'AN a été atteinte dans la majorité des microsphères préparées à base de chitosane à l'aide de la technique de séchage par atomisation. Pour les microsphères d'EC des teneurs en AN atteignent 36.33% (F8, 1700rpm, 0.25% PVA) et 45% (lot 12, 800 rpm, 30% HPMC) et pour celles à base d'EC/HPMC préparées par émulsion/évaporation de solvant. Cela peut être dû au fait que, dans la méthode de pulvérisation, l'évaporation complète du solvant a lieu à température élevée (160°C) alors que dans l'émulsion l'évaporation de solvant se fait par agitation lente qui favorise les pertes de l'AN dans la phase aqueuse.

D'après les résultats obtenus par MEB des microsphères de l'AN, il a été constaté que les microsphères obtenues par séchage par pulvérisation n'avaient pas de structure poreuse et qu'elles avaient des déformations sur la surface, en plus la sphéricité diminue et dans certains cas les microsphères sont déformées à cause de l'utilisation des concentrations élevées de STPP comme agent réticulant. Alors que, par émulsion/évaporation de solvant, on obtient des microsphères poreuses et sphériques. Dans la méthode de séchage par pulvérisation, il n'y a pas de diffusion de solvant organique qui entraîne la formation de pores. Dans ce procédé, la solidification se produit simplement par évaporation du solvant à température élevée. La formation des pores est avantageuse car, comme ces pores sont très petits, le médicament est en fait réduit à des particules microscopiques et l'augmentation significative de la surface spécifique augmente donc considérablement la vitesse de solubilisation des médicaments hydrophobes.

La taille moyenne des microsphères préparées par les deux les méthodes a été obtenue dans la gamme de 200-8000µm. Dans le cas de séchage par atomisation la taille des particules était supérieure à celle obtenues par émulsion/évaporation ce qui peut être expliqué par le gonflement du chitosane provoqué par l'environnement du liquide. Quelques échantillons ont montré une distribution bimodale avec un deuxième pic par la méthode de (DLS) et ce résultat n'a pas été détecté par la microscopie électronique à balayage (MEB), il indique la présence des agrégations des microparticules en solution. En plus, les diamètres moyens des polymères réticulés comme le chitosane augmentent par l'utilisation des agents réticulant comme le STPP, ce qui augmente la viscosité et résulte en des microsphères avec une paroi épaisse qui une fois introduites dans la solution se gonflent et donnent des diamètres larges. Dans la méthode d'émulsion/évaporation de solvant, les microsphères d'EC préparées avec l'agent stabilisant (PVA), nos résultats montrent que l'augmentation de la concentration de

PVA assure la stabilisation du système contre la coalescence de l'émulsion ce qui mène ensuite à la formation des petites microsphères.

Pour la détermination de la cristallinité, une comparaison des pics caractéristiques de l'AN dans les microsphères avec les diffractogrammes des produits purs a été faite. Les formulations finales des microsphères préparées ont montré des pics dont les angles de diffraction sont ceux de l'AN mais avec une plus faible intensité, indiquant que la cristallinité de l'AN n'a pas été complètement perdue après l'encapsulation par les deux processus.

Aucune différence significative dans la libération du médicament in vitro n'a été observée dans les différentes microsphères préparées par les deux méthodes. La méthode d'émulsion simple donne de meilleures cinétiques de libération prolongées que la technique de séchage par pulvérisation, mais elle ne peut être utilisée que pour les préparations à petite échelle, tandis que la technique de séchage par pulvérisation peut être utilisée pour les préparations à grande échelle. L'ajout de la pepsine et de la pancréatine dans le milieu gastro-intestinal de libération des microsphères de chitosane a bien montré les effets digestifs de ces deux enzymes à l'égard du chitosane, ce qui a été démontré par des taux de libération plus élevés dépassant les 90%

D'après les résultats de la modélisation mathématique, des cinétiques de libération de l'AN pour les modèles d'Higuchi, Korsmeyer-Peppas et Crowell-Hixon, il a été démontré que le mécanisme de libération du principe actif est gouverné par la diffusion dans la majorité des microsphères.

Enfin, la méthodologie des plans d'expériences en utilisant le logiciel Minitab 16.1, a été utilisée dans la but de savoir quel est le paramètre qui influe fortement sur les caractéristiques des microsphères résultantes et les interactions entre les variables de ces paramètres et leurs interactions comme la vitesse d'agitation, la concentration de PVA, la composition du polymère sur la taille des microparticules, la teneur en matière active et la vitesse de libération de l'AN.



# Annexes

paternment

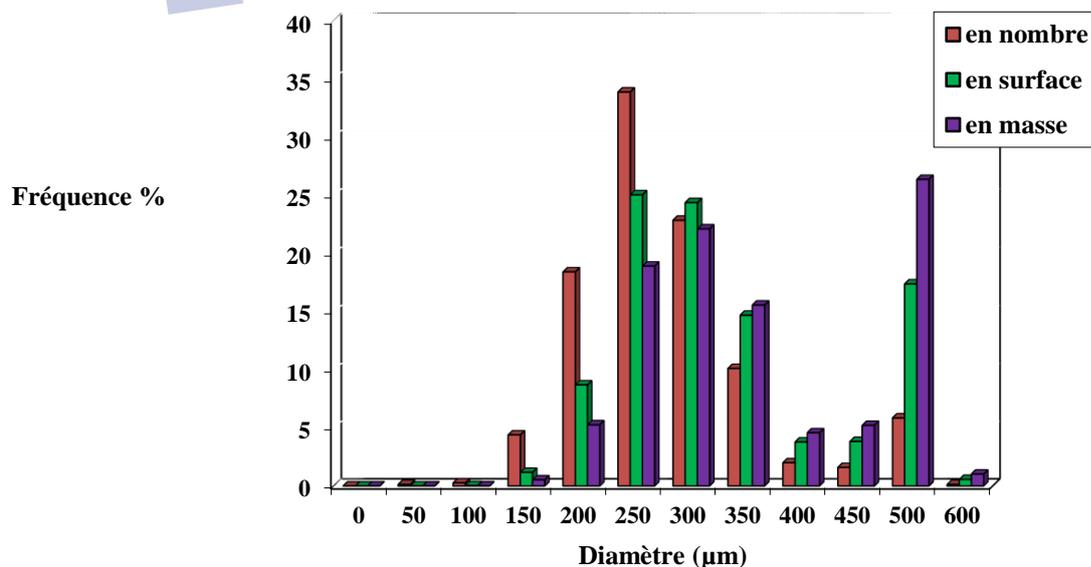
## 1. Taille et distribution en taille des microparticules EC/AN

**Tableau 1 : Résultats granulométriques 'F2'**

classe i	centre de classe $d_i$ (mm)	effectif $n_i$	$n_i*d_i$	fréquence en nombre %	$n_i*d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i*d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	1	50	0,13	2500	0,00	125000	0,00	6250000
2	100,0	2	200	0,27	20000	0,03	2000000	0,01	200000000
3	150,0	33	4950	4,42	742500	1,18	111375000	0,54	16706250000
4	200,0	138	27600	18,50	5520000	8,76	1104000000	5,30	220800000000
5	250,0	253	63250	33,91	15812500	25,10	3953125000	18,99	988281250000
6	300,0	171	51300	22,92	15390000	24,43	4617000000	22,18	1385100000000
7	350,0	76	26600	10,19	9310000	14,78	3258500000	15,65	1140475000000
8	400,0	15	6000	2,01	2400000	3,81	960000000	4,61	384000000000
9	450,0	12	5400	1,61	2430000	3,86	1093500000	5,25	492075000000
10	500,0	44	22000	5,90	11000000	17,46	5500000000	26,42	2750000000000
11	600,0	1	600	0,13	360000	0,57	216000000	1,04	129600000000
somme		<b>746</b>	<b>207950</b>	<b>100,00</b>	<b>62987500</b>	<b>100,00</b>	<b>20815625000</b>	<b>100,00</b>	<b>7507243750000</b>

**Diamètre moyen F2 ( $\mu\text{m}$ ) :**

$d_{10}$	278,8	Dispersion <b>1,29</b>
$(d_{20})^{1/2}$	290,6	
$(d_{30})^{1/3}$	303,3	
$d_{21}$	302,9	
$d_{32}$	330,5	
$d_{43}$	360,7	



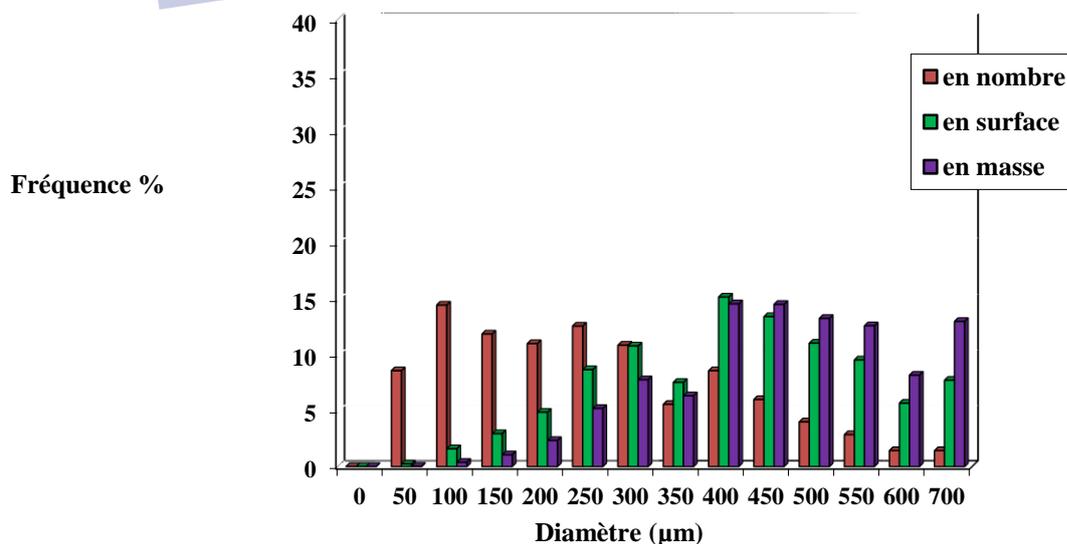
**Figure 1 : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F2)**

**Tableau 2 : Résultats granulométriques 'F3'**

classe i	centre de classe $d_i$ (mm)	effectif $n_i$	$n_i*d_i$	fréquence en nombre %	$n_i*d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i*d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	60	3000	8,65	150000	0,24	7500000	0,03	375000000
2	100,0	101	10100	14,55	1010000	1,61	101000000	0,39	10100000000
3	150,0	83	12450	11,96	1867500	2,97	280125000	1,07	42018750000
4	200,0	77	15400	11,10	3080000	4,90	616000000	2,35	123200000000
5	250,0	88	22000	12,68	5500000	8,75	1375000000	5,25	343750000000
6	300,0	76	22800	10,95	6840000	10,88	2052000000	7,84	615600000000
7	350,0	39	13650	5,62	4777500	7,60	1672125000	6,38	585243750000
8	400,0	60	24000	8,65	9600000	15,27	3840000000	14,66	1536000000000
9	450,0	42	18900	6,05	8505000	13,53	3827250000	14,61	1722262500000
10	500,0	28	14000	4,03	7000000	11,13	3500000000	13,36	1750000000000
11	550,0	20	11000	2,88	6050000	9,62	3327500000	12,71	1830125000000
12	600,0	10	6000	1,44	3600000	5,73	2160000000	8,25	1296000000000
13	700,0	10	7000	1,44	4900000	7,79	3430000000	13,10	2401000000000
somme		<b>694</b>	<b>180300</b>	<b>100,00</b>	<b>62880000</b>	<b>100,00</b>	<b>26188500000</b>	<b>100,00</b>	<b>12255675000000</b>

**Diamètre moyen F3 ( $\mu\text{m}$ ) :**

$d_{10}$	259,8	Dispersion  <b>1.80</b>
$(d_{20})^{1/2}$	301,0	
$(d_{30})^{1/3}$	335,4	
$d_{21}$	348,8	
$d_{32}$	416,5	
$d_{43}$	468,0	

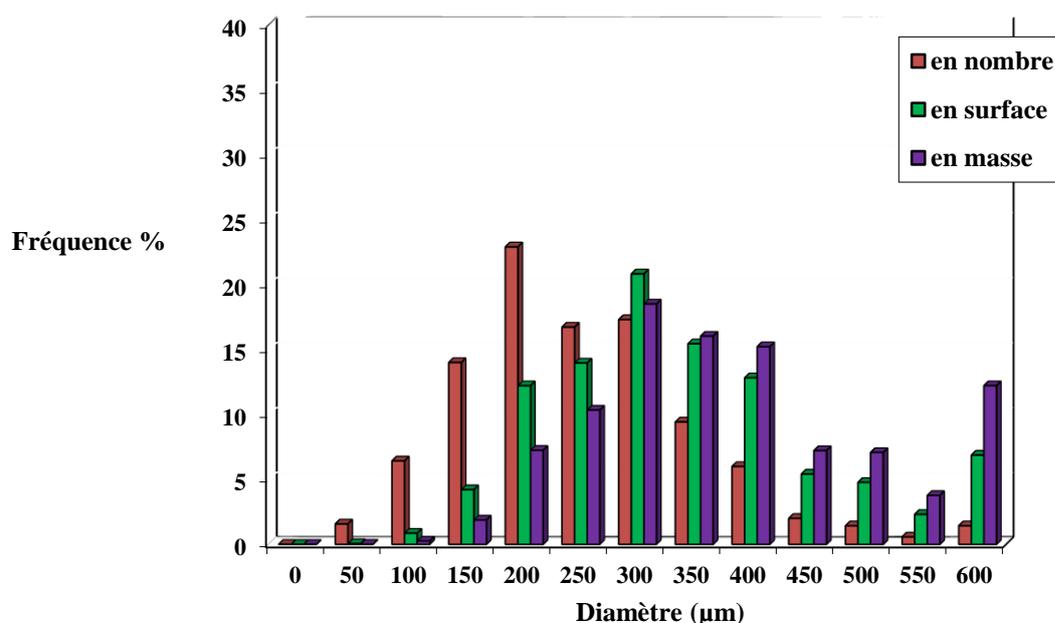
**Figure 2 : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F3)**

**Tableau 3 : Résultats granulométrique 'F4'**

classe I	centre de classe $d_i$ ( $\mu\text{m}$ )	effectif $n_i$	$n_i*d_i$	fréquence en nombre %	$n_i*d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i*d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	11	550	1,58	27500	0,05	1375000	0,01	68750000
2	100,0	45	4500	6,45	450000	0,86	45000000	0,26	4500000000
3	150,0	98	14700	14,04	2205000	4,22	330750000	1,88	49612500000
4	200,0	160	32000	22,92	6400000	12,25	1280000000	7,26	256000000000
5	250,0	117	29250	16,76	7312500	14,00	1828125000	10,37	457031250000
6	300,0	121	36300	17,34	10890000	20,85	3267000000	18,54	980100000000
7	350,0	66	23100	9,46	8085000	15,48	2829750000	16,06	990412500000
8	400,0	42	16800	6,02	6720000	12,86	2688000000	15,25	1075200000000
9	450,0	14	6300	2,01	2835000	5,43	1275750000	7,24	574087500000
10	500,0	10	5000	1,43	2500000	4,79	1250000000	7,09	625000000000
11	550,0	4	2200	0,57	1210000	2,32	665500000	3,78	366025000000
12	600,0	10	6000	1,43	3600000	6,89	2160000000	12,26	1296000000000
somme		698	176700	100,00	52235000	100,00	17621250000	100,00	6674037500000

**Diamètre moyen de F4 ( $\mu\text{m}$ ) :**

$d_{10}$	253,2	Dispersion 1.50
$(d_{20})^{1/2}$	273,6	
$(d_{30})^{1/3}$	293,4	
$d_{21}$	295,6	
$d_{32}$	337,3	
$d_{43}$	378,7	

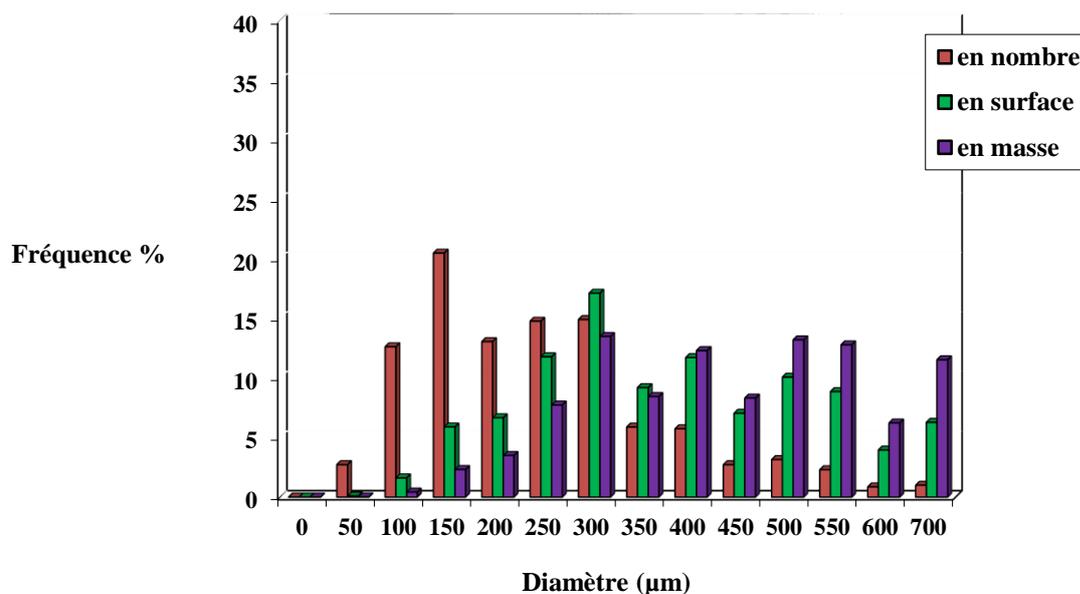
**Figure 3 : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F4)**

**Tableau 4 : Résultats granulométriques 'F5'**

classe i	centre de classe $d_i$ (mm)	effectif $n_i$	$n_i*d_i$	fréquence en nombre %	$n_i*d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i*d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	19	950	2,72	47500	0,09	2375000	0,01	118750000
2	100,0	88	8800	12,59	880000	1,61	88000000	0,42	8800000000
3	150,0	143	21450	20,46	3217500	5,87	482625000	2,31	72393750000
4	200,0	91	18200	13,02	3640000	6,64	728000000	3,49	145600000000
5	250,0	103	25750	14,74	6437500	11,75	1609375000	7,71	402343750000
6	300,0	104	31200	14,88	9360000	17,09	2808000000	13,45	842400000000
7	350,0	41	14350	5,87	5022500	9,17	1757875000	8,42	615256250000
8	400,0	40	16000	5,72	6400000	11,68	2560000000	12,26	1024000000000
9	450,0	19	8550	2,72	3847500	7,02	1731375000	8,29	779118750000
10	500,0	22	11000	3,15	5500000	10,04	2750000000	13,17	1375000000000
11	550,0	16	8800	2,29	4840000	8,83	2662000000	12,75	1464100000000
12	600,0	6	3600	0,86	2160000	3,94	1296000000	6,21	777600000000
13	700,0	7	4900	1,00	3430000	6,26	2401000000	11,50	1680700000000
somme		<b>699</b>	<b>173550</b>	<b>100,00</b>	<b>54782500</b>	<b>100,00</b>	<b>20876625000</b>	<b>100,00</b>	<b>9187431250000</b>

**Diamètre moyen F5 ( $\mu\text{m}$ ) :**

$d_{10}$	248,3	Dispersion  <b>1.77</b>
$(d_{20})^{1/2}$	280,0	
$(d_{30})^{1/3}$	310,3	
$d_{21}$	315,7	
$d_{32}$	381,1	
$d_{43}$	440,1	

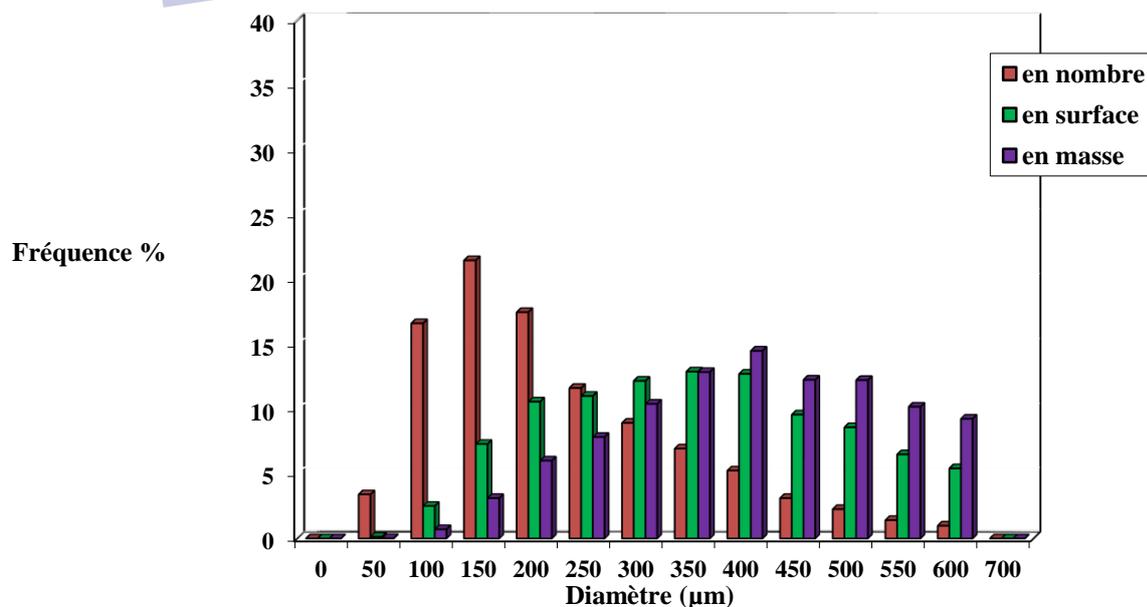
**Figure 4:** Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F5)

**Tableau 5 : Résultats granulométriques 'F6'**

classe i	centre de classe $d_i$ (mm)	effectif $n_i$	$n_i*d_i$	fréquence en nombre %	$n_i*d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i*d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	24	1200	3,42	60000	0,13	3000000	0,02	150000000
2	100,0	117	11700	16,69	1170000	2,53	117000000	0,72	11700000000
3	150,0	151	22650	21,54	3397500	7,34	509625000	3,14	76443750000
4	200,0	123	24600	17,55	4920000	10,63	984000000	6,06	196800000000
5	250,0	82	20500	11,70	5125000	11,08	1281250000	7,89	320312500000
6	300,0	63	18900	8,99	5670000	12,26	1701000000	10,47	510300000000
7	350,0	49	17150	6,99	6002500	12,97	2100875000	12,93	735306250000
8	400,0	37	14800	5,28	5920000	12,80	2368000000	14,58	947200000000
9	450,0	22	9900	3,14	4455000	9,63	2004750000	12,34	902137500000
10	500,0	16	8000	2,28	4000000	8,65	2000000000	12,31	1000000000000
11	550,0	10	5500	1,43	3025000	6,54	1663750000	10,24	915062500000
12	600,0	7	4200	1,00	2520000	5,45	1512000000	9,31	907200000000
13	700,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
somme		<b>701</b>	<b>159100</b>	<b>100,00</b>	<b>46265000</b>	<b>100,00</b>	<b>16245250000</b>	<b>100,00</b>	<b>6522612500000</b>

**Diamètre moyen F6 ( $\mu\text{m}$ ) :**

$d_{10}$	227,0	Dispersion  <b>1.77</b>
$(d_{20})^{1/2}$	256,9	
$(d_{30})^{1/3}$	285,1	
$d_{21}$	290,8	
$d_{32}$	351,1	
$d_{43}$	401,5	

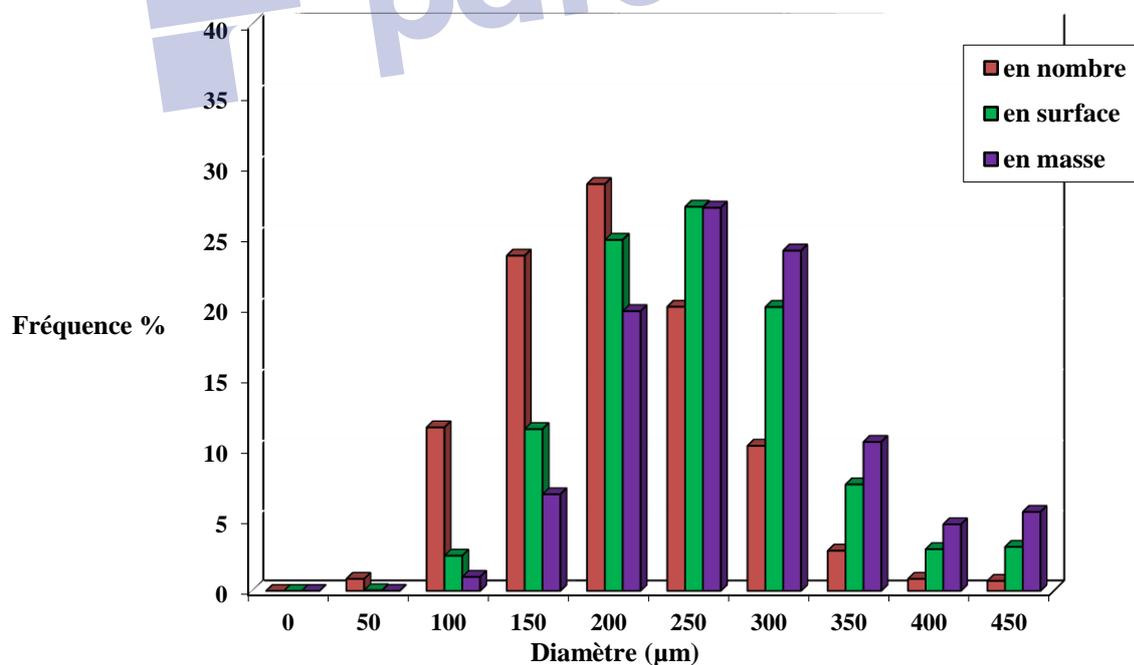
**Figure 5 : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F6)**

**Tableau 6 : Résultats granulométriques 'F7'**

classe i	centre de classe $d_i$ (mm)	effectif $n_i$	$n_i * d_i$	fréquence en nombre %	$n_i * d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i * d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i * d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	6	300	0,86	15000	0,05	750000	0,01	37500000
2	100,0	81	8100	11,65	810000	2,52	81000000	1,00	8100000000
3	150,0	165	24750	23,74	3712500	11,53	556875000	6,90	83531250000
4	200,0	200	40000	28,78	8000000	24,85	1600000000	19,83	320000000000
5	250,0	140	35000	20,14	8750000	27,18	2187500000	27,12	546875000000
6	300,0	72	21600	10,36	6480000	20,13	1944000000	24,10	583200000000
7	350,0	20	7000	2,88	2450000	7,61	857500000	10,63	300125000000
8	400,0	6	2400	0,86	960000	2,98	384000000	4,76	153600000000
9	450,0	5	2250	0,72	1012500	3,15	455625000	5,65	205031250000
somme		695	141400	100,00	32190000	100,00	8067250000	100,00	2200500000000

**Diamètre moyen de F7 ( $\mu\text{m}$ ) :**

$d_{10}$	203,5	Dispersion  <b>1.34</b>
$(d_{20})^{1/2}$	215,2	
$(d_{30})^{1/3}$	226,4	
$d_{21}$	227,7	
$d_{32}$	250,6	
$d_{43}$	272,8	

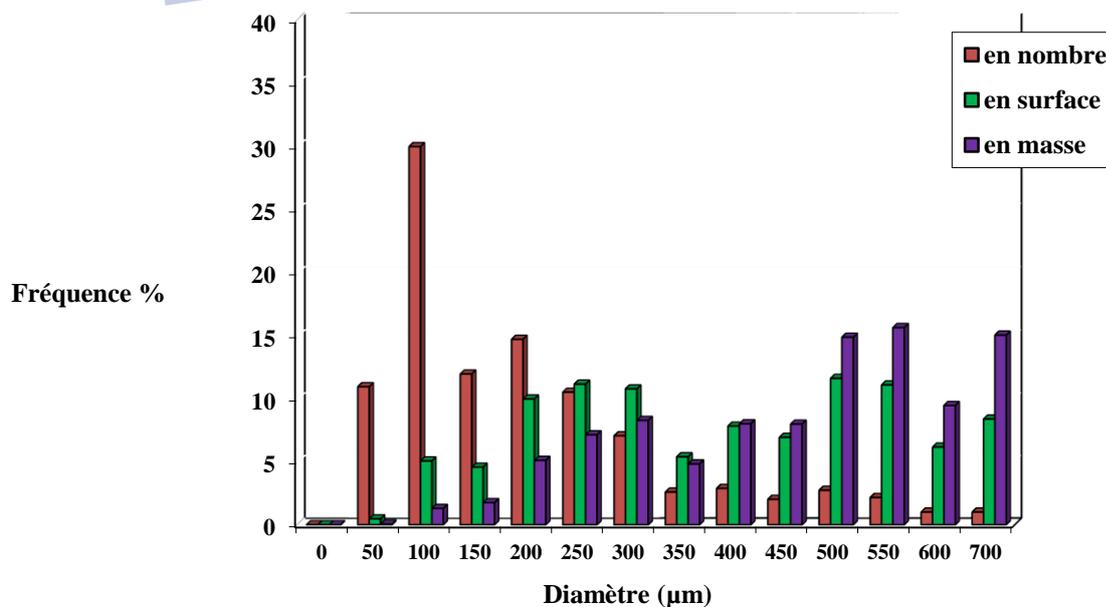
**Figure 6 : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F7)**

**Tableau 7 : Résultats granulométriques 'F8'**

classe i	centre de classe $d_i$ (mm)	effectif $n_i$	$n_i*d_i$	fréquence en nombre %	$n_i*d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i*d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	76	3800	11,01	190000	0,47	9500000	0,06	475000000
2	100,0	207	20700	30,00	2070000	5,09	207000000	1,30	20700000000
3	150,0	83	12450	12,03	1867500	4,59	280125000	1,76	42018750000
4	200,0	102	20400	14,78	4080000	10,04	816000000	5,14	163200000000
5	250,0	73	18250	10,58	4562500	11,22	1140625000	7,18	285156250000
6	300,0	49	14700	7,10	4410000	10,85	1323000000	8,33	396900000000
7	350,0	18	6300	2,61	2205000	5,42	771750000	4,86	270112500000
8	400,0	20	8000	2,90	3200000	7,87	1280000000	8,06	512000000000
9	450,0	14	6300	2,03	2835000	6,97	1275750000	8,03	574087500000
10	500,0	19	9500	2,75	4750000	11,68	2375000000	14,95	1187500000000
11	550,0	15	8250	2,17	4537500	11,16	2495625000	15,71	1372593750000
12	600,0	7	4200	1,01	2520000	6,20	1512000000	9,52	907200000000
13	700,0	7	4900	1,01	3430000	8,44	2401000000	15,11	1680700000000
somme		690	137750	100,00	40657500	100,00	15887375000	100,00	7412643750000

**Diamètre moyen F8 ( $\mu\text{m}$ ) :**

$d_{10}$	199,6	Dispersion  <b>2.34</b>
$(d_{20})^{1/2}$	242,7	
$(d_{30})^{1/3}$	284,5	
$d_{21}$	295,2	
$d_{32}$	390,8	
$d_{43}$	466,6	

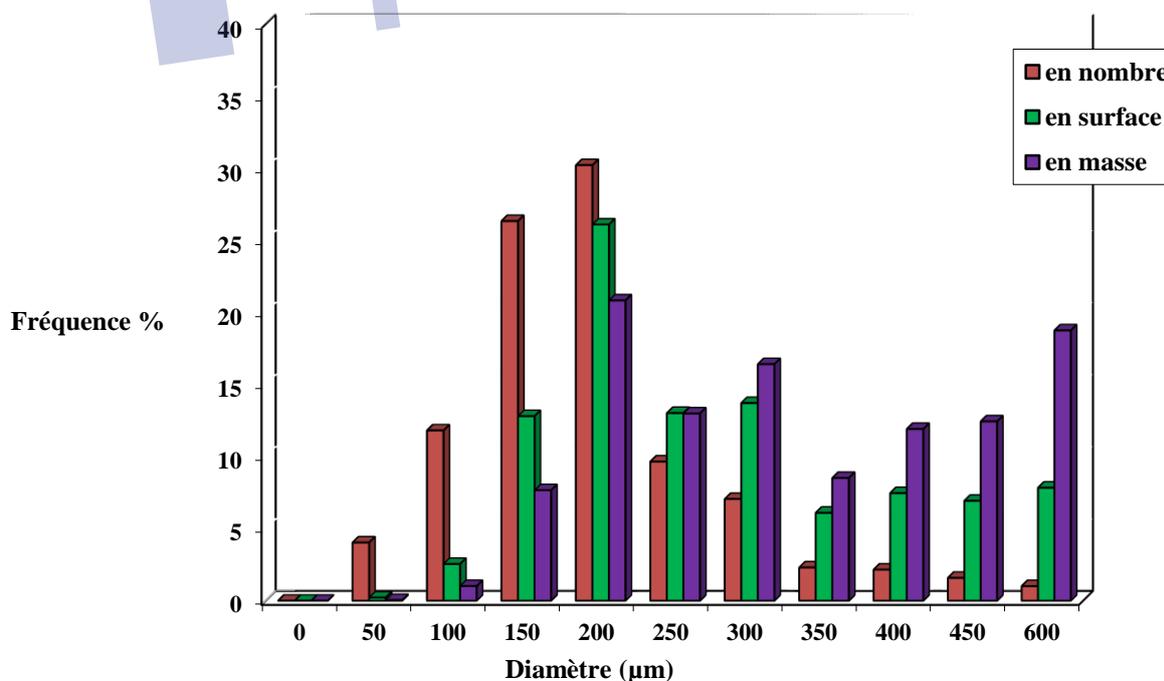
**Figure 7 : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F8)**

**Tableau 8 : Résultats granulométriques 'F9'**

Classe i	centre de classe $d_i$ (mm)	effectif $n_i$	$n_i*d_i$	fréquence en nombre %	$n_i*d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i*d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	28	1400	4,03	70000	0,22	3500000	0,04	175000000
2	100,0	82	8200	11,80	820000	2,55	82000000	1,02	8200000000
3	150,0	183	27450	26,33	4117500	12,79	617625000	7,66	92643750000
4	200,0	210	42000	30,22	8400000	26,10	1680000000	20,82	336000000000
5	250,0	67	16750	9,64	4187500	13,01	1046875000	12,98	261718750000
6	300,0	49	14700	7,05	4410000	13,70	1323000000	16,40	396900000000
7	350,0	16	5600	2,30	1960000	6,09	686000000	8,50	240100000000
8	400,0	15	6000	2,16	2400000	7,46	960000000	11,90	384000000000
9	450,0	11	4950	1,58	2227500	6,92	1002375000	12,43	451068750000
10	600,0	7	4200	1,01	2520000	7,83	1512000000	18,74	907200000000
somme		668	131250	96,12	31112500	96,65	8913375000	110,49	3078006250000

**Diamètre moyen F9 ( $\mu\text{m}$ ) :**

$d_{10}$	196,5	Dispersion <b>1.76</b>
$(d_{20})^{1/2}$	215,8	
$(d_{30})^{1/3}$	237,2	
$d_{21}$	237,0	
$d_{32}$	286,5	
$d_{43}$	345,3	



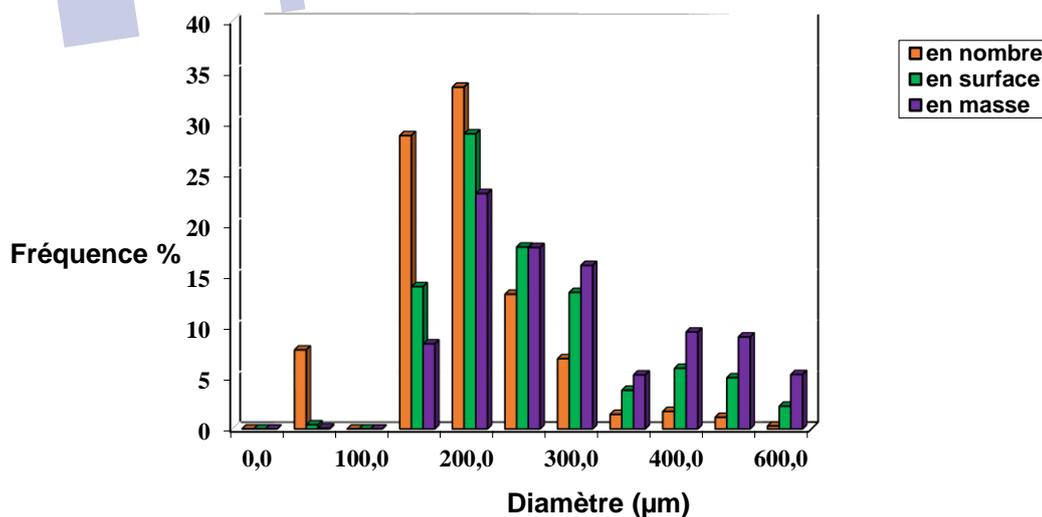
**Figure 8 :** Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F9)

**Tableau 9 : Résultats granulométriques 'F10'**

Classe i	centre de classe $d_i$ (mm)	effectif $n_i$	$n_i \cdot d_i$	fréquence en nombre %	$n_i \cdot d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i \cdot d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i \cdot d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	54	2700	7,77	135000	0,42	6750000	0,08	337500000
3	150,0	200	30000	28,78	4500000	13,98	675000000	8,37	101250000000
4	200,0	233	46600	33,53	9320000	28,95	1864000000	23,11	372800000000
5	250,0	92	23000	13,24	5750000	17,86	1437500000	17,82	359375000000
6	300,0	48	14400	6,91	4320000	13,42	1296000000	16,06	388800000000
7	350,0	10	3500	1,44	1225000	3,81	428750000	5,31	150062500000
8	400,0	12	4800	1,73	1920000	5,96	768000000	9,52	307200000000
9	450,0	8	3600	1,15	1620000	5,03	729000000	9,04	328050000000
10	600,0	2	1200	0,29	720000	2,24	432000000	5,35	259200000000
<b>somme</b>		<b>659</b>	<b>129800</b>	<b>94,82</b>	<b>29510000</b>	<b>91,67</b>	<b>7637000000</b>	<b>94,67</b>	<b>2267075000000</b>

**Diamètre moyen F10 ( $\mu\text{m}$ ) :**

$d_{10}$	197,0	Dispersion  <b>1.51</b>
$(d_{20})^{1/2}$	211,6	
$(d_{30})^{1/3}$	226,3	
$d_{21}$	227,3	
$d_{32}$	258,8	
$d_{43}$	296,9	

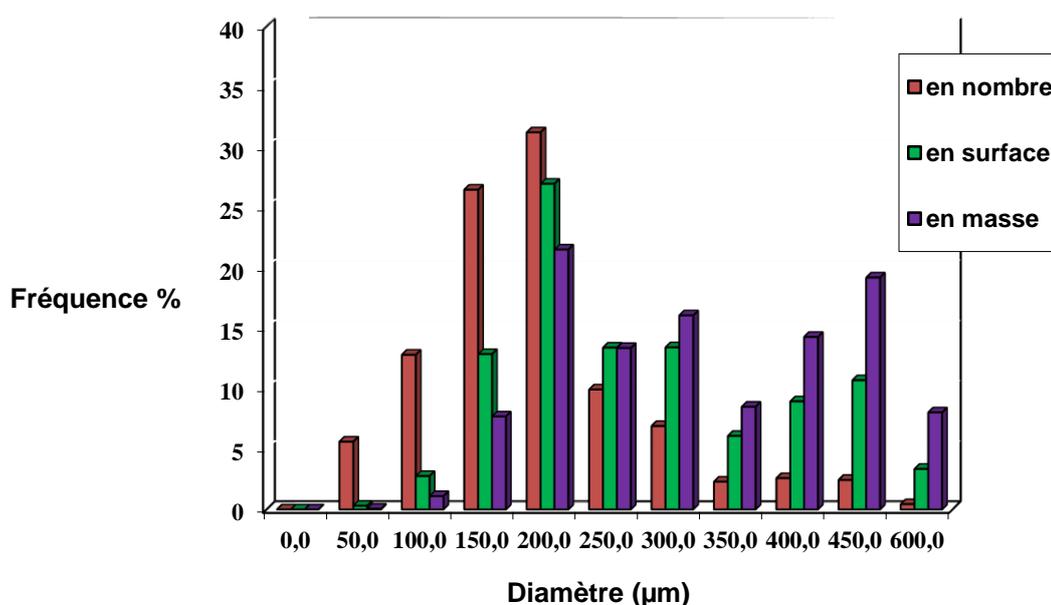
**Figure 9 : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F10)**

**Tableau 10: Résultats granulométriques 'F11'**

Classe i	centre de classe	effectif		fréquence en nombre		fréquence en surface		fréquence en masse	
	$d_i$ (mm)	$n_i$	$n_i*d_i$	%	$n_i*d_i^2$	%	$n_i*d_i^3$	%	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	39	1950	5,61	97500	0,30	4875000	0,06	243750000
2	100,0	89	8900	12,81	890000	2,76	89000000	1,10	8900000000
3	150,0	184	27600	26,47	4140000	12,86	621000000	7,70	93150000000
4	200,0	217	43400	31,22	8680000	26,96	1736000000	21,52	347200000000
5	250,0	69	17250	9,93	4312500	13,40	1078125000	13,36	269531250000
6	300,0	48	14400	6,91	4320000	13,42	1296000000	16,06	388800000000
7	350,0	16	5600	2,30	1960000	6,09	686000000	8,50	240100000000
8	400,0	18	7200	2,59	2880000	8,95	1152000000	14,28	460800000000
9	450,0	17	7650	2,45	3442500	10,69	1549125000	19,20	697106250000
10	600,0	3	1800	0,43	1080000	3,36	648000000	8,03	388800000000
<b>somme</b>		<b>700</b>	<b>135750</b>	<b>100,72</b>	<b>31802500</b>	<b>98,80</b>	<b>8860125000</b>	<b>109,83</b>	<b>2894631250000</b>

**Diamètre moyen F11 ( $\mu\text{m}$ ) :**

$d_{10}$	193,9	Dispersion <b>1.68</b>
$(d_{20})^{1/2}$	213,1	
$(d_{30})^{1/3}$	233,0	
$d_{21}$	234,3	
$d_{32}$	278,6	
$d_{43}$	326,7	

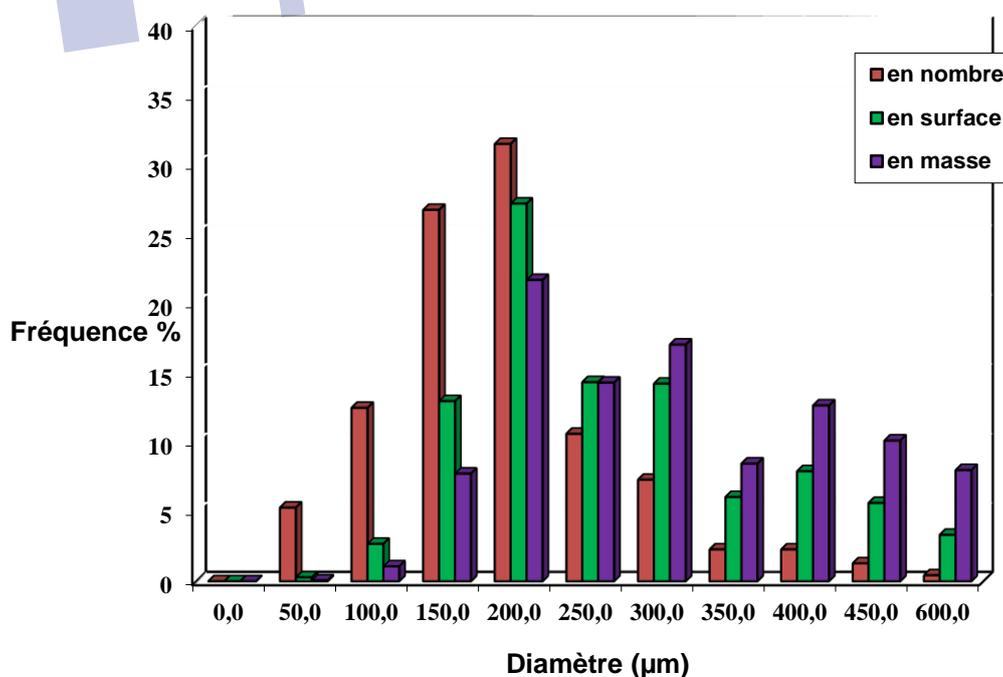
**Figure 10 : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F11)**

**Tableau 11 : Résultats granulométriques 'F12'**

Classe i	centre de classe	effectif		fréquence en nombre		fréquence en surface		fréquence en masse	
	$d_i$ (mm)	$n_i$	$n_i*d_i$	%	$n_i*d_i^2$	%	$n_i*d_i^3$	%	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	37	1850	5,32	92500	0,29	4625000	0,06	231250000
2	100,0	87	8700	12,52	870000	2,70	87000000	1,08	8700000000
3	150,0	186	27900	26,76	4185000	13,00	627750000	7,78	94162500000
4	200,0	219	43800	31,51	8760000	27,21	1752000000	21,72	350400000000
5	250,0	74	18500	10,65	4625000	14,37	1156250000	14,33	289062500000
6	300,0	51	15300	7,34	4590000	14,26	1377000000	17,07	413100000000
7	350,0	16	5600	2,30	1960000	6,09	686000000	8,50	240100000000
8	400,0	16	6400	2,30	2560000	7,95	1024000000	12,69	409600000000
9	450,0	9	4050	1,29	1822500	5,66	820125000	10,17	369056250000
10	600,0	3	1800	0,43	1080000	3,36	648000000	8,03	388800000000
somme		<b>698</b>	<b>133900</b>	<b>100,43</b>	<b>30545000</b>	<b>94,89</b>	<b>8182750000</b>	<b>101,43</b>	<b>2563212500000</b>

**Diamètre moyen F12 ( $\mu\text{m}$ ) :**

$d_{10}$	191,8	Dispersion  <b>1.63</b>
$(d_{20})^{1/2}$	209,2	
$(d_{30})^{1/3}$	227,2	
$d_{21}$	228,1	
$d_{32}$	267,9	
$d_{43}$	313,2	

**Figure 11 : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (F12)**

## Taille et distribution en taille des microparticules EC/HPMC :AN

Tableau 12 : Résultats granulométriques 'Lot 01'

Classe	centre de classe	effectif		fréquence en nombre		fréquence en surface		fréquence en masse	
i	$d_i$ (mm)	$n_i$	$n_i*d_i$	%	$n_i*d_i^2$	%	$n_i*d_i^3$	%	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	200,0	7	1400	3,15	280000	0,46	56000000	0,14	11200000000
42	400,0	6	2400	2,70	960000	1,57	384000000	0,95	153600000000
3	600,0	10	6000	4,50	3600000	5,88	2160000000	5,35	1296000000000
4	800,0	9	7200	4,05	5760000	9,40	4608000000	11,42	3686400000000
5	1000,0	17	17000	7,66	17000000	27,74	17000000000	42,14	17000000000000
6	1200,0	11	13200	4,95	15840000	25,85	19008000000	47,11	22809600000000
7	1400,0	4	5600	1,80	7840000	12,79	10976000000	27,20	15366400000000
somme		64	52800	28,83	51280000	83,69	54192000000	134,32	60323200000000

### Diamètre moyen Lot 01 ( $\mu\text{m}$ ) :

$d_{10}$	825,0	Dispersion <b>1.35</b>
$(d_{20})^{1/2}$	895,1	
$(d_{30})^{1/3}$	946,1	
$d_{21}$	971,2	
$d_{32}$	1056,8	
$d_{43}$	1113,1	

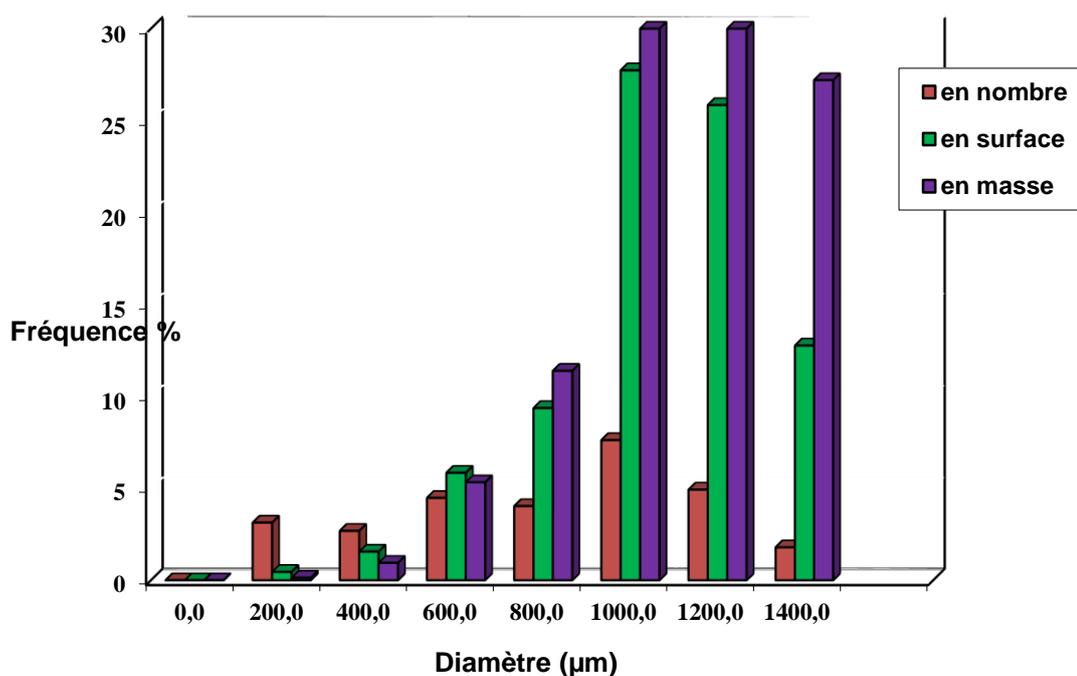


Figure 12 : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (lot 01)

Tableau 13 : Résultats granulométriques 'Lot 02'

classe	centre de classe	effectif		fréquence en nombre		fréquence en surface		fréquence en masse	
	$d_i$ (mm)	$n_i$	$n_i*d_i$	%	$n_i*d_i^2$	%	$n_i*d_i^3$	%	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	100,0	63	6300	28,38	630000	1,03	63000000	0,16	6300000000
2	200,0	143	28600	64,41	5720000	9,33	1144000000	2,84	228800000000
3	300,0	40	12000	18,02	3600000	5,88	1080000000	2,68	324000000000
4	400,0	4	1600	1,80	640000	1,04	256000000	0,63	102400000000
5	500,0	1	500	0,45	250000	0,41	125000000	0,31	62500000000
9	900,0	2	1800	0,90	1620000	2,64	1458000000	3,61	1312200000000
10	1000,0	1	1000	0,45	1000000	1,63	1000000000	2,48	1000000000000
11	1100,0	1	1100	0,45	1210000	1,97	1331000000	3,30	1464100000000
9	1200,0	1	1200	0,45	1440000	2,35	1728000000	4,28	2073600000000
10	1300,0	3	3900	1,35	5070000	8,27	6591000000	16,34	8568300000000
11	1400,0	2	2800	0,90	3920000	6,40	5488000000	13,60	7683200000000
somme		261	60800	117,57	25100000	40,96	20264000000	50,23	22825400000000

Diamètre moyen Lot 02 ( $\mu\text{m}$ ) :

$d_{10}$	233,0	Dispersion <b>4.84</b>
$(d_{20})^{1/2}$	310,1	
$(d_{30})^{1/3}$	426,6	
$d_{21}$	412,8	
$d_{32}$	807,3	
$d_{43}$	1126,4	

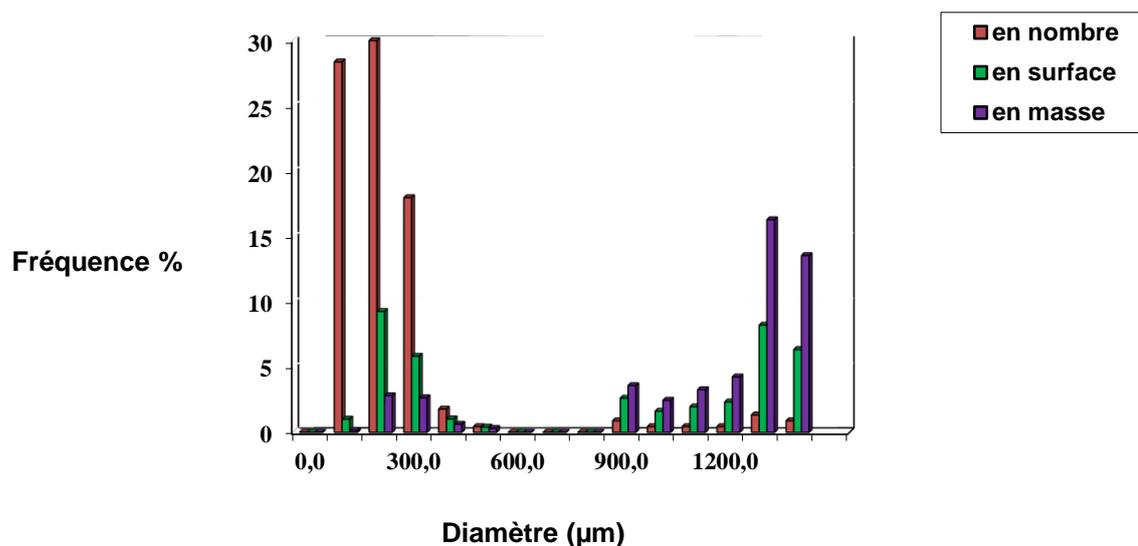


Figure 13: Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (Lot 02)

Tableau 14 : Résultats granulométriques 'Lot 03'

classe	centre de classe	effectif		fréquence en nombre		fréquence en surface		fréquence en masse	
	$d_i$ (mm)	$n_i$	$n_i*d_i$	%	$n_i*d_i^2$	%	$n_i*d_i^3$	%	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	200,0	23	4600	10,36	920000	1,50	184000000	0,46	36800000000
2	400,0	40	16000	18,02	6400000	10,44	2560000000	6,35	102400000000
3	600,0	15	9000	6,76	5400000	8,81	3240000000	8,03	194400000000
4	800,0	19	15200	8,56	12160000	19,84	9728000000	24,11	778240000000
5	1000,0	15	15000	6,76	15000000	24,48	15000000000	37,18	1500000000000
6	1200,0	30	36000	13,51	43200000	70,50	51840000000	128,49	6220800000000
7	1400,0	52	72800	23,42	101920000	166,33	142688000000	353,66	19976320000000
8	1600,0	40	64000	18,02	102400000	167,12	163840000000	406,09	26214400000000
9	1800,0	3	5400	1,35	9720000	15,86	17496000000	43,36	3149280000000
somme		237	238000	106,76	297120000	484,90	406576000000	1007,72	58139520000000

Diamètre moyen Lot 03 ( $\mu\text{m}$ ) :

$d_{10}$	1004,2	Dispersion
$(d_{20})^{1/2}$	1119,7	
$(d_{30})^{1/3}$	1197,1	
$d_{21}$	1248,4	
$d_{32}$	1368,4	
$d_{43}$	1430,0	

1.42

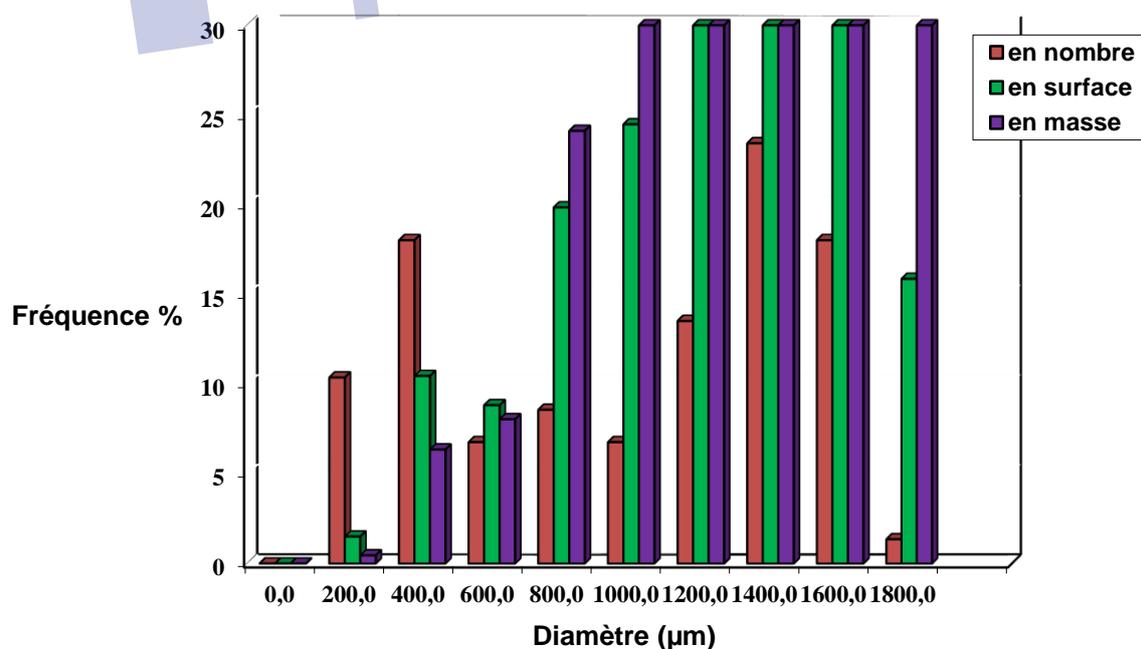


Figure 14 : Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (Lot 03)

**Tableau 15 : Résultats granulométriques 'Lot 04'**

classe	centre de classe	effectif		fréquence en nombre		fréquence en surface		fréquence en masse	
	$d_i$ (mm)	$n_i$	$n_i*d_i$	%	$n_i*d_i^2$	%	$n_i*d_i^3$	%	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	100,0	38	3800	17,12	380000	0,62	38000000	0,09	3800000000
2	200,0	170	34000	76,58	6800000	11,10	1360000000	3,37	272000000000
3	300,0	183	54900	82,43	16470000	26,88	4941000000	12,25	1482300000000
4	400,0	76	30400	34,23	12160000	19,84	4864000000	12,06	1945600000000
5	500,0	22	11000	9,91	5500000	8,98	2750000000	6,82	1375000000000
6	600,0	9	5400	4,05	3240000	5,29	1944000000	4,82	1166400000000
7	700,0	6	4200	2,70	2940000	4,80	2058000000	5,10	1440600000000
8	800,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
9	900,0	1	900	0,45	810000	1,32	729000000	1,81	656100000000
somme		505	144600	227,48	48300000	78,82	18684000000	46,31	8341800000000

**Diamètre moyen Lot 04 ( $\mu\text{m}$ ) :**

$d_{10}$	286,3	Dispersion <b>1.56</b>
$(d_{20})^{1/2}$	309,3	
$(d_{30})^{1/3}$	333,2	
$d_{21}$	334,0	
$d_{32}$	386,8	
$d_{43}$	446,5	

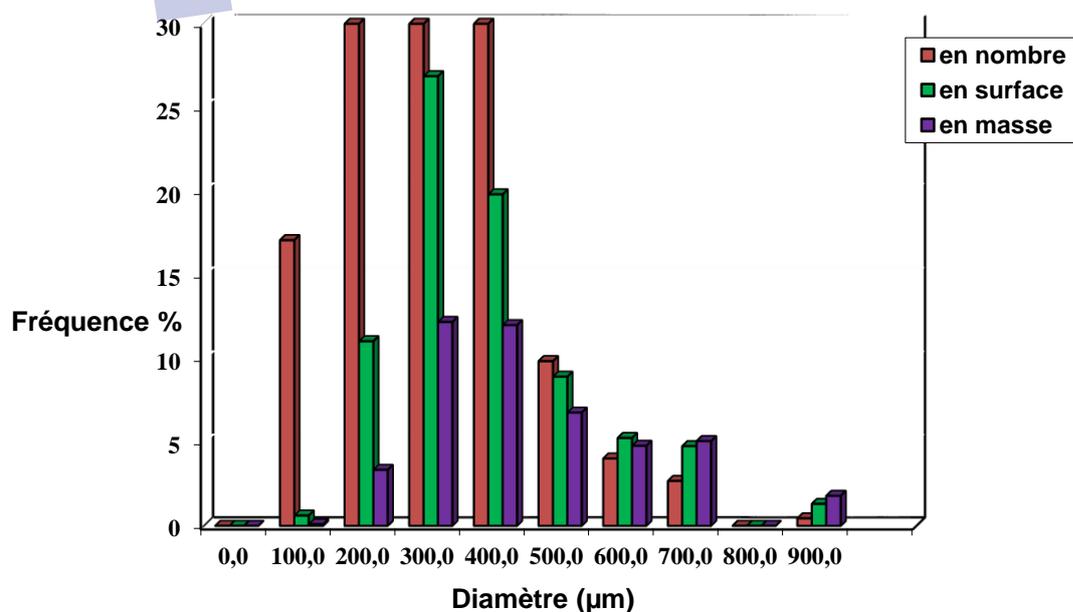
**Figure 15:** Distribution en taille de microsphères chargées de l'acide niflumique (Lot 04)

Tableau 16 : Résultats granulométrique 'Lot 05'

Classe i	centre de classe $d_i$ (mm)	effectif $n_i$	$n_i*d_i$	fréquence en nombre %	$n_i*d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i*d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	1	50	0,45	2500	0,00	125000	0,00	6250000
2	100,0	22	2200	9,91	220000	0,36	22000000	0,05	2200000000
3	150,0	54	8100	24,32	1215000	1,98	182250000	0,45	27337500000
4	200,0	93	18600	41,89	3720000	6,07	744000000	1,84	148800000000
5	250,0	84	21000	37,84	5250000	8,57	1312500000	3,25	328125000000
6	300,0	73	21900	32,88	6570000	10,72	1971000000	4,89	591300000000
7	350,0	55	19250	24,77	6737500	11,00	2358125000	5,84	825343750000
8	400,0	27	10800	12,16	4320000	7,05	1728000000	4,28	691200000000
9	450,0	29	13050	13,06	5872500	9,58	2642625000	6,55	1189181250000
10	500,0	22	11000	9,91	5500000	8,98	2750000000	6,82	1375000000000
11	550,0	13	7150	5,86	3932500	6,42	2162875000	5,36	1189581250000
12	600,0	7	4200	3,15	2520000	4,11	1512000000	3,75	907200000000
13	650,0	6	3900	2,70	2535000	4,14	1647750000	4,08	1071037500000
14	700,0	8	5600	3,60	3920000	6,40	2744000000	6,80	1920800000000
15	750,0	3	2250	1,35	1687500	2,75	1265625000	3,14	949218750000
16	800,0	1	800	0,45	640000	1,04	512000000	1,27	409600000000
17	900,0	2	1800	0,90	1620000	2,64	1458000000	3,61	1312200000000
somme		500	151650	216,22	45860000	74,84	17385500000	43,09	12938131250000

Diamètre moyen Lot 05 ( $\mu\text{m}$ ) :

$d_{10}$	303,3	Dispersion  <b>2.45</b>
$(d_{20})^{1/2}$	302,9	
$(d_{30})^{1/3}$	326,4	
$d_{21}$	302,4	
$d_{32}$	379,1	
$d_{43}$	744,2	

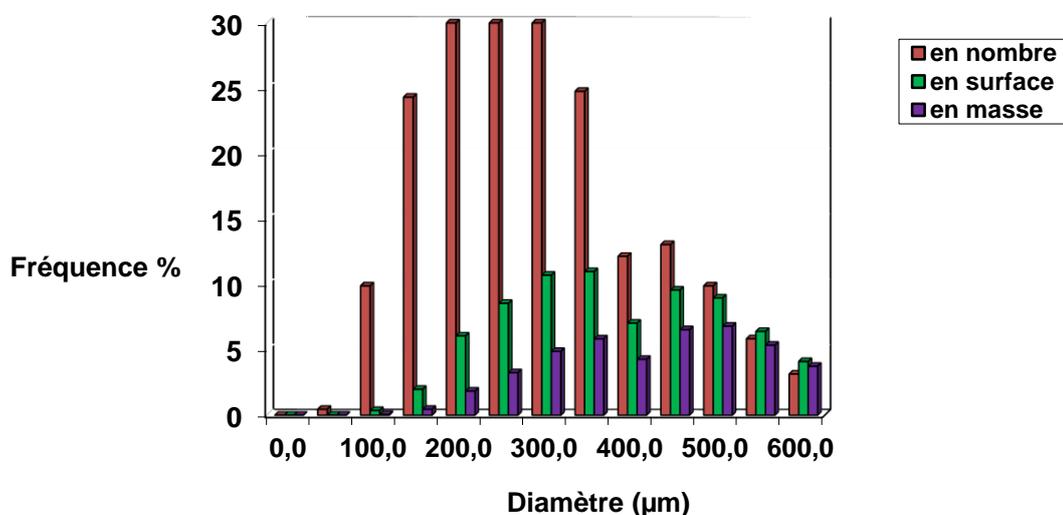


Figure 16 : Distribution en taille de microsphères à base EC/HPMC chargées d'AN (Lot 05)

Tableau 17 : Résultats granulométrique 'Lot 06'

Classe i	centre de classe $d_i$ (mm)	effectif $n_i$	$n_i*d_i$	fréquence en nombre %	$n_i*d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i*d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	1	50	0,45	2500	0,00	125000	0,00	6250000
2	100,0	21	2100	9,46	210000	0,34	21000000	0,05	2100000000
3	150,0	143	21450	64,41	3217500	5,25	482625000	1,20	72393750000
4	200,0	157	31400	70,72	6280000	10,25	1256000000	3,11	251200000000
5	250,0	80	20000	36,04	5000000	8,16	1250000000	3,10	312500000000
6	300,0	34	10200	15,32	3060000	4,99	918000000	2,28	275400000000
7	350,0	14	4900	6,31	1715000	2,80	600250000	1,49	210087500000
8	400,0	17	6800	7,66	2720000	4,44	1088000000	2,70	435200000000
9	450,0	11	4950	4,95	2227500	3,64	1002375000	2,48	451068750000
10	500,0	7	3500	3,15	1750000	2,86	875000000	2,17	437500000000
	550,0	4	2200	1,80	1210000	1,97	665500000	1,65	366025000000
	600,0	4	2400	1,80	1440000	2,35	864000000	2,14	518400000000
	700,0	4	2800	1,80	1960000	3,20	1372000000	3,40	960400000000
	800,0	2	1600	0,90	1280000	2,09	1024000000	2,54	819200000000
11	900,0	1	900	0,45	810000	1,32	729000000	1,81	656100000000
somme		500	115250	225,23	32882500	53,66	12147875000	30,11	5767581250000

Diamètre moyen Lot 06 ( $\mu\text{m}$ ) :

$d_{10}$	230,5	Dispersion  <b>2.06</b>
$(d_{20})^{1/2}$	256,4	
$(d_{30})^{1/3}$	289,6	
$d_{21}$	285,3	
$d_{32}$	369,4	
$d_{43}$	474,8	

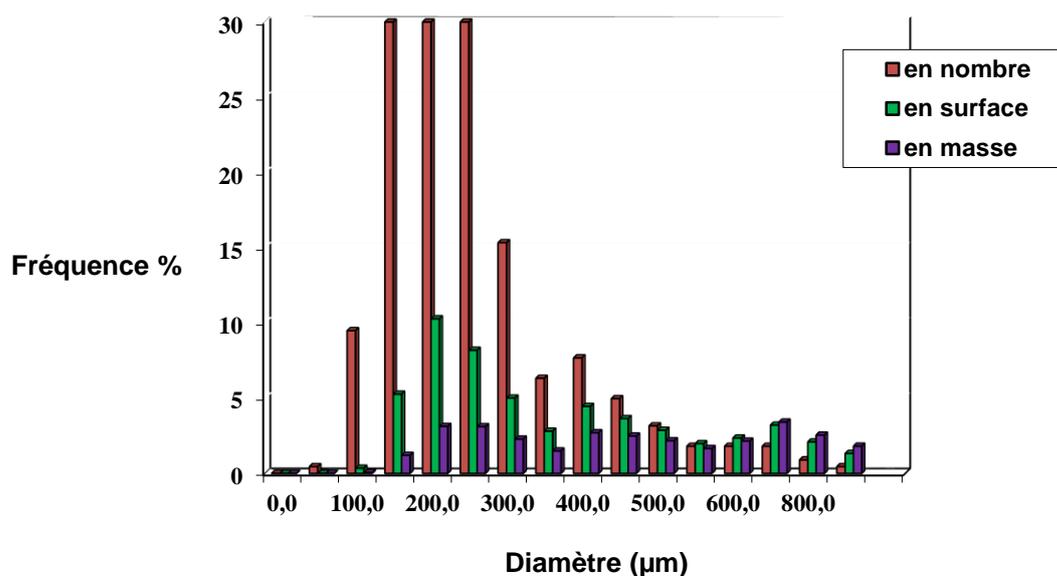


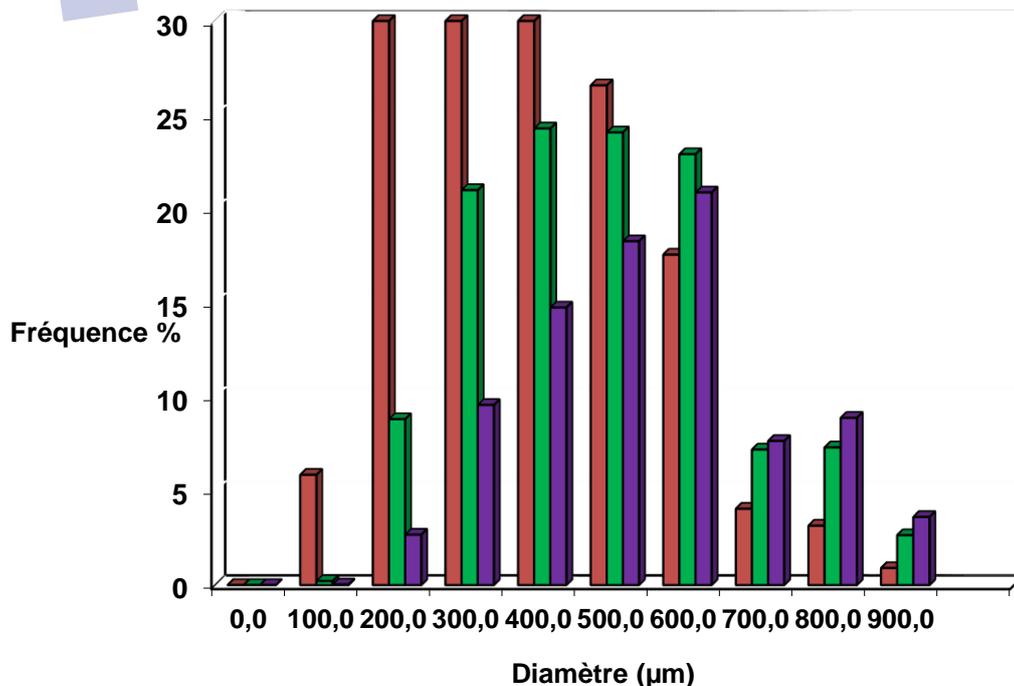
Figure 17 : Distribution en taille de microsphères à base EC/HPMC chargées d'AN (Lot 06)

**Tableau 18 : Résultats granulométrique 'Lot 07'**

Classe	centre de classe $d_i$ (mm)	effectif $n_i$	$n_i*d_i$	fréquence en nombre %	$n_i*d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i*d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	100,0	13	1300	5,86	130000	0,21	13000000	0,03	1300000000
2	200,0	135	27000	60,81	5400000	8,81	1080000000	2,68	216000000000
3	300,0	143	42900	64,41	12870000	21,00	3861000000	9,57	1158300000000
4	400,0	93	37200	41,89	14880000	24,28	5952000000	14,75	2380800000000
5	500,0	59	29500	26,58	14750000	24,07	7375000000	18,28	3687500000000
6	600,0	39	23400	17,57	14040000	22,91	8424000000	20,88	5054400000000
7	700,0	9	6300	4,05	4410000	7,20	3087000000	7,65	2160900000000
8	800,0	7	5600	3,15	4480000	7,31	3584000000	8,88	2867200000000
9	900,0	2	1800	0,90	1620000	2,64	1458000000	3,61	1312200000000
somme		500	175000	225,23	72580000	118,45	34834000000	86,34	18838600000000

**Diamètre moyen Lot 07 ( $\mu\text{m}$ ) :**

$d_{10}$	350,0	Dispersion  <b>1,55</b>
$(d_{20})^{1/2}$	381,0	
$(d_{30})^{1/3}$	411,5	
$d_{21}$	414,7	
$d_{32}$	479,9	
$d_{43}$	540,8	

**Figure 18 : Distribution en taille de microsphères à base EC/HPMC chargées d'AN (Lot 07)**

**Tableau 19 : Résultats granulométrique 'Lot 08'**

classe	centre de classe $d_i$ (mm)	effectif $n_i$	$n_i * d_i$	fréquence en nombre %	$n_i * d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i * d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i * d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	1	50	0,45	2500	0,00	125000	0,00	6250000
2	100,0	34	3400	15,32	340000	0,55	3400000	0,08	340000000
3	150,0	52	7800	23,42	1170000	1,91	17550000	0,43	2632500000
4	200,0	69	13800	31,08	2760000	4,50	55200000	1,37	11040000000
5	250,0	74	18500	33,33	4625000	7,55	115625000	2,87	28906250000
6	300,0	74	22200	33,33	6660000	10,87	199800000	4,95	59940000000
7	350,0	78	27300	35,14	9555000	15,59	334425000	8,29	117048750000
8	400,0	50	20000	22,52	8000000	13,06	320000000	7,93	128000000000
9	450,0	31	13950	13,96	6277500	10,24	282487500	7,00	127119375000
	500,0	24	12000	10,81	6000000	9,79	300000000	7,44	150000000000
10	550,0	6	3300	2,70	1815000	2,96	99825000	2,47	54903750000
	600,0	5	3000	2,25	1800000	2,94	108000000	2,68	64800000000
	700,0	1	700	0,45	490000	0,80	34300000	0,85	24010000000
11	1500,0	1	1500	0,45	2250000	3,67	337500000	8,37	506250000000
somme		500	147500	225,23	51745000	84,45	2208125000	54,73	1274991250000

**Diamètre moyen Lot 08 ( $\mu\text{m}$ ) :**

$d_{10}$	295,0	Disperston  <b>1.96</b>
$(d_{20})^{1/2}$	321,7	
$(d_{30})^{1/3}$	353,5	
$d_{21}$	350,8	
$d_{32}$	426,7	
$d_{43}$	577,4	

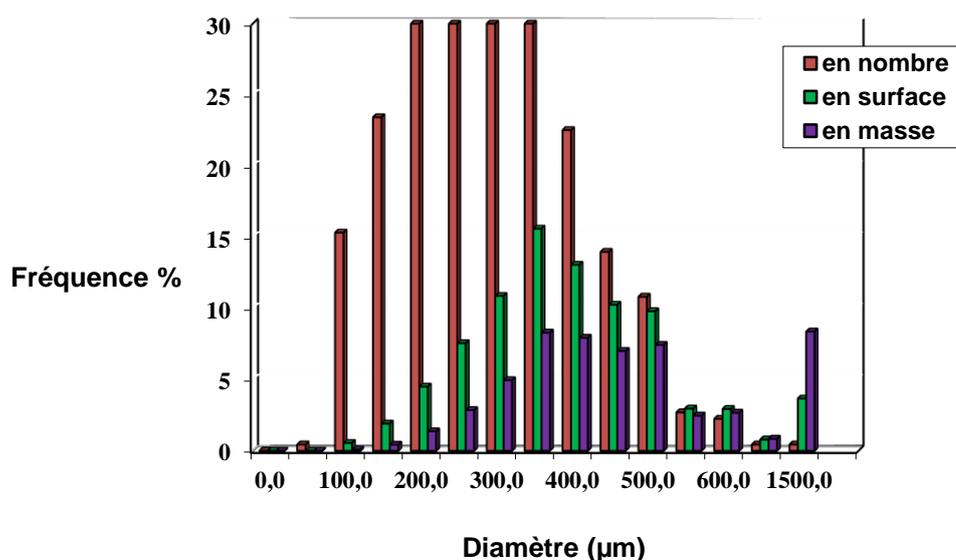
**Figure 19 : Distribution en taille de microsphères à base EC/HPMC chargées d'AN (Lot 08)**

Tableau 20 : Résultats granulométrique 'Lot 09'

Classe i	centre de classe $d_i$ (mm)	effectif $n_i$	$n_i \cdot d_i$	fréquence en nombre %	$n_i \cdot d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i \cdot d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i \cdot d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	18	900	8,11	45000	0,07	2250000	0,01	112500000
2	150,0	20	3000	9,01	450000	0,73	67500000	0,17	10125000000
3	250,0	21	5250	9,46	1312500	2,14	328125000	0,81	82031250000
4	350,0	20	7000	9,01	2450000	4,00	857500000	2,13	300125000000
5	450,0	39	17550	17,57	7897500	12,89	3553875000	8,81	1599243750000
6	550,0	36	19800	16,22	10890000	17,77	5989500000	14,85	3294225000000
7	650,0	29	18850	13,06	12252500	20,00	7964125000	19,74	5176681250000
8	750,0	24	18000	10,81	13500000	22,03	10125000000	25,10	7593750000000
9	850,0	7	5950	3,15	5057500	8,25	4298875000	10,66	3654043750000
10	950,0	7	6650	3,15	6317500	10,31	6001625000	14,88	5701543750000
11	1050,0	1	1050	0,45	1102500	1,80	1157625000	2,87	1215506250000
somme		222	104000	100,00	61275000	100,00	40346000000	100,00	28627387500000

Diamètre moyen Lot 09 ( $\mu\text{m}$ ) :

$d_{10}$	468,5	Dispersion <b>1.51</b>
$(d_{20})^{1/2}$	525,4	
$(d_{30})^{1/3}$	566,4	
$d_{21}$	589,2	
$d_{32}$	658,4	
$d_{43}$	709,5	

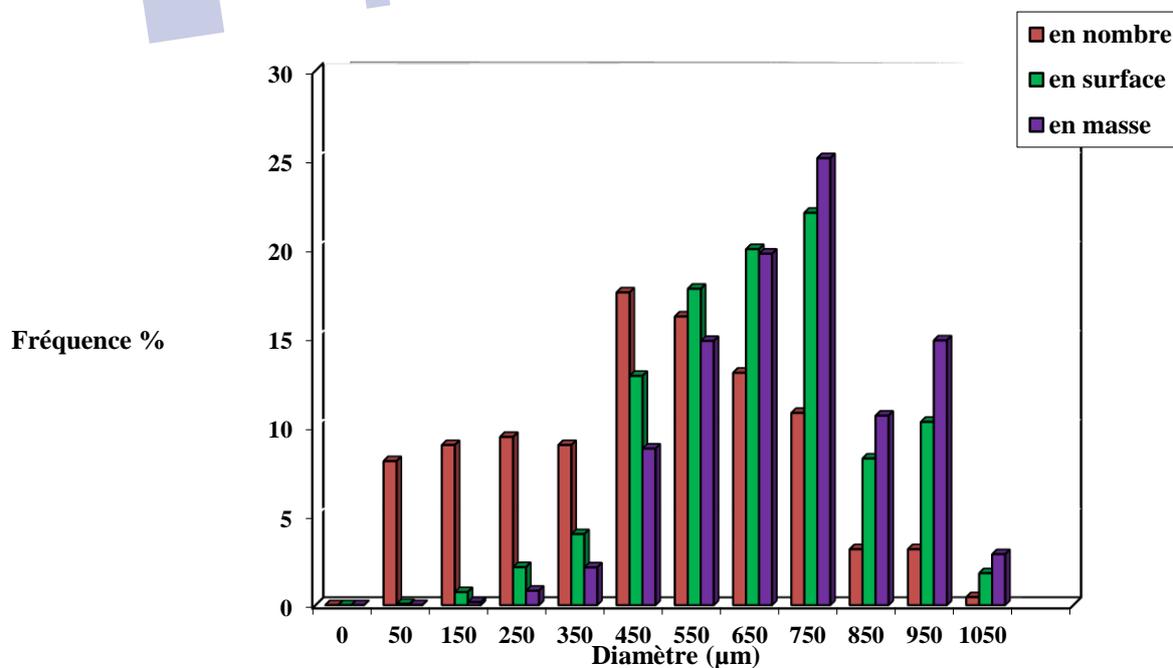


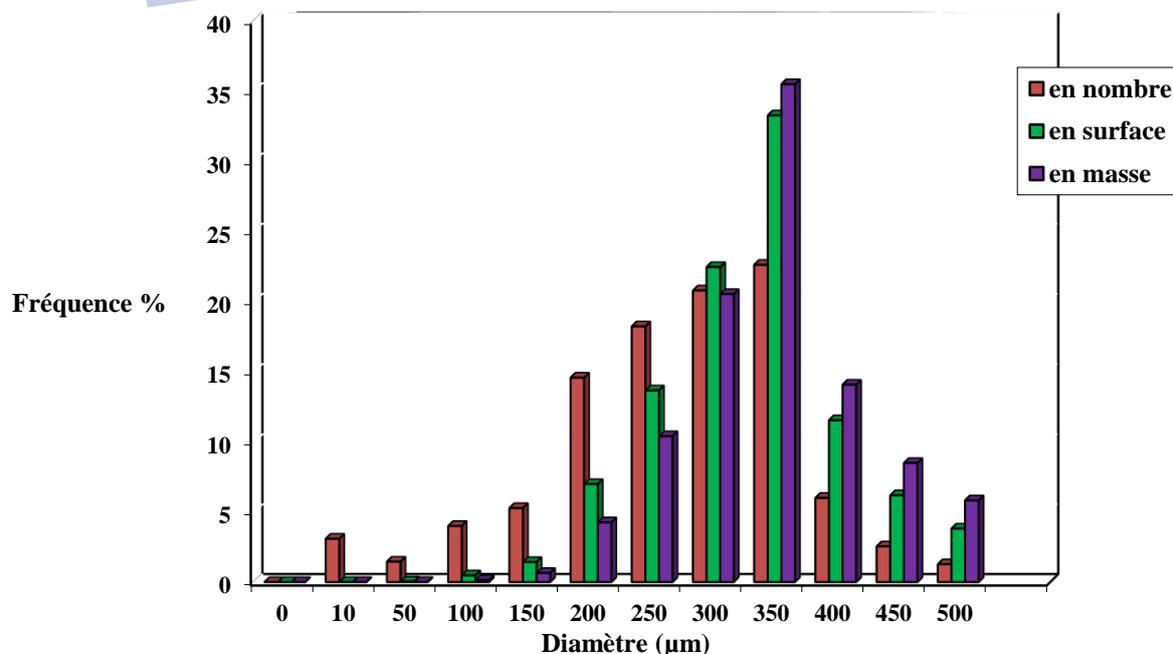
Figure 20 : Distribution en taille de microsphères à base EC/HPMC chargées d'AN (Lot 09)

**Tableau 21 : Résultats granulométrique 'Lot 10'**

classe i	centre de classe $d_i$ (μm)	effectif $n_i$	$n_i * d_i$	fréquence en nombre %	$n_i * d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i * d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i * d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	10,0	17	170	3,10	1700	0,00	17000	0,00	170000
2	50,0	8	400	1,46	20000	0,04	1000000	0,01	50000000
3	100,0	22	2200	4,01	220000	0,48	22000000	0,15	2200000000
4	150,0	29	4350	5,29	652500	1,43	97875000	0,65	14681250000
5	200,0	80	16000	14,60	3200000	7,01	640000000	4,27	128000000000
6	250,0	100	25000	18,25	6250000	13,69	1562500000	10,43	390625000000
7	300,0	114	34200	20,80	10260000	22,47	3078000000	20,55	923400000000
8	350,0	124	43400	22,63	15190000	33,27	5316500000	35,49	1860775000000
9	400,0	33	13200	6,02	5280000	11,56	2112000000	14,10	844800000000
10	450,0	14	6300	2,55	2835000	6,21	1275750000	8,52	574087500000
11	500,0	7	3500	1,28	1750000	3,83	875000000	5,84	437500000000
somme		548	148720	100,00	45659200	100,00	14980642000	100,00	5176118920000

**Diamètre moyen Lot 10 (μm) :**

$d_{10}$	271,4	Dispersion  1,27
$(d_{20})^{1/2}$	288,7	
$(d_{30})^{1/3}$	301,2	
$d_{21}$	307,0	
$d_{32}$	328,1	
$d_{43}$	345,5	

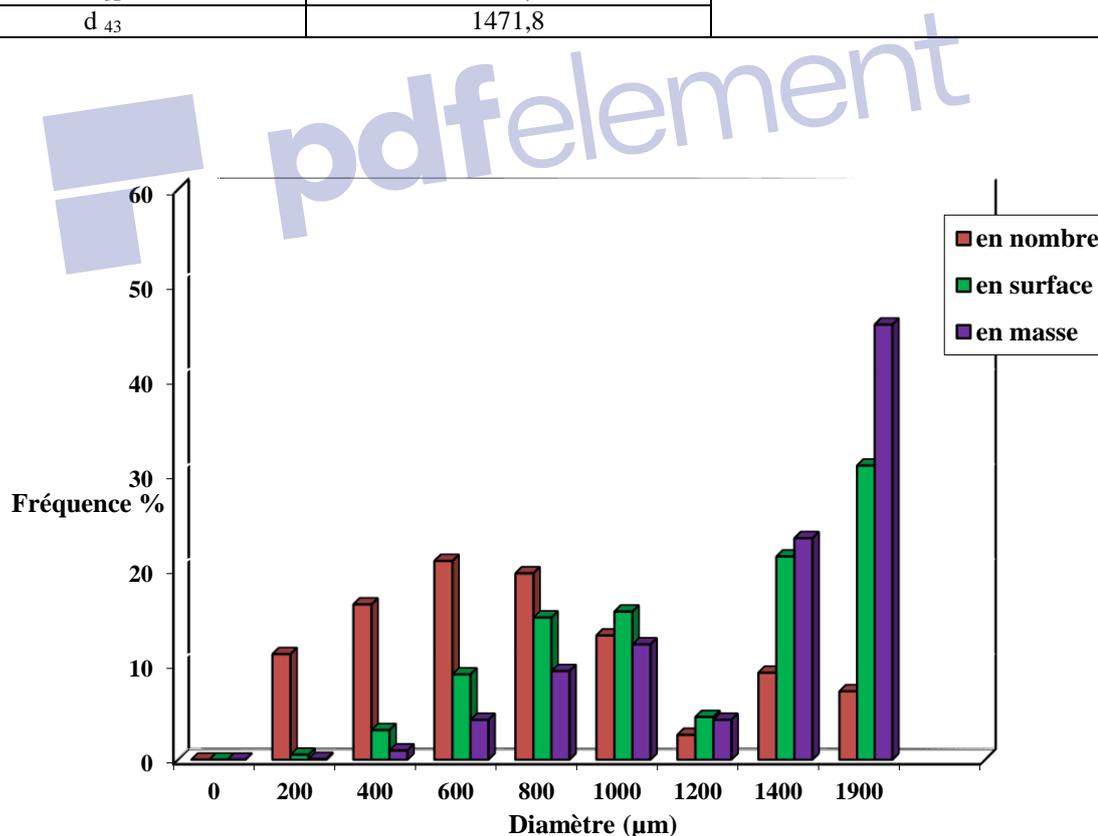
**Figure 21 : Distribution en taille de microsphères à base EC/HPMC chargées d'AN (Lot 10)**

**Tableau 22 : Résultats granulométrique 'Lot 11'**

classe i	centre de classe $d_i$ (mm)	effectif $n_i$	$n_i*d_i$	fréquence en nombre %	$n_i*d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i*d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	200,0	17	3400	11,11	680000	0,53	136000000	0,08	27200000000
2	400,0	25	10000	16,34	4000000	3,12	1600000000	0,97	640000000000
3	600,0	32	19200	20,92	11520000	8,98	6912000000	4,19	4147200000000
4	800,0	30	24000	19,61	19200000	14,96	15360000000	9,32	12288000000000
5	1000,0	20	20000	13,07	20000000	15,59	20000000000	12,14	20000000000000
6	1200,0	4	4800	2,61	5760000	4,49	6912000000	4,19	8294400000000
7	1400,0	14	19600	9,15	27440000	21,39	38416000000	23,31	53782400000000
8	1900,0	11	20900	7,19	39710000	30,95	75449000000	45,79	143353100000000
somme		153	121900	100,00	128310000	100,00	164785000000	100,00	242532300000000

**Diamètre moyen Lot 11 ( $\mu\text{m}$ ) :**

$d_{10}$	796,7	Dispersion  <b>1.85</b>
$(d_{20})^{1/2}$	915,8	
$(d_{30})^{1/3}$	1025,0	
$d_{21}$	1052,6	
$d_{32}$	1284,3	
$d_{43}$	1471,8	

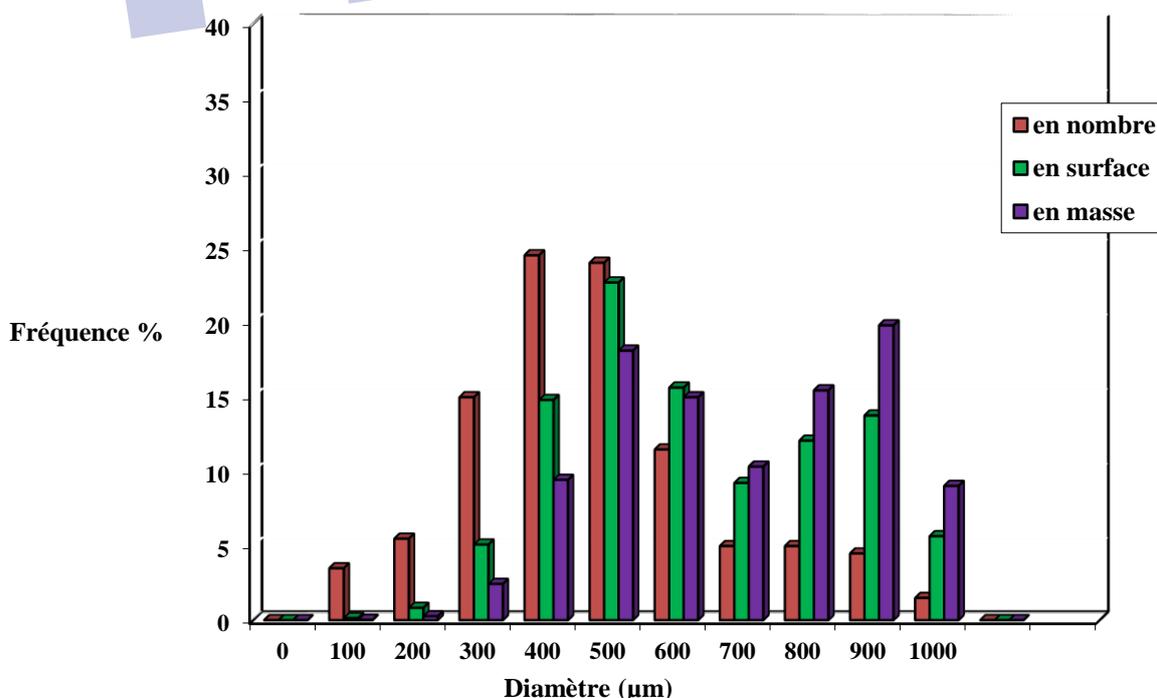
**Figure 22 : Distribution en taille de microsphères à base EC/HPMC chargées d'AN (lot 11)**

**Tableau 23 : Résultats granulométrique 'Lot 12'**

classe i	centre de classe $d_i$ (mm)	effectif $n_i$	$n_i*d_i$	fréquence en nombre %	$n_i*d_i^2$	fréquence en surface %	$n_i*d_i^3$	fréquence en masse %	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	100,0	7	700	3,50	70000	0,13	7000000	0,02	70000000
2	200,0	11	2200	5,50	440000	0,83	88000000	0,27	1760000000
3	300,0	30	9000	15,00	2700000	5,10	810000000	2,45	24300000000
4	400,0	49	19600	24,50	7840000	14,81	3136000000	9,47	125440000000
5	500,0	48	24000	24,00	12000000	22,68	6000000000	18,12	300000000000
6	600,0	23	13800	11,50	8280000	15,65	4968000000	15,00	298080000000
7	700,0	10	7000	5,00	4900000	9,26	3430000000	10,36	240100000000
8	800,0	10	8000	5,00	6400000	12,09	5120000000	15,46	409600000000
9	900,0	9	8100	4,50	7290000	13,78	6561000000	19,81	590490000000
10	1000,0	3	3000	1,50	3000000	5,67	3000000000	9,06	300000000000
somme		200	95400	100,00	52920000	100,00	33120000000	100,00	22898400000000

**Diamètre moyen Lot 12 ( $\mu\text{m}$ ) :**

$d_{10}$	477,0	Dispersion
$(d_{20})^{1/2}$	514,4	
$(d_{30})^{1/3}$	549,1	
$d_{21}$	554,7	
$d_{32}$	625,9	
$d_{43}$	691,4	
	1.45	

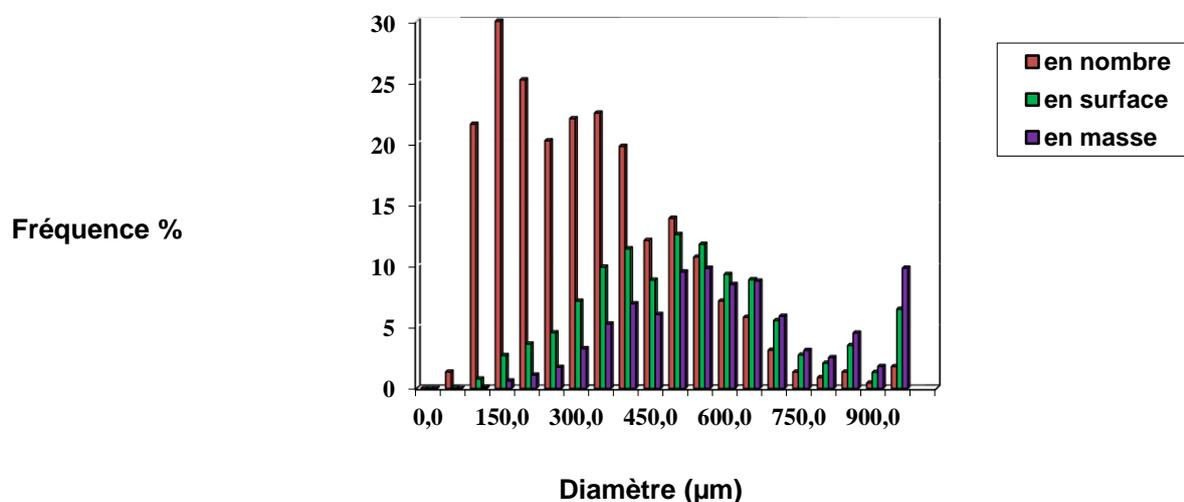
**Figure 23 : Distribution en taille de microsphères à base EC/HPMC chargées d'AN (lot12)**

**Tableau 24 : Résultats granulométrique de formulation 'Lot 13'**

classe	centre de classe	effectif		fréquence en nombre		fréquence en surface		fréquence en masse	
	$d_i$ (mm)	$n_i$	$n_i*d_i$	%	$n_i*d_i^2$	%	$n_i*d_i^3$	%	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	3	150	1,35	7500	0,01	375000	0,00	18750000
2	100,0	48	4800	21,62	480000	0,78	48000000	0,12	4800000000
3	150,0	74	11100	33,33	1665000	2,72	249750000	0,62	37462500000
4	200,0	56	11200	25,23	2240000	3,66	448000000	1,11	89600000000
5	250,0	45	11250	20,27	2812500	4,59	703125000	1,74	175781250000
6	300,0	49	14700	22,07	4410000	7,20	1323000000	3,28	396900000000
7	350,0	50	17500	22,52	6125000	10,00	2143750000	5,31	750312500000
8	400,0	44	17600	19,82	7040000	11,49	2816000000	6,98	1126400000000
9	450,0	27	12150	12,16	5467500	8,92	2460375000	6,10	1107168750000
10	500,0	31	15500	13,96	7750000	12,65	3875000000	9,60	1937500000000
	550,0	24	13200	10,81	7260000	11,85	3993000000	9,90	2196150000000
	600,0	16	9600	7,21	5760000	9,40	3456000000	8,57	2073600000000
	650,0	13	8450	5,86	5492500	8,96	3570125000	8,85	2320581250000
	700,0	7	4900	3,15	3430000	5,60	2401000000	5,95	1680700000000
11	750,0	3	2250	1,35	1687500	2,75	1265625000	3,14	949218750000
	800,0	2	1600	0,90	1280000	2,09	1024000000	2,54	819200000000
	850,0	3	2550	1,35	2167500	3,54	1842375000	4,57	1566018750000
	900,0	1	900	0,45	810000	1,32	729000000	1,81	656100000000
	1000,0	4	4000	1,80	4000000	6,53	4000000000	9,91	4000000000000
somme		500	163400	225,23	69885000	114,05	36348500000	90,09	21887512500000

**Diamètre moyen de formulation EC/ $\beta$ -CD-5% ' à 300rpm :**

$d_{10}$	326,8	Dispersion  <b>1.84</b>
$(d_{20})^{1/2}$	373,9	
$(d_{30})^{1/3}$	417,4	
$d_{21}$	427,7	
$d_{32}$	520,1	
$d_{43}$	602,2	

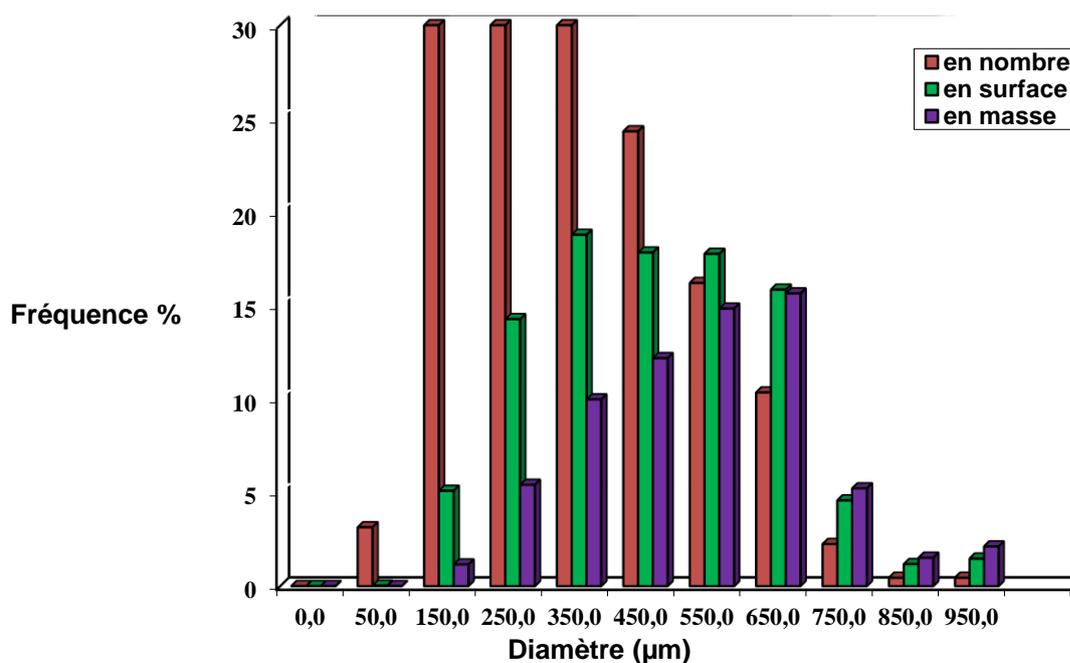
**Figure 24 : Distribution en taille de microsphères à base EC/ $\beta$ -CD chargées d'AN (lot 13)**

**Tableau 25 : Résultats granulométrique de formulation 'Lot 14'**

classe	centre de classe	effectif		fréquence en nombre		fréquence en surface		fréquence en masse	
	$d_i$ (mm)	$n_i$	$n_i*d_i$	%	$n_i*d_i^2$	%	$n_i*d_i^3$	%	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	7	350	3,15	17500	0,03	875000	0,00	43750000
2	150,0	139	20850	62,61	3127500	5,10	469125000	1,16	70368750000
3	250,0	140	35000	63,06	8750000	14,28	2187500000	5,42	546875000000
4	350,0	94	32900	42,34	11515000	18,79	4030250000	9,99	1410587500000
5	450,0	54	24300	24,32	10935000	17,85	4920750000	12,20	2214337500000
6	550,0	36	19800	16,22	10890000	17,77	5989500000	14,85	3294225000000
7	650,0	23	14950	10,36	9717500	15,86	6316375000	15,66	4105643750000
8	750,0	5	3750	2,25	2812500	4,59	2109375000	5,23	1582031250000
9	850,0	1	850	0,45	722500	1,18	614125000	1,52	522006250000
10	950,0	1	950	0,45	902500	1,47	857375000	2,13	814506250000
somme		500	153700	225,23	59390000	96,92	27495250000	68,15	14560625000000

**Diamètre moyen de formulation EC/ $\beta$ -CD-5% ' à 800rpm :**

$d_{10}$	307,4	<b>Dispersion</b>  <b>1.72</b>
$(d_{20})^{1/2}$	344,6	
$(d_{30})^{1/3}$	380,3	
$d_{21}$	386,4	
$d_{32}$	463,0	
$d_{43}$	529,6	

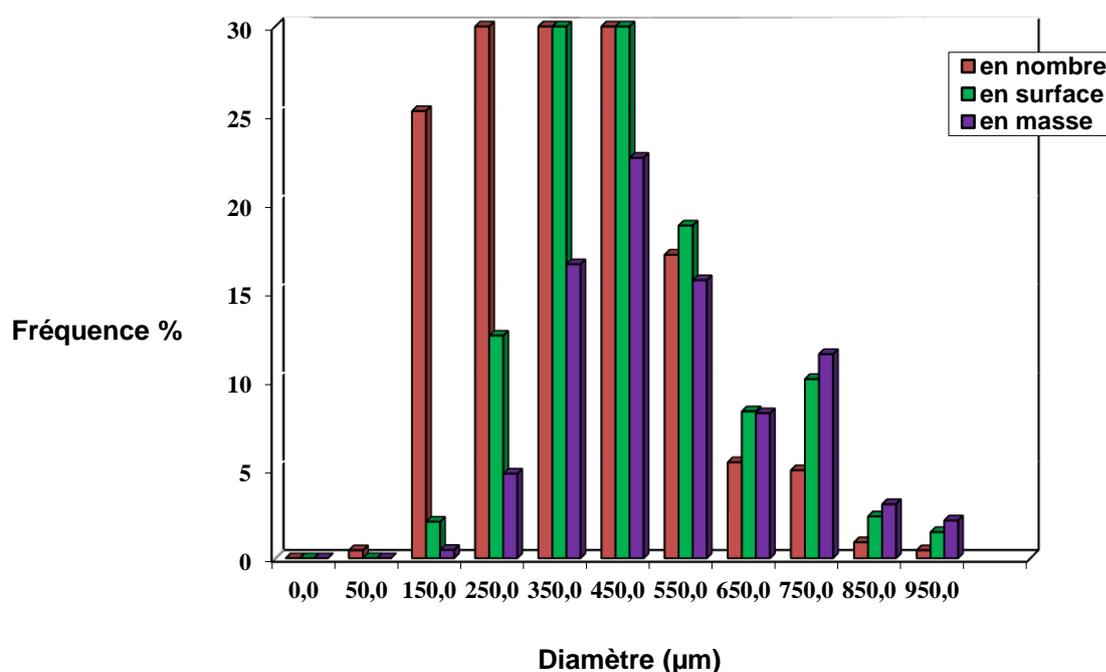
**Figure 25 : Distribution en taille de microsphères à base EC/ $\beta$ -CD chargées d'AN (lot14)**

**Tableau 26 : Résultats granulométrique de formulation 'Lot 15'**

classe	centre de classe	effectif		fréquence en nombre		fréquence en surface		fréquence en masse	
	$d_i$ (mm)	$n_i$	$n_i*d_i$	%	$n_i*d_i^2$	%	$n_i*d_i^3$	%	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	1	50	0,45	2500	0,00	125000	0,00	6250000
2	150,0	56	8400	25,23	1260000	2,06	189000000	0,47	2835000000
3	250,0	123	30750	55,41	7687500	12,55	1921875000	4,76	480468750000
4	350,0	156	54600	70,27	19110000	31,19	6688500000	16,58	2340975000000
5	450,0	100	45000	45,05	20250000	33,05	9112500000	22,59	4100625000000
6	550,0	38	20900	17,12	11495000	18,76	6322250000	15,67	3477237500000
7	650,0	12	7800	5,41	5070000	8,27	3295500000	8,17	2142075000000
8	750,0	11	8250	4,95	6187500	10,10	4640625000	11,50	3480468750000
9	850,0	2	1700	0,90	1445000	2,36	1228250000	3,04	1044012500000
10	950,0	1	950	0,45	902500	1,47	857375000	2,13	814506250000
somme		500	178400	225,23	73410000	119,80	34256000000	84,91	17908725000000

**Diamètre moyen de formulation EC/ $\beta$ -CD-30% ' à 300rpm :**

$d_{10}$	356,8	Dispersion <b>1,47</b>
$(d_{20})^{1/2}$	383,2	
$(d_{30})^{1/3}$	409,2	
$d_{21}$	411,5	
$d_{32}$	466,6	
$d_{43}$	522,8	



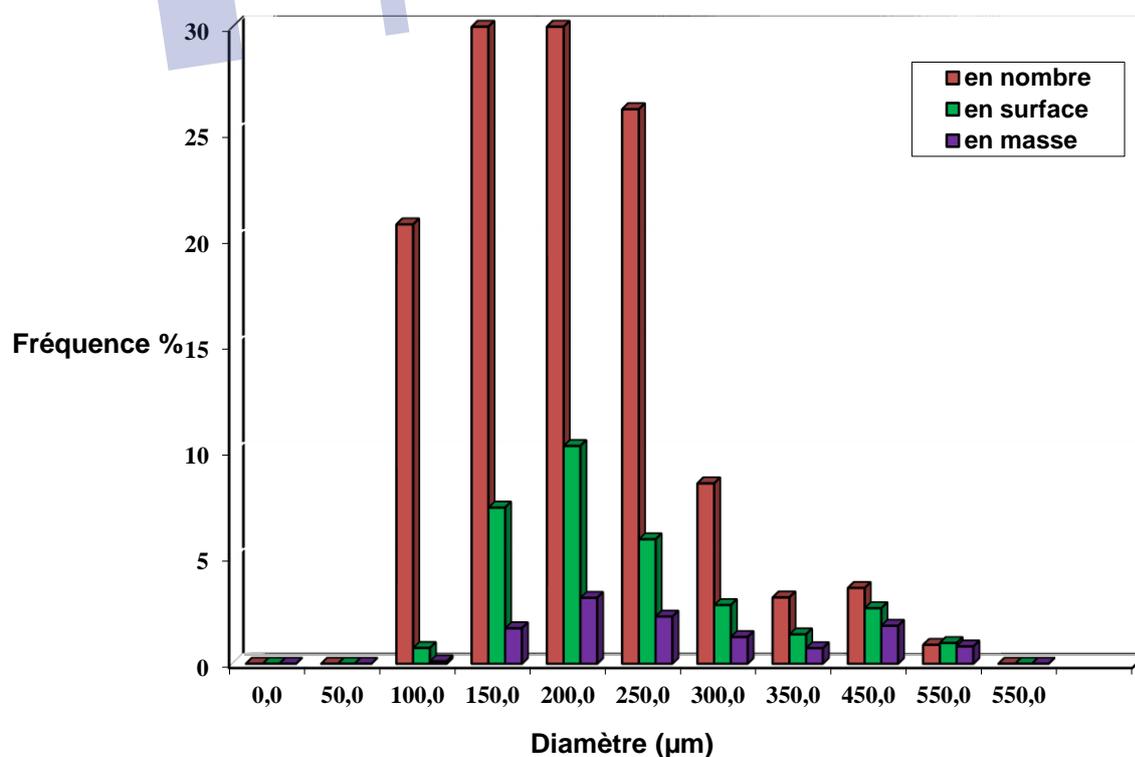
**Figure 26 : Distribution en taille de microsphères à base EC/ $\beta$ -CD chargées d'AN (lot15)**

**Tableau 27 : Résultats granulométrique de formulation 'Lot 16'**

classe	centre de classe	effectif		fréquence en nombre		fréquence en surface		fréquence en masse	
	$d_i$ (mm)	$n_i$	$n_i*d_i$	%	$n_i*d_i^2$	%	$n_i*d_i^3$	%	$n_i*d_i^4$
0	0,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
1	50,0	0	0	0,00	0	0,00	0	0,00	0
2	100,0	46	4600	20,72	460000	0,75	46000000	0,11	4600000000
3	150,0	202	30300	90,99	4545000	7,42	681750000	1,69	102262500000
4	200,0	158	31600	71,17	6320000	10,31	1264000000	3,13	252800000000
5	250,0	58	14500	26,13	3625000	5,92	906250000	2,25	226562500000
6	300,0	19	5700	8,56	1710000	2,79	513000000	1,27	153900000000
7	350,0	7	2450	3,15	857500	1,40	300125000	0,74	105043750000
8	450,0	8	3600	3,60	1620000	2,64	729000000	1,81	328050000000
9	550,0	2	1100	0,90	605000	0,99	332750000	0,82	183012500000
somme		500	93850	225,23	19742500	32,22	4772875000	11,83	1356231250000

**Diamètre moyen de formulation EC/ $\beta$ -CD-30% ' à 300rpm :**

$d_{10}$	187,7	Dispersion  <b>1.51</b>
$(d_{20})^{1/2}$	198,7	
$(d_{30})^{1/3}$	212,1	
$d_{21}$	10,0	
$d_{32}$	241,8	
$d_{43}$	284,2	



**Figure 27 : Distribution en taille de microsphères à base EC/ $\beta$ -CD chargées d'AN ((lot16)**

## 2. Résultats de modélisation :

### 2.1 Modélisation mathématiques des microsphères à base d'EC

Rapport EC/AN : 2/1

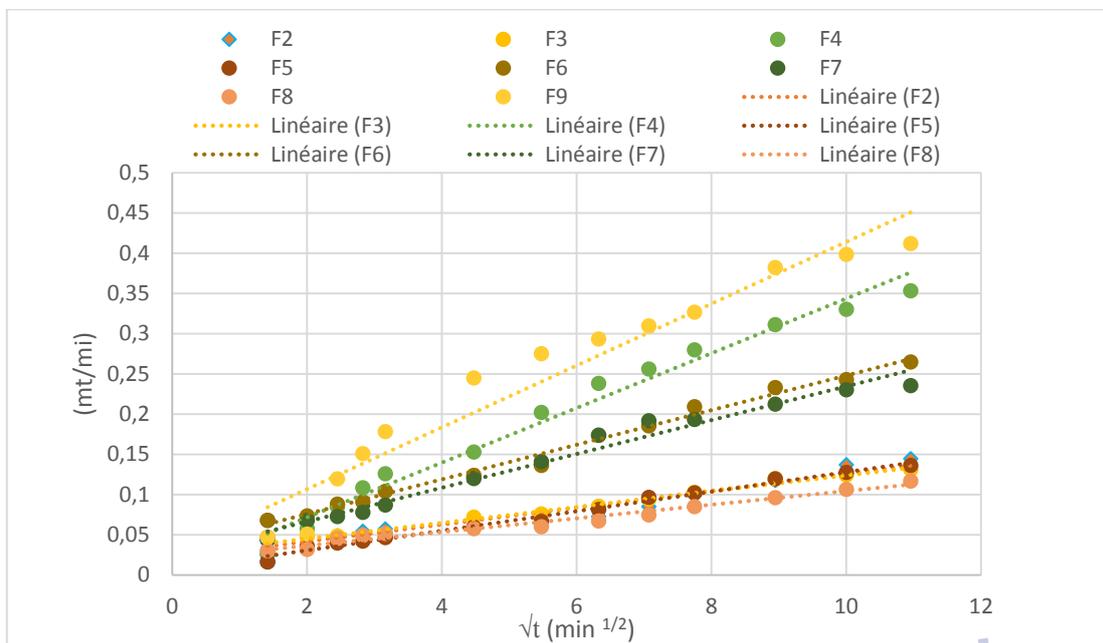


Figure 28 : Application du modèle d'Higuchi à partir des microsphères (EC/AN:2/1), pH=1,2

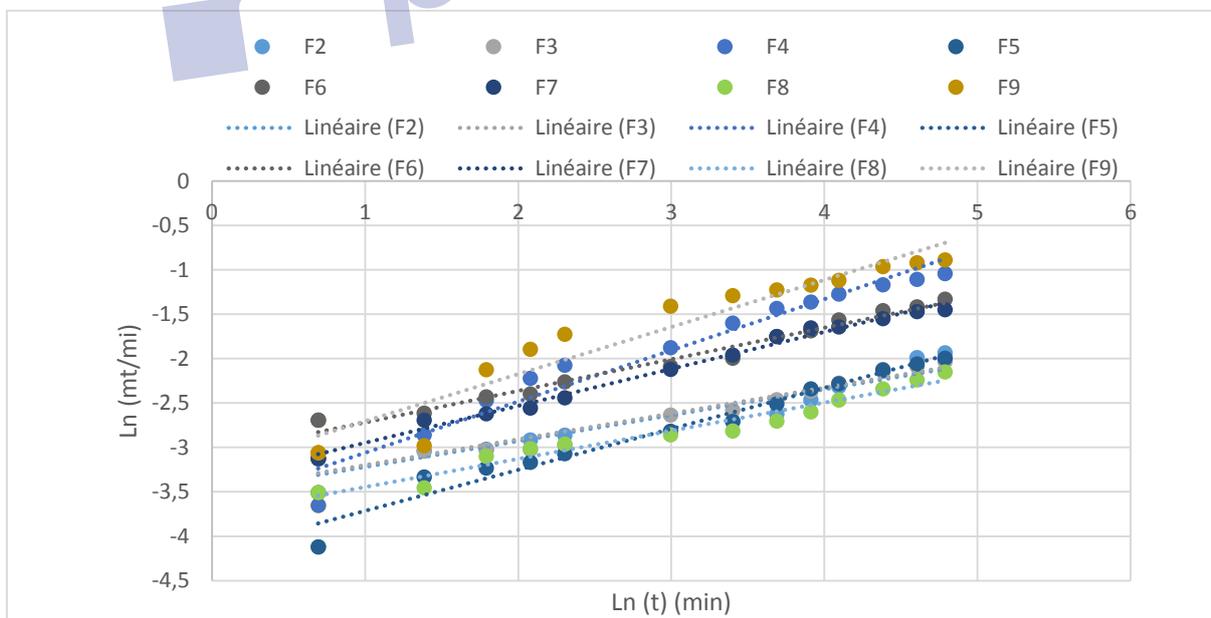
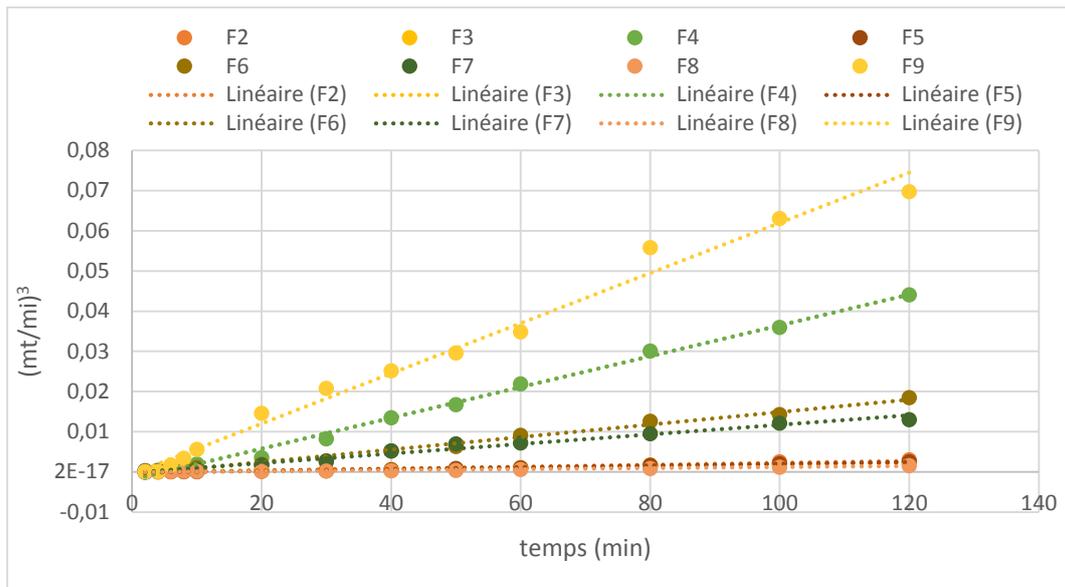
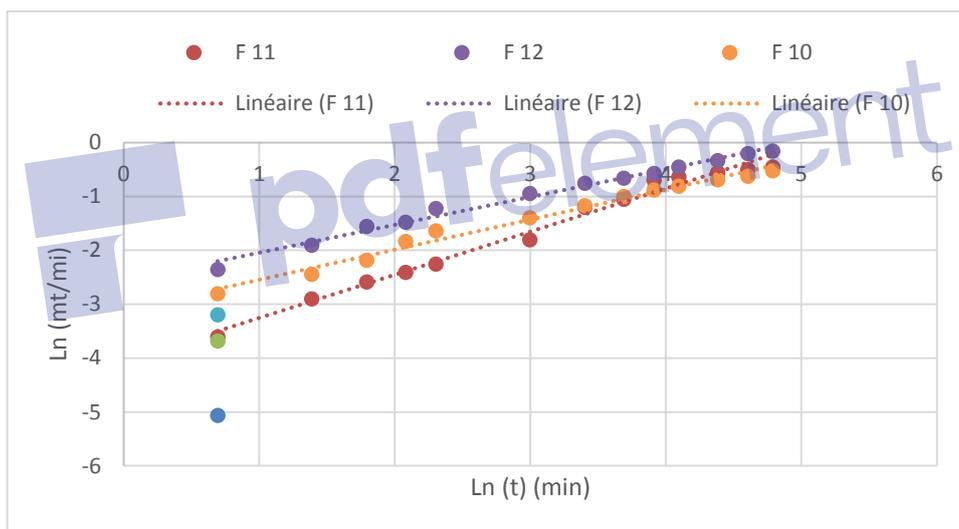


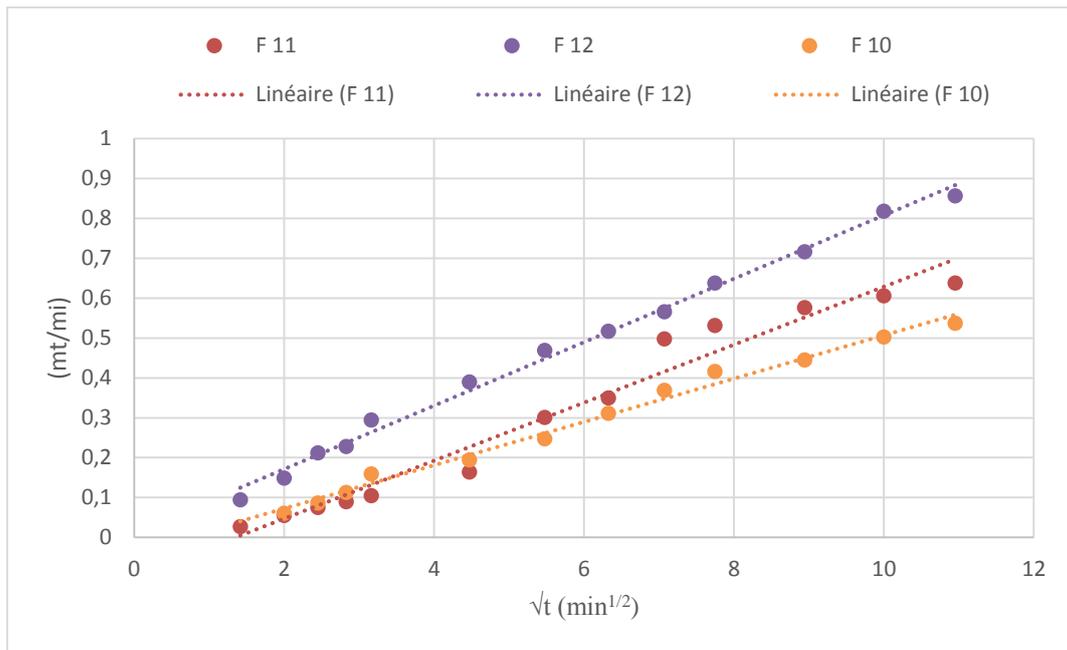
Figure 29: Application du modèle Korsmeyer-P. pour les microsphères (EC/AN:2/1), pH=1,2



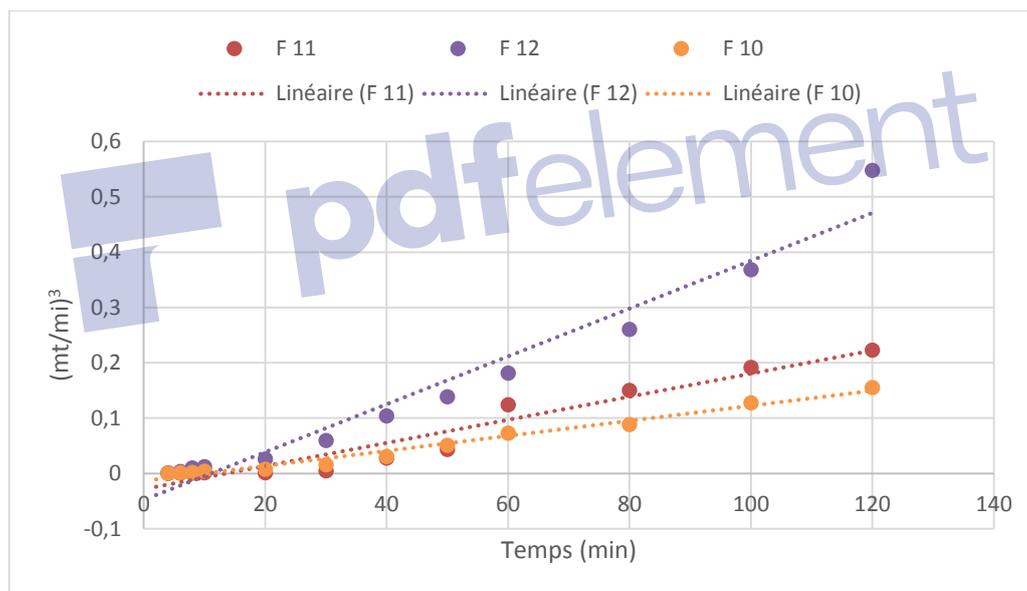
**Figure 30** : Application du modèle de Crowell-H pour les microsphères (EC/AN:2/1), pH=1,2  
**rapport EC/AN : 1/1**



**Figure 31**: Application du modèle Korsmeyer-P. pour les microsphères (EC/AN:1/1), pH=1,2

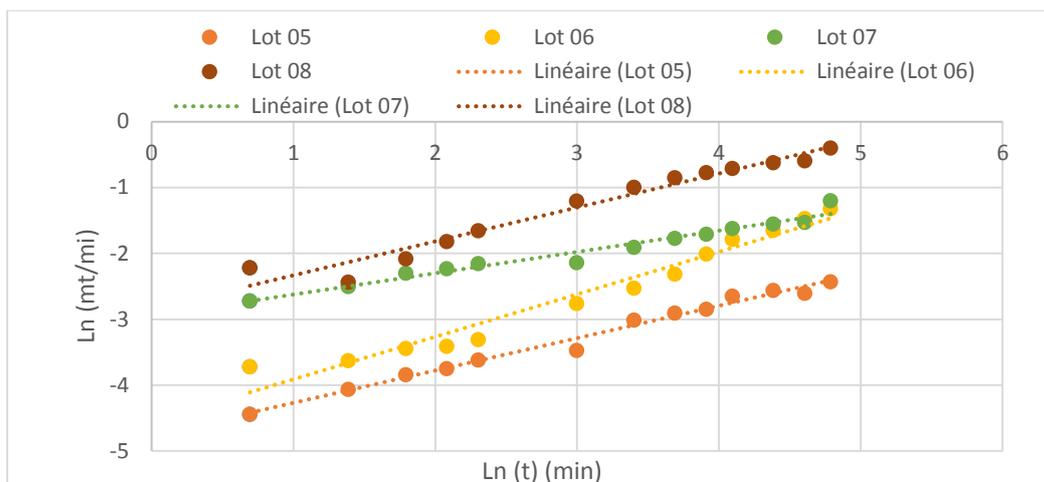


**Figure 32** : Application du modèle d'Higuchi à partir des microsphères (EC/AN:1/1), pH=1,2

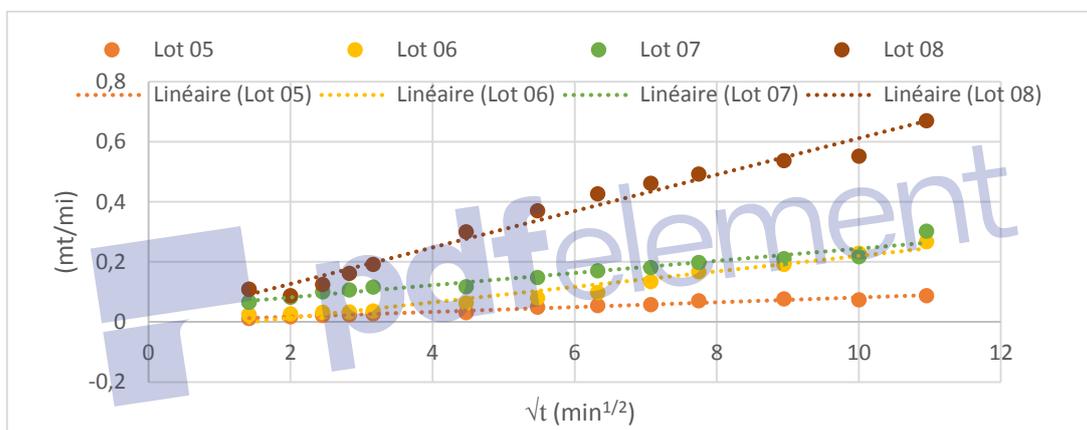


**Figure 33** : Application du modèle de Crowell-H pour les microsphères (EC/AN:1/1), pH=1,2

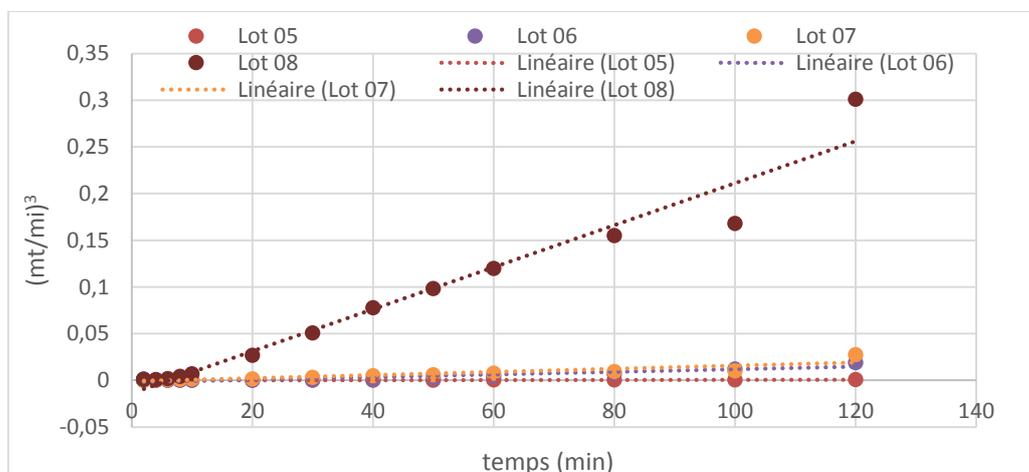
## 2.2 Modélisation mathématiques des microsphères à base d'EC /HPMC, pH=1,2



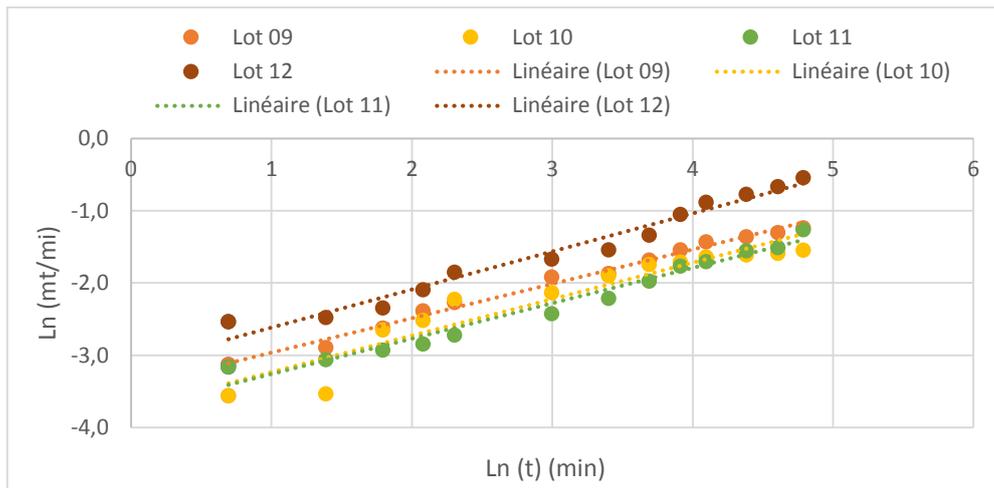
**Figure 34 :** Application du modèle Korsmeyer-P. pour les microsphères des Lot5-Lot8 (EC/HPMC/AN: 2/0.5), pH=1,2



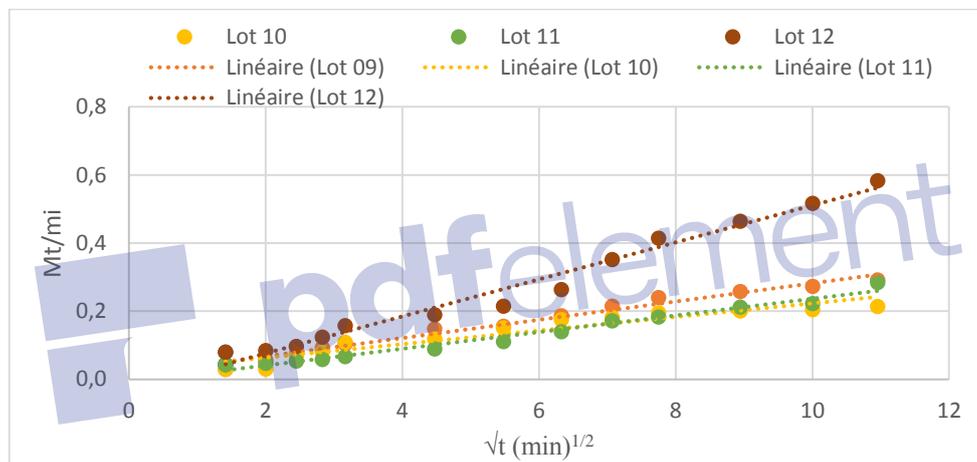
**Figure 35 :** Application du modèle d'Higuchi à partir des microsphères des Lot5-Lot8 (EC/HPMC/AN:2/0.5), pH=1,2



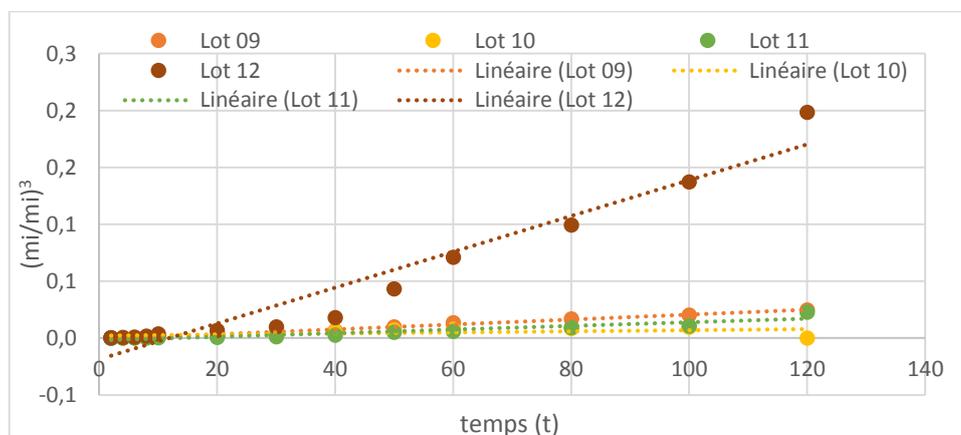
**Figure 36:** Application du modèle de Crowell-H pour les microsphères des Lot5-Lot8 (EC/HPMC/ AN:2/0.5), pH=1,2



**Figure 37** : Application du modèle Korsmeyer-P. pour les microsphères Lot9-Lot12  
(EC/HPMC/AN:2/1), pH=1,2

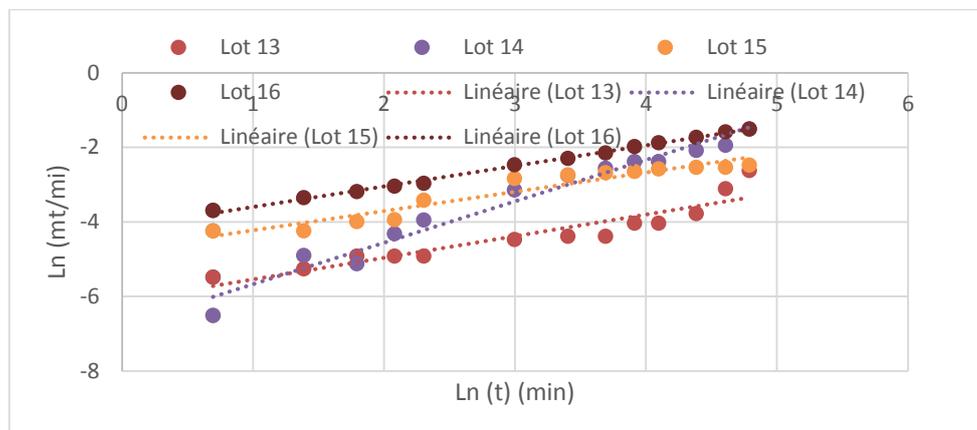


**Figure 38** : Application du modèle d'Higuchi à partir des microsphères des Lot9-Lot12  
(EC/HPMC/AN:2/1), pH=1,2

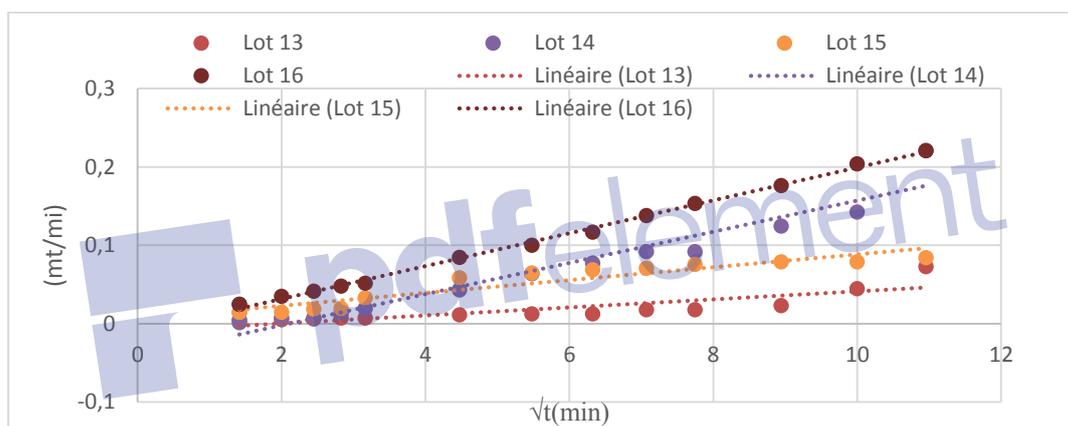


**Figure 39** : Application du modèle de Crowell-H pour les microsphères des Lot9-Lot12  
(EC/HPMC/AN:2/1), pH=1,2

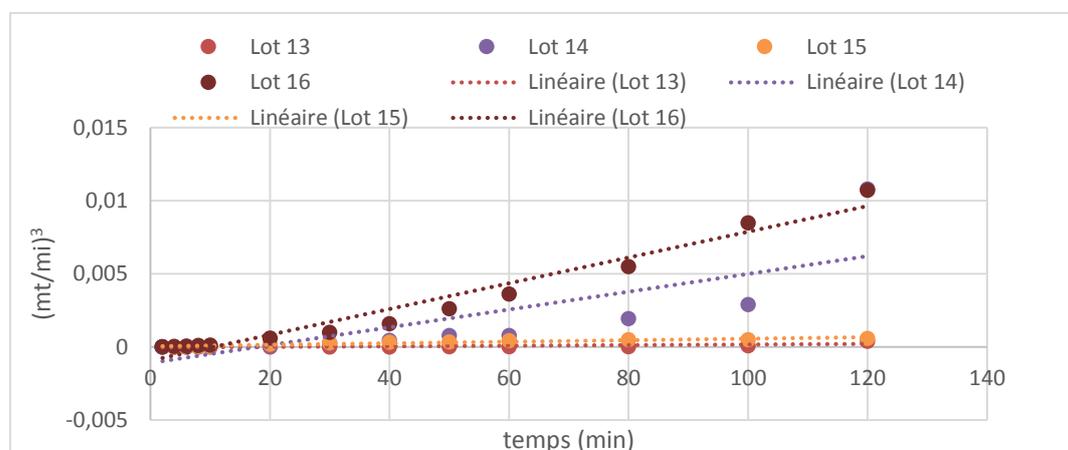
## 2.3 Modélisation mathématiques des microsphères à base d'EC / $\beta$ -CD



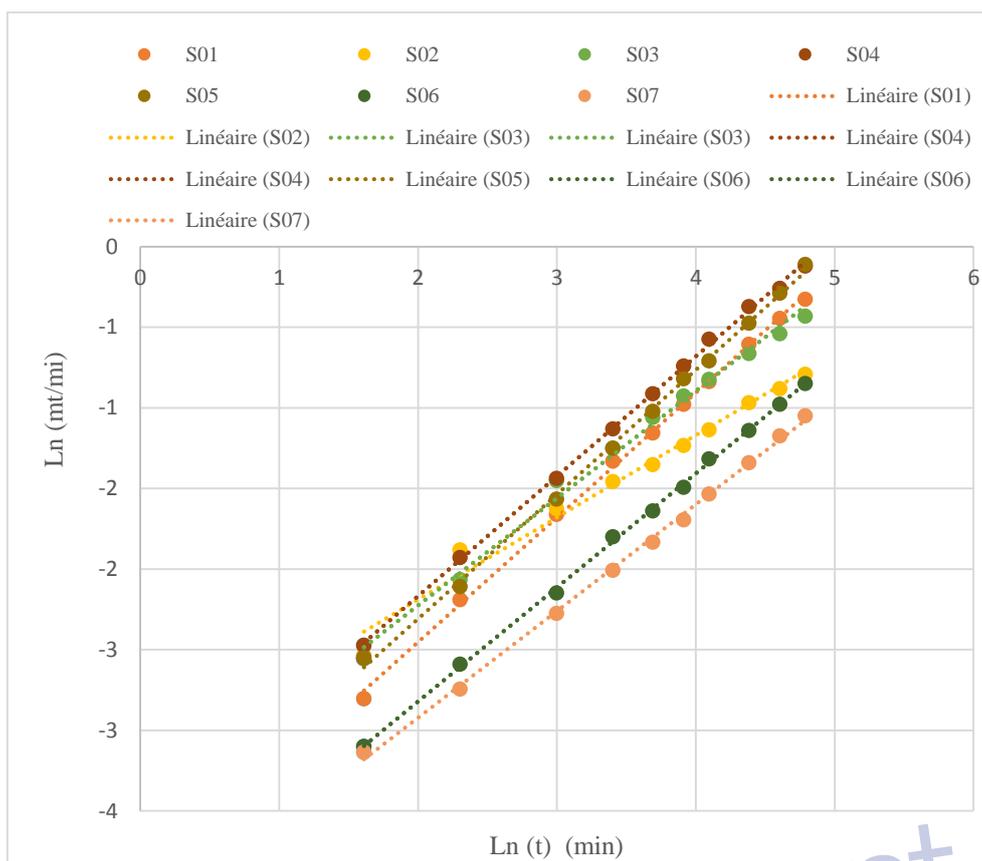
**Figure 40** : Application du modèle Korsmeyer-P. pour les microsphères Lot13-Lot16  
(EC/ $\beta$ -CD/AN:2/0.5), pH=1,2



**Figure 41** : Application du modèle d'Higuchi à partir des microsphères des Lot13-Lot16  
(EC/ $\beta$ -CD/AN:2/0.5), pH=1,2



**Figure 42** : Application du modèle de Crowell-H pour les microsphères des Lot13-Lot16  
(EC/ $\beta$ -CD/AN:2/0.5), pH=1,2



**Figure 43** : Application du modèle Korsmeyer-P. pour les microsphères de chitosane S01-S07  
pH=1,2

### 3. Plan d'expérience

Annex minitabe ec/an1 :1 Plane expereince 2

#### Microspheres EC

##### Full Factorial Design

Factors:	2	Base Design:	2; 4
Runs:	4	Replicates:	1
Blocks:	1	Center pts (total):	0

All terms are free from aliasing.

**Factorial Fit: %T; d10(μm); KH**

**Factorial Fit: %T versus vitesse; EC/AN**

Estimated Effects and Coefficients for %T (coded units)

Term	Effect	Coef
Constant		27,547
vitesse	1,695	0,847
EC/AN	-14,085	-7,042
vitesse*EC/AN	-1,785	-0,893

S = \* PRESS = \*

Analysis of Variance for %T (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	2	201,260	201,260	100,630	*	*
vitesse	1	2,873	2,873	2,873	*	*
EC/AN	1	198,387	198,387	198,387	*	*
2-Way Interactions	1	3,186	3,186	3,186	*	*
vitesse*EC/AN	1	3,186	3,186	3,186	*	*
Residual Error	0	*	*	*		
Total	3	204,446				

### Factorial Fit: d10( $\mu\text{m}$ ) versus vitesse; EC/AN

Estimated Effects and Coefficients for d10( $\mu\text{m}$ ) (coded units)

Term	Effect	Coef
Constant		216,80
vitesse	-42,20	-21,10
EC/AN	-44,80	-22,40
vitesse*EC/AN	37,00	18,50

S = \* PRESS = \*

Analysis of Variance for d10( $\mu\text{m}$ ) (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	2	3788	3788	1894	*	*
vitesse	1	1781	1781	1781	*	*
EC/AN	1	2007	2007	2007	*	*
2-Way Interactions	1	1369	1369	1369	*	*
vitesse*EC/AN	1	1369	1369	1369	*	*
Residual Error	0	*	*	*		
Total	3	5157				

### Factorial Fit: KH versus vitesse; EC/AN

Estimated Effects and Coefficients for KH (coded units)

Term	Effect	Coef
Constant		0,1608
vitesse	-0,2335	-0,1167
EC/AN	0,3009	0,1504
vitesse*EC/AN	-0,2301	-0,1150

S = \* PRESS = \*

Analysis of Variance for KH (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	2	0,14501	0,14501	0,07250	*	*
vitesse	1	0,05450	0,05450	0,05450	*	*
EC/AN	1	0,09051	0,09051	0,09051	*	*
2-Way Interactions	1	0,05292	0,05292	0,05292	*	*
vitesse*EC/AN	1	0,05292	0,05292	0,05292	*	*
Residual Error	0	*	*	*		
Total	3	0,19793				

**Main Effects Plot for %T****Main Effects Plot for d10( $\mu\text{m}$ )****Main Effects Plot for KH****Interaction Plot for %T****Interaction Plot for d10( $\mu\text{m}$ )****Interaction Plot for KH****Contour Plot of %T vs %PVA; Stirring speed****Contour Plot of d10 ( $\mu\text{m}$ ) vs %PVA; Stirring speed****Contour Plot of KH vs %PVA; Stirring speed****Microspheres EC/HPMC****Full Factorial Design**

Factors: 2 Base Design: 2; 4  
 Runs: 4 Replicates: 1  
 Blocks: 1 Center pts (total): 0

All terms are free from aliasing.

**Factorial Fit: %T versus Stirring speed; %HPMC**

Estimated Effects and Coefficients for %T (coded units)

Term	Effect	Coef
Constant		38,2750
Stirring speed	2,1800	1,0900
%HPMC	11,4600	5,7300
Stirring speed*%HPMC	0,5900	0,2950

S = \* PRESS = \*

Analysis of Variance for %T (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	2	136,084	136,084	68,042	*	*
Stirring speed	1	4,752	4,752	4,752	*	*
%HPMC	1	131,332	131,332	131,332	*	*
2-Way Interactions	1	0,348	0,348	0,348	*	*
Stirring speed*%HPMC	1	0,348	0,348	0,348	*	*

Residual Error	0	*	*	*
Total	3	136,432		

Alias Structure  
I  
Stirring speed  
%HPMC  
Stirring speed\*%HPMC

### Factorial Fit: d10 (µm) versus Stirring speed; %HPMC

Estimated Effects and Coefficients for d10 (µm) (coded units)

Term	Effect	Coef
Constant		503,4
Stirring speed	-258,4	-129,2
%HPMC	266,9	133,4
Stirring speed*%HPMC	-61,3	-30,7

S = \* PRESS = \*

Analysis of Variance for d10 (µm) (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	2	138006	138006	69003	*	*
Stirring speed	1	66771	66771	66771	*	*
%HPMC	1	71236	71236	71236	*	*
2-Way Interactions	1	3758	3758	3758	*	*
Stirring speed*%HPMC	1	3758	3758	3758	*	*
Residual Error	0	*	*	*		
Total	3	141764				

Alias Structure  
I  
Stirring speed  
%HPMC  
Stirring speed\*%HPMC

### Factorial Fit: KH versus Stirring speed; %HPMC

Estimated Effects and Coefficients for KH (coded units)

Term	Effect	Coef
Constant		0,038650
Stirring speed	0,030300	0,015150
%HPMC	0,010000	0,005000
Stirring speed*%HPMC	0,016800	0,008400

S = \* PRESS = \*

Analysis of Variance for KH (coded units)

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Main Effects	2	0,0010181	0,0010181	0,0005090	*	*
Stirring speed	1	0,0009181	0,0009181	0,0009181	*	*
%HPMC	1	0,0001000	0,0001000	0,0001000	*	*
2-Way Interactions	1	0,0002822	0,0002822	0,0002822	*	*
Stirring speed*%HPMC	1	0,0002822	0,0002822	0,0002822	*	*
Residual Error	0	*	*	*		

Total 3 0,0013003

Alias Structure

I

Stirring speed

%HPMC

Stirring speed\*%HPMC

**Main Effects Plot for %T**

**Main Effects Plot for d10 ( $\mu\text{m}$ )**

**Main Effects Plot for KH**

**Interaction Plot for %T**

**Interaction Plot for d10 ( $\mu\text{m}$ )**

**Interaction Plot for KH**

**Surface Plot of %T vs %HPMC; Stirring speed**

**Surface Plot of d10 ( $\mu\text{m}$ ) vs %HPMC; Stirring speed**

**Surface Plot of KH vs %HPMC; Stirring speed**

**Contour Plot of %T vs %HPMC; Stirring speed**

**Contour Plot of d10 ( $\mu\text{m}$ ) vs %HPMC; Stirring speed**

**Contour Plot of KH vs %HPMC; Stirring speed**

**Résumé :** Le but de ce travail était de développer une nouvelle forme de dosage pharmaceutique à base de microsphères pour une administration prolongée de l'acide niflumique (AN) en utilisant les techniques de microencapsulation. Des progrès importants dans la technologie de délivrance de médicaments ont été réalisés afin de surmonter le problème des formes conventionnelles (insolubilité des principes actifs, effets indésirables, faible biodisponibilité). Ainsi, le recours à des nouvelles formulations, notamment de produits encapsulés est la stratégie proposée dans cette thèse. Le procédé de l'évaporation de solvant en émulsion simple et le séchage par atomisation ont été utilisés pour la préparation des microsphères à base d'Ethylcellulose, Ethylcellulose/Hydroxypropylméthylcellulose, Ethylcellulose/ $\beta$ -Cyclodextrine et Chitosane. Plusieurs facteurs influençant les propriétés physiques des microsphères ont été étudiés. Les analyses et les techniques suivies pour caractériser les microsphères élaborées étaient : FTIR, UV-VIS, SEM, DRX, DSC, Taille des particules par Microscopie Optique et Diffraction Laser, Potentiel Zeta, Teneur en principe actif, Rendement du procédé de microencapsulation ainsi que les cinétiques et les taux de libération du médicament en milieu gastro-intestinal avec et sans pepsine ou pancréatine. Les diamètres moyens de Sauter ont été calculés et la morphologie aussi bien que la topographie des microsphères ont été évaluées. L'étude par DRX a montré que la cristallinité de l'AN n'a pas été complètement perdue après l'encapsulation par les deux procédés. Les microsphères exhibent des libérations prolongées et une meilleure solubilité de l'AN a été obtenue pour le complexe d'inclusion avec la  $\beta$ -cyclodextrine. Les microsphères à base d'Ethylcellulose ont suivi la cinétique du modèle Crowell-Hixson, Higuichi et Korsmeyer-Peppas. Pour le modèle de Korsmeyer-Peppas il a été approprié pour les microsphères à base de chitosane dont le mécanisme de biodégradation n'est pas bien élucidé. Toutes les analyses montrent qu'avec les deux méthodes, les paramètres du processus n'entraînent aucun changement structurel de l'acide niflumique. Le plan d'expériences a été utilisé pour évaluer les interactions entre des variables choisies à l'aide du logiciel Minitab 16.1.

**Mots Clés :** Microencapsulation, Acide niflumique, Evaporation de solvant, Séchage par atomisation, Libération contrôlée, Plan d'expériences, Polymères naturels.

**Summary:** The aim of this work was to develop a new microsphere-based pharmaceutical dosage form for extended administration of niflumic acid (NA) using microencapsulation techniques. Significant advances in drug delivery technology have been made to overcome the problem of conventional forms (insolubility of drugs, adverse effects, low bioavailability). Thus, the use of new formulations, including encapsulated products is the strategy proposed in this theses. The process of simple emulsion solvent evaporation and spray drying were used for the preparation of the microspheres based on Ethylcellulose, Ethylcellulose / Hydroxypropylmethylcellulose, Ethylcellulose / $\beta$ -cyclodextrin and Chitosan. Several factors influencing the physical properties of the microspheres have been studied. . The analyzes and techniques used to characterize the microspheres developed were: FTIR, UV-VIS, SEM, DRX, DSC, particle size by optical microscopy and laser diffraction, Zeta potential, active ingredient content, yield of the microencapsulation process as well as kinetics and drug release rates in the gastrointestinal tract with and without pepsin or pancreatin. . Sauter average diameters were calculated and the morphology as well as the topography of the microspheres were evaluated. The XRD study showed that the crystallinity of the NA was not completely lost after encapsulation by both methods. The microspheres exhibited prolonged releases and better solubility of NA was obtained for the inclusion complex with  $\beta$ -cyclodextrin. Ethylcellulose based microspheres followed the kinetics of the Crowell-Hixson, Higuichi and Korsmeyer-Peppas models. For the Korsmeyer-Peppas model it was suitable for chitosan microspheres whose biodegradation mechanism is not well understood All analyzes show that with both methods, the process parameters do not cause any structural change in niflumic acid. The experimental design was used to evaluate the interactions between selected variables using the Minitab 16.1 software.

**Keywords:** Microencapsulation, Niflumic acid, Evaporation of solvent, Spray drying, Controlled release, Design of Experiments, Natural polymers.

**ملخص:** كان الهدف من هذا العمل هو تطوير شكل جرعة دوائية جديدة تعتمد على الكريات المجهرية من أجل جرعات طويلة لحمض اسيد النفلوميك باستخدام تقنيات الكبسلة الدقيقة. تم إحراز تقدم كبير في تكنولوجيا توصيل الأدوية للتغلب على الأشكال التقليدية (عدم قابلية الذوبان للمكونات النشطة، الآثار الضارة، التوافر البيولوجي المنخفض). وبالتالي، فإن استخدام تركيبات جديدة، بما في ذلك المنتجات المغلفة هو ما تم اتباعه كاستراتيجية في هذه الرسالة. تم استخدام عملية التبخر البسيط لمذيب المستحلب والتجفيف بالرش لتحضير الكريات المجهرية على أساس إيثيل سلولوز، إيثيل سلولوز / هيدروكسي بروبيل ميثيل سلولوز، إيثيل سلولوز /  $\beta$ -سيكلودكسترين و الكيتوزان. تم دراسة العديد من العوامل التي تؤثر على الخواص الفيزيائية للكريات المجهرية. كانت التحليلات والتقنيات المستخدمة لوصف الكريات المجهرية المصنعة: FTIR، UV-VIS، SEM، DRX، DSC، حجم الجسيمات بواسطة المجهر الضوئي و بالليزر الحيود، إمكانيات زيتنا، محتوى المكون النشط، إنتاجية عملية الكبسلة وكذلك الحركية ومعدلات تحرير الدواء في الجهاز الهضمي مع وبدون البيبسين أو البنكرياتين. تم حساب متوسط أقطار سوتر وتقييم المساحة السطحية وطوبوغرافيا الكريات المجهرية. أظهرت الدراسة بواسطة DRX ان تبلور الاسيد نفلوميك لم يتم فقده كليا بعد عملية الكبسلة في كلتا الحالتين. تظهر الكريات المجهرية تحرير طويل وذوبان جيد للدواء مع مركب بيتا سيكلودكسترين. اتبعت الكريات المجهرية القائمة على ائيل سلولوز نموذج الحركية Crowell-Hixson، Higuichi و Korsmeyer-Peppas اما نموذج الحركية Korsmeyer-Peppas فهو الملائم للكريات المجهرية القائمة على الكيتوزان ذو الية التحلل الغير الواضحة. جميع التحاليل وبالطريقتين توضح، المتغيرات التقنية لا تضر أي تغيير شكلي في اسيد النفلوميك. تم استخدام التصميم التجريبي لتقييم التفاعلات بين المتغيرات المختارة بواسطة برنامج المينيتاب 16.1.

**الكلمات المفتاحية:** الكبسلة، حمض النفلوميك، تجزير المذيبات، التجفيف بالرش، الإطلاق المتحكم فيه، التصميم التجريبي، المبلمرات الطبيعية.