

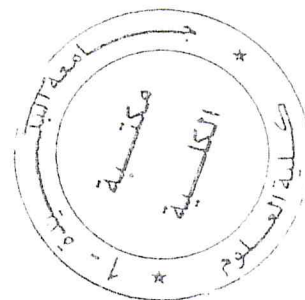
TIA .540.141.1

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche scientifique

**Université SAAD DAHLAB de Blida**

**Faculté des sciences**

**Département de chimie**



## Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER EN CHIMIE**

**Option : chimie appliquée**

Intitulé du mémoire

**Thème : la microencapsulation de l'oxytetracycline par coacervation complexe de la gélatine et l'alginate de sodium**

**Présenté par : Yahiaoui Abderrahmane**

**Président : Mr R .Belal**

**Examineur : Mr Laarbi-Bouamrane**

**Rapporteur : Mr Y.bal**

université de Blida

université de Blida

université de Blida

**Année universitaire : 2017-2018**

MA-540-141-1

# Remerciements

Avant tout, je remercie Dieu le tout puissant qui m'a donné la force et la patience afin de réaliser ce modeste travail.

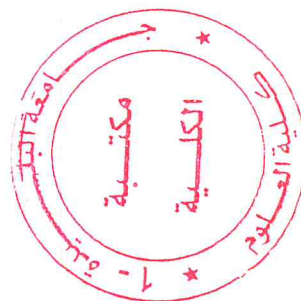
Je remercie sincèrement mon encadreur Mr Y. bal, qui a fait preuve d'une grande volonté en assurant l'encadrement de ce travail en dépit de son temps fort chargé et de ses multiples occupations.

Je tiens également à adresser tous mes remerciements aux membres du jury pour m'avoir fait l'honneur de passer mon travail en revue et d'avoir pris le temps de lire ce mémoire et apporter leurs précieux conseils.

A Mr BOULAHWACH le chef département de chimie. et a Mr Brahim Bahmani le responsable de la spécialité pour ses conseils judicieux et pour sa bonne gestion de cette spécialité.

Je remercie infiniment le collectif du laboratoire PV5 UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1 et spécialement madame HADAD qui m'avoir aidé et assisté dans mes travaux.

Je souhaite aussi adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire.



# DEDICACE

JE DEDIE CE MODESTE MEMOIRE :

A

MES TRES CHERS PARENTS QUI M'ONT  
TOUJOURS SOUTENUS ET QUI ONT SACRIFIES LEURS VIES  
AFIN DE FAIRE DE MOI CE QUE JE SUIS. QUE DIEU LES  
PROTEGE.

A

Mes chers frères

A

Ma chère sœur

A

Tous mes professeurs

A

TOUS MES AMIS.

## RESUME

Le présent travail s'intéresse à la microencapsulation de l'antibiotique (oxytétracycline).

La technique a été réalisée par la méthode de la coacervation complexe de deux polymères naturels l'alginate de sodium et la gélatine.

L'objectif de ce présent travail est d'encapsuler et protéger le principe actif de différentes paramètres qui influence sur l'oxytétracycline tel que la température et le pH du milieu.

Pour cela, les microcapsules ont été caractérisées par plusieurs techniques : spectroscopie infrarouge (FTIR), MEB, DRX, UV-visible .ainsi l'étude de la cinétique de libération dans les deux milieux simulé SGF gastrique et SIF intestinal, afin de déterminé le comportement des microcapsules dans les milieux a pH différent.

Mots clés : Microencapsulation, microcapsules, antibiotique oxytétracycline, gélatine, alginate de sodium, coacervation.

## ABSTRACT

The present work focuses on the microencapsulation of the antibiotic (oxytetracycline). The technique was performed by the complex coacervation method of two natural polymers, sodium alginate and gelatin.

The objective of this present work is to encapsulate and protect the active ingredient of various parameters that influence oxytetracycline such as temperature and pH of the medium.

For this, the microcapsules were characterized by several techniques: infrared spectroscopy (FTIR), SEM, DRX, UV-visible. Thus the study of the kinetics of release in the two mediums simulated SGF gastric and intestinal SIF, in order to determine the behavior of microcapsules in media with different pH.

**Key words:** Microencapsulation, microcapsules, oxytetracycline antibiotic, gelatin, sodium alginate, coacervation.

## الملخص

يركز العمل الحالي على الكبسولة المصغرة للمضاد الحيوي (نتراسيكلين) تم تنفيذ هذه التقنية من خلال طريقة التكييف المعقدة لاثنين من البوليمرات الطبيعية ألجينات الصوديوم والجيلاتين. الهدف من هذا العمل الحالي هو تغليف وحماية العنصر النشط من البارامترات المختلفة التي تؤثر على الأكسيتتراسيكلين مثل درجة الحرارة ودرجة الحموضة في الوسط الحيوي. لهذا ميزت المبيكروكيسولات عن طريق عدة تقنيات: التحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء (FTIR)، و SEM، و DRX، والأشعة فوق البنفسجية المرئية، وبالتالي فإن دراسة حركية الإطلاق في كلا الوسيطتين تحاكي SGF المعدة والمعوية SIF، من أجل تحديد السلوك من وكيسولات المبيكرو في وسط الحيوي. مع درجة الحموضة مختلفة.

الكلمات الرئيسية: الكبسولة الدقيقة، كبسولات مصغرة، مضادات الأوكسي نتراسيكلين، الجيلاتين، ألجينات الصوديوم، الكواسرفت.

# Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction général ..... 1

Chapitre I. La microencapsulation et les différentes techniques de préparation des microcapsules.

I. 1. Microencapsulation .....	3
I. 1.1. Définition .....	3
I. 1.2. Type des microcapsules .....	4
I. 1.3. Propriété de la membrane .....	4
I. 1.4. Intérêts de l'encapsulation .....	5
I. 1.5. Domaines d'application .....	6
I. 1.6. Les méthodes d'encapsulation .....	
I. 2. Le phénomène de la coacervation complexe .....	7
I. 2.1. Définition .....	7
I. 2.2. Utilisation et application .....	7
I. 2.3. Formation des complexes .....	7
I. 2.4. Le procédé de microencapsulation par coacervation complexe.....	8
I. 3. Libération contrôlée d'un principe actif (PA) .....	9
I. 3.1. Définition .....	9
I. 3.2. Mécanismes de la libération contrôlée .....	10
I. 3.4. Paramètres influençant la libération d'un PA .....	11

Chapitre II. Les Antibiotiques et les polymères naturels utilisés

II. 1. Les antibiotiques.....	12
II. 1.1. Définition .....	12
II. 1.2. Classement des antibiotiques .....	12
II. 1.3. Les tétracyclines .....	13
II. 1.3.1. Définition .....	13
II. 1.4. Oxytétracycline .....	14
II. 1.4.1. Propriétés physicochimiques .....	14
II. 1.4.2. Mécanisme d'action .....	15
II. 1.4.3. Utilisation et application .....	15
II. 2. Les polymères .....	16

II.2.1. Définition d'un polymère .....	16
II.2.2. Classification selon l'origine .....	16
II.2.3. Les propriétés des biopolymères .....	16
II.2.4. L'alginate de sodium .....	18
II.2.4.1. définition .....	18
II.2.4.2. Composition chimique .....	18
II.2.4.3. Application de l'alginate de sodium .....	20
II.2.4.4. Propriétés physiques et chimiques .....	21
II.2.5.1. La gélatine .....	23
II.2.5.1. Définition .....	23
II.2.5.2. Structure moléculaire de la gélatine .....	23
II.2.5.3. Caractères Généraux .....	24
II.2.5.4. Critères de choix de la gélatine en chimie pharmaceutique. ....	25
II.2.5.5. Conditions d'une gélification complète .....	25
II.2.5.6. Les microcapsules de gélatine .....	25

## Partie expérimentale

### Chapitre III. Matériels et méthodes

III.1. Matériels .....	26
III.2 : Méthodes expérimentales. ....	29
III.2.1. Contrôle physicochimique de la matière première .....	29
III.2.1.1. Caractérisation du principe actif (l'oxytétracycline) .....	29
III.2.1.2. Caractérisation de l'excipient [la gélatine] .....	30
III.2.1.3. Caractérisation de l'excipient [l'alginate de sodium] .....	32
III.2.2. Préparation des microcapsules .....	33
III.2.3. Méthodes de caractérisation et d'analyses .....	33
III.2.3.1. Aspect .....	33
III.2.3.2. Influence de la température sur les capsules .....	33
III.2.3.3. Caractérisation par spectroscopie UV-VIS .....	34
III.2.3.4. Taux d'encapsulation de l'oxytétracycline .....	36
III.2.3.5. Caractérisation par spectroscopie infrarouge (IR-TF) .....	36
III.2.3.6. Microscopie électronique à balayage (MEB) .....	37
III.2.3.7. Diffraction de rayons X .....	48
III.2.3.8. La libération de l'oxytétracycline .....	49

### Chapitre IV. Résultats et discussions

IV.1. Résultats de contrôle physicochimique de la matière première .....	41
IV.1.1. Caractérisation du PA (l'oxytétracycline) .....	41
IV.1.2. Résultat de la Caractérisation de l'excipient [la gélatine] .....	41
IV.1.3. Résultat de la Caractérisation de l'excipient [l'alginate de sodium] .....	44

IV.2.Résultats du contrôle physicochimique des microcapsules .....	45
IV.2.1.Aspect .....	45
IV.2.2. Les Résultats d'Influence de la température sur les capsules .....	45
IV.2.2.3. Les Résultats de la Spectroscopie UV-VIS .....	45
IV.2.2.4. Le Résultat Taux d'encapsulation .....	46
IV.2.2.5. Les Résultats de l'Analyse IR-TF .....	47
IV.2.2.6. Les Résultats de la Microscopie électronique à balayage (MEB) .....	50
IV.2.2.7.Les Résultats des de l'analyse DRX .....	51
IV.2.2.8.Les Résultats de La libération de l'oxytétracycline .....	56
 Conclusion générale .....	 58
 Références bibliographiques	

# Liste des figures

<b>Figure I.1</b> : Représentation schématique des deux types de microparticules .....	4
<b>Figure I.2</b> : Les différents procédés d'encapsulation .....	6
<b>Figure I.3</b> : Schématisation de l'interaction entre polymères de charges opposées et formation de complexes polyélectrolytes.....	7
<b>Figure I.4</b> : Principe du procédé de microencapsulation par coacervation complexe.....	8
<b>Figure I.5</b> : Microréacteurs et systèmes à libération déclenchée et prolongée .....	9
<b>Figure II.1</b> : structure moléculaire de l'oxytétracycline.....	14
<b>Figure II.2</b> : site de fixation de l'oxytétracycline au ribosome bactérie .....	15
<b>Figure II.3</b> : Libération contrôlée d'un principe actif.....	18
<b>Figure II.4</b> : Monomères de la chaîne alginate.....	19
<b>Figure II.5</b> : Structure chimique de la chaîne d'alginate de sodium.....	19
<b>Figure II.6</b> : gélification ionotrope de l'alginate modèle « egg-box ».....	22
<b>Figure II.7</b> : liaisons covalentes des ions calcium avec les résidus poly-G des polymères d'alginate.....	22
<b>Figure II.8</b> : Rétention du calcium par un réseau tridimensionnel de segment poly-M ou poly-G définissant une structure de type « egg-box ».....	23
<b>Figure II.9</b> : représentation chimique de la structure typique de la gélatine.....	24
<b>Figure III.1</b> : pH mètre.....	30
<b>Figure III.2</b> : viscosimètre vibrant.....	31
<b>Figure III.3</b> : étuve réglé à 30°C.....	33
<b>Figure III.4</b> : spectrophotomètre UV-visible.....	35
<b>Figure III.5</b> : spectrophotomètre FT-IR.....	37
<b>Figure III.6</b> : le microscope à balayage électronique MEB.....	38
<b>Figure III.7</b> : diffractomètre Rx.....	39



<b>Figure IV.1</b> : Test d'hydratation de la gélatine dans l'eau. (a) avant hydratation (b) après hydratation.....	42
<b>Figure IV.2</b> : Courbe montrant l'influence de la concentration sur la viscosité de la gélatine à (18°C)....	43
<b>Figure IV.3</b> : Courbe montrant l'influence de la température sur la viscosité de la gélatine à 2%(w/v).....	44
<b>Figure IV.4</b> : Microcapsules obtenues (a) sèches et (b) humide dans la solution de préparation.....	45
<b>Figure IV.5</b> : Spectre UV-visible de l'OTC dans l'eau distillé.....	45
<b>Figure IV.6</b> : Courbe d'étalonnage de l'oxytétracycline dans l'eau distillée.....	46
<b>Figure IV.7</b> :spectre infrarouge de la gélatine.....	47
<b>Figure IV.8</b> :Spectre infrarouge de l'alginate de sodium.....	48
<b>Figure IV.9</b> : Spectre infrarouge de l'oxytétracycline.....	48
<b>Figure IV.10</b> : Spectres IR-TF du l'oxytétracycline et des microcapsules contenant l'oxytétracycline en superposition.....	49
<b>Figure IV.11</b> : Micrographies par MEB des microcapsules contenant de l'OTC.....	50
<b>Figure IV.12</b> : Micrographies par MEB de l'oxytétracycline.....	50
<b>Figure IV.13</b> : Diffractogramme RX de l'alginate de sodium.....	51
<b>Figure IV.14</b> : Diffractogramme RX de la gélatine.....	52
<b>Figure IV.15</b> : Diffractogramme RX de l'oxytétracycline.....	53
<b>Figure IV.16</b> : Diffractogramme RX de la microcapsule vide.....	54
<b>Figure IV.17</b> : Diffractogramme RX des microcapsules chargées d'OTC.....	55
<b>Figure IV 18</b> : Cinétique de libération in vitro de l'oxytetracycline contenu dans les microcapsules.....	56

# Liste des tableaux

<b>Tableau I. 1 : Domaines d'applications de la microencapsulation.....</b>	<b>5</b>
<b>Tableau II.1 : propriété physicochimique de l'alginat de sodium.....</b>	<b>20</b>
<b>Tableau II.2: propriété physicochimique de la gélatine.....</b>	<b>21</b>
<b>Tableau III.1 : matériels utilisé .....</b>	<b>27</b>
<b>Tableau III.2 : produits utilisé.....</b>	<b>28</b>
<b>Tableau IV.1 : Résultats des analyses physicochimique effectuées sur l'oxytétracycline... </b>	<b>41</b>
<b>Tableau IV.2 : Résultats des analyses physicochimique effectuées sur la gélatine.....</b>	<b>41</b>
<b>Tableau IV.3 : Résultats des analyses physicochimique effectuées sur l'alginat de sodium.....</b>	<b>44</b>

# Liste des abréviations

**GEL** : gélatine

**Alg** : alginat de sodium

**OTC** : oxytétracycline

**$\eta$**  : Viscosité intrinsèque

**$\mu\text{m}$**  : Micromètre

**Nm** : nanomètre

**rpm** : Tours par minute

**w** : Fraction massique

**UV-Visible** : Ultra violet-Visible

**IR-TF** : Infrarouge à Transformée de Fourier

**DRX** : Diffraction des Rayons X

**MEB** : Microscopie électronique à balayage

**PA** : Principe actif

**Ce** : concentration présente dans les microcapsules

**Ci** : concentration initial.

**Cs** : concentration dans la solution.

**R<sup>2</sup>** : coefficient de corrélation

**EE** : Taux d'encapsulation

**pH** : potentiel d'hydrogène

**IUPAC** : union internationale de chimie pure et appliquée.

**Qsp** : quantité suffisante pour.

**SGF** : milieu simulé gastrique

**SIF** : milieu simulé intestinal

# **Introduction générale**

# Introduction

L'administration d'un principe actif par voie orale est généralement la voie la plus commode et la plus utilisée. Une fois administré par la bouche, le principe actif passe rapidement à la partie gastro-intestinale. Cette voie présente quelques inconvénients lorsqu'il s'agit d'administrer des principes actifs qui sont caractérisés par une faible biodisponibilité ou qui sont peu stables en milieu physiologique. Pour cela une nouvelle stratégie thérapeutique est actuellement développée afin d'augmenter la biodisponibilité et donc l'efficacité des médicaments; il s'agit de l'encapsulation du principe actif dans des matériaux polymères biodégradables. En général, dans l'industrie pharmaceutique, l'encapsulation vise à réduire la toxicité et les effets secondaires d'un principe actif, à augmenter sa solubilité et/ou sa stabilité et à favoriser une libération dans l'organisme. Elle permet surtout de réduire l'irritation du tractus gastro-intestinal due à des médicaments administrés par voie orale.

Ces dernières années, les microcapsules ont fait leur apparition dans de nombreux domaines d'application aussi divers et variés que les cosmétiques, l'industrie pharmaceutique, l'agroalimentaire, les encres ou bien encore les engrais. La microencapsulation est une technique à laquelle a recours un grand nombre d'industries impliquées dans la fabrication de produits formulés; elle consiste à incorporer une ou plusieurs molécules dans des petites sphères creuses ou poreuses de 10 à 500 micromètres de diamètre. Ces molécules sont alors protégées de l'environnement et peuvent être libérées hors de la microsphère, pendant des temps plus ou moins longs variant de quelques heures à plusieurs mois, dans des conditions précises de pH, de température, ou d'autres contraintes spécifiques. [1]

L'oxytétracycline appartient à la classe de médicaments appelés *antibiotiques* à large spectre. On l'utilise pour traiter certains types d'infections causées par des bactéries. L'oxytétracycline, substance active du médicament, perturbe la production de protéines de nombreuses bactéries, lesquelles ne peuvent plus se reproduire. Ceci permet à l'infection de guérir et les affections telles que la douleur, la fièvre, les œdèmes ou les rougeurs cutanées disparaissent. [2].

Dans cette étude, la mise au point de microcapsules à base de polymères biodégradables, gélatine et alginate de sodium, devant contenir l'oxytétracycline en tant qu'agent thérapeutique est considérée. La préparation des microcapsules est basée sur la méthode de la coacervation complexe qui est relativement développée et bien maîtrisée.

Ce mémoire porte deux parties s'articulant autour de quatre chapitres :

Une partie bibliographique composée de deux chapitres. Le premier chapitre consiste à présenter le principe de la microencapsulation et les différentes techniques de préparation des microcapsules. Le second chapitre est consacré à une mise au point bibliographique sur la L'oxytétracycline et sur les biopolymères considérés dans ce travail.

Une partie expérimentale composée de deux chapitres; le premier chapitre présente le protocole expérimental et détaillera la méthode de coacervation complexe pour la préparation des microparticules ainsi que les différentes techniques utilisées pour la caractérisation des microparticules (UV-Visible, IRTF, DRX et MEB). Une étude sur la cinétique de libération de l'OTC in vitro, dans deux milieux simulés, le milieu gastrique (PH=1,2) et le milieu intestinal (pH=6,8) est également présentée. Le deuxième et dernier chapitre à l'analyse des résultats obtenus et aux discussions en relation. Enfin, on terminera par une conclusion générale qui résume les résultats essentiels obtenus lors de la réalisation du travail expérimental.

# **PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **I. 1. Microencapsulation**

### **I. 1.1. Définition**

La microencapsulation est un procédé par lequel il est possible de produire des microparticules individualisées et constituées d'un matériau renfermant une matière active à raison de 5 à 90% w. Les microparticules présentent une taille comprise entre 1  $\mu\text{m}$  et 1 mm. Les buts de l'encapsulation peuvent être multiples : protéger une substance, masquer une odeur ou bien encore permettre de contrôler, de déclencher et/ou de cibler la libération d'un principe actif. La microencapsulation s'applique à de nombreux domaines tels que l'agroalimentaire, la pharmacie, les cosmétiques ou bien encore les catalyseurs. Selon les propriétés d'usages recherchées des microparticules, les techniques d'obtention peuvent varier. Les avantages de la microencapsulation sont sa grande efficacité d'action, son action longue durée, sa commodité d'utilisation, sa réactivité retardée, la protection du principe actif, la transformation de l'aspect de la substance (passage de l'état liquide à l'état solide), la possibilité de transporter un agent thérapeutique de façon sélective sur un site donné sans oublier le faible coût du procédé. [3].

### **I.1.2. Type des microcapsules**

Deux types de morphologies de microparticules peuvent être obtenues: la microsphère et la microcapsule (figure I.1). Sur cette figure le mot polymère englobe tous les matériaux utilisés pour être utilisés sur le format sur la membrane ou la matrice: les macromolécules, les protéines, les lipides, les synthétiques ... Les microcapsules sont des systèmes de réservoirs constitués d'un liquide ou solide avec un locataire actif, entouré d'une enveloppe continue de matériau enrobant. Tandis que les microsphères sont des systèmes matriciels où la substance active est dispersée au sein d'un réseau de polymères. Le taux d'encapsulation est de l'ordre de 85 à 90% dans les microcapsules, contre 20 à 35% dans les microsphères. En termes de contenance, le système microcapsule est donc plus intéressant que la microsphère. Les profils de relargage diffèrent aussi entre microsphères et microcapsules. La morphologie des microparticules est ainsi déterminée et en fonction de l'application recherchée. Pour les microsphères les profils de relargage sont généralement contrôlés par la diffusion avec un taux de relargage cilié contrôlé par la taille de la capsule, et que les microcapsules relarguent rappellent la totalité de leur contenu lorsque l'on se brise. [4].



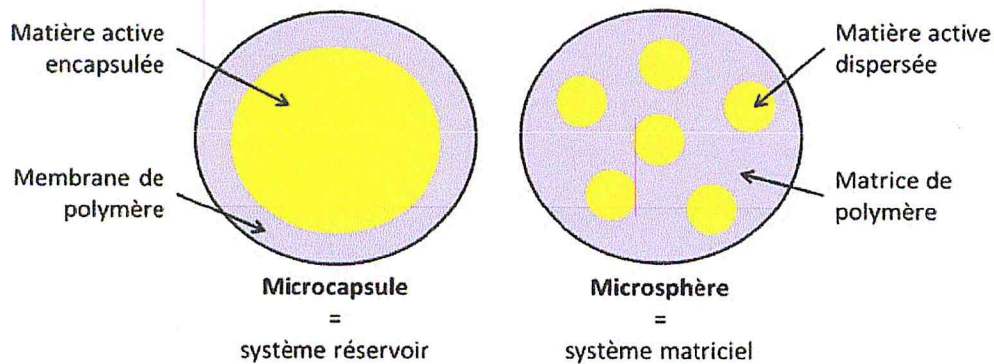


Figure I.1.: Représentation schématique des deux types de microparticules.

### I.1.3. Propriété de la membrane

La perméabilité de la membrane dépend de plusieurs paramètres qui sont :

- L'épaisseur de la membrane
- La morphologie de la surface de la membrane
- La densité de réticulation la membrane
- Le taux de cristallinité du polymère
- La structure chimique du polymère.

### I.1.4. Intérêts de l'encapsulation

- Masquage du goût, des odeurs
- Huiles de conversion ou liquides en solides (manutention)
- Protection du PA encapsulé (humidité, chaleur, lumière, oxydation)
- Retarde la volatilisation
- Séparation de matériaux incompatibles
- de l'écoulement des poudres
- Manipulation facilitée des PA toxiques
- Aide la dispersion dans l'eau de composés insolubles

### Sur le plan pharmaceutique

- Protection de l'environnement
- Diminution de la toxicité du PA
- Libération contrôlée (ou prolongée) du PA
- Ciblage notion de «vecteurs». [4]

**I.1.5. Domaines d'application**

Les microparticules présentent un très large champ d'applications puisqu'il va du domaine pharmaceutique au domaine alimentaire en passant par la cosmétique, la parfumerie, les produits phytosanitaires, la chimie, le domaine biomédical... Une des premières applications de la microencapsulation a été le papier autocopiant sans carbone à base de microcapsules d'encre sensibles à la pression. Depuis les années 80, la communication olfactive s'est développée sous forme d'encarts parfumés dans les magazines pour faire connaître un parfum ou un adoucissant. Des encres contenant des microcapsules enferment le parfum et le libèrent au moment opportun. Récemment, le domaine du textile utilise les microparticules pour parfumer les tissus ou déposer sur la peau des actifs cosmétiques. D'autres applications sont à l'étude comme les répulsifs pour insectes, les colorants, les vitamines, les antimicrobiens ou encore les cristaux liquides. Dans le domaine pharmaceutique, certaines stratégies de délivrance sur site telles que la chimio-embolisation ou l'implantation intracrânienne sont spécifiques aux microparticules. Quelques exemples des matériaux les plus utilisés principalement dans le domaine pharmaceutique et des procédés correspondants sont décrits dans le tableau suivant. [5]

**Tableau I. 1 : Domaines d'applications de la microencapsulation [5]**

Domaine industriel	Exemples de composés encapsulés
Pharmacie et médical	Antibiotiques, contraceptifs, enzymes, vaccins, bactéries, vitamines, minéraux, antigènes, anticorps...
Cosmétique	Parfums, huiles essentielles, anti transpirants, agents bronzants, crèmes solaires, colorants capillaires, baumes démêlants, mousses à raser...
Alimentaire	Huiles essentielles, graisses, épices, arômes, vitamines, minéraux, colorants, enzymes, levures, micro organismes...
Agriculture	Herbicides, insecticides, engrais, répulsifs, hormones végétales...
Biotechnologie	Enzymes immobilisées, microorganismes, cellules vivantes, cellules artificielles, cultures tissulaires, composés nutritionnels...
Chimie	Catalyseurs, enzymes, additifs pour plastiques, eau (plâtre et béton), inhibiteurs de corrosion, retardateurs d'incendie, colorants et pigments, agents UV protecteurs, parfums, huiles essentielles, agents lubrifiants...
Détergents	Adoucissants, antistatiques, agents décolorants, agents moussants, silicones, cires, détachants...
Textile	Colorants, parfums, pigments, bactéricides, fongicides, répulsifs d'insectes, agents antistatiques, retardateurs d'incendie, agents imperméabilisants, adhésifs, composés bioactifs médicaux, composés bioactifs cosmétiques
Graphismes et impression	Colorants, pigments, parfums, révélateurs, cristaux liquides, toners, composés photosensibles...
Photographie	Halogénures d'argent, pigments, colorants, composés photopolymérisables, révélateurs pour photographies couleurs, plastifiants...
Electronique	Cristaux liquides, matériaux semi-conducteurs, adhésifs, agents de séchage, retardateurs de flammes, antistatiques...
Traitement des déchets	Microorganismes, substrats, détoxifiants, déchets liquides (solidification), déchets industriels à risques, déchets radioactifs...

### I.1.6. Les méthodes d'encapsulation

Les méthodes d'encapsulation sont variées et peuvent être classées dans trois grands groupes:

**Les procédés physico-chimiques :** tels que la séparation des phases de coacervation (simple ou complexe), l'évaporation, l'extraction de solvant et la gélification thermique d'émulsion.

**Les procédés mécaniques :** tels que la nébulisation / séchage, la gélification ou la congélation de gouttes, l'enrobage en lit fluidisé et l'extrusion / sphéronisation.

**Les procédés chimiques :** tels que la polycondensation interrassiale, la polymérisation interrassiale et la polymérisation en milieux dispersés (émulsion en micro suspension ...) par voie radicale ou anionique.

Les nombreux polymères utilisés dans les procédés d'encapsulation physico-chimiques, tels que le chitosane, l'alginate, la carboxyméthylcellulose, les carraghénanes, la gélatine, la pectine et les protéines. [6].

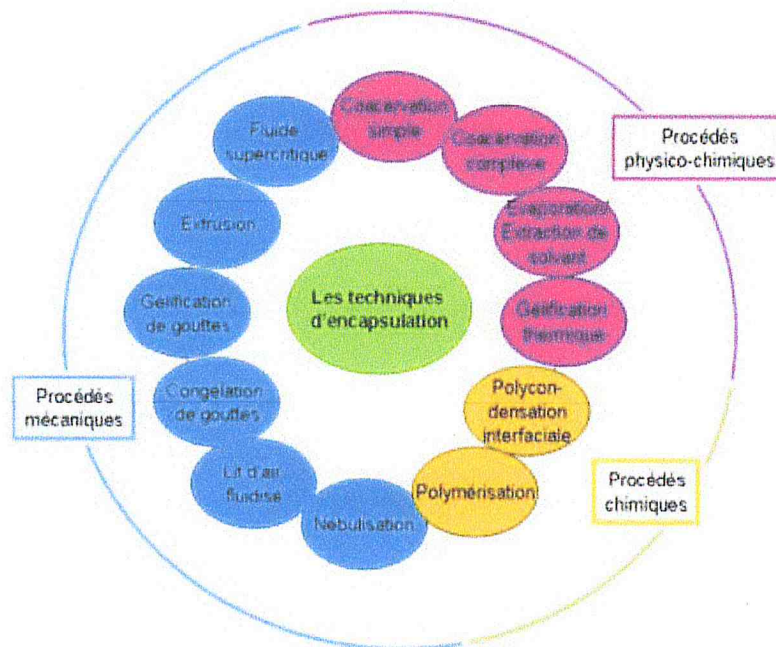


Figure I.2 : Les différents procédés d'encapsulation.

## I.2. Le phénomène de la coacervation complexe

### I.2.1. Définition

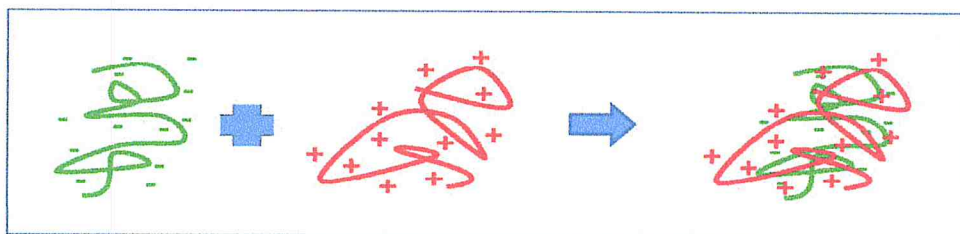
La coacervation complexe est définie comme une séparation de phase liquide-liquide dans un système colloïdal, induite par des interactions électrostatiques entre deux polymères de charges opposées [IUPAC, 1997]. La phase la plus concentrée est le coacervat et l'autre phase est la solution d'équilibre. La désolvatation simultanée des deux polyélectrolytes hydrosolubles portant des charges opposées est le plus souvent provoquée par une modification de pH du milieu aqueux. Le coacervat complexe est ainsi formé par précipitation de deux polymères de charges électriques opposées en interaction électrostatique. La structure du coacervat est complexe puisqu'elle comprend deux polymères. [6].

### I.2.2. Utilisation et application

L'encapsulation par coacervation complexe est typiquement utilisée pour protéger les huiles aromatiques, les huiles de poisson, les vitamines, les conservateurs et les enzymes. Bien que cette méthode soit essentiellement employée pour l'encapsulation de composés lipophiles, elle peut aussi être utilisée pour l'encapsulation composée hydrophiles. L'encapsulation d'acide ascorbique a été réalisée avec succès en utilisant la technique de la double émulsion. [7]

### I.2.3. Formation des complexes

La coacervation complexe se produit lorsqu'un déplacement du pH vers le point isoélectrique de l'un des deux polymères laisse les deux polymères avec des charges électriques opposées. Il se crée alors des actions électives qui conduisent à la formation de complexes solubles neutres face à une interaction attractive (Figure I.3). L'association de ces complexes conduit à la formation de complexes insolubles qui forment alors des gouttes liquides composées de polymères et de molécules de solvant, le coacervat est donc un ensemble de gouttes qui grossissent et coalescent par la modification du pH. La formation des coacervats dépend de plusieurs facteurs physico chimiques dont les principaux sont le pH, la force ionique, le ratio protéine/polysaccharide et la concentration en biopolymères. [8].



**Figure I.3 :** Schématisation de l'interaction entre polymères de charges opposées et formation de complexes polyélectrolytes.

### I.2.4. Le procédé de microencapsulation par coacervation complexe

Le procédé de microencapsulation par coacervation complexe se déroule de la façon présentée dans la figure suivante (figure I.4) :

- ❖ Dans un premier temps, le produit à encapsuler (sous forme liquide ou solide) est dispersé dans une solution aqueuse contenant les deux polymères (phase a).
- ❖ Dans un deuxième temps, la coacervation est induite par un ajustement du pH de la solution, de façon que les charges positives du premier polymère équilibrent les charges négatives du second (phase b). L'attraction électrostatique des deux polyélectrolytes provoque l'apparition d'un coacervat mixte.
- ❖ Dans un troisième temps, les gouttelettes de coacervat formé viennent s'adsorber (phase c) à la surface de la matière active à encapsuler et former un enrobage continu (phase d).
- ❖ Finalement, cet enrobage est consolidé par réticulation (phase e) des macromolécules constitutives du coacervat. [6].

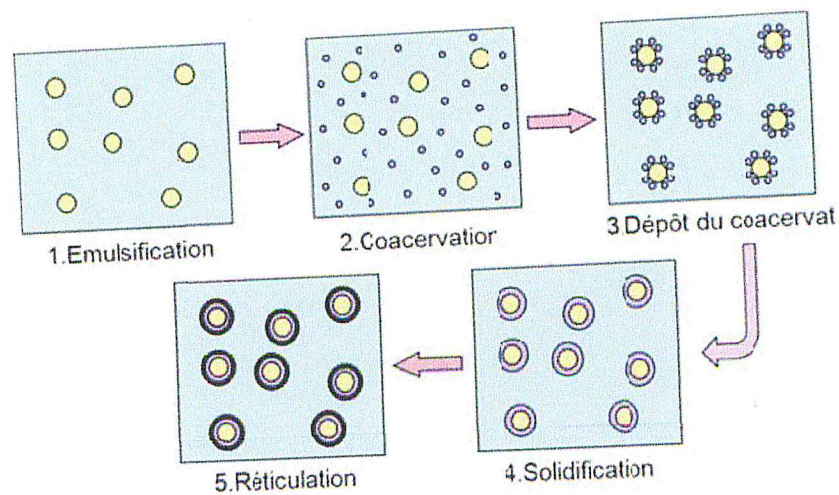


Figure I.4 : Principe du procédé de microencapsulation par coacervation complexe.

### I.3. Libération contrôlée d'un principe actif (PA)

#### I.3.1. Définition :

Par définition, le rôle d'un système à libération contrôlée est de délivrer la bonne quantité d'un PA, au bon endroit et au bon moment. Lorsque l'on considère les interactions matière active/milieu extérieur, les microparticules peuvent être classées en deux catégories: celles qui ne doivent pas libérer leur contenu telles que les microréacteurs contenant des enzymes ou des bactéries, et celles qui sont formulées de façon à libérer la matière active encapsulée. Dans ce dernier cas, il faut distinguer les cas suivants (Figure I.5). [9].

- ✓ Systèmes à libération déclenchée
- ✓ Systèmes à libération prolongée

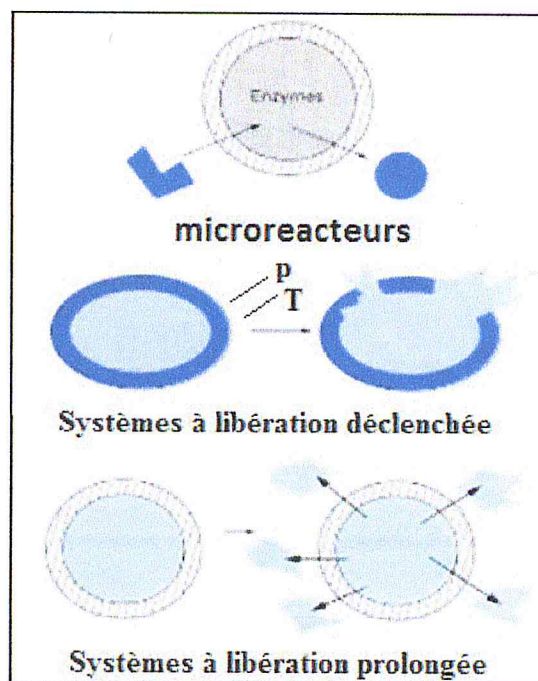


Figure I.5: Microréacteurs et systèmes à libération déclenchée et prolongée.

### I.3.2. Mécanismes de la libération contrôlée

Les systèmes à libération contrôlée possèdent des exigences particulières au (x) matériau(x) impliqué (s), qui sont de nature polymérique sous forme de matériau plein ou d'une membrane.

**A) Systèmes à libération déclenchée** : sont généralement des microcapsules formées d'une membrane de faible perméabilité, qui vont libérer brutalement leur contenu. Les mécanismes de la libération connus dans ce cas sont :

> ***Mécanismes de libération par éclatement*** : sous l'effet d'une pression (mécanique ou osmotique) ;

> ***Mécanismes de libération par fusion*** : sous l'effet de la température

**B) Systèmes à libération prolongée** : Se trouvent généralement associés avec l'utilisation des microsphères. Les mécanismes mis en jeu sont :

> ***Mécanismes de libération par dégradation*** :

La plupart des polymères biodégradables se dégradent par hydrolyse en composés de taille de plus en plus faibles, biologiquement éliminables. La dégradation peut s'effectuer selon une hydrolyse en masse; elle est uniforme dans toute la matrice polymère ou bien se produire uniquement sur la surface du polymère.

> ***Mécanisme de libération par diffusion uniquement*** :

La diffusion se produit quand un principe actif traverse le polymère qui forme le système de libération. La diffusion peut se produire à l'échelle macroscopique à travers les pores dans la matrice ou à l'échelle moléculaire par le passage entre les chaînes de polymères. : [10].

> ***Mécanismes de libération par gonflement suivi d'une diffusion*** :

Parmi les nombreux mécanismes de libération du PA, nous souhaitons décrire plus particulièrement ce mécanisme (le cas étudié). La compréhension des mécanismes de gonflement des polymères dans l'organisme est importante pour permettre de concevoir le système particulier de libération contrôlée et permet d'expliquer les comportements cinétiques de libération. Le PA est dissout ou dispersé au sein d'une matrice polymérique capable d'en sortir.

En premier lieu, le polymère ne subit aucune modification chimique, il n'est pas dégradé, l'eau diffuse simplement à l'intérieur du réseau polymère, le gonfle, ce qui permet aux médicaments

piégés à l'intérieur de se libérer. Les systèmes de libération contrôlée par gonflement sont initialement secs et quand ils sont placés dans le corps, ils absorberont l'eau ou autres fluides du corps et gonfleront. Ces systèmes permettant la diffusion du PA à travers le réseau gonflé dans l'environnement externe. La plus part des matières utilisées dans ces systèmes sont les hydrogels (absorbant de l'eau ou autres fluides sans être dissoudre).

La capacité du gonflement de polymère se manifeste quand le gonflement peut être déclenché par un changement de l'environnement entourant. Dépendant du polymère, le changement environnant peut impliquer le pH, la température, ou la force ionique, et le système peut se rétrécir ou gonfler sur un changement de n'importe lequel de ces facteurs environnementaux. [11].

### **I.3.4. Paramètres influençant la libération d'un PA**

Il est à noter que les paramètres influençant la libération d'un PA encapsulé sont :

- Solubilité du PA dans le milieu de libération et dans la paroi polymérique
- Taux d'encapsulation
- Interactions chimiques entre le PA et polymère
- Caractéristiques morphologique de système de libération (porosité, tortuosité, surface, forme)
- Caractéristiques de polymère tel que poids moléculaire (des études récentes montrent que les polymères de faibles poids moléculaires présentent une porosité plus élevée que d'autre, donc une libération plus élevée. [12]).



## II. les Antibiotiques et les polymères naturels utilisés

### II.1. Les antibiotiques

#### Introduction

Les antibiotiques, sont des agents thérapeutiques d'utilisation courante en médecine, ils sont cependant de découverte récente et ont permis de sauver de nombreuses vies. En 1897, Ernest Duchesne met en évidence les propriétés de certaines moisissures (*Penicillium glaucum*), mais ce n'est qu'en 1928 qu'Alexandre Fleming découvre "officiellement" la pénicilline, et ce n'est qu'en 1943, qu'elle sera produite industriellement. Depuis, le développement de nouveaux antibiotiques est devenu un pôle important de la recherche médicale. Les antibiotiques sont définis par leur activité antibactérienne (spectre d'activité), leur toxicité sélective (mode d'action), leur activité en milieu organique (pharmacologie) et leur absorption et diffusion dans l'organisme (pharmacocinétique).

#### II.1.1. Définition

Le mot antibiotique provient de deux termes Grec anti : contre, et bios : la vie. Les antibiotiques sont des substances chimiques qui ont une action spécifique avec un pouvoir destructeur sur les micro-organismes. Ils sont dépourvus de toxicité pour les autres cellules. Ces molécules peuvent avoir une action bactéricide, ou fongicide, leur efficacité peut être également limitée à empêcher le développement des micro-organismes (bactériostatiques ou fongistatiques). Un antibiotique est donc un médicament qui a pour effet de tuer des bactéries de façon ciblée. Il se distingue d'un antiseptique qui détruit tout germe et parfois même la cellule, de manière non ciblée. Les antibiotiques peuvent être classés selon plusieurs critères: l'origine, le spectre d'action, le mécanisme d'action, la classification la plus utile et la plus utilisée est basé sur la structure chimique. [13].

#### II.1.2. Classement des antibiotiques

Les antibiotiques sont classés d'après plusieurs critères :

##### 1. D'après leur spectre d'action

- **Spectre très large**, ex. Tétracycline, ampicilline
- **Spectre large**, ex. Aminoglycosides, rifamicine, fosfomycine
- **Spectre moyen** à prédominance sur les GRAM<sup>+</sup>, ex. Pénicilline, macrolide, novobiocine -  
Spectre étroit, ex. Pour les bacilles GRAM<sup>-</sup> : Quinolone, mecillinam

### 2. D'après leur type d'action

Les antibiotiques et agents chimiothérapeutiques peuvent être classés en :

- **Bactériostatiques** ex. Tétracycline, chloramphénicol, macrolide
- **Bactéricides** ex. Pénicilline, cephalosporine, aminoglycoside

### 3. D'après leur origine

Les antibiotiques et agents chimiothérapeutiques sont extraits de plusieurs sources :

- **Bactéries**: *Licheniformis* : Bacitracine ;
- **Champignons** : *Penicillium notatum* : Pénicilline.
- **Actinomycètes** : *Inyoensis streptomycetes* : Spiromycine

### 4. D'après leur point d'attaque

### 5. D'après leur composition chimique

### 6. D'après leur charge électrique

- **Antibiotiques à caractère acide** : Pénicillines, céphalosporines, tétracyclines, novobiocine, sulfamides, nitrofurantoïne, quinolones ;
- **Antibiotiques à caractère basique** : Aminosides, rifampicines, macrolides, polymyxines
- **Antibiotiques à caractère amphotère** : Tétracyclines.

### 7. D'après le caractère de la résistance bactérienne [14].

## II.1.3. Les tétracyclines

### II.1.3.1. Définition

La tétracycline est un antibiotique bactériostatique à large spectre de la classe des cyclines, produit par une bactérie du genre *Streptomyces*. Elle est indiquée contre nombre d'infections bactériennes à Gram positif, Gram négatif et anaérobies. Les tétracyclines sont des médicaments de choix ou des alternatives bien acceptées pour une variété de maladies infectieuses. C'est à cette grande famille d'antibiotique qu'appartient l'Oxytétracycline. [15]

### II.1.4.Oxytétracycline

C'est une tétracycline de première génération, obtenue par des procédés fermentaires à partir de l'actinomycète *Streptomyces rimosus*. C'est une cycline naturelle de structure de base commune à l'auréomycine (première cycline identifiée) appelée Tétracycline, sur laquelle étaient substitués soit un groupement chloré sur le Carbone 7 (C7) dans le cas de l'auréomycine, soit un groupement hydroxyle sur le C5 dans le cas de la terramycine. Les principes actifs furent renommés respectivement chlortétracycline et oxytétracycline [2]

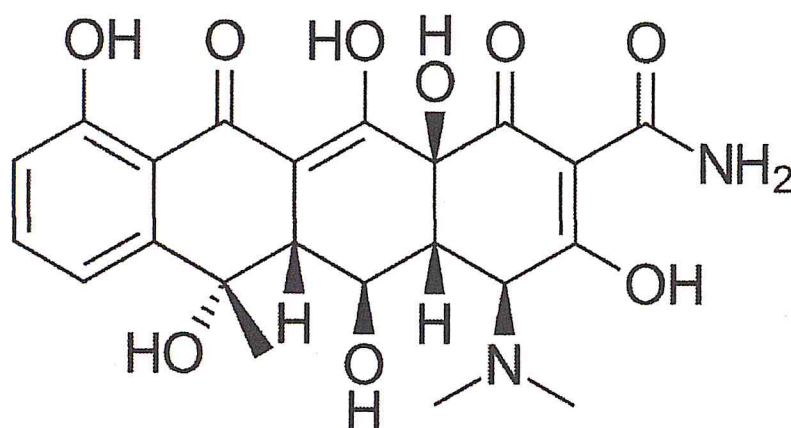


Figure II.1 : structure moléculaire de l'oxytétracycline

#### II.1.4. 1. Propriétés physicochimiques

- **Nom:** Oxytétracycline
- **Aspect:** poudre jaune
- **Classe :** médicalement (antibiotique)
- **Masse molaire :** 460.44 g/mol
- **Formule brute:**  $C_{22}H_{24}N_2O_9$
- **Température de fusion :** 182°C (décomposition)
- **Solubilité :** 313 mg·L<sup>-1</sup> eau à 25 °C

#### II.1.4. 2. Mécanisme d'action

Il est aujourd'hui largement reconnu que les tétracyclines inhibent la synthèse protéique bactérienne en empêchant l'association de l'aminocyl-ARNt avec le ribosome bactérien. Pour interagir avec sa cible, l'oxytétracycline doit préalablement traverser un ou plusieurs systèmes membranaires dépendant du caractère Gram de la bactérie. La liaison de l'oxytétracycline avec le ribosome est réversible, ce qui explique l'effet bactériostatique de cet antibiotique. Il existe un unique site de fixation de haute affinité avec la sous unité 30S du ribosome aboutissant à une rigidification de l'ensemble et empêchant la fixation des aminocyl-ARNt sur le ribosome. Il en résulte un blocage de la synthèse protéique par inhibition de sa phase

d'élongation (Figure II.2). La chélation de l'oxytétracycline par les ions magnésium, fixés sur les ribosomes ou l'ADN paraît être un phénomène secondaire. [16].

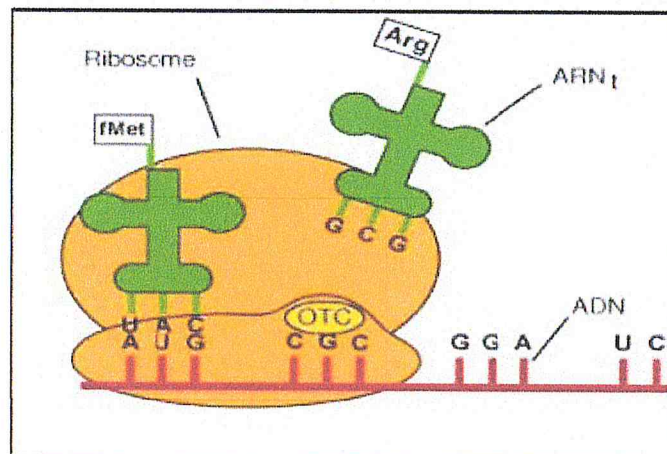


Figure II.2: site de fixation de l'oxytétracycline au ribosome bactérien.

### II.1.4. 3. Utilisation et application

L'oxytétracycline sont utilisées de façon importante depuis les années 50 à large spectre. Les médecins prescrivent entre autres ce médicament pour :

- traiter une grande variété d'infections, C'est un antibiotique qui agit en arrêtant la croissance des bactéries. (Les infections des voies respiratoires, les sinusites, les infections de la gorge et les otites moyennes, Infections des voies urinaires)
- Infections cutanées, entre autres acné et rosacée : Cette affection entraîne des taches rouges vif sur le visage, éventuellement en combinaison avec des boutons, pustules et vaisseaux sanguins visibles.
- Cet antibiotique traite uniquement les infections bactériennes. Cela ne fonctionnera pas pour les infections virales (comme le rhume, la grippe). L'utilisation d'antibiotiques, lorsque cela n'est pas nécessaire, peut empêcher le traitement d'infections futures.
- l'oxytétracycline peut également être utilisée en association avec des médicaments antiulcéreux pour traiter certains types d'ulcères de l'estomac [17].

### II.2. Les polymères :

#### II.2.1. Définition d'un polymère

Un polymère est une macromolécule formée de l'enchaînement covalent d'un très grand nombre d'unités de répétition qui dérivent d'un ou de plusieurs monomères qui sont également appelés motifs et préparée à partir de molécules appelées monomères. [18]

#### II.2.2. Classification selon l'origine

Les polymères classés selon l'origine peuvent être:

- Polymères naturels : ce sont des composés organiques formant la matière vivante, comme les protéines, les acides nucléiques, la cellulose, la chitine...
- polymères obtenus par modification chimique d'un polymère naturel, exemple: la méthylcellulose.
- Polymères synthétiques: ce sont les matières plastiques, les élastomères, les fibres, les adhésifs. [18]

#### II.2.3. Les propriétés des biopolymères

De par leur structure chimique, les biopolymères présentent des propriétés particulières et intéressantes utilisés dans des domaines très variés tels que l'emballage, l'agriculture, la construction, l'automobile, l'électronique et le textile. Ils sont également employés pour des applications à forte valeur ajoutée dans le domaine médical [19].

##### A. La biodégradabilité

Le terme biodégradable est donné aux polymères d'origine naturelle c'est-à-dire réservé aux biopolymères qui ont la capacité de se dégrader sous l'action de microorganismes. Leurs décompositions moléculaire et chimique conduisent à la formation de CO<sub>2</sub> et d'H<sub>2</sub>O en présence d'oxygène (ou à la formation de CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub> et d'H<sub>2</sub>O en milieu anaérobie, plus une nouvelle biomasse. La biodégradation d'un biopolymère dépend de différents facteurs que l'on peut regrouper en trois grandes catégories :

**Les paramètres physico-chimiques :** du milieu de dégradation: La température favorise l'activité microbienne; la teneur en eau du milieu doit être suffisante pour permettre aux fonctions des micro-organismes de s'exprimer. Le pH, la présence d'oxygène et l'action des UV vont également influencer sur le phénomène. On comprend aisément que la dégradation ne sera pas la même dans un désert, en haute montagne ou dans un marécage.

**Les paramètres microbiologiques :** du milieu de dégradation: selon le matériau considéré, la nature et l'abondance des micro-organismes présents sur le site vont avoir un impact sur la vitesse de dégradation. [19]

**La structure chimique et la morphologie du polymère :** constituant le matériau: Un

matériau hydrophile, poreux et possédant une faible masse molaire aura une vitesse de dégradation supérieure à celle d'un matériau massif et dense. Pour être conformes aux normes et respecter les temps de dégradation imposés, certains produits ne peuvent parfois pas dépasser quelques dizaines de microns d'épaisseur. La cristallinité du polymère, qui dépend de sa structure mais aussi des conditions de mise en œuvre, a également une influence sur sa biodégradabilité. Les plastifiants et autres additifs vont également modifier les caractéristiques du matériau et influencer sur son aptitude à la biodégradation.

### **B. Perméabilité à la vapeur d'eau**

La plupart des biopolymères comme l'amidon, la cellulose et les protéines sont hydrophiles, ce qui leur confère des propriétés de perméabilité à la vapeur d'eau. Ces propriétés sont dues notamment à la présence de fonctions polaires hydroxyle et/ou amine qui ont une forte réactivité avec l'eau par formation de ponts hydrogènes; ce qui leur confère aussi une propriété antistatique. [19]

### **C. Biocompatibilité et biorésorbabilité**

Un matériau biocompatible est un matériau qui est capable d'assurer une fonction avec une réponse appropriée et sans effets indésirables sur l'environnement biologique dans lequel il est appelé à fonctionner. La réponse biologique d'un matériau dépend de 3 facteurs: ses propriétés, la caractéristique de l'hôte et la demande fonctionnelle pour le matériau. Les biopolymères par leur origine naturelle, remplissent logiquement cette fonction et les implants médicaux en matériau inerte comme les céramiques sont de plus en plus remplacées par des polymères d'origine naturelle. En plus de la biocompatibilité, on recherche également pour des applications médicales spécifiques des matériaux pouvant se décomposer tout naturellement dans l'organisme humain pour être remplacés après par un tissu vivant. Les biopolymères sont dégradés naturellement dans l'organisme humain par hydrolyse (enzymatique) et libèrent des molécules assimilables et non toxiques. En pharmacologie, les médicaments à libération contrôlée sont des exemples d'application où la biorésorbabilité des polymères joue un rôle important comme il est illustré dans la Figure II.3. [20].

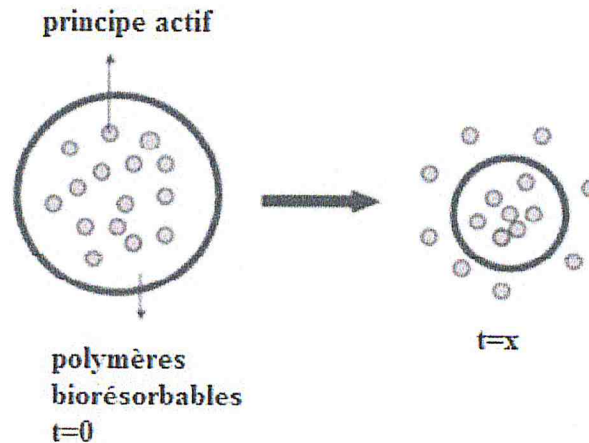


Figure II.3 : Libération contrôlée d'un principe actif

## II.2.4. L'alginate de sodium

### II.2.4.1. définition

L'alginate de sodium est un polysaccharide de structure linéaire, biopolymère **anionique**, extrait des algues brunes, et il peut être produit par voie bactérienne. Au niveau industriel, il est essentiellement issu de certaines espèces d'algues brunes: *Macrocystis pyrifera* récoltée aux Etats-Unis, *Laminaria digitata*, *Laminaria hyperborea* ou encore *Ascophyllum nodosum* récoltée en Europe. L'alginate est le polysaccharide le plus abondant de ces organismes, constituant plus de 40% de leur poids sec, couramment utilisé dans des applications biologiques notamment dans le domaine de l'encapsulation cellulaire et de la délivrance contrôlée de molécules à effet thérapeutique. Ce succès est dû notamment à son mode de gélification et à sa biocompatibilité largement démontrée dans la littérature. [21]

### II.2.4.2. Composition chimique

Les alginates sont des sels d'acide alginique, constitués de deux monomères saccharidiques de base : acide  $\alpha$  - L - guluronique (G) et acide  $\beta$  - D - mannuronique (M), dont la séquence varie (Figure II.04).

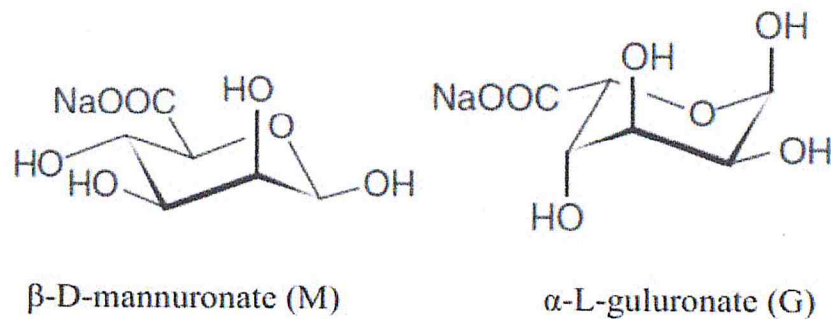


Figure II.4 : Monomères de la chaîne alginate

La séquence des différents blocs (M) et (G) dépend du type d'algue, de son âge ainsi que de la partie dont est isolé l'alginate. La saison de récolte affecte de même la composition en blocs et les séquences

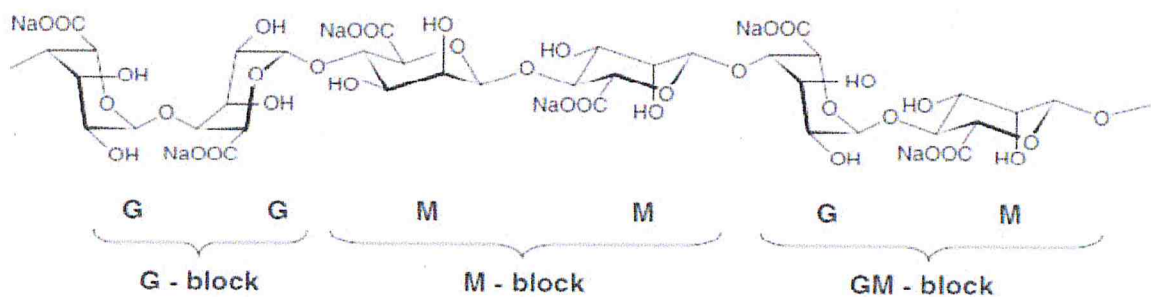


Figure II.5 : Structure chimique de la chaîne d'alginate de sodium

De plus, les alginates possèdent les quatre types de liaisons glycosidiques possibles (figure II.5) : diéquatorial (MM), diaxial (GG), équatorial-axial (MG) et axial-équatorial (GM). La structure des segments polyacide mannuronique est très proche de celle de la cellulose. Les liaisons diéquatoriales entre unités M donnent à ces segments une structure aplatie, de type ruban. Cette structure est stabilisée grâce à des liaisons Hydrogène (Figure II.04). Par exemple, le groupement hydroxyle en C3 du monomère M+1 interagit avec l'atome d'oxygène du cycle du monomère M. [22]

#### II.2.4.3. Application de l'alginate de sodium

L'alginate produit à grande échelle trouve des applications principalement dans les domaines de l'agroalimentaire et textile, pour laquelle environ 80% de la production y est transformée. Ses propriétés colloïdales uniques font qu'il peut être utilisé en tant qu'épaississant, stabilisant, agent filmogène, gélifiant, etc (Tableau II.1). [23]



Tableau II.1 : applications et rôles d'alginate de sodium.

Application	Rôle de l'alginate
<b>Industrie textile (50%)</b>	Épaississant pour les pâtes d'impression, Épaississant et stabilisateur des teintures, Agent d'imperméabilisation. Agent plastifiant et filmogène.
<b>Industrie agroalimentaire (30%) codes E401 à E405</b>	Épaississant, texturant, conservateur, dans de nombreux produits : confitures, jus de fruits, sauces (moutarde, mayonnaise), potages, produits laitiers, stabilisateur dans les crèmes glacées (empêche la formation de cristaux).
<b>Industrie du papier (5%)</b>	Agglomérant pour les fibres, apprêt de surface. Épaississant et stabilisant dans les colles. Maintien des pigments en suspension.
<b>Industrie pharmaceutique (5%)</b>	Stabilisateur d'émulsions, agglomérant dans les comprimés, épaississant et hémostatique dans les pommades, pansements, mèches nasales. Gélifiant dans les pâtes à empreinte dentaire.
<b>Divers (10%)</b>	Épaississant dans les produits de beauté et pâtes à dentifrice, stabilisateur pour les peintures et vernis, Floculant en traitement des eaux, Agglomérant pour les électrodes de soudure, Agent absorbant dans les couches pour bébé.

## II.2.4.4. Propriétés physiques et chimiques

Tableau II.2 : propriété physicochimique de l'alginate de sodium.

<b>Formule brute</b>	(C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>
<b>Aspect</b>	Poudre.
<b>Couleur</b>	Blanche
<b>pH</b>	6,8 - 8 (1% water)
<b>Masse volumique</b>	1,601 g·cm <sup>-3</sup>
<b>Masse molaire</b>	198,1 g/mol
<b>Solubilité</b>	Soluble dans l'eau
<b>T° fusion</b>	>300 °C

**A. Solubilité**

Il existe trois paramètres déterminants limitant la solubilité de l'alginate dans l'eau. Premièrement, Le pH de la solution joue un rôle dans la solubilisation des alginates. Si le pH de la solution contenant l'alginate est inférieure au pKa de l'acide mannuronique (pKa=3,38) ou de l'acide guluronique (pKa= 3,65), alors il peut y avoir séparation de phases voire formation d'un hydrogel. La sensibilité des alginates vis-à-vis du pH de la solution dépend non seulement de la masse molaire mais aussi de la composition chimique et de la séquence des blocs. Les alginates contenant plus de sections alternées (blocs MG) précipiteront à des valeurs de pH plus faibles que les alginates contenant plus de blocs homogènes (poly-M et poly-G). Deuxièmement, la force ionique du solvant joue un rôle important (effet « salting-out ») sur la solubilité de l'alginate en limitant son hydratation en milieu aqueux. Et pour finir, le taux de cations gélifiants présents dans le solvant influence bien évidemment la solubilité de l'alginate. [24]

**B. Gélification**

Les propriétés physiques de l'alginate sont décrites pour la première fois dans les années 1970. La principale caractéristique de l'alginate est sa capacité à gélifier en présence de cations multivalents. Cette transition sol/gel n'est pas influencée par la température. Les sels d'alginates sont solubles dans l'eau et sont capables de gélifier en présence de cations multivalents tels que les ions Ca<sup>2+</sup>, Sr<sup>2+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup> ou encore Al<sup>3+</sup> grâce à la formation d'une jonction impliquant plusieurs chaînes polysaccharidiques. Cette interaction est décrite par le modèle « egg-box » dans lequel chaque ion divalent peut

interagir avec deux résidus G adjacents ou appartenant à deux chaînes opposées (figure II.06) [25]

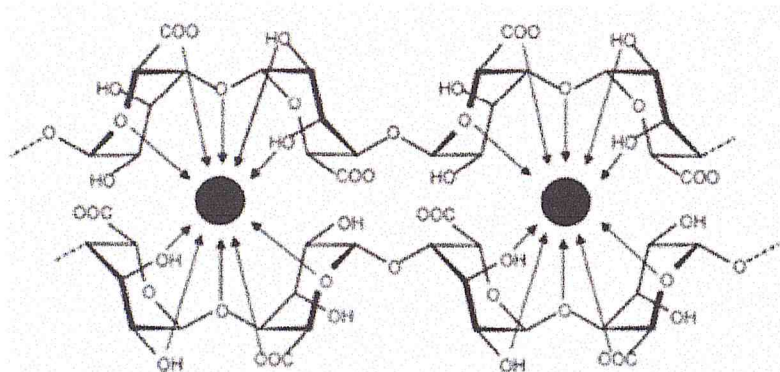


Figure II.6 : gélification ionotropique de l'alginate modèle « egg-box »

L'ion chélateur divalent impliqué dans les liaisons intra et intermoléculaire de l'alginate possède une affinité variable avec les résidus G suivant le type de cation considéré, à savoir :  $Pb > Cu > Cd > Ba > Sr > Ca > Co, Ni, Zn > Mn$ . Le sel de cation divalent généralement utilisé pour la gélification de l'alginate est le chlorure de calcium en raison de sa bonne solubilité en milieu aqueux et de la forte disponibilité en ions calcium qu'il apporte. Il a été montré que 90% des ions sodium contenus dans une solution d'alginate de sodium peuvent être facilement déplacés par les ions calciques. Les ions calcium s'associent préférentiellement aux fragments poly-guluronate plutôt qu'aux fragments poly-mannuronate (figure II.07). En effet, les blocs poly-guluronate, en raison de leur conformation spatiale, permettent une chélation plus énergétique des ions. Ces derniers sont retenus dans une « cage » et interagissent avec les fonctions carboxylates et les atomes d'oxygène des fonctions hydroxyles. Les ions calcium sont beaucoup mieux retenus que par de simples liaisons ioniques.

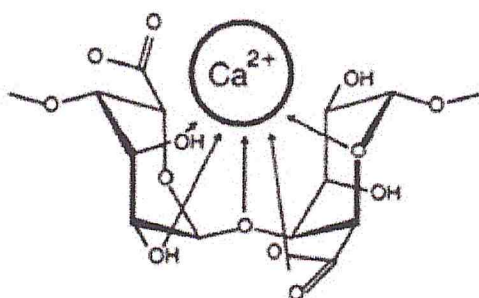
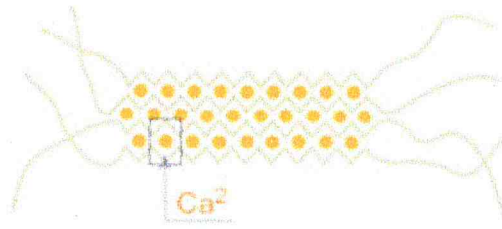


Figure II.7 : liaisons covalentes des ions calcium avec les résidus poly-G des polymères d'alginate.

Cet enchaînement régulier de type « egg box » (figure II.8) se reproduit périodiquement : il se forme un réseau tridimensionnel à zones organisées reliées par les segments poly-M ou

poly-(M-G). La structure du polymère est donc l'élément déterminant du comportement rhéologique des gels d'acide alginique : la proportion des blocs poly-G et leur longueur conditionnent la formation et la force des gels obtenus en présence de calcium. [26]



**Figure II.8:** Rétention du calcium par un réseau tridimensionnel de segment poly-M ou poly-G définissant une structure de type « egg-box ».

## II.2.5. La gélatine

### II.2.5.1. Définition

La gélatine est une protéine d'origine animale, obtenue par hydrolyse partielle du collagène contenu dans les os et la peau des animaux. Elle est constituée de 84 à 90% de protéines et de 1% environ de sels minéraux, le reste étant de l'eau. La gélatine est vitreuse, fragile, légèrement jaunâtre ou blanchâtre et quasiment sans goût et sans odeur. Elle est fournie sous différentes formes: gros granulés, poudre fine ou feuilles. La gélatine non gélifiante est utilisée principalement pour sa valeur riche en protéines. La gélatine est aujourd'hui devenue un produit industriel aux multiples utilisations. Elle est très utilisée pour ses applications culinaires, pharmaceutiques, photographiques et techniques ; mais c'est aussi un ingrédient primordial dans l'industrie agro-alimentaire. [27]

### II. 2.5.2. Structure moléculaire de la gélatine

La gélatine est la molécule de collagène dénaturé, dont sa formule générale est:  $-(NH-CHR-CO)_n-$  où R ou R représente le groupement latéral d'un acide aminé. Elle peut contenir entre 300 et 4000 unités d'acides aminés. La séquence de ces derniers se présente de la manière suivante -Ala-Gly-Pro-Arg-Gly-Glu-4Hyp-Gly-Pro- comme le représente le schéma suivant : [28]

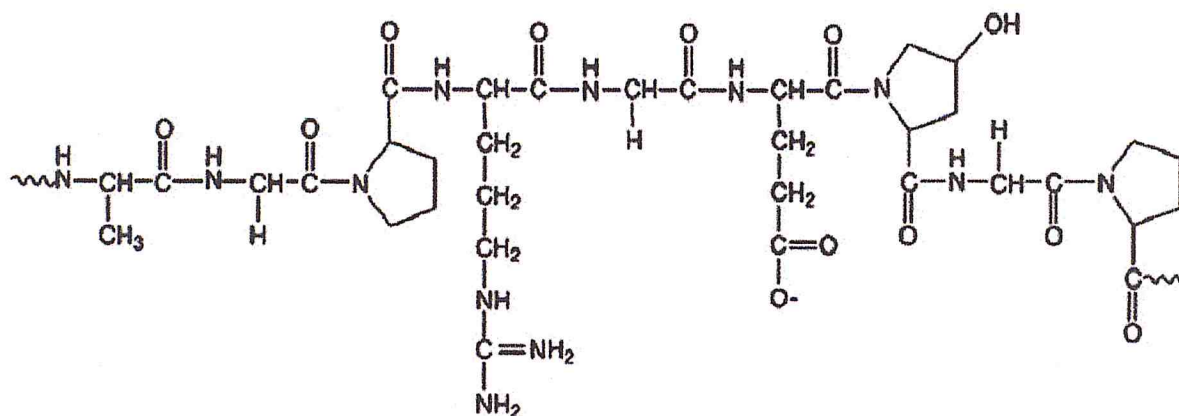


Figure II.9 : Représentation chimique de la structure typique de la gélatine

### II. 2.5.3. CARACTERES GENERAUX

#### Propriétés physicochimique

Gonfle dans l'eau froide, et elle entièrement soluble dans l'eau chaude. Dégradée par les températures très élevées qui baissent sont pouvoir gélifiant : ne jamais faire bouillir la gélatine. A l'ébullition, elle produit une mousse abondante comme le lait, et elle se dégrade rapidement. En outre, elle est très sensible à l'action des bactéries. [29]

Tableau II.3: propriété physicochimique de la gélatine

aspect	Poudre jaune
Origine	animal ou végétal
Description Chimique	Protéine
Densité	1,035 - 1,040
pH	3,5 - 4,5
Température de prise en gel	2,5g/L - 3g/L environ 10°C
Humidité	15 % au maximum
Viscosité (sol à 6,67 à 60°C)	30 à 36 mp.s

### II. 2.5.4. Critères de choix de la gélatine en chimie pharmaceutique

- Pouvoir gélifiant et épaississant
- Pouvoir filmogène
- Pouvoir émulsifiant
- Pouvoir foisonnant
- Pouvoir stabilisant
- Pouvoir moussant [29]

### II. 2.5.5. Conditions d'une gélification complète

- La durée : le gel se forme immédiatement à 10°C, mais il faut environ 16 heures pour atteindre la gélification maximale. La concentration qui doit dépasser 0,8% au minimum. Cette dernière est appelée la concentration critique de gélification. D'autre part, la force de gel est une fonction non linéaire de la concentration.
- Le pH et la température : plus le pH est bas et la température est élevée, plus la formation de gel est faible. Par contre, une fois le gel est formé, il est peu sensible à l'acidité.
- Le cisaillement, avant gélification: il diminue la force de gel.
- La présence de soluté: le sel diminue légèrement la force du gel, alors que la présence de sucre l'augmente. [30]

### II.2.5.6. les capsules de la gélatine

Presque 90% de la gélatine pharmaceutique se dirigent vers la fabrication des capsules et des gélules. D'une part elle protège les médicaments des effets néfastes de la lumière et de l'oxygène atmosphérique, la contamination et le développement microbien. D'autre part, la gélatine permet de lier les principes actifs du médicament et de prolonger leur durée de conservation. Grâce à une sélection et un dosage rigoureux, la gélatine peut même contrôler la vitesse de libération des principes actifs, soit en l'accélération, soit en la ralentissant (effet retard). Les comprimés enrobés de gélatine représentent un nouveau progrès technologique, l'enrobage de gélatine facilitant l'ingestion du comprimé par les patients. [31]

## **Partie expérimentale**

## Introduction

Dans cette partie, l'élaboration des microcapsules polymériques (alg/gél) contenant le principe actif (L'OTC) d'après la méthode de la coacervation complexes est accomplie et décrite en détails. En premier lieu, nous nous sommes intéressés à la caractérisation des matières premières qui ont servi à cette préparation, principe actif et biopolymères. La description des méthodes de préparation et de caractérisation des microcapsules (UV Visible, IRTF, DRX, MEB) sont amplement présentées dans cette partie de notre partie expérimentale, ainsi l'étude de la libération in vitro des microcapsules contenu l'oxytétracycline dans les deux milieux physiologiques gastrique (pH=1.2) et intestinal (pH=6.8). En deuxième lieu, la discussion des résultats obtenus dans cette étude est présentée sur la base de l'analyse bibliographique réalisée en liaison avec notre thématique.



## III. Matériels et méthodes

## III.1. Matériels

- a. **Equipements** : les équipements utilisés dans cette étude sont mentionnés dans le tableau ci-dessous.

Tableau III.1 : matériels utilisés.

Matériel	Marque
AGITATEUR MAGNETIQUE	HANNA HII90M
PLAQUE CHAUFFANTE	IKA AG601
BALANCE ELECTRIQUE DE PRECISION	OHAUS PIONEER PA64
THERMOMETRE	PRIMA (-50 A +300 °C)
ETUVES	BINDER
MICROSCOPE OPTIQUE	QUANTA 650 FEI
PH METRE	PH 50
REFRIGERATEUR REGLE A 4 °C	
VISCOSIMETRE	Viscosimètre SV10 –Vibro
SPECTROPHOTOMETRE UV VISIBLE	JENWAY 6305
VERRERIES ET CONSOMMABLES	DIFFERENTES TYPES
SPECTROPHOTOMETRE FTIR	JASCO FT/IR 4100

- b. **Réactifs chimiques:** les produits dans cette étude sont mentionnés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau III.1 : produits utilisés.**

produit	Concentration
gélatine commercial	2g/100ml
alginate de sodium	2g/100ml
Oxytétracycline	0.020g (20mg)
Acide chlorhydrique (HCl)	1N
Eau distillée	qsp
acide acétique	2.5%
éthanol	96 %
glutaraldéhyde	25%
Hydroxyde de sodium (NaOH)	0.1N

**III.2 : Méthodes expérimentales.****III.2.1. Contrôle physicochimique de la matière première****III.2.1.1. Caractérisation du principe actif (l'oxytétracycline)**

L'oxytétracycline est parmi les substances décrites par la pharmacopée européenne .donc nous allons appliquer les méthodes de référence de cette dernière, en respectant ses normes.

**a. Aspect**

À examiner par une simple analyse visuelle de la fluidité de l'homogénéité des poudres et par la vérification de la couleur et de l'odeur. [32]

**b. Solubilité**

La solubilité est la quantité maximale de substance qui peut se dissoudre dans un volume déterminé d'un solvant donné. [32]

**Mode opératoire**

Une série de tubes à essai a été préparé contenant chacun une masse de la substance à examiner qui correspond au terme descriptif par rapport au solvant. La solubilité peut s'exprimer en différentes unités : - g/100mL - g/L - mol/L

Ce test est effectué dans l'eau, dans l'alcool et l'acide acétique, solution de gélatine et solution d'alginate.

**c. Détermination du pH**

Le pH est un nombre qui représente conventionnellement la concentration en ions hydrogène ou hydronium d'une solution aqueuse. [33]



**Figure III.1 : pH mètre.**

✓ **Principe**

La détermination du pH est effectuée par mesure de la différence de potentiel entre 2 électrodes plongeant dans la solution à examiner; l'une de celles-ci est une électrode sensible aux ions hydrogène (le plus souvent, une électrode en verre) et l'autre une électrode de comparaison.

**III.2.1.2. Caractérisation de l'excipient [la gélatine]**

**A. Solubilité :**

Même principe et mode opératoire cités pour déterminer la solubilité de l'oxytétracycline

Ce test a été effectué dans l'eau froide et l'eau chaude, acide acétique et éthanol.

**B. Détermination du pH**

✓ **Principe**

Mêmes principe et mode opératoire cités pour déterminer le pH l'OTC. Ce test a été effectué sur une solution aqueuse de 2 g/100 ml.

La valeur du pH doit être comprise entre: 2.5 et 3

### C. Le test d'hydratation

La gélatine est relativement insoluble dans l'eau froide. Lorsque ses grains sont ajoutés à l'eau froide (température ambiante), ils absorbent de l'eau jusqu'à 100 fois leur poids initial et se gonflent rapidement.

Ce test peut être expliqué par la pénétration graduelle de l'eau dans les particules solides effectué pour voir l'hydratation de la gélatine dans l'eau distillée et mesurer le gonflement pour déterminé combien de fois elle peut absorber l'eau par rapport a son volume.

Le Principe est simple, il suffit de mettre une quantité de produit dans une éprouvette ensuite la remplir avec l'eau distillée et attendre jusqu'à ce que la gélatine gonfle complètement puis voir le volume occupé par la gélatine lorsque la limite de gonflement est atteinte.

$$TH = \frac{V(t)}{V(0)}$$

$V(0)$  : volume occupé par la gélatine a l'instant  $t=0$

$V(t)$  : volume de gonflement occupé par la gélatine l'instant  $t$  (états finals).

Dans notre cas la quantité  $V0$  correspond à une masse de gélatine de 1g. [32]

### D. La viscosité

La viscosité peut être définie comme étant la résistance à l'écoulement uniforme et sans turbulence se produisant dans la masse d'une matière. La viscosité dynamique correspond à la contrainte de cisaillement qui accompagne l'existence d'un gradient de vitesse d'écoulement dans la matière, d'où l'origine du qualificatif de dynamique. [34]



Figure III.2 : viscosimètre vibrant.

### Principe de l'appareil

Cet appareil viscosimètre vibrant et est destiné à mesurer la viscosité des fluides. La partie active du viscosimètre est une tige vibrante (Fréquence de 30Hz) animée par une alimentation électrique constante. L'amplitude de la vibration varie en fonction de la viscosité du fluide dans lequel la tige est immergée. Les applications principales de cet équipement sont le contrôle des réactions de polymérisation, le contrôle de la viscosité des encres, ou le contrôle qualité de tout fluide.

Le VC-10 permet de mesurer des viscosités entre 0.3 et 10000mPa·s, entre 0 et 160°C, avec une précision de lecture de 1%. La quantité minimale d'échantillon qui peut être analysé avec cet équipement est de 10 ml.

#### ✓ Mode opératoire

Deux tests de viscosité sont effectués sur plusieurs échantillons de gélatine, Le premier est en fonction de la concentration de la gélatine, le deuxième en fonction de la température.

#### Test 1 :

Ce test a été effectué sur 4 solutions de gélatine de différentes concentrations (1%), (2%), (3%) et (4%) dans l'eau chaude à 40 °C pour la solubilisation de la gélatine dans l'eau. Ensuite refroidir dans le réfrigérateur pour la gélification des solutions. Enfin, la détermination de la viscosité de ces différents échantillons peut être effectuée avec le viscosimètre.

#### Test 2 :

La viscosité d'une solution de gélatine à 2% a été mesurée en fonction de la température.

### III.2.1.3. Caractérisation de l'excipient [l'alginate de sodium]

#### a. Solubilité

Même principe et mode opératoire cités pour déterminer la solubilité de la l'oxytétracycline

Ce test est effectué dans l'eau froide et l'eau chaude, dans l'éthanol et dans l'acide acétique.

#### b. Détermination du pH

##### Principe :

Mêmes principe et mode opératoire cités pour déterminer le pH de l'OTC. Ce test a été effectué sur une solution aqueuse de 2 %.

La valeur du pH doit être comprise entre 7 et 8.

#### c. Viscosité

Ce test a été effectué sur une solution d'alginate de sodium à 2%.

### III.2.2. Préparation des microcapsules

La préparation de microcapsules chargées d'oxytétracycline (principe actif) a été accomplie par coacervation complexe de l'alginate de sodium et la gélatine.

#### Protocole

Chaque solution de polymère a été préparée dans de l'eau distillée. Un volume connu (35 ml) de 2% (w / v) de solution de gélatine a été mis dans un bécher. Cette solution a été agitée par un agitateur mécanique sous forte agitation à  $45 \pm 1$  C. Cette température a été maintenue tout au long de l'expérience. Une masse de 0.02g d'oxytétracycline a été ensuite ajoutée à cette solution. Après la solubilisation complète du principe actif, un volume connu (10 ml) d'alginate de sodium 2% (w/ v) a été ajouté goutte à goutte à cette solution pour atteindre une séparation de phases complète. Ainsi, le rapport pondéral optimisé pour la gélatine et l'alginate est de 3,5: 1 pour la formation du coacervat a été maintenue pour toutes nos expériences. Après l'addition complète d'alginate de sodium, le bécher contenant la solution est laissé à 45 °C sous agitation pendant près de 15 min. Le pH du mélange a ensuite été abaissé à 3,75 en ajoutant une solution d'acide acétique glacial à 2,5% (v / v). La solution est ensuite refroidie à 5-10 C pour faire murir et durcir les microcapsules. Les microcapsules ainsi formés dans la solution ont été réticulés par addition lente d'une certaine quantité de glutaraldehyde (1 mol). La température du bécher a ensuite été portée à 45 ° C et l'agitation a été poursuivie encore pendant une durée de 3-4 h pour terminer la réaction de réticulation. La solution a ensuite été refroidie à température ambiante, lentement et tout en remuant. Les microcapsules ont été filtrées et lavées avec de l'eau pour la conservation. [35]

### III.2.3. Méthodes de caractérisation et d'analyses

Pour caractériser les microcapsules contenant l'oxytétracycline on a fait appel aux techniques expérimentales suivantes :

#### III.2.3.1. Aspect

Le produit obtenu a été examiné par une simple analyse visuelle de la fluidité et de la limpidité de la forme et par la vérification de la couleur de l'odeur.

#### III.2.3.2. Influence de la température sur les capsules

Les microcapsules obtenues ont été mises dans l'étuve à différentes températures à 30°C et 50° et 70°C et on observe les microcapsules pour savoir si la température a une influence sur ces microcapsules et sur l'oxytétracycline encapsulée. [36]



Figure III.3 : étuve réglé à 30°C

### III.2.3.3. Caractérisation par spectroscopie UV-VIS

C'est une méthode rapide et précise. Elle est utilisée pour le contrôle des produits pharmaceutiques d'un point de vue quantitatif et non structural. Elle est utilisée pour des analyses effectuées dans des systèmes multi-composants, ainsi que pour des mesures quantitatives directes en milieu trouble ou coloré. Ce domaine spectral est divisé en deux plages :

- UV (185-400 nm),
- Visible (400-700 nm),



L'origine de l'absorption lumineuse est due à l'interaction des photons incidents avec les espèces de l'échantillon. Les groupes fonctionnels des composés organiques (cétones, amines etc.) sont responsables de l'absorption en UV/VIS, ils sont appelés groupements chromophores. [37]

Dans notre cas 8 mg de l'oxytétracycline a été dissous dans 100 ml d'eau distillée. Nous obtenons ainsi une solution mère pour l'analyse spectrométrique. Pour déterminer la bande caractéristique de l'oxytétracycline ( $\lambda_{max}$ ), un balayage de longueurs d'onde est effectué sur une solution de la tétracycline entre 200 nm et 600 nm. Pour réaliser cette analyse, nous avons utilisé un appareil LABOMED SPECTRO UV 2950 avec une cuve en quartz de 1cm de trajet optique. La mesure est répétée avec trois échantillons différents pour sa validation.



Figure III.4 : spectrophotomètre UV-visible.

### La courbe d'étalonnage

A partir de la solution mère préparée pour l'analyse spectrométrique (0.04g de l'oxytétracycline dans 100ml), nous allons procéder à des dilutions appropriées afin de déterminer la gamme d'étalonnage du produit et de vérifier ainsi sa linéarité et donc sa sensibilité. Cette courbe est le plus souvent assimilable à une droite lorsque les solutions sont diluées. Ainsi, à partir de dilutions successives du principe actif, la détermination de la courbe d'étalonnage est réalisée. La mesure s'effectue à 354 nm. Au-delà de la caractérisation

du produit, cette méthode d'analyse est un élément fondamental car elle permet le dosage ultérieur du principe actif dans la forme pharmaceutique. [38]

#### III.2.3.4. Taux d'encapsulation de l'oxytétracycline

Après la préparation des microcapsules, la concentration du principe actif est dosée par spectrophotomètre UV-visible à la longueur d'onde  $\lambda = 354 \text{ nm}$ . Pour qu'on puisse déterminer le taux du principe actif présent dans les microcapsules de l'oxytétracycline, on a procédé comme suit :

Premièrement il faut déterminer la concentration de l'OTC présente dans les microcapsules : c'est la différence entre la concentration d'OTC initiale  $C_0$  et la concentration restante dans la solution après la séparation (filtrage) des microcapsules.

Ensuite, on peut déterminer la quantité en masse (mg) du principe actif présente dans les microcapsules. [39]

$$EE (\%) = \frac{Q(mg)}{Q_i(mg)} \times 100$$

EE : taux d'encapsulation

Q : quantité du principe actif encapsulé (en mg)

$Q_i$  : quantité du principe actif initiale (en mg)

#### III.2.3.5. Caractérisation par spectroscopie infrarouge (IR-TF)

L'infrarouge analytique regroupe plusieurs méthodes d'identification et de dosage basé sur l'absorption et la réflexion, par l'échantillon, des radiations électromagnétiques comprises entre 1 et  $50 \mu\text{m}$ . Cette bande spectrale est divisée en proche infrarouge (de 1 à  $2,5 \mu\text{m}$ ) et en moyen infrarouge (de  $2,5$  à  $50 \mu\text{m}$ ). Ce dernier est le plus utilisé pour récolter des informations structurales des composés analysés. De ce fait, il est utilisé pour l'identification des molécules organiques dont il permet de garder une empreinte digitale. Les vibrations des liaisons chimiques, spécifiques des groupements chimiques, permettent l'obtention de spectres portant l'information voulue sur la composition des substances chimiques analysées.7



Figure III.5 : spectrophotomètre *FT-IR*.

L'analyse IR-TF de l'oxytétracycline, la gélatine, l'alginate de sodium, et les microcapsules chargé d'oxytétracycline été réalisée sur des pastilles de KBr, préparées en dispersant l'échantillon dans la poudre de KBr, puis comprimées à l'aide d'une presse hydraulique à pendant 3 à 5 min. Le spectre IR-TF de chaque échantillon est enregistré à la température ambiante dans la plage de nombres d'onde 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ . [37]

#### III.2.3.6. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage (MEB) ou ("Scanning Electron Microscopy"), permet d'observer la topologie des surfaces. La technique est basée sur le principe des interactions électrons-matière. Un faisceau d'électrons balaie la surface de l'échantillon à analyse qui, en réponse, réémet certaines particules. Différents détecteurs permettent d'analyser ces particules et de reconstruire une image de la surface. [40]



**Figure III.6:** le microscope a balayage électronique MEB

L'analyse microscopique s'effectue au niveau de laboratoire d'analyse FUNDAPL PV08 a L'UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 1.

Les microcapsules obtenues sont observées sous microscope électronique pour observer leur forme et leur morphologie avec précision. Des photos sont prises dans des grossissements appropriés.

#### **III.2.3.7. Diffraction de rayons X**

La diffractométrie des rayons X (XRD ou XRPD pour X-Ray Powder Diffraction) est une technique de base permettant de déterminer la structure des cristaux et des poudres. L'échantillon est une poudre homogène isotrope, ou bien un solide composé de minuscules cristaux soudés entre eux. La méthode générale consiste à bombarder l'échantillon avec des rayons X, les électrons diffractent ces rayons X comme décrit par l'équation de Bragg.

Les rayons X sont diffractés selon un angle de déviation  $2\varphi$ . On enregistre l'intensité détectée et la courbe obtenue s'appelle le 'diffractogramme'. Dans l'industrie pharmaceutique, la XRD est utilisée pour étudier les cristaux des molécules nouvellement découvertes. Elle permet ainsi de vérifier si l'on n'est en présence de polymorphisme. [41]

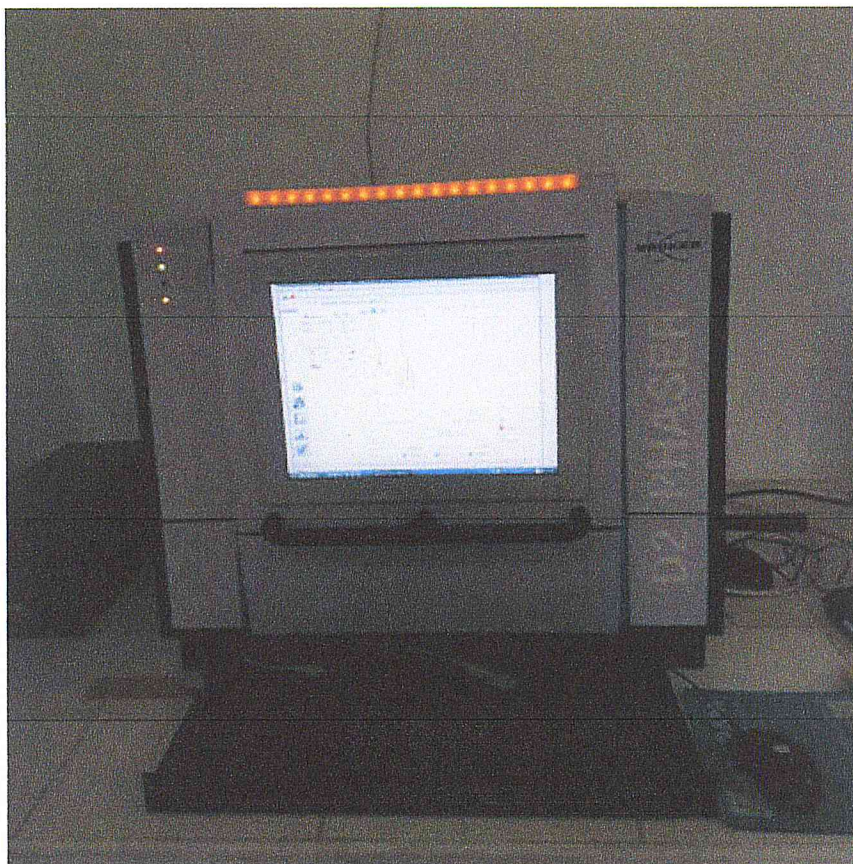


Figure III.7: diffractomètre Rx.

Cette technique a été employée pour vérifier la cristallinité de la gélatine et l'alginate de sodium et l'oxytétracycline, ensuite les microcapsules vides et les microcapsules contenant l'oxytétracycline. La diffraction des rayons X permet d'observer d'éventuels changements du réseau cristallin du principe actif contenu dans les microcapsules.

#### III.2.3.8. La libération de l'oxytétracycline

Dans cette partie le but était d'étudier la cinétique de libération *in vitro* de l'oxytétracycline pure et contenu dans les microcapsules d'alginate et de gélatine et celle de l'oxytétracycline pure dans deux milieux physiologiques simulés représentatifs ; le milieu gastrique SGF (pH=1.2) et le milieu intestinal SIF (pH=6.8). Pour cela, nous allons procéder à la préparation des milieux physiologiques et étudier le comportement de l'OTC dans les deux milieux afin de déterminer la quantité libérée. Une comparaison se fera ensuite sur le phénomène de libération dans les deux milieux.

Les solutions à pH 1,2 et pH 6,8 sont réalisées selon la Pharmacopée Européenne.

##### ➤ Préparation de Milieu gastrique simulé SGF

2g de NaCl et 7 ml HCL (0.2 M) ont été dissous dans 1000 ml d'eau distillé. la solution doit être ajusté pH=1.2

L'ajustement de pH se fait par le HCL et le NaOH.

➤ **Préparation de Milieu gastrique simulé SIF**

Le milieu physiologique a été préparé en faisant dissoudre 6,8 g de dihydrogène phosphate de potassium ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) dans une fiole contenant de 1 L d'eau distillé. le pH de la solution est ajusté avec une solution et une solution L'acide chlorhydrique HCL (1N) et une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (0.1N). Le pH doit être pH=6.8. [32].

**Protocole expérimentale**

**Milieu gastrique SGF (pH=1.2)**

1g de microcapsules chargées en OTC sont dispersées dans 100 ml de solution tampon qui est maintenue sous agitation. Une solution tampon HCl ayant un pH=1,2 est utilisée à une température de 37°C (conditions du fluide gastrique). Ensuite, on effectue des prélèvements de 5 ml de surnageant à l'aide des seringues chaque 10 min. Les microcapsules subissent une filtration et la solution récupérée est analysée avec un spectrophotomètre UV visible à 354 nm pour mesurer l'absorbance. Les résultats sont représentés sous forme de courbe cinétique des absorbances en fonctions de temps. [42] [43]

**Milieu intestinale SIF (pH=6.8)**

Le même protocole précédant.

## **Résultats et discussions**

## IV. Résultats et discussions

## IV.1. Résultats de contrôle physicochimique de la matière première

## IV.1.1. Caractérisation du PA (l'oxytétracycline)

Les Résultats de tests préliminaires de l'oxytétracycline sont représentés dans le tableau ci-dessous

Tableau IV.1 : Résultats des analyses physicochimique effectuées sur l'oxytétracycline

Teste	Résultats
1. aspect	<ul style="list-style-type: none"> <li>- poudre cristalline</li> <li>- couleur jaune</li> <li>- inodore</li> </ul>
2. solubilité	<ul style="list-style-type: none"> <li>- soluble dans l'eau</li> <li>- légèrement soluble dans l'alcool</li> <li>- soluble dans la solution de la gélatine</li> <li>- légèrement soluble dans la solution de l'alginate de sodium</li> </ul>
3. pH	- pH= (2,5-3)

## IV.1.2. Résultat de la Caractérisation de l'excipient [la gélatine]

- a. les Résultats des tests de solubilité et de pH de la gélatine sont représenté dans le tableau suivant :

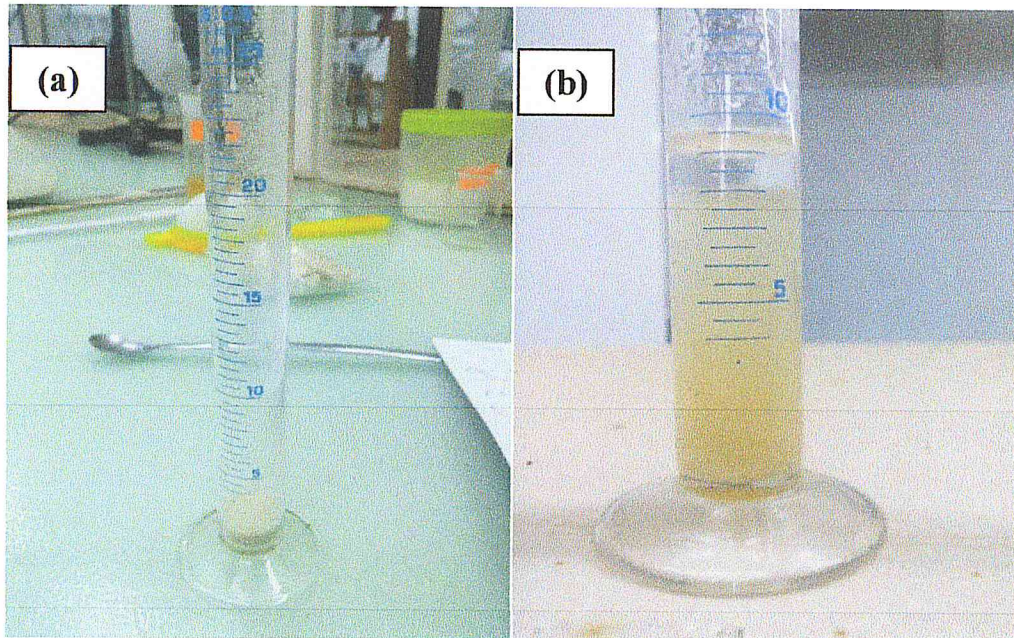
Tableau IV.2 : Résultats des analyses physicochimique effectuées sur la gélatine

Teste	Résultats
1. solubilité	<ul style="list-style-type: none"> <li>- soluble dans l'eau chaude</li> <li>- insoluble dans l'eau froide</li> <li>- peu soluble dans l'éthanol</li> <li>- soluble dans l'acide acétique</li> </ul>
2. pH	- pH=6



**b. test de gonflement**

Le volume occupé par la gélatine avant et après hydratation sont représenté dans la figure ci-dessous.



**Figure IV.1** : Test d'hydratation de la gélatine dans l'eau.(a) avant hydratation (b)après hydratation

Lorsque l'hydratation de la poudre de gélatine On remarque qu'elle occupe un volume de 8 ml et le volume occupé par la poudre avant l'hydratation est 1ml donc le rapport d'hydratation C'est la différence entre le volume occupé par la gélatine avant hydratation et après.

Le taux de gonflement de l'échantillon de la gélatine analysé (**TG=8**) c'est-à-dire que la gélatine a absorbé 8 fois son volume en eau.

## c. résultats de la viscosité

La viscosité de la gélatine en fonction de sa concentration massique est représentée dans la figure suivante :

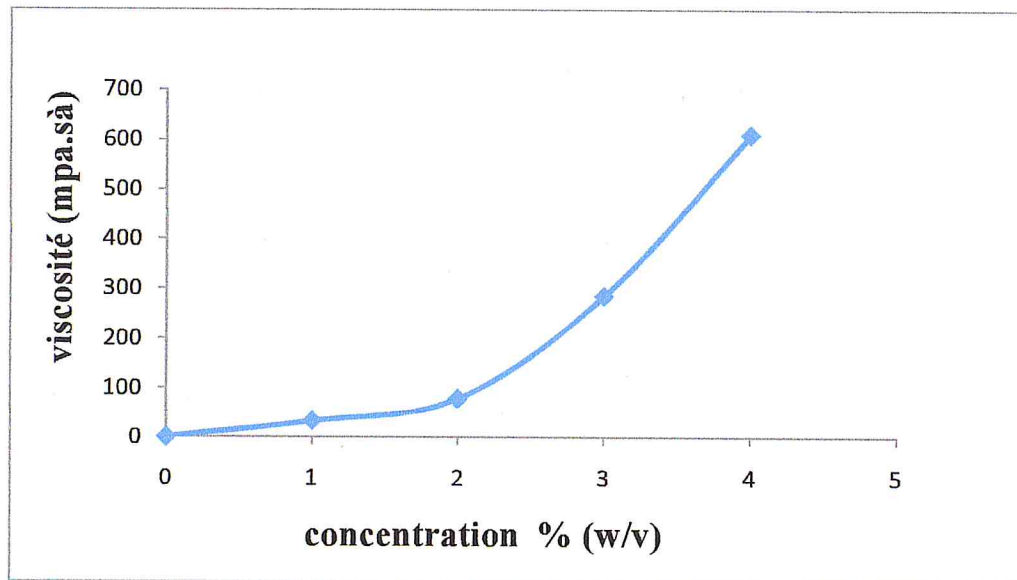
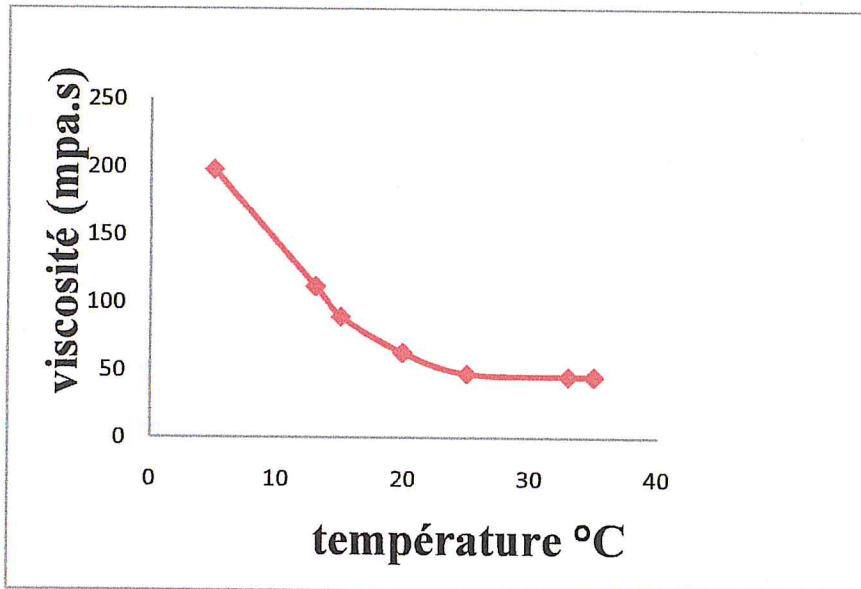


Figure IV.2 : Courbe montrant l'influence de la concentration sur la viscosité de la gélatine à (18°C).

La figure montre le résultat de la viscosité de la gélatine en fonction de sa concentration massique. On voit lorsque la concentration augmente la viscosité de la gélatine augmente. Ce phénomène s'explique par diminution la mobilité des molécules dans le mélange et l'augmentation de concentration dans la solution augmente les liaisons intermoléculaire causé une diminution cinétique des molécules, et que les forces cohésives tiennent les molécules. Ainsi le fluide peut s'écouler plus difficilement le débit diminue. [44]

La viscosité de la gélatine en fonction de la température est représentée dans la figure suivante :



**Figure IV.3:** Courbe montrant l'influence de la température sur la viscosité de la gélatine à 2% (w/v)

La figure montre le résultat de la viscosité de la gélatine en fonction de température. En effet, nous remarquons, que la viscosité de notre fluide diminue fortement lorsque la température augmente. Ce phénomène s'explique par la mobilité des molécules dans le mélange, et l'augmentation de l'énergie thermique s'accompagne d'une augmentation de l'énergie cinétique des molécules, qui a pour effet que les forces cohésives ne suffisent plus pour tenir les molécules, qui sont donc plus libres. Ainsi le fluide peut s'écouler plus facilement [44]

#### IV.1.3. Résultat de la Caractérisation de l'excipient [l'alginate de sodium]

Résultats de la caractérisation physicochimique de l'alginate de sodium

**Tableau IV.3 :** Résultats des analyses physicochimique effectuées sur l'alginate de sodium

Teste	Résultats
1. solubilité	- très soluble dans l'eau chaude - légèrement soluble dans l'eau froide
2. pH	pH=6
3. viscosité	84 m pa.s à 18°C

IV.2. Résultats du contrôle physicochimique des microcapsules

IV.2.1. Aspect

L'aspect des microcapsules sèches et dans la solution de préparation est montré dans la figure ci-dessous :

Les microcapsules obtenues après lavage et séchage à l'air libre sont des petites particules très fines solides de différentes formes et de couleur marron.

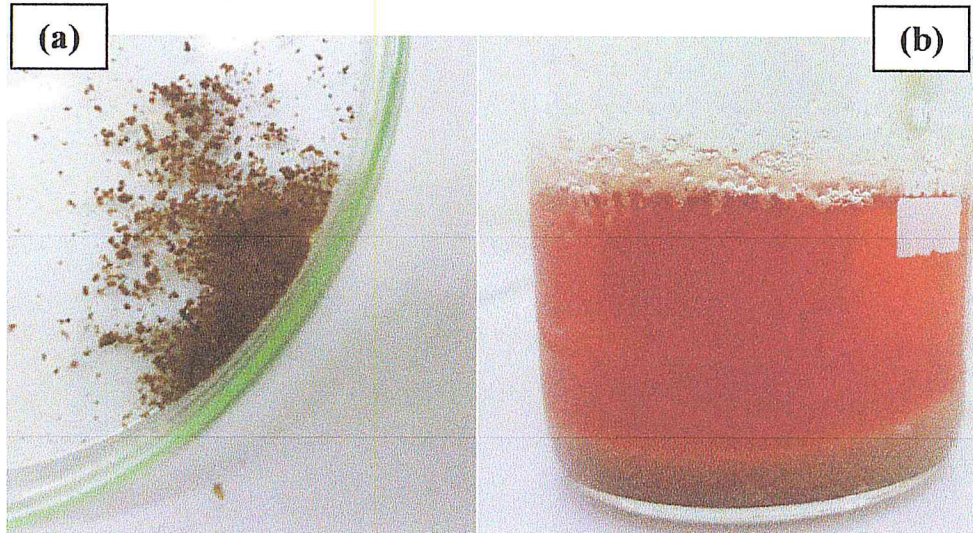


Figure IV.4: Microcapsules obtenues (a) sèches et (b) humide dans la solution de préparation.

IV.2.2. Influence de la température sur les capsules

Lorsque la température augmente la taille des microcapsules diminuent. Elles deviennent très petites et solides avec une couleur marron foncée ce qui exprime que l'humidité a été éliminée de ces particules.

IV.2.2.3. Les Résultats de la Spectroscopie UV-VIS

Résultat et interprétation

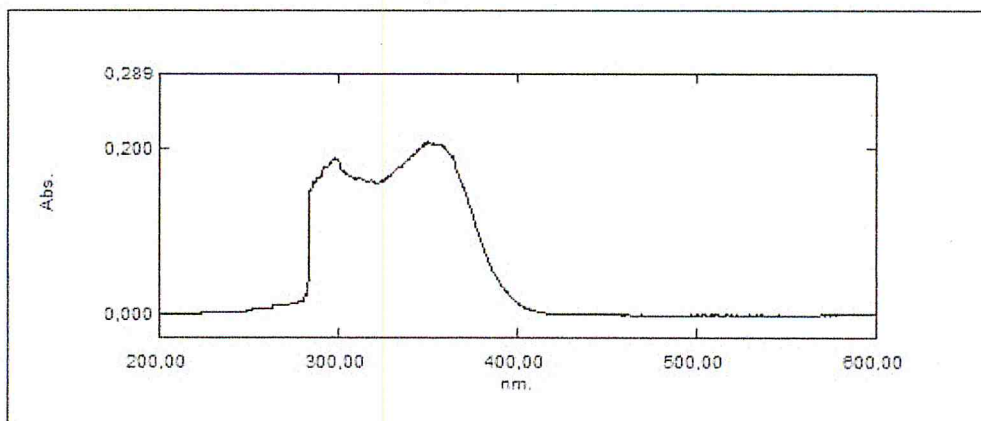
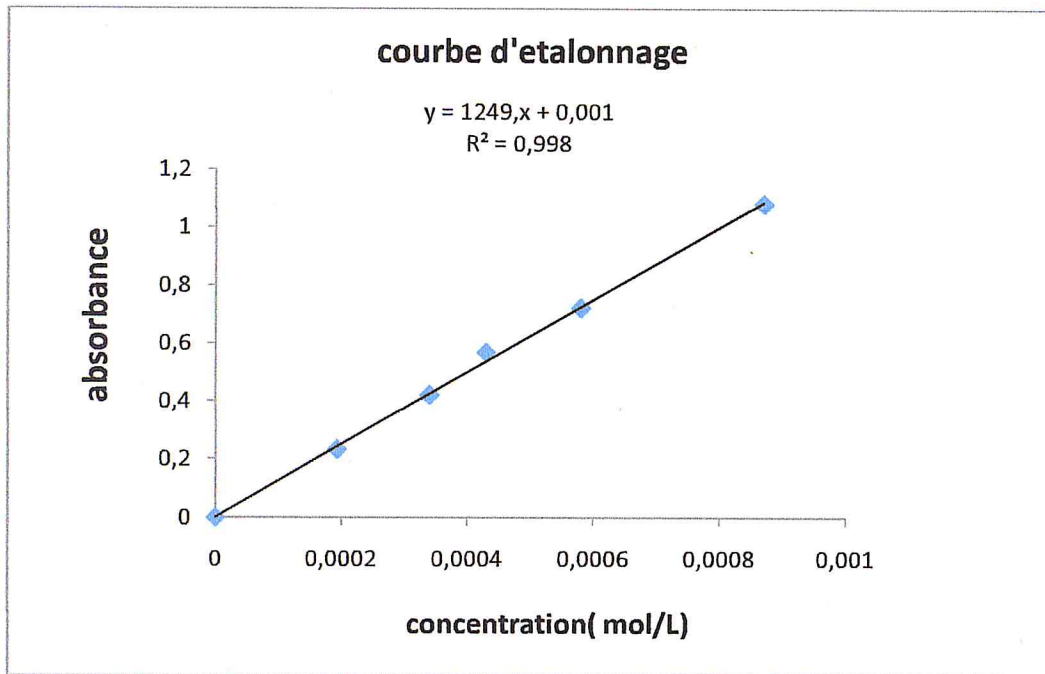


Figure IV.5: Spectre UV-visible de l'OTC dans l'eau distillée.

Le spectre obtenu présente deux pics: le premier pic à une longueur d'onde de 303 nm avec une absorbance à 0,1881, le deuxième pic à une longueur d'onde de 354 nm avec une absorbance de 0,2173. L'allure du spectre est identique pour les trois échantillons.

### Courbe d'étalonnage

La courbe d'étalonnage a été réalisée à l'aide de cinq étalons standards dont les absorbances sont mesurées à la longueur d'onde maximale  $\lambda_{\max}=354$  nm. Les résultats sont présentés sur **Figure IV.6**



**Figure IV.6:** Courbe d'étalonnage de l'oxytétracycline dans l'eau distillée.

#### IV.2.2.4. Le Résultat de Taux d'encapsulation

L'absorbance mesurée après la filtration des microcapsules ( $abs=0.224$ ) et la concentration d'après la courbe d'étalonnage  $C(t)=0.00018 \text{ mol l}^{-1}$  et la concentration initiale de notre solution  $C=0.00087 \text{ mol l}^{-1}$

Soit :

##### A. La concentration dans l'OTC dans les microcapsules

$$C_e = C_i - C_s$$

$$C_e = 0.00087 - 0.00018 = 0.00069$$

La concentration de l'OTC dans les microcapsules  $= 0.00069 \text{ mol l}^{-1}$

##### B. Quantité du principe actif encapsulé

Quantité du principe actif encapsulé  $m = C \cdot V \cdot M$

Masse initiale= 20mg

$$m=0.00069(50ml)(460.44g/mol)=15,88mg$$

Donc

$$EE\% = \frac{15,88}{20} \times 100$$

$$EE\%=79,4$$

Donc les microcapsules contiennent 15.88mg de l'oxytétracycline encapsulé.

#### IV.2.2.5. Les Résultats de l'Analyse IR-TF

L'analyse IR-TF est utilisée afin de confirmer la présence de l'oxytétracycline dans les microcapsules.

#### Analyse IR-TF de la gélatine

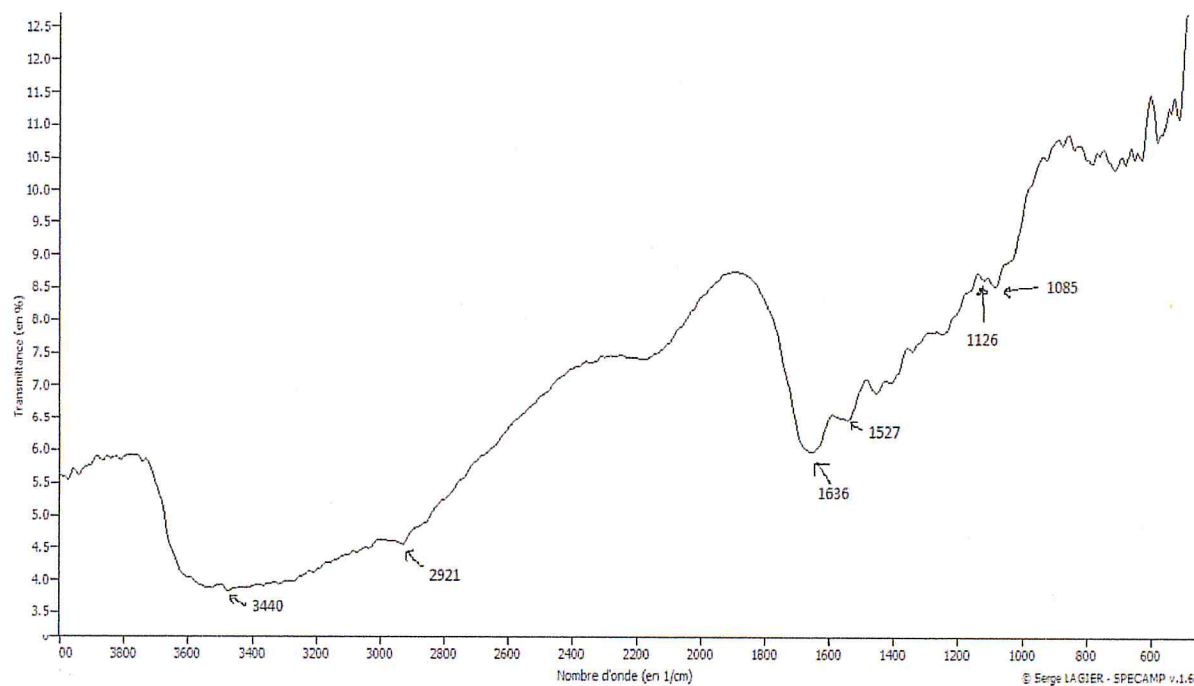


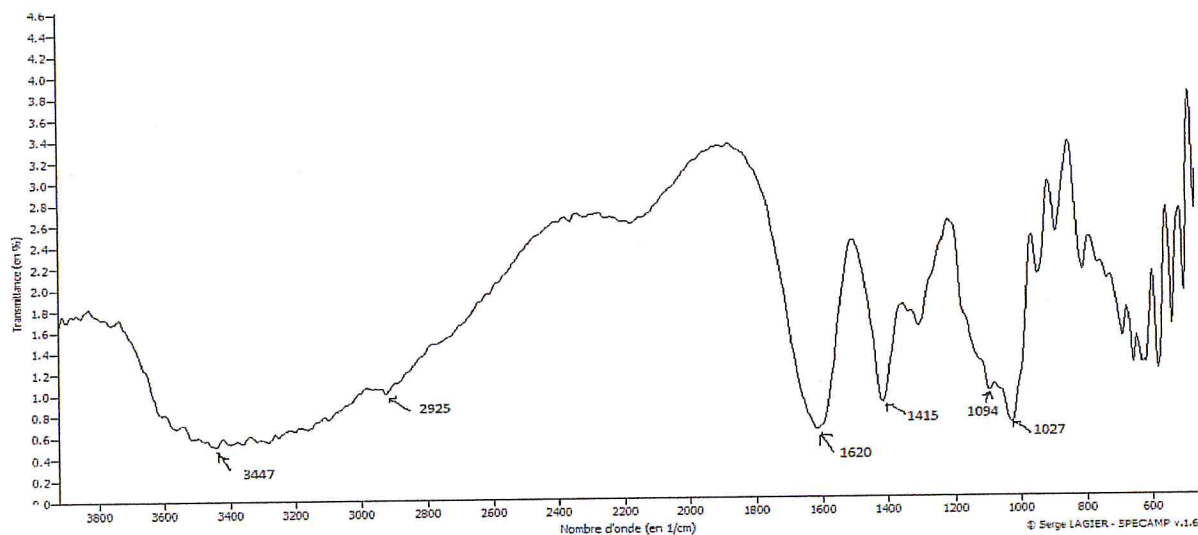
Figure IV.7:spectre infrarouge de la gélatine

#### ✓ Interprétation

Le spectre FTIR a montré La gélatine a une charge positive à pH acide en raison de la présence de groupes amino, la présence du groupe fonctionnel caractéristique à 3440 cm-1 pour le groupe amino et 2921 cm-1 est un groupe C-H d'alcènes, 2846 cm-1 un groupe C-H

des alcanes. A  $1636\text{ cm}^{-1}$  (élongation de l'amide-I, CO et CN) et  $1527\text{ cm}^{-1}$  c'est le deuxième amide, les autres pics observés étaient à  $1126\text{ cm}^{-1}$  et  $1085\text{ cm}^{-1}$ , ils sont dus à l'étirement C-O de l'acide carboxylique et l'élongation C-N des amines, respectivement.

**Analyse IR-TF de l'alginate de sodium**

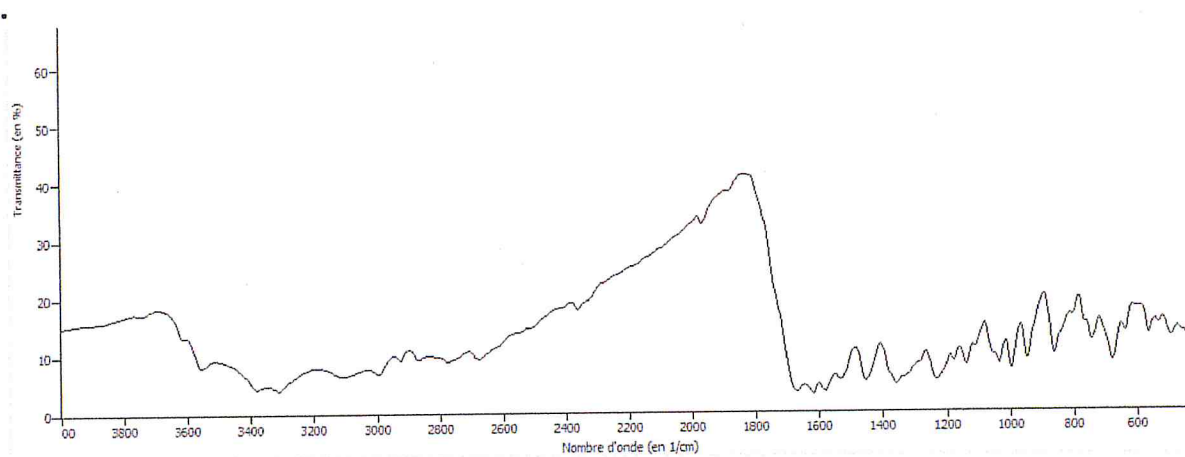


**Figure IV.8:** Spectre infrarouge de l'alginate de sodium

✓ **Interprétation**

Le Spectre FTIR de l'alginate sur la Figure IV.8 montre des pics suivants à  $3447\text{ cm}^{-1}$  qui sont attribués à la fonction hydroxyle -OH en élongation et à  $2925\text{ cm}^{-1}$ . L'absorption des groupes carboxyliques s'affiche à  $1620\text{ cm}^{-1}$  et  $1415\text{ cm}^{-1}$ . L'attribution aux pics d'élongation asymétrique et symétrique des groupements carboxylate quant à elle est quant à elle suggérée à  $1094\text{ cm}^{-1}$  et à  $1027\text{ cm}^{-1}$ , Groupe C -O étirement de l'éther.

**Analyse IR-TF de l'oxytétracycline**

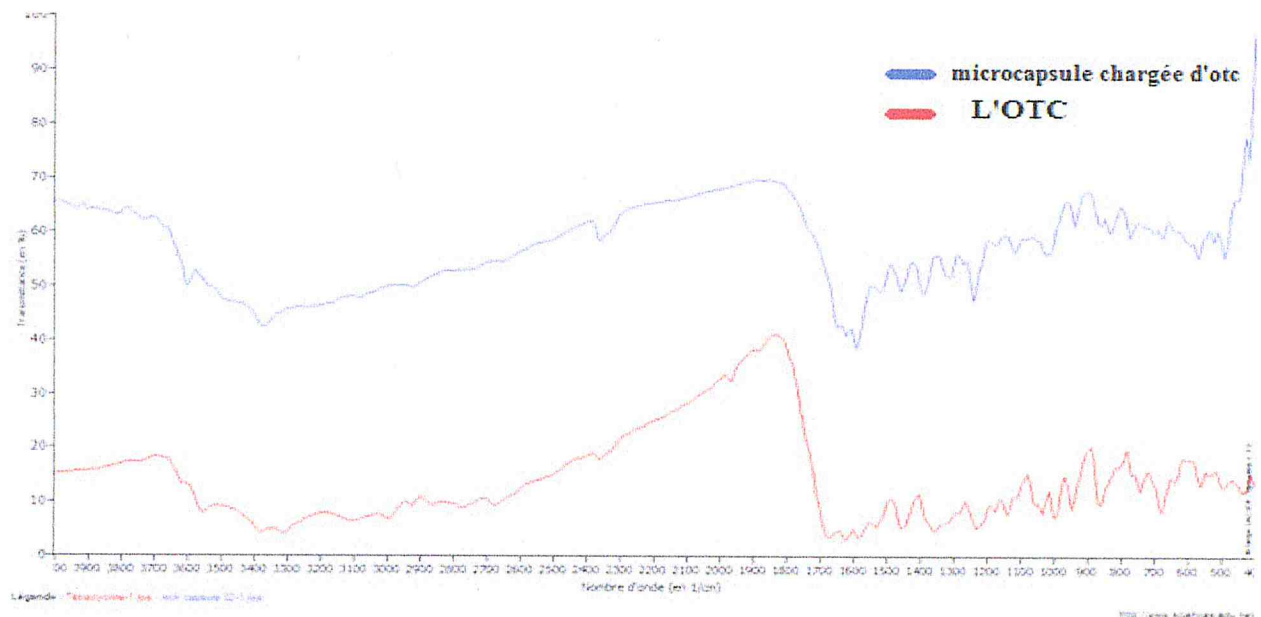


**Figure IV.9:** Spectre infrarouge de l'oxytétracycline.

### ✓ Interprétation

Le spectre FT-IR de l'échantillon de l'oxytétracycline a montré les pics d'absorption pour N-H et O-H s'étendant à 3550-3090  $\text{cm}^{-1}$  et le C-H aromatique s'étendant à 3000  $\text{cm}^{-1}$ . Les pics de vibration à 2916-2674  $\text{cm}^{-1}$  et 1667-1584  $\text{cm}^{-1}$  sont attribués à l'élongation de CH<sub>3</sub> et C = C, respectivement. Une flexion aromatique en C-H est apparue à 1452  $\text{cm}^{-1}$  et CH<sub>3</sub> flexions sont apparues à 1357  $\text{cm}^{-1}$ . Le C-N aromatique à 1247-1000  $\text{cm}^{-1}$ . Le pic de vibration à 965  $\text{cm}^{-1}$  provient normalement des vibrations d'élongation de la liaison C-N et les pics de déformation de la liaison C-C dans le plan ont été identifiés à 567-501  $\text{cm}^{-1}$ .

### Analyse IR-TF de l'oxytétracycline et des microcapsules contenant l'oxytétracycline en superposition (comparaison)



**Figure IV.10:** Spectres IR-TF du l'oxytétracycline et des microcapsules contenant l'oxytétracycline en superposition

### ✓ Interprétation

Les bandes d'absorption caractéristiques de l'oxytétracycline sont apparues dans les microparticules formées du système alginate/gélatine chargées de l'OTC, ce qui indique probablement que la molécule de la tétracycline était piégée dans le réseau polymérique. Ces résultats indiquent aussi que les groupes carboxyliques de l'alginate s'associent aux groupes amine de la gélatine par des interactions électrostatiques pour former le complexe polyélectrolyte.



IV.2.2.6. Les Résultats de la Microscopie électronique à balayage (MEB)

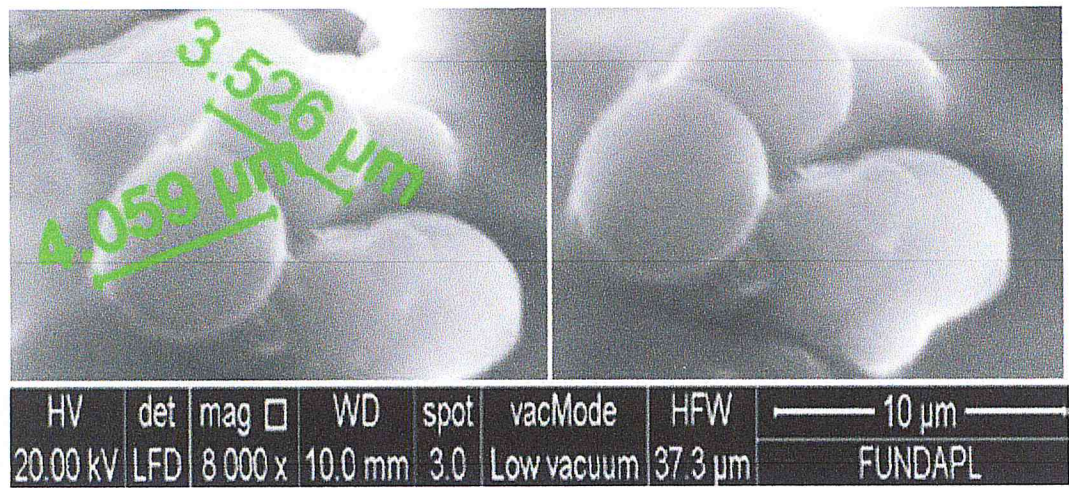


Figure IV.11 : Micrographies par MEB des microcapsules contenant de l’OTC

L’observation des microcapsules par le MEB montre les microcapsules qui ont une forme sphériques, La taille de ses particules est variable de 3μm à 5μm.

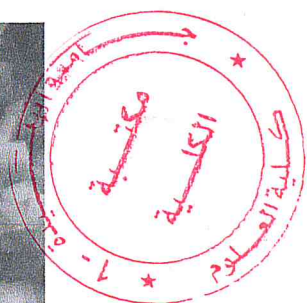
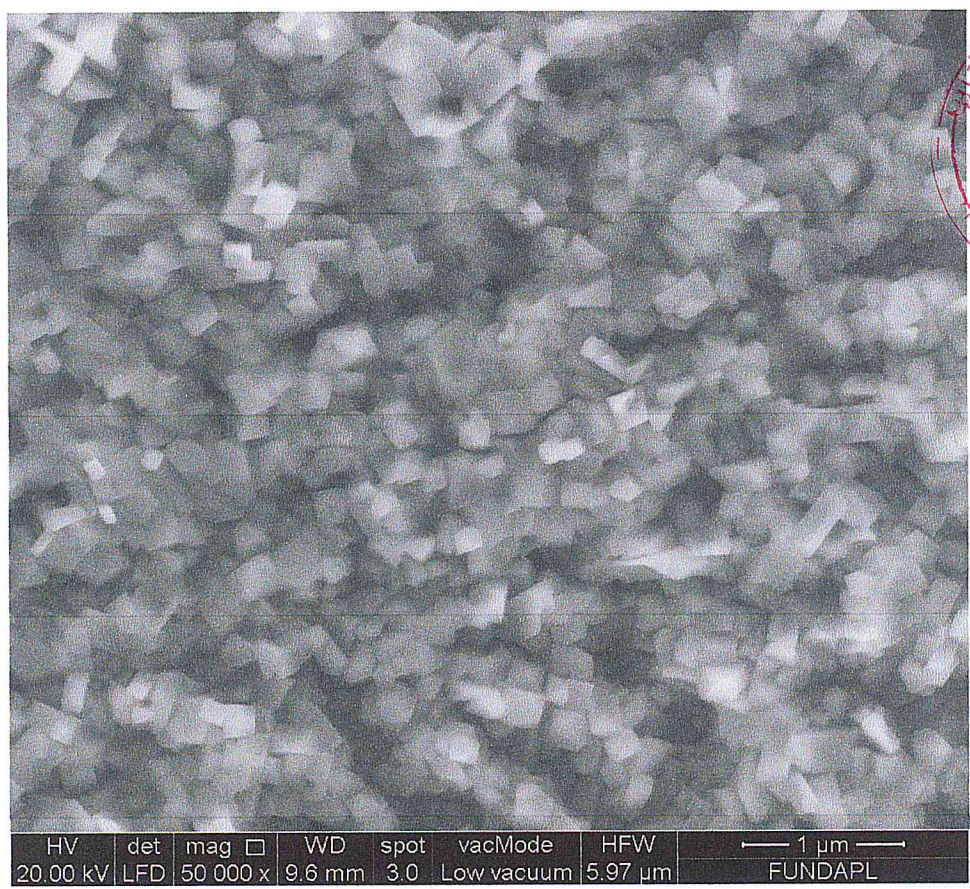


Figure IV.12 : Micrographies par MEB de l’oxytétracycline

L'observation de l'oxytétracycline montre que la poudre est constituée de microcristaux se présentant sous forme géométriques différentes, la taille de ses particules est variable de 10 nm à 200 nm

### Remarque

D'après les résultats du MEB, on remarque que les capsules ont une taille très petites de l'ordre de 3 $\mu$ m avec une forme sphérique définie et l'oxytétracycline est une poudre cristalline ce qui confirme que la formation des microcapsules par coacervation complexe est réussie.

### IV.2.2.7. Les Résultats des de l'analyse DRX

#### 1. Analyse DRX de l'alginate de sodium

Le spectre DRX de l'alginate de sodium est représenté sur la figure suivante :

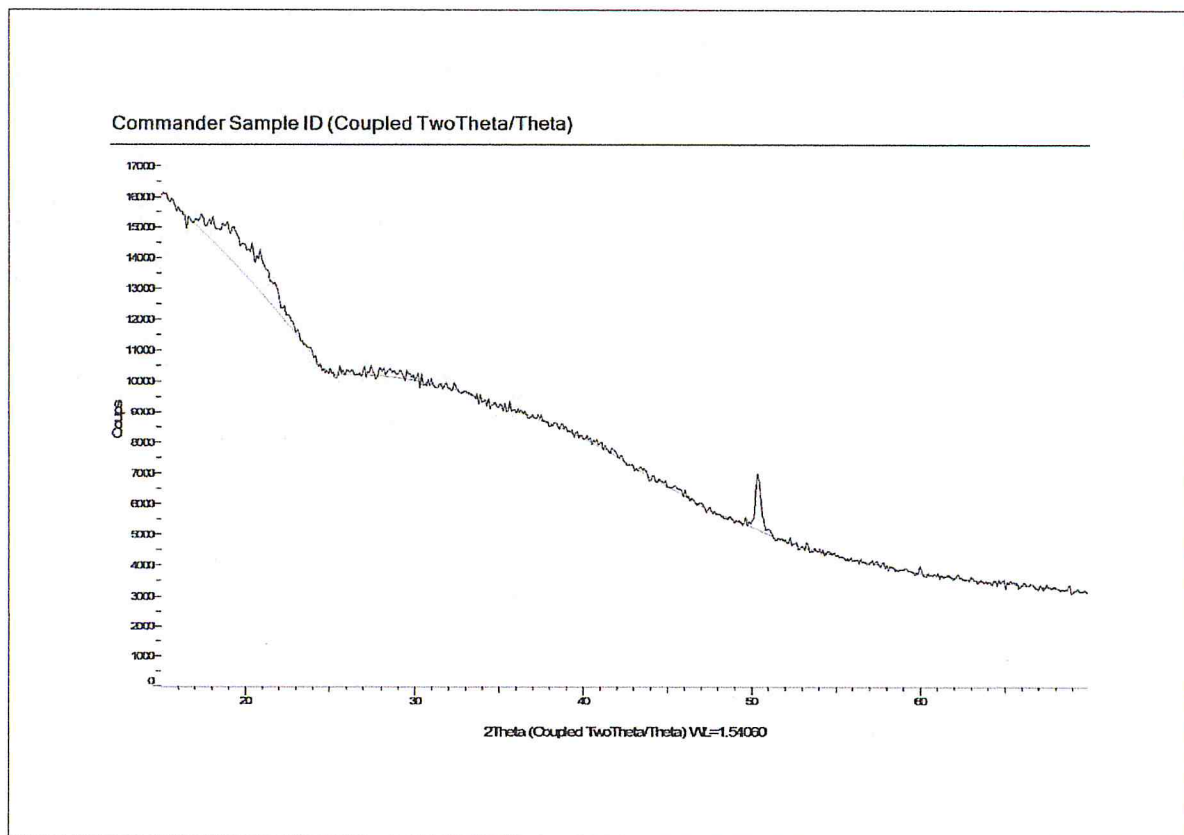


Figure IV.13 : Diffractogramme RX de l'alginate de sodium

On remarque d'après le diffractogramme RX que l'alginate de sodium ne présente aucun pic distinct ce qui veut dire que notre polymère est sous une forme amorphe.

## 2. Analyse DRX de la gélatine

Le spectre DRX de la gélatine est représenté sur la figure suivante :

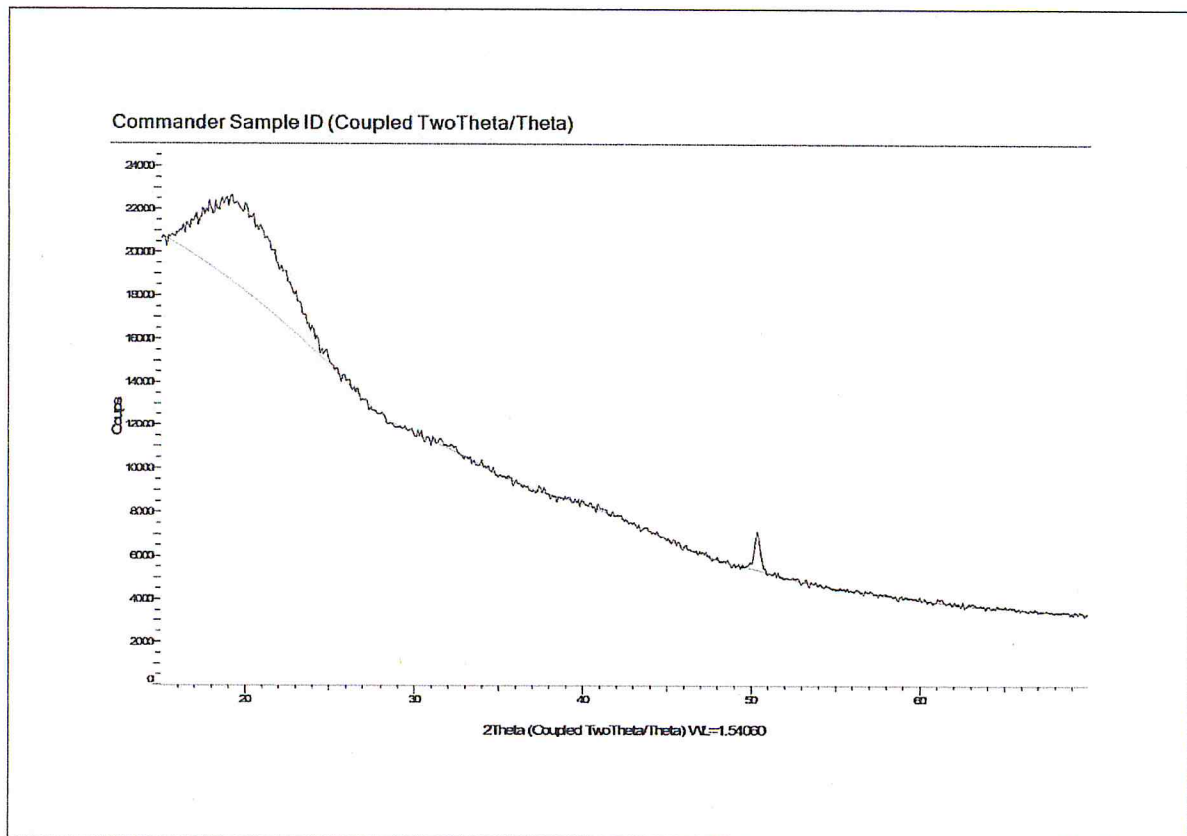


Figure IV.14 : Diffractogramme RX de la gélatine

D'après le diffractogramme RX on remarque que la gélatine ne présente aucun pic distinct ce qui veut dire que notre polymères a une forme amorphe.

### 3. Analyse DRX de l'oxytétracycline

Le spectre DRX de l'oxytétracycline (principe actif) est représenté sur la figure suivante

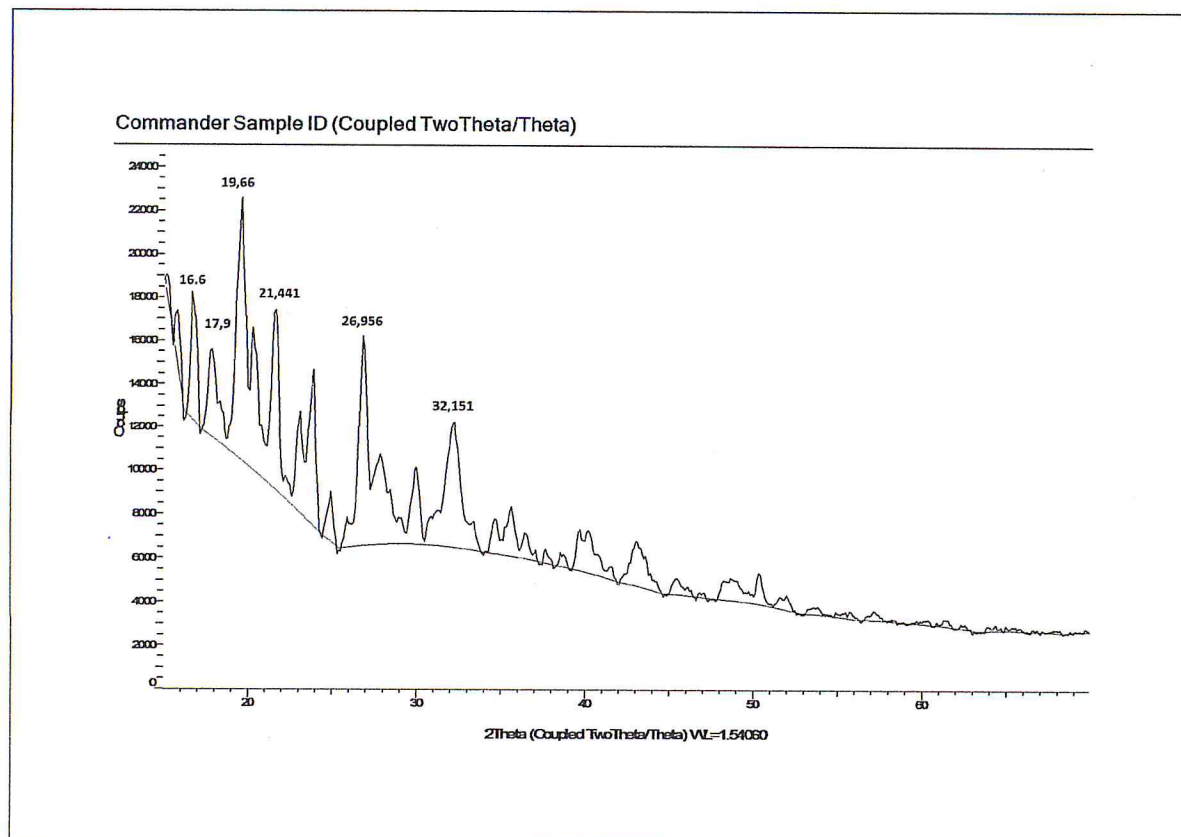


Figure IV.15 : Diffractogramme RX de l'oxytétracycline

D'après le diffractogramme RX, on observe que l'oxytétracycline présente un pic cristallin intense, apparu aux angles  $2\theta=19,66^\circ$ , on remarque aussi la présence de 5 autres pics moins intenses situés à  $2\theta = 16,6^\circ, 21,441^\circ, \text{ et } 26,956^\circ, 17,9^\circ, 32,151^\circ$  cela confirme que notre principe actif est cristallin et non amorphe.

### 4. Analyse DRX de la microcapsule vide :

Le spectre DRX de la capsule vide de gélatine/alginat de sodium est représenté sur la figure suivante :

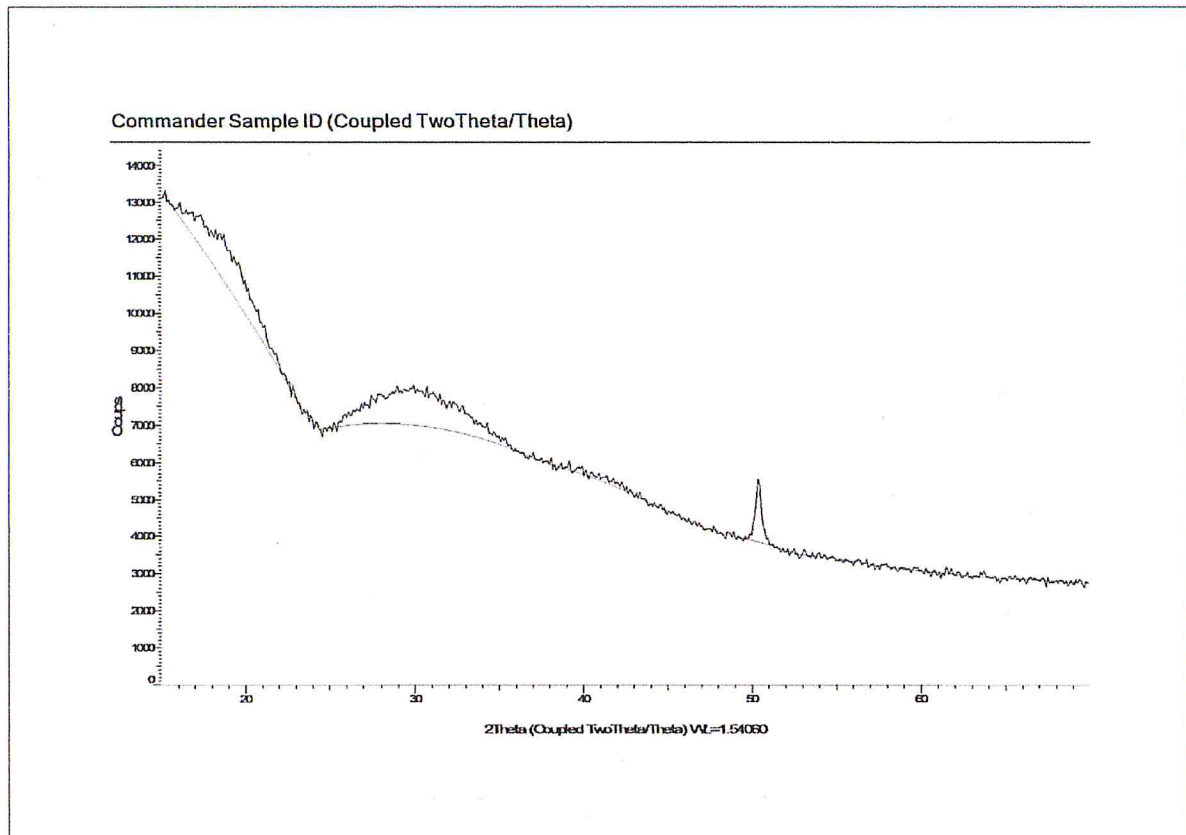


Figure IV.16 : Diffractogramme RX de la microcapsule vide

D'après le diffractogramme RX on remarque que la capsule vide ne présente aucun pic distinct ce qui veut dire que notre produit est sous une forme amorphe, car les polymères utilisés pour la formation de cette capsules sont à l'état amorphe et non cristallin.

##### 5. Analyse DRX de la microcapsule contenant l'oxytétracycline :

L'analyse DRX a été aussi effectuée sur les microcapsules contenant le principe actif (l'oxytétracycline), pour vérifier l'état de cristallinité de la capsule et l'oxytétracycline. Le diffractogramme des microcapsules est représenté sur la figure suivante :

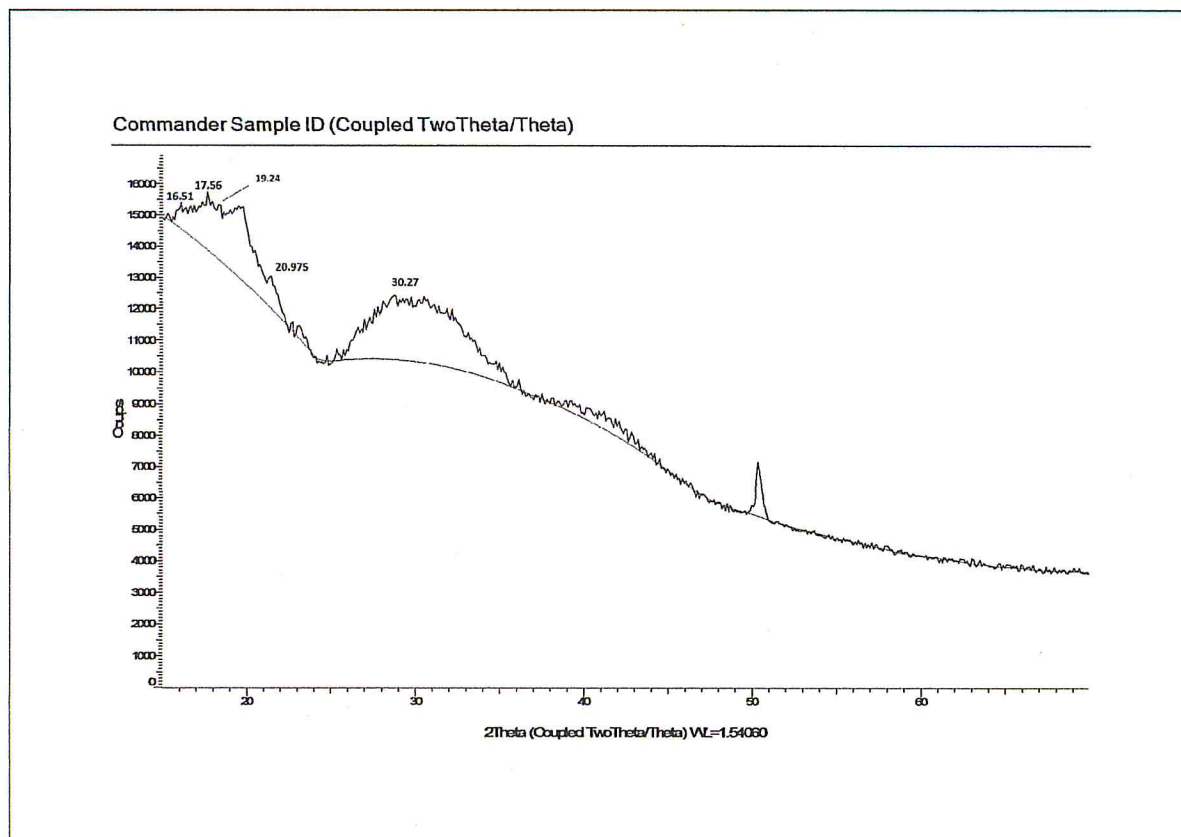


Figure IV.17 : Diffractogramme RX des microcapsules chargées d'OTC

D'après le diffractogramme RX présenté, on remarque que les microcapsules présentent des pics de tétracycline mais l'intensité étant réduite, cela est dus à la diminution de la cristallinité qui a été masquée par le complexe de deux polymères amorphes alginate /gélatine, ce qui indique que la préparation des microcapsules par la méthode de la coacervation complexe confirme la présence l'incorporation du principe actif cristallin dans la capsule amorphe.

## IV.2.2.8. Les Résultats de La libération de l'oxytétracycline

Les résultats libération de l'oxytétracycline dans les deux milieux physiologiques sont représentés dans la figure ci-dessous

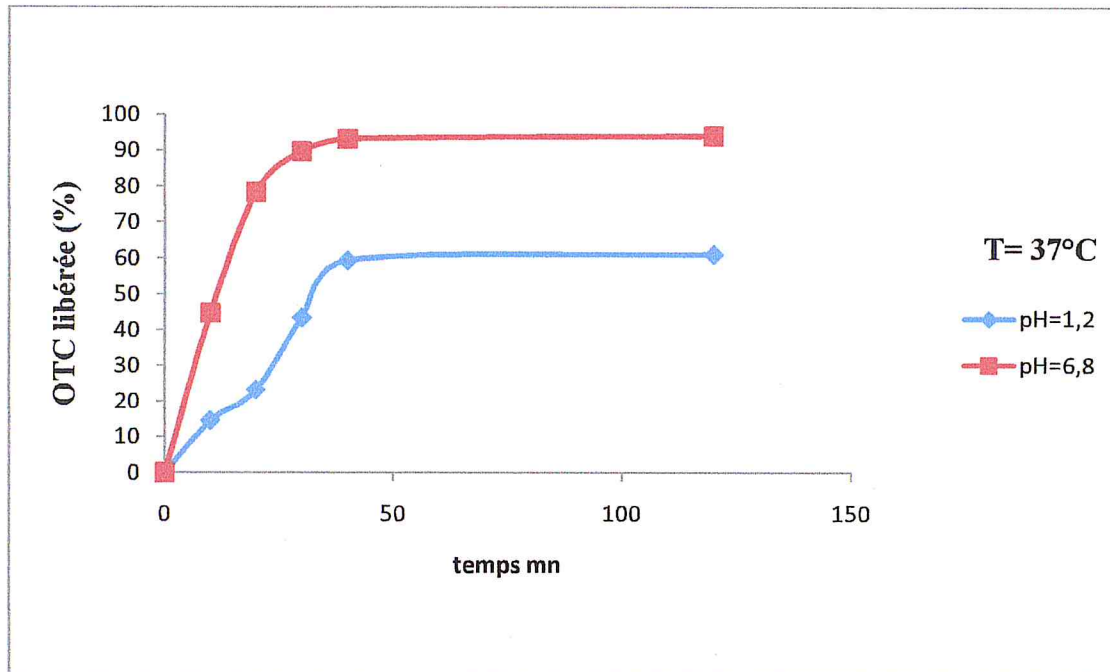


Figure IV 18: Cinétique de libération in vitro de l'oxytétracycline contenu dans les microcapsules.

## Discussion

Dans le milieu gastrique de pH=1.2, on remarque que libération atteint 60% pendant les premières 40 min, après, elle se stabilise ce qui signifie que la libération augmente lentement jusqu'à la stabilisation. Part contre, dans le milieu intestinale au pH=6.8 l'absorbance atteint 90% pour la même période (40 min) ceci exprime que la libération est rapide et semble nettement plus intéressante que dans le cas précédent.

## Remarques et Hypothèses

1. Les microcapsules ne libèrent pas tout leur contenu dans le milieu gastrique peut être que le reste de l'OTC reste encapsulé (le pourcentage de libération est inférieure à celle du milieu intestinal). Ce résultat peut être expliqué par la taille des pores qui était probablement très petites dans ce milieu gastrique pH=1.2 et ne permettent pas la diffusion de la totalité de l'oxytétracycline. Bien évidemment, des analyses plus fournies pourraient confirmer ou infirmer cette supposition.

2. la libération est lente dans le milieu gastrique pour la protection de principe actif et pour une libération prolongée jusqu'à l'arrivée dans le milieu intestinal (transport de l'OTC vers l'autre milieu)

3. la libération dans le milieu à pH=6.8 est rapide et meilleure que celle dans le milieu au pH=1.2. Il se peut que dans ce cas la porosité augmente dans ce milieu intestinal, ce qui aide à la libération totale d'OTC

Donc les microcapsules protègent le principe actif dans le milieu gastrique acide et le protégé jusqu'à le milieu intestinal ou ils vont libérer toutes leur contenu. On peut considérer ce système comme moyen de transport et de protection de principe actif contre les différents paramètres extérieurs.



## **Conclusion générale**

# Conclusion générale

L'objectif essentiel de notre travail consistait à la préparation des microcapsules de gélatine et alginate de sodium contenant un antibiotique (l'oxytétracycline) par la méthode de la coacervation complexe.

Dans un premier temps, les microsphères obtenues ont été caractérisées par différentes techniques : UV-Visible MEB, IR-TF, DRX.

L'analyse par microscopie électronique à balayage a montré des microcapsules de forme sphérique et de tailles variables. Le diamètre moyen des microcapsules a été trouvé généralement compris entre 3  $\mu\text{m}$  et 9  $\mu\text{m}$ , taille conforme à la norme des microsphères. Les résultats de l'IR-TF révèlent la présence d'oxytétracycline dans un état intact dans les microcapsules révélé par l'apparition des bandes caractéristique de l'OTC pur. Ce constat a été aussi prouvé par les résultats DRX confirmant l'incorporation de l'OTC dans les microcapsules.

Dans un deuxième temps, les résultats obtenus sur le taux d'encapsulation montrent un pourcentage appréciable de l'ordre de 79% ce qui conduit à une encapsulation très bonne. En effet, les résultats obtenus dans cette étude montrent bien que la coacervation complexe est une méthode d'encapsulation potentiellement très intéressante car elle contribue, d'une part, à la protection de l'agent actif (ici l'antibiotique) tout en ne présentant aucun risque de toxicité ou autre car elle fait appel ici à des biopolymères naturels.

Enfin, l'étude de la libération in vitro de l'oxytétracycline à partir des microcapsules de gel/alg, indique que la libération d'OTC est essentiellement contrôlée par le pH du milieu. Par ailleurs le taux de libération de l'oxytétracycline est plus élevé dans le milieu intestinal (pH=6,8) comparé au milieu gastrique (pH=1,2) due à la diminution de la porosité dans le milieu acide.

Par ailleurs, nous suggérons par cette occasion que les systèmes étudiés ici soient analysés d'une manière plus approfondie, par exemple, dans des études de stabilité et d'activité in-vitro dans un premier temps, ensuite sur des animaux.

## **Références bibliographiques**

## Références bibliographiques

- [1].D. Poncelet. Microencapsulation : Fundamentals, methods and application, 23–34. J.P. Blitz and V.M. Gun'ko (eds), 2006.
- [2].Claire Visseaux, Pharma-Memo Médicaments; éditions Vernazobres-Grego, 2009
- [3].J.P. Benoit, P. Couvreur, J.P. Devissaguet, H. Fessi, F. Puisieux et L. Roblot-Treupel. « Carrier » or « modulated distribution » forms, new systems for drug administration]. Journal de pharmacie de Belgique, 41(5):319–29, 1986
- [4].Boh B. (2007). Développements et applications industrielles des microcapsules, Microencapsulation:des sciences aux technologies, Vandamme T.F., Poncelet D. SubraTPaternault P., Editions TEC & DOC, Lavoisier, 2007.
- [5]. Benita S. Microencapsulation. Methods and industrial applications. Marcel Dekker, Inc. p640, 1996
- [6]. Rechard J. et Benoît J.P. Microencapsulation, Techniques de l'Ingénieur, traité de Génie des procédés.
- [7]. Comunian T.A., Thomazini M., Gouvea Alves A.J., de Matos Junior F.E., de Carvalho Balieiro J.C., Favaro T Trindade C.S. Microencapsulation de l'acide ascorbique par coacervation complexe: Protection et libération contrôlée, Food Research International, 52: 373-379. 2013
- [8]. Kruif C. G., Weinbreck F., de Vries R. Coacervation complexe des protéines et anionique Polysaccharides: Opinion courante dans Colloid & Interface Science, 9: 340T349. 2004
- [9].RICHARD J., BENOIT J.P, Microencapsulation, 7E-FLEqDE-UGE- l'UKTE-DrEGRF, j 2210, P1-18. 2000
- [10].GUERY J, Emulsions doubles cristallisables : stabilité, encapsulation et relargage, Docteur en physique (Spécialité : Sciences des Matériaux), Université du Paris VI, Laboratoire de Liquides Ioniques et Interfaces Chargées à Paris, P38. 2006
- [11].XIAOLING L.I., BHASKARA R.J.Design of Controlled Release Drug Delivery Systems, McGRAW-HILL, New York, P 115-120, 146-149.2006
- [12].IGOR G., MATTIASSON B.O, Smart polymers Applications in Biotechnology and Biomedicine , CRC Press, New york, 2<sup>ème</sup> édition, p 148-150 et 166. 2008

- [13].Victoria Samanidou, S.N. Multi-residue methods for confirmatory determination of antibiotics in milk.Journal of Separation Science. 31(11): p. 2068-2090. 2008
- [14]. MAUR N, VADE-MECUM des antibiotiques et agents chimiothérapeutiques anti-infectieux, Maloine S. A, Paris ,4<sup>ème</sup> édition, p 7-25 et 99-105. 1979
- [15].Albert, A. Avidity of tetracycline and aureomycin for metallic cations. Nature .172, 201-211. 1953
- [16]. Chopra. I ; Hawkey. P ; Hinton. M ; Tetracyclines, molecular and clinical aspects, 245. 1992.
- [17].Tjornelund, J. and S.H. Hansen, Determination of impurities in tetracycline hydrochloride by non-aqueous capillary electrophoresis. Journal of Chromatography A. 737(2): p. 291-300. 1996
- [18].DUBOIS F, Elaboration et caractérisations électro-optique et diélectrique de composites à cristaux liquides ferroélectriques dispersés dans une matrice polymère, Docteur en physique (Spécialité : Sciences des Matériaux), Université du littoral-cote d'opale, Laboratoire de lemcel #177; upres-ea à Calais, P23-25. 2004
- [19].Gu, JD. Microbiological deterioration and degradation of synthetic polymeric materials: recent research advances. Int. Biodeter. Biodegr.52, p.69-91. 2003
- [20].Chen SC., Lu Y. Micro and nano-fabrication of biodegradable polymers for drug delivery. Adv. Drug Delivery Rev. 56, p. 1621-1633. 2004
- [21].Wang, L., R. M. Shelton, P. R. Cooper, M. Lawson, J. T. Triffitt and J. E. Barralet. Evaluation of sodium alginate for bone cell tissue engineering. Biomaterials 24(20): 3475-3481. 2003
- [22].Jorgensen,T. E., M. Sletmoen, K. I. Draget and B. T. Stokke. Influence of oligogulonates on alginate gelation, kinetics, and polymer organization. Biomacromolecules 8(8): 2388-2397. 2007
- [23]Vauchel, P. Optimisation de procédés innovants pour l'obtention des Phycocolloïdes, thèse de doctorat de l'université de Nantes, centre IFREMER, Nantes, pp. 32. 2007
- [24]. Haug, B. Larsen, O. Smidsrod. Alkaline degradation of alginates. Acta Chem. Scand. 21 : 2859-2870. 1967
- [25] Vandamme, E. J., S. De Baets and A. Steinbüchel. "Biopolymers, Volume 6, Polysaccharides II: Polysaccharides from Eukaryotes", Wiley-Vch. 2002
- [26] Seely, G. R. and R. L. Hart.. The binding of alkaline earth metal ions to alginate. 1974

[27] Gelatin Manufacturers of Europe (GME)., La gélatine alimentaire : production et applications. Réf: F4800 v1. 2001

[28]R. E. Norland; 'Coatings Technology Handbook', Vol. 65(Fish Gelatin and Fish Glue), Norland Products, Inc 3rd ed. PP. 345-421.2006

[29] A.G. Ward; 'The Science and Technology of Gelatine', Academic press, London PP. 99, 159-207 .1977

[30] C. Chène; 'La Gélatine', J. de l'Adrianor, Agro-jonction N° 24, PP. 752-788Septembre/Octobre .2000

[31] R. G. Buice, T. B. Gold and R. A. Lodder; 'Determination of Moisture in intact Gelatin Capsules by NearInfrared Spectrophotometry', J. of Pharmaceutical Research, Vol. 12, N1PP. 333-345 .1995

[32] Direction Européenne de la Qualité du Médicament & Soins de Santé Guide technique pour l'élaboration des monographies Pharmacopée Européenne., 6e Edition - 6e Edition - 2011.

[33] PHARMACOPIE EUROPÉENNE DEUXIÈME EDITION Publiée sous la direction du CONSEIL DE L'EUROPE (ACCORD PARTIEL) 57 - Sainte-Ruffine -France 1980

[34] C. Chène; 'La Gélatine', J. de l'Adrianor, Agro-jonction N° 24, PP. 752-788 Septembre/Octobre .2000

[35] N. Devi, D. Hazarika, C. Deka & D. K. Kakati: Study of Complex Coacervation of Gelatin A and Sodium Alginate for Microencapsulation of Olive Oil, Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry, 49:11, 936-945.2012

[36] Coimbra P.A., De Sousa H.C., Gil M.H: «Preparation and characterization of flurbiprofen-loaded poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) microspheres, J. Microencapsulation», 25 (3), 170-178.2008

[37] Francis Rouessac, Annick Rouessac, Analyse chimique méthodes et techniques instrumentales modernes, cours et exercices résolus, 5e édition, DUNOD 2004

[38] A. Boza-Rivera, R. Gonzalez Hernandez, H. Novoa de Armas, M. Dulce, E. Cuéllar, Valdés M. Losada Physico-chemical and solid-state characterization of secnidazole. II Farmaco, 55 (11-12), 700-707. 2000

[39] Hombreiro Pérez M., Zinutti C., Lamprecht A., Ubrich N., Astier A., Hoffman M., Bodmeier R., Maincent P: «The preparation and evaluation of poly (ε-caprolactone) microparticles containing both a lipophilic and a hydrophilic drug», J. Controlled Release, 65, 429-438.2000

[40] C. Le Gressus Technique de l'ingénieur, techniques d'analyse Microscopie électronique à balayage, 1, 865, 1-22. 1995

[41] J. P. Eberhart, analyse structurale et chimique des matériaux, Dunod , 1989

[42] Jeong J.C., Lee J., Cho K: «Effects of crystalline microstructure on drug release behavior of poly ( $\epsilon$ -caprolactone) microspheres», J. Controlled Release, 92 ,249– 258, 2003

[43] Freitas.M.N, Marchetti.J.N: «Nimesulide PLA microspheres as a potential sustained release system for the treatment of inflammatory diseases», International Journal of Pharmaceutics 295 ,201–211, 2005

[44] Contribution au développement de microcapteurs intégrés de viscoélasticité de fluides, Etienne Lemaire, Université Bordeaux I, 2013

