

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
UNIVERSITE SAAD DAHLAB-BLIDA



DEPARTEMENT DE CHIMIE INDUSTRIELLE

THESE DE DOCTORAT

En Chimie Industrielle
Spécialité : **Génie des Procédés**

Thème

**Formulation de systèmes bioadhésifs à base de polymères
Etude des propriétés physicochimiques et biopharmaceutiques**

Présentée par :

Sonia LEFNAOUI

Soutenu devant le jury composé de

Mr A. Aouabed	Professeur	Univ-Blida	Président
Mr Dj. El-Hadi	MCA	Univ-Blida	Examineur
Mr M.Nabiev	Professeur	Univ- Boumerdés	Examineur
Mr M.Announ	MCA	Univ-Medea	Examineur
Mr N.Moulai-Mostefa	Professeur	Univ-Medea	Directeur de thèse

Blida, Mars 2014

Résumé

Un nouveau système bioadhésif à usage buccal à base de matrice hydrophile a été mis au point à partir d'un mélange de biopolymères, l'amidon prégelatinisé (APG) et le kappa carraghénane (KC). L'étude de préformulation a montré que les gels mixtes obtenus présentaient des capacités bioadhésives performantes et une libération prolongée du principe actif (Miconazole). La mise au point d'une formule optimale a été obtenue en utilisant les plans d'expériences. Le plan Box Behnken nous a permis d'étudier les effets des facteurs sur les réponses étudiées. La formule optimale à base de 7% d'APG, 0.6% de KC, 71.74% de Glycérol et 1.82% de Tween 80 a donné une force de détachement maximale de 54g, un temps moyen de libération de 55min et un taux de libération précoce de 12,61% pendant les dix premières minutes. La modification de l'APG a été réalisée par une réaction d'éthérisation. L'étude de l'effet de la concentration en NaOH sur le rendement, le degré de substitution (DS), et la morphologie du carboxyméthyl amidon (CMA) obtenu ont été étudiés. Une concentration en NaOH de 30% p/v a donné un DS optimal de 0.34 avec un rendement de 98.98%. La fonctionnalisation du KC a été réalisée via le procédé de carboxyméthylation pour produire le Carboxyméthyl kappa carraghénane (CMKC) avec un rendement de 99.2%. Un rapport molaire optimal d'acide monochloroacétique (MCA) et KC de 2.5 a donné un DS optimal de 1.2. Un complexe polyélectrolyte (PEC) a été obtenu par une réaction de l'Eudragit RL (ERL) avec le CMKC. L'optimisation du rapport massique (ERL:CMKC) de la complexation obtenu par deux méthodes (turbidimétrie et Viscosimétrie) confirme un rapport de complexation optimal de (7:3). La formulation de comprimés bioadhésifs à base de Miconazole est composée principalement de PEC et CMA. Les profils de dissolution sont ajustés à des modèles mathématiques montrant une libération prolongée du principe actif. Ces systèmes matriciels monolithiques libèrent le principe actif avec une cinétique avoisinant l'ordre zéro. Les résultats indiquent que les profils de libération pourraient être contrôlés en modifiant le taux de PEC dans les comprimés.

Mots clés : Kappa Carraghénane, Amidon prégelatinisé, gels, modification chimique, complexe polyélectrolytes, comprimés, bioadhésion, libération prolongée, Miconazole, RSM, optimisation.

Abstract

A new bioadhesive system for buccal use, based on hydrophilic matrix has been developed from a blend of two biopolymers: pregelatinized Starch (APG) and Kappa Carrageenan (KC). The preformulation study showed that the gels obtained from the mixture of APG and KC exhibit effective bioadhesive ability and provides a prolonged release of the active ingredient (Miconazole). The development of an optimal formula was obtained using an experimental design. The Box Behnken plan allowed us to study the effects of factors on the responses. The optimal formula based on 7% of APG, 0.6% KC, 71.74% Glycerol and 1.82% Tween 80 gave a maximum detachment force of 54g, an average release time of 55min and burst release of 12.61% during the first ten minutes. The modification of the APG was performed by an etherification reaction. The study of NaOH concentration effect on the yield, the degree of substitution (DS), and the morphology of carboxymethyl starch (CMA) obtained was studied. An optimal DS of 0.34 with a yield of 98.98% were obtained with NaOH concentration of 30% w / v. Functionalization of KC was performed using the carboxymethylation process to produce carboxymethyl kappa carrageenan (CMKC) with a yield of 99.2%. An optimal molar ratio of monochloroacetic acid (MCA) and KC equal to 2.5 gave an optimal DS of 1.2. A polyelectrolyte complex (PEC) was obtained by a reaction of Eudragit RL (ERL) with CMKC. The optimization of (ERL: CMKC) mass ratio of complexation obtained by two methods (turbidimetry and viscosimetry) confirmed an optimal mass ratio of complexation equivalent to (7:3). The formulation of bioadhesive tablets containing Miconazole is mainly composed of PEC and CMA. The dissolution profiles are adjusted to mathematical models showing a prolonged release of the active ingredient. These monolithic matrix systems release the active ingredient following a kinetic rate close to zero order. The results indicate that the release profiles could be controlled by the variation of PEC level in the tablets.

Keywords: Kappa Carrageenan, Pregelatinized starch, gels, chemical modification, polyelectrolyte complex, tablets, bioadhesion, prolonged release, Miconazole, RSM, optimization.

ملخص

لقد تم تطوير نظام لاصق حيوي جديد للاستعمال عن طريق الفم يقوم على استخدام مصفوفة ماء مكونة من خليط من البوليمرات الحيوية، النشا المعالج حرارياً (APG) و الكابا كاراجينان (KC). أظهرت الدراسة الأولية أن المواد الهلامية التي تم الحصول عليها لها قدرة عالية للالتصاق الحيوي وانحلال بطيء للعنصر النشط (ميكونازول). تم الحصول على الصيغة الأمثل باستخدام التصميم التجريبي. وقد سمحت الخطة بكس بنكن دراسة آثار العوامل على الردود التي شملتها الدراسة. الصيغة الأمثل المتحصل عليها تتكون من 7% APG، 0.6% KC، 71.74% الجلوسرين و 1.82% نوبين 80 أظهرت قوة لاصق حيوي اقصى قدرها 54غ، متوسط زمن الإفراج للعنصر النشط قدره 55د ومعدل الإفراج المبكر 12.61% في الدقائق العشرة الأولى. اجري التعديل الكيميائي للنشاء بواسطة تفاعل كربوكسميثيلي. و قد تمت دراسة تأثير تركيز هيدروكسيد الصوديوم على المردود، درجة الاستبدال (DS)، وشكل الكربوكسمتيل نشاء (CMA) المتحصل عنه. تركيز 30% للهيدروكسيد الصوديوم تعطى DS الأمثل يساوي 0.34 بمردود 98.98%. تم إجراء التعديل الكيميائي KC لإنتاج كاربوكسميثيل كابا الكاراجينان (CMKC) بمردود 99.2%. النسبة المولية الأمثل بين حمض الكلورواستيك (MCA) و KC تساوى 2.5 أعطى DS مثالي يساوي 1.2. تم الحصول على مجمع متضاعف الكتروليتي (PEC) من تفاعل Eudragit RL (ERL) و CMKC. تمت دراسة النسبة الكتلية الأمثل بين ERL و CMKC بطريقتين (قياس العكر ومقياس درجة اللزوجة) اكدت ان النسبة الأمثل بين (ERL:CMKC) هي (7:3). و تم صياغة أقراص للالتصاق الحيوي تحتوي على الميكونازول مكونة أساساً من PEC و CMA. تم تعديل نتائج حل المكونازول بنماذج رياضية تبين انحلال بطيء للعنصر النشط. هذه النظم المصفوفة متجانسة الانحلال للعنصر النشط مع اقتراب سرعة الانحلال نظام الصفر. وتشير النتائج إلى أننا يمكننا التحكم في سرعة الانحلال عن طريق تغيير نسبة PEC في الأقراص.

كلمات مفاتيح: كابا كاراجينان، النشا المعالج حرارياً، المواد الهلامية، التعديل الكيميائي، متضاعف الكتروليتي، الأقراص، الالتصاق الحيوي، الانحلال البطيء، ميكونازول، التصميم التجريبي، الامتلية.

Remerciements

Je tiens au travers de ces quelques mots à exprimer ma gratitude et ma reconnaissance a toutes les personnes grâce auxquelles j'ai tant appris, et qui ont cru en moi, m'ont soutenu et ont permis a ce modeste travail de voir enfin le jour. Je tiens à ce que chacune d'entre elles trouve ici l'expression d'un hommage sincère.

A l'heure du bilan, Je tiens sincèrement à apporter toute ma reconnaissance a mon directeur de thèse : Mr NADJI MOULAI-MOSTEFA, Professeur à l'université de Médéa, pour m'avoir encadré, merci profondément pour tous vos conseils très enrichissants, votre totale disponibilité et parfaite écoute. Votre confiance en moi m'a permis d'aller de l'avant.

Je remercie vivement Mr A. Aouabed, Professeur à l'université de Blida d'avoir accepté de présider mon jury. Je remercie également Mr Dj. El-Hadi, Maître de conférences à l'université de Blida, Mr M. NABIEV, Professeur à l'université de Boumerdès, et Mr M. Announ, Maître de conférences à l'université de Médéa, d'avoir pris le temps d'examiner ce modeste travail.

J'adresse mes remerciements à Mr A.E.K. Hadj-Sadok, Maître de conférences à l'université de Blida, pour son aide et son savoir faire à chaque fois que je le sollicite.

Les travaux de recherche présentés dans cette thèse ont été réalisés au sein du laboratoire de contrôle qualité de l'unité Antibiotical du groupe Saïdal, ainsi qu'au centre de recherche et développement (CRD-Saïdal), et l'unité BIOTIC- Saïdal. Je les remercie vivement pour toute l'aide qu'ils m'ont apporté.

Je ne saurai oublier de remercier les responsables du laboratoire de matériaux et environnement, pour m'y avoir accueilli et la confiance qu'ils m'ont accordé au cours de toutes ses années.

Pour leur contribution a cette étude, j'associe à ces remerciements, d'une part le personnel du laboratoire d'analyse au rayonnement du CRD- SONATRACH, et d'autre part le personnel du laboratoire d'analyse microscopique de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

Je ne saurai oublier tous les membres du Hall technologique de l'université de Médéa, un grand merci à tous.

J'adresse aussi un grand merci à vous mes amies intimes et fidèles.

Enfin j'aimerais dédier cette thèse à ma famille en général, et mes parents et beaux parents en particulier pour m'avoir soutenu et encouragé tout au long de mes études.

Je ne remercierai jamais assez mon mari Zoubir et nos adorables enfants Med Amine et Lydia-Sarah pour être toujours à mes côtés, Merci de m'avoir supportée et surtout de m'apporter soutien et amour tous les jours.

S. Lefnaoui-Kerrache

TABLE DES MATIERES

RESUME	
REMERCIEMENTS	
TABLES DES MATIERES	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES FIGURES	
SYMBOLES ET ABREVIATIONS	
INTRODUCTION GENARALE	1
CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
I.1. INTRODUCTION.....	6
1.2. STRUCTURE DE LA MUQUEUSE BUCCALE.....	7
1.2.1. Mucus : Structure, fonction et la composition.....	7
1.2.2. Perméabilité de la muqueuse buccale.....	8
1.2.3. La muqueuse buccale en tant que cite de libération de principe actif....	8
1.2.4. Perméabilité des principes actifs à travers la muqueuse buccale	8
1.2.5. Les formes galéniques pour usage buccale	9
1.2.6. Avantages et limites de l'administration de médicaments par voie buccale.	9
1.3. BIOADHESION ET MUCOADHESION.....	10
1.3.1. Théories de la mucoadhesion.....	10
1.3.1.1. Théorie du mouillage.....	10
1.3.1.2. Théorie électrostatique.....	11
1.3.1.3. Théorie de la diffusion	11
1.3.1.4. Théorie de l'adsorption	12
1.3.2. Administration de médicaments par voie buccale et mucoadhesion	12
1.3.3. Facteurs influant la mucoadhésion dans la cavité buccale.....	12
1.3.3.1. Facteurs environnementaux.....	13
1.3.3.2. Facteurs liés à la formulation	13
1.3.3.3. Facteurs liés aux polymères	13
1.3.4. Classification des polymères bioadhésifs	16
1.3.4.1. Polymères bioadhésifs de première génération	17
1.3.4.2. Polymères bioadhésifs de seconde génération	18
1.3.5. Caractérisation de la bioadhésion	18
1.3.5.1. Méthodes in vitro	18
1.3.5.2. Méthodes in vivo	19
1.4. LES POLYMERES BIOADHESIFS ETUDIES.....	19
1.4.1. Kappa carraghénane.....	20
1.4.1.1. Structure des carraghénanes.....	20
1.4.1.2. Classification des carraghénanes.....	21

1.4.1.3. Propriétés des carraghénanes.....	22
1.4.1.4. Mécanisme de gélification des carraghénanes	23
1.4.1.5. Régime dilué et semi-dilué d'une solution de κ -carraghénane.....	26
1.4.1.6. Modification chimiques du kappa carraghénane.....	27
1.4.1.7. Utilisations des carraghénanes en pharmacie	28
1.4.2. Amidon de Mais prégelatinisé.....	29
1.4.2.1. Structures et composition des granules d'amidon de maïs.....	29
1.4.2.2. Organisation structurale des granules de l'amidon.....	30
1.4.2.3. Modifications structurales des amidons lors des traitements Thermiques.....	31
1.4.2.4. Modification chimique de l'amidon.....	31
1.5. LES GELS BIOADHESIFS.....	33
1.5.1. Définition	33
1.5.1.1. Gels physiques.....	34
1.5.1.2. Gels chimiques	34
1.5.2. Transition sol-gel.....	35
1.5.3. Structure du réseau polymérique.....	35
1.5.3.1. Structure réticulée.....	36
1.5.4. Paramètre de gonflement	36
1.5.4.1. Fraction volumique du polymère.....	36
1.5.4.2. Poids moléculaire entre deux points de réticulation.....	37
1.5.4.3. Taille de la maille.....	37
1.5.4.4. Signification de la taille de la maille.....	37
1.5.5. Gels polyelectrolytes.....	38
1.5.5.1. Les Polyélectrolytes	39
1.5.6. Pression de gonflement.....	40
1.5.6.1. Réseau neutre.....	40
1.5.6.2. Réseau polyélectrolyte	41
1.5.7. Gélification et gels de systèmes mixtes de biopolymères.....	42
1.5.8. Formation de complexes polyélectrolytes.....	43
1.6. LES SYSTEMES A LIBERATION CONTROLEE A PARTIR DE GELS DE BIOPOLYMERES.....	44
1.6.1. Mécanisme de libération à partir des matrices hydrophile d'hydrogels ...	45
1.7. CONCLUSION.....	47

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

2.1. INTRODUCTION.....	48
2.2. MATERIEL.....	48
2.2.1. Principe actif.....	48
2.2.2. Excipients.....	49
2.2.3. Réactifs.....	50
2.2.4. Appareillages.....	51
2.3. PREFORMULATION.....	52
2.3.1. Préparation des gels de base	52
2.3.2. Préparation des gels mucoadhésifs avec principe actif	52
2.3.3. Préparation des milieux de dissolution utilisés.....	53
2.3.4. Mise au point de la méthode de dosage du principe actif par Spectrophotométrie UV-Vis.....	53
2.3.5. Détermination de la solubilité du principe actif dans le milieu PBS pH=6.75	54
2.3.6. Détermination du coefficient de partage	54
2.3.7. Dosage du Miconazole dans les gels bioadhésifs	54
2.3.8. Détermination du pH des gels	55
2.3.9. Détermination des taux de gonflement des gels	55
2.3.10. Détermination des taux d'érosion des gels	56
2.3.11. Détermination des propriétés bioadhésives des gels	56
2.3.12. Tests de libération du Miconazole à partir des hydrogels.....	57
2.4. FORMULATION D'UN GEL BIOADHESIF.....	58
2.4.1. Préparation des gels mucoadhésifs	59
2.4.2. Dosage du contenu des gels en principe actif.....	59
2.4.3. Détermination du pH des gels.....	59
2.4.4. Détermination des propriétés bioadhésives des gels in-vitro.....	59
2.4.5. Gonflement et Erosion des gels	59
2.4.6. Etude de la biodisponibilité In vitro	60
2.4.7. Analyse des données de la biodisponibilité.....	60
2.4.8. Plan d'expériences, analyse et optimisation.....	60
2.5. MODIFICATION CHIMIQUE DE L'AMIDON PREGELATINISE	62
2.5.1. Réaction de Carboxyméthylation de l'amidon.....	63
2.5.2. Analyses Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR).....	64
2.5.3. Degré de substitution (DS)	64
2.5.3.1. La conversion du CMA(Na) en CMA(H)	64
2.5.4. Microscopie électronique à balayage (MEB).....	65
2.5.5. Diffraction aux rayons X (DRX).....	65
2.5.6. Caractérisation pharmaco technique du CMA	66
2.5.6.1. Densités vrac et après tassement	66
2.5.7. Evaluation des propriétés rhéologiques du CMA	66

2.6. MODIFICATION CHIMIQUE DU KAPPA CARRAGHENANE.....	67
2.6.1. Réaction de Carboxyméthylation de κ -Carraghénane.....	67
2.6.2. Analyses Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR).....	68
2.6.3. Degré de substitution (DS).....	68
2.6.4. Caractérisation de la poudre de CMKC	69
2.6.4.1. Densité vrac	69
2.6.4.2. Densité réelle	69
2.6.4.3. Porosité et volume des pores	69
2.6.5. Microscopie électronique à balayage (MEB).....	70
2.6.6. Diffraction aux rayons X (DRX).....	70
2.6.7. Détermination de la masse moléculaire moyenne.....	70
2.6.8. Capacité d'absorption d'eau et de rétention de l'humidité	72
2.6.8.1. Test d'absorption d'humidité	72
2.6.8.2. Test de rétention d'humidité.....	72
2.6.9. Evaluation des propriétés rhéologiques du CMKC	73
2.6.10. Evaluation de l'activité antibactérienne de CMKC	73
2.7. SYNTHESE ET CARACTERISATION D'UN COMPLEXE	
 POLYELECTROLYTE POUR COMPRIMES BIOADHESIFS.....	74
2.7.1. Mesure de la turbidité des mélanges de polymères.....	76
2.7.2. Mesure de la viscosité.....	76
2.7.3. Synthèse du complexe polyélectrolyte (PEC).....	77
2.7.4. Analyses Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR).....	77
2.7.5. Microscopie électronique à balayage (MEB).....	77
2.7.6. Préparation des comprimés bioadhésifs.....	77
2.7.7. Evaluation des caractéristiques du mélange pulvérulent avant compression.....	78
2.7.7.1. Taux d'humidité des mélanges pulvérulents.....	78
2.7.7.2. Densités vrac et après tassement	78
2.7.7.3. Test d'écoulement	78
2.7.7.4. Test de tassement	79
2.7.7.5. Répartition granulométrique des mélanges pulvérulents	79
2.7.8. Compression et évaluation des caractéristiques des comprimés	79
2.7.9. Uniformité du dosage du principe actif par HPLC.....	80
2.7.10. pH de la surface des comprimés.....	80
2.7.11. Evaluation de la bioadhésion des comprimés.....	81
2.7.12. Tests de gonflement et d'érosion.....	81
2.7.13. Etude de la dissolution in Vitro	81
2.7.14. Etude comparative de la diffusion de comprimés et de gels bioadhésifs formulés.....	81

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. INTRODUCTION.....	84
3.2. PREFORMULATION.....	84
3.2.1. Solubilité et coefficients de partage du principe actif.....	84
3.2.2. Détermination de la longueur d'onde optimale d'absorption du Miconazole par spectrophotométrie UV-Vis.....	84
3.2.3. Détermination du pH et dosage du titre en principe actif par HPLC ...	86
3.2.4. Propriétés bioadhésives des gels.....	89
3.2.5. Etude du gonflement des gels	91
3.2.5.1. Etude du gonflement des gels à base de KC	91
3.2.5.2. Etude du gonflement des gels à base d'APG	91
3.2.5.3. Etude du gonflement des gels à base d'APG et de KC.....	91
3.2.5.4. Influence du milieu de dissolution sur le gonflement des gels	93
3.2.5.5. Mécanisme de gonflement des polymères.....	97
3.2.6. Etude de l'érosion des gels.....	98
3.2.7. Taux de libération du PA à partir des hydrogels.....	99
3.2.8. Conclusion	103
3.3. FORMULATION DU GEL BIOADHESIF.....	104
3.3.1. Dosage du principe actif et évaluation du pH des gels.....	104
3.3.2. Etude de la bioadhésion des gels.....	104
3.3.3. Etude du gonflement et érosion des gels	106
3.3.4. Etude de la libération du principe actif in vitro.....	107
3.3.5. Analyse des courbes en surfaces de réponses et en 3D	109
3.3.6. Analyse statistique.....	113
3.3.7. Sélection et validation de la formule optimale.....	116
3.3.8. Caractérisation de la formule optimale.....	118
3.3.9. Conclusion	120
3.4. MODIFICATION CHIMIQUE DE L'AMIDON PREGELATINISE.....	121
3.4.1. Influence du DSt sur le DS et le rendement de substitution.....	121
3.4.2. Influence du temps de la réaction sur le DS.....	122
3.4.3. Influence de la température de la réaction sur le DS.....	122
3.4.4. Influence de la concentration en NaOH sur la réaction de Carboxyméthylation	123
3.4.5. Infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	125
3.4.6. Morphologie du grain de CMA.....	125
3.4.7. Diagrammes de diffraction des rayons X de l'APG et CMA	128
3.4.8. Caractérisation pharmaco technique du CMA	129
3.4.8.1. Densités vrac et après tassement	129
3.4.9. Evaluation des propriétés rhéologiques du CMA	130
3.4.10. Conclusion.....	131

3.5. MODIFICATION CHIMIQUE DU KAPPA CARRAGHENANE.....	131
3.5.1. Degré de substitution (DS).....	131
3.5.2. Caractérisation du CMKC par FTIR.....	132
3.5.3. Morphologie des grains de KC et CMKC.....	134
3.5.4. Diagrammes de diffraction des rayons X de KC et CMKC.....	136
3.5.5. Evaluation de la viscosité apparente	136
3.5.6. Propriétés physiques du CMKC.....	138
3.5.7. Capacité d'absorption et de rétention de l'humidité	138
3.5.8. Mesures viscosimétriques et estimation de la masse moléculaire (M_w)	140
3.5.9. Résultats de l'activité antibactérienne du CMKC.....	141
3.5.10. Conclusion.....	143

3.6. SYNTHESE ET CARACTERISATION D'UN COMPLEXE

POLYELECTROLYTE POUR COMPRIMES BIOADHESIFS.....	143
3.6.1. Introduction.....	143
3.6.2. Mesure de la turbidité des mélanges de polymères.....	144
3.6.3. Mesure de la viscosité spécifique des mélanges de polymères.....	145
3.6.4. Caractérisation du PEC par FTIR.....	146
3.6.5. Microscopie électronique à balayage (MEB).....	148
3.6.6. Evaluation des caractéristiques du mélange pulvérulent avant compression.....	149
3.6.7. Evaluation des caractéristiques des comprimés bioadhésifs.....	151
3.6.8. Tests de gonflement et d'érosion.....	152
3.6.9. Etude de la bioadhésion des comprimés.....	155
3.6.10. Etude de la dissolution in Vitro	155
3.6.11. Etude comparative de la diffusion des comprimés et des gels bioadhésifs	158
3.6.12. Conclusion.....	160

CONCLUSION GENERALE.....	162
---------------------------------	------------

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1. Excipients pharmaceutiques utilisés.....	49
Tableau 2.2. Matériel et Réactifs microbiologiques.....	50
Tableau 2.3. Réactifs, solvants et produits chimiques.....	50
Tableau 2.4. Les variables indépendantes et leurs niveaux pour le plan Box- Behnken.....	60
Tableau 2.5. Matrices d'expériences du model Box- Behnken.....	61
Tableau 2.6. Classification de la poudre selon son pouvoir d'écoulement et de cohésion basée sur les valeurs de CI et HR.....	66
Tableau 2.7. Composition des différents comprimés bioadhésifs.....	78
Tableau 3.1. Formulation et dosage des hydrogels à base de Miconazole....	86
Tableau 3.2. Aspect des gels gonflés dans différents milieux de dissolution..	96
Tableau 3.3. Résultats des constantes de gonflement et de diffusion des gels.....	97
Tableau 3.4. Constantes cinétiques k_0 , K_H , k , n , k_1 et k_2 . Valeurs calculé dans la gamme de libération du médicament 5-70% pour les hydrogels contenant 2% de miconazole.....	101
Tableau 3.5. Résultats des facteurs et réponses de la matrice d'expériences Correspondant au plan Box-Behnke.....	104
Tableau 3.6. Ajustement des profils de dissolution au model de Korsmeyer– Peppas et $t_{50\%}$ (temps de libération de 50% du Miconazole de chaque gel)...	109
Tableau 3.7. Analyse de variance (ANOVA) des réponses (RSM).....	115
Tableau 3.8. Composition des points de validation de la formulation optimale	117
Tableau 3.9. Ajustement des profils de dissolutions in vitro aux modèles.....	120
Tableau 3.10. Caractérisation pharmaco technique du CMA.....	130
Tableau 3.11. Résultats de la carboxyméthylation du KC.....	131
Tableau 3.12. Propriétés physiques de CK et CMKC	138
Tableau 3.13. Capacité d'absorption et de rétention d'humidité du CMKC.....	139
Tableau 3.14. Viscosité intrinsèque et masse moléculaire des CMKC.....	141

Tableau 3.15. Résultats de l'activité antibactérienne de KC et CMKC.....	142
Tableau 3.16. Caractéristiques des mélanges pulvérulents (F1 – F7) avant compression.....	149
Tableau 3.17. Résultats des tests physico-chimiques des comprimés bioadhésifs (F1-F7).....	151
Tableau 3.18. Aspect des comprimés lors du test de gonflement et d'érosion	153
Tableau 3.19. Paramètres caractéristiques des modèles de dissolution	155

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1. Structure de la muqueuse buccale.....	7
Figure 1.2. Inter diffusion des chaînes du polymère bioadhésif avec le mucus	11
Figure 1.3. Paramètres liés au polymère influençant la mucoadhésion.....	14
Figure 1.4. Chondrus crispus.....	20
Figure 1.5. Structures des unités de carrabioses composants la structure des carraghénanes : le lambda, le kappa et l'iota carraghénane.....	21
Figure 1.6. Structures chimiques de (a) λ-carrageenan, (b) ι-carrageenan et (c) κ-carrageenan.....	21
Figure 1.7. Théories de la transition sol/gel du κ-carraghénane en présence d'ions K ⁺	24
Figure 1.8. Formation de gel due à l'agrégation des hélices lors du refroidissement d'une solution chaude de Kappa carraghénane.....	25
Figure 1.9. Recouvrement des chaînes lorsque la concentration c augmente...	26
Figure 1.10. Réaction de modification du kappa-carraghénane par Carboxyméthylation.....	28
Figure 1.11. Structure chimique de l'amylose	30
Figure 1.12. Structure moléculaire de l'amylopectine.....	30
Figure 1.13. Structure et ultra structure d'un grain d'amidon.....	31
Figure 1.14. Principaux groupements intervenant dans la modification d'amidon et de ses dérivés.....	32
Figure 1.15. Schéma de la taille de la maille dans les hydrogels.....	37
Figure 1.16. Schéma du transfert de masse dans les gels	38
Figure 1.17. Réseau de gels Polyélectrolyte.....	39
Figure 1.18. Types de gels formés avec un mélange de biopolymères.....	43
Figure 1.19. Représentation schématique de la formation et de l'agrégation de PEC.(a) Formation du complexe primaire, (b) processus de formation d'intra- complexes, (c) processus d'agrégation Inter-complexe.....	44
Figure 1.20. Illustration schématique des différents fronts lors de la libération de principe actif à partir d'une matrice polymérique.....	46
Figure 1.21. Etapes de gonflement d'une matrice hydrophile.....	47

Figure 2.1. Formule chimique du Miconazole.....	49
Figure 2.2. Réaction d'éthérisation de l'Amidon.....	62
Figure 2.3. Réaction de modification du κ -carraghénane par carboxyméthylation.....	67
Figure 2.4. Viscosimètre capillaire (Ubbelohde).....	71
Figure 2.5. <i>Méthode de diffusion sur gélose</i> (A), Représentation de la zone d'inhibition (B).....	74
Figure 2.6. Poly (chlorure de méthacrylate d'éthyle acrylate-co-méthacrylate de méthyle-co-triméthylammonio) 1:2:0,2 (Eudragit® RL 30D).....	75
Figure 2.7. Dispositif expérimental du test de diffusion.....	82
Figure 3.1. Spectre de balayage UV du Miconazole dans l'eau distillée et la solution PBS pH6.75.....	85
Figure 3.2. Courbes d'étalonnage du Miconazole (a) milieu eau distillée,(b) milieu PBS pH6.75.....	86
Figure 3.3. Chromatogrammes du Miconazole Standard (Trois injections).....	87
Figure 3.4. Chromatogrammes d'échantillons de gel à 2% (Trois injections)....	87
Figure 3.5. Chromatogrammes de superposition de standard (St) et d'échantillon de gel à 2%.....	88
Figure 3.6.a. Chromatogrammes de superposition du standard Miconazole et des échantillons des gels à 2% (1-6) à base d'APG.....	88
Figure 3.6.b. Chromatogrammes de superposition du standard Miconazole et des échantillons des gels à 2% (7-11) à base de KC.....	88
Figure 3.6.c. Chromatogrammes de superposition du standard Miconazole et des échantillons des gels à 2% (12-17) à base de APG (7%) et KC.....	89
Figure 3.7. Force d'adhésion des gels à base des différentes concentrations en APG et KC.....	90
Figure 3.8. Evolution des taux de gonflement des gels : (a) à base de KC, (b) à base d'APG, (c) à base de mélange d'APG et de KC.....	92
Figure 3.9. Evolution du taux de gonflement des gels selon la nature du milieu et du polymère.....	93
Figure 3.10. Taux de gonflement des gels selon la nature du milieu et du polymère à l'équilibre.....	94
Figure 3.11. Erosion des différents gels Selon la nature du milieu et du polymère.....	98

Figure 3.12. Cinétique de libération du Miconazole à partir des gels dans le PBS pH6.75.....	100
Figure 3.13. Relation entre l'érosion des gels et les taux de libération du principe actif.....	102
Figure 3.14. Structure proposée du réseau des gels formés par le mélange physique de l'APG et KC.....	103
Figure 3.15. Forces de détachement des gels formulés (n=3).....	105
Figure 3.16. Taux de gonflement et érosion des gels F8 et F10.....	106
Figure 3.17. Profils de dissolution des gels à base de miconazole (F1-F8)	108
Figure 3.18. Profils de dissolution des gels à base de miconazole (F9-F16)	108
Figure 3.19. Courbes en surfaces de réponses indiquant l'effet de : (a) KC (X_1) et Gly (X_2) sur la réponse Y_1 , (b) KC (X_1) et Gly (X_2) sur la réponse Y_2 , et (c) KC (X_1) et Gly (X_2) sur la réponse Y_3 , Courbes en 3D indiquant l'effet de : (d) KC (X_1) et T80 (X_3) sur la réponse Y_1 , (e) KC (X_1) et T80 (X_3) sur la réponse Y_2 , et (f) KC (X_1) et T80 (X_3) sur la réponse Y_3	110
Figure 3.20. Influence de chaque facteurs (a) KC (X_1), (b) Gly (X_2), et (c) T80 (X_3) sur les réponses Y_1 (FD), Y_2 (MDT) et Y_3 (Libération précoce).....	112
Figure 3.21. courbes de corrélation linéaire (a,c,e) entre les valeurs réelles et prédites et graphes de valeurs résiduelles (b,d,f) des réponses	116
Figure 3.22. Cinétique de gonflement et érosion du gel optimisé.....	118
Figure 3.23. Profil de dissolution de la formule de gel optimisé.....	119
Figure 3.24. Effet de la variation de DSt en fonction de DS et le rendement de substitution	121
Figure 3.25. Variation de DS et le rendement en fonction du temps de la réaction.....	122
Figure 3.26. Variation de DS et le rendement en fonction de la température	123
Figure 3.27. Effet de la variation de DS et le rendement en fonction de la concentration en NaOH.....	124
Figure 3.28. Spectre FTIR de l'APG et CMA.....	125
Figure 3.29. Microscopie électronique à balayage de l'APG et CMA à différentes concentration en NaOH.....	127

Figure 3.30. Spectre rayon X de l'APG et CMA à différentes concentrations en NaOH.....	128
Figure 3.31. Viscosité apparente de l'APG et le CMA1 (DS 0.05), CMA2 (DS 0.19), CMA3 (DS 0.21), CMA4 (DS 0.28), CMA5 (DS 0.34).....	130
Figure 3.32. Variation du DS et du rendement de la réaction d'éthérisation du KC en fonction du rapport molaire (n_{MCA} / n_{KC})	132
Figure 3.33. Spectre FTIR du Kappa carraghénane (KC).....	133
Figure 3.34. Spectre FTIR du Kappa carraghénane modifié (CMKC).....	134
Figure 3.35. Microscopie électronique à balayage des échantillons de KC et CMKC sous différentes échelles (200 μ m à 10 μ m).....	135
Figure 3.36. Diagrammes de diffraction des rayons X du KC et CMKC de différents DS.....	136
Figure 3.37. Viscosité apparente du KC et CMKC.....	137
Figure 3.38. Capacité d'absorption et de rétention d'humidité du KC et CMKC.....	139
Figure 3.39. Variation de la capacité d'absorption et de rétention d'humidité en fonction du DS du CMKC.....	140
Figure 3.40. Variation de la viscosité spécifique en fonction de la concentration en CMKC.....	140
Figure 3.41. Viscosité intrinsèque, DS et masse moléculaire de CMKC.....	141
Figure 3.42. Résultats des zones d'inhibition pour du KC et CMKC. A : zone d'inhibition du KC sur S.aureus ; B : zone d'inhibition du CMKC sur S.aureus ; C : zone d'inhibition de l'ampicilline sur S.aureus ; D : zone d'inhibition du KC sur E. coli. ; E: zone d'inhibition du CMKC sur sur E. coli. F : zone d'inhibition de l'ampicilline sur E. coli.....	142
Figure 3.43. Représentation schématique de l'interaction ionique entre ERL et CMKC. R représente le monomère non ionisé de ERL.....	144
Figure 3.44. Turbidité du système ERL/CMKC en fonction de la composition du mélange et l'ordre de mélange.....	145
Figure 3.45. Viscosité spécifique du surnageant du système ERL/CMKC	146
Figure 3.46. Spectres FTIR de (a) ERL, (b) CMKC, (c) PEC.....	147
Figure 3.47. Microscopie électronique à balayage des échantillons d'ERL, CMKC et PEC sous différentes échelles (100 μ m et 20 μ m).....	148
Figure 3.48. Répartition granulométrique du mélange pulvérulent F5.....	150

Figure 3.49. Refus cumulés du mélange pulvérulent F5.....	150
Figure 3.50. Variation de la dureté, friabilité et Taux d'humidité en fonction du % PEC / comprimés bioadhésifs.....	152
Figure 3.51. Etude comparative des taux de gonflement et d'érosion maximums des comprimés (F1-F7).....	154
Figure 3.52. Force de détachement des comprimés bioadhésifs (F1-F7).....	155
Figure 3.53. Variation du temps de libération de 50% ($t_{50\%}$) de Miconazole et de la puissance (n) des comprimés bioadhésifs (F1-F7).....	156
Figure 3.54. Cinétique de libération du Miconazole à partir des comprimés bioadhésifs étudiés (F1-F7).....	157
Figure 3.55. Variation du rapport (R/F) des comprimés bioadhésifs (F1-F7)...	158
Figure 3.56. Cinétique de diffusion du Miconazole à partir des comprimés bioadhésifs étudiés (F1-F7) et de la forme gel.....	159
Figure 3.57. Paramètres de diffusion du Miconazole à partir des comprimés bioadhésifs étudiés (F1-F7) et du gel	159

SYMBOLES ET ABREVIATIONS

ABREVIATIONS

- APG**: Amidon de Mais prégelatinisé
- CI** : Indice de Carr (indice de compressibilité)
- CM groupe** : Carboxyméthyl groupe
- CMA** : Carboxyméthyl Amidon
- CMA (Na)** : Carboxyméthyl Amidon (sous forme sodique)
- CMA(H)** : Carboxyméthyl Amidon (sous forme acide)
- CMKC** : Carboxyméthyl Kappa Carraghénane
- DRX** : Diffraction aux Rayons X
- ERL** : Eudragit[®] RL 30D
- E. coli*** : *Escherichia coli*
- GU** : Unité de Glucopyranose composant les chaînes d'APG
- HA** : Acide Hyaluronique
- HPLC** : Chromatographie en Phase Liquide Haute Performance
- HR** : Rapport de Hausner
- IPE** : complexation interpolyélectrolytiques
- KC** : Kappa Carraghénane
- kDa** : kilodalton
- MCA** : Acide Monochloroacétique
- MDT** : temps moyen de dissolution
- MDa** : Mégadalton (1 MDa= 1000kDa)
- MEB** : Microscopie Electronique à Balayage
- PA** : Principe Actif
- PBS** : solution tampon phosphate (de l'anglais : phosphate buffer solution)
- PEC** : complexe polyélectrolyte
- RMN** : Résonance Magnétique Nucléaire
- RSM** : Modélisation en Surfaces de Réponses
- S. aureus*** : *Staphylococcus aureus*
- SN2** : Substitution Nucléophile d'ordre 2
- Unité D** : Unité (1→4) α-D-galactopyranoses
- Unité DA** : Unité 3,6-anhydrogalactopyranoses.

Unité G : Unité (1→3) β-D-galactopyranoses

ZI : Zone d'Inhibition

κ- carraghénane : Kappa Carraghénane

ι- carraghénane : Iota Carraghénane

λ-carraghénane : Lambda Carraghénane

SYMBOLES

A : aire de la surface de la forme à libération contrôlée exposée au milieu de dissolution
[m²]

C : concentration du soluté [g/L]

C_{org.} : concentration du principe actif dans la phase organique (n-Octanol) [mg/ml]

C_{aqu.} : concentration du principe actif dans la phase aqueuse (PBS pH. 6,75)
[mg/ml]

C_{st} : concentration final du standard de référence [mg/ml]

C_{ech} : concentration final de l'échantillon [mg/ml]

C_{HCl} : concentration de HCl [mol.L⁻¹]

D : coefficient de diffusion [cm².s⁻¹]

DS_t : degré de substitution théorique

DS : degré de substitution

D_i : coefficient de diffusion initial [cm².s⁻¹]

D_m : coefficient de diffusion moyen [cm².s⁻¹]

D_f : coefficient de diffusion final [cm².s⁻¹]

F : terme de la contribution par diffusion de Fick du modèle développé par Peppas et Sahlin

FA : force d'adhésion [N]

FD : force de détachement [g]

K'' : coefficient de partage

Kp : coefficient de perméabilité [cm.min⁻¹]

M : masse prise lors du gonflement [g]

Mc : poids moléculaire entre deux points de réticulation voisin [g.mol⁻¹]

M_n : poids moléculaire moyen de la chaîne du polymère linéaire [g.mol⁻¹]

Mw : masse moléculaire moyenne [g.mol⁻¹]

M_t : quantité cumulée de principe actif libérée à l'instant t [g]

M_{∞} : quantité cumulée de principe actif libérée au temps infini (ce qui doit être égale à la valeur de principe actif incorporé dans la matrice à l'instant $t = 0$) [g]
 P_{st} : pureté du standard de référence [%]
 Q : rapport volumique de gonflement [m^3 / m^3]
 Q_m : rapport des masses gonflées [g/g]
 Q_t / Q_{∞} : fraction du médicament libérée
 R : terme de la contribution de la relaxation (transport case-II), du modèle développé par Peppas et Sahlin
RH : humidité relative [%]
Rh : capacité de rétention d'humidité [%]
 $R\alpha$: capacité d'absorption d'humidité [%]
RS : rendement de substitution [%]
R(%) : rendement de la réaction [%]
 S_{st} : surface du standard de référence (étalon)
 S_{ech} : surface de l'échantillon
T : titre en principe actif dosé [%]
TE : taux d'érosion [%]
Tg : température de transition vitreuse [K]
V : volume de HCl utilisé pour le titrage de l'échantillon de CMA [ml]
 V_b : volume de HCl utilisé pour le titrage l'essai à blanc du CMA [ml]
 V_g : volume du gel gonflé. [m^3]
 V_p : volume du polymère [m^3]
 V_1 : volume molaire de l'eau [$m^3 \cdot mol^{-1}$]
 V_{10} : volume de poudre après 10 tassements [ml]
 V_{500} : volume de poudre après 500 tassements [ml]
 d_0 : densité vrac [g/ml]
d : densité réelle [g/ml]
 d_c : densité du cyclohexane [g/ml]
 J_{ss} : flux à l'équilibre [$\mu g \cdot cm^{-2} \cdot min^{-1}$]
 k : constante de la cinétique de libération de la loi de Korsmeyer-Peppas
 k_s : constante de pénétration d'eau dans la matrice d'hydrogel (Gonflement)
 k_0 : constante de la cinétique de libération de la loi d'ordre zéro
 k_H : constante de la cinétique de libération de la loi d'Higuchi
 k_1 : constante relative au phénomène de diffusion

k_2 : constante relative au phénomène de relaxation
 l : épaisseur du gel [m]
 m : constante du modèle développé par Peppas et Sahlin
 m_i : masse du gel à l'instant initial [g]
 m_h : masse du gel à l'instant t [g]
 m_e : masse des gels érodés à l'instant t [g]
 m_{APG} : masse d'APG pesée après séchage à poids constant [g]
 m_{CMA} : masse de CMA obtenu après filtration et séchage à poids constant [g]
 m_{dry} : masse anhydre (sèche) de l'échantillon [g]
 m_{CMKC} : prise d'essai du CMKC utilisée lors du titrage potentiométrique [g]
 n : exposant qui dépend du mécanisme de libération et de gonflement
 n_{GU} : nombre de mole de GU (Unité de Glucopyranose) [mol]
 n_{MCA} : nombre de mole de MCA [mol]
 n_{COOH} : nombre de mole de groupement Carboxyméthyl [mol]
 r_0 : distances entre les chaînes du polymère entre deux points de réticulation [m]
 t : temps [min]
 t_r : temps de latence [min]
 v_p : volume des pores des particules solides [ml]
 v_0 : volume vrai des particules solides [ml]
 $[\eta]$: viscosité intrinsèque [$L.g^{-1}$]
 η_{red} : viscosité réduite [$L.g^{-1}$]
 η_{sp} : viscosité spécifique
 ρ_1 : densité du solvant [$kg.m^{-3}$]
 ρ_2 : densité du polymère [$kg.m^{-3}$]
 ρ_T : densités après tassement (réelles) [g/ml]
 ρ_B : densités vrac (apparentes) [g/ml]
 ν : volume spécifique du polymère [$m^3.kg^{-1}$]
 $\nu_{2,s}$: fraction volumique du polymère dans son état gonflé
 \emptyset : porosité
 π : pression osmotique totale [Pa]
 π_{Coul} : pression électrostatique ou pression de Coulomb [Pa]
 π_{el} : partie élastique composant la pression osmotique [Pa]
 π_{ion} : pression osmotique des contre-ions dans le gel [Pa]
 π_{mix} : pression de mélange du réseau polymérique et molécules de solvant [Pa]
 π_{osm} : partie osmotique composant la pression osmotique [Pa]
 ξ : dimension de la maille du réseau [m]
 χ_1 : paramètre d'interaction polymère-eau

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Dans les deux dernières décennies, la mucoadhésion a montré un regain d'intérêt pour prolonger le temps de séjour des formes mucoadhésives pour diverses muqueuses pour application de médicaments. L'administration de médicaments mucoadhésifs donne une absorption rapide et une bonne biodisponibilité en raison de sa surface importante et du flux sanguin élevé. L'administration du médicament à travers la muqueuse évite le métabolisme de premier passage hépatique et évite la dégradation des enzymes gastro-intestinales.

Récemment, le développement de systèmes bioadhésifs à base de biopolymères et plus particulièrement les hydrogels est devenu très important pour la libération de médicaments. Ces systèmes biocompatibles et biodégradables assurent différentes fonctions : amélioration de l'activité des médicaments, diminution de ses effets secondaires, protection contre la dégradation in vivo, stabilité et capacité à contrôler la libération des médicaments. De nombreux dispositifs reposant sur des matrices de polymères ont ainsi été proposés.

Ces dispositifs sont généralement des hydrogels érodables préparés à partir de polymères d'origine naturelle ou de polymères synthétiques dégradables. Les hydrogels sont composés principalement d'un fluide dont les molécules sont retenues par de faibles quantités de macromolécules formant un réseau tridimensionnel. Le réseau est créé par l'établissement de nœuds de réticulation qui peuvent être des liaisons covalentes dans le cas des hydrogels chimiques et des interactions secondaires dans le cas des hydrogels physiques.

Le domaine des gels physiques connaît une forte expansion, en raison notamment du processus de gélification mis en jeu qui ne requiert aucun agent réticulant toxique ainsi que des potentialités en termes de matériaux stimulables. Ces systèmes sont capables de répondre à l'échelle moléculaire à de très faibles stimuli physiques ou chimiques (force ionique, pH, température, présence de molécules spécifiques).

L'obtention de tels systèmes passe donc par l'introduction sur les chaînes polymères de groupements chimiques judicieusement choisis. Les propriétés

Introduction générale

mécaniques de ces hydrogels dépendent fortement de leur structure. De ce fait, la méthode utilisée pour la modification chimique s'avère primordiale pour contrôler les interactions et leur stabilité.

Parmi les polymères utilisés pour former des hydrogels physiques, les polysaccharides d'origine naturelle possèdent des propriétés intéressantes et originales valorisables dans le domaine des biomatériaux.

Les polysaccharides se distinguent clairement des polymères synthétiques. Ils ont très souvent les caractéristiques particulières de biodégradabilité et de biocompatibilité et sont des polymères semi-rigides contrairement aux polymères synthétiques flexibles. En plus de leur diversité et stabilité, les polysaccharides possèdent des groupements réactifs (hydroxyles) qui peuvent être modifiés par différentes voies chimiques (estérification, étherification, oxydation...). Ils permettent ainsi la création de nouveaux dérivés capables d'être conjugués à d'autres excipients, améliorant ainsi les propriétés des médicaments (activité améliorée et réduction des effets secondaires...), la protection contre la dégradation enzymatique et assurant une libération contrôlée et ciblée.

Les polysaccharides peuvent être chargés ou neutres. L'existence de charges leur confère des propriétés physico-chimiques remarquables qui donnent lieu à de nombreuses applications dans les domaines de la médecine, des cosmétiques et pharmaceutiques.

La modification chimique des polysaccharides est considérée comme l'un des parcours les plus importants pour améliorer les propriétés de ces biopolymères. Les tendances récentes et les stratégies en matière de recherche sont orientées vers la fonctionnalisation de matériaux connus et la carboxyméthylation des polysaccharides est l'une des conversions largement étudiées qui conduisent au développement de nouveaux biomatériaux avec des applications très prometteuses.

Les carraghénanes sont des polysaccharides composant la paroi de certaines algues rouges. Ils sont composés alternativement d'unités (1→3) β-D-galactopyranoses et (1→4) α-D-galactopyranoses, qui peuvent être substituées à différentes positions par des groupements sulfates créant ainsi une grande diversité de structures des carraghénanes. Les Carraghénanes sont divisés en trois grandes familles: kappa (κ), iota (ι) et lambda (λ). La Lambda carraghénane produit des solutions visqueuses, mais ne forme pas de gels. Alors que le Kappa

Introduction générale

carraghénane forme un gel fragile, par contre le iota carraghénane produit des gels élastiques. Le Kappa carraghénane a un caractère anionique très prononcé du fait de la présence des groupements esters sulfates, réagissant ainsi avec les polyélectrolytes cationiques.

La linéarité des macromolécules de carraghénane leur confère un important pouvoir viscosifiant, du fait de leur grand rayon de giration, comparativement à celui d'une autre macromolécule du même poids moléculaire qui serait ramifiée. Les carraghénanes ont donc tous des propriétés épaississantes, dès lors que les macromolécules ont acquis une certaine indépendance les unes vis-à-vis des autres, c'est à dire au-delà de la température nécessaire à leur solubilisation : à chaud pour les fractions Kappa. Par refroidissement à la température ambiante de leur solution chaude, les chaînes de polysaccharides auront tendance à s'associer entre elles. Le kappa carraghénane gélifie avec des sels de potassium ou de calcium mais pas avec ceux de sodium. Dès l'extraction, on détermine la forme saline des carraghénanes. Ainsi pour le kappa carraghénane, l'ajout d'ions potassium augmente la force du gel. Le kappa carraghénane de potassium aboutit à un gel fort souvent accompagné d'une synérèse (exsudation d'eau) importante.

Un gel physique est formé lorsque le refroidissement d'une solution chauffée au préalable de carraghénane est effectué. La formation du gel est due à la formation de l'hélice, formant ainsi des zones de jonctions. Le carraghénane en solution chaude, au-dessus de la température de transition vitreuse présente une conformation aléatoire. Après refroidissement, il se transforme en tiges cylindriques rigides. En présence de sel (K^+ , Na^+ , etc.), en raison de la répulsion de groupements sulfonique (SO_3^-), des doubles hélices plus agrégées apparaissent pour former des gels stables.

L'amidon de maïs prégelatinisé est un amidon traité thermiquement afin de modifier certains caractères physique dont la plus importante est la solubilisation à froid. La gélatinisation est la transformation la plus remarquable que subissent les amidons pendant leurs traitements thermiques en milieu aqueux. Elle est caractérisée par la modification irréversible de plusieurs paramètres dont la taille et la cristallinité des granules. Du point de vue macroscopique, elle se traduit par la modification de la viscosité et de la texture des empois d'amidon.

Introduction générale

L'objectif de cette étude est de mettre au point une formulation capable d'établir un contact étroit avec la muqueuse buccale et de libérer un principe actif (PA) spécifiquement à ce niveau. Il s'agit donc d'élaborer une formulation qui serait administrée par voie orale, et permettrait la libération du principe actif tout le long de son application dans la bouche, pour une action pharmacologique locale et ciblée. Ces caractéristiques peuvent être atteintes notamment grâce à une exposition suffisante. Un système bioadhésif semble être l'approche la plus judicieuse afin de couvrir la plus grande surface biologique possible et de prolonger significativement le temps de résidence du principe actif, *via* une interaction entre la formulation et le tissu recouvert de mucus. Pour cela, l'utilisation d'un mélange de polysaccharides est envisagé : L'amidon pré-gélatinisé (APG) et le Kappa Carraghénane (KC). Ils ont tous en commun des propriétés mucoadhesives mais diffèrent par leur sensibilité au pH et aux enzymes.

Dans ce travail, on a centré nos efforts premièrement sur la compréhension du comportement du mélange physique des deux biopolymères (KC et APG) pour la mise au point et la formulation d'un gel contenant un principe actif (PA) antifongique qui est le Miconazole. L'étude des propriétés bioadhésives et biopharmaceutiques des gels a été réalisée et l'optimisation d'une formule a été obtenue en utilisant la méthodologie des plans d'expériences.

Dans un second temps, on a choisi de modifier les biopolymères sélectionnés dans le but d'améliorer leurs propriétés d'adhésion et d'augmenter leur charge anionique afin de former un complexe polyélectrolyte (PEC) qui est un excipient de choix pour la mise au point d'une forme bioadhésive sous forme de comprimés.

Ce manuscrit s'articule autour de trois parties :

Le premier chapitre est une brève synthèse bibliographique donnant un aperçu des caractéristiques et les principales méthodes de caractérisation des systèmes bioadhésifs. On décrit ensuite la structure et les principaux paramètres composant le réseau des hydrogels. Par la suite, on expose les données concernant les polymères bioadhésifs étudiés lors de cette étude à savoir le Kappa carraghénane et l'amidon pré-gélatinisé. Enfin, on procède à une synthèse des principaux systèmes matriciels contrôlant la libération des principes actifs à partir de formes galéniques bioadhésives ainsi que les modes de libération à partir de systèmes polymériques.

Introduction générale

Le deuxième chapitre expose la description du matériel, protocoles et méthodes utilisées pour réaliser les différentes formulations, synthèses, et caractérisations par différentes techniques.

Le troisième chapitre rassemble tous les résultats obtenus lors de ce travail. Les résultats sont regroupés en cinq parties :

- Une étude de préformulation qui a permis d'évaluer le comportement des différents polymères seuls et mélangés à différentes concentrations et d'étudier la bioadhésion, la diffusion et la cinétique de gonflement et d'érosion des polymères. L'effet de l'association des deux polymères est mis en évidence dans cette étude.
- La mise au point d'une formule optimale d'un gel bioadhésif avec un minimum d'essais en utilisant la méthodologie des plans d'expériences.
- Les résultats de la modification et la caractérisation du carboxyméthyl amidon (CMA) obtenu.
- Les résultats de la modification et la caractérisation du carboxyméthyl kappa carraghénane (CMKC) sont reportés.
- Les résultats de la synthèse du PEC obtenu et la mise au point de comprimés bioadhésif à base de CMA et PEC sont exposés.

Nous terminons notre travail par une conclusion générale.

CHAPITRE I
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. INTRODUCTION

Parmi les diverses voies d'administration des médicaments, la voie orale est celle pour laquelle le patient et le clinicien optent le plus souvent. Cependant, l'administration orale de médicaments présente des inconvénients tels que le métabolisme de premier passage hépatique et la dégradation enzymatique dans le tractus gastro-intestinal, qui interdisent l'administration orale de certaines classes de médicaments en particulier des peptides et des protéines. Par conséquent, les muqueuses d'absorption sont considérées comme des sites potentiels pour l'administration du médicament (muqueuses nasale, rectale, vaginale, oculaire, et buccale). Elles offrent des avantages distincts par rapport à l'administration par voie orale pour administration systémique de médicaments. Ces avantages comprennent le pontage possible de l'effet de premier passage, évite l'élimination pré-systémique dans le tractus gastro-intestinal, et, en fonction du principe actif, offrent une meilleure flore enzymatique pour l'absorption du médicament [1].

La cavité buccale, est très acceptable par les patients, la muqueuse est relativement perméable avec un approvisionnement en sang riche. En outre, l'administration de médicaments par voie orale transmucosale contourne le premier passage et évite l'élimination pré-systémique dans le tractus gastro-intestinal [2].

Depuis plusieurs années, un intérêt croissant est porté à l'élaboration de nouveaux matériaux dans l'optique de les utiliser dans les domaines biomédical et pharmaceutique. Les domaines principalement visés sont la libération contrôlée de substances actives et l'ingénierie tissulaire.

De nombreux dispositifs reposant sur des matrices polymériques ont ainsi été proposés. Ces dispositifs sont généralement des hydrogels érodables préparés à partir de polymères d'origine naturelle ou synthétiques dégradables. Les hydrogels sont composés principalement d'un fluide dont les molécules sont retenues par de faibles quantités de macromolécules formant un réseau tridimensionnel. Le domaine des gels physiques connaît une forte expansion, en raison notamment du processus de gélification mis en jeu qui ne requiert aucun agent réticulant toxique ainsi que des potentialités en termes de matériaux stimulables. Ces systèmes sont capables de répondre à l'échelle moléculaire à de très faibles stimuli physiques ou chimiques (force ionique, pH, température, présence de molécules spécifiques).

Les propriétés mécaniques de ces hydrogels dépendent fortement de leur structure. Parmi les polymères utilisés pour former des hydrogels physiques, les polysaccharides possèdent des propriétés intéressantes et originales valorisables dans le domaine des biomatériaux. Les polysaccharides se distinguent clairement des polymères synthétiques. Ils ont très souvent les caractéristiques particulières de biodégradabilité et de biocompatibilité et certains d'entre eux offrent des propriétés bioadhésives très avantageuses pour le développement de formes galéniques bioadhésives à libération prolongée.

1.2. STRUCTURE DE LA MUQUEUSE BUCCALE

La muqueuse buccale est composée d'une couche extérieure de l'épithélium pavimenteux stratifié. En dessous se trouve la membrane (Figure 1.1), une lamina propria suivie par la sous-muqueuse, qui est la couche la plus interne. L'épithélium est similaire à l'épithélium pavimenteux stratifié dans le reste du corps [3]. L'épithélium de la muqueuse buccale a environ 40-50 couches de cellules d'épaisseur [4].

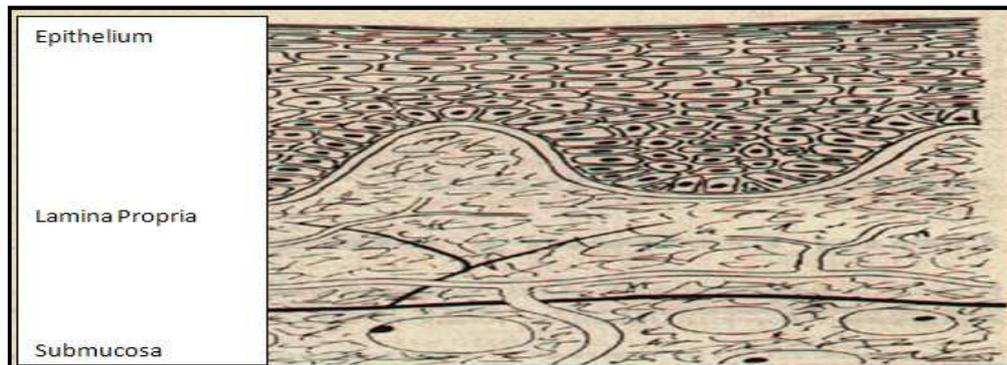


Figure 1.1. Structure de la muqueuse buccale [4]

1.2.1. Structure, fonction et composition du mucus

Les cellules épithéliales de la muqueuse buccale sont entourées par une substance de base intercellulaire appelée mucus d'une épaisseur allant de 40 μm à 300 μm [5]. Bien que la composition majeure du mucus soit de l'eau ($\approx 95 - 99\%$ en poids), des composants macromoléculaires de glycoprotéine connue sous le nom de mucines (1-5%) rentre également dans la composition du mucus. Les mucines sont de grosses molécules avec des masses moléculaires allant de 0,5 à plus de 20 MDa. Elles contiennent de grandes quantités d'hydrates de carbone [6]. Le mucine est un véhicule efficace, en agissant comme un lubrifiant qui

permet aux cellules de se déplacer les unes par rapport aux autres et joue un rôle majeur dans l'adhérence des systèmes mucoadhésifs [7]. A un pH buccal, le mucus peut former une structure de gel très cohésive qui se lie à la surface des cellules épithéliales comme une couche gélatineuse [7].

1.2.2. Perméabilité de la muqueuse buccale

On estime que la perméabilité de la muqueuse buccale est 4-4000 fois supérieure à celle de la peau. Le large éventail dans cette valeur déclarée est dû à des différences considérables en termes de perméabilité entre les différentes régions de la cavité buccale à cause de la diversité des structures et des fonctions de la muqueuse orale. En général, la perméabilité diminue par ordre décroissant de la muqueuse buccale à la voie sublinguale, et buccale supérieure à palatine [4].

1.2.3. La muqueuse buccale en tant que site de libération de principe actif

Il existe trois catégories différentes de libération de principe actif au sein de la cavité buccale (administration de médicaments par voie sublinguale, buccale, et locale). La sélection d'un rapport à un autre est principalement basée sur les différences anatomiques et de la perméabilité qui existent entre les différents sites de la muqueuse orale [7]. La muqueuse sublinguale est relativement perméable, ce qui donne une absorption rapide et une biodisponibilité acceptables à de nombreux médicaments. Cette voie est très pratique, accessible, et généralement bien acceptée. La voie sublinguale est de loin la plus étudiée de ces routes. Les formes sublinguales sont de deux conceptions différentes, les comprimés à désintégration rapide, et les capsules de gélatine molle remplies de principe actif liquide. Ces systèmes créent une concentration de médicament très élevée dans la région sublinguale avant qu'ils ne soient absorbés par voie systémique à travers la muqueuse [8].

1.2.4. Perméabilité des principes actifs à travers la muqueuse buccale

Il ya deux voies possibles d'absorption du médicament par le biais de l'épithélium pavimenteux stratifié de la muqueuse buccale [9]:

- Transcellulaire (intracellulaire, passant à travers la cellule)
- Paracellulaire (intercellulaire, en passant autour de la cellule).

La perméation au travers de la muqueuse buccale a été rapportée comme étant principalement par la voie paracellulaire à travers les lipides intercellulaires produits par la membrane de revêtement de granules. La muqueuse buccale est un site potentiel pour la distribution contrôlée d'agents thérapeutiques macromoléculaires hydrophiles, tels que les peptides, les oligo-nucléotides et les polysaccharides. Toutefois, les principes actifs à haut poids moléculaire ont généralement une faible perméabilité conduisant à une faible biodisponibilité, et les initiateurs d'absorption peuvent être nécessaires pour surmonter cet obstacle [9].

1.2.5. Les formes galéniques pour usage buccal

Les polymères bioadhésifs ont largement été utilisés dans les systèmes de libération de médicaments buccaux [10]. En général, les formes galéniques conçues pour l'administration buccale ne doivent pas provoquer une irritation et doivent être de petit volume et suffisamment souples pour être acceptées par le patient. Ces exigences peuvent être satisfaites en utilisant des hydrogels. Ce sont des matrices hydrophiles, susceptibles de gonfler lorsqu'ils sont placés dans un milieu aqueux. Lorsque les principes actifs sont introduits dans ces hydrogels, et que l'eau est absorbée par la matrice, une relaxation des chaînes de polymères se produit et les molécules de principe actif sont libérées à travers les espaces ou les canaux dans le réseau de l'hydrogel [10]. L'utilisation d'hydrogels sous forme de préparations adhésives pour la libération transmucosale de principe actif a acquis une attention considérable ces dernières années.

1.2.6. Avantages et limites de l'administration de médicaments par voie buccale

L'absorption de certains médicaments à travers la muqueuse buccale permet aux patients un début d'action rapide, proche de celle observée avec l'administration intraveineuse. En outre, la muqueuse orale de médicaments offre une alternative lorsque l'administration par voie entérale est impossible. Enfin, les médicaments administrés par l'intermédiaire de la muqueuse buccale ne nécessitent pas de matériel technique (pompes à perfusion, par exemple) et de l'expertise et sont donc plus rentables que les thérapies invasives. Les limites de la voie buccale peuvent être dues à l'absorption qui peut être plus variable que

d'autres voies [10]. En outre, les propriétés de la barrière de l'épithélium étant une barrière efficace à la pénétration du médicament, ne permettent qu'à de petites quantités d'un médicament de pénétrer. Enfin, l'administration orale à travers la muqueuse buccale peut être difficile dans certaines conditions pathologiques qui affectent l'intégrité de la muqueuse, comme des cloques ou une mucite [10].

I.3. BIOADHESION ET MUCOADHESION

La bioadhésion est un terme qui peut être défini comme l'état dans lequel deux matériaux, au moins un de nature biologique, sont maintenues ensemble pendant une période prolongée de temps par les forces interfaciales [11].

Dans le but d'étudier la libération de principe actif à partir d'une forme galénique, le terme bioadhésion implique l'attachement d'un système de support de médicament à un emplacement spécifié biologique. La surface biologique peut être un tissu épithélial ou la couche de mucus sur la surface d'un tissu ou une muqueuse. Si l'attachement adhésif est du mucus, le phénomène est appelé mucoadhésion. Leung et Robinson [12] définissent la mucoadhésion comme étant l'interaction entre une surface de mucine et celle d'un polymère synthétique ou naturel.

1.3.1. Théories de la mucoadhésion

Diverses théories existent pour expliquer au moins une partie des observations expérimentales faites au cours du processus de la bioadhésion. Malheureusement, chaque modèle théorique ne permet d'expliquer qu'un nombre limité de diversité des interactions qui constituent le lien bioadhésif [13]. Toute fois, quatre théories principales peuvent être distinguées.

1.3.1.1. Théorie du mouillage

La théorie de mouillage est peut-être la plus ancienne théorie établie de l'adhésion. Elle est appliquée à des bioadhésifs liquides ou de faible viscosité. Elle explique l'adhésion comme un processus d'enrobage, les agents bioadhésifs pénètrent dans des irrégularités de surface du substrat et finalement durcissent, produisant de nombreux points d'ancrage bioadhésifs. La libre circulation du bioadhésif sur la surface du substrat signifie qu'il doit surmonter les effets de la tension superficielle présents à l'interface [14]. La théorie de mouillage calcule

l'angle de contact et le travail d'adhésion thermodynamique. Le travail est lié à la tension superficielle de l'agent bioadhésif et celle du substrat.

1.3.1.2. Théorie électrostatique

Le transfert d'électrons se produit à travers l'interface adhésive et la surface adhérente. Il en résulte la mise en place de la double couche électrique à l'interface et une série de forces attractives responsables de maintenir le contact entre les deux couches [15].

1.3.1.3. Théorie de la diffusion

La théorie de la diffusion décrit que les chaînes polymériques bioadhésives s'interpénètrent avec les chaînes de mucine glycoprotéines jusqu'à atteindre une profondeur suffisante au sein du substrat opposé aux polymères bioadhésifs pour permettre la formation d'une liaison semi-permanente [16].

La profondeur exacte nécessaire pour de bonnes liaisons bioadhésives n'est pas claire, mais elle est estimée dans la plage de 0,2-0,5 μm [15]. Une fois le contact intime est réalisé, les chaînes de substrat et l'adhésif se déplacent le long de leurs gradients de concentration respectifs dans les phases opposées (Figure 1.2). La profondeur de diffusion dépend du coefficient de diffusion des deux phases. On a également signalé que le coefficient de diffusion dépend de la masse moléculaire du polymère [17].

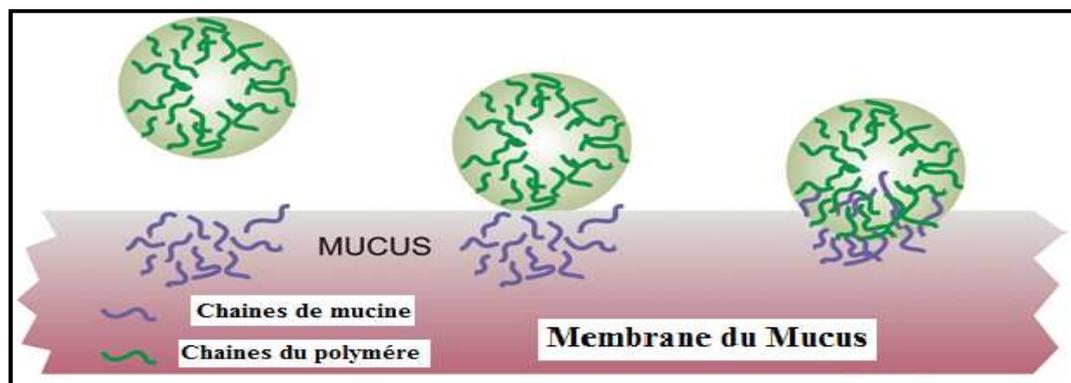


Figure 1.2. Inter-diffusion des chaînes du polymère bioadhésif avec le mucus [15]

1.3.1.4. Théorie de l'adsorption

Selon la théorie de l'adsorption, après un premier contact entre deux surfaces, les matériaux adhèrent à cause des forces agissant entre les structures chimiques sur les deux surfaces [18]. Quand les molécules polaires ou des groupes sont présents, ils se réorientent à l'interface. La théorie soutient que l'adhésion aux tissus est due aux résultats d'une ou plusieurs forces secondaires (forces de van der Waals, liaison hydrogène, et hydrophobe).

1.3.2. Administration de médicaments par voie buccale et mucoadhésion

Lors du développement des systèmes de libération principe actif buccaux, la mucoadhésion est un élément clé [19]. Les polymères mucoadhésifs ont été utilisés dans de nombreuses formes galéniques pour parvenir à l'administration systémique de médicaments à travers les différentes muqueuses. Ces formes galéniques comprennent des comprimés, patches, films, gels et poudres.

Les polymères mucoadhésifs ont plusieurs groupes hydrophiles (groupements hydroxyles, carboxyle, amide, et sulfate). Ces groupes sont attachés au mucus ou à la membrane cellulaire par des interactions différentes telles que des liaisons hydrogène et des interactions hydrophobes ou électrostatiques. Ces groupes hydrophiles provoquent également le gonflement du polymère dans l'eau et, ainsi, exposent un nombre maximum de sites adhésifs [20].

Un polymère idéal pour un système de libération de médicament bioadhésif devrait avoir les caractéristiques suivantes [21]:

- il doit être non toxique,
- il doit de préférence former une liaison non covalente forte avec le mucus,
- il doit posséder une certaine spécificité du site d'adhésion,
- il doit permettre d'intégrer facilement le principe actif,
- le polymère ne doit pas se décomposer au stockage ou au cours de la durée de conservation de la forme bioadhésive.

1.3.3. Facteurs influant la mucoadhésion dans la cavité buccale

Une variété de facteurs influe sur les propriétés mucoadhésive de polymères, Ces facteurs peuvent être liés soit aux polymères ou aux facteurs environnementaux [22].

1.3.3.1. Facteurs environnementaux

Le mucoadhésion d'un polymère dépend non seulement de ses propriétés moléculaires, mais aussi des facteurs environnementaux adjacents au polymère. Ainsi, la température influence la viscosité du mucus, la vitesse de diffusion de la molécule et l'état du polymère. Le pH ou la présence d'ions dans les fluides biologiques engendrent, eux, une variation de la force ionique et de la pression osmotique [23]. En outre, les ions monovalents tendraient à diminuer la bioadhésion, tandis que les ions divalents tendraient à l'augmenter. La salive, en tant que milieu de dissolution, influe sur le comportement du polymère. Selon le débit de salive et de la méthode de détermination, le pH de ce milieu a été estimé à être entre 6,5 et 7.5 [24]. Le mouvement des tissus buccaux en mangeant, buvant, et en parlant, est une autre préoccupation qui doit être considéré lors de la conception d'une forme galénique pour la cavité orale. Les mouvements au sein de la cavité buccale se poursuivent même pendant le sommeil, et peut éventuellement conduire à la séparation de la forme bioadhésive. Par conséquent, un laps de temps optimal pour l'administration de la forme bioadhésive est nécessaire afin d'éviter un grand nombre de ces facteurs [24].

1.3.3.2. Facteurs liés à la formulation

D'autres paramètres liés à la formulation doivent être considérés, tels que la forme pharmaceutique ou les excipients intervenant dans la formule [23]. Un système divisé présente l'avantage de pouvoir se disperser *in situ* pour couvrir une surface de contact plus importante. Par ailleurs, un important diamètre moyen de pore des particules permettrait d'accélérer le gonflement, ce qui est en faveur d'une bioadhésion plus précoce [25]. Un système divisé permet aussi d'éviter une irritation ou une ulcération localisée du tissu, phénomène qui peut être observé avec une forme monolithique renfermant un PA irritant. Un complexe polyélectrolytique au sein des microparticules ou la formation d'un hydrogel sont également envisageables [26].

1.3.3.3. Facteurs liés aux polymères

Le polymère lui-même, par sa nature, module le phénomène de bioadhésion grâce à des phénomènes de cohésion, de gonflement ou de liaison mis en jeu avec le mucus (Figure 1.3).

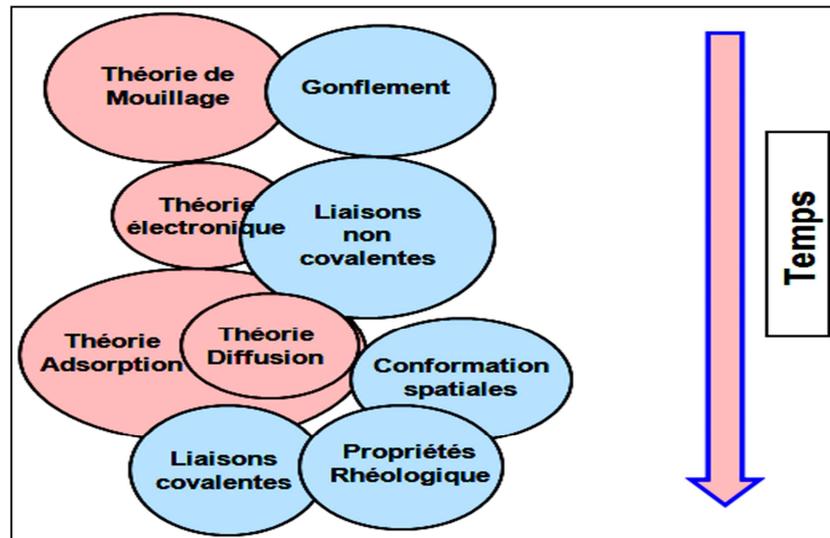


Figure 1.3. Paramètres liés au polymère influençant la mucoadhésion

a/ Poids moléculaire et Flexibilité

En général, il a été démontré que la force d'un polymère bioadhésif augmente avec le poids moléculaire. La bioadhésion commence par la diffusion des chaînes polymères de la région interfaciale. Par conséquent, il est important que les chaînes de polymère contiennent un degré substantiel de flexibilité pour atteindre l'enchevêtrement souhaité avec le mucus. En général, la mobilité et la flexibilité des polymères peuvent être liés à leurs viscosités et leurs coefficients de diffusion, où une plus grande flexibilité d'un polymère entraîne une plus grande diffusion dans le réseau du mucus [27].

b/ Force des liaisons hydrogènes

La liaison hydrogène est un autre facteur important dans la mucoadhésion d'un polymère. Park et Robinson [28] ont constaté que, pour obtenir une mucoadhésion, il faut que les polymères utilisés aient des groupements fonctionnels capables de former des liaisons hydrogènes. Ils ont également confirmé que la flexibilité du polymère est un facteur important pour améliorer la capacité du polymère à développer des liaisons hydrogènes [28].

c/ Densité de réticulation

La taille moyenne des pores, le poids moléculaire moyen des polymères réticulés, et la densité de réticulation sont trois paramètres structurels importants

et interdépendants d'un réseau polymérique [28]. Par conséquent, l'augmentation de la densité de réticulation réduit la diffusion de l'eau dans le réseau polymérique, ce qui à son tour, provoque un gonflement du polymère insuffisant et un taux diminué d'interpénétration entre le polymère et le mucin [28].

d/ Charge

Certaines généralisations sur la charge des polymères bioadhésifs ont été faites antérieurement, où les polymères non-ioniques offrent de moindres propriétés mucoadhésives par rapport aux polymères anioniques. Il a été démontré que des polymères cationiques sont susceptibles de produire des propriétés mucoadhésives supérieures, en particulier dans un milieu neutre ou légèrement alcalin [29].

e/ Concentration

L'importance de ce facteur réside dans le développement de liaisons fortes avec le mucus, et qui peut être expliqué par la longueur de chaîne de polymère disponible pour la pénétration dans la couche de mucus. Lorsque la concentration du polymère est trop faible, le nombre de chaînes de polymère pénétrant par unité de volume est faible, et les interactions entre le polymère et le mucus sont instables [30]. En général, l'augmentation de la concentration des polymères se traduirait par une longueur de chaîne plus pénétrante et une meilleure adhérence. Cependant, pour chaque polymère, il ya une concentration critique, au-dessus de laquelle le polymère produit un état imperturbable en raison d'une structure enroulée de manière significative. En conséquence, la pénétration du solvant est réduite, et la pénétration des chaînes du polymère est considérablement réduite. Dans ce cas, des concentrations plus élevées de polymères ne va pas nécessairement améliorer la mucoadhésion et, dans certains cas, réduit les propriétés mucoadhésives. Pour les formes semi-solides, il existe une concentration optimale au-delà de laquelle les chaînes de polymère sont en nombre suffisant, assurant ainsi une bonne interpénétration dans le mucus et une bioadhésion satisfaisante. En ce qui concerne les formes solides, un tel seuil n'existe pas et plus la concentration en polymère est importante, plus la force mucoadhésive est grande [26].

f/ Hydratation (gonflement)

L'hydratation est nécessaire pour un polymère mucoadhésif afin d'élargir et de créer un "maillage macromoléculaire" avec une taille suffisante, et également pour induire la mobilité dans les chaînes de polymère afin d'améliorer le processus d'interpénétration entre le polymère et mucin [28]. Un taux d'hydratation assez important permet une mobilité des chaînes. Un nombre suffisant de sites adhésifs, ou fonctionnels, libérés et exposés contribue à une interaction avec le mucus. Cependant, si le gonflement est excessif, les liaisons adhésives sont plus faibles du fait de l'éloignement des groupements fonctionnels. La vitesse d'hydratation importe elle aussi. Elle doit être suffisamment rapide pour que la formulation établisse rapidement des liens avec le mucus et échappe au flux des fluides biologiques [23].

g/ pH

Le pH du bioadhésif à l'interface du substrat peut influencer son adhésion s'il possède des groupes ionisables. Beaucoup de polymères bioadhésifs utilisés dans la formulation de médicaments sont des polyanions possédant des fonctions d'acides carboxyliques. Si le pH local est supérieur au pK_a du polymère, il sera en grande partie ionisé; si le pH est inférieur au pK_a du polymère, il sera en grande partie protoné. Les propriétés idéales d'un système bioadhésif buccal sont [26,27]:

- adhérer à la muqueuse pour quelques heures,
- libérer le médicament de façon contrôlée,
- fournir la libération du médicament de façon unidirectionnelle,
- faciliter le taux et l'étendue de l'absorption du médicament,
- ne pas provoquer une irritation ou une gêne pour le patient,
- ne pas interférer avec les fonctions normales, telles que parler, boire etc.

1.3.4. Classification des polymères bioadhésifs

Plusieurs familles de polymères ont montré de bonnes propriétés mucoadhésives. Ils peuvent être d'origine naturelle ou synthétique. On a répertorié ces polymères en trois grandes catégories [26]:

- les polymères qui, au contact de l'eau, développent des propriétés adhésives responsables de la bioadhésion ;

- les polymères qui adhèrent au tissu biologique grâce à des liaisons physiques (liaison électrostatique principalement mais aussi interaction hydrophobe ou liaison hydrogène) ;
- les polymères se liant à des sites spécifiques.

Les deux premières catégories rassemblent les polymères bioadhésifs dits de première génération. Il s'agit de systèmes non spécifiques. La dernière catégorie constitue la seconde génération et permet d'améliorer la vectorisation de la forme pharmaceutique sur un tissu particulier [26].

1.3.4.1. Polymères bioadhésifs de première génération

Les polymères de première génération peuvent être subdivisés en trois groupes: anioniques, cationiques et non ioniques [31]. Selon Ludwig [32], seuls les deux premiers groupes sont pertinents dans la bioadhésion.

a/ Polymères anioniques

Les polymères anioniques sont les plus employés, du fait de leur forte bioadhésion et de leur faible toxicité. Suite à une étude par rhéologie et texturométrie, ce sont le haut poids moléculaire et le degré de réticulation important qui conditionnent la mucoadhésion [33]. L'ionisation décuple alors leur capacité de gonflement en présence d'eau et permet l'ouverture des sites de liaisons ainsi qu'une meilleure accessibilité pour les chaînes de glycoprotéines du mucus. La vitesse de pénétration du solvant dans la matrice est alors contrôlée par la relaxation des chaînes de polymères, ce qui modifie la libération du PA. Les hydrates de carbone, tels que la gomme guar, la gomme gellane, la pectine, le dextran, l'amylose les alginates ou les carraghénanes, peuvent être employés [33]. Toutefois, ces biopolymères peuvent être améliorés grâce à des modifications chimiques de la molécule. La réticulation est ainsi souvent utilisée afin de contrôler la libération [33].

b/ Polymères cationiques

Le chitosan est le polymère bioadhésif cationique le plus souvent étudié [34]. Ce polysaccharide est obtenu par déacétylation de la chitine. Il montre des propriétés mucoadhésives intéressantes en établissant des liaisons ioniques entre

ses groupements amines et des fonctions acide sulfonique du mucus ainsi que des liaisons hydrogène [25]. Sa biocompatibilité, sa biodégradabilité et sa faible toxicité confirment le potentiel de cette macromolécule [34].

c/ Polymères non ioniques

L'étude des polymères mucoadhésifs les plus publiés a permis de sélectionner les plus utilisés. Parmi eux, se trouvent l'amidon non modifié, les dérivés cellulosiques, la polyvinylpyrrolidone et le polyéthylène glycol. Ceux-ci, à l'inverse des autres classes de polymères, ne sont pas affectés par les électrolytes [31].

1.3.4.2. Polymères bioadhésifs de seconde génération

La seconde génération de polymères permet de pallier les difficultés à cibler la bioadhésion sur un site éloigné de la voie d'entrée. Dans la voie orale par exemple, le challenge est d'éviter une mucoadhésion trop précoce sur les muqueuses, en amont du site ciblé, et de permettre l'adhésion de la formule uniquement au niveau souhaité. Cette seconde génération s'appuie donc sur une reconnaissance spécifique entre un récepteur et son ligand [23].

1.3.5. Caractérisation de la bioadhésion

Afin de développer une formulation bioadhésive, il faut prévoir des méthodes d'étude. Celles-ci devront prendre en compte les nombreux paramètres impactant les différents mécanismes, et permettre de discriminer les formules en termes de mucoadhésion.

1.3.5.1. Méthodes *in vitro*

- **Les techniques *in vitro*** sont relativement faciles à mettre en œuvre et moins coûteuses que les méthodes *in vivo*. Elles permettent ainsi de discriminer des formules et de sélectionner les plus pertinentes pour des tests *in vivo*. Leur point critique est la reconstitution des propriétés viscoélastiques et chimiques du mucus [35].

- **Techniques rhéologiques** : l'interaction entre le mucus et un polymère bioadhésif entraîne un réarrangement des macromolécules conduisant à la variation de la viscosité. En fixant la concentration du polymère, la température et la vitesse de cisaillement, le rhéo-épaississement dû à l'interaction mucus-

polymère peut être déterminé. La force de bioadhésion par unité d'aire (en N/m²) peut alors être déterminée [35].

- **Techniques spectroscopiques et microscopiques** : l'observation des variations de spectres de fluorescence de l'isothiocyanate de fluorescéine et du pyrène peut refléter la variation de la viscosité du système et traduire l'interaction mucus/polymère. Il faut toutefois prendre en compte l'impact que le marqueur peut avoir sur la formulation et son comportement. Les mouvements d'eau ont également pu être observés par cette technique [36].

- **Angle de contact** : l'étalement du polymère sur le support biologique conditionne la qualité de la bioadhésion. Une particule déposée sur une muqueuse est observée au goniomètre (capteur servant à mesurer les angles). Après cinq minutes de temps de contact, le diamètre ainsi que la hauteur de la particule sont mesurés et le ménisque et l'angle de contact sont évalués [31].

- **Force de détachement** : la mesure fait intervenir un appareil de mesure de force, relié à un support sur lequel est fixé le polymère évalué. Sur une partie mobile, qui vient au contact du polymère, se trouve le support biologique. Les deux surfaces sont mises en contact l'une de l'autre pendant un temps donné puis, progressivement, le support mobile s'éloigne de la partie fixe du montage pendant que la force permettant le détachement est évaluée [31].

1.3.5.2. Méthodes *in vivo*

Des techniques *in vivo* faisant intervenir la scintigraphie ou l'autoradiographie ont été réalisées pour mettre en évidence la mucoadhésion. Pour ces techniques, l'administration peut se faire par voie orale ou directement dans l'intestin *via* une perfusion de l'organe [38].

1.4. POLYMERES BIOADHESIFS ETUDIES

Parmi les polymères bioadhésifs utilisés pour la mise au point de nouvelles formes pharmaceutiques, les polysaccharides d'origine naturelle possèdent des propriétés intéressantes et originales valorisables dans le domaine des biomatériaux. Les polysaccharides se distinguent clairement des polymères synthétiques. Ils ont très souvent les caractéristiques particulières de biodégradabilité et de biocompatibilité et sont des polymères semi-rigides contrairement aux polymères synthétiques flexibles. Les polysaccharides étudiés

dans ce présent travail sont le carraghénane et l'amidon. Ces biopolymères sont utilisés pour l'élaboration et la mise au point de matrices hydrophiles bioadhésives pour libération prolongée à usage buccal.

1.4.1. Kappa carraghénane

Les algues sont des organismes eucaryotes photosynthétiques qui appartiennent à des lignées phylogénétiques différentes. Les algues rouges (Rhodophyta) font partie, comme les algues vertes (Chlorophyta) et les plantes supérieures (Streptophyta) de la lignée des plantes, alors que les algues brunes (Phaeophyta) appartiennent à la lignée des hétérokontes. La paroi de certaines algues rouges est principalement composée de polysaccharides sulfatés : les carraghénanes. La première algue carraghénophyte découverte fut *Chondrus crispus* (Irish Moss) en 1862 par Stanford, qui donna le nom « carrageenin » au matériel gélatineux qu'il avait extrait de l'algue (Figure 1.4).



Figure 1.4. *Chondrus crispus* [39]

1.4.1.1. Structure des carraghénanes

Les carraghénanes sont composés alternativement d'unités $(1\rightarrow3)\beta$ -D-galactopyranoses (unités **G**) et $(1\rightarrow4)\alpha$ -D-galactopyranoses (unités **D**). Les $(1\rightarrow4)\alpha$ -D-galactopyranoses peuvent aussi exister sous la forme 3,6-anhydrogalactopyranoses (unités **DA**) [40]. Les unités G et/ou D peuvent être substituées à différentes positions par des sulfates (**S**), des O-méthyles (**M**) ou des groupements d'acide pyruvique sous la forme de kétal cyclique (**P**), créant ainsi une grande diversité de structures de carraghénanes (Figure 1.5). La

position des substituant est indiquée par le numéro des carbones auxquels ils sont attachés sauf pour le groupement P toujours positionné sur les mêmes carbones 4 et 6 de l'unité D [40].

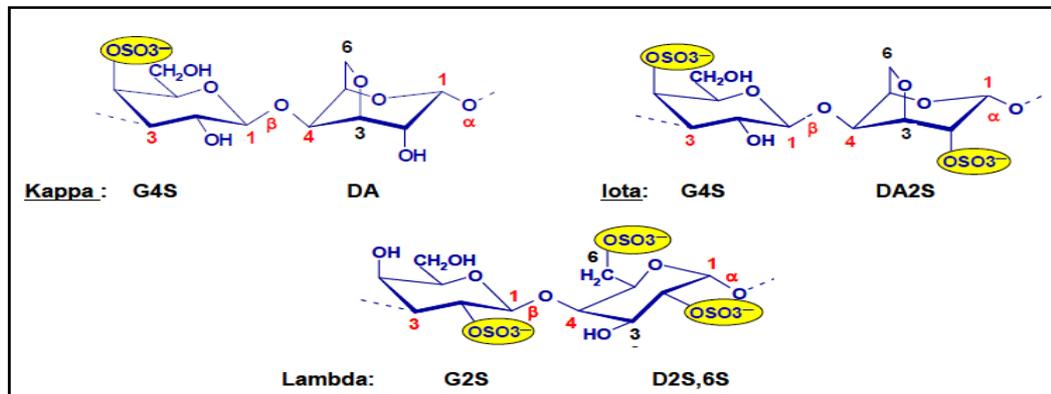


Figure 1.5. Structures des unités de carrabioses composants la structure des carraghénanes : le lambda, le kappa et l'iota carraghénane [40]

1.4.1.2. Classification des carraghénanes

Les Carraghénanes sont divisés en trois grandes familles: kappa (κ), iota (ι) et lambda (λ) [41]. Lambda (λ -Type) carraghénane produit des solutions visqueuses, mais ne forment pas de gel. Alors que le Kappa (κ type) carraghénane forme un gel fragile, l'iota (ι type) carraghénane produit des gels élastiques [42]. Les structures chimiques des trois types sont décrites dans la Figure 1.6.

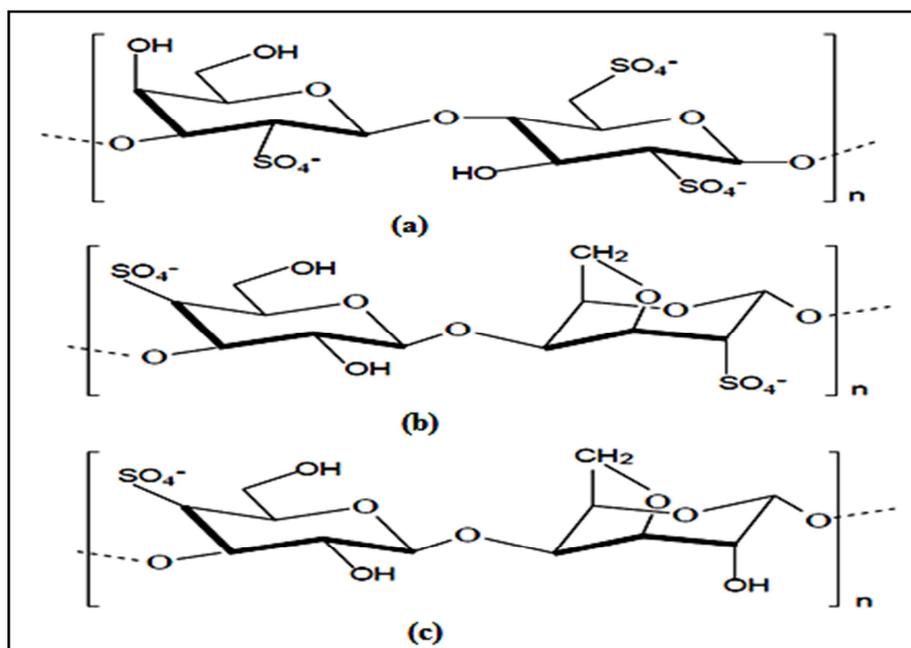


Figure 1.6. Structures Chimiques de: (a) λ -carrageenan, (b) ι -carrageenan et (c) κ -carrageenan [41]

1.4.1.3. Propriétés des carraghénanes

a/ Solubilité

Les carraghénanes sont solubles dans l'eau, mais la température de solubilisation dépend du type de copolymère et des cations associés à l'ester sulfate. Plus il y a de groupements sulfate, plus la molécule est soluble. Donc la présence du pont 3,6 anhydrogalactose résultant de la désulfation du carbone 6 du copolymère diminue la solubilité [43].

Le Kappa carraghénane est le moins hydrophile des carraghénanes, sa solubilisation totale ne pourra être assurée que par élévation de la température. Cette température de solubilisation dépendra en outre du cation associé, la forme sodique étant plus facilement soluble que la forme potassique. Cependant, tous les carraghénanes sont insolubles dans les solvants organiques apolaires et dans la plupart des solvants organiques polaires [43].

b/ Effets des électrolytes

Le pouvoir gélifiant des carraghénanes est grandement influencé par la présence d'électrolytes, qui sont nécessaires pour permettre cette gélification. Les sels de potassium (K^+) sont les plus réactifs et de ce fait les plus utilisés. La densité du gel de Kappa carraghénane augmente en fonction des concentrations de (K^+). Ainsi, plus la concentration en (K^+) est élevée plus le gel est dense. Les ions (K^+) augmentent également les températures de fusion et de formation du gel. Les ions calcium (Ca^{++}) ont également une influence sur le pouvoir gélifiant des carraghénanes, mais leur effet est plus marqué pour la fraction Iota avec laquelle ils forment un gel très élastique et cohérent [43].

c/ Réactions avec les protéines

Les carraghénanes, au caractère anionique très prononcé du fait de la présence des groupements esters sulfates, réagissent avec les polyélectrolytes cationiques, et les flocculent. De la même façon, ils précipitent les protéines lorsque le pH est inférieur à leur point isoélectrique. A des pH supérieurs à leur point isoélectrique, les protéines sont compatibles avec les carraghénanes et des réactions peuvent être obtenues. A cet égard, la propriété la plus remarquable des carraghénanes, est leur aptitude à stabiliser les micelles de caséine désignée sous le nom de caséine Kappa [43].

d/ Viscosité

Les carraghénanes forment des solutions visqueuses dans l'eau dont les propriétés dépendront de la concentration, de la température, du type de carraghénanes et de la masse molaire. La viscosité augmente proportionnellement avec la concentration et la masse molaire alors que les sels, eux réduisent la viscosité (diminution des répulsions électrostatiques). De même, l'augmentation de la température diminue la viscosité [43].

1.4.1.4. Mécanisme de gélification des carraghénanes

La linéarité des macromolécules de carraghénane leur confère un important pouvoir viscosifiant, du fait de leur grand rayon de giration, comparativement à celui d'une autre macromolécule du même poids moléculaire qui serait ramifiée. Les carraghénanes ont donc tous des propriétés épaississantes, dès lors que les macromolécules ont acquis une certaine indépendance les unes vis-à-vis des autres, c'est à dire au-delà de la température nécessaire à leur solubilisation : à froid pour la fraction Lambda et à chaud pour les fractions Kappa et Iota. Par refroidissement à la température ambiante de leur solution chaude, les diverses fractions de carraghénanes évoluent différemment selon que les chaînes de polysaccharides auront, ou non, tendance à s'associer entre elles [43].

Le Kappa carraghénane nécessite un chauffage pour sa complète solubilisation, les macromolécules auront au contraire tendance à se rapprocher spontanément lors du refroidissement, en créant des zones de jonction plus ou moins intenses caractérisant l'état gélifié. Ces zones de jonctions caractérisant l'état gélifié sont dues à l'arrangement en double hélice des macromolécules de carraghénanes, lorsque la structure conformationnelle des cycles pyranosiques est alternativement C₁-1C. C'est le cas pour les fractions Kappa et Iota, alors qu'au contraire les fractions Lambda en conformation répétitive C₁-C₁ ne pourront pas former de telles zones de jonction [44].

Le mécanisme de gélification des κ- et ι-carraghénanes est toujours sujet de débat et oppose deux théories (Figure 1.7).

- La première théorie supporte la formation de doubles hélices qui s'associent ensuite en domaines de doubles hélices en présence de cations [45].
- La seconde implique la formation d'hélices simples puis une association, induite en présence de cations, en agrégats d'hélices simples [46].

Ces deux théories s'appuient sur diverses méthodes de caractérisation telles que la diffraction des rayons X, la rotation optique, la ^{13}C RMN, la diffusion de la lumière, la rhéologie et la calorimétrie.

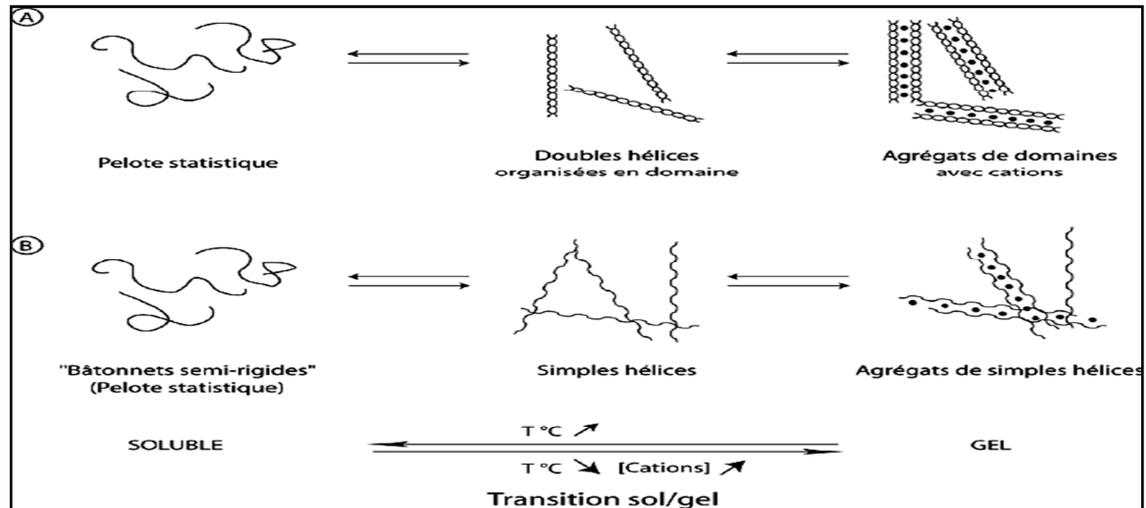


Figure 1.7. Théories de la transition sol/gel du κ -carraghénane en présence d'ions K^+ . Théorie du « Model des domaines » [46], (B) Théorie «Modèle des hélices imbriquées» [47]. Les ions K^+ sont représentés par (●)

Contrairement aux κ - et ι -carraghénanes, le λ -carraghénane ne forme pas de gel en solution. Mais le λ -carraghénane possède des propriétés viscosifiantes et épaississantes élevées. La viscosité des solutions augmente avec la concentration en λ -carraghénane, et décroît en présence de sels et par élévation de la température. Ces différences de propriétés rhéologiques s'expliqueraient par des structures tridimensionnelles différentes, conséquence d'un taux de sulfatation élevée des chaînes de λ -carraghénane et de la conformation 4C1 des unités D2S, 6S des motifs lambda [47].

Le kappa et l'iota carraghénane forment une spirale dans l'espace grâce au radical hydrophobe $\text{CH}_2\text{-O-}$ sur l'anhydrogalactose. Ainsi, lorsque les molécules s'associent par paires, les ponts hydrophobes sont face à face et tentent de chasser l'eau. Mais ce mouvement peut être contré par la présence des sulfates hydrophiles. Cela empêche la formation de gel car les molécules restent trop éloignées les unes des autres et les ponts hydrogènes ne se forment pas. Pour constituer le gel, il faut ajouter dans la solution du calcium ou du potassium. Ces ions forment « le pont manquant entre les deux molécules parallèles », ce qui fige

l'ensemble en un gel. Le gel Kappa carraghénane sera plus rigide que celui de l'iota car ce dernier possède un radical OSO_3^{2-} hydrophile en plus [47].

En présence de sel (K^+ , Na^+), en raison de la répulsion de groupements sulfonate (SO_3^-) du kappa carraghénane, des doubles hélices plus agrégées apparaissent, et après refroidissement, forment des gels stables (Figure 1.8).

Le mécanisme de gélification est sensible, à la fois, à la présence d'électrolytes et à la température. Les gels de Kappa carraghénanes sont thermoionoreversibles. Les chaînes macromoléculaires se répartissent dans l'espace sous forme de pelote statique (état SOL). A la température ambiante, les deux chaînes de polysaccharides s'associent progressivement, de manière réversible en double hélice, stabilisées par des liaisons inter chaînes de faible énergie, liaison par pont hydrogène [48].

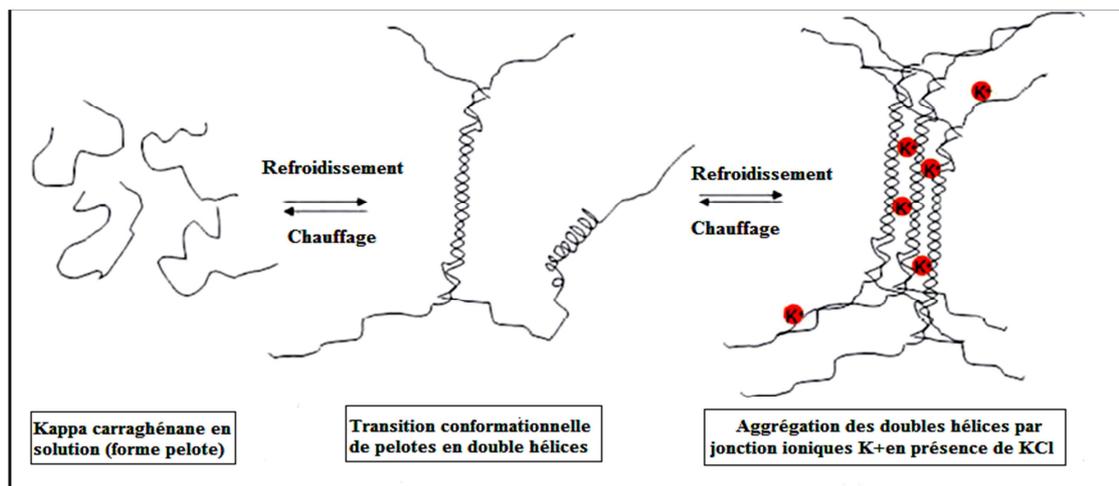


Figure 1.8. Formation de gel due à l'agrégation des hélices lors du refroidissement d'une solution chaude de Kappa carraghénane [48]

Lorsque la densité d'hélices est suffisante pour qu'il y ait interpénétration et apparition d'un réseau continu, le "point gel" est atteint. La densité du réseau augmente ensuite parallèlement avec celle des associations d'hélices et, lorsque l'état d'agrégation est assez élevé, il y a expulsion de solvant par concentration des mailles, le gel devient rigide. Ceci constitue l'étape finale du processus dit de "la synérèse" [48].

1.4.1.5. Régime dilué et semi-dilué d'une solution de κ -carraghénane

Une chaîne polymérique peut adopter différentes conformations selon la concentration en biopolymère dans la solution et les conditions thermodynamiques du milieu (qualité du solvant). Ceci consiste explicitement à négliger les interactions polymère-polymère qui seront d'autant plus importantes que la fraction massique ou volumique en polymère augmente. On peut atteindre ainsi une concentration limite à partir de laquelle les pelotes de kappa carraghénane commencent à se chevaucher. Ceci définit le passage du régime des solutions diluées au régime des solutions semi-diluées, de façon à les distinguer des solutions concentrées ou fondues de polymères dans lesquelles les densités de chaînes sont beaucoup plus élevées [49]. Il y a donc différents régimes selon la valeur de la concentration c . Quatre régimes pour les polyélectrolytes ont été délimités [49] comme le montre la Figure 1.9.

- pour les faibles concentrations $c < c^*$, une phase surnageant constituée de chaînes libres de polymères (chaînes isolées non associées);
- entre les concentrations c et c^* , un régime biphasique constitué d'une phase de type gel en équilibre (c_e) avec une solution visqueuse;
- une phase intermédiaire en équilibre ($c = c^*$) avec les chaînes non associées de polysaccharide.
- et enfin, à partir d'une concentration critique $c \gg c^*$, un réseau associatif caractérisé par un comportement de type gel aux concentrations élevées.

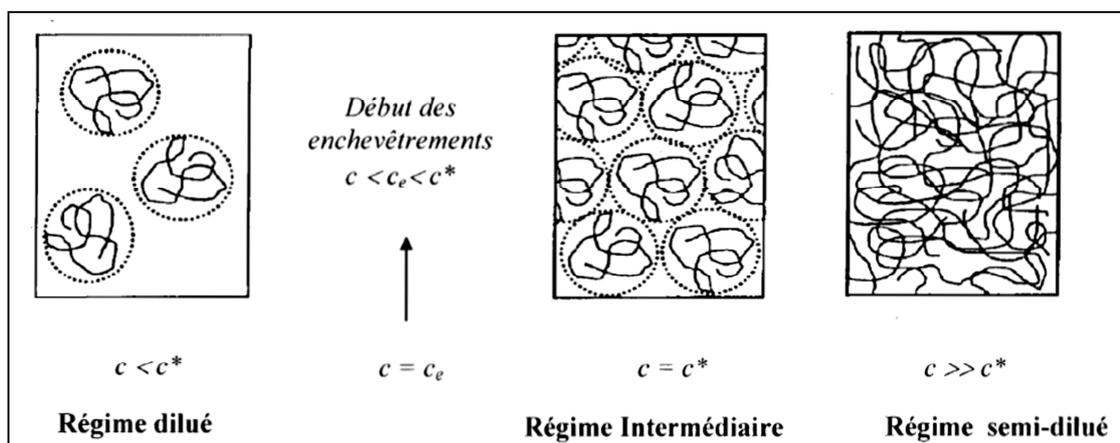


Figure 1.9. Recouvrement des chaînes lorsque la concentration c augmente [49]

1.4.1.6. Modification chimique du kappa carraghénane

Plusieurs modifications chimiques ont été proposées pour moduler les propriétés physico-chimiques des carraghénanes. Guiseley [50] a proposé la synthèse de κ -carraghénane contenant des groupes hydroxyalkyle. En effet, les gels préparés à partir des dérivés d'hydroxyalkyle κ -carraghénane ont démontré une synérèse diminuée par rapport au κ -carraghénane, ce qui peut contribuer à une plus large utilisation industrielle de ces polysaccharides. Récemment, Tari et al. [51] ont démontré que l'association de κ -carraghénane avec CaCl_2 pouvait modifier les propriétés de gonflement des gels de carraghénane, mettant l'accent sur la pertinence commerciale de modifications chimiques des carraghénanes. Plusieurs traitements peuvent être à l'origine d'une éventuelle modification chimique des carraghénanes.

- *Traitement alcalin*

Les meilleures réactions chimiques décrites des carraghénanes sont liées à des modifications en milieux alcalins. Le κ -carraghénane peut subir une cyclisation en présence d'hydroxyde de sodium 1M à 80°C. La formation de 3,6-anhydro- α -D-galactose unités de α -D-galactose 6-sulfate suit une cinétique de pseudo premier ordre [52]. Hosseinzadeh et al. [53] ont établi un hydrogel de κ -carraghénane avec une capacité d'absorption très élevée dans une solution saline à travers une réticulation au polyacrylamide suivie d'une hydrolyse alcaline. L'hydrogel affichait des propriétés d'absorption d'eau semblables à ceux du κ -carraghénane copolymérisé avec l'acide acrylique [54].

Le greffage de κ -carraghénane avec le méthacrylate de méthyle a été réalisé par Prasad et al. [55] en utilisant une irradiation micro-ondes. La copolymérisation de κ -carraghénane avec de l'acide acrylique et du 2-acrylamido-2-méthylpropane-sulfonique conduit à l'élaboration d'hydrogels biodégradables avec une utilisation potentielle pour de nouveaux systèmes d'administration de médicaments [56]. Ces hydrogels sont très prometteurs pour l'immobilisation d'enzymes [57].

Dans le domaine biomédical, l'utilisation de carraghénanes modifié présente également un domaine d'exploitation. En effet des nano-composites poreux ont été préparés par co-précipitation des phosphates de calcium dans une matrice de κ -carraghénane [58], dont la porosité et la morphologie sont appropriées pour une application dans l'ingénierie tissulaire osseuse. L'association entre carraghénane,

nanohydroxyapatite et collagène sous forme injectable a entraîné une substitution osseuse en biomatériau, adapté à la chirurgie de reconstruction osseuse [59].

- Carboxyméthylation du Kappa carraghénane

La carboxyméthylation des polysaccharides est l'un des moyens de conversion largement étudiés qui conduit au développement de nouveaux biomatériaux avec des applications très prometteuses. La Carboxyméthylation du κ -carraghénane a été réalisée en faisant réagir le biopolymère avec l'acide monochloroacétique dans un mélange de solvant organique-eau-NaOH (Figure 1.10).

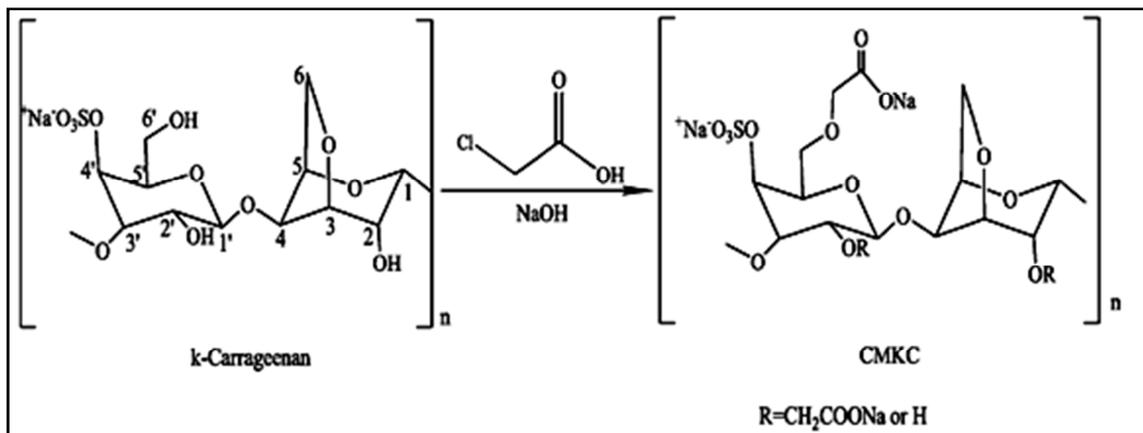


Figure 1.10. Réaction de modification du kappa-carraghénane par Carboxyméthylation [60]

1.4.1.7. Utilisations des carraghénanes en pharmacie

Les carraghénanes sont utilisés dans la formulation de comprimés à libération contrôlée [61-63]. Les matrices à base de κ -carraghénane et λ -carraghénane ont montré des profils de libération qui ont approché une cinétique d'ordre zéro. Il a été constaté que des facteurs tels que le diamètre des comprimé, la concentration en carraghénane et la force ionique du milieu de dissolution peuvent jouer un rôle dans la libération du principe actif à partir de ces matrices [64]. Des capsules à base d'hydrogels ont été préparées à partir d'un mélange de κ -carraghénane et d'alginate de potassium et réticulées avec des ions calcium. Les produits obtenus présentent une morphologie et une surface lisse et la présence du κ -carraghénane dans l'hydrogel a amélioré la thermo-stabilité du réseau polymérique. Ces capsules ont été utilisées comme systèmes d'administration de principe actifs pour libération contrôlée [64].

Les principales activités biologiques des carraghénanes sont des propriétés anticoagulantes [66], anti tumorales [67] et antivirales. L'activité antivirale des carraghénanes contre l'herpès augmenterait avec le poids moléculaire et le taux de sulfatation [68].

1.4.2. Amidon de Maïs prégelatinisé

L'amidon est, après la cellulose, la principale substance glucidique synthétisée par les végétaux supérieurs. Les sources d'amidon, les plus importantes, sont représentées par les céréales, les tubercules et les légumineuses. Certains fruits peuvent également être riches en amidon. À l'état natif, l'amidon est insoluble dans l'eau froide, il est constitué de granules dont la taille, la composition et les propriétés physico-chimiques et fonctionnelles dépendent de l'origine botanique [69] et des conditions de culture [70]. Ces propriétés peuvent cependant évoluer en fonction des traitements auxquels les granules sont soumis.

Les modifications que les traitements thermiques induisent sur les amidons ont l'avantage d'être perçues comme naturelles et sont de ce fait mieux acceptées par les consommateurs, comparativement aux modifications induites par voie chimique [71].

1.4.2.1. Structures et composition des granules d'amidon de maïs

Les granules d'amidon sont composés d'une proportion d'amylose et d'amylopectine variable selon la variété de maïs. Des teneurs en amylose variant entre 15 et 28 % [69]. Les amidons de certaines variétés sont essentiellement composés d'amylopectine, tandis que d'autres sont beaucoup plus riches en amylose [72]. Chimiquement, l'amidon est un polysaccharide composé de molécules de D-glucose formant des macromolécules $(C_6H_{10}O_5)_n$ par des liaisons α -glycosidiques. On y trouve deux fractions, l'amylose linéaire (uniquement liaisons α -1,4-glycosidiques) et l'amylopectine ramifiée (liaisons α -1,4- et α -1,6-glycosidiques), dont la coloration bleue en solution iodée est caractéristique.

L'amylose est un polymère linéaire constitué de résidus D-glucopyranose liés par des liaisons α -1,4 (liaison avec l'oxygène glucosidiques en position axiale), comme le montre la Figure 1.11.

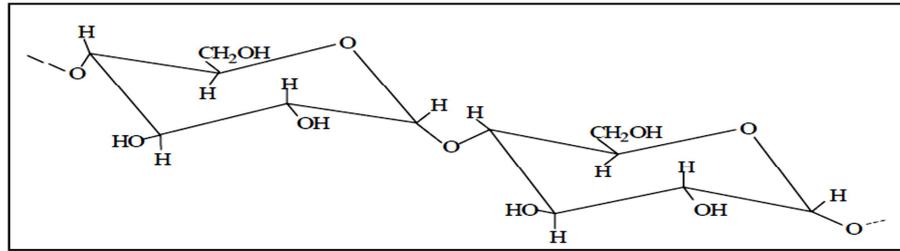


Figure 1.11. Structure chimique de l'amylose

L'amylopectine est un polymère fortement branché constitué de résidus D-glucopyranose liés par des liaisons α . Les liaisons glycosidiques sont 1,4 sauf aux points de branchement α -(1,6) (Figure 1.12). Entre 5 à 6 % des liaisons glycosidiques sont α -1,6 [73]. L'ensemble des chaînes courtes sont sous forme de double hélice reliées à une même chaîne longue. La cristallinité des grains d'amidon est essentiellement due aux molécules d'amylopectine organisées en lamelles cristallines [74].

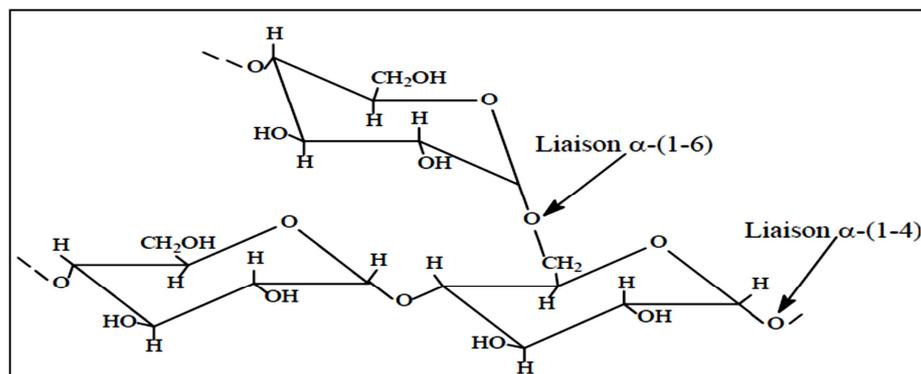


Figure 1.12. Structure moléculaire de l'amylopectine

1.4.2.2. Organisation structurale des granules de l'amidon

Les granules d'amidon sont des entités semi-cristallines [75]. La structure granulaire est assurée par des liaisons glycosidiques qui forment les homopolymères (amylose et amylopectine) à la base de la formation des granules, ainsi que par des interactions de Van der Waals et des ponts hydrogène qui stabilisent l'organisation des polymères d'hydrates de carbone en doubles hélices (échelle moléculaire). Les parties cristallines, dispersées dans une phase amorphe discontinue, sont constituées principalement de chaînes d'amylopectines organisées en doubles hélices, groupées densément (clusters), parallèles les unes aux autres (Figure 1.13), alors que l'amylose et les points de ramification des

liaisons α -D-glucopyranoses (1-6) des amylopectines sont principalement localisés dans les parties amorphes du granule [76].

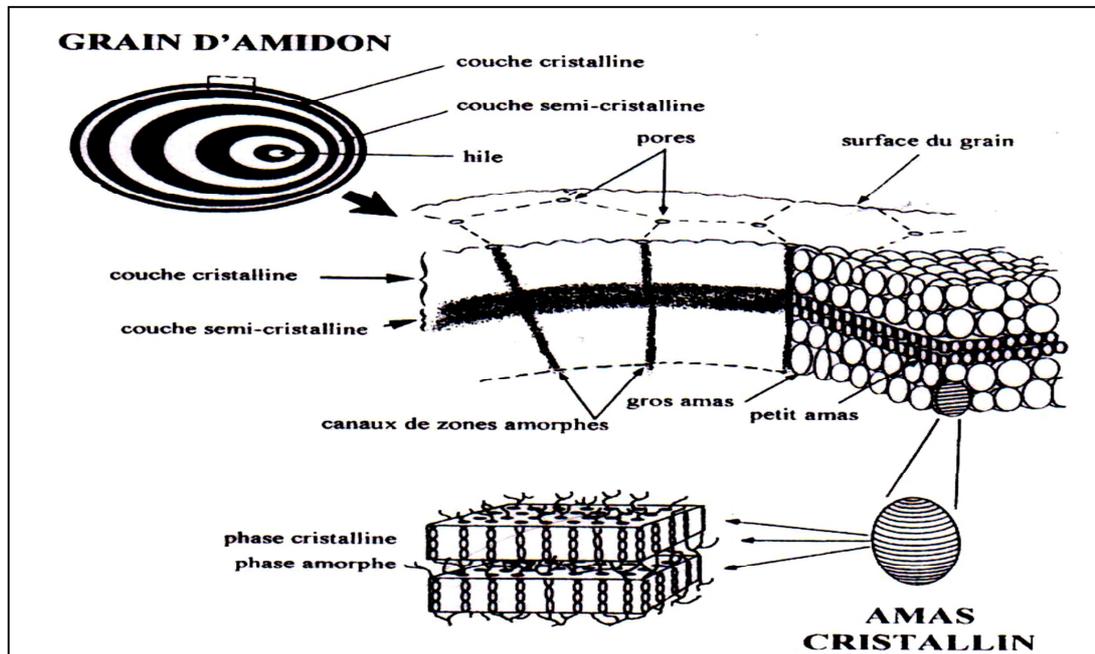


Figure 1.13. Structure et ultra structure d'un grain d'amidon [76]

1.4.2.3. Modifications structurales des amidons lors des traitements thermiques

Le comportement des amidons lors des traitements thermiques résulte des restructurations de l'architecture interne des granules. La gélatinisation, les transitions vitreuses, et la rétrogradation sont les phénomènes les plus étudiés.

La gélatinisation est la transformation la plus remarquable que subissent les amidons pendant leurs traitements thermiques en milieu aqueux. Elle est caractérisée par la modification irréversible de plusieurs paramètres dont la taille et la cristallinité des granules. Du point de vue macroscopique, elle se traduit par la modification de la viscosité et de la texture des empoids d'amidon [77].

1.4.2.4. Modification chimique de l'amidon

L'amidon modifié est un amidon dont une ou plus de ses propriétés physiques ou chimiques sont modifiées. Le terme de modification chimique regroupe un ensemble de réactions engendrant un changement de la structure chimique de certaines unités glycosyles des macromolécules d'amidon. Elles concernent les fonctions alcools primaires et secondaires des unités glycosyles (oxydation,

estérification, étherification), la liaison glycosidique et la fonction pseudoaldéhydique (hydrogénation) (Figure 1.14). Dans le cas particulier des fonctions hydroxyles, les produits issus de modifications chimiques sont caractérisés par leur degré de substitution (DS) qui représente le nombre moyen de fonctions substituées ($0 < DS < 3$) par unité glucosidiques [77].

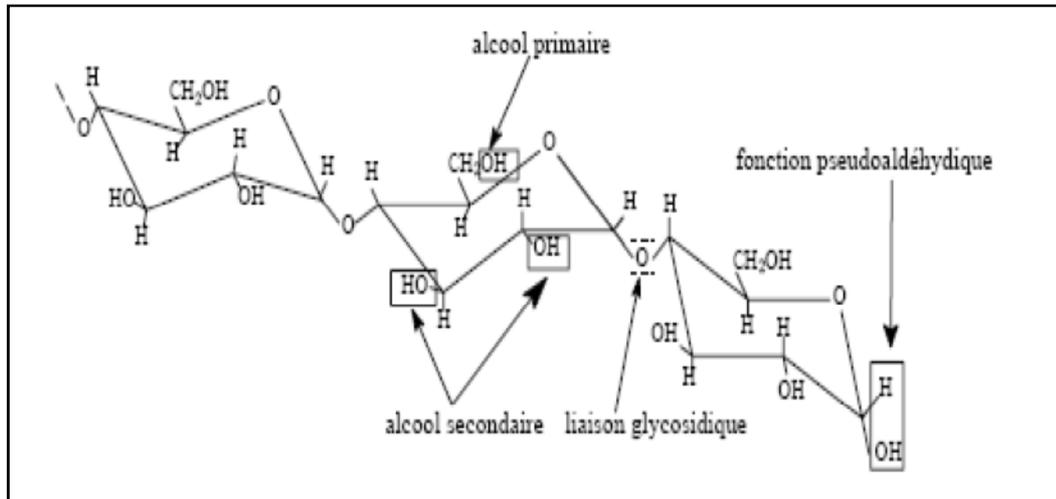


Figure 1.14. Principaux groupements intervenant dans la modification d'amidon et de ses dérivés [77]

Les amidons modifiés chimiquement conservent leur nature macromoléculaire quelle que soit la nature de la modification chimique, tout en présentant une large gamme de propriétés physico-chimiques. Les différentes modifications que peut subir l'amidon sont: l'oxydation, la carboxyméthylation, la succinylation, la phtalation, la cationisation, la réticulation, l'étherification et l'estérification.

Une forme oxydée de l'amidon est obtenue par traitement avec différentes quantités d'agent oxydant (par exemple, l'hypochlorite de sodium). Ce type de traitement provoque le blanchiment des impuretés colorées associées à l'amidon et génère différents degrés de viscosité de l'amidon modifié en fonction de la quantité d'hypochlorite de sodium utilisée [78].

Une forme réticulée de l'amidon est obtenue par création de ponts intermoléculaires renforçant les ponts hydrogènes déjà présents entre les chaînes. La réticulation est obtenue par l'utilisation d'agents réticulants (épichlorhydrine, oxychlorure de phosphore, trimétaphosphate sodique). La solubilité de l'amidon diminue avec l'augmentation du taux de réticulation qui crée une structure tridimensionnelle plus liée [79].

L'amidon présente de nombreux groupements hydroxyles relativement accessibles, et donc peut être candidat pour les réactions de substitution par une large gamme de molécules. L'addition de groupements fonctionnels sur l'amidon permettra notamment de moduler sa solubilité en milieu aqueux.

✚ Le Carboxyméthyl amidon (CMA) illustre un cas d'amidon modifié par substitution. Le CMA présente une température de gélification diminuée par rapport à l'amidon natif. Lors de la réaction de carboxyméthylation, des groupements hydroxyles du polysaccharide ont été substitués par des groupements carboxyméthyle issus du traitement avec une solution d'acide monochloroacétique [80].

✚ Il a été montré, par analyse de spectres RMN, que la modification de l'amidon se fait préférentiellement sur l'oxygène lié au carbone 2 par une réaction de substitution nucléophile d'ordre 2 (SN2) [81].

✚ La capacité de gonflement de polymères substitués par des groupements ioniques est dépendante de la force ionique et du pH du milieu environnant [82].

D'autres exemples de substitution de l'amidon sont représentés par le succinate amidon qui montre une capacité importante à former des films [82].

Dès l'instant où l'amidon est modifié, il possède en tant qu'excipient, des propriétés très intéressantes. Les traitements qu'il subit lui permettent de conserver les avantages de l'amidon natif sans les inconvénients. Les amidons modifiés semblent ne pas avoir d'effets nocifs sur l'être humain aux doses autorisées par la législation en vigueur.

1.5. GELS BIOADHESIFS

1.5.1. Définitions

Un gel macromoléculaire est une matrice polymère gonflé par une grande quantité de solvant (dans le cas d'un hydrogel, ce solvant est de l'eau). Les chaînes polymères sont connectées entre elles, formant ce qu'on appelle un réseau. Cette connexion entre chaînes de polymères peut être de deux sortes : permanente (liaisons covalentes) ou réversible (liaisons hydrogènes, interactions de type Van der Waals, enchevêtrements...). Ceci permet de différencier deux grands types de gels : les gels physiques et les gels chimiques [83].

1.5.1.1. Gels physiques

La nature fournit un grand nombre d'exemples de gels physiques, le plus connu étant celui de solutions aqueuses de gélatine. Les connexions appelées nœuds de réticulation sont dans le cas des gels physiques non permanentes. Ce caractère transitoire vient du fait que leur énergie est finie et du même ordre de grandeur que l'agitation thermique. Le nombre et la force des nœuds de réticulation dépendent donc directement des états thermodynamiques et mécaniques du gel, et induit donc une réversibilité de la gélification, les associations se cassant et se reformant continuellement [84].

L'agrégation des molécules est réversible. Différents mécanismes participent à la formation d'un réseau réversible ou labile en fonction de paramètres tels que la température, le pH, la force ionique et les contraintes mécaniques. Les liaisons qui constituent les jonctions du réseau sont de nature physique. Elles peuvent être des liaisons hydrogène, de Van der Waals, Coulombiennes ou interactions hydrophobes et ioniques [84].

1.5.1.2. Gels chimiques

Par opposition aux gels précédents, les gels chimiques sont constitués de chaînes polymères liées entre elles par des liaisons covalentes. Les nœuds de réticulation du réseau ont un caractère permanent et ne dépendent pas de facteurs extérieurs [84]. Il existe deux méthodes principales de préparation des gels. L'une consiste en une polymérisation multifonctionnelle, l'autre en une polymérisation suivie d'une réticulation des chaînes polymères après leur formation. Du fait de l'existence de ces liaisons covalentes entre chaînes, les matériaux formés sont donc insolubles quel que soit le solvant, mais, selon leur compatibilité avec ce solvant, ils peuvent l'absorber en plus ou moins grande quantité [84].

Ces gels peuvent se déformer d'une manière très importante sous l'action d'une force extérieure faible et retrouver leur forme initiale très rapidement lorsque cette force est supprimée [86]. Ils ont la particularité d'absorber de grandes quantités de liquides pouvant dépasser 10 fois leur poids sec, qu'ils n'expulsent cependant pas sous l'effet d'une pression modérée [86].

1.5.2. Transition sol-gel

En général, dans certaines conditions de température et de concentration, certaines solutions colloïdales (molécules diluées dans un solvant ou sol) se prennent en masse (solide) poreuse et gonflée plus ou moins élastique [87]. Ce passage de l'état colloïdal à l'état solide conduit à la formation d'agrégats entre les différentes particules présentes dans le milieu. Ce point critique au cours duquel se produit une agglomération entre les molécules est appelé « la transition sol-gel » [88]. A partir de ce moment précis, nous observons une perte de la fluidité du composé de départ qui se transforme en solide mou.

1.5.3. Structure du réseau polymérique

Les propriétés de l'hydrogel qui le rendent favorable pour être utilisé en pharmacie sont liées étroitement à sa structure réticulée. Cette structure est déterminée par la nature des monomères qui le composent, la méthode de préparation et la nature de l'agent de réticulation. Afin de connaître la nature du réseau polymérique du gel étudié, la méthode la plus utilisée est l'étude du gonflement du gel. La connaissance des caractéristiques de gonflement du gel est la première étape pour la compréhension de la structure du réseau du gel et sa capacité d'être utilisé comme matrice pouvant contenir et libérer un principe actif comme forme pharmaceutique.

Plusieurs théories ont été proposées pour expliquer la théorie de gonflement des gels. Pendant le gonflement du gel, thermodynamiquement, les forces de gonflement sont influencées par les forces de réticulation formant la structure du réseau, jusqu'à atteindre un état d'équilibre. Cet état de gonflement fait le lien entre la structure et la dimension de la maille du réseau polymérique, ce qui facilite le transfert de soluté à travers le gel. Le transfert de soluté est contrôlé par le gonflement du gel. A partir de là, le gel peut être modifié de telles sortes à obtenir différentes dimensions de mailles composant le réseau polymériques des gels utilisés, et les propriétés des principes actifs adéquate à la diffusion à travers le réseau polymérique de façon spécifique [89].

1.5.3.1. Structure réticulée

Les hydrogels sont des réseaux tridimensionnels, qui sont formés par des liaisons covalentes, ioniques, et dans certains cas par des liaisons de Van Der Waals et de liaisons hydrogène [90].

La caractérisation de la structure d'un réseau polymérique est assez compliqué à cause de la présence de plusieurs structures, incluant une réticulation régulière, détachée, forte ou réseau imparfaitement réticulé. Dans le domaine pharmaceutique, on considère le réseau comme étant un réseau gaussien idéal [90]. Un réseau polymérique réel s'écarte toujours du modèle gaussien idéal à cause des imperfections ou défauts qui apparaissent dans la structure [91].

1.5.4. Paramètres de gonflement

Afin d'étudier la structure du réseau des hydrogels, il est nécessaire que certains paramètres des réseaux d'hydrogels soient déterminés. Les trois paramètres les plus importants qui caractérisent la structure d'un réseau de polymère sont : la fraction volumique du polymère dans son état gonflé ($v_{2,s}$), le poids moléculaire de la chaîne de polymère entre deux points de réticulation voisin (M_c) et, la dimension de la maille du réseau (ξ) [88].

La fraction volumique de l'état gonflé est la mesure de la quantité de solvant absorbé et retenu par le gel. M_c est la mesure du degré de réticulation du polymère, en prenant en considération la nature de la réticulation (Physique ou chimique). La taille de la maille est la mesure de l'espace entre les chaînes macromoléculaires composant le polymère lors de la diffusion et le mouvement des particules. Une valeur moyenne est prise en considération. Ces trois paramètres peuvent être déterminés en utilisant la théorie de l'équilibre du gonflement [92].

1.5.4.1. Fraction volumique du polymère

La fraction volumique du polymère est décrite comme étant le rapport du volume du polymère (V_p) par rapport au volume du gel gonflé (V_g). On peut également définir le rapport volumique de gonflement (Q), qui peut être en fonction des densités du solvant (ρ_1) et du polymère (ρ_2) et le rapport des masses gonflées (Q_m) comme décrit dans l'équation (1.1) [92] :

$$v_{2,s} = \frac{V_p}{V_g} = Q^{-1} = \frac{1}{\frac{Q_m + 1}{\rho_1} + \rho_2} \quad (1.1)$$

1.5.4.2. Poids moléculaire entre deux points de réticulation

Le poids moléculaire moyen M_c est donné par la formule modifiée de Flory-Rehner [92] :

$$\frac{1}{M_c} = \frac{2}{M_n} - \frac{\left(\frac{v}{V_1}\right) [\ln(1-v_{2,s}) + v_{2,s} + \chi_1 v_{2,s}^2]}{v_{2,s}^{\frac{1}{3}} \frac{v_{2,s}}{2}} \quad (1.2)$$

Où M_n est le poids moléculaire moyen de la chaîne du polymère linéaire, v est le volume spécifique du polymère, $v_{2,s}$ est la fraction volumique du polymère, V_1 est le volume molaire de l'eau, et χ_1 est le paramètre d'interaction polymère-eau.

1.5.4.3. Taille de la maille

La taille de la maille est exprimée par l'équation suivante [90] :

$$\xi = v_{2,s}^{-\frac{1}{3}} (\bar{r}_0^2)^{\frac{1}{2}} = Q^{\frac{1}{3}} (\bar{r}_0^2)^{\frac{1}{2}} \quad (1.3)$$

où $(\bar{r}_0^2)^{\frac{1}{2}}$ est la moyenne des racines carrés des distances des chaînes des réseaux polymériques entre deux points de réticulation.

Une fois la structure du gel est connue, une idée claire est obtenue pour l'utilisation de ce dernier comme matrice de libération de principe actif. La quantité de solvant retenue, la distance entre les chaînes de polymères ainsi que leur flexibilité détermine la mobilité des principes actifs incluse à l'intérieur de ces matrices ainsi que leur vitesse de diffusion à travers la matrice polymérique. La Figure 1.15 illustre le schéma de la structure d'une maille [90].

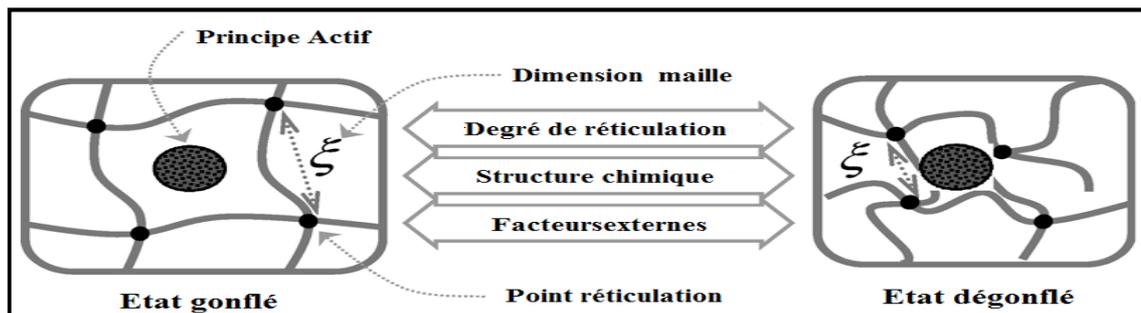


Figure 1.15. Schéma de la taille de la maille dans les hydrogels.

ξ est la taille de la maille [90]

1.5.4.4. Signification de la taille de la maille

Lors de l'étude de la libération des principes actifs à travers des matrices polymériques, il est indispensable de comprendre les mécanismes par lesquels le transfert de masse s'effectue à partir de la matrice composant le gel vers les sites

spécifiques d'action du principe actif [90]. Dans le cas des hydrogels, le transfert de masse est assuré par le gonflement des gels (Figure 1.16). Lorsque le gel est mis en contact avec le solvant, le gel gonfle et atteint son état d'équilibre. Pendant que le gel gonfle, les chaînes du réseau s'élargissent, cela augmente la dimension de la chaîne et permet le transfert des principes actifs à partir du gel. Ce degré de gonflement est directement relié à la quantité de principe actif transféré, comme cela est schématisé plus bas [90].

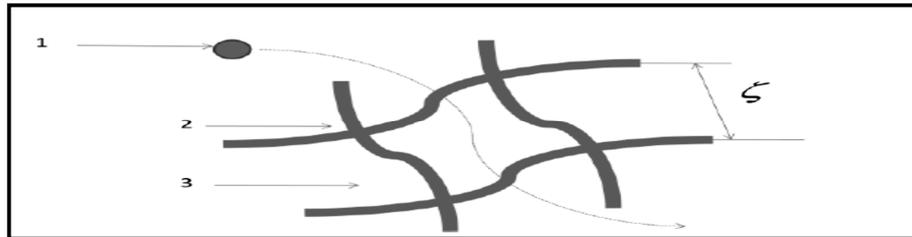


Figure 1.16. Schéma du transfert de masse dans les gels
 (1) Principe actif traversant le réseau polymérique
 (2) Réseau polymérique (3) Solvant entourant le gel [90]

La dimension de la maille est affectée par plusieurs facteurs [90]:

- degré de réticulation du gel.
- stimuli : température, pH, force ionique.
- structure chimique des monomères constituant le gel.

La dimension de la maille est un facteur très important pour la détermination des propriétés mécaniques, la dégradation et la libération par diffusion des substances actives [93]. La plupart des hydrogels utilisés en industrie pharmaceutique présentent une dimension de maille allant de 5 à 100nm [93], dans leurs états gonflés. Ces dimensions sont bien adaptées pour pratiquement tous les principes actifs à faible poids moléculaire utilisés en pharmacie et la diffusion de ses principes actifs à travers ces matrices gonflées ne doit pas être très difficile. Par contre, les larges molécules comme les protéines, peptides et les oligo-nucléotides peuvent être retardées par le gel gonflé [93].

1.5.5. Gels polyelectrolytes

Le gonflement de réseaux formés par des chaînes polyelectrolytes combine les caractéristiques à la fois de gel et de polyelectrolyte, appelé gel polyelectrolyte. Dans ce cas, des fractions de monomères du réseau est sous forme ionique. Le

réseau de macromolécule chargée (Figure 1.17) est caractérisé par le nombre de monomères entre les groupements chargés [94].

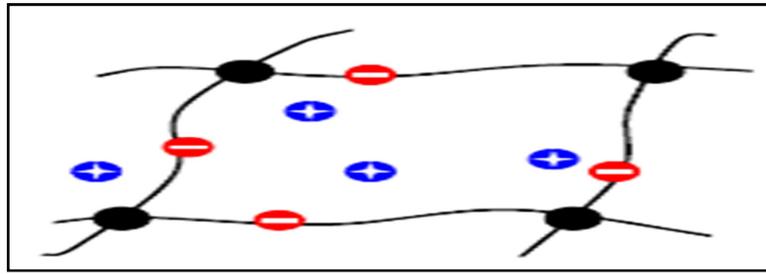


Figure 1.17. Réseau de gels Polyélectrolyte [94]

La nature ionique des chaînes du réseau lui procure des propriétés uniques [94]. Les capacités de gonflement des gels polyélectrolytes est plusieurs fois plus importante que les gels neutres, ils sont capables d'absorber une quantité de solvant pouvant atteindre cent fois son poids, tout en retenant son aspect et son élasticité [95]. Deux effets importants sont responsables de ce caractère de gonflement : la répulsion des chaînes et la pression osmotique des contre-ions.

- Premièrement, les chaînes du réseau ionisé acquièrent une charge de même signe (répulsion électrostatique), ce qui va causer un éloignement des chaînes à part.

- Deuxièmement, les contre-ions libres dans le gel créent une pression osmotique entre le solvant et le gel, qui fera diffuser le solvant à l'intérieur du réseau.

1.5.5.1. Les Polyélectrolytes

D'une manière générale, les polyélectrolytes sont des polymères portant des groupes ionisés, qui peuvent, dans un solvant polaire, se dissocier en chaînes polymères chargées (macro ions) et contre-ions de petite taille [96].

Contrairement aux polymères neutres, la compréhension du comportement des polyélectrolytes en solution est encore loin d'être totale. La principale difficulté dans ces systèmes vient de la présence de forces de Coulomb, à longue portée. Il est également important de noter que l'influence des interactions à courte portée (volume exclu, condensation des contre-ions) induit des couplages extrêmement complexes au sein de ces systèmes [96].

Les contre-ions peuvent exister dans deux différents points : certains sont localisés sur le polymère par des liaisons ioniques (contre-ions condensés) et d'autres ne sont pas fixés par le polymère (contre-ions mobile). Mais ces ions restent autour du polymère dans une zone d'influence du macro-ion [96].

Ces interactions électrostatiques conduisent à des comportements en solution très différents de ceux des polymères neutres. Citons par exemple :

- Le passage du régime dilué au semi-dilué se fait à des concentrations en polymère très inférieures à celles de solutions de chaînes neutres.
- La pression osmotique des polyélectrolytes en solution est très supérieure à celle des polymères neutres aux mêmes concentrations.
- La viscosité des solutions de polyélectrolytes dans le régime dilué est proportionnelle à la racine carrée de la concentration, tandis qu'elle est directement proportionnelle à la concentration pour des chaînes neutres.

1.5.6. Pression de gonflement

1.5.6.1. Réseau neutre

Le gonflement des gels peut être exprimé en terme de pression osmotique π , qui est composée d'une partie osmotique π_{osm} , et une partie élastique, π_{el} [97].

$$\pi = \pi_{osm} + \pi_{el} \quad (1.4)$$

Lorsqu'un polymère linéaire est immergé dans un solvant, les chaînes tendent à se disperser et former une solution. A cause de la forte concentration de polymère initialement dans le réseau, une pression osmotique est créée entre le solvant à l'extérieur et à l'intérieur du gel. Cette pression osmotique conduit les molécules de solvant à l'intérieur du réseau polymérique, ce qui provoque une augmentation du volume du réseau. Cela conduit à la dilution de la concentration du polymère dans le gel, induisant une diminution de la pression osmotique. La pression osmotique qui est la cause du gonflement du réseau est appelée pression de mélange, π_{mix} , en référence au mélange du réseau du polymère et les molécules de solvant [97]. La pression totale peut être simplifiée en étant la somme du terme de mélange et le terme élastique [98] :

$$\pi = \pi_{mix} + \pi_{el} \quad (1.5)$$

π_{mix} représente la partie osmotique dans ce cas.

- Tant que π est positif, le réseau se gonflera, mais il se rétractera pour des valeurs de π négative [98].

- Si $\pi = 0$, l'équilibre de gonflement est atteint, caractérisé par un degré d'équilibre de gonflement, Q_{eq} .
- Initialement, π_{mix} domine la pression de gonflement, alors que la concentration du polymère dans le gel est élevée.
- Tout au long du gonflement, la concentration du polymère diminue et sa contribution devient moins importante, cela conduit au fait que la partie élastique augmente progressivement par la force d'extension des chaînes.
- Avec un excès de solvant, le gel continuera à absorber le solvant, jusqu'à ce que les forces élastiques des chaînes annulent la pression du mélange π_{mix} .

1.5.6.2. Réseau polyélectrolyte

Le réseau polyélectrolyte mis dans le solvant va se dissocier avec des contre-ions libres et le polymère chargé. Ces composants induiront un gonflement supérieur au réseau neutre [99].

- Premièrement, la pression de gonflement du réseau polyélectrolyte doit inclure un terme représentant la pression osmotique des contre-ions dans le gel, π_{ion} . Les ions libres dans le gel causent une différence de concentration entre le solvant et le réseau. Cette différence est à l'origine d'une pression osmotique supplémentaire, qui sera la cause d'un plus grand nombre de molécule de solvant pénétrant le réseau [99].
- En second, les charges électriques sur la structure du réseau repoussent les autres ions. Pour réduire la répulsion interne, les chaînes vont s'allonger dans le but d'augmenter la distance entre les charges opposées [99]. Cela produira la pression électrostatique ou la pression de Coulomb, π_{Coul} .

La présence de charge sur le réseau favorise le gonflement. A cause des deux arguments précédents, le réseau polyélectrolyte peu absorbé beaucoup plus de solvant qu'un réseau neutre. La pression de gonflement des gels électrolytes est exprimée comme la somme de quatre termes [100]:

$$\Pi = \pi_{mix} + \pi_{ion} + \pi_{Coul} + \pi_{el} \quad (1.6)$$

La pression osmotique totale est dans ce cas causée par le réseau et les contre-ions dans le réseau.

1.5.7. Gélification et gels de systèmes mixtes de biopolymères

Les gels contenant plus d'un agent gélifiant peuvent résulter en la formation de trois différents types de gels mixtes: réseaux interpénétrés, couplés et avec séparation de phases [101], selon les interactions existantes entre les polymères. Plusieurs études sur les interactions protéines-polysaccharides ont été réalisées avec des polysaccharides anioniques ou neutres [102].

La gélification des systèmes mixtes, avec deux polymères, peut donner différentes formes de réseaux [103] comme le montre la Figure 1.18.

- a) un réseau gélifié formé de l'un des polymères et le deuxième polymère ne forme pas de gel;
- b) des réseaux interpénétrés, formés de deux ou plusieurs réseaux gélifiés indépendants;
- c) des réseaux avec séparation de phases, formés par un mélange incompatible gélifié avant la séparation de phases complète du système ;
- d) des réseaux couplés où les deux biopolymères participent à la formation d'une même matrice.

La dernière forme est le résultat de l'association directe entre deux biopolymères [104]. Ainsi, les interactions attractives entre une protéine et un polysaccharide, dues aux charges opposées de chaque polymère, peuvent entraîner la formation d'un réseau couplé.

Dans le cas où le gel résulte de l'incompatibilité des polymères pour former un gel à phases séparées et que les deux polymères forment des gels à des vitesses différentes (c'est-à-dire quand le réseau gélifié d'un des polymères est presque complètement formé avant que le deuxième polymère commence à gélifier), les propriétés mécaniques du gel mixte final seront plus similaires à celles du gel du polymère qui se forme en premier [101]. La phase continue sera celle du composant avec le volume plus grand, alors que l'autre polymère sera présent de façon dispersée dans la phase continue.

La gélification d'un système mixte est un peu différente quand seulement un des polymères contribue à la formation de gel. Si le polymère gélifiant est la phase dispersée, on trouvera des zones distinctes dans la phase continue non gélifiée. Alors, que si le polymère gélifiant est la phase continue, des zones de solution dispersées seront trouvées dans le système gélifié. Dans ces deux cas, la non-gélification d'un des polymères diminue la fermeté du gel de l'autre polymère.

L'obtention d'un gel mixte plus fort que le gel des polymères séparés est possible, ou même un gel mixte aussi fort à une concentration totale plus faible à laquelle les constituants individuels ne peuvent pas gélifier [105]. Toutes ces options peuvent résulter dans l'élaboration d'une grande variété de produits avec des caractéristiques très différentes.



Figure 1.18. Types de gels formés avec un mélange de biopolymères [103]
(a) réseau gélifié formé de l'un des polymères, **(b)** réseaux interpénétrés,
(c) réseaux avec séparation de phases, **(d)** réseaux couplés.

1.5.8. Formation de complexes polyélectrolytes

L'interaction entre deux polymères de charges opposées est à l'origine de la formation d'un complexe, appelée complexe polyélectrolyte. Les complexes de polyélectrolytes (PEC) sont l'association formés entre des polymères de charge opposée. Ceux-ci sont formés en raison de l'interaction électrostatique entre polyions de charge opposée. Ainsi on évite l'utilisation d'autres réactifs chimiques, ce qui réduit la toxicité éventuelle et d'autres effets indésirables dues à ses réactifs. Beaucoup de chercheurs ont étudié les propriétés des polyélectrolytes [106, 107] et la formation de PEC [108, 109]. Le processus de formation de PEC implique principalement 3 étapes (Figure 1.19). La première étape est la formation du complexe principal et les forces de Coulomb sont responsables de cette étape. La Deuxième étape est le processus de formation d'intra-complexes. Elle implique la formation de nouvelles associations entre les chaînes des polymères et la correction des distorsions des chaînes des polymères. Dans la troisième étape, il ya apparition d'un processus d'agrégation inter-complexe, qui comprend l'agrégation des complexes secondaires principalement par des interactions hydrophobes.

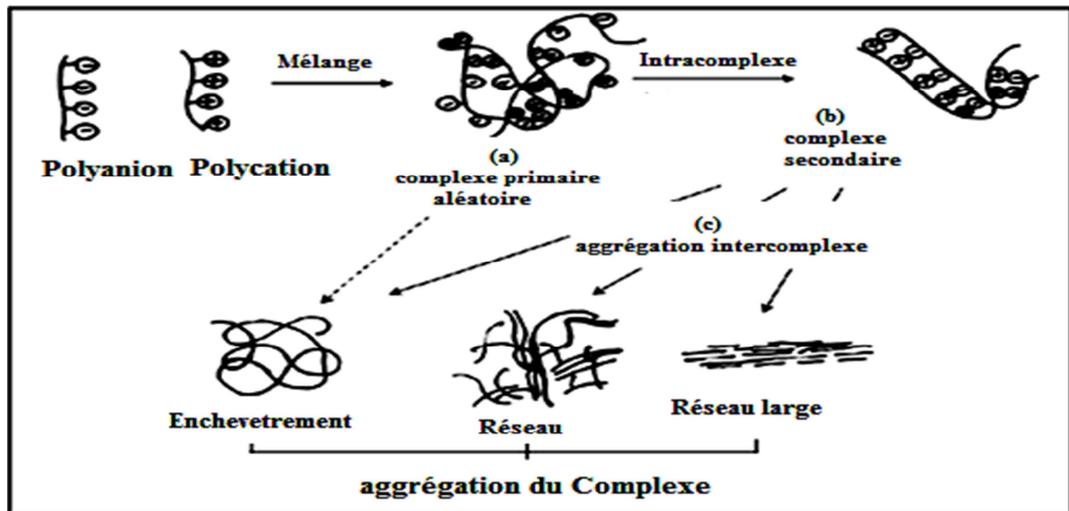


Figure 1.19. Représentation schématique de la formation et de l'agrégation de PEC. (a) Formation du complexe primaire, (b) processus de formation d'intracomplexes, (c) processus d'agrégation Inter-complexe [109]

Les PEC représentent une classe intéressante de matériaux à base de polymères pour la mise au point de divers types de systèmes à libération contrôlée de médicaments. Ces derniers peuvent modifier efficacement la libération et améliorer la stabilité des principes actifs en raison de leur capacité à piéger la substance active au niveau de leur réseau moléculaire.

1.6. SYSTEMES A LIBERATION CONTROLEE A PARTIR DE GELS DE BIOPOLYMERES

Les hydrogels représentent non seulement un objet d'investigation d'un point de vue fondamental mais ils trouvent également de nombreuses applications, en particulier dans les domaines biomédical et biopharmaceutique [110]. Les hydrogels physiques sont de bons candidats pour la libération contrôlée de principes actifs. Les principes actifs peuvent être incorporés dans l'hydrogel de deux façons. Ils peuvent être physiquement piégés dans l'hydrogel ou liés de façon covalente aux chaînes polymères.

Différents modes de libération peuvent être envisagés. Ils dépendent de la structure de l'hydrogel. La diffusion passive contrôlée est le mode de libération le plus couramment observé. La libération du principe actif peut également être issue de la dégradation chimique ou enzymatique de l'hydrogel soit par clivage des

ponts inter-chaînes et/ou des chaînes polymères soit par coupure des liaisons permettant l'attachement covalent des principes actifs sur la chaîne polymère.

Les hydrogels physiques présentent des propriétés adaptées pour la libération contrôlée de principes actifs. En effet, contrairement aux gels chimiques, la formation de gels physiques ne nécessite pas d'agent de réticulation qui en plus d'être toxique pour l'organisme pourrait affecter l'intégrité de la substance incorporée dans l'hydrogel. De plus, les hydrogels physiques sont généralement des systèmes stimulables, c'est-à-dire qu'ils sont sensibles à la variation de paramètres externes tels qu'une variation de température, de pH et à la présence de biomolécules spécifiques comme le glucose, des enzymes ou des antigènes. Ces particularités leur confèrent des propriétés valorisables dans le domaine pharmaceutique [111].

1.6.1. Mécanismes de libération à partir de matrices hydrophiles d'hydrogels

Les phénomènes impliqués dans la libération des principes actifs à travers les matrices hydrophiles formant les hydrogels dépendent des processus de gonflement, et de diffusion à travers la matrice. Il a été démontré que la nature du polymère, ainsi que sa viscosité sont des facteurs déterminant dans la prévision de la libération de principes actifs à partir des matrices hydrophiles [112].

Lorsqu'une matrice hydrophile est exposée à un liquide de dissolution, trois zones distinctes peuvent être détectées (Figure 1.20).

La zone 1, est la zone dans laquelle le polymère est encore à l'état vitreux, tandis que dans les zones 2 et 3, le matériau se trouve dans la phase caoutchouteuse [113]. Le polymère présent dans la zone 1 est à l'état vitreux parce que l'eau n'a pas encore pénétré la matrice, par la suite le milieu de dissolution pénètre la matrice en réduisant la température de transition vitreuse (T_g) au-dessous de la température du système [114].

- Dans la zone 1, la mobilité des macromolécules est très faible, ce qui conduit à une faible vitesse de diffusion de l'eau dans cette région [113]. Le gonflement des matrices de polysaccharides peut être principalement attribué à la perturbation de la liaison hydrogène entre les chaînes polymériques. Lorsque l'eau pénètre dans le polymère solide, il s'insère dans les liaisons hydrogène entre les chaînes polymères adjacentes. Lorsque l'eau s'incère entre les chaînes, les forces entre les chaînes diminuent. Les chaînes macromoléculaires acquièrent d'abord

une liberté de relaxation et commencent à occuper plus d'espace et cela se traduit par un gonflement du polymère. L'eau pénétrant dans la matrice polymérique remplit les vides entre les chaînes du polymère et se diffuse dans des régions plus denses du polymère, ce qui oblige des chaînes supplémentaires à gonfler [114].

- Dans les zones 2 et 3, la mobilité des chaînes de polymère est nettement supérieure par rapport à la zone 1 conduisant à des taux de diffusion de l'eau plus élevés. Par conséquent, la dissolution du principe actif présent dans la matrice a lieu à la frontière entre le solide (zone 2) et principe actif dissous (zone 3). Par conséquent, le principe actif dissous diffuse par la suite dans la direction radiale vers la limite la plus extérieure entre la matrice gonflée et le fluide. Les matrices polymérique peuvent subir également l'érosion et/ou de la dissolution du polymère lors d'un contact prolongé avec l'eau [112].

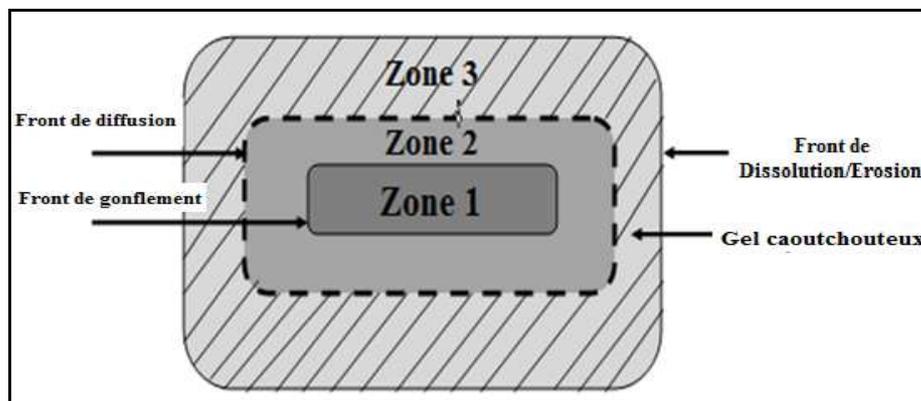


Figure 1.20. Illustration schématique des différents fronts lors de la libération de principe actif à partir d'une matrice polymérique. **Zone 1** (polymère vitreux), **Zone 2** (région diffusion) et **Zone 3** (gel caoutchouteux).

La mise au point de matrices hydrophiles administrés par voie orale est généralement de prolonger l'administration de médicaments avec une cinétique d'ordre zéro pour maintenir une concentration plasmatique constante [115]. Pour atteindre un taux de libération de médicament constant, un certain nombre de dispositifs de matrice ont été formulés en utilisant différents excipients sous forme de matrices polymériques pour moduler le taux d'hydratation. Dans la pratique, pour moduler la libération du médicament à partir de formes matricielles, différents types de polymères modifiés sont habituellement utilisés, seuls ou en mélange avec d'autres polymères gonflables [114] pouvant modifier le mécanisme et le taux de libération de principe actif [115].

Contrairement aux systèmes formés par des polymères non-biodégradables, dans lesquels la libération est contrôlée par la diffusion du médicament à travers la couche du gel [116], l'obtention d'une cinétique de libération de premier ordre des systèmes comprenant des polymères biodégradables (systèmes hydrophiles) est contrôlée par l'entrée de l'eau dans le système matricielle (Figure 1.21).

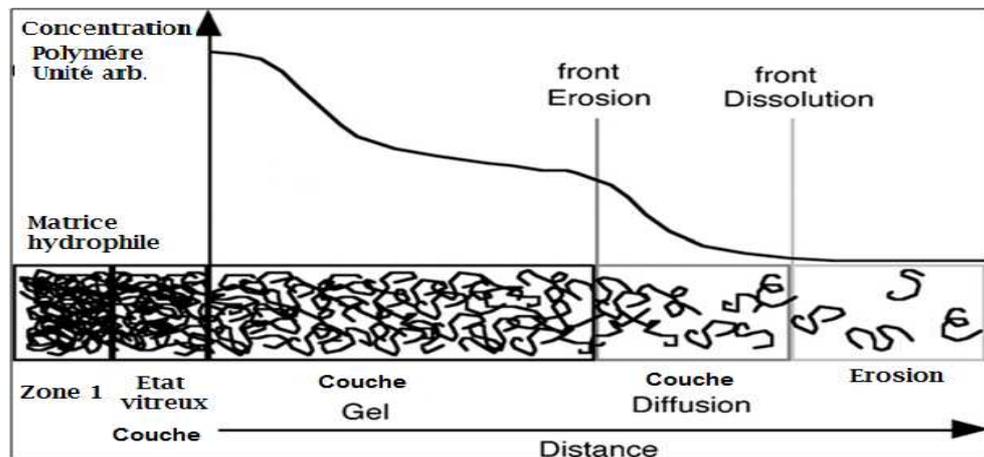


Figure 1.21. Etapes de gonflement d'une matrice hydrophile [116]

1.7. CONCLUSION

Dans les deux dernières décennies, la mucoadhésion a montré un regain d'intérêt pour prolonger le temps de séjour des formes mucoadhésives pour diverses muqueuses pour application de médicaments. L'administration de médicaments mucoadhésifs donne une absorption rapide et une bonne biodisponibilité en raison de sa surface importante et le flux sanguin élevé. L'administration du médicament à travers la muqueuse nécessite l'utilisation d'excipients appropriés et fait appel à plusieurs mécanismes afin d'assurer une biodisponibilité optimale et une efficacité maximale de la forme bioadhésive.

Dans ce chapitre, nous avons présenté les différents facteurs influençant la libération à travers la muqueuse buccale ainsi que le rôle capital que jouent les biopolymères utilisés dans les systèmes bioadhésifs pour une libération optimale du principe actif. Nous avons exposé les différentes théories et techniques d'étude de la bioadhésion et les principaux phénomènes régissant la cinétique de libération des principes actifs à travers les formes bioadhésives formulées à base de matrices hydrophiles.

CHAPITRE II
MATERIEL ET METHODES

2.1. INTRODUCTION

L'objectif de cette étude est de mettre au point un système matriciel à usage buccal, ayant des propriétés bioadhésives performantes ainsi que des propriétés biopharmaceutiques à libération prolongée du principe actif. Ce système matriciel doit assurer un contact étroit avec la muqueuse buccale et libérer un principe actif (PA) spécifiquement à ce niveau. Afin de développer une formulation performante, une association de polymères a été réalisée.

A partir de la synthèse bibliographique effectuée, nous avons choisi de mettre au point une matrice hydrophile à base d'un mélange de deux biopolymère : l'amidon prégelatinisé (APG) et le kappa carraghénane (KC). Après une étude de préformulation qui nous a permis d'évaluer les caractéristiques de chaque biopolymère seul et les mélanges de polymères à différentes proportions du point de vue bioadhésion, diffusion, gonflement et érosion dans différents milieux de dissolution, une mise au point et la formulation d'un gel bioadhésif a été effectuée en utilisant la méthodologie des plans d'expériences.

Par ailleurs, les biopolymères étudiés ont été modifiés chimiquement pour une fonctionnalisation dans le but de leur conférer un caractère chargé prononcé. Cela a permis de mettre au point une nouvelle matrice hydrophile en formant un complexe polyélectrolyte (PEC) sensible à la variation de pH et offrant de meilleurs taux d'adhésion. Afin de valoriser le PEC, la formulation d'un système à base d'amidon modifié et du PEC formé à partir du KC modifié nous a permis de mettre au point une matrice hydrophile pour former un comprimé bioadhésif.

2.2. MATERIEL

2.2.1. Principe actif

Le principe actif utilisé lors de nos études expérimentales est le Miconazole. Il est préconisé dans le traitement de la candidose oropharyngée. La candidose oropharyngée est une maladie opportuniste causée par les *Candida*, principalement les *Candida albicans*, et qui se développe chez des patients avec un terrain fragile et plus particulièrement les patients immunodéprimés.

Le Miconazole a une pureté de 99% à 101% de (RS)-1-[2-(2,4-dichlorobenzoyloxy)-2-(2,4-dichlorophenyl)ethyl]-1*H*-imidazole, calculé par rapport à une substance de référence sur base anhydre. Le Miconazole (Lot N° 20070921)

utilisé à été fourni par la société Erregierre (San Paolo d'Orgon, Italie), de pureté 99.99%. La formule chimique du miconazole est donnée dans la Figure 2.1.

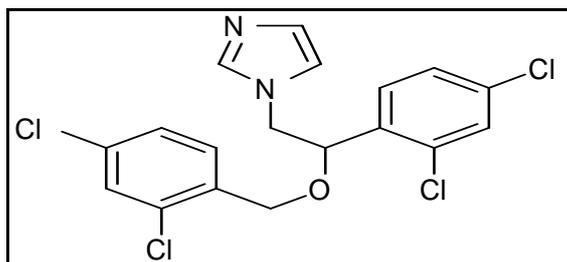


Figure 2.1. Formule chimique du Miconazole

($C_{18}H_{14}Cl_4N_2O$, $M=416.13g/mol.$)

Le Miconazole est une poudre cristalline blanche, peu soluble dans l'eau, soluble à 1:9.5 dans l'éthanol, 1:2 dans le Chloroforme, 1:15 dans l'éther et 1:4 dans l'isopropanol. Il est très soluble dans l'acétone et le diméthylformamide. Le Miconazole a un $pK_a = 6.7$, son point de fusion est entre $83^{\circ}C$ to $87^{\circ}C$ [117-119].

2.2.2. Excipients

L'ensemble des matières premières utilisées lors des études de préformulation et de formulation sont des excipients de grade pharmaceutique. Les excipients ont été utilisés tels quels sans aucune purification supplémentaire. L'origine des excipients est résumée dans le Tableau 2.1.

Tableau 2.1. Excipients pharmaceutiques utilisés

Excipients	N°Lot	Fournisseurs	Abréviation
Amidon de Mais prégelatinisé	01133518	Polypharma-GMBH.	APG
κ -Carraghénane (sous forme potassique)	SRC CG 169	Danisco (Danemark)	KC
Eudragit RL 30D	E 4387 /RL	EVONIK industries	ERL
Glycerol	V17646	J.T. Backer Laboratory, USA	Gly
Parahydroxybenzoate de methyl (Methyl paraben)	10AC134	Nipa Laboratory, Allemagne	-
Parahydroxybenzoate de Propyl (propyl paraben)	10AC108	Nipa Laboratory, Allemagne	-
Stéarate de Magnésium	AC 3897/012	Polypharma	St.Mg
Tween 80 (Polysorbate 80)	A016621201	Merck (Switzerland)	T80

2.2.3. Réactifs

Les réactifs utilisés lors de cette étude sont purs, de grade analytique, conservés à l'abri de la chaleur et de la lumière. Le Tableau 2.2 résume le matériel et réactifs utilisés lors des essais microbiologiques. L'origine et la pureté de réactifs chimiques et solvants sont décrits dans le Tableau 2.3.

Tableau 2.2. Matériel et Réactifs microbiologiques

Matériel	Réactifs
Boîte de Pétri en plastique	Disque en papier adsorbant vierge et stérile
Etuve réglable	Eau distillée stérile
Autoclave	Ampicilline (disque d'antibiotique)
Pipettes Pasteur	Gélose nutritive en poudre
Hotte ventilée ou poste de sécurité microbiologique	Suspensions bactériennes de <i>Staphylococcus aureus</i> (S.aureus)
Bec Bunsen	Suspensions bactériennes <i>Escherichia coli</i> (E.coli)

Tableau 2.3. Réactifs, solvants et produits chimiques

Réactifs et solvants	Pureté (%)	M (g/mol)	Fournisseurs
Acétate d'ammonium	99.98	CH ₃ COONH ₄	Merck
Acetonitrile (Grade HPLC)	99.99	C ₂ H ₃ N	Merck
Acetone	99.98	CH ₃ COCH ₃	Merck
Acide acétique	99.89	CH ₃ COOH	Merck
Acide chlorhydrique	95-98	HCl	Sigma-Aldrich
Acide monochloroacétique	99.98	ClCH ₂ COOH	Merck
Bromure de potassium	99.99	KBr	Sigma-Aldrich
Chlorure de calcium	99.98	CaCl ₂	Sigma-Aldrich
Chlorure de sodium	99.99	NaCl	Merck
Cyclohexane	99.98	C ₆ H ₁₂	Merck
dihydrogénophosphate de potassium	99.98	KH ₂ PO ₄	Panréac
Hydrogénophosphate de sodium	99.97	Na ₂ HPO ₄	Sigma-Aldrich
hydroxyde de sodium	99.99	NaOH	Reidel-de Haen
Iso propanol	99.98	C ₃ H ₈ O	Sigma-Aldrich
Méthanol	99.99	CH ₃ OH	Merck
n-Octanol	>99	CH ₃ (CH ₂) ₇ OH	Sigma-Aldrich
Pentoxyde de Phosphore	99%	P ₂ O ₅	Sigma-Aldrich
Propanol-2	99.8	C ₃ H ₈ O	Sigma-Aldrich
Sulfate d'ammonium	99.95	(NH ₄) ₂ SO ₄	Sigma-Aldrich

2.2.4. Appareillage

- Balance électronique : Sartorius BP 121S, précision 10^{-4} g,
- Spectrophotomètre UV-Vis de type Thermospectronic scientific Helios,
- pH mètre de type pH21, pH mV meter, HANNA instruments,
- Agitateur magnétique muni de plaque chauffante,
- Bain marie électrique Homogénéiseur type IKA T25,
- Spectrophotomètre I-R à Transformée de Fourier (FTIR) (Perkin Elmer precisely, Model Lambda 25),
- Viscosimètre capillaire type Ubbelohde (Schott Gerate) 525 20/II. App.Nr. 910 516,
- HPLC muni d'un détecteur UV de type Perkin-Elmer, HPLC serie200, USA avec un logiciel de traitement des données (Totalchrom V.6.2.1., LC instrument control),
- Viscosimètre rotatif de type Haake Viscotester VT5^R (Germany),
- Pénétrömètre de type TA-XT2 Texture Analyzer (Stable Micro Systems, UK),
- Dissolutest de type Dissolution tester DT 620, ERWEKA,
- Diffractomètre à rayon X (DRX) de type Diffractomètre PANalytical: XPERT-PRO avec tube radiogène céramique à anticathode de cuivre, puissance du générateur à RX: 20 mA, 40 kV. Le DRX est muni d'un logiciel pour l'acquisition des données: *DataCollector de PANalytical* et d'un Logiciel pour traitement des données: *HighScore Plus de PANalytical*,
- Microscope électronique à balayage (MEB) de type Microscope électronique " Philips ESEM XL 30" à filament de tungstène, couplé à un système complet de microanalyse EDS X. La tension d'accélération max est de 30KV, Le courant du filament est de 80 μ A,
- Densimètres de type (HOKUYO)
- Dispositif de répartition granulométrique (GIULIANI) avec une série de tamis (30 μ m - 300 μ m).
- Potentiomètre pour dosage acido-basique muni d'une électrode de pH en verre de type Dosimat,
- Centrifugeuse à mouvement rotatif à vitesse maximale de 6000trs/min de Type Hettich-EBA 20,
- Mélangeur de poudre cubique de laboratoire (GUILLIANI),
- Comprimeuse alternative de laboratoire (GUILLIANI),
- Pied à coulisse digital (Mituyoto),

- Duromètre de marque Sotax HT1,
- Appareil de contrôle de la friabilité de marque Erweka,
- Dessiccateur IR de type XM 120 Precisa.
- Dispositif d'étude de la diffusion.

2.3. PREFORMULATION

Les biopolymères sont capables de former des hydrogels ayant des propriétés de gonflement appréciables, mais limitées à cause de l'érosion en surface due à l'hydrolyse des chaînes polymériques en monomères solubles dans le liquide de gonflement. Le fait de réaliser des gels à base d'un mélange physique de deux biopolymères, l'un de nature non chargée et l'autre de nature polyélectrolyte permet l'obtention d'une matrice qui gonfle mieux et s'érode moins rapidement. Cela est évalué grâce à l'étude de la cinétique de gonflement et d'érosion de différentes matrices à base d'APG et de KC. L'évaluation des constantes de gonflement et d'érosion des différentes matrices polymériques étudiées permet de confirmer la synergie offerte par l'association des deux biopolymères.

2.3.1. Préparation des gels de base

Les gels à base de KC (Gel 1) sont préparés à des concentrations allant de 0.5 à 0.7% en poids, par dispersion lente de la poudre dans l'eau distillée à 80°C à l'aide d'un agitateur à hélices. Les gels à base d'APG (Gel2) sont préparés à des concentrations allant de 3 à 8% en poids par dispersion de la poudre dans l'eau à 80°C. Les gels à base de mélange de KC et APG (Gel3) sont préparés en mélangeant les deux biopolymères à l'état sec à des concentrations de 7% d'APG et des concentration allant de 0.2 à 0.7% de KC puis dispersés dans de l'eau distillée à 80°C [120].

2.3.2. Préparation des gels mucoadhésifs avec principe actif

Les gels à base de KC, d'APG et du mélange APG et KC sont préparés en ajoutant aux gels de base une suspension contenant : 2% de Tween 80 (T80), 0.2% de Methyl paraben, 0.02% de propyl paraben, 60% de glycérol et 2% de principe actif préalablement dispersé dans un volume d'eau distillée. Chacun des gels de base est ajouté à la dispersion sous agitation [120].

2.3.3. Préparation des milieux de dissolution utilisés

Le comportement des matrices hydrophiles est fortement lié au pH et la force ionique du milieu environnant. Ce milieu doit être aussi proche que possible des conditions réelles lors de l'application de la forme galénique étudiées.

Les milieux de dissolution qui seront étudiés lors de cette étude sont l'eau distillée et une solution tampon (PBS pH 6.75) utilisée comme solution de salive simulée. L'étude de ces deux milieux nous permettra de comparer le comportement des gels étudiés lors des études de gonflement, d'érosion et de dissolution des matrices hydrophile étudiées. La composition de la solution de la salive simulée (**PBS pH6.75**) est : ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{HPO}_4/\text{NaCl}$): (2.38g/0.19g/8g), complétée à l'eau distillée à 1000ml à pH= 6.75 [120].

2.3.4. Mise au point de la méthode de dosage du principe actif par spectrophotométrie UV-Vis

Afin de déterminer la longueur d'onde optimale du Miconazole (PA) par spectrophotométrie UV-Vis dans le milieu PBS pH6.75 et l'eau distillée, on prépare des solutions de principe actif à 0.01mg/ml dans les deux milieux étudiés. Des solutions préparées à base de dilution de gels avec et sans principe actif sont également préparées et dosées par UV afin de vérifier la spécificité de la méthode vis-à-vis du PA. Les solutions sont analysées par spectrophotométrie à des longueurs d'onde allant de 190 à 400 nm pour déterminer le maximum d'absorption du Miconazole et vérifier la spécificité de la longueur d'onde en présence des excipients du gel. Une courbe d'étalonnage est tracée pour chaque milieu de dissolution étudié en utilisant un standard de référence USP Miconazole RS préparé à différentes concentrations à partir d'une solution mère (0.1mg/ml) pour chaque milieu de dissolution (dilution allant de 0.01 à 0.1 mg/ml). On trace pour chaque milieu de dissolution la courbe d'étalonnage correspondante.

La spécificité de la méthode vis-à-vis du Miconazole est vérifiée en effectuant une lecture de solution à base de gels sans PA dans les mêmes conditions que les solutions standards. Aucune absorbance ne doit apparaître dans la longueur d'onde optimale.

2.3.5. Détermination de la solubilité du principe actif dans le milieu PBS pH=6.75

La solubilité du principe actif dans le milieu PBS pH=6.75 est déterminée par l'ajout d'un excès de Miconazole à un mélange de 10ml de n-Octanol et 10ml de la solution PBS pH 6.75. On agite la solution pendant 24heures, à 37°C ± 1. Un volume de solution est centrifugé et filtré, puis un dosage spectrophotométrique UV-VIS est réalisé à 272 nm [121].

2.3.6. Détermination du coefficient de partage

Un volume égal de n-Octanol et de solution PBS pH=6.75 sont saturés sous agitation l'un avec l'autre à 37°C ± 1. Après 24 heures, les deux phases sont séparées, et une prise d'essai du Miconazole ou son équivalent en gel sont dissous dans 10ml de la phase aqueuse afin d'obtenir une concentration de 1mg/ml. Cette solution est ajoutée à 10ml de n-Octanol. Le mélange des deux solvants est mis dans un bain marie thermostaté à 37°C ± 1 pendant 24 heures. Les deux phases sont ensuite séparées, la phase aqueuse est filtrée et la concentration en PA est déterminée par spectrophotométrie à 272nm. Une préparation à blanc est aussi réalisée dans les mêmes conditions. Le coefficient de partage est calculé à l'aide de l'équation de *Nernst* [121]:

$$K'' = C_{org.}/C_{aqu.} \quad (2.1)$$

Où K'' est le coefficient de partage, $C_{org.}$ est la concentration du principe actif dans la phase organique (n-Octanol) et $C_{aqu.}$, la concentration du principe actif dans la phase aqueuse (PBS pH. 6.75).

2.3.7. Dosage du Miconazole dans les gels bioadhésifs

On introduit une quantité de gel équivalente à 50mg de Miconazole dans une fiole de 50ml contenant 25ml de méthanol qu'on dissout sous agitation magnétique pendant 30min, puis on complète au volume final avec du méthanol. On filtre la solution sur filtre 0.22µm (filtre Whatman). On mesure le contenu en PA par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) [122].

- **Phase mobile:** Dissoudre 5g d'Acétate d'ammonium dans 200ml d'eau distillée, ajouter 300ml d'Acetonitrile et 500ml de Méthanol. Agiter, filtrer et dégazifier la solution obtenue.

- **Solution standard** : Dissoudre une quantité de USP Miconazole RS dans la phase mobile afin d'obtenir une concentration finale de 0.5mg/ml. Prélever 10ml de cette solution et la diluée à 100ml avec la phase mobile pour obtenir une concentration finale de 50µg/ml.

- **Système chromatographique** : La longueur d'onde de détection est fixée à 235nm. La colonne utilisée est de dimensions:(10 cm × 4.6 mm) avec une phase stationnaire C18 (3 µm) de type (Hypersil ODS), Le débit de la phase mobile est de 2 ml /min. Le volume injecté est 10µl. Chaque injection est répétée trois fois pour assurer une répétabilité des résultats. Le temps entre chaque injection est de 10min. Le calcul de la teneur en Miconazole, (exprimée en %) dans les gels est calculé selon l'équation suivante:

$$T (\%) = \frac{S_{ech.}}{S_{st.}} \cdot \frac{C_{st.}}{C_{ech.}} \cdot P_{st.} \quad (2.2)$$

Où S_{ech} est la surface de l'échantillon, S_{st} est la surface du standard, C_{st} est la concentration final du standard, C_{ech} est la concentration final de l'échantillon, P_{st} est la pureté du standard.

2.3.8. Détermination du pH des gels

On disperse un gramme de chacun des gels dans 30ml d'eau distillée et on mesure le pH de la solution obtenue [122].

2.3.9. Détermination des taux de gonflement des gels

Les taux de gonflement moyen des hydrogels sont déterminés en utilisant la méthode gravimétrique similaire à celle reportée par Efentakis et Vlachou [123]. Les gels sont pesés (m_i), puis mis à l'intérieur de sachets en polypropylène non tissés et suspendus sur une grille métallique et ensuite plongés dans deux milieux différents : eau distillée et solution PBS pH6.75, à $37^\circ\text{C} \pm 0,5$. Le gonflement est déterminé, en pesant (m_f), à des intervalles de temps réguliers les gels se trouvant à l'intérieur des solutions précités, en les retirant des sachets en polypropylène non tissés, posés sur du papier absorbant pour enlever l'excès de liquide. L'expérience est répétée trois fois pour chaque temps. Des gels frais sont utilisés pour chaque point de l'expérience. Le pourcentage d'eau absorbé, ou le degré de gonflement dû au volume du liquide pénétré à l'intérieur du réseau polymérique à chaque prélèvement est donné par la formule (2.3):

$$\text{Taux gonflement (\%)} = \frac{(m_h - m_i)}{m_i} \times 100 \quad (2.3)$$

Les résultats des taux de gonflement sont étudiés selon la composition des gels de base. L'effet de la nature du milieu (eau distillée et salive simulée) sur la cinétique de gonflement est déterminé.

Le modèle de Davidson et Peppas [124] est appliqué pour étudier le mécanisme et la vitesse de gonflement des hydrogels selon l'équation (2.3) :

$$M = k_s t^n \quad (2.4)$$

Où M est la masse prise lors du gonflement ; k_s est la constante de pénétration d'eau dans la matrice d'hydrogel ; t est le temps de gonflement et n est l'exposant qui dépend du mécanisme de gonflement [124]. La diffusion fickienne normale est caractérisée par $n=0.5$, et la diffusion case II par $n=1$. Une valeur de n incluse entre 0.5 et 1.0 indique un mélange entre la diffusion fickienne et case II, généralement appelée la diffusion non fickienne ou anormale.

2.3.10. Détermination des taux d'érosion des gels

Les gels utilisés s'érodent après un certain temps suivant l'étape d'équilibre après gonflement. Les matrices d'hydrogels gonflées sont retirées et séchées dans une étuve à 80°C pendant 24 heures, puis refroidies dans un dessiccateur et finalement pesées (m_e) [125]. L'expérience est répétée trois fois pour chaque temps. Le taux d'érosion des matrices est donné par la formule :

$$\text{TE} = \frac{(m_i - m_e)}{m_i} \times 100 \quad (2.5)$$

2.3.11. Détermination des propriétés bioadhésives des gels

La bioadhésion des gels étudiés est déterminée par la mesure de la force de détachement (FD), en utilisant un pénétromètre TA-XT2 Texture Analyzer (Stable Micro Systems, UK) muni d'une cellule avec une charge de 5 kg, une précision de mesure de force de 0,0025% et une résolution de la distance de 0,0025 mm. Les gels sont placés entre deux membranes en cellophane préalablement hydratées avec la solution (PBS, pH6.75) et fixées horizontalement aux sondes supérieure et inférieure. Une force de 10 g est appliquée pendant 3 minutes pour assurer un contact intime entre la membrane et l'échantillon [126].

La sonde est ensuite déplacée vers le haut à une vitesse constante de 0.5 mm/s et la force nécessaire pour décoller la membrane (sonde supérieure) de la surface de chaque formulation est déterminée. Les mesures sont faites trois fois pour chaque échantillon et le coefficient de variation ne doit pas excéder 5%. La force de détachement du gel bioadhésif est exprimée en grammes [126]. On calcule la force d'adhésion (FA) par l'équation (2.6) :

$$\text{Force d'adhésion (N)} = \frac{\text{Force de détachement} \times 9.8}{1000} \quad (2.6)$$

2.3.12. Tests de libération du Miconazole à partir des hydrogels

Le test de dissolution in vitro des gels est réalisé dans un dissolutest muni de basket où on introduit les hydrogels préalablement mis à l'intérieur de sachets en polypropylène non tissés et pesés. Le milieu de dissolution, (PBS, pH6.75) est introduit dans chaque godet de l'appareil porté à $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ et mis sous agitation (50 tr/min). A des intervalles de temps réguliers, des prélèvements du milieu de dissolution (2ml) sont effectués et filtrés (0.45 μm). Le volume prélevé est remplacé par un milieu frais pour maintenir le volume constant pendant tout le test de dissolution. L'échantillon prélevé est analysé par spectroscopie UV-VIS à 272 nm pour déterminer les taux de principe actif libéré par les gels testés.

Le mécanisme de la cinétique de libération du principe actif est analysé selon l'équation d'ordre zéro (Eq.(2.7)) ; Higuchi [127] (Eq.(2.8)) ; Korsmeyer-Peppas [128] (Eq.(2.9)) et Peppas et Sahlin [129] (Eq.(2.10)).

$$Q_t/Q_\infty = k_0 \cdot t \quad (2.7)$$

$$Q_t/Q_\infty = k_H \cdot t^{1/2} \quad (2.8)$$

$$Q_t/Q_\infty = k \cdot t^n \quad (2.9)$$

$$Q_t/Q_\infty = k_1 \cdot t^m + k_2 \cdot t^{2m} \quad (2.10)$$

Où Q_t/Q_∞ est la fraction du médicament libérée ; k_0 , k_H , et k sont les constantes de la cinétique de libération ; k_1 est la constante relative au phénomènes de diffusion et k_2 est la constante relative au phénomènes de relaxation, m est l'exposant de diffusion, n est l'exposant qui dépend du mécanisme de libération et de gonflement. La valeur de $n=0.5$ indique une libération fickienne, si $0.5 < n < 1.0$ indique une libération anormale non fickienne (présence des deux phénomènes diffusion/relaxation), et quand la valeur de $n=1.0$ indique le transport de case II (relaxation, érosion) de libération du principe actif.

Le premier terme du côté droit de l'équation (2.10) représente la contribution par diffusion de Fick, F , tandis que le second terme de la contribution de la relaxation (transport case-II), R .

Le rapport des deux contributions peut être calculé comme suit [129]:

$$\frac{R}{F} = \frac{k_2 t^m}{k_1} \quad (2.11)$$

Pour des formes cylindriques d'épaisseur l , le coefficient de diffusion initial (D_i), le coefficient de diffusion moyen (D_m) et le coefficient de diffusion final sont calculés selon les équations (2.12) à (2.14), respectivement [130] :

$$Q_t/Q_\infty = 4 (D \cdot t / \pi \cdot l^2)^{0.5} \quad (2.12)$$

$$D_m = \frac{0.049 \cdot l^2}{t^{1/2}} \quad (2.13)$$

$$Q_t/Q_\infty = 1 - (8/\pi^2) \exp [(-\pi^2 D \cdot t / l^2)] \quad (2.14)$$

2.4. FORMULATION DU GEL BIOADHESIF

Le but de cette étude est d'identifier les paramètres de formulation optimale d'un gel bioadhésif à base de miconazole avec une bioadhésion maximale et une libération prolongée du principe actif. On a concentré notre travail sur la recherche d'une formule à base d'un mélange de KC et APG en utilisant une modélisation en surface de réponse (RSM) et en particulier le modèle de Box Behnken. Maximiser la force d'adhésion reste donc un objectif important dans la phase de développement de systèmes d'administration de médicaments mucoadhésifs. Il est donc clair que le défi dans l'élaboration de nouveaux systèmes de libération est d'identifier les technologies et les excipients de la formulation afin d'optimiser simultanément la bioadhésion et la cinétique de libération du médicament. Pour des résultats thérapeutiques appropriés, ces deux propriétés doivent être optimisées dans un système bioadhésif afin d'atteindre des temps de rétention au site d'action prolongées au maximum. La méthodologie de surface de réponses (RSM) a été utilisée dans cette étude comme une stratégie intéressante pour mettre en œuvre une formulation avec un nombre minimum d'expériences. La méthodologie RSM est une combinaison de techniques mathématiques et statistiques utilisées pour l'élaboration, l'amélioration et l'optimisation. Elle est utilisée pour évaluer l'importance relative des différents facteurs affectant les réponses même en présence d'interactions complexes [131].

2.4.1. Préparation des gels mucoadhésifs

Les gels formulés sont préparés selon la procédure suivante : les polymères en poudre sont dispersés dans des béchers à température ambiante contenant une quantité suffisante d'eau distillée dans lequel le méthyl parabène (0,2% p/p) et le propyl parabène (0,02% p/p) ont été préalablement dissous sous agitation magnétique. Les dispersions de mélange de KC et APG (7% p/p) sont chauffées à 80 °C, et maintenues pendant 30 min sous une agitation constante. On maintient l'agitation jusqu'à l'obtention d'un gel transparent, clair et sans bulles d'air. Les gels obtenus sont laissés pendant une nuit pour gonflement complet. Par la suite, on disperse le principe actif (2% p/p), le Tween 80 (T80) et enfin le glycérol (Gly) sous agitation douce dans une partie des gels préalablement préparés, jusqu'à l'obtention d'un gel lisse et homogène. Le reste des gels est ajouté portion par portion progressivement sous agitation lente et continue afin d'éviter l'introduction de bulles d'air jusqu'à ce qu'une dispersion homogène soit obtenue. Les Formulations de gels à base de miconazole sont préparées selon la composition des facteurs énumérés dans la matrice de conception (Tableau 2.5).

2.4.2. Dosage du contenu des gels en principe actif

Le titre en principe actif des gels formulés est déterminé à l'aide d'un dosage par HPLC décrit dans la section (2.3.7).

2.4.3. Détermination du pH des gels

Le contrôle du pH des gels formulés est effectué selon la méthode décrite dans la section (2.3.8).

2.4.4. Détermination des propriétés bioadhésives des gels in-vitro

Les propriétés bioadhésives de chaque formulation ont été déterminées par la mesure de la force nécessaire pour détacher le gel d'une membrane en cellophane traitée avec une solution de PBS pH6.75. La méthode expérimentale est détaillée dans la section (2.3.11).

2.4.5. Gonflement et Erosion des gels

L'étude de gonflement et d'érosion des gels formulés sont effectués dans le milieu PBS pH 6.75 selon la méthode décrite dans la section (2.3.9) et (2.3.10).

2.4.6. Etude de la biodisponibilité In vitro

L'étude de la cinétique de libération du Miconazole à partir des gels formulés est réalisée par un dosage des quantités de PA libérées à des intervalles de temps réguliers par spectroscopie UV à une longueur d'onde de 272 nm selon la méthode décrite dans la section (2.3.12).

2.4.7. Analyse des données de la biodisponibilité

Pour étudier la cinétique de libération des matrices de gels, les données sont ajustées à l'équation de la loi de puissance (équation de Korsmeyer-Peppas), qui est souvent utilisée pour décrire le comportement de libération de principe actif à partir de systèmes polymériques lorsque le mécanisme n'est pas bien connu ou lorsque plus d'un type de phénomène de libération est impliqué en utilisant l'équation (2.9) [128].

Le temps moyen de dissolution (MDT) est calculé selon la formule (2.15) [132]:

$$MDT = \frac{n}{n+1} \cdot k^{-1/n} \quad (2.15)$$

k et n sont la constante cinétique de libération et la puissance de l'équation (2.9), respectivement.

2.4.8. Plan d'expériences, analyse et optimisation

Le plan d'expériences Box-Behnken est utilisé pour étudier statistiquement les paramètres de formulation à savoir la bioadhésion maximale et la libération prolongée du PA. Les facteurs étudiés sont les concentrations de : KC (X_1), Gly (X_2) et T_{80} (X_3). Les réponses mesurées sont : la force de détachement (FD), le temps moyen de dissolution (MDT) et le taux de libération précoce après 10 min. Les facteurs et leurs niveaux sont résumés dans le tableau 2.4.

Tableau 2.4. Variables indépendantes et leurs niveaux

Facteurs	Niveaux		
	-1	0	+1
X_1 : concentration KC*	0.3	0.45	0.6
X_2 : concentration Gly *	65	70	75
X_3 : concentration T_{80} *	1	2.5	4

* : Concentration en % massique

Le plan d'expériences de Box Behnken, pour lequel la matrice d'expériences est illustrée dans le Tableau 2.5, est constitué de 16 essais de formulation. Ils sont réalisés dans un ordre aléatoire (randomisés) à l'effet de réduire l'erreur

systematique que pourraient subir les mesures des réponses. Un modèle polynomial de second ordre (équation (2.16)) est utilisé pour évaluer les réponses:

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_1X_1 + b_5X_2X_2 + b_6X_3X_3 + b_7X_1X_2 + b_8X_1X_3 + b_9X_2X_3 \quad (2.16)$$

Où Y est la réponse mesurée; b_0 est l'ordonnée à l'origine; b_1 à b_9 sont des coefficients de régression calculées à partir des valeurs expérimentales observées de Y, et X_1 , X_2 et X_3 sont des niveaux codés des variables indépendantes. Les termes X_1X_2 , X_1X_3 , X_2X_3 et X_i . X_i ($i = 1, 2$ ou 3) représentent les interactions et les termes quadratiques, respectivement.

Tableau 2.5. Matrice d'expériences du modèle de Box- Behnken

N° experiences	combinaisons des Facteurs à différents niveau		
	X_1 (%, p/p)	X_2 (%, p/p)	X_3 (%, p/p)
F1a	0.45	70	2.5
F2a	0.45	70	2.5
F3a	0.45	70	2.5
F4	0.30	70	1.0
F5	0.45	75	1.0
F6	0.30	75	2.5
F7	0.45	75	4.0
F8	0.60	70	1.0
F9	0.60	75	2.5
F10	0.30	70	4.0
F11	0.60	65	2.5
F12a	0.45	70	2.5
F13	0.30	65	2.5
F14	0.45	65	4.0
F15	0.45	65	1.0
F16	0.60	70	4.0

a. Indique les points centraux du modèle.

L'étude de préformulation et des essais préliminaires ont facilité la détermination des niveaux des facteurs. Le calcul des paramètres des modèles polynomiaux de surface de réponse s'effectue par la méthode partielle des moindres carrés PLS (Partial Least Squares), en utilisant les valeurs expérimentales des réponses en fonction des variables centrées réduite associées aux concentrations des constituants. La validation statistique de l'équation polynomiale générée par le plan d'expériences est établie sur la base de l'ANOVA. Un total de 16 essais avec quatre points centraux ont été réalisés. Les modèles ont été évalués en termes de coefficients statistiquement significatifs, et les valeurs de R^2 . Les résultats de l'ajustement des modèles mathématiques de

chaque réponse aux résultats expérimentaux est illustrés par des courbes en surface de réponses. L'influence de chaque facteur sur les réponses mesurées est évaluée. Une étude des interactions entre les différents facteurs et leurs influences sur les réponses étudiées est mise en évidence et interprétés. Une fois la validation des modèles confirmés par les résultats de l'ANOVA, une formule optimale est proposée par le logiciel de traitement des données selon les réponses optimales recherchées. Une validation de cette formule est réalisée par une étude de la reproductibilité des résultats et l'étude de la robustesse du processus de formulation.

2.5. MODIFICATION CHIMIQUE DE L'AMIDON PREGELATINISE

Convertir l'amidon natif en excipient ionique est l'un des objectifs de l'industrie pharmaceutique afin de moduler la libération des principes actifs selon le pH physiologique.

La réaction d'éthérisation de l'amidon est l'une des méthodes permettant d'améliorer les propriétés physiques et chimiques de l'amidon [133]. Les dérivés d'amidons éthérisés dont le Carboxyméthyl amidon (CMA) sont très utilisés comme excipients à libération prolongée [134]. En effet dans un milieu acide, à des valeurs de pH inférieures au pKa du CMA (pKa environ de 4.2), les groupements Carboxyméthyl (CM) sont protonés. Cela renforce la couche gel formée par le CMA en contact avec le milieu de dissolution, réduisant la libération du PA. Par contre, à des pH supérieurs au pKa, les groupements CM sont déprotonés, réduisant la résistance du gel, en favorisant l'hydratation de la matrice de CMA en augmentant les forces de répulsion entre les groupements (COO⁻). Cette hydratation du CMA permettra la libération progressive du PA [134].

La synthèse du CMA étudiée est obtenue par une réaction entre l'APG et l'acide monochloroacétique (MCA) dans un milieu alcalin. La méthode est basée sur la synthèse d'éthérisation de Williamson (Figure 2.2).

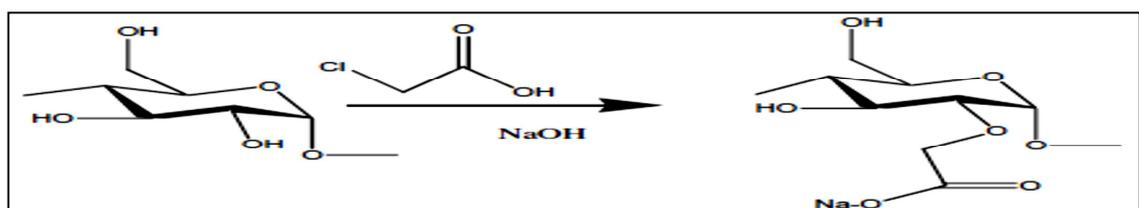
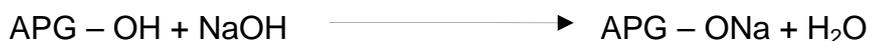


Figure 2.2. Réaction d'éthérisation de l'Amidon

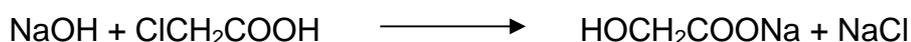
La première étape est une alcalinisation à l'aide de l'hydroxyde de sodium (NaOH). Ce dernier va réagir avec les groupes hydroxyle de la molécule d'APG qui est transformé en une forme d'alcoolate (APG-O-) [133]:



La seconde étape est la réaction d'éthérisation qui se produit selon la réaction suivante :



De plus, une réaction secondaire se produit également en concurrence avec le procédé de carboxyméthylation, qui est la réaction entre l'hydroxyde de sodium (NaOH) et l'acide monochloroacétique (MCA) pour former le glycolate de sodium:



Plusieurs travaux ont été effectués sur la synthèse du CMA avec différents types d'amidon [133-138]. Des travaux ont été également effectués pour évaluer les effets des paramètres de la réaction sur la carboxyméthylation de l'amidon tels que : la concentration de NaOH, la quantité d'agent d'éthérisation, et les types de solvants utilisés. Les propriétés de CMA sont principalement une température basse de gélatinisation et des propriétés de gonflement et de solubilité dans l'eau froide plus intéressante que l'amidon natif [136]. Ces propriétés peuvent être caractérisées par le degré de substitution (DS) ou le nombre moyen de groupes hydroxyles substitués par des groupements carboxyméthyles [139]. Toutefois, aucun travail n'a été cité pour la carboxyméthylation de l'amidon pré-gélatinisé.

Lors de notre travail, une étude de l'effet du rapport du nombre de moles de l'acide monochloroacétique par rapport à celui de l'APG (MCA/GU), exprimé par le degré de substitution théorique (DSt) pour un degré de substitution optimal (DS) a été réalisée. Par la suite, l'influence de la température et le temps de réaction sur le rendement et le degré de substitution (DS) ont été évalués. Enfin, l'effet de la concentration d'hydroxyde de sodium sur le degré de substitution (DS), la viscosité apparente, la cristallinité et la morphologie de la poudre de CMA a été déterminé.

2.5.1. Réaction de Carboxyméthylation de l'amidon

Une masse d'acide monochloroacétique (MCA) est dissoute dans 400 ml d'alcool isopropylique. Ensuite 100 g d'APG sont dispersés dans la solution précédente sous agitation mécanique continue. Une centaine de millilitres de solution aqueuse de NaOH à différentes concentrations (10- 50% p/v) sont

ajoutées dans le mélange et chauffés à (20°C - 70°C) pendant (30 min – 2.5h). À la fin, la suspension est neutralisée avec de l'acide acétique glacial. Le précipité est récupéré par filtration et lavé avec du méthanol à 95% quatre fois. Le produit obtenu (CMA sous forme de sel sodique) est séché dans une étuve à 50°C pendant 24h [140].

2.5.2. Infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Les spectres d'absorption FTIR de l'APG et du CMA sont réalisés selon la technique du disque de KBr. Avant l'analyse, les poudres de CMA et APG ont été séchées et stockées dans un dessiccateur avant de préparer les pastilles de KBr. 10 mg de chaque échantillon sont mélangés à 90 mg de KBr et environ 20 mg du mélange sont utilisés pour être compressé et formé des disques de 9 mm de diamètre. On obtient des pastilles translucides. On effectue un balayage entre 4000 et 400 cm^{-1} avec un pas de 4 cm^{-1} de résolution pour chaque échantillon.

2.5.3. Degré de substitution (DS)

Le degré de substitution (DS), qui est le nombre moyen de groupes fonctionnels introduits dans le polymère, détermine principalement les propriétés des dérivés polysaccharides y compris les produits carboxyméthylés. Les méthodes classiques pour déterminer le DS des polysaccharides sont très similaires. Elles utilisent l'acidité du groupe carboxyméthyle [141].

2.5.3.1. La conversion du CMA (Na) en CMA(H)

On pèse 10 g de CMA (Na) dans 100 ml d'acétone puis on ajoute 30 ml de HCl 6M sous agitation pendant 120 min. Pour éliminer l'excès d'acide, le CMA(H) est lavé, puis séché avec le même protocole que lors de la réaction de carboxyméthylation [141].

Le DS est déterminée par titrage acido-basique d'un échantillon de 10g de CMA(H), dissous dans 40 ml de NaOH (0.1 M). La solution obtenue est diluée à 100 ml avec l'eau distillé. L'excès de NaOH est titré avec une solution de HCl à 0.05 N en présence de phénolphtaléine. Un essai à blanc est titré également. Le nombre de mole de groupement carboxyméthyl est donné par la formule (2.17) [141]:

$$n_{-COOH} = (V_b - V).C_{HCl} \quad (2.17)$$

Où V_b est le volume de HCl utilisé pour le titrage l'essai à blanc, V est le volume de HCl utilisé pour le titrage de l'échantillon, C_{HCl} est la concentration de HCl utilisé pour le titrage de l'échantillon.

Le degré de substitution est calculé par la formule (2.18):

$$DS = \frac{162 \times n_{-COOH}}{m_{dry} - 58 \times n_{-COOH}} \quad (2.18)$$

Où 162 g/mol est le poids molaire d'une unité de GU. (GU : Unité de Glucopyranose), 58 g/mol est l'augmentation dans la masse molaire pour chaque unité de CM groupe (CM : carboxymethyl group) substitué, m_{dry} est la masse anhydre (sèche) de l'échantillon.

Le Calcul du rendement de substitution RS(%) est donné par :

$$RS(\%) = \frac{DS}{DS_t} \times 100 \quad (2.19)$$

Où DS_t est le degré de substitution théorique donné par :

$$DS_t = \frac{n_{MCA}}{n_{GU}} \quad (2.20)$$

Où n_{MCA} est le nombre de mole de MCA, n_{GU} est le nombre de mole de GU

Le calcul du rendement de la réaction est donné par l'équation suivante :

$$R(\%) = \frac{m_{CMA}}{m_{APG}} \times 100 \quad (2.21)$$

Où m_{CMA} est la masse de CMA obtenu après filtration et séchage à poids constant, m_{APG} est la prise d'essai d'APG pour la réaction.

2.5.4. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La morphologie des grains d'APG et de CMA a été étudiée à l'aide d'un microscope électronique à balayage (MEB) à une tension d'accélération de 15 kV avec x1000.

2.5.5. Diffraction aux rayons X (DRX)

Les données de diffraction des rayons X ont été mesurées à température ambiante en utilisant un appareil fournissant un rayonnement $CuK\alpha$ ($\lambda = 1.54 \text{ \AA}$) et fonctionnant à 40 kV et 20 mA. Un mode de balayage a été utilisé avec un pas de $0,04^\circ$ par seconde. L'angle de départ [2θ .]: 2.0, Angle final [2θ .]: 60.0, Taille du pas [2θ .]: 0.0170 et Temps du pas [s]: 91.7599 .

2.5.6. Caractérisation pharmaco-technique du CMA

La caractérisation pharmaco-technique du CMA permet d'évaluer l'aptitude de la poudre à se comporter comme un excipient pharmaceutique lors de sa mise en forme comme une matrice hydrophile permettant le véhicule et la libération de principe actif dans un mélange pulvérulent.

2.5.6.1. Densités vrac et après tassement

Les densités vrac (ρ_B) et les densités après tassement (ρ_T) de la poudre d'APG et CMA ont été déterminées selon la méthode de la pharmacopée USP [122]. Pour chaque échantillon, l'indice de Carr (CI, également appelé indice de compressibilité) [142] et le rapport de Hausner (HR) [143] ont été respectivement calculée à partir d'équations (2.22) et (2.23) appliquées par la méthode USP [122]:

$$CI = \frac{\rho_T - \rho_B}{\rho_T} \times 100 \quad (2.22)$$

$$HR = \frac{\rho_T}{\rho_B} \quad (2.23)$$

Le classement de la poudre étudiée et l'interprétation des résultats se fait selon le Tableau 2.6.

Tableau 2.6. Classification de la poudre selon son pouvoir d'écoulement et de cohésion basée sur les valeurs de CI et HR [142 ,143]

CI (%)	Écoulement	HR	Cohésion
<15	Très bon	< 1.2	Basse
15-20	Bon	1.2 -1.4	Intermédiaire
20-35	Moyen	> 1.4	Haute
35-45	Mauvais		
> 45	Très mauvais		

2.5.7. Evaluation des propriétés rhéologiques du CMA

La viscosité apparente est mesurée à l'aide d'un viscosimètre rotatif à des vitesses de cisaillement allant de 10 à 200 s⁻¹ à 25°C. Chaque mesure est effectuée trois fois. Les échantillons pour l'analyse de la viscosité apparente sont préparés à base de solutions d'APG et de CMA à 3% dans l'eau distillée. Les échantillons sont placés sous agitation magnétique, à 80°C pendant 20min. Par la

suite, les solutions sont maintenues sous agitation jusqu'à atteindre la température ambiante. Les gels obtenus sont laissés au repos pendant 24 heures avant l'analyse de la viscosité.

2.6. MODIFICATION CHIMIQUE DU KAPPA CARRAGENANE (KC)

2.6.1. Réaction de carboxyméthylation du KC

Les hydroxyles présents sur les chaînes de KC peuvent être modifiés par des réactions chimiques différentes (estérification, étherification, oxydation,...). On s'est intéressé dans ce présent travail à la réaction de carboxyméthylation. Cette dernière permet de modifier la réactivité chimique du KC et la création de sites réactifs : Les groupements carboxyliques qui augmentent la charge du biopolymère polyelectrolyte et lui donnent un caractère polyanionique prononcé, grâce à la présence de groupements sulfates et carboxyliques au même temps.

Le Carboxyméthyl Kappa carraghénane (CMKC) est obtenu par une réaction du KC sur l'acide monochloroacétique (MCA) en milieu alcalin. La modification du KC est réalisée selon le schéma réactionnel décrit dans la Figure 2.3.

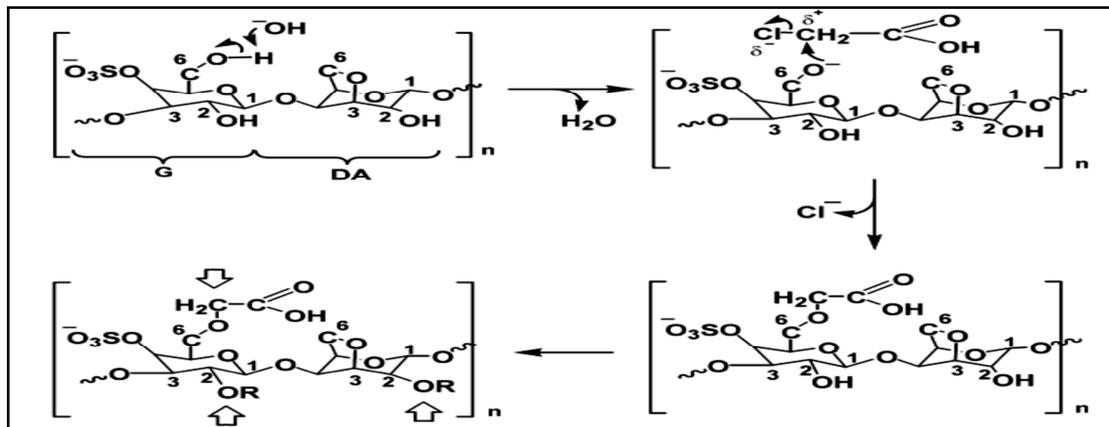


Figure 2.3. Réaction de modification du κ -carraghénane par carboxyméthylation. DA est le 3,6-anhydro- α -D-galactopyranose, G est β -D-galactopyranose-4-sulfate. Les nombres 1-6 montrent les numérotations de carbone. R = H ou CH_2COOH , n = nombre d'unités répétitives; flèche : positions possibles pour la carboxyméthylation [144]

La carboxyméthylation du KC est réalisée grâce au procédé de synthèse de Williamson, en deux étapes consécutives [145]. La réaction se produit avec une

base forte telle que l'hydroxyde de sodium (NaOH), qui déprotone les groupements hydroxyle du KC et forme des alcoxydes, augmentant ainsi sa nucléophilie. Les groupements carboxyméthyle sont ensuite formés par réaction du carraghénane alcoolates et de l'acide monochloroacétique (MCA). Une réaction secondaire, se déroule simultanément entre MCA et NaOH conduisant à la formation de glycolate de sodium. Il a été démontré que certains facteurs tels que le volume et la concentration de la solution d'hydroxyde de sodium, la masse de l'acide monochloroacétique, et la température de réaction influencent fortement le rendement de la carboxyméthylation [145,146].

La quantité de MCA a été variée pour les cinq lots de KC modifiés afin d'avoir un rapport molaire entre MCA et KC ($n_{\text{MCA}}/n_{\text{KC}}$) variant de 1, 1.5, 2, 2.5 et 3.

Le CMKC obtenu est sous forme de suspension dans le milieu réactionnel. Il est extrait par filtration sous vide et le résidu est lavé 03 fois avec un mélange de solvant : Ethanol/ eau à 80% (50ml), puis avec de l'Ethanol pur (50ml) par alternance. Le CMKC est séché à 70°C pendant 24 heures et pulvérisé dans un mortier. Le rendement de chaque réaction étudiée est calculé [144].

Enfin, le CMKC synthétisé est caractérisé par FTIR, et par la détermination du degré de substitution (DS) et du poids moléculaire (Mw). L'activité antibactérienne et la capacité d'absorption de l'humidité ainsi que la capacité de rétention d'eau ont été évaluées. L'influence de la carboxyméthylation sur les propriétés du KC a été également étudiée.

2.6.2. Analyses Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR)

Les spectres d'absorption FTIR de KC et de CMKC sont réalisés selon la technique du disque de KBr dans la plage de 4000-400 cm^{-1} (voir 2.5.2).

2.6.3. Degré de substitution (DS)

La valeur du DS de chaque échantillon a été calculée par un titrage potentiométrique. Une prise d'essai de 0.2 g de CMKC est dissoute dans l'acide chlorhydrique (50 ml) à 0.1 mol/L et titré avec de l'hydroxyde de sodium à 0,1 mol/L [147]. Le DS est déterminé sur les lots obtenus après la réaction de carboxyméthylation et un essai est effectué sur le KC. Pour chaque titrage, un dosage à blanc est réalisé. La valeur du DS est calculée selon les équations (2.24) et (2.25) [147] :

$$DS = \frac{385.A}{1000-80A} \quad (2.24)$$

$$A = \frac{(V_2-V_1)_{NaOH} \cdot C_{NaOH}}{m_{CMKC}} \quad (2.25)$$

Où V_2 est le volume de NaOH consommé par le titrage du blanc, V_1 est le volume de NaOH consommé par le titrage des échantillons, C_{NaOH} est la concentration de NaOH, m_{CMKC} est la prise d'essai du CMKC utilisée lors du titrage potentiométrique.

2.6.4. Caractérisation de la poudre de CMKC

2.6.4.1. Densité vrac

Pour évaluer la densité du polysaccharide modifié et non modifié, on sèche les échantillons jusqu'à poids constant puis on transfère la poudre dans une fiole de 10ml préalablement pesée (m_1). On jauge la poudre au trait exact de la fiole de 10ml et on repese la fiole remplie (m_2). La densité vrac (d_0) des biopolymères est calculée selon l'équation (2.26) [148] :

$$d_0 = \frac{m_2 - m_1}{10} \quad (2.26)$$

2.6.4.2. Densité réelle

Pour évaluer la densité réelle, on pèse 0.35g de chacun des biopolymères étudiés, préalablement séchés jusqu'à poids constant (w_0), qu'on place dans une fiole de 10ml de poids connu à 20°C. À chaque fiole, on ajoute 08ml de cyclohexane. Le mélange est conservé à 20°C pendant 24h. Ensuite les fioles sont complétées au trait de jauge avec du cyclohexane et pesées (w) [148].

La densité réelle (d) des polymères est calculée par l'équation suivante (2.27):

$$d = \frac{w_0}{10 - \{(w - w_0)/d_c\}} \quad (2.27)$$

Où w est le poids total du polymère et le solvant, w_0 est le poids du polymère sec, d_c est la densité de solvant ($d_c = 0.778\text{g/ml}$).

2.6.4.3. Porosité et volume des pores

Le volume des pores des polysaccharides modifié et non modifié est mesuré par le gain en poids de la poudre dans le cyclohexane. Les polymères secs à poids constant, sont placés dans des tubes poreux, placés à l'intérieur d'un bécher rempli de cyclohexane pendant 48h à 20°C. L'excès de cyclohexane est enlevé

des particules de polymère par centrifugation à 1500tpm pendant 1mn suivi d'une décantation [148]. La masse m_1 du polymère obtenu est pesée et le volume de cyclohexane absorbé par les polymères est utilisé pour estimer la porosité des particules polymérique.

La porosité de l'échantillon (\emptyset) est déterminée par l'équation (2.28) [148] :

$$\emptyset = \frac{V_p}{V_0} \quad (2.28)$$

Où V_p est le volume des pores dans les particules polymériques calculé par la formule (2.29)

$$V_p = w_1 - w_0 \quad (2.29)$$

Où w_0 est le poids du polymère sec, w_1 est le poids du polymère après avoir retiré l'excès de cyclohexane.

V_0 est le volume vrai des particules polymérique calculé selon l'équation (2.30) :

$$V_0 = \frac{w_0}{d} \quad (2.30)$$

Où d est la densité réelle des molécules du polymère calculé par l'équation (2.27)

2.6.5. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La morphologie du KC et CMKC a été étudiée à l'aide d'un microscope électronique à balayage (MEB), comme décrit à la section (2.5.4)

2.6.6. Diffraction aux rayons X (DRX)

Les données de diffraction des rayons X ont été mesurées à température ambiante en utilisant un appareil fournissant un rayonnement $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$) et fonctionnant à 40 kV et 20 mA, comme défini à la section (2.5.5).

2.6.7. Détermination de la masse moléculaire moyenne

La détermination expérimentale de la viscosité constitue actuellement l'une des techniques les plus répandues en chimie macromoléculaire. Les données expérimentales sont, de plus, très rapidement exploitables. La mise en solution d'un échantillon de polymère s'accompagne, en effet, d'un accroissement très important de la viscosité du solvant, même lorsque le soluté se trouve en faible quantité, la viscosité ainsi obtenue permet de caractériser le polymère en solution.

La viscosité intrinsèque $[\eta]$ correspond au cas idéal où les molécules de soluté sont indépendantes les unes des autres ; cela se produit pour des solutions infiniment diluées. En pratique, la viscosité intrinsèque est définie comme étant la limite vers laquelle tend la viscosité réduite lorsque la concentration C tend vers zéro selon la formule suivante [149]:

$$[\eta] = \lim_{C \rightarrow 0} \eta_{\text{red}} \quad (2.31)$$

$$\eta_{\text{red}} = \frac{\eta_{\text{sp}}}{C} \quad (2.32)$$

Et la viscosité spécifique est déterminée par la formule suivante :

$$\eta_{\text{sp}} = \frac{t - t_0}{t_0} \quad (2.33)$$

Où $[\eta]$ est la viscosité intrinsèque (L/g), η_{sp} est la viscosité spécifique, t et t_0 sont les temps d'écoulement de la solution et du solvant respectivement (s) et, C est la concentration du soluté (g/L).

La mesure manuelle du temps d'écoulement en utilisant un viscosimètre capillaire (le plus utilisé est celui dénommé Ubbelohde) est suffisante pour déterminer la viscosité d'une solution (Figure 2.4).

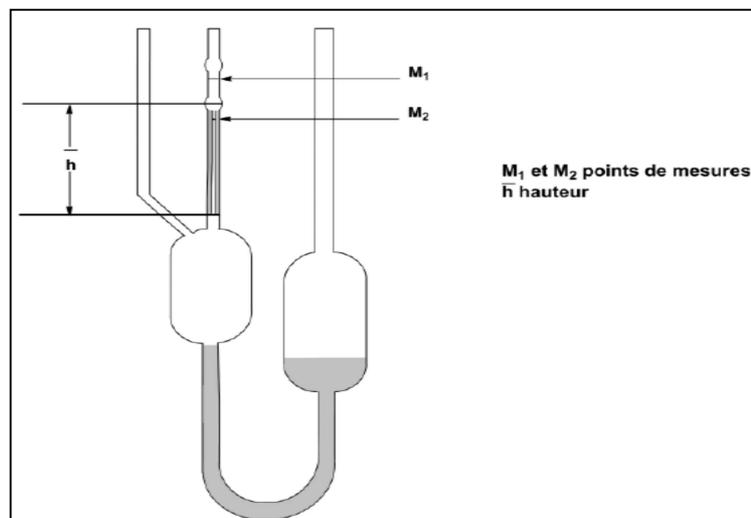


Figure 2.4. Viscosimètre capillaire (Ubbelohde)

La viscosité intrinsèque est une fonction du poids moléculaire du polymère en solution, du solvant, du polymère et de la température. Si les mesures s'effectuent à température constante en utilisant un solvant spécifique à un polymère particulier alors on peut relier quantitativement la masse moléculaire du polymère à ces mesures.

La mesure de la viscosité permet de calculer la masse moléculaire des polymères, en utilisant la relation de Mark- Houwink (équation 2.34):

$$[\eta] = K M_w^\alpha \quad (2.34)$$

où K et α sont les constantes caractéristiques du couple polymère-solvant à une température donnée [150, 151]. La viscosité intrinsèque du CMKC est mesurée dans une gamme de concentrations variant entre 0.2 et 1 g/L dans une solution aqueuse de NaCl à 0.1mol/L, à 25°C [152]. La masse moléculaire moyenne (M_w) du CMKC est déterminée en utilisant la relation (2.35) [153] :

$$[\eta] = 8.84 \times 10^{-3} \cdot M_w^{0.86} \quad (ml/g) \quad (2.35)$$

2.6.8. Capacité d'absorption d'eau et de rétention de l'humidité

La capacité d'absorption d'eau et de rétention d'humidité des échantillons a été mesurée selon la méthode rapportée par Matsumura et al. [154]. Cette méthode repose sur le calcul de gain ou de perte de poids des poudres après humidification ou dessiccation selon des méthodes appropriées. Les propriétés d'absorption et de rétention d'humidité des échantillons secs et humides de KC et CMKC ont été examinées et comparées à celles de l'acide hyaluronique (HA) [154].

2.6.8.1. Test d'absorption d'humidité

Avant d'entamer le test, on sèche le KC et le CMKC dans un dessiccateur contenant le P_2O_5 pendant 24h, puis on pèse les échantillons (M_0) et on les met à nouveau dans deux dessiccateurs contenant chacun le Sulfate d'ammonium ($(NH_4)_2SO_4$) d'humidité relative (RH) égale à 81% et le Chlorure de calcium ($CaCl_2$) d'humidité relative (RH) égale à 32% pendant 48h à 20°C. On repèse les échantillons après mise en contact avec le Sulfate d'ammonium et le Chlorure de calcium (M_n). La capacité d'absorption d'humidité est évaluée par l'Equation 2.36 [154] :

$$Ra = \frac{M_n - M_0}{M_0} \times 100 \quad (2.36)$$

2.6.8.2. Test de rétention d'humidité

Avant d'entamer le test, on précède par une étape d'humidification des échantillons avec l'ajout de 10% (p/p) d'eau distillée à chaque échantillon et on note les poids (H_0). On met les échantillons dans un dessiccateur contenant le gel

de silice pendant 48h à 20°C et enfin on re pese le s échantillons et on note les résultats (H_n).

La capacité de rétention d'humidité est évaluée par le calcul du pourcentage d'eau résiduel des échantillons humidifiés (Équation 2.37) [154] :

$$Rh = \frac{H_n}{H_0} \times 100 \quad (2.37)$$

2.6.9. Evaluation des propriétés rhéologiques du CMKC

La viscosité est mesurée à l'aide d'un viscosimètre rotatif à des vitesses de cisaillement allant de 10 à 200 s⁻¹ à 25°C. Chaque mesure est effectuée trois fois.

Les échantillons pour l'analyse de la viscosité apparente sont préparés en introduisant une masse correspondant à une concentration finale de 1% en polymère pour chaque échantillon dans une solution d'eau distillée. Les échantillons sont placés sous agitation magnétique et chauffés à 80°C pendant 20min. Une fois que la solubilisation est complète, on arrête le chauffage et on continue l'agitation jusqu'à atteindre la température ambiante. Les gels obtenus sont laissés au repos pendant 24 heures avant l'analyse de la viscosité.

2.6.10. Evaluation de l'activité antibactérienne de CMKC

L'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode dite méthode de diffusion sur gélose (méthode de disque). Pour cela, on a mené des tests microbiologiques par diffusion du CMKC en milieu solide. L'opération consiste à déterminer le diamètre d'inhibition des souches bactériennes : *Staphylococcus aureus* (S. aureus) et *Escherichia Coli* (E.coli).

Des morceaux de papier absorbant, sous forme de disques, sont imbibés de solutions dont on veut vérifier leur activité antimicrobienne. Chaque papier est placé dans une boîte de Pétri contenant le milieu de culture et une souche bactérienne spécifique (*Staphylococcus aureus* ou *Escherichia Coli*). Après un temps d'incubation de 24h, nous obtenons des zones d'inhibition pour lesquelles nous mesurerons les diamètres d'inhibition [122], comme le montre la Figure 2.5.

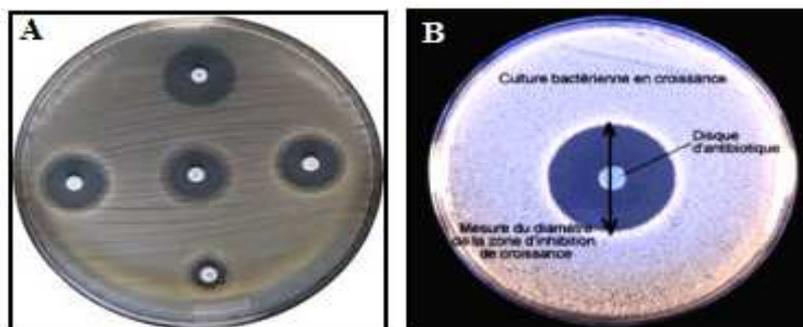


Figure 2.5. Méthode de diffusion sur gélose(A),
Représentation de la zone d'inhibition (B) [155]

Les résultats peuvent être interprétés et exploités en mesurant la zone d'inhibition qui est la zone comprise entre l'extrémité du disque et celle de la zone claire (absence de développement de germe) [155].

2.7. SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION D'UN COMPLEXE POLYELECTROLYTE POUR COMPRIMÉS BIOADHÉSIFS

Les complexes polyelectrolytes (PEC) représentent une classe intéressante de matériaux à base de polymères pour la mise au point de divers types de systèmes à libération contrôlée de médicaments. Ces derniers peuvent modifier efficacement la libération et améliorer la stabilité des principes actifs en raison de leur capacité à piéger la substance active au niveau de leur réseau moléculaire.

Dans notre cas, le PEC étudié sera introduit dans un mélange pulvérulent pour la formulation d'une matrice hydrophile ayant des caractéristiques bioadhésives et apte pour la libération prolongée du Miconazole (PA). La matrice hydrophile formée par le PEC obtenu à base de biopolymères modifiés (CMKC) peut posséder des propriétés uniques qui sont différentes de celles des biopolymères individuels. Les poly(méthacrylates) sont des polymères synthétiques cationiques ou anioniques de diméthyl-aminoethyl(méthacrylates), d'acide méthacrylique et des esters d'acide méthacrylique en proportions variables. De tels polymères sont utilisés dans des formulations pharmaceutiques comme agents d'enrobage, liants, excipients de compression directe, et des bases de gels [156].

Les Eudragit® appartiennent à la famille des polymères acryliques. L'Eudragit® de type RL est un copolymères de chlorure de triméthyl ammonioéthyl méthacrylate dont la stabilité physique et chimique est due à la présence d'un

squelette de base formé d'atomes de carbones et de branches d'esters. Les monomères méthacryliques assurent la rigidité de la molécule. Les unités acryliques contribuent plutôt à la souplesse et à la flexibilité. Les groupes esters méthacryliques sont aussi plus stables vis-à-vis de l'hydrolyse que les esters acryliques [156]. En raison de leur nature hydrophile, les groupes ammonium quaternaires augmentent la perméabilité du polymère. L'Eudragit[®] RL 30D (ERL) est un copolymère d'acrylate d'éthyle, le méthacrylate de méthyle et une faible teneur en ester d'acide méthacrylique avec des groupes ammonium quaternaire. Il possède un poids moléculaire de 15 kDa (Figure 2.6).

De plus, l'ERL reste ionisé à tous les pH physiologiques, avec une charge positive, si bien que la perméabilité *in vivo* du polymère est indépendante du pH. Ce ne sont pas des polymères biodégradables car ils ne sont ni absorbés, ni métabolisés *in vivo* mais éliminés sans biotransformation [156].

L'Eudragit[®] RL 30D est un excipient permettant de donner des profils de dissolution contrôlée, à pH indépendant. Il est hautement perméable et présente un gonflement indépendant du pH. Il s'agit d'un liquide blanc laiteux de faible viscosité ayant une légère odeur caractéristique, présenté sous forme de dispersion aqueuse à 30%.

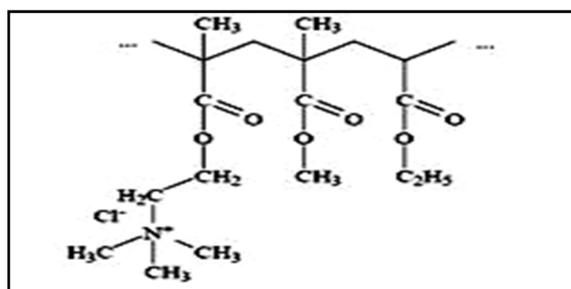


Figure 2.6. Poly(chlorure de méthacrylate d'éthyle acrylate-co-méthacrylate de méthyle-co-triméthylammonio) 1:2:0.2 (Eudragit[®] RL 30D)

Le CMKC a été obtenu par modification chimique du KC et caractérisé ultérieurement. Il possède un DS de 1.2 et un poids moléculaire de 289 kDa. La complexation Interpolyélectrolytiques (IPE) entre les différents types d'Eudragit[®] et le KC a été précédemment rapportée et le complexe correspondant a été synthétisé en faisant réagir les deux polymères en solution [157]. Le complexe obtenu a été isolé et ensuite lyophilisé pendant 3 jours, avant d'être utilisé comme matrice pour la libération contrôlée de médicaments dans le milieu gastrique

(pH 1.2) et intestinal (pH 7.4). On propose dans cette étude une complexation entre ERL et CMKC dans un milieu aqueux. Notre travail s'appuie sur le fait que les groupements sulfates et carboxyliques du CMKC sont fortement acides, ce qui permet l'ionisation du polymère et l'interaction avec l'ERL cationique, même à des valeurs de pH au voisinage de la neutralité (eau distillée).

Notre travail consiste à utiliser la méthode de complexation IPE entre ERL et CMKC dans la mise au point d'un PEC. Ce dernier sera utilisé comme un excipient pour la formation d'une matrice de base d'un comprimé bioadhésif à libération prolongée. La matrice sera obtenue par compression directe. Les principaux objectifs de cette étude sont : (1) étude de la complexation de ERL-CMKC, (2) détermination du rapport massique optimal ERL/CMKC de la complexation, (3) Mise au point et caractérisation des comprimés bioadhésifs obtenus du point de vue physicochimique et biopharmaceutique.

2.7.1. Mesure de la turbidité des mélanges de polymères

ERL (20mg) et CMKC (20mg) sont séparément dissous dans 100ml d'eau distillée, chauffée à 80°C jusqu'à totale dissolution des deux polymères. Une fois les solutions refroidies, on prépare neuf mélanges des deux solutions à différentes proportions en ajoutant différents volumes de la solution de CMKC à des volumes de solution d'ERL afin d'obtenir différents rapports de concentration massique en ERL : CMKC allant de 1:9 à 9:1 (autrement dit des rapports de 0.11 à 9.00). Le volume final de toutes les solutions étant constant et égal à 10ml. Cette procédure est répétée avec les mêmes concentrations mais en inversant l'ordre d'introduction des polymères en solution. Les échantillons sont laissés au repos pendant 1h puis agités vigoureusement sous agitation magnétique. La turbidité est immédiatement mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 600nm. A cette longueur d'onde, les polymères individuellement ne présentent aucune absorbance.

2.7.2. Mesure de la viscosité

Des solutions à 1% de chaque polymère préparées dans l'eau distillée (ERL et CMKC) sont mélangées à différents rapports volumiques du mélange ERL:CMKC dans un intervalle allant de 0.3 à 3. Les mélanges sont placés sous agitation magnétique forte pendant 1h, puis centrifugés pendant 15min. Le surnageant est

collecté et la viscosité spécifique est mesurée avec un viscosimètre capillaire de type Ubbelohde. Chaque mesure est effectuée trois fois.

2.7.3. Synthèse du complexe polyélectrolyte (PEC)

ERL (2.0g) et CMKC (2.0g) sont séparément dissous dans 1L d'eau distillée, à 80°C. Une fois la dissolution complète des polymères effectués, on mélange les deux solutions à des proportions (ERL:CMKC / 7:3) à température ambiante sous agitation magnétique. L'agitation est maintenue 1h, puis le système est laissé au repos pendant une autre heure. Le précipité obtenu est séparé et récupéré par centrifugation à 600tr/min pendant 20min. Le précipité est lavé à l'eau deux fois, puis une fois à l'éthanol pur pour éliminer tout résidu de polymères individuels. Le précipité est ensuite séché à température ambiante pendant trois jours.

2.7.4. Analyses Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR)

Les spectres FTIR de ERL, CMKC, et PEC synthétisé sont analysés par la méthode de pastilles de KBr (entre 4000–400 cm^{-1}) comme décrit dans la section (2.5.2).

2.7.5. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La morphologie du PEC a été étudiée à l'aide d'un microscope électronique à balayage (MEB), comme décrit dans la section (2.5.4.).

2.7.6. Préparation des comprimés bioadhésifs

Plusieurs mélanges pulvérulents ont été préparés à l'aide d'un mélangeur à poudre à différentes proportions en CMA (DS=0.34) et de PEC, contenant le PA (Miconazole). Le pourcentage en PA est de 16.7% (50mg/comprimé). Un agent d'écoulement (Stéarate de Mg) est ajouté au mélange pour améliorer la fluidité, à une concentration de 2% (6mg/comprimé). Les taux de PEC et de CMA varient de 0 à 81.33 % dans les différentes formules étudiées (Tableau 2.7). Les comprimés ont été obtenus par compression directe des différents mélanges pulvérulents à l'aide d'une compresseuse alternative. Les comprimés obtenus sont ronds et plats (300 mg de poids total, 10.0 mm de diamètre). Le Tableau 2.7 résume les principales formules étudiées.

Tableau 2.7. Composition unitaire des comprimés bioadhésifs (F1-F7)

Composition	Composition des Formules (mg)						
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7
Miconazole	50	50	50	50	50	50	50
CMA	244	122	97.6	73.2	48.8	24.4	-
PEC	-	122	146.4	170.8	195.2	219.6	244
Stéarate Mg.	6	6	6	6	6	6	6
Poids	300	300	300	300	300	300	300
% PEC	0	40.66	48.80	56.93	65.06	73.20	81.33
% CMA	81.33	40.66	32.53	24.40	16.27	8.13	0

2.7.7. Evaluation des caractéristiques du mélange pulvérulent avant compression

Les mélanges pulvérulents obtenus sont évalués du point de vue pharmaco-technique, et physicochimique afin de déterminer leur aptitude à la compression directe.

2.7.7.1. Taux d'humidité des mélanges pulvérulents

Les taux d'humidité des mélanges de poudre préparés sont évalués à l'aire d'un dessiccateur infrarouge. Une prise d'essai de 1gr de chaque mélange pulvérulent, est placée dans un plateau en aluminium et, incérée dans le dessiccateur IR. Une fois l'analyse terminée le taux d'humidité de l'échantillon est noté.

2.7.7.2. Densités vrac et après tassement

Les densités vrac (ρ_B) et les densités après tassement (ρ_T) des mélanges pulvérulents ont été déterminées selon la méthode USP [122]. Pour chaque échantillon, l'indice de Carr (CI, également indice de compressibilité) [142] et le rapport de Hausner (HR) [143] ont été respectivement calculés comme décrit dans la section (2.5.6.1).

2.7.7.3. Test d'écoulement

Le test d'écoulement est déterminé par la mesure du temps nécessaire à 100gr de mélange de poudre versée au travers d'un entonnoir normalisé à s'écouler [122]. Le mélange de poudre doit s'écouler régulièrement et complètement sans

friction ni adhésion aux parois de l'entonnoir en verre. Le temps d'écoulement de 100gr de poudre testée doit être inférieur à 10 secondes.

2.7.7.4. Test de tassement

Ce test permet d'évaluer la structure du lit de poudre ou le réarrangement des particules. C'est la différence entre le volume avant tassement (volume vrac) et le volume après tassement. L'appareil est constitué d'un volumétre de tassage pouvant provoquer 250 tassement/minute et d'une éprouvette graduée de 250 ml. Dans l'éprouvette, on introduit 100 gr de chaque mélange pulvérulent représentant chaque formule (F1 – F7). On fixe l'éprouvette sur le support du volumétre puis on fait subir 10 et 500 tassements au lit de poudre. On lit le volume correspondant à chaque série de tassement. Les résultats sont exprimés par l'équation (2.38) [122]:

$$V_{10} - V_{500} < 20ml \quad (2.38)$$

Où V_{10} est le volume de poudre après 10 tassements, V_{500} est le volume de poudre après 500 tassements.

2.7.7.5. Répartition granulométrique des mélanges pulvérents

Le tamisage est l'une des plus anciennes méthodes de classification des poudres et granules en fonction de leur distribution granulométrique.

Des tamis sont empilés les uns sur les autres par ordre décroissant de finesse (Série de tamis allant de 30 μ à 500 μ). 100gr de la poudre à analyser est placée sur le tamis supérieur fermé hermétiquement. Après agitation de la colonne de tamis pendant une durée normalisée (10min), on pèse exactement la quantité de produit retenue sur chaque tamis. L'essai donne le pourcentage en masse de particules comprises dans chaque intervalle granulométrique [122].

2.7.8. Compression et évaluation des caractéristiques des comprimés

Les comprimés bioadhésifs sont obtenus par compression direct des mélanges pulvérents (F1-F7). La compression est réalisée à l'aide d'une compresseuse alternative. La chambre de compression est régulièrement alimentée par le mélange pulvérulent et réglée pour l'obtention de comprimés ayant un poids de 300mg, dosé à 50mg/comprimé en principe actif (Miconazole). La matrice est de

forme ronde. Les poinçons supérieur et inférieur sont de forme plate. La force de compression est de 50kN.

Les comprimés sur les quels sont effectués les tests sont échantillonnés au hasard parmi les différentes formules étudiées (de F1 à F7). La caractérisation des comprimés bioadhésifs est effectuée selon les normes de la pharmacopée américaine (USP) XXIV [122]. Les contrôles effectués sont :

- **Uniformité de masse** : Le poids moyen est réalisé sur 20 comprimés. Le calcul de la moyenne et de l'écart type sont déterminés.
- **Dimensions** : On contrôle le diamètre des comprimés à l'aide d'un pied à coulisse digital.
- **Test de Dureté** : Cet essai est destiné à déterminer, dans des conditions définies, la dureté mesurée par la force nécessaire pour provoquer la rupture des comprimés par écrasement.
- **Test de Friabilité** : On utilise un appareil de contrôle de la friabilité muni d'un tambour d'un diamètre intérieur de 283-291 mm et d'une profondeur de 36-40 mm, en polymère synthétique transparent à surfaces intérieurs polies, et produisant le moins possible d'électricité statique.

2.7.9. Uniformité du dosage du principe actif par HPLC

Dix (10) comprimés sont prélevés de chaque formule étudiée, écrasés et mélangés. On pèse l'équivalent de 50mg de principe actif de la poudre obtenue qu'on solubilise dans une fiole de 50ml contenant 25ml de méthanol. On fait dissoudre l'échantillon sous agitation magnétique pendant 30min, puis on complète au volume final avec du méthanol. La solution est Filtrée sur filtre 0.22µm (filtre Whatman). Le contenu en principe actif est dosé par chromatographie en phase liquide haute performance (HPLC) comme décrit dans la section (2.3.7.).

2.7.10. pH de la surface des comprimés

Le pH de surface des comprimés buccaux a été déterminé afin d'étudier la possibilité d'effets secondaires in vivo. Comme un pH acide ou alcalin peut causer une irritation de la muqueuse buccale, il a été décidé de maintenir le pH de la surface aussi proche de la neutralité que possible. La méthode adoptée par Battenberg et al. [158] a été utilisée pour déterminer le pH de la surface du

comprimé. Une électrode en verre combinée a été utilisée à cet effet. Le comprimé est mis en contact avec 5 ml d'eau distillée (pH $6,5 \pm 0,05$) pendant 2 h à température ambiante. Le pH est mesuré par l'électrode mise en contact avec la surface des comprimés en la laissant s'équilibrer pendant 1 min.

2.7.11. Evaluation de la bioadhésion des comprimés

La bioadhésion des gels étudiés est déterminée par la mesure de la force de détachement (FD) selon la méthode décrite dans la section (2.3.11).

2.7.12. Tests de gonflement et d'érosion

Six comprimés buccaux ont été pesés individuellement et placés séparément dans des boîtes de Pétri avec 5 ml de solution PBS pH 6.75 placés dans un bain mari à $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5$. À des intervalles de temps réguliers, les comprimés sont retirés de la boîte de Pétri et l'excès d'eau est enlevé avec soin en utilisant du papier filtre [159]. Les taux de gonflement et d'érosion sont déterminés comme décrit dans les sections (2.3.9) et (2.3.10)

2.7.13. Etude de la dissolution in Vitro

L'étude de dissolution in vitro a été réalisée selon la méthode décrite par le pharmacopée USP [122]. La méthode de palette rotative a été utilisée pour étudier la libération du principe actif à partir des comprimés [160]. Le milieu de dissolution est composé de solution PBS pH 6.75, à $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, à une vitesse de rotation de 50 tours par minute. Des prélèvements d'échantillons de 5 ml sont prélevés à des intervalles de temps régulier et le volume prélevé est remplacé par le même volume de milieu frais. Les échantillons sont filtrés à travers un papier filtre de $0.45\mu\text{m}$ (filtre Whatman) et analysés après dilution par spectrophotométrie UV à 272 nm. Le mécanisme de la cinétique de libération du principe actif est analysé selon les équations citées dans la section (2.3.12).

2.7.14. Etude comparative de la diffusion de comprimés et de gels bioadhésifs formulés

L'étude de la diffusion permet d'évaluer les constantes de diffusion des formes galéniques bioadhésives à savoir le gel et le comprimé à base de Miconazole.

Pour l'étude de la diffusion, on a utilisé une cellule de Franz modifiée [161]. Le gel ou le comprimé est placé sur la membrane semi-perméable (Cellulose nitrate, Whatman UK) séparant le compartiment donneur et le compartiment récepteur [162]. Le compartiment donneur est recouvert de par un film pour éviter toute forme d'évaporation (Figure 2.7). Le compartiment récepteur est composé d'un volume de 37.5ml de solution PBS pH6.75. Le dispositif est porté à $37 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant toute la durée du test de diffusion. Des prélèvements sont effectués à des intervalles de temps réguliers, le volume prélevé est dosé par spectrophotométrie UV à 272nm.

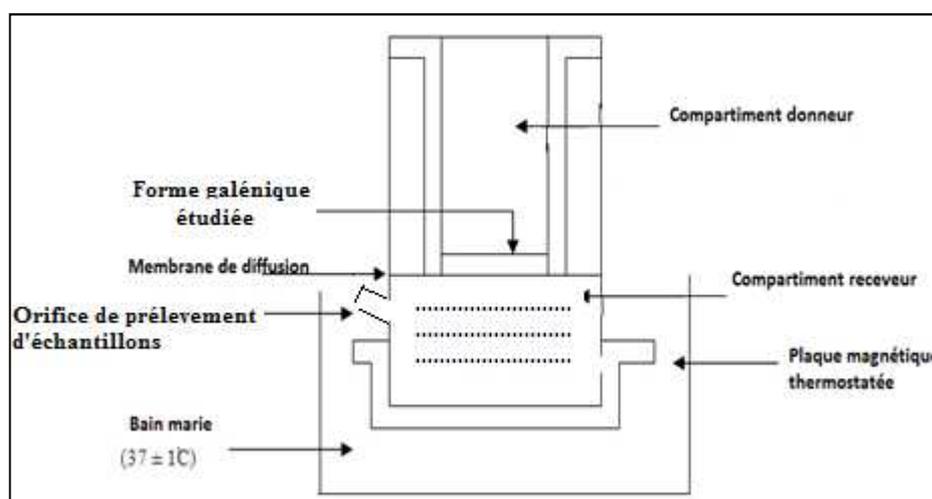


Figure 2.7. Dispositif expérimental du test de diffusion. [161]

Des résultats expérimentaux obtenus lors des tests de diffusion, on calcule le coefficient de diffusion (D), le coefficient de perméabilité (K_p) et le temps de latence (t_r).

- **Le coefficient de diffusion (D):** Le coefficient de diffusion (D) exprime la mobilité d'une substance à travers la couche de la membrane. Il est calculé à partir de l'équation (2.39). Ce sont les propriétés physico-chimiques de la molécule elle-même qui influencent cette vitesse. La composition de la formulation a également une influence importante sur la valeur du coefficient de diffusion [163].

$$D = Q^2\pi/4C_0^2t \quad (2.39)$$

Où D est le coefficient de diffusion [$\text{cm}^2.\text{min}^{-1}$], Q est la quantité de médicament libérée par unité de surface [$\mu\text{g}.\text{cm}^{-2}$], C_0 est la concentration initiale du PA dans la

forme galénique étudiées [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$], et t est le temps écoulé depuis le début de l'expérience de libération [min].

- **Le coefficient de perméabilité (K_p)** : Le coefficient de perméabilité (K_p) exprime une vitesse de perméation. Il permet d'établir le bilan d'une expérience d'absorption. Sa valeur est influencée par des paramètres de formulation et des caractéristiques de la membrane [164] :

$$K_p = J_{ss}/C_0 \quad (2.40)$$

Où K_p est le coefficient de perméabilité [$\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$], C_0 est la concentration initiale du PA dans la forme galénique étudiées [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$], J_{ss} est le flux à l'équilibre [$\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$].

- **Le flux à l'équilibre (J_{ss})** : Il est déterminé à partir de la pente de la partie linéaire de la droite de la cinétique d'absorption ($Q=f(t)$). Il représente le flux à l'équilibre. Typiquement, le flux à l'équilibre est déterminé à partir des données des expériences *in vitro* dans les quelles la concentration dans le compartiment donneur est maintenue constante (conditions de la dose infinie) et le liquide récepteur garantit des conditions où la concentration de la substance est égale à zéro, ou très faible [164].

- **Le temps de latence ou le temps de rétention du perméat (t_r)** : La partie linéaire de la droite de la cinétique d'absorption peut être extrapolée à l'axe de temps. Cela permet de déterminer le temps de rétention ou « lag-time », lequel selon la deuxième loi de diffusion de Fick peut être mathématiquement exprimé par [164] :

$$t_r = h^2/6D \quad (2.41)$$

Où t_r est le temps de latence [min], D est le coefficient de diffusion [$\text{cm}^2\cdot\text{min}^{-1}$] et, h l'épaisseur de la membrane [cm].

CHAPITRE III
RESULTATS ET DISCUSSION

3.1. INTRODUCTION

Dans le chapitre précédent, on a décrit toutes méthodes appliquées lors de l'étude expérimentale. A présent, ce chapitre est consacré aux résultats obtenus ainsi que toutes les interprétations concernant cinq parties de cette étude.

- L'étude de la préformulation afin d'évaluer le comportement des différents polymères seuls et mélangés à différentes concentrations et d'étudier la bioadhésion, la diffusion et la cinétique de gonflement et d'érosion des polymères.
- La mise au point d'une formule optimale d'un gel bioadhésif avec un minimum d'essais en utilisant la méthodologie des plans d'expériences.
- Les résultats de la modification et la caractérisation du carboxyméthyl amidon (CMA) obtenu sont présentés.
- Les résultats de la modification et la caractérisation du carboxyméthyl kappa carraghénane (CMKC) sont reportés.
- Les résultats de la synthèse du complexe polyélectrolyte (PEC) obtenu et la mise au point du comprimé bioadhésif à base de CMA et PEC sont exposés.

3.2. PREFORMULATION

3.2.1. Solubilité et coefficient de partage du principe actif

La solubilité du principe actif dans le PBS pH 6.75 et le n-Octanol est respectivement de 12.45 et 4.58mg/ml. La solution de PBS pH 6.75 est une solution de salive simulée qui a été choisi afin de simuler le pH de la muqueuse buccale, où le principe actif sera libéré.

Le coefficient de partage optimal du Miconazole entre le n-Octanol et la solution PBS pH 6.75 est déterminé et égale à 0.37 à 37°C.

3.2.2. Détermination de la longueur d'onde optimale d'absorption du Miconazole par spectrophotométrie UV-Vis

L'absorption optimale du Miconazole par spectrophotométrie UV dans le milieu PBS pH6.75 et l'eau distillée a montré des maximums d'absorption allant de 241 à 280nm (Figure 3.1). Les longueurs d'ondes optimales choisies pour le dosage du Miconazole sont à 250 et 272nm, respectivement pour l'eau distillée et le PBS pH6.75.

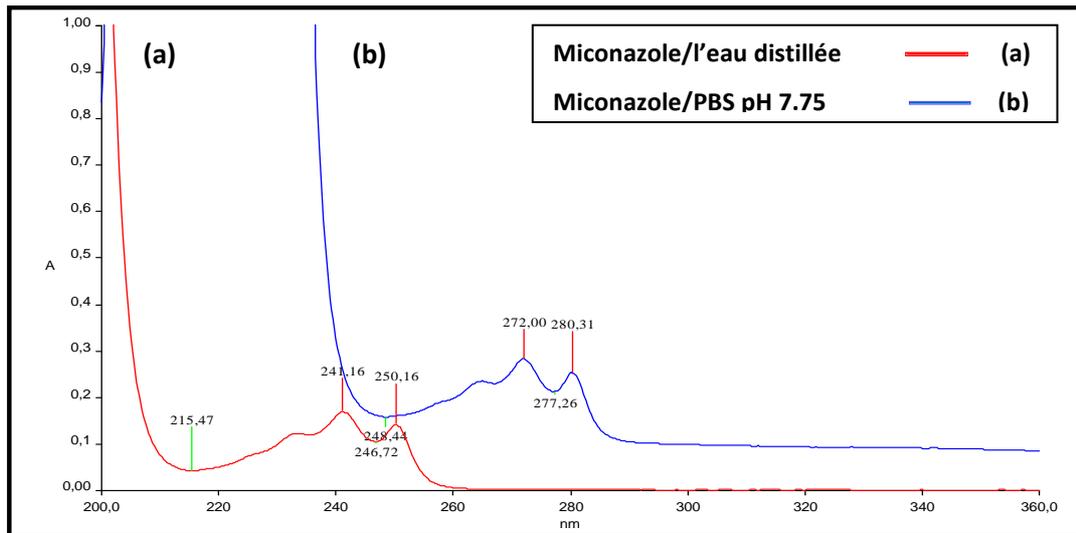
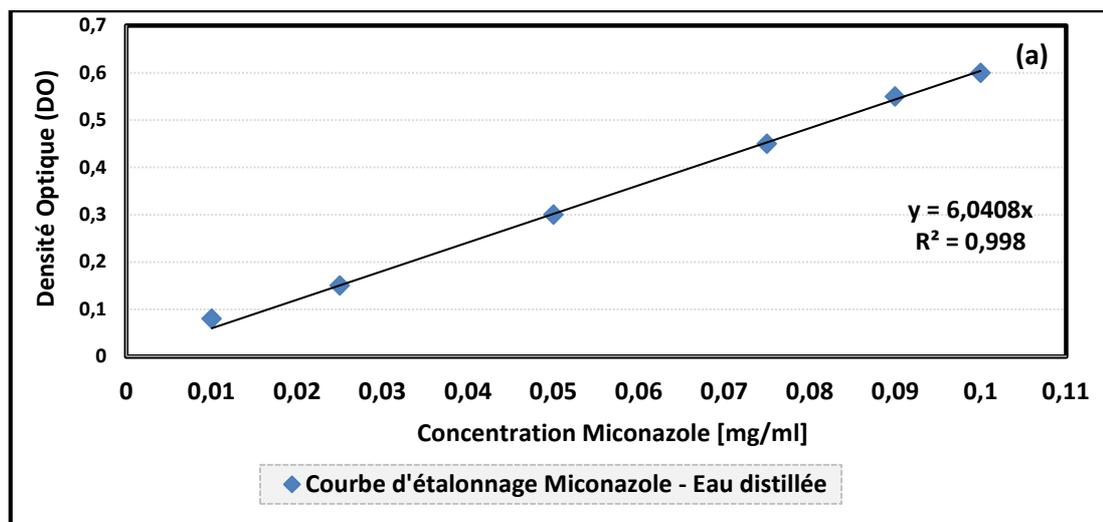


Figure 3.1. Spectre de balayage UV du Miconazole dans l'eau distillée et la solution PBS pH6.75

La spécificité de la méthode est vérifiée car aucune absorbance n'apparaît lors de la lecture de solutions contenant tous les excipients des gels sans le PA (Placebo). Les courbes d'étalonnage établies pour le dosage du Miconazole dans les milieux étudiés donnent des résultats satisfaisants avec d'excellents coefficients de corrélations (Figure 3.2).

Cette méthode d'analyse est appropriée pour le dosage du Miconazole en solution aqueuse. C'est une méthode simple, précise, rapide et reproductible, elle convient très bien pour l'analyse d'un grand nombre d'échantillons.



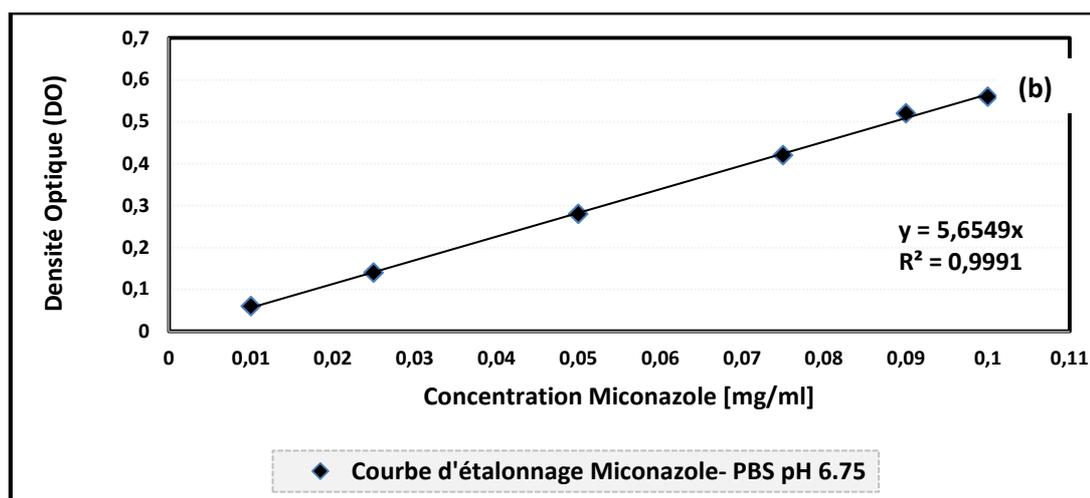


Figure 3.2. Courbes d'étalonnage du Miconazole

(a) milieu eau distillée, (b) milieu PBS pH6.75

3.2.3. Détermination du pH et dosage du titre en principe actif (PA) par HPLC

Les valeurs de pH mesurées pour chaque gel étudié sont résumées dans le Tableau 3.1.

Tableau 3.1. Formulation et dosage des hydrogels à base de Miconazole à 2%

N° formule	Gel de base	Concentration en polymères* (%)	Dosage du PA* (%)	pH	Force d'Adhésion (N)
1	APG	3	1.99	6.34	0.223
2		4	1.98	6.54	0.237
3		5	2.02	6.56	0.260
4		6	1.99	6.60	0.281
5		7	1.97	6.78	0.350
6		8	1.98	6.80	0.357
7	KC	0.50	1.98	6.10	0.549
8		0.55	1.97	6.15	0.546
9		0.60	1.98	6.18	0.361
10		0.65	1.94	6.20	0.355
11		0.70	2.03	6.10	0.289
12	APG (7%) + KC	0.2	1.97	6.20	0.382
13		0.3	1.98	6.35	0.390
14		0.4	1.99	6.40	0.411
15		0.5	1.98	6.80	0.424
16		0.6	1.97	6.80	0.398
17		0.7	2.01	6.75	0.362

* Les concentrations sont en (p/p)

Toutes les valeurs de pH sont incluses entre 6.10 et 6.80. Ces valeurs répondent aux limites de la pharmacopée qui sont entre 5.5 et 7.5 [165]. Les valeurs de pH sont à zone de neutralité et ne risquent pas d'irriter la muqueuse buccale lors de l'application des gels bioadhésifs.

Un dosage du Miconazole est réalisé pour chaque gel [165], et les résultats sont indiqués dans le Tableau 3.1. La teneur en PA varie entre 97 et 101.5% du déclaré (2% p/p). Les limites du titre varient entre (90-110)% du déclaré [165].

Les chromatogrammes correspondants aux injections du standard et échantillons de gels à base de Miconazole sont exposés dans les Figures (3.3, 3.4, 3.5 et 3.6). Les pics chromatographiques montrent une répétabilité dans les réponses correspondantes au standard USP Miconazole RS et des échantillons (Gels). Le temps de rétention moyen est d'environ 3.90 minutes pour tous les échantillons de gels étudiés.

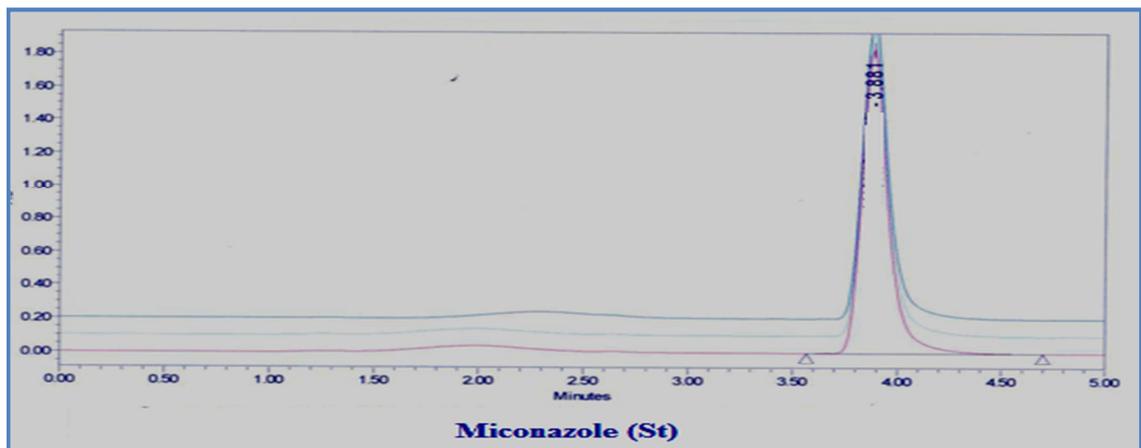


Figure 3.3. Chromatogrammes du Miconazole Standard (Trois injections).

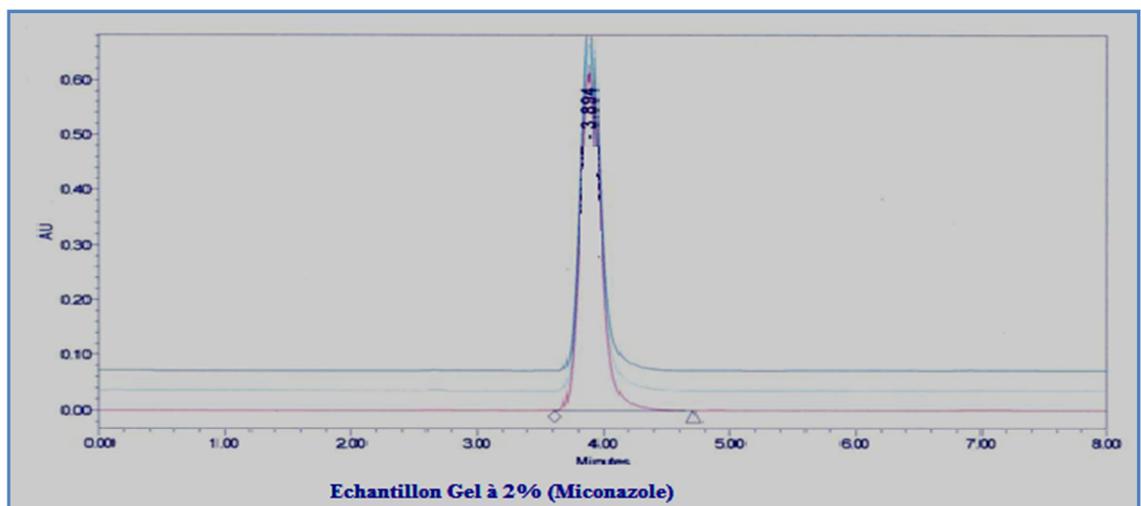


Figure 3.4. Chromatogrammes d'échantillons de gel à 2% (Trois injections).

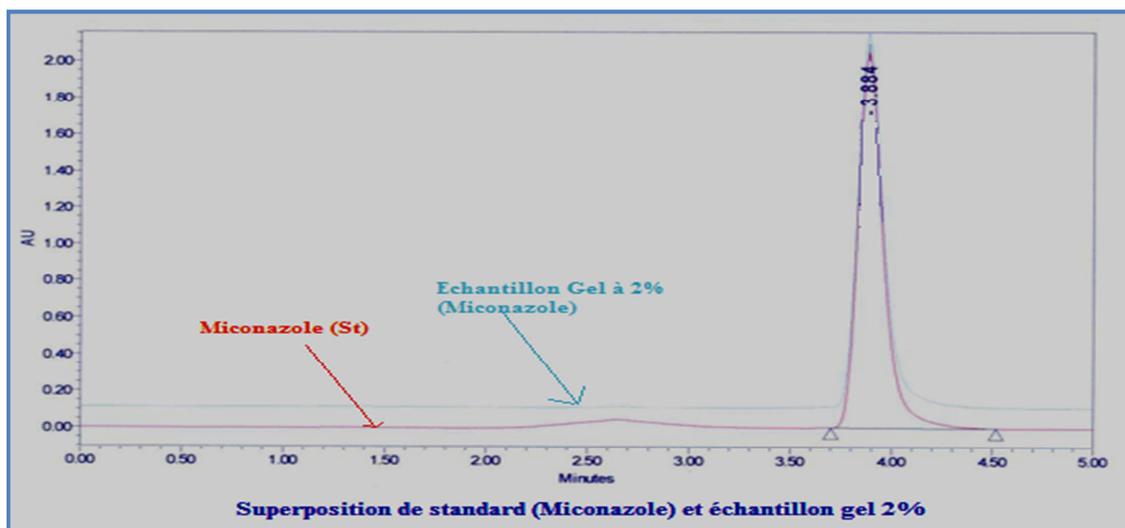


Figure 3.5. Chromatogrammes de superposition de standard (St) et d'échantillon de gel à 2%.

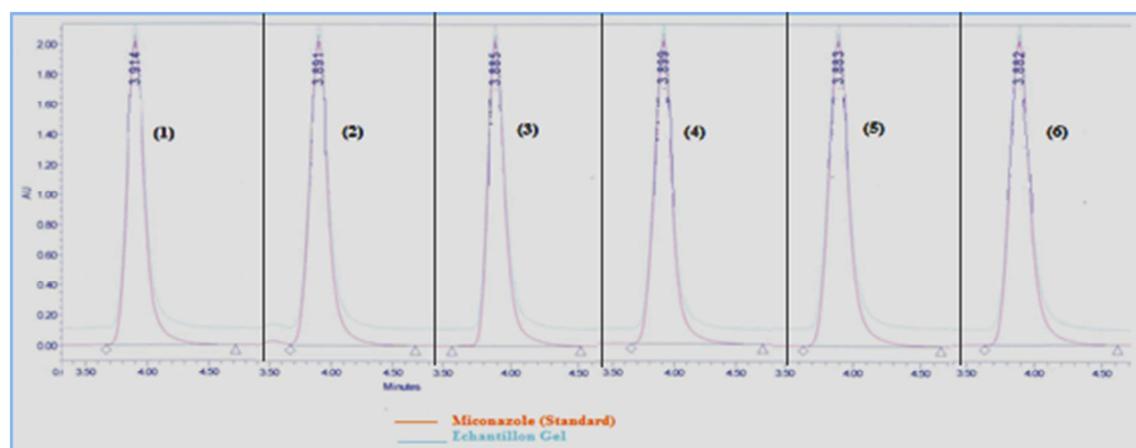


Figure 3.6.a. Chromatogrammes de superposition du standard Miconazole et des échantillons des gels à 2% (1-6) à base d'APG.

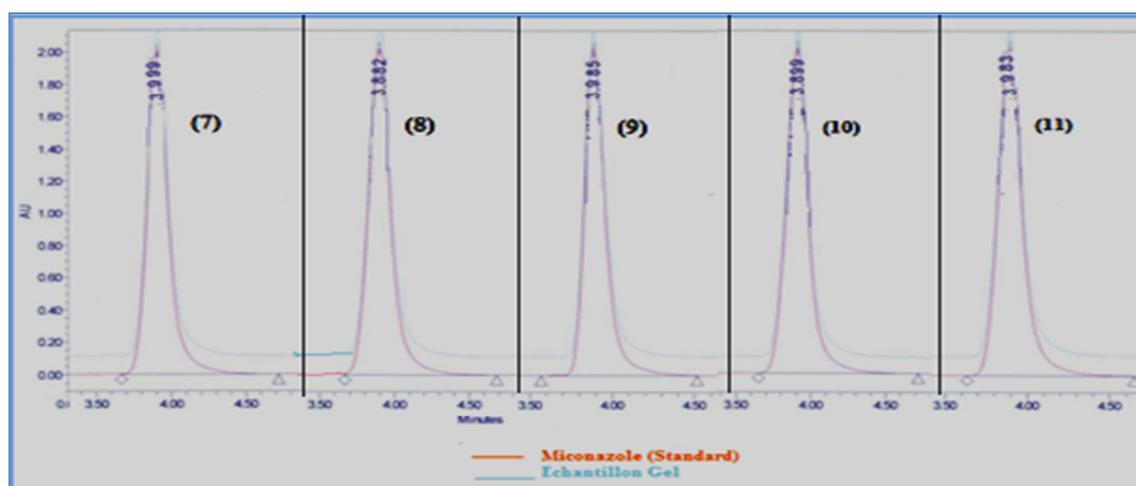


Figure 3.6.b. Chromatogrammes de superposition du standard Miconazole et des échantillons des gels à 2% (7-11) à base de KC.

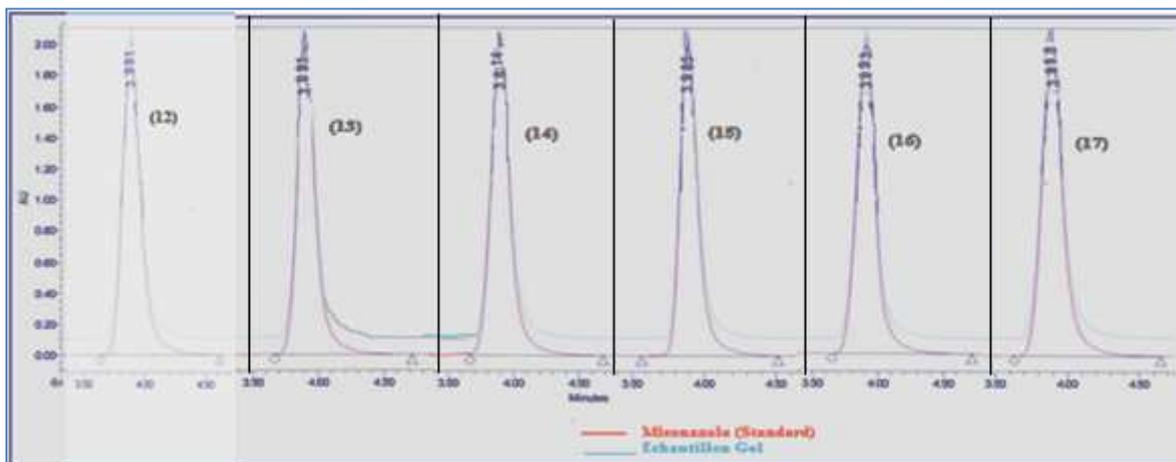


Figure 3.6.c. Chromatogrammes de superposition du standard Miconazole et des échantillons des gels à 2% (12-17) à base d'APG (7%) et KC.

3.2.4. Propriétés bioadhésives des gels

Les propriétés bioadhésives des gels ont été déterminées et les résultats sont listés dans le Tableau 3.1. Les forces d'adhésion (FA) des gels varient de 0.223 à 0.357N pour les gels à base d'APG, de 0.289 à 0.549N pour les gels à base de KC et de 0.362 à 0.424N pour les gels à base de mélange des deux polymères (Figure 3.7). Le pouvoir d'adhésion des gels à base d'APG augmente avec l'augmentation de la concentration en polymère. Les gels à base de KC offrent des forces d'adhésion maximales à une concentration de 0.5%. Au-delà de cette concentration, la force d'adhésion diminue, cela peut être dû au phénomène de synérèse qui rend le gel rigide et peu adhésif. En mélangeant les deux polymères, la force d'adhésion a considérablement augmentée, atteignant 0.424N, quand les concentrations en KC et en APG sont de 0.5% et 7% respectivement. Cela est dû au fait que ces deux polymères constituent une synergie quand à l'amélioration des propriétés bioadhésives du gel.

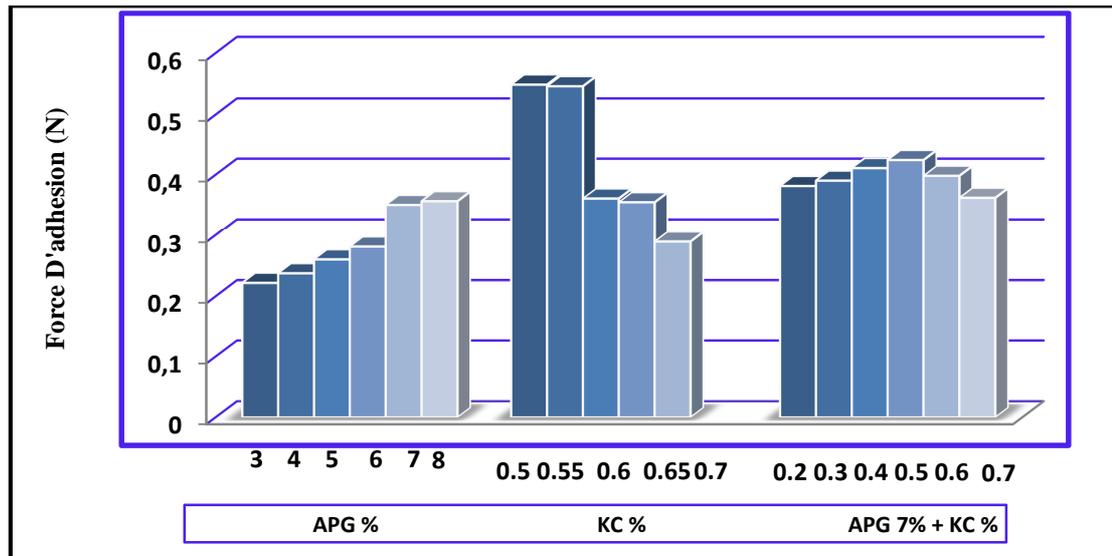


Figure 3.7. Force d'adhésion des gels à base des différentes concentrations en APG et KC.

La bioadhésion est un processus complexe et de nombreuses théories ont été présentées pour expliquer les mécanismes impliqués. Ces théories incluent les effets électrostatiques, la diffusion-interpénétration et l'absorption. Toutefois, les plus largement acceptées des théories sont celles à base de l'énergie de surface et l'interpénétration/diffusion [166].

Cette amélioration observée dans la force d'adhésion des gels contenant le KC peut être expliquée par les propriétés des deux polymères associés qui affectent les capacités bioadhésives des gels étudiés. Les liaisons bioadhésives des polymères sur le substrat se produisent principalement par interpénétration suivie de liaison non covalente secondaire entre le substrat et le polymère. Étant donné que les liaisons secondaires résultent principalement de la formation de liaisons hydrogène, il est bien admis que les polymères mucoadhésifs possédant des groupes fonctionnels hydrophiles, tels que les gels physiques formés par l'APG et le KC peuvent être plus favorables à l'élaboration de bases pour l'administration ciblée de PA sur des muqueuses spécifiques [167]. Une masse molaire importante est essentielle pour le mécanisme d'enchevêtrement [168]. Cela peut expliquer également que l'ajout du KC, un polymère à poids moléculaire élevé à une matrice contenant l'APG augmente l'interpénétration entre polymère/substrat. En outre, la densité de charge de KC, ainsi que sa nature anionique sont des facteurs

importants de bioadhésion car les polymères polyanioniques sont préférable que les polycationiques lors de l'étude de la bioadhésion [169].

3.2.5. Etude du gonflement des gels

3.2.5.1. Etude du gonflement des gels à base de KC

Les résultats du calcul des taux de gonflement des différents gels à base de KC dans la salive simulée sont représentés sur la Figure 3.8-a. On remarque que les taux de gonflement augmentent en fonction de l'augmentation de la concentration du polymère jusqu'à atteindre des valeurs de 102%, correspondant à des concentrations de KC de 0.55%. Quand l'équilibre est atteint, le réseau polymérique est enchevêtré de façon à retenir le solvant qui l'entoure. A partir de 0.6%, les gels deviennent trop concentrés, et on remarque la parution du phénomène de synérèse, le gel est rigide, gonfle de moins en moins, avec relargage de son contenu en solvant.

3.2.5.2. Etude du gonflement des gels à base d'APG

Les résultats du calcul des taux de gonflement des différents gels à base d'APG dans la salive simulée sont représentés par la Figure 3.8-b. On remarque que le taux de gonflement à l'équilibre est de 14.20% à une concentration de 3% en APG, et atteint 31.46% à une concentration de 8% en APG. Les taux de gonflement des gels augmentent avec l'augmentation des concentrations en polymères, mais le gonflement est plus rapide par rapport aux matrices à base de KC. On remarque également qu'au delà de 7% en APG, les gels obtenu ne sont pas homogène avec présence de grumeaux dû certainement à une forte concentration en APG. Pour cela, on opte pour une concentration optimale de 7% en APG pour la suite de l'étude.

3.2.5.3. Etude du gonflement des gels à base d'APG et de KC

Les résultats du calcul des taux de gonflement des différents gels dans la salive simulée sont représentés par la Figure 3.8-c. La cinétique de gonflement présente le même profil pour tous les gels avec une amélioration des taux de gonflement en augmentant la concentration en KC. Sachant qu'à des concentrations de 0.3% en KC seul, le polymère présente un comportement de solution macromoléculaire, les chaînes de KC étant dans une configuration de

pelote statique sans formation de gel, alors qu'en présence d'un second polymère, qui est dans notre cas l'APG, le KC présente des propriétés gélifiantes appréciables en augmentant les taux d'absorption. Malgré sa présence en faible quantité, le KC est capable de former un réseau continu considérable.

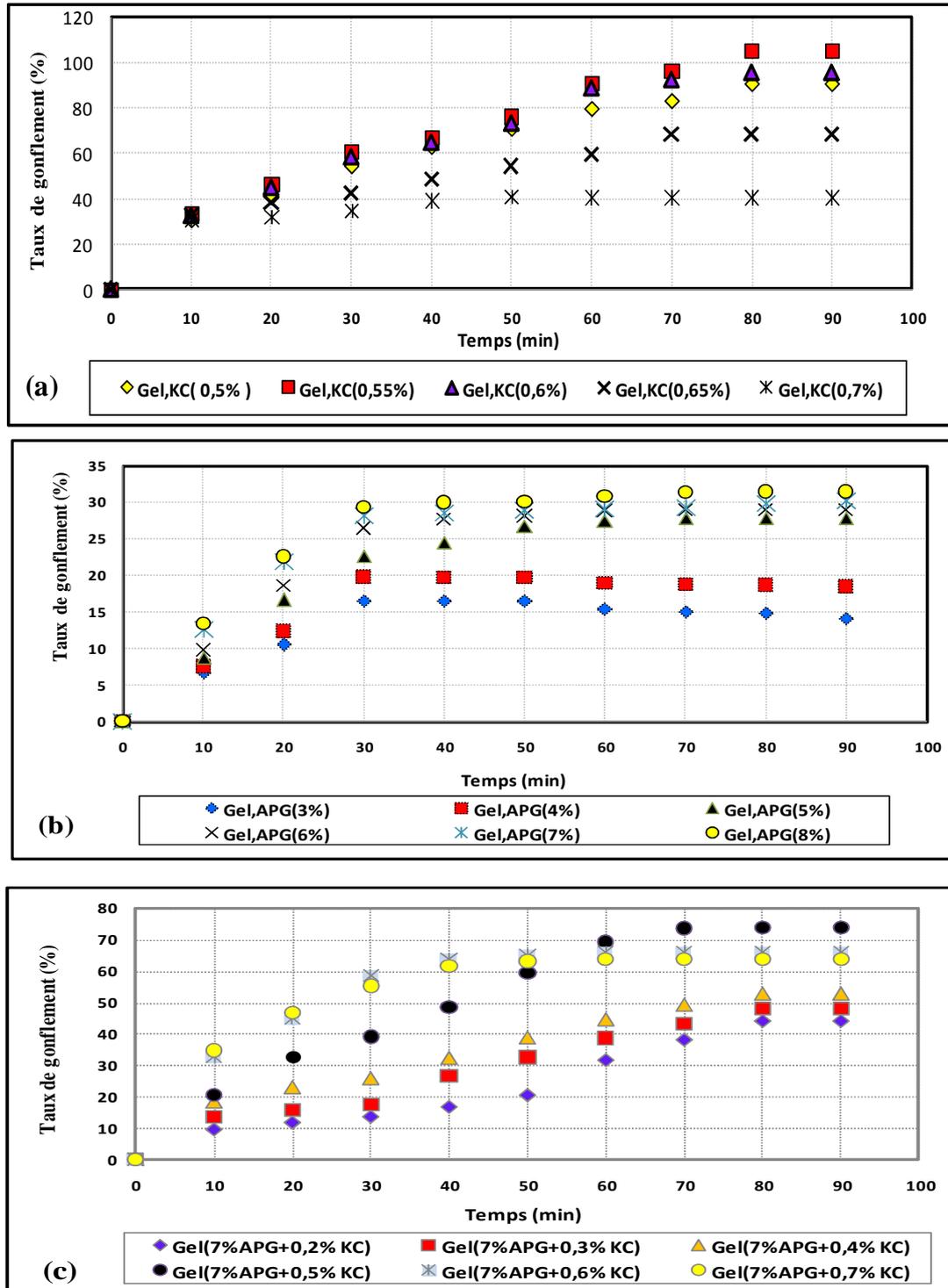


Figure 3.8. Evolution des taux de gonflement des gels : (a) à base de KC, (b) à base d'APG, (c) à base de mélange d'APG et de KC.

3.2.5.4. Influence du milieu de dissolution sur le gonflement des gels

L'effet de la force ionique et du pH sont déterminés sur trois gels : Gel 1 : composé de 0.5% de KC ; Gel 2 : composé de 7% d'APG ; Gel 3 : composé de 0.5% de KC et 7% d'APG. Le gonflement des polymères a été suivi selon la méthode gravimétrique dans deux milieux différents à savoir le milieu de salive simulée et le milieu eau distillée. Les résultats obtenus sont représentés respectivement dans la Figure 3.9.

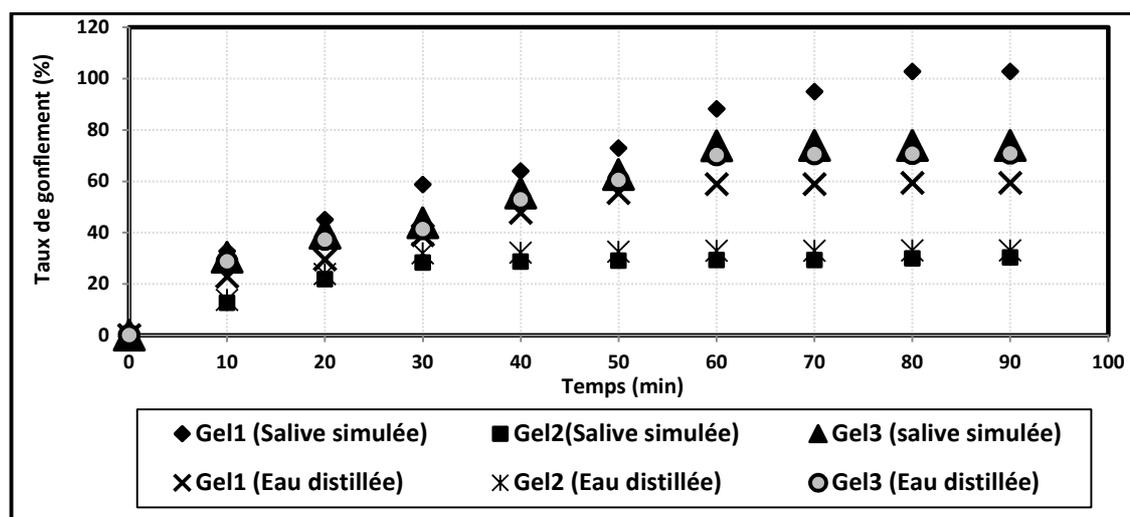


Figure 3.9. Evolution du taux de gonflement des gels selon la nature du milieu et du polymère.

On remarque que le taux de gonflement augmente avec le temps pour les trois types de gels jusqu'à l'équilibre, où les polymères sont complètement hydratés. Initialement, les polymères gonflent presque de la même façon aux premiers instants de l'expérience, puis une différence nette du processus apparaît entre le milieu d'eau distillée et de la salive simulée. Les propriétés de gonflement des gels 1 et 3 contenant le KC sont beaucoup plus influencées par la composition ionique du milieu. Les valeurs obtenues à l'équilibre dans les deux milieux (eau distillée et salive simulée) sont résumées dans la Figure 3.10.

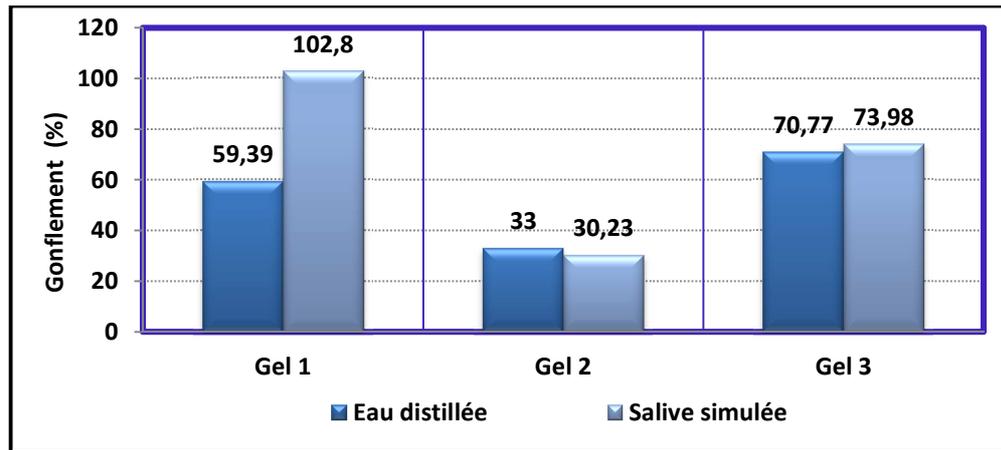


Figure 3.10. Taux de gonflement des gels selon la nature du milieu et du polymère à l'équilibre

Sachant que le KC est un polyélectrolyte portant des groupes ionisés, qui peuvent, dans un solvant polaire, se dissocier en chaînes de polymères chargées (macro-ions) et contre-ions de petite taille. Ces interactions électrostatiques conduisent à des comportements en solution très différents de ceux des polymères neutres [98]. On peut citer principalement :

- Le passage du régime dilué au régime semi-dilué du KC se fait à des concentrations en polymère très inférieures à celles de solutions de chaînes neutres (APG).
- La pression osmotique de polyélectrolyte en solutions est très supérieure à celle de polymère neutre aux mêmes concentrations.
- La viscosité des solutions de polyélectrolytes dans le régime dilué est proportionnelle à la racine carrée de la concentration, tandis qu'elle est directement proportionnelle à la concentration pour des chaînes neutres.

Dans notre cas, la nature ionique des chaînes du réseau des gels contenant le KC lui procure des propriétés uniques. Les capacités de gonflement des gels contenant KC sont plus importantes que les gels neutres (à base d'APG), ils sont capables d'absorber une quantité de solvant très importante, tout en retenant leur aspect et leur élasticité [95]. Deux effets importants sont responsables de ce caractère de gonflement : la répulsion des chaînes et la pression osmotique due aux contre-ions.

- Premièrement, les chaînes du réseau de KC ionisé acquièrent une charge de même signe, donc une répulsion électrostatique va causer un éloignement des chaînes polymériques formant le réseau.

- Deuxièmement, les contre-ions libres dans le gel, qui dans notre cas sont fournis soit par le milieu de dissolution ou par les excipients contenus dans le gel, créent une pression osmotique entre le solvant et le gel, qui fera diffuser le solvant à l'intérieur du réseau.

Lorsque les polymères sont immergés dans un solvant, les chaînes tendent à se disperser et former une solution. A cause de la forte concentration de polymères initialement dans le réseau, une pression osmotique est créée entre le solvant à l'extérieur et à l'intérieur du gel. Cette pression osmotique conduit les molécules de solvant à l'intérieur du réseau polymérique, ce qui provoque une augmentation du volume du réseau. Après un certain temps, on atteint un état d'équilibre de gonflement, cela se traduit par la dilution de la concentration des polymères dans le gel, induisant une diminution de la pression osmotique. La pression osmotique qui est la cause du gonflement du réseau est appelée pression de mélange, en référence au mélange du réseau des polymères et les molécules de solvant [98].

- Tant que la valeur de la pression osmotique est positive, le réseau se gonflera, alors que la concentration des polymères dans le gel est élevée.

- Tout au long du gonflement, la concentration des polymères diminue et leur contribution devient moins importante, cela conduit au fait que la pression élastique augmente progressivement due à la force d'extension des chaînes (représentant le début de l'érosion).

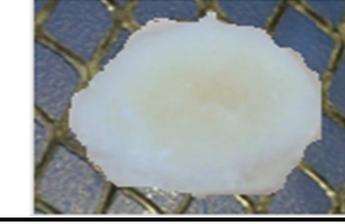
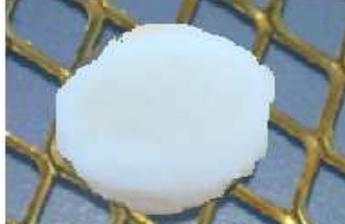
- Avec un excès de solvant, le gel continuera à absorber le solvant, jusqu'à ce que les forces élastiques des chaînes annulent la pression du mélange.

- Quand la pression osmotique devient nulle, l'équilibre de gonflement est atteint, caractérisé par un taux d'équilibre de gonflement.

- Le gel se rétractera pour des valeurs de pression osmotique négative.

Les gels étudiés (Tableau 3.2) présentent un gonflement et une érosion en surface sans altération de leur masse. L'érosion se fait de l'extérieur vers l'intérieur de la masse du gel, avec une perte en polymère progressive. Les gels ne s'effritent pas et ne se décomposent pas tout au long de l'étude. Les gels à base d'APG s'érodent plus rapidement dans les deux milieux de dissolution.

Tableau 3.2. Aspect des gels gonflés dans différents milieux de dissolution.

t (30min)	t (60min)	t (90min)
Gel 1 (0.5% KC)/ PBS pH6.75		
		
Gel 1 (0.5% KC)/ Eau distillée		
		
Gel 2 (7% APG)/ PBS pH6.75		
		
Gel 2 (7% APG)/ Eau distillée		
		
Gel 3 (0,5% de KC et 7% d'APG) /PBS pH6.75		
		
Gel 3 (0,5% de KC et 7% d'APG) / Eau distillée		
		

3.2.5.5. Mécanisme de gonflement des polymères

L'étude de la cinétique de gonflement ajustée aux constantes du modèle de Davidson et Peppas montre l'augmentation des taux de gonflement en fonction de l'augmentation des concentrations des polymères formant les matrices. Les valeurs de k_s et n obtenus sont regroupées dans le Tableau 3.3.

Tableau 3.3. Résultats des constantes de gonflement et de diffusion des gels

Gels	Exposant 'n'	Constante 'ks'	Coefficients de diffusion ($\text{cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$)			
			$D_i \times 10^4$	$D_m \times 10^4$	$D_f \times 10^4$	
A base d'APG (%)						
3	0.45	17.42	0.18	12.25	0.034	
4	0.46	15.15	0.24	6.13	0.035	
5	0.48	12.40	0.32	6.45	0.331	
6	0.50	10.02	0.49	7.20	0.371	
7	0.50	9.42	0.71	7.65	0.452	
8	0.50	8.74	0.83	8.16	0.493	
A base de KC (%)						
0.50	0.56	8.51	1.41	6.13	6.52	
0.55	0.58	9.11	2.26	4.90	12.38	
0.60	0.51	10.10	1.91	5.57	10.43	
0.65	0.40	11.64	1.81	10.20	2.99	
0.70	0.32	21.88	1.60	12.25	0.85	
A base de 7% d'APG et KC (%)						
0.2	0.55	30.48	0.16	2.35	1.09	
0.3	0.58	28.56	0.35	3.06	1.36	
0.4	0.70	20.29	0.50	3.22	1.59	
0.5	0.75	10.79	0.62	3.50	3.31	
0.6	0.45	21.28	1.60	10.21	2.62	
0.7	0.41	30.17	1.91	12.25	3.13	
Effet du milieu de dissolution						
Gels	Milieux	Constante 'ks'	Exposant 'n'	Coefficients de diffusion ($\text{cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$)		
				$D_i \times 10^4$	$D_m \times 10^4$	$D_f \times 10^4$
Gel 1	Eau distillée	8.18	0.52	1.52	5.32	5.80
	Salive simulée	7.34	0.59	1.41	6.13	6.52
Gel 2	Eau distillée	10.58	0.48	0.68	7.60	0.42
	Salive simulée	9.06	0.49	0.71	7.65	0.45
Gel 3	Eau distillée	10.00	0.52	0.58	2.55	2.23
	Salive simulée	9.6690	0.58	0.62	3.50	3.31

On remarque que les valeurs de l'exposant n sont supérieures à 0.45 pour les trois gels quelque soit le milieu de dissolution. Cette valeur est comprise entre 0.48 et 0.59. Le mécanisme de gonflement est contrôlé par la diffusion ou par la relaxation des chaînes de polymères. En effet, quand n est proche de la valeur 0.5, c'est le cas du gel 2, composé de l'APG, le mécanisme de gonflement est

contrôlé par la diffusion, c'est-à-dire que la vitesse de diffusion (pénétration ou hydratation) du liquide dans l'hydrogel est très faible comparativement à la vitesse de relaxation des chaînes polymériques.

Dans le cas où n est supérieur à 0.5, c'est le cas des gels 1 et 3, le mécanisme de gonflement est régi par les deux phénomènes en même temps où la diffusion du milieu externe pour l'hydratation de la matrice du gel coexiste avec la relaxation des chaînes des polymères, ce qui augmente le taux de gonflement.

Les coefficients de diffusion initiaux et finaux correspondant aux gels à base de KC sont plus importants que ceux des gels mixtes. Les coefficients moyens sont plus importants pour les gels à base d'APG que pour ceux à base de KC et les gels mixtes. Les valeurs des coefficients de diffusion des gels contenant le KC sont influencées par la nature du milieu de dissolution. En effet les coefficients de diffusion sont plus importants dans le milieu PBS pH6.75 que dans l'eau distillée.

3.2.6. Etude de l'érosion des gels

Les résultats de l'érosion des gels 1,2 et 3 dans le milieu de salive simulée sont représentés sur la Figure 3.11. On remarque que les trois gels s'érodent en fonction du temps. Le gel 2 s'érode plus rapidement que les gels 1 et 3.

En effet le taux d'érosion du gel 1 au bout de 100 minutes, dans le milieu de salive simulée atteint 51.64%, alors qu'il n'est que de 34.38% pour le gel 1 et 22.75% pour le gel 3.

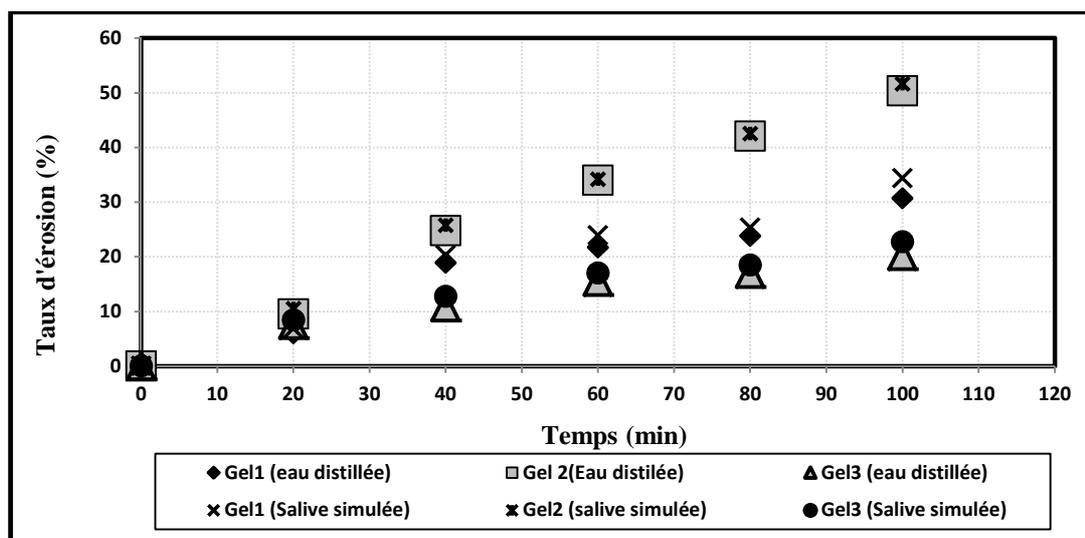


Figure 3.11. Erosion des différents gels Selon la nature du milieu et du polymère.

En étudiant l'érosion des deux polysaccharides, on confirme qu'en se dégradant uniquement en surface, les gels deviennent de plus en plus petit avec le temps tout en gardant leur forme géométrique initiale sans se détruire en plusieurs morceaux. La plupart des biopolymères ont une dégradation en surface. L'eau pénètre dans le réseau du polymère provoquant le gonflement du gel. Cette intrusion aqueuse déclenche la dégradation chimique du polymère par scission aléatoire des chaînes et donne naissance à des oligomères et monomères [170]. La dégradation progressive change la microstructure de la masse du polymère par la formation de pores à travers lesquels les oligomères et les monomères sont libérés, entraînant la perte de masse (érosion) [171]. Des travaux confirment que le meilleur paramètre pour évaluer la dégradation d'un polymère est sa masse molaire [172]. D'autres études [173] interprètent le phénomène de l'érosion comme étant plus complexe parce qu'il dépend de plusieurs autres procédés. Le plus important est la dégradation mais il faut aussi considérer le gonflement, la dissolution et la diffusion des oligomères et/ou monomères et les changements structuraux comme ceux de la porosité et de la cristallinité du polymère. Dans le cas des hydrogels, la présence d'une phase cristalline fait diminuer la vitesse de dégradation du polymère [174]. La vitesse d'érosion d'un polymère, en particulier les polysaccharides, peut être régulée par la modification de la structure matricielle par l'utilisation d'un mélange de polymères, provoquant une synergie ralentissant l'érosion de la matrice formée [172]. On remarque également qu'il existe une relation inversement proportionnelle entre l'érosion et le poids moléculaire des polymères utilisés. Les phénomènes d'incompatibilité entre les polysaccharides lorsque l'un des constituants est gélifiant peuvent entraîner des modifications spectaculaires des propriétés des gels, avec notamment un renforcement de leurs résistances à l'érosion et une diminution du seuil critique de gélification comme cela a été observé pour nos mélanges [175].

3.2.7. Taux de libération du PA à partir des hydrogels

Au vu des profils de dissolution de la Figure 3.12, on remarque que les taux de principe actif cumulés libérés augmentent en fonction du temps selon une fonction non linéaire. Lors de l'entrée du solvant dans le réseau polymérique à l'état vitreux, ce dernier gonfle. La température de transition vitreuse diminuant, le polymère passe à l'état caoutchouteux. Il se crée ainsi un front de séparation entre

les deux états qui progresse vers le centre du système. Avec la relaxation macromoléculaire associée à la transition de l'état vitreux à l'état caoutchouteux, le principe actif est alors capable de diffuser vers l'extérieur. Lorsque le gel atteint son taux de gonflement maximal, on observe un ralentissement de libération du principe actif au temps de saturation et donc la vitesse de libération tend à devenir constante [171].

La diffusion du principe actif dans la phase caoutchouteuse est généralement de type Fickien lorsque le système a atteint son équilibre de gonflement (gonflement limité). Cependant, si cet équilibre n'est pas atteint (gonflement continu), la diffusion est de type anormal, voire même de type II (cinétique d'ordre zéro) [171].

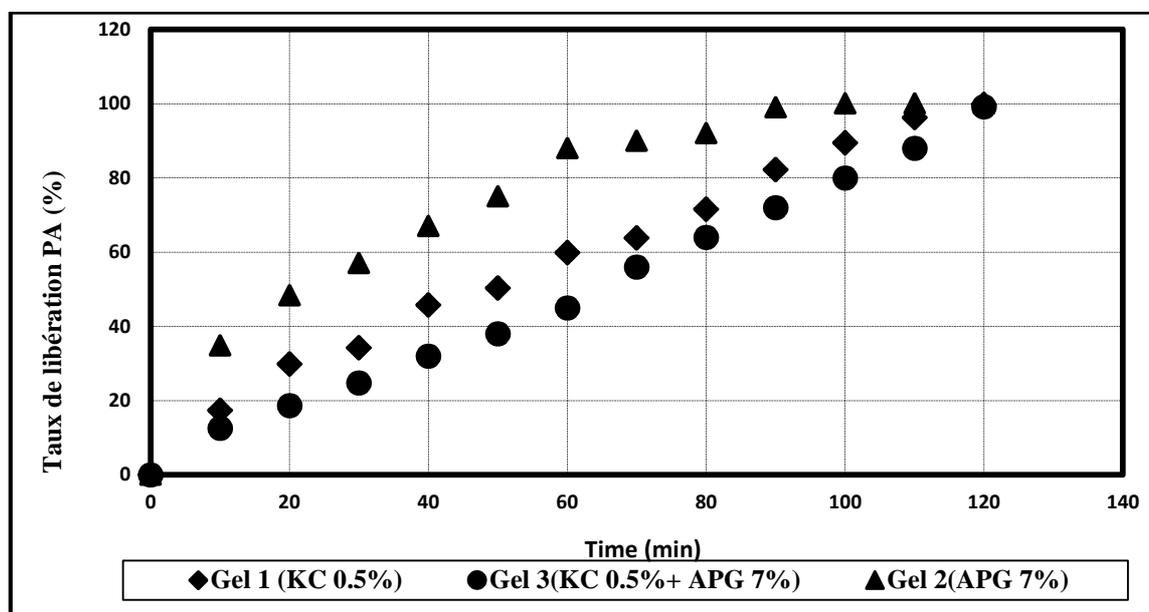


Figure 3.12. Cinétique de libération du Miconazole à partir des gels
Dans le milieu PBS pH 6.75.

Quel que soit le type de diffusion, on estime que la vitesse de libération du PA est proportionnelle à celle de la pénétration du solvant dans la matrice polymérique. A la différence des systèmes de libération contrôlée par diffusion, le système à gonflement a l'avantage de donner un type de libération indépendant des propriétés du principe actif. Ainsi, Il n'est pas nécessaire d'établir une nouvelle formulation pour un principe actif ayant des propriétés différentes [171].

Tableau 3.4. Constantes cinétiques k_0 , K_H , k , k_1 et k_2 . Valeurs calculées dans la gamme de libération du médicament (5% -70%) pour les hydrogels contenant 2% de Miconazole.

Gels	Gel 1	Gel 2	Gel 3
<i>Equation d'ordre zéro</i>			
Constante k_0	0.96	1.26	0.79
R^2	0.988	0.975	0.984
<i>Equation d'Higuch</i>			
Constante k_h	1.92	2.52	1.59
R^2	0.968	0.985	0.967
<i>Equation de Korsmeyer -Peppas</i>			
Exposant n	0.7	0.47	0.94
Constante k	3.26	11.55	0.98
R^2	0.992	0.986	0.996
<i>Equation de Peppas et Sahlin</i>			
k_1	4.89	12.75	3.45
k_2	0.0035	0.0016	0.008
m	0.57	0.44	0.53
R^2	0.991	0.993	0.991
<i>Coefficients de diffusion ($cm^2 \cdot min^{-1}$)</i>			
Gels	Gel 1	Gel 2	Gel 3
$D_i \times 10^4$	1.41	6.13	6.52
$D_m \times 10^4$	0.71	7.65	0.452
$D_f \times 10^4$	0.62	3.50	3.31

k_0 , ($\% \cdot \text{min}^{-1}$), constante de l'équation d'ordre zéro; k_h , ($\% \cdot \text{min}^{-1/2}$), constante de l'équation d'Higuchi ; k ($\% \cdot \text{min}^{-n}$), constante de l'équation de Korsmeyer-Peppas, n , exposant de l'équation de Korsmeyer-Peppas; k_1 ($\% \cdot \text{min}^{-m}$), constante de diffusion de l'équation de Peppas et Sahlin; k_2 ($\% \cdot \text{min}^{-2m}$), constante de relaxation de l'équation de Peppas et Sahlin; m , exposant de diffusion de l'équation de Peppas et Sahlin.

L'application du modèle Korsmeyer -Peppas sur l'ensemble des résultats de dissolution des gels a donné des valeurs de n comprises entre 0.47 et 0.94 (Tableau 3.4). En comparant les valeurs de n des gels à base d'APG à celui des gels à base de KC, ces derniers offrent des valeurs de n supérieures à 0.5 indiquant un mécanisme de diffusion de type anormale, alors que les valeurs proches de 0.5 correspondent à un mécanisme de diffusion Fickien. La valeur de la constante k est plus importante pour les gels à base d'APG, alors qu'elle est plus faible pour les gels contenant KC. Cela fait apparaître un effet retard des polymères, car en abaissant la valeur de k , cela permettra une libération du

principe actif à travers la matrice polymérique à l'aide d'un mécanisme de diffusion anormale où intervient la relaxation des chaînes polymériques.

La valeur de k_1 , constante de diffusion de la loi de Peppas et Sahlin diminue avec la présence des deux polymères dans le gel. Ceci s'explique par la synergie entre les deux polymères provoquant un effet retard lors de la libération du PA. La valeur de la constante k_2 , constante de relaxation des chaînes de la loi de Peppas et Sahlin augmente avec la présence des deux polymères dans le gel [176].

La combinaison entre les résultats d'érosion des matrices polymériques et ceux de la libération du PA par les matrices polymériques montre l'existence d'une corrélation (Figure 3.13) entre les deux phénomènes, et cette corrélation est exprimée par un coefficient de corrélation qui dépasse la valeur 0.9. Cela démontre qu'en améliorant la résistance d'une matrice à l'érosion, on prolonge le temps de libération du PA.

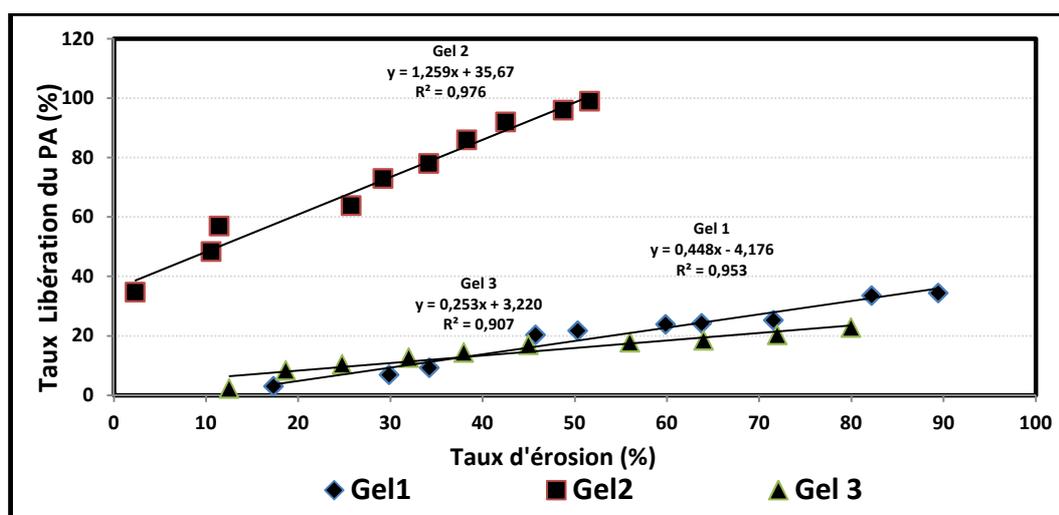


Figure 3.13. Relation entre l'érosion des gels et les taux de libération du PA.

Une synergie existant entre les deux polymères renforce le réseau polymérique formé des chaînes enchevêtrées de l'APG et la double hélice de KC (Figure 3.14). L'amélioration des paramètres de gonflement et la réduction des taux d'érosion des gels mixtes est principalement due à la nature chargée du réseau polymérique formé, induisant une plus grande pression osmotique et un important taux de

gonflement. Ceci influence la libération du principe actif à partir des matrices de gels.

Lors du mélange des deux polymères, le KC gélifie en formant des zones de jonctions avec les molécules d'APG. Le gel mixte formé piège le PA. Lors de la mise en contact du gel avec le milieu de dissolution, ce dernier pénètre dans le gel progressivement provoquant une importante pression osmotique, puis une diffusion du PA à travers la matrice polymérique et l'érosion, provoquant la libération lente et progressive du PA.

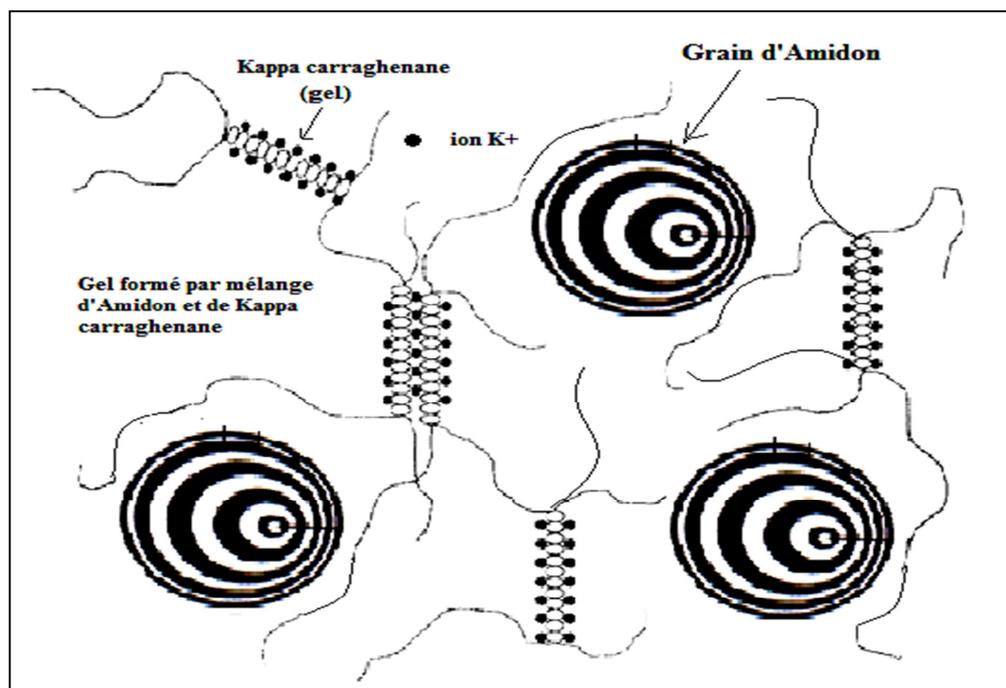


Figure 3.14. Structure proposée du réseau des gels formés par le mélange physique de l'APG et KC.

3.2.8. Conclusion

Cette étude portait sur l'étude d'un mélange physique de biopolymères de nature différentes et l'étude du comportement du gel mixte obtenu à caractère bioadhésif. Les matrices obtenues à partir de KC et APG ont permis d'augmenter la force d'adhésion des gels, ainsi que d'améliorer son pouvoir d'absorption et de prolonger le temps de saturation et donc retarder l'érosion des gels. L'ajustement des profils de dissolution du PA à partir des gels mixtes a présenté des caractéristiques d'une libération prolongée.

3.3. FORMULATION DU GEL BIOADHESIF

3.3.1. Dosage du principe actif et évaluation du pH des gels

Le dosage du miconazole a été déterminé pour chaque formulation par HPLC. Le titre en principe actif dans toutes les formulations de gels préparés varient entre 98,5 et 100,8% (moyenne \pm écart-type = $99.3 \pm 1.5\%$) du déclaré (2% p/p). Le pH de chaque gel a été mesuré directement après la préparation. Les valeurs du pH des gels varient entre 6.24 et 6.72 (moyenne \pm écart-type = 6.51 ± 0.02).

Tableau 3.5. Résultats des facteurs et réponses de la matrice d'expériences Correspondant au plan Box-Behnken

Expériences	Combinaisons des facteurs à différent niveaux			FD (g) ^b Y ₁	MDT(min) ^b Y ₂	% Libération à 10min ^b Y ₃
	X ₁ (%, w/w)	X ₂ (%, w/w)	X ₃ (%, w/w)			
F1a	0.45	70	2.5	44.90 \pm 0.341	39.59 \pm 2.59	22.69 \pm 2.31
F2a	0.45	70	2.5	44.90 \pm 0.345	39.59 \pm 2.58	22.70 \pm 2.32
F3a	0.45	70	2.5	44.90 \pm 0.334	38.56 \pm 2.59	23.46 \pm 2.31
F4	0.30	70	1.0	34.20 \pm 0.591	20.71 \pm 1.48	39.07 \pm 4.21
F5	0.45	75	1.0	46.20 \pm 0.534	37.44 \pm 4.23	19.62 \pm 1.18
F6	0.30	75	2.5	34.50 \pm 0.526	19.84 \pm 1.12	41.41 \pm 2.80
F7	0.45	75	4.0	40.20 \pm 0.254	33.20 \pm 2.13	27.23 \pm 1.87
F8	0.60	70	1.0	53.45 \pm 0.463	51.22 \pm 3.12	13.21 \pm 1.03
F9	0.60	75	2.5	52.90 \pm 0.367	50.63 \pm 3.15	15.94 \pm 1.32
F10	0.30	70	4.0	29.40 \pm 0.512	15.45 \pm 1.34	48.47 \pm 4.54
F11	0.60	65	2.5	51.20 \pm 0.423	52.43 \pm 3.65	14.72 \pm 1.64
F12a	0.45	70	2.5	44.95 \pm 0.256	39.29 \pm 2.50	22.70 \pm 1.78
F13	0.30	65	2.5	29.50 \pm 0.341	16.00 \pm 1.12	46.92 \pm 3.89
F14	0.45	65	4.0	38.70 \pm 0.345	24.78 \pm 2.05	34.42 \pm 4.12
F15	0.45	65	1.0	41.00 \pm 0.441	29.84 \pm 2.13	29.65 \pm 2.32
F16	0.60	70	4.0	50.10 \pm 0.346	50.60 \pm 3.43	16.92 \pm 1.23

a. Indique les points centraux du plan d'expériences.

b. Chaque valeur représente (moyenne \pm SD, n = 3).

3.3.2. Etude de la bioadhésion des gels

La force de détachement (FD) varie de 29.40 g (F10) à 53.45 g (F8) tel que mentionné dans le Tableau 3.5. La FD maximum a été retrouvé dans les formulations F8 et F9 contenant le plus haut niveau de KC (0.6%). La performance bioadhésive élevée des gels à base du mélange APG-KC est liée à la formation d'un gel plus pénétrant dans le substrat [177]. L'augmentation de la FD peut être attribuée à la formation d'un gel plus résistant au détachement qui adhère et pénètre profondément dans la membrane hydratée [178]. Les gels contenant le KC possèdent des propriétés d'adhésion qui leur offrent une surface de contact maximale avec la membrane avec plus d'interpénétration. La FD augmente avec

la concentration croissante de KC (Figure 3.15), attribuée à une grande interpénétration du réseau formant le gel conduisant à une haute résistance au détachement des gels bioadhésifs. Les résultats indiquent également que l'effet du KC est plus important que l'effet du Glycérol (Gly) ou du Tween 80 (T80).

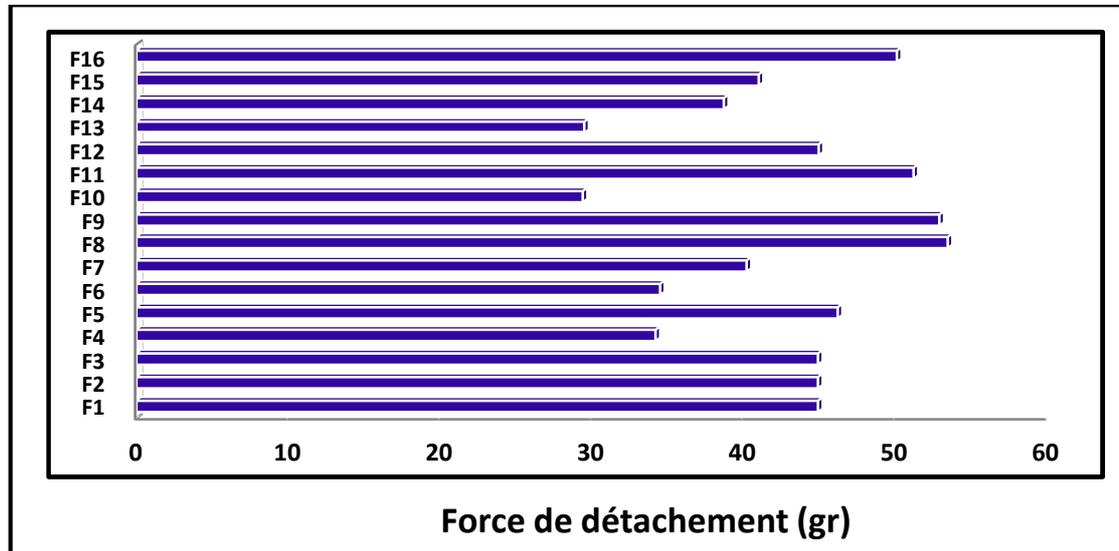


Figure 3.15. Forces de détachement des gels formulés (n=3)

En comparant le pouvoir d'adhésion des polymères chargés et non chargés, les polymères anioniques présentent un meilleur pouvoir d'adhésion par rapport aux non ioniques. Peppas et Buri [179] ont démontré qu'une forte charge anionique du polymère est l'une des caractéristiques requises pour une mucoadhésion maximale. Il a été montré que certains polymères anioniques sont susceptibles de démontrer des propriétés mucoadhésives supérieures, surtout dans un milieu neutre ou légèrement alcalin [180]. L'importance du facteur concentration du polymère réside dans le développement d'une forte liaison adhésive avec le mucus, ce qui peut s'expliquer par la longueur de la chaîne du polymère disponible pour la pénétration dans la couche de mucus. Lorsque la concentration du polymère est trop faible, le nombre de chaînes de polymère pénétrant par unité de volume de la muqueuse est faible, et l'interaction entre le polymère et le mucus est instable [179]. En général, une concentration en polymère plus importante se traduirait par une longueur de chaîne plus longue et pénétrante avec une meilleure bioadhésion. Cependant, pour chaque polymère, il ya une concentration critique au dessus de laquelle le polymère produit un état "non

perturbé" dû à une structure sensiblement en spirale. En conséquence, l'accessibilité du solvant au polymère, et la pénétration de la chaîne du polymère est considérablement réduite. Par conséquent, les concentrations élevées en polymère n'améliorent pas nécessairement et, dans certains cas, diminuent même les propriétés mucoadhésives [179].

3.3.3. Etude du gonflement et érosion des gels

Les résultats de gonflement et d'érosion de la formulation F10 (représentant la plus basse FD) et F8 (représentant la valeur de FD la plus élevée) sont présentés dans la Figure 3.16. Le gonflement et l'érosion sont des paramètres importants à étudier lors de formulation des gels. En effet, ces deux paramètres contrôlent le mécanisme de libération du PA dans un système matriciel [181].

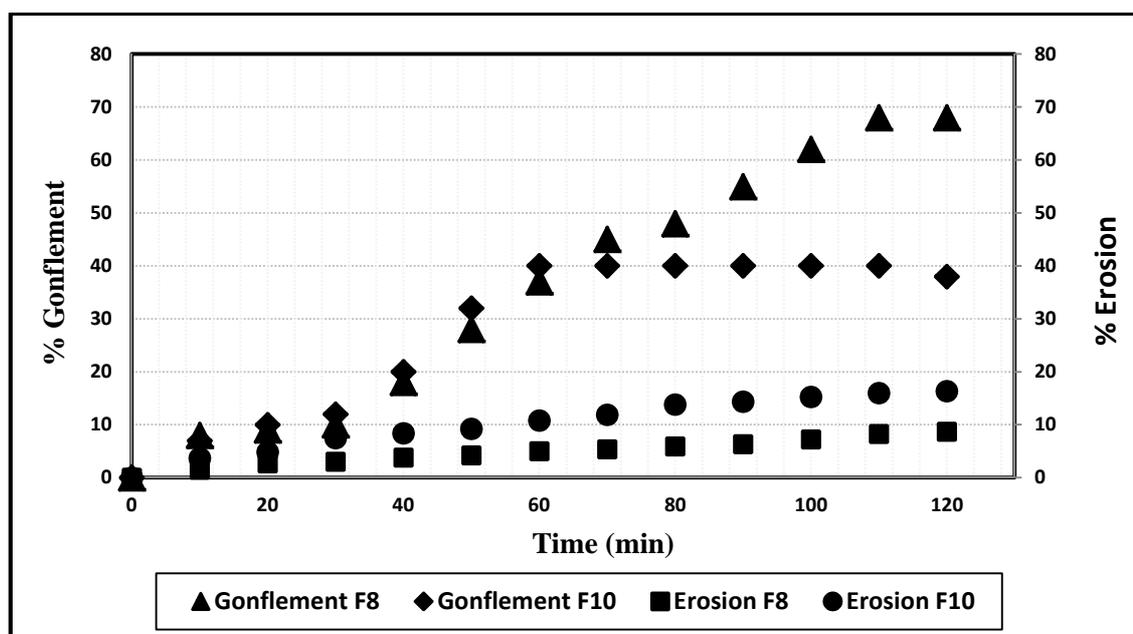


Figure 3.16. Taux de gonflement et érosion des gels F8 et F10

Selon Jacques et Buri [182], des matériaux ayant un plus fort taux d'hydratation initial peuvent atteindre les plus hautes FD. Fabregas et Garcia [183] ont trouvé une relation entre le taux de gonflement et la force d'adhésion in vitro.

On remarque que les F10 et F8 présentent un gonflement limité avec des taux maximums atteints après 80 et 110min respectivement et des taux de gonflement de 40 et 68%. Les taux d'érosion observés sont de 16.34% pour F10 et 8.64% pour F8.

L'hydratation (gonflement) est un phénomène nécessaire pour un polymère mucoadhésif afin de développer et créer un réseau composé de maillage macromoléculaire [184] d'une taille suffisante, et aussi pour induire la mobilité des chaînes des polymères afin d'améliorer le processus d'interpénétration entre le polymère et le substrat. En gonflant, le polymère permet un enchevêtrement mécanique en exposant les sites bioadhésifs à des liaisons hydrogène et/ou des interactions électrostatiques entre le polymère et le substrat [185]. Toutefois, un taux critique d'hydratation du polymère mucoadhésif existe afin d'atteindre une bioadhésion optimale [185].

3.3.4. Etude de la libération du PA in vitro

Toutes les formulations ont été soumises à des tests de dissolution in vitro. Les profils de dissolution obtenus sont représentés dans les Figures 3.17 et 3.18. L'influence des niveaux des polymères a été jugée cruciale dans la régulation de la libération du PA.

Les profils de libération du Miconazole des formules F10 et F13 montrent une phase initiale très rapide de dissolution traduite par un taux de libération de 100% du principe actif durant la première heure du test. Cela peut être la caractéristique des formules contenant une faible quantité de KC (0.3%), combinée à 7% d'APG, ce qui est insuffisant pour ralentir la libération du principe actif des matrices des gels en plus du fait que la présence du glycérol et du T80 facilite la libération précoce du PA. La formule F7 contenant une concentration intermédiaire de KC (0.45%), avec une concentration supérieure de Gly et T80 libère 100% du PA au bout de 100 min. Les formulations contenant une concentration élevée de KC comme F8, F9, F11 et F16 ont donné une libération plus lente du PA avec des taux allant de 99.94% à 100% en 2 heures. Ces taux varient selon les quantités de Gly et T80 utilisées. Cela indique que la présence de KC modifie la libération du PA par prolongation des temps de dissolution. Une utilisation des polymères conjugués (APG / KC) au niveau élevé de KC peut être à l'origine d'une libération prolongée du Miconazole à partir des gels et réduit la libération précoce du PA.

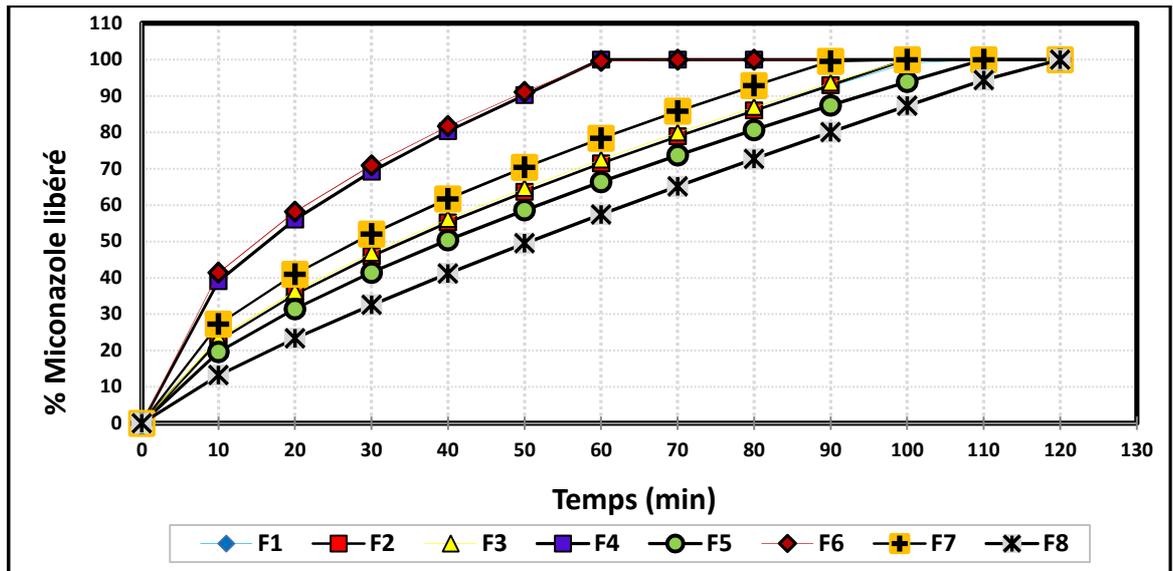


Figure 3.17. Profils de dissolution des gels à base de miconazole (F1-F8)

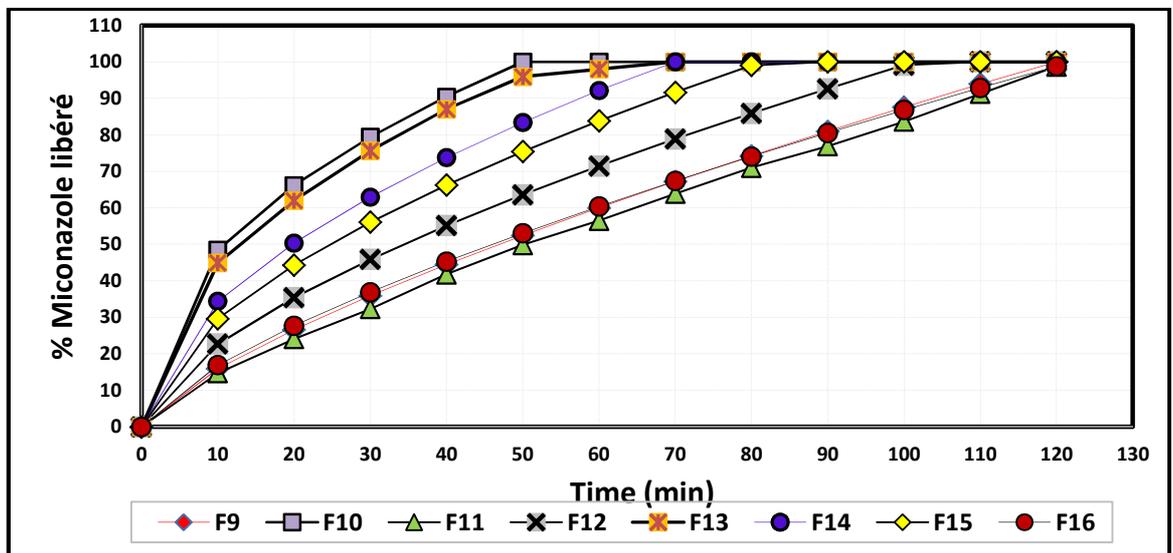


Figure 3.18. Profils de dissolution des gels à base de miconazole (F9-F16)

Les résultats des taux de libération des différentes formules de gels étudiées ont été ajustés à l'équation de Korsmeyer-Peppas (Tableau 3.6).

Les résultats de l'ajustement ont donné des coefficients de corrélation (R^2) supérieurs à 0.983 pour toutes les formules étudiées. Les valeurs de «n» et «k» varient légèrement selon le type de formulation. Les résultats ont montré un effet combiné des mécanismes de diffusion et d'érosion lors de la libération du PA.

L'exposant de libération, varie de 0.45 à 0.82 pour toutes les matrices de gels étudiés, présentant un mécanisme de transport différent selon la formule. Cela suggère que plusieurs mécanismes peuvent être impliqués, à savoir, la combinaison de l'érosion et de la diffusion du PA à travers la matrice hydratée.

Les valeurs de $t_{50\%}$ varient entre 10.71min et 50.67min. La formule F10 (0.3% de KC) présente une valeur de $t_{50\%}$ de (10.71 ± 1.265) min, avec un rapport (APG/ KC) de (7 /0.3) alors que $t_{50\%}$ pour la formule F8 contenant 0.6% de KC et un rapport (APG/ KC) de (7/0.6) est de (50.67 ± 7.389) min.

Tableau 3.6. Ajustement des profils de dissolution au model de Korsmeyer–Peppas et $t_{50\%}$ (temps de libération de 50% du Miconazole de chaque gel)

N° Formule	Modèle Korsmeyer– Peppas				
	Coefficient corrélation R^2	Constante cinétique k (min^{-1}) ^a	Exposant Diffusion n ^a	Mécanisme Diffusion	$t_{50\%}$ (min)
F1	0.9921	0.052±0,0084	0.64±0.028	Non Fickien	34.35±4.872
F2	0.9834	0.052±0,0085	0.64±0.027	Non Fickien	34.35±4.871
F3	0.9926	0.055±0,0084	0.63±0.023	Non Fickien	33.23±4.871
F4	0.9885	0.118±0,0145	0.52±0.050	Fickien	16.06±1.437
F5	0.9932	0.041±0,0143	0.68±0.041	Non Fickien	39.56±6.517
F6	0.9912	0.134±0,0135	0.49±0.042	Fickien	14.69±1.521
F7	0.9845	0.070±0,0131	0.59±0.032	Non Fickien	28.00±2.437
F8	0.9878	0.020±0,0136	0.82±0.054	Non-Fickien	50.67±7.389
F9	0.9898	0.029±0,0142	0.74±0.050	Non-Fickian	46.90±7.731
F10	0.9921	0.172±0,0145	0.45±0.051	Fickien	10.71±1.265
F11	0.9998	0.025±0,0138	0.77±0.021	Non Fickien	48.93±4.127
F12	0.9831	0.052±0,0085	0.64±0.027	Non Fickien	34.60±4.537
F13	0.9834	0.159±0,0145	0.47±0.057	Fickien	11.45±2.437
F14	0.9854	0.097±0,0139	0.55±0.043	Fickian	19.72±2.241
F15	0.9978	0.078±0,0141	0.58±0.047	Non Fickien	19.23±2.173
F16	0.9909	0.033±0,0145	0.71±0.043	Non Fickien	46.00±7.365

^a. Chaque valeur représente (Moyenne \pm SD, $n = 3$).

3.3.5. Analyse des courbes en surfaces de réponses et en 3D

La relation entre les variables dépendantes et indépendantes a été étudiée à l'aide des courbes en surface de réponse et en trois dimensions (3D) comme le montre la Figure 3.19. Ce type de courbes est utile pour l'étude des effets de plusieurs facteurs sur les réponses. Dans toutes les courbes présentées, le troisième facteur a été maintenu à un niveau constant. On remarque que toutes les relations entre les variables et les réponses sont non linéaires. Les Figures 3.19 (a, b) montrent que les valeurs de FD et MDT augmentent nettement avec l'augmentation des niveaux de X1 et X2. La Figure. 3.19-c révèle une forte baisse de la valeur d'Y3 avec l'augmentation de X1 et X2, l'influence de X1 étant beaucoup plus prononcée. Les courbes en 3D (Figure 3.19-d, e, f) montrent que lorsque la concentration en X1 augmente, les réponses Y1 et Y2 augmentent

également, c'est-à-dire que la FD et MDT augmentent avec l'augmentation de la concentration en polymère. La concentration en X1 est par contre inversement proportionnelle à Y3.

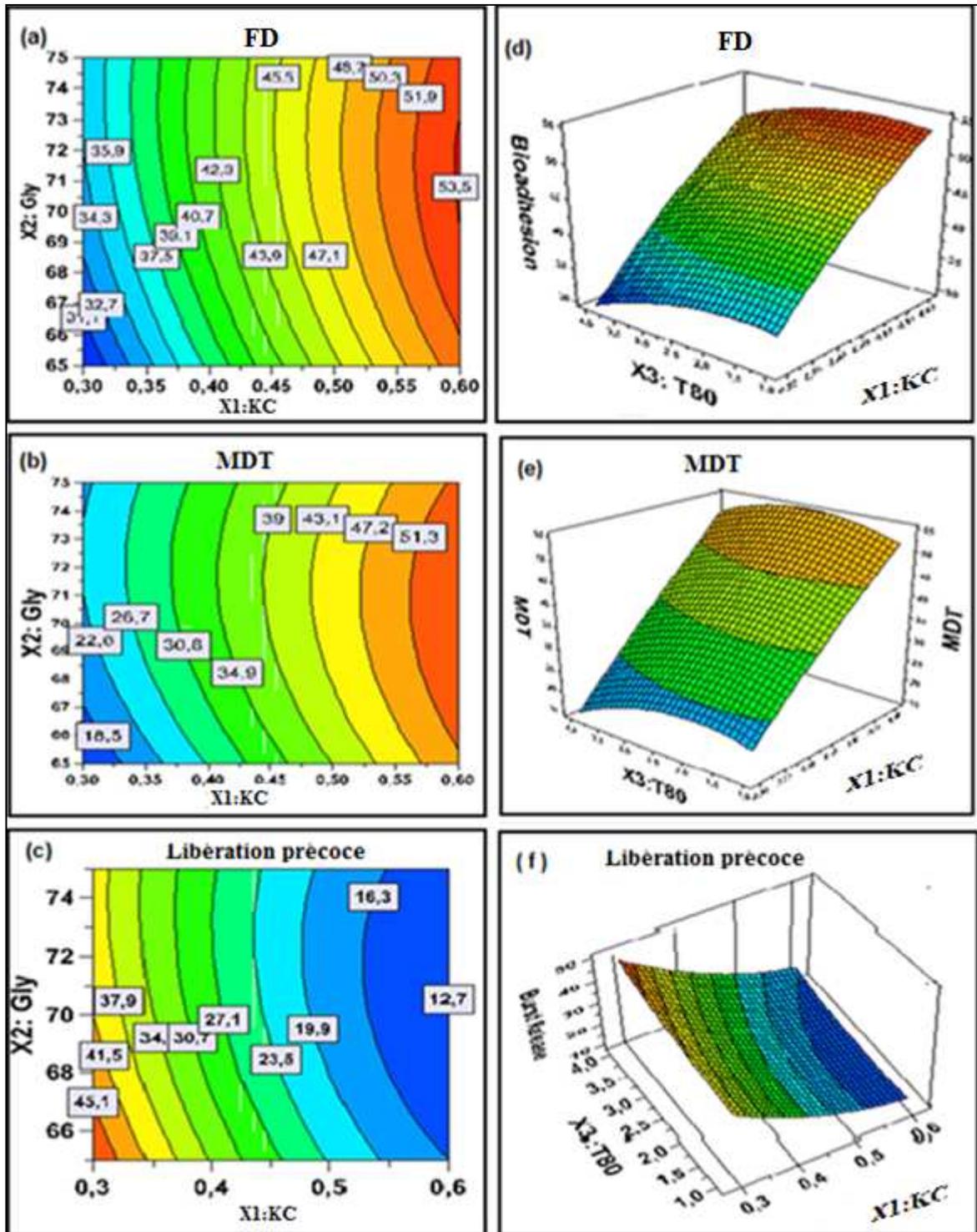


Figure 3.19. Courbes en surfaces de réponses indiquant l'effet de : (a) KC (X_1) et Gly (X_2) sur la réponse Y_1 , (b) KC (X_1) et Gly (X_2) sur la réponse Y_2 , et (c) KC (X_1) et Gly (X_2) sur la réponse Y_3 , Courbes en 3D indiquant l'effet de : (d) KC (X_1) et T80 (X_3) sur la réponse Y_1 , (e) KC (X_1) et T80 (X_3) sur la réponse Y_2 , et (f) KC (X_1) et T80 (X_3) sur la réponse Y_3 .

Les relations entre KC (X1), Gly (X2) et T80 (X3) sur les réponses Y1 (FD), Y2 (MDT) et Y3 (le taux de libération à 10min) sont présentés dans la Figure 3.20. On remarque que les valeurs de FD et MDT augmentent avec l'augmentation de la concentration en polymère, alors que la libération précoce diminue lorsque la concentration en KC augmente. La nature du polymère, la concentration, la charge et le gonflement ont une incidence sur la force d'adhésion des polymères bioadhésifs. Le KC possède d'excellentes caractéristiques mucoadhésives en raison de la formation d'interactions fortes avec le substrat [29]. La concentration du polymère joue également un rôle important dans le processus de bioadhésion. A des concentrations faibles des chaînes du polymère, il ya une interaction insuffisante et instable entre le polymère et le substrat, entraînant des propriétés bioadhésives faibles. Cela implique que la concentration du polymère doit être suffisante pour assurer une bioadhésion optimale [30]. La libération précoce du PA diminue avec l'augmentation de la concentration en polymère. Ceci correspond à un MDT qui augmente, reflétant un réseau polymérique qui limite la libération du principe actif à chaque fois que la concentration en polymère augmente, et donc une libération précoce du principe actif réduite [30].

En outre, l'augmentation de la concentration en Glycérol qui est utilisé comme agent mouillant conduit à augmenter FD et à diminuer MDT et la libération précoce (Figure 3.20-b.). Ceci peut être expliqué par le fait que le Glycérol augmente l'adhésion du polymère au substrat et donc augmente FD. En revanche l'augmentation de la concentration en Glycérol contribue à augmenter la libération du PA en rendant les matrices de gels plus érodables et donc contribue à la diminution de MDT et la libération précoce. Le glycérol est ajouté au gel bioadhésif en tant que produit d'humidification. Ce dernier ayant des propriétés hygroscopiques, facilite la fixation de l'humidité de l'atmosphère et de l'environnement par le gel. Le glycérol a la caractéristique de faciliter l'hydratation du KC, ce qui se traduit par une augmentation de la bioadhésion lors du gonflement [28].

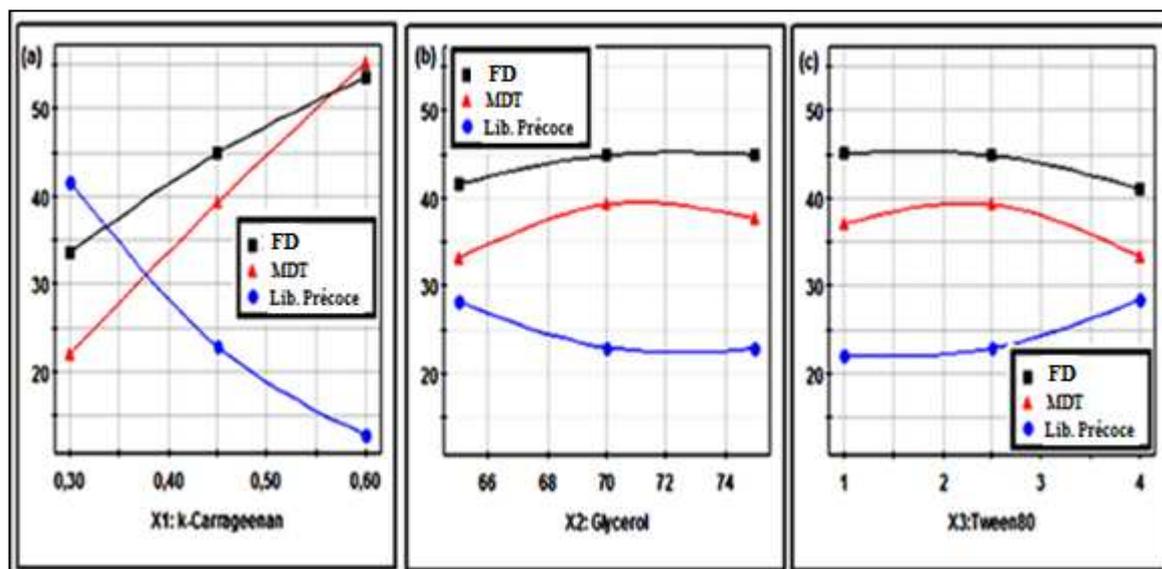


Figure 3.20. Influence des facteurs (a) KC (X_1), (b) Gly (X_2), et (c) T80 (X_3) sur les réponses Y_1 (FD), Y_2 (MDT) et Y_3 (Libération précoce).

L'effet du T80 sur les différentes réponses a été étudié (Figure 3.20-c). On remarque que les valeurs de FD et MDT diminuent avec l'augmentation de la concentration du T80, alors que la libération précoce augmente. Le T80 a été utilisé comme promoteur d'absorption améliorant la diffusion du PA au site d'action. Dans notre cas, le T80 est un tensioactif non ionique qui provoque une augmentation des taux d'érosion, ceci conduit à des taux de libération précoce plus importants et une diminution de MDT. L'augmentation des taux d'érosion conduit au phénomène de « lessivage ». Ce dernier empêche la matrice de l'hydrogel d'adhérer au substrat et donc réduit FD. Le promoteur d'absorption augmente également la solubilité du PA dans la matrice hydrophile par son effet émulsifiant, et donc contribue à sa libération rapide [23]. La libération précoce est le taux de PA libéré dans les premières minutes dès le placement du médicament en milieu de dissolution. Ce dernier est à éviter car il réduit la durée de vie effective de la forme galénique étudiée si on veut obtenir une libération prolongée. La libération précoce à partir de système matriciel dépend de la diffusion du solvant vers la matrice dès les premiers instants. Le taux de libération précoce dépend de l'aptitude de la matrice polymérique à contenir le PA, ce qui le rend indisponible pour une diffusion immédiate [25]. La libération précoce est inversement proportionnelle au poids moléculaire du polymère utilisé [27]. En effet, les hydrogels contenant des polymères de haut poids moléculaire

présentent un taux de libération initiale de PA plus faible. Le mélange de deux polymères de différents poids moléculaire permet une libération initiale du PA encore plus faible en raison d'un faible taux d'érosion [27].

3.3.6. Analyse statistique

En utilisant l'analyse de régression multiple, les réponses Y_1 , Y_2 et Y_3 ont été corrélées avec les trois facteurs de conception en utilisant un modèle polynomial du second ordre. Les modèles de régression quadratique sont donnés par les Eq.(3.1), Eq.(3.2) et Eq.(3.3) respectivement:

$$Y_1 = 44.28 + 10 X_1 + 1.68 X_2 - 2.04 X_3 - X_1^2 - 1.24 X_2^2 - 1.48 X_3^2 - 0.82 X_1X_2 + 0.36 X_1X_3 - 0.90 X_2X_3 \quad (3.1)$$

$$Y_2 = 39.24 + 16.61 X_1 + 1.59 X_2 - 2.55 X_3 - 0.001 X_1^2 - 4.50 X_2^2 - 4.73 X_3^2 - 1.41 X_1X_2 + 1.16 X_1X_3 - 1.11 X_2X_3 \quad (3.2)$$

$$Y_3 = 22.95 - 14.38 X_1 - 1.83 X_2 + 4.04 X_3 + 3.38 X_1^2 + 3.40 X_2^2 + 3.07 X_3^2 + 1.68 X_1X_2 - 1.42 X_1X_3 + 2.41 X_2X_3 \quad (3.3)$$

Une valeur positive des coefficients des équations représente un effet qui favorise l'optimisation, tandis qu'une valeur négative indique une relation inverse entre le facteur et la réponse. Il est évident que les trois variables indépendantes (X_1 , X_2 et X_3) n'ont pas les mêmes effets sur les trois réponses. (X_1) et (X_2) présentent des effets positifs sur les deux réponses (Y_1) et (Y_2), mais ils ont un effet négatif sur (Y_3).

L'effet de (X_1) sur les trois réponses est environ six à dix fois supérieur, par rapport à (X_2) et (X_3). Cependant, l'effet de KC sur le taux de libération du PA après 10min est négatif car le KC associé avec l'APG forme une matrice ayant la capacité de modifier la libération du PA en retardant sa diffusion à travers le réseau polymérique.

Les coefficients des termes d'ordre supérieur dans l'équation de régression représentent les relations du second degré ou les termes d'interaction, respectivement. Ils montrent également que la relation entre les réponses et les facteurs n'est pas toujours linéaire. Utilisé à différents niveaux dans une formulation ou lorsque plusieurs facteurs ont changés en même temps, un facteur peut produire différents degrés de réponse.

L'effet d'interaction de (X_1) et (X_2) est défavorable (négatif) aux réponses (Y_1) et (Y_2), alors qu'elle est favorable (positif) pour la réponse (Y_3). Les Effets négatifs du second degré de (X_1), (X_2) et (X_3) sont observés pour les réponses (Y_1) et (Y_2), respectivement. Les effets quadratiques de (X_1), (X_2) et (X_3) sont positifs et présentent un effet à peu près semblable sur la réponse (Y_3).

A partir de ces équations, il apparaît que le KC joue un rôle important dans l'amélioration de la libération prolongée du principe actif en diminuant le pourcentage de libération rapide (Y_3), ce qui peut notamment être utilisé pour améliorer les caractéristiques des gels bioadhésifs étudiés.

La qualité de ces modèles et leur pouvoir de prédiction, sont liés au coefficient de variance. La bonne corrélation entre les valeurs prédites et mesurées confirme la qualité de ces modèles. En outre, les trois modèles donnent des valeurs élevées de R^2 qui sont proches de l'unité ($R^2 = 0.999$ pour (Y_1), $R^2 = 0.992$ pour (Y_2) et $R^2 = 0.995$ pour (Y_3)). Ces valeurs confirment que les équations des modèles sont largement fiables.

La signification statistique de la somme des carrés due à la régression et l'erreur moyenne résiduelle a été testée en utilisant l'analyse de variance (ANOVA). L'analyse de la variance est une méthode statistique qui subdivise la variation totale d'un ensemble de données en parties de composants spécifiques associées à des sources de variation dans le but de vérifier les hypothèses sur les paramètres du modèle [186].

Le Tableau 3.7 montre les résultats de l'analyse de variance pour FD (Y_1), MDT (Y_2) et le taux de libération à 10min (Y_3). Le rapport F représenté est utilisé pour déterminer la signification statistique de la réponse du modèle. La valeur de F est un rapport de deux estimations indépendantes de l'erreur expérimentale. Associé au rapport F, la valeur de P permet de quantifier la probabilité de faire une erreur en associant un effet d'un facteur donné. La valeur de P fournit également le niveau exact de la signification d'un test d'hypothèse. Les valeurs R-carrés indiquent le pourcentage de variation de la réponse qui est expliquée par la variation délibérée des facteurs dans le cas expérimental. L'analyse de la variance des réponses a démontré que les modèles sont très significatifs comme en témoigne la valeur de F ($F_{\text{modél}} = 573.782$ pour (Y_1), $F_{\text{modél}} = 53.422$ pour (Y_2) et $F_{\text{modél}} = 88.121$ pour (Y_3)) et les valeurs très faible de p ($p \leq 0.05$). Les faibles

valeurs de la probabilité p indiquent que les modèles sont considérés comme statistiquement significatifs [187].

Tableau 3.7. Analyse de variance (ANOVA) des réponses (RSM)

Réponses	Somme des carrés	Degré liberté	Moyenne quadratique	Rapport F	p
Modèle FD, Y_1 ^(a) (Régression)	874.818	9	97.2021	573.782	0.000
Valeur résiduelle	0.6776	4	0.1694		
Manque d'ajustement	0.0042	2	0.0021	0.0006	
erreur pure	0.6734	2	0.3367		
Modèle MDT, Y_2 ^(b) (Régression)	2403.70	9	267.078	53.422	0.001
Valeur résiduelle	19.9976	4	4.9994		
Manque d'ajustement	19.3038	2	9.6519	27.8233	
erreur pure	0.6938	2	0.3469		
Modèle % libération 10min, Y_3 ^(c) (Régression)	1923.47	9	213.719	88.1211	0.001
Valeur résiduelle	9.7011	4	2.4252		
Manque d'ajustement	9.3109	2	4.6554	23.8621	
erreur pure	0.3901	2	0.1950		

^(a) $R^2 = 0.999$, $R^2_{adj} = 0.997$; ^(b) $R^2 = 0.992$, $R^2_{adj} = 0.973$; ^(c) $R^2 = 0.995$, $R^2_{adj} = 0.984$.

Des graphes de corrélation linéaire entre les valeurs réelles et celles prédites ont été tracés ainsi que des graphes montrant la dispersion des valeurs résiduelles et réels, sont présentés sur la Figure 3.21.

L'erreur de prédiction en pourcentage est utile pour établir la validité des équations générées en décrivant le domaine d'applicabilité du modèle RSM. Pour la validation des résultats RSM, les valeurs expérimentales des réponses ont été comparées aux valeurs prévues et l'erreur de prédiction a varié entre -1.25 et +1.32%.

Les graphes de corrélation linéaire tracés entre les valeurs prédites et les valeurs expérimentales ont montré des valeurs élevées de R^2 (comprise entre 0.989 et 0.998) indiquant une excellente qualité de l'ajustement ($p < 0.001$). Ainsi, les faibles amplitudes d'erreur et les valeurs importantes de R^2 dans cette étude démontrent la forte capacité de pronostique de la méthode RSM choisie.

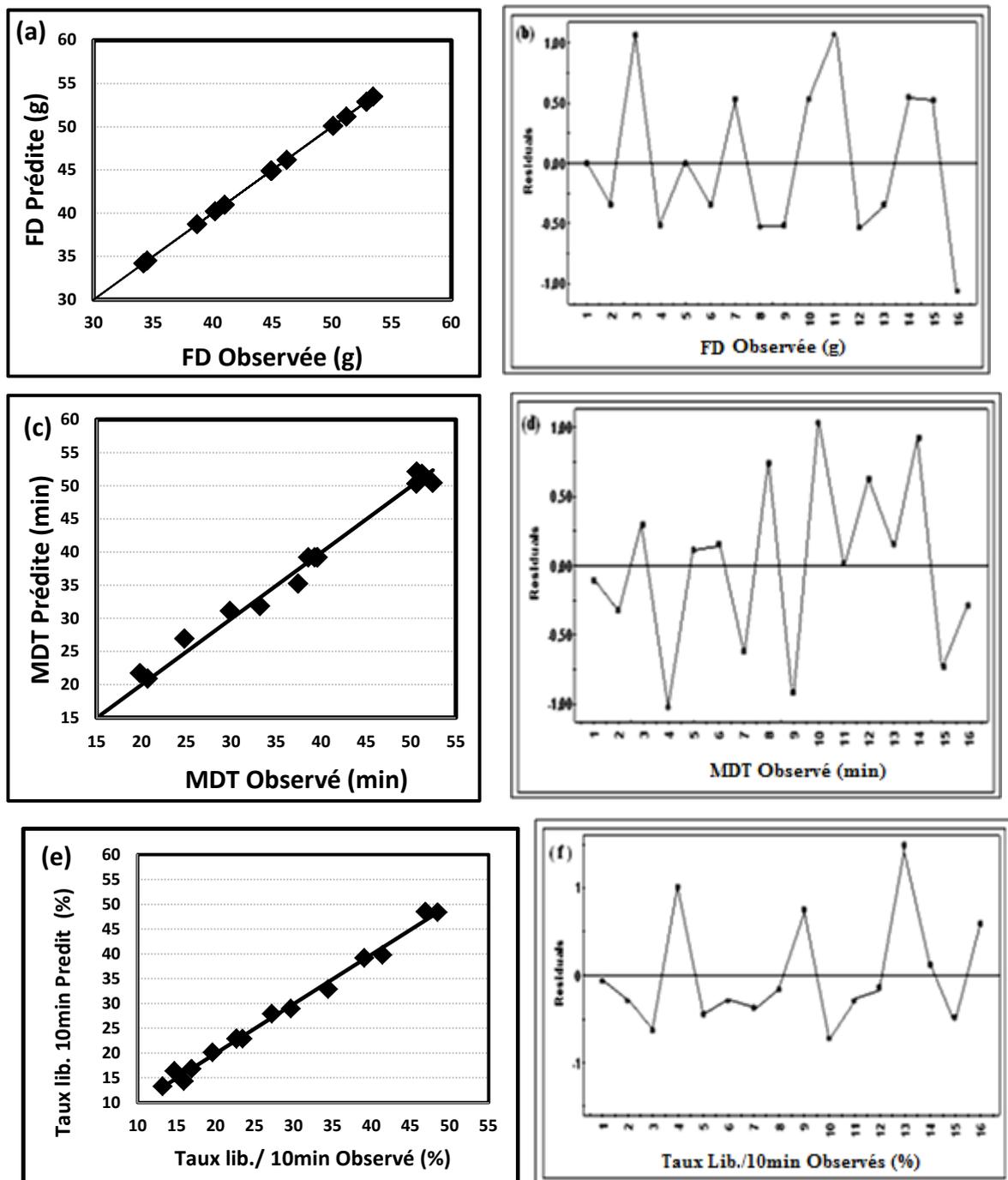


Figure 3.21. Courbes de corrélation linéaire (a, c, e) entre les valeurs réelles et prédites et graphes de valeurs résiduelles (b, d, f) des réponses.

3.3.7. Sélection et validation de la formule optimale

La formulation optimale a été choisie sur la base de critères afin d'atteindre une force de détachement maximale des gels et une libération prolongée du principe actif. Pour cela, des contraintes ont été appliquées aux réponses :

FD ($52 \leq Y_1 \leq 54$), MDT ($50 \leq Y_2 \leq 54$), et un taux de libération précoce après 10 minutes ($15 \leq Y_3 \leq 25$). La formule optimale est composée de: 0.6% de KC, 71.74% de Gly et 1.82% de T80. Cette formule doit être validée afin de confirmer la répétabilité ainsi que la reproductibilité des résultats expérimentaux.

La validation de la formule optimale a été obtenue par la réalisation de formulations de gels correspondants aux points de validation en développant huit (08) formules. Pour l'ensemble des huit (08) formulations des points de validation, les résultats de l'évaluation des gels ont été retrouvés dans les limites d'acceptation.

Le Tableau 3.8 donne la composition des formulations optimales des points de validation, les valeurs prédites et les valeurs expérimentales de toutes les réponses, et le pourcentage d'erreur.

Tableau 3.8. Composition des points de validation de la formulation optimale

Formulations : composition ($X_1:X_2:X_3$)	Réponses	Valeur Expérimentale	Valeur Prédite	Pourcentage d'erreur / prédiction
0.6 : 70.71 : 2.37	Y1 (g)	53.8352	53.6343	+ 0.374
	Y2 (min)	55.2628	54.9965	+0.502
	Y3 (%)	12.5421	12.4965	+0.484
0.59 : 72.99 : 1.60	Y1 (g)	54.2008	53.9876	+0.395
	Y2 (min)	53.1311	52.9976	+0.252
	Y3 (%)	12.6256	12.8032	- 0.013
0.59 : 71.05 : 2.04	Y1 (g)	54.1121	53.9956	+0.216
	Y2 (min)	55.0139	54.9765	+0.068
	Y3 (%)	12.3100	12.0954	+1.774
0.6 : 71.73 : 1.82	Y1 (g)	54.2513	54.8905	- 1.164
	Y2 (min)	54.4912	54.8654	- 0.682
	Y3 (%)	12.2891	12.4843	- 1.563
0.6 : 71.45 : 1.90	Y1 (g)	54.2135	54.0134	+0.370
	Y2 (min)	54.7357	55.1287	- 0.714
	Y3 (%)	12.2735	12.5490	- 0.611
0.6 : 70.00 : 1.60	Y1 (g)	53.9699	54.0312	- 0.113
	Y2 (min)	54.1625	53.9865	+0.326
	Y3 (%)	12.5259	12.3298	+1.590
0.6 : 73.00 : 2.50	Y1 (g)	53.5495	53.5132	+0.068
	Y2 (min)	54.3126	54.0217	+0.538
	Y3 (%)	13.1051	12.9943	+0.853
0.59 : 70.42 : 2.14	Y1 (g)	53.7177	54.0143	- 0.540
	Y2 (min)	54.6224	55.0125	- 0.709
	Y3 (%)	12.6024	12.8054	-1.582

3.3.8. Caractérisation de la formule optimale

La cinétique de gonflement et d'érosion de la matrice composant la formule optimale du gel dans le milieu PBS (pH 6.75), montre un taux de gonflement maximum de 70% (Figure 3.22), atteint à un temps d'équilibre de 100min, et un taux d'érosion de 36%. On remarque que la vitesse de gonflement est beaucoup plus importante que la vitesse d'érosion. Dans ce cas, la matrice hydrophile formant le gel va s'hydrater et faciliter la diffusion du PA au travers de la structure poreuse du réseau polymérique, mais vu que l'érosion est moins important que le gonflement, la libération du Miconazole se fera lentement.

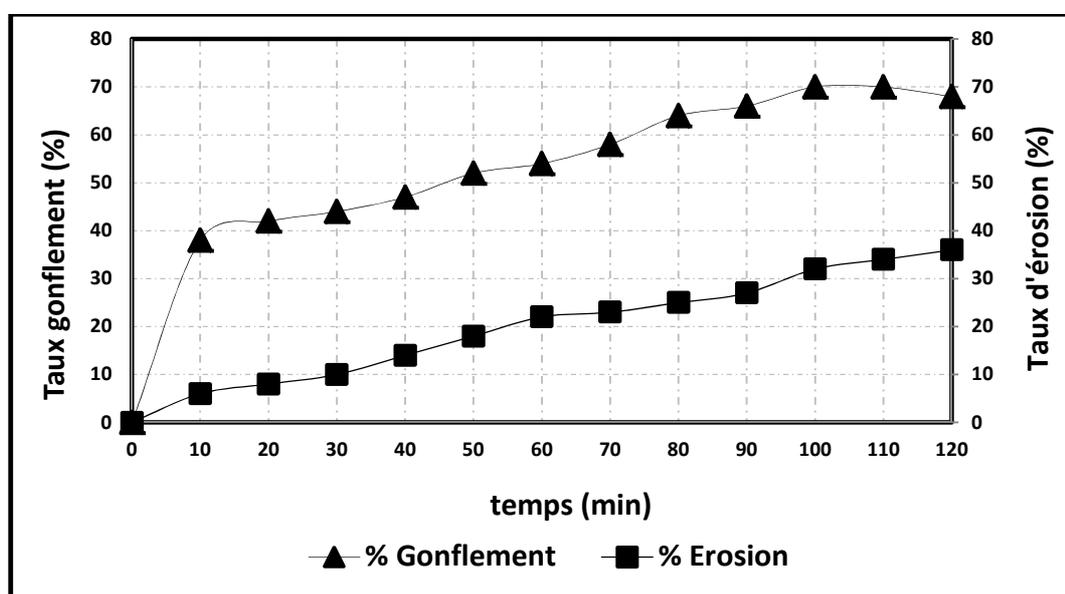


Figure 3.22. Cinétique de gonflement et érosion du gel optimisé

L'étude de la cinétique de libération du Miconazole à partir du gel optimisé (Figure 3.23) indique une libération de 99.89% du PA de façon continue et prolongée pendant 120 minutes. L'étude du profil de libération a montré un taux de libération de 12.61% pendant les dix premières minutes du test de dissolution, suivie d'une phase de libération progressive pendant environ 110min, avec un taux moyen de libération (MDT) de 55min. La force de détachement (FD) du gel obtenu est de 54g.

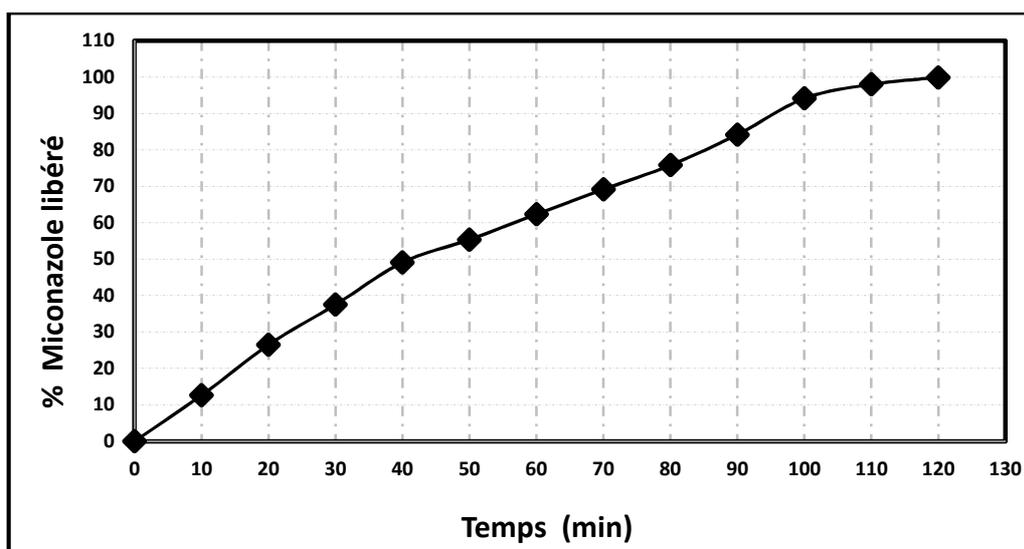


Figure 3.23. Profil de dissolution de la formule du gel optimisé

Pour étudier le mécanisme de libération, différents modèles de dissolution ont été appliqués aux résultats expérimentaux de la formulation optimisée: ordre zéro, Higuchi et Korsmeyer-Peppas.

Le Tableau 3.9 montre les équations utilisées pour déterminer les modèles appropriés ainsi que les valeurs de R^2 respectives. L'ajustement des profils de dissolution aux modèles cités montre que la libération du PA à partir du gel bioadhésif suit le modèle d'ordre zéro ($R^2=0.9954$) pour la libération préliminaire au cours des premières 20 minutes de la dissolution, puis le modèle de Korsmeyer-Peppas ($R^2=0.9987$) pour la phase de libération après 20min de temps de dissolution (la valeur de $n = 0.798$ suggère un mécanisme de diffusion non-Fickien). Ceci est confirmé par le fait que d'autres phénomènes à part la diffusion contrôlent la libération du PA tels que la combinaison du gonflement et l'érosion des polymères, ainsi que la dissolution du PA. Sachant que les PA très solubles dans l'eau sont libérés essentiellement par la diffusion de molécules du PA dissous dans la couche de gel hydraté, tandis que les PA peu solubles sont d'abord libérés par un mécanisme d'érosion du polymère [188]. La libération précoce du Miconazole, dans notre cas peut être attribuée à la dissolution du PA initialement présent à la surface des gels non hydratés [189].

Tableau 3.9. Ajustement des profils de dissolutions
in vitro aux modèles étudiés.

Modèles	Equations	R ² Libération Initiale*	R ² Libération Prolongée**
Ordre zéro	$Q_t/Q_\infty = k_0 \cdot t$	0.9954	0.8943
Higuchi	$Q_t/Q_\infty = k_H \cdot t^{1/2}$	0.8734	0.9543
Korsmeyer–Peppas	$Q_t/Q_\infty = k \cdot t^n$	0.9214	0.9987

k_0 , k_H , k : constantes de vitesse de dissolution des modèles étudiés; t temps ;

* Libération initiale : taux de libération de PA pendant des temps inférieur à 20min à partir du début du test de dissolution, ** Libération prolongée : taux de libération de PA à partir de 20 min du début du test de dissolution.

3.3.9. Conclusion

Dans la présente étude, une forme galénique à usage buccale contenant du Miconazole sous forme de gel a été développée et optimisée. Des gels de différentes compositions à base d'APG/KC ont été préparés. L'objectif est la mise au point d'un gel mucoadhésif avec une force d'adhésion optimale et une libération prolongée du PA. Le modèle expérimental Box-Behnken a été utilisé pour identifier les paramètres de formulation. Les effets quantitatifs des facteurs à différents niveaux sur la libération du PA et la bioadhésion ont été prédits en utilisant des équations polynomiales. La linéarité observée entre les valeurs réelles et prévues des réponses suggère une grande capacité de pronostic de la méthode RSM choisie. D'après les modèles mathématiques générés par cette méthode, une formulation optimale composée de : 0.6% de KC, 71.74% de Gly et 1.82% de T80 a été identifiée, caractérisée par une force de détachement de 54g, un taux de gonflement maximum de 70%, et un taux d'érosion de 36%. Le gel indique une libération de 99.89% du principe actif de façon continue et prolongée pendant 120 minutes, avec un taux de libération de 12.61% pendant les dix premières minutes, suivie d'une phase de libération progressive pendant environ 110min, avec un taux moyen de libération (MDT) de 55min.

3.4. MODIFICATION CHIMIQUE DE L'AMIDON PREGELATINISE

Les groupes hydroxyles jouent un rôle important dans l'organisation de la structure des matrices à base d'amidon en participant au contrôle de la libération d'un PA [190]. Ainsi, le Carboxyméthyl amidon (CMA) a été synthétisé en traitant l'APG avec l'acide monochloroacétique (MCA). Une substitution préférentielle de l'amidon se fait à la position 2 de l'unité répétitive de glucose [81].

3.4.1. Influence du DSt sur le DS et le rendement de substitution

Les résultats de l'influence du degré de substitution théorique (DSt) sur le degré de substitution (DS) et le rendement de substitution (RS) sont représentés sur la Figure 3.24. La solution de NaOH utilisée lors de cette étude est de 35% (p/v) et la température des réactions est fixée à 50°C pendant un temps de 2 heures.

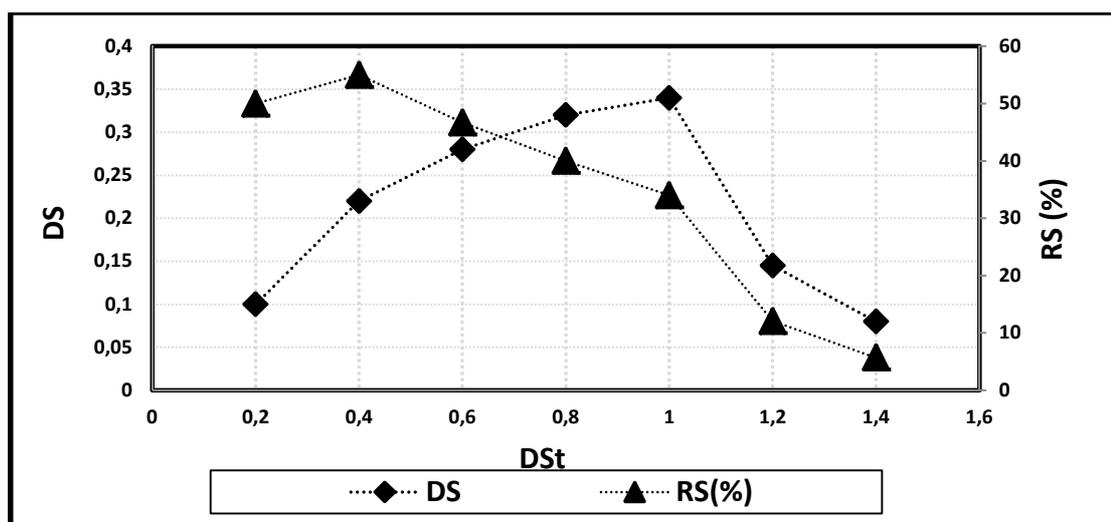


Figure 3.24. Effet de la variation du DSt
Sur le DS et le rendement de substitution

Le DS augmente avec l'augmentation du DSt. Le RS diminue avec l'augmentation du DS et du DSt. Cela est probablement dû à la réaction secondaire compétitive qui est indésirable dans notre cas. Cette réaction secondaire est celle du MCA avec le NaOH pour former le glycolate de sodium [190]. L'augmentation du DSt reflète une augmentation du rapport molaire de MCA/APG (n_{MCA}/n_{GU}). L'augmentation de ce rapport favorise cette réaction secondaire [191]. Lorsque le rapport (n_{MCA}/n_{GU}) est réduit (0,2/1), la concentration

en MCA est réduite et la totalité de ce réactif réagira avec l'APG en priorité. La réaction secondaire ne se produit pas. Au delà d'une valeur ($DS > 0.35$) du degré de substitution, le MCA a des difficultés à réagir avec le groupement hydroxyle présent sur la chaîne de l'APG à cause de l'effet stérique [192] ou l'effet de répulsion électrostatique causé par les groupements carboxylique déjà en place sur la chaîne d'APG [193].

3.4.2. Influence du temps de la réaction sur le DS

Les résultats de l'influence du temps de la réaction sur le DS et le rendement de la réaction sont représentés sur la Figure 3.25. La solution de NaOH est de 35%. La réaction est effectuée à la température de 50°C avec un DS_t égal à 1.

Le DS a augmenté avec l'augmentation du temps de la réaction. Cette augmentation est le résultat d'un meilleur temps de contact du réactif d'éthérisation (MCA) avec les molécules d'APG. Il est également raisonnable que le temps de réaction augmente l'homogénéité et renforce le gonflement de l'APG et finalement améliore l'effet des réactifs. Toutefois, aucune nouvelle hausse n'a été observée dans le DS après 1 h de réaction.

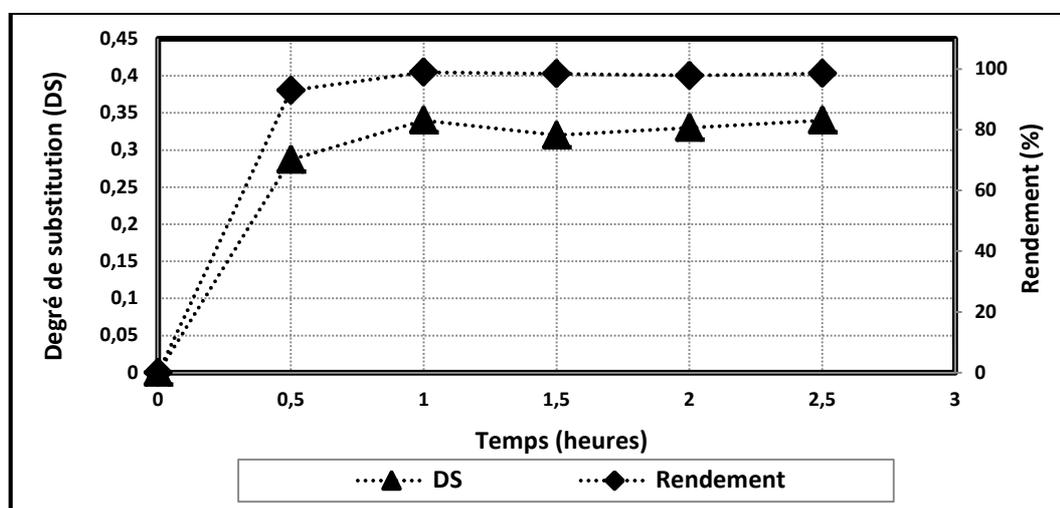


Figure 3.25. Variation de DS et le rendement en fonction du temps de la réaction.

3.4.3. Influence de la température de la réaction sur le DS

Les résultats de l'influence de la température de la réaction sur le DS et le rendement de la réaction de carboxyméthylation de l'APG sont illustrés sur la

Figure 3.26. La solution de NaOH est de 35%, le temps de réaction est égal à 2 heures avec un DSt égal à 1.

La valeur du DS a augmenté avec l'augmentation de la température d'éthérisation allant de 20 à 50°C. Une augmentation de la température augmente la solubilité des agents d'éthérisation et cela facilite également à la fois le gonflement des molécules d'APG et la diffusion des autres réactifs présents dans le milieu réactionnel. L'augmentation de la température augmente l'énergie d'activation de la réaction, et par conséquent la vitesse de réaction augmente. Cela entraîne une augmentation du DS. Des températures élevées (à partir de 60°C) induisent une gélification de l'APG, l'agitation devient difficile, et le produit devient une masse gélatineuse et collante [140]. Ainsi, le DS diminue lorsque la température devient supérieure à 50°C.

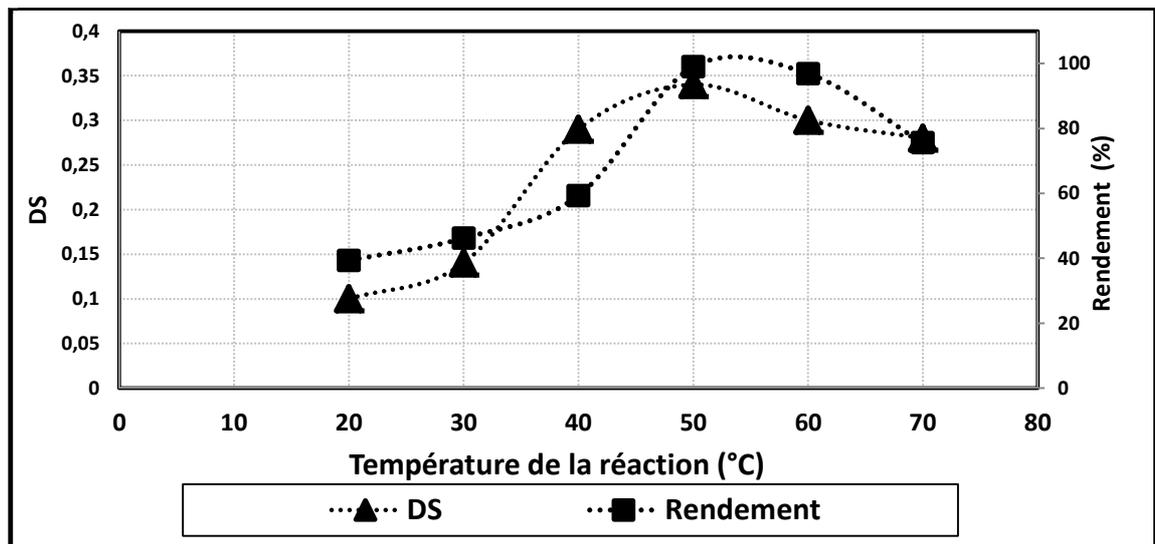


Figure 3.26. Variation de DS et le rendement en fonction de la température

3.4.4. Influence de la concentration en NaOH sur la réaction de carboxyméthylation

L'effet de la concentration en NaOH sur le DS de CMA a été étudié. La relation entre l'utilisation de diverses concentrations de NaOH et les valeurs de DS de CMA est illustrée sur la Figure 3.27. Le DSt est constant et égal à 1, la température de la réaction est de 50°C et le temps de la réaction est de 1 heure.

Le rendement de la réaction augmente avec des concentrations croissantes de NaOH. Cela peut être expliqué par le fait que lorsque l'APG réagit avec MCA dans des conditions alcalines, les groupes hydroxyles de la molécule d'amidon sont

transformés en une forme d'alcoolate (APG-O⁻) qui réagit ensuite avec le MCA sous forme de APG-O-CH₂-COO⁻ [194].

Les valeurs de DS obtenues varient de 0.05 à 0.34. Des résultats semblables ont été obtenues pour les valeurs de DS tels que la carboxyméthylation de : l'amidon de riz ($0.24 < DS < 0.40$) [140], l'amidon de riz réticulé ($0.30 < DS < 0.38$) [195], l'amidon d'igname chinois ($0.05 < DS < 0.45$) [196] et l'amidon de maïs ($0.3 < DS < 0.5$) [195] ont été trouvés.

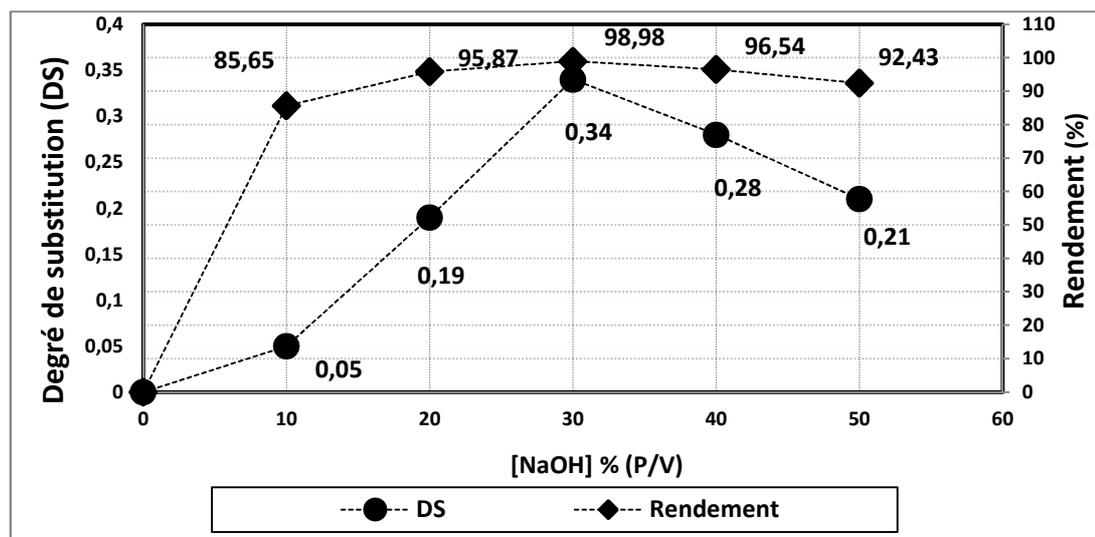


Figure 3.27. Effet de la variation de DS et le rendement en fonction de la concentration en NaOH.

Zhou et al. [139] ont constaté que la valeur du DS du CMA augmente avec la concentration de NaOH lorsque le rapport molaire entre MCA et l'amidon est constant. Cependant, la concentration en NaOH n'a aucun effet sur la valeur de DS du CMA lorsque la concentration en NaOH est deux fois plus importante que celle de MCA.

Dans notre étude, une concentration en NaOH croissante a entraîné une augmentation des DS, atteignant une valeur optimale de 0.34 à 30% (p/v) en NaOH. Cela indique que NaOH joue le rôle d'un catalyseur pour activer les molécules d'APG [141]. Il facilite le gonflement de l'APG avec une augmentation de la surface de contact des réactifs avec l'APG et facilite la réaction d'éthérification [133].

Cependant, lorsque la concentration en NaOH atteint 40%, le degré de substitution de CMA diminue en raison de la dégradation des chaînes d'APG par

hydrolyse alcaline [197]. L'augmentation de la concentration en NaOH a également contribué à augmenter la formation de glycolate de sodium (réaction secondaire) [198]. Des résultats similaires ont également été signalés dans des études précédentes sur l'amidon de maïs, l'amidon d'amarante, l'amidon de manioc, l'amidon de pomme de terre, l'amidon de pois ainsi que de l'amidon d'igname chinoise [196-198].

3.4.5. Infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier a été utilisée pour confirmer l'efficacité de la synthèse [139]. Les spectres FTIR de l'APG et du CMA sont présentés sur la Figure 3.28. L'APG présente des bandes correspondant aux groupements hydroxyle (-OH) à 3433 cm^{-1} et 1380 cm^{-1} , et des groupements méthyle (-CH₂) à 2923 cm^{-1} [199]. Dans le spectre de CMA, les groupements spécifiques à la réaction d'éthérisation sont identifiés comme les groupements carboxyliques symétriques à 1417 cm^{-1} et asymétriques à 1603 cm^{-1} [133,140].

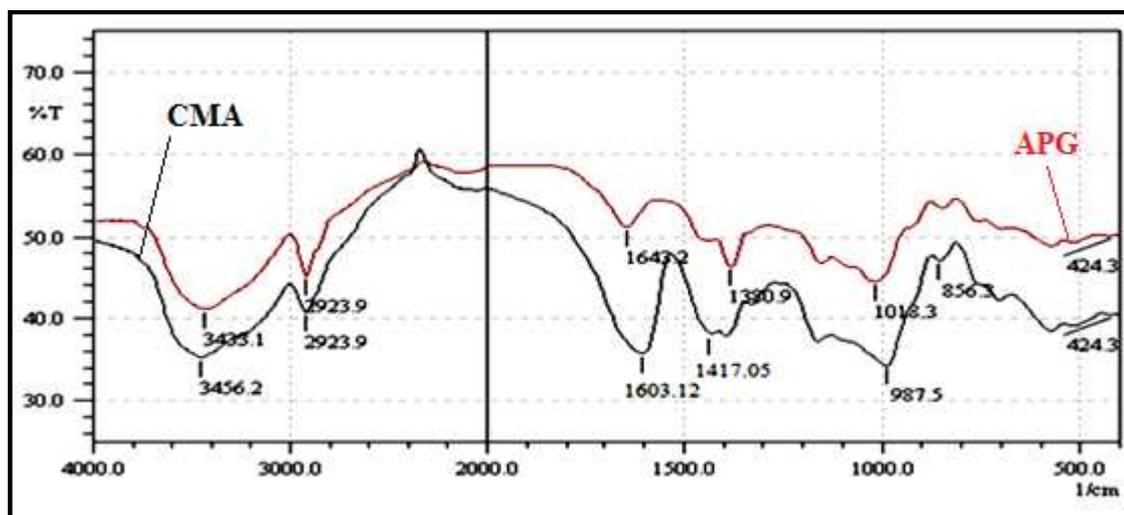


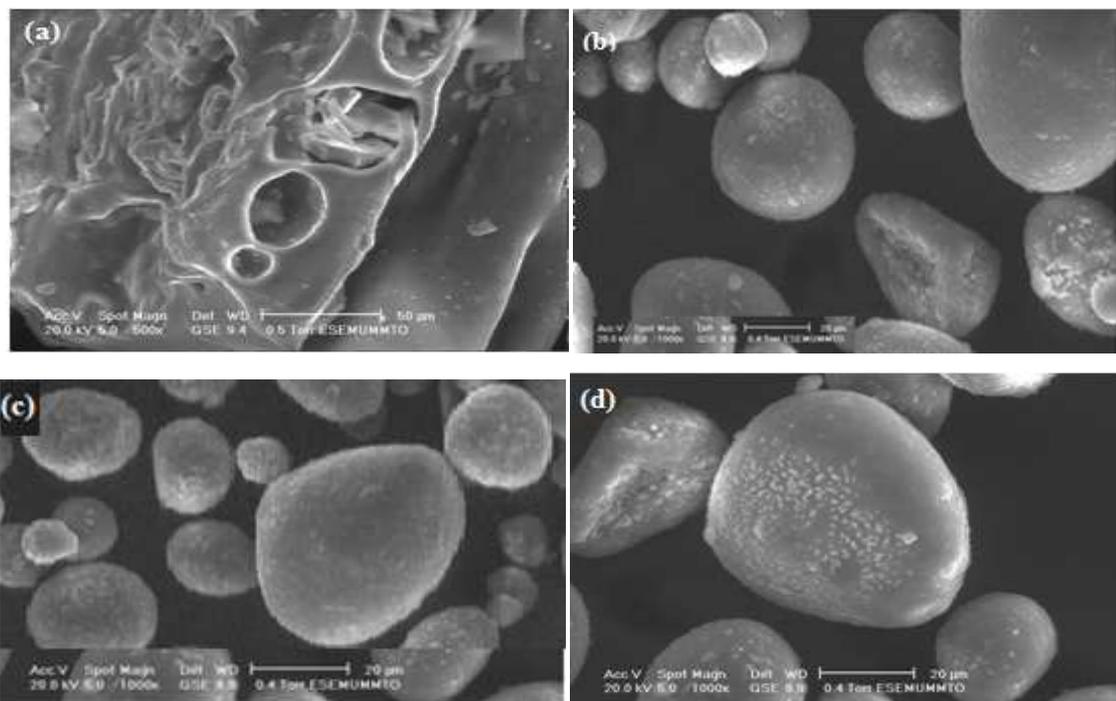
Figure 3.28. Spectre FTIR de l'APG et CMA

3.4.6. Morphologie du grain de CMA

Un microscope électronique à balayage a été utilisé pour étudier la morphologie des granules d'APG et de CMA. Les résultats sont présentés dans les Figures 3.29 (a-i). Les granules d'APG ont un aspect très poreux et avide d'eau, cela est dû au traitement thermique subit lors de la gélatinisation. Ils sont de forme polyédrique et contiennent de nombreux granules individuels (Figure 3.29.a). Leur

morphologie et leur taille sont en accord avec les données de la littérature [200,201].

Les granules de CMA ayant réagi avec 10, 20 et 30% de NaOH présentent un aspect lisses avec des dégâts très minimes (Figure 3.29.b, c, d), tandis que les granules de CMA ayant réagit avec 40% de NaOH présentent une surface rugueuse et effondrée (Figure 3.29.e). Les granules de CMA synthétisés avec une concentration de 50% ont pris une forme de particules en agglomération, et l'échantillon présente un aspect analogue à un gel (Figure 3.30.f). Ainsi, on peut conclure que l'accroissement des concentrations de NaOH a endommagé la surface des grains d'amidon. La solution alcaline réduit probablement la rigidité et la stabilité de l'organisation moléculaire des granules d'amidon causant la perte de structure granulaire [202]. Cardoso et al. [201] ont rapporté que l'amidon de riz traité avec des concentrations de NaOH supérieures à 24% (p/v) a entraîné une perte progressive de la morphologie granulaire, probablement due à un phénomène de gélatinisation alcaline. Ce résultat est aussi similaire aux résultats trouvés avec l'amidon de manioc carboxyméthylé [134]. L'alcalinisation est le principal paramètre qui est à l'origine du changement de la morphologie des granules et une perte de cristallinité [201]. Mais au même temps, l'alcalinisation permet aux agents d'éthérisation d'avoir davantage accès aux molécules d'amidon pendant le processus de carboxyméthylation [133].



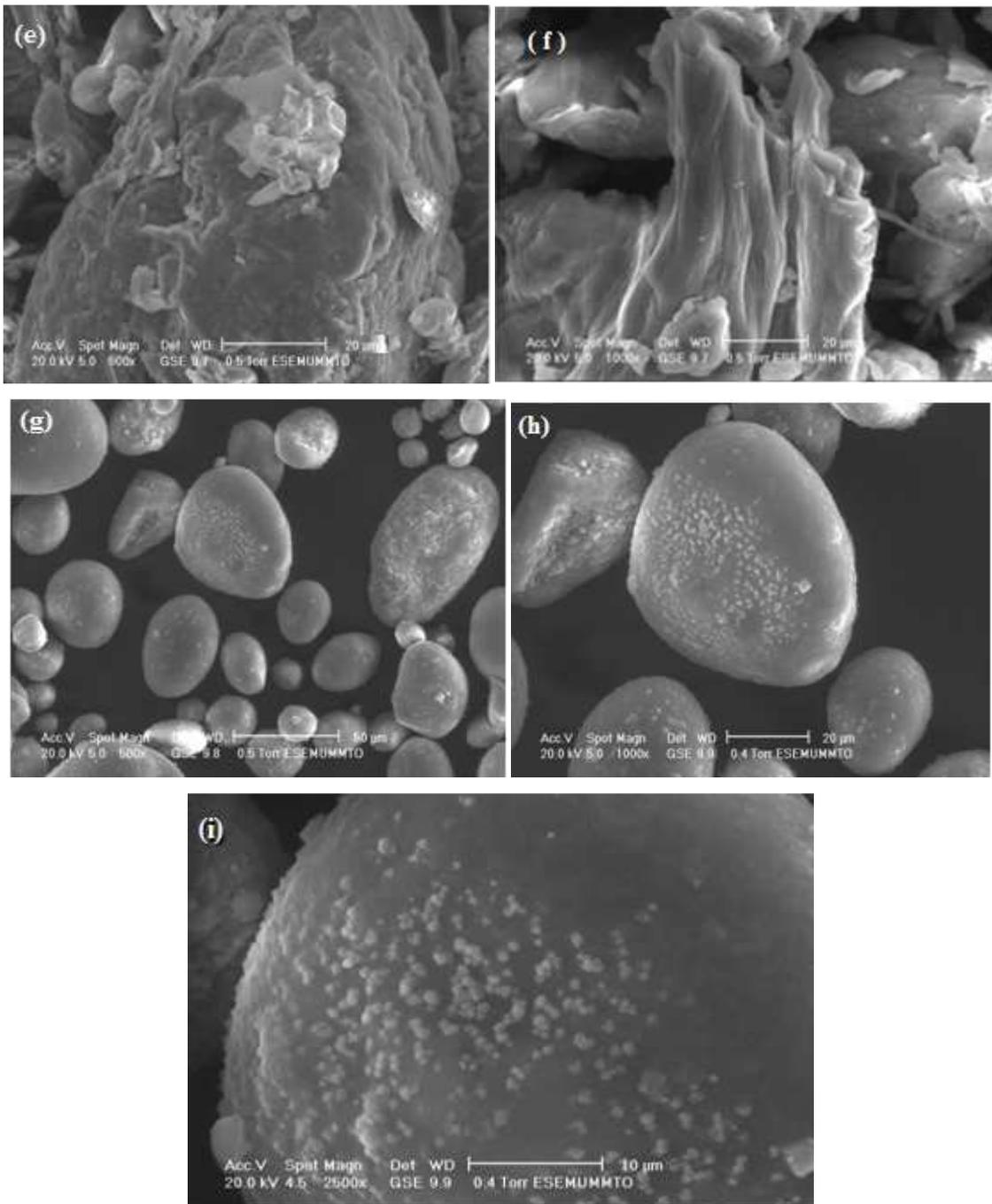


Figure 3.29. Microscopie électronique à balayage de l'APG et CMA à différentes concentration en NaOH : **(a)**APG , **(b)** CMA (DS 0.05, 10%NaOH), **(c)** CMA (DS 0.19, 20%NaOH) , **(d)** CMA (DS 0.34, 30%NaOH), **(e)** CMA (DS 0.28, 40%NaOH) , **(f)** CMA (DS 0.21, 50%NaOH), **(g,h)** CMA (DS 0.34, 30% NaOH) à 50μm et 20μm, **(i)** CMA (DS 0.34, 30% NaOH) à 10μm

3.4.7. Diagrammes de diffraction de rayons X de l'APG et du CMA

Les diagrammes de diffraction de l'APG ont indiqué des pics intenses mais pas tranchants à 15.3°, 17.2°, 18.3° et 23.5° (Figure 3.30-A). Ces résultats concordent avec ceux trouvés par d'autres auteurs [201], indiquant une structure amorphe de l'APG.

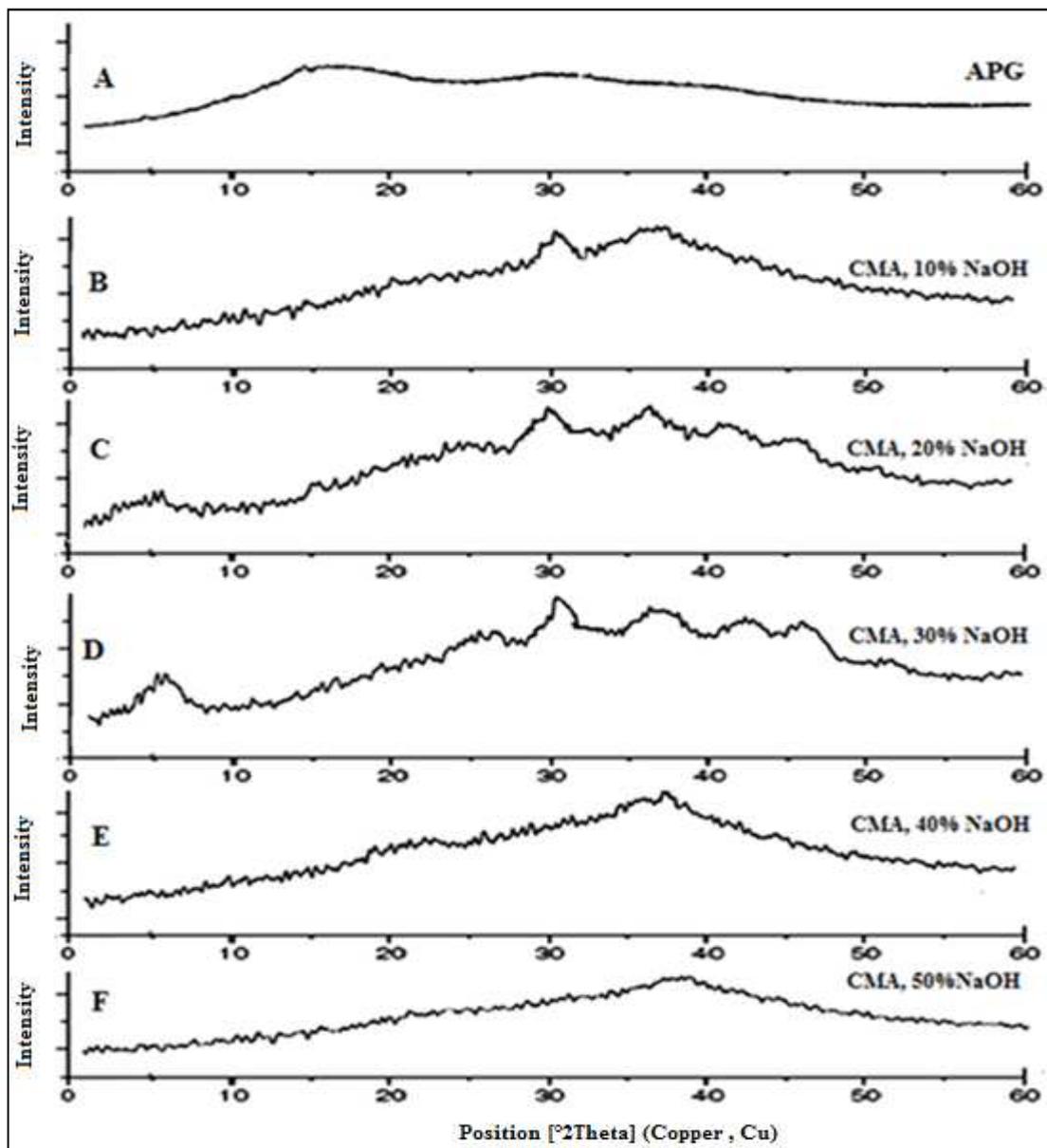


Figure 3.30. Spectres rayon X de l'APG et CMA à différentes concentrations en NaOH

Les diagrammes de diffraction de CMA ont indiqué des pics intenses et tranchants à 30.1°, 36.2°, 42.2° et 46.5° (Figure 3.30, B-F). Les sommets des

spectres de diffraction du CMA diminuent avec l'augmentation des concentrations en NaOH. Cela signifie que la cristallinité des échantillons est fortement diminuée avec une augmentation de la concentration en NaOH au cours de la réaction de carboxyméthylation. Ces résultats suggèrent que la perte de cristallinité est due à la rupture des granules d'amidon. Les résultats sont en accord avec les publications antérieures sur l'amidon d'igname Chinoise carboxyméthylé [196]. Cardoso et al. [201] ont étudié l'influence de concentrations alcalines sur la gélatinisation de l'amidon de riz. Ils ont constaté que les intensités de diffraction et de cristallinité de l'amidon de riz ont diminué ainsi qu'une perte de la morphologie des granules a été observée avec une augmentation des concentrations de NaOH. D'autre part, dans notre étude, le diagramme de diffraction des CMA a pratiquement disparu à des concentrations de NaOH supérieures à 40% (Figure 3.30-F).

3.4.8. Caractérisation pharmaco-technique du CMA

3.4.8.1. Densités vrac et après tassement

Les résultats des densités vrac et après tassement des différents lots de CMA obtenus lors de la modification de l'APG sont représentés dans le Tableau 3.10.

Les résultats montrent que les densités vrac et après tassement du CMA sont supérieures à celle de l'APG. Cela indique que lors du traitement chimique de l'APG, la structure du lit de poudre a été modifiée et le volume inter-granulaire a diminué. La densité après tassement du CMA augmente avec l'augmentation du DS. L'indice de compressibilité de l'APG est excellent ($CI < 15$), cela démontre une bonne fluidité de la poudre d'APG alors que le rapport d'Hausner ($HR < 1.2$) montre une mauvaise cohésion de la poudre d'où la nécessité d'ajouter un agent liant lors de l'utilisation de l'APG comme excipient pour comprimés. Les résultats du CMA montrent que le CI des différents lots étudiés diminue avec le DS. Le CI est compris entre ($20 < CI < 35$). En effet, le CI est de 27.27% lorsque le DS est de 0.05, et prend une valeur de 20.88% lorsque le DS est de 0.34. Les résultats indiquent que la poudre de CMA présente une bonne fluidité (moyenne). Le HR du CMA diminue avec l'augmentation du DS. Ainsi les valeurs de HR sont comprises entre ($1.2 < HR < 1.4$), cela signifie que le CMA présente des propriétés de cohésion moyenne mais meilleure que celle de l'APG. Ces résultats confirment que le CMA

peut être utilisé comme excipient de compression directe car la poudre présente des caractéristiques pharmaco techniques satisfaisantes.

Tableau 3.10. Caractérisation pharmaco technique du CMA

Poudre/polymère	DS	ρ_B (g/cm ³)	ρ_T (g/cm ³)	CI (%)	HR
APG	-	0.56± 0.16	0.59± 0.08	5.08 ± 0.61	1.05 ± 0.11
CMA1 (10% NaOH)	0.05	0.56± 0.09	0.77± 0.04	27.27 ± 1.72	1.37 ± 0.12
CMA2(20% NaOH)	0.19	0.68± 0.07	0.87± 0.03	21.83 ± 1.41	1.28 ± 0.11
CMA3 (50% NaOH)	0.21	0.68± 0.03	0.89± 0.09	23.60 ± 1.05	1.31 ± 0.12
CMA4 (40% NaOH)	0.28	0.70± 0.05	0.90± 0.04	22.22 ± 1.06	1.29± 0.10
CMA5 (30% NaOH)	0.34	0.72± 0.09	0.91± 0.61	20.88 ± 1.05	1.26 ± 0.11

3.4.9. Evaluation des propriétés rhéologiques du CMA

Les résultats de la variation de la viscosité apparente (η_{app}) de l'APG et du CMA en fonction de la vitesse de cisaillement (Figure 3.31) montrent que la viscosité apparente diminue en fonction de la vitesse de cisaillement. L'allure des courbes montre des comportements rhéofluidifiants pour tous les échantillons étudiés. Les échantillons de CMA présentent une viscosité apparente plus faible que celle présentée par l'APG aux mêmes vitesses de cisaillement. Par ailleurs, la viscosité apparente des échantillons de CMA diminue avec l'augmentation du DS.

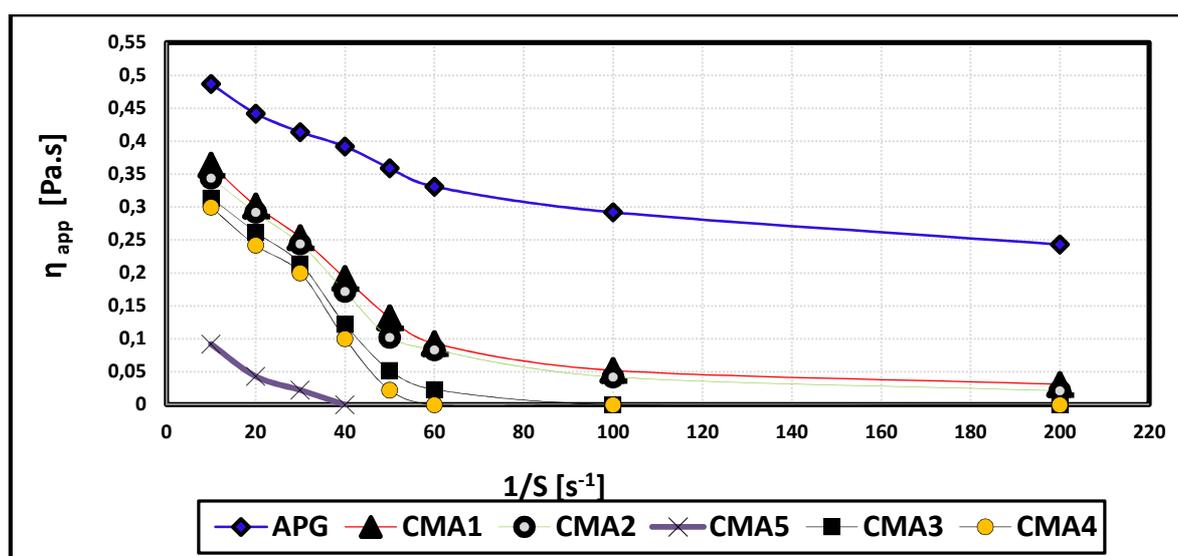


Figure 3.31. Viscosité apparente de l'APG et le CMA1 (DS 0.05), CMA2 (DS 0.19), CMA3 (DS 0.21), CMA4 (DS 0.28), CMA5 (DS 0.34)

3.4.10. Conclusion

La modification de l'APG a été réalisée par une réaction d'éthérisation. L'effet de la concentration en NaOH (10 à 50% p/v) sur le rendement, le degré de substitution (DS), et la morphologie du CMA ont été étudiés. Des concentrations croissantes en NaOH ont entraîné l'augmentation du DS jusqu'à 30%. Au-delà de cette concentration, le DS de CMA diminue. Les résultats de la MEB ont montré des granules de CMA lisses lorsque la concentration en NaOH est de 30%. Les spectres DRX ont montré que la cristallinité du CMA diminue avec l'augmentation de la concentration en NaOH. La poudre de CMA présente une bonne fluidité ainsi qu'une bonne cohésion, ce qui permet son utilisation comme excipient de compression directe.

3.5. MODIFICATION CHIMIQUE DU KAPPA CARRAGHENANE (KC)

3.5.1. Degré de substitution (DS)

Les principaux paramètres de la réaction ayant une incidence sur le procédé de la carboxyméthylation sont : la température de la réaction, le rapport du solvant organique à l'eau, le temps de la réaction, et le rapport molaire de l'hydroxyde de sodium (NOH) et de l'acide monochloroacétique (MCA) par rapport au KC [144]. Pour améliorer la réaction de carboxyméthylation, tout en minimisant la réaction secondaire indésirable (formation du glycolate de sodium à partir du MCA et NaOH), l'optimisation du procédé est nécessaire [203]. Il convient de noter que notre étude a porté sur l'influence des différents rapports molaires de MCA/KC (n_{MCA}/n_{KC}) sur le DS, tandis que les autres réactifs ont été maintenus constants. Les résultats obtenus lors des différentes synthèses effectuées avec différents rapports molaires (n_{MCA}/n_{KC}) sont résumés dans le Tableau 3.11.

Tableau 3.11. Résultats de la carboxyméthylation du KC

N°Lot	n_{MCA}/n_{KC}	DS	Rendement (%)
CMKC1	1	0.3	98.89
CMKC2	1.5	0.407	99.80
CMKC3	2	0.818	98.40
CMKC4	2.5	1.2	99.20
CMKC5	3	1.03	99.60

L'influence de la variation du rapport molaire (n_{MCA}/n_{KC}) sur le DS (Figure 3.32) montre que le DS varie de 0.3 à 1.20, lorsque le rapport (n_{MCA}/n_{KC}) varie de 1.0 à 3.0. Le DS augmente avec l'augmentation du rapport (n_{MCA}/n_{KC}), ce qui suggère que la formation de CMKC est favorisée lorsque le rapport (n_{MCA}/n_{KC}) est de l'ordre de 2.5. Cependant, quand le rapport n_{MCA}/n_{KC} atteint une certaine valeur (>2.5), le DS diminue. Cela peut être expliqué par le fait que pendant le processus de carboxyméthylation, le NaOH assure un milieu alcalin pour la réaction, mais aussi sert comme agent de gonflement pour faciliter la diffusion et la pénétration de l'agent l'éthérification (MCA). Ainsi, plus (n_{MCA}/n_{KC}) augmente, plus la quantité de NaOH présente dans le milieu réactionnel sera utilisée, et quand cette quantité devient insuffisante la réaction opère mais avec un DS moindre [204]. Plus la quantité de MCA est élevée, moins le NaOH réagira avec le KC, Donc un rapport trop élevé en (n_{MCA}/n_{KC}) conduit à un DS inférieur. Le rendement des différentes réactions de carboxyméthylation est pratiquement constant, variant entre 98.4 et 99.8%. La réaction correspondant au DS=1.2 présente un rendement de 99.2%.

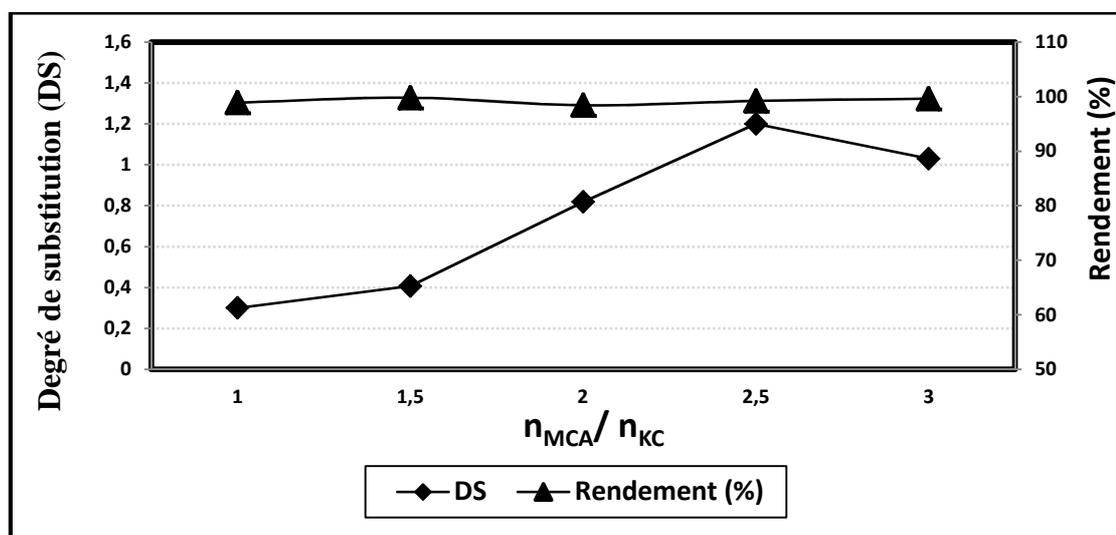


Figure 3.32. Variation du DS et du rendement de la réaction d'éthérification du KC en fonction du rapport molaire (n_{MCA}/n_{KC})

3.5.2. Caractérisation du CMKC par FTIR

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier a été utilisée pour confirmer l'efficacité de la synthèse. Les spectres FTIR de KC et du CMKC sont présentés dans les Figures 3.33 et 3.34. Dans la Figure 3.33, on note la présence des bandes caractéristiques de base du KC. Les bandes à 1265 cm^{-1} et 844 cm^{-1}

sont attribués respectivement à la vibration symétrique des groupements $O=S=O$ et à la vibration d'allongement de $-O-SO_3$ au niveau de C_4 du résidu β -D-galactose. La bande à 930 cm^{-1} correspond aux vibrations de $C-O-C$ du résidu 3,6-anhydro-D-galactose [205]. Les bandes autour de 1068 cm^{-1} , 2923 cm^{-1} et 3425 cm^{-1} correspondent aux vibrations des liaisons $C-O$, $C-H$ et $O-H$ respectivement [206]. La bande intense à 1647 cm^{-1} est liée à la vibration de déformation de la structure de l'eau [207].

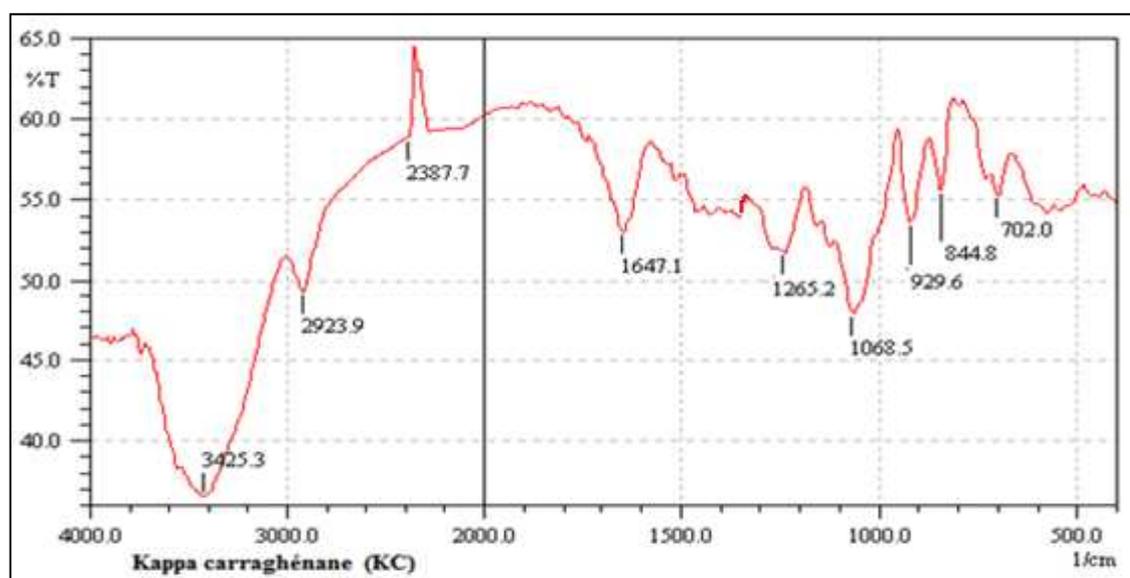


Figure 3.33. Spectre FTIR du Kappa carraghénane (KC)

La Figure 3.34 correspond au spectre FTIR du CMKC. L'intensité de chaque groupement fonctionnel a considérablement changé. L'intensité de la bande correspondant à 1324 cm^{-1} est caractéristique des groupements $-CH_2$ contenu dans les groupements Carboxyméthyl substitués [208]. Les nouvelles bandes typiques d'absorption autour de 1604 cm^{-1} et 1424 cm^{-1} , correspondent aux vibrations d'allongement symétrique et asymétrique des groupements carboxyliques ($-COO-$) [206,207].

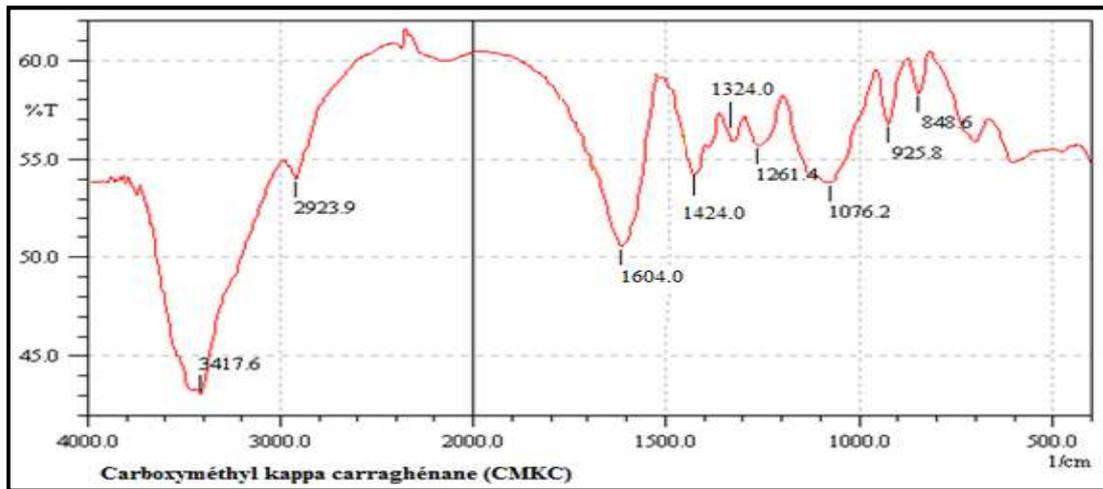
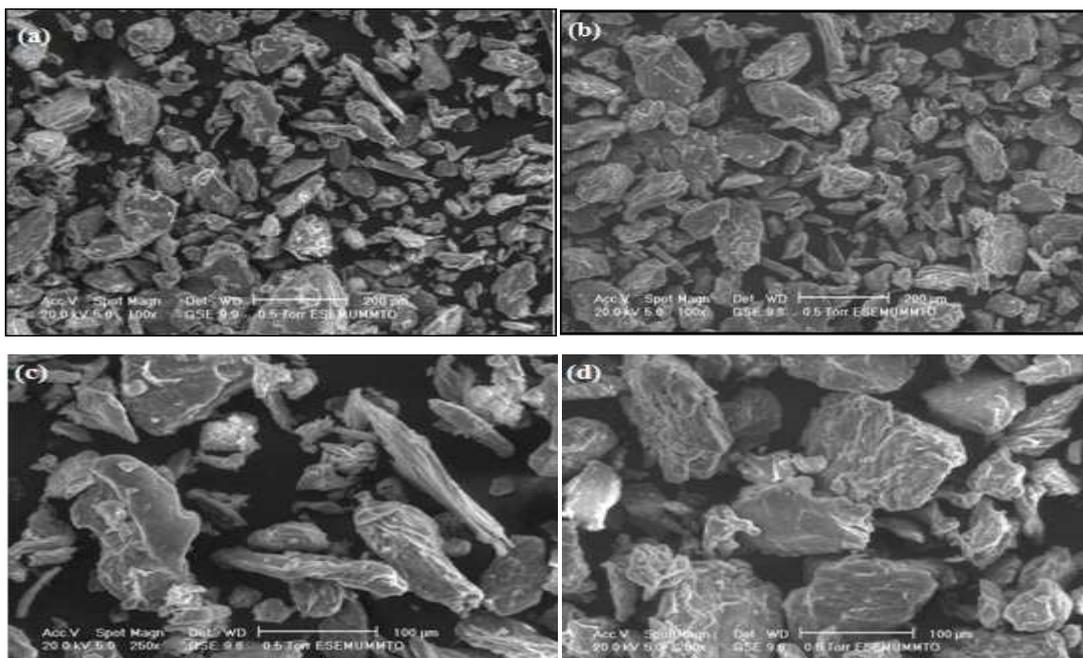


Figure 3.34. Spectre FTIR du Kappa carraghénane modifié (CMKC)

3.5.3. Morphologie des grains de KC et du CMKC

La morphologie des granules de KC et CMKC a été déterminée par MEB. La Figure 3.35 (a-i) montre la morphologie et la structure du KC et CMKC à différentes échelles (allant de 200 μm à 10 μm). Les images MEB indiquent un changement significatif entre la structure des grains de KC et ceux de CMKC. Le KC présente une structure de grain lisse sous formes de bâtonnets homogènes. La structure du CMKC présente une forme modifiée par rapport au KC, avec une surface rugueuse et un aspect spongieux avec l'apparition de cluster et une forme poreuse et spongieuse de la surface du grain. Cela apparait surtout à des échelles de grossissement de 20 et 10 μm (Figure 3.35 (g-i)).



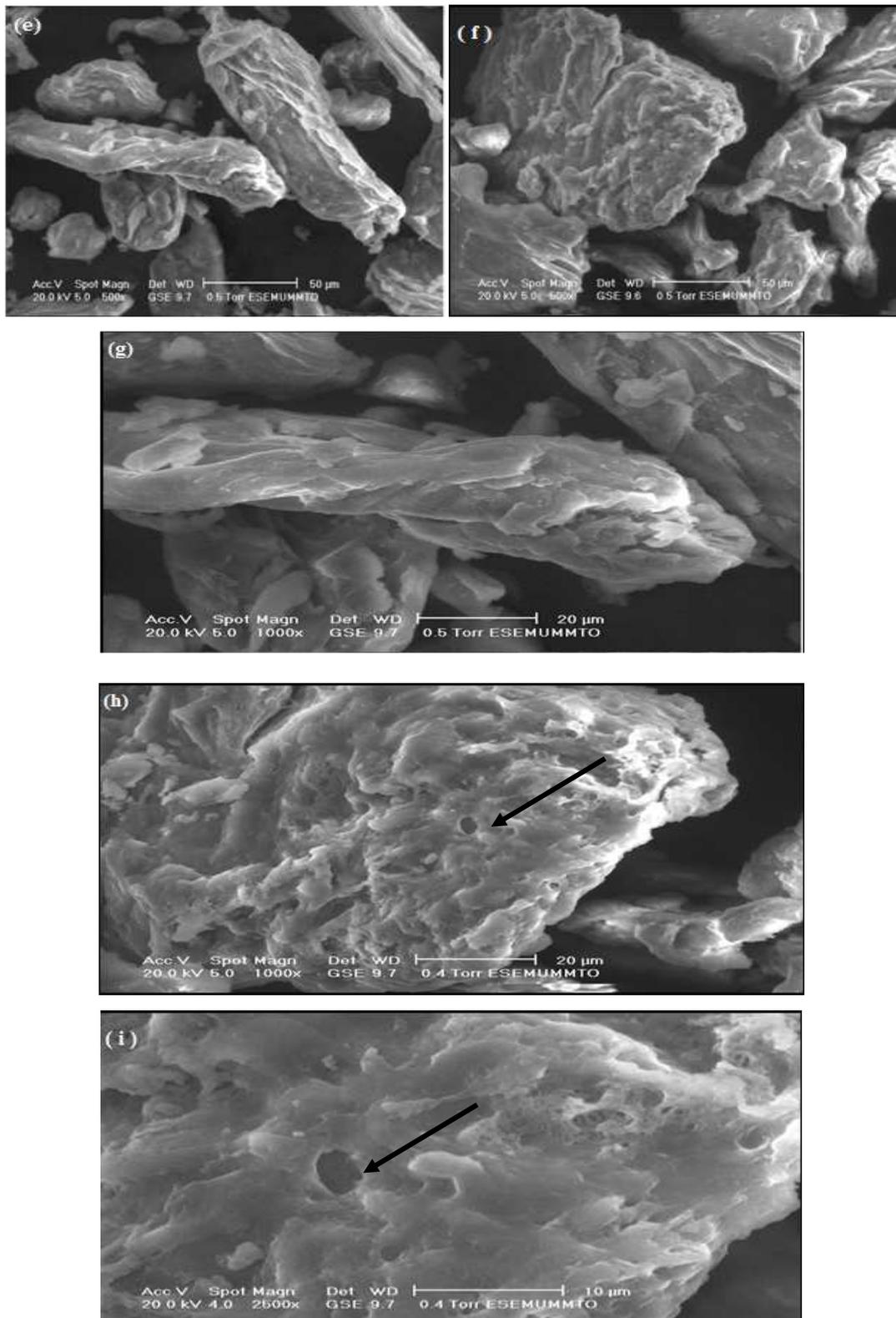


Figure 3.35. Microscopie électronique à balayage des échantillons de KC et CMKC sous différentes échelles (200 à 10 μ m) : **(a)** KC (200 μ m), **(b)** CMKC (200 μ m), **(c)** KC (100 μ m), **(d)** CMKC (100 μ m), **(e)** KC (50 μ m), **(f)** CMKC (50 μ m), **(g)** KC (20 μ m), **(h)** CMKC (20 μ m), **(i)** CMKC (10 μ m)

3.5.4. Diagrammes de diffraction de rayons X (DRX) de KC et CMKC

Les spectres DRX de KC et CMKC (Figure 3.36) ont révélé des composés amorphes, avec des pics intenses entre $2\theta = 18.2^\circ$ et 22.5° pour le KC. Ces résultats sont retrouvés lors d'études préalables [148]. Un examen du motif des spectres DRX du CMKC a révélé plusieurs pics émergents et tranchants mais moins intenses que ceux du KC aux environs de $2\theta = 20.5^\circ$. Ces pics correspondant au CMKC, diminuent d'intensité avec l'augmentation du rapport molaire de (n_{MCA}/n_{KC}) et par conséquent du DS.

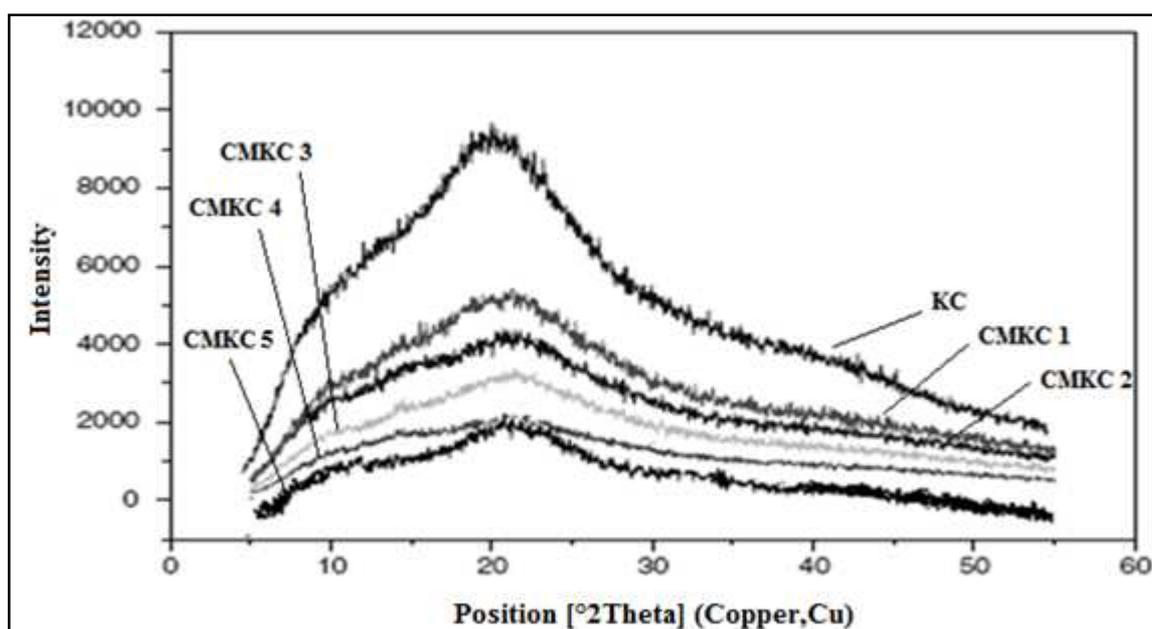


Figure 3.36. Diagrammes de diffraction des rayons X du KC et CMKC de différents DS

3.5.5. Evaluation de la viscosité apparente

Les résultats de l'étude de la viscosité du KC et CMKC (Figure 3.37) montrent que la viscosité apparente (η_{app}) de tous les échantillons de CMKC étudiés diminue en fonction de la vitesse de cisaillement. Les échantillons de CMKC présentent des valeurs de viscosité apparente plus faibles que celles de l'échantillon de KC. La viscosité apparente du CMKC diminue avec l'augmentation du DS. Ces résultats confirment que la modification du KC a induit une modification de la structure moléculaire interne de la molécule. Cela apparaît dans les gels de CMKC qui présentent une viscosité moins importante que celle du KC à la même concentration (1%). La résistance des gels aux déformations

appliquées est différente. Ceci peut être attribué à la modification de la conformation de la double hélice du KC qui a due être altérée ou rompue lors de la modification chimique [145].

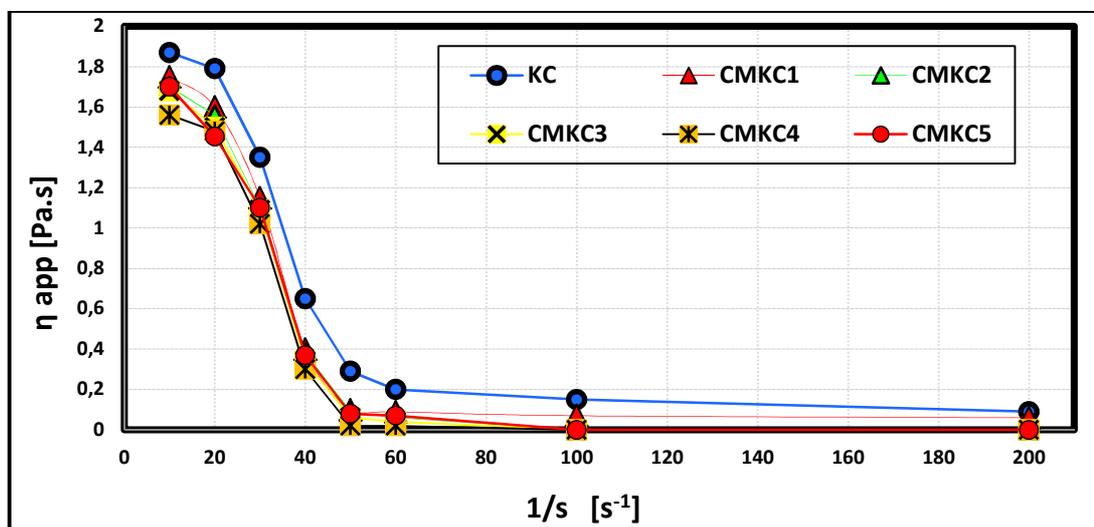


Figure 3.37. Viscosité apparente du KC et CMKC

Lors de la préparation des solutions gélifiées à 1% pour les études de la viscosité apparente, on a remarqué que la solubilité du CMKC est meilleure dans l'eau distillée que la solubilité du KC. L'aspect des gels préparés à base des deux biopolymères est différent. En effet, les gels à base de KC sont plus durs et montrent un phénomène de synérèse au bout de quelques heures de préparation et mise au repos. Tandis que les gels à base de CMKC sont moins consistants et plus transparents et ne montrent aucun phénomène de synérèse. Le CMKC ne forme pas de gel aussi rigide et résistant que le KC. Cela peut être expliqué par le fait qu'avec l'augmentation des groupements carboxyméthyle (CM), la gélification du produit diminue. Ceci montre que les groupements (CM) affectent le profil de gélification de KC en conférant un encombrement stérique à la chaîne régulière de KC, interférant avec la transition conformationnelle et l'agrégation du polymère pour former un gel. Ce même phénomène a été observé dans des études précédentes [145]. La forme gel du CMKC est conservée grâce à la présence des ions potassium présents initialement dans la molécule de KC. En effet, en présence d'ions K^+ , la gélification est produite en tant que résultat de l'agrégation des chaînes du polymère par la formation de ponts entre les groupements (CM) [145].

3.5.6. Propriétés physiques du CMKC

Les résultats de la densité apparente et réelle, le volume des pores et la porosité mesurés pour le KC et CMKC sont rassemblés dans le Tableau 3.12. On remarque que la densité apparente du CMKC a augmenté par rapport à celle du KC, alors que la densité réelle a diminué. Le volume des pores et la porosité du CMKC ont augmenté en les comparant avec les résultats des échantillons de KC. Ces résultats confirment la modification de la morphologie des grains constituant le CMKC après la modification chimique.

Tableau 3.12. Propriétés physiques de KC et CMKC

Produits	Densité apparente, d_0 (g/ml)	Densité réelle, d (g/ml)	volume pores, V_p (ml/g)	Porosité, ϕ
KC	0.57	0.91	0.321	0.835
CMKC1	0.59	0.89	0.541	1.376
CMKC2	0.62	0.73	0.542	1.130
CMKC3	0.68	0.70	0.524	1.048
CMKC4	0.73	0.67	0.509	1.003
CMKC5	0.70	0.69	0.545	1.074

3.5.7. Capacité d'absorption et de rétention de l'humidité

Les propriétés d'absorption et de rétention d'humidité des échantillons secs et humides de KC et CMKC ont été examinées et comparées à celles de l'acide hyaluronique (HA). Les échantillons de CMKC présentent des valeurs plus importantes de la capacité d'absorption ($R\alpha$) et de la capacité de rétention d'humidité (R_h) par rapport aux valeurs données par le KC (Tableau 3.13). Cela indique que l'introduction de groupements (CM) sur les chaînes polymériques du KC est un moyen pratique et efficace d'accroître ($R\alpha$) et (R_h) du produit initial (Figure 3.38). Il apparaît que sous haute conditions d'humidité relative (RH 81% et 32%), les molécules d'eau sont plus accessibles à la surface des résidus galactosyles et développent facilement des interactions pour la formation de liaisons hydrogènes avec les molécules des chaînes formant le CMKC. Par conséquent, les molécules d'eau s'insèrent entre les chaînes polymériques et

donnent naissance à un réseau étendu [209]. Tous les échantillons humides de CMKC libèrent lentement l'eau dans les milieux secs (en gel de silice).

Tableau 3.13. Capacité d'absorption et de rétention d'humidité du CMKC

Echantillons	DS	$R\alpha$ %		Rh %
		$RH(81\%)$	$RH(32\%)$	
KC	-	6.30	2.98	13.83
CMKC1	0.3	31.02	10.73	30.83
CMKC2	0.407	39.11	14.17	45.70
CMKC3	0.818	44.54	18.54	56.32
CMKC4	1.2	51.23	20.34	66.32
CMKC5	1.03	42.26	17.76	56.43
AH	-	56.2	24.8	72.8

Si on interprète ces résultats selon le comportement d'un réseau polymérique ou la plupart des chaînes moléculaires sont liées par des liaisons hydrogène intermoléculaires pour former la structure du réseau, cela implique que les molécules d'eau seront retenues à l'intérieur des réseaux formés par le CMKC plus facilement, et que ces dernières diffusent difficilement vers l'environnement extérieur [210].

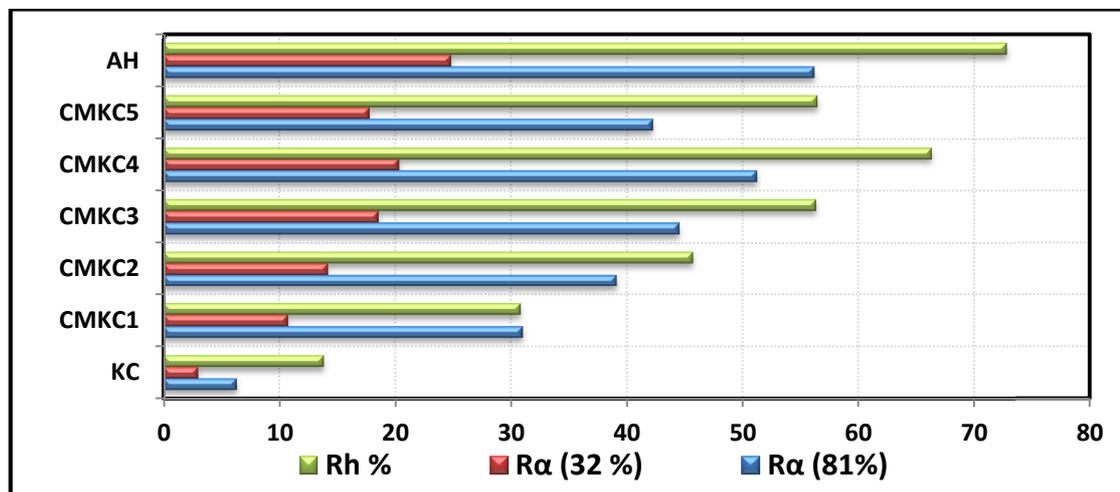


Figure 3.38. Capacité d'absorption et de rétention d'humidité du KC et CMKC

L'augmentation du DS augmente $R\alpha$ et Rh du CMKC (Figure 3.39). Ceci peut être expliqué par l'augmentation du nombre de groupements CM sur les chaînes polymérique du KC, les liaisons hydrogène entre l'eau et les groupements $-COOH$ augmentent en conséquence, ce qui contribue à lier une grande quantité d'eau

[211]. Ces résultats sont en accord avec des travaux précédents portant sur la carboxyméthylation du KC [209-212]. Bien que les valeurs de $R\alpha$ et Rh de CMKC étaient plus faible que celle de HA, ce dérivé carboxyméthylé a le potentiel pour être utiliser comme excipient dans le rôle d'agent de rétention dans les matrices polymériques pour la libération prolongée des PA médicamenteux.

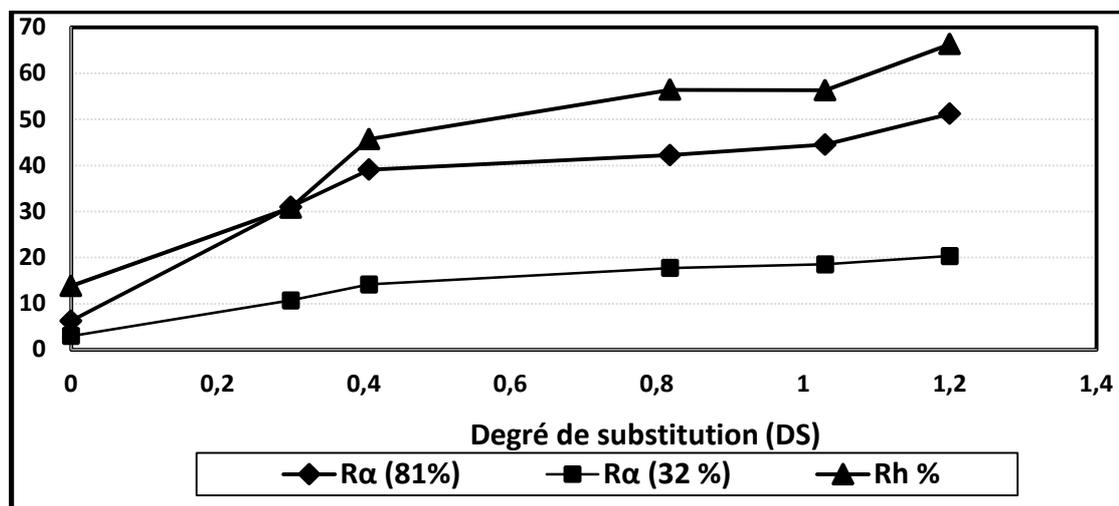


Figure 3.39. Variation de la capacité d'absorption et de rétention d'humidité en fonction du DS du CMKC

3.5.8. Mesures viscosimétriques et estimation de la masse moléculaire (M_w)

La masse moléculaire moyenne (M_w) est déterminée par Viscosimétrie (Figure 3.40). L'extrapolation des droites obtenues donne la valeur de la viscosité intrinsèque de chaque type de CMKC.

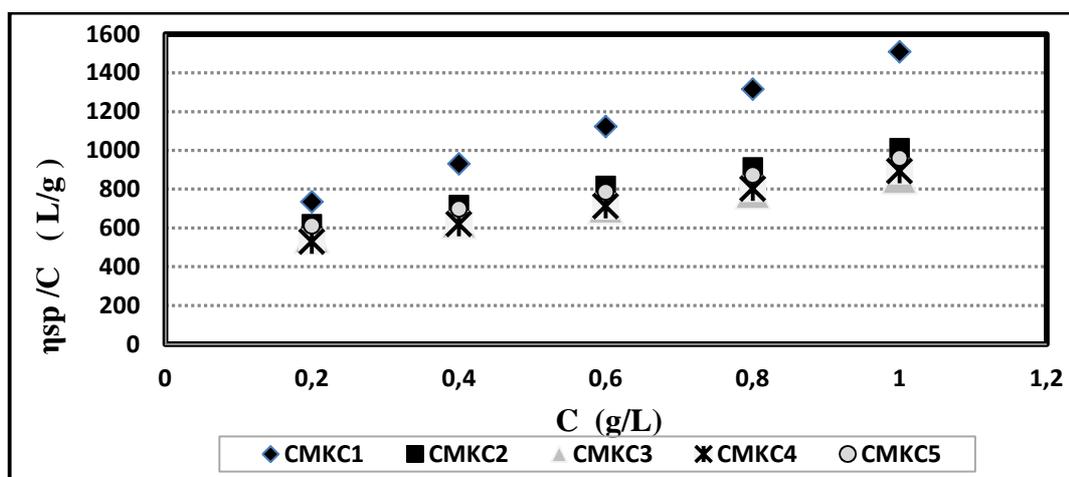


Figure 3.40. Variation de la viscosité spécifique en fonction de la concentration en CMKC

Les résultats de viscosité intrinsèque obtenus, le coefficient de corrélation (R^2) ainsi que la masse moléculaire moyenne pour chaque échantillon de CMKC sont regroupées dans le Tableau 3.14. Les masses moléculaires moyenne du CMKC varient entre 2.89×10^5 et 3.72×10^5 .

Tableau 3.14. Viscosité intrinsèque et masse moléculaire des CMKC

Paramètres	CMKC1	CMKC2	CMKC3	CMKC4	CMKC5
R^2	0.986	0.945	0.912	0.912	0.899
$[\eta]$ (ml/g)	5.46×10^2	5.25×10^2	4.83×10^2	4.39×10^2	5.26×10^2
Mw (g/mole)	3.72×10^5	3.56×10^5	3.23×10^5	2.89×10^5	3.57×10^5

En comparant la masse moléculaire moyenne du KC qui est égale à 3.85×10^5 g/mol, on trouve que la masse moléculaire moyenne du CMKC diminue en fonction de l'augmentation du DS. La Figure 3.41 illustre la variation de la masse moléculaire du CMKC à différents degrés de substitution.

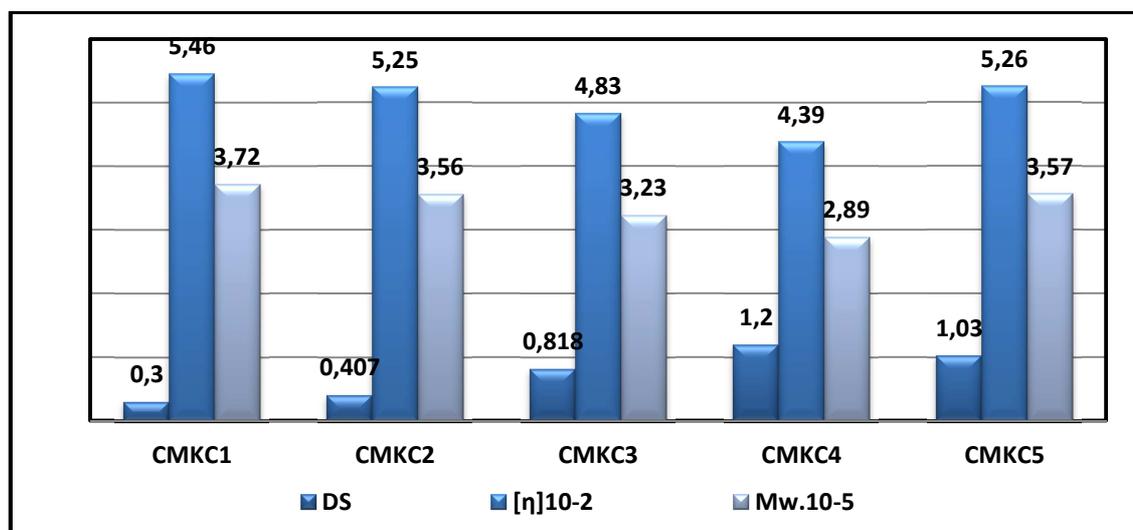


Figure 3.41. Viscosité intrinsèque, DS et masse moléculaire de CMKC

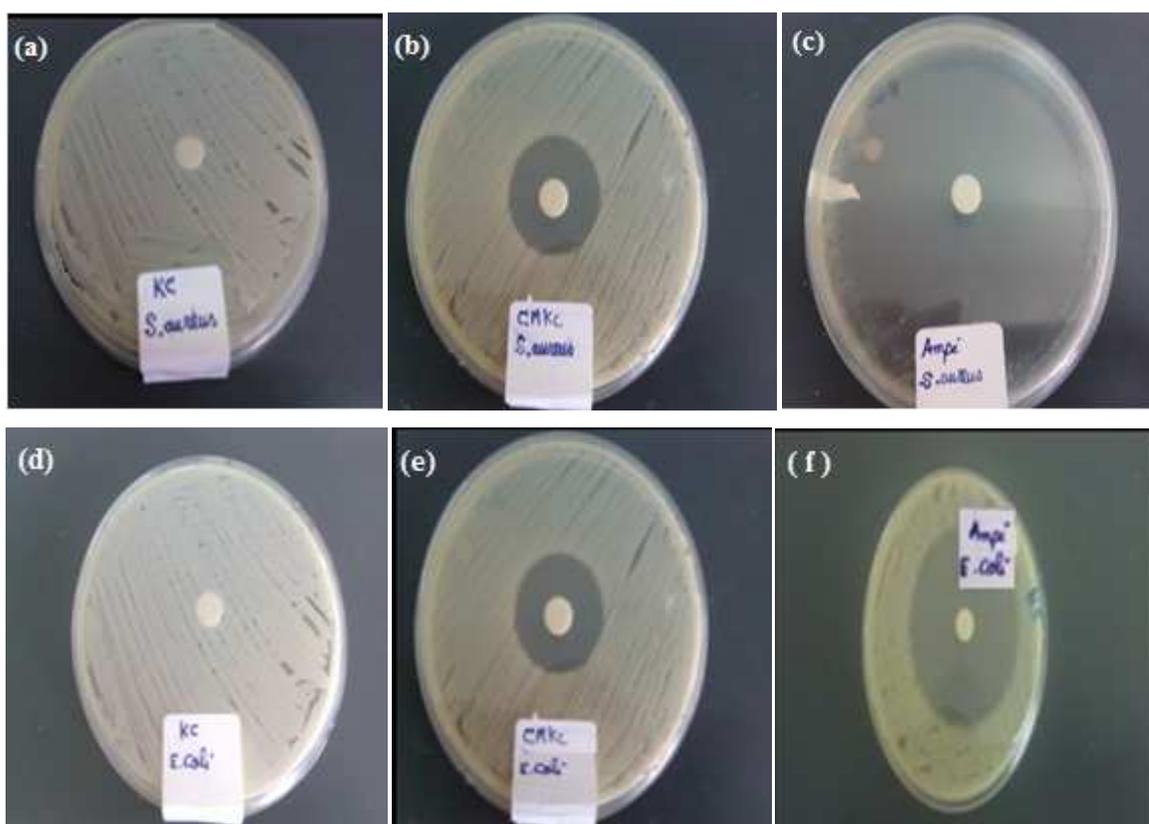
3.5.9. Résultats de l'activité antibactérienne du CMKC

L'effet antibactérien du KC et CMKC avec différents DS ont été étudiés (Tableau 3.15). L'activité antimicrobienne des échantillons est étudiée en comparant les dimensions des zones d'inhibition (ZI).

Tableau 3.15. Résultats de l'activité antibactérienne de KC et CMKC

Echantillons	DS	Dimensions des zones d'inhibition (mm)	
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
KC	-	0	0
CMKC1	0.3	1.32	0.90
CMKC2	0.407	1.68	1.85
CMKC3	0.818	3.84	3.50
CMKC4	1.2	4.60	4.52
CMKC5	1.03	4.05	3.45
Ampicilline	-	7.0	10.0

A partir des résultats obtenus, la ZI du KC n'est pas visible. Les résultats obtenus ont clairement indiqué que le KC n'a pas d'activité antibactérienne, ce qui est en concordance avec des travaux précédents [212].

**Figure 3.42.** Résultats des zones d'inhibition de KC et CMKC

(a) : zone d'inhibition du KC sur *S.aureus* ; (b) : zone d'inhibition du CMKC sur *S.aureus* ; (c) : zone d'inhibition de l'Ampicilline sur *S.aureus* ; (d) : zone d'inhibition du KC sur *E. coli* ; (e) : zone d'inhibition du CMKC sur *E. coli* ; (f) : zone d'inhibition de l'Ampicilline sur *E. coli*.

Les échantillons de CMKC avec différents DS ont montré des propriétés antimicrobiennes avec différentes zones d'inhibition allant de 1.2 à 3.9 mm. Le CMKC présente une importante propriété antimicrobienne contre *E. coli* et *S. aureus* (Figure 3.42). L'activité antibactérienne des CMKC augmente avec l'augmentation du DS, Selon les résultats expérimentaux obtenus, on peut conclure que l'introduction de groupes (CM) dans le KC génère une activité antibactérienne.

3.5.10. Conclusion

La fonctionnalisation du kappa-carraghénane (KC) a été réalisée avec succès via le procédé de carboxyméthylation pour produire un polymère modifié (CMKC). Les dérivés carboxyméthylés ont été obtenus avec des taux de rendement allant de 98.89 à 99.8%. Les différents DS de CMKC obtenus varient de 0.3 à 1.2. Un rapport optimal molaire de (n_{MCA}/n_{KC}) de 2.5 a donné un DS optimal de 1.2.

Le CMKC obtenu a été caractérisé par FTIR confirmant la réaction de carboxyméthylation en identifiant les bandes caractéristiques de la fonction carboxyméthyle. Une modification de la morphologie et de la cristallinité du CMKC après la synthèse réalisée a été confirmée par des analyses par MEB et DRX. Le CMKC a montré une grande capacité d'absorption et de rétention ainsi qu'une activité antibactérienne. Cela nous permet d'utiliser le CMKC comme excipient pour la mise au point d'une matrice hydrophile bioadhésive assurant une bonne rétention et une libération prolongée de principes actifs.

3.6. SYNTHÈSE ET CARACTÉRISATION D'UN COMPLEXE POLYELECTROLYTE POUR COMPRIMÉS BIOADHÉSIFS

3.6.1. Introduction

Les forces entre polyélectrolytes sont construites grâce aux interactions électrostatiques entre des groupements chargés portés par les polyélectrolytes. Les charges des polyélectrolytes présents dans les polymères chargés, mais pas encore appariés, sont compensées par des contre-ions provenant du solvant. Lorsque les deux polymères entrent en interaction, les contre-ions sont expulsés et les groupements chargés des polymères s'associent. [213].

Ce réseau de polymères, réticulé par des interactions électrostatiques, peut être considéré comme stable si les conditions environnementales ne changent pas drastiquement. La chimie des polymères, ainsi que la nature des groupements chargés et leur densité déterminent la force avec laquelle le polymère interagit avec son partenaire. La présence de groupements hydrophobes et de groupements générateurs de liaisons hydrogènes peuvent aussi influencer leur propriétés [214]. La manière dont les polymères et en particulier leurs groupements chargés s'organisent dans le complexe polyélectrolyte (PEC) dépend de l'appariement des polymères à l'intérieur du système. La Figure 3.43 représente le schéma proposé lors de la formation du PEC entre le CMKC et l'Eudragit® RL (ERL).

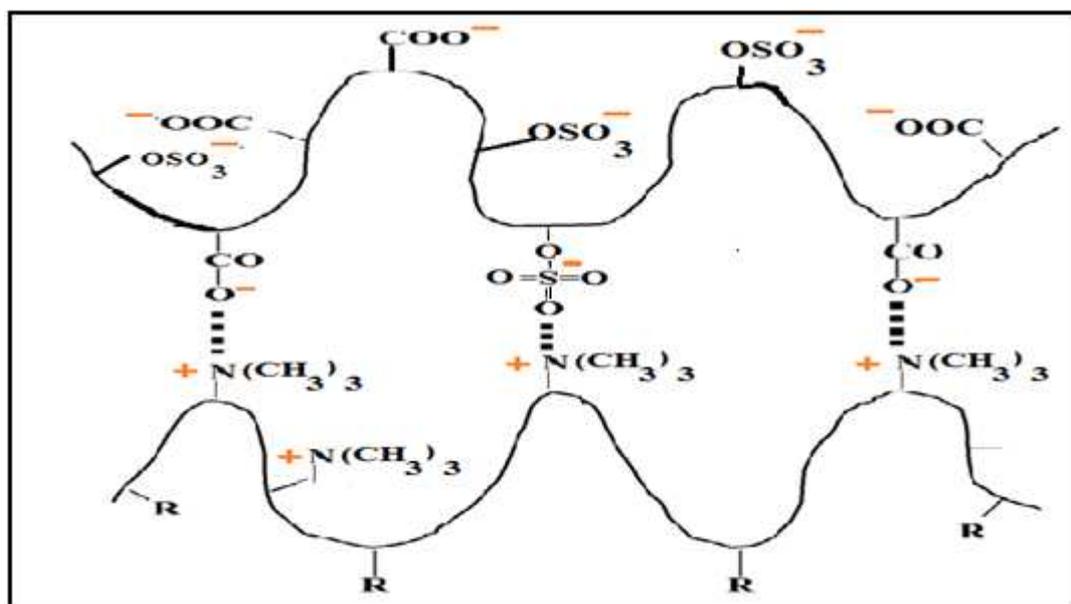


Figure 3.43. Représentation schématique de l'interaction ionique entre ERL et CMKC, R représente le monomère non ionisé de l'ERL

3.6.2. Mesure de la turbidité des mélanges de polymères

Les mesures de turbidité ont été initialement utilisées pour étudier la formation du PEC. La courbe de variation de la turbidité en fonction de différents rapports massiques d'ERL et CMKC (Figure 3.44) est déterminée selon l'ordre de mélange des polyélectrolytes.

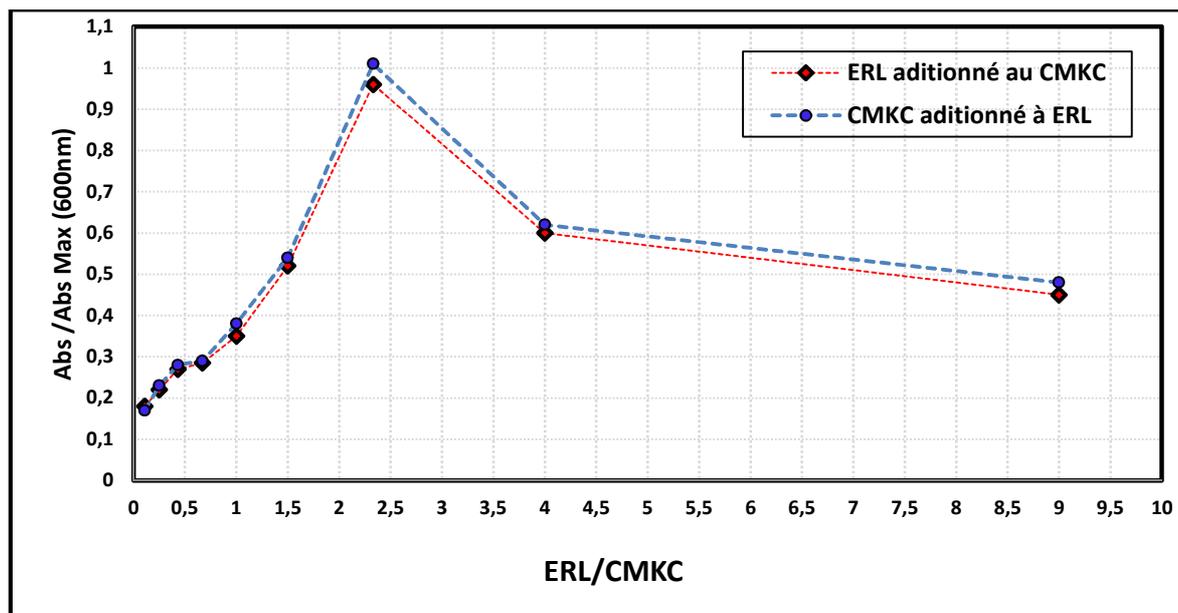


Figure 3.44. Turbidité du système ERL/CMKC en fonction de la composition du mélange et l'ordre de mélange

La valeur maximale de la turbidité a été trouvée pour un rapport massique de d'ERL/ CMKC de (7/3), indiquant en ce point une quantité équivalente des deux polymères ayant réagi. La similitude des deux courbes et l'apparition d'un même point maximum de turbidité confirme que la composition du PEC est indépendante de l'ordre de mélange [215]. L'ajout d'un excès d'ERL a conduit à une diminution de la turbidité en raison de la précipitation et de la ségrégation du PEC formé.

3.6.3. Mesure de la viscosité spécifique des mélanges de polymères

La Figure 3.45 montre la variation de la viscosité spécifique du surnageant en fonction de la variation du rapport massique ERL/CMKC. La viscosité spécifique diminue progressivement avec l'augmentation du rapport ERL/CMKC jusqu'à atteindre un minimum à un rapport de 2.33, au-delà duquel la viscosité commence à augmenter. La viscosité spécifique minimale est le résultat d'une réaction optimale entre les polymères conduisant à une plus grande utilisation des molécules libre de polymère pour la formation de complexes insolubles [216], et ainsi laissant un surnageant avec le moins de polymère dissous (polymères libres).

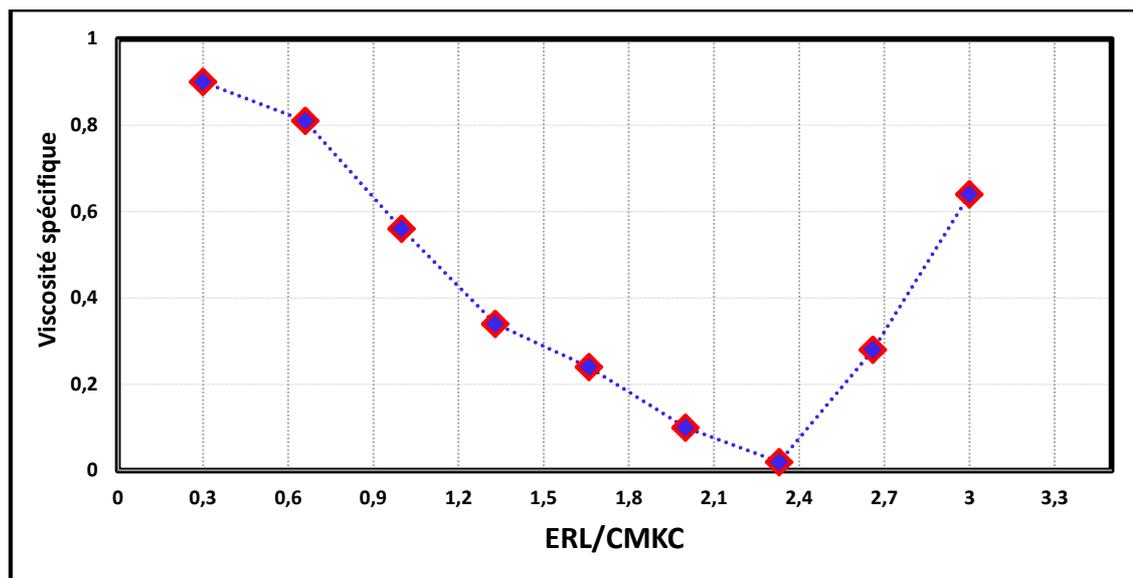


Figure 3.45. Viscosité spécifique du surnageant du système ERL /CMKC

3.6.4. Caractérisation du PEC par FTIR

Le spectre de l'ERL montre les bandes caractéristiques des groupes esters à 1020, 1149 et 1243 cm^{-1} (Figure 3.46-a). Le groupement C=O ester présente des vibrations à 1734 cm^{-1} . En outre, les vibrations à 1388 et 1466 cm^{-1} peuvent être discernées à des groupements CH_x et les bandes à 2993, 2955 et 3447 cm^{-1} peuvent être affectés aux groupes triméthylamine.

Le spectre de CMKC (Figure 3.46-b) a montré différents pics distincts. Les bandes typiques d'absorption autour de 1602 et 1420 cm^{-1} , correspondent aux vibrations d'allongement symétrique et asymétrique des groupements carboxyliques (-COO-) [206,207]. Les bandes à 1248 et 846 cm^{-1} sont attribuées respectivement à la vibration symétrique des groupements O=S=O et à la vibration d'allongement de -O-SO₃ au niveau de C₄ du résidu β -D-galactose. La bande à 926 cm^{-1} correspond aux vibrations de C-O-C du résidu 3,6-anhydro-D-galactose [205].

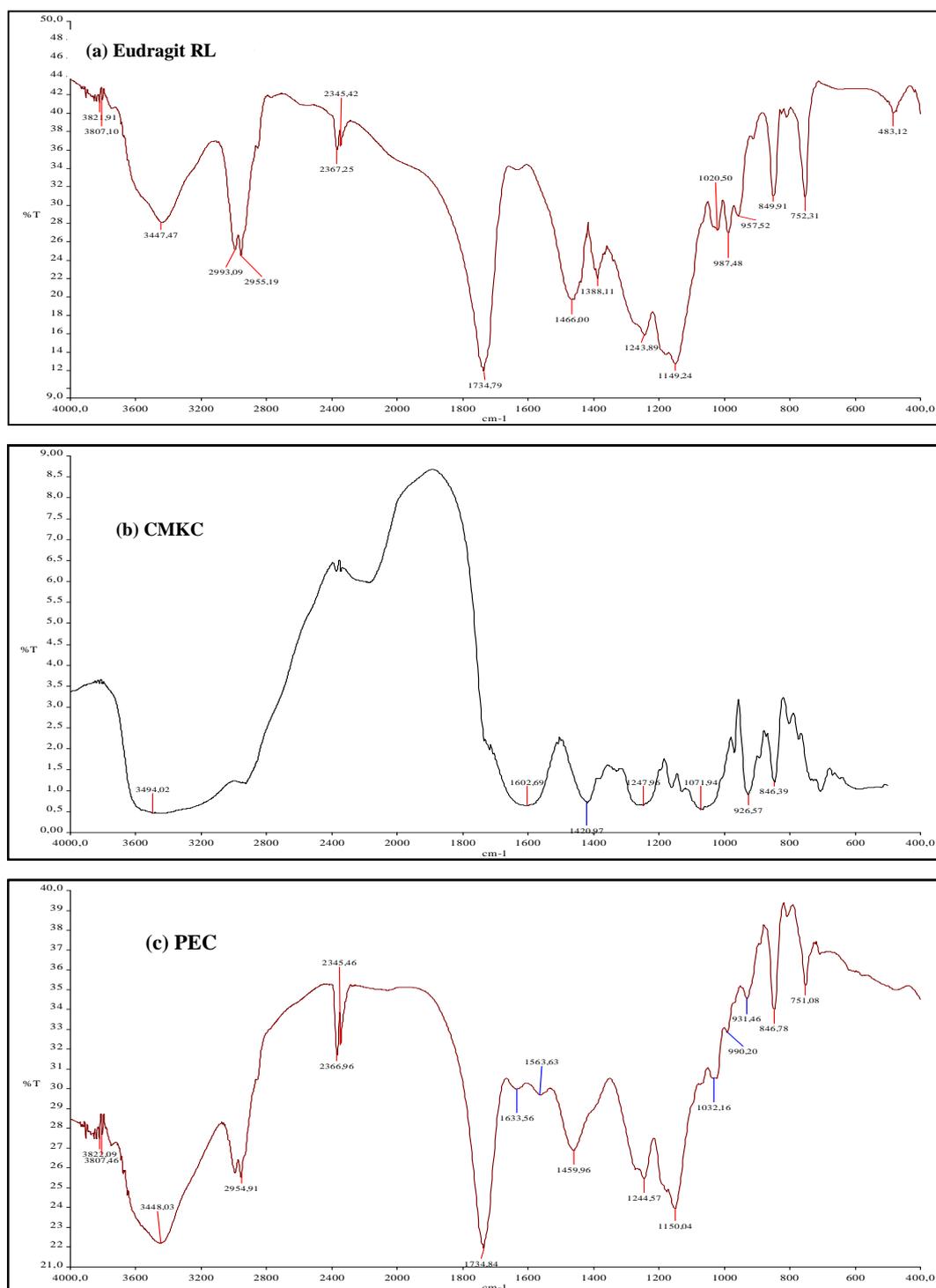


Figure 3.46. Spectres FTIR de (a) ERL, (b) CMKC, (c) PEC

Le spectre de PEC (Figure 3.46-c) présente un nouveau pic à 1244 cm⁻¹. Ce nouveau groupe est différent de S=O de CMKC (à 1248 cm⁻¹) et plus intense. En conséquence, on peut émettre l'hypothèse que la complexation de CMKC avec ERL se produit par interaction électrostatique entre les groupes sulfate de CMKC et les groupes triméthylamine d'ERL traduit par un déplacement du groupe ester

sulfate de CMKC avec une intensité plus élevée de la bande correspondante. L'apparition de nouvelles bandes à 1633cm^{-1} et 1563cm^{-1} est le résultat de nouvelles liaisons formées par le PEC entre les groupements $(-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3)$, et $(-\text{COO}^-)$. Ces bandes d'absorption sont absentes dans les spectres de CMKC et ERL. Cela confirme la formation d'un complexe polyélectrolyte entre ERL et CMKC.

3.6.5. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La morphologie et la structure de l'ERL fait paraître une forme rugueuse mais pas spongieuse (Figure 3.47-a) avec une surface cristalline et non poreuse. La structure du CMKC présente une surface rugueuse et un aspect spongieux avec l'apparition de cluster et une forme poreuse de la surface du grain (Figure 3.47-b). Les images MEB indiquent un changement significatif entre la structure des grains de CMKC, d'ERL et ceux du PEC formé. En effet, la structure du PEC paraît avoir une forme de bâtonnets uniformes (Figure 3.47-c). En observant l'image à $20\mu\text{m}$, la surface paraît uniforme avec présence de strie sur les grains (Figure 3.47-d).

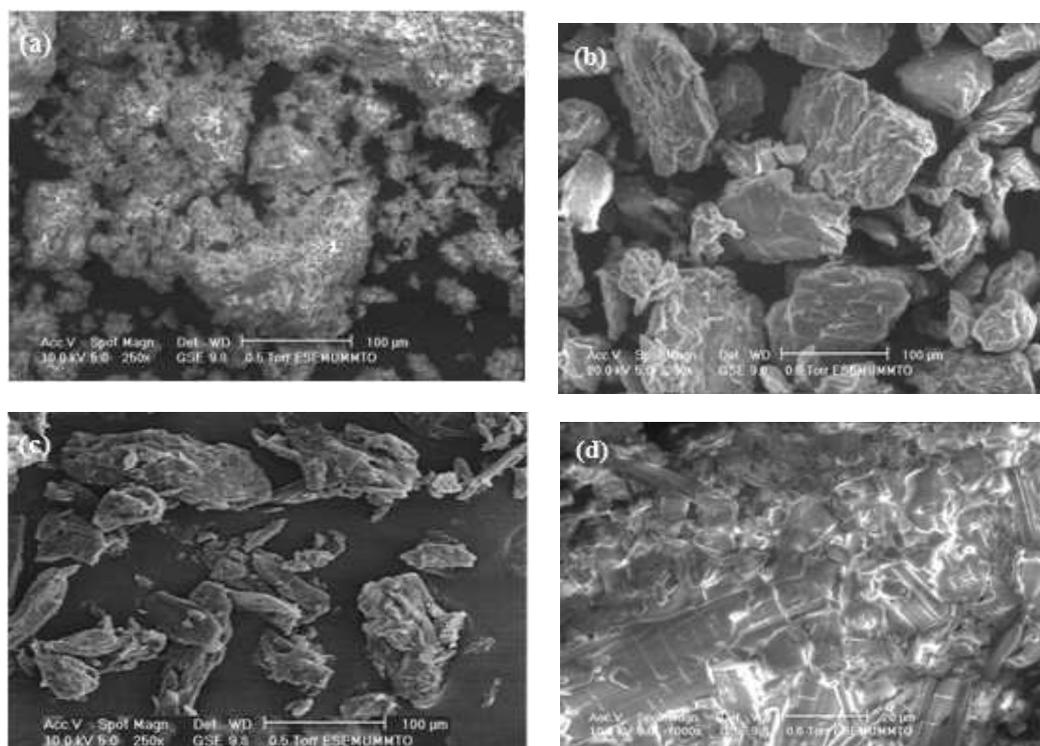


Figure 3.47. Microscopie électronique à balayage des échantillons d'ERL, CMKC et PEC sous différentes échelles (100µm et 20µm).

(a) ERL (100µm), **(b)** CMKC (100µm), **(c)** PEC (100µm), **(d)** PEC (20µm)

3.6.6. Evaluation des caractéristiques du mélange pulvérulent avant compression

Les mélanges pulvérulents préparés à partir du CMA et PEC, aux quels sont ajoutés le principe actif (Miconazole) ainsi que le stéarate de magnésium (agent d'écoulement) sont évalués avant d'être comprimés. Les résultats sont résumés dans le Tableau 3.16. Les tests sont réalisés selon les normes de la pharmacopée USP [122].

Tableau 3.16. Caractéristiques des mélanges pulvérulents (F1 – F7) avant compression

Tests	Formules						
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7
TH (%)	4.48	4.38	4.32	4.29	4.27	4.23	4.16
Densité vrac	0.72	0.71	0.71	0.72	0.70	0.64	0.61
Densité après tassement	0.92	0.91	0.89	0.88	0.877	0.865	0.855
CI (%)	21.74	21.98	20.22	18.18	20.18	26.01	28.65
HR	1.27	1.28	1.25	1.22	1.25	1.35	1.40
Temps écoulement: (s) (normes :tec<10s)	08	07	07	06	06	05	05
Tests de tassement (normes:V ₁₀ -V ₅₀₀ <20ml)	18	16	15	14	14	13	10
Taux de poudre fine (norme :TF < 20%)	12	13	13	14	15	16	17
Écoulement/Fluidité	M*	M*	M*	B**	M*	M*	M*
Cohésion	M*	M*	M*	M*	M*	M*	M*

M* : Moyen/Moyenne

B** : Bon

Les taux d'humidité des mélanges pulvérulents étudiés sont compris entre 4.24 et 4.98%. Les résultats montrent que les densités vrac et après tassement varient en fonction de la composition de chaque formule. Cette variation va influencer le comportement du mélange lors de la compression. En effet le calcul des indices de compressibilité (CI) des formules indiquent des valeurs ($20 < CI < 35$), traduisant un écoulement moyen, alors que les formules ayant des valeurs de CI ($15 < CI < 20$) présentent un bon écoulement. Le rapport d'Hausner variant entre ($1.2 < HR < 1.4$) montre une cohésion moyenne pour toutes les formules étudiées. Donc il n'y a pas nécessité d'utiliser un agent liant avant la compression. Les tests d'écoulement présentent des temps d'écoulement inférieurs à 10 secondes pour tous les mélanges. Les tests de tassement montrent des différences de volumes après 500 tassements et 10 tassements inférieurs à 20ml ($V_{10} - V_{500} < 20\text{ml}$).

L'analyse granulométrique des mélanges pulvérulents pour toutes les formules a montré une répartition granulométrique homogène sous forme de cloche (répartition gaussienne) avec une moyenne de 38% à 100 μ m, et un taux de poudre fine dans les limites d'acceptation (<20%). L'analyse granulométrique est représentée pour la formule 5 par les Figures 3.48 et 3.49. Toutes les formules étudiées présentent presque la même répartition granulométrique. Ces résultats confirment que les formules sélectionnées peuvent être utilisées en compression directe pour l'obtention des comprimés bioadhésifs car elles présentent des caractéristiques pharmaco-techniques satisfaisantes.

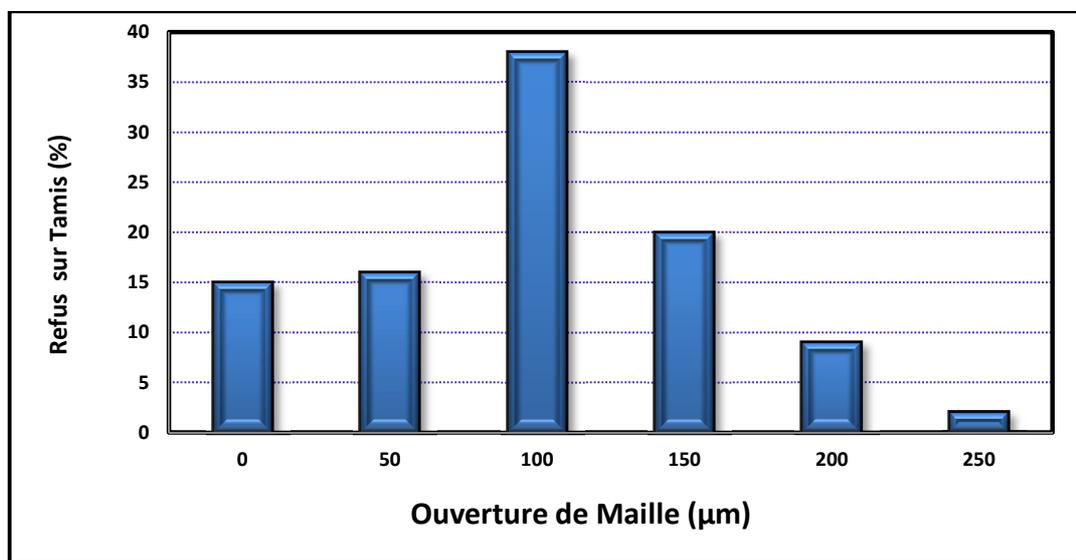


Figure 3.48. Répartition granulométrique du mélange pulvérulent F5

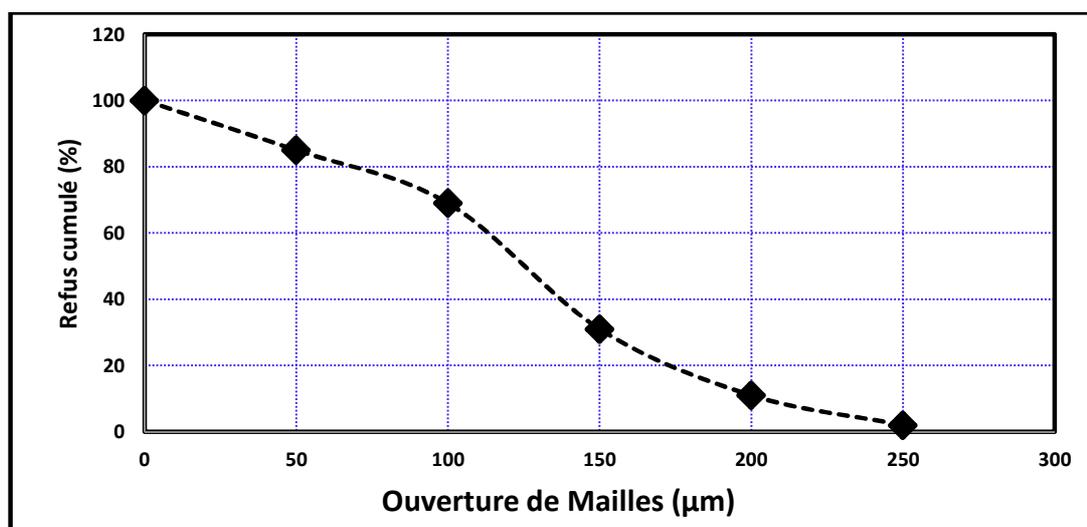


Figure 3.49. Refus cumulés du mélange pulvérulent F5

3.6.7. Evaluation des caractéristiques des comprimés bioadhésifs

Les comprimés obtenus après compression directe sont ronds et plats, avec une surface lisse, sans défaut de surface. Les caractéristiques physicochimiques des comprimés sont identifiées par le contrôle des dimensions, poids moyen, dureté, friabilité, dosage du PA, pH à la surface des comprimés ainsi que la force de détachement des comprimés. Le Tableau 3.15 résume les résultats des contrôles effectués sur les comprimés bioadhésifs.

Tableau 3.17. Résultats des tests des comprimés bioadhésifs (F1-F7)

N°	Poids moyen (mg)	Dureté (Kg/cm ²)	Friabilité (%)	Diamètre (mm)	Titre PA (%)	pH surface	Bioadhésion (g)
F1	301±0.04	3.56±0.11	0.53±0.03	10.04±0.02	98.56±0.43	6.16±0.43	34.5±2.40
F2	302±0.08	4.86±0.15	0.54±0.07	10.01±0.04	99.66±0.24	6.26±0.43	35.9±3.03
F3	299±0.12	5.67±0.24	0.65±0.04	10.03±0.02	99.23±0.23	6.34±0.43	38.56±2.13
F4	300±0.23	6.36±0.31	0.69±0.05	9.97±0.07	100.02±0.65	6.48±0.43	39.56±2.25
F5	298±0.14	6.56±0.23	0.73±0.06	9.98±0.10	99.26±0.33	6.56±0.43	40.78±2.76
F6	297±0.13	6.83±0.17	0.77±0.02	10.02±0.08	98.69±0.33	6.64±0.43	41.56±2.34
F7	302±0.09	7.16±0.12	0.79±0.03	10.03±0.03	99.46±0.41	6.68±0.43	41.98±2.29

Les résultats montrent une masse moyenne des comprimés de 300mg et une dureté variant de 3.56kg/cm² à 7.16kg/cm². La dureté des comprimés augmente avec l'augmentation du pourcentage de PEC dans la formule. La friabilité des comprimés varie de 0.53% à 0.79%. Ces valeurs croient avec l'accroissement de la dureté des comprimés et avec la diminution du taux d'humidité des mélanges pulvérulents (Figure 3.50).

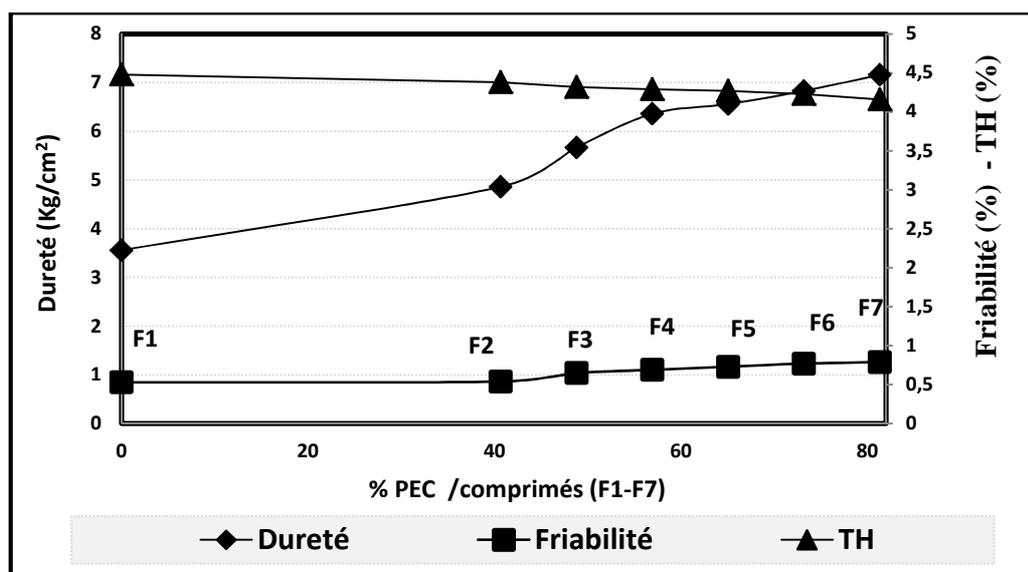
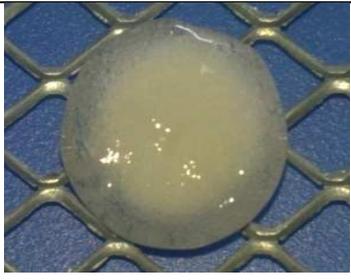
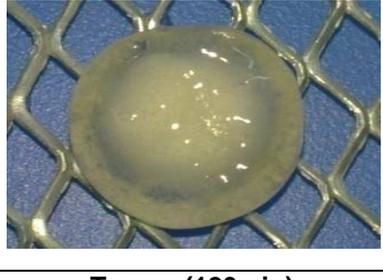
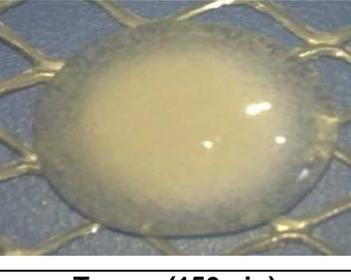


Figure 3.50. Variation de la dureté, friabilité et Taux d'humidité en fonction du % PEC / comprimés bioadhésifs

3.6.8. Tests de gonflement et d'érosion

L'étude du gonflement et d'érosion des comprimés dans le milieu PBS (pH6.75) a montré que les comprimés absorbent le milieu de dissolution et, gonflent progressivement en fonction du temps. Le gonflement est homogène. La solution pénètre à l'intérieur de la matrice hydrophile de l'extérieur vers le centre des comprimés, déclenchant ainsi le gonflement progressif des matrices hydrophiles (Tableau 3.18). L'étude de l'érosion montre des comprimés ayant une forme homogène, présentant une érosion en surface sans modification de la forme des comprimés, l'érosion a fait varier uniquement le volume et la masse des comprimés sans altérer la forme (érosion en surface).

Tableau 3.18. Aspect des comprimés lors du test de gonflement et d'érosion

Essai de gonflement des comprimés bioadhésifs				
				
Etat initial (t_0)	Temps (30min)	Temps (45min)		
				
Temps (60min)	Temps (75min)	Temps (90min)		
				
Temps (120min)	Temps (150min)	Temps (180min)		
Essais d'érosion des comprimés bioadhésifs				
				
Temps (30min)	Temps (60min)	Temps (90min)	Temps (120min)	Temps (180min)

En comparant les taux de gonflement et d'érosion des comprimés bioadhésifs étudiés (Figure 3.51), on remarque que la matrice formée par le CMA seul (F1), présente un taux de gonflement de 89.34%. Les taux de gonflement augmentent avec l'augmentation du taux de PEC dans les comprimés. En effet les taux de gonflement maximums ont été retrouvés pour les formules F6 et F7 contenant respectivement des taux de 73.2% et 81.33% de PEC.

En comparant les taux de gonflement et les taux érosion maximums pour les comprimés bioadhésifs étudiés (F1-F7), on remarque que les taux de gonflement sont supérieurs aux taux d'érosion. Le taux d'érosion de F1 est de l'ordre de 14.34%. Ce taux diminue progressivement jusqu'à atteindre 8.45% pour F7. Cela implique une résistance des comprimés à l'érosion et par conséquent une libération prolongée du contenu des matrices contenant le principe actif.

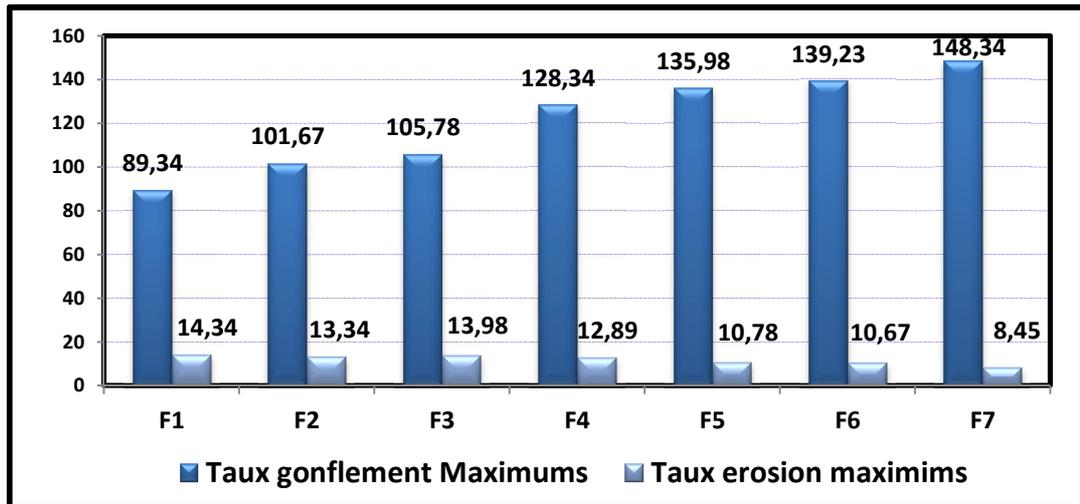


Figure 3.51. Etude comparative des taux de gonflement et d'érosion maximums des comprimés (F1-F7)

La présence de l'amidon modifié (CMA), procure aux matrices des comprimés bioadhésifs de meilleures propriétés de gonflement et une stabilité dans le milieu PBS (pH 6.75). Cette stabilité et la résistance à l'érosion peut être expliquée par la présence des groupements CM (carboxyméthyle). Les comprimés à base de CMA et de PEC présentent une meilleure hydratation, avec une augmentation des taux de gonflement et des taux d'érosion très faible allant de F1 à F7. Les comprimés absorbent le milieu de dissolution à cause des excipients qui sont protonés au pH 6.75. En effet, les groupements carboxyliques du CMA, et le PEC étant protonés à pH 6.75, les matrices des comprimés sont plus aptes à gonfler, formant à la surface un gel qui va progresser avec le temps vers le centre du comprimé.

3.6.9. Etude de la bioadhésion des comprimés

Les comprimés bioadhésifs étudiés présentent une force de détachement (FD) allant de 34.5g à 41.98g (Figure 3.52). Cette force augmente de F1 à F7. Ces résultats indiquent que le pouvoir d'adhésion des comprimés est fortement lié à la présence et aux taux de PEC dans la matrice des comprimés bioadhésifs. Ce dernier crée des forces électrostatiques et des liaisons hydrogène avec le substrat et rend les comprimés plus adhérents au support et la force nécessaire pour son détachement plus importante.

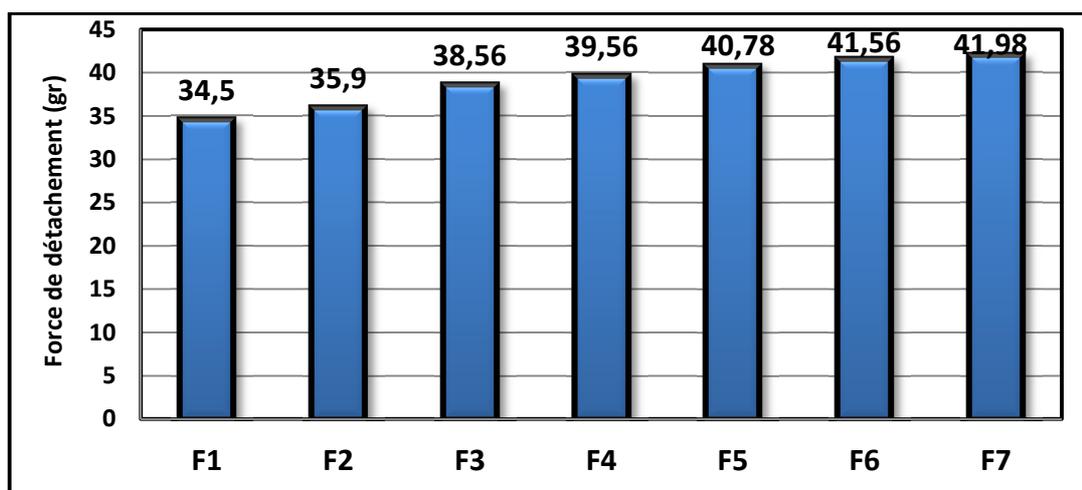


Figure 3.52. Force de détachement des comprimés bioadhésifs étudiés (F1-F7)

3.6.10. Etude de la dissolution in Vitro

Les résultats de l'ajustement des profils de dissolution des comprimés bioadhésifs aux modèles de Peppas et Sahlin et de Korsmeyer– Peppas, a permis d'obtenir les résultats résumés dans le Tableau 3.19.

Tableau 3.19. Paramètres caractéristiques des modèles de dissolution

N° Formule	Modèle de Peppas et Sahlin				Modèle de Korsmeyer– Peppas			t _{50%} (min)
	k ₁ [%/min ^m]	k ₂ [%/min ^{2m}]	m	R ²	k [%/min ⁿ]	n	R ²	
F1	7.324	3.897	0.310	0.996	3.16	0.75	0.998	39.67
F2	3.856	3.080	0.331	0.987	2.15	0.81	0.998	47.94
F3	2.029	1.941	0.380	0.988	1.33	0.89	0.995	58.72
F4	0.654	0.671	0.480	0.998	0.80	0.94	0.995	81.43
F5	0.368	0.396	0.507	0.999	0.53	0.97	0.998	108.57
F6	0.437	1.141	0.441	0.986	0.91	0.93	0.995	74.19
F7	1.395	1.372	0.413	0.985	1.15	0.90	0.993	66.09

La variation du temps de libération de 50% de Miconazole est illustrée dans la Figure 3.53. Les valeurs de $t_{50\%}$ sont proportionnelles à l'augmentation de la valeur de la puissance n . En effet plus la valeur de n tend vers 1, et plus le temps nécessaire pour la libération de 50% du principe actif est plus long. Cela indique une libération prolongée du Miconazole à cause du fait que le mécanisme de libération du PA est le résultat du phénomène de diffusion et de relaxation des chaînes des polymères formant la matrice des comprimés étudiés. Les formules F6 et F7 présentent une diminution du $t_{50\%}$ correspondant à une légère diminution de la valeur de n . Ceci peut être attribué au fait que les matrices contenant un pourcentage trop élevé en PEC retiennent moins le PA. L'effet d'interpénétration entre le réseau polymérique de PEC et celui de CMA qui joue un rôle de liant dans la formulation diminue avec la diminution de la concentration en CMA présent dans les matrices des comprimés F6 et F7. Le rapport optimal entre PEC et CMA est retrouvé dans la formule F5, contenant 65.06% en PEC et 16.27% de CMA. Cette formule présente un profil de dissolution caractérisé par une valeur de n égale à 0.97 et un temps de 108.57min pour la libération de 50% du PA.

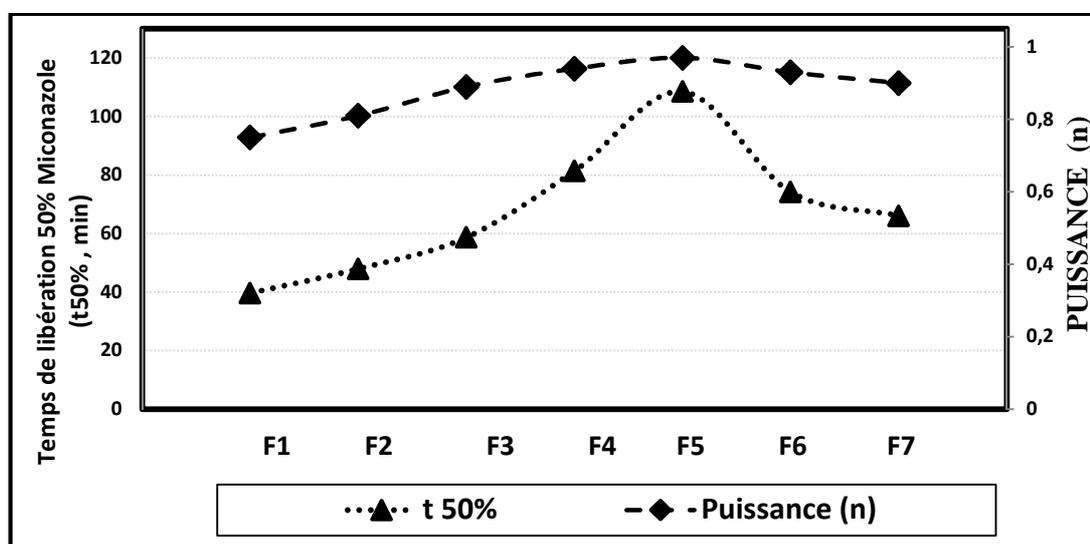


Figure 3.53. Variation du temps de libération de 50% ($t_{50\%}$) de Miconazole et de la puissance (n) des comprimés bioadhésifs étudiés (F1-F7)

Les résultats de la cinétique de libération du Miconazole sont illustrés sur la Figure 3.54. Les matrices de base des comprimés bioadhésifs étudiés sont des systèmes à libération prolongée, contrôlée par le gonflement. Ainsi, la vitesse de diffusion du milieu extérieur dans la matrice ainsi que l'érosion de la matrice

contrôlent la cinétique de libération du PA [217]. Dans les polymères hydrophiles, la vitesse de gonflement détermine la présence de différents fronts dans la matrice et le mouvement de ces fronts est synchronisé, cela régule la vitesse de libération du PA [218]. L'effet du pH du milieu peut affecter la formation des fronts de gonflement de la matrice hydrophile [219]. Si le polymère est non ionique, donc stable aux variations de pH, et si la solubilité du principe actif dépend du pH, dans ce cas, la libération du principe actif de la matrice polymérique sera dépendante du pH [220]. Dans notre cas, la nature ionique des polymères utilisés augmente les interactions lors de leur utilisation dans différents milieux acide ou basique garantissant ainsi une reproductibilité dans les profils de dissolution des médicaments. Le CMA et le PEC sont des dérivés ioniques polyélectrolytes sensibles aux variations de pH. Lors de leur hydratation, les chaînes polymériques s'enchevêtrent et forment une couche de gel visqueux à la surface [221]. L'érosion de la couche de gel formé lors du gonflement est l'un des principaux mécanismes assurant la libération du PA à partir de ses matrices hydrophiles [222].

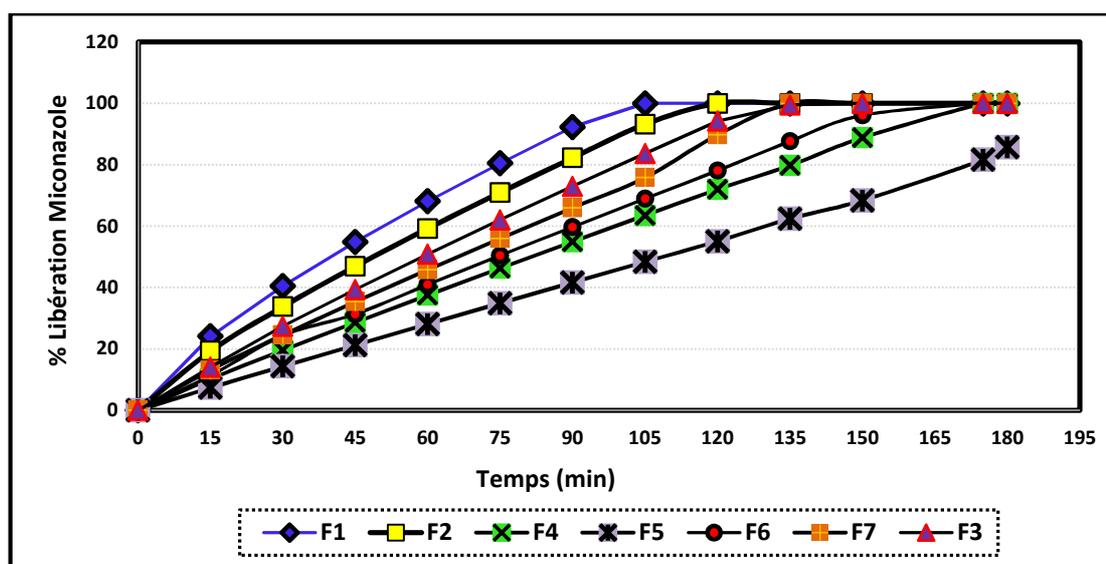


Figure 3.54. Cinétique de libération du Miconazole à partir des comprimés bioadhésifs étudiés (F1-F7)

Le premier terme du côté droit de l'équation (2.10) du modèle de Peppas et Sahlin représente la contribution du phénomène de diffusion, F , tandis que le second terme représente la contribution du phénomène de relaxation, R , lors de la libération du PA. Le rapport des deux contributions (R/F) est calculé selon l'équation (2.11) pour chaque formulation. Le rapport (R/F) augmente de F1 à F7

(Figure 3.55). Le phénomène de relaxation des matrices devient plus important, dépassant même la diffusion dans les cas des comprimés de la formule F5 ($R/F > 1$). Lorsque la fraction de PA libéré augmente, la contribution de la relaxation de la matrice est relativement plus importante pour les formulations contenant des taux élevés de PEC.

La fraction (R/F) augmente pour chaque formule avec l'augmentation de la fraction libérée en PA. Cela suggère que la matrice polymérique libère le PA selon une augmentation dans le terme R, donc suivant l'extension du réseau polymérique du à la pénétration du milieu de dissolution dans la matrice et l'hydratation de la matrice hydrophile.

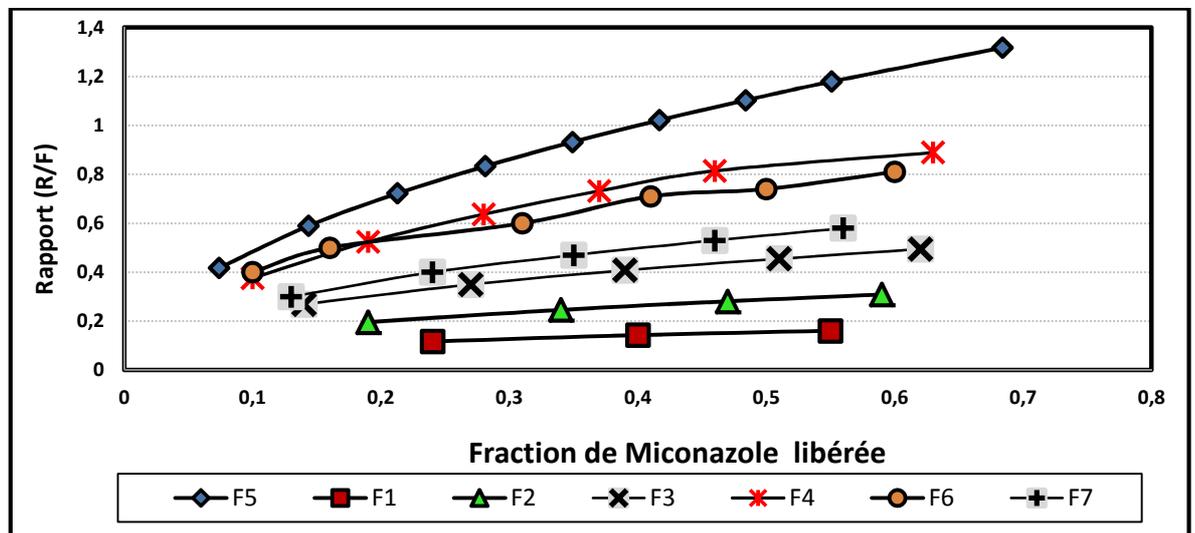


Figure 3.55. Variation du rapport (R/F) des comprimés bioadhésifs (F1-F7)

3.6.11. Etude comparative de la diffusion de comprimés et de gels bioadhésifs formulés

L'étude de diffusion des comprimés bioadhésifs a été comparée avec la formule du gel bioadhésif formulée et optimisée dans la section 3.2. Les résultats de l'étude de la diffusion du Miconazole dans le milieu PBS (pH6.75), à partir des comprimés et le gel étudiés à travers la membrane semi-perméable montre des taux de diffusion qui augmentent avec le temps dans les différentes formules étudiées (Figure 3.56).

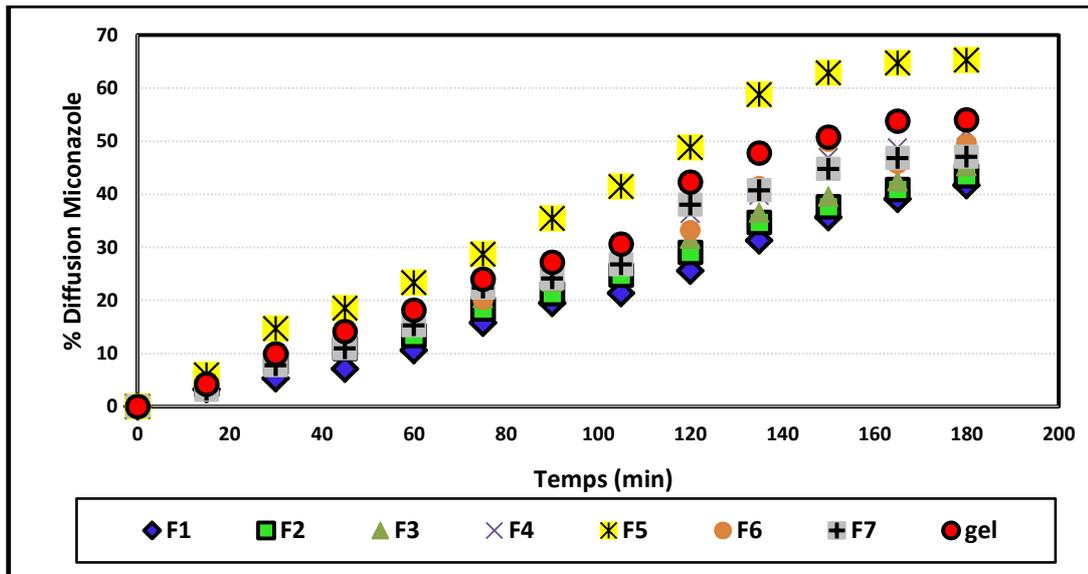


Figure 3.56. Cinétique de diffusion du Miconazole à partir des comprimés bioadhésifs (F1-F7) et de la forme gel

Les taux de diffusion maximums des systèmes étudiés sont représentés dans la Figure 3.57. Ces résultats sont obtenus dans les mêmes conditions expérimentales. Les variations des taux de diffusion peuvent être expliquées par plusieurs facteurs à savoir, la nature du PA, la nature des polymères, l'équilibre entre le gonflement et l'érosion, l'hydrophilie des polymères et la solubilité des polymères dans le milieu de dissolution. Tous ces facteurs contribuent et affectent la libération du PA à partir des formules étudiées.

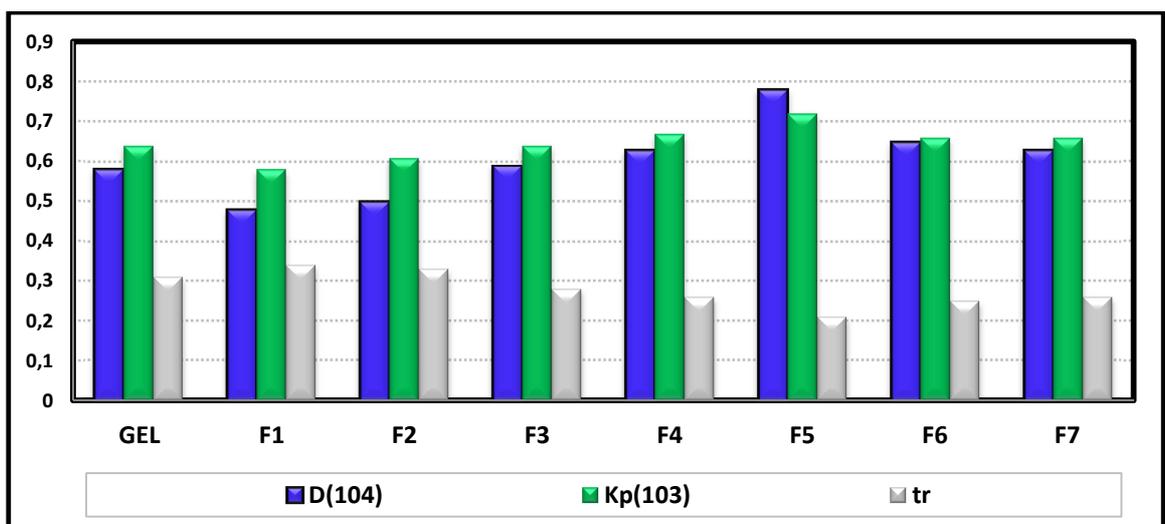


Figure 3.57. Paramètres de diffusion du Miconazole à partir des comprimés bioadhésifs étudiés (F1-F7) et de la forme gel

La quantité de PA qui traverse la membrane est importante pour obtenir l'effet thérapeutique désiré. Cela est lié à la valeur du coefficient de perméabilité. Le flux maximal sera, alors, fonction du coefficient de perméabilité et de la solubilité du PA [223]. La diffusion de la molécule dans la membrane peut être modifiée par l'ajout de promoteurs d'absorption dans la formulation [224]. Le Tween 80 (T80) présent dans la composition du gel étudié joue le rôle de promoteur d'absorption. Ce qui lui confère des taux de diffusion importants ($D_{\text{gel}} = 0.58 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$), un coefficient de perméabilité ($K_{p_{\text{gel}}} = 0.64 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$) et un temps de latence ($t_r = 0.31 \text{ min}$). Les paramètres de diffusion les plus importants sont retrouvés pour les comprimés correspondant à F5 ($D_{F5} = 0.78 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$) et ($K_{p_{F5}} = 0.72 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$) et un temps de latence ($t_r = 0.21 \text{ min}$). Les paramètres de diffusion à savoir le coefficient de diffusion (D) et le coefficient de perméabilité (K_p) augmentent alors que le temps de latence diminue avec l'augmentation de la concentration du PEC dans les comprimés. Ceci est dû au fait que le PEC présente d'excellentes propriétés de diffusion, permettant une mise à disposition du PA au site d'action avec un minimum de temps de latence et permet une bonne perméabilité et une diffusion importante du PA au site d'action.

3.6.12. Conclusion

Un nouveau complexe polyélectrolyte a été préparé et caractérisé afin d'évaluer son potentiel en tant qu'excipient de matrice à libération prolongée. La formation du complexe polyélectrolyte (PEC) entre Eudragit RL (ERL) et le carboxyméthyle kappa-carraghénane (CMKC) a été étudiée et le produit obtenu a été caractérisé. Les résultats de l'étude de la turbidité et de la viscosité spécifique ont indiqué que la formation du complexe est optimale à des rapports massiques (ERL/CMKC) de (7/3). Les spectres FTIR montre de nouvelles bandes caractéristiques des interactions entre les chaînes de polyélectrolytes de charges opposées. L'analyse par microscopie électronique à balayage (MEB) a montré des particules solides de forme de bâtonnets avec une surface uniforme.

Les mélanges pulvérulents à base des comprimés bioadhésifs sont composés principalement de PEC et CMA et présentent de bonnes propriétés d'écoulement et de tassement.

Les comprimés dosés à 50mg de Miconazole/comprimé, sont obtenus par compression directe. Ils présentent d'excellentes propriétés bioadhésives. Les

profils de dissolution étudiés ont été ajustés à des modèles mathématiques montrant une libération prolongée du PA.

Ces systèmes matriciels monolithiques libèrent le PA avec une cinétique avoisinant l'ordre zéro ($0.75 < n < 0.97$). Les résultats indiquent que les profils de libération peuvent être prolongés en augmentant les taux de PEC dans les comprimés.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Le travail présenté dans ce manuscrit avait pour objectif la mise au point d'une formulation capable d'établir un contact étroit avec la muqueuse buccale et de libérer un principe actif (PA) spécifiquement à ce niveau. Pour cela, l'utilisation d'un mélange de polysaccharides composé d'amidon prégelatinisé (APG) et de Kappa Carraghénane (KC) a été envisagée.

Afin de développer une formulation performante, une association de polymères a été réalisée de deux façons différentes. En effet, dans un premier temps, on a mis au point un gel mixte à base de mélange physique des biopolymères. Dans un second temps, on a modifié les deux biopolymères de base, qu'on a utilisé pour former de nouveaux excipients à base de complexe polyélectrolyte (PEC), pour préparer des comprimés bioadhésifs.

L'étude de préformulation a confirmé que le gel mixte formé par le polyélectrolyte (KC) et l'APG a permis d'augmenter la force d'adhésion du gel, d'améliorer son pouvoir d'absorption, de prolonger le temps de saturation et retarder l'érosion de la matrice polymérique. L'ajustement des profils de dissolution du principe actif à partir des gels mixtes a présenté des caractéristiques d'une libération prolongée.

Par ailleurs, une forme galénique semi-solide à usage buccal contenant du miconazole sous forme de gel a été développée et optimisée en utilisant la méthodologie des surfaces des réponses (RSM). Le modèle de Box-Behnken a été utilisé pour identifier les paramètres d'une formulation optimale. Les effets quantitatifs des facteurs à différents niveaux sur la libération du principe actif et la bioadhésion ont été prédits en utilisant des équations polynomiales. Une formulation optimale composée de : 0,6% de KC, 71,74% de Glycérol et 1,82% de Tween80 a été identifiée, caractérisée par une force de détachement (FD) de 54g, un taux de gonflement maximum de 70%, et un taux d'érosion de 36%. Le gel indique une libération de 99.89% du principe actif de façon continue et prolongée pendant 120 minutes, avec un taux de libération de 12,61% pendant les dix premières minutes, suivie d'une phase de libération progressive pendant environ 110min, avec un taux moyen de libération (MDT) de 55min. La méthodologie RSM a permis de comprendre les effets des interactions sur les réponses étudiées.

Dans le deuxième volet de cette étude, la modification de l'APG a été réalisée par une réaction d'éthérisation. Les effets de la température, du temps de réaction, du degré de substitution théorique (DSt), et de la concentration en NaOH (10 à 50% p/v) sur le rendement, le degré de substitution (DS), et la morphologie du Carboxyméthyl amidon (CMA) ont été étudiés. Une concentration optimale de 30% en NaOH, pendant un temps de réaction de 1h à 50°C et un DSt égal à 1, nous a permis d'obtenir un DS optimal de 0.35 et un rendement de 98.98%. Les résultats de la microscopie électronique à balayage (MEB) ont montré des granules de CMA lisses lorsque la concentration en NaOH est de 30%. Les spectres de diffraction au rayon X (DRX) ont montré que la cristallinité du CMA diminue avec l'augmentation de la concentration en NaOH.

La fonctionnalisation du KC a été réalisée avec succès via le procédé de carboxyméthylation pour produire un polymère modifié. Les dérivés carboxyméthylés ont été obtenus avec des taux de rendement allant de 98.89 à 99.80%. L'influence des différents rapports molaires d'acide monochloroacétique (MCA) et de KC (n_{MCA}/n_{KC}) sur le DS a été étudiée. Un rapport molaire optimal de 2.5 a donné un DS optimal de 1.2 et un rendement de 99.2%. Le Carboxyméthyl Kappa carraghénane (CMKC) obtenu a été caractérisé par FTIR confirmant la réaction de carboxyméthylation. Les analyses de la structure du grain de CMKC par MEB et la cristallinité par DRX ont montré une modification de la morphologie et de la cristallinité du CMKC après la synthèse. Les tests d'absorption et de rétention d'humidité réalisés ont montré une grande capacité d'absorption du CMKC ainsi qu'une rétention supérieure à celle du KC.

La formation d'un complexe polyélectrolyte (PEC) entre Eudragit[®] RL (ERL) et le CMKC a été étudiée et le produit obtenu a été caractérisé. Les résultats de l'étude de la turbidité et de la viscosité spécifique ont indiqué que la formation du complexe est optimale à des rapports massiques (ERL:CMKC) de (7:3). Les spectres FTIR ont montré de nouvelles bandes caractéristiques des interactions entre les chaînes de polyélectrolytes de charges opposées. L'analyse par MEB a montré des particules de PEC sous forme de bâtonnets avec une surface uniforme.

Les mélanges pulvérulents à base des comprimés bioadhésifs sont composés principalement de PEC et CMA. Les comprimés dosés à 50mg de Miconazole/comprimé, présentent d'excellentes propriétés bioadhésives. Les

profils de dissolution étudiés ont montré une libération prolongée du PA. Ces systèmes matriciels monolithiques libèrent le PA avec une cinétique avoisinant l'ordre zéro ($0.75 < n < 0.97$). Les profils de libération peuvent être prolongés en augmentant les taux de PEC dans les comprimés. Le rapport optimal entre PEC et CMA est retrouvé dans la formule F5, contenant 65.06% en PEC et 16.27% de CMA. Cette formule présente un profil de dissolution caractérisé par une valeur de l'exposant de la loi de Korsmeyer-Peppas (n) égale à 0.97 et un temps de 108.57min pour la libération de 50% du principe actif.

Une étude comparative des taux de diffusion du gel et comprimés bioadhésifs à base de miconazole a montré un coefficient de diffusion ($D_{\text{gel}} = 0.58 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$), un coefficient de perméabilité ($K_{p_{\text{gel}}} = 0.64 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$) et un temps de latence ($tr_{\text{gel}} = 0.31 \text{ min}$) pour le gel. Les paramètres de diffusion les plus importants sont retrouvés pour les comprimés correspondant à F5 ($D_{F5} = 0.78 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$) et ($K_{p_{F5}} = 0.72 \text{ cm} \cdot \text{min}^{-1}$) et un temps de latence ($tr_{F5} = 0.21 \text{ min}$). Les paramètres de diffusion (D et K_p) augmentent alors que le temps de latence diminue avec l'augmentation de la concentration du PEC dans les comprimés.

Plusieurs perspectives peuvent être proposées pour la poursuite de ce travail de recherche :

- La modification du KC par d'autres méthodes de synthèse afin d'améliorer son potentiel poly(électrolyte).
- L'étude de formation de PEC en utilisant d'autres agents de complexation.
- La cationization de l'APG pour son éventuel utilisation comme agent matriciel bioadhésif.
- La mise au point de patchs bioadhésifs par l'introduction du miconazole comme agent antifongique de durée supérieure à 8heures de libération prolongée.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Shojaei, A.H., "Buccal mucosa as a route for systemic drug delivery: a review", *J Pharm. Pharmaceut. Sci.*, V.1, (1998), 15-30.
2. Salamat-Miller, N., Chittchang, M., Johnston, T.P., "The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery", *Adv. Drug Deliv.*, V. 57, (2005), 1666-1691.
3. Smart, J.D., "Lectin-mediated drug delivery in the oral cavity", *Adv. Drug Deliv. Rev.*, V.56, (2004), 481-489.
4. Squier, C.A., Kremer, M.J., "Biology of oral mucosa and esophagus", *J. Natl Cancer Inst. Monogr*, V.29,(2001), 7-15.
5. Smart, J.D., "Buccal drug delivery", *Expert Opin. Drug Deliv.*, V.2,(2005), 507-517.
6. Harris, D. and Robinson, J.R., "Drug delivery via the mucous membranes of the oral cavity", *J. Pharm. Sci.*,V.81,(1992), 1-10.
7. Martín del Valle, E.M., Galan, M.A., Carbonell, R.G., "Drug delivery technologies: the way forward in the new decade", *Ind. Eng. Chem. Res.*,V.48,(2009),2475-2486.
8. Li, B. and Robinson, J.R., "Preclinical assessment of oral mucosal drug delivery systems", in: T.K. Ghosh, W.R. Pfister (Eds.), *Drug delivery to the Oral Cavity: Molecules to Market*, CRC Press, Boca Raton, FL,(2005),41-66.
9. Slomiany, B.L., Murty, V.L., Piotrowski, J., Slomiany, A., "Salivary mucins in oral mucosal defence", *Gen. Pharmac.*,V.27, (1996), 761-771.
10. Gilles, P., Ghazali, F.A., Rathbone, J., "Systemic oral mucosal drug delivery systems and delivery systems", in: M.J. Rathbone (Ed.), *Oral Mucosal Drug Delivery*, Marcel Dekker Inc, New York, V.74,(1996), 241-285.
11. Peppas, N.A. and Huang, Y., "Nanoscale technology of mucoadhesive interactions". *Adv. Drug Del. Rev.*, V.56, n°11, (20 04), 1675-1687.
12. Leung, S. H. S., Robinson, J. R., "Polymer structure features contributing to mucoadhesion ", *J. Control. Release*, V.12, n°3,(199 0),187-194,.
13. Lee, J. W., Park, J. H., Robinson, J. R., "Bioadhesive-based dosage forms: The next generation", *J. Pharm. Sci.*, V.89, n°7, (2 000),850-866.
14. Mathiowitz, E. Chickering, D. E., Lehr, C. M., "Bioadhesive drug delivery systems: fundamentals, novel approaches, and development, *Drugs and the Pharmaceutical Sciences*", New York: Marcel Dekker, (1999) ,696-699.
15. Pankil A. G., Patel, M.R., Patel, K.R., "A review article on mucoadhesive buccal drug delivery system", *IJPRD*, V.3,n°5, (20 11),159 - 173.
16. Huang, Y., Leobandung, W., Foss, A., Peppas, N. A., "Molecular aspects of muco- and bioadhesion: Tethered structures and site-specific surfaces", *J. Control. Release*, V.65, n°1, (2000) 63-71.
17. Grabovac, V., Guggi, D., Bernkop-Schnurch, A., "Comparison of the mucoadhesive properties of various polymers", *Adv. Drug Del. Rev.*, V.57, n°11, (2005),1713-1723.
18. Hagerstrom, H., "Polymer gels as pharmaceutical dosage forms: rheological performance and physicochemical interactions at the gel-mucus interface for formulations intended for mucosal drug delivery", *Uppsala*, (2003), 76-82.

19. Bures, P., Huang, Y., Peppas, N.A., "Surface modifications and molecular imprinting of polymers in medical and pharmaceutical applications", *J. Control. Release*, V.72, (2001), 25-33.
20. Jasti B., Xiaoling L., Gary C., "Recent Advances in Mucoadhesive Drug Delivery Systems", *Business Briefing: Pharmtech.*, (2004), 194-196.
21. Malmsten, M., "Surfactants and polymers in drug delivery, *Drugs and the pharmaceutical Sciences*", New York: Marcel Dekker, (2002), 348-354.
22. Bruschi, M.L., Frettas, O., "Oral bioadhesive drug delivery systems", *Drug Ind. Pharm.*, V.31, n^o3, (2005), 293-310.
23. Falson-Rieg F., Faivre V., Pirot F., "Nouvelles formes médicamenteuses". Paris : Tec and Doc Cachan : Ed. médicales internationales,(2004),1-24
24. Rathbone M., Drummond B., Tucker I., "The oral cavity as a site for systemic drug delivery", *Adv. Drug Del. Rev.*, V.13,(1994), 1-22.
25. Asane G.S., Rao Y.M., Bhatt J.H., Shaikh K.S., "Optimization, Characterisation and Pharmacokinetic Studies of Mucoadhesive Oral Multiple Unit Systems of Ornidazole", *Sci. Pharm.*, V.79, (2011),181-196.
26. Andrews G.P., Lavery T.P., Jones D.S., "Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery", *Eur. J. Pharm. Biopharm.*,V.71, (2009),505-518.
27. Gu J., Robinson J., Leung S., "Binding of acrylic polymers to mucin/epithelial surfaces:structure–property relationships", *Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst.*, V.5, (1998), 21-67.
28. Park H., and Robinson J., "Mechanisms of mucoadhesion of poly (acrylic acid) hydrogels", *Pharm. Res.*,V.4, (1987), 457-464.
29. Lehr C., Bouwstra J., Schacht E., Junginger H., "In vitro evaluation of mucoadhesive properties of chitosan and some other natural polymers",*Int. J. Pharm.*, V.78, (1992), 43-48.
30. Peppas N. and Buri P., Surface,"interfacial and molecular aspects of polymer bioadhesion on soft tissues", *J. Control. Release*,V.2, (1985), 257-275.
31. Grabovac V., Guggi D., Bernkop-Schnürch A., "Comparison of the mucoadhesive properties of various polymers", *Adv. Drug Del. Rev.*, V.57, (2005),1713-1723.
32. Ludwig A., "The use of mucoadhesive polymers in ocular drug delivery", *Adv. Drug Del. Rev.*, V.57, (2005), 1595 -1639.
33. Shukla R.K., Tiwari A., "Carbohydrate polymers: Applications and recent advances in delivering drugs to the colon", *Carbohydr. Polym.* V.88,n^o2,(2012),399-416.
34. Pillai C.K.S., Paul W., Sharma C.P., "Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation",*Prog. Polym. Sci.*, V.34, (2009), 641-678
35. Santos C.A., Jacob J.S., Hertzog B.A., Freedman B.D., Press D.L., Harnpicharnchai P., Mathiowitz E., "Correlation of two bioadhesion assays: the everted sac technique and the CAHN microbalance", *J. Contr. Rel.*, V.61,(1999),113-122.
36. Marshall P., Snaar J.E.M., Ng Y.L., Bowtell R.W., Hampson F.C., Dettmar P.W., Meli C.D., "A novel application of NMR microscopy: measurement of water diffusion inside bioadhesive bonds", *Magn. Reson. Imaging*, V.19,(2001),487-488.
37. Mikos A.G., Mathiowitz E., Langer R., Peppas N.A., "Interaction of polymer microspheres with mucin gels as a means of characterizing polymer retention on mucus", *J. Colloid Interf. Sci.*, V.143, (1991), 366-373.

38. Kockisch S., Rees G.D., Young S.A., Tsibouklis J., Smart J.D., "A direct staining method to evaluate the mucoadhesion of polymers from aqueous dispersion", *J. Contr. Rel.*, V.77, (2001), 1-6.
39. Bixler, H., "Recent development in manufacturing and marketing carrageenan", *Hydrobiologia*, V.326/327, (1996),35-37.
40. Perez, R., "Ces algues qui nous entourent : conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisations, culture", Ifremer (Plouzané, France), (1997), 272.
41. Imeson A.P., "Handbook of Hydrocolloids", Phillips G O,Williams P A, eds. Boca Raton: CRC Press LLC, (2000), 87-102
42. Sudhakar Y., Kuotsu K., Bandyopadhyay A.K., "Buccal bioadhesive drug delivery – A promising option for orally less efficient drugs", *Journal of Control Release*,V.114, (2006),15-40.
43. Leclerc, V., Floc'h J.Y., "Les secrets des algues", Edition Quae, Versailles, (2010).
44. Campo,V.L., Kawano, D. F., Silva, JR., Carvalho,I., "Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis - A review", *Carbohydrate Polymers* , V. 77, n², (2001) , 167-180.
45. Morris, E., Rees, D., Robinson, G.,"Cation-specific aggregation of carrageenan helices: Domain model of polymer gel structure", *Journal of Molecular Biology*,V.138, (1980), 349-362.
46. Smidsrød, O. and Grasdalen, H.,"Some physical properties of carrageenan in solution and gel state", *Carbohydrate Polymers*,V.2,(1982), 270-272.
47. Van de Velde, F., Rollema, H., Grinberg, N., Burova, T., Grinberg, V., Tromp, R., "Coil-helix transition of ι-carrageenan as a function of chain regularity", *Biopolymers* V.65, (2002), 299-312.
48. Funami, T., Hiroe, M., Noda, S., Asai, I., Ikeda, S., Nishimari, K., "Influence of molecular structure imaged with atomic force microscopy on the rheological behavior of carrageenan aqueous systems in the presence or absence of cations", *Food Hydrocolloids*,V.21, (2007), 617-629.
49. Edelman, M. W., van der Linden, E., Tromp, R. H., "Phase separation of aqueous mixtures of poly(ethylene oxide) and dextran", *Macromolecules*, V.36, (2003), 7783-7790.
50. Guiseley, K. B., "Modified kappa-carrageenan", US Patent Office, Patent n°4096327, (1978).
51. Tari,O., Kara, S., Pekcan, O., "Critical exponents of kappa carrageenan in the coil-helix and helix-coil hysteresis loops", *Journal of Macromolecular Science, Part B Physics*, V.48, (2009), 812 - 822.
52. Ciancia, M., Nosedà, M.D., Matulewicz, M.C., Cerezo, A. S., "Alkali modification of carrageenans: Mechanism and kinetics in the kappa/iota-, mu/nu- and lambda-series", *Carbohydrate Polymers*, V.20, (1993), 95-98,.
53. Hosseinzadeh, H., Pourjavadi, A., Mahdavinia, G. R., Zohuriaan-Mehr, M. J., "Modified carrageenan 1: H-Carrag PAM, a novel biopolymer-based superabsorbent hydrogel", *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, V.20, (2005), 475-490,.
54. Pourjavadi, A., Harzandi, A. M., Hosseinzadeh, H., "Modified carrageenan 3: Synthesis of a novel polysaccharide-based superabsorbent hydrogel via graft copolymerization of acrylic acid onto kappa-carrageenan in air", *European Polymer Journal*, V.40, (2004) , 1363–1370.

55. Prasad, K., Meena, R., Siddhanta, A. K., "Microwave-induced rapid one-pot synthesis of kappa-carrageenan-g-PMMA copolymer by potassium persulphate initiating system", *Journal of Applied Polymer Science*, V.101, (2006), 161-166,.
56. Pourjavadi, A., Barzegar, S., Zeidabadi, F., "Synthesis and properties of biodegradable hydrogels of kappa-carrageenan grafted acrylic acid-co-2-acrylamido-2-methylpropanesulfonic acid as candidates for drug delivery systems", *Reactive and Functional Polymers*, V.67, (2007), 644-654,.
57. Tumturk, H., Karaca, N., Demirel, G., Sahin, F., "Preparation and application of poly(N,N-dimethylacrylamide-co-acrylamide) and poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylamide)/kappa-carrageenan hydrogels for immobilization of lipase", *International Journal of Biological Macromolecules*, V.40,(2007), 281-285.
58. Daniel-da-Silva, A. L., Lopes, A. B., Gil, A. M., Correia, R. N., "Synthesis and characterization of porous kappa-carrageenan/calcium phosphate nanocomposite scaffolds", *Journal of Materials Science*, V.42,(2007),8581-8591,.
59. Gan, S., and Feng, Q., "Preparation and characterization of a new injectable bone substitute-carrageenan/nano-hydroxyapatite/collagen", *Zhongguo Yixue Kexueyuan Xuebao*, V.28,(2006), 710-713,.
60. Fana, L., Wanga, L., Gaoa, S., Wua, P., Li, M., Xieb, W., Liub, S., Wang,W., "Synthesis, characterization and properties of carboxymethyl kappa carrageenan", *Carbohydrate Polymers*, V.86, (2011), 1167-1174.
61. Picker, K.M., "Matrix tablets of carrageenans. I. A compaction study", *Drug Dev Ind Pharm*,V.25, (1999), 329-337.
62. Gupta,V.K., Hariharan, M., Wheatley, T.A., Price, J.C., "Controlled-release tablets from carrageenans: effect of formulation, storage and dissolution factors", *Eur. J. Pharm. Biopharm.*,V. 51,(2001), 241-248.
63. Mohamadnia, Z., Zohuriaan-Mehr, M.J., Kabiri, K., Jamshidi, A., Mobedi, H., "Ionically crosslinked carrageenan-alginate hydrogel beads", *J Biomater Sci Polym.*,V.19, (2008), 47-59.
64. Mohamadnia, Z., Zohuriaan-Mehr, M. J., Kabiri, K., Jamshidi, A., Mobedi, H., "pH-sensitive IPN hydrogel beads of carrageenan-alginate for controlled drug delivery, *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*", V.22, (2007),342-356
65. Bonferoni, M.C.,Rossi,S.,Tamayo,M., Pedrez,J.L., Dominguez,G., Caramella, C.,"On the employment of λ -carrageenan in a matrix system. I. Sensitivity to dissolution medium and comparison with Na carboxymethylcellulose and xanthan gum", *J Controlled Release*, V. 26,(1993), 119-127.
66. Farias, W., Valente, A.P., Pereira, M., Mourão,P., "Structure and Anticoagulant Activity of Sulfated Galactans. Isolation of a unique sulfated galactan from the red algae *Botryocladia occidentalis* and comparison of its anticoagulant action with that of sulfates galactans fom invertebrates", *Journal of Biological Chemistry*, V.275, (2000), 2929 – 2939.
67. Melo, F., Pereira, M., Foguel, D., Mourao, P., "Antithrombin-mediated anticoagulant activity of sulfated polysaccharides : different mechanisms for heparin and sulfated galactanes, *Journal of Biological Chemistry*",V.279, (2004), 24-35.

68. Carlucci, M. J., Scolaro, L. A., Nosedà, M. D., Cerezo, A. S., Damonte, E. B., "Protective effect of a natural carrageenan on genital herpes simplex virus infection in mice", *Antiviral Research*, V.64, (2004), 137-141.
69. Sandhu K.S., Singh N., Malhi N.S., "Physicochemical and thermal properties of starches separated from corn produced from crosses of two germ pools", *Food Chem.*, V.89, (2005),541-548.
70. Hardacre A.K., and Clark S.M., "The effect of hybrid and growing environment on the rheological properties of starch and flour from maize (*Zea mays* L.) grain dried at four temperatures", *Int. J. Food Sci. Technol.*,V.41, (2006),144- 150.
71. Tang, H., Mitsunaga, T., Kawamura, Y., "Molecular arrangement in blocklets and starch granule architecture", *Carbohydr. Polym.*, V.63, (2006),555-560.
72. Rahman S., "Resistant starch in cereals: exploiting genetic engineering and genetic variation", *J. Cereal Sci.*,V.46, (2007), 251-260.
73. Jaisut D., "Effects of drying temperature and tempering time on starch digestibility of brown fragrant rice", *J. Food Eng.*, V.86, (2008), 251-258.
74. Boursier, B., "Amidons natifs et amidons modifiés alimentaires" , *Techniques de l'Ingénieur*, V.34,(2005).
75. Waigh, T.A., Gidley, M.J., Komanshek, B.U., Donald, A.M., "The phase transitions in starch during gelatinization: a liquid crystalline approach", *Carbohydr.Res.*, V. 328, (2000), 165-176.
76. Leveque, E., Haye, B., Belarbi, A., "L'amidon et ses dérivés, applications industrielles", Collection Bio Campus, Editions scientifiques et médicales Elsevier SAS, (2000).
77. Lu, T.J., Duh, C.S., Lin, J.H., Chang, Y.H., "Effect of granular characteristics on the viscoelastic properties of composites of amylose and waxy starches", *Food Hydrocolloids*, V.22, (2007),164-173.
77. Yanli, W., Wenyuan, G., Xia, Li., "Carboxymethyl Chinese yam starch: synthesis, characterization, and influence of reaction parameters", *Carbohydrate Research*, V. 344, (2009), 1764-1769.
78. Chang, P.S., Park, K.O., Shin, H.K., Suh, O.S., Kim, K.O., "Physicochemical properties of partially oxidized corn starch from bromide-free tempo-mediated reaction", *J. Food Sci.*, V.73, (2008),173-178.
79. Mateescu, M.A., Lenaerts, V., Dumoulin, Y.,"Crosslinked material for controlled release of biologically active compounds", *brevet États-Unis*, V. 5 n°456 921,(1995).
80. Calinescu, c., Nadeau, E., Mulhbacher, I., Fairbrother I.M., Mateescu, M.A., "Carboxymethyl high amylose starch for F4 fimbriae gastro-resistant oral formulation", *Int .J. Pharm.*, V.343, (2007),18-25.
81. Massicotte, L.P., Baille, W.E., Mateescu, M.A.,"Carboxylated high amylose starch as pharmaceutical excipients. Structural insights and formulation of pancreatic enzymes", *Int J Pharm.*, V.356, (2008),212-223.
82. Mulhbacher,I., Ispas-Szabo,P., Ouellet, M., Alex, S., Mateescu, M.A., "Mucoadhesive properties of cross-linked high amylose starch derivatives", *Int J Biol Macromol.*, V.40, (2006), 9-14.
83. Peppas, N.A. and Sahlin, J.J., "Hydrogels as mucoadhesive and bioadhesive materials: a review", *Biomaterials*, V.17,n°16, (1996),1553-1561.
84. Hennink, W.E.; Van Nostrum C.F., "Novel crosslinking methods to design hydrogels", *Adv. Drug Deliv.*, V.54,(2002),13-36.

85. Osada, Y., "Gel Handbook", edition Academic Press, New York, V.1, (1997), 76-194.
86. Boissiere, M., "Elaboration et Caractérisation de Microsphères hybrides Kappa carraghénane/Silice", Thèse de doctorat : Université de Montpellier, (2004),12-66.
87. Fadda, G.C., Layrez, D., Pelta, J., "The Sol-Gel Transition probed by the dynamics studies of Latex Particules Studied by QELS", *Physica A*,V.304, (2002),103-110.
88. Peppas, N.A., "Hydrogels in pharmaceutical formulations", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, V.50,n^o1, (2 000), 27-46.
89. Amsden, B., "Solute diffusion in hydrogels. An examination of the retardation effect ,*Polymer Gels and Networks*", V.6,n^o1,(1998), 13-43.
90. Lin, C.C., and Metters, A.T., "Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling", *Advanced Drug Delivery Reviews*, V.58,(2006), 1379-1408.
91. Peppas N.A.,"Hydrogels in Medicine and Pharmacy",V.1,Fundamentals, CRC Press, Boca Raton, FL, (1986), 180 pages.
92. Flory, P.J., "Molecular theory of rubber elasticity", *Polymer*,V.20, n^o11,(1979),1317-1320.
93. Hoffman, A.S., "Hydrogels for biomedical applications", *Advanced Drug Delivery Reviews*, V.54,n^o1,(2002),3-12.
94. Schröder, U.P., and Opperman, W., "Properties of polyelectrolyte gels. In: Cohen-Addad, J.P. ed., The physical properties of polymeric gels", John Wiley and Sons Ltd., Chichester, (1996),19-38.
95. Dubrovskii, S.A., Rakova, G.V., Lagutina, M.A., Kazanskii, K.S., "Poly(ethylene oxide) hydrogels with charged groups at network junctions", *Pol. Sc. Ser. A*, V.41, (1999), 1062-1067.
96. Vervoort, S. and Budtova, T., "Evidence of shear-induced polymer release from a swollen gel particle", *Polymer Int.*, V.52, (2003),553-558.
97. Rubinstein, M., Colby, R.H., Dobrynin, A.V., Joanny, J.F., "Elastic modulus and equilibrium swelling of polyelectrolyte gels", *Macromolecules*, V.29, (1996), 398-406.
98. Tanaka, T., "Gels", *J. Ch. Soc. Am.*, V.244, (1981), 110-123.
99. Ilavský, M., Mamytbekov, G., Bouchal, K., Hanyková, L., "Phase transitions in swollen gels: Effect of negative charge concentration on swelling and mechanical behaviour of poly(N-vinylcaprolactam)gels", *Polymer bulletin*, V.43, (1999),109-116.
100. Flory, P.J., "Principles of polymer chemistry", 7th ed., Cornell University Press, Ithaca and London, (1969).
101. Turgeon, S.L., Beaulieu, M., Schmitt, C., Sanchez, C., "Protein-polysaccharide interactions: phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects", *Current opinion in colloid and interface science*, V.8, (2003),401-414.
102. De Kruijff, C.G., Weinbreck, F., De Vries, R., "Complex coacervation of proteins and anionic polysaccharides", *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, V.9, (2004), 340-349.
103. Williams, P.A. and Phillips G.O., "Interactions in mixed polysaccharide systems", In: *Food polysaccharides and their applications*, (S. Alistar), Marcel Dekker Inc., New York, USA, V.14, (1995), 463-500.

104. Morris, E.R., "Segregative interactions in biopolymer co-gels. In: Phase/state transitions in foods: chemical, structural and rheological changes: Proceedings of a symposium", Orlando, New York: Marcel Dekker, V.6, (1998), 159-186.
105. Laneuville, S.I, Turgeon, S.L., Sanchez, C., Paquin, P., "Gelation of Native β -Lactoglobulin induced by Electrostatic Attractive Interaction with Xanthan Gum", *Langmuir*, V.22, (2006) , 7351-7357.
106. Joanny, J.F., Castelnovo, M., "Multilayer Thin Films, Polyelectrolyte adsorption and multiplayer formation", Weinheim, Wiley-VCH, (2002), 87-97.
107. Webster, L., Huglin, M.B., Robb, I.D., "Complex formation between polyelectrolytes in dilute aqueous solution", *Polymer*, (1997), V.38, 1373-1380.
108. Moustafine, R.I., Kemenova, V.A., Van den Mooter, G., "Characteristics of interpolyelectrolyte complexes of Eudragit E100 with sodium alginate", *International Journal of Pharmaceutics*, V. 294, (2005), 113-120
109. Lankalapalli, S. and M. Kolapalli, V. R., "Polyelectrolyte Complexes: A Review of their Applicability in Drug Delivery Technology", *Indian J Pharm Sci.*, V.71, n⁵, (2009), 481-487.
110. Siepmann, J. and Peppas, N.A., "Hydrophilic Matrices for Controlled Drug Delivery: An Improved Mathematical Model to Predict the Resulting Drug Release Kinetics (the "sequential Layer" Model)", *Pharmaceutical Research*, V.17, n¹⁰, (2000), 1290-1298.
111. Arifin, D.Y., Lee, L.Y., Wang, C.H., "Mathematical modeling and simulation of drug release from microspheres: Implications to drug delivery systems", *Advanced Drug Delivery Reviews*, V.58, (2006), 1274-1325.
112. Katzhendler, I., Mader, K., Friedman, M., "Structure and hydration properties of hydroxypropylmethylcellulose matrices containing naproxen and naproxen sodium", *Int. J. Pharm*, V.200, (2000), 161-169.
113. Kiil, S., Dam-Johansen, K., "Controlled drug delivery from swellable hydroxypropylmethylcellulose matrices: model-based analysis of observed radial front movements", *J. Control Release*, V.90, (2003), 1-21.
114. Ford, J.L., "Thermal analysis of hydroxypropylmethylcellulose and methylcellulose: powders, gels and matrix tablets", *Int. J. Pharm.*, V.179, (1999), 209-228.
115. Maderuelo, C., Zarzuelo, A., Lanao, J.M., "Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices", *J. Control. Release*, V.154, (2011), 2-19.
116. Liu, B.T., Hsu, J.-P., "Inward release polymer matrix covered by a permeable membrane: a possible zero-order controlled release device", *Chem. Eng. Sci.*, V.60, (2005), 5803-5808.
117. Budavari, S., "The Merck Index", 12th ed., ed. Merck and Co., N.J., (1996), 894-895.
118. Clarke's, "Isolation and Identification of Drugs", 2nd ed., A.C. Moffat, ed., The Pharmaceutical Press, London, (1989), 784-785.
119. Martindale, "The Complete Drug Reference", 32nd ed., Sean C. Sweetman, ed., Pharmaceutical Press, (2002), 384-385.
120. Kok, K.P., Wong, C.F., "Polymeric Films as Vehicle for Buccal Delivery: Swelling, Mechanical, and Bioadhesive Properties", *J. Pharm. Sci.*, V.2, (1999), 53-61.

121. Bendas, B., Schamlfuss, U., Neubert, R., "Influence of propylene glycols as cosolvent on mechanisms of drug transport from hydrogels", *Int. J. Pharm.*, V.116,n^o14, (1995),19-30.
122. US Pharmacopeia. "US Pharmacopeia National Formulary U.S.P. XXIV", NF XIX. Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention Inc., (2000).
123. Efentakis, M., and Vlachou, M., "Evaluation of high molecular weight poly(oxyethylene)(Polyox[®])polymer: studies of flow properties and release rates of furosemide and captopril from controlled release hard gelatin capsules", *Pharm. Dev. Technol.*, V.5, (2000) , 339-346.
124. Davidson III, G.W.R., and Peppas, N.A. V., "Relaxation – controlled transport in P(HEMA-co-MMA) copolymers", *J. Control release*, V.3, (1986), 243-258.
125. Roy, D.S., and Rohera, B.D., "Comparative evaluation of rate of hydration and matrix erosion of HEC and HPC and study of drug release from their matrices ", *Eur. J. Pharm. Sci.*, V.16, (2002), 193–199.
126. Patel, V.M., Prajapati, B.G., Patel, M.M., "Design and characterization of chitosan-containing mucoadhesive buccal patches of propranolol hydrochloride", *Acta Pharm*, V.57, (2007),61-72.
127. Higuchi, T., "Mechanism of sustained-action medication-theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices", *J.Pharm.Sci.*, V.52, (1963),1145-1149.
128. Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P., Peppas, N.A., "Mecanisms of solute release from porous hydrophilic polymers", *Int .J.Pharm.*, V.15, (1983), 25-35..
129. Peppas, N.A., and Sahlin, J.J., "A simple equation for the description of solute release: 3. Coupling of diffusion and relaxation", *Int. J. Pharm*, V.57 , (1989),169-172.
130. Singh, B.; Sharma, N., "Development of novel hydrogels by functionalization of sterculia gum for use in anti-ulcer drug delivery", *Carbohydrate polymers*, V. 74, ,(2008),489-494.
131. Myers, R.H., and Montgomery, D.C., "Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments", 2nd ed., John Wiley and Sons, New York, (2002).
132. Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P., Peppas, N.A., "Mechanism of solute release from porous hydrophilic polymers", *Int.J. Pharm.*, V.15,(1983), 25–35
133. Lawal, O.S., Lechner, M.D., Kulicke, W.M., "Single and multi-step carboxymethylation of water yam (*Dioscorea alata*) starch: Synthesis and characterization", *International Journal of Biological Macromolecules*, V.42, (2008), 429-435.
134. Sangseethong, K., Ketsilp, S., Sriroth, K., "The Role of Reaction Parameters on the Preparation and Properties of Carboxymethyl Cassava Starch", *Starch – Stärke*, V. 57, (2005), 84-93.
135. Kamel, S. and Jahangir, K., "Optimization of Carboxymethylation of Starch in Organic Solvents", *International Journal of Polymeric Materials*, V. 56, (2007), 511 - 519.
136. Fadzlina, Z.A.N., Karim, A.A., Teng, T.T., "Physicochemical Properties of Carboxy-methylated Sago (*Metroxylon sagu*) Starch", *Journal of Food Science*, V.70, (2005), 560-567.

137. Kittipongpatana, O., Burapadaja, S., Kittipongpatana, N., "Development of pharmaceutical gel base containing sodium carboxymethyl mungbean starch", *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*, V.7,n¹, (2008), 23-32.
138. Kooijman, L.M., Ganzeveld, K.J., Manurung, R.M., Heeres, H.J., "Experimental Studies on the Carboxymethylation of Arrowroot Starch in Isopropanol-Water Media", *Starch – Stärke*, V.55, (2003), 495-503.
139. Zhou, X., Yang, J., Qu, G., "Study on synthesis and properties of modified starch binder for foundry", *Journal of Materials Processing Technology*, V. 183, (2007), 407- 411.
140. Kittipongpatana, O.S., Chaitep, W., Charumanee, S., Kittipongpatana, N., "Effects of amylose content on the physicochemical properties of sodium carboxymethyl rice starches", *Chiang Mai University Journal of Natural Sciences*, V. 5,n², (2006),199-207.
141. Stojanovic, Z., Jeremic, K., Jovanovic, S., Lechner, M.D., "A comparison of some methods for the determination of the degree of substitution of carboxymethyl starch", *Starch-Stärke*,V. 57, (2005), 79–83.
142. Carr, R.L., "Classifying flow properties of solids", *Chem. Eng.* 72, (1965), 69-72.
143. Hausner, H.H., "Friction conditions in a mass of metal powders", *Int. J. Powder Metall.*, V.3, (1967), 7-13.
144. Kok, H.L., Lip, Y.C., Mohamed I.N., Khalit M., Nishikawa, M., Onuki, Y., Morishita, M., Takayama, K., "Carboxymethylation of kappa-carrageenan for intestinal-targeted delivery of bioactive macromolecules", *Carbohydrate Polymers*,V. 83, (2011), 1507–1515.
145. Charito T.A., Naotsugu N., Aristeia B., Alumanda D.R., "Synthesis and characterization of carboxymethyl derivatives of kappa-carrageenan, *Carbohydrate Polymers*" , V. 87, (2012), 1810– 1816
146. Lawal, O. S., Lechner, M. D., Hartmann, B., Kulicke, W.M., "Carboxymethyl cocoyam starch: synthesis, characterisation and influence of reaction parameters", *Starch-Stärke*, V.59, (2007), 224-233.
147. Muzzarelli, R. A., Tanfani, F., Emanuelli, M., Pace, D. P., Chiurazzi, E., Piani, M., "Sulfated N-(carboxymethyl)-chitosans: Novel blood anticoagulants", *Carbohydrate Research*, V.126, (1984), 225-231.
148. Ramavatar Meena, Kamalesh Prasad, A.K. Siddhanta, "Effect of genipin, a naturally occurring crosslinker on the properties of kappa-carrageenan", *International Journal of Biological Macromolecules* 41 (2007) 94–101
149. Prud'homme, J. and Prid'homme, R., "Synthèse et caractérisation des macromolécules", Editeur presse de l'université de Montréal, (1981).
150. Fontanille, M., Gnanou, Y., "Chimie et physico-chimie des polymères", Dunod, (2010).
151. Kulicke, W.M., Lasen, C.C., "Viscosimetry of polymers and polyelectrolytes", Springer, (2004).
152. Pal, S., Sen, G., Mishra, S., Dey, R.K., Jha,U., "Carboxymethyl tamarind: Synthesis, characterization and its application as novel drug-delivery agent", *Journal of Applied Polymer Science*, V.110, (2008), 392-400.
153. Vreeman, H.J., Snoeren,T.H.M., Payens,T.A.J., "Physicochemical investigation of κ -carrageenan in the random state", *Biopolymers*, V.19, (1980),1357–1374.

154. Matsumura, S., Cheng, H. C., Minami, M., Yoshikawa, S., Kariyone, T., "Carboxymethyl chitosan and its applications", *Oil Chemistry (Japan)*, V.38, (1989), 492–500.
155. Oliveira, A.P., "Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis essential oil, *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*", V.16,n^o1, (2010),121-130,.
156. Shanyang,L.Y., Hui,L., "Microscopique Fourier transform infrared / the differential scanning calorimetry system used to study the different thermal behavior of copolymers of poly Eudragits RS, RL 30D, E or E ", *J Appl Polym Sci.* , V.78, (2000), 29-35.
157. Prado, H.J., Matulewicz, M.C., Bonelli, P., Cukierman, A.L., "Basic butylated methacrylate copolymer/kappa-carrageenan Interpolyelectrolyte complex: preparation, characterization and drug release behaviour", *Eur J Pharm Biopharm*, V.70, (2008),171-179.
158. Bottenbarg, P., Cleymact. R., Muyanek, C.D., Ramon, "Formulation and in vitro evaluation of mucoadhesive buccal tablets of Timolol maleate" , *J Pharm Pharmacol*, V.35,(1991), 43, 57.
159. Madgulkar, A., Bhalekar, M., Wable, N., Patel, K., Kolhe, V., "Egg shell membrane as substrate for bioadhesion measures", *Indian Drugs*, V.45, (2008),219-231.
160. Edmund, J.E., Jonathan, C.E., Brian, D.S., James, E.H., Gary, B.K., Shakil, A.S., Dan A.M., "Formulation and in vitro evaluation of mucoadhesive buccal tablets of Timolol maleate", *Drug Dev Pharmacy*, V.33, (2007), 755-765.
161. Ramadan , A., "Formulation and Evaluation of Bioadhesive Gels Containing Miconazole Nitrate", *Journal of Applied Sciences Research*, V.4,n^o9, (2008),1052-1065.
162. Shioh-Fern N.g., , Rouse, J., Sanderson,D., Eccleston,G., "A Comparative Study of Transmembrane Diffusion and Permeation of Ibuprofen across Synthetic Membranes Using Franz Diffusion Cells", *Pharmaceutics* 2, (2010), 209-223.
163. Shojaei, A.H., Berner, B., Li, X., "Transdermal delivery of acyclovir. Part 1. In-vitro determination of routes of buccal transport", *Pharm.Res.*,V.15, (1998),1182-1194.
164. Valvani, S.C., Yalkowsky, S.H., Roseman, T.J., "Solubility and partitioning. 4. Aqueous solubility and octanol–water partition-coefficients of liquid non-electrolytes", *J. Pharm. Sci.*, V.70, (1981),502–507.
165. The British Pharmacopoeia, "Her Majesty's Stationary Office", London (1998). British Pharmacopoeia CD-ROM, volume 1 (2000).
166. Peppas, N.A., and Krosmeier,R.W., "Dynamically swelling hydrogels in controlled release applications, in medicines and pharmacy", In N.A.Peppas(Ed.),*Properties and applications*, Vol.3, (1987),118-121.
167. Ritger,P.L., and Peppas,N.A., "A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-fickian release from non swelling devices in the form of slabs, spheres, cylinders or disc", *Journal of controlled release*, V.5, (1987a),23-36,
168. Ritger,P.L., and Peppas,N.A. "A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-fickian release from swelling devices", *Journal of controlled release*, V.5, (1987b), 37-42,
169. Singh,B. , "Psylliumas therapeutic and drug delivery agent", *International Journal Pharmaceutics*, V.334, (2007),1-14

170. Langer, R., "New methods of drug delivery", *Science*, V. 249, (1990), 1527-1533.
171. Langer, R., Peppas, N.A., "Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems", *Biomaterials* 2, (1981), 201-214.
172. Gopferich, A., "Mechanism of polymer degradation and erosion", *Biomaterials*, V.17, (1996), 103-114.
173. Anderson, J.M., Shive, M.S., "Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres", *Advanced Drug Delivery Reviews*, V.28, (1997), 5-24.
174. Peppas, N.A., Bures, P.W., bandung, L., Ichikawa, H., "Hydrogels in pharmaceutical formulations", *Eur. J. Pharm.Biopharm*, V.50, (2000), 27-46.
175. Rochas, C., "Etude de la transition sol-gel du kappa-carraghenane", Thèse de doctorat, Université Scientifique et médicale, Institut National Polytechnique de Grenoble: n°159,(1982).
176. Peppas, N.A., Sahlin J.J., "A simple equation for the description of solute release: 3. Coupling of diffusion and relaxation", *Int. J. Pharm*, V.57 , (1989),169-172..
177. Hao, J.S., Chan, L.W., ShenHeng, P.W.S., "Complexation Between PVP and Gantrez Polymer and Its Effect on Release and Bioadhesive Properties of the Composite PVP/Gantrez Films", *Pharm. Dev. Tech.*, V.9, (2004), 379-386.
178. Park, H., Robinson, J.R., "Mechanisms of bioadhesion of polyacrylic acid hydrogels", *Pharm Res.*,V. 4, (1987), 457-464.
179. Peppas, N.A. and Buri, P.A., "Surface, interfacial and molecular aspects of polymer bioadhesion on soft tissues", *J. Control. Release*, V.2,(1985) ,257-275.
180. Lehr, C.M., Bouwstra, J.A., Schacht, E.H., Junginger, H.E., "In vitro evaluation of mucoadhesive properties of chitosan and some other natural polymers", *Int. J. Pharm.*, V.78, (1992), 43-48.
181. Ponchel, G., Touchard, F., Duchene, D., Peppas, N.A., "Buccoadhesive analysis of controlled release systems. I. Fracture and interpenetration analysis in Release", *J. Control. Release*, V.5, (1987),129- 141.
182. Jacques, Y., Buri, P., "An investigation of the physical behavior of moisture-activated mucoadhesive hydrogels upon contact with biological and non-biological substrates", *Pharm Acta Helv.*,V.72,(1997),225-232.
183. Fabregas, J.L, Garcia, N., "In-vitro studies on buccoadhesive tablet formulations of hydrocortisone hemisuccinate", *Drug DevInd Pharm.*, V.21,n°14,(1995),1689-1696.
184. Gu, J.M., Robinson J.R., Leung, S.H.S., "Binding of acrylic polymers to mucin/epithelial surfaces: structure–property relationships", *Crit. Rev. Ther. Drug Carr.Syst.*, V.5, (1998), 21-67.
185. Salamat-Miller, N., Chittchang, M., Johnston, T.P., 'The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery', *Advance Drug Delivery Review*, V. 57, n°11, (2005), 1666-1691.
186. Morgenthaler, S. and "Schumacher, M.M., Robust analysis of a response surface design", *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, V.47, (1999) ,127-141.
187. Phadke, M.S., "Quality Engineering Using Robust Design", Prentice Hall, New Jersey, (1989).
188. Efentakis, M. and Koutlis, A., "Release of furosemide from multiple unit and single unit preparations containing different viscosity grades of sodium alginate", *Pharm. Dev. Technol.*, V.6, (2001), 91-98.

189. Fuertes, I., Caraballo, I., Millan, A.M., "Study of critical points of drugs with different solubilities in hydrophilic matrices" ,International Journal of Pharmaceutics,V. 383, (2010), 138-146.
190. Heinze, T., Liebert, T., Heinze, U., Schwikal, K., "Starch derivatives of high degree of functionalization 9: carboxymethyl starches", Cellulose, V.11, (2004), 239-245.
191. Kooijman, L.M., Ganzeveld, K.J., Manurung, R.M., Heeres, H.J., "Experimental studies on the carboxymethylation of arrowroot starch in isopropanol–water media", Starch-Stärke, V.55, (2003), 495-503.
192. Sangseethong, K., Ketsilp, S., Siroth, K., "The role of reaction parameters on the preparation and properties of carboxymethyl cassava starch", Starch-Stärke, V. 57, (2005),84-93.
193. Sangseethong, K., Ketsilp, S., Siroth, K., "The role of reaction parameters on the preparation and properties of carboxymethyl cassava starch", Starch-Stärke, V. 57, (2005), 84-93.
194. Selke, S.E.M., Culter, J.D., Hernandez, R.J., "Plastics Packaging", Hanser Publishers, Cincinnati, (2004).
195. Suriyatem, K., and Kittipongpatana, N., "Preparation and physicochemical properties of cross-linked carboxymethyl rice starches", Proceeding of 1st Polymer Conference of Thailand, Chulabhorn research institute, (2010), 151-158.
196. Yanli, W., Wenyuan, G., Xia, L., "Carboxymethyl Chinese yam starch: synthesis, characterization, and influence of reaction parameters", Carbohydrate Research, V.344, (2009),1764-1769.
197. Ragheb, A.A., El-Sayiad, H.S., Hebeish, A., "Preparation and Characterization of Carboxymethyl Starch (CMS) Products and Their Utilization in Textile Printing", Starch - Stärke ,V.49, (1997),238-245.
198. Vijisen, C.J., Voncken, R.M.,Beenackers, A.A.C.M., "Design of a continuous process for the production of highly substituted granular carboxymethyl starch", Chemical Engineering Science, V. 56,(2001),411-418.
199. Rachtanapun, P., "Carboxymethyl Cellulose from Papaya Peel/Corn Starch Film Blends", Kasetsart Journal (Natural Science), V.43, (2010),259-266.
200. Wang, L. and Wang, Y.J., "Application of High-Intensity Ultrasound and Surfactants in Rice Starch Isolation", Cereal Chemistry , V.81, (2004),140-144.
201. Cardoso, M.B., Putaux, J.L., Samios, D., da Silveira, N.P., "Influence of alkali concentration on the deproteinization and/or gelatinization of rice starch", Carbohydrate Polymers,V. 70,(2007),160-165.
202. Donald, A.M., Kato, K.L., Perry, P.A., Waigh, T.A., "Scattering Studies of the Internal Structure of Starch Granules", Starch – Stärke,V. 53,(2001), 504-512.
203. Leong, K. H., Chung, L. Y., Noordin, M. I., Mohamad, K., Nishikawa, M., Onuki, Y., "Carboxymethylation of kappa-carrageenan for intestinal-targeted delivery of bioactive macromolecules", Carbohydrate Polymers, V.83, (2011),1507-1515.
204. Volkert, B., Loth, F., Lazik, W., Engelhardt, J., "Highly substituted carboxymethyl starch", Starch, V.56, (2004), 307-314.

205. Silva, F. R. F., Dore, C. M. P. G., Marques, C. T., Nascimento, M. S., Benevides, N. M. B., Rocha, H. A. O., "Anticoagulant activity, paw edema and pleurisy induced carrageenan: Action of major types of commercial carrageenans", *Carbohydrate Polymers*, V.79, (2010), 26-33.
206. Chen, X., and Park, H. J., "Chemical characteristics of O-carboxymethyl chitosans related to the preparation conditions", *Carbohydrate Polymers*, V.53, (2003), 355-359.
207. Kacurakova, M. and Wilson, R., "Developments in mid-infrared FT-IR spectroscopy of selected carbohydrates", *Carbohydrate Polymers*, V.44, (2001), 291-303.
208. Xu, T., Xin, M., Li, M., Huang, H., Zhou, S., "Synthesis, characteristic and antibacterial activity of N, N, N-trimethyl chitosan and its carboxymethyl derivatives", *Carbohydrate Polymers*, V.81, (2010), 931-936.
209. Okuyama, K., Noguchi, K., Miyazawa, T., Yui, T., Ogawa, K., "Molecular and crystal structure of hydrated chitosan", *Macromolecules*, V.30, (1997), 5849-5855.
210. Chen, L., Du, Y., Zeng, X., "Relationships between the molecular structure and moisture-absorption and moisture-retention abilities of carboxymethyl chitosan", *Carbohydrate Research*, V.338, (2003), 333-340.
211. Chen, X., and Park, H. J., "Chemical characteristics of O-carboxymethyl chitosans related to the preparation conditions", *Carbohydrate Polymers*, V.53, (2003), 355-359.
212. Campo, V. L., Kawano, D. F., da Silva, D. B., Jr., Carvalho, I., "Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis- A review", *Carbohydrate Polymers*, V.77, (2009), 167-180.
213. Bucur, C. B., Sui, Z., "Ideal mixing in polyelectrolyte complexes and multilayers: entropy driven assembly", *Journal of the American Chemical Society*, V.128, n°42, (2006), 13690-13691.
214. Antipov, A. A., Sukhorukov, G. B., "Influence of the ionic strength on the polyelectrolyte multilayers' permeability", *Langmuir*, V.19, n°6, (2003), 2444-2448.
215. Héctor, J., Prado, M.C., Matulewicz, P.R., Bonelli, A.L., "Preparation and characterization of a novel starch-based Interpolyelectrolyte complex as matrix for controlled drug release", *Carbohydrate Research*, V.344, (2009), 1325-1331
216. Moustafine, R.I., Kemenova, V.A., Van den Mooter, G., "Characteristics of interpolyelectrolyte complexes of Eudragit E100 with sodium alginate", *International Journal of Pharmaceutics*, V.294, (2005), 113-120
217. Tahara, K., Yamamoto, K., Nishihata, T., "Overall mechanism behind matrix sustained release (SR) tablets prepared with hydroxypropyl methylcellulose", *J. Control. Release*, V.35, (1995), 59-66.
218. Colombo P., "Swelling-controlled release in hydrogel matrices for oral route", *Adv. Drug. Deliv. Reviews*, V.11, (1993), 37-57.
219. Tritt-Goc, J., and Kowalczyk, J., "Spatially resolved solvent interaction with glassy HPMC polymer studied by magnetic resonance microscopy", *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, V.28, (2005), 250-257.
220. Asare-Addo, K., Levina, M., Rajabi-Siahboomi, A.R., Nokodhchi, A., "Effect of ionic strength and pH of dissolution media on theophylline release from hypromellose matrix tablets-Apparatus USP III, simulated fasted and fed conditions", *Carbohydrate Polymers*, V.86, (2011), 85-93.

- 221.** Saidi, M., Akbari, J., Enayatifard, R., Semnani, K.M., Tahernia, M., Valizadeh, H., "In situ cross-linking of polyanionic polymers to sustain the drug release from theophylline tablets", *Iranian J. Pharm. Res*, V.8, (2009),241-249.
- 222.** Bonferoni, M.C., Rossi, S., Ferrari, F., Bertoni, M., Caramella, C., "Influence of medium on dissolution-erosion behaviour of Na carboxymethylcellulose and viscoelastic properties of gels", *Int. J. Pharm*, V.117, (1995),41-48.
- 223.** Magnusson, B., Anissimov, Y.G., Cross, S.E., Roberts, M.S., "Molecular size as the main determinant of solute maximum flux across the skin", *J Invest Dermatol*, V.122, (2004),993-999.
- 224.** Pugh, W.J., Degim, I.T., Hadgraft, J., "Epidermal permeability-penetrant structure relationships: 4, QSAR of per meant diffusion across human stratum corneum in terms of molecular weight, H-bonding and electronic charge", *Int. J. Pharm.*, V.197, (2000), 203–211.