

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saad DAHLAB BLIDA 1
Faculté de Technologie

Département Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GENIE DES PROCEDES

Spécialité : Pharmacie industrielle

Intitulé du mémoire

**Elaboration d'hydrogels incorporés d'insuline pour
le traitement des ulcères des pieds diabétiques :
Etude de la corrélation structure-diffusion**

Présenté par :

Mlle. SI SABER Nouha

Mlle. KHADIR MARIA

Encadré par :

Dr. M. REBIHA

Pr. A. HADJ ZIANE

Promotion 2024

Remerciements

Avant tout nous tenons à remercier ALLAH Le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qui nous donne durant tous les années d'études. Recevez ici nous s'insères remerciement pour tous leurs sacrifices, soutien et l'encouragement, l'amour de nos parents.

Nos remerciements s'adressent à notre **professeure HADJ ZIANE** pour avoir accepté de nous encadrer et de nous diriger, pour sa compréhension, ses encouragements ainsi que pour la confiance qu'elle nous accordée en réalisant ce travail, avec toutes nos sincères grâces et respect.

Nos sincères remerciements s'adressant plus spécialement à **docteur REBIHA** pour avoir assuré l'encadrement scientifique et à se manifester un grand intérêt a l'égard de notre travail, pour laide compétente qu'elle nous a apporté, merci de votre réactivité lors de la rédaction ainsi que pour votre disponibilité et vos conseils précieux.

Nous tenons à remercier les membres du jury pour avoir bien voulu lire et corriger mon manuscrit.

Nous adressons nos remerciements au laboratoire de génie de procédés de faculté de science technologie d'université de Saad Dahleb Blida 1 de réaliser les tests expérimentaux.

Nous adressons aussi nos chaleureux remerciement à **Les doctorantes benkacimi Manel et Habet sara**, et a tous ce qui nos aidé, soutenus et encouragés tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes qui nous ont donné un coup de main pour les métiers premiers.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire A mes parents pour leur amour inestimable, leurs sacrifices, leur confiance, leur soutien et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer.

A mes encadreurs **Pr. A. HADJ ZIAN** et **Dr. M. REBIHA**

A mes chères frères Abdessalem et Anes pour leur amour, leurs conseils ainsi leur soutien inconditionnel, qui m'a permis de réaliser les études que je voulais et par conséquent ce mémoire.

A mes tantes Aicha et Mounia.

A mes oncles Yassine, Radouane et Djamel.

A mes cousines Ouarda, Fatiha et Karima.

A toutes personnes qui nous ont aidés durant mon Parcours d'étude.

A mon camarade de travail Maria et sa maman.

Enfin Je dédie ce mémoire à la population de Gaza, en particulier aux femmes.

Mlle. SISABER Nouha

Louange à Dieu seul,

Ce modeste travail est dédié spécialement ;

A Ma chère maman, ma raison de vivre, en témoignage de ma reconnaissance pour sa patience, son amour et ses sacrifices.

« A vous, ma mère, je dis merci d'avoir fait de moi celle que je suis aujourd'hui.

Aucune dédicace ne pourra exprimer mes respects, mes considérations et ma grande admiration pour vous. Puisse ce travail vous témoigne mon affection et mon profond amour »

A mon père regretté, j'aurais tant aimé que vous partagiez avec moi la joie de ma réussite et que vous soyez présent pour assister à ma remise de diplôme, je t'aime profondément.

A l'homme, mon précieux cadeau du dieu, ma réussite et tout mon respect, à mon grande frère Mohamed, qui a toujours été là pour nous, supportant ses cadets avec son calme remarquable et à sa femme.

A l'homme de ma vie, mon fiancé Abdelmadjide, qui n'a pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que dieu le protège et offre la chance et le bonheur.

A mes chers frère Lakhdar et Abderrahmane et leurs épouses, et à mes chères sœur Soumia et Asma et leurs époux, qui je le sais, ma réussite est très importante à leurs yeux, que dieu vous garde pour moi.

A vous, mes Nièces et mes Neveux, je vous souhaite une vie pleine de bonheur, de joie et de réussite.

Son oublier mon chère binôme Nouha et à sa famille.

A mes amis, mes enseignants et pour ceux qui m'ont donné de laide un jour, que dieu vous paye pour tous vos bienfaits.

Mlle. Khadir maria

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تطوير هلاميات مائية تعتمد على بوليمرات مختلفة هيدروكسي إيثيل السليلوز و كاربوكسي ميثيل السليلوز الصوديوم و كاربوبول و استخدامها لتوصيل الأنسولين عبر الجلد في علاج قرحة القدم السكري.

تم توصيف الهلاميات المائية عن طريق التحديد المعلمات الفيزيائية و الكيميائية و تم الكشف عن المجموعات الوظيفية المميزة بواسطة التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء، كما تمت دراسة السلوك الانسيابي لهذه الهلاميات المائية. اتبعت اختبارات إطلاق خلية فرانتز للأنسولين السريع و البطيء حركة الحركية من الدرجة صفر و الدرجة الأولى و هيجوتشي و كورسمير بيباس.

أظهرت الضوابط الميكروبيولوجية أن الهلاميات المائية لم تكن مستقرة طوال فترة الصلاحية وتحتاج إلى مادة حافظة.

الكلمات المفتاحية الانتشار، الأنسولين، هيدروجل، دراسة في المختبر، عبر الجلد.

Abstract

The aim of the present work is to develop hydrogels based on different polymers: hydroxyethyl cellulose (HEC), sodium carboxymethyl cellulose (CMC) and Carbopol, and to use them for transdermal insulin delivery in the treatment of diabetic foot ulcers.

The hydrogels were characterized by determination of physico-chemical parameters and characteristic functional groups were detected by infrared spectroscopy. The rheological behavior of these hydrogels was also studied.

Frantz cell release tests for fast and slow insulins followed zero-order, first-order, and Higuchi and Korsmeyer peppas kinetics.

Microbiological controls showed that the hydrogels were not stable throughout their shelf life and required preservatives.

Keywords: Diffusion, Insulin, hydrogel, in vitro study, transdermal.

Résumé

L'objectif de ce présent travail est le développement des hydrogels à base de différents polymères ; hydroxyéthylcellulose (HEC), La carboxyméthyl cellulose de sodium (CMC) et Carbopol et leur utilisation pour l'administration de l'insuline par voie transdermique pour le traitement des ulcères des pieds diabétiques.

Les hydrogels ont été caractérisés par détermination des paramètres physico-chimiques et les groupements fonctionnels caractéristiques ont été détectés par spectroscopie infrarouge. Une étude de comportement rhéologique de ces hydrogels a été réalisée.

Les tests de libération par cellule de Frantz pour les insulines rapides et lente suit une cinétique d'ordre zéro, d'ordre un, Higuchi et Korsmeyer peppas.

Les contrôles microbiologiques ont mis en évidence que les hydrogels n'été pas stable pendant toute la durée de conservation et ils nécessitent un conservateur.

Mots clés: Diffusion, Insuline, hydrogel, cellule de Frantz, transdermique, rhéologie

Liste des abréviations

PA	: Principe actif.
pH	: Potentiel hydrogène.
FTIR	: Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier.
ATR/FTIR	: Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier à réflectance totale atténuée.
HEMA	: hydroxyethyl methacrylate.
EDMA	: éthylène di méthacrylate.
MW	: molecular weight (poids moléculaire).
TP	: Hydrogel topologiques.
NC	: Hydrogel nano composites.
DR	: Hydrogel a double réseau.
MPa	: mégapascal.
nm	: nanomètre.
m	: mètre.
g	: Gramme.
s	: second.
J	: joule.
IWGDF	: International Working Group on Diabetic Foot.
WH	: Wound Healing (cicatrisation des plaies).
DM	: Diabetes mellitus (Diabète sucré).
IR	: insuline receptor (récepteur d'insuline).
IRS-1	: insulin receptor substrate (substrat du récepteur de l'insuline) 1 et 2.
IRS-2	
Shc	: transforming protein (protéine transformatrice).
ERK	extracellular signal-regulated kinases (kinases régulées par le signal extracellulaire).
PKB	: protéine kinase B.
Akt	: Le nom traditionnel de la protéine kinase B.
PTP-1B	: protein tyrosine phosphatase.
GSK3	: Glycogen synthase kinase 3 (glycogène synthase kinase 3).
IGF	: Facteur de croissance analogue a l'insuline.
ADN	: L'acide désoxyribonucléique.
G2/M	: fait référence à la phase du cycle cellulaire où la cellule se prépare à se diviser en deux cellules filles.
ERK1/2	: extracellular signal-regulated kinases ½ (kinases régulées par le signal extracellulaire ½).
PI3K	: phosphatidylinositol-3-kinase.
QSPRs	: relations quantitatives structure-perméabilité.
PCA	: Plat count agar.
Ins R	: Insuline rapide.
Ins L	: Insuline lente.
R	: Rapide.
L	: lente.
Abs	: L'absorbance.

Liste des illustrations

Liste des figures

Partie bibliographique

Figure I.1 :	anatomie de la peau.	05
Figure I.2 :	Voies possibles pour la pénétration du médicament à travers la peau.	06
Figure II.1 :	Classification des hydrogels.	12
Figure II.2 :	Représentation schématique des chaînes d'un réseau d'hydrogels dans l'eau.	13
Figure II.3 :	Schéma de formation d'un hydrogel chimique par différents types de polymérisation.	13
Figure II.4 :	Schéma de structure d'un gel chimique réticulé.	14
Figure II.5 :	Schéma de formation et de structure d'un gel physique.	14
Figure II.6 :	Schéma d'un soluté dans un hydrogel.	17
Figure III.1 :	zone du pied à risque.	18
Figure III.2 :	Le mécanisme d'action de l'insuline topique pendant la réparation des plaies.	20
Figure III.3 :	Représentation schématique de la Cellule de Franz.	21

Partie pratique

Figure IV.1 :	La structure chimique de l'insuline humaine.	25
Figure IV.2 :	L'insuline NovoRapid FlexPen.	25
Figure IV.3 :	L'insuline Lantus solostar	26
Figure IV.4 :	Structure chimique de La Carboxyméthylcellulose de sodium (CMCNa).	27
Figure IV.5 :	Structure chimique de l'hydroxyéthyle cellulose (HEC).	27
Figure IV.6 :	Structure chimique du Carbopol.	28
Figure IV.7 :	Structure chimique du NaOH.	28
Figure IV.8 :	Structure chimique du TEA.	29
Figure IV.9 :	Rhéomètre MCR 302 utilisé pour nos analyses.	32
Figure IV.10 :	Le système cône plan utilisé pour nos analyses.	32
Figure IV.11 :	Le montage utilisé pour l'étude in vitro	33
Figure IV.12 :	Schéma du protocole suivi pour les tests de stabilité microbiologiques.	35

Figure VI.1 :	L'aspect des trois hydrogels après 24h.	37
Figure VI.2 :	L'aspect des trois hydrogels après un mois de stockage.	38
Figure VI.3 :	Résultats de l'analyse de l'infrarouge.	40
Figure VI.4 :	Les tests d'étalement pour les trois hydrogels.	41
Figure VI.5 :	Histogramme représente la surface d'étalement des hydrogels préparés	41
Figure VI.6 :	Histogramme représente le taux de gonflement des hydrogels préparés.	42
Figure IV.7 :	Représentation schématique des réseaux polymériques.	43
Figure VI.8 :	Variation de module de stockage (G') et le module de perte (G'') en fonction du taux de cisaillement des trois hydrogels placébos.	43
Figure VI.9 :	Variation de module de stockage (G') et le module de perte (G'') en fonction du taux de cisaillement des trois hydrogels avec l'insuline.	44
Figure VI.10 :	Courbes d'écoulement des hydrogels placébos.	45
Figure VI.11 :	Courbes d'écoulement des hydrogels avec principe actif.	45
Figure VI.12 :	Quantité de l'insuline libérée par unité de surface a matrice HEC.	46
Figure VI.13 :	Quantité de l'insuline libérée par unité de surface a matrice CMC.	48
Figure VI.14 :	Quantité de l'insuline libérée par unité de surface a matrice Carbopol.	49
Figure VI.15 :	Résultats des tests de stabilité microbiologiques dans PCA.	53
Figure VI.16 :	Résultats des tests de stabilité microbiologiques dans Saburraux.	53

Liste des tableaux

Tableau IV. 1 :	La modélisation de la cinétique de diffusion transdermique.	35
Tableau V.1 :	Les valeurs du pH pour les 3 hydrogels préparés.	38
Tableau V.2 :	Viscosités des hydrogels à température ambiante.	39
Tableau V.3 :	Les résultats de l'ajustement de courbe d'étalonnage.	47
Tableau V.4 :	Les résultats de la diffusion de L'insuline rapide à base de trois polymères.	47
Tableau V.5 :	Les résultats de la diffusion de L'insuline lente à base de trois polymères.	49
Tableau V.6 :	Les Paramètres cinétiques de la diffusion des hydrogels préparés.	50
Tableau V.7 :	Modélisations mathématiques pour les trois hydrogels.	51
Tableau V.8 :	Résultats des tests microbiologiques.	52

Table des matières

INTRODUCTION GENERALE	1
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	4
CHAPITRE I : DELIVRANCE TRANSDERMIQUE.....	5
1 DEFINITION DE LA DELIVRANCE TRANSDERMIQUE DU MEDICAMENT	5
2 STRUCTURE DE LA PEAU.....	5
3 LES VOIES DE PENETRATION DU MEDICAMENT A TRAVERS LA PEAU	5
4 INTERET DE LA DELIVRANCE TRANSDERMIQUE	6
5 PARAMETRES INFLUANT LE MECANISME DE L'ADMINISTRATION TRANSDERMIQUE :.....	7
5.1 Propriétés physicochimiques de la fraction active.....	7
a. Coefficient de partage	7
b. Taille moléculaire	7
c. Solubilité et point de fusion.....	7
d. Ionisation	7
e. Coefficient de diffusion.....	7
5.2 Propriétés physicochimiques de l'administration du médicament.....	7
5.3 Propriétés physiologiques.....	8
6 CARACTERISATION DU SYSTEME DE DELIVRANCE TRANSDERMIQUE	8
6.1 Détermination de la solubilité du médicament	8
6.2 Mesures micrométriques.....	8
a. Stabilité.....	8
b. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR).....	9
c. Rhéologie.....	9
CHAPITRE II : GÉNÉRALITÉS SUR LES HYDROGELS.	10
1 PRESENTATION GENERALE DES HYDROGEL	10
2 HYDROGELS PHYSIQUES ET CHIMIQUES	12
2.1 Hydrogels chimiques	12
2.2 Hydrogels physiques.....	13
3 PRINCIPALES PROPRIETES NOTABLES DES HYDROGELS.....	14
3.1 Dégradabilité.....	14
3.2 Propriétés mécaniques	15
3.3 Porosité.....	16
CHAPITRE III : MECANISME D'ACTION DE L'INSULINE POUR LE PIED DIABETIQUE.....	17
1 GENERALITES SUR LE PIED DIABETIQUE.....	17
1.1 Définition	17
1.2 Utilisation de l'insuline pour la cicatrisation des plaies.....	18
1.3 Mécanismes d'action de l'insuline topique pendant la réparation des plaies.....	18

2	ETUDE DE LA DIFFUSION IN VITRO.....	20
2.1	Présentation de la cellule de Frantz	20
	PARTIE PRATIQUE	22
	CHAPITRE IV : MATERIEL ET METHODES.....	23
1	MATIERES PREMIERES.....	23
1.1	Le principe actif : l'insuline humaine [64].....	23
1.1.1	Les deux types d'insulines utilisés	24
1.1.1.1	Les insulines rapides	24
1.1.1.2	Les insulines de durée d'action intermédiaire.....	24
1.2	Les excipients	25
1.2.1	La Carboxyméthylcellulose de sodium (CMCNa).....	25
1.2.2	L'hydroxyéthyle cellulose (HEC)	26
1.2.3	Carbopol.....	26
1.3	Les autres excipients	27
1.3.1	Hydroxyde de sodium (NaOH).....	27
1.3.2	Triéthanolamine (TEA)	27
2	METHODES UTILISEES	28
2.1	La préparation des hydrogels.....	28
2.1.1	Hydrogel à base de HEC	28
2.1.2	Hydrogel à base de CMC	28
2.1.3	Hydrogel à base de Carbopol	29
2.2	La caractérisation des hydrogels.....	29
2.2.1	Evaluation des paramètres organoleptiques	29
2.2.2	Mesure du pH.....	29
2.2.3	Détermination de la viscosité.....	29
2.3	Eude des paramètres physico chimiques :.....	29
2.3.1	Caractérisation par FTIR.....	29
2.3.2	Test d'étalement.....	29
2.3.3	Test de gonflement.....	30
2.4	Etude du comportement rhéologique.....	30
2.5	Etude de la diffusion in vitro	31
	• Le coefficient de diffusion (D)	32
	• Le coefficient de perméabilité (Kp)	32
	• Le flux à l'équilibre (Js)	32
	• Le temps de latence ou le temps de rétention du perméat (tr)	33
2.6	Contrôle de la stabilité microbiologique.....	33

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSION	35
1 FORMULATION DES HYDROGELS	35
2 CARACTERISATION PHYSICOCHIMIQUE	35
2.1 Paramètres organoleptiques.....	35
2.2 Mesure du pH.....	36
2.3 Mesure de la viscosité	37
2.4 Caractérisation par spectroscopie FTIR	37
2.5 Tests d'étalement des hydrogels sur la peau.....	39
2.6 Tests de gonflement.....	40
3 ETUDE DU COMPORTEMENT RHEOLOGIQUE.....	41
3.1 Résultats du test de viscoélasticité	41
3.1.1 Pour les Hydrogels placébos.....	41
3.1.2 Hydrogels avec principe actif	42
3.2 Les courbes d'écoulement	43
3.2.1 Hydrogels placébos.....	43
3.2.2 Hydrogels avec principe actif (l'insuline)	44
4 ETUDE IN VITRO DE LA DIFFUSION TRANSDERMIQUE.....	45
4.1 Résultats d'ajustement de la courbe d'étalonnage de l'insuline	45
4.2 Etude de la Libération du principe actif.....	45
4.2.1 Libérations d'insuline rapide	45
4.2.2 Libérations d'insuline lente	46
4.3 Détermination des paramètres cinétiques	48
4.4 Modélisation mathématique	49
5 CONTROLE DE LA STABILITE MICROBIOLOGIQUE.....	50
CONCLUSION GENERALE.....	51
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.	

INTRODUCTION GENERALE

La thérapie par voie transdermique consiste en l'administration de médicaments et présente de nombreux avantages, tels que la facilité d'utilisation, l'absence de douleurs liées aux injections et la possibilité d'obtenir une libération prolongée du principe actif.

D'une part, les hydrogels jouent un rôle important en tant que matrices de libération des médicaments à travers la peau. Ce sont des réseaux tridimensionnels de polymères hydrophiles capables de retenir une grande quantité d'eau tout en conservant leur structure.

D'autre part, l'insuline est un médicament couramment utilisé pour le traitement du diabète. Cependant, son administration par voie transdermique présente des défis significatifs en raison de la taille et de la charge électrique de la molécule d'insuline, ainsi que des barrières de la peau qui limitent son absorption.

Le diabète de types 1 et 2 se définit par un mauvais contrôle de la glycémie, c'est-à-dire du taux de sucre qui se trouve dans le sang. Normalement, c'est l'insuline qui laisse sortir le sucre du sang vers les tissus

L'infection du pied diabétique se définit par l'invasion et la multiplication de micro-organismes entraînant une réponse inflammatoire allant jusqu'à la destruction des tissus atteints. On peut limiter les conséquences du diabète aux pieds par différents moyens préventifs dont un bon contrôle de la glycémie car 50% des amputations pourraient être évitées par des soins de pieds préventifs tels que la libération de l'insuline directement au niveau des pieds et libère le sucre emprisonné dans les cellules du pied ; ceci est notre challenge.

Dans ce contexte, l'utilisation d'hydrogels incorporés d'insuline peut surmonter certains de ces obstacles en fournissant une libération contrôlée de l'insuline et en améliorant son absorption à travers la peau.

L'objectif principal consiste à réaliser une étude détaillée de la diffusion transdermique de l'insuline moyennant un hydrogel spécifiquement formulé. Pour ce faire, les tests ex-vivo par cellule de Franz s'est avérée comme la technique bien établie pour évaluer la pénétration de substances à travers la peau et de déterminer les paramètres clés régissant le transfert de matière à travers les différentes couches de la peau.

Pour se faire, des hydrogels ont été formulés en utilisant des polymères hydrophiles compatibles avec l'insuline et pouvant former un réseau stable et poreux.

Pour se faire, ce mémoire a été structuré de deux parties :

Une partie théorique comprend quatre chapitres ; le premier présente la délivrance transdermique, le deuxième chapitre est une revue de la littérature sur les hydrogels et les notions fondamentales sur leurs propriétés intrinsèques, tandis que le troisième explore le problème du pied diabétique et le rôle de l'insuline dans son traitement. Le quatrième consiste en une description de la diffusion in vitro par la cellule de Franz.

Une partie pratique décrit en détail la méthodologie utilisée dans la formulation des hydrogels en utilisant des matrices celluloseuses et une caractérisation par des méthodes physico-chimiques et spectroscopiques.

L'étude du mécanisme de diffusion par la validation du modèle, la détermination des paramètres de diffusion et la corrélation entre ces derniers et le comportement rhéologique constitue une étape cruciale dans ce présent travail. Les résultats obtenus seront interprétés et discutés et enfin ce mémoire sera clôturé par une conclusion générale qui mettra l'accent sur les principaux résultats obtenus avec des recommandations et perspectives pour la continuité dans cet axe fort passionnant sachant que la prévalence du diabète croît chaque année et particulièrement en Algérie.

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : DELIVRANCE TRANSDERMIQUE.

1 DEFINITION DE LA DELIVRANCE TRANSDERMIQUE DU MEDICAMENT

La délivrance transdermique est une méthode indolore d'administration des médicaments par voie systémique, consistant à appliquer une formulation médicamenteuse sur une peau saine et intacte. Le médicament pénètre initialement dans la couche cornée, puis passe à travers l'épiderme et le derme plus profond sans accumulation de médicament dans la couche dermique [1]. La connaissance de cette dernière est primordiale.

2 STRUCTURE DE LA PEAU

La peau est l'organe du corps le plus accessible et le plus vaste, avec une surface de 1,7 m², représentant 16% de la masse corporelle totale d'une personne moyenne. Elle peut être divisée en trois régions principales : l'épiderme, qui contient La couche cornée ; le derme qui confère la force et élasticité à la peau et l'hypoderme qui est la couche la plus profonde et qui garantit la protection contre les chocs physiques et l'isolation thermique [2, 3].

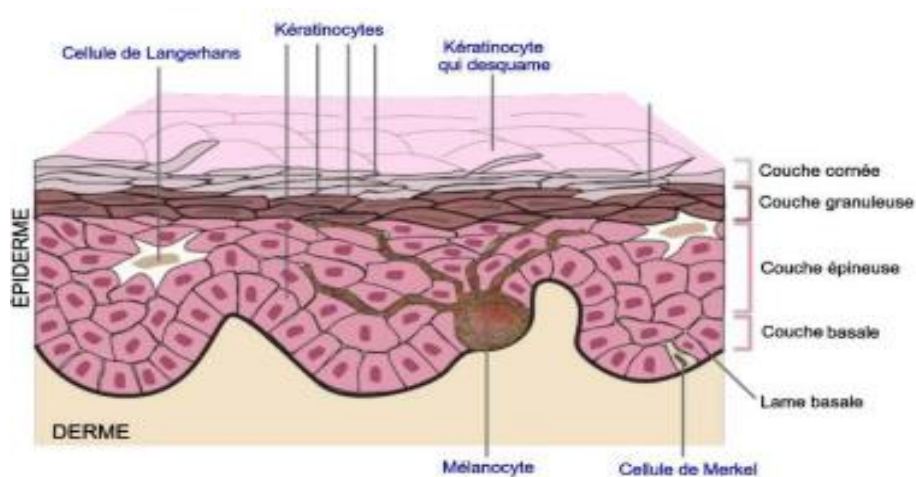


Figure I.1 : anatomie de la peau.

3 LES VOIES DE PENETRATION DU MEDICAMENT A TRAVERS LA PEAU

Il existe deux voies possibles de pénétration du médicament à travers la peau :

- La voie transépidermique : elle implique le passage des molécules à travers la couche cornée, barrière à la fois architecturale, multicouche et multicellulaire [4].

- La voie transappendégée : elle implique le passage des molécules à travers les glandes sudoripares et à travers les follicules pileux [5, 6], comme illustré sur la figure ci-dessous :

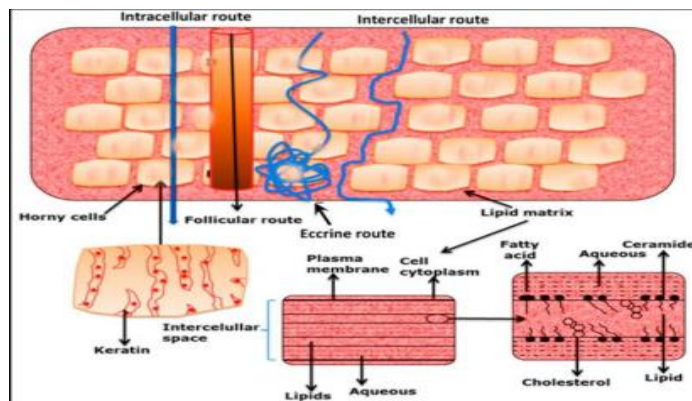


Figure I.2 : Voies possibles de pénétration du médicament à travers la peau.

4 INTERET DE LA DELIVRANCE TRANSDERMIQUE

L'administration des médicaments par voie transdermique se voit comme une alternative intéressante et prometteuse par rapport aux autres voies pour les raisons suivantes [7]

- ✓ Suppression de l'effet du premier passage hépatique, pulmonaire et gastrique ;
- ✓ Administration contrôlée sur une période prolongée de temps en évitant d'atteindre des niveaux toxiques ;
- ✓ Réduction des effets indésirables systémiques ;
- ✓ Augmentation de l'observance du patient ;
- ✓ Alternative en cas d'impossibilité d'administrer par la voie orale (nausée où inconscience) ; [8]
- ✓ L'administration transdermique permet d'administrer les médicaments avec des systèmes programmables de dernière génération ;
- ✓ Les systèmes transdermiques sont généralement peu coûteux par rapport aux autres traitements ;
- ✓ La voie transdermique permet l'utilisation d'un médicament relativement puissant avec un risque minimal de toxicité pour le système [9,10].

5 PARAMETRES INFLUANT LE MECANISME DE L'ADMINISTRATION TRANSDERMIQUE :

L'administration des médicaments à travers la peau a suscité beaucoup d'intérêt au cours de la dernière décennie. Cette voie d'administration peut être régie par plusieurs facteurs tels que :

5.1 Propriétés physicochimiques de la fraction active

a. Coefficient de partage

Les médicaments possèdent une solubilité dans l'eau et dans les lipides. Le Coefficient de partage idéal pour l'administration transdermique intermédiaire est $\log k \{1-3\}$. Pour les médicaments fortement lipophiles ($\log k > 3$). La voie intracellulaire est favorable alors que pour les médicaments hydrophiles ($\log k < 1$), elle est imprégnée par voie transcellulaire.

b. Taille moléculaire

La taille moléculaire d'un médicament est inversement proportionnelle au flux transdermique. La taille moléculaire idéale de la molécule médicamenteuse pour l'administration transdermique est $< 400\text{nm}$.

c. Solubilité et point de fusion

La plupart des solutés organiques ont un point de fusion élevé et une faible solubilité à température et pression normales. Le médicament lipophile pénètre plus rapidement que les substances hydrophiles, mais il devrait également présenter la solubilité dans l'eau.

d. Ionisation

Le médicament imprègne la peau selon l'hypothèse pH-Partition.

e. Coefficient de diffusion

À température constante, le coefficient de diffusion du médicament dépend principalement des propriétés du médicament, du milieu de diffusion et de leur interaction.

5.2 Propriétés physicochimiques de l'administration du médicament

- Le taux de perméation peut être influencé soit par la nature du PA, le pH et le Coefficient de partage.
- La composition du système d'administration du médicament peut ne pas affecter les propriétés de libération mais peut affecter la fonctionnalité de sa perméabilité.

- La majorité des médicaments ne pénétreront pas par la peau pour un usage thérapeutique dans laquelle certains activateurs sont utilisés pour une action synergique sans montrer leurs propriétés [11].

5.3 Propriétés physiologiques

Ce sont principalement :

- Propriétés de la barrière cutanée chez le nouveau-né et le jeune nourrisson qui est hydrophobe, sec, rugueux et qui se stabilise à partir de l'âge de 3 mois.
- Propriétés de la peau chez les personnes âgées tels que : La diminution de la teneur en humidité, la destruction de jonction épidermique et la réduction de la surface disponible pour la transmission dans le derme.
- Les différences raciales (peaux noires et peaux blanches).
- Température de la peau [11].

6 CARACTERISATION DU SYSTEME DE DELIVRANCE TRANSDERMIQUE

Les systèmes d'administration transdermique sont caractérisés selon les méthodes suivantes :

6.1 Détermination de la solubilité du médicament

La détermination de la solubilité du médicament dans la matrice transdermique au début du processus de formulation peut éviter les problèmes d'instabilités.

6.2 Mesures micrométriques

a. Stabilité

La température de la formulation et les conditions de stockage présentent une incidence sur la stabilité physique des préparations à base de nanoparticules, ainsi que les caractéristiques optiques et la viscosité sont également importantes.

Pour cela les instabilités dans les différentes formulations doivent être surveillées et évaluées d'une manière répétée dans le temps et dans des conditions de stockage variables [16,17].

b. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Elle est utilisée pour étudier l'organisation lipidique latérale de la matrice lipidique intercellulaire dans la couche cornée, essentielle pour la fonction barrière de la couche cornée. Les vibrations d'étirement permettent de déterminer si les lipides sont en tassement ordonné ou désordonné tandis que les vibrations de cisaillement et de balancement fournissent des informations détaillées sur la présence de phases orthorhombiques.

c. Rhéologie

La caractérisation des propriétés rhéologiques du système est importante non seulement pour la conception du produit et son application, mais également pour son traitement et pour garantir une longue durée de vie. Il est donc nécessaire d'explorer les changements rhéologiques que nos formulations pourraient subir lorsqu'elles sont soumises à des forces extérieures [28].

CHAPITRE II : GÉNÉRALITÉS SUR LES HYDROGELS.

1 PRESENTATION GENERALE DES HYDROGEL

L'hydrogel est un réseau à trois dimensions de polymères gonflés par une grande quantité d'eau. Leur classification se fait selon différents critères, représentés dans le diagramme de la figure II.1 :

- La source du polymère : naturel ou synthétique.
- La nature de la réticulation : chimique ou physique.
- La nature du réseau polymérique : homopolymérique, copolymérique ou de Polymères enchevêtrés.
- La charge de l'hydrogel.
- La durée de vie dans l'organisme : hydrogel dégradable ou non-dégradable.
- Les propriétés physiques : conventionnel ou intelligent.

Wichterle et al [28], ont élaboré pour la première fois en 1960 des hydrogels par copolymérisation du 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) avec l'éthylène di méthacrylate (EDMA) et les a utilisés comme lentilles de contact. Depuis, ces matériaux ont connu une ascension particulière dans le domaine biomédical à cause des possibilités de combiner les polymères naturels et synthétiques mais aussi en raison de l'existence d'une gamme variée d'agents de réticulation qui peuvent être utilisés pour obtenir des propriétés adéquates à l'application désirée.

Pour le contrôle des propriétés physiques de ces hydrogels, on a recours à la réticulation des polymères par des méthodes chimiques et/ou physiques [29,30]. La nature du réseau, de la structure Physique, de la réticulation, la source ou le type d'interaction avec les tissus vivants sont des critères qui permettent la classification des hydrogels dans diverses catégories.

Malgré la modification substantielle du volume lors du gonflement, les hydrogels gardent leur intégrité, biocompatibilité et cytocompatibilité [31]. En réponse aux sollicitations mécaniques, les hydrogels présentent un comportement élastique prononcé et lors de la compression une contraction du volume et la croissance de la densité sont observées [32]. Les hydrogels ont une forme propre, sont des milieux transparents, en général, et sous l'action de la chaleur, une perte accentuée de masse accompagnée d'une forte contraction du volume prononcée [33]. Les propriétés des hydrogels sont utilisées pour l'élaboration de systèmes transdermiques par plusieurs groupes de chercheurs [34,35]. Kim et al. [35], ont élaboré des micro-aiguilles destinées à la perforation de la peau. Les auteurs de l'étude précisent qu'ils ont utilisé le copolymère d'acide lactique et d'acide glycolique à cause des propriétés de gonflement et des propriétés mécaniques requises. L'expansion du volume des microparticules d'hydrogel au contact du milieu aqueux, sous la peau, détermine la désintégration des aiguilles et la libération du principe actif.

La morphologie des membranes des hydrogels est très fine et homogène ; sont ainsi appropriées aux applications en bio-ingénierie [36] et aussi dans le domaine de la libération contrôlée des médicaments comme les hydrogels sensibles aux stimuli [39]. L'un des avantages de l'utilisation des hydrogels comme matrices pour la libération contrôlée des médicaments est leur capacité à présenter une transition de phase d'ordre sous l'influence des paramètres externes : pH, température, la force ionique, champ magnétique et champ électrique.

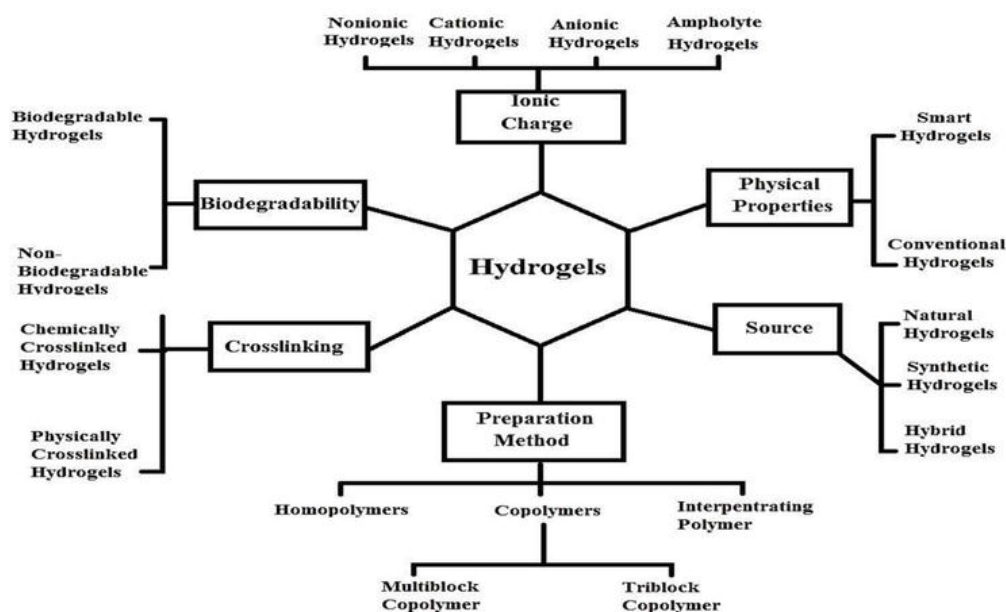


Figure II.1 : Classification des hydrogels.[36]

C'est ainsi que l'hydrogel est un réseau tridimensionnel de polymères hydrophiles dans lequel la quantité d'eau est comprise entre 20 et 95% du poids total [37]. La principale caractéristique de l'hydrogel est sa capacité à gonfler en présence d'eau et à se contracter en son absence. Cette propriété est conditionnée par la nature des chaînes du polymère et par leur densité d'enchevêtrement [39] (figure II.2).

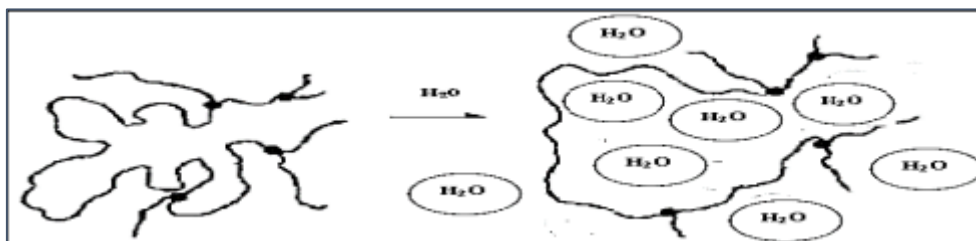


Figure II.2 : Représentation schématique des chaînes d'un réseau d'hydrogels dans l'eau.[39]

2 HYDROGELS PHYSIQUES ET CHIMIQUES

Les hydrogels se divisent en deux grandes familles : chimiques (irréversibles) et physiques (réversibles).

2.1 Hydrogels chimiques

L'hydrogel est caractérisé de **chimique** lorsqu'il est maintenu par des liaisons covalentes (Figure II.5). Peut atteindre un niveau de gonflement d'équilibre dans des solutions aqueuses qui dépendent principalement de la densité de liaisons (estimée par l'augmentation du poids moléculaire MW de la chaîne moléculaire). Ce dernier n'est pas homogène, renfermant habituellement des zones d'enchevêtrement élevées contenant peu d'eau, dispersées parmi des zones de bas enchevêtrement qui présentent un gonflement élevé [40], ou réticulation de polymères hydrosolubles. [41].

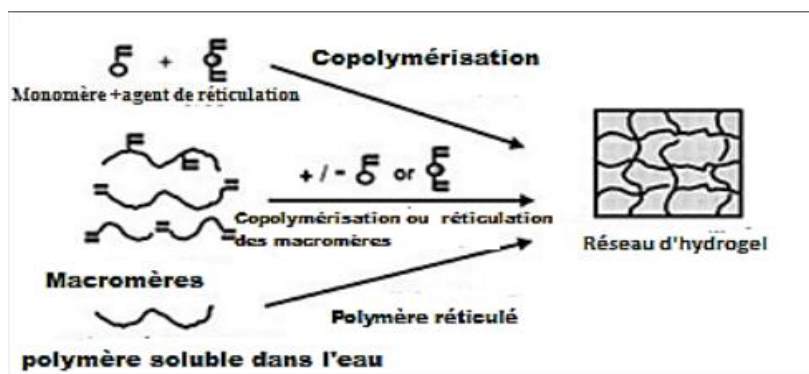


Figure II.3 : Schéma de formation d'un hydrogel chimique par différents types de polymérisation.

Dans certains cas, dépendamment de la composition du solvant, de la température et de la concentration des solides durant la formation du gel, une phase de séparation peut se produire, et des pores peuvent se former. De plus, les bouts de chaînes libres et les boucles représentent des zones défectueuses qui ne peuvent contribuer à l'élasticité du réseau (Fig. II.4).

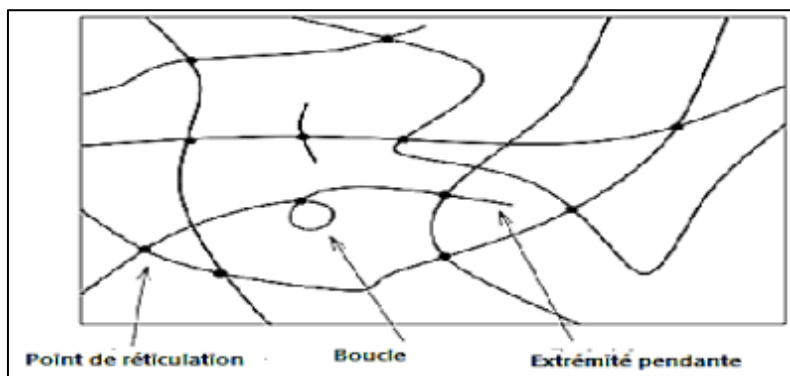


Figure II.4 : Schéma de structure d'hydrogel chimique réticulé.

2.2 Hydrogels physiques

L'hydrogel est caractérisé de **physique** quand il est maintenu par des liaisons de faible énergie incluant les forces ioniques (Figure. II.6) [41].

L'hydrogel physique est moins homogène que l'hydrogel chimique, présentant de nombreuses régions d'enchevêtrements élevées. Les bouts de chaînes libres et les boucles représentent aussi des réseaux défectueux transitoires dans l'hydrogel physique. Quand un poly électrolyte est combiné avec un ion multivalent de charge opposée, il peut former se un hydrogel physique connu sous le nom d'hydrogel "ionotropique". L'alginate de calcium est un exemple de ce type d'hydrogel.

De plus, quand les poly électrolytes de charges opposées sont mélangés, ils peuvent se gélifier ou précipiter suivant leur concentration, la force ionique ou le pH de la solution. Toutes ces interactions sont réversibles, et peuvent être perturbées par de simples changements des conditions du milieu tel que la force ionique, le pH, la température ou l'application d'un stress.

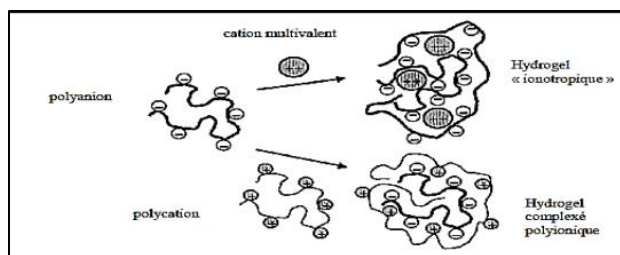


Figure II.5 : Schéma de formation et de structure d'hydrogel physique.

Un autre aspect important à considérer est la relation entre le réseau formé et l'eau. Le caractère de l'eau dans un hydrogel peut déterminer la rétention des molécules piégées. Quand un hydrogel sec commence à absorber de l'eau, les premières molécules d'eau entrant dans la matrice vont hydrater les régions les plus polaires des groupes hydrophiles menant à de l'eau liée primaire. Dès que le groupe polaire est hydraté, le réseau gonfle et expose les groupes hydrophobes qui interagissent avec les molécules d'eau, menant à une organisation particulière de l'eau de solvataion des régions hydrophobes ou une eau liée secondaire. Les eaux liées primaires et secondaires sont souvent combinées et simplement dites "eau liée totale".

3 PRINCIPALES PROPRIETES NOTABLES DES HYDROGELS

Les hydrogels utilisés comme biomatériaux dans les biotechnologies nécessitent certaines propriétés physico-chimiques que l'on doit pouvoir caractériser et contrôler. Les caractéristiques importantes sont : la biocompatibilité [42] et les propriétés mécaniques [43].

La perméabilité dans les hydrogels est également un paramètre nécessaire à étudier en vue des applications potentielles d'encapsulation et de relargage [41,44]. Enfin, certains hydrogels dits "intelligents" voient leurs caractéristiques modifiées en réponse à un stimulus extérieur [37].

3.1 Dégradabilité

Le contrôle de la dégradation d'un biomatériau peut être un facteur clé dans les applications biomédicales. En se dégradant, le matériau laisse de l'espace pour la croissance d'un nouveau tissu, ou laissant diffuser les molécules bioactives. La dégradation d'hydrogel peut être contrôlée par des méthodes physiques et/ou chimiques : il est possible de jouer sur la masse molaire des polymères ou leur composition pour contrôler la cinétique de dégradation in vivo ; Exemple en irradiant un alginate de haute masse molaire, on peut couper sélectivement certains types de liaisons, et ainsi former un hydrogel se dégradant plus

facilement. L'utilisation d'enzymes est un exemple de méthode biologique permettant la dégradation des hydrogels [42].

3.2 Propriétés mécaniques

Les propriétés mécaniques d'un hydrogel sont très importantes pour le choix du matériau utilisé pour une application spécifique : les caractéristiques attendues ne sont pas les mêmes en ingénierie tissulaire ou pour des lentilles de contact (gel mou), pour un épaississant en agroalimentaire (gel très mou), ou encore dans la fabrication de microbilles humidificateurs (gel dur).

Pour comprendre le comportement mécanique des hydrogels, on utilise les théories d'élasticité et viscoélasticité basées sur la réponse temporelle du gel soumis à une contrainte.

On peut distinguer les gels mous, comme les élastomères, qui sont viscoélastiques possédant un faible module d'Young. Ils possèdent une contrainte seuil de plasticité à partir de laquelle la déformation est irréversible : c'est le régime de viscoplasticité.

Les gels plus rigides possèdent des modules d'Young supérieurs : ils sont moins déformables et peuvent se casser quand la contrainte dépasse une contrainte seuil de rupture. La rigidité d'un polymère réticulé provient essentiellement de la densité de réticulation et de l'énergie des liaisons ; Par exemple, lorsqu'un hydrogel n'est pas homo polymérique, il améliore la rigidité finale du matériau augmentant ainsi la proportion de monomères plus "solides" et la raideur du squelette de polymères (en remplaçant par exemple des acrylates par des méthacrylates). On peut également augmenter la densité de réticulation d'un gel en augmentant la quantité d'agent réticulant ou la concentration en polymère [44].

Les conditions de formation de l'hydrogel telles que le temps de réaction, la température, la quantité et le type de solvant influent sur la structure finale du gel et peuvent également affecter les propriétés mécaniques de ce dernier ; Exemple, lorsque le temps de réaction avec l'agent réticulant est court, la densité de points de réticulation sera faible et le gel sera moins rigide.

Le post-traitement d'un gel (addition d'un composé réagissant avec le (s) polymère (s)) peut changer la structure du réseau polymérique et modifier alors ses propriétés mécaniques. Le degré de gonflement d'un réseau d'hydrogel est intimement lié à sa résistance mécanique : plus il est gonflé d'eau, plus la densité de réticulation est faible [43].

3.3 Porosité

De nombreuses applications sont basées sur la diffusion de soluté dans un hydrogel. La porosité (taille des pores du réseau) et les paramètres qui affectent la diffusion d'un soluté dans ce dernier sont des caractéristiques importantes à déterminer. La structure du réseau (taille des pores), la composition du polymère, la nature et la taille des solutés sont des paramètres nécessaires dans le phénomène de diffusion. Lorsque la taille des solutés est de l'ordre de la taille des pores de l'hydrogel, on peut déterminer leur coefficient de diffusion par diverses modélisations dont la forme générale :

$$\frac{D_{gel}}{D_{eau}} = f(a, \Phi, \xi) \quad \text{Eq II.1}$$

Avec D_{eau} (respectivement D_{gel}) le coefficient de diffusion du soluté dans l'eau pure (respectivement dans l'hydrogel), a la taille du soluté, Φ la fraction volumique en polymère dans le gel et ξ la taille caractéristique de la maille du réseau de l'hydrogel [36].

La taille de la maille ξ peut être affectée par plusieurs facteurs incluant : le degré de réticulation du gel, la structure chimique du polymère et l'environnement extérieur (pH, température, force ionique). La taille caractéristique des mailles du réseau d'un hydrogel est typiquement comprise entre 5 et 100 nm. En conclusion, il est nécessaire d'adapter la composition du polymère et la densité de réticulation à la taille et la composition du soluté présent dans l'hydrogel [41,44].

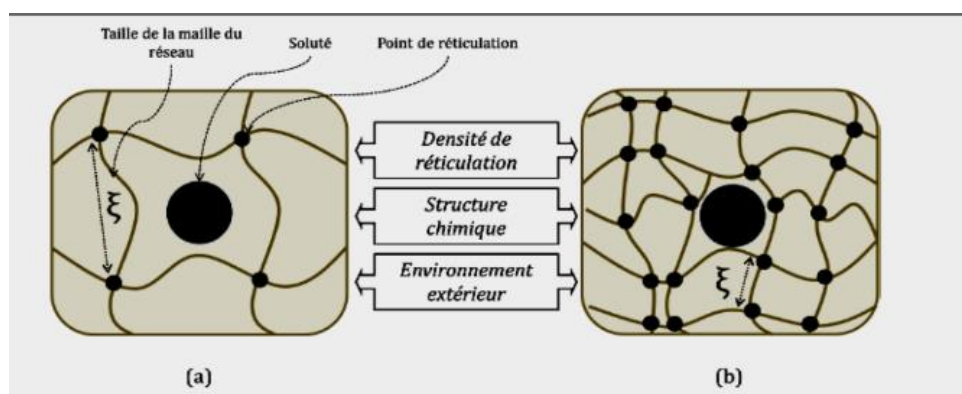


Figure II.6: Schéma d'un soluté dans un hydrogel : (a) La taille du soluté est petite par rapport à la maille du réseau, il peut diffuser librement. (b) Le soluté a une taille de l'ordre de la taille de maille du réseau, il est piégé par les polymères.

La porosité du gel peut être "réglée" en modifiant différents paramètres tels que la densité de réticulation, la structure chimique du polymère et l'environnement extérieur (pH, température, force ionique etc....) [41, 44].

CHAPITRE III : MECANISME D'ACTION DE L'INSULINE

POUR LE PIED DIABETIQUE

1 GENERALITES SUR LE PIED DIABETIQUE

1.1 Définition

Le Consensus international de Travail sur le Pied Diabétique (ou IWGDF : International Working Group on Diabetic Foot) le définit comme étant une infection, ulcération ou destruction des tissus profonds du pied associés à une neuropathie et/ou un artériopathie périphérique des membres inférieurs chez les patients diabétiques [45].

Les ulcères du pied diabétique touchent 15% de tous les diabétiques au cours de leur vie. La majorité des ulcères du pied sont traités en ambulatoire ou la surveillance limitée. Les données de sortie des hôpitaux de certains pays ont indiqué que 6 à 20% de toutes les personnes diabétiques hospitalisées avaient un ulcère des membres inférieurs [46]. Chaque année, environ 4 millions de personnes diabétiques présentent un nouvel ulcère du pied.

Dans les pays développés, jusqu'à 4% de la population diabétique a un ulcère du pied, utilisant 12-15% des ressources de santé pour le diabète.

Dans les pays en voie de développement, ce chiffre pourrait atteindre jusqu'à 40 % [47]. Le fardeau de la maladie du pied diabétique devrait augmenter dans l'avenir puisque les facteurs contributifs à la maladie du pied, telles que la neuropathie périphérique et les maladies vasculaires, sont présents chez plus de 10% des personnes au moment du diagnostic du diabète de type 2, et la première année après le diagnostic, constitue une période critique chez le diabétique car c'est la période du danger pour les ulcères du pied et les amputations [48]. Les zones du pied à risques sont représentées sur la figure ci-dessous :

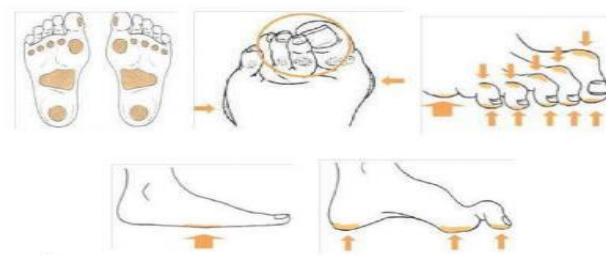


Figure III.1 : zone du pied à risque

1.2 Utilisation de l'insuline pour la cicatrisation des plaies

L'insuline est utilisée pour traiter les plaies chroniques depuis le début du 20^e siècle. Le traitement systémique à l'insuline réduit les infections après les interventions chirurgicales chez les patients atteints de diabète [48] et améliore la cicatrisation chez les patients non atteints de cette maladie [53].

Les premiers rapports utilisant l'insuline topique pour traiter les plaies dues au diabète datent des années 60 [49] et 70 [40].

Par la suite, l'utilisation de l'insuline topique à des fins de cicatrisation a diminué et peu d'études ont été réalisées jusqu'à la fin des années 90 [43, 56, 57].

Récemment, l'insuline topique, les solutions d'insuline [46], les sprays à base d'insuline, les crèmes [53] et les pansements [6] ont été utilisés avec succès pour traiter les ulcères chroniques chez les personnes atteints ou non de diabète [53].

L'insuline a également été utilisée pour traiter les brûlures, chez l'Homme [56] et sur des modèles animaux [52], avec des efficacités remarquables.

Hrynyk et Neufeld [58] ont passé en revue les premières de l'insuline sur la WH et la guérison des brûlures. Bien que de nombreuses études aient abordé l'effet cicatrisant de l'insuline systémique dans les brûlures [52, 56], peu d'études ont l'effet de l'insuline topique [51].

1.3 Mécanismes d'action de l'insuline topique pendant la réparation des plaies

Les mécanismes qui sous-tendent les effets de l'insuline topique sur la réparation des plaies cutanées sont résumés dans la figure III.2 ci-dessous.

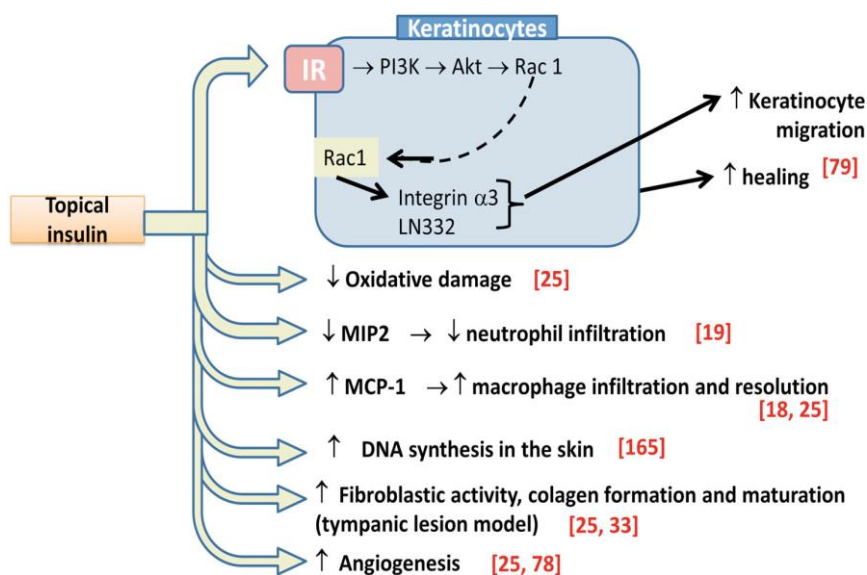


Figure III.2 : Le mécanismes d'action de l'insuline topique pendant la réparation des plaies.

Des tests in-vivo ont montré la signalisation de l'insuline qui est un acteur majeur de la WH car les protéines impliquées dans les premières étapes de l'action de l'insuline sont dans les plaies cutanées par rapport à la peau intacte. IR, IRS-1, IRS-2, Shc, ERK et PKB/Akt sont augmentés en cas de lésion cutanée chez le rat [53]. tandis que l'IR, la protéine tyrosine phosphatase (PTP)-1B, IRS-1 et IRS-2 sont augmentés dans la peau blessée des souris [53]. Les taux de GSK3-a et -b phosphorylés ont également augmenté pendant la réparation des plaies chez les souris [53].

Ces kinases sont inactivées à la suite de la phosphorylation de la sérine, ce qui réduit l'activation fonctionnelle de la glycogène synthase [29]. Chez l'Homme, les fibroblastes dermiques expriment d'avantage l'IGF-1 dans les cicatrices chéloïdes et hypertrophiques immatures que dans la peau normale [60].

Les injections intradermiques locales d'insuline augmentent la synthèse de l'ADN dans les plaies cutanées des lapins [58], particulièrement importante dans la cicatrisation de la peau, car la réépithélialisation et l'angiogenèse nécessitent une synthèse protéique importante.

De plus, le traitement topique à l'insuline des plaies cutanées de la souris accélère la réépithélialisation et améliore la qualité de la cicatrisation, en améliorant la migration et la différenciation des kératinocytes ; il favorise également l'attachement de l'épiderme au derme, augmentant ainsi le nombre d'appendices cutanés, de crêtes réticulaires épidermiques et de papilles dermiques par rapport aux plaies non traitées [55].

2 ETUDE DE LA DIFFUSION IN VITRO.

La pénétration percutanée est une méthode biopharmaceutique qui évalue l'absorption cutanée d'un principe actif ou d'une substance cosmétique dans une forme galénique. La méthode la plus utilisée pour l'apprécier et la méthode de diffusion en cellules de Franz (Figure III.3).

2.1 Présentation de la cellule de Franz

La Cellule de Franz ou Cellule de diffusion thermostatée (37 °C) est utilisée pour l'étude in vitro du passage transcutané d'une substance active contenue dans un excipient donné. Constituée d'un compartiment donneur qui reçoit la formulation contenant le principe actif et d'un récipient receveur contenant une solution appropriée. Les deux compartiments sont séparés par une membrane qui peut être artificielle ou constituée par un fragment de peau (humaine ou animale).

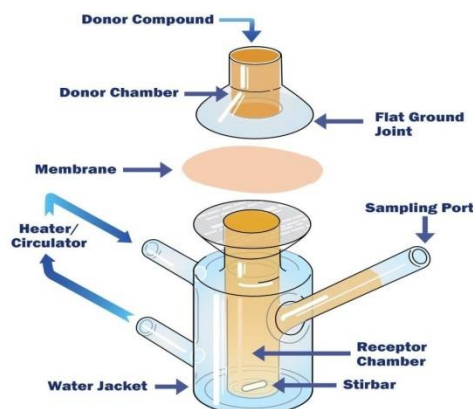


Figure III.3: Représentation schématique de la Cellule de Franz.

La formulation à tester est injectée sur la membrane dans le compartiment donneur et des prélèvements successifs dans le compartiment receveur permettent d'établir au cours du temps le profil cinétique de passage.

A la fin de l'expérience, la quantité d'actif qui n'a pas pénétré dans la peau est mesurée ainsi que la distribution dans les assises cutanées (stratum corneum, épiderme et derme) et la quantité présente dans le compartiment récepteur. Ces données permettent d'établir un bilan massique, un profil de distribution et de calculer un certain nombre de paramètres.

La pénétration est définie par un ensemble de paramètres dont le coefficient de perméabilité est défini par l'équation suivante :

$$P = \frac{K_{\text{insuline/St}} D}{L} \quad (\text{III.1})$$

Avec:

P : le coefficient de perméabilité (pénétration) en unité de vitesse ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$),

K_{insuline/St} : le coefficient de partage insuline/St,

D : le coefficient de diffusion ($\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$),

L : la longueur du chemin de diffusion de la molécule qui pénètre (m) [60].

Il est difficile de mesurer le coefficient de perméabilité expérimentalement dans la mesure où P et D sont deux inconnues reliées par la même équation. Il existe plusieurs estimations empiriques pour calculer ce coefficient de perméabilité, rassemblées sous le terme de relation quantitative structure/perméabilité [61,62].

Le calcul le plus connu, et le plus simple, qui est très largement utilisé est obtenu par une relation mathématique établie de façon empirique par Potts et Guy à la suite d'une étude portant sur la perméabilité de différentes substances chimiques, comme les corticoïdes, de log P compris entre -3 et +6 et de masses moléculaires variées (entre 18 et >750) dans la peau [59] :

$$\text{Log}P = 0,71 \log K_{\text{insuline/eau}} - 0,0061M - 6,3 \quad (\text{III.2})$$

Avec :

M: la masse molaire en g/mol de l'actif.

La diffusion d'une substance dans la peau est décrite par la première loi de Fick [63] (Equation IV.3).

$$J = -D \frac{dC}{dx} \quad (\text{III.3})$$

Avec :

J : le flux en $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,

D : le coefficient de diffusion en $\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$,

dC/dx : le gradient de concentration sur la distance x de la membrane.



PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE IV : MATERIEL ET METHODES.

Dans ce chapitre seront présentés le matériel et les méthodes utilisées dans :

- ✓ Préparation des hydrogels et leurs caractérisations par des tests physico-chimiques, spectroscopiques et rhéologiques afin de sélectionner le meilleur matériau.
- ✓ Encapsulation de l'insuline dans les différents hydrogels et caractérisations.
- ✓ Etude in-vitro de la libération de l'insuline par cellule de Frantz.
- ✓ Détermination des paramètres de diffusion afin d'établir une corrélation entre ces derniers et les paramètres de diffusion.

1 MATIERES PREMIERES

1.1 Le principe actif : l'insuline humaine [64]

L'insuline humaine est un peptide constitué de 2 chaînes d'acides aminés reliées l'une à l'autre par deux ponts disulfures et pesant 5808 Daltons. Le premier pont disulfure est situé entre les 2 cystéines des chaînes A et B en position 7. Le second pont disulfure est situé entre une cystéine en 20 de la chaîne A et une cystéine en 19 de la chaîne B.

La chaîne A contient 20 acides aminés dont le premier est la glucine et le dernier est l'asparagine, elle renferme aussi un pont disulfure entre la cystéine 6 et la cystéine 11. La chaîne B est constituée de 30 acides aminés dont le premier est la phénylalanine et le dernier est la thréonine.

Sa structure chimique avec sa séquence d'acides aminés a été décrite en 1955 par le biochimiste Sanger. C'est sous forme d'hexamère que l'insuline est stockée dans les granules de sécrétion des cellules β des îlots de Langerhans puis sécrétée.

Puis, ces hexamères sont dissociés en dimères puis en monomère par passage dans le sang. La figure ci-dessous illustre la structure de l'insuline :

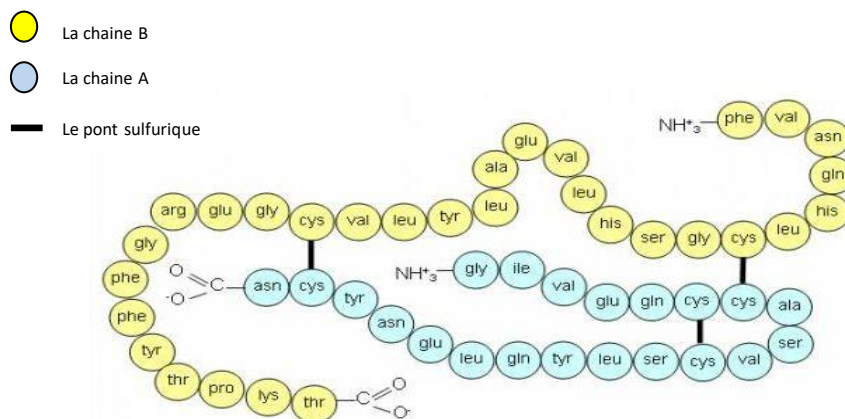


Figure IV.1 : La structure chimique de l'insuline humaine.

1.1.1 Les deux types d'insulines utilisés

1.1.1.1 Les insulines rapides

Les insulines rapides se caractérisent par une durée d'action brève. Leurs effets se font sentir 35 à 60 minutes après l'injection, avec un pic d'action après 2 à 4 heures, et une durée d'action de 5 à 8 heures. Elles se présentent sous forme de flacons et de cartouches pour stylos injecteurs, et de stylos injecteurs pré remplis jetables. [65]

NovoRapid FlexPen® Solution injectable SC à 100 UI/ml, boîte de 5 Cartouches de 3 ml en stylo injecteur multidose pré-rempli jetable fabriquée dans les laboratoires Novo Nordisk.



Figure IV.2 : L'insuline NovoRapid FlexPen.

1.1.1.2 Les insulines de durée d'action intermédiaire

Les insulines de durée d'action intermédiaire sont également appelées insulines isophanes ou NPH (Neutre Protamine Hagedorn). Leurs effets se font sentir 2 à 4 heures après

l'injection, avec un pic d'action 4 à 12 heures après, et une durée d'action de 12 à 24 heures. [66]

LANTUS SOLOSTAR® Solution injectable SC à 100 UI /ml conditionnée en boîte de 5 cartouches de 3 ml en stylo injecteur multidose pré-rempli jetable, fabriquée dans les Laboratoires Sanofi-Aventis.



Figure IV.3 : L'insuline Lantus solostar

1.2 Les excipients

Plusieurs polymères ont été utilisés comme matrices pour la préparation des hydrogels, il s'agit de :

1.2.1 La Carboxyméthylcellulose de sodium (CMCNa)

C'est le nom générique d'une série d'éthers cellulosiques obtenus par réaction de celluloses présentant des caractéristiques définies et de monochloroacétate de sodium ou d'acide monochloracétique [9].

Caractéristiques physico-chimiques

- Description chimique : acide glycolique, du sel de sodium de cellulose (CMC Na),
- Poids moléculaire : 263,20 g/mol ;
- Aspect : poudre blanche – beige,
- Densité : 0,6 ~ 0,1 Kg / l a 20°C,
- pH : 10 en solution aqueuse à 1%,
- Viscosité : a 5% dans l'eau de 3000 à 5000 mPas (20°C). [67]

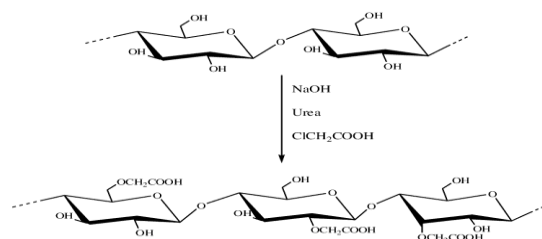


Figure IV.4 : Structure chimique de La Carboxyméthylcellulose de sodium (CMCNa).

1.2.2 L'hydroxyéthyle cellulose (HEC)

L'hydroxyéthyle cellulose est obtenue par substitution par un groupement Hydroxyéthyle en utilisant l'oxyde d'éthylène, c'est un polymère dérivé de la cellulose, utilisé principalement comme épaississant, agent de contrôle de la viscosité et stabilisant dans de nombreux produits cosmétiques, pharmaceutiques et industriels. Ses principales caractéristiques sont sa solubilité dans l'eau, sa capacité à former des gels transparents et sa compatibilité avec de nombreux autres ingrédients.

Caractéristiques physico-chimiques

- Description chimique : éther de cellulose hydroxyéthyle ;
- Poids moléculaire : 736,7 g/mol ;
- Aspect : poudre blanche ou jaunâtre ;
- Densité : 0,55 ~ 0,7 Kg / l a 20°C
- pH : 6 ~ 8,5 a solution de 1% ;
- Viscosité : a 5% dans l'eau de 50 à 400 mPas (20°C). [67]

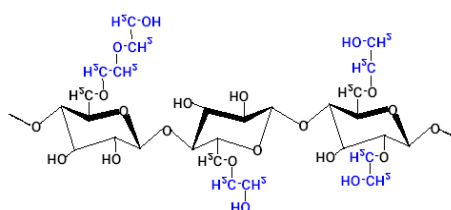


Figure IV.5 : Structure chimique de l'hydroxyéthyle cellulose (HEC).

1.2.3 Carbopol

Le Carbopol est un polymère d'acide polyacrylique réticulé en poudre blanche. C'est un modificateur de rhéologie extrêmement efficace, capable de fournir une viscosité élevée et de former des gels clairs étincelants ou des gels et crèmes hydro alcooliques. Ses propriétés

anti-goutte à débit court sont idéales pour les applications telles que les gels transparents, les gels hydro alcooliques et les crèmes.

Caractéristiques physico-chimiques

- Description chimique : polymère d'acide polyacrylique ;
- Poids moléculaire : 72,06 g/mol ;
- Aspect : poudre blanche ;
- pH : 2.7~ 3.3 (solution à 0.5 % à 25°C) ;
- Viscosité : 400000 à 600000mPas (25°C). [67]

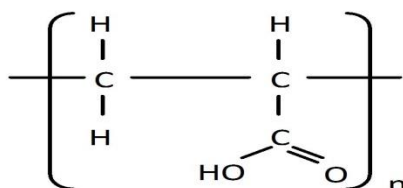


Figure IV.6 : Structure chimique du Carbopol.

1.3 Les autres excipients

1.3.1 Hydroxyde de sodium (NaOH)

L'hydroxyde de sodium est une base corrosive, puissante, inorganique et alcaline. Il est hydrosoluble et peut absorber l'humidité et le dioxyde de carbone de l'air ; utilisé comme réactif de laboratoire, dans la neutralisation et la titration des acides, dans les procédés de fabrication, dans les produits chimiques domestiques, etc.

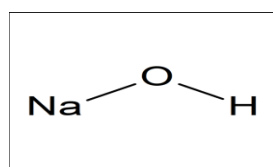


Figure IV.7 : Structure chimique du NaOH. [67]

1.3.2 Triéthanolamine (TEA)

La triéthanolamine est aussi connue sous le nom de trolamine, ou le nom systématique 2,2',2-nitrilotriéthanol.

Sa formule brute est $C_6H_{15}NO_3$. Il s'agit d'un composé organique qui est une amine tertiaire et un triol. Comme d'autres amines, la triéthanolamine agit en tant que base faible due à la seule paire d'électrons sur l'atome d'azote.

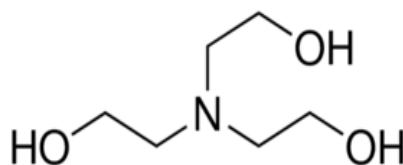


Figure IV.8 : Structure chimique du TEA.

Caractéristiques physico-chimiques

- **Catégorie fonctionnelle** : Agent alcalinisant et émulsifiant ;
- **Aspect** : La triéthanolamine est un liquide visqueux clair, incolore à jaune pâle, ayant une légère odeur d'ammoniac ;
- **pH** : 10,5 (0,1 N solution) ;
- **Point d'éclair** : 208°C ;
- **Point de congélation** : 21,6°C ;
- **Point de fusion** : 20-21°C [67]

2 METHODES UTILISEES

2.1 La préparation des hydrogels

2.1.1 Hydrogel à base de HEC

L'hydrogel à base de HEC a été préparé par agitation du HEC avec l'eau distillée pendant une durée de 3 minutes. Ensuite, il a été homogénéisé par un ultra turrax IKA t18 basic pendant 5 minutes.

L'insuline a été incorporée dans l'hydrogel sous agitation modérée

2.1.2 Hydrogel à base de CMC

La CMC a été incorporée dans l'eau distillée déjà chauffée à 30°C par une agitation jusqu'à ce que la CMC soit complètement dissoute, après refroidissement une homogénéisation a été faite pendant 3 minutes.

L'insuline a été incorporée dans l'hydrogel de la même façon sous faible agitation.

2.1.3 Hydrogel à base de Carbopol

Pour préparer cet hydrogel à base du Carbopol, initialement, ce dernier a été agité avec l'eau distillée, après le mélange obtenu a été neutralisé par la solution de NaOH (0.1N) et la TEA sous homogénéisation.

L'insuline a été aussi incorporée dans l'hydrogel sous agitation.

2.2 La caractérisation des hydrogels

Afin de mettre en évidence leurs propriétés organoleptiques, physico-chimiques et Rhéologiques, une étude de caractérisation a été réalisée :

2.2.1 Evaluation des paramètres organoleptiques

Les hydrogels ont été inspectés d'un point de vue couleur, consistance, homogénéité et présence ou absence d'agrégats. Il est à préciser que la couleur a été vérifiée par examen visuel sur fond blanc. De même, l'odeur a été contrôlée en sentant le produit. Enfin, la consistance a été évaluée en appliquant le gel sur la peau.

2.2.2 Mesure du pH

Après le contrôle organoleptique, Il est important de contrôler le pH des hydrogels préparés car cela peut affecter leur stabilité, leur efficacité et leur sécurité d'utilisation à l'aide d'un pH-mètre en plongeant complètement l'électrode dans l'hydrogel. Le résultat est la moyenne de trois lectures.

2.2.3 Détermination de la viscosité

Les mesures des viscosités des hydrogels préparés ont été réalisées moyennant un Viscosimètre Brookfield. Une quantité d'hydrogel a été mise en rotation à 2,5 tr/ min. La lecture de la valeur est faite sur un cadran gradué.

2.3 Eude des paramètres physico chimiques :

2.3.1 Caractérisation par FTIR

La spectroscopie infrarouge est une technique d'analyse chimique qui utilise l'interaction entre la matière et la lumière infrarouge, ce dernier fait partie du spectre électromagnétique entre le Visible et les Micro-ondes, avec des longueurs d'onde allant de 780 nm à 1 mm

2.3.2 Test d'étalement

Il est réalisé selon la méthode des plaques parallèles modifiées. Une quantité de 0.6ml d'hydrogel est déposé à l'intérieur du cercle de 1cm de diamètre pré-marqué sur une plaque en

verre placée au-dessus d'un papier millimétré sur lequel des cercles de 1 à 14 cm de diamètre sont dessinés. Une seconde plaque en verre d'environ 132g de masse est déposée parallèlement sur la première plaque. Ensuite, des poids de 50 g, 100g, 150g, 200g et 350g sont laissés reposer sur la plaque de verre supérieure pendant 30s. L'augmentation du diamètre due à l'étalement du gel est notée. Les résultats sont exprimés en termes de surface d'étalement selon l'équation IV.1.

$$S = d^2 * \frac{\pi}{4} \quad (\text{IV.1})$$

Dans laquelle **S** est la surface d'étalement (cm²), et **d** est le diamètre moyen (cm) atteint par l'échantillon.

2.3.3 Test de gonflement

Les hydrogels préparés ont été séchés dans l'étuve à des températures et des intervalles de temps différents (l'hydrogel à base de CMC a été séché à 50°C pendant 24h, l'hydrogel à base de HEC a été séché à 100°C pendant 3h, celui à base de Carbopol a été séché à 140°C pendant 1h).

Des tests de gonflement ont été effectués sur les hydrogels séchés (films). Ces derniers sont immergés dans de l'eau distillée à température ambiante, et, de cette manière, les films sont transformés de nouveau en hydrogels (ou film réhydratés) qui sont régulièrement pesés au cours du temps. Le taux de gonflement (TG) a été déterminé selon l'Equation VI.2 : [71]

$$TG = \frac{m_t - m_0}{m_0} \quad (\text{IV.2})$$

Dans laquelle **TG** est le taux de gonflement (%), **m₀** est la masse de l'hydrogel sec (g), et **m_t** est la masse de l'hydrogel réhydraté (g).

2.4 Etude du comportement rhéologique

Après la formulation des gels, il est important d'étudier leurs comportements rhéologiques. Cette dernière a été effectuée à l'aide d'un rhéomètre compact modulaire (physica Rheolab MCR302, de marque Anton Paar). Le système de mesure utilisé est un système cône plan.

Les propriétés et les paramètres rhéologiques dépendent de la contrainte et de la durée de l'application de celle-ci. Le test a été effectué à 20°C après avoir laissé les gels reposer pendant 24h au moins.

Deux tests ont été réalisés, un test de viscoélasticité pour faire ressortir la région linéaire et déterminer les composantes viscoélastiques, et un test d'écoulement.

- Le test de viscoélasticité a été réalisé en faisant varier la déformation γ de 10^{-3} à $10^{+3}\%$ et en enregistrant les deux modules viscoélastiques, à savoir G' et G'' .
- Le test d'écoulement a été réalisé en variant la vitesse de cisaillement de 10^{-3} à 10^{+3} s^{-1} et en mesurant la viscosité apparente.



Figure IV.9 : Rhéomètre MCR 302 utilisé pour nos analyses.



Figure IV.10 : Le système cône plan utilisé pour nos analyses.

2.5 Etude de la diffusion in vitro

Le montage consiste en une cellule de diffusion (cellule de Frantz). Environ 1 ml d'hydrogel a été déposé de façon régulière à la surface de la membrane (en acétate de cellulose). Le compartiment récepteur est rempli d'une solution tampon (pH=7,4). La cellule est placée dans un bain-marie à 40°C, ce qui permet d'obtenir une température de 37°C au niveau de la peau. Une partie du liquide récepteur (solution tampon de phosphate pH = 7,4) a été prélevé à des intervalles de temps réguliers $t_{5\text{min}}$, $t_{15\text{min}}$, $t_{30\text{min}}$, $t_{1\text{h}}$, $t_{1.5\text{h}}$, $t_{2\text{h}}$, $t_{2.5\text{h}}$ dans lesquels la diffusion de l'insuline a été étudiée. Les analyses ont été réalisées avec un spectrophotomètre UV/Visible Hitachi U-5100 à une longueur d'onde de 271nm [68]. Le

liquide prélevé est systématiquement remplacé par une quantité équivalente. La figure ci-après illustre le montage utilisé :

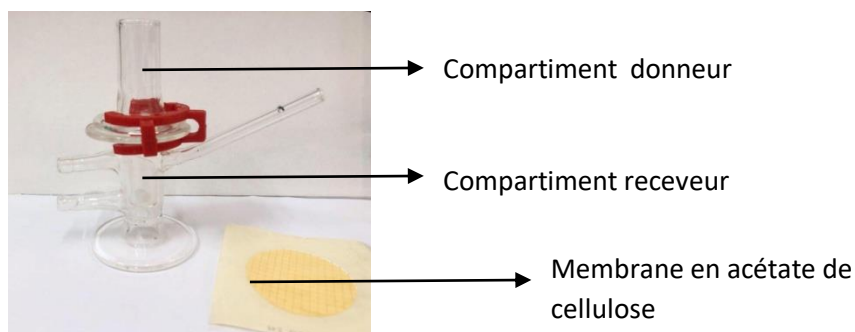


Figure IV.11 : Le montage utilisé pour l'étude in vitro.

Les paramètres cinétiques de diffusion ont été déterminés ; il s'agit du coefficient de diffusion (D), le coefficient de perméabilité (K_p) et le temps de latence (t_r) à partir des résultats expérimentaux obtenus.

- Le coefficient de diffusion (D)

Le coefficient de diffusion (D) exprime la mobilité d'un produit à travers la couche d'un film. Il est calculé à partir de l'équation (Eq IV.3).

$$D = \frac{Q^2 \pi}{4C_0^2 t} \quad (\text{IV.3})$$

Dans laquelle D est le coefficient de diffusion [$\text{cm}^2 \cdot \text{min}^{-1}$], Q est la quantité de médicament libérée par unité de surface [$\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2}$], C_0 est la concentration initiale du PA dans l'hydrogel étudié [$\text{mg} \cdot \text{cm}^{-3}$], et t est le temps écoulé depuis le début de l'expérience de libération [min] jusqu'à la fin.

- Le coefficient de perméabilité (K_p)

Le coefficient de perméabilité (K_p) exprime la 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 :

$$K_p = \frac{J_s}{C_0} \quad (\text{IV.4})$$

Dans laquelle 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 étudiée [$\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2}$], J_s est le flux à l'équilibre [$\text{mg} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{min}^{-1}$].

- Le flux à l'équilibre (J_s)

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, ce dernier est

déterminé à partir des données des expériences ex-vivo dans lesquelles 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.

- Le temps de latence ou le temps de rétention du perméat (t_r)

La partie linéaire de la droite de 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 la relation ci-dessous :

$$t_r = \frac{h^2}{6D} \quad (\text{IV.5})$$

La modélisation de la cinétique de diffusion transdermique a été réalisée pour trois modèles différents: ordre zéro, ordre 1, Higuchi et Korsmeyer-peppas :

Tableau IV.1 : La modélisation de la cinétique de diffusion transdermique.

Modèles mathématiques	Equation	Graphique	Référence
Ordre zéro	$\frac{Q_t}{Q_\infty} = K_0 \cdot t$ (IV.6)	Q = f(t)	(Aucoin, 2013)
Premier ordre	$\frac{Q_t}{Q_\infty} = e^{-K_1 \cdot t}$ (IV.7)	Ln Q = f(t)	(Aucoin, 2013)
Higuchi	$\frac{Q_t}{Q_\infty} = K_h \cdot t^{\frac{1}{2}}$ (IV.8)	Q = f(t ^{1/2})	(Aucoin, 2013)
Korsmeyer peppas	$\frac{Q_t}{Q_\infty} = K \cdot t^n$ (IV.9)	Log Q = f(log t)	(Aucoin, 2013)

Où Q_t/Q_∞ est la fraction de l'insuline libérée ; t est le temps ; K_0 K_H K_1 et K sont les constantes cinétiques, n est l'exposant qui dépend du mécanisme de libération. [69], [70]

2.6 Contrôle de la stabilité microbiologique

Le but de cette étape du travail est de mettre en évidence l'influence des polymères sur l'amélioration et la préservation des propriétés microbiologiques des préparations pharmaceutiques pâteuses pour administration par voie cutanée.

Le schéma suivant illustre les étapes opératoires réalisées :

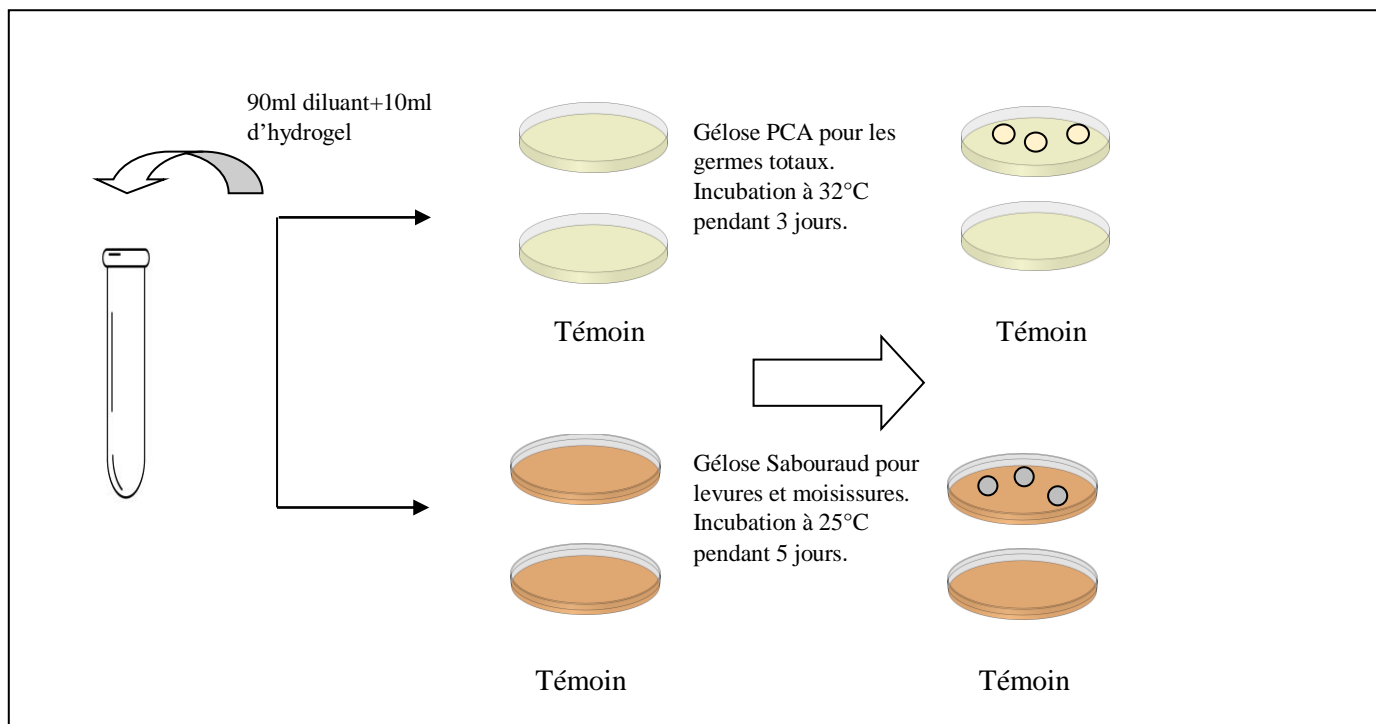


Figure IV.12 : Schéma du protocole suivi pour les tests de stabilité microbiologiques.

L'exploitation des résultats se fait de la manière suivante :

- Absence de colonies ne signifie aucune contamination, donc produit conforme.
- Présence de colonie, produit non conforme s'il dépasse la norme.

Pour calculer le nombre de colonies α et le comparer avec la norme.

$$\alpha = B \frac{1}{1/d} = B \times 10 \quad (\text{IV.6})$$

Dans laquelle : α est le nombre des colonies trouvées dans la boîte, d est le facteur de dilution (dans notre cas 10).

Les normes :

- DGAT (UFC/g) : au maximum 2×10^2
- DMLT (UFC/g) : au maximum 2×10^1

DGAT : Dénombrements de germes aérobies totaux

DMLT : Dénombrements de moisissures et levures total.

UFC : Unité formant une colonie.

CHAPITRE V : RESULTATS ET DISCUSSION

Dans ce chapitre seront présentés les principaux résultats auxquels cette présente étude a abouti qui concernent l'élaboration des hydrogels, leur caractérisations et la détermination des différents paramètres de diffusion suivi de l'étude de stabilité microbiologique.

1 FORMULATION DES HYDROGELS

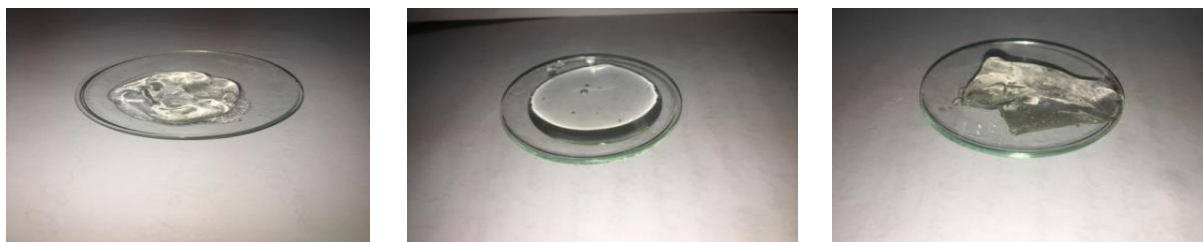
Une fois formulés dans des conditions préalablement établies, les hydrogels ont été caractérisés par différentes méthodes afin de mettre en évidence leur conformité.

2 CARACTERISATION PHYSICOCHIMIQUE

2.1 Paramètres organoleptiques

La caractérisation physico-chimique a été initiée par la détermination des paramètres organoleptiques des gels formés par inspection de la forme, la couleur et d'odeur des préparations après un temps de 24h qui correspond au séchage complet du gel. Il a été remarqué que :

- ✓ Les formulations obtenues sont de couleur transparente pour les hydrogels qui contiennent l'insuline lente, et une couleur légèrement jaunâtre pour les hydrogels qui contiennent l'insuline rapide.
- ✓ L'odeur est caractéristique de l'insuline pour les trois préparations
- ✓ Les formulations présentent une consistance épaisse gélifiée, leurs textures diffèrent selon le type de polymère. On remarque que la texture de l'hydrogel à base de Carbopol est plus épaisse par rapport aux deux autres formulations, cela peut être du aux fortes caractéristiques de gélification du polymère.
- ✓ Les différentes préparations ont présenté un aspect homogène avec absence totale d'agrégats ou de précipités comme illustré sur la figure ci-dessous :



Hydrogel a base du HEC

Hydrogel a base du CMC

Hydrogel a base du Carbopol

Figure V.1 : Aspect des trois hydrogels après 24h.

Les hydrogels ont été contrôlés après un mois de conservation dans le réfrigérateur, il a été observé que :

- ✓ Les trois formulations ont préservé leurs couleurs initiales.
- ✓ La même odeur caractéristique de l'insuline a été persistante.
- ✓ Les textures des hydrogels ont été aussi conservées comme illustré sur la figure ci-dessous.
- ✓ Absence d'agrégats, de précipités, aucune séparation n'a été remarquée, l'aspect est resté toujours homogène pour les trois formulations.



Hydrogel à base du HEC

Hydrogel à base du CMC

Hydrogel à base du Carbopol

Figure V.2 : Aspect des trois hydrogels après un mois de stockage.

2.2 Mesure du pH

Les pH ont été déterminés, à température ambiante à l'aide d'un pH mètre spécial pour gels. Les résultats obtenus au cours du mois de l'étude sont regroupés sur le tableau suivant :

Tableau V.1 : Les valeurs du pH pour les 3 hydrogels préparés.

L'hydrogel	H ₁ (Carbopol)	H ₂ (CMC)	H ₃ (HEC)
La valeur du pH (après 24h)	5,47	7,13	6,13
Après 1 semaine	5,51	7,10	6,19
Après 4 semaines	5,6	7,10	6,2

Les résultats obtenus des valeurs du pH pour les trois formulations varient entre 5.47 et 7,13, donc compatibles avec le pH de la peau (5 à 7), ce qui suggère qu'on peut les appliquer sans aucun risque d'irritation, et que la nature du polymère n'influe en aucun cas le pH des formulations.

Au cours des 4 semaines de stockage, aucune variation significative du pH n'a été signalée. Les trois formulations, restent stables dans la durée étudiée.

2.3 Mesure de la viscosité

Les résultats de mesure des viscosités présentés sur le tableau suivant ont été déterminés à faible cisaillement à partir de la courbe de rhéologie réalisée avec un rhéomètre Brookfield, préalablement cité.

Tableau V.2 : Viscosités des hydrogels à température ambiante.

Formulations	CMC	HEC	Carbopol
Placébo	740 Pa.s	2,31 Pa.s	37700 Pa.s
Avec insuline	45,1Pa.s	19,3 Pa.s	239 Pa.s

A la lumière de ce tableau, il apparait clairement que l'incorporation de l'insuline au sein du gel lui confère une fluidité très importante, c'est ainsi que pour l'hydrogel à base de Carbopol, la viscosité a chuté de 37700 à 239 Pa.s. Ce comportement pourrait être intéressant pour certaines applications médicales.

2.4 Caractérisation par spectroscopie FTIR

Les figures ci-dessous illustrent les spectres infrarouges enregistrés pour les trois hydrogels avant et après incorporation de l'insuline avec identification des groupements caractéristiques des différents groupements de composés existants.

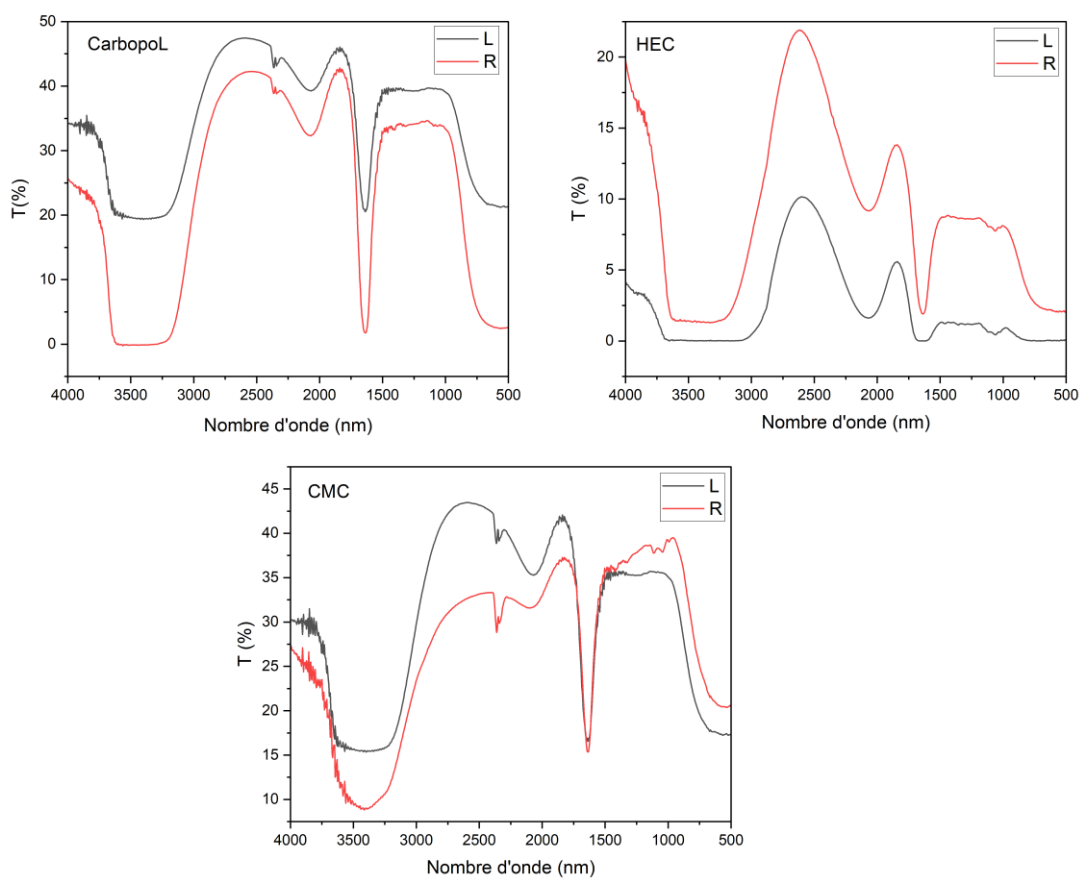


Figure V.3: Résultats de l'analyse de l'infrarouge.

L'examen des spectres insuline mélangé avec l'hydrogel à base de Carbopol révèle une bande large entre $3200\text{--}3600\text{ cm}^{-1}$ qui correspond à la présence des groupements amines présents dans l'insuline aussi qu'aux groupements O-H, un pic centré situé à 1635 cm^{-1} ayant une intensité d'absorbance plus forte est attribué aux vibrations d'étirement C=O des carbonyles.

L'analyse du spectre FTIR de l'hydrogel à base de CMC incorporé d'insuline a également montré une large bande d'absorption entre $3100\text{--}3700\text{ cm}^{-1}$ qui prouve la présence des groupements N-H (amine) également au groupe OH. Des pics observés entre 1600 et 1400 cm^{-1} indiquent la présence d'un substituant carboxyméthyle dans le polymère

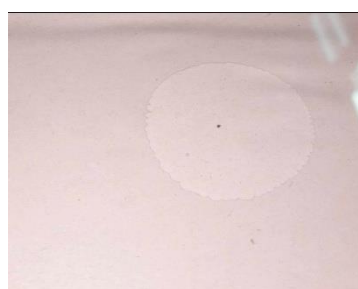
Le spectre FTIR de d'hydrogel à base de HEC présente une large bande entre 3100 et 3600 cm^{-1} , qui englobe les liaisons O-H et liaisons N-H. Une bande d'intensité moyenne à 2925 cm^{-1} a été observé, correspondant à l'étirement des liaisons C-H. De plus, plusieurs pics

dans la région de l’empreinte digitale (entre 1300 et 1000 cm^{-1}) indiquent la présence de liaisons C-H et C-O.

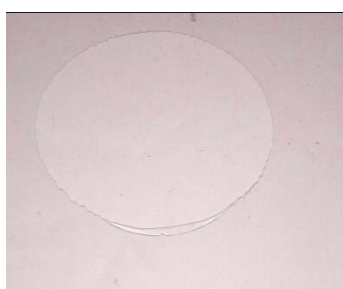
L’analyse purement qualitative réalisée par FTIR a confirmé la présence de la molécule d’insuline dans les trois formulations.

2.5 Tests d’étalement des hydrogels sur la peau

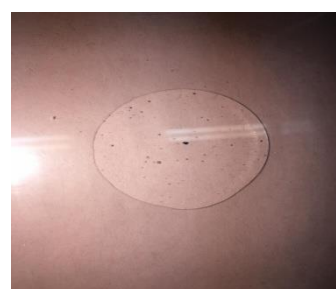
La figure V.4 ci-dessous présente l’étalement des hydrogels préparés. Les surfaces d’étalement sont présentées sous forme d’histogrammes sur la figure V.5.



Hydrogel à base du HEC



Hydrogel à base de CMC



Hydrogel à base de Carbopol

Figure V.4 : Les tests d’étalements pour les trois hydrogels.

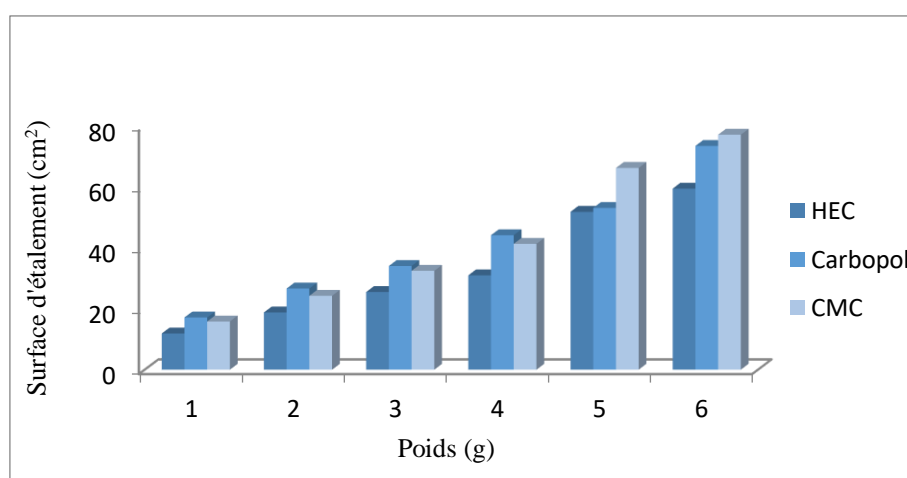


Figure V.5 : Histogrammes représentant les surfaces d’étalements des hydrogels préparés.

On remarque que plus que le poids déposé sur la plaque supérieure augmente, le diamètre augmente, ce qui justifie que la surface d’étalement est proportionnelle au poids.

- L’hydrogel à base de Carbopol présente la plus grande surface d’étalement ($S_{\text{moy}} = 56,16 \text{ cm}^2$).
- L’hydrogel à base du CMC présente une surface d’étalement moyenne légèrement plus petite que l’hydrogel à base de Carbopol ($S_{\text{moy}} = 42,88 \text{ cm}^2$),

- L'hydrogel à base de HEC présente la plus petite surface d'étalement ($S_{\text{moy}} = 33,08 \text{ cm}^2$).

On peut partiellement conclure qu'il existe une relation inversement proportionnelle entre le poids moléculaire des polymères et la surface d'étalement, plus la masse du polymère est grande, moins il s'étale, ce qui semble raisonnable compte tenu de la structure macromoléculaire.

2.6 Tests de gonflement

Les résultats des tests de gonflement des trois préparations sont présentés sur la figure V.6

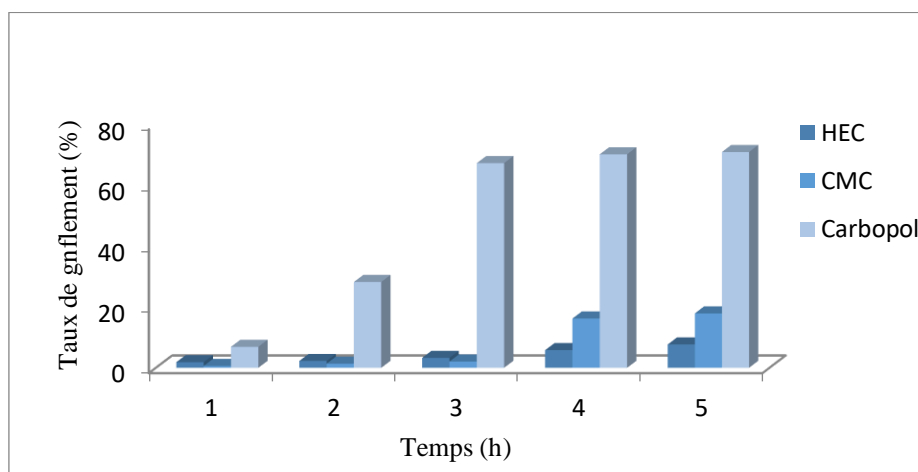
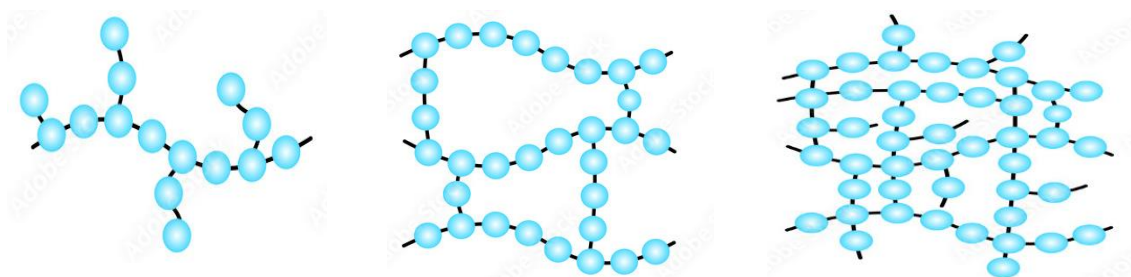


Figure V.6 : Histogrammes représentant le taux de gonflement des hydrogels préparés.

On remarque qu'il existe aussi une relation inversement proportionnelle entre le poids moléculaire et le taux de gonflement. La structure moléculaire et l'enchevêtrement à l'intérieur des polymères est à l'origine de ce comportement.

La nature chimique du polymère semble présenter aussi un effet sur son gonflement, pour le Carbopol (polymère synthétique), le taux de gonflement est très supérieur à celui obtenu avec les dérivés cellulosiques CMC et HEC (polymères semi synthétiques). Les liaisons chimiques à l'intérieur du réseau sont responsables de ce comportement comme illustré sur la figure ci-dessous :



Fonctionnalisé

Réticulé

Réseau dense

Figure V.7 : Représentation schématique des réseaux polymériques.

Les interstices présents entre les molécules à l'intérieur du réseau sont des réservoirs pour l'eau qui leur confère des propriétés de gonflement.

3 ETUDE DU COMPORTEMENT RHEOLOGIQUE

3.1 Résultats du test de viscoélasticité

Les résultats de ce test montrent bien le comportement viscoélastique de tous les hydrogels préparés, et cela par la présence des deux modules viscoélastiques G' et G'' .

G' , module de stockage, exprime la partie élastique (solide) du fluide et G'' module de perte traduit la partie visqueuse (liquide).

3.1.1 Pour les Hydrogels placébos

La figure suivante (V.8) présente les propriétés viscoélastiques des hydrogels placébos, en étudiant les variations de G' et G'' en fonction de la déformation.

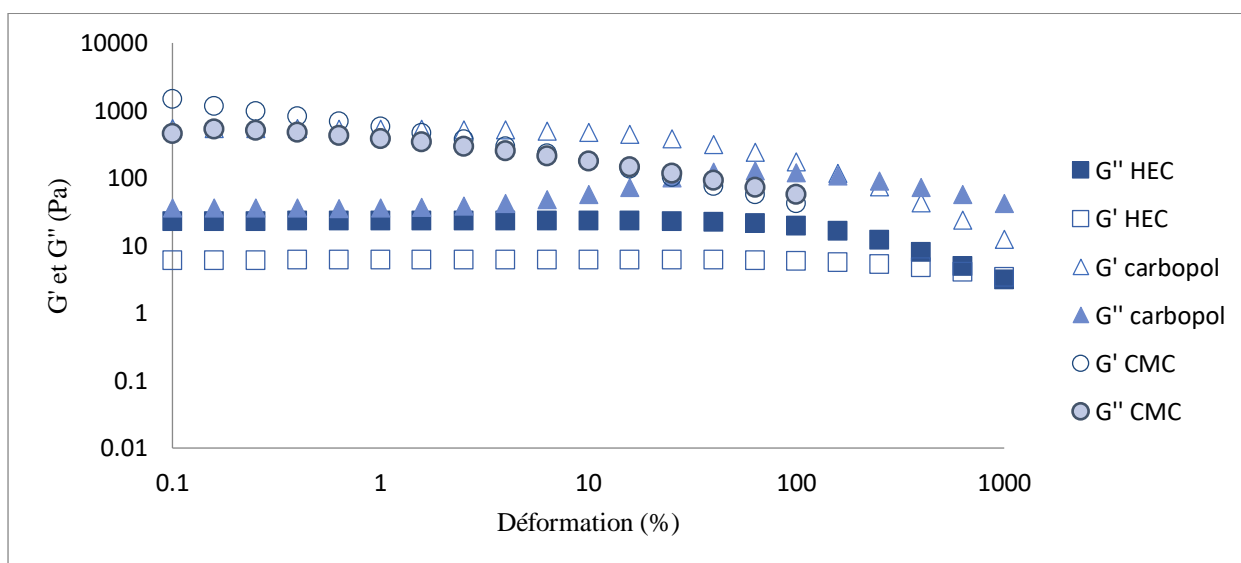


Figure V.8 : Variation de module de stockage (G') et le module de perte (G'') en fonction du taux de cisaillement des trois hydrogels placébos.

Dans le domaine linéaire, G' est supérieur à G'' pour le Carbopol et pour la CMC et le HEC, le contraire a été observé c'est-à-dire $G'' > G'$.

Les valeurs de G' dans le domaine linéaire de Carbopol et CMC sont supérieures à celles de HEC, ce qui prouve que l'hydrogel à base du Carbopol est le plus rigide.

Le comportement s'inverse (G'' devient supérieur à G') au-delà de γ_G (déformation limite) ou la valeur de γ_G du Carbopol est plus importante à celles de CMC et HEC.

L'hydrogel à base de CMC malgré sa rigidité, devient rapidement visqueux en perdant sa propriété initiale.

3.1.2 Hydrogels avec principe actif

La figure suivante (V.9) présente les propriétés viscoélastiques des hydrogels avec l'insuline, en étudiant la variation G' et G'' en fonction de la déformation.

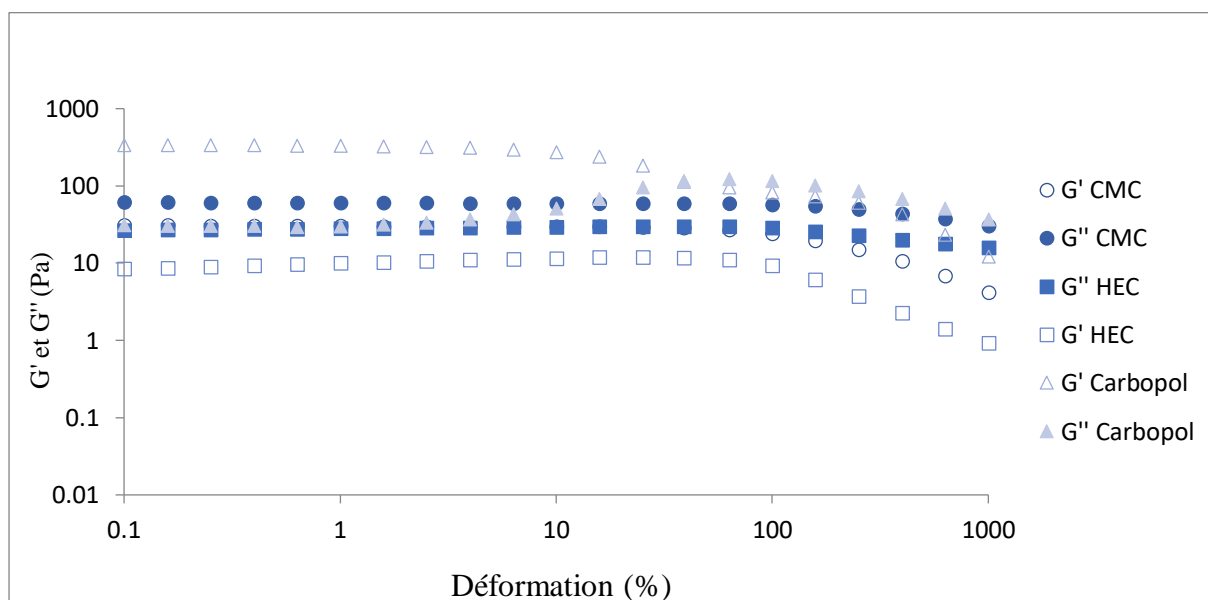


Figure V.9 : Variation de module de stockage (G') et le module de perte (G'') en fonction du taux de cisaillement des trois hydrogels avec l'insuline.

Après l'ajout de l'insuline, la CMC se transforme en liquide dans le domaine linéaire contrairement au Carbopol et HEC gardant leurs comportements.

Cependant la valeur de γ_G du Carbopol a diminué, donc on peut conclure que l'insuline manifeste un effet très important sur la viscoélasticité du Carbopol.

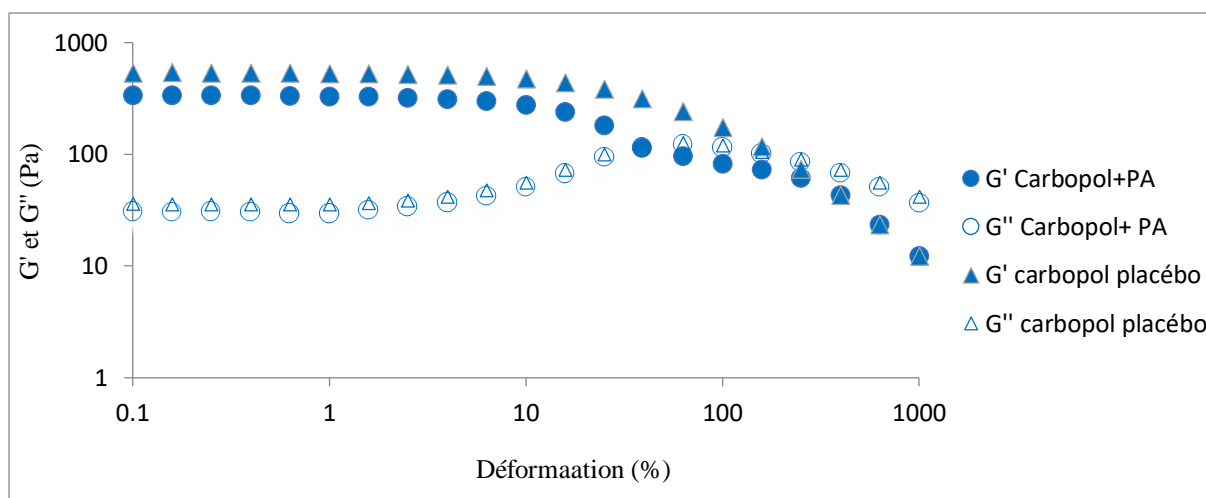


Figure V.10 : Variations de module de stockage (G') et le module de perte (G'') en fonction du taux de cisaillement des trois hydrogels à base de Carbopol.

3.2 Les courbes d'écoulement

Les courbes d'écoulement suivantes ont été obtenues à partir des valeurs de viscosités apparentes mesurées en fonction de la variation de la vitesse de cisaillement. Les figures ci-dessous en illustrent :

3.2.1 Hydrogels placébos

La figure V.9 présente la courbe d'écoulement des hydrogels placébos en étudiant la variation de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement.

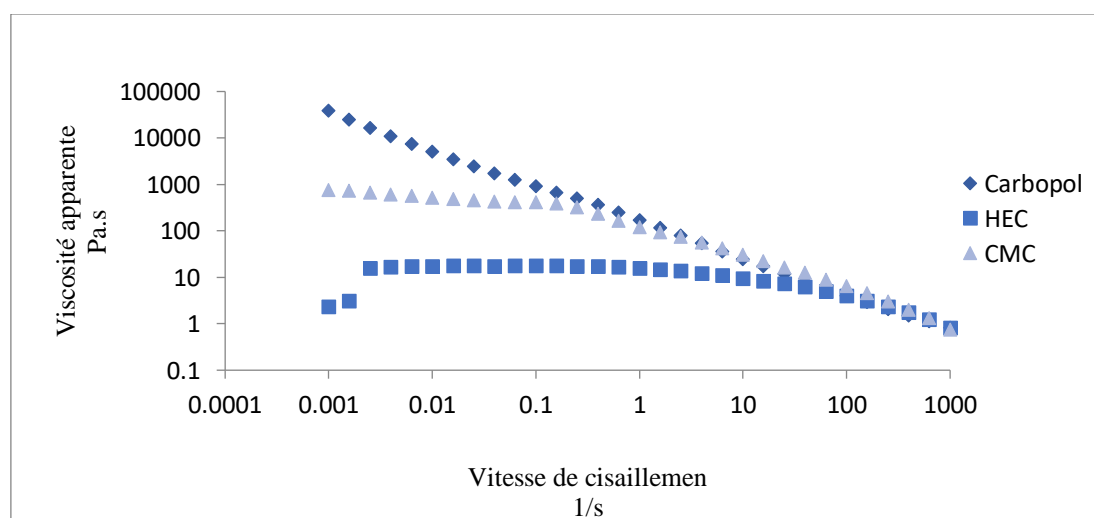


Figure V.11 : Courbes d'écoulement des hydrogels placébos.

On remarque que les courbes d'écoulement des trois préparations sont différentes :

Le Carbopol présente un comportement rhéofluidifiant contrairement à la HEC qui a pratiquement un comportement Newtonien devenant faiblement rhéofluidifiant par la suite

Pour la CMC, elle présente un plateau Newtonien de cisaillement de 10^{-3} à 10^{-2} s^{-1} et ce comportement devenant rhéofluidifiant au-delà de ce cisaillement.

3.2.2 Hydrogels avec principe actif (l'insuline)

La figure V.10 présente l'effet de l'incorporation de l'insuline sur le comportement des hydrogels préparés en étudiant la variation de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement (courbe d'écoulement).

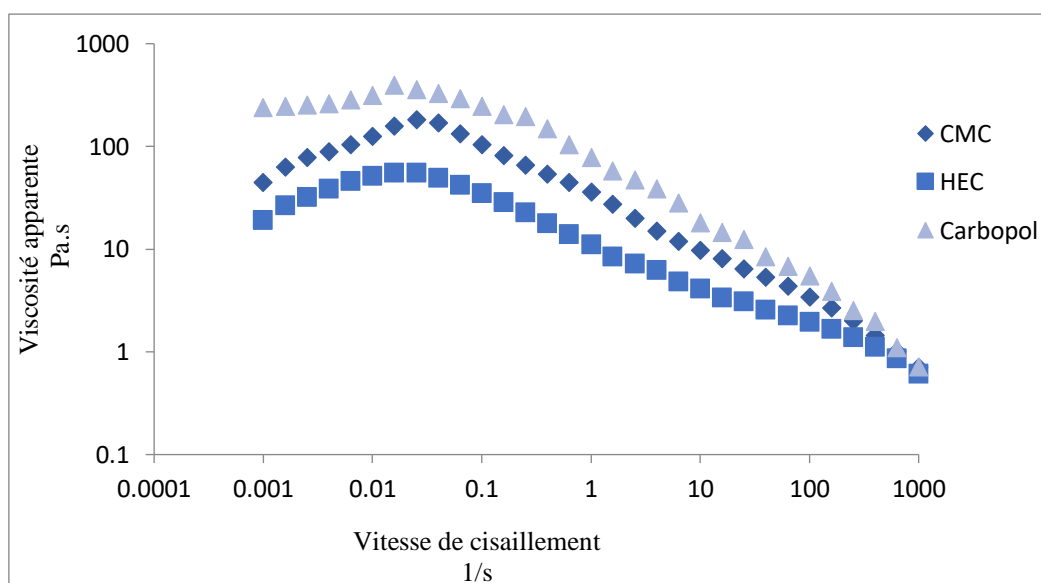


Figure V.12 : Courbes d'écoulement des hydrogels avec principe actif.

Par la comparaison des courbes d'écoulement des hydrogels placébos et avec le principe actif (l'insuline), on peut dire que l'ajout de l'insuline a modifié le comportement rhéologique des trois hydrogels.

On remarque que la CMC et la HEC présentent un comportement rhéofluidifiant pour un intervalle de 10^{-2} à 10^3 s^{-1} du taux de cisaillement.

Le Carbopol présente une petite région Newtonienne allant de 10^{-3} à 10^{-2} s^{-1} de cisaillement, au-delà de cette valeur leur comportement devient rhéofluidifiant.

Ainsi, la viscosité apparente de l'hydrogel à matrice Carbopol reste la plus importante, celle de HEC la plus faible.

On peut conclure que l'hydrogel à matrice Carbopol présente le meilleur comportement rhéologique par rapport à ceux de la CMC et HEC, car il préserve sa viscosité au repos (le plateau Newtonien) et elle diminue par l'augmentation de la vitesse de cisaillement.

4 ETUDE IN VITRO DE LA DIFFUSION TRANSDERMIQUE

4.1 Résultats d'ajustement de la courbe d'étalonnage de l'insuline

L'établissement de la courbe d'étalonnage de l'insuline est très indispensable, elle nous permet de réaliser les différents calculs afin de déterminer les paramètres de diffusion.

Tableau V.3 : Les résultats de l'ajustement de courbe d'étalonnage.

Milieu de dissolution	Longueur d'onde optimale (nm)	Equation de la droite d'étalonnage	Coefficients de corrélation
Solution tampon phosphate (pH = 7,4)	271 [74]	$Y=0,2235x-0,0729$	$R^2= 0,9835$

4.2 Etude de la Libération du principe actif

Cette étude a été réalisée en vue de déterminer les taux de libération et les paramètres de diffusion pour les trois formulations avec les différents polymères. Les résultats sont regroupés sur les tableaux ci-dessous :

4.2.1 Libérations d'insuline rapide

Tableau V.4 : Les résultats de la diffusion de L'insuline rapide à base de trois polymères.

Temps (h)	Abs			Quantité du l'insuline libérée (mg)			Concentration / unité de surface (mg/cm ²)		
	HEC	CMC	CARBOPOL	HEC	CMC	CARBOPOL	HEC	CMC	CARBOPOL
0,083	0,114	0,198	0,119	4,516	7,844	4,397	0,942	0,488	1,972
0,25	0,115	0,187	0,224	5,459	8,977	9,754	3,347	4,443	6,269
0,5	0,215	0,216	0,249	9,429	10,039	11,640	7,501	8,866	11,397

1	0,241	0,221	0,143	11,251	10,467	7,638	12,458	13,477	14,762
1,5	0,264	0,231	0,132	12,369	10,903	6,329	17,907	18,280	17,565
2	0,27	0,283	0,135	12,789	13,042	6,394	23,541	24,026	20,382
2,5	0,294	0,296	0,107	13,787	13,969	5,309	29,615	30,180	22,721

La représentation graphique de ces résultats est donnée sur la figure ci-dessous

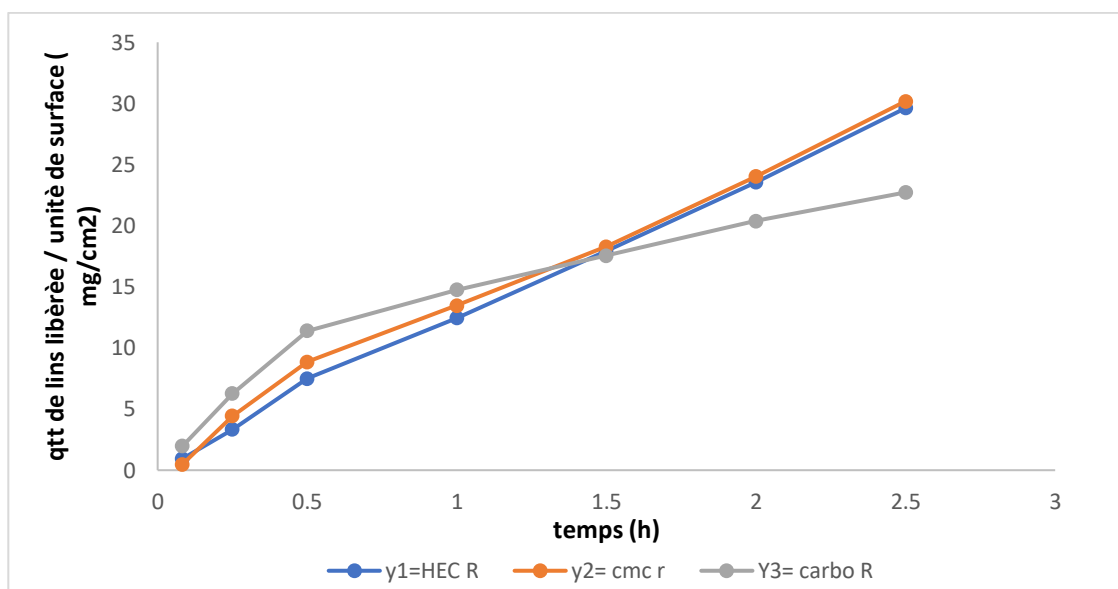


Figure V.13 : Les résultats de la diffusion de L'insuline rapide à travers les trois polymères.

Les trois profils de diffusion ont présenté une libération rapide pour les premières 30min, comme la montre la figure ci-dessus avec une valeur de 11,397 mg/cm² pour le Carbopol, 7,502 mg/cm² pour la HEC et 8,866 mg/cm² pour la CMC.

La diffusion de l'insuline rapide à travers la HEC et CMC suit un profil plus ou moins linéaire durant les deux heures qui suivent en atteignant une valeur de 29,61 mg/cm² et 30,18 mg/cm² respectivement.

En ce qui concerne le Carbopol, la diffusion s'est ralentie et stabilisée durant les deux heures restants en continuant à libérer l'insuline d'une façon linéaire de façon lente et contrôlée atteignant une valeur de 22,72 mg/cm².

4.2.2 Libérations d'insuline lente

Tableau V.5 : Les résultats de la diffusion de L'insuline lente à base de trois polymères.

Temps (h)	Abs			Quantité du l'insuline libérée (mg)			Concentration / unité de surface (mg/cm ²)		
	HEC	CMC	CARBOPOL	HEC	CMC	CARBOPOL	HEC	CMC	CARBOPOL
0,083	0,054	0,028	0.113	2,139	1,109	4,477	0,488	0,488	0,488
0,25	0,18	0,078	0.163	7,559	3,312	7,353	3,818	1,947	3,728
0,5	0,182	0,106	0.2	8,637	4,817	9,215	7,623	4,070	7,787
1	0,186	0,112	0.202	8,811	5,277	9,587	11,505	6,394	12,011
1,5	0,187	0,123	0.233	8,882	5,760	10,832	15,418	8,932	16,783
2	0,192	0,167	0.127	9,088	7,591	6,877	19,422	12,27	19,813
2,5	0,243	0,169	0.163	11,148	8,019	7,464	24,333	15,809	23,101

La représentation schématique de ces résultats est représentée ci-dessous :

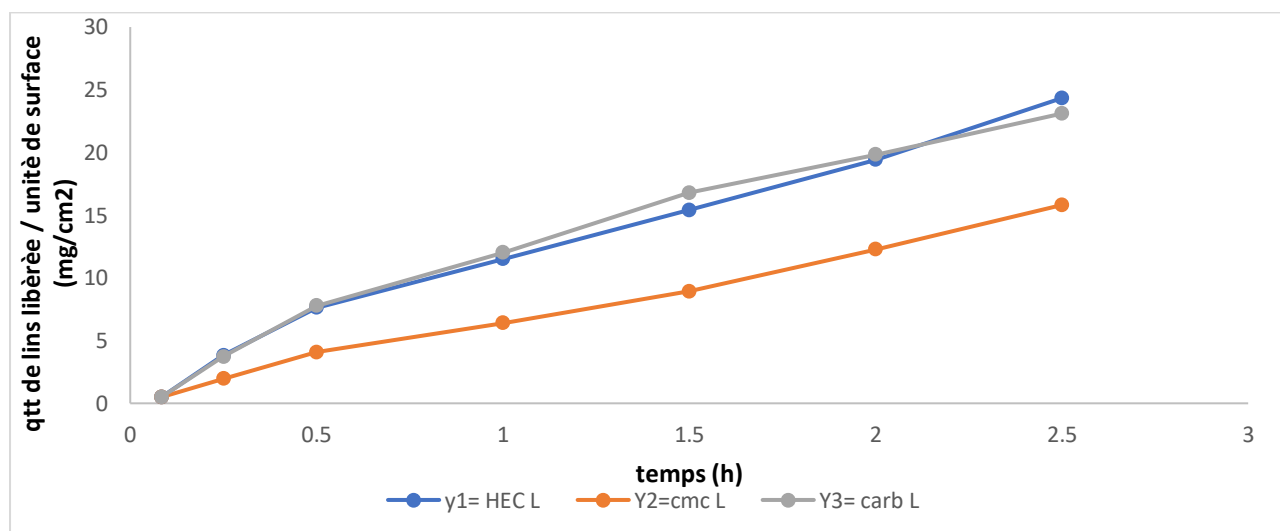


Figure V.14 : Les résultats de la diffusion de L'insuline lente à travers les trois polymères.

Les deux profils de HEC et Carbopol ont présenté une libération rapide et identique pour la première durée de libération (1,5 h) comme la montre la figure ci-dessus avec des valeurs de 15,41mg/cm² et 16,78mg/cm² respectivement.

Par la suite la diffusion pour le Carbopol s'est ralentie et stabilisée durant l'heure suivante en atteignant la valeur de 23,101 mg/cm².

Quant à le HEC, sa diffusion devient un peu plus rapide jusqu'à ce qu'elle atteigne une valeur de 24,33 mg/cm².

En ce qui concerne le profil de la CMC, on remarque qu'elle présente une libération lente et progressive pendant toute la durée de libération comme l'indique la figure ci-dessus avec d'une valeur de 0,488 mg/cm² et atteignant 15,80 mg/cm².

4.3 Détermination des paramètres cinétiques

Les paramètres cinétiques régissant le processus de diffusion sont regroupés sur le tableau ci-dessous:

Tableau V.6 : Les Paramètres cinétiques de la diffusion des hydrogels préparés.

Formulation	HEC		CMC		Carbopol	
	Ins R	Ins L	Ins R	Ins L	Ins R	Ins L
Jss (mg/cm.h)	11,884	9,9469	10,279	6,2477	12,272	9,967
Kp (cm/h)	4,753	3,979	4,0116	2,499	4,9088	3,9868
D (cm/h)	44,06	24,75	26,76	12,55	45,93	29,81
Tr (h)	0,83	1,34	1,80	2,94	0,43	1,28
n	0,98	0,67	0,97	0,71	0,95	0,82

La quantité d'insuline 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. La diffusion de la molécule dans la membrane peut être modifiée par l'existence de différents polymères dans la formulation.

Jss représente le flux d'insuline stabilisée dans le système, tandis que le Kp indique la facilité avec laquelle l'insuline se déplace à travers hydrogel, en ce qui concerne le D qui mesure la vitesse avec laquelle l'insuline se déplace à travers l'hydrogel proportionnelle au tr qui est le temps nécessaire pour que l'insuline soit libérée de l'hydrogel et absorbée par le corps.

Par comparaison entre les différents polymères, le Carbopol semble être le plus adapté pour une libération rapide dans les deux types d'insuline (les paramètres J_{ss} , K_p et D sont les plus élevés et t_r le plus court).

Les valeurs de n pour les deux formulations ont été calculées à partir du graphe double logarithmique de l'équation (IV.9) et sont notés dans le tableau V.6.

Toutes les valeurs sont supérieures à 0,5, ce qui suggère un mécanisme de libération non Fickien ou de type érosion, ceci est confirmé par le fait que d'autres phénomènes à part la diffusion contrôlent la libération du PA. Ces résultats sont semblables aux résultats trouvés par Giri et al. 2011.

4.4 Modélisation mathématique

Les résultats de la modélisation mathématique sont représentés sur le tableau ci-dessous :

Tableau V.7 : Modélisation mathématique de la diffusion pour les trois hydrogels.

Modèle et paramètres	Formulations					
	HEC		CMC		Carbopol	
	INS R	INS L	INS R	INS L	INS R	INS L
Ordre zéro						
R ²	0,997	0,985	0,989	0,994	0,918	0,972
K	11,564	9,2353	11,54	6,048	7,859	9,053
Ordre 1						
R ²	0,796	0,673	0,671	0,788	0,684	0,661
K	-0,658	-0,6472	-0,590	-0,671	-1,084	-0,650
Higuchi						
R ²	0,975	0,9883	0,981	0,964	0,985	0,998
K	21,801	17,631	21,921	11,352	15,519	17,483
Korsmeyer-peppas						
R ²	0,993	0,945	0,941	0,988	0,956	0,944
K	1,094	1,036	1,110	0,816	1,141	1,042

La modélisation de la cinétique de diffusion transdermique a été réalisée pour les quatre modèles différents : ordre 0, ordre 1, Higuchi et Korsmeyer peppas.

L'ajustement des profils de diffusion aux modèles cités montre que :

La libération de l'insuline rapide à travers l'hydrogel contenant la HEC, suit le modèle d'ordre 0 et de Korsmeyer-Peppas dont $R^2=0,997$ et $0,993$ respectivement. Pour la CMC, le modèle cinétique le plus significatif est celui d'ordre 0 avec $R^2=0,989$. En ce qui concerne le Carbopol le plus adéquats est le modèle de Higuchi avec $R^2=0,985$.

Tandis que la diffusion de l'insuline lente à matrice HEC, suit le modèle d'ordre 0 et Higuchi dont $0,985$ et $0,988$ respectivement. Quant à la CMC, celui de Korsmeyer-peppas avec $R^2=0,988$. Pour le Carbopol, le modèle le plus significatif est de Higuchi avec $R^2=0,998$.

A la lumière de ces résultats, on confirme clairement que la nature du polymère est un paramètre clé qui régit la diffusion du principe actif à travers les chaînes macromoléculaires. Une corrélation de proportionnalité entre les comportements rhéologiques et les paramètres mathématiques

Aussi la nature du principe actif manifeste un effet significatif dans le processus de libération, ceci a été justifié par les différences observées pour les deux types d'insuline rapide et lente.

5 CONTROLE DE LA STABILITE MICROBIOLOGIQUE

Pour confirmer la stabilité microbiologique des hydrogels étudiés, des tests ont été réalisés dans le but de dénombrer des microorganismes (germes aérobies, les levures et les moisissures).

La lecture des résultats a été effectués pas comptage des colonies et comparaison par rapport aux normes. Le Tableau V.8 illustre les résultats obtenus.

Tableau V.8 : Résultats des tests microbiologiques.

Présence des microorganismes (UFC.g ⁻¹)	CMC R	CMC L	HEC R	HEC L	Carbopol R	Carbopol L	Normes
DGTA	340	150	140	680	110	320	> 200
DMLT	30	0	0	0	0	150	> 20

Les résultats du dénombrement des moisissures et levures (Figure V.15) indiquent que les hydrogels ont présenté des résultats inacceptables non conformes à la pharmacopée Européenne [72].

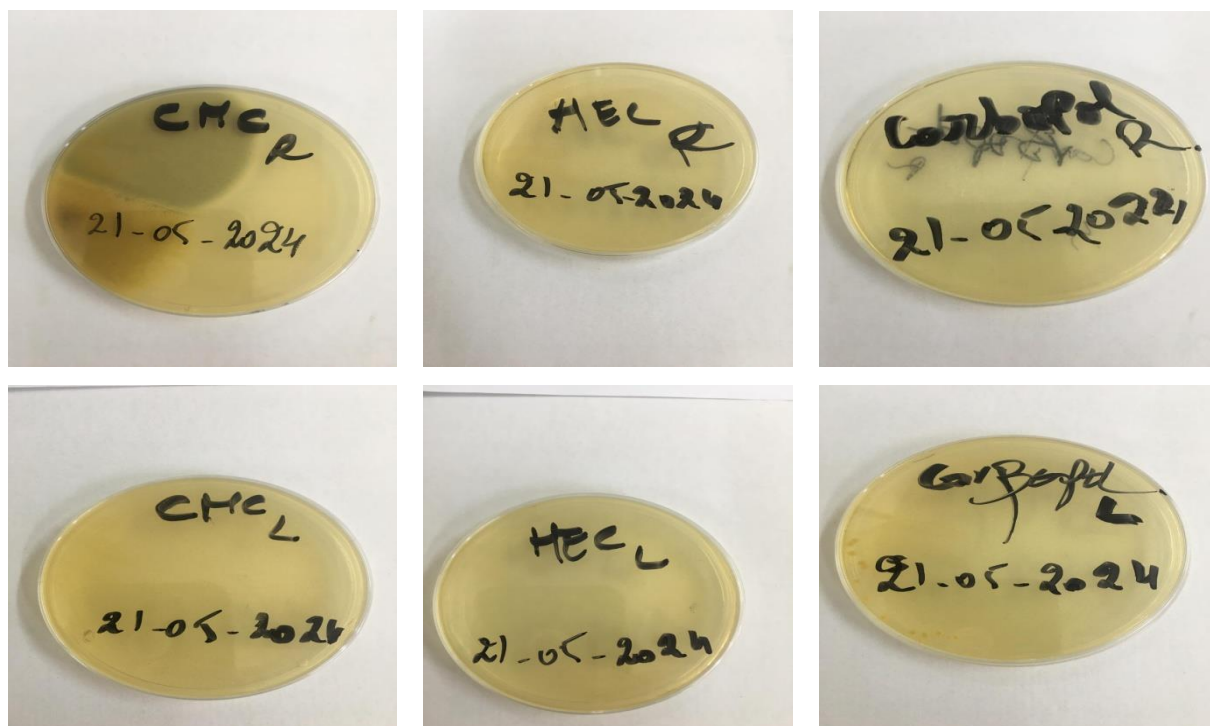


Figure V.15 : Résultats des tests de stabilité microbiologiques dans le milieu Sabouraud après 5j.

Les résultats du dénombrement des germes aérobies totaux (DGTA) dans les hydrogels montrent que la charge microbologique des échantillons (Figure V.15) est supérieure à la limite maximale (> 100 UFC/g), selon les normes de la pharmacopée européenne [72].

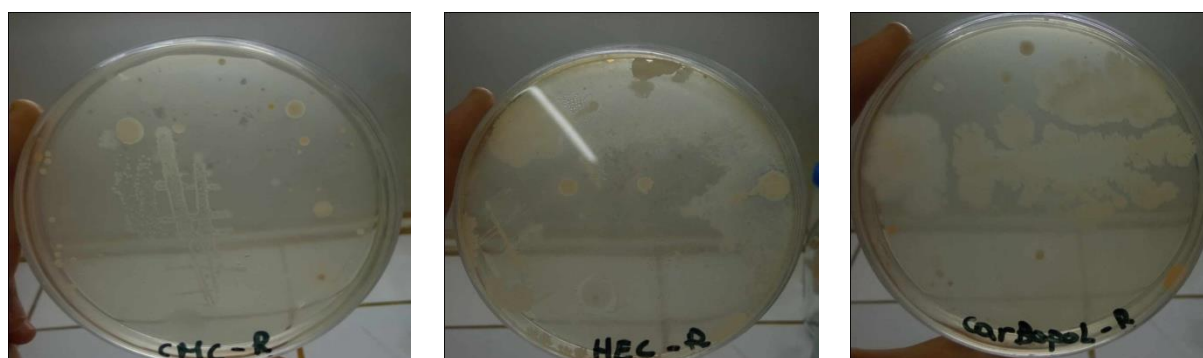




Figure V.16 : Résultats des tests de stabilité microbiologiques dans PCA après 3j.

La qualité microbiologique des hydrogels préparés n'était pas satisfaisante. Des contaminations ont été décelées après 5 jours. L'incorporation d'un agent conservateur s'avère indispensable. Ceci semble logique du fait de la structure cellulosique des polymères utilisés et qui sont le siège de microorganismes par rapport aux résultats trouvés avec le Carbopol.

CONCLUSION GENERALE

La prise en charge du pied diabétique est un problème de santé publique dans le monde entier et entre autres l'Algérie. Entre 5 et 10% des diabétiques souffrent de lésions au niveau pieds, 50% des malades souffrant de l'ulcère du pied diabétique subissent des amputations dans les cinq années qui suivent son diagnostic [73].

Dans ce contexte, atténuer et traiter l'ulcère des pieds diabétiques est devenu une préoccupation majeure pour les chercheurs afin de mettre au point des moyens de lutte efficaces et rapides et c'était l'objectif principal de notre travail.

Notre modeste contribution consiste en l'élaboration des hydrogels incorporés d'insuline en utilisant les polymères de différentes natures ; le Carbopol purement synthétique et des polymères semi synthétiques : les dérivés cellulose CMC et HEC.

Les principaux résultats obtenus soulèvent les points suivants :

Les trois hydrogels ont présenté des aspects transparents, d'une consistance épaisse et gélifiée avec une odeur caractéristique de l'insuline.

L'analyse spectroscopique par infrarouge a mis en évidence la présence des groupements aminés d'insuline et d'autres groupements caractéristiques des polymères utilisés

Les trois formulations ont montré une bonne capacité à s'étaler sur la peau, l'hydrogel de Carbopol s'avère être le meilleur sur ce point compte tenu de sa composition.

L'étude rhéologique des hydrogels a montré que le Carbopol présente un meilleur comportement rhéologique (rhéofluidifiant) comparativement aux deux autres avec une meilleure rigidité

L'étude de la diffusion in vitro a prouvé que le polymère le plus adapté pour une libération rapide pour les deux types d'insuline (rapide, lente) est le **Carbopol**, le modèle mathématique le plus adéquat est le modèle d'Higuchi avec $R^2 = 0,998$. Les autres polymères ont donné aussi des résultats acceptables

Les tests microbiologiques ont démontré avec certitude que les hydrogels préparés nécessitent un agent antimicrobien comme conservateur. La structure chimique des polymères peut être à l'origine de ce comportement.

Enfin, le thème de recherches abordé est très complexe, nous avons essayé de comprendre ce qui se passe lors du processus de diffusion afin d'expliquer les mécanismes mis en jeu, trouver des corrélations entre les différents comportements des matières premières utilisées.

Compte tenu du nombre très limité de travaux réalisés dans ce domaine. Nos résultats sont très prometteurs et ouvrent des perspectives pour creuser plus dans cet axe fort passionnant. Il serait intéressant dans l'avenir de :

- Utiliser d'autres polymères compatibles avec l'insuline et disponibles sur le marché en assurant le rapport qualité / prix et plus intéressant encore utiliser de l'insuline à l'état solide.
- Approfondir la recherche sur la méthode de préparation moyennant la planification
- Réaliser une étude in vitro pour confirmer l'effet thérapeutique des hydrogels préparés.
- Une conception de ces hydrogels sous forme des patchs pour faciliter leurs utilisations chez les patients tels les personnes âgées, les mono bras etc

Ce n'est qu'une petite goutte dans un océan dans ce domaine de recherche où les chercheurs pluridisciplinaires pourraient contribuer efficacement, entre autres le recours à l'intelligence artificielle dans la modélisation mathématique et la compréhension des mécanismes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [01] Han, T.; Das, D.B. Potential of Combined Ultrasound and Microneedles for Enhanced Transdermal Drug Permeation: A Review. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2015, 89, 312–328.
- [02] Menon, G.K. New Insights into Skin Structure: Scratching the Surface. *Adv Drug Deliv Rev* 2002 Nov.
- [03] Sherwood, A.; Bower, J.K.; McFetridge-Durdle, J.; Blumenthal, J.A.; Newby, L.K.; Hinderliter, A.L. Age Moderates the Short-Term Effects of Transdermal 17β - Estradiol on Endothelium-Dependent Vascular Function in Postmenopausal Women. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2007, 27, 1782–1787.
- [04] Schuetz, Y.B.; Naik, A.; Guy, R.H.; Kalia, Y.N. Emerging Strategies for the Transdermal Delivery of Peptide and Protein Drugs *Expert Opin Drug Deliv* 2005, 2, 533–548.
- [05] Schoellhammer, C.M.; Blankschtein, D.; Langer, R. Skin Permeabilization for Transdermal Drug Delivery: Recent Advances and Future Prospects *Expert Opin.Drug Deliv.* 2014, 11, 393–407.
- [06] Shahzad, Y.; Louw, R.; Gerber, M.; du Plessis, J. Breaching the Skin Barrier through Temperature Modulations. *J. Control. Release* 2015, 202, 1–13.
- [07] B. J. Thomas and B. C. Finnin, “The transdermal revolution,” *Drug Discov Today*, vol 9 no 16 pp 697–703; 2004.
- [08] C. A. Kornick, J. Santiago-Palma, N. Moryl, R. Payne, and E. A. M. T. Obbens, “Benefit-Risk Assessment of Transdermal Fentanyl for the Treatment of Chronic Pain,” *Drug Saf* vol 26, no. 13, pp. 951–973, 2003.
- [09] Mundargi RC, Patil SA, Agnihotri SA, Aminabhavi TM (2007) Evaluation and Controlled release characteristics of modified xanthan films for transdermal delivery of atenolol. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 33:79–90.
- [10] Mutalik S, Udupa N (2004) Glibenclamide transdermal patches: Physicochemical, pharmacodynamic and pharmacokinetic evaluations. *J. Pharm. Sci.* 93: 1577–1594.
- [11] Harneet Marwah, Tarun Garg, Amit K. Goyal, and Goutam Rath, *Permeation Enhancer strategies in transdermal drug delivery*, 2014 Informa Healthcare USA,
- [12] Touitou E, Dayan N, Bergelson L, et al. (2000). Ethosomes-- novel vesicular Carriers for enhanced delivery: characterization and skin penetration properties. *J. Control. Rel.* 65: 403-18.
- [13] Martin A, Bustamante P (1993) *Physical Pharmacy: Physical Chemical*

Principles in the Pharmaceutical Sciences, 4th edn, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, pp. 436–439.

[14] Newman A.W (1995) Micromeritics in Physical Characterization of Pharmaceutical Solids, (ed. H.G. Brittain), Marcel Dekker, New York, NY, Ch. 9, 254– 264p.

[15] Chikazawa M, Takei T (1997) Specific Surface Area in Powder Technology Handbook (Eds K. Gotoh, H. Masuda & K. Higashitani), 2nd edn, Marcel Dekker, Inc., New York, NY, Ch. III. 8, pp. 337–349.

[16] Ishida-Yamamoto A, Simon M, Kishibe M, Miyauchi Y, Takahashi H, Yoshida S, O'Brien TJ, Serre G, Iizuka H (2004) 'Epidermal lamellar granules transport Different cargoes as distinct aggregates'. *Journal of Investigative Dermatology* 122(5):1137-1144.

[17] Maestrelli F, Capasso G, Gonzalez-Rodriguez ML, et al., (2009) Effect of preparation technique on the properties and in vivo efficacy of benzocaine-loaded ethosomes. *JLiposome Res* 19(4): 253-60.

[18] Attama AA, Müller-Goymann CC (2008) Effect of beeswax modification on the lipid matrix and solid lipid nanoparticle crystallinity. *Colloids and Surfaces A: Physico-chemical and Engineering Aspects*. 315: 189-195.

[19] Watson DG (1999) *Pharmaceutical Analysis. A textbook for Pharmaceutical Students and Pharmaceutical Chemists*. 1st Ed. Churchill Livingstone, UK.

[20] Coderch L, de Pera M, Perez-Cullell N, Estelrich J, de la Maza A, Parra JL (1999) 'The effect of liposomes on skin barrier structure' *Skin Pharmacol. Applied Skin Physiol.*, 12(5): 235-246.

[21] Curdy C, Naik A, Kalia YN, Alberti I, Guy RH (2004) 'Non-invasive assessment of the effect of formulation excipients on stratum corneum barrier function in vivo'. *Int.J. Pharm.* 271(1-2): 251-256.

[22] Honeywell-Nguyen PL, Gooris GS, Bouwstra JA (2004) 'Quantitative assessment of the transport of elastic and rigid vesicle components and a model drug from these vesicle formulations into human skin in vivo'. *J. Investig Dermatol.* 123(5): 902-910.

[23] Attama AA, Müller-Goymann CC (2006) A critical study of novel physically structured lipid matrices composed of a homolipid from *Capra hircus* and theobroma oil *Int. J. Pharm.* 322, 67-78.

[24] Oilman MR (1982). *Skin and Eye Testing in Animals. Principles and Methods of Toxicology*; Hayes, A.W., Ed.; Raven Press: New York 209–222p.

- [26] Garg A, Aggarwal D, Garg S, Singla AK (2002) Spreading of Semisolid Formulations an Update. *Pharmaceutical Technology*, Sept.
- [27] Barry BW, Grace AJ (1972) Sensory testing of spreadability: Investigation of Rheological conditions operative during application of topical preparations," *J. Pharm.Sci.*61 (3): 335–341.
- [28] Rance RW (1973) Studies of the factors controlling the action of hair sprays. Part I: The spreading of hair spray resin solutions on hair. *J. Soc. Cosm. Chem.* 24 (7): 501–522.
- [29] Wichterle. O ET Lim D., Hydrophilic gels for biological use, *Nature*, Vol 185, 117-118, (1960).
- [30] Jones A. ET Vaughan D., Hydrogel dressings in the management of a variety of wound types: A review, *Journal of Orthopaedic Nursing*, Vol 9, pp 1-11, (2005).
- [31] Loh X.J., Peh P., Liao S., Sng C. jet Li J., Controlled drug release from biodegradable Thermo responsive physical hydro gel nanofibers *Journal of Controlled Release*, Vol 143, PP 175–182, (2010).
- [32] Freiera T., Montenegro R., Shan Koh H. et Shoichet M.S., Chitin-based tubes for tissue Engineering in the nervous system, *Biomaterials*, Vol 26, pp 4624–4632, (2005).
- [33] Dumitriu S., Chitosan: "Structure-Properties relationship and biomedical applications" In: *Polymeric biomaterials*, New York, pp187-211, (2002).
- [34] Marcel D., Polysaccharides as Biomaterials. In: *Polymeric Biomaterials*, New York, (2002).
- [35] Cassano R., Trombino S., Muzzalupo R., Tavano L. et Picci N., A novel dextran hydrogel Linking trans-ferulic acid for the stabilization and transdermal delivery of vitamin E, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Vol 72, pp 232–238, (2009).
- [36] Kim M., Jung B. et Park J.H., Hydrogel swelling as a trigger to release biodegradable polymer microneedles in skin, *Biomaterials*, Vol 33, pp 668-678, (2012).
- [37] Sokker H.H., Abdel Ghaffar A.M., Gad Y.H. et Aly A.S., Synthesis and characterization of hydrogels based on grafted Chitosan for the controlled drug release, *Carbohydrate Polymers*, Vol 75, pp 222–229 (2009).
- [38] Patel, A. ET Mequanint, K., Hydrogels Biomaterials. In Reza Fazel, P., editor, *Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges*, chapter 14 Intech edition, (2011).
- [39] Chen J., Park. H, Park. K., Synthesis of superporous hydrogels: Hydrogels with fast swelling and super absorbent properties, *J. Biomed Mater.Res* N0 44, pp53-62, (1999).

- [40] Candau F., Ballet, F.; Debeauvais, F.; Wittmann, J. c., Structural properties and topological defects of swollen polymeric mesophases: Low angle X-ray diffraction and optical microscopic studies », *Journal of Colloid and Interface Science*, Vol 87, pp 356, (1982).
- [41] Hoffman A. S., A Commentary on the Advantages and Limitations of Synthetic Polymer Biomolecules Conjugates Biorelated Polymers and Gels, Academic Press, New York, pp 231 248, (1998).
- [42] Puisieux F., Barratt G., Couarraze G., Couvreur P., Devissaguet 1.P. Oubernet c. Fattal E., Fessi H., Benita S. et Vauthier C., Polymérie micro-and nanoparticles as drug carriers, In *Polymerie Biomaterials*. Oumitriu S., Ed., Marcel Oekker Inc, New York, pp 749-794, (1994).
- [43] Augst A. D., Kong H. J., ET Mooney D. J., Alginate hydrogels as biomaterials *Macromolecular Bioscience*, Vol 6(8), pp 623–633, (2006).
- [44] Anseth K. S., Bowman C. N., et Brannon-Peppas L., Mechanical properties of hydrogels and their experimental determination. *Biomaterials*, Vol 17(17), pp 1647 1657, (1996).
- [45] : BOEGNER C., A VIGNON A., MONNIER L. Chaussage du pied diabétique, In *Pied et diabète*, Sauramps-médical, Montpellier, 1998: 128-131.
- [46] : BRINGER J., BASDEVANT A., CHANSON P. et al. Endocrinologie, diabète, reproduction. Les choix diagnostiques, thérapeutiques et leurs coûts, Sauramps Médical, Montpellier, 1992.
- [47] : CHAUCHARD M.-C., COUSTY-PECH F., MARTINI J., HANAIRE-BROUTIN H. Le pied diabétique. *La Revue du Praticien*, 2001, 51 : 1788-1792.
- [18]: COAST-SENIOR E.A., KRONER B.A., KELLEY C.L., TRILLI L.E. Management of Patients with type 2 diabetes by pharmacists in primary care clinics. *Annals of Pharmacotherapy*, 1998, 32: 636-641.
- [49] : Nagahama H., Maeda H., Kashiki T., Jayakumar R., Furuike T. et Tamura H., Preparation and characterization of novel Chitosan/gelatin membranes using Chitosan hydrogel, *Carbohydrate Polymers*, Vol 76, pp 255–260, (2009).
- [50] Goren I, Muëller E, Pfeilschifter J, Frank S (2006) Severely impaired insulin signaling in chronic wounds of diabetic ob/ob mice: a potential role of tumor necrosis factor- α . *Am J Pathol* 168:765–777?
- [51] Foster NB (1925) some surgical aspects of diabetes. *J Am Med Assoc* 84:572–576
- [52] Hrynyk M, Neufeld RJ (2014) Insulin and wound healing. *Burns* 40:1433–1446
- [53] http://www.uvp5.univ-paris5.fr/UV_MED/AC/Impression.asp?Nsubj=201 page consultée le 07.07.2002.

- [54] MARTINI J. La plaie du pied diabétique. <http://sideral31.free.fr/DiaPied.html> page consultée le 30.06.2001
- [55] COMBE H., LASFARGUES G., DIOT E., GUILMOT J.-L. Le pied diabétique. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, 1999, 126: 536-540.
- [56] Hu Z-C, Tang B, Guo D, Zhang J, Liang Y-Y, Ma D, Zhu J-Y (2014) Expression of insulin-like growth factor-1 receptor in keloid and hypertrophic scar. *Clin Exp Dermatol* 39:822–828.
- [57]: Weringer EJ, Kelso JM, Tamai IY, Arquilla ER (1982) Effects of insulin on wound healing in diabetic mice. *Acta Endocrinol* 99:101–108.
- [58] Zhang X, Chinkes DL, Sadagopa Ramanujam VM, Wolfe RR (2007) Local injection of insulin-zinc stimulates DNA synthesis in skin donor site wound. *Wound Repair Regen* 15:258–265
- 155: Wilson J, Baines R, Babu E, Kelley C (2008) A role for topical insulin in the management problematic surgical wounds. *Ann R Coll Surg Engl* 90:160
- [59] Wertz PW, Downing DT. Ceramides of pig epidermis: Structure determination *J Lipid Res* 1983; 24: 759-65.
- [60] Elias PM, McNutt NS, Friend DS. Membrane alterations during cornification of mammalian squamous epithelia: A freeze fracture, tracer, and thin-section study *Anat Rec* 1977; 189: 577-94.
- [61] Guy RH, Hadgraft J. Physicochemical aspects of percutaneous penetration and its enhancement *Pharm Res* 1988; 5: 753-8.
- [62] Kalinin AE, Kajava AV, Steinert PM. Epithelial barrier function: Assembly and structural features of the cornified cell envelope. *Bioessays* 2002; 24: 789-800.
- [63] Singh S, Singh J. Transdermal drug delivery by passive diffusion and iontophoresis: A review *Med Res Rev* 1993; 13: 569-621.
- [64] www.pharmaetude.com/ressources/cours%20internat/section5/23-insulines-pr%C3%A9paration-galeniques.pdf, consulté le 25/02/2015.
- [65] http://www.vidal.fr/recherche/index/q:insuline+aspartate/click_acp:1/, consulté le 23/02/2015.
- [66] www.vidal.fr/recherche/index/q:insuline+gluisine/click_acp:1/, consulté le 16/04/2015.
- [67] « Handbook of Pharmaceutical Excipients – 9th Edition », *Pharma Excipients*. <https://www.pharmaexcipients.com/handbook-of-pharmaceutical-excipients-9th-edition/> (Consulté le 29 juin 2022) .
- [68] Mumuni, A.M.; Calister, E.U.; Aminu, N.; Franklin, C.K.; Musiliu Oluseun, A.; Usman, M.; Abdulmumuni, B.; James, Y.O.; Ofokansi, C.K.; Anthony, A.A.; et al. Mucin-Grafted

Polyethylene Glycol Microparticles Enable Oral Insulin Delivery for Improving Diabetic Treatment. *Appl Sci* **2020**/ 10, 2649 [[CrossRef](#)]

[69] F. Bourdon, « Développement de formes transdermiques à usage hospitalier, à partir de véhicules prêts à l'emploi, pour le traitement des nausées et vomissements chimio-induits », p. 170, 2015.

[70] A. O. Abioye, S. Issah, A. T. Kola-Mustapha, « Ex vivo skin permeation and retention studies on chitosan–ibuprofen–gellan ternary nanogel prepared by in situ ionic gelation technique—a tool for controlled transdermal delivery of ibuprofen », *Int. J. Pharm.*, vol. 490, no 1, p. 112-130, juill. 2015, doi: 10.1016/j.ijpharm.2015.05.030.

[71] Onaciu; Munteanu; Moldovan; Moldovan; Berindan-Neagoie Hydrogels Based Drug Delivery Synthesis, Characterization and Administration. *Pharmaceutics* **2019**, *11*, 432, doi:10.3390/pharmaceutics11090432.

[72] « La Pharmacopée Européenne (Ph. Eur.) 10e Édition - Direction européenne de la qualité du médicament & soins de santé - Liferay DXP », *Direction européenne de la qualité du médicament & soins de santé*. <https://www.edqm.eu/en/europeanpharmacopoeia-ph-eur-10th-edition-> (consulté le 1 juillet 2022).

[73] Amel Bouakba. Nécessité d'une prise en charge précoce : 6 à 8% des diabétiques subissent une amputation du pied en Algérie. <https://www.santetropicale.com/.le 11/07/2010>.

[74] Mumuni, A.M.; Calister, E.U.; Aminu, N.; Franklin, C.K.; Musiliu Oluseun, A.; Usman, M.; Abdulmumuni, B.; James, Y.O.; Ofokansi, C.K.; Anthony, A.A.; et al. Mucin-Grafted Polyethylene Glycol Microparticles Enable Oral Insulin Delivery for Improving Diabetic Treatment. *Appl Sci* 2020, 10, 2649. [[CrossRef](#)]