

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

UNIVERSITÉ de BLIDA 1
Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de
MASTER EN GENIE DES PROCEDES

Spécialité :Pharmacie Industrielle

Intitulé du mémoire

Développement d'un patch à base de nanogel pour la délivrance transdermique de l'ibuprofène

Présentés par :

- M.Abdelli M L
- M.Namaoui M W

Encadré par :

Dr.Nait Bachir Y

Année universitaire 2018/2019

ملخص :

يشهد مجال الصيدلة الصناعية تطورا ملحوظا يوما بعد يوم. هذا الذي يسمح بابتكار ادوية جديدة تتسم بالكفاءة، السرعة ، وسهولة الاستخدام. أولا تم تحضير هلام النانو باستعمال الجيلاتين و الغزانتانألدهيد بحيث تمت عملية الصنع باستخدام خطة من التجارب. العملية سمحت بمعدل تغليف قدر ب 93.78 ،نسبة إيبروفين قدرت ب 15 % مع نسبة قدرت ب 1:2 بخصوص الجيلاتين : الغزانتانألدهيد مع وقت تهلم قدر بساعتان. بعد ذلك تم إجراء سلسلة من التحاليل الخاصة بهلام النانو والمتمثلة في قياس حجم الجسيمات باليزر، قياس الشحنة، قياس الطيف بالأشعة الحمراء و بالأشعة السينية مع الفحص بالمجهر الالكتروني و إجراء تحاليل الخصائص الحرارية.

Abstract:

The pharmaceutical field is changing day by day, resulting in new, innovative, efficient, fast and easy-to-use forms.

We will propose an innovative system allowing transdermal delivery with the same or better capabilities as the oral route.

Firstly, the nanogels were prepared based on gelatin and xanthan aldehyde, during this step, the nanogel making process was optimized using a plan of experiments. An encapsulation rate of 93.78% was achieved for a polymer: ibuprofen ratio of 15%, a gelatin: xanthan aldehyde ratio of 1: 2 and a gel time of 2h.

Then, the nanogels were characterized by: laser particle size distribution, zetametry, FTIR spectroscopy, x-ray diffraction, scanning electron microscopy and thermogravimetric analysis.

Finally, the in-vitro, ex vivo and in-vivo pharmacological characteristics of ibuprofen could be improved after encapsulation in nanogels.

RESUME

Résumé :

Le domaine pharmaceutique évolue de jour en jour, ce qui a permis de produire des nouvelles formes innovantes, efficaces, rapides et faciles à utiliser.

Nous allons proposer un système innovant permettant une délivrance transdermique ayant les mêmes ou de meilleures capacités que la voie orale. En premier lieu les nanogels ont été préparés à base de gélatine et xanthane aldéhyde, lors de cette étape, le procédé d'élaboration des nanogels a été optimisé en utilisant un plan d'expériences. Un taux d'encapsulation de 93,78 % a été atteint pour un ratio polymère : ibuprofène de 15 %, un ratio de gélatine : xanthane aldéhyde de 1 : 2 et un temps de gélification de 2h.

Ensuite, les nanogels ont été caractérisés par : granulométrie laser, zétamétrie, spectroscopie FTIR, diffraction des rayons x, microscopie électronique à balayage et analyses thermogravimétriques.

Enfin les caractéristiques pharmacologiques in-vitro, ex vivo et in-vivo de l'ibuprofène ont pu être améliorées après l'encapsulation dans les nanogels.

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions le Dieu, notre créateur de nos avoir donné les forces, la volonté et le courage afin d'accomplir ce travail modeste.

En second lieu, nous à remercier notre encadreur le monsieur qui a su crée entre nous une alchimie surprenante, le monsieur qui a su être patient et positif Dr NAIT BACHIR YACINE. Ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail ont déterminants.

Nous remerciant la directrice de laboratoire Pr HADJ ZIANE de nous avoir aidés et orientés et pour le temps qu'elle a consacré à nous apporter les outils méthodologiques et pédagogique indispensables à la conduite de cette recherche.

Nous tenons également à remercier les membres de jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de siéger à notre soutenance.

Nous souhaitons remercier nos chères amies pour leur sincère amitié et confiance.

Finalement, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à nos familles qui nous ont toujours soutenues et à tout ce qui participe de réaliser ce mémoire. Ainsi que l'ensemble des enseignants qui ont contribué à notre formation

Dédicaces

Avec un énorme plaisir et une immense joie, que je dédie ce travail à mes chères parentes, pour leurs sacrifices et leurs soutiens permanents pendant mes années d'études, Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous l'amour et les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Que Dieu vous protège et vous garde pour moi.

A mon très cher frère Imad et mes chères sœurs Maroua et Rania,

Je dédie ce travail aussi,

A mes tantes et oncles,

A ma cousine Linda s et mon cousin Noufel,

A mon binôme Walid et mes aimables amis Sohaib, Ali, Hamza, Walid, Mnouar, Rima, Amina, khadidja, Rabéa et Nacéra.

Lamine

Merci infiniment

Dédicaces

A mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, aucun mot ne serait assez grand pour vous déclarer ma reconnaissance

A mes chères sœurs imene et lamia et leur petites familles pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral,

A mon cher frère, Mehdi et sa femme, pour leur appui et leur encouragement,

A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire,

Que Dieu vous protège et vous garde pour moi.

A mes Amis Amel, Amine, Abdelrahmen, Samir, Abdelkader, Faycal, Adlane, Ahmed, Mustapha, Abdellah, Soheib, Ikram, Khadidja.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,

Merci d'être toujours là pour moi.

Walid

Merci infiniment

TABLE DES MATIERES

RESUME

REMERCIEMENT

DEDICACE

TABLE DES MATIERES

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTES DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS

INTRODUCTION GENERALE ----- 1

CHAPITRE I : NANOSYSTEMES PHARMACEUTIQUES

I.1. Introduction-----3

I.2. Historique et évolution de la nanotechnologie pharmaceutique -----3

I.3. Définitions de la nanotechnologie-----4

I.4. Intérêt de la nanotechnologie -----4

I.5. Classification des nanosystèmes-----5

I.5.1. Les nanomatériaux -----5

I.5.1.1. selon la dimension -----5

I.5.1.2. Selon la composition de phase -----6

I.5.1.3. Selon la structure-----6

I.5.1.3.1. Les dendrimères -----6

I.5.1.3.2. Les nanoparticules solides lipidiques -----6

I.5.1.3.3. Les nanoparticules polymériques-----7

I.5.1.3.4. Les micelles polymériques -----7

I.5.1.3.5. Les liposomes-----7

I.5.1.3.6. les nanoparticules de céramique -----8

I.5.1.3.7. Les nanotubes de carbone -----8

I.5.1.3.8. Les points quantiques -----8

I.5.1.3.9. les nanoparticules d'or-----8

I.5.1.3.10. Les nanocapsules -----9

I.5.1.3.11. Les nanogels -----9

I.5.1.3.12. Les nanoémulsions -----9

I.5.2. Les nanodispositifs-----9

I.6. Les méthodes d'élaboration des nanosystèmes-----	10
I.6.1. Méthodes physiques : -----	10
I.6.1.1. Evaporation/condensation -----	10
I.6.1.2. La pyrolyse laser :-----	10
I.6.1.3. Méthode aérosol : -----	10
I.6.2. Méthodes chimiques :-----	10
I.6.2.1. Réactions en phase vapeur -----	10
I.6.2.2. Réactions en milieu liquide : -----	10
I.6.2.3. Méthode sol-gel : -----	11
I.6.2.4. Production de liposomes -----	11
I.6.2.5. Méthodes solvo-thermale et hydro-thermale : -----	11
I.7. Les techniques de caractérisations des nanosystèmes pharmaceutiques -----	11
I.7.1. La caractérisation physico-chimique -----	11
I.7.1.1. Taille et morphologie -----	11
I.7.1.2. Spectroscopie -----	12
I.7.1.3. Analyse thermique -----	13
I.7.2. Caractérisation pharmaceutique -----	13
I.7.2.1. Efficacité de l'incorporation/taux d'encapsulation-----	13
I.7.2.2. Stérilité etpouvoir pyrogène -----	13
I.7.2.3. Cinétique de diffusion in vitro -----	13
I.7.2.4. Cinétique de diffusion Ex-vivo -----	14
I.8. Application des nanosystèmes pharmaceutiques-----	15
CHAPITRE II : DELIVRANCE TRANSDERMIQUE	
II.1. Introduction-----	16
II.2. Structure de la peau -----	16
II.3. Voies de pénétration du médicament à travers la peau-----	17
II.4. Diffusion à travers la peau (Diffusion transdermique)-----	17
II.5. Définition de la délivrance transdermique du médicament-----	18
II.6. L'intérêt de la délivrance transdermique -----	18
II.7. Facteurs influant sur l'administration transdermique de médicaments -----	19
II.7.1. Propriétés physicochimiques de la fraction active -----	19
II.7.1.1. Coefficient de partage -----	19
II.7.1.2. Taille moléculaire -----	19
II.7.1.3 Solubilité et point de fusion -----	19
II.7.1.4 Ionisation -----	19

II.7.1.5 Coefficient de diffusion -----	19
II.7.2 Propriétés physicochimiques de l'administration du médicament-----	20
II.7.3. Propriétés physiologiques -----	20
II.8. Caractérisation du système de délivrance transdermique -----	20
II.8.1. Détermination de la solubilité du médicament-----	20
II.8.2. Mesures micrométriques -----	20
II.8.2.1. Analyse de la taille des particules, de la forme et du potentiel zêta -----	20
II.8.2.2 Aire de surface spécifique -----	21
II.8.3. Visualisation en microscopie électronique à transmission -----	21
II.8.4. Stabilité -----	21
II.8.5. Chromatographie liquide à haute pression (HPLC) -----	21
II.8.6. Chromatographie en phase liquide – spectrométrie de masse (LC / MS) ----	21
II.8.7. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) -----	21
II.8.8. FTIR à réflectance totale atténuée (ATR-FTIR) -----	22
II.8.9. Analyse calorimétrique différentielle (DSC) -----	22
II.8.10. Diffraction des rayons X aux petits angles (SAXD) -----	22
II.8.11. Le test d'irritation cutanée -----	22
II.8.12. L'occlusivité-----	22
II.8.13. Tartinabilité -----	22
II.8.14. Rhéologie -----	23
II.9. Les nanosystèmes pharmaceutiques pour la délivrance transdermique -----	23
II.10. Technique de diffusion transdermique -----	24
II.10.1. Les patchs transdermiques -----	24
II.10.2. Types de patchs transdermiques -----	25
II.10.2.1. Adhésif à couche unique -----	25
II.10.2.2. Drogue multicouche dans l'adhésif -----	26
II.10.2.3. Réservoir -----	26
II.10.2.4. Matrice -----	26
II.10.2.5. Patch Vapeur -----	26
II.11. Les techniques avancées pour l'amélioration de la livraison transdermique -	27
II.11.1. Electroporation -----	27
II.11.2. Les microaiguilles -----	27
II.11.3. Sonophorèse -----	28
II.11.4. Ionophorèse -----	28

CHAPITRE III : DELIVRANCE TRANSDERMIQUE DE L'IBUPROFENE

III.1. Introduction	29
III.2. Définition de l'ibuprofène	29
III.3. Propriétés physiques et chimiques de l'ibuprofène	29
III.4. Mécanisme d'action de l'ibuprofène	30
III.5. Voies d'administration d'ibuprofène et leur pharmacocinétique	30
III.5.1. La voie orale	30
III.5.2. La voie cutanée et transdermique	30
III.5.3. La voie intraveineuse (IV)	31
III.5.4. La par voie pulmonaire	31
III.6. Toxicité des nanomédicaments d'ibuprofène	31
III.7. Applications thérapeutiques	31

CHAPITRE IV : MATERIELS ET METHODES

IV.1. Matériels	32
IV.2. Préparation du xanthane aldéhyde	32
IV.3. Caractérisation du polymère xanthane aldéhyde	32
IV.3.1. Spectroscopie infrarouge (FTIR)	32
IV.3.2. Détermination de la teneur en Aldéhyde	32
IV.4. Procédure générale de la formulation des nanogels	33
IV.5. Optimisation du procédé de formulation	34
IV.6. Caractérisation des nanogels	35
IV.6.1. Diamètre moyen	35
IV.6.2. Le potentiel zêta	36
IV.6.3. Taux d'encapsulation	36
IV.7. Analyse structurales des nanogels	37
IV.7.1. Analyse spectroscopique FTIR	37
IV.7.2. Analyse par diffraction des rayons X (DRX)	37
IV.7.3. Analyse par microscope électrique à balayage	37
IV.8. Cinétique de dissolution in vitro	38
IV.9. Etude de la diffusion transdermique en Ex-vivo	38
IV.10. Modélisation mathématique des données de dissolution et de diffusion	39
IV.11. Activité anti- inflammatoire in vivo	40

CHAPITRE IV : RESULTATS ET DISCUSSIONS

V.1. Préparation et caractérisation du xanthane aldéhyde -----	43
V.2. Optimisation de procédé de formulation des nanogels d'ibuprofène -----	44
V.3. Effets des facteurs sur les réponses -----	44
V.3.1. Taux d'encapsulation -----	45
V.3.2. Le diamètre moyen -----	45
V.3.3. Le potentiel zêta -----	46
V.4. Modélisation et prédiction des résultats -----	46
V.4.1. Taux d'encapsulation -----	47
V.4.2. Diamètre moyen -----	48
V.4.3. Potentiel zêta -----	50
V.5 Analyse spectroscopique FTIR -----	52
V.6. Analyse par diffraction des rayons X (DRX) -----	52
V.7. Analyse par microscope électrique à balayage -----	54
V.8. Cinétique de dissolution in vitro -----	55
V.9. Etude de la diffusion transdermique en Ex-vivo -----	56
V.10. Activité anti- inflammatoire in vivo -----	56
V.11 Discussions des résultats et proposition du mécanisme d'action -----	58
CONCLUSION -----	59

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXE

LISTE DES FIGURES

- Fig. I.1:** Structure d'une nanoparticule solide lipidique
- Fig. I.2 :** Structure d'une micelle polymérique
- Fig. I.3:** Structure d'un liposome.
- Fig. I.4 :** Structure d'un nanotube de carbone
- Fig. I.5 :** Structure d'un nanogel
- Fig. I.6 :** Schéma d'une cellule de Franz
- Fig. II.1.** Anatomie de la peau
- Fig. II.2 :** Voies possibles pour la pénétration du médicament à travers la peau.
- Fig. II.3 :** patch transdermique
- Fig. II.4 :** Changement dans la structure de la bicouche de phospholipide et de la membrane cellulaire avant et après application d'un champ électrique pulse
- Fig. II.5 :** Les différents types de microaiguilles
- Fig.II.6 :** La méthode sonophorèse
- Fig. II.7 :** La technique ionphorèse
- Fig. III.1.** Structures chimiques de l'ibuprofène
- Fig.IV.1 :** La réaction qui correspond au changement de couleur du méthyl orange
- Fig.IV.2 :** Réaction de base de Schiff
- Fig. IV.3:** Appareil de dissolution
- Fig. IV.4:** Diffusion Ex-vivo
- Fig. IV.5:** patch d'un nanogel
- Figure IV.6:** l'injection de la carragénine
- Figure IV.7:** Sacrifier des rats et couper les pattes.
- Figure .V.1 :** les spectres FTIR de la gomme xanthane (bleu) et le xanthane aldéhyde
- Figure V.2 :** Structure Chimique du nanogel obtenu
- Figure V.3 :** Histogramme représentant le coefficient de corrélation et le coefficient de prédiction.
- Figure V.4 :** Effets des facteurs sur le taux d'encapsulation
- Figure V.5 :** Effets des facteurs sur le diamètre moyen
- Figure V.6 :** Effets des facteurs sur le potentiel zêta

Figure.V.7 : Evolution du taux d'encapsulation en fonction du facteur X_1 : ratio polymère : Ibuprofène, du facteur X_2 : ratio gélatine : X-A et du facteur fixe X_3 : Temps

Figure. V.8 : Evolution du taux d'encapsulation en fonction du facteur (X_1 , Polymère : Ibuprofène) et le facteur (X_3 , temps) et un facteur fixe (X_2 , Gélatine : X-A)

Figure V.9: Evolution du taux d'encapsulation en fonction du facteur X_2 (Gélatine : X-A) et du facteur X_3 (Temps) et un facteur fixe X_1 (Polymère : Ibuprofène)

Figure V.10 : Evolution du diamètre moyen en fonction du facteur X_1 (Polymère : Ibuprofène), du facteur X_2 (Gélatine : X-A) et un facteur fixe X_3 (temps)

Figure V.11 : Evolution du diamètre moyen en fonction du facteur X_1 (Polymère : Ibuprofène) et du facteur X_3 (temps) et un facteur fixe X_2 (Gélatine : X-A).

Figure V.12 : Evolution du diamètre moyen en fonction du facteur X_3 (Temps) et du facteur X_2 (Gélatine : X-A) et un facteur fixe X_1 (Polymère : Ibuprofène)

Figure V.13 : Evolution du potentiel zêta en fonction du facteur X_1 (Polymère : Ibuprofène) et du facteur X_2 (Gélatine : X-A) et un facteur fixe X_3 (Temps).

Figure V.14 : Evolution du potentiel zêta en fonction du facteur X_1 (Polymère : Ibuprofène) le facteur X_3 (Temps).

Figure V.15 : Evolution du potentiel zêta en fonction du facteur X_3 (temps) et du facteur X_2 (Gélatine- X-A) et un facteur fixe X_1 ((Polymère : Ibuprofène).

Figure V.16 : le spectre FTIR de l'ibuprofène en gris la gélatine violé le xanthane aldéhyde en rose et les nanogels

Figure V.17 : chromatogramme de l'ibuprofène

Figure V.18 : chromatogramme du xanthane aldéhyde

Figure V.19 : chromatogramme de la gélatine

Figure V.20 : diffractogramme du nanogels

Figure V.21. microphotographie des nanogels

Figure V.22 : courbe de la dissolution (%) du nanogels dissous en fonction du temps à un pH de 7.4 et à 37°C

Figure. V.23 : courbe des absorbances du nanogels dans la cellule de Franz à un pH de 7.4 à 37°C

Figure V.24: histogramme représentant l'augmentation de l'oedème pour les cinq lots.

Figure. V.25 : histogramme représentant la diminution de l'oedème pour les cinq lots.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1 : Classification des nanosystèmes pharmaceutiques d'une manière dimensionnelle

Tableau I.2 : Classement des nanomatériaux Selon la composition de phase

Tableau II.1 : Diffèrent nanosystèmes pharmaceutique pour la délivrance transdermique

Tableau III.1 : Solubilité de l'ibuprofène dans quelques solvants organiques

Tableau IV.1 : Matrice obtenue par le pan factoriel complet

Tableau IV.2 : lot de 5 rats avec les différents traitements

Tableau V.1. La matrice des résultats du plan d'expériences

Tableau V.2 : les modèles mathématiques

Tableau V.3 : Les valeurs du coefficient de corrélation pour chaque modèle de la dissolution

Tableau V.4 : Les valeurs du coefficient de corrélation pour chaque modèle de diffusion.

LISTE DES SYMBOLES ET ABREVIATIONS

nm : Nanomètre
m : Mètre
g : Gramme
VIH : Virus de l'immunodéficience humaine
pH : Potentiel hydrogène
MEMS : Systèmes micro électromécaniques
NEMS : Systèmes nano électromécaniques
CO₂ : Dioxyde de carbone
CVD : Chemical vapor deposition
°C : Degré Celsius
NP : Nanoparticule
atm : Atmosphère
MEB : Microscope électronique à balayage
MET : Microscope électronique à transmission
AFM : Microscope à force atomique
DLS : Dynamic light scattering
DRX : Diffraction des rayons x
UV-vis : Ultraviolet-visible
FTIR : Infrarouge à transformée de Fourier
cm : Centimètre
µm : Micromètre
RMN : Résonance magnétique nucléaire
H : Hydrogène
C : Carbone
F : Fluor
P : Phosphore

NG : nanogels
ATG : Analyse thermogravimétrique
ATD : Analyse thermique différentielle
% : Pourcentage
LAL : Lysat d'Amebocyte de lumulus
ml : Millilitre
M : Molaire
tpm : Tour par minute
L : Litre
Min : Minutes
J : Flux de diffusion
D: Coefficient de diffusion des médicaments
dC/dX : Gradient de concentration sur distance x
R : Constante de gaz
T : Température
N₀: Nombre d'Avogadro 0.657 M^{1/3} (avec M : la masse molaire de la molécule)
η: Viscosité de la solution
Log : logarithme
PA : Principe actif
FFEM : Microscopie électronique à fracture congelée
HPLC : Chromatographie liquide haute pression
LC : Chromatographie en phase liquide
MS : Spectrométrie de masse
ATR-FTIR : Infrarouge à transformée de Fourier à réflectance totale atténuée
DSC : Analyse calorimétrique différentielle
SAXD : Diffraction des rayons X aux petits angles
EP : Eléctroporation
AINS : Anti-inflammatoire non stéroïdien
COX : cyclooxygénase
PG : Prostaglandine
IV : Voie intraveineuse
N : Normal
μl : Microlitre
mg : Milligramme
N : Nombre d'expériences

L : Nombre de niveau

K : Nombre de facteur

C : Nombre de point au centre

F : Facteur

Q : coefficient de prédiction

R : coefficient de corrélation

KBr : Bromure de potassium

Kv : kilovolt

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] SAHINER N. (2007) Macromolecular Nanotechnology - Hydrogel nanonetworks with functional core – shell structure, *Eur. Poly. J.* 43, 1709 – 1717.
- [2] J.-U. A. H. Junghanns and R. H. Müller, —Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications, *Int. J. Nanomedicine*, vol. 3, no. 3, pp. 295–310, Sep. 2008.
- [3] CHAWLA J. S., AMIJI M. M. (2002) Biodegradable poly (ϵ – caprolactone) nanoparticles for tumor targeted delivery of tamoxifen, *Intl. J. Pharmaceutics* 249, 127 – 138.
- [4] Hoffman AS. Applications of thermally reversible polymers and hydrogels in therapeutics and diagnostics. *J Control Release* 1987;6:297–305.
- [5] Langer R. Drug delivery: drugs on target. *Science* 2001;293: 58–9.
- [6] Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. *Science* 1993; 260:920–6.
- [7] Peppas NA, Hilt JZ, Khademhosseini A, Langer R. Hydrogels in biology and medicine: from molecular principles to bionanotechnology. *Adv Mater* 2006;18: 1345–60.
- [8] Brandl F, Sommer F, Goepferich A. Rational design of hydrogels for tissue engineering: impact of physical factors on cell behavior. *Biomaterials* 2006;28:134–46.
- [9]: C. DE BRABANDER, C. VERVAET, L. VAN BARTEL, J.-P. REMON, « Bioavailability of ibuprofen from hot-melt extruded mini-matrices », *International Journal of Pharmaceutics*, 271 77-84, 2004.
- [10] S. Horikoshi and N. Serpone, —Introduction to Nanoparticles, *in* *Microwaves in Nanoparticle Synthesis*, S. Horikoshi and N. Serpone, Eds. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2013, pp. 1–24.
- [11] H.S. Yoo, J.E. Oh, K.H. Lee, T.G. Park, *Pharm. Res.*, 1999, 16, 1114-1118.

- [12] J. Kreuter, —Nanoparticles—a historical perspective, *Int. J. Pharm.*, vol. 331, no. 1, pp. 1–10, Feb. 2007.
- [13] National Nanotechnology Initiative (NNI). National Science and Technology Council. Committee on Technology, Subcommittee on Nanoscale Science, National Technology Initiative Strategic Plan, www.nano.gov (2011, accessed 25 August 2015).
- [14] Iijima S. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature* 1991; 354: 56–58.
- [15] The Royal Society. Nanoscience and nanotechnologies: opportunities and uncertainties. London: Royal Society, 2004:4.
- [16] Nilesh J, Ruchi J, Navneet T, BrhamPrakash G, Deepak kumar J. Nanotechnology: A Safe And Effective Drug Delivery Systems. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 2010, vol.3, issue 3. 159-165.
- [17] O.C. Farokhzad, R. Langer, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2006, 58, 1456-1459.
- [18] M. Liu, K. Kono, J. M. Frechet, *J. Control. Release* 65, 121 (2000).
- [19] S. M. Moghimi, A. C. Hunter, J. C. Murray, *Pharmacol. Rev.* 53, 283 (2001).
- [20] D. A. LaVan, T. McGuire, R. Langer, *Nature Biotechnol.* 21, 1184 (2003).
- [21] R. Duncan, *Nature Rev. Drug Discov.* 2, 347(2003).
- [22] T. M. Allen, *Nature Rev. Cancer* 2, 750 (2002).
- [23] Bhatia S (2016) Nanoparticles types, classification, characterization, fabrication methods and drug delivery applications. In: *Natural polymer drug delivery systems*. Springer, pp 33–93.
- [24] Silva GA (2004) Introduction to nanotechnology and its applications to medicine. *SurgNeurol* 61(3):216–220.
- [25] Nazemi A, Gillies ER (2013) Dendritic surface functionalization of nanomaterials: controlling properties and functions for biomedical applications. *Braz J Pharm Sci* 49(SPE):15–32
- [26] Bottari G, Urbani M, Torres T (2013) Covalent, donor–acceptor ensembles based ON Phthalocyanines AND CARBON nanostructures. In: *Organic Nanomaterials: synthesis, characterization, and device applications*, pp 163–186
- [27] Siró I, Plackett D (2010) Microfibrillated cellulose and new nanocomposites materials: a review. *Cellulose* 17(3):459–494
- [28] Jariwala D, Sangwan VK, Lauhon LJ, Marks TJ, Hersam MC (2013) Carbon nanomaterials for electronics, optoelectronics, photovoltaics, and sensing. *ChemSoc Rev* 42(7):2824–2860

- [29] Duran H, Steinhart M (2011) Butt H-Jr, Floudas G. From heterogeneous to homogeneous nucleation of isotactic poly (propylene) confined to nanoporous alumina. *Nano Lett* 11(4):1671–1675
- [30] Kumari A, Yadav SK, Yadav SC (2010) Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems. *Colloids Surf B Biointerfaces* 75(1):1–18
- [31] Hoare T, Santamaria J, Goya GF, Irusta S, Lin D, Lau S et al (2009) A magnetically-triggered composite membrane for on-demand drug delivery. *Nano Lett* 9(10):3651
- [32] Mishra B, Patel BB, Tiwari S (2010) Colloidal nanocarriers: a review on formulation technology, types and applications toward targeted drug delivery. *Nanomed Nanotech Biol Med* 6(1):9–24 .
- [33] Bhatia S (2016) Nanoparticles types, classification, characterization, fabrication methods and drug delivery applications. In: *Natural polymer drug delivery systems*. Springer, pp 33–93
- [34] S. Pushkar, A. Philip, K. Pathak, D. Pathak, *Indian. J. Pharm. Educ. Res.*, 2006, 40(3), 153-158.
- [35] D.S. Shah, T. Sakthivel, A.T. Florence, I. Toth, A.F. Wilderspin, *Int. J. Pharm.*, 2000, 254, 41-48.
- [36] M.R. Gasco, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2007, 59, 377-378.
- [37] R. Cavalli, A. Bargoni, V. Podio, E. Muntoni, G.P. Zara, M.R. Gasco, *J. Pharm. Sci.*, 2003,92, 1085-1094.
- [38] S. Jain, K. Shukla, V. Jain, S. Saraf, S. Saraf, *Pharma. Times.*, 2007, 39(1), 30-35.
- [39] C. M. Eaga, J.M. Kandukuri, V. Allenki, M. Rao Yamsani, *Der. Pharmacia. Lett.*, 2009,1(1), 21-33.
- [40] K. Kataoka, A. Harada, Y. Nagasaki, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2001, 43, 113-131.
- [41] N. Nishiyama, K. Kataoka, *Pharmacol. Ther.*, 2006, 112, 630-648.
- [42] Y. Bay, W.D. Jang, N. Nishiyama, S. Fukushima, K. Kataoka, *Mol. Biosyst.*, 2005, 1, 242-250.
- [43] Laouini A, Jaafar-Maalej C, Limayem-Blouza I, Sfar S, Charcosset C, Fessi H. Preparation, characterization and applications of liposomes: state of the art. *J Colloid SciBiotechnol* 2012;1(2):147e68.
- [44] A.Y. PataquivaMateus, M.P. Ferraz, F.J. Monteiro, *Eur. Cell. Mater.*, 2007, 14(suppl 1),85.
- [45] L. Lacerda, A. Bianco, M. Prato, K. Kastarelos, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2006, 58, 1460-1470.

- [46] A. Bianco, K. Kastarelos, C.D. Partidos, M. Prato, *Chem. Commun.*, 2005, 571-577.
- [47] D. Pantarotto, J.P. Briand, M. Prato, A. Bianco, *Chem. Commun.*, 2004, 16-17.
- [54] W. Wu, S. Wieckowski, G. Pastorin, M. Benincasa, C. Klumpp, J.P. Briand, R. Gennero, M.
- [55] M. Gasco, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2007, 59, 377-378.
- [56] P. Ghosh, G. Han, M. Dey, C.K. Kim, V.M. Rotello, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 2008, 60,1307-1315.
- [57] Tiark F, Landfester K, Antonietti M. Preparation of polymeric nanocapsules by miniemulsion polymerization. *Langmuir*, 2001; 17: 908-918.
- [58] Jiang B, Hu L, Gao C, Shen J. Crosslinked polysaccharide nanocapsules: preparation and drug release properties. *Acta Biomaterialia*, 2006; 2: 9-18
- [59] Whelan J. Nanocapsules for controlled delivery. *Drug Discovery Today*, 2001; 6(23): 1183-1184.
- [60] Daniela Pamfil and Cornelia Vasile, *Nanogels of Natural Polymers*, 11 April 2018
- [61] Santos-Magalhães NS, Pontes A, Pereira VMW, Caetano MNP. Colloidal carriers for benzathin penicillin G: nanoemulsions and nanocapsules. *Int. J. Pharm.*, 2000; 208 (1-2): 71-80.
- [62] Brüsewitz C, Schendler A, Funke A, Wagner T, Lipp R. Novel poloxamer-based nanoemulsions to enhance the intestinal absorption of active compounds. *Int. J. Pharm.*, 2007; 329: 1173- 181.
- [63] Silva GA (2004) Introduction to nanotechnology and its applications to medicine. *SurgNeurol* 61(3):216–220
- [64] Avis de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail, Saisine Afsset n° 2005/010, Juillet 2006.
- [65] A. Argemi, A. Vega, P. Subra-Paternault, J. Saurina, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 50 (2009) 847.
- [66] M. Furlan, J. Kluge, M. Mazzotti, M. Lattuada, *J. Supercrit. Fluids* 54 (2010) 348.
- [67][Franz J. Giessibl* *Experimentalphysik VI, Electronic Correlations and Magnetism*, Institute of Physics, Augsburg University, D-86135 Augsburg, Germany (Published 29 July 2003)]
- [68] PHARMACOPEÉE EUROPÉENNE 6e EDITION, publiée le 16 juillet 2007, remplace la 5e Edition à dater du 1er janvier 2008
- [69] M le Maire, DE Rivas, JV Møller - *Analytical biochemistry*, 1980 – Elsevier.
- [70] C Domingo, J Saurina - *Analytica Chimica Acta*, 2012 – Elsevier

- [71] GüntherHöhne, Wolfgang F. Hemminger, H.-J. Flammersheim – Differential Scanning Calorimetry, Germany, 2013
- [72] Ilic-Stojanovic S, Nikolic L, Nikolic V, Ilic D, Ristic I, Tacic A. Polymeric matrix systems for drug delivery. In: Keservani RK, Sharma AK, Kesharwani RK, editors. Drug delivery approaches and nanosystems, vol. 1: novel drug carriers. Waretown (New Jersey): Apple Academic Press Inc.; 2017.
- [73] Padamwar MN, Pokharkar VB. Development of vitamin loaded topical liposomal formulation using factorial design approach: drug deposition and stability. *Int J Pharm* 2006;320(1):37e44.
- [74] United States Pharmacopeia (United States Pharmacopeial Convention, Inc.)28[85] Bacterial Endotoxin Test.
- [75] United States Pharmacopeia (United States Pharmacopeial Convention, Inc.) USP28[151]Rabbit Pyrogen Test.
- [76] Y. B. Schuetz, A. Naik, R. H. Guy, E. Vuaridel, and Y. N. Kalia, “Transdermal iontophoretic delivery of triptorelin in vitro,” *J. Pharm. Sci.*, vol. 94, no. 10, pp. 2175–2182, 2005.
- [77] S. R. Patel, H. Zhong, A. Sharma, and Y. N. Kalia, “Controlled non-invasive transdermal iontophoretic delivery of zolmitriptan hydrochloride in vitro and in vivo,” *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 72, no. 2, pp. 304–309, 2009.
- [78] A. Argemi, J.L. Ellis, J. Saurina, D.L. Tomasko, *J. Pharm. Sci.* 100 (2011) 992.
- [79] Zimmer A, Chetoni P, Saettone M, Zerbe H, Kreuter J. Evaluation of pilocarpine loaded albumin nanoparticles as controlled drug delivery systems for the eye. II. Coadministration with bioadhesive and viscous polymers. *J Control Release* 1995; 33:31.
- [80] Contreras LG, Morcol T, Bell SJ, Hickey AJ. Evaluation of novel particles as pulmonary delivery systems for insulin in rats. *AAPS Pharm Sci* 2003; 5:E9.
- [81] Yamamoto A. Improvement of transmucosal absorption of biologically active peptide drugs. *YakugakuZasshi* 2001; 121:929.
- [82] Yamamoto H, Kuno Y, Sugimoto S, Takeuchi H, Kawashima Y. Surface modified PLGA nanospheres with chitosan improved pulmonary delivery of calcitonin by mucoadhesion and opening of the intercellular tight junctions. *J Control Release* 2005; 102:373.
- [83] Koziara JM, Lockman PR, Alen DD, Mumper RJ. In situ blood–brain barrier transport of nanoparticles. *Pharm Res* 2003; 20:1772.

- [84] Chellini E. Nanotechnologies and nanosciences, knowledge-based multifunctional materials and new production processes and devices, TATLYS project. Italy: University of Pisa, 2003.
- [85] D Thassu, M Deleers, YV Pathak –nanoparticulate drug delivery systems, new york, 2007.
- [86] Patravale V, Dandekar P, Jain R. Nanoparticulate drug delivery: perspectives on the transition from laboratory to market. Elsevier Science; 2012.
- [87] Arunachalam A, Karthikeyan M, Kumar DV, Prathap M, Sethuraman S, Kumar A, Manidipa S. Transdermal drug delivery System?: a review. *Current Pharm Res* 2010;1(1):70e81.
- [88] Bryan J. Transdermal drug delivery may be a common technique in the future. *The Pharmaceutical Journal* 2004 ; 273 : 292-3.
- [89] Menon, G.K. New Insights into Skin Structure: Scratching the Surface. *Adv. Drug Deliv.Rev.*
- [90] Liu, X.; Kruger, P.; Maibach, H.; Colditz, P.B.; Roberts, M.S. Using Skin for Drug Delivery and Diagnosis in the Critically Ill. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2014, 77, 40–49.
- [91] 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 17 β -Estradiol on Endothelium-Dependent Vascular Function in Postmenopausal Women. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 2007, 27, 1782–1787.
- [92] 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.
- [93] 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.
- [94] Shahzad, Y.; Louw, R.; Gerber, M.; du Plessis, J. Breaching the Skin Barrier through Temperature Modulations. *J. Control. Release* 2015, 202, 1–13.
- [95] B. Brodin, B. Steffansen, and C. U. Nielsen, “Passive diffusion of drug substances: the concepts of flux and permeability,” *Mol. Biopharm.*, pp. 135–151, 2010.
- [96] 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.
- [97] B. J. Thomas and B. C. Finnin, “The transdermal revolution,” *Drug Discov. Today*, vol. 9, no. 16, pp. 697–703, 2004.

- [98] 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.
- [99] 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.
- [100] Mutalik S, Udupa N (2004) Glibenclamide transdermal patches: Physicochemical, pharmacodynamic and pharmacokinetic evaluations. *J. Pharm. Sci.* 93: 1577–1594.
- [101] Harneet Marwah, Tarun Garg, Amit K. Goyal, and Goutam Rath, *Permeation enhancer strategies in transdermal drug delivery*, 2014 Informa Healthcare USA,
- [102] Tavitou 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.
- [103] Martin A, Bustamante P (1993) *Physical Pharmacy: Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Sciences*, 4th edn, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, pp. 436–439.
- [104] Newman A.W (1995) *Micromeritics in Physical Characterization of Pharmaceutical Solids*, (ed. H.G. Brittain), Marcel Dekker, New York, NY, Ch. 9, 254–264p.
- [105] 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.
- [106] 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.
- [107] 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. *J Liposome Res* 19(4): 253-60.
- [108] 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.
- [109] Watson DG (1999) *Pharmaceutical Analysis. A textbook for Pharmaceutical students and Pharmaceutical Chemists.* 1st Ed. Churchill Livingstone, UK.

- [110] 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.
- [111] 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.
- [112] 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.
- [113] 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.
- [114] Oilman MR (1982). *Skin and Eye Testing in Animals. Principles and Methods of Toxicology*; Hayes, A.W., Ed.; Raven Press: New York. 209–222p.
- [115] Garg A, Aggarwal D, Garg S, Singla AK (2002). Spreading of Semisolid Formulations An Update. *Pharmaceutical Technology*, Sept.
- [116] 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.
- [117] 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.
- [118] Islam MT, Rodríguez-Hornedo N, Ciotti S, Ackermann C (2004) Rheological characterization of topical Carbomer gels neutralized to different pH. *Pharm. Res.* 21(7):1192-1199.
- [119] Andrade F, Videira M, Ferreira D, Sarmiento B. Nanocarriers for pulmonary administration of peptides and therapeutic proteins. *Nanomedicine(Lond)*. 2011;6:123–141.
- [120] Marchetti JM, de Souza MC, Marotta-Oliveira SS. Nanocarriers and cancer therapy: approaches to topical and transdermal delivery. In: Beck R, Guterres S, Pohlmann A, editors. *Nanocosmetics and Nanomedicines: New Approaches for Skin Care*. Heidelberg: Springer; 2011:269.
- [121] Prochazka AV. New developments in smoking cessation. *Chest*. 2000;117:169S–175S.

- [122] Mishra V, Bhargava S. Transdermal drug delivery system – a total view. Available from: <http://www.pharmatutor.org/articles/transdermal-drugdelivery-system-a-total-view>. Accessed July 5, 2012.
- [123] Touitou E, Junginger H, Weiner N, Nagai T, Mezei M. Liposomes as carriers for topical and transdermal delivery. *J Pharm Sci*. 1994;83:1189–1203.
- [124] Cui Z, Han S, Padinjarae D, Huang L. Immunostimulation mechanism of LPD nanoparticles as a vaccine carrier. *Mol Pharm*. 2005;2:22–28.
- [125] Trotta M, Peira E, Debernardi F, Gallarate M. Elastic liposomes for skin delivery of dipotassiumglycyrrhizinate. *Int J Pharm*. 2002;241:319–327.
- [126] Trotta M, Peira E, Carlotti ME, Gallarate M. Deformable liposomes for dermal administration of methotrexate. *Int J Pharm*. 2004;270:119–125.
- [127] Boinpally RR, Zhou SL, Poondru S, Devraj G, Jasti BR. Lecithin vesicles for topical delivery of diclofenac. *Eur J Pharm Biopharm*. 2003;56:389–392.
- [128] Cevc G, Blume G. New, highly efficient formulation of diclofenac for the topical, transdermal administration in ultradeformable drug carriers, transfersomes. *BiochimBiophysActa*. 2001;1514: 191–205.
- [129] Cevc G, Blume G. Biological activity and characteristics of triamcinolone-acetonide formulated with the self-regulating drug carriers, transfersomes. *BiochimBiophysActa*. 2003;1614:156–164.
- [130] Cevc G, Blume G. Hydrocortisone and dexamethasone in very deformable drug carriers have increased biological potency, prolonged effect, and reduced therapeutic dosage. *BiochimBiophysActa*. 2004;1663:61–73.
- [131] Madsen JT, Vogel S, Karlberg AT, Simonsson C, Johansen JD, Andersen KE. Ethosome formulations of known contact allergens can increase their sensitizing capacity. *ActaDermVenereol*. 2010;90(4):374–378.
- [132] Chourasia MK, Kang L, Yung Chan S. Nanosizedethosomes bearing ketoprofen for improved transdermal delivery. *Results Pharma Sci*. 2011;1:60–67.
- [133] Pannala S, Sri Samala U. Ethosomes, a novel transdermal drug delivery systems: a review. *J Pharm Res*. 2012;4:4628–4630.
- [134] Astruc D, Boisselier E, Ornelas C. Dendrimers designed for functions: from physical, photophysical, and supramolecular properties to applications in sensing, catalysis, molecular electronics, photonics, and nanomedicine. *Chem Rev*. 2010;110:1857–1959.
- [135] Duncan R, Izzo L. Dendrimer biocompatibility and toxicity. *Adv Drug Deliv Rev*. 2005;57:2215–2237.

- [136] Cappel MJ, Kreuter J. Effect of nanoparticles on transdermal drug delivery. *J Microencapsul.* 1991;8:369–374.
- [137] Escobar-Chávez JJ, Rodríguez Cruz IM, Domínguez-Delgado CL, Díaz-Torres R, Revilla-Vázquez AL, Casas-Aléncaster N. Nanocarrier systems for transdermal drug delivery. In: Ali DemirSezer, editor. *Recent Advances in Novel Drug Carrier Systems.* Rijeka: InTech; In press 2012.
- [138] Díaz-Torres R. Transdermal nanocarriers. In: Escobar-Chávez JJ, Merino V, editors. *Current Technologies to Increase the Transdermal Delivery of Drugs.* Bussum: Bentham Science; 2010:120–140.
- [139] Sonnevile-Aubrun O, Simonnet JT, L'Alloret F. Nanoemulsions: a new vehicle for skincare products. *Adv Colloid Interface Sci.* 2004;108–109:145–149.
- [140] Patel, D., Chaudhary, S. A., Parmar, B., & Bhura, N. (2012). Transdermal drug delivery system: a review. *The Pharma Innovation, 1(4)*
- [141] E. Neumann, M. Schaefer-Ridder, Y. Wang, and P. H. Hofschneider, “Gene transfer into mouse lymphoma cells by electroporation in high electric fields,” *EMBO J.*, vol. 1, no. 7, 1982.
- [142] T. Geng and C. Lu, “Microfluidic Electroporation for Cellular Analysis and Delivery,” *Lab Chip*, vol. 13, no. 19, pp. 3803–3821, Oct. 2013.
- [143] A. Bolhassani, A. Khavari, and Z. Orafi, “Electroporation – Advantages and Drawbacks for Delivery of Drug, Gene and Vaccine,” 2014.
- [144] A. Tamra, “Spectroscopie diélectrique HyperFréquence des cellules biologiques soumises à l'électroporation,” Université Toulouse 3 Paul Sabatier, 2017.
- [145] K. Ita, “Transdermal delivery of drugs with microneedles: Strategies and outcomes,” *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, vol. 29, pp. 16–23, 2015.
- [146] “Sonoporation - Focused Ultrasound Foundation.” [Online]. Available: <https://www.fusfoundation.org/mechanisms-of-action/sonoporation>. [Accessed: 17-Jul-2017].
- [147] A. K. Banga and Y. W. Chien, “Iontophoretic delivery of drugs: Fundamentals, developments and biomedical applications,” *J. Control. Release*, vol. 7, no. 1, pp. 1–24, 1988.
- [148] Daniels R, Knie U. Galenics of dermal products vehicles, properties and drug release. *JDDG* 2007; 5: 367-381.
- [149] Babar A, Solanki UD, Cutie AJ, Plakogiannis F. Piroxicam release from dermatological bases: in vitro studies using cellulose membrane and hairless mouse skin. *Drug Dev Ind Pharm* 1990; 16: 523-540.

- [150] S.S.; Cliffe, E.E.; Lessel, B. and Nicholson, J.S.: Some biological properties of 2-(4-isobutylphenyl) propionic acid. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 56: 1686 (1967).
- [151] Buckler, J. W. and Adams, S.S.: The phenylalkanoic acids. Laboratory and clinical studies. *Medical Proceedings* 14: 574 (1968).
- [152]: L. AZOUZ, « Étude des interactions de mélanges (polymères biodégradables/principe actif) obtenus par différentes méthodes de préparations », Mémoire de magister en chimie de l'environnement, Université de Bejaia, 2011.
- [153]: S.M.M. CLEMENT – GUERCIA, « Les intoxications des animaux de compagnie par les médicaments à usage humain : cas relevés au centre antipoison animalier d'ALFORT et résultats d'enquête auprès de vétérinaires praticiens », Thèse de doctorat vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d'ALFORT, 2003.
- [154] Dionne RA, McCullagh L. Enhanced analgesia and suppression of plasma beta-endorphin by the S(b)-isomer of ibuprofen. *ClinPharmacolTher.* 1998;63:694–701.
- [155] Levis KA, Lane ME, Corrigan OI. Effect of buffer media composition on the solubility and effective permeability coefficient of ibuprofen. *Int J Pharm.* 2003;253:49–59.
- [156] Saino V, Monti D, Burgalassi S, et al. Optimization of skin permeation and distribution of ibuprofen by using nanostructures (coagels) based on alkyl vitamin C derivatives. *Eur J Pharm Biopharm.* 2010;76:443–449.
- [157] Martin W, Koselowske G, T€oberich H, et al. Pharmacokinetics and absolute bioavailability of ibuprofen after oral administration of ibuprofen lysine in man. *Biopharm Drug Dispos.* 1990;11:265–278.
- [158] M€uller RH, Peters K. Nanosuspensions for the formulation of poorly soluble drugs: I. Preparation by a size-reduction technique. *IntJ Pharm.* 1998;160:229–237.
- [159] Onischuk AA, Tolstikova TG, Sorokina IV, et al. Analgesic effect from Ibuprofen nanoparticles inhaled by male mice. *J Aerosol Med Pulm Drug Deliv.* 2009;22:245–253.
- [160] Islam N, Gladki E. Dry powder inhalers (DPIs) – a review of device reliability and innovation. *Int J Pharm.* 2008;360:1–11.
- [161] Catarina PR, Jo~ao PF, Sara C, et al. Ibuprofen nanoparticles for oral delivery: proof of concept. *J NanomedBiotherDiscov.* 2013;4:1–5.
- [162] Narayanan D, MGG, H L, et al. Poly-(ethylene glycol) modified gelatin nanoparticles for sustained delivery of the anti-inflammatory drug Ibuprofen–Sodium: an in vitro and in vivo analysis. *Nanomedicine.* 2013;9:818–828.

- [163] Dawood MY, Khan-Dawood FS. Clinical efficacy and differential inhibition of menstrual fluid prostaglandin F_{2a} in a randomized, double-blind, crossover treatment with placebo, acetaminophen, and ibuprofen in primary dysmenorrhea. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196: 35, 1–35.
- [164] Derry CJ, Derry S, Moore RA, et al. Single dose oral ibuprofen for acute postoperative pain in adults. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009;8:1–127.
- [165] Silver S, Gano D, Gerretsen P. Acute treatment of paediatric migraine: a meta-analysis of efficacy. *J Paediatr Child Health.* 2008;44:3–9.
- [166] Rainsford K. Ibuprofen: pharmacology, efficacy and safety. *Inflammopharmacology.* 2009;17:275–342.
- [167] Vyas FI, Rana DA, Patel PM, et al. Randomized comparative trial of efficacy of paracetamol, ibuprofen and paracetamol– ibuprofen combination for treatment of febrile children. *Perspect Clin Res.* 2014;5:25.
- [168] Konstan MW, Byard PJ, Hoppel CL, et al. Effect of highdose ibuprofen in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 1995;332:848–854.
- [169]. Painter T, Larsen B. Formation of hemiacetal between neighbouring hexuronic acid residues during the periodate oxidation of alginate. *Acta Chem Scand* 1970;24:813–833.
- [170]. T. Higuchi, Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspensions, *J. Pharm. Sci.* 50 (1961) 874e875.
- [171]. R.W. Korsmeyer, R. Gurny, E. Doelker, P. Buri, N.A. Peppas, Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers, *Int. J. Pharm.* 15 (1983)
- [172] Sarika, P. R., Kumar, P. A., Raj, D. K., & James, N. R. (2015). Nanogels based on alginic aldehyde and gelatin by inverse miniemulsion technique: synthesis and characterization. *Carbohydrate polymers*, 119, 118-125.
- [173] Salehi, R., Rasouli, S., & Hamishehkar, H. (2015). Smart thermo/pH responsive magnetic nanogels for the simultaneous delivery of doxorubicin and methotrexate. *International journal of pharmaceutics*, 487(1-2), 274-284.
- [174] Perge, L., Robitzer, M., Guillemot, C., Devoisselle, J. M., Quignard, F., & Legrand, P. (2012). New solid lipid microparticles for controlled ibuprofen release: formulation and characterization study. *International journal of pharmaceutics*, 422(1-2), 59-67.
- [175] Redpath, M., Marques, C. M. G., Dibden, C., Waddon, A., Lalla, R., & MacNeil, S. (2009). Ibuprofen and hydrogel-released ibuprofen in the reduction of

inflammation-induced migration in melanoma cells. *British Journal of Dermatology*, 161(1), 25-33.

[176] Mavuso, S., Marimuthu, T., E Choonara, Y., Kumar, P., C du Toit, L., & Pillay, V. (2015). A review of polymeric colloidal nanogels in transdermal drug delivery. *Current pharmaceutical design*, 21(20), 2801-2813.

[177] Ahuja, N., Katare, O. P., & Singh, B. (2007). Studies on dissolution enhancement and mathematical modeling of drug release of a poorly water-soluble drug using water-soluble carriers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 65(1), 26-38

CHAPITRE I

NANOSYSTEMES PHARMACEUTIQUE

CHAPITRE II

DELIVRANCE TRANSDERMIQUE

CHAPITRE III

DELIVRANCE TRANSDERMIQUE DE L'IBUPROFENE

CHAPITRE IV

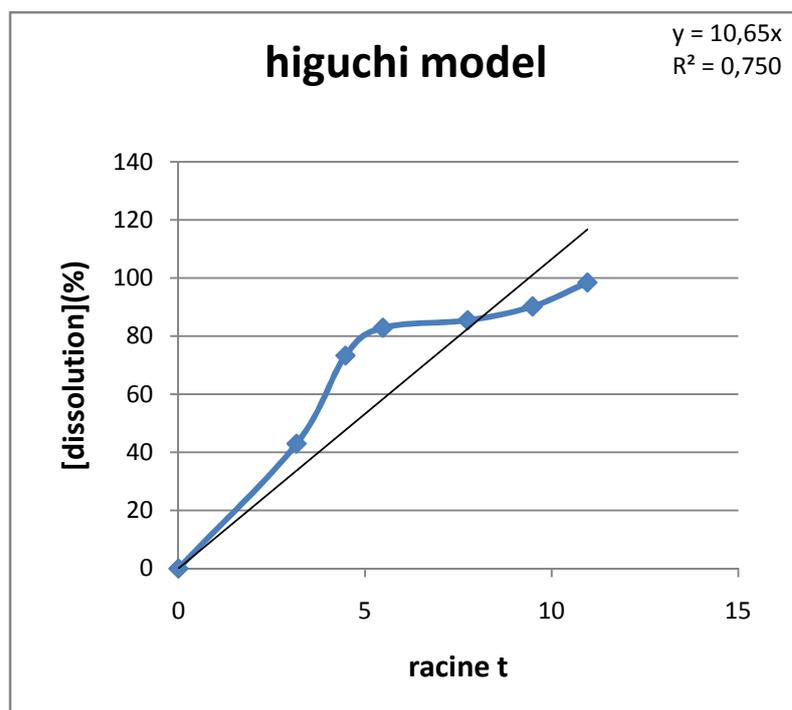
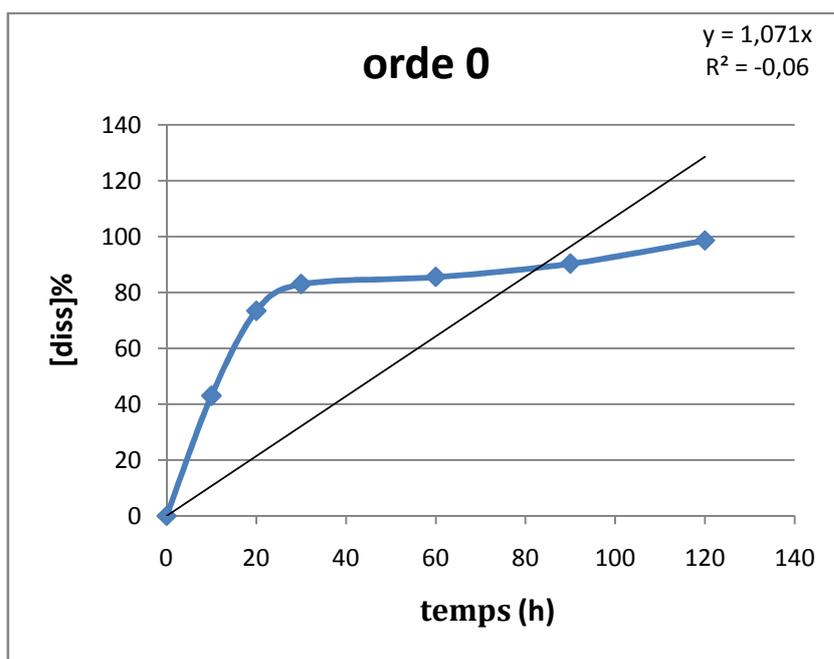
MATERIELS ET METHODES

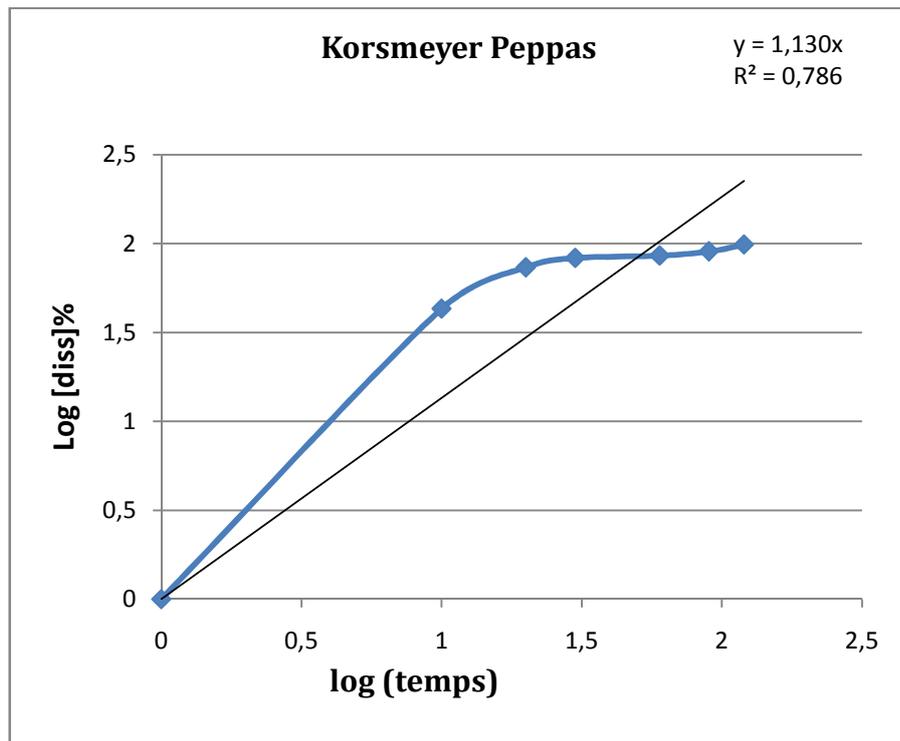
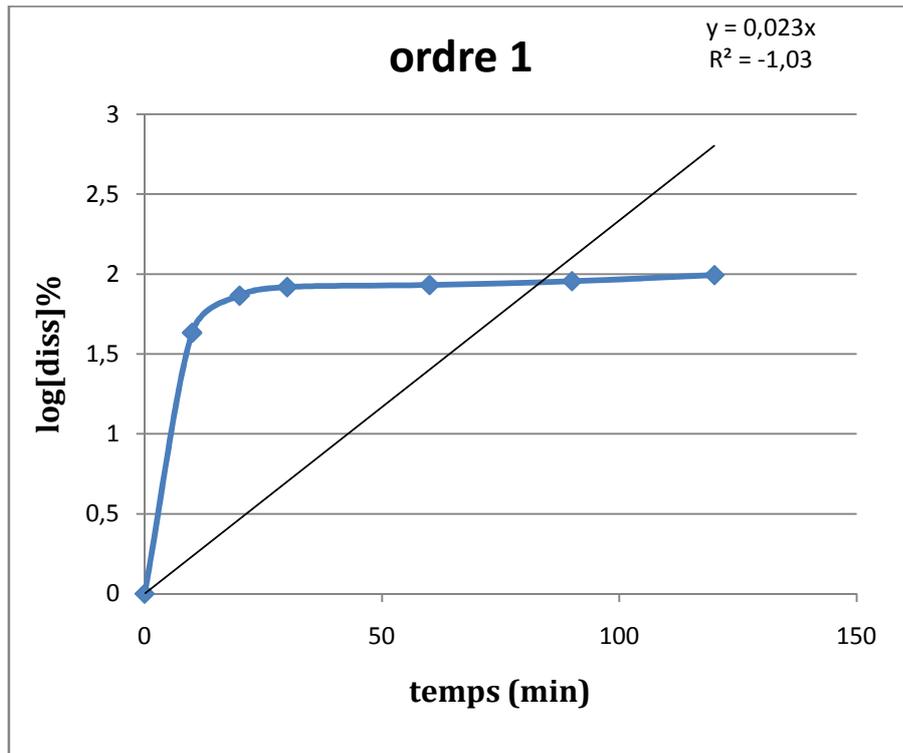
CHAPITRE V

RESULTATS ET DISCUSSIONS

ANNEXE 1

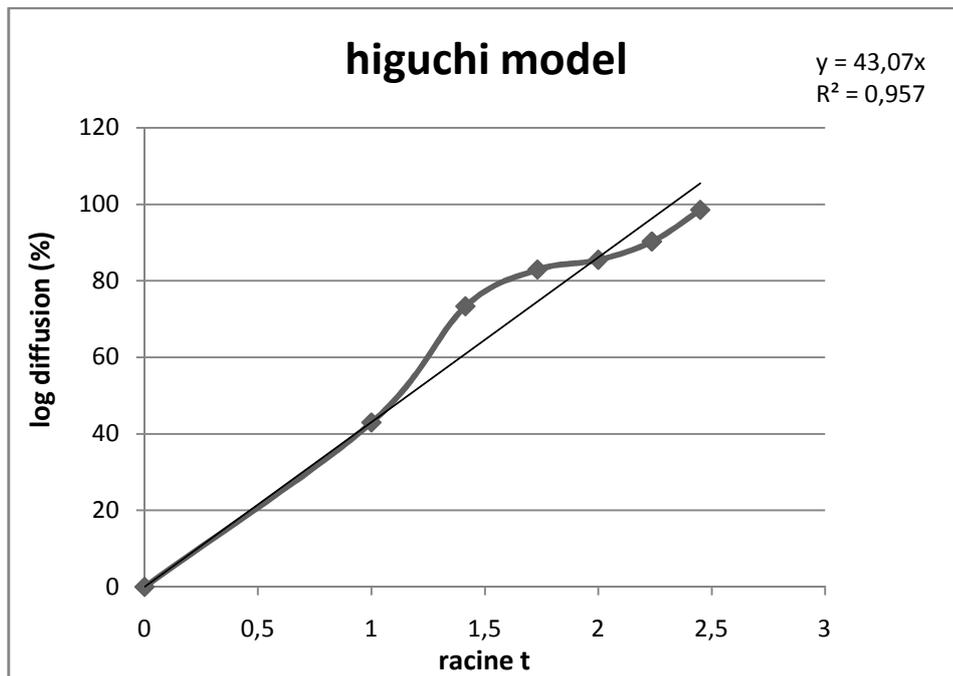
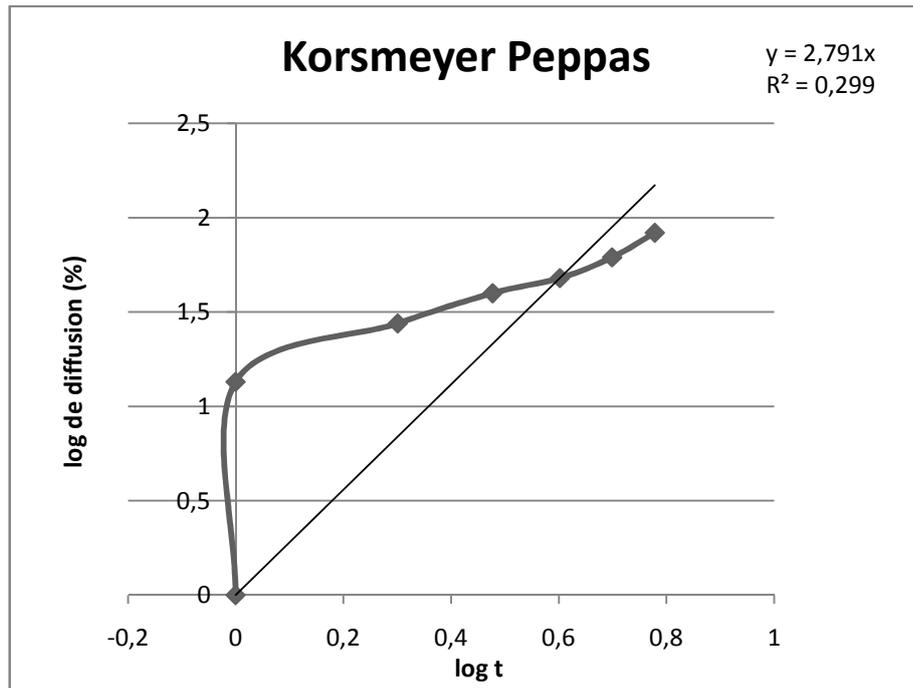
Modélisation de la cinétique de Dissolution

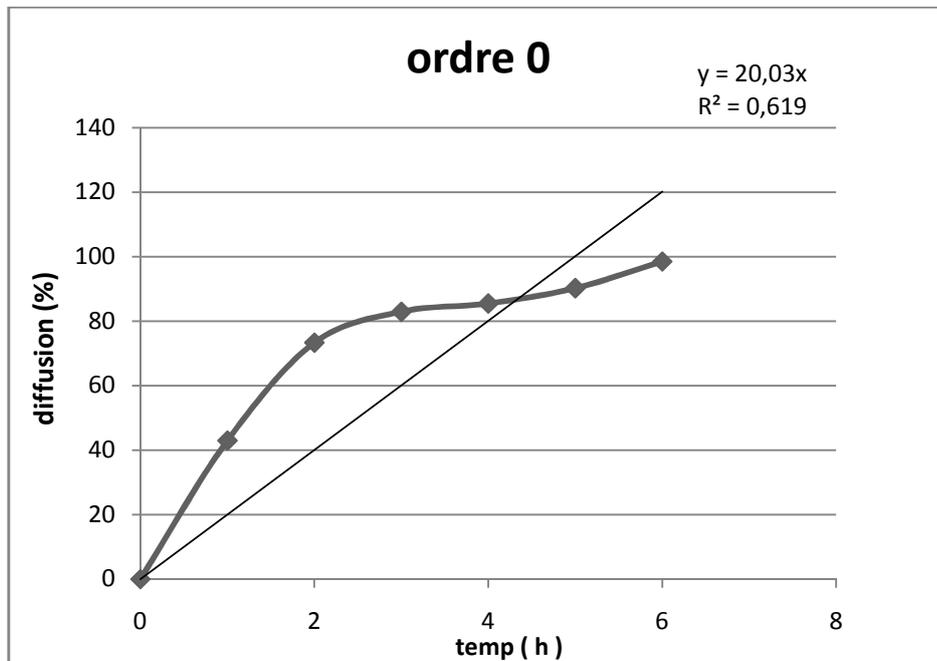
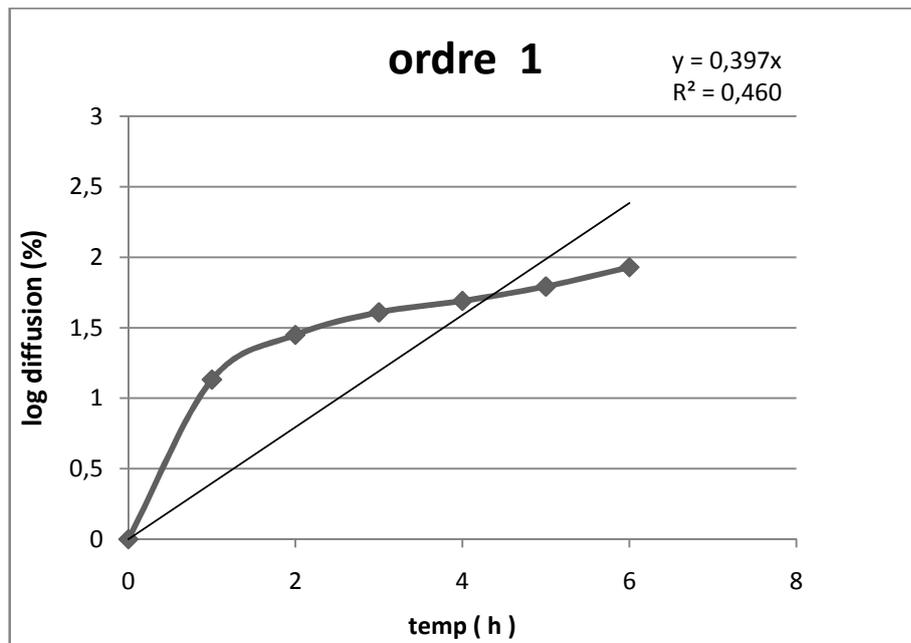




ANNEXE 2

Modélisation de la cinétique de Diffusion





INTRODUCTION GENERALE

L'innovation est au cœur du modèle économique de l'industrie pharmaceutique mais l'essoufflement de la recherche, la compétitivité et les contraintes sur les budgets de santé amènent cette industrie à faire évoluer son modèle économique par la mise en place de nouveaux concepts, molécules et formes galéniques.

La délivrance de molécules thérapeutiques vers un organe, un tissu ou une cellule malade constitue aujourd'hui un défi majeur pour le traitement des maladies humaines. L'usage des médicaments sous leurs formes habituelles (comprimés, gélules ...) a présenté une efficacité pendant longtemps mais il a aussi présenté des inconvénients tels que les effets indésirables, la dégradation et l'élimination rapides des médicaments à l'intérieur de l'organisme.

A l'heure actuelle ou de nouvelles prospections au niveau de l'organisme et la conception de nouveaux équipements d'analyses ont concouru à la recherche de nouvelles formulations, les micro et les nanoparticules permettant d'une part d'améliorer les conditions de conservation du PA et d'autre part d'avoir une concentration précise et utile de ce principe actif au sein de l'organisme et de cibler d'une manière très judicieuse les cellules visées.

La nanotechnologie est l'ingénierie de la production des matériaux à l'échelle atomique et moléculaire, c'est une technologie transformative ayant le potentiel de stimuler l'innovation scientifique par le développement des nouvelles modalités thérapeutiques plus efficaces et plus sûres. La nanotechnologie est souvent décrite comme potentiellement «révolutionnaire» en termes d'impact possible sur les méthodes de production industrielle. [1]. Par ailleurs, l'application de la nanotechnologie à la délivrance des principes actifs pourrait largement changer la physionomie de l'industrie pharmaceutique et biotechnologique dans un avenir proche. Dans les approches thérapeutiques modernes, les nanotechnologies sont un des facteurs clés de la vectorisation du médicament [2]. Le développement continu des nouveaux systèmes de libération est déterminé par le besoin d'optimiser l'activité thérapeutique et minimiser les effets secondaires des principes actifs[3].

Dans le domaine de la Santé, la conception et la préparation des nanogels ont suscité un vif intérêt en applications pharmaceutiques en raison de leur structure chimique et physique tridimensionnelle ajustable, de leurs bonnes propriétés mécaniques, de leur teneur en eau élevée et de leur biocompatibilité [4–8]. Les molécules thérapeutiques d'intérêt peuvent être incorporées dans ces nanogels pour modifier leurs propriétés physicochimiques et pharmacologiques.

Un principe actif insoluble en milieu aqueux peut être solubilisé par incorporation au sein d'un nanogel auquel on a ajouté des fonctions solubilisant le PA, cela va ainsi contribuer à améliorer la biodisponibilité et l'élimination du PA. [4] Comme dans notre cas l'ibuprofène [3].

L'ibuprofène est l'un des meilleurs principes actifs de la classe des anti-inflammatoires non stéroïdiens, bien adapté pour le traitement de la fièvre, la douleur, la migraine et le rhumatisme articulaire. En plus, l'ibuprofène est rapidement absorbé dans le corps et présente une demi-vie courte, ce qui nécessite des administrations répétées [10].

La forme galénique la plus utilisée pour la délivrance de l'ibuprofène est la voie orale, effectivement cette forme pharmaceutique met en valeur les propriétés pharmacologiques de cette molécule bioactive, mais le plus grand des inconvénients de cette forme reste le contact direct entre l'ibuprofène et la muqueuse gastrique. Comme pour tous les anti-inflammatoires, les troubles digestifs restent l'effet secondaire le plus important, pour remédier à ce problème, il est pratiquement inévitable de changer la voie d'administration.

A cet effet, nous avons proposé un système innovant permettant une délivrance transdermique ayant les mêmes ou de meilleures capacités que la voie orale.

La première étape de ce travail est la préparation des nanogels à base de gélatine et de xanthane aldéhyde ainsi que l'optimisation des paramètres de leur élaboration en utilisant un plan d'expériences.

La deuxième étape est la caractérisation structurale des nanogels par granulométrie laser, zétamétrie, spectroscopie FTIR, diffraction des rayons X, microscopie électronique à balayage et analyses thermogravimétriques.

La dernière étape est l'évaluation des caractéristiques pharmacologiques et l'efficacité thérapeutique de la formulation par l'étude de la cinétique de dissolution *in vitro*, étude de la diffusion transdermique *ex-vivo* et l'évaluation de l'activité anti-inflammatoire.

I.1. Introduction

La nanotechnologie est un grand concept qui a permis d'amener de nouveaux avantages pour des domaines de recherches et d'application, elle permet d'attirer des investissements croissants de gouvernements et d'entreprises de nombreuses régions du monde [11].

La nanotechnologie pharmaceutique permet de fournir des dispositifs et des matériaux présentant des nouvelles propriétés physiques, chimiques et biologiques en raison de leur taille nanométrique, offrant donc l'avantage de protéger les médicaments de la dégradation; soit de réduire le nombre de doses nécessaires et avoir un traitement efficace [12].

La scène industrielle des développements nanotechnologiques est très prometteuse. Elle devrait créer de nouveaux traitements, capable de changer le paysage pharmaceutique et biotechnologique.

Différentes plates-formes nanotechnologiques sont en étude, en développement ou au stade clinique, et de nombreux domaines d'intérêt où il y aura des thérapies ciblées efficacement et plus sûres pour une multitude d'applications cliniques qui sera évolué très bientôt au profit de l'humanité tout entière [13].

I.2. Historique et évolution de la nanotechnologie pharmaceutique

Les rêves humains et l'imagination donnent souvent naissance à des nouvelles sciences et technologies, en XXI^e siècle la nanotechnologie est née de tels rêves [14]. Le concept de «nanomètre» a été proposé pour la première fois par Richard Zsigmondy qui a explicitement inventé le terme nanomètre pour caractériser la taille des particules [15]. A la fin des années 60, l'équipe du professeur Peter Paul Speiser dans l'institut fédéral de la technologie à Zurich était la responsable du développement des premières nanocapsules contenant des particules virales. Dans les années 1977 et 1978, Richard Oppenheim et Jennifer Marty ont développé des nanoparticules à base d'albumine et gélatine. En 1979, le chercheur belge Patrick Couvreur a pu fabriquer les premières nanoparticules biodégradables.

En 1981 le chercheur américain Robert Gurny a synthétisé des nanoparticules polymériques parentérale et dans les années 90 des chercheurs en Russie ont prouvé que les nanoparticules polymériques enrobées en polysorbate 80 pouvaient traverser la barrière hémato-encéphalique et ceci était considéré comme un développement important dans le traitement de tumeurs cérébrales. Le premier médicament issu de la nanotechnologie était commercialisé en 2005 sous le nom de l'Abrexan (paclitaxel) [12].

I.3. Définitions de la nanotechnologie

La nanotechnologie est un mot qui se compose de deux termes nano et technologie. Le préfixe nano est dérivé du mot grec « nain » dans lequel le nanomètre (nm) est égal à un milliardième de mètre, soit 10^{-9} m [17]. Cette science englobe les applications des systèmes nanométriques en tant que nanomatériaux et en tant que dispositifs [18]. Ces nanosystèmes peuvent pénétrer dans les espaces cellulaires et tissulaires pour atteindre les organes ciblées tels que les poumons, le foie, la rate, l'os, le cerveau, la moelle épinière et la lymphe [19].

I.4. Intérêt de la nanotechnologie

Le design nanométrique permet d'améliorer, modifier ou changer les caractéristiques pharmacologiques et pharmacocinétique du médicament dans l'organisme [20-24].

Cela offre de nombreux avantages tels que :

- L'augmentation de la surface ;
- L'amélioration de la solubilité ;
- L'augmentation du taux de dissolution ;
- L'augmentation de la biodisponibilité ;
- La réduction du nombre de prise ;
- La protection du médicament contre la dégradation ;
- La rapidité de l'action thérapeutique ;
- La réalisation du ciblage des médicaments [16].

I.5. Classification des nanosystèmes

La nanotechnologie pharmaceutique peut être classée en deux catégories principales d'outils nanotechnologiques, à savoir les nanomatériaux et les nanodispositifs.

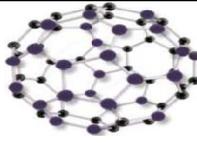
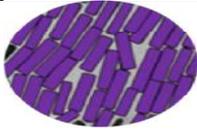
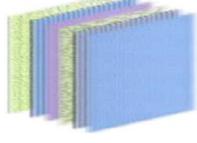
I.5.1. Les nanomatériaux

Ces nanomatériaux peuvent être catégorisés en fonction de trois paramètres de base qui sont la dimension, la structure et la composition de phase. [26]

I.5.1.1. selon la dimension

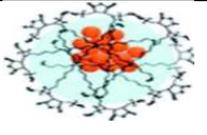
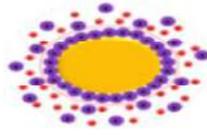
On trouve quatre différents groupes [27].

Le **tableau I.1** présente la classification des nanosystèmes pharmaceutiques d'une manière dimensionnelle.

Dimensions	Exemples	Structures	Applications
Zéro nano dimension [28]	Sphères, amas...		<ul style="list-style-type: none"> • Production de nanoparticules. • Fonctionnalisation de nanoparticules par structures dendritiques.
Une nano dimension [29-30]	Fibres, fils, tiges...		<ul style="list-style-type: none"> • augmenter la stabilité. • Utilisation dans les nanodimensions fibrilles et fabrication des nanocomposites polymériques.
Deux nano dimension [31]	Films, planches, réseaux...		<ul style="list-style-type: none"> • Utiliser en détection électronique et optoélectronique.
Trois nano dimension [32]	Tri et tétra gousses, peignes nanométriques...		<ul style="list-style-type: none"> • Utiliser dans la séparation, le transfert catalytique, biomédical et thermique

I.5.1.2. Selon la composition de phase.

Le tableau I.2 : présente le classement des nanomatériaux selon la composition de phase suivante

Composition	Exemples	Structures	Applications
Solides monophasiques [33]	Particules et couches amorphes.		<ul style="list-style-type: none"> • augmenter la solubilité du médicament. • Augmenter la durée de vie des drogues.
Solides multiphasiques [34]	Matrices composites.		<ul style="list-style-type: none"> • Livraison à long terme ou livraison répétée des médicaments comme la chimiothérapie et l'insuline.
Systèmes multiphasiques [35]	Colloïdes et fluides ferreux.		<ul style="list-style-type: none"> • Diagnostic et ciblage des médicaments. • Livrer des vaccins, des anatoxines, des anticancéreux, des gènes et des médicaments anti-VIH.

I.5.1.3. Selon la structure

Les nanostructures sont en outre un groupe qui englobe des nanomatériaux polymériques et non polymériques [36] comprenant plusieurs types de nanosystèmes qui sont détaillés ci-après.

I.5.1.3.1. Les dendrimères

Les dendrimères sont des molécules monodispersées qui se composent d'une série de coquilles chimiques à savoir un petit noyau à l'intérieur [37]. Ces nanostructures ont un potentiel immense en tant qu'agent améliorant la solubilité [38].

I.5.1.3.2. Les nanoparticules solides lipidiques

Ces nanosystèmes sont des particules de taille submicronique (50 à 1000 nm) constituées de lipides qui restent à l'état solide à température ambiante [39] et qui présentent de nombreux avantages, tels que la bonne biocompatibilité, une faible toxicité et une meilleure stabilité. [40]

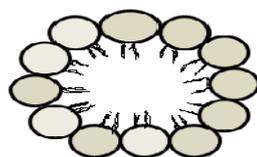


Fig. I.1 : Structure d'une nanoparticule solide lipidique.

I.5.1.3.3. Les nanoparticules polymériques

Ce sont principalement des systèmes vésiculaires ou sphériques dans lesquels les molécules de médicament sont physiquement et uniformément dispersées dans des systèmes à matrice polymérique [41]. Ce type de nanoparticules présente une longue durée de vie et une bonne stabilité au stockage. [42]

I.5.1.3.4. Les micelles polymériques

Les micelles polymériques sont des assemblages supramoléculaires de copolymères séquencés, présentant une structure de forme noyau-enveloppe. Les médicaments peuvent être répartis dans le noyau hydrophobe, tandis que la couche hydrophile externe forme une dispersion stable dans les milieux aqueux [43-44]. Ce nanosystème présente une bonne solubilité, une demi-vie prolongée et une accumulation sélective au site de la tumeur avec une faible toxicité [45].

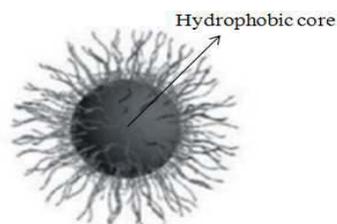


Fig. I.2 : Structure d'une micelle polymérique.

I.5.1.3.5. Les liposomes

Les liposomes sont des vésicules sphériques de type lipidique d'une structure bicouche lipidique ovale composée de phospholipides. Le liposome peut jouer un rôle dans la protection des médicaments encapsulés contre la dégradation enzymatique, l'augmentation de la solubilité des médicaments lipophiles et amphiphiles et l'amélioration de la pénétration du médicament [46].

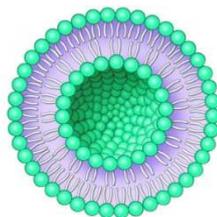


Fig. I.3 : Structure d'un liposome.

I.5.1.3.6. les nanoparticules de céramique

Ces nanoparticules sont généralement composées de matériaux céramiques. La taille ultra faible des nanoparticules de céramique (> 50 nm) peut les aider à échapper aux systèmes réticulo-endothéliaux du corps. De plus, il n'y a pas de problèmes de gonflement et de changements de porosité lors des variations de pH [47].

I.5.1.3.7. Les nanotubes de carbone

Les nanotubes de carbone sont constitués exclusivement d'atomes de carbone disposés en une série d'anneaux de benzène condensés et enroulés dans une architecture tubulaire. Ils possèdent une structure ordonnée avec un allongement élevé, un poids ultraléger, une résistance mécanique, une surface et une conductivité électrique et thermique élevées [48-51].



Fig. I.4 : Structure d'un nanotube de carbone

I.5.1.3.8. Les points quantiques

Les points quantiques peuvent être préparés à partir de matériaux semi-conducteurs par électrochimie ou par synthèse colloïdale [52].

I.5.1.3.9. les nanoparticules d'or

Les nanoparticules d'or ont un noyau d'or inerte et non toxique pour cela elles exploitent des propriétés physiques et chimiques uniques pour le transport et la libération des produits pharmaceutiques[53].

I.5.1.3.10. Les nanocapsules

Les nanocapsules sont des structures sphériques creuses entourées par une membrane polymérique [54]. Elles possèdent une faible densité et une capacité de charge élevée [55], elles permettent aussi de protéger les médicaments contre la dégradation, de réduire la toxicité, d'assurer la libération contrôlée et de masquer les goûts désagréables [56].

I.5.1.3.11. Les nanogels

Les nanogels sont des réseaux polymériques nanométriques tridimensionnels réticulés chimiquement ou physiquement avec une grande capacité de rétention d'eau. Les nanogels sont stables, mous et gonflés, ils ont de bonnes propriétés mécaniques et une biocompatibilité [57].

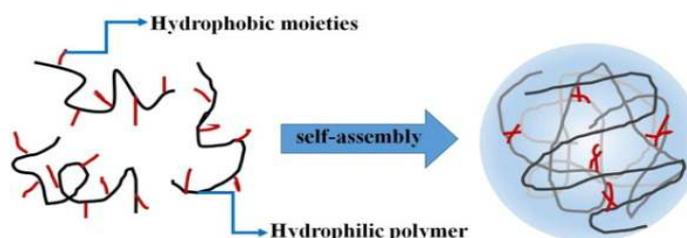


Fig.I.5 : Structure d'un nanogel

I.5.1.3.12. Les nanoémulsions

Les nanoémulsions sont biodégradables, biocompatibles et faciles à produire [58]. Elles sont utilisées comme supports pour les médicaments lipophiles, comme système pour l'administration à libération prolongée et sert aussi pour l'amélioration de l'absorption gastro-intestinale [59].

I.5.2. Les nanodispositifs

Ces dispositifs sont divisés en trois groupes, comprenant les systèmes micro électromécaniques / nano électromécaniques (MEMS / NEMS), le micro réseaux et les respirocytes [60].

I.6. Les méthodes d'élaboration des nanosystèmes

Dans un rapport de 2006, l'Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail classe les différents modes de synthèse des nanoparticules en fonction des procédés physiques et chimiques.

I.6.1. Méthodes physiques

I.6.1.1. Evaporation/condensation

Cette méthode consiste à évaporer un métal par chauffage puis à condenser la vapeur métallique afin d'obtenir des nanopoudres formées de particules nanométriques dispersées.

I.6.1.2. La pyrolyse laser

La pyrolyse laser est une méthode simple et efficace de synthèse de poudres nanométriques. Elle repose sur l'interaction entre un laser CO₂ et un flux de réactifs. Cette méthode permet de donner une grande pureté chimique, une bonne homogénéité physique et chimique, une vitesse de trempe rapide et une bonne souplesse d'utilisation.

I.6.1.3. Méthode aérosol

La synthèse des nanoparticules peut être obtenue par oxydation dans des flammes à très haute température ou plasma thermique à partir de précurseurs gazeux ou liquides amenés sous forme d'aérosol. La durée de réaction est très courte et permet l'obtention des particules pures avec un débit et un rendement intéressant.

I.6.2. Méthodes chimiques

I.6.2.1. Réactions en phase vapeur

Le procédé CVD (ChemicalVaporDeposition) permet l'élaboration de couches minces par réaction chimique entre un composé volatil du matériau à déposer et la surface du substrat à recouvrir.

I.6.2.2. Réactions en milieu liquide

Il s'agit de la mise en solution des réactifs afin de former des nanoparticules par modification des conditions physico-chimiques du milieu (pH, température, concentration...)

I.6.2.3. Méthode sol-gel

Le procédé sol-gel permet de fabriquer un polymère inorganique par des réactions chimiques simples, à une température comprise entre 20 et 150°C. La synthèse est effectuée à partir d'alcooates de formule $M(OR)_n$ où M est un métal et R un groupement organique alkyle C_nH_{2n+1} .

I.6.2.4. Production de liposomes

Il s'agit de l'hydratation d'un film lipidique obtenu par évaporation d'un solvant organique dans lequel les lipides sont dissous. L'hydratation de ce film conduit alors à la séparation des fragments des bicouches lipidiques.

I.6.2.5. Méthodes solvo-thermale et hydro-thermale

Ce procédé consiste à employer un solvant sous haute pression (entre 1 atm et 10 000 atm) et à une température comprise entre 100 et 1000°C au sein d'un autoclave. Cette méthode garantit un meilleur contrôle de la taille, de la forme et une meilleure qualité de fabrication des cristaux [61].

I.7. Les techniques de caractérisations des nanosystèmes pharmaceutiques

Les nanosystèmes pharmaceutiques doivent être étudiés selon une approche multidisciplinaire comprenant différentes étapes.

I.7.1. La caractérisation physico-chimique

I.7.1.1. Taille et morphologie

- **Microscope électronique à balayage** : le MEB permet de fournir des informations morphologiques et surfaciques d'une manière tridimensionnelles. L'échantillon est scanné avec un faisceau d'électrons et les caractéristiques de surface sont obtenues à partir des électrons secondaires émis par la surface de l'échantillon. [62].

- **Microscope électronique à transmission** : le MET donne une image en deux dimensions lorsqu'un faisceau d'électrons est transmis à travers un échantillon. Cependant, ce microscope est capable de générer des images avec une résolution supérieure à celle du MEB qui est comprise entre 5 à 10 nm [63].

- **Microscope à force atomique** : le AFM est configuré par une pointe effilée et montée sur un dispositif de balayage appelé scanner xyz, qui permet un

positionnement tridimensionnel dans les directions x, y et z avec une précision subatomique [64].

- **Chromatographie sur gel** : la chromatographie d'exclusion est un procédé de séparation des molécules en solution en fonction de la taille. La séparation se fait par des échanges répétés des molécules du soluté entre le solvant de la phase mobile et le même solvant immobilisé à l'intérieur du support (phase stationnaire)[65]. L'intérêt de cette analyse est centré sur l'application de la technique de mesure de la taille (rayon de Stokes) et du poids moléculaire. [66].

- **Diffusion dynamique de la lumière** : La DLS est une technique non invasive bien établie pour mesurer la distribution en taille des nanoparticules. Elle s'appuie sur l'effet de décalage, lorsque la lumière monochromatique (laser) frappe des particules en mouvement brownien dans une suspension colloïdale. L'intégration d'une unité de potentiel Zêta à l'équipement DLS permet d'étudier simultanément la charge de surface [67].

- **Diffraction des rayons X** : La DRX est couramment utilisée dans les études structurales pour déterminer la disposition atomique dans les échantillons et pour identifier les substances inconnues [68].

I.7.1.2. Spectroscopie

- **UV-vis** : les spectrophotomètres utilisés pour l'étude des régions ultraviolettes et visibles sont constitués d'un système optique susceptible de fournir un rayonnement monochromatique dans la région 200-800 nm, et d'un dispositif approprié à la mesure de l'absorbance

- **IR** : les spectrophotomètres infrarouges sont adaptés aux mesures de spectres dans la région de $4000-650\text{ cm}^{-1}$ (2,5-15,4 μm) ou éventuellement jusqu'à 200 cm^{-1} (50 μm).

- **RMN** : la spectrométrie de résonance magnétique nucléaire repose sur la propriété qu'ont des noyaux tels ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P de posséder un moment magnétique nucléaire permanent placés dans un champ magnétique extérieur (champ directeur), ils prennent par rapport à celui-ci certaines orientations bien définies auxquelles correspondent des niveaux d'énergie distincts.

- **Spectroscopie de masse** : La spectrométrie de masse est fondée sur la mesure directe du rapport de la masse au nombre de charges élémentaires. Elle

s'exprime en unités de masse atomique. Les informations obtenues par cette méthode peuvent être qualitatives ou quantitatives [69].

I.7.1.3. Analyse thermique

- **Analyse thermogravimétrique** : la quantification par ATG est basée sur une mesure simple du pourcentage de poids perdu à cause de la volatilisation du médicament, dans laquelle les échantillons sont chauffés dans la plage allant de 40 à 700 ° C à une vitesse constante.

- **Analyse thermique différentielle** : La ATD permet de déterminer les caractéristiques de la température et de donner une indication qualitative de la chaleur due à la réaction [70].

I.7.2. Caractérisation pharmaceutique

I.7.2.1. Efficacité de l'incorporation/taux d'encapsulation

Le contenu incorporé dans le médicament peut être déterminé en mesurant la masse de l'échantillon avant et après le gonflement dans des solutions de médicament [71].

L'efficacité de l'incorporation du médicament a été calculée par l'équation suivante :

$$\eta \% = \frac{L_g}{L_u} \times 100$$

Où **Lu** est la masse initiale du médicament et **Lg** est la masse du médicament incorporé [73].

I.7.2.2. Stérilité et pouvoir pyrogène

La FDA (Food and Drug Administration) recommande actuellement deux types d'essais de pyrogènes: un essai basé sur le lysat d'Amebocyte de lumulus (LAL) [74], sensible aux endotoxines et en picogrammes, et le test de pyrogène de lapin [75].

I.7.2.3. Cinétique de diffusion in vitro

L'étude in-vitro permet de donner la possibilité de contrôler tous les paramètres influençant la pénétration des molécules à savoir la température, la concentration, la formulation, le pH... Elle permet ainsi d'établir différents profils de perméation suivant les différents paramètres établis. Une fois cette première phase est validée, une

expérimentation in-vivo sur animal est à envisager avant les premiers essais sur l'homme [76,77].

I.7.2.4. Cinétique de diffusion Ex-vivo

La libération du médicament à partir des produits transdermiques est souvent évaluée in vitro avec des cellules de diffusion. La figure I.6 montre un schéma de la cellule de Franz consistant en une chambre de récepteur de 100-10 ml de volume et une chambre de donneur qui sont séparées par une membrane ressemblant à la peau. En tant que modèle représentatif, la chambre du récepteur est remplie d'une solution tampon au phosphate 0,1M à pH 7,4 et la température du dispositif est maintenue à $32 \pm 0,5$ ° C. La solution dans la chambre du récepteur est agitée à l'aide d'un agitateur magnétique avec un barreau magnétique tournant à taux constant de 60 tpm. L'échantillon est distribué de manière homogène sur la membrane ressemblant à la peau. Le processus de libération est démarré par l'addition d'un volume donné de solution tampon à la chambre du donneur. Par la suite, des prélèvements sont retirés à des moments présélectionnés pour suivre le processus. Ces solutions sont analysées par spectroscopie ou par chromatographie pour quantifier le contenu en médicament [78]. La diffusion à travers la membrane est progressive et les processus peuvent durer plusieurs jours, ce qui est très intéressant du point de vue pharmaceutique.

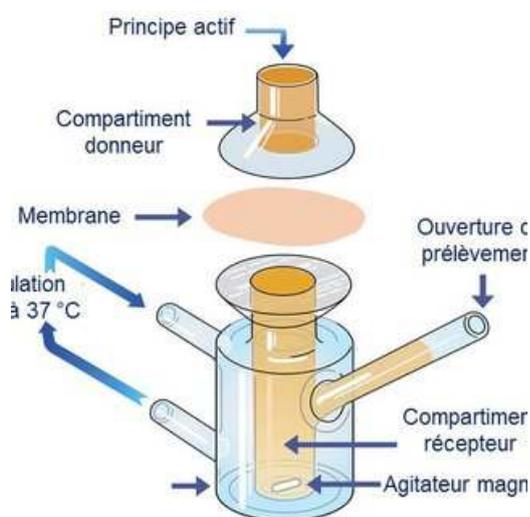


Fig. I.6 : Schéma d'une cellule de Franz

I.8. Application des nanosystèmes pharmaceutiques

Les nanosystèmes pharmaceutiques sont utilisées pour plusieurs applications thérapeutiques telles que :

- Traitement oculaires : utilisation des nanoparticules polymériques qui présentent une stabilité accrue et une demi-vie d'élimination plus longue dans le liquide lacrymal (jusqu'à 20 min) par rapport aux médicaments classiques [79].
- Traitement pulmonaire : par inhalation d'aérosols [80-82].
- Traitement du système nerveux centraux : utilisation des liposomes qui peuvent traverser la barrière hémato-encéphalique[83].
- Traitement du cancer : utilisation des nanosystèmes, des nanovaccins, des nano sphères magnétiques et des dendrimères ...etc.
- Traitement de la thrombose vasculaire : utilisation des nanoparticules thrombotiques qui permet de briser la fibrine et de disperser le caillot. [84]
- Application pour la thérapie génique : les formulations nanoparticulaires telles que les micelles permettent une libération continue et contrôlée avec un effet minimal d'éclatement [85].

II.1. Introduction

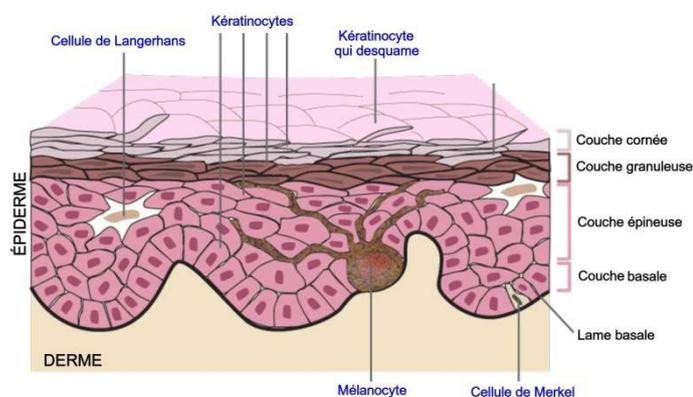
Avec l'avènement de la nanotechnologie, l'administration transdermique des médicaments est devenue de plus en plus une voie très avantageuse par rapport aux autres voies d'administration traditionnelles [86]. En raison de sa nature non invasive, cette voie permet au patient de mieux suivre son traitement et de s'auto-administrer les différents médicaments [87].

L'apparition de ces systèmes thérapeutiques transdermiques a largement contribué au développement de l'administration par voie transcutanée. La couche cornée de la peau humaine, forme une barrière forte pour les substances exogènes dans laquelle plusieurs approches ont été adoptées pour la vaincre.

La recherche s'oriente aussi vers l'application de techniques de diffusion «active» faisant appel à une stimulation énergétique comme l'iontophorèse ou l'électroporation pour augmenter le passage des principes actifs peu ou pas du tout absorbés à travers la peau [88].

II.2. Structure de la peau

La peau est l'organe du corps le plus accessible et le plus vaste, avec une surface de $1,7 \text{ m}^2$, 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 l'élasticité à la peau et l'hypoderme qui est la couche la plus profonde et qui garantit la protection contre les chocs physiques, l'isolation thermique [89,90,91].

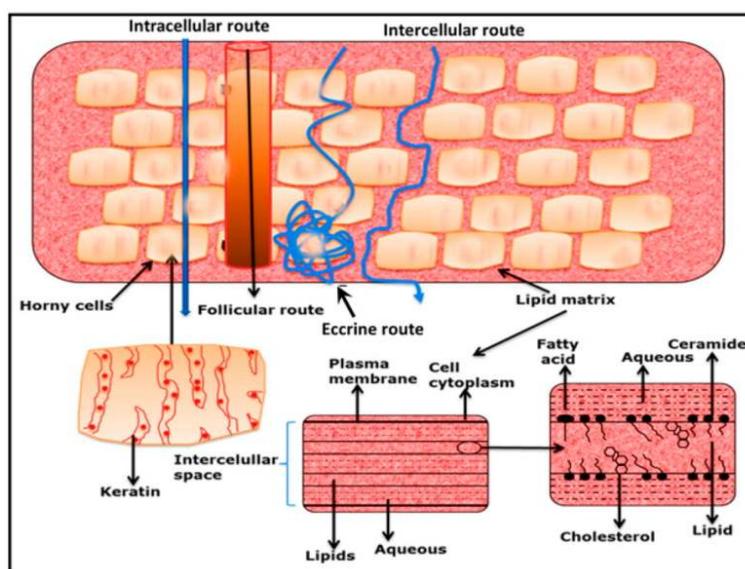


FigII.1. Anatomie de la peau

II.3. Voies de pénétration du médicament à 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 [92].
- La voie transappendégée : elle implique le passage des molécules à travers les glandes sudoripares et à travers les follicules pileux [93 , 94].



FigII.2 : Voies possibles pour la pénétration du médicament à travers la peau.

II.4. Diffusion à travers la peau

La diffusion est un processus cinétique passif qui détermine le mouvement de molécules sous l'effet d'un gradient de concentration ; d'une région de concentration élevée vers une région moins concentrée. La diffusion en régime permanent est décrite par la première loi de Fick :

$$J = -AD \left(\frac{dC}{dx} \right)$$

Cette équation décrit le taux de transfert (le flux J) d'une substance par unité de surface A de la membrane, qui est proportionnel au coefficient de diffusion du milieu et au gradient de concentration mesurée à travers une membrane ($\frac{dC}{dx}$).

A ce stade, il est important de rappeler l'équation de la vitesse de Stokes-Einstein.

$$D = \frac{RT}{6\pi\eta N_0 y}$$

J : Flux de diffusion

D: Coefficient de diffusion des médicaments

dC/dX : Gradient de concentration sur distance x

R : Constante de gaz

T : Température

N₀: Nombre d'Avogadro

η: Viscosité de la solution [95]

II.5. Définition de la délivrance transdermique du médicament

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 [96].

II.6. L'intérêt de la délivrance 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 [97]:

- Evitement 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 ou Inconscience) ; [98]
- 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 [99,100].

II.7. Facteurs influant sur l'administration transdermique de médicaments

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 influencé par plusieurs facteurs tels que :

II.7.1. Propriétés physicochimiques de la fraction active

II.7.1.1. 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.

II.7.1.2. 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 $< 400\text{nm}$.

II.7.1.3 Solubilité et point de fusion

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

II.7.1.4 Ionisation

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

II.7.1.5 Coefficient de diffusion

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

II.7.2 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 pénétrera pas dans la peau pour un usage thérapeutique dans laquelle certains activateurs sont utilisés pour une action synergique sans montrer leurs propriétés.

II.7.3. Propriétés physiologiques

- a. Propriétés de la barrière cutanée chez le nouveau-né et le jeune nourrisson qui est hydrophobe, sec, rugueux et qui se stabilise à l'âge de 3 mois.
- b. Propriétés de la peau chez les âgée 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.
- c. Les différences raciales entre les peaux noires et blanches.
- d. Température de la peau [101].

II.8.Caractérisation du système de délivrance transdermique

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

II.8.1. 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.

II.8.2. Mesures micrométriques

II.8.2.1. Analyse de la taille des particules, de la forme et du potentiel zêta

La taille et la forme de la formulation peut également être déterminée en utilisant une diffusion de lumière dynamique et cela peut être utile pour évaluer les propriétés de la délivrance transdermique [102].

II.8.2.2 Aire de surface spécifique

Les méthodes de mesure de la surface spécifique ont été développées pour sonder les surfaces convolutées par adsorption par un gaz ou un liquide [103-105].

II.8.3. Visualisation en microscopie électronique à transmission

Une combinaison de microscopie électronique à transmission (MET) et de fracturation par congélation, également appelée microscopie électronique à fracture congelée (FFEM), pourrait être utilisée pour visualiser les structures cutanées et certaines perturbations de la peau [106].

II.8.4. Stabilité

La température de la formulation et les conditions de stockage ont 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 [107,108].

II.8.5. Chromatographie liquide à haute pression (HPLC)

Il est utilisé pour surveiller la stabilité de la substance médicamenteuse pure et des médicaments en formulation avec une quantification du produit de dégradation.

II.8.6. Chromatographie en phase liquide – spectrométrie de masse (LC / MS)

La spectrométrie de masse associée à la chromatographie en phase liquide fournit une méthode de caractérisation des impuretés dans les médicaments et les excipients de formulation [109]. Il fournit des méthodes très sensibles et spécifiques pour la détermination des médicaments et de leurs métabolites dans les liquides et tissus biologiques.

II.8.7. Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

FTIR est utilisé 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.

II.8.8. FTIR à réflectance totale atténuée (ATR-FTIR)

Avec cette technique, il est possible d'effectuer des mesures in vivo sur la couche cornée, car la peau peut être placée sur le cristal d'ATR [110-112], comme il est possible de l'utiliser pour déterminer les effets des substances appliquées localement sur la matrice lipidique dans la couche cornée.

II.8.9. Analyse calorimétrique différentielle (DSC)

Cette technologie est utilisée pour évaluer le degré de perturbation des lipides cutanés à la suite de la pénétration d'une formulation ou d'un médicament à travers la peau.

II.8.10. Diffraction des rayons X aux petits angles (SAXD)

Cette technique est utilisée pour analyser l'ordre à long terme de la structure cristalline des lipides. Des analyses structurales des lipides intercellulaires dans la couche cornée de mammifères par diffraction des rayons X ont montré des modèles de structure lipidique plus détaillés [113].

II.8.11. Le test d'irritation cutanée

Il s'agit d'un test requis pour les yeux et la peau à afin de vérifier le degré d'irritation [114].

II.8.12. L'occlusivité

Il est nécessaire de déterminer l'occlusivité d'une formulation de nanoparticules pour application topique, car elle affecte directement la libération et la pénétration du produit encapsulé. Dans des conditions occlusives, la peau est plus hydratée et le transport du médicament pourrait être plus rapide [115].

II.8.13. Tartinabilité

Pour évaluer la capacité d'étalement d'une préparation semi-solide topique ou muqueuse, il convient de prendre en compte la dureté ou la fermeté de la formulation, le taux et le temps de cisaillement produits lors du maculage et la température du site

cible. [116]. La vitesse d'étalement dépend également de la viscosité de la formulation, de la vitesse d'évaporation du solvant et de la vitesse d'augmentation de la viscosité avec la concentration résultant de l'évaporation [117].

II.8.14. 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 externes [118].

II.9. Les nanosystèmes pharmaceutiques pour la délivrance transdermique

Les systèmes nanoparticulaires peuvent être administrés dans presque tous les types de voies [119,120], y compris la voie transdermique, offrant donc plusieurs avantages par rapport aux autres systèmes d'administration, mais avec ses propres limites [121,122].

Les principaux nanosystèmes abordés lors de la recherche d'une administration transdermique de médicament sont nombreux tels que : les liposomes, les transféromes, les éthosomes, les niosomes, les dendrimères, les nanoparticules et les nanoémulsions. Tous les types cités sont détaillés dans le tableau II.1 ci-après.

Tableau II.1 : Différent nanosystèmes pharmaceutique pour la délivrance transdermique

Nanosystèmes	Applications
Les liposomes	Les liposomes ont été utilisés avec succès pour transporter des médicaments à travers la peau [123] et pour encapsuler les médicaments lipophiles et hydrophiles. En outre, ils sont utilisés pour de nombreuses applications antifongiques et anticancéreuses [124].
Les transféromes	Les liposomes déformables sont capables d'améliorer l'administration cutanée in vitro de divers médicaments [125-127] et de pénétrer in vivo sur une peau intacte [128-130].
Les éthosomes	L'idée de fabriquer un autre type de liposome flexible a été l'objectif de beaucoup de scientifiques. Les éthosomes, qui contiennent de l'alcool dans la bicouche lipidique, les rendent plus flexibles [131]. Ils permettent de libérer des molécules lipophiles et d'atteindre les couches les plus profondes de la peau [132,133].

Les niosomes	Les niosomes ont un bon potentiel de ciblage cutané et un temps de résidence plus élevé. Elles sont créées pour rendre les liposomes moins rigides et laisser ces systèmes bicouches aller là où les liposomes ne peuvent pas aller [114].
Les dendrimères	Les dendrimères constituent une très bonne alternative aux systèmes transdermiques à cause de la structure de ces molécules qui donnent des formes, des tailles et des poids moléculaires relativement uniformes[134]. Ils agissent également comme des agents augmentant la solubilité, augmentant la pénétration des médicaments lipophiles et pour évaluer la biocompatibilité et la toxicité [135].
Les nanosystèmes nanoparticulaires	Ces nanoparticules Solides lipidiques et les transporteurs lipidiques nanostructurés sont très bonnes pour une administration transdermique, car elles peuvent être fabriquées sur mesure en différentes tailles dans laquelle il est possible de modifier leur polarité de surface d'atteindre les régions cutanées les plus profondes [136].
Les nanoémulsions	En général, l'utilisation de ses nanoparticules pour l'administration transdermique est due en raison de la réduction de l'énergie de surface, la composition de leur molécules attachées. Elles sont non toxiques et non irritants et peuvent être appliquées facilement sur la peau [137 - 139].

II.10. Technique de diffusion transdermique

II.10.1. Les patchs transdermiques

Un patch transdermique ou un patch cutané est un patch adhésif médicamenteux qui est placé sur la peau pour délivrer une dose spécifique de médicament pour un effet local ou systémique.

Les composants de base d'un patch transdermique sont :

- **Matrice polymérique** : elle est fabriquée sous forme de stratifiés dans lesquels un réservoir de médicament ou une matrice médicament-polymère est pris en sandwich entre deux couches de polymères.

- **Drogue** : Le critère le plus important pour les timbres transdermiques est que le médicament doit posséder les propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques appropriées.

- **Activateurs de perméation**

L'augmentation de la perméabilité de la couche cornée est obtenue par l'introduction des activateurs de pénétration de médicament qui interagissent avec les composants structurels de la couche cornée.

- **Adhésif sensible à la pression** :

Il garantit le maintien d'un contact intime entre le patch et la surface de la peau.

- **Stratifié de support** : la fonction principale du stratifié est de fournir un support qui doit être résistant aux produits chimiques et compatible avec les excipients.

- **Doublure** : la doublure antiadhésive est composée d'une couche de base qui peut être non occlusive et une couche de revêtement antiadhésif composée de silicium ou de téflon. Le revêtement antiadhésif empêche la perte du médicament.

- **Autres excipients** : divers solvants sont utilisés pour préparer le réservoir de médicament. De plus, des plastifiants sont ajoutés pour conférer une plasticité au timbre transdermique.

II.10.2. Types de patchs transdermiques

II.10.2.1. Adhésif à couche unique

La couche adhésive de ce système contient également le médicament. Dans ce type de patch, la couche adhésive sert non seulement à coller mais est également responsable de la libération du médicament. La couche adhésive est entourée d'une doublure temporaire et d'un support.

II.10.2.2. Drogue multicouche dans l'adhésif

Le système multicouche est différent, toutefois, il ajoute une autre couche de médicament dans l'adhésif, généralement séparée par une membrane (mais pas dans tous les cas). Ce patch a également une couche de doublure temporaire et un support permanent.

II.10.2.3. Réservoir

Le système transdermique à réservoir comporte une couche de médicament séparée. La couche de médicament est un compartiment liquide contenant une solution ou une suspension de médicament séparée par la couche adhésive. Ce patch est également soutenu par la couche de support. Dans ce type de système, le taux de libération est nul.

II.10.2.4. Matrice

Ce système matriciel comprend une couche de médicament composée d'une matrice semi-solide contenant une solution ou une suspension de médicament. La couche adhésive dans ce patch entoure la couche de médicament la recouvrant partiellement.

II.10.2.5. Patch Vapeur

Dans ce type de patch, la couche adhésive sert non seulement à faire adhérer les différentes couches, mais également à libérer de la vapeur. Les patches de vapeurs libèrent des huiles essentielles et sont principalement utilisés en cas de décongestion [140].

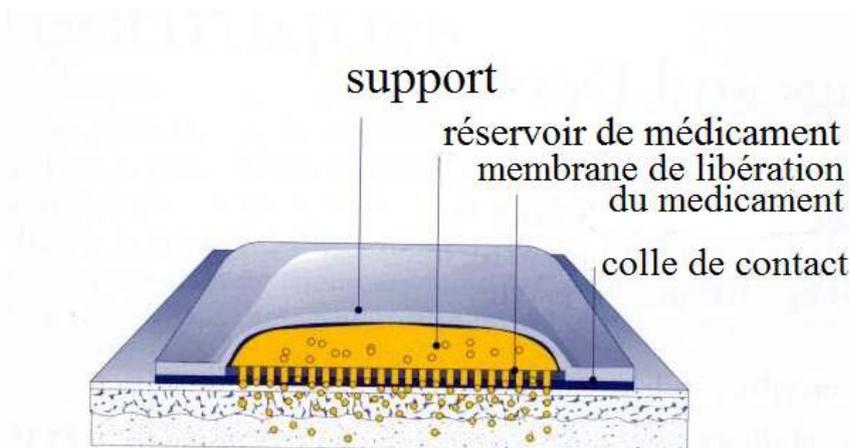


Figure II.3 : Patch transdermique

II.11. Les techniques avancées pour l'amélioration de la livraison transdermique

Ces techniques sont basées sur l'utilisation d'une source d'énergie extérieure pour contourner la barrière cutanée.

II.11.1. Electroporation

L'électroporation « EP » est une approche pour la délivrance cellulaire [141]. Elle est réalisée soit par la compression mécanique des membranes cellulaires sous l'effet d'un champ électrique, soit par la théorie qui permet de créer des pores aqueux dans la bicouche de lipides et dans le cytoplasme [142-143].

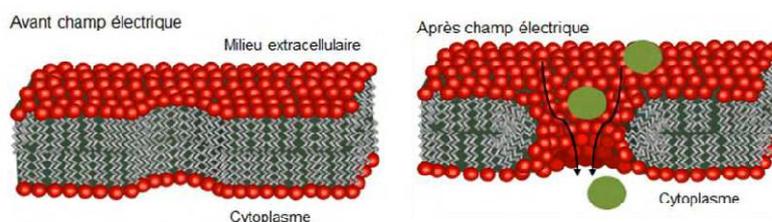


Figure II.4 : Changement dans la structure de la bicouche de phospholipide et de la membrane cellulaire avant et après application d'un champ électrique pulse [144]

II.11.2. Les microaiguilles

Généralement, les microaiguilles peuvent être classées en 4 catégories :

- Solides (Poke and Patch) : Utilisées comme un prétraitement de la peau. Après avoir inséré et enlevé les microaiguilles.
- Enrobées de médicament : ce sont des microaiguilles enrobées permet une diffusion instantanée après un contact de peau.

- Solubles : sont fabriquées de polymères biodégradables. Ce polymère encapsule le principe actif qui est dissout dans le corps en même temps que les microaiguilles.
- Creuses : Ce mécanisme fournit un conduit direct pour faire passer les médicaments sous la peau [145].

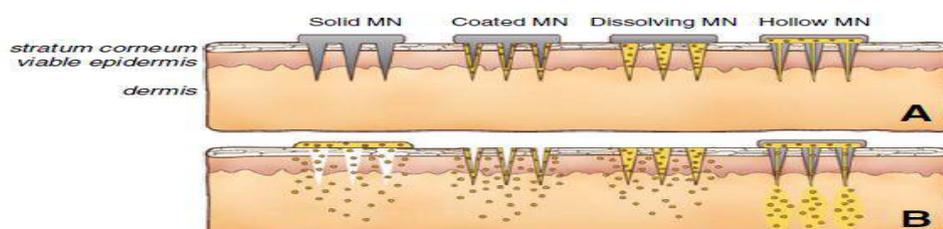


Figure II.5 : Les différents types de microaiguilles [145]

II.11.3. Sonophorèse

La sonophorèse utilise les ultrasons pour améliorer le transport topique ou transdermique des médicaments en changeant la structure de la peau ou en favorisant un flux convectif à travers la peau.

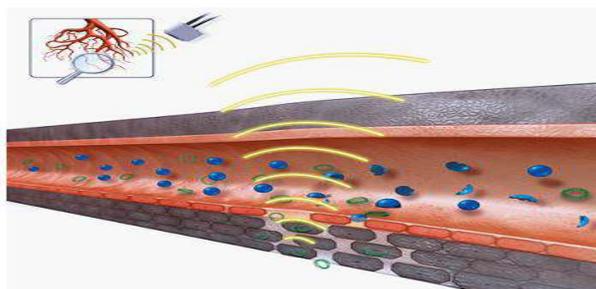


Figure II.6 : La méthode sonophorèse [146]

II.11.4. Ionophorèse

L'ionophorèse est un procédé électrique non-invasif qui facilite le mouvement des ions et molécules à travers une membrane sous l'effet d'un faible courant électrique constant et acceptable physiologiquement.

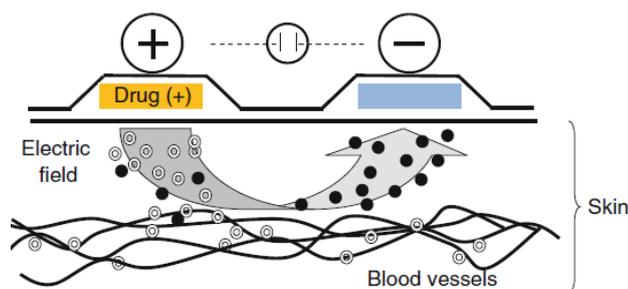


Figure II.7 : La technique ionophorèse [147]

III.1 Introduction

L'administration des médicaments à travers la peau est un concept prometteur depuis longtemps, vu la facilité d'accès, la grande surface de la peau et la grande exposition aux réseaux circulatoires et lymphatiques, ainsi que son parcours est non invasif [148].

L'administration transdermique revêt une grande importance pour les médicaments susceptibles de provoquer des effets indésirables systémiques, tels que les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) [149].

Ce chapitre présente un bref aperçu sur cette molécule active, sur l'état actuel des formes posologiques, sur sa toxicité remarquable et sur les différentes applications thérapeutiques.

Enfin une tentative a été faite pour mettre l'accent sur l'administration de ce médicament par voie transdermique, qui surmonte les limitations des voies d'administration actuellement disponibles pour obtenir une meilleure action thérapeutique à très faible dose.

III.2. Définition de l'ibuprofène

L'ibuprofène est un médicament appartenant à la série des acides phénylcanoïques substitués [150]; [151 schéma III. C'est un anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) chiral, analgésique et antipyrétique [150].

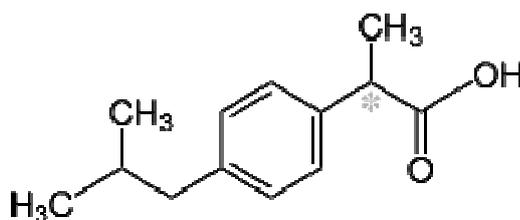


Fig III.1. Structure chimique de l'ibuprofène

Il est aussi appelé l'acide alpha-méthyl-4-(2-méthylpropyl) benzèneéthanoïque

III.3. Propriétés physiques et chimiques de l'ibuprofène

L'ibuprofène est disponible sous forme d'une poudre blanche cristallisée. C'est un solide faiblement cireux avec une faible odeur et un goût fort et caractéristique [152]. C'est un acide faible, utilisable sous forme de sel. L'ibuprofène est relativement insoluble dans l'eau mais il est soluble dans la plupart des solvants organiques [153]. Le tableau suivant rapporte la solubilité de l'ibuprofène dans quelques solvants organiques.

Tableau III.1 : Solubilité de l'ibuprofène dans quelques solvants organiques [152].

Solvant	Solubilité de l'ibuprofène à température ambiante (%)
Acétone	>10
Ethanol	>10
Octanol	33.0
Hexane	3,3
Eau distillée	<0,1

L'ibuprofène est une poudre essentiellement non-hygroscopique, car des expériences de stockage de celle-ci dans des endroits de différents pourcentages d'humidité (0, 31, 58, 86, 94 et 100 %) pendant 3 mois ont montré que la masse de l'IB reste constante [152].

III.4. Mécanisme d'action de l'ibuprofène

Le mécanisme d'action de l'ibuprofène dans différents buts thérapeutiques est bien établi. Il se présente comme un inhibiteur réversible et non sélectif des isoenzymes de la cyclooxygénase (COX-1) et de la COX-2, responsables de la conversion de l'acide arachidonique en prostaglandines, notamment le thromboxane et la prostacycline. Les prostaglandines jouent un rôle clé dans la pyrexie, l'inflammation et la sensation de douleur. Les effets analgésiques et antipyrétiques de l'ibuprofène sont attribués à l'inhibition des prostaglandines PGE2 et PGI2 [154].

III.5. Voies d'administration d'ibuprofène et leur pharmacocinétique

III.5.1. La voie orale

L'ibuprofène est le plus souvent administré par voie orale sous différentes formes: comprimés classiques et à croquer, suspensions orales ou capsules. Bien que sa solubilité reste un problème, puisque il s'agit d'un acide carboxylique dans un milieu acide aqueux [155].

III.5.2. La voie cutanée et transdermique

L'administration des médicaments par voie cutanée est une approche appropriée pour limiter l'effet thérapeutique au site affecté tout en limitant l'absorption systémique. Inversement, l'administration transdermique des médicaments est un moyen

d'administration systémique des médicaments favorable en raison de sa capacité à éviter le métabolisme de premier passage [156].

III.5.3. La voie intraveineuse (IV)

Les préparations injectables d'ibuprofène sont des solutions disponibles dans le commerce sous forme de préparations non dosées. Ces formulations intraveineuses conviennent à une analgésie rapide; cependant, il est difficile à les formuler sous forme de liquide injectable en raison de la faible solubilité dans l'eau [157] et de la lipophilie du médicament. Par conséquent, il existe un risque de cristallisation après l'administration, pouvant conduire à la formation d'agrégats qui peut générer un embolie dans les vaisseaux sanguins [158].

III.5.4. La par voie pulmonaire

La délivrance par la voie pulmonaire permet d'éviter les pertes dans le tractus gastro-intestinal et la destruction métabolique dans le foie. Elle est devenue une voie prometteuse pour la délivrance systémique de médicaments. En outre, cette voie offre une facilité d'administration des médicaments peu soluble comme l'ibuprofène [159] avec une administration pratique et non invasive [160].

III.6. Toxicité des nanomédicaments d'ibuprofène

Actuellement, la toxicité des nanomédicaments est une préoccupation constante. Des nanoparticules d'ibuprofène ont été étudiées et très peu d'études ont été consacrées aux effets toxiques possibles dans différents modèles d'animaux [161]. Des préparations développées d'ibuprofène pour administration orale, transdermique ou IV ont présenté des réactions hémocompatibles (sans interaction avec le facteur de coagulation), non immunogènes et non toxiques [162].

III.7. Applications thérapeutiques

L'ibuprofène s'est révélé efficace dans de nombreuses affections cliniques telles que la dysménorrhée [163], les douleurs dentaires [164], les maux de tête et la migraine [165], les douleurs des tissus mous [166] et la fièvre [167]. Il a également montré un effet prometteur dans le cadre du schéma thérapeutique chez les enfants atteints de fibrose kystique [168].

IV.1. Matériels

Tétraborate de sodium (BIOCHEM, Canada), Gomme Xanthane a été offerte par le groupe pharmaceutique (SAIDAL, Algérie), Ibuprofène a été offert par le groupe pharmaceutique (ELKINDI, Algérie), Span 80 (SIGMA ALDRICHE, France), le Périodate de Sodium, la Gélatine, l'Hexane, l'Ethanol, le Hydroxyde de Sodium, le chlorhydrate Hydroxylamine et le Méthyle Orange. (BIOCHEM, France)

La gélatine : c'est une substance solide translucide, transparente ou légèrement jaune, constitue d'un mélange de protéines obtenue par hydrolyse partiel du collagène extrait de la peau.

La gomme xanthane : c'est un polysaccharide ramifié. Il est constitué d'une combinaison de quatre composés : le glucose, le mannose, l'acide glucuronique et l'acide pyruvique.

IV.2. Préparation du xanthane aldéhyde

Le xanthane aldéhyde a été préparé par une réaction d'oxydation en utilisant le Périodate de sodium. 10 g de xanthane ont été dispersés dans 50 ml d'éthanol, en suite 50 ml d'eau distillée contenant 3g de Périodate de Sodium ont été ajouté à la suspension. Le mélange a été maintenu sous agitation pendant 6h à 25 ° C dans le noir.

La xanthane aldéhyde obtenue a été filtré et lavée trois fois pour éliminer l'excès du Périodate de Sodium, en suite il a été séché à l'étuve à 40°C pendant 24h et broyé en fines particules dans un mortier.

IV.3. Caractérisation du xanthane aldéhyde

IV.3.1. Spectroscopie infrarouge (FTIR)

Le xanthane et le xanthane aldéhyde ont été analysés par FTIR afin d'identifier les groupements fonctionnels et localiser les différentes bandes d'absorption. Les analyses par FTIR ont été réalisées à l'aide d'un spectromètre FTIR de marque (Schimadzu, série : FTIR-8900, chine) sur une gamme de nombre d'onde allant de 400 et 4000 cm^{-1} . Les échantillons analysés ont été préparés sous forme de pastilles de KBr.

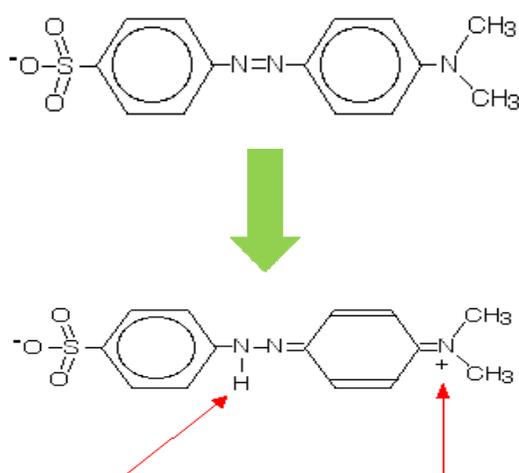
IV.3.2. Détermination de la teneur en aldéhyde

L'analyse chimique a été utilisée pour déterminer la teneur en aldéhyde.

Pour estimer la teneur en aldéhyde dans le xanthane aldéhyde, 0,1 g de ce polymère a été dissous dans 25ml de chlorhydrate hydroxylamine 0,25N préparé dans l'eau distillée. Environ 100 µl d'indicateur coloré de méthyle orange (solution à 0,05%) ont été ajoutés et mise sous agitation pendant deux heures.

Ensuite le mélange a été titre par une solution d'hydroxyde de sodium 0.1N prélevée dans la burette, le changement de couleur du rouge au jaune indique le point d'équilibre, le nombre de mol de NaOH consommé est équivalent en nombre de mol d'aldéhyde présent dans l'échantillon. Voici la réaction la réaction qui correspond

• **Réaction de méthyle orange :**



Attachement de l'hydrogène Charge positive de l'azote

Fig.IV.1 : La réaction qui correspond au changement de couleur du méthyl orange.

Voici la réaction de complexation entre le xanthane aldéhyde et la gélatine Fig.IV.2

• Réaction de base de schif :

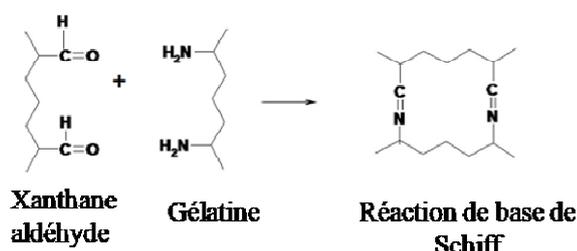


Fig.IV.2 : Réaction de base de Schiff

IV.4. Procédure générale de la formulation des nanogels

Pour la préparation, une solution aqueuse de xanthane aldéhyde à 10% a été préparée dans une solution de tétraborate de sodium 0.1M.

Une solution de gélatine à 10% a été préparée dans l'eau distillée à 40°C, ensuite une quantité adéquate d'ibuprofène a été dispersée dans cette solution en utilisant un bain à ultrasons (Branson- -2800, England).

Les deux suspensions ainsi préparées ont été mélangées à des différentes proportions pour obtenir un volume final de 1 ml de suspension de polymère.

Le mélange obtenu a été dispersé dans 20 ml de cyclohexane contenant 40 mg de Span80 et le système obtenu a été homogénéisé par ultrasons pour obtenir une miniémulsion inverse.

La miniémulsion a été mise sous agitation pour permettre la gélification des nanogouttelettes et l'encapsulation de l'ibuprofène dans le nanogels.

Les nanogels obtenus ont été séparés par centrifugation en utilisant une centrifugeuse (Sigma 3-30K, Germany), après trois rinçages le nanogel a été récupéré et séché à 40°C.

IV.5. Optimisation du procédé de formulation

Pour l'optimisation du procédé un plan d'expérience a été utilisé, nous avons choisi un plan factoriel complet à deux niveaux, trois facteurs et un point au centre.

Les trois facteurs étudiés sont le ratio (polymère:ibuprofène), (X_1 , avec un niveau haut 15 % et un niveau bas 5 %), le ratio (Gélatine:X-A), (X_2 , avec un niveau haut 2:1 et un niveau bas 1:2), et le temps de gélification (X_3 , avec un niveau haut 8h et un niveau bas 2h).

Le nombre d'expériences est calculé en utilisant l'équation suivante :

$$N = L^K + C$$

N : nombre d'expériences

L : nombre de niveau

K : nombre de facteur

C : nombre de point au centre.

Donc le nombre total d'essai est de l'ordre de $2^3+1 = 9$ essais. La matrice des essais est donnée dans le tableau IV.1.

Tableau IV.1 : Matrice obtenue par le pan factoriel complet.

Essais Facteurs	F ₁		F ₂		F ₃	
	Niveau	Valeur	Niveau	Valeur	Niveau	valeur
Essai 1	+1	15%	+1	2 :1	+1	8h
Essai 2	-1	5%	+1	2 :1	+1	8h
Essai 3	+1	15%	-1	1 :2	+1	8h
Essai 4	-1	5%	-1	1 :2	+1	8h
Essai 5	+1	15%	+1	2 :1	-1	2h
Essai 6	-1	5%	+1	2 :1	-1	2h
Essai 7	+1	15%	-1	1 :2	-1	2h
Essai 8	-1	5%	-1	1 :2	-1	2h
Essai 9	0	10%	0	1 :1	0	5h

Les réponses étudiées sont :

Y₁ : le taux d'encapsulation, Y₂ : le diamètre moyen, Y₃ : le potentiel zêta.

La dépendance de chaque réponse expérimentale «y» sur ses facteurs a été modélisée en appliquant l'équation suivante :

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^n \beta_i x_i + \sum_{i=1}^n \sum_{j=i+1}^n \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon$$

Où «β₀» est le terme constant,

«β_i» et «β_{ij}» sont les coefficients de régression,

«E» est l'erreur,

Les résultats expérimentaux ont été résumés et analysés avec le logiciel MODDE 6, (Umetrics, Suède, 2001). La qualité globale du modèle mathématique, c'est-à-dire la corrélation entre les données d'entrée et de réponse, a été évaluée par la qualité de l'ajustement R² et la prédiction Q².

IV.6. Caractérisation des nanogels

Après chaque formulation, l'essai réalisé a été suivie directement par une analyse de taille et de charge et après un séchage effectué, la caractérisation a été complétée par la détermination du taux d'encapsulation.

IV.6.1. Diamètre moyen

La taille moyenne des nanogels obtenu a été mesurée par diffusion dynamique de la lumière. Les mesures ont été effectuées avec l'appareil DLS de marque Horiba (SZ-100,

USA). Les diamètres hydrodynamiques ont été calculés à partir de la fonction d'autocorrélation de l'intensité de la lumière diffusée par les particules. Le logiciel utilisé était NextSpec version 1.0.0.1. Tous les échantillons ont été dilués avec de l'eau distillée avant d'être placés dans l'appareil, une cellule en quartz avec quatre faces lisses a été utilisées.

Les diamètres moyens des nanogels ont été calculés par la formule suivante :

$$D_m = \frac{\sum_{i=1}^n f_i \cdot x_i}{\sum_{i=1}^n f_i}$$

Où D_m est le diamètre moyen arithmétique, n est le nombre de classes divisant l'échantillon, x_i est le diamètre représentatif et f_i est la fréquence. Toutes les mesures ont été effectuées à 25°C.

IV.6.2. Le potentiel zêta

Le taux de mouvement des particules sous l'influence d'un champ électrique oscillant externe a été mesuré avec un Zêtamètre Horiba (SZ-100, USA).

Le potentiel zêta a été calculé à partir de la valeur de la mobilité électrophorétique en utilisant l'équation de Smoluchowski :

$$\zeta = \frac{4\pi\eta}{\varepsilon} \frac{v}{U/L}$$

Où "U" est la tension et "L" est la distance entre deux électrodes, "ε" et "η" sont les constantes diélectriques et la viscosité de l'eau pure, respectivement, et v est la vitesse de déplacement. Les mesures sont triplées et toutes les expériences ont été effectuées à 25 °C.

Tous les échantillons ont été dilués puis placés dans une cellule de type GOLD PLATING de 6 mm, Toutes les mesures ont été effectuées à 25 °C.

IV.6.3. Taux d'encapsulation

10 mg de des nanogels sec ont été dispersé dans 5 ml d'éthanol et ont été misent dans un bain à ultrasons pendant 15 min pour extraire la totalité de l'ibuprofène encapsulé à l'intérieur des nanogels. Ensuite, chaque essai a été filtré ensuite sont absorbance à 264 nm a été mesuré en utilisant un spectrophotomètre UV- visible Chitach U-5100, Japon).

Le taux d'encapsulation a été calculé à l'aide de la courbe d'étalonnage de l'ibuprofène préalablement réalisé dans les mêmes conditions opératoire en utilisant des solutions standards de concentrations qui varies entre de 0.5 mg/ml à 0.15 mg/ml.

L'équation de la courbe d'étalonnage a été utilisée pour déterminer la masse expérimentale qui a été introduite dans le calcul du taux d'encapsulation dans la formule suivante :

$$TE = \frac{m_{\text{exp}}}{m_{\text{int}}} * 100$$

TE : Taux d'encapsulation en %.

m_{exp} : La masse expérimentale en mg.

m_{int} : La masse initiale en mg (théorique qui varie selon l'essai étudié, 0.15, 0.1, 0.05 mg).

IV.7. Analyse structurales des nanogels

IV.7.1. Analyse spectroscopique FTIR

Les spectres FTIR du xanthane, xanthane aldéhyde, Ibuprofène, gélatine et les nanogels préparés ont été réalisées à l'aide d'un spectromètre FTIR de marque (Schimadzu, série : FTIR-8900, chine) sur une gamme de nombre d'onde allant de 400 et 4000 cm^{-1} . Les échantillons analyses ont été préparés sous forme de pastilles de KBr.

IV.7.2. Analyse par diffraction des rayons X (DRX)

Les diagrammes de diffraction des rayons X des nanogels ont été obtenus en utilisant un diffractomètre à rayons X Philips PW 3710 équipé d'une poudre X. Le tube fonctionnait à 45 kV, 9 mA. Les diagrammes de diffraction des rayons X sur poudre de GLC et GLC-HPBCD sont illustrés aux figures respectivement.

IV.7.3. Analyse par microscope électrique à balayage

L'analyse a été réalisée en utilisant un microscope électronique à balayage de type QANTA- 400FEI, Allemagne .L'échantillon a directement été placé sur une pastille en carbone .La détection est réalisé en utilisant un détecteur de type LFD.

IV.8. Cinétique de dissolution in vitro

Les essais de dissolution des nanogels ont été réalisés à l'aide d'un dissolutest à palettes tournantes de marque ERWEKA (France), l'Appareil utilisé est montré dans la figure IV.3.

250 mg de nanogels séché ont été incorporés dans un vase contenant 500 ml de tampon phosphate pH 7,4 (pH du milieu sanguin), la vitesse de rotation des palettes a été fixée à 50 tr/min et la température à 37°C.

Chaque 30 min un prélèvement de 5 ml a été prélevé et remplacé par un volume équivalent de tampon phosphate, les prélèvements sont filtrés à l'aide d'un filtre à seringue de porosité 0.2µm. Lateneur en ibuprofène dans chaque échantillon a été dosé par spectrophotométrie UV-Visible à 264nm en utilisant la courbe d'étalonnage préalablement établie. La durée totale de la cinétique de dissolution est de 8 heures.



Fig. IV.3: Appareil de dissolution

IV.9. Etude de la diffusion transdermique en Ex-vivo

Afin d'étudier la diffusion en ex-vivo des nanogels, nous avons utilisé une cellule de Franz (Fig. IV.4) munie d'une peau fraîchement préparée.

Des rats Wistar pesant environ 150 g ont été misent sous anesthésie(étourdissement à l'éther), leurs abdomens a été rasé et la peau a été récupérée après dissection (Fig. IV.4).

La peau enlevée a été placée dans la cellule de diffusion, la face dermique de la peau a été mise en contact avec le liquide (tampon phosphate) thermostaté à 37°C qui hydrate et maintient l'intégrité physiologique de l'explant cutané.

Les nanogels ont été déposés délicatement sur la face supérieure (épidermique) de l'explant. L'étude a été réalisée pendant 8h et des volumes de 5ml ont été prélevés chaque heure. Les échantillons prélevés sont filtrés par un filtre à seringue de 0.2µm, puis analysés par spectroscopie UV-visible à 264 nm pour doser la quantité d'ibuprofène ayant traversée la peau.



Fig. IV.4: Diffusion Ex-vivo

IV.10. Modélisation mathématique des données de dissolution et de diffusion

Le mécanisme et la cinétique de libération du médicament ont été déduits en ajustant les courbes de dissolution aux ordres zéro, ordre 1, équation de Higuchi [170] et Korsmeyer-Peppas [171]. Afin de décrire le comportement de libération, le meilleur ajustement a été établi en choisissant le coefficient de corrélation le plus proche de 1.

$$\frac{Mt}{M_{\infty}} = k_0 t$$

Equation d'ordre 0

$$\frac{Mt}{M_{\infty}} = k_H t^{1/2}$$

Equation de Higuchi

$$\frac{Mt}{M_{\infty}} = k_p t^n$$

Equation de Korsmeyer-Peppas

$$\frac{Mt}{M_{\infty}} = -kt$$

Equation d'ordre 1

Où : Mt / M_{∞} est la fraction de médicament libérée au temps t , k_0 est la constante de libération d'ordre zéro, k_H représentant la constante de vitesse de Higuchi, k_p est une constante cinétique incorporant les caractéristiques structurelles et géométriques des comprimés et n est l'exposant diffusionnel le mécanisme de libération. La valeur de n dépend de la forme de la formulation. Dans le cas de la forme

cylindrique, n est inférieur à 0,45 pour la version Fickienne, n compris entre 0,45 et 0,89 pour la version non Fickienne, 0,89 pour la version cas II et plus de 0,89 pour la version super cas II [170].

IV.11. Activité anti- inflammatoire in vivo

Préparations des patchs pour l'étude in-vivo

Des patchs d'une dimension de 3cm de longueur et de 3cm de largeur ont été préparés (figure IV.5). En premier lieu un tissu hypoallergénique a été imprégné par une colle bioadhésive, ensuite les nanogels réhydratés ont été placés au centre du patch sur une surface de 1 cm². A cet effet des patchs contenant deux doses d'ibuprofène ont été préparés (des patchs contenant 25 mg d'ibuprofène et 50 mg d'ibuprofène).

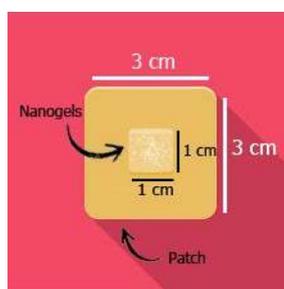


Fig. IV.5: patch d'un nanogel

Matériel (Animal)

L'activité anti inflammatoire a été étudié sur 15 rats de type Wistar, femelles, dont le poids varie entre 120g et 150g ont été utilisés lors de l'étude in vivo. Ces animaux ont été procurés auprès de l'Institut Pasteur d'Alger. Les animaux ont été placés dans des cages en polypropylène où ils ont accès libre à l'eau et à l'alimentation. Les animaux ont bénéficiés d'une période d'adaptation de 7 jours avant leur utilisation.

Design expérimental

Les 15 rats ont été répartie en 5 lots de 3 rats chaqu'un, le design expérimental de cette étude est donné dans le tableau IV.2. Tous les rats ont été rasés dans la région dorsale pour pouvoir appliquer des différentes formes pharmaceutiques étudiées (gels et patchs).

Induction de l'inflammation

Le model utilisé

Le principe consiste à injecter, sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche du rat, la carragénine provoquant ainsi une réaction inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti-inflammatoire.

Ce test nous a permis de comparer la réduction de l'œdème de la patte après administration de doses égales de chacun du produit à tester et celui de référence.

Au temps $T_0 + 30 \text{ min}$: Les rats des 5 lots ont reçu 0.025 ml de la carragénine chacune et cela par injection de la carragénine sous l'aponévrose plantaire de la patte arrière gauche suivant la figure IV.6.



Figure IV.6: l'injection de la carragénine

Au temps $T_0 + 4\text{h}$: Sacrifier les rats par dislocation cervicale, et couper les pattes postérieures droites et gauches à hauteur de l'articulation et les peser sur une balance analytique suivant la figure IV.7.



Figure IV.7: Sacrifier des rats et couper les pattes.

Expression des résultats

- Calcule des moyennes arithmétiques des poids de la patte gauche et la patte droite pour chaque lot.
- Calcule du pourcentage d'augmentation des poids de la patte (% d'œdème) par la formule suivante :

$$\% \text{ d'œdème} = \frac{\text{moyenne des poids des pattes droite} - \text{moyenne des poids des pattes gauche}}{\text{moyenne des poids des pattes droite}} \times 100$$

- Calcule du pourcentage de réduction de l'œdème chez les rats traités par rapport au témoin :

$$\% \text{ de réduction de l'œdème} = \frac{\% \text{ de l'œdème témoin} - \% \text{ de l'œdème essai}}{\% \text{ de l'œdème témoin}} \times 100$$

Tableau IV.2 : lot de 5 rats avec les différents traitements

N°	Groupes	Traitements
1	Témoin négatif	Pas de traitement
2	Gel commercial	25 mg d'ibuprofène (Gel commercial)
3	Gel commercial	50 mg d'ibuprofène (Gel commercial)
4	Patch de nanogels	25 mg d'ibuprofène (Patch de nanogels)
5	Patch de nanogels	50 mg d'ibuprofène (Patch de nanogels)

V.1.Preparation et caractérisation du xanthane aldéhyde

La préparation du xanthane aldéhyde à partir du xanthane a présenté un rendement de 83%. Le polymère préparé a présenté les mêmes propriétés visuelles que le xanthane native, sa teneur en aldéhyde est de l'ordre de 0.15 mol.

La caractérisation par spectroscopie FTIR a montré la formation de la bande C=O correspondante à la fonction aldéhyde qui a été formée sur le xanthane native.

Les spectres infrarouges du xanthane et du xanthane aldéhyde sont donnés dans la figure.V.1 jointe qui représente en bleu le xanthane et en rose le xanthane aldéhyde

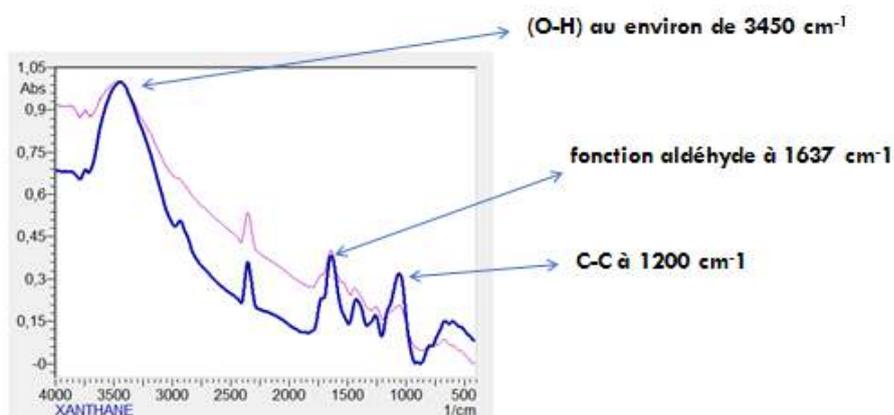


Figure .V.1 les spectres de la gomme xanthane (bleu) et le xanthane aldéhyde (rose).

Dans les deux spectres on retrouve la bande caractéristique de la fonction alcool (O-H) au environ de 3450 cm^{-1} , on retrouve également la bande de la fonction aldéhyde à 1637 cm^{-1} . Cette bande est plus évoluée dans le xanthane aldéhyde que dans le xanthane. La structure qui correspond à la formation du nanogel est dans la fig. V.2

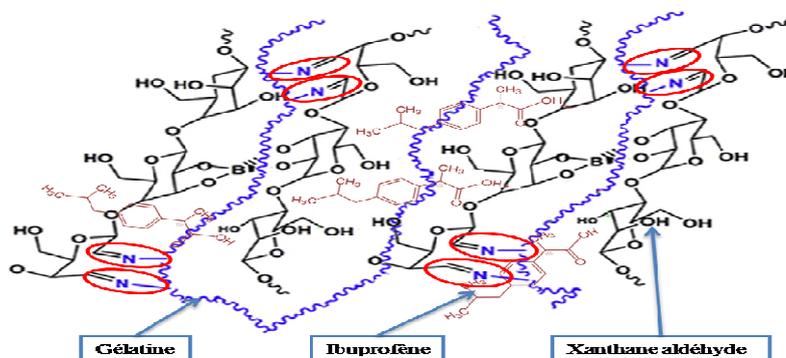


Figure V.2 : Structure chimique du nanogel obtenu.

V.2. Optimisation de procédé de formulation des nanogels d'ibuprofène

La matrice des résultats du plan d'expériences est donnée dans le tableau V.1.

Tableau V.1. La matrice des résultats du plan d'expériences

Essais	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3	D_m (nm)	PZ (Mv)	T.E (%)
1	+1	+1	+1	161,8	32	30,06
2	-1	+1	+1	209,6	13,8	49,96
3	+1	-1	+1	208,4	31,5	84,79
4	-1	-1	+1	200,6	26,3	47,91
5	+1	+1	-1	140,6	32,3	55,55
6	-1	+1	-1	217,3	45,1	67,05
7	+1	-1	-1	179,9	24,7	93,78
8	-1	-1	-1	216,5	41	60,22
9	0	0	0	192,2	24,5	64,57

Les données collectées ont été analysées par le MODDE 6 afin de trouver une relation entre les facteurs (X_1 , X_2 et X_3) et la réponse (Y). Voici l'histogramme dans la fig.V.3.

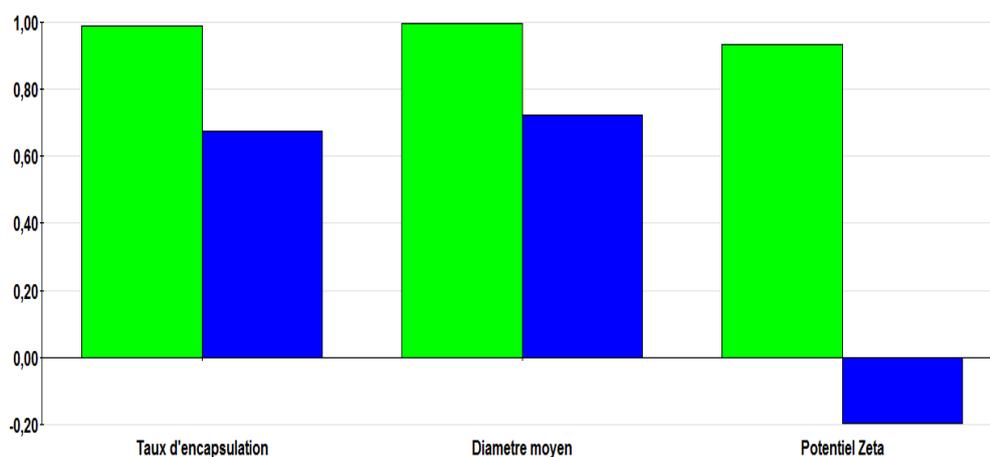


Fig.V.3 : Histogramme représentant le coefficient de corrélation et le coefficient de prédiction

V.3. Effets des facteurs sur les réponses

Les réponses Y peuvent être visualisées en affichant les histogrammes de paramètres indicatifs des modèles d'ajustement de la qualité et de prédiction dans la conception expérimentale (corrélation R^2 et prédiction Q^2) et le tracé de la surface de réponse.

V.3.1. Taux d'encapsulation

- Les facteurs ratio gélatine : X-A et le temps influencent négativement sur le taux d'encapsulation contrairement au ratio polymère : Ibuprofène.
- L'interaction de tous les facteurs influence négativement.

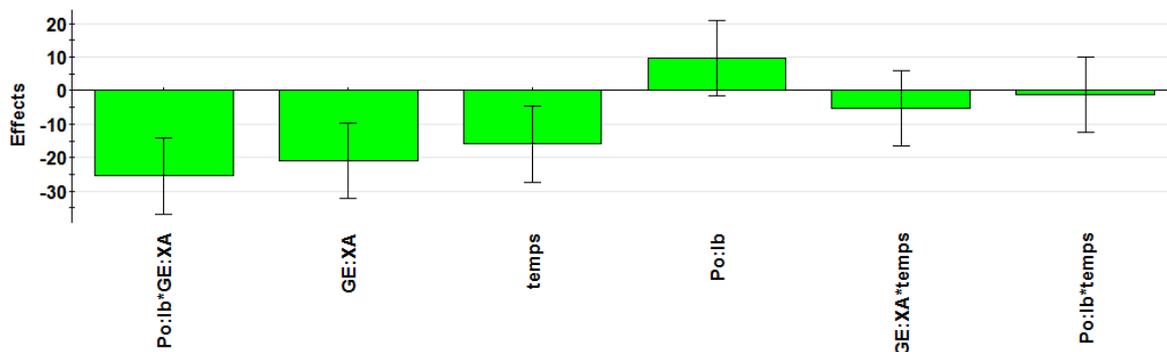


Figure V.4 : Effets des facteurs sur le taux d'encapsulation

R^2 et Q^2 : La figure V.4 montre des histogrammes de paramètres indicatifs pour la modèles d'ajustement et de prévision de la qualité sur la surface de réponse, l'ajustement R^2 de Y est 0,991 et la prédiction Q^2 de Y est 0,676.

V.3.2. Le diamètre moyen

- Les facteurs ratio Polymère : Ibuprofène et le ratio Gélatine : X-A influencent négativement sur le diamètre moyen alors que le temps influence positivement.
- L'interaction du ratio Polymère : Ibuprofène avec le ratio Gélatine : X-A influence négativement et l'interaction du ratio Polymère : Ibuprofène avec le temps influence positivement, tandis que l'interaction du ratio Gélatine : X-A et le temps est presque nulle.

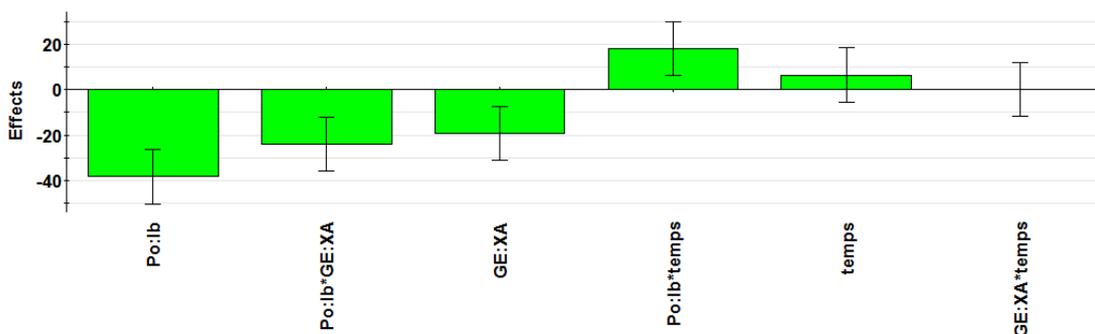


Figure V.5 : Effets des facteurs sur le diamètre moyen

R^2 et Q^2 : La figure V.5 montre des histogrammes de paramètres indicatifs pour la modèles d'ajustement et de prévision de la qualité sur la surface de réponse, l'ajustement R^2 de Y est 0,995 et la prédiction Q^2 de Y est 0,722.

V.3.3. Le potentiel zêta

- Les facteurs temps et le ratio Polymère : Ibuprofène influent négativement sur le potentiel zêta alors que l'influence du ratio Gélatine : X-A est nulle.
- L'interaction du ratio Polymère : Ibuprofène avec le temps et avec le ratio Gélatine : X-A influence positivement alors que l'interaction du ratio Gélatine : X-A avec le temps influence négativement.

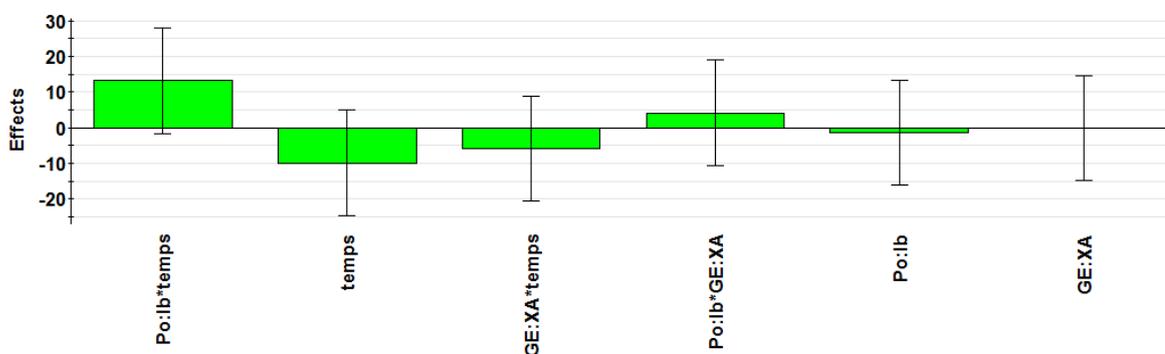


Figure V.6 : Effets des facteurs sur le potentiel zêta

R^2 et Q^2 : La figure V.6 montre des histogrammes de paramètres indicatifs pour la modèles d'ajustement et de prévision de la qualité sur la surface de réponse, l'ajustement R^2 de Y est 0,932 et la prédiction Q^2 de Y est 0,195

V.4. Modélisation et prédiction des résultats

Les modèles obtenus nous permettront de prédire les réponses pour les valeurs proposées des facteurs, la significativité des valeurs obtenues dépendra de la précision des modèles obtenus. Selon les valeurs de P obtenues par l'analyse ANOVA, tous les modèles mathématiques sont statistiquement significatifs ($P < 0.05$) sauf le potentiel zêta qui est non significatif.

Les différents modèles mathématiques de notre procédé sont donnés dans le tableau V.2

Tableau V.2 : les modèles mathématiques

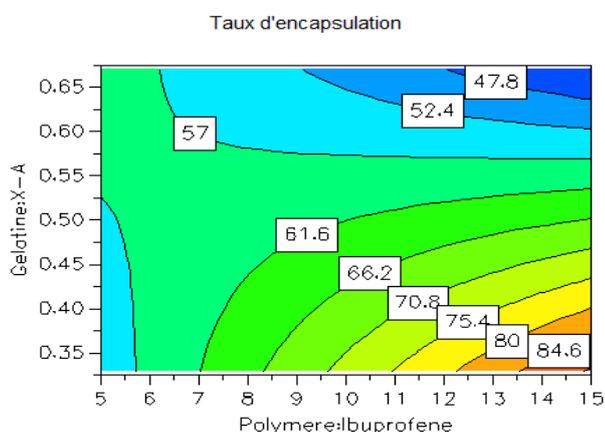
Réponses	Modèles mathématiques	probabilité P	Significativité du modèle
Taux d'encapsulation (%)	$Y = 61.54 + 4.88X_1 - 10.51 X_2 - 7.98 X_3 - 12.73X_1X_2 - 0.63 X_1X_3 - 2.66 X_2X_3$	0.028	Signifiant
Diamètre moyen (nm)	$Y = 191.87 - 19.16X_1 - 9.51X_2 + 3.26X_3 - 11.96X_1X_2 + 9.16X_1X_3 + 0.11X_2X_3$	0.016	Signifiant
Potentiel zêta (mV)	$Y = 30.13 - 0.71X_1 - 0.03 X_2 - 4.93X_3 + 2.06X_1X_2 + 6.56 X_1X_3 - 2.96X_2X_3$	0.189	non signifiant

A c'est la probabilité de la régression est significative à 95%. Le modèle est statistiquement bon et B c'est la probabilité de la régression n'est pas significative à 95%, Le modèle est statistiquement faible.

L'essai optimum du plan d'expériences étudié permettant le meilleur taux d'encapsulation est l'essai numéro 7 qui correspond à un ratio de 15% (polymère: ibuprofène), ratio de 1 : 2 (Gélatine:X-A) avec un temps de gélification de 2h.

V.4.1. Taux d'encapsulation

a) Pour une valeur fixe X_3 : temps, le taux d'encapsulation diminue lorsque X_2 (Gélatine : X-A) diminue et X_3 , (Polymère : Ibuprofène) augmente.

**Figure.V.7** :Evolution du taux d'encapsulation

b) Pour une valeur fixe X_2 (Gélatine : X-A), le taux d'encapsulation augmente lorsque le facteur X_1 , (Polymère : Ibuprofène) augmente et le facteur X_3 : temps diminue.

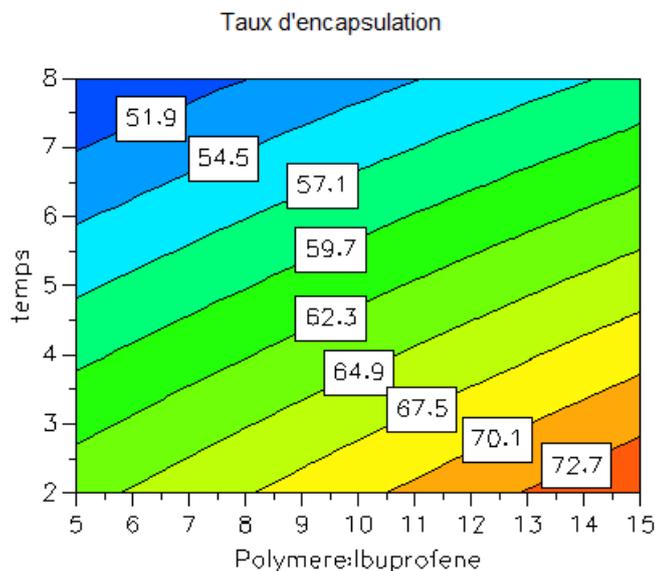


Figure. V.8 : Evolution du taux d'encapsulation en fonction du facteur (X_1 , Polymère : Ibuprofène) et le facteur (X_3 , temps) et un facteur fixe (X_2 , Gélatine : X-A)

c) Pour une valeur fixe X_1 (Polymère : Ibuprofène), le taux d'encapsulation diminue lorsque le facteur X_3 (temps) et le facteur X_2 (Gélatine : X-A) diminuent.

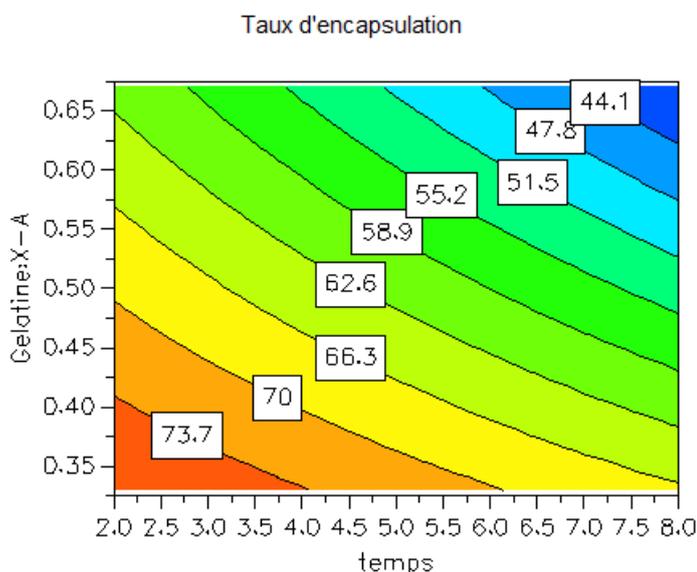


Figure V.9: Evolution du taux d'encapsulation en fonction du facteur X_2 (Gélatine : X-A) et du facteur X_3 (Temps) et un facteur fixe X_1 (Polymère : Ibuprofène)

V.4.2. Diamètre moyen

a) Pour une valeur fixe de X_1 (temps) 5h, le diamètre moyen diminue lorsque X_1 (Polymère : Ibuprofène) et X_2 (Gélatine-XA) diminuent.

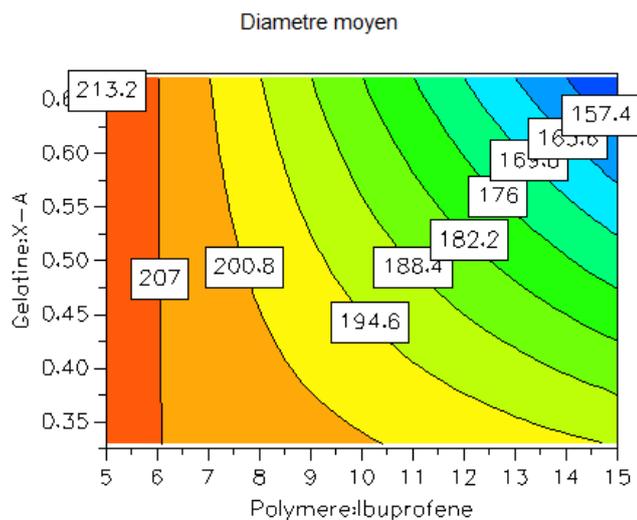


Figure V.10 : Evolution du diamètre moyen en fonction du facteur X_1 (Polymère : Ibuprofène), du facteur X_2 (Gélatine : X-A) et un facteur fixe X_3 (temps).

b) Pour une valeur fixe X_2 (Gélatine : X-A), le diamètre moyen diminue lorsque le facteur X_1 (Polymère : Ibuprofène) et X_3 temps diminuent.

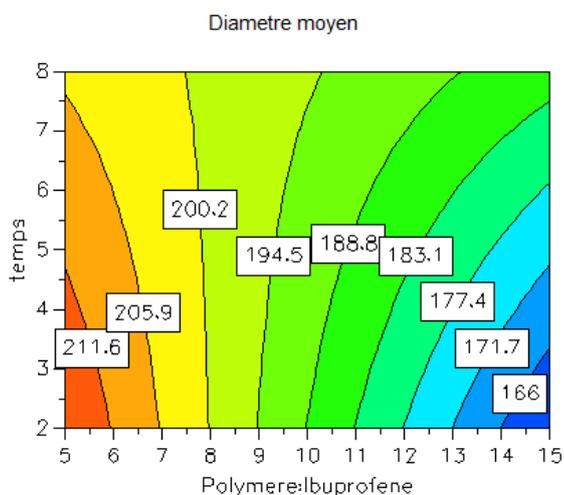


Figure V.11 : Evolution du diamètre moyen en fonction du facteur X_1 (Polymère : Ibuprofène) et du facteur X_3 (temps) et un facteur fixe X_2 (Gélatine : X-A).

c) Pour une valeur fixe X_1 (Polymère: Ibuprofène), le diamètre moyen augmente lorsque le facteur X_3 (Temps) augmente et le facteur X_2 (Gélatine : X-A) diminue.

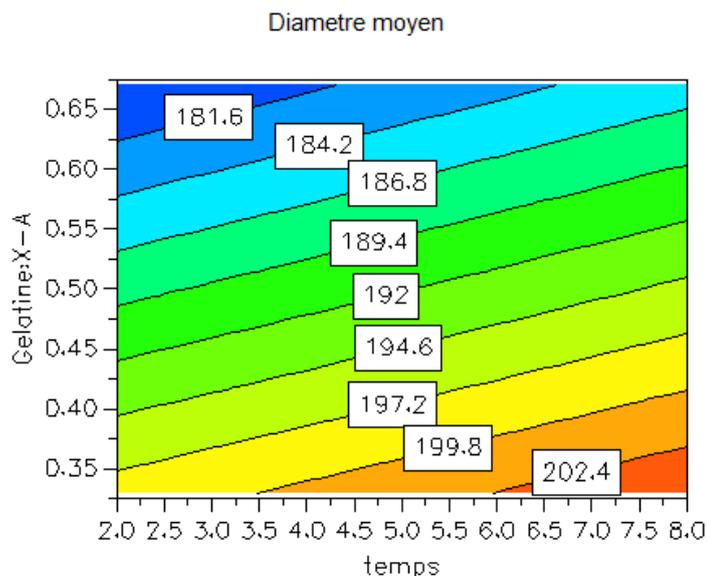


Figure V.12 : Evolution du diamètre moyen en fonction du facteur X_3 (Temps) et du facteur X_2 (Gélatine : X-A) et un facteur fixe X_1 (Polymère : Ibuprofène)

V.4.3. Potentiel zêta

a) Pour une valeur fixe X_3 (Temps), le potentiel zêta diminue lorsque le facteur X_1 (Polymère : Ibuprofène) et le facteur X_2 (Gélatine : X-A) diminuent.

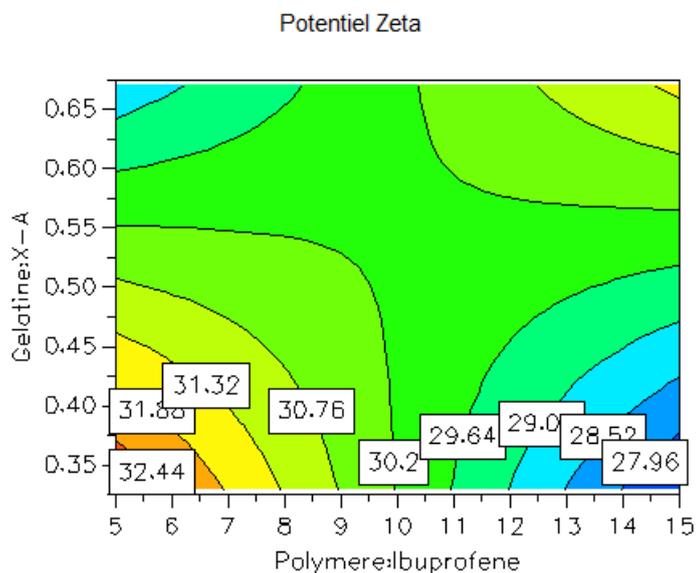


Figure V.13 : Evolution du potentiel zêta en fonction du facteur X_1 (Polymère : Ibuprofène) et du facteur X_2 (Gélatine : X-A) et un facteur fixe X_3 (Temps).

b) Pour une valeur fixe X_2 (Gélatine : X-A), le potentiel zêta diminue lorsque le facteur X_1 (Polymère : Ibuprofène) et le facteur X_3 (Temps) diminuent.

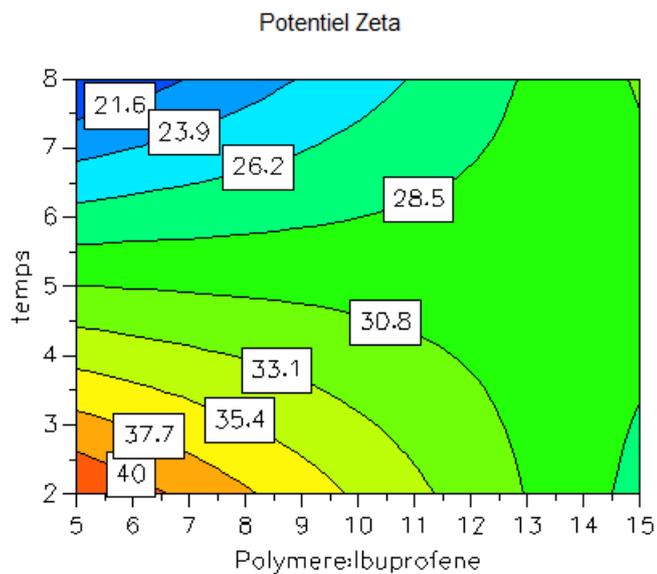


Figure V.14 : Evolution du potentiel zêta en fonction du facteur X_1 (Polymère : Ibuprofène) le facteur X_3 (Temps).

c) Pour une valeur fixe X_1 (Polymère : Ibuprofène) fixe, le potentiel zêta diminue lorsque le facteur X_3 (Temps) diminue et le facteur X_2 (Gélatine : X-A) augmente.

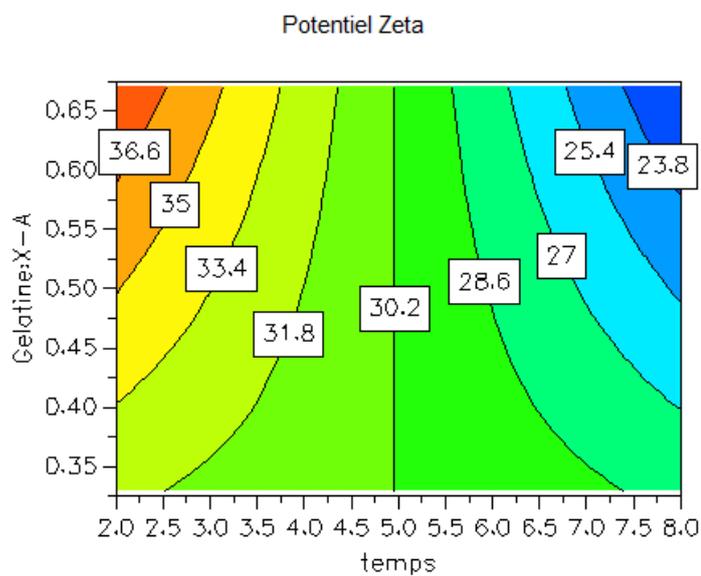


Figure V.15 : Evolution du potentiel zêta en fonction du facteur X_3 (temps) et du facteur X_2 (Gélatine- X-A) et un facteur fixe X_1 ((Polymère : Ibuprofène).

V.5 Analyse spectroscopique FTIR

La formation des nanogels est basée sur la réaction de deux macromolécules, la première est la gélatine portant des charges positives NH_3^+ et le xanthane aldéhyde qui est un polymère chargé négativement. Les spectres infrarouges de l'ibuprofène, de la gélatine, de xanthane aldéhyde et des nanogels sont donnés dans la figure V.16.

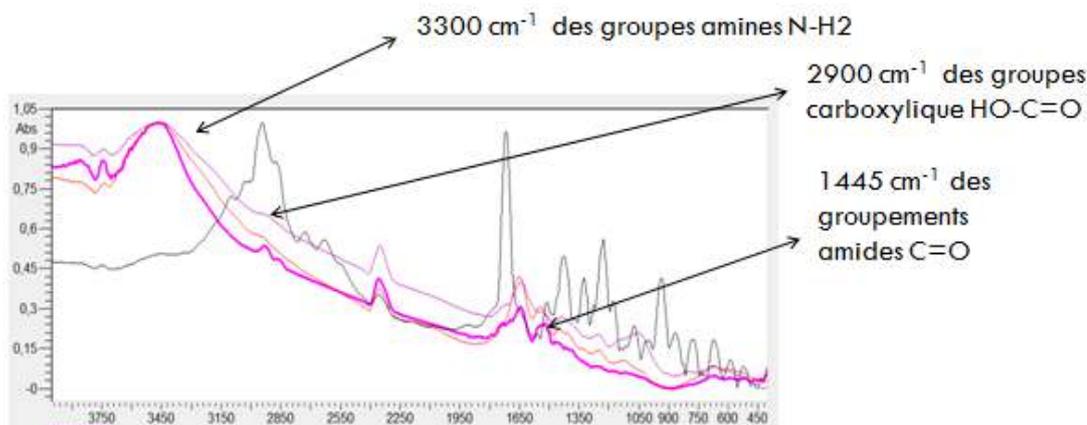


Fig. V.16. Le spectre FTIR de l'ibuprofène en gris, la gélatine en rouge, le xanthane aldéhyde violet clair et les nanogels en violet foncé

Les bandes apparaissant au environ de 3300 cm^{-1} pour la gélatine et le xanthane aldéhydes sont caractéristiques des groupes amines apparaissant dans les résidus d'acide aminé basique tel que l'arginine, la lysine, et l'hystiline qui peuvent être chargés positivement (en fonction du pH), et les bandes apparaissant avec une faible intensité au environ de 2900 cm^{-1} . Pour le xanthane aldéhyde son caractère est celui des groupes carboxyliques chargés négativement. La liaison des charges positives et négatives favorise le processus de gélification des nanogels par la formation des groupements amides. Sur les nanogels un pic peut être observé au environ de 1445 cm^{-1} ce qui indique la présence des groupements amides prouvant la formation du complexe entre les deux polyélectrolytes [172].

V.6. Analyse par diffraction des rayons X (DRX)

La figure V.17 représente un diffractogramme de l'ibuprofène pur. Le médicament présente une structure cristalline, les pics caractéristiques des phases cristallines de l'ibuprofène sont situés dans la région 2-theta comprise entre 3 et 25. L'intensité de ses pics est très élevée et dépasse les 70000.

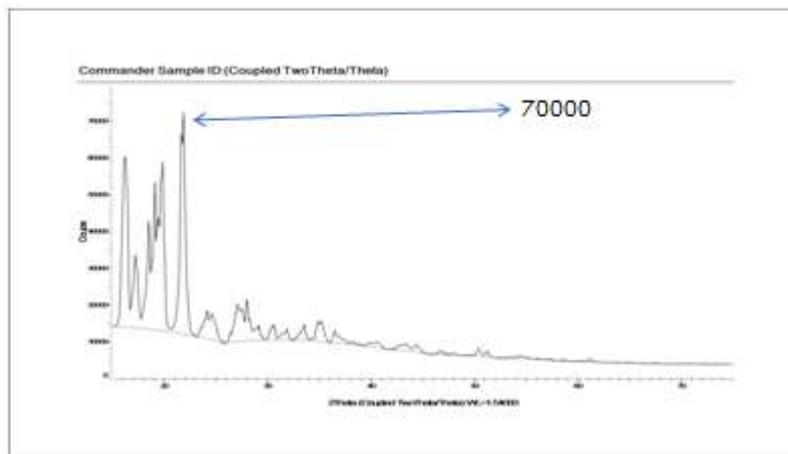


Figure V.17 : Un diffractogramme de l'ibuprofene pur

Les deux chromatogrammes des polymères utilisés, le xanthane aldéhyde et la gélatine sont donnés dans les figures V.18 ; V.19 respectivement .

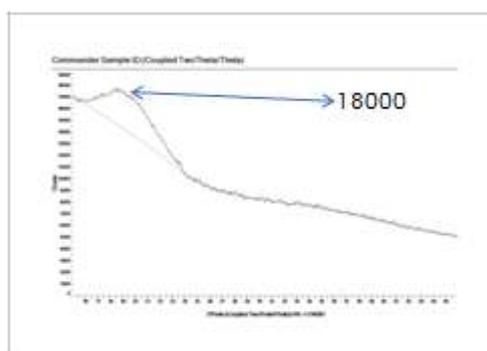


Fig V.18 : diffractogramme du xanthane aldéhyde

Les deux polymères présentent une très faible cristallinité, une intensité de 18000 pour le xanthane aldehyde et de 22000 pour la gélatine.

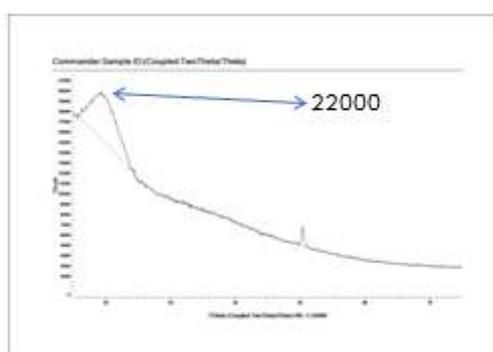


Fig.V.19 : diffractogramme de la gélatine

La figure V.20 représente le diffractogramme du nanogel .En premier lieu on observe la disparition totale des phases cristallines caractéristiques de l'ibuprofène.L'intensité observée dans le diffractogramme ne dépasse pas 20000.

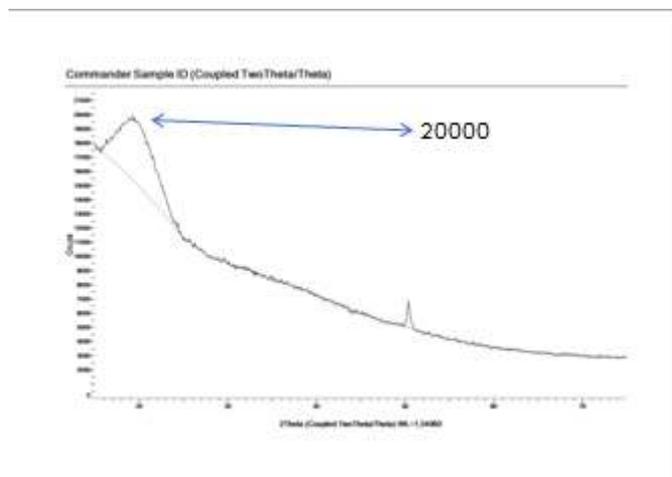
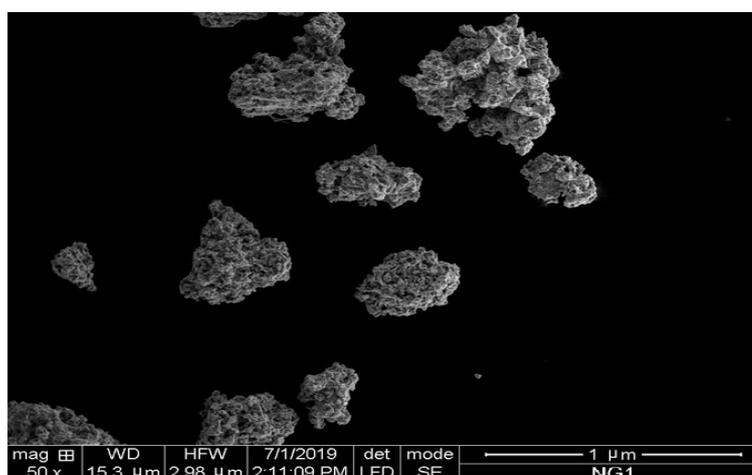


Fig.V.20 :diffractogramme du nanogels

V.8. Analyse par microscope électrique à balayage

La figure V.21 représente une microphotographie des nanogels obtenus après séchage. Il présente une structure poreuse, d'une forme plus au moins globulaire qui rappelle la forme sphérique d'une nanogouttelette gélifiée (un nanogel en milieu aqueux. cet aspect poreux nous permet de prédire que les nanogels ont la capacité d'absorber les liquides et de se déformer [173].



FigV.21. Microphotographie des nanogels

V.9. Cinétique de dissolution in vitro

Les résultats de la dissolution du nanogel sont donnés dans le Figure V.22

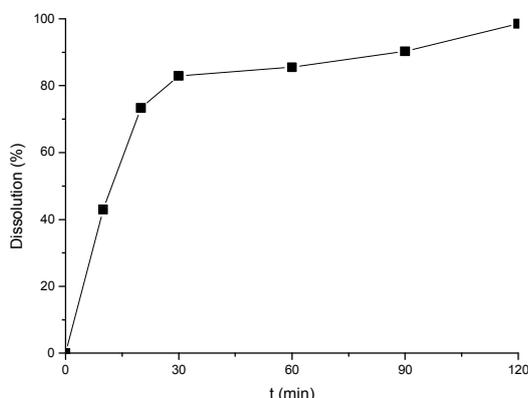


Fig V.22 : courbe de la dissolution (%) (Libération de l'ibuprofène) du nanogels dissous en fonction du temps à un pH de 7.4 et à 37°C

On observe une augmentation très rapide de la dissolution lors des 30 premières minutes, ensuite cette dissolution est ralenti jusqu'à atteindre une valeur de 98,52% après 120 minutes de dissolution. Les valeurs obtenus montrent que les nanogels préparés ont la capacité de relarguer la totalité du principe actif encapsulé. Cette dissolution très importante a déjà été préalablement décrite dans des travaux antérieurs [174,175].

La modélisation de cette cinétique de dissolution en utilisant quatre modèles mathématiques de pharmacocinétique a montré que la dissolution est proche à la cinétique décrite par le modèle de KorsmeyerPeppas.

Tableau V.3 : Les valeurs du coefficient de corrélation pour chaque modèle de la dissolution.

Cinétique de dissolution	R ²
Ordre 0	-0.065
Higuchi model	0.75
Ordre 1	-1.035
Korsmeyer Peppas	0.786

V.10. Etude de la diffusion transdermique en Ex-vivo

Les résultats de la diffusion transdermique avec la cellule de Franz pour le nanogel sont donnés dans la figure V.23

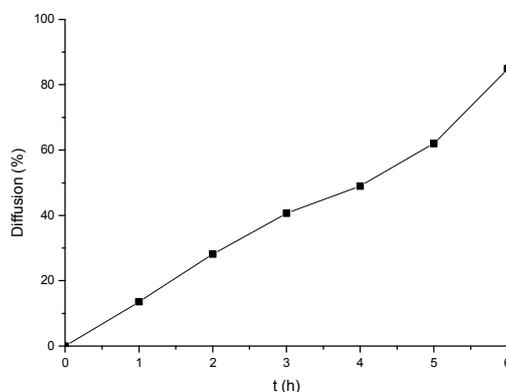


Figure. V.23 : courbe des absorbances du nanogels dans la cellule de Franz à un pH de 7.4 à 37°C

Cette diffusion suit une trajectoire plus en moins linéaire, après six heures d'application, les nanogels ont permis la diffusion de 84,89% à travers la peau.

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

Cette cinétique de diffusion suit parfaitement le modèle de Higuchi.

Tableau V.4 : Les valeurs du coefficient de corrélation pour chaque modèle de diffusion.

Cinétique de diffusion	R ²
Ordre 0	0.619
Higuchi model	0.95
Ordre 1	0.46
Korsmeyer Peppas	0.29

V.11. Activité anti- inflammatoire in-vivo

L'évaluation de l'activité anti inflammatoire in-vivo a été réalisée en utilisant l'œdème de la patte induit par la caraggénine, l'œdème a augmenté avec une valeur de $118,79 \pm 17,74$ % pour les rats du groupe témoin négatif. Les résultats de l'augmentation de l'œdème sont donnés dans la figure V.24.

Le pourcentage d'inhibition de l'œdème pour le gel commercial à une dose de 25mg et 50mg sont $106,17 \pm 17,17\%$ et $74,79 \pm 23,09\%$. Le pourcentage d'inhibition de l'œdème pour le patch à une dose de 25mg et 50mg sont $72,72 \pm 3,00\%$ et $21,34 \pm 7,55\%$,

De manière générale l'augmentation des œdèmes dans le gel classique commercial que les patches à base de nanogels.

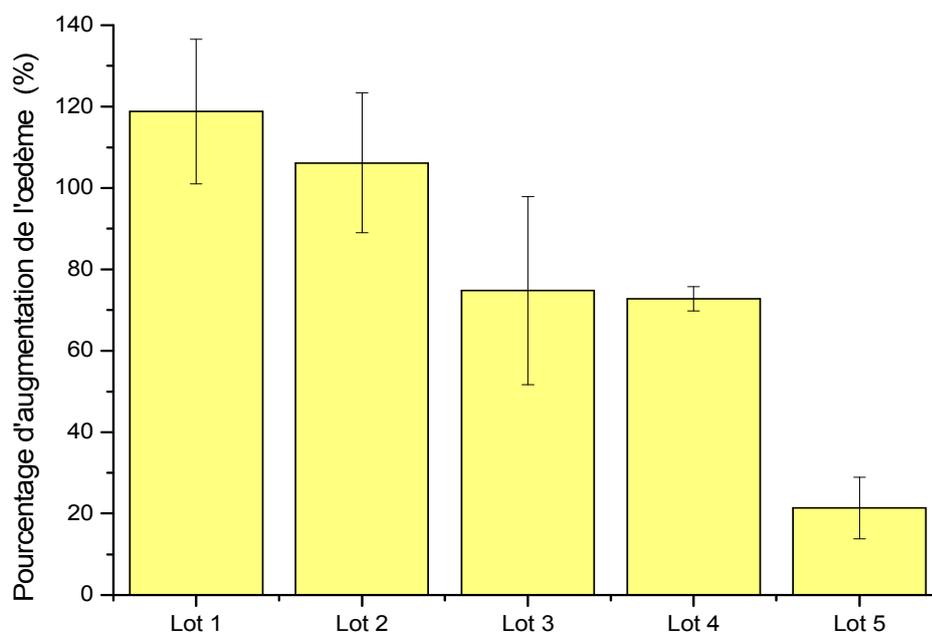


Figure V.24 : histogramme représentant l'augmentation de l'œdème pour les cinq lots.

Le pourcentage d'inhibition de l'œdème a été représenté dans la figure V.25. Les résultats de l'œdème

Le pourcentage d'inhibition de l'œdème pour le gel commercial à une dose de 25mg et 50mg sont $10,61 \pm 1,71\%$ et $37,03 \pm 11,43\%$. Le pourcentage d'inhibition de l'œdème pour le patch à une dose de 25mg et 50mg sont $38,77 \pm 1,6\%$ et $82,03 \pm 9,03\%$.

De manière générale l'inhibition des œdèmes dans le gel classique commercial que les patches à base de nanogels.

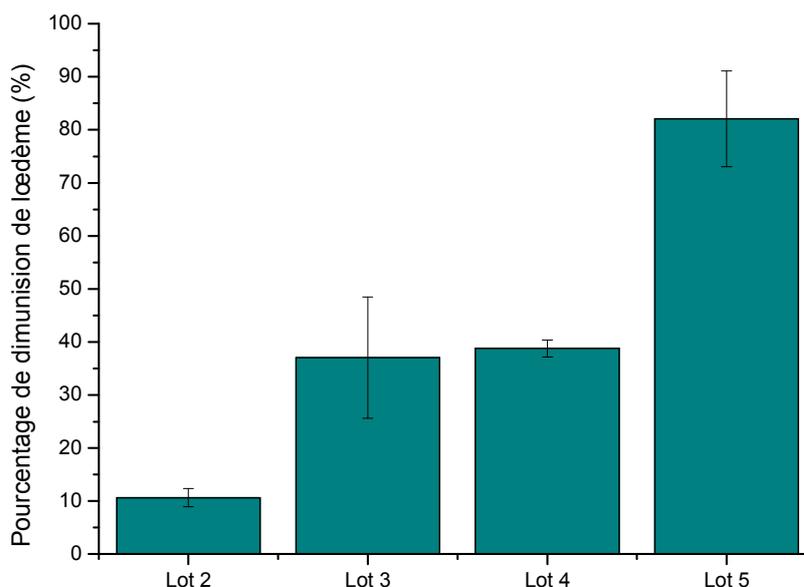


Figure. V.25 : histogramme représentant la diminution de l'œdème pour les cinq lots.

V.12 Discussions des résultats et proposition du mécanisme d'action

Cette augmentation de l'activité anti inflammatoire de l'ibuprofène après son encapsulation dans les nanogels est expliquée par deux mécanismes différents.

Le premier mécanisme est la pénétration rapide des nanogels à travers la peau et ceci due au faible taille des nanogels. Effectivement les nanogels obtenus présentent un diamètre moyen de 179.9 nm tandis que le diamètre des pores de la peau est de l'ordre de 250 nm [176].

Le deuxième mécanisme est l'augmentation de la solubilité de l'ibuprofène après formulation, l'analyse par diffraction des rayons x a montré une diminution de la cristallinité donc une augmentation de la dissolution in-vitro ce qui correspond à une augmentation de la biodisponibilité in-vivo et donc l'efficacité thérapeutique [177].

CONCLUSION GENERALE

Ce travail a permis de concevoir de nouvelles formes pharmaceutiques innovantes pour le confort du patient constitué d'une partie intégrante de la pharmacie industrielle.

Les défis actuels liés à l'administration des médicaments impliquent la mise au point de mécanismes capables de transporter efficacement une quantité suffisante de médicaments, à trouver divers obstacles physiologiques pour atteindre des sites thérapeutiques.

Le développement des nanosystèmes est un domaine de recherche qui pourrait améliorer un domaine de recherche atteint plusieurs modèles, en diminuant notamment les effets secondaires des traitements classiques. Dans ce cadre, nous avons formulé et caractérisé des nanogels à base de gélatine et de xanthane aldéhyde et de l'ibuprofène comme principe actif.

La réalisation de ce travail a été exécutée avec succès dans lequel tous les résultats obtenus ont été acceptables et dans les normes.

Durant la préparation de notre nanosystème pharmaceutique, on a développé une méthode physico-chimique capable de formuler un modèle adéquat, afin de tirer une formulation optimale avec les meilleures conditions, nous avons utilisé un plan d'expérience type factoriel complet. Le plan d'expérience nous a permis de sélectionner un essai optimum avec les caractéristiques de taille, de charge et de taux d'encapsulation d'ibuprofène. Les analyses effectuées ont permis de vérifier la bonne préparation et les bonnes caractéristiques du nanogel dans laquelle l'analyse FTIR a montré tous les groupements nécessaires pour avoir la bonne complexation entre les différents composants de la formulation. L'analyse DRX a démontré que le nanogel n'a pas de structure cristalline. Le MEB, nous a renseigné sur la forme globulaire et poreuse de la formulation, tandis que les tests en ex-vivo, in vitro et in vivo ont démontré la bonne libération du principe actif et la bonne diffusion à travers la peau avec une meilleure efficacité thérapeutique.

La formulation de patch à base de nanogel a démontré qu'elle est meilleure par rapport au gel traditionnel. Cette forme pharmaceutique est très prometteuse pour la délivrance transdermique des molécules bioactives et peut servir de modèle pour la délivrance des

médicaments de différentes classes thérapeutiques comme les anti-inflammatoires pour diminuer leurs effets indésirables dans le corps humain.

Ce travail est loin d'être achevé, il serait intéressant de terminer la caractérisation thermique des nanogels, et de passer aux analyses cliniques.