



Encapsulation de molécules hydrophobes par des structures bi-gels générées par prilling : relation structure-propriétés

Sarah Regina Pereira Camelo

► To cite this version:

Sarah Regina Pereira Camelo. Encapsulation de molécules hydrophobes par des structures bi-gels générées par prilling : relation structure-propriétés. Génie des procédés. Ecole des Mines d'Albi-Carmaux, 2015. Français. NNT : 2015EMAC0002 . tel-01178199

HAL Id: tel-01178199

<https://theses.hal.science/tel-01178199>

Submitted on 17 Jul 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

École Nationale Supérieure des Mines d'Albi-Carmaux conjointement avec l'INP Toulouse

Présentée et soutenue par :
Sarah Regina PEREIRA CAMELO

le mardi 28 avril 2015

Titre :

Encapsulation de molécules hydrophobes par des structures bi-gels
générées par prilling : relation structure-propriétés

École doctorale et discipline ou spécialité :
ED MEGEP : Génie des procédés et de l'Environnement

Unité de recherche :
Centre RAPSODEE, CNRS - UMR 5302, École des Mines d'Albi-Carmaux

Directeur/trice(s) de Thèse :
Maria Inês RÉ
Sophie GIROD-FULLANA

Jury :

Eric BEYSSAC, Professeur, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, Rapporteur
Philippe LEGRAND, Professeur, Université Montpellier 1, Rapporteur
Maria Inês RÉ, Directeur de recherche, École des Mines d'Albi-Carmaux, Directrice
Sophie GIROD-FULLANA, Maître de conférence HDR, UPS, Toulouse, Co-directrice
Denis PONCELET, Professeur, École des Mines de Nantes, Président
Emile PEREZ, Chargé de recherche CNRS, UPS, Toulouse, Examineur

RESUME

Ce travail de thèse s'articule autour de la génération et de la caractérisation de capsules d'organo-hydrogel ou simplement bi-gels, obtenues par la technologie du *prilling* et destinées à la délivrance contrôlée d'un principe actif (P.A), après administration par voie orale. L'Efavirenz (EFV), un antirétroviral utilisé dans le traitement du VIH/Sida, a été le P.A utilisé comme modèle de molécule de faible solubilité dans l'eau. Il a été dissous dans l'organogel composé d'huile de tournesol et d'acide 12-hydroxystéarique (12-HSA). L'organogel a été caractérisé par sa température de transition de phase *sol-gel-sol*. Et la thermoréversibilité caractéristique de cet organogel n'a pas changée avec l'introduction de l'EFV. Pour la caractérisation des organogels comme véhicule de P.A, ils ont été produits à deux températures (5 °C et 25 °C) et avec deux concentrations de 12-HSA (5% et 20%). Pour les essais de libération de l'EFV deux milieux de dissolution ont été utilisés (pH 1,2 et 6,8) avec et sans enzymes. Le profil de libération de l'EFV à partir de capsules bi-gels (2500 à 3000 µm de diamètre) est essentiellement lié à la quantité d'organogélifiant dans le cœur, à la présence de la membrane d'alginate et à l'état physique de cette membrane (hydratée ou sèche). Une réduction de 50% a pu être observée à pH acide en présence de la membrane externe. A pH acide la libération est plus lente qu'à pH 6,8, quand la membrane perd sa fonction protectrice et le cœur organogel passe à régler la libération. Deux mécanismes de relargage sont observés : l'érosion et la diffusion, expliqués par le modèle de Korsmeyer-Peppas.

Mots clés : Capsule ; Forme pharmaceutique ; Formulation lipidique ; Libération contrôlée ; Prilling ; Taille particule.

ABSTRACT

This thesis focuses on the generation and characterization of organo-hydrogel capsules (bi-gels), manufactured by prilling technology for controlled drug delivery after oral administration. Efavirenz (EFV), an antiretroviral medications used to treat HIV/AIDS, is the active pharmaceutical ingredient (API) used as a model molecule of low solubility in water. It was dissolved in the organogel, which is compound of sunflower oil and 12-hydroxystearic acid (12-HSA). The organogel was characterized by its phase transition temperature *sol-gel-sol*. The typical thermoreversibility of this organogel has not changed with introduction of EFV. The organogels were produced at two temperatures (5 °C and 25 °C) and with two concentrations of 12-HSA (5% and 20%) for being characterized as an API vehicle. Two dissolution media were used with and without enzymes (pH 1.2 and 6.8), for EFV release quantification. The EFV release profile from bi-gels capsules (diameter from 2500 to 3000 μm) is essentially related to the amount of organogelator in their core, to the presence of the alginate membrane and to the state physics of this membrane (hydrated or dry). The release of EFV has reduced 50% at acid pH in the presence of the external membrane. In simulated gastric fluid, the release is slower than at pH 6.8 (simulated intestinal fluid). In the intestine, the membrane loses its protective function and the organogel's core begins to control the release of EFV. Two release mechanisms are observed: erosion and diffusion, which can be explained by the Korsmeyer-Peppas model.

Keywords: Capsules; Controlled drug release; Dosage form; Lipid formulation; Particule size; Prilling;

TABLE DES MATIERES

RESUME.....	1
ABSTRACT	2
TABLE DES MATIERES	3
INTRODUCTION GENERALE.....	7
Chapitre 1.	10
<i>Eléments bibliographiques</i>	<i>10</i>
Première partie	12
Moyens d'amélioration de la biodisponibilité orale d'une molécule de faible solubilité dans l'eau	12
Introduction	12
1.1 L'administration par voie orale	13
1.2 Les molécules faiblement solubles dans l'eau	15
1.3 Moyens d'amélioration de la biodisponibilité.....	16
1.3.1 Modifications chimiques	18
1.3.2 Modifications physiques.....	19
1.3.3 Stratégies galéniques.....	20
Deuxième partie.....	24
Encapsulation par de systèmes gélifiés.....	24
Introduction	24
1.4 Les organogels.....	25
1.4.1 Généralités sur les organogels.....	25
1.4.2 Les transitions de phase sol-gel et gel-sol dans un gel physique formé par un réseau de fibres solides : techniques de mesures thermiques et rhéologiques	31
1.4.3 Exemples d'applications des organogels pour une libération contrôlée des substances actives ou des médicaments.....	37
1.4.4 Organogels encapsulés	50
1.4.5 Mécanismes de libération à partir d'un organogel	51
1.5 Les hydrogels	55
1.5.1 Généralités	55
1.5.2 L'hydrogel d'alginate.....	62
Troisième partie	66
L'Encapsulation par des structures cœur-membrane	66
1.6 L'encapsulation : concept et application	66
1.6.1 Procédés de formation d'une membrane autour d'un noyau existant	70
1.6.2 Formation d'une bi-goutte suivie de solidification/gélification.....	74
1.6.3 Exemples de structures générées par prilling pour un relargage de principe actif ...	82
1.6.4 Libération d'un principe actif à partir des structures cœur-membrane	87

Quatrième partie	93
Molécule modèle : Efavirenz	93
Introduction	93
1.7 Le VIH et son cycle répliatif	93
1.7.1 Mécanismes d'action des antirétroviraux	95
1.7.2 Présentation de l'Efavirenz	95
Conclusions	101
Références	103
Chapitre 2.	118
Préparation et caractérisation d'organogels	118
d'huile de tournesol et de 12-HSA	118
Première partie	120
Transitions de phases sol-gel et gel-sol d'organogels à base d'huile de tournesol et de 12-HSA	120
Introduction	120
I-1. Produits	121
I-2. Méthodes de caractérisation	122
I-2.1 Détermination des transitions de phase gel-sol et sol-gel par calorimétrie différentielle à balayage	122
I-2.2. Mesure de la solubilité de l'Efavirenz dans l'organogel d'huile de tournesol-12HSA	123
I-3. Résultats et discussion	126
I-3.1 Transitions de phases <i>sol-gel</i> et <i>gel-sol</i>	126
I-3.1.1 Effet de la concentration de la molécule gélifiante	126
I-3.1.2 Effet de la concentration d'Efavirenz	131
I-3.1.3 Analyse de l'évolution des T_m , T_c , ΔH_m et ΔH_c avec la concentration en 12-HSA	136
I-4. Conclusion sur l'étude de transition de phase de l'organogel de l'huile de tournesol/HSA (EFV)	138
Deuxième partie	139
Organogels sous forme massive : cinétiques de libération de l'Efavirenz	139
Introduction	139
II-1. Produits	140
II-2. Méthodes de caractérisation	141
II-2.1 Mesure de la solubilité de l'Efavirenz dans l'huile de tournesol à la température de l'expérience de libération <i>in vitro</i>	141
II-2.2. Etude de libération du principe actif à partir d'organogels sous forme massive	142
II-2.2.1. Préparation des milieux pour les tests de libération <i>in vitro</i>	142
II-2.2.2 Protocole expérimental	142
II-2.2.3 Évaluation du mécanisme de libération du principe actif en utilisant différents modèles cinétiques	144
II-3. Résultats et discussion	146

II-3.1 Mesure de la solubilité de l'Efavirenz dans l'huile de tournesol à la température des essais de libération <i>in vitro</i> (37 °C).....	146
II-3.2 Erosion/diffusion de l'Efavirenz à partir des organogels (format cylindrique)	147
II-3.3 Évaluation du mécanisme de libération du principe actif en utilisant différents modèles cinétiques.....	151
Troisième partie	154
Organogels sous forme particulière : aptitude à la libération d'un principe actif (Efavirenz)	154
Introduction	154
III-1. Produits	155
III-2. Méthodes de caractérisation	155
III-2.1 Protocole expérimental de fabrication de billes d'organogel par prilling.....	155
III-2.2 Caractérisation de l'organogel sous forme particulière	157
III-2.2.1 Microscopie électronique à balayage.....	157
III-2.2.2 Dissolution <i>in vitro</i> d'une forme particulière d'organogel	157
III-2.2.3 Microscopie Raman	158
III-3. Résultats et discussion	159
III-3.1 Mise au point d'un protocole expérimental pour la formation d'une forme particulière d'organogel par prilling.....	159
III-3.2 Observations morphologiques	161
III-3.3 Microscopie Raman	163
II-3.4 Diffusion de l'Efavirenz à partir des organogels sous forme particulière.....	166
Conclusions	169
Références	170
Chapitre 3.	173
Préparation et caractérisation	173
des particules bi-gels.....	173
Première partie	175
Préparation et caractérisation des particules bi-gels	175
Introduction	175
I-1. Produits	176
I-2. Méthodes de préparation et caractérisation des particules bi-gels	176
I-2.1 Préparations des solutions utilisées	176
I-2.2 Détermination de la viscosité des solutions.....	177
I-2.3 Abaissement de la tension de surface de la solution de chlorure de calcium.....	178
I-2.4 Protocole expérimental de fabrication de capsules bi-gel par prilling	180
I-2.5 Définition de conditions opératoires.....	182
I-2.6 Morphologie des particules	183
I-2.7 Comportement mécanique.....	184
I-2.7.1 Cycles de compression/relaxation	184
I-2.8 Calcul du module élastique.....	185
I-3. Résultats et discussion	186
I-3.1 Viscosité des solutions.....	186
I-3.2 Tension de surface.....	187

I-3.3 Morphologie de particules bi-gels	188
I-3.4 Comportement mécanique	195
I-3.4.1 Cycles de compression-relaxation	195
I-3.4.2 Calcul du module élastique	198
Deuxième partie.....	203
Capsules bi-gels : aptitude à la libération d'un principe actif (Efavirenz)	203
Introduction	203
III-1. Produits	204
III-2. Méthodes de caractérisation.....	204
III-2.1 Microscopie Raman	204
III-2.2 Etude de la libération de l'Efavirenz des capsules bi-gel	204
III-2.2.3 Évaluation du mécanisme de libération du principe actif en utilisant différents modèles cinétiques.....	205
III-3. Résultats et discussion.....	206
III-3.1 Microscopie Raman	206
III-3.2 Cinétique de libération de l'Efavirenz à partir des capsules bi-gels	208
III-3.2.2 Etude en conditions gastriques simulées à pH 1,2	210
III-3.2.3 Etude en conditions gastriques simulées à pH 6,8	211
III-3.2.4 Etude en conditions gastro-intestinales	213
II-3.3 Mécanisme de libération : modélisation.....	218
II-3.4 Proposition du mécanisme de libération à partir de particules bi-gels.....	221
Conclusions	225
Références.....	226
CONCLUSIONS GENERALES.....	230
PERSPECTIVES.....	238
LISTE DES FIGURES.....	242
LISTE DES TABLEAUX	247

INTRODUCTION GENERALE

L'absorption d'une molécule active est régie par deux facteurs principaux : les caractéristiques de solubilité et de dissolution de la molécule dans les fluides digestifs et sa capacité à traverser les membranes intestinales. Etant donné qu'un PA doit au préalable se dissoudre dans le tractus gastro-intestinal avant d'être absorbé et que les molécules apolaires présentent de faibles solubilités dans l'eau, celle-ci ont souvent une biodisponibilité non suffisante pour obtenir l'effet thérapeutique recherché.

Le développement de systèmes d'administration par voie orale, permettant de formuler des molécules apolaires pour une utilisation en thérapeutique, représente donc un grand défi pour l'industrie pharmaceutique. Le recours à des nouvelles formulations, notamment d'un cœur lipidique, est la stratégie proposée ici.

Ce travail de thèse s'articule autour de la génération et de la caractérisation de capsules d'organo-hydrogel, ou simplement bi-gel, obtenues par la technologie du prilling, et destinées à permettre la délivrance contrôlée d'un principe actif après administration par voie orale.

Un procédé original de fabrication de particules noyau-membrane biocompatibles constituées des deux types de gels : un constituant le cœur (un organogel d'acide hydroxy stéarique 12HSA et l'huile de tournesol) et un autre constituant la membrane (un hydrogel d'alginate de calcium). Cette technique, basée sur la rupture d'un jet laminaire de liquide avant gélification des gouttelettes ainsi formées, permet la production des capsules de taille millimétriques, dont le noyau peut être liquide ou semi-solide. Les propriétés finales des capsules peuvent être contrôlées par différents paramètres liés à la formulation de l'organogel et de l'hydrogel, mais aussi aux conditions opératoires de leur obtention. Des nombreux travaux valorisent l'intérêt des organogels et des hydrogels, considérés séparément ; en biologie pour l'encapsulation de matière vivante (cellules), dans l'industrie pétrochimique, dans le domaine alimentaire pour la structuration des huiles végétales, en cosmétologie et dans le domaine pharmaceutique. Notre objectif est donc d'assembler les deux dans une

même entité particulière et d'explorer leur fonctionnalité pour une application dans le domaine pharmaceutique.

Dans le Chapitre 1, nous nous intéresserons au positionnement de cette thèse vis-à-vis de l'état de l'art. Dans une première partie nous discuterons des techniques actuellement utilisées en vue d'améliorer la biodisponibilité de molécules de faible solubilité dans l'eau, ainsi que des techniques d'encapsulation classiques. Dans un deuxième temps nous présenterons les organogels, les hydrogels et leurs propriétés. Enfin, nous décrirons notre procédé de fabrication de particules matricielles (sphères) et noyau-membrane (capsules) de taille monodisperse. A la fin de ce chapitre, le principe actif utilisé comme principe actif modèle à faible solubilité dans l'eau, l'Efavirenz, sera présenté.

Dans le Chapitre 2, nous nous intéresserons à la caractérisation d'organogels formés par un agent gélifiant (le 12-HSA) mis dans l'huile de tournesol. Ce type d'organogel possède une température spécifique au-dessus de laquelle il se trouve dans sa forme liquide et en-dessous de laquelle il se trouve dans sa forme gel. Nous nous sommes donc penchés sur la caractérisation de la transition *sol-gel* d'organogels obtenus à partir de concentrations croissantes en HSA, puis sur la formation de billes matricielles à partir de ces organogels. Ces particules ont été obtenues par prilling via une simple buse, procédé couplé à l'utilisation de différentes températures de refroidissement. L'effet de l'introduction du principe actif à différentes concentrations sur les propriétés des organogels sous forme massive ou particulière sera aussi évalué.

Dans la première partie du Chapitre 3 nous présenterons les particules noyau-membrane (particules bi-gels) que nous avons générées par prilling couplé à une double-buse concentrique. Cette technologie permet l'obtention des capsules bi-gels monodisperses en taille et en une seule étape. Différentes techniques de caractérisation ont été adaptées afin de permettre la caractérisation de ces objets originaux. Enfin, le principe actif modèle, l'Efavirenz, a été encapsulé sous forme dissoute dans le cœur organogel des capsules bi-gels, et les particules résultantes seront caractérisées en termes de morphologie et résistance mécanique.

Dans la deuxième partie du Chapitre 3, nous nous sommes penchés sur l'étude de la libération du principe actif à partir de notre forme pharmaceutique, en milieu gastro-intestinal simulé. Nous nous attacherons à mettre en évidence l'influence de certains paramètres de la formulation et/ou technologiques sur les cinétiques de libération. Dans une première

approche, ces paramètres ont été majoritairement centrés sur l'influence de la structuration du cœur organogel. Enfin, les cinétiques de libération obtenues ont été modélisées afin d'émettre des hypothèses sur le mécanisme de libération de l'actif et sur le rôle joué par le cœur et la membrane des capsules. Cette détermination est un prérequis essentiel à l'évaluation de ce type de nouvelle forme « bipolaire » hydrophile-lipophile et à l'évaluation de ces potentialités dans le domaine pharmaceutique.

Dans la dernière partie, en tenant compte de notre objectif, seront présentées les conclusions de nos études et les perspectives d'amélioration des résultats ici présentés. Il s'agit là d'une première étude sur des particules bi-gel (organogel-hydrogel) obtenues par prilling, et d'une première approche des paramètres technologiques et de formulation qui peuvent permettre de les valoriser dans le domaine pharmaceutique, et plus particulièrement dans le domaine des principes actifs faiblement solubles dans l'eau destinés à la voie orale.

Chapitre 1.

Éléments bibliographiques

Première partie

Moyens d'amélioration de la biodisponibilité orale d'une molécule de faible solubilité dans l'eau

Introduction

Le but de ce chapitre est de présenter d'abord le contexte général qui a motivé ce projet d'une façon plus approfondit. Dans un premier temps la revue bibliographique se consacre à présenter la voie orale et ces particularités. Un des paramètres bien marqués est le changement de pH pendant le long du tractus gastro-intestinal, paramètre qui peut modifier (augmenter/réduire) les taux d'absorption des substances actives.

Comme la majorité de principes actifs existants ou en développement pour cette voie ont une faible solubilité dans l'eau, améliorer la biodisponibilité de ces molécules reste un défi à relever. A cet effet, les différentes voies d'amélioration de la biodisponibilité telles que les modifications chimiques ou certaines stratégies galéniques sont rappelés. Néanmoins, les systèmes lipidiques (organogels) gagneront une attention spéciale dans cette thèse en tant que formulations particulièrement adaptées aux substances faiblement solubles dans l'eau. La deuxième partie de ce chapitre porte donc sur les organogels et sur l'hydrogel d'alginate, ainsi que sur l'état de l'art traitant de leurs utilisations pour des systèmes de relargage de principes actifs.

Envisageant une libération plus ciblée du principe actif, les systèmes multi particuliers seront présentés. Les enjeux de l'encapsulation sont multiples et ont donné naissance à un grand nombre de produits industriels. De ce fait, de nombreuses techniques d'encapsulation se sont développées dans les domaines industriels et scientifiques. Nous en présenterons quelques exemples nous focalisant sur les systèmes de génération de structures de type cœur-membrane et leurs techniques d'obtention, avant de décrire plus en détail notre procédé d'obtention de bi-gouttes à partir d'un jet composé (prilling). Nous finirons en rappelant de façon synthétique quelques modèles mathématiques proposés pour décrire les cinétiques de libération à partir de systèmes générés par des procédés d'encapsulation.

1.1 L'administration par voie orale

Le tractus gastro-intestinal (TGI) est une voie d'administration de choix pour l'administration de la plupart des principes actifs médicamenteux, indépendamment de leur structure ou poids moléculaire (Touitou, 2013). Des avantages sont liés à l'administration de médicaments par cette voie : c'est une voie aisée ; bien acceptée par le patient ; et des doses élevées peuvent être prises en une seule fois.

Les étapes d'assimilation et d'action du principe actif (P.A.) par et sur l'organisme lors d'une administration orale sont décrites par les phases biopharmaceutique, pharmacocinétique et pharmacodynamique représentées sur la Figure 1.

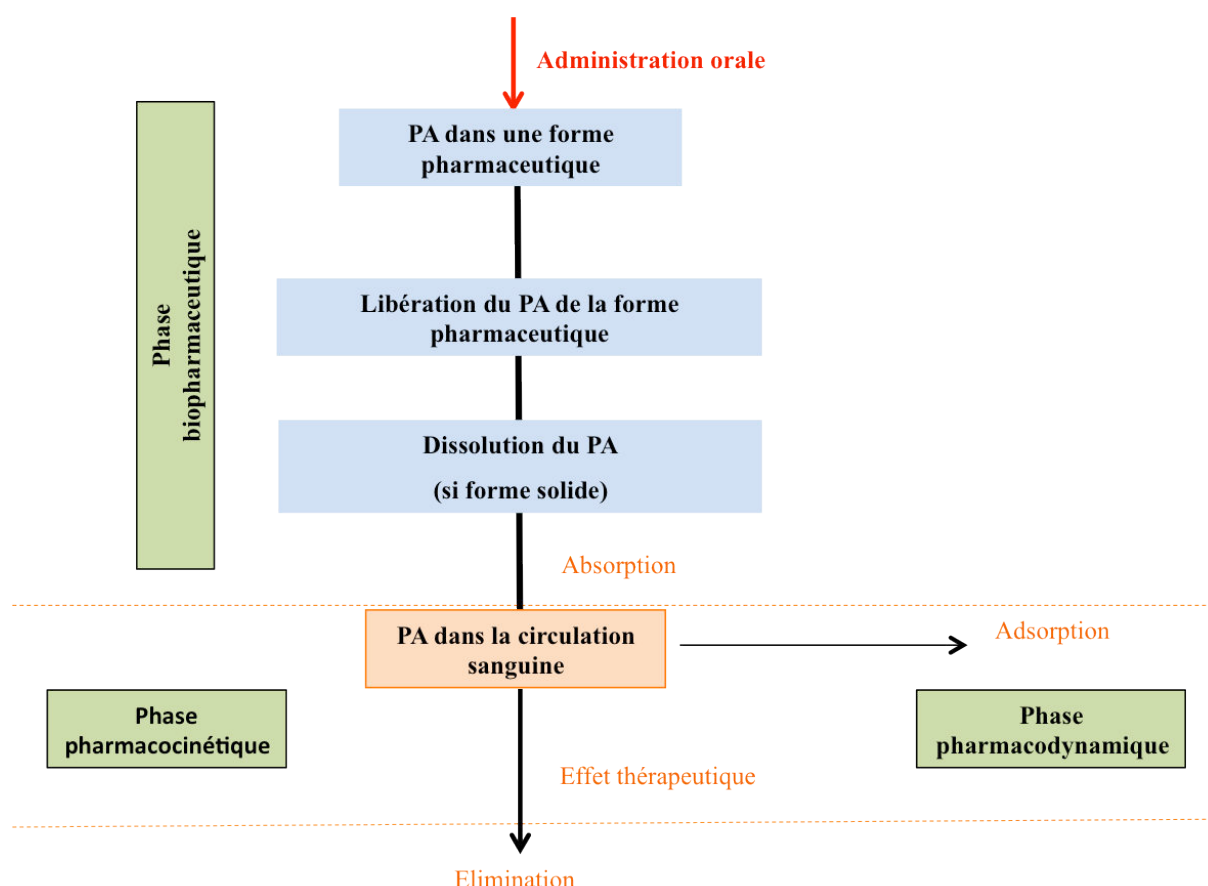


Figure 1. Représentation schématique du devenir d'un médicament dans l'organisme après administration orale.

Lors d'une administration par voie orale, les principes actifs doivent être absorbés au niveau du TGI et atteindre la circulation générale (Phase pharmacocinétique). Dans le cas de

formulations où les principes actifs se trouvent sous forme solide ils doivent être dissouts pour ensuite être absorbés au niveau du TGI.

Le P.A. atteint alors la circulation sanguine générale de façon à pouvoir atteindre sa cible (le site d'action et ses récepteurs auxquels il est destiné) : c'est la phase pharmacocinétique qui se réalise selon quatre étapes successives, l'absorption, la distribution dans l'organisme, le métabolisme et l'élimination de l'organisme). L'action du P.A. sur l'organisme (action thérapeutique/toxicité) correspond à la phase pharmacodynamique.

Les facteurs physiologiques du tractus gastro-intestinal (Figure 2) : pH, mobilité et durée du transit, l'état physiologique du patient (âge, sexe, maladie...) et la présence de nourriture sont des facteurs importants à prendre en compte (Touitou, 2013).

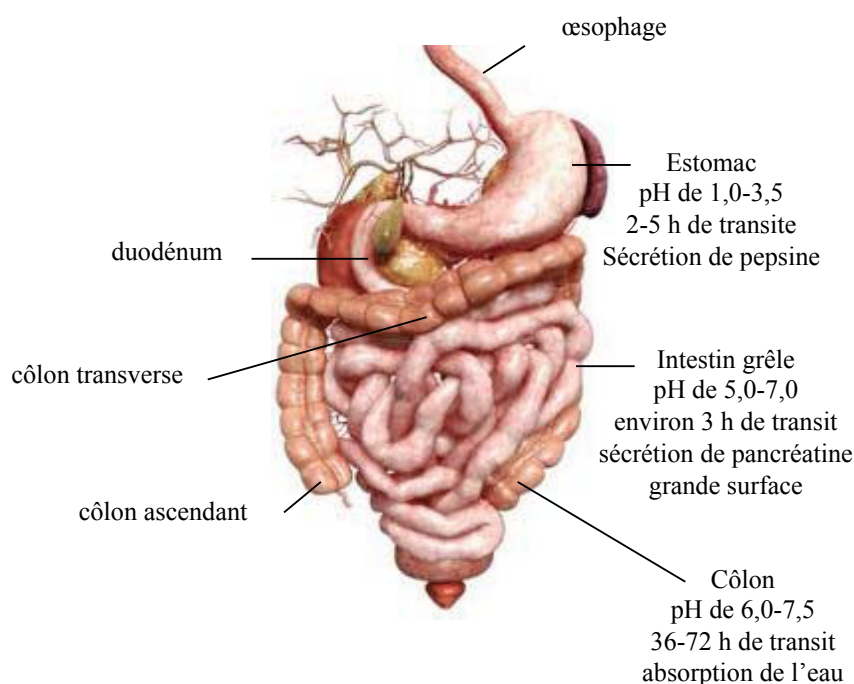


Figure 2. L'anatomie du tractus gastro-intestinal et ces particularités (variations de pH et nature des enzymes présentes le long du TGI).

La molécule doit donc présenter des propriétés physico-chimiques particulières : stable au pH acide de l'estomac, stable dans le milieu intestinal, présenter un profil de dissolution reproductible et une balance hydrophile/lipophile adéquate pour passer l'épithélium intestinal.

1.2 Les molécules faiblement solubles dans l'eau

Comment exposé précédemment l'administration orale est préférentielle pour l'administration de médicaments. Toutefois, cette voie présente des inconvénients, comme la grande variabilité du temps de passage au long du TGI, l'effet de premier passage hépatique et le fait que l'absorption est limitée dans la partie inférieure du tractus (Klausner et al., 2003).

La grande majorité des molécules sont incorporées dans des formes pharmaceutiques solides à administration orale, en vue d'une dissolution et une absorption adaptée pour obtenir des concentrations suffisantes dans le plasma permettant l'effet thérapeutique ciblé (Charman and Charman, 2002). Malheureusement le nombre de nouvelles molécules peu solubles dans l'eau, et présentant une faible absorption après administration orale, augmente sans cesse. Ainsi, pour augmenter la biodisponibilité de ces médicaments leurs caractéristiques de solubilité et cinétique de dissolution doivent être améliorées (Streubel et al., 2006 ; Desai et al., 2006).

Les deux principaux facteurs biopharmaceutiques sont la solubilité et la perméabilité intestinale. Une classification biopharmaceutique de substances actives dite BCS (*Biopharmaceutical Classification System*) a été proposée en 1995 par G. Amidon afin de prédire l'aptitude à l'absorption d'une molécule à partir de ces deux facteurs. Elle permet de subdiviser les P.A. en 4 classes selon leur solubilité aqueuse et perméabilité dans le TGI (Tableau 1) :

- *Classe I*: Le PA étant facilement absorbé, deux facteurs peuvent limiter la vitesse d'absorption : (i) la vitesse de dissolution, (ii) le temps de transit gastro-intestinal qui devient le facteur limitant si la dissolution est très rapide.

- *Classe II*: La vitesse d'absorption est limitée par la vitesse de dissolution du PA.

- *Classe III*: La perméabilité intestinale est le facteur limitant la vitesse d'absorption.

- *Classe IV*: L'administration orale nécessite de contourner les problèmes de solubilisation ainsi que d'absorption de ce type de PA. Dans le cas où la galénique n'arrive pas à lever ces verrous, ces molécules peuvent être administrées par voie parentérale.

Dans la classification BCS (Tableau 1), un P.A. est considéré comme ayant une haute solubilité lorsque la dose administrable pour une libération immédiate est soluble dans 250 ml

d'un milieu aqueux avec un pH allant de 1 à 6.8 à 37 °C. Quand plus de 85% de la dose de P.A. administrée est absorbée à travers la barrière intestinale, elle présente une haute perméabilité (Yu et al., 2002).

Tableau 1. Système de Classification Biopharmaceutique BCS (Amidon et al., 1995).

	Solubilité élevée	Faible solubilité
Perméabilité élevée	Classe I	Classe II
Faible perméabilité	Classe III	Classe IV

Seule une faible proportion des molécules commercialisées ou en cours de développement sont de classe I ; 90% d'entre elles sont apolaires et appartiennent aux classes II et IV, dont environ 70% à la classe II (Yu et al., 2002). Il apparaît donc primordial de développer différentes options de formulations dans le but d'améliorer la solubilité des substances actives surtout de classe II.

La molécule d'intérêt de ce travail de thèse appartient à la classe II, l'Efavirenz. Une forme galénique orale pour cette molécule doit forcément répondre à certaines contraintes physiques (variations de pH et nature des enzymes présentes le long du TGI) et chimiques (faible solubilité).

1.3 Moyens d'amélioration de la biodisponibilité

Selon l'European Evaluation Agency (EMA), la biodisponibilité se définit comme étant la vitesse et l'étendue avec lesquelles le P.A. est absorbé à partir de sa formulation pharmaceutique et devient disponible au site d'action (EMA, 2001). Etant donné que le site d'action n'est généralement pas identifié, la biodisponibilité est redéfinie comme étant la vitesse et l'étendue avec lesquelles le P.A. gagne la circulation générale. La biodisponibilité est donc une propriété du médicament qui rend compte à la fois du taux de P.A. qui atteint la circulation générale et de la vitesse à laquelle il y parvient.

Lors d'une administration par voie orale, deux étapes majeures peuvent limiter le passage systémique des PA. Dans un premier temps, le composé doit se dissoudre dans les liquides du TGI. Une fois dissous, le PA doit ensuite traverser la muqueuse intestinale afin de rejoindre la circulation sanguine. Si le PA est peu soluble mais facilement absorbable, il sera absorbé dès sa dissolution, disparaîtra du milieu, permettant ainsi la dissolution d'une nouvelle fraction facilement absorbable. Néanmoins, la vitesse de dissolution sera un des facteurs essentiels de son absorption.

Différentes approches pour accroître la vitesse de dissolution des substances actives de classe II BCS peuvent être développées. Elles sont à mettre en relation avec l'équation de Noyes-Whitney (Equation 1.1) qui présente les différents facteurs physicochimiques influençant la vitesse de dissolution d'une substance active :

$$\frac{dm}{dt} = A \frac{D}{d} (C_s - C_b) \quad (1.1)$$

où dm/dt = vitesse de dissolution ; A = surface développée ; D = coefficient de diffusion ; d = épaisseur de la couche de diffusion ; C_s = concentration dans la couche de diffusion ; C_b = concentration dans le milieu.

La couche de diffusion correspond à l'environnement directement au contact de la particule de substance active, dans lequel le P.A. est à saturation ou concentration saturante (C_s). L'équation de Noyes-Whitney met en évidence que les facteurs clés sur lesquels la formulation va pouvoir agir sont soit la concentration saturante (solubilité), soit la surface développée. Différentes stratégies peuvent être mises en œuvre. Elles comprennent des modifications chimiques, physiques et des stratégies galéniques (Figure 3).

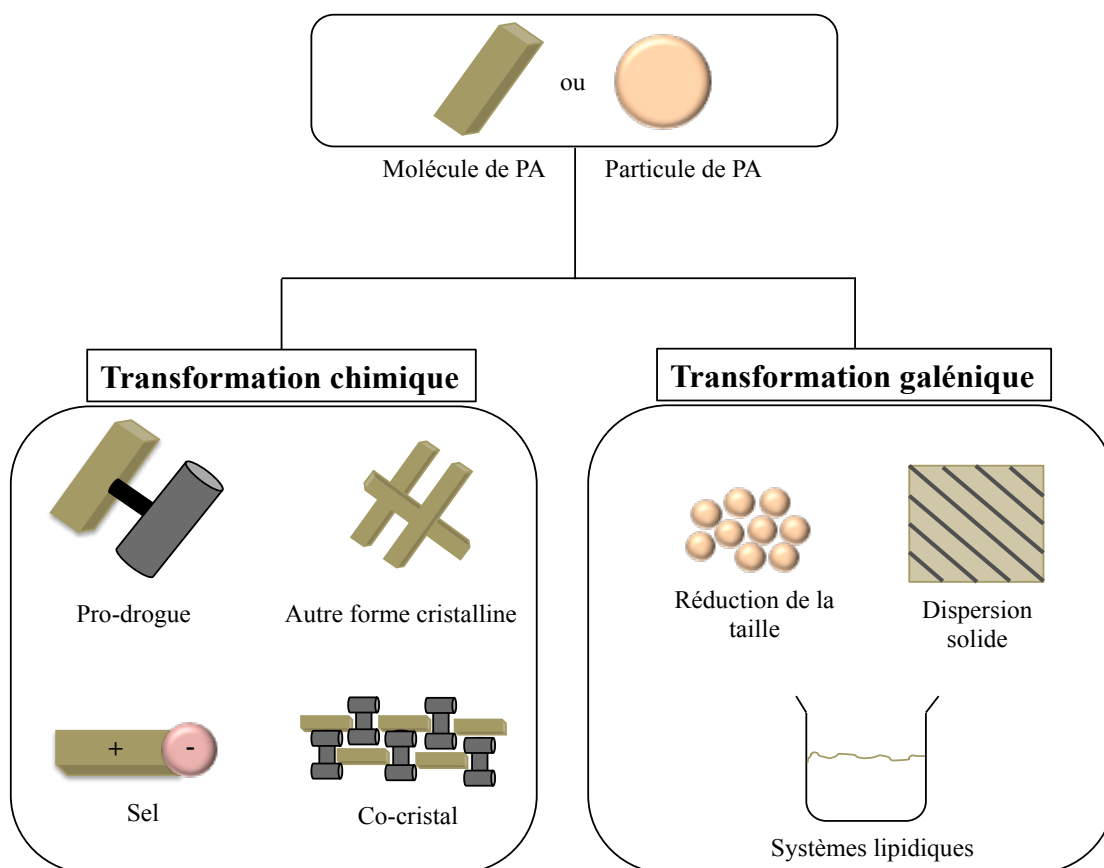


Figure 3. Différentes stratégies utilisées pour l'amélioration de la solubilité/vitesse de dissolution des molécules faiblement solubles dans l'eau.

1.3.1 Modifications chimiques

La voie chimique permet d'envisager:

- *Le choix d'un sel plus hydrosoluble.*

Les substances ionisées sont plus solubles dans l'eau que celles non ionisées. La formation de sels à partir d'un P.A. a pour objectif de transformer une substance peu ionisée et donc peu hydrosoluble en un sel ionisé plus hydrosoluble. La formation du sel est la méthode la plus courante et efficace pour augmenter la solubilité et les taux de dissolution des P.A. acides et basiques (Agharkar et al., 1976 ; Serajuddin, 2007)

- *Le choix d'une forme amorphe stable, car plus soluble qu'une forme cristalline, sinon le choix de la forme cristalline la plus soluble dans l'eau; La fusion suivie d'un*

refroidissement rapide ou une recristallisation à partir de divers solvants peut aboutir à des formes métastables d'un P.A (Pinnamaneni et al., 2002).

- *La synthèse de pro-drogues*

Il s'agit d'une molécule inactive au départ destinée à usage thérapeutique qui doit subir une biotransformation après son administration pour l'activer soit par voie métabolique (enzymatique) soit par un clivage chimique spontané (hydrolyse) en une espèce pharmacologiquement active. Les pro-drogues peuvent être utilisées comme une importante stratégie d'augmentation de la solubilité du P.A. (Choia et al., 2004).

- *La synthèse de co-cristaux*

Les co-cristaux sont des solides cristallins composées de deux ou plusieurs molécules dans un même réseau cristallin (FDA, 2013). Leur formation implique l'incorporation d'une substance active donnée avec une ou plusieurs molécules pharmaceutiques acceptables dans le réseau cristallin. La mise en place de co-cristaux permet d'augmenter la vitesse de dissolution, notamment des substances actives non ionisables aux pH physiologiques (Rodríguez-Hornedo et al., 2006).

1.3.2 Modifications physiques

Des modifications physiques comme une réduction de la taille des cristaux d'un P.A. permettent d'envisager l'augmentation de la surface de contact entre solide et liquide et accélérer la vitesse de dissolution. La réduction de la taille des cristaux peut être obtenue par différents procédés, comme une micronisation par des techniques de broyage (Porter et al., 2008) ou une recristallisation du P.A. à partir d'une solution organique où il est dissous. Cette recristallisation peut se faire par réduction de la solubilité du par un effet d'abaissement de la température de la solution ou l'ajout d'un anti-solvant (Banga et al., 2004).

1.3.3 Stratégies galéniques

Différentes stratégies galéniques peuvent être utilisées parmi lesquelles nous citerons à titre d'exemple l'amorphisation et les systèmes lipidiques.

Amorphisation

De façon générale, la solubilité des substances actives amorphes est plus grande que celle des cristaux correspondants. La formulation de systèmes amorphes stables peut être obtenue par les techniques de dispersions solides. Le terme dispersion solide se réfère à la dispersion d'un ou de plusieurs ingrédients actifs dans un polymère solide inerte souvent préparés par la méthode de fusion, d'évaporation de solvant ou de la méthode de fusion suivie de l'évaporation du solvant. De nouvelles techniques comprennent la précipitation rapide par lyophilisation, l'utilisation de fluides supercritiques, le séchage par pulvérisation en présence de polymères hydrophiles amorphes, et l'extrusion. Les dispersions solides les plus courantes, utilisent des polymères hydrophiles comme la polyvinylpyrrolidone (PVP) et le polyéthylène glycol (PEG). Souvent, des tensioactifs peuvent aussi être utilisés comme le Tween 80, le Pluronic F68 et le lauryl sulfate de sodium (Kai et al., 1996 ; Emara et al., 2002).

Formulations lipidiques

Les formulations lipidiques sont des formulations particulièrement adaptées aux substances actives faiblement solubles dans l'eau car elles permettent de dissoudre certains P.A. dans des lipides ou mélanges de lipides, ce qui est favorable à une bonne biodisponibilité. Certains agents tensioactifs procurent aux formulations lipidiques des capacités d'auto-émulsification qui participent aussi à la dissolution des substances actives. Les formulations lipidiques permettent donc d'améliorer la biodisponibilité en augmentant la vitesse de dissolution et en présentant et maintenant le P.A. en solution dans le tractus gastro-intestinal.

Le terme 'formulations lipidiques' englobe généralement les émulsions, les microémulsions mais également les SEDDS (*Self-Emulsifying Drug Delivery Systems*) et les SMEDDS (*Self-MicroEmulsifying Drug Delivery Systems*). Un système de classification des formulations lipidiques (*Lipid Formulation Classification System*, LFCS) établi en 2000 (Pouton, 2000) et puis amélioré en 2006 (Pouton, 2006) regroupe les formulations en fonction

de leur composition, de leur comportement lors d'une dilution et de la distribution granulométrique des entités colloïdales formées au contact d'une phase aqueuse (Tableau 2).

Tableau 2. Classification des systèmes lipidiques (Pouton, 2006).

Composition des formulations	(% m/m)				
	Type I	Type II	Type IIIA	Type IIIB	Type IV
Excipients lipophiles	100	40-80	40-80	<20	-
Huiles (triglycérides ou mélange de mono et diglycérides)	100	40-80	40-80	<20	-
Surfactants hydro-insolubles (HLB <12)	-	20-60	-	-	0-20
Surfactants hydrosolubles (HLB > 12)	-	-	20-40	20-50	30-80
Co-solvants hydrophiles	-	-	0-40	20-50	0-50
Autres dénominations	SEDDS*		SMEDDS*		
Taille des particules dispersées	>100nm		<100nm		50-100nm

*SEEDS - *Self-Emulsifying Drug Delivery Systems*

*SMEDDS - *Self-MicroEmulsifying Drug Delivery Systems*

Cette classification se compose de quatre types de formulations :

La formulation de type I est la plus simple. Elle est constituée d'une huile végétale digestible dans laquelle le P.A. est solubilisé. Après ingestion, les triglycérides sont digérés (Figure 4) et transformés en diglycérides et acides gras libres qui vont former en présence de sels biliaires de fines micelles mixtes solubilisant le P.A. (Frish et al., 2007).

Les formulations de type II, aussi connues sous le nom de SEDDS (*Self-Emulsifying Drug Delivery Systems*) correspondent à des mélanges isotropiques d'une phase huileuse et de surfactants lipophiles (HLB<12) formant une émulsion E/H en contact d'une phase aqueuse. La proportion de surfactants utilisés est en général supérieure à 25%. Ces systèmes se distinguent par leur lipophile et caractère auto-émulsionnant.

Les formulations de type III, aussi connues sous le nom de SMEDDS (*Self-MicroEmulsifying Drug Delivery Systems*) incorporent une phase huileuse, des surfactants plus hydrophiles et des co-solvants (éthanol, polyéthylène glycol) (Pouton, 2006). Ces formulations auto-émulsifiantes correspondent à des mélanges isotropiques d'huiles avec des surfactants et/ou de co-solvants qui ont la propriété de s'émulsifier spontanément au contact des fluides gastro-intestinaux afin de former des émulsions ou des micro-émulsions

E/H (Gursoy and Benita, 2004). Les entités formées in situ au niveau du tractus GI assurent la solubilisation du P.A. (Strickley, 2004). Ces systèmes présentent l'avantage de pouvoir incorporer une plus forte quantité de P.A. lipophile qu'avec des systèmes non émulsionnés du type I (Pouton, 2000). Une émulsification rapide sous une agitation modérée et en présence d'une phase aqueuse comme les fluides GI génère une grande surface de contact pour la formulation. Ceci contribue à améliorer le taux d'absorption du P.A. (Porter et al., 2008).

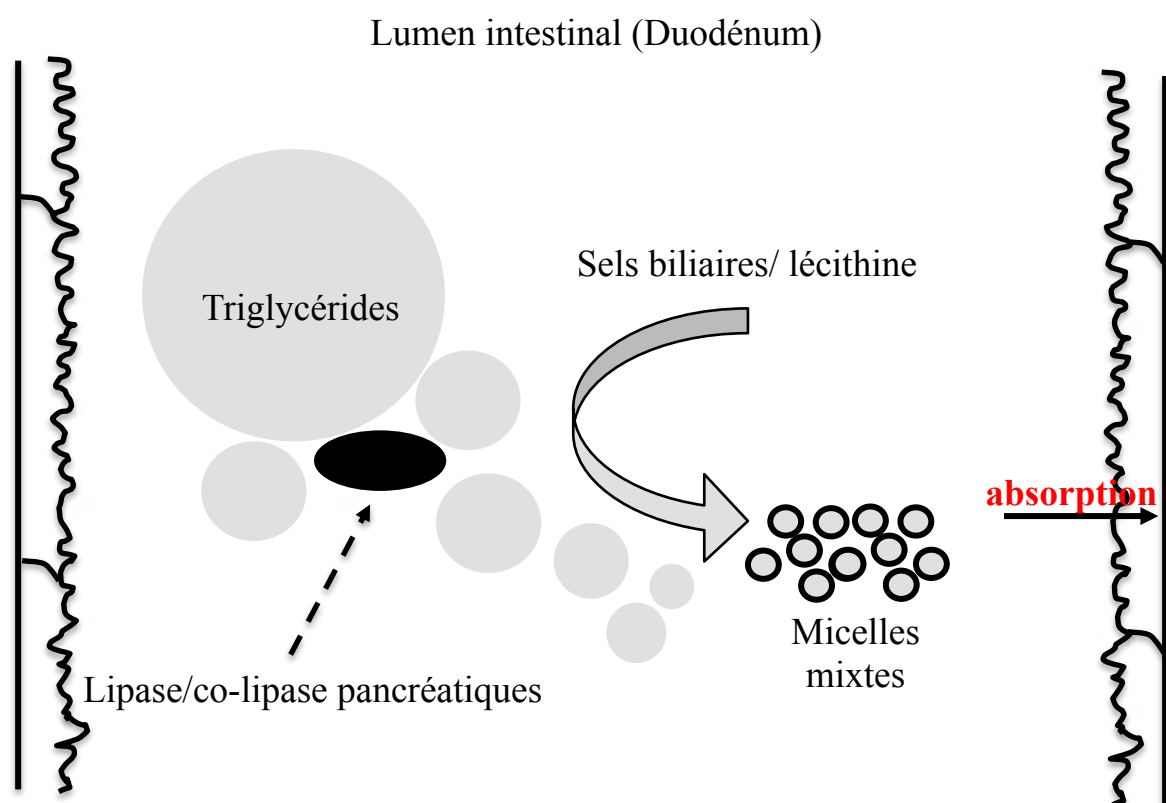


Figure 4. Représentation schématique du rôle de lipase/co-lipase, sels biliaries et des micelles mixtes dans la digestion des triglycérides. Chaque molécule de triglycéride est digérée pour produire deux molécules d'acide gras et une molécule de monoglycéride qui est solubilisée dans le lumen de l'intestin (Pouton, 2006).

Enfin, les formulations de type IV contiennent une forte quantité de surfactants hydrophiles et/ou de col-solvants. Mais elles n'incorporent pas d'excipients lipophiles et se caractérisent par leur fort hydrophile (Porter et al., 2008).

A ce jour les principaux systèmes lipidiques destinés à être encapsulés dans une forme solide (gélules ou capsules molles) pour administration orale peuvent être classés en deux grands groupes : - les systèmes auto-émulsifiants qui se retrouvent parmi les formulations de

type II et III ; - les systèmes micellaires, assimilables aux formulations de type IV.

Les systèmes auto-émulsionnants sont de formes galéniques de choix pour les P.A de classe II BCS pour lesquels la dissolution *in vivo* est l'étape limitant leur biodisponibilité. Les systèmes auto-émulsionnants permettent d'augmenter la solubilité des P.A. grâce à leur pouvoir de dispersion, ce qui augmente considérablement la surface d'échange pour absorption intestinale (Chakraborty et al., 2009). De plus, la perméabilité est accrue car plusieurs excipients couramment utilisés pour la formulation de ces systèmes tels que les surfactants ou co-surfactants, peuvent jouer un rôle de promoteurs d'absorption au niveau de la barrière gastro-intestinale. Certains P.A. sont aussi protégés de la dégradation lorsqu'ils sont piégés dans les gouttelettes d'huile comme démontré avec des nanoémulsions de paclitaxel et de saquinavir (Tiwari and Amiji, 2006 ; Vyas et al., 2008). Néanmoins, certaines limitations doivent être considérées:

- La formulation des systèmes auto-émulsionnants ainsi que de microémulsions nécessite des quantités relativement élevées de surfactants et co-surfactants. Lors d'une administration par voie orale, cette forte teneur peut irriter la muqueuse gastro-intestinal et conduire à une toxicité systémique chronique (He et al., 2011).
- Des SMEDDS et SEDDS conditionnées dans des gélules ou capsules molles peuvent présenter des incompatibilités avec certains excipients notamment certains co-solvants (Cole et al., 2008). A titre d'exemple, l'éthanol peut migrer au travers de la gélatine fragilisant ainsi l'enveloppe de la capsule modifiant la composition initiale de la formulation.
- Etant donné leurs tailles, ils sont très sensibles au murissement d'Ostwald, qui est de ce fait la cause majeure de vieillissement de ces systèmes colloïdaux. Le murissement d'Ostwald intervient quand la phase dispersée est soluble dans la phase continue.

Deuxième partie

Encapsulation par de systèmes gélifiés

Introduction

Selon la Pharmacopée européenne, les gels sont des liquides gélifiés à l'aide d'agents gélifiants. Pour les gels lipophiles, les excipients sont habituellement la paraffine liquide additionnée de polyéthylène ou des huiles grasses gélifiées par de la silice colloïdale ou des savons d'aluminium ou de zinc. Pour les gels hydrophiles, l'excipient est habituellement de l'eau, du glycérol ou du polyéthylèneglycol gélifiés par des poloxamères, de l'amidon, des dérivés de la cellulose, des carbomères ou des silicates de magnésium-aluminium. On parle d'hydrogels si la phase liquide est l'eau, et d'oléogels ou organogel si elle est huileuse (organique). Ces systèmes sont amplement employés dans le domaine de l'encapsulation pharmaceutique pour la libération contrôlée de principes actifs.

Les organogels sont un matériau solide thermoplastique et non-vitreux, composés d'une phase organique liquide piégée dans un réseau non covalent. Ils appartiennent à une sous-classe de réseaux fibrillaires auto-assemblés qui immobilisent les liquides organiques. Une caractéristique bien marquée dans ce système est leur thermoréversibilité. Paramètres qui les rendent assez intéressants dans différents domaines : industrie pétrochimique, cosmétologique, alimentaire et pharmaceutique, surtout pour la génération de gel à de faibles concentrations d'agent gélifiant. Après avoir montré quelques caractéristiques des organogels, nous donnerons un aperçu sur leur utilisation dans la libération des principes actifs ainsi que les mécanismes et cinétiques impliqués dans différents cas.

Les hydrogels sont des réseaux à trois dimensions de polymères gonflés d'eau, qui peuvent être réticulés de manière chimique ou physique. Les caractéristiques notables et versatiles de ces gels en font des matériaux largement utilisés pour un grand nombre d'applications dans les secteurs des biotechnologies, biomédical, pharmaceutique, de la cosmétique ou encore de l'agroalimentaire. Après avoir présenté les hydrogels, nous donnerons un aperçu de leurs propriétés remarquables puis présenterons les mécanismes de libération des molécules encapsulées dans ces systèmes.

1.4 Les organogels

De manière générale, un gel peut être défini comme un matériau semi-solide avec un liquide apolaire (organogel) ou polaire (hydrogel) piégé dans un réseau tridimensionnel réticulé.

1.4.1 Généralités sur les organogels

Les organogels se définissent comme des matériaux semi-solides présentant une certaine tenue mécanique et formés par l'immobilisation d'une phase organique liquide par des molécules gélifiantes. A titre d'exemple, la phase liquide peut être un solvant organique, une huile minérale ou une huile végétale organique. Les molécules gélifiantes sont capables de s'auto-associer en un réseau continu tridimensionnel qui immobilise la phase organique liquide et l'empêche de couler (Jadhav et al., 2012).

La Figure 5 permet de placer les organogels dans une classification qui consiste à différencier les gels selon la nature des interactions intermoléculaires et la taille des molécules gélifiantes. Deux types d'organogels peuvent être distingués : les gels chimiques dont la formation est basée sur des interactions fortes (liaisons covalentes) et les gels physiques dont la formation du réseau est régie par des interactions intermoléculaires faibles de nature variée (ex : liaisons hydrogène et interactions de divers types telles que π - π stacking, forces de van der Waals, liaisons hydrophobes).

Les gels physiques peuvent être obtenus à partir de polymères mais également à partir de molécules de masses molaires inférieures à 2000 g/mol (LMWO - *Low Molecular weight Organogelator*, en anglais) et capables de gélifier des solvants organiques (Zweep, 1978). Ce sont des dérivés d'acides gras, de sucres, ou des dérivés d'acides aminés ou encore des composés organométalliques (Terech and Weiss, 1997).

Différemment des gels chimiques, formés par des liaisons covalentes, et qui sont par conséquent irréversibles, les gels physiques présentent, en raison de la faiblesse des interactions, une propriété de thermoréversibilité ou thermosensibilité (Figure 5), c'est-à-dire, la capacité de se présenter sous forme liquide au-dessus d'une certaine température dite de gélification ($T^\circ < T_{gel}$) ou sous forme de gel en-dessous de cette même température ($T^\circ >$

Tgel). Les organogels qui constituent le cœur de nos particules bi-gels appartiennent à cette deuxième catégorie (gels physiques).

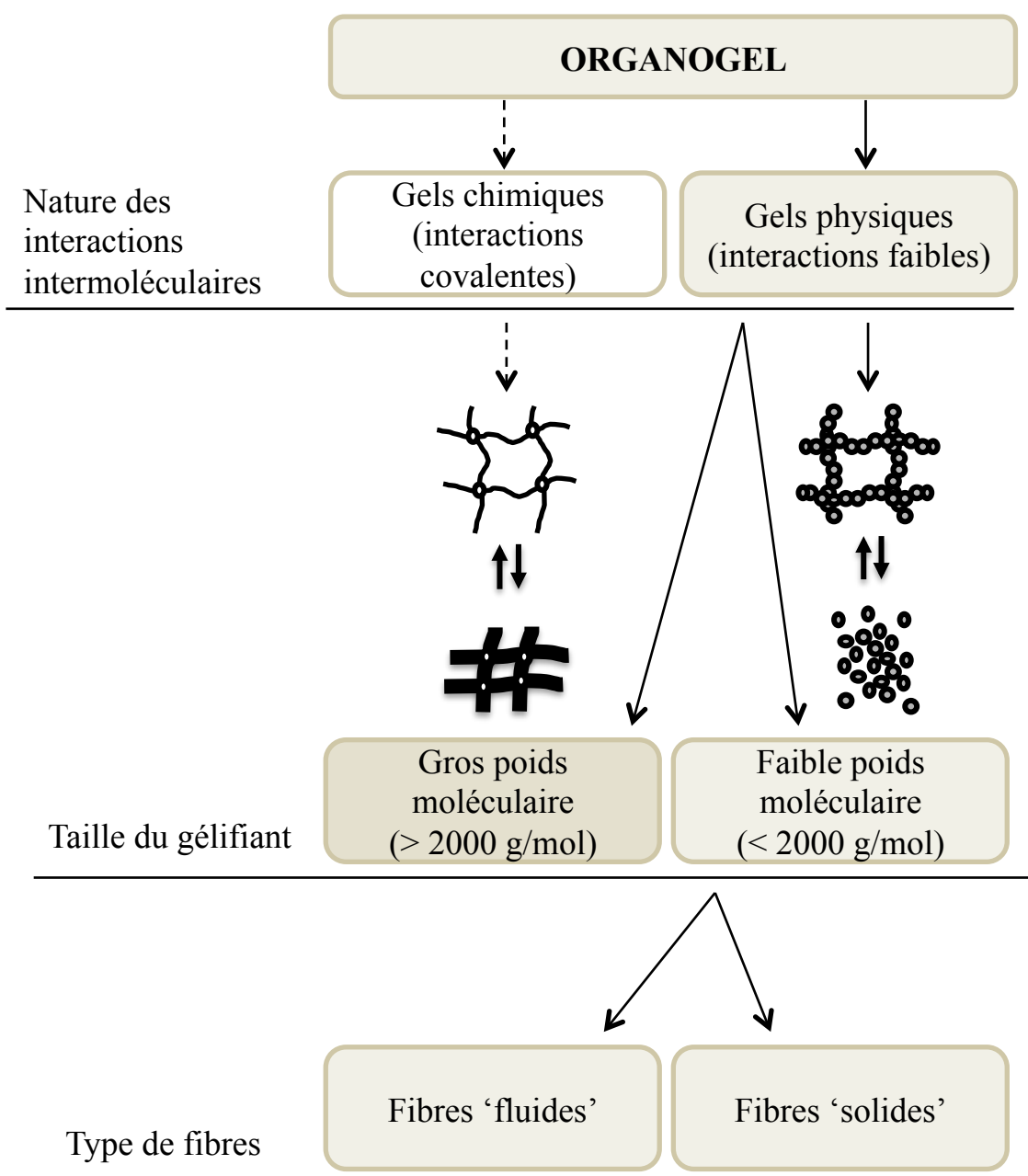


Figure 5. Classification des gels organiques selon la nature des interactions intermoléculaires et la taille des molécules gélifiantes.

Les gels physiques peuvent être encore regroupés en fonction du type de réseau formé lors de la gélification : réseau de fibres 'fluides' ou réseau de fibres 'solides'. Le mécanisme de formation de fibres 'fluides' peut être expliqué en prenant comme exemple le cas de la lécithine.

La lécithine est un mélange de phospholipides de faible poids moléculaire. Les lécithines sont amphotères, elles sont solubles dans l'alcool et elles forment une émulsion avec l'eau. Initialement les molécules de lécithine se trouvent dispersées de manière aléatoire dans la phase organique (Figure 6-a). Avec l'ajout d'eau au système, les molécules de lécithine s'auto-organisent pour former une structure micellaire inverse (Figure 6-b). Au fur et à mesure qu'une quantité d'eau supplémentaire est ajoutée au système l'agrégat micellaire continue à s'auto-organiser (Figure 6-c) et une structure micellaire tubulaire en est le résultat (Figure 6-d). Cette structure contient de l'eau, d'où le nom de fibres 'liquides'.

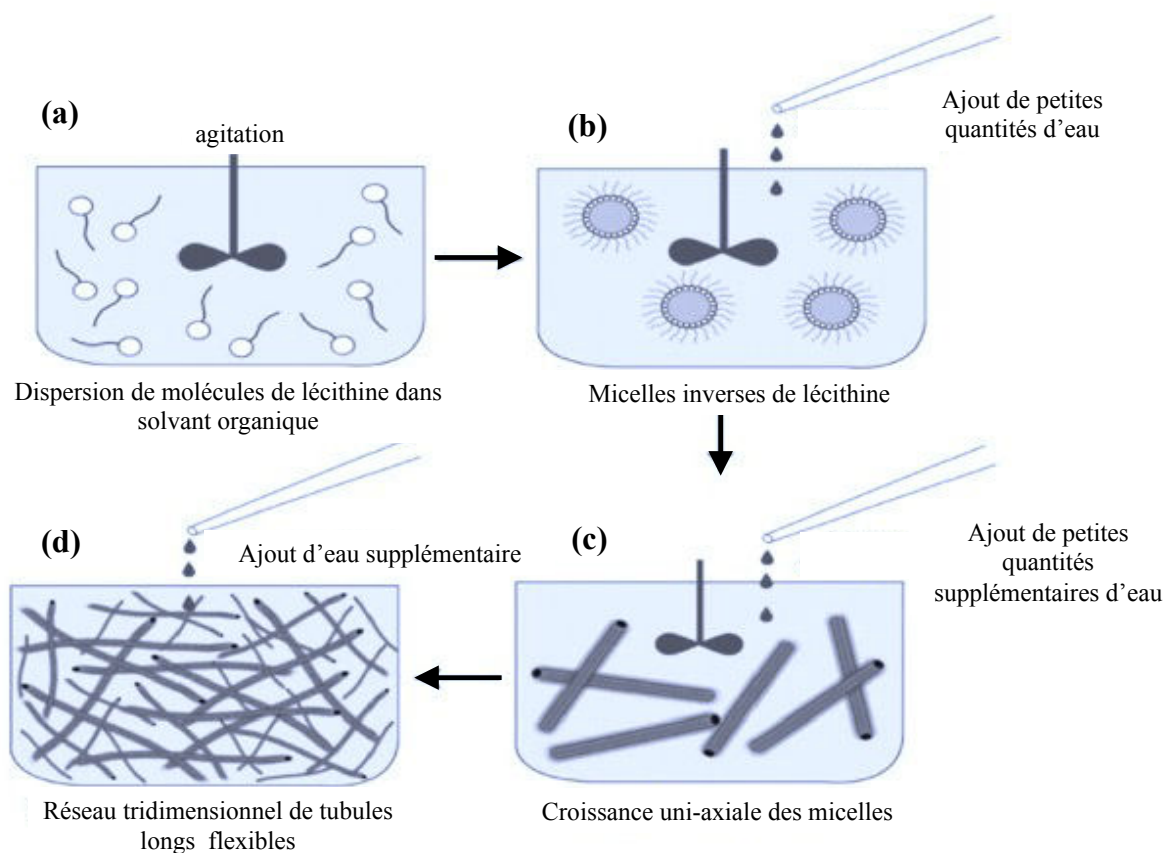


Figure 6. Processus de formation d'un organogel de lécithine (formation de fibres 'fluides') traduit de Raut et al. (2012).

Les gels physiques formés par des fibres 'solides' sont formés selon un autre processus schématisé par la Figure 7.

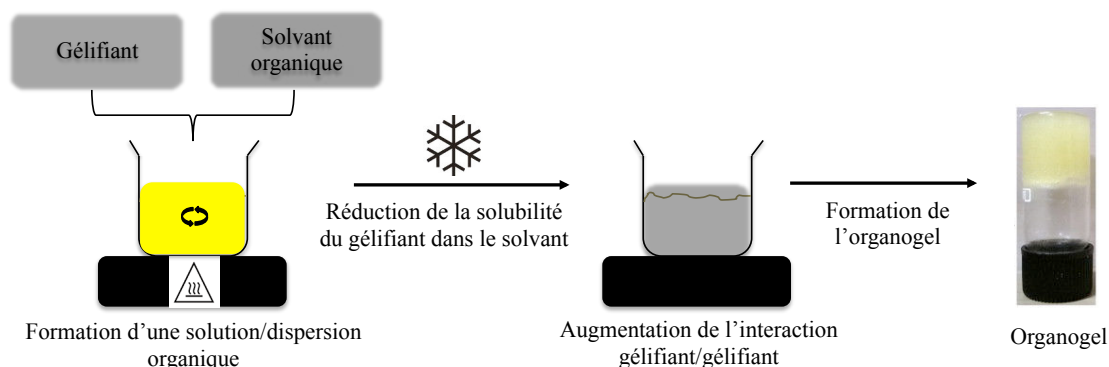


Figure 7. Le processus de préparation des organogels

L'agent organogélifiant est tout d'abord dissous à chaud dans la phase organique ; une solution homogène en résulte. Ensuite, le refroidissement de cette solution provoque la réduction de la solubilité de l'agent gélifiant dans le liquide apolaire et limite les interactions entre eux, ce qui conduit à des molécules du gélifiant «sortant» de la solution. Des interactions gélifiant-gélifiant conduisent à la gélification par un auto-assemblage (Figure 8). En raison d'une anisotropie, ces interactions sont favorables dans une seule dimension, ce qui engendre des fibres fines. Ces fibres 'solides' peuvent grossir et s'interconnecter, pour former un réseau tridimensionnel qui immobilise la phase liquide.

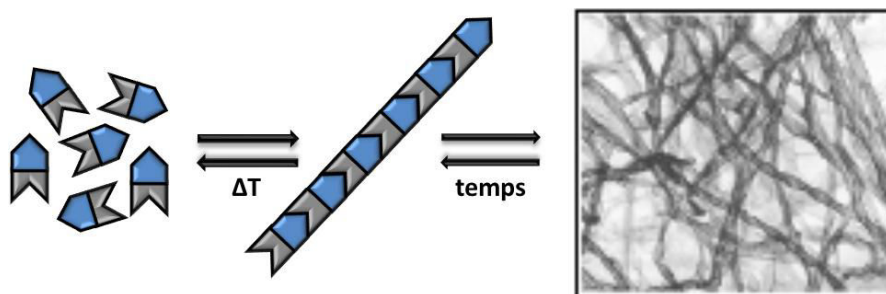


Figure 8. Le processus de formation d'un réseau tridimensionnel de fibres 'solides' dans un organogel.

Des interactions gélifiant-gélifiant conduisent à la gélification par un auto-assemblage de molécules en fibrilles ou lamelles, qui s'auto-assemblent en faisceaux de fibres (comme l'exemplifie les Figure 9 et Figure 10) ou plaquettes (comme montré par la Figure 11) entrecroisées, ce qui finira pour former un réseau tridimensionnel qui immobilise la phase liquide (Murdan, 2005).

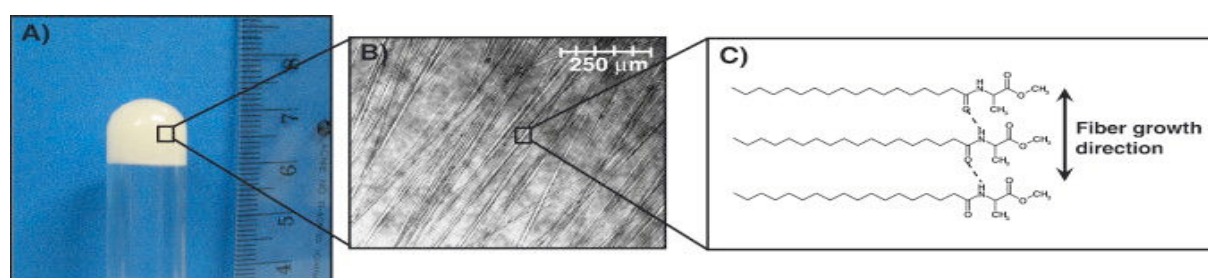


Figure 9. Exemple de type de structures fibrillaires formées par l'auto-assemblage de N-stearoyl L-alanine méthyl ester (SAM) dans l'huile de tournesol. A) Organogel formé; B) Image de microscopie optique montrant les agrégats fibreux responsables de la gélification; C) Structure moléculaire responsable par l'organisation des fibres (Vintiloiu and Leroux, 2008).

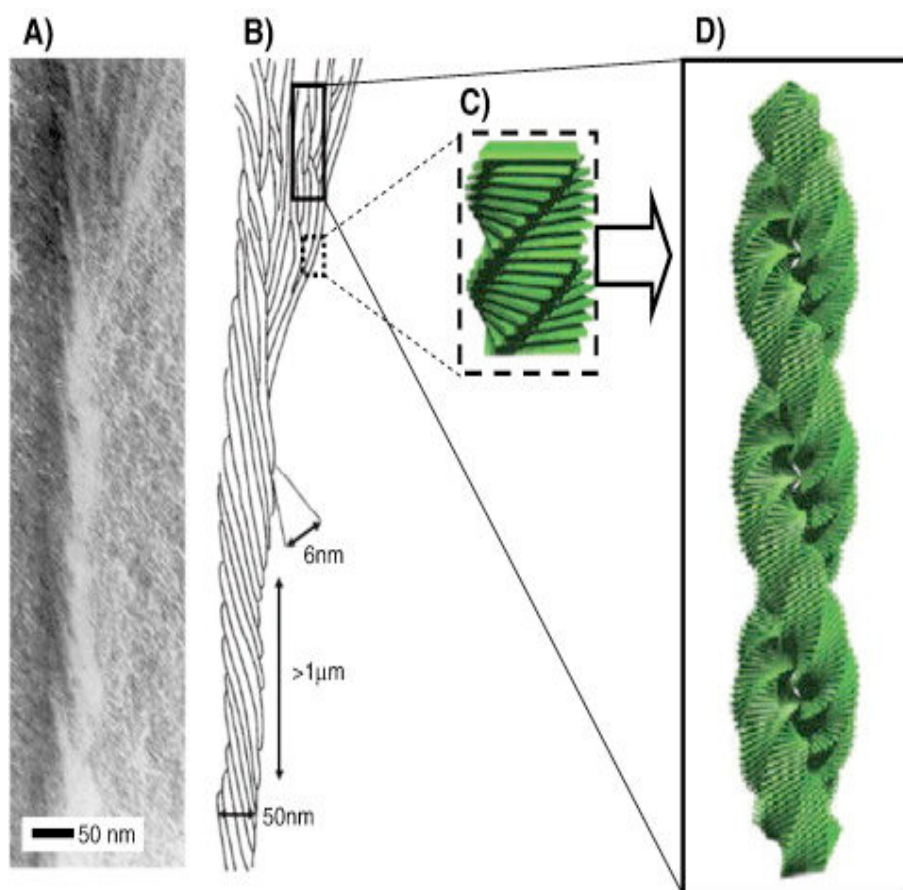


Figure 10. Exemple de type de structures fibrillaires formées par l'auto-assemblage d'éther de phtalocyanine (molécule gélifiante) dans le chloroforme. A) Image obtenue par microscopie électronique à balayage de l'organogel formé; B) Représentation schématisée des fibres hélicoïdales responsables par la gélification; C) Agrégats hélicoïdaux formés par l'empilement des anneaux de couronne d'éther. D) Structure obtenue par agrégation des fibres individuelles (Vintiloiu and Leroux, 2008).

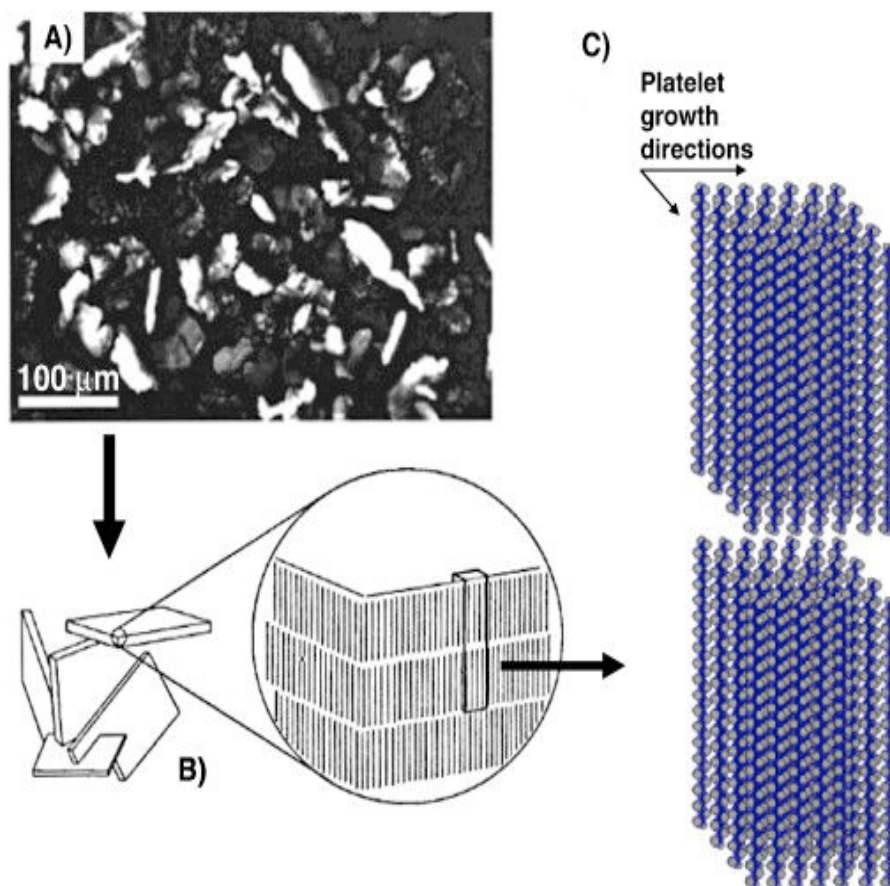


Figure 11. Exemple de type de structures à plaquettes formées par l'auto-assemblage d'hexatriacontane dans l'octanol. A) Image obtenue par microscopie optique de l'organogel formé; B) Représentation schématisée des plaquettes; C) Représentation d'empilement moléculaire orthorhombique à l'intérieur des plaquettes (Vintiloiu and Leroux, 2008).

Le mécanisme de gélification, les types d'interactions moléculaires responsables de ce phénomène d'auto-assemblage des agents gélifiants ou les propriétés des gels formés, ainsi que la chimie de la phase organique sont des sujets de recherche dans le domaine des organogels (Rogers and Marangoni, 2009 ; Bui and Virgilio, 2013).

L'acide 12-hydroxy stéarique (12-HSA), dont la structure chimique est donnée sur la **Figure 12**, est un gélifiant de faible masse moléculaire qui peut former des fibres solides dans une grande variété de liquides organiques tels que le benzène, le toluène, le cyclohexane (Tamura et al., 1994 ; Tamura and Ichikawa, 1997) ou les huiles végétales (Rogers et al., 2008 ; Rogers and Marangoni, 2008 ; Rogers et al., 2009 ; Rogers and Kontogiorgos, 2012). **Nous l'avons utilisé comme agent gélifiant dans notre étude.**



Figure 12. Structure chimique de l'*acide 12-hydroxy stéarique* (12-HSA).

1.4.2 Les transitions de phase sol-gel et gel-sol dans un gel physique formé par un réseau de fibres solides : techniques de mesures thermiques et rhéologiques

De nombreux critères ont été proposés pour évaluer l'aptitude à la gélification thermique et les températures de transitions de phase *sol-gel et gel-sol* dans un gel physique formé par un réseau de fibres solides. Citons la méthode simple du tube inversé, puis des mesures rhéologiques et enfin, la calorimétrie différentielle à balayage (DSC) :

1.4.2.1. Méthode du tube renversé

Cette technique consiste à évaluer par un test simple, basé sur l'écoulement gravitationnel, le temps, la température et la concentration en agent gélifiant pour obtenir un organogel. Le protocole typique consiste à peser la phase organique et l'agent gélifiant et les mélanger dans un tube en verre. Ce mélange est chauffé pour obtenir une solution homogène avec la fusion de l'agent gélifiant. L'ensemble est refroidi pendant que la gélification thermique est observée visuellement : il y a gélification lorsque l'inversion du tube contenant la solution ne provoque pas d'écoulement sous l'effet de son propre poids.

Cette méthode est utilisée assez fréquemment dans la littérature (Sagiri et al., 2012 ; Sagiri et al., 2013 ; Satapathy et al., 2014 ; Sagiri et al., 2014a ; Sagiri et al., 2014b ; Sagiri et al., 2015), par exemple, lors de l'étude d'un organogel constitué par l'huile de tournesol et monostéarate de sorbitan (span 60) comme agent gélifiant capable de former de fibres solides (Figure 13).

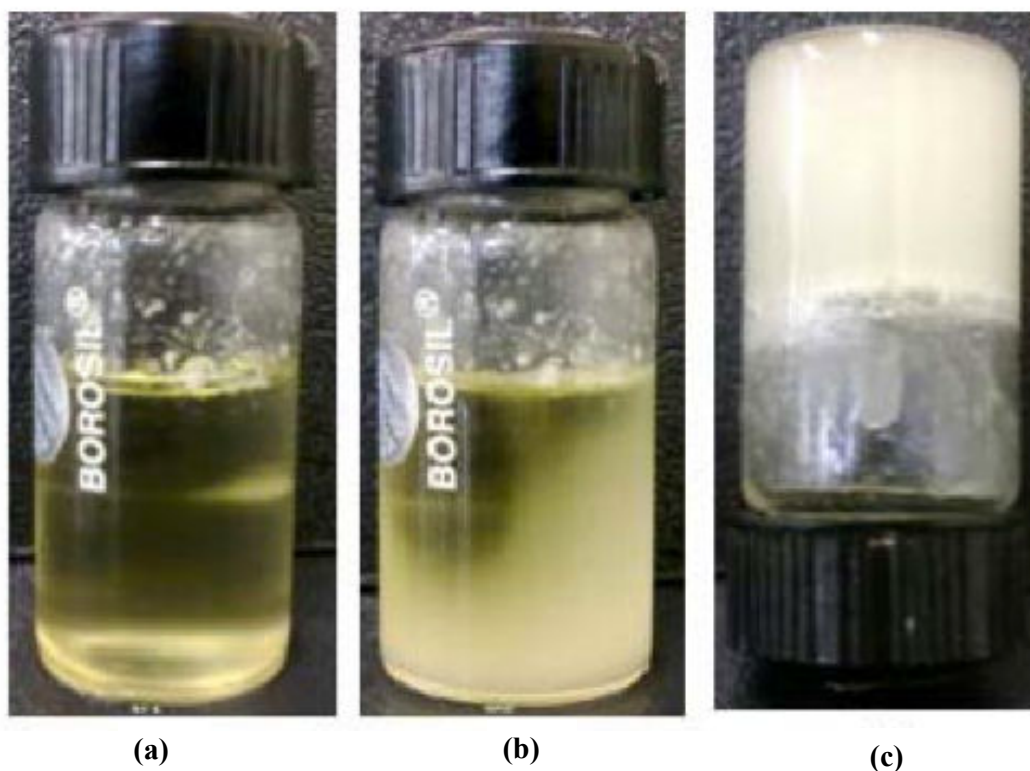


Figure 13. Méthode du tube renversé pour déterminer la transition sol-gel (a) solution homogène contenant la phase organique (huile de tournesol) et l'agent gélifiant (18% Span 60, en masse) ; (b) refroidissement du système ; (c) gel semi-solide qui ne coule pas sous l'effet de son poids (Behera et al., 2012).

1.4.2.2. Mesures rhéologiques

Le module de viscoélasticité permet la définition des paramètres de transition de phases ainsi que l'identification des domaines *gel-sol* et *sol-gel*. La Figure 14 présente des courbes typiques obtenues lors du processus de chauffage (fusion) et refroidissement (formation) d'un organogel. Le comportement rhéologique dépend de la température et présente deux phases : une phase gel et une phase sol séparées par une phase transitoire appelée 'zone de transition de phases'.

Trois grandeurs peuvent être obtenues au terme d'une expérience de rhéologie :

- la viscosité (η), qui est le rapport de la contrainte de cisaillement à la vitesse de cisaillement ;

- le module de conservation (G'), qui est le rapport de la composante en phase de la contrainte sur la déformation sinusoïdale ;
- le module de perte (G''), qui est le rapport de la composante déphasée de 90° de la contrainte sur cette même déformation sinusoïdale.

G' caractérise l'élasticité du matériau alors que G'' traduit la dissipation de l'énergie par friction. $T_{formation}$ correspond à une diminution abrupte des deux modules G' et G'' et caractérise le début du processus de fusion. Ce processus est progressif et étalé sur un intervalle de température appelé zone de transition *gel-sol*. Au-delà d'une certaine température T_{fluide} l'organogel est complètement liquéfié. Par ailleurs, lors de la transition sol-gel (formation de l'organogel), il est possible de déterminer la T_{gel} correspondant à une augmentation abrupte des deux modules. T_{gel} caractérise le début de la gélification du fluide en contraste à $T_{formation}$ qui désigne la température de formation de l'organogel à partir de laquelle le matériau révèle des propriétés constantes de viscoélasticité pendant l'abaissement de la température. La zone de transition *sol-gel* est comprise entre T_{gel} et $T_{formation}$.

Cette technique est aussi très utilisée pour déterminer les transition de phases ainsi que l'identification des domaines *gel-sol* et *sol-gel* pour des organogels variés (Rogers et al., 2009 ; Kirilov et al., 2008 ; Lupi et al., 2013).

1.4.2.3 Mesures par calorimétrie différentielle à balayage

La mesure par Calorimétrie Différentielle à balayage (*Differential Scanning Calorimetry*, DSC) est une technique largement employée pour étudier le comportement des matériaux lorsqu'ils sont chauffés (Eyraud and Accary, 1992). Son principe de fonctionnement est basé sur la mesure de la quantité de chaleur, absorbée ou dégagée, par un matériau subissant un changement d'état physique initié par le chauffage ou le refroidissement de ce matériau.

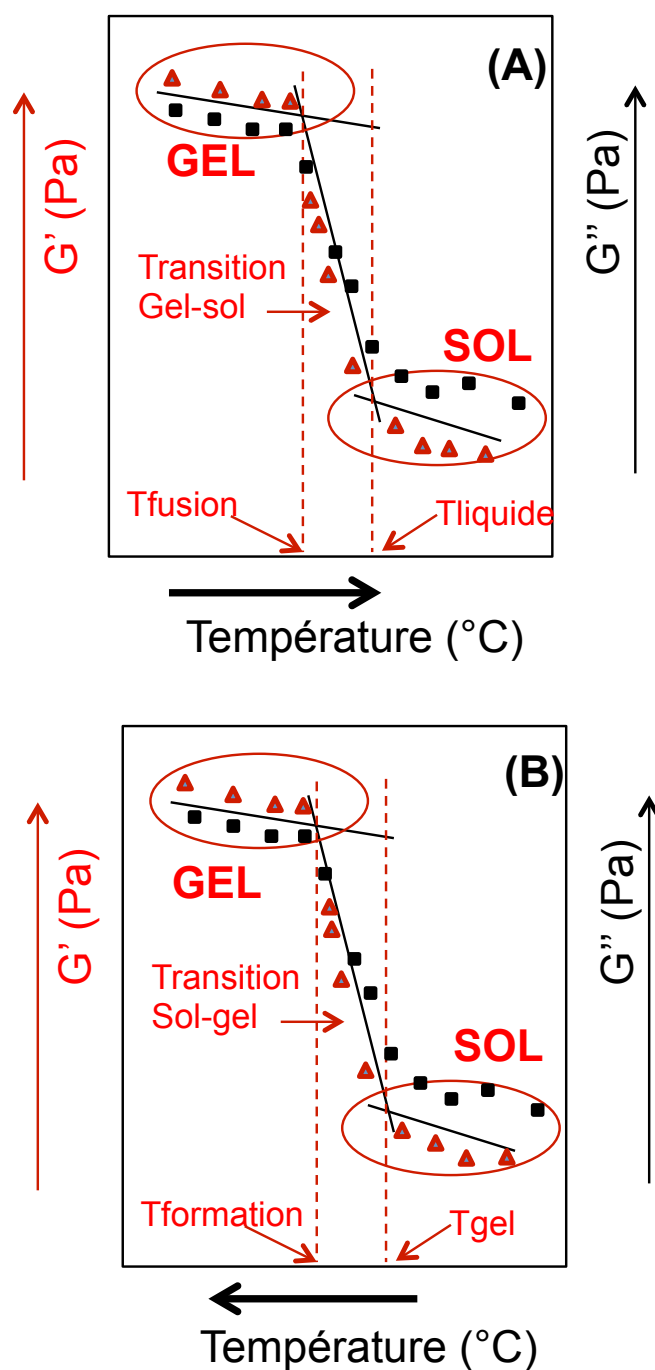


Figure 14. Détermination des paramètres de transition de phases. A) Transition *gel-sol* ; B) Transition *sol-gel*.

Le système est muni de deux récipients, dont un porte creuset contenant l'échantillon à analyser et une référence. Les deux récipients se trouvent dans un four dont la vitesse de réchauffement linéaire est assurée par une boucle de contrôle de température par récipient. Lorsqu'une différence de température se produit, une boucle de contrôle ajuste la puissance de chauffe de la référence de manière à réduire cette différence. Le flux de chaleur est alors

enregistré puis représenté en fonction de la température. Cela se traduit par l'enregistrement d'un thermogramme qui correspond à la variation dH/dT , c'est-à-dire, à la variation de la chaleur spécifique à pression constante avec la température exprimée par :

$$\Delta H = m C_p \Delta T \quad (1.2)$$

Ou dans sa forme différentielle :

$$dH/dt = C_p dT/dt + f(T,t) \quad (1.3)$$

avec m la masse de l'échantillon, C_p la capacité calorifique, T la température, H la chaleur, dH/dt le flux de chaleur. $dT/dt = \delta$ est la rampe de température appliquée et $f(T, t)$ représente les événements thermiques cinétiques qui ont lieu lors de l'application d'une rampe de température.

Parmi les auteurs ayant privilégié cette technique pour la détermination de température de transition de phases de leurs organogels, nous pouvons citer Toro-Vazquez et al. (2007), (2013), Sagiri et al. (2014a) entre autres. Elles montrent que ce paramètre dépend des propriétés physiques et chimiques de la molécule gélifiante, de la nature de la phase organique, ainsi que de leurs concentrations.

1.4.2.4 Caractérisation chimique et microstructurale des organogels

Pour une meilleure compréhension de la structure des organogels, d'autres techniques sont souvent associées à une des techniques de détermination de transitions de phases qui nous venons de décrire. Ce sont des techniques analytiques comme la diffraction de rayons-X, la spectroscopie d'infra-rouge ou encore la microscopie électronique à balayage.

1.4.2.4.1. Diffraction de rayons-X

La diffraction des rayons-X est une technique d'analyse fondée sur la diffraction des rayons-X sur la matière. La méthode générale consiste à bombarder l'échantillon avec des rayons-X, et à regarder l'intensité de rayons-X qui est diffusée selon l'orientation dans l'espace. Les rayons-X diffusés interfèrent entre eux, l'intensité présente donc des *maxima* dans certaines directions ; on parle de phénomène de diffraction. On enregistre l'intensité détectée en fonction de l'angle de déviation 2θ du faisceau ; la courbe obtenue est un diffractogramme (*scan*).

Cette technique a été utilisée lors de l'étude de l'effet de l'ajout d'un principe actif (rhodamine) sur la cristallinité des organogels de Span80Tween80/huile de tournesol (Sagiri et al., 2012).

1.4.2.4.2. Spectroscopie infrarouge

La spectroscopie infrarouge est basée sur le phénomène d'absorption qui se produit lorsqu'un rayonnement infrarouge traverse le matériau à étudier. Celui-ci est alors absorbé sélectivement, en fonction des vibrations excitées dans l'échantillon. En effet, chaque molécule ou groupement constituant le matériau possède des niveaux de vibrations correspondant à des énergies précises. Lorsque la molécule est excitée à son énergie de vibration propre, elle absorbe l'énergie incidente, permettant ainsi l'étude des différentes liaisons présentes dans le matériau.

Cette technique a permis par exemple d'étudier les interactions spécifiques (liaisons hydrogène) entre l'huile de tournesol (phase organique) et le Span80-Tween80 (couple de gélifiante) (Sagiri et al., 2012 ; Sagiri et al., 2014b).

1.4.2.4.3. Microscopie électronique à balayage

a. Mode classique

La microscopie électronique à balayage (MEB) est une technique de caractérisation de surface permettant des observations jusqu'à l'échelle nanométrique. L'impact de différents paramètres (solvant organique, molécule gélatrice, leurs concentrations...) sur la morphologie des organogels et des fibres formées est analysé par cette technique dans le cadre de différentes études (Kirilov et al., 2008 ; Boudier et al., 2010).

b. Mode cryogénique

Les organogels sont des matériaux thermoreversibles qui peuvent être évolutifs pendant leur formation, ou lors de l'observation par MEB si excités par la température. La stabilisation des échantillons par cryogénie permet d'observer par microscopie électronique des échantillons à différents temps de leur formation en figeant le système par cryogénisation. Afin de minimiser les changements de volume associés à la solidification de l'eau, la cryogénie est réalisée dans des conditions conduisant à la formation de glace vitreuse. Son principe consiste à soumettre l'échantillon à une congélation ultra rapide dans par immersion dans de l'azote liquide.

Cette méthode d'observation a été utilisée pour observer des organogels de 12-HSA et l'huile canola (Rogers et al., 2009 ; Rogers and Kontogiorgos, 2012).

1.4.3 Exemples d'applications des organogels pour une libération contrôlée des substances actives ou des médicaments

Au cours de la dernière décennie, l'intérêt pour des organogels physiques augmente rapidement surtout avec la découverte ou synthèse de nouvelles molécules gélifiantes qui peuvent gélifier à de faibles concentrations (<2%). Ces molécules peuvent immobiliser des volumes de liquide dans un réseau tridimensionnel de fibres, plaquettes ou tubules.

Les propriétés remarquables (transition de phases, stabilité physique, rhéologie...) suscitent l'intérêt dans le monde industriel et académique (Figure 15). En particulier ils peuvent être 'façonnés' pour une utilisation précise par un choix judicieux de la nature de la phase organique et de la molécule gélifiantes pour des applications dans de secteurs divers : pour les lubrifiants (Hotten and Birdsall, 1952) ou les explosifs (Agoston et al., 1954), pour élaborer des matériaux mésoporeux (Lukyanova et al., 2010), dans la cosmétique ou l'alimentaire (Toro-Vazquez et al., 2007).

Néanmoins les applications dans le domaine pharmaceutique sont moins nombreuses car le choix de phases organiques et de molécules gélifiantes est plus réduit en respect à de normes de sécurité référents à la toxicité de matériaux (Vintiloiu and Leroux, 2008). Ce choix peut s'avérer encore plus réduit en fonction du type de formulation et de la voie d'administration envisagée (voie parentérale, orale ou transdermique...).

Le concept d'utiliser des organogels pour une délivrance d'un principe actif en conditions contrôlées repose sur le fait qu'ils sont constitués par des molécules gélifiantes qui s'auto-organisent. Cette structure peut être ajustable pour être thermostables à la température corporelle et immobiliser une phase organique où un principe est piégé. Il peut donc être libéré dans des conditions contrôlées.

L'utilisation des organogels pour une délivrance d'un principe actif est néanmoins une thématique de recherche encore émergente, comme l'on peut constater par le faible nombre de publications que l'on trouve en associant les mots clé 'organogel' et '*drug delivery*' dans la base de données Web of Science (Figure 15).

Comme le montre la Figure 16, les organogels les plus étudiés pour des applications pharmaceutiques sont à base de lécithines (voie transdermique), de monostéarate de sorbitan (voies orale et transdermique), d'alanines (voie sous cutanée – gélification in situ) et de polymères appartenant à la famille des polyméthacrylates, commercialisés par le nom d'Eudragits (voie rectale). Nous en présenterons ci-après quelques exemples.

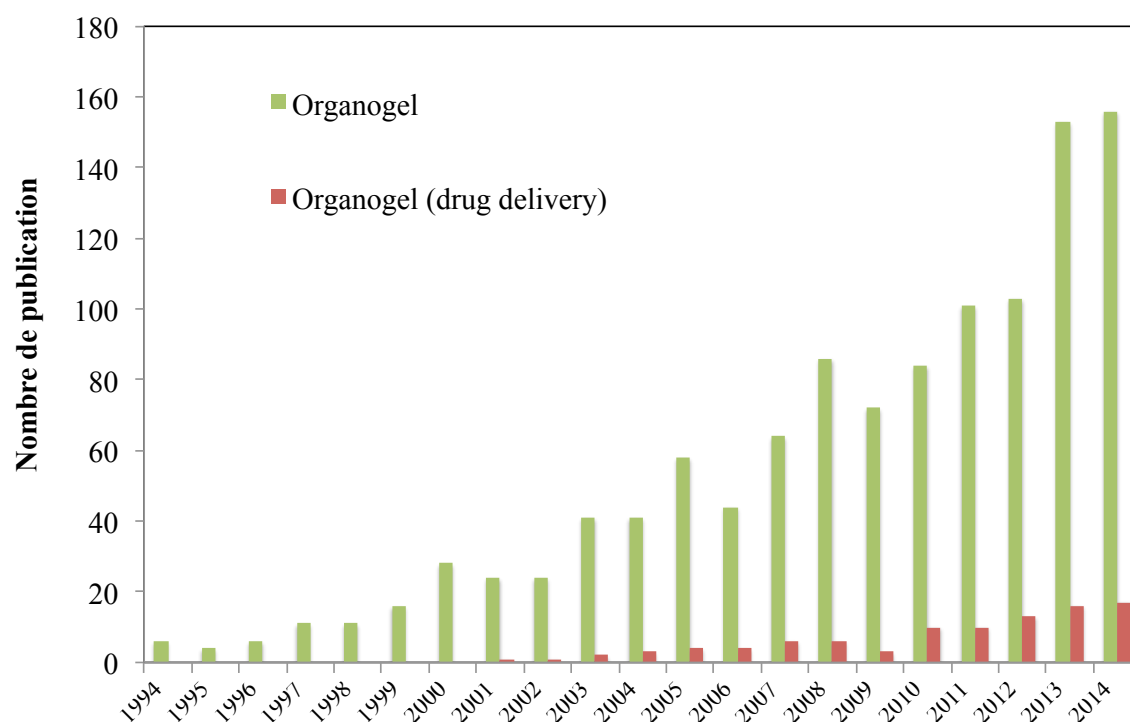


Figure 15. Evolution du nombre de références indexées dans la base de données Web of Science concernant l'utilisation des organogels et en particulier pour le '*drug delivery*'. Recherche effectuée sur les mots-clés : organogel et organogel+drug delivery (15/03/2015).

1.4.3.1 Organogels pour une administration cutanée

La biodisponibilité d'une molécule administrée par voie cutanée dépend de sa liposolubilité et peut varier selon la nature de son véhicule d'administration (formulation). La couche cornée représente le facteur barrière principal à l'absorption cutanée par son contenu lipidique et son épaisseur. Les organogels représentent une catégorie de véhicules avec des caractéristiques très favorables à une administration cutanée : caractère lipophile et non irritant, d'absorption rapide (Kumar and Katare, 2005 ; Lim et al., 2008). Un autre avantage est une préparation simple et l'application facile. Ces gels font en effet l'objet de plusieurs études se focalisant sur l'administration de molécules pharmaceutiques en vue d'un traitement par voie locale de maladies diverses comme des affections musculo-squelettiques, l'asthme ou encore le cancer du sein hormono-dépendant.

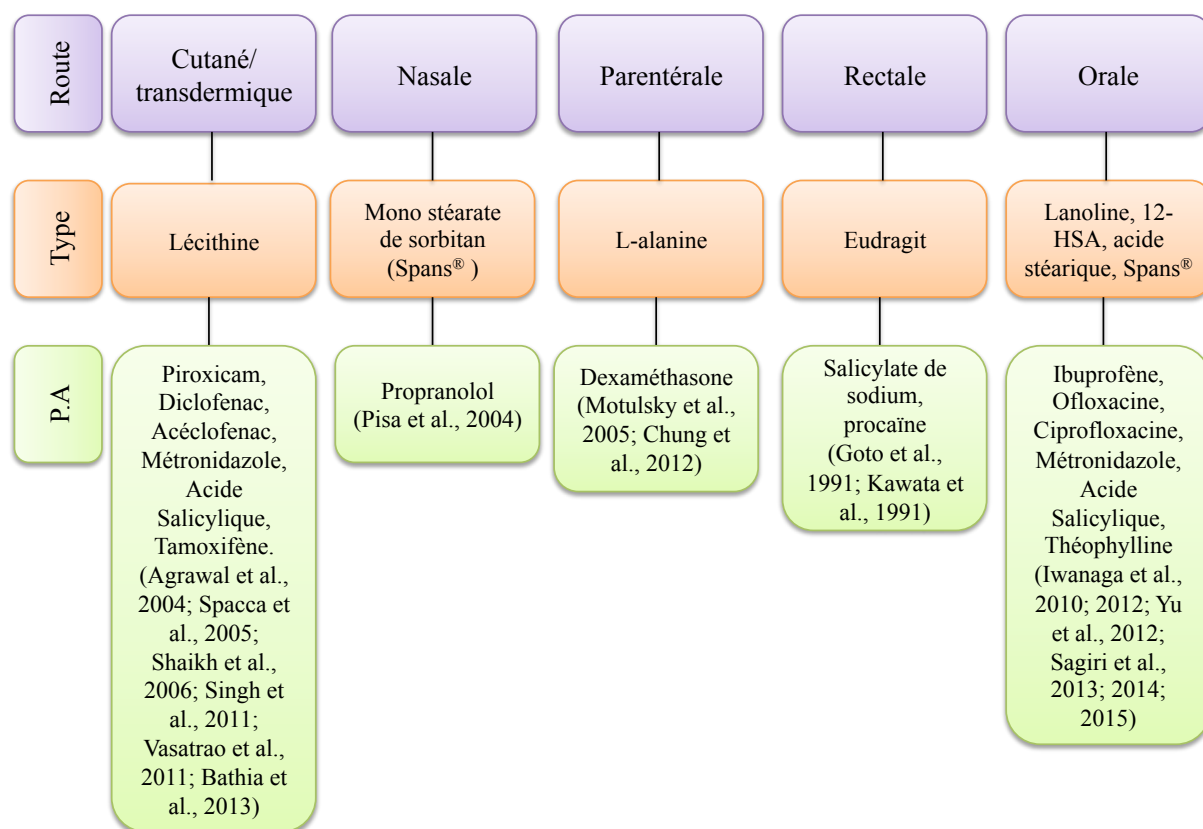


Figure 16. Les organogels pour une délivrance de principes actifs par différentes routes d'administration.

Les organogels les plus étudiés pour une administration cutanée sont à base de lécithine, ou d'esters de sorbitan (Willimann et al., 1992 ; Kumar and Katare, 2005). Les esters de sorbitan, commercialisés sous le nom de Spans, sont obtenus par estérification avec de l'acide stéarique ou oléique.

Les organogels de lécithine ont été décrits comme véhicules utiles pour faciliter la pénétration des molécules à faible poids moléculaire (Willimann et al., 1992; Agrawal et al., 2004). Par ailleurs, les lécithines (fibres fluides) ne constituent pas des substances organogélatrices telles que définies dans le cadre de notre travail (fibres solides).

Les organogels de lécithine sont obtenus en ajoutant un peu d'eau à une solution de lécithine dans des solvants organiques biocompatibles tels que le myristate d'isopropyle ou le palmitate d'isopropyle (huiles d'origine végétale de type acides gras). Ces formulations peuvent contenir d'autres excipients tels que d'autres molécules (tensioactifs par exemple) facilitant la perméation cutanée. Leur nature amphiphile permet la solubilisation de différentes molécules qui restent alors retenues dans les structures micellaires tubulaires générées avec l'ajout de l'eau à la formulation. Par ailleurs, la transition de phases d'un

système ternaire lécithine/eau/solvant organique est essentiellement régie par les concentrations de deux premiers constituants (Shchipunov, 1999).

- *Citons quelques exemples d'études qui portent sur ce sujet :*

Bhatia et al. (2013) ont étudié l'utilisation des organogels de lécithine pour une administration cutanée du tamoxifène, une molécule qui offrirait une protection contre certains cancers liés aux hormones (cancer du sein dans le cas étudié). L'étude porte sur la recherche de la bonne formulation en s'appuyant sur la réponse à certains critères de performance tels que la viscosité, la rigidité du gel et sa capacité d'étalement sur la peau. Il s'agit du type de phase organique, de la composition de la phase aqueuse et de tensioactifs polymères auxiliaires choisis dans la famille de produits commercialisés sous le nom de *Poloxamer*TM.

Agrawal et al. (2010) ont étudié les organogels de lécithine pour une application cutanée du Succinate de Sumatriptan, une molécule d'effet antimigraineux dont l'action est adaptée pour traiter les accès aigus de migraine de même que les céphalées de Horton chez l'adulte. Elle est utilisée sous forme de préparations orales, intra nasales et sous-cutanées. En plus des caractéristiques physiques des organogels qui ont été exhaustivement étudiées (viscosité, caractéristiques organoleptiques, pH, viscosité, texture à la touche, essais d'irritation cutanée), l'effet de l'ajout d'un tensioactif auxiliaire (Poloxamer F127) a été étudié, ce qui a permis un meilleur ajustement de la viscosité de l'organogel et de la vitesse de relargage de la molécule.

Willimann et Luisi (1991) ont proposé des organogels de lécithine/palmitate d'isopropyl comme véhicules pour une administration topique de la Scopolamine, une molécule avec une efficacité intéressante contre le mal des transports et du Broxatérol, un agent bronchodilatateur. Un de paramètres de leur étude a été la concentration de ces molécules dans l'organogel (jusqu'à 40 mg/mL pour la Scopolamine et 75 mg/mL pour le Broxatérol). Leur administration par les organogels résulte en amélioration de leur flux transdermique (mesuré par des essais de pénétration cutanée in vitro). Les auteurs ont poursuivi ces travaux (Willimann et al., 1992) d'autres molécules d'intérêt pharmaceutique (nifedipine, clonidine, amine acides ou encore des peptides) et d'autres solvants (cyclooctane par exemple), en comparant leurs flux transdermiques par rapport à d'autres formulations plus conventionnelles (solutions contenant les molécules ou des émulsions). Les paramètres clé

identifiés lors de ces études ont été la nature de phase organique et sa capacité à faciliter la pénétration de la molécule piégée dans l'organogel et la capacité de vectorisation des micelles de lécithine au travers de la couche cornée.

L'incorporation de médicaments anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) dans les organogels suscite également un intérêt particulier en raison de la possibilité d'appliquer les analgésiques à proximité du site d'action. Quelques exemples de travaux de recherche avec des molécules d'action anti-inflammatoires non stéroïdiens sont ceux de l'acéclofénac (Shaikh et al., 2006) et du piroxicam (Agrawal et al., 2004), en vue d'un traitement par voie transdermique d'affections musculo-squelettiques diverses (orthoarthrite, entorses...), ou encore du diclofénac (Spacca et al., 2005) pour un traitement local d'action analgésique.

D'une manière générale, les travaux à la recherche d'organogels pour une administration transdermique de principes actifs s'intéressent aux nouvelles formulations et à l'investigation de leur effet sur les aspects structuraux et fonctionnels des systèmes obtenus (organogels chargés en principe actif). Pour finir avec les organogels de lécithine, nous pouvons citer les travaux de Lim et collaborateurs à la recherche d'activateurs de la pénétration cutanée, qui ont étudié l'effet de différents terpènes (limonène, linalol, cinéole...) introduits dans la phase organique (dibutyl-lauroylglutamide et propylène glycol) (Lim et al., 2006 ; Lim et al., 2008).

D'autres types d'organogel sont aussi étudiés, ceux à fibres solides constituées de molécules gélatrices. Citons les organogels à base de **monostéarate de sorbitan**, commercialisés sous le nom de *Spans*.

Pour ce type d'organogel, des huiles végétales sont souvent utilisées comme solvants organiques, parmi lesquelles, l'huile de moutarde, l'huile de tournesol ou encore l'huile de soja. A titre d'exemple, l'huile de moutarde a été utilisée pour constituer un organogel d'utilisation topique avec Span 60 comme gélifiant (Singh, 2011). Le Métronidazole, un antibiotique et antiparasitaire appartenant aux nitroimidazoles a été la molécule d'intérêt pour une action microbicide contre *E. coli*. La concentration en Span 60 a été le paramètre d'étude pour l'observation de la structure du réseau tridimensionnel formé (**tiges tubulaires**), l'obtention d'une température de transition de phase *gel-sol* d'environ 50 °C en vue d'assurer la qualité du système (stabilité thermique au *shelf-life*) et enfin moduler la vitesse de relargage de la molécule étudiée. Une étude similaire a été réalisée par Vasantrao (2011) et Behera et al. (2012) avec un organogel à base de span 60 et huile de tournesol comme solvant organique.

L'acide salicylique (AS) a été utilisé comme molécule active modèle dans cette étude et l'activité de l'organogel constitué d'AS/span60/huile de tournesol a été vérifiée *in vitro* pour une action microbicide contre *E. coli* et *B. subtilis*. Différemment du réseau tridimensionnel formé dans l'huile de moutarde, le réseau de Span 60 formé dans l'huile de tournesol est formé par des fibres fines, ce qui démontre l'effet de la nature chimique de la phase organique sur la structure des organogels formés à partir d'une même molécule gélatrice. D'autres types de phases organiques que des huiles végétales sont également étudiées (myristate d'isopropyl ou hexadecane (Rushikesh et al 2013)).

1.4.3.2 Organogels pour une administration sous- cutanée

Les systèmes implantables peuvent être classés selon qu'ils sont élaborés industriellement pour être administrés chez le patient (systèmes préformés) ou qu'ils sont formés *in situ* lors de leur administration (systèmes *in situ*).

Les systèmes préformés ont été les premiers à être développés dans le cadre de l'usage des polyesters biodégradables pour l'élaboration de systèmes à libération prolongée destinés à la voie parentérale (Jain et al., 2000). Ce sont des systèmes de délivrance de médicaments, solides, pour l'application soit intra-musculaire, soit sous-cutanée. Ces systèmes sont administrés par procédures chirurgicales ou via des dispositifs biomédicaux appropriés tels que des pistolets ou des aiguilles de gros calibre comme montré sur la Figure 17. Ainsi, même s'ils ne sont pas retirés à la fin du traitement, la douleur et la gêne ressentie par les patients lors de l'administration de ces systèmes représentent sans doute leurs principaux désavantages.



Figure 17. Implant de caoutchaouc de silicone (Norplant®) et dispositif pour son l'administration. Chaque bâtonnet est rempli d'une hormone appelée *levonorgestrel*, une progestérone de synthèse. Le levonorgestrel est libéré dès que les bâtonnets sont insérés sous la peau du bras.

Afin de surmonter quelques-uns de ces problèmes, des systèmes se formant spontanément au site d'application (*in situ*) ont été développées (Ruel-Gariépy and Leroux, 2004). Ces systèmes sont également appelés dans la littérature « formation de dépôts *in-situ* » et leur administration peut être réalisée par la voie intramusculaire ou sous-cutanée. En fonction des mécanismes participant à la formation des dépôts, ils peuvent être des systèmes polymériques de réticulation *in situ*, systèmes *in situ* par précipitation du polymère et des systèmes de gélification induite par la température. La Figure 18 montre, à titre d'exemple, la formation d'un dépôt généré *in situ* par la précipitation d'un polymère biodégradable initialement dissous dans un solvant. Le principe actif est ajouté au polymère dissous avant l'injection sous-cutanée. Une fois injecté, le polymère se distribue dans le tissus sous-cutané et forme un implant (précipitation *in-situ*).



Figure 18. Implant sous-cutanée formé *in-situ* par précipitation d'un polymère biodégradable (*technologie Atrigel®*) <http://www.qltinc.com/development/technologies/atrigel.htm>.

En raison de leur thermoreversibilité les organogels, peuvent être utilisés pour la préparation de systèmes *in situ*. Lorsqu'ils sont injectés dans le corps, ils subissent une transition *sol-gel* due au changement de température. Ainsi, les principes actifs présents initialement dans l'organogel à l'état fondu sont retenus dans la nouvelle structure, d'où ils seront libérés selon plusieurs mécanismes physico-chimiques tels que la diffusion, la solubilisation et la dégradation par les lipases endogènes de l'organisme (Hatefi and Amsden, 2002).

Par rapport à des implants où le dépôt *in situ* est formé par une réticulation ou une précipitation d'un polymère *in situ*, les organogels, injectés dans le corps, doivent subir une transition *sol-gel* due au changement de température. A titre d'exemple, partons de la Figure 19 qui montre clairement ce phénomène de gélification *in situ* lors de l'injection d'un organogel dans l'eau à 37 °C. Cette expérience a été menée dans le cadre des travaux de Wang et al. (2014) à la recherche d'un système aisé d'administration de la *palipéridone* par gélification spontanée *in situ*. La *palipéridone* est une molécule appartenant à la classe des médicaments appelés antipsychotiques, utilisée pour prendre en charge les symptômes de schizophrénie. L'étude a consisté en étudier l'influence de la composition de l'organogel sur la transition sol-gel par la méthode de tube inversé et par *DSC* et mesures de viscosité, sur la libération *in vitro* (tampon phosphate) et sur les propriétés d'injectabilité de ces formulations destinées à l'injection. Une étude pharmacocinétique chez la souris a été également menée. La phase organique de l'organogel était l'huile de soja. Différents acides gras ont été testés comme gélifiants (acides myristique, palmitique, stéarique et arachidique). L'acide arachidique a été le plus performant avec le temps de gélification le plus court. L'organogel d'huile de soja et acide arachidique s'est comporté comme un réservoir libérant lentement la molécule de *palipéridone* tout au long de 9 jours comptés de l'injection. L'effet « réservoir » dépend de la solubilité de la molécule dans le fluide biologique environnant le site de dépôt et de la vitesse de dissolution si la molécule est en suspension. Des évaluations histologiques ont confirmé la biocompatibilité des matériaux utilisés.



Figure 19. Des organogels des acides gras (acides myristique, palmitique, stéarique et arachidique) et l'huile de soja préchauffés et injectés dans l'eau à 37 °C (Wang et al., 2014)

1.4.3.3 Organogels pour une administration par voies muqueuses

La **voie nasale** présente plusieurs avantages comme une bonne surface d'absorption ($\sim 100 \text{ cm}^2$), une bonne vascularisation de la muqueuse nasale (absorption rapide) et une activité métabolique faible comparativement au tractus gastrointestinal. C'est une voie d'administration adaptée pour des molécules subissant l'effet du premier passage hépatique par voie orale (Jadhav et al., 2007).

En privilégiant cette voie d'administration, l'organogel devient une forme intéressante pouvant modifier le temps d'absorption d'une molécule absorbée trop rapidement à partir d'une forme liquide comme une solution. Cela a été démontré par exemple pour le chlorhydrate de propranolol, un agent β -bloquant qui subit un important métabolisme lors du premier passage (50% -70%) après administration orale. Pour améliorer la biodisponibilité du chlorhydrate de propranolol par voie nasale, Pisal et coll (2004) ont optimisé une formulation d'organogel d'isopropyl myristate (IM) et de mono stéarate de sorbitan (SMS) pour une libération nasale soutenue. Les organogels ont été préparés avec des quantités différentes du gélifiant SMS (5 à 20%). Le chlorhydrate de propranolol a été incorporé dans l'organogel en forme de solution aqueuse, ce qui a rendu l'optimisation des formulations plus difficile (ajout

de tensioactifs, contrôle du ratio eau/organogel). Des essais de libération ont confirmé l'effet prolongé de libération du chlorhydrate de propranolol (92% en 120 min ou 74% en 360 min en présence de tensioactifs ajoutés) en comparaison à une solution (100% en 90min).

La **voie rectale** est une autre voie intéressante qui peut être utilisée quand la voie orale n'est pas possible par exemple en cas de vomissements. Les organogels se présentent sous forme semi-solide dont la rigidité peut être adaptée par le biais de la formulation. C'est le cas des organogels à base d'Eudragit (S ou L) formulés avec des polyols tels que la glycérine, le propylène glycol ou le polyéthylène glycol liquide pour constituer une base de suppositoire pour une libération rectale. Ces organogels contiennent une concentration élevée en Eudragit (30% à 40% en masse). La concentration en principe actif est un des paramètres critiques pour ne pas déstabiliser la forme semi-solide. Des molécules comme l'acide salicylique, le salicylate de sodium, la procaine ou encore le kétoprofène ont été formulées sous la forme d'organogels d'Eudragit pour une libération rectale (Goto et al., 1991 ; Kawata et al., 1991; Zia et al., 1998).

1.4.3.4 Organogels pour une administration orale

Des travaux plus récents focalisent l'intérêt en développer des organogels pour une administration par **voie orale** soit d'ingrédients nutraceutiques soit de molécules d'intérêt pharmaceutique.

Citons par exemple, deux travaux récents sur des ingrédients nutraceutiques. Le premier s'est intéressé au développement d'une forme d'organogel pour la curcumine. La curcumine est un composé curcuminoïde majeure dans le rhizome de curcuma (*Curcuma longa*), avec déméthoxycurcumine (D-Cur) et bisdeméthoxycurcumine (BD-Cur) qui semble avoir plusieurs propriétés bénéfiques pour la santé tels que des activités anti-inflammatoire et anti-oxydante (Aggarwal et al., 2003 ; Duvoix et al., 2005 ; Sharma et al., 2005). Néanmoins c'est un composé qui présente des problèmes d'absorption dans l'organisme quand administré sous forme solide. Une forme de nanoémulsion contenant de la curcumine solubilisée en la phase huile a été initialement proposée. Cette problématique est bien schématisée sur la Figure 20.

L'objectif de la recherche de Yu et Huang (2012) a été de formuler une nouvelle nanoémulsion H/E dont l'organogel correspond à la phase interne huileuse. La phase aqueuse contient un tensioactif (Tween 80). L'organogel est constitué de monostéarate sorbitan (Span 20) comme gélifiant et contient 9% en masse de curcumine. L'étude menée s'est focalisée sur la caractérisation du système. Des essais ont été réalisés sur le modèle cellulaire *Caco-2* pour mimer l'épithélium intestinal et mesurer la perméation de la nanoémulsion d'organogel de curcumine à travers ces cellules. Ce processus semble être contrôlé par les étapes de digestion et de diffusion des nanoémulsions à travers l'épithélium intestinal. Une étude pharmacocinétique chez la souris a confirmé une augmentation de la biodisponibilité orale de la molécule (9 fois plus élevée que celle de la molécule sous la forme cristalline).

La deuxième étude porte sur l'amélioration de la biodisponibilité d'un autre ingrédient nutraceutique, l'acide férulique (Lupi et al., 2013). Un organogel à base d'huile d'olive est proposé en utilisant comme gélifiant le policosanol (actif graisseux constitué de 60% d'octacosanols extrait du son de riz). Cet agent gélifiant a démontré une capacité de gélification intéressante même à faible concentration (0,5% en masse). L'objectif majeur de l'étude était de moduler la libération pendant la digestion simulée *in vitro*.

Le contrôle de la cinétique de relargage de principes actifs d'intérêt pharmaceutique administrés par voie orale est un autre sujet de recherche concernant l'utilisation des organogels. Deux exemples de travaux reportés dans la littérature seront décrits. Il s'agit de deux travaux d'Iwanaga et collaborateurs (2010 ; 2012).

Ces auteurs ont préparé des organogels constitués d'huile de soja et 12-HSA comme molécule gélifiante. La concentration en 12-HSA dans l'organogel a été un paramètre d'étude (2, 3, 5 et 10%). La molécule ajoutée dans la phase huile est l'ibuprofène, une molécule de la classe des anti-inflammatoires non stéroïdiens. Une forme massive d'organogel (gélule), qui nous a d'ailleurs inspiré pour la réalisation de nos travaux expérimentaux qui seront présentés plus tard dans ce manuscrit, a été préparée et utilisée pour l'étude de la diffusion de l'ibuprofène à travers la gélule d'organogel. Un suivi de l'érosion de la gélule en cours d'incubation dans un milieu gastrointestinal simulé a permis de dégager des hypothèses sur les mécanismes régissant la libération de l'Ibuprofène. Nous y reviendrons pour discuter des mécanismes de libération.

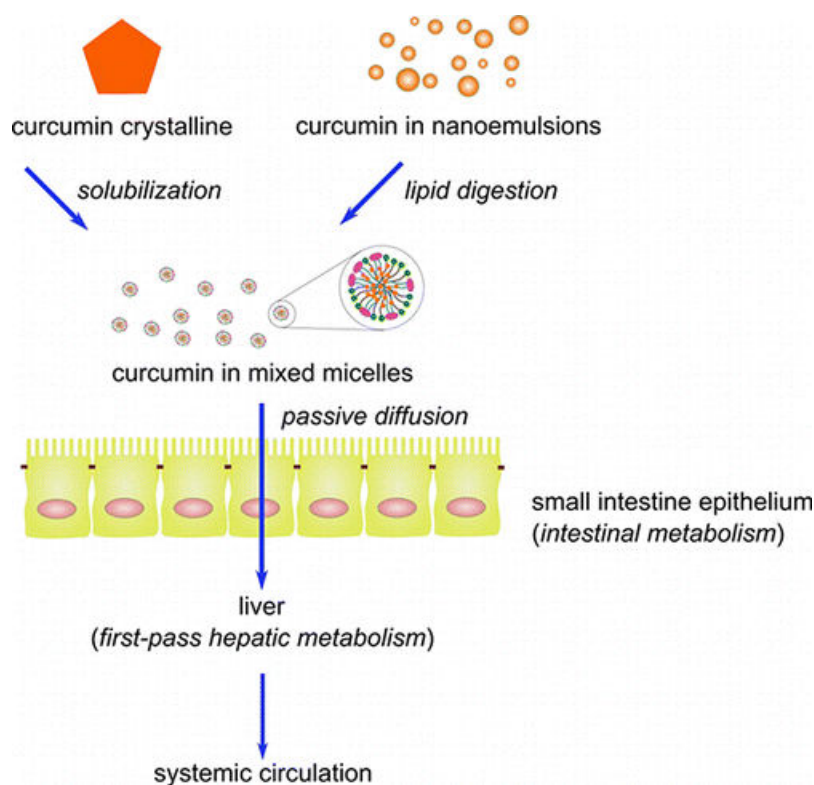


Figure 20. Stratégie galénique pour augmenter la biodisponibilité de la curcumine (passage d’une forme cristalline solide à une forme solubilisée dans la phase dispersée (organogel) d’une nanoémulsion) (Yu and Huang, 2012).

Iwanaga et collaborateurs ont élargi leurs recherches par l’encapsulation d’autres principes actifs dans les organogels d’huile de soja et 12-HSA. Pour cela, la concentration en 12-HSA a été fixée (10%). La cinétique de relargage des nouvelles molécules étudiées (Antipyrine, Ofloxacine et Théophylline) a été suivie dans les milieux gastro-intestinaux simulés. Cette deuxième étude porte sur l’ajout de molécules de caractère soit hydrophobe (Antipyrine en plus de l’Ibuprofène) soit hydrophile (Ofloxacine et Théophylline) dans l’organogel en vue d’un relargage prolongé après une administration orale. Les molécules hydrophiles se trouvent sous forme de petits cristaux dans l’organogel tandis que les molécules hydrophobes sont dissoutes ou partiellement dissoutes. L’effet retard de la libération à partir des organogels a été démontré avec un pourcentage libéré au bout de 6 h dans un milieu intestinal d’environ 72-77% pour les molécules hydrophobes (ibuprofène et antipyrine respectivement) et d’environ 21-29% pour les molécules solubles dans l’eau (Ofloxacine et Théophylline). Le plus faibles taux de libération pour les molécules hydrophiles s’expliquent par l’étape additionnelle de dissolution des cristaux libérés d’un milieu lipidique (l’organogel).

1.4.4 Organogels encapsulés

Sagiri et collaborateurs publient depuis 2013 (Sagiri et al., 2013 ; Sagiri et al., 2014a ; Sagiri et al., 2014b ; Sagiri et al., 2015) des résultats de travaux de recherche portant sur l'encapsulation d'organogel par de l'alginate. L'objectif est d'améliorer le contrôle de la cinétique de libération de systèmes constitués par l'organogel sous une forme divisée (gouttelettes). Les particules qui en résultent sont du type matriciel où une phase divisée d'organogel est dispersée dans une matrice d'alginate.

Pour l'obtention de ces particules, différentes étapes successives de préparation sont nécessaires. Ces étapes sont schématisées sur la Figure 21. La matrice d'alginate, où l'organogel se trouvera dispersé, est formée à partir d'un processus de gélification interne modifiée par les auteurs : elle débute par la préparation d'une solution d'alginate de sodium dans laquelle une certaine quantité de carbonate de calcium est ajoutée (suspension). La phase d'organogel y est dispersée par émulsification à l'aide d'additifs. Cette première émulsion est ensuite dispersée dans une deuxième phase huile maintenue à faible température (bain de glace). Une acidification du système est réalisée ensuite pour dissoudre le carbonate de calcium, libérer les ions Ca^{2+} et gélifier l'alginate.

Les matrices d'organogel-alginate ont une centaine de microns en taille (70-110 μm). Différentes huiles végétales ont été testées (huile de sésame ou l'huile de soja), ainsi que la lanoline. L'agent gélifiant est l'acide stéarique et deux principes actifs, la ciprofloxacine et le métronidazole, ont été introduits dans l'organogel pour une étude de libération in vitro. Les mécanismes régissant ce processus proposés par les auteurs seront discutés ci-après.

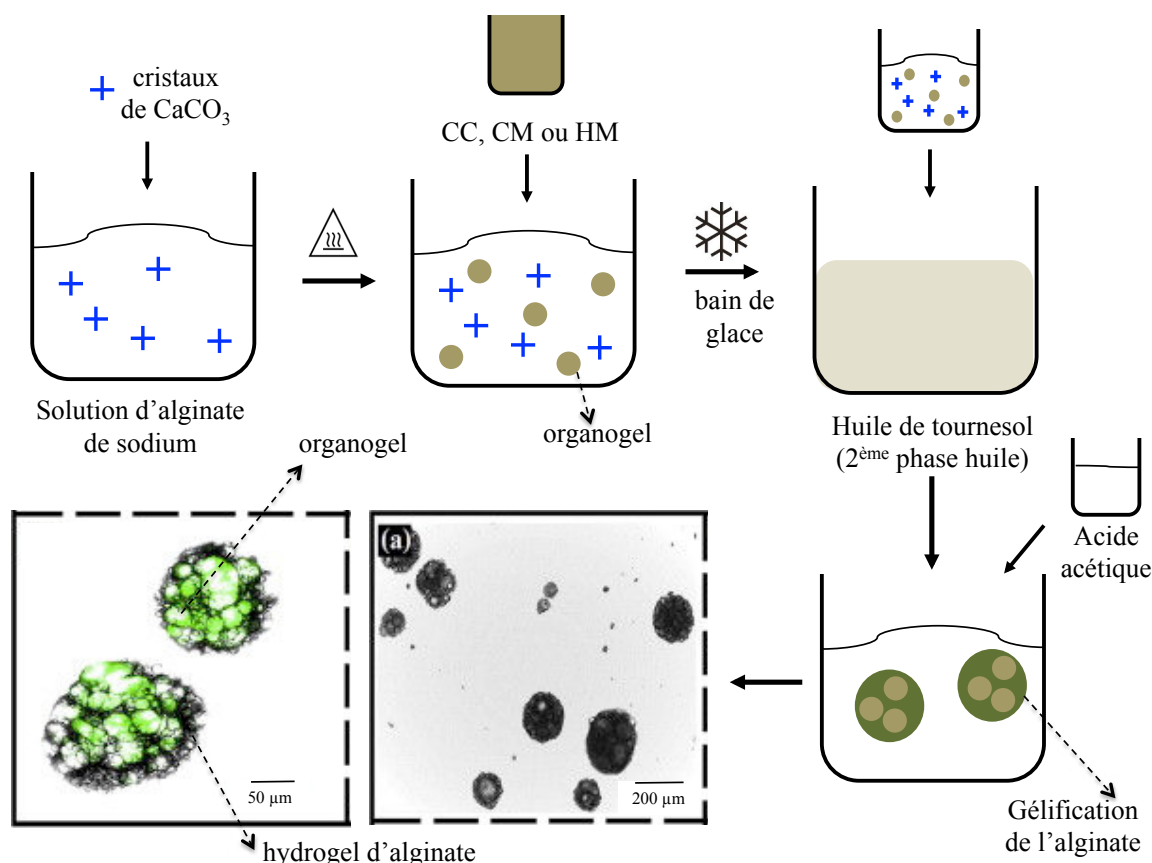


Figure 21. Schéma de préparation de particules matricielle organogel-alginate formées par double-émulsification. Composants de l'organogel : cire de cacao (CC), cire de mangue (CM) et l'huile de moutarde (HM) (Sagiri et al., 2015).

1.4.5 Mécanismes de libération à partir d'un organogel

Nous venons de voir que les organogels proposés pour encapsuler et libérer des ingrédients actifs d'organogels peuvent être constitués par une variété de solvants organiques et agents gélifiants de faible poids moléculaire. En raison de cette variété de nature et structures des constituants, les mécanismes régissant la libération d'une molécule active piégée dans l'organogel peuvent également varier.

Les études mentionnées et d'autres non détaillées ici génèrent des données pouvant être comparées par des modèles mathématiques proposés pour interpréter des lois cinétiques observées. Nous avons rassemblé ces informations données dans la littérature sous la forme

d'un tableau synthétique (**Tableau 3**) qui permet une analyse globale des organogels en tant que véhicules d'encapsulation et relargage.

Les études de libération *in vitro* réalisées sur de molécules de caractéristiques physicochimiques différentes avec des organogels de composition variables ont permis de mettre en évidence :

- un relargage prolongé dans le temps dans des milieux divers (acide, alcalin, avec et sans activité enzymatique) ;
- un relargage contrôlé par la diffusion et dépendant de la structure du réseau tridimensionnel formé par l'agent gélifiant ;
- une *libération fickienne* ou *non fickienne* (combinaison de deux phénomènes), dépendant de la structure du réseau tridimensionnel formé par l'agent gélifiant ;
- une vitesse de relargage liée à l'état physique de la molécule (dissoute, dispersée dans l'organogel) : une libération plus lente a été observée pour des molécules à caractère hydrophile piégées dans les organogels.

Le Tableau 4 regroupe l'interprétation de mécanismes faite lors des études des particules matricielles d'organogel-alginate développées par Sagiri et collab (Sagiri et al., 2013 ; Sagiri et al., 2014a ; Sagiri et al., 2014b ; Sagiri et al., 2015) Le système est plus complexe formé de deux gels différents. La diffusion dans ces particules est compliquée par l'influence des cinétiques de gonflement de l'hydrogel d'alginate.

Tableau 3. Profils de libération des principes actifs à partir de différents types d'organogels interprétés à l'aide des modèles mathématiques.

Type d'organogel	Principe actif	Milieu d'incubation	Modèle mathématique représentant les données	Mécanisme régissant la libération	Références
Eudragit L	Acide salicylique	-	-	Erosion de la matrice	Goto et al., 1991
Eudragit S	Acide salicylique	-	Higuchi	Diffusion	Kawata et al., 1991
huile de soja et 12-HSA	Ibuprofène	pH 6,8 avec lipase (375 U/mL) et taurocholate de sodium (10 mM).	-	Diffusion couplée à l'érosion	Iwanaga et al., 2010
huile de soja et 10% 12-HSA	Ibuprofène, Antipyrine, Ofloxacin, Théophylline	pH 6,8 avec lipase (375 U/mL) et taurocholate de sodium (10 mM).	-	Diffusion	Iwanaga et al., 2012
huile de moutarde et Span 60	Métronidazole	Eau 37 °C	Higuchi	Diffusion	Singh, 2011
huile de tournesol et Span 60	Acide salicylique	Eau 37 °C	Higuchi et Kosmeyer-Peppas ($0,5 < n < 0,7$)	Diffusion couplée à l'érosion	Vasantrao, 2011
huile de moutarde et/ou l'huile d'arachide et Span-40	Métronidazole	Cellules de Franz avec l'eau bi-distillée comme récepteur 37 °C	Higuchi et Kosmeyer-Peppas ($0,5 < n < 1,0$)	<i>Diffusion non Fickienne</i>	Satapathy et al., 2014
huile de tournesol et Span 80 en présence de Tween 80)	Diclofénac de sodium	pH 7,4 (tampon phosphate) 37 °C	Peppas ($n > 1$)	Diffusion couplée à l'érosion	Asija and Sharma, 2014
Huile d'olive et Policosanol	Acide Férulique	pH 1,0 (2h) avec pepsine pH 7,0 avec pancréatine (4h) 37 °C	Kosmeyer-Peppas ($n > 1$)	Diffusion couplée à l'érosion	Lupi et al., 2013

Tableau 4. Profils de libération des principes actifs à partir de différents types de microparticules d'organogels et alginate interprétés à l'aide des modèles mathématiques.

Encapsulation d'organogel dans l'alginate : systèmes matricielles					
Type d'organogel	Principe actif	Milieu d'incubation	Modèle mathématique représentant les données	Mécanisme régissant la libération	Références
Organogel : huile de moutarde /beurre de coco, beurre de mangue	Métronidazole	pH 7,0 37 °C	Higuchi et Korsmeyer-Peppas ($n \sim 0,6$)	<i>Diffusion non Fickienne</i>	Sagiri et al., 2013
Organogel : Span80 et l'huile de tournesol	Acide salicylique (AS) et métronidazole (M)	pH 1,2 pH 7,2 37 °C	Higuchi et Baker-Lonsdale	Diffusion à pH 1,2 et relaxation/érosion/dégradation du polymère à pH 7,2	Sagiri et al., 2014a
Organogel : lanoline	Acide salicylique (AS) et métronidazole (M)	pH 1,2 pH 7,2 37 °C	Higuchi et Korsmeyer-Peppas, Baker-Lonsdale	Mécanisme dépendant du pH et du principe actif (Diffusion Fickienne à pH 1,2 : Diffusion non-Fickienne à pH 6.8 pour AS et M et M à pH 1.2)	Sagiri et al., 2014b
Organogel : l'huile de sésame ou l'huile de soja et acide stéarique	Ciprofloxacine	pH 1,2 (4h) pH 7,4 (20h) 37 °C	Baker-Lonsdale ($n > 0,89$ super cas II de transport)	Gonflement/ Diffusion/ Erosion (matrices sphériques)	Sagiri et al., 2015

1.5 Les hydrogels

1.5.1 Généralités

Les hydrogels sont des réseaux tridimensionnels constitués de polymères dans lesquels sont présents des domaines ou des groupes hydrophiles hydratés dans un environnement aqueux. Leur principale caractéristique est leur capacité à gonfler en présence d'eau et à conserver une fraction significative d'eau au sein de leurs structures. Les hydrogels peuvent être stables chimiquement ou peuvent se dégrader et se dissoudre (Hoffman, 2002).

Leur classification peut se faire selon les différents critères montrés sur la Figure 22, par exemple, la source du polymère (naturel ou synthétique), la nature de la réticulation (physique ou chimique) ou encore les propriétés physiques.

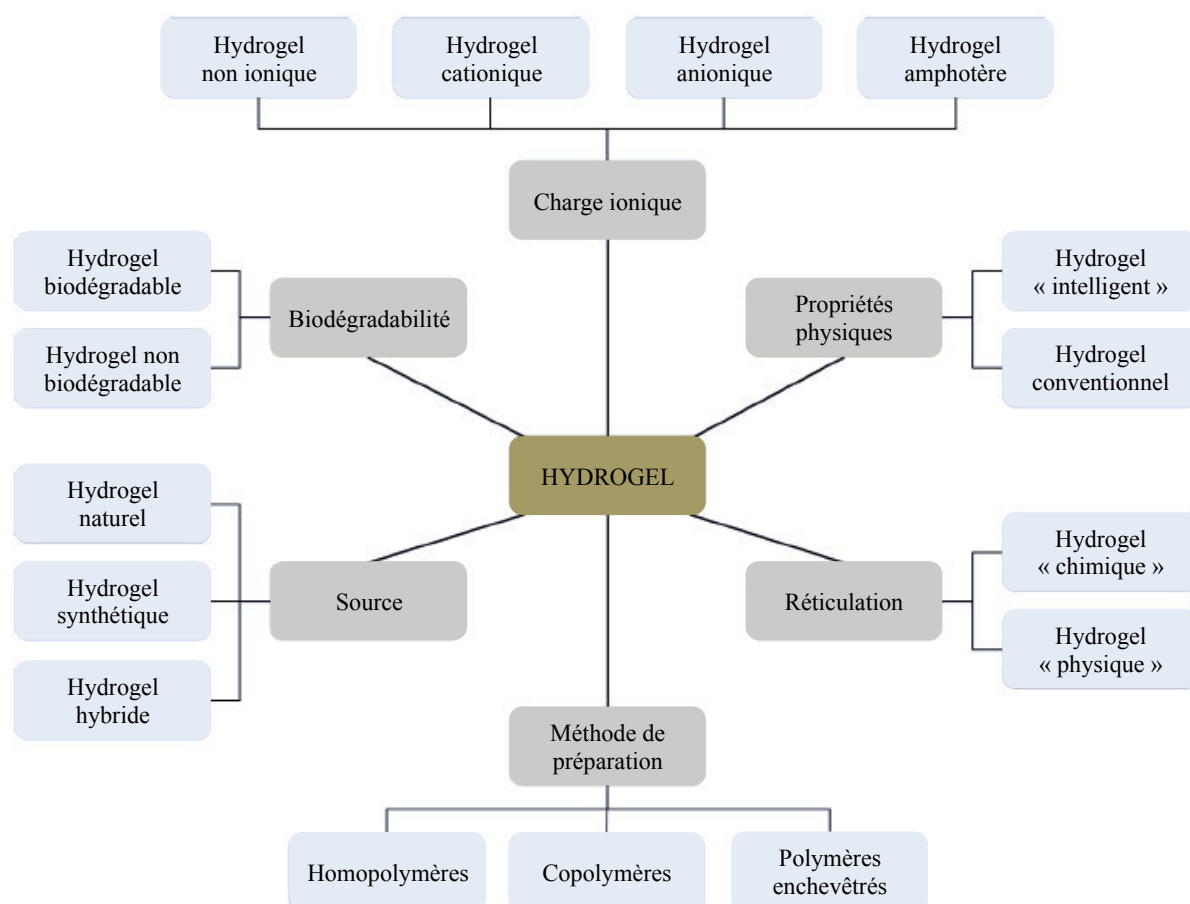


Figure 22. Classification des hydrogels selon différents critères. Traduit de Patel et Mequanint, (2011) .

Il est aussi possible de les diviser en deux grandes familles : les « gels chimiques » et les « gels physiques », aussi désignés sous les termes de gels irréversibles et gels réversibles. La différence entre ces deux familles réside dans la nature des liaisons qui constituent les réticulations : liaisons covalentes dans le premier cas et liaisons secondaires réversibles dans le second (liaisons hydrogène, ioniques ou hydrophobes).

Il existe un certain nombre de structures macromoléculaires possibles pour les hydrogels physiques et chimiques tels que : un réseau réticulé ou enchevêtré d'homopolymères linéaires, de copolymères linéaires et de copolymères à blocs ; un complexe polyion multivalent, polyion-polyion ou liaisons hydrogènes ; un réseau hydrophile stabilisé par des régions hydrophobes ou encore des réseaux interpénétrés (Rolland, 2013).

Une grande variété de polymères, d'origine naturelle ou synthétique, est utilisée pour fabriquer des hydrogels. Parmi les polymères les plus couramment utilisés dans la fabrication des hydrogels nous pouvons citer l'acide hyaluronique, l'alginate, la pectine, le chitosane, la polylysine ou le dextran. *L'alginate de calcium*, que nous serons amenés à décrire plus spécifiquement par la suite, est un exemple d'hydrogel physique ou réversible.

1.5.1.1 Propriétés

Les caractéristiques des hydrogels en font des matériaux très recherchés pour un grand nombre d'applications dans les secteurs des biotechnologies, du biomédical, de la pharmaceutique ou encore de l'agroalimentaire. Comme exemples de leurs propriétés notables et versatiles, citons la perméabilité (un paramètre nécessaire à étudier aux vues des applications potentielles d'encapsulation et relargage (Hamidi et al., 2008 ; Singh et al., 2010, Sikareepaisan et al., 2011), la capacité à 'réagir' en réponse à un stimulus extérieur (Patel and Mequanint, 2011), la dégradabilité et les propriétés mécaniques (importantes pour une utilisation comme biomatériaux dans les biotechnologies ou pour des applications biomédicales (Augst et al., 2006).

Perméabilité : Pour des applications basées sur la diffusion d'un soluté dans un hydrogel, la perméabilité du gel (taille des pores du réseau) et les paramètres qui affectent la diffusion d'un soluté dans le gel (montrés sur la Figure 23) sont des caractéristiques

importantes à déterminer.

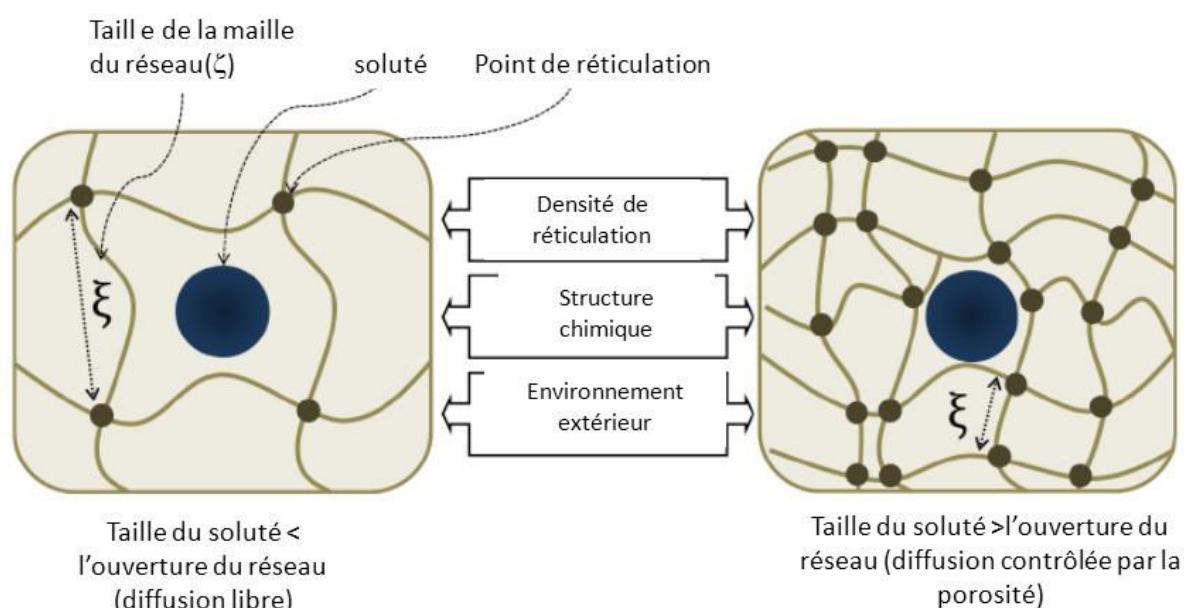


Figure 23. Représentation de la diffusion d'un soluté dans un hydrogel. Si la taille du soluté est inférieure à la maille du réseau, il peut diffuser librement (état hydraté). Si elle est de l'ordre de la taille de la maille du réseau ou supérieure, il est piégé dans le réseau (état déshydraté) (Rolland, 2013).

La structure du réseau, la composition du polymère, la nature et la taille des solutés sont des paramètres à prendre en compte dans le phénomène de diffusion (Amsden, 1998). Comme schématisé sur la Figure 23, dans le cas où la taille des pores de l'hydrogel est supérieure à la taille des solutés, la diffusion est limitée par la tortuosité du réseau. Lorsque la taille des solutés est de l'ordre de la taille des pores de l'hydrogel, on peut déterminer leur coefficient de diffusion par diverses modélisations dont la forme générale est la suivante (Rolland, 2013) :

$$\frac{D_{gel}}{D_{eau}} = f(a, \Phi, \xi) \quad (1.4)$$

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

2000). La taille de la maille peut être affectée par plusieurs facteurs incluant : le degré de réticulation du gel (densité des jonctions du réseau), la structure chimique du polymère et l'environnement extérieur (pH, température, force ionique). La taille caractéristique des mailles du réseau d'un hydrogel est typiquement comprise entre 5 et 100 nm. Ces tailles sont bien supérieures à la taille d'une molécule organique (médicament par exemple), et leur diffusion n'est généralement pas retardée par la matrice du réseau de l'hydrogel. Néanmoins, l'interaction d'un soluté avec les chaînes du réseau peut éventuellement gêner sa diffusion. En conclusion, il est nécessaire d'adapter la composition du polymère et la densité des jonctions du réseau à la taille et la composition du soluté (P.A) piégé dans l'hydrogel (Hoffman, 2002 ; Lin and Metters, 2006).

Dégradabilité : Le contrôle de la dégradation est une caractéristique importante des hydrogels utilisés pour des applications biomédicales. En se dégradant, le matériau laisse diffuser les molécules bioactives ou laisse de l'espace pour la croissance d'un nouveau tissu. La dégradation d'un hydrogel peut être contrôlée par des méthodes physiques, chimiques ou biologiques et il est possible de jouer sur la masse molaire des polymères ou leur composition pour contrôler une cinétique de dégradation *in vivo*. Par exemple, l'utilisation d'enzymes est un exemple de méthode biologique permettant la dégradation des hydrogels. Un hydrogel ayant subi une irradiation peut aussi être dégradé plus rapidement (après coupure sélective de certain types de liaisons par l'irradiation) (Augst et al., 2006).

Propriétés mécaniques : les propriétés mécaniques à viser dépendent de l'application spécifique (gel très mou, gel mou, gel rigide...). Pour mieux comprendre le comportement mécanique des hydrogels, il faut s'affranchir des théories d'élasticité et viscoélasticité basées sur la réponse temporelle du gel soumis à une contrainte (Rolland, 2013). Les gels 'mous' possèdent une contrainte seuil de plasticité à partir de laquelle la déformation est irréversible : c'est le régime de viscoélasticité. Les gels plus rigides sont moins déformables et peuvent casser lorsque la contrainte dépasse une contrainte seuil de rupture.

La rigidité d'un polymère réticulé provient essentiellement de la densité de réticulation et de l'énergie des liaisons. La densité de réticulation d'un hydrogel peut être renforcée en augmentant la quantité d'agent réticulant ou la concentration en polymère dans l'hydrogel (Draget et al., 2005). De plus, les conditions de formation de l'hydrogel telles que le temps de réticulation ou la température influent sur la structure finale du gel et peuvent également affecter les propriétés mécaniques de l'hydrogel. Enfin, le degré de gonflement d'un réseau

d'hydrogel est intimement lié à sa résistance mécanique : plus il est gonflé d'eau, plus la densité de réticulation est faible (Anseth et al., 1996) .

Réaction à des stimuli externes : Certains hydrogels, appelés hydrogels 'intelligents', peuvent réagir à des stimuli externes (Figure 24) et subir des modifications relativement importantes en termes de propriétés comme le gonflement, la perméabilité ou encore la résistance mécanique. Les stimuli chimiques tels que le pH ou l'ajout d'un composé chimique peuvent changer les interactions entre les chaînes du polymère ou entre le polymère et le solvant à l'échelle moléculaire. Les stimuli de nature physique tels que la température, un champ électrique ou magnétique ou encore une contrainte mécanique peuvent affecter les interactions moléculaires. Différents types d'hydrogels intelligents sont présentés et discutés dans la littérature (Patel and Mequanint, 2011).

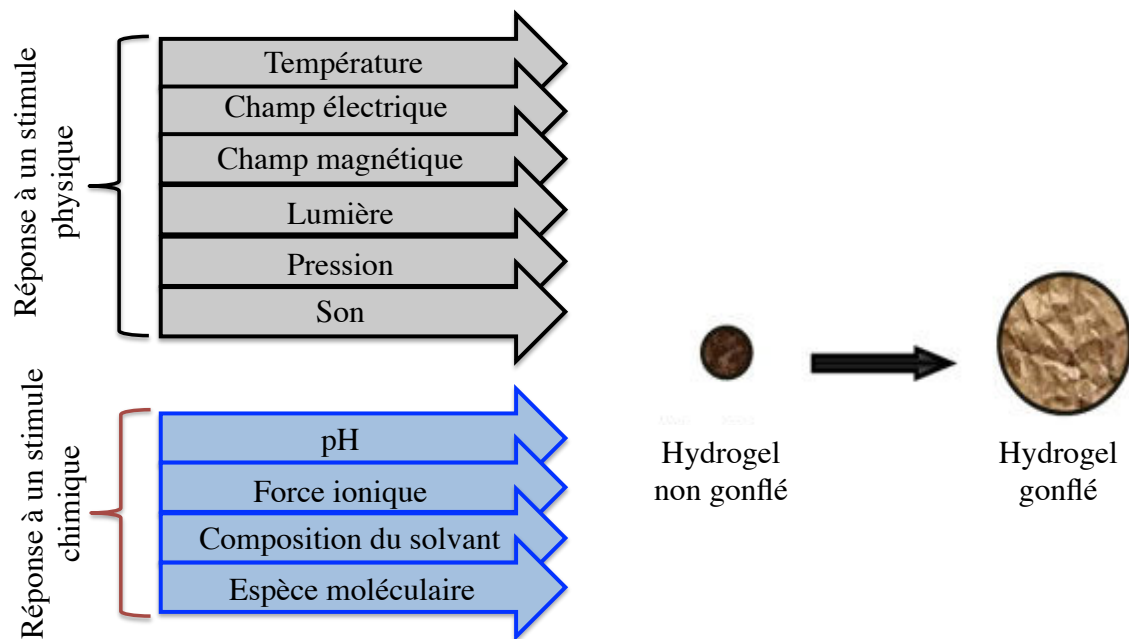


Figure 24. Transition de volume en réponse à une variété de stimuli physiques et chimiques. Traduit de Ahmed (2013).

1.2.3 Les hydrogels pour une libération contrôlée des substances actives

Nous venons d'évoquer quelques propriétés notables des hydrogels:

- Dégradabilité
- Propriétés mécaniques ajustables (gels mous, rigides, cassants...)
- Structure à porosité variable
- Gonflement/dégonflement contrôlables et modulables réversiblement via des leviers externes.

Ces propriétés des hydrogels en font des matériaux très intéressants pour des applications dans des domaines divers. En effet, depuis la formation du premier hydrogel synthétique par Wichterle et Lím (1960), la technologie des hydrogels a progressé au fil des années en raison de leur exceptionnel potentiel dans une large gamme d'applications (Brannon-Peppas and Harland, 1991, Buchholz and Graham, 1998, Li et al., 2013). Citons à titre d'exemple, l'industrie agroalimentaire (Chen et al., 1995, Saxena, 2010), les produits d'hygiène (Singh et al., 2010), l'immobilisation cellulaire (Wang et al., 2010), le biomédical (Kashyap et al., 2005, Kaihara et al., 2008 ; Stamatialis et al., 2008), les biocapteurs (Krsko et al., 2009), l'ingénierie tissulaire et la médecine régénérative (Zhang et al., 2011 ; Saul and Williams, 2011), le diagnostic (Plunkett and Moore, 2004), ou encore comme systèmes de délivrance des principes actifs (Hamidi et al., 2008 ; Singh et al., 2010, Sikareepaisan et al., 2011). Parmi ces applications, les systèmes de libération contrôlée à base d'hydrogels sont devenus un secteur de recherche majeur comme le montre le nombre en constante augmentation de publications qui leurs sont consacrés : d'une cinquantaine de publications annuelles dans les années 1990 nous arrivons à 750 en 2014 (Figure 25). Plusieurs types d'hydrogels ont été développés depuis les années 80 et certains sont sur le marché (Peppas et al., 2000).

Un système de libération doit pouvoir contrôler le relargage du soluté en fonction du temps. Le choix du matériau et du réseau de l'hydrogel va gouverner la libération du P.A. hors de la matrice d'hydrogel. Les principaux critères à prendre en compte dans la fabrication de l'hydrogel sont ces propriétés de structure (composition et masse molaire du polymère, biodégradabilité), les conditions de gélification (température, pH, force ionique) et les propriétés de la molécule à encapsuler (taille et masse molaire, interactions molécule-

hydrogel) et stabilité de l'hydrogel (vitesse/taux de dégradation dans les conditions de l'application). En résumé, en jouant sur les caractéristiques physicochimiques du système de relargage à base d'hydrogels, il est possible d'ajuster la diffusion des substances actives piégées dans leurs réseaux.

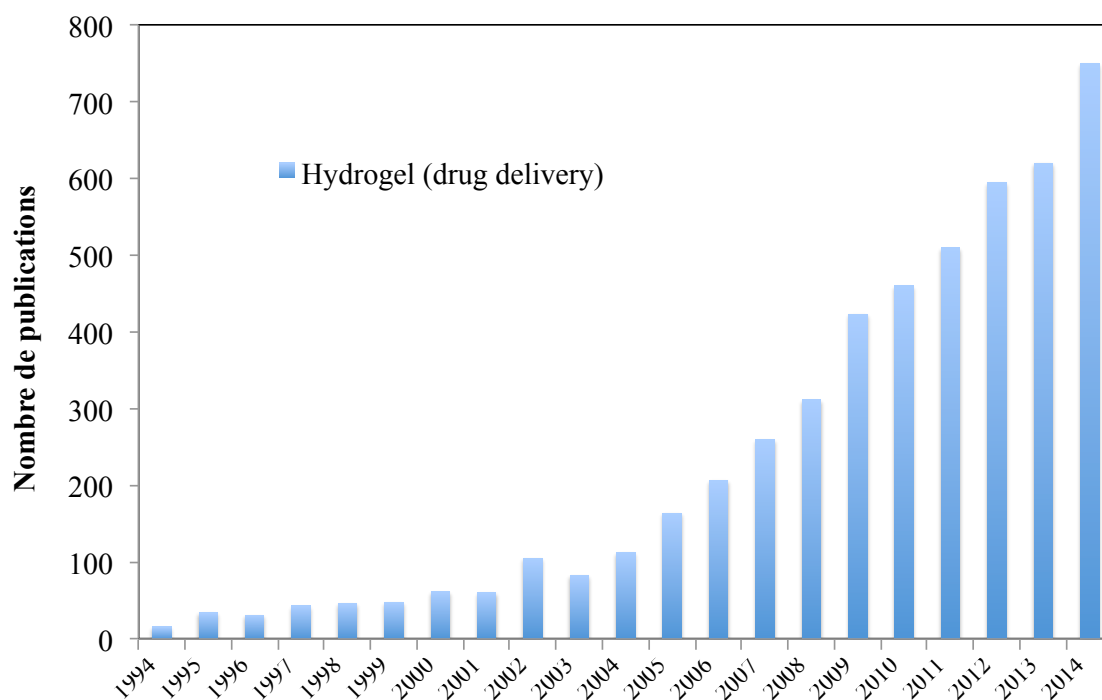


Figure 25. Evolution du nombre de références indexées dans la base de données Web of Science concernant l'utilisation des hydrogels en '*drug delivery*'. Recherche effectuée sur les mots-clés : hydrogel et *drug delivery* (15/03/2015).

A la lumière de ces éléments, nous sommes penchés sur l'utilisation d'un hydrogel en particulier : *l'alginate de calcium*. Cet hydrogel est déjà utilisé depuis longtemps pour nombreuses applications et sous beaucoup de formes physiques différentes (Brannon-Peppas and Harland, 1991, Buchholz and Graham, 1998, Li et al., 2013). Néanmoins, l'originalité de notre étude porte sur le rôle de ce matériau en protéger et contrôler la diffusion d'un P.A. piégé dans un noyau d'organogel. Ce noyau est entouré par une membrane d'alginate de calcium. Dans la section suivante nous nous focaliserons sur une présentation succincte de l'alginate de calcium et son utilisation dans le domaine du relargage contrôlé de molécules bioactives.

1.5.2 L'hydrogel d'alginate

1.5.2.1 Présentation et méthodes de préparation

Les alginates sont des polysaccharides produits en abondances par les algues brunes marines (Phaeophyceae) (Wee and Gombotz, 1998). Ils sont constitués principalement par la liaison (1 → 4) de résidus de β -D-mannuronique (M) et α -L-gulonique (G), en fonction de trois types de séquences $(M)_m$, $(G)_n$, et $(M, G)_x$ (Draget et al., 1997). Les alginates peuvent présenter différents rapport de M/G (Figure 26).

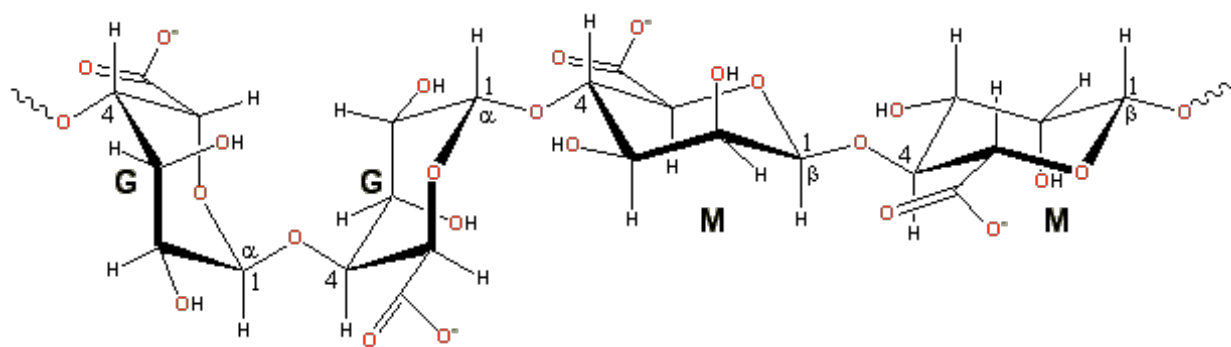


Figure 26. Structure moléculaire de l'alginate avec la séquence GGMM.

L'alginate possède la particularité de gélifier en présence de cations divalents, et notamment d'ions calcium. Sa transition sol-gel est très rapide et donne lieu à un hydrogel physique *irréversible dans l'eau pure* : la constante de dissociation de la liaison calcium-alginate est très faible (Rolland, 2013).

Le modèle boîte à œufs (*'egg-box' model* en anglais) est la représentation la plus couramment utilisée pour rendre compte des interactions entre les chaînes d'alginate et les cations divalents. Le mécanisme de gélification proposé à la Figure 27 se résume à deux grandes étapes :

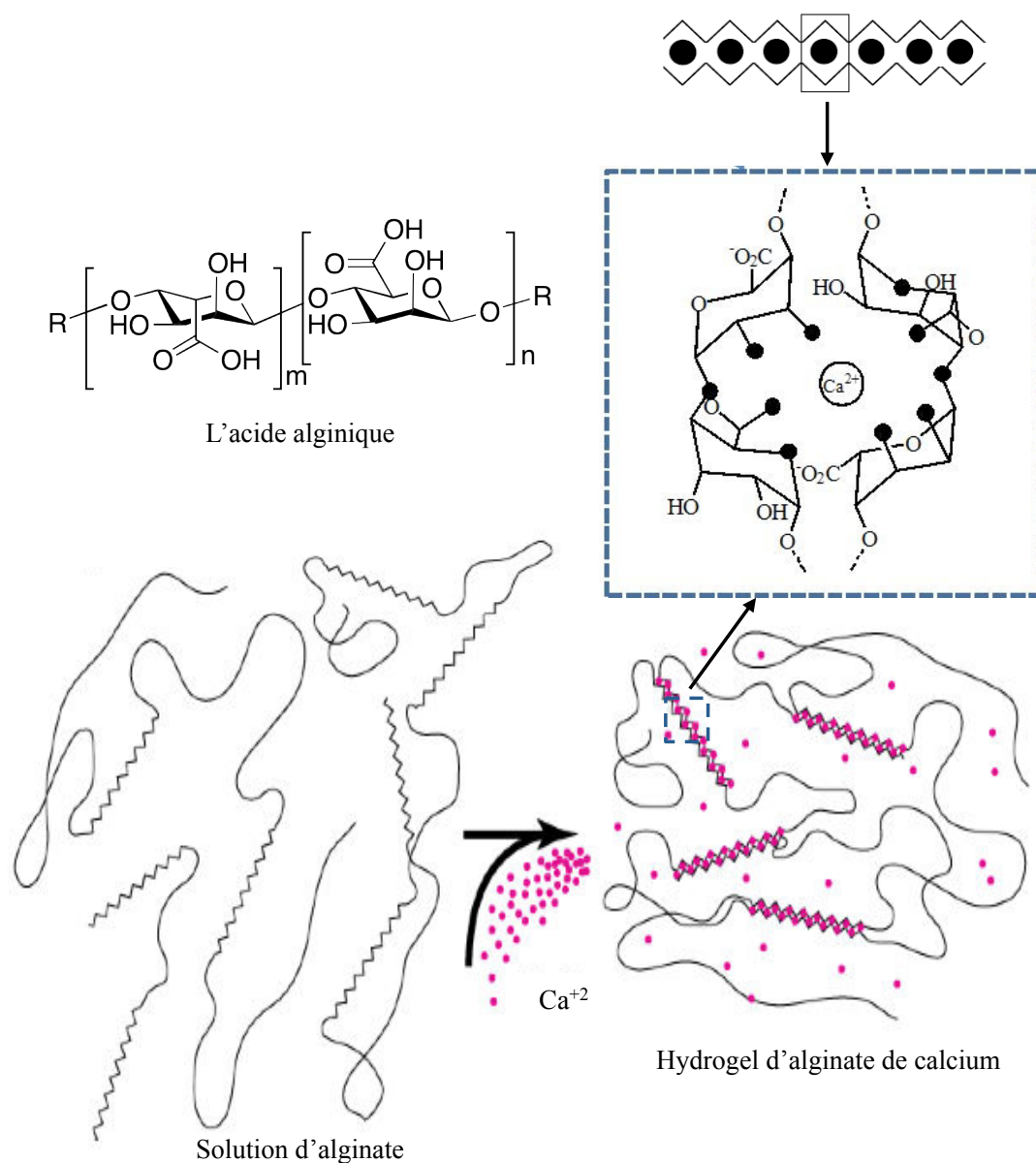


Figure 27. Gélification ionique d'une solution d'alginate de sodium par des ions calcium, selon le modèle « boîte d'œufs ». Les blocs G de deux chaînes sont d'abord dimérisés par une liaison électrostatique avec un cation Ca^{2+} , puis ensuite polymérisés afin de former un gel dur.

La première étape irréversible et instantanée permet à l'alginate de gélifier en présence d'ions Ca^{2+} . Parmi les blocs G et M des chaînes d'alginate, seuls les blocs G interviennent dans cette gélification. Les blocs G des chaînes passent d'un état désordonné à un état ordonné où deux blocs s'associent au niveau de leur zone de jonction, piégeant ainsi en leur sein le Ca^{2+} . L'association de ces deux blocs se fait par un mécanisme coopératif. La fixation d'un ion Ca^{2+} au sein d'une zone de jonction facilite la capture d'un second ion Ca^{2+} , et ainsi de suite. Ce phénomène va conduire à la dimérisation de tous les blocs G.

Les caractéristiques des gels d'alginate sont influencées par le rapport et la séquence de monomères uroniques, par la concentration en cations dans le bain de gélification et par le temps de réticulation (Velings and Mestdagh, 1995 ; Ouwerx et al., 1998). Le pouvoir gélifiant est d'autant plus important que la proportion des blocs G soit élevée. La gélification de l'alginate est basée sur son affinité envers certains cations, mais surtout sur sa capacité à se lier à ces cations de façon sélective et coopérative.

Il existe deux méthodes fondamentales de gélification de l'alginate : une technique de diffusion externe et une technique de gélification interne (Figure 28) (Draget et al., 2005).

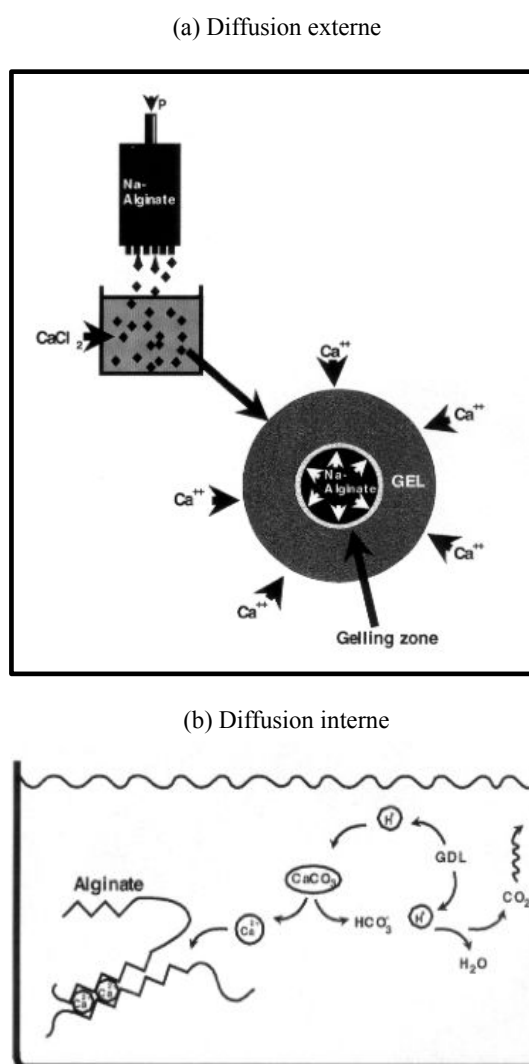


Figure 28. Les techniques de gélification de l'alginate : (a) par diffusion externe, illustrée par la technique d'immobilisation dans une bille de gel et (b) par relargage interne, illustrée par la libération de Ca^{+2} à partir de CaCO_3 et Delta-gluconolactone (GDL) (Draget et al., 2005).

La méthode de gélification interne (Figure 28-a) consiste à relarguer des ions calcium de manière contrôlée (par réaction chimique, changement de pH, changement de solubilité..) à partir d'une source de calcium initialement présente à l'intérieur de l'alginate (mélange de CaCO_3 dans la solution d'alginate, qui libère des ions Ca^{2+} par réaction chimique).

La technique de diffusion externe (Figure 28-b) consiste quant à elle à faire diffuser dans la solution d'alginate des ions calcium à partir d'un réservoir infini (une goutte d'alginate est plongée dans un bain contenant un sel de calcium). Cette méthode caractérisée par une cinétique très rapide de gélification, est largement utilisée pour l'immobilisation d'actifs biologiques (Liserre et al., 2007), et sera la méthode qui nous utiliserons dans ce travail de thèse pour générer une capsule à cœur gélifié (organogel) et membrane d'hydrogel d'alginate. La partie suivante de ce chapitre sera consacrée aux structures de type noyau-membrane, notamment celles avec une membrane d'alginate.

Troisième partie

L'Encapsulation par des structures cœur-membrane

1.6 L'encapsulation : concept et application

D'une manière générale, l'encapsulation peut être définie de la façon suivante : piégeage d'un ou plusieurs objets au sein d'un matériau en vue de son immobilisation, sa protection, le contrôle de son transfert, sa structuration et sa fonctionnalisation (Richard and Benoit, 2000). Cette définition faite référence aux enjeux de l'encapsulation et englobe un grand nombre de systèmes.

Des 'structures' créées par encapsulation (particules, capsules, billes....) ayant un effet bien défini, par exemple une charge à transporter avec un mécanisme programmé de relargage de cette charge dans un environnement donné, sont donc des structures fonctionnelles. A l'intérieur de ces structures, la substance encapsulée peut rester en forme de solution, de suspension ou d'une émulsion. Elle peut correspondre à des molécules simples ou à des structures plus complexes comme des cellules. Dans le domaine de la santé, la fonctionnalité est un des éléments clés du développement des systèmes de délivrance des molécules avec une activité thérapeutique.

Les structures fonctionnelles peuvent présenter des configurations variées, comme les structures illustrées par la Figure 29. Une « vraie » capsule (micro ou nanocapsule) présente un noyau où la substance active se trouve piégée entourée par une membrane (Figure 29-a). Elle agit comme un système réservoir. Dans une autre configuration possible (système matriciel, micro ou nanosphère), la substance active se trouve dispersée dans un réseau continu du matériau encapsulant (Figure 29-b). Il faut noter que la « capsule » minimise la quantité de matériel enrobant administré, par rapport à la structure de type matriciel. Dans une échelle plus petite de taille, une substance active peut rester à l'intérieur d'une molécule comme le cyclodextrine (Figure 29-c). Nous pouvons aussi associer à ce concept d'encapsulation, des micro(nano)émulsions stables (Figure 29-d). Ces exemples ne sont pas exhaustifs.

Les structures sont variées aussi bien en taille (du millimètre au nanomètre), dans leur composition que dans leur mode d'obtention. Les paramètres qui gouvernent leurs propriétés physicochimiques sont tout aussi nombreux. Pour les préparer il faut donc les bons matériaux et la bonne méthode. Normalement, ils ne peuvent pas être sélectionnés d'une façon indépendante, car des relations d'interdépendances existent entre les matériaux, le procédé et les caractéristiques physiques et fonctionnelles de la structure fabriquée et elles doivent être considérées.

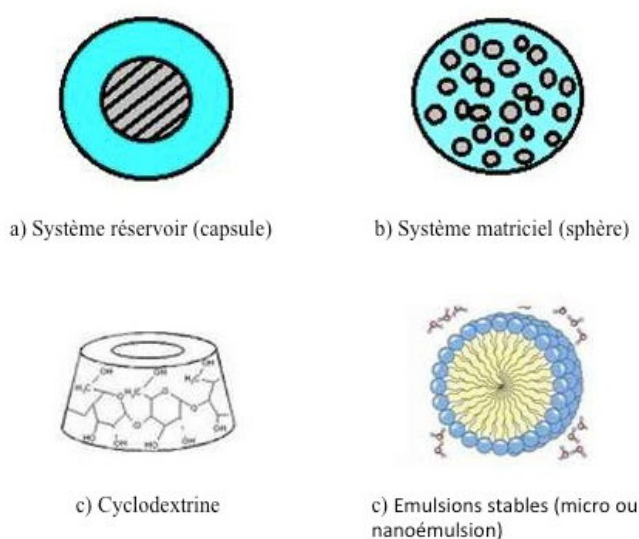


Figure 29. Exemples de structures fonctionnelles obtenues par des procédés d'encapsulation.

Pour une encapsulation, plusieurs méthodes peuvent être utilisées. Il existe plusieurs manières de classer les procédés d'encapsulation suivant différents critères (Richard and Benoit, 2000) : l'utilisation ou non de solvant organique ; la nature du milieu dispersant (liquide, gazeux ou à l'état supercritique) ; l'utilisation de polymère préformé, de lipides, de monomères ; la nature des processus associant la molécule à encapsuler au matériau encapsulant. Si nous prenons cette dernière manière de classer les procédés, nous distinguons :

- Les procédés *mécaniques* qui mettent en œuvre des techniques de pulvérisation, de formation de gouttes ou de gouttelettes et d'extrusion.
- Les procédés *physico-chimiques*, basés sur la maîtrise de paramètres tels que la solubilité et la précipitation des polymères en fonction de l'ajout d'un non-solvant, du

pH ou de la température mais aussi la maîtrise des changements d'état (fusion, solidification, gélification) des polymères.

- *Les procédés chimiques* qui sont basés sur la formation in situ du matériau enrobant par polycondensation, polymérisation radicalaire ou polymérisation anionique d'unités monomères. De ce fait, les procédés de nature chimique se distinguent de méthodes physico-chimiques et mécaniques qui stabilisent des matériaux encapsulants pré-formés (polymères, lipides).

Poncelet et Dreffier (2007) proposent une autre classification intéressante en divisant un processus d'encapsulation en trois étapes (Figure 30) :

1. *L'incorporation du principe actif dans une formulation liquide*: Cette étape consiste à incorporer la substance active dans la formulation de départ. La substance peut se présenter sous la forme d'une solution, d'une suspension ou d'une émulsion. Cette étape peut comprendre une adéquation de caractéristiques physiques de la substance active (broyage, classement), la préparation d'une solution, d'une dispersion ou d'une émulsion dans le milieu encapsulant.
2. *Dispersion* : Une formulation est liquide sera dispersée dans l'air (atomisation, prilling) ou dans un autre liquide (émulsification) pour générer des gouttes. Une formulation à l'état solide sera mise en contact avec le matériau encapsulant sous agitation (lit fluidisé, plat granulateur, tambour rotatif, etc).
3. *Stabilisation/solidification* des gouttelettes de formes liquides générées en (2) par prilling, atomisation ou émulsification par un procédé chimique (polymérisation), physico-chimique (gélification, coacervation) ou physique (séchage, solidification par refroidissement thermique) ; solidification du matériau d'enrobage dispersé en (2) sur la forme solide par séchage/solidification.

Dans ce travail de thèse, nous mettons en place un procédé physico-chimique d'encapsulation d'une molécule bioactive selon les étapes suivantes :

1. Préparation des formulations (**organogel fondu**, solution d'**alginate** de sodium)
2. Génération d'un jet composé par un procédé de **prilling**
3. Encapsulation (stabilisation/solification) par **double gélification** dans des structures de type cœur-membrane (capsules à cœur gélifié et à membrane d'hydrogel d'alginate).

Nous allons présenter les techniques permettant la génération de structures cœur-membrane pour ensuite nous consacrer à la présentation de la technique de prilling utilisée.

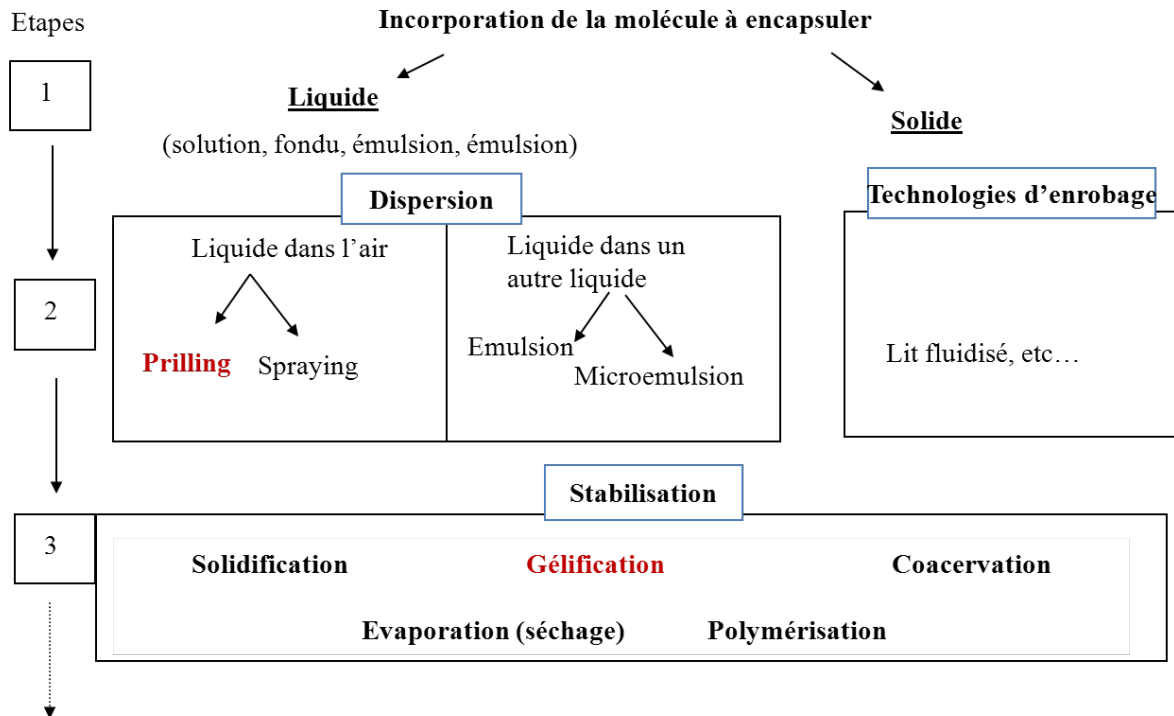


Figure 30. Représentation simplifiée des étapes d'un procédé d'encapsulation selon Poncelet et Dreffier (2007).

1.4.2.1 La génération de capsules cœur-membrane

La fabrication des capsules cœur-membrane peut se réaliser de différentes façons :

1. Formation d'une membrane autour d'un noyau existant ;
2. Formation d'une bi-goutte suivie de la solidification de cette bi-goutte.

1.6.1 Procédés de formation d'une membrane autour d'un noyau existant

Différents procédés conduisent à la formation d'une structure du type cœur-membrane par la première des deux voies décrites. Nous pouvons citer les procédés schématisés sur la Figure 31 : formation d'une émulsion multiple suivie de l'extraction d'un solvant organique qui est ensuite évaporé du système (Figure 31-a) ; coacervation (Figure 31-b) ; polymérisation interfaciale (Figure 31-c) et enrobage de particules solides (Figure 31-d).

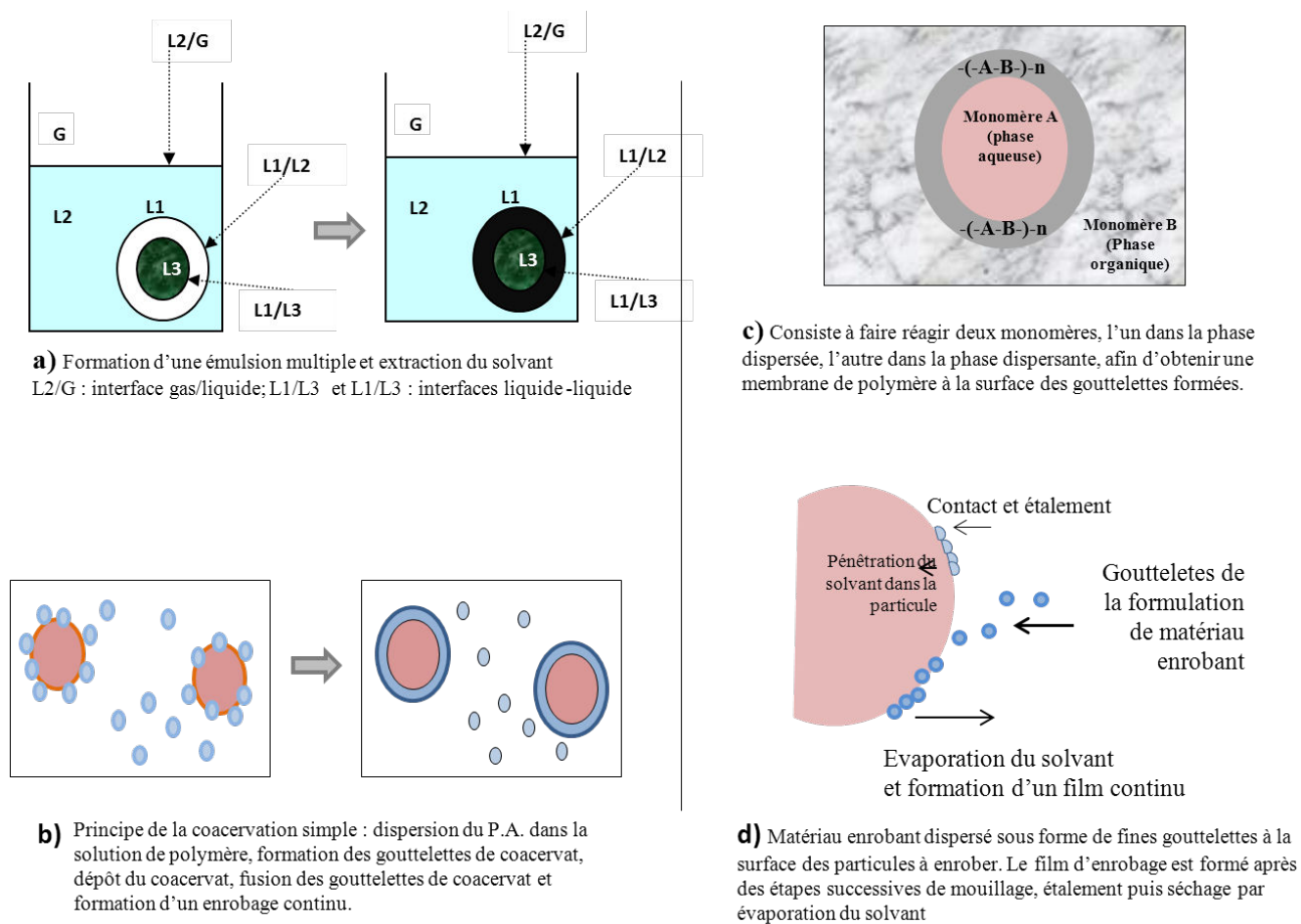


Figure 31. Procédés de formation d'une membrane autour d'un noyau existant.

- *Emulsification/extraction du solvant* : Cette méthode permet d'obtenir des capsules au cœur aqueux (Hayward et al., 2006). Il s'agit d'un procédé d'émulsification (préparation d'une double émulsion eau-huile-eau) suivie d'une extraction du solvant organique où le polymère qui constituera la membrane se trouve dissous (phase huile). La formation de capsules se fait

en deux étapes : une première étape au cours de laquelle une phase aqueuse contenant un tensioactif et le P.A. est émulsifiée sous cisaillement important (sonication, homogénéisateur haute pression) au sein d'une phase organique contenant le polymère qui constituera la membrane. Les polymères généralement hydrophobes sont tout d'abord dissous dans un solvant organique peu miscible avec l'eau comme le dichlorométhane. Cette émulsion E/H est à nouveau cisailée dans un grand volume d'eau contenant des tensioactifs, afin d'obtenir une double émulsion eau-huile-eau. L'évaporation du solvant de la phase huile après diffusion progressive dans la phase continue est réalisée sous pression atmosphérique ou pression réduite et sous agitation lente. L'inconvénient de cette méthode réside dans l'utilisation courante de solvants chlorés toxiques et très volatils, dont les quantités résiduelles peuvent être supérieures aux seuils tolérés par la pharmacopée européenne, 600 ppm pour le dichlorométhane et 60 ppm pour le chloroforme.

- *Coacervation* : La coacervation est un phénomène colloïdal qui implique la dispersion du principe actif, la désolvatation progressive du polymère constitutif de la membrane de la capsule, par ajout d'un troisième composant, agent de coacervation (Figure 31-b). Le procédé d'encapsulation se fait en 3 étapes. Au cours de la première étape, l'agent de coacervation va entraîner la formation d'un système triphasique : une phase coacervat (riche en polymère), une phase pauvre en polymère et une phase riche en principe actif, maintenues sous agitation. Dans la deuxième étape, la phase riche en polymère précipite sous forme de microgouttes à la surface des particules de principe actif (Figure 31-b). Ces microgouttes fusionnent pour former une membrane continue, qui durcit, après désolvatation complète du polymère, ou par des réactions de réticulation. Les polymères couramment utilisés pour cette technique sont : le chitosan et la gélatine (chargés positivement), la gomme arabique et les polyphosphates (chargés négativement) (Benita, 2006).

- *Polymérisation interfaciale* : Ce procédé qui appartient aux procédés chimiques d'encapsulation consiste à faire réagir deux monomères, l'un dans la phase dispersée, l'autre dans la phase dispersante, afin d'obtenir une membrane de polymère à la surface des gouttelettes formées. Le matériau enrobant est synthétisé *in situ*, par une réaction de polymérisation interfaciale (Figure 31-c). Dans ce cas, la réaction met en jeu deux monomères, l'un étant soluble dans la phase organique tandis que l'autre est dissous en phase

aqueuse. Une polycondensation a ensuite lieu à l'interface eau/huile au sein de l'émulsion. La polycondensation interfaciale a été largement décrite et adaptée à de nombreux polymères. Des enzymes ont été encapsulées au cœur de membrane de polyamide, polymérisée en émulsion inverse (Zhang and Rochefort, 2010).

- *Enrobage en lit fluidisé* : Cette technique de génération de capsules à cœur solide consiste à fluidiser une poudre de particules de principe actif (granulés, cristaux...) dans une colonne placée sous un courant d'air ascendant (chambre cylindrique verticale). Cette fluidisation permet d'assurer un mélange constant des particules avec un transfert de chaleur optimal entre l'air et la surface des particules. Puis, une buse de pulvérisation placée au sommet ou à la base de la suspension fluide permet de disperser, sous forme de fines gouttelettes, le matériau enrobant à la surface des particules. Un enrobage continu et homogène s'obtient suite à des passages successifs et cycliques des particules dans la zone de pulvérisation et dans la zone d'expansion où a lieu le séchage. La formation du film d'enrobage s'effectue au contact des particules après des étapes successives de mouillage, étalement puis séchage par évaporation du solvant contenant les gouttelettes de matériau enrobant. Celui-ci est constitué en général de solutions organiques ou dispersions aqueuses de polymères (dérivés cellulosiques ou acryliques) qui peuvent contenir des plastifiants afin de favoriser la formation du film d'enrobage à la température de séchage ainsi que des additifs (anti-mottants, lubrifiants...). Des corps gras ou des cires peuvent également être utilisés. L'obtention d'un bon enrobage va dépendre à la fois des paramètres de pulvérisation (concentration de la formulation, débit, taille des gouttelettes) et des paramètres de séchage (volume d'air de fluidisation, température de l'air, degré d'humidité).

L'épaisseur des films d'enrobage déposés sur les capsules à cœur solide est généralement comprise entre quelques micromètres et 20 μm et doit être suffisante pour masquer les défauts de surface (Legrand et al., 2007). Ce procédé permet la déposition de couches successives sur le noyau solide (*layer-by-layer*, en anglais), pouvant conduire à l'obtention de capsules avec des membrane de structures très complexes, par exemple, des microcapsules à 7 couches fonctionnant comme réservoirs de radio-isotopes utilisés pour la radiothérapie du cancer (Jono et al., 2000).

- *Capsules à enveloppes molles*. Bien qu'en dehors de dimensions de taille des capsules en discussion ici, les formes pharmaceutiques connues comme capsules à enveloppes molles sont aussi des réservoirs du type noyau-membrane pouvant contenir un noyau liquide huileux (Figure 32). L'enveloppe est le plus souvent à base de gélatine ou d'autres substances dont la consistance peut être adaptée par addition de glycérol ou de sorbitol. D'autres excipients peuvent également être ajoutés tels que des tensioactifs, des opacifiants, des agents de conservation, des édulcorants, des colorants, des aromatisants. **Les capsules molles** sont formées, remplies et fermées en une seule opération. Le résultat obtenu est une **capsule** de gélatine composée d'un corps unique fermée hermétiquement, dont la **durée de conservation** est extrêmement longue. Cette enveloppe souple se désagrège rapidement et en quelques minutes après ingestion orale les substances actives y piégées se retrouvent dans l'estomac. Elles diffèrent donc des capsules cœur-membranes de structures plus complexes capables de contrôler et moduler la vitesse de libération de leur contenu auxquelles on s'intéresse ici.

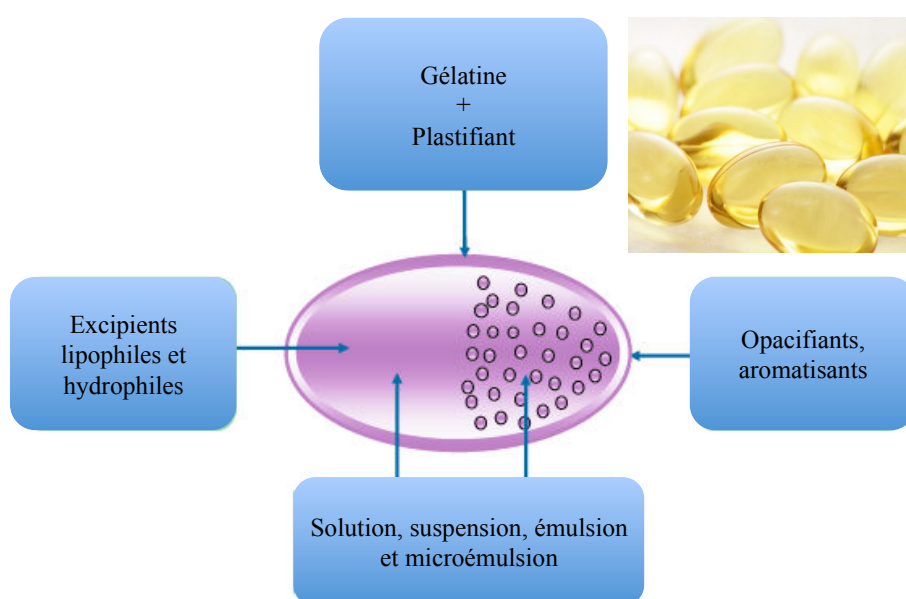


Figure 32. Schéma de présentation d'une gélule molle et ces différents composés.

1.6.2 Formation d'une bi-goutte suivie de solidification/gélification

1.6.2.1 Techniques de génération de gouttes par fragmentation d'un jet unique

Avant de décrire le cas spécifique d'un jet composé, nous commençons par décrire le principe du « *prilling* » qui consiste en la production de gouttelettes par d'extrusion d'un liquide à travers d'un injecteur ou d'un orifice. L'intérêt principal de cette technique est de former des gouttes avec une distribution de taille étroite, l'écart type étant inférieur à 10% de la taille moyenne (Poncelet and Dreffier, 2007).

L'extrusion d'un liquide à travers d'un orifice peut résulter d'un de cinq différents procédés de formation de gouttes montrés sur la Figure 33, qui se produisent au niveau du point de décharge de la buse.

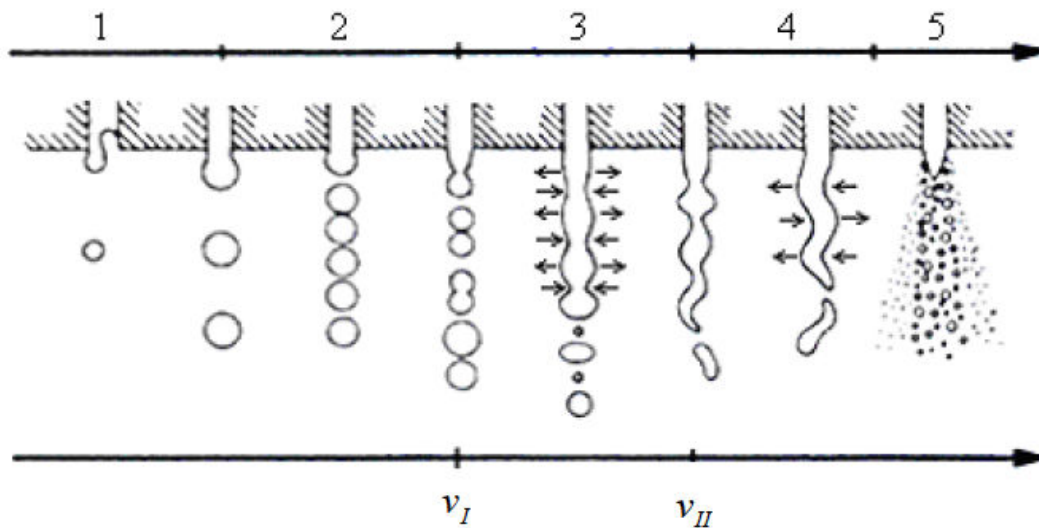


Figure 33. Différents mécanismes (1-5) de formation de gouttelettes en fonction de la vitesse du jet (Müller 1985).

Le mécanisme est dépendant de la vitesse du liquide extrudé (Müller 1985). Les différents mécanismes impliqués sont l'interaction gravitationnelle, la tension superficielle, les forces de frottement et de chocs (Heinzen 1995). À des vitesses très faibles v ($v < v_I$), les liquides extrudés tombent au bord de la buse jusqu'à ce que la force de gravitation soit

suffisamment élevée pour surmonter la tension superficielle, ce qui entraîne la libération d'une goutte. Une légère augmentation de la vitesse fait augmenter le nombre de gouttelettes formées, tandis que des vitesses plus importantes amplifient le nombre de gouttelettes, ce qui peut résulter en coalescence, réduisant la mono-dispersité en taille des gouttelettes générées.

Au-delà d'une certaine vitesse du jet, un jet laminaire continu est formé (courant continu), qui se rompt symétriquement sous forme de gouttelettes sans l'effet de vibrations axiales et de la tension superficielle. Une augmentation supplémentaire de la vitesse du jet conduit à une variation (dispersion) de la taille des gouttelettes, provoquée par les vibrations en spirale symétriques ou par les forces de frottement élevées présentes lorsque le jet est pulvérisé. Nous sommes déjà au-delà d'une condition de jet laminaire qui doit être maintenue pour la génération de gouttelettes monodisperses en taille.

Pour atteindre les conditions d'écoulement d'un jet laminaire au travers d'une aiguille ou d'un injecteur plusieurs méthodes ont été développées (Poncelet and Dreffier, 2007), liées à une gamme de tailles possibles et aux débits de liquide pouvant être extrudés (Figure 34).

- A l'aide d'un potentiel électrostatique sur la gouttelette en formation, qui réduit la tension superficielle de la goutte. Avec l'augmentation du potentiel, la taille diminue (variant de 50 à 800 μm), mais le débit reste faible (mL/h).

- A l'aide d'une vibration appliquée au jet à une fréquence précise (technique de résonance du jet), qui convient bien à des débits plus élevés (quelques L/h) et liquides des faibles viscosités (inférieurs à 200 mPa/s). Les gouttelettes sont formées avec une taille d'environ deux fois le diamètre du jet.

- A l'aide d'une action mécanique sur le jet qui conduit à sa rupture (le jet du liquide est coupé par une série de fils fixés sur une « mini-roue de vélo » tournant en haute-vitesse), méthode qui est plus adaptée pour des forts débits (quelques L/h) et fortes viscosités (supérieurs à 200 mPa/s).

- A l'aide d'un disque rotatif (ou cylindres perforés) le jet est formé dans la périphérie du disque pour rompre en gouttes, ce qui conduit à la formation des gouttelettes à des débits supérieurs (L/h).

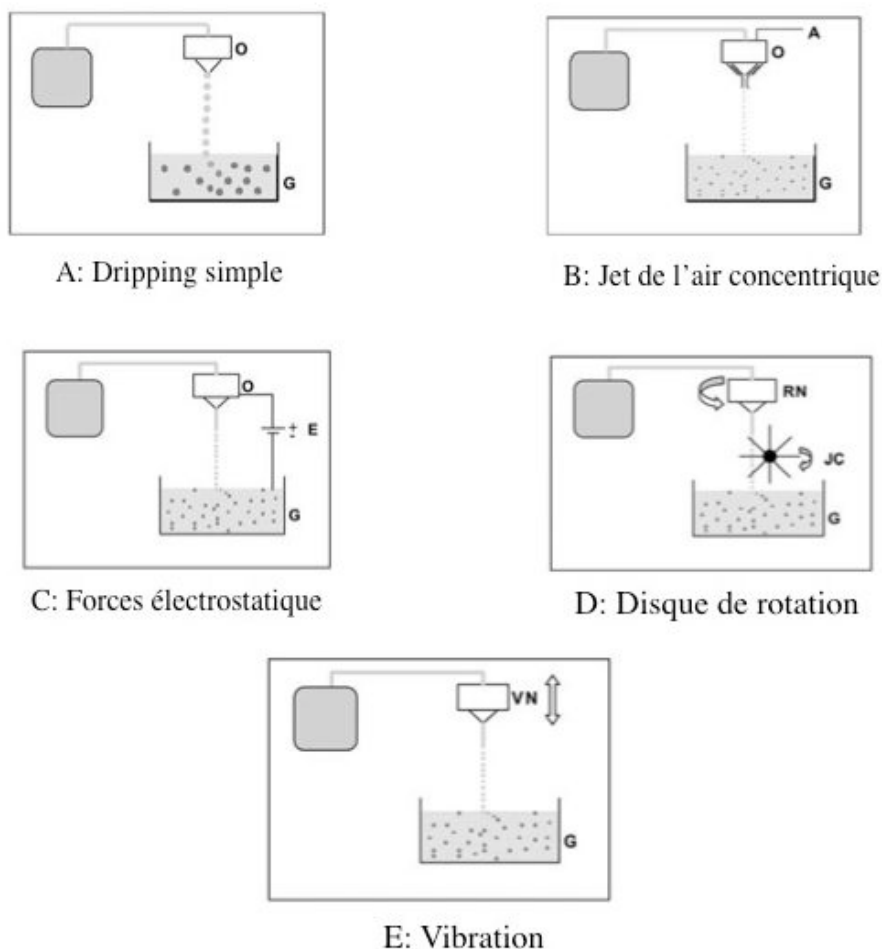


Figure 34. Différentes méthodes pour la formation de microparticules par la technologie d'extrusion (Heinzen et al., 2004).

1.6.2.2 Génération de gouttes à partir d'un jet unique par vibration mécanique

Le mécanisme de vibration mécanique est largement employé, avec les avantages présentées dans le Tableau 5 (Heinzen et al., 2004). Parmi ces avantages, citons la reproductibilité du procédé et la possibilité de production des particules stables à des différentes échelles de production.

Tableau 5. Les avantages de la technologie de vibration mécanique (Heinzen et al., 2004).

- Technologie polyvalente	Production de structures solides (surtout lipidiques) ou liquides à partir de différents matériaux (gélatine, alginate, PVA, chitosane, cellulose) ; structures matricielles ou de type cœur-membrane).
- Microbilles uniformes	Forme sphérique, distribution étroite de la taille
- Taille des billes	Diamètres de 0,1 mm à 2 mm
- Production des structures stériles	Technologie aussi désignée pour une production stérile
- Rendement élevé	Peu de perte de matière
- Facilement évolutive	A partir d'une dizaine de grammes jusqu'à plusieurs centaines de kilogrammes par lot .

La technologie de rupture d'un jet laminaire est basée sur le principe de rupture (fragmentation) d'un liquide d'écoulement laminaire à travers d'une buse de diamètre approprié (contrôlé) en gouttelettes des tailles égales en raison de la superposition d'une vibration mécanique. Les caractéristiques des gouttes formées dépendent du diamètre de la buse, du débit du jet laminaire, de la taille de la fréquence définie par l'amplitude, et de la viscosité du liquide extrudé (Serp. et al., 2000). Ces gouttelettes, seront transformées en structures solides ou semi-solides par réticulation, polymérisation ou d'autres processus de durcissement du liquide d'alimentation.

Lord Rayleigh (1878) a été le premier de nombreux scientifiques à analyser l'instabilité des jets capillaires. En raison de perturbations asymétriques le jet se divise en gouttelettes. En utilisant la linéarité stable, Rayleigh a montré que quand la longueur d'onde λ est plus petite que la circonférence du jet (πd_j), la rupture de la gouttelette ne se produit pas.

Pour des longueurs d'onde longues la perturbation croît de façon exponentielle, ce qui provoque la rupture du jet. Pour des fluides visqueux la longueur d'ondes optima λ_{opt} , a une perturbation de très rapide croissance, calculée selon l'équation suivante (équation 1.5):

$$\lambda_{opt} = \pi\sqrt{2}d_j \quad (1.5)$$

La fréquence f est liée à la vitesse du jet v_j et la longueur d'onde (équation 1.6):

$$\lambda = \frac{v_j}{f} \quad (1.6)$$

En 1931, Weber a étendu l'analyse, y compris l'effet de la viscosité η , donc la λ_{opt} idéal pour la rupture des gouttelettes est donnée par l'équation 1.7, (ρ : densité, σ : la tension de surface).

$$\lambda_{\text{opt}} = \pi\sqrt{2}d_j \left(1 + \frac{3\eta}{\sqrt{\rho\sigma d_j}}\right)^{1/2} \quad (1.7)$$

Rappelant que les équations ci-dessus ne sont valables que pour les liquides ayant un jet laminaire, c'est à dire avoir un nombre de Reynolds (Re) inférieure à 2000 (équation 1.8). Ainsi la viscosité du fluide agit pour amortir l'effet de la tendance de l'apparition de la turbulence. Cela se produit généralement à de faibles débits et qui ont des fluides à haute viscosité. Un schéma de la formation de gouttelettes peut être vu sur la Figure 35.

$$Re = \frac{\rho \cdot v \cdot D}{\mu} \quad (1.8)$$

Où :

_ ρ = masse volumique du fluide (densité)

_ μ = viscosité dynamique du fluide

_ v = vitesse d'écoulement

_ D = diamètre du tuyau

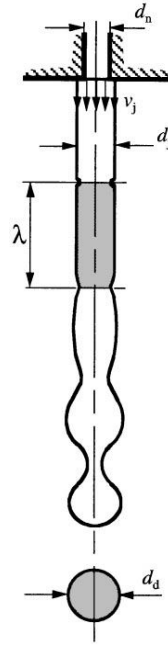


Figure 35. Schéma de formation d'une goutte par la rupture d'un jet laminaire s'écoulant à travers d'une buse de diamètre d_n , jet d'un diamètre d_j , la vitesse du jet v_j ; la longueur d'onde λ et le diamètre de la goutte d_d (Brandenberger et al., 1999).

La relation entre le diamètre de la buse d_n et le diamètre du jet d_j , est basée en différents présupposés. Schneider e Hendriks (1964) et d'autres chercheurs estiment que d_n est égal à d_j . Toutefois, Kurabayashi (1959) a montré que le jet de diamètre d_j est liée au numéro de Weber ($We = u_n^2 \rho d_n / \sigma$), où u_n^2 est la vitesse du jet (équation 1.9).

$$\frac{d_j}{d_n} = 4,33 \cdot We^{-0,037} \quad (1.9)$$

Depuis une gouttelette est généré par chaque hertz de vibration, le diamètre de la goutte, peut être calculée par le simple équation suivante de l'équilibre de masse (Serp, D. et al., 2000) (équation 1.10) ; où le f est le débit du liquide extrudé.

$$d_d = \sqrt[3]{6 \frac{v_j}{\pi \cdot f}} \quad (1.10)$$

Donc, la fréquence de vibration est lui-même relié à la longueur d'onde par l'équation suivante (1.11).

$$f = \frac{v_j}{\lambda} \cdot \frac{4}{\pi \cdot d_j^2} \quad (1.11)$$

Ce qui implique en un diamètre des gouttelettes dépendant de la longueur d'onde et du diamètre du jet, second l'équation 1.12 :

$$d_d = \sqrt[3]{\frac{3}{2} d_j^2 \lambda_{opt}} \quad (1.12)$$

En analysant l'équation 1.12, on constate que le diamètre de la goutte est directement proportionnel au diamètre du jet, qui à son tour est corrélé au diamètre de la buse. Et autres, la taille finale des particules peut varier en raison de l'augmentation/diminution de la fréquence de vibration et/ou de débit du liquide extrudé. Des solutions de polymères à hautes fréquences et à basse vitesse de jet permettront la génération de petites gouttelettes (équation 1.10). Les paramètres la fréquence f et la vitesse du jet v_j utilisés pour former des gouttelettes uniformes dépend du diamètre de la buse, la rhéologie du fluide et la tension de surface (Meesters, 1992) ; ces deux paramètres déclenchent les conditions de production, de sorte qu'ils doivent être optimisés La formation de gouttelettes stables est limitée par les facteurs suivants:

- a) une faible v_j , bloque la formation du jet ;
- b) une haute vitesse du jet augmente les forces d'impact des gouttelettes dans le bain de gélification/collection ;
- c) des faibles fréquences de vibration résultent en formation de gouttelettes satellites ;
- d) des hautes fréquences de vibration résultent en formation de gouttelettes instables.

Le diamètre des gouttes formées est inversement proportionnel à la fréquence de vibration qui la buse subit. L'application de hautes/faibles fréquences sur le jet, peut conduire à l'augmentation/diminution de la taille des gouttelettes, mais favoriser également la coalescence des gouttelettes (Serp, D. et al., 2000; Heinzen, et al., 2002) ou la formation de

gouttelettes satellites entre les gouttes de taille souhaitée (Serp, D. et al., 2000; Stark et al., 2002; Heinzen et al., 2004).

Un autre paramètre important est la vitesse du jet qui peut avoir un impact sur la forme des gouttelettes lors qu'elles atteignent la surface d'un bain liquide de collection (solidification, gélification, etc). En effet, des vitesses élevées du jet permettront d'augmenter les forces d'impact sur les gouttelettes lors de l'entrée dans le bain de gélification/collecte, ce qui entraîne une déformation (Prüsse, U. et al., 1998; Heinzen, et al., 2002), ainsi que la coalescence (Haas, 1992). La taille de cette force d'impact sur les gouttelettes peut être limitée par la réduction de la distance entre la buse et le point d'impact, ou en diminuant la vitesse du jet, mais cela conduit à une réduction des volumes de production. Une méthode plus simple consisterait à ajouter un agent tensio-actif tel que le polysorbate Tween 80, qui peut réduire considérablement la tension de surface (Ogbonna, JC, 2004) et prévenir ou réduire l'apparition de la déformation et/ou de coalescence.

Nous avons décrit le cas de production de gouttes d'une distribution de taille très étroite à l'aide d'une vibration mécanique, en utilisant une simple buse (jet unique). Pour une augmentation de la capacité de production des gouttes il est possible d'utiliser des systèmes multi-buses capables de générer le double ou triple de production (Brandenberger and Widmer 1998). La génération des capsules cœur-membrane ne peut se faire qu'au travers d'une buse concentrique capable de générer un jet composé.

1.6.2.3 Génération de bi-gouttes par vibration mécanique à partir d'un jet composé

Pour une buse concentrique, le principe de fonctionnement à flux continu est le même que pour une simple buse. Néanmoins, la différence principale correspond à la substitution de la buse mono-flux pour un système concentrique ce qui demande deux alimentations de liquides à travers la buse concentrique pour générer un jet composé : une pour la membrane extérieure et l'autre pour le noyau interne.

Le jet composé de liquide laminaire sera ensuite co-extrudé et cassé en bi-gouttes par l'application d'une vibration de fréquence optimum. Le diamètre des bi-gouttes formées est donné essentiellement en fonction du diamètre de la buse extérieure et comme pour une buse

mono-flux, leur taille peut varier dans une certaine gamme de plage en augmentant/diminuant le débit d'écoulement et la fréquence de vibration (pour une dimension diamètre interne/externe donnée). Selon les diamètres des buses internes et externes et les débits des deux liquides, il est possible d'obtenir des capsules mononucléaires ayant un diamètre de membrane inférieure à 50 μm et supérieure à 500 μm (Whelehan, 2011). La pression appliquée sur la buse intérieure pour former le noyau doit être plus grande (environ deux fois) que la pression appliquée sur la buse extérieure, pour empêcher l'écoulement inverse du liquide, à l'intérieure de la buse.

Les capsules cœur-membrane peuvent être décrites comme ayant un diamètre moyen (d_m), qui est la somme de diamètre du cœur et le diamètre de la membrane. Le diamètre moyen interne, est constitué uniquement de la mesure du diamètre du cœur (d_c) ; et la taille moyenne de la membrane de la capsule (épaisseur) peut ensuite être obtenue à partir de l'équation suivante (équation 1.13) :

$$M_m = \frac{d_m - d_c}{2} \quad (1.13)$$

Le diamètre de la buse interne et le taux d'écoulement du matériau affecte également la taille finale de capsule, avec les diamètres et les volumes croissants résultant en volumes de noyau plus larges, et des capsules de taille plus grande par conséquent. L'épaisseur de la membrane peut être prédéterminée et contrôlée en faisant varier la proportion en volume entre les liquides qui constitueront le cœur et la membrane (Whelehan, 2011). L'épaisseur de la membrane est une caractéristique très importante pour les capsules puisqu'elle fonctionne comme un outil de régulation des échanges entre les capsules et leur environnement lors d'une application (Wyss et al., 2004; Whelehan et al., 2010 ; Whelehan and Marison, 2010).

1.6.3 Exemples de structures générées par *prilling* pour un relargage de principe actif

Comme déjà dit précédemment, le *prilling* est une technologie utilisée en vue de fabriquer des structures de formes sphérique et avec une distribution de taille très étroite. Les

structures (matrices, capsules) sont formées à partir de plusieurs matériaux. Nous donnerons ici un *aperçu succinct* des principaux systèmes trouvés dans la littérature à base de lipides ou polymères.

1.6.3.1. Billes lipidiques

Nous avons déjà présenté les formulations lipidiques englobant les émulsions, les microémulsions mais également les systèmes auto-émulsionnants SEDDS et les SMEDDS (item 1.3.3, Première Partie). Les billes lipidiques reportées dans la littérature ont pour finalité de piéger un P.A. dans une matrice lipidique (bille pleine) pour un relargage immédiat ou contrôlé après une administration par voie orale.

Du point de vue technique, la préparation de ces billes par la technique de prilling est simple. Elle consiste en la fusion des excipients dans lesquels seront solubilisés, fondus ou dispersés les P.A. Ce mélange est ensuite extrudé au travers d'une buse vibrée, à la sortie de laquelle la dispersion obtenue est refroidie lors de sa chute dans la tour de prilling, produisant ainsi des billes solides, sphériques et monodisperses en taille.

Cependant les molécules piégées sont plutôt de caractère hydrophile et ne sont pas solubilisées dans la matrice lipidique. Il a été reporté que la vitesse de libération d'un P.A de billes d'acides gras purs (acide stéarique, acide béhenique) dépend surtout de la quantité de P.A. dans la matrice, car la libération est faite par dissolution du P.A qui crée des pores et permet la pénétration du milieu de dissolution dans la matrice pour accélérer la libération (90% du P.A. en 24h, milieu intestinal simulé, billes de 380 μm) (Pivette, et al., 2012). Des acides gras mélangés à des excipients plus hydrophiles comme le polyéthylèneglycol (PEG) peuvent aussi être utilisés pour un effet de modulation de la vitesse de libération du P.A. Ce concept a été testé pour deux P.A, l'hydrochlorothiazide et le tartrate de métoprolol avec des billes de 2,3 mm composés d'acide béhenique ou d'acide stéarique et PEG (Vervaeck et al., 2013 ; Vervaeck et al., 2014).

1.6.3.2. Billes d'alginate

Parmi les polymères plus utilisés pour générer des matrices polymériques par prilling, restons sur l'alginate, l'hydrogel de notre intérêt (Martinez, 2004 ; Del Gaudio et al., 2005 ; Del Gaudio et al. 2009 ; Auriemma et al. 2011 ; Aquino et al., 2012 ; Del Gaudio et al., 2013 ; Auriemma et al., 2013).

Des billes pleines (matrices) d'alginate peuvent être obtenues pour une certaine gamme de concentration de ce polymère. Par exemple, Del Gaudio et coll. (2005) ont fabriqué des billes d'alginate en utilisant différentes concentrations du polymère (0,5 à 2,75%). Pour une concentration de 0,85% en masse dans la solution extrudée à travers une buse monocentrique, des billes de taille de l'ordre d'1 mm de diamètre et un coefficient sphéricité de 0,95 ont été obtenues. Ces billes ont grossi en taille (3 mm) avec une augmentation de la concentration de l'alginate à 2,5%. Au-dessus de cette concentration, il n'a pas été possible de fabriquer de billes en raison d'une viscosité très élevée du liquide qui n'a pas pu être cassé en gouttelettes par vibration du jet.

Partant du même principe de fabrication de billes d'alginate de calcium, citons leur utilisation en tant que systèmes de relargage de principes actifs pour une administration orale. Des billes de 750 μm de diamètre ont été préparées à partir d'une solution d'alginate de sodium à 1,5% contenant deux principes actifs, kétoprofène ou kétoprofène lysinate. Les résultats de cette étude ont démontré la capacité de ces billes à libérer les deux P.A. en milieu intestinal simulé (libération totale en 2h pour le kétoprofène lysinate et en 4h pour le kétoprofène). Les profils cinétiques de libération obtenus ont été attribués à l'hydratation de l'alginate en milieu acide et d'hydratation/désintégration des billes en raison de la déplétion du Ca^{+2} présent dans le réseau de la matrice polymérique lors de l'incubation dans le milieu intestinal simulé (pH 6,8) mais surtout aux niveau d'interactions entre les P.A. et la matrice d'hydrogel (Del Gaudio et al. 2009).

Un autre paramètre pouvant modifier les caractéristiques de relargage d'un P.A. piégé dans ces matrices d'hydrogel est l'état d'hydratation du réseau (hydraté ou séché). Plusieurs travaux ont pu mettre en évidence l'effet des modes différents de séchage de billes d'alginate et leurs propriétés de relargage. Par exemple, l'effet du mode de séchage a été observé pour des billes d'alginate (1,2 mm de diamètre) contenant du piroxicam, séchées en mode doux à température ambiante ou par microondes (Aquino et al., 2012).. Les billes séchées en mode

doux (température ambiante) ont libéré au bout de 2h en milieu acide 20% du P.A. tandis que celles séchées par microondes ont libéré environ 38%. La libération de 100% du P.A a été atteinte au bout de 5h pour les billes séchées en mode doux et en 2h pour celles séchées par microondes.

Un autre exemple concerne l'effet du mode de séchage sur les propriétés structurales des billes d'hydrogel d'alginate : le séchage par microondes de billes d'alginate contenant du kétoprofène a modifié les profils de relargage de billes séchées dans différentes conditions. Des niveaux élevés d'irradiation (700 W) ont conduit à des billes pour la libération orale immédiate, tandis que le système d'irradiation plus faible (245 W) a conduit à des particules ayant une libération prolongée de 8 h dans le milieu intestinal simulé (pH 6,8) (Auriemma et al. 2011).

Un autre type de séchage utilisé est au CO₂-supercritique qui confère une texture poreuse de l'hydrogel d'alginate. Des billes séchées au CO₂-supercritique ont pu libérer de 40 à 75% du Kétoprofène après 30 min en milieu acide, contre ~ 10% de libération du P.A à partir de particules séchées à l'air après 2 h dans le même milieu (Del Gaudio et al., 2013).

1.6.3.3 Structures cœur huileux-membrane d'alginate

Des études portant sur la fabrication de billes à cœur huileux et membrane d'alginate ont déjà été reportées, bien que dans la plupart des cas le procédé utilisé est basé sur l'émulsification d'une phase huile dans une solution d'alginate de sodium et gélification (Li et al., 2011 ; Chan, 2011 ; Abang et al., 2012). Les paramètres d'étude ont été les conditions de préparation des billes résultantes (concentration d'alginate, rapport huile/membrane, temps de gélification, etc). Les applications envisagées sont plutôt dans le domaine agro-alimentaire.

Une étude de fabrication de billes à cœur huileux (huile de canola contenant des antioxydants tels que la quercétine ou la vitamine E) a été réalisée avec du prilling. Les paramètres de cette étude ont été le ratio entre les débits des liquides pour la génération du cœur et de la membrane et l'ajout de pectine à l'alginate afin de modifier les propriétés de la membrane (Wang et al., 2013).

Par ailleurs, les particules cœur-membrane générées par prilling sont aussi utilisées dans d'autres domaines d'application que la libération de principes actifs. Des capsules contenant un cœur huileux (d'acide oléique et sébacate de dibutyle) d'environ 500 μm de diamètre entouré par une membrane d'alginate de calcium d'environ 170 μm d'épaisseur (Figure 36), ont été utilisées pour l'extraction de principes actifs d'un l'environnement aqueux. Des molécules comme le diclofénac, le métoprolol, la warfarine et la carbamazépine ont été rapidement et efficacement extraits de l'eau par ces capsules, avec une pourcentage d'environ 100, 90, 80 et 50% après 50 min ; la furosémide, l'acide clofibrique et le sulfaméthoxazole ont été rapidement extraits (temps d'équilibre de 10 min) mais avec un faible pourcentage d'extraction de 15-22% (Whelehan et al., 2010).

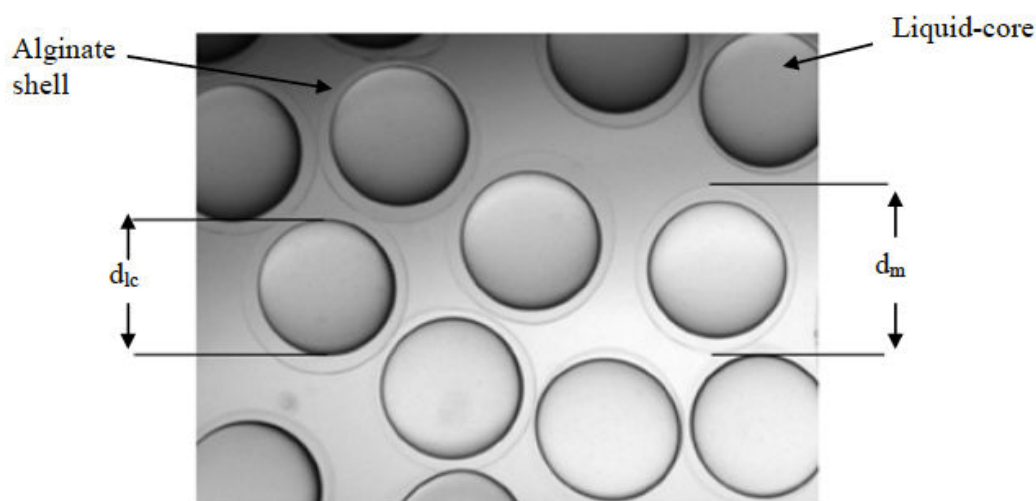


Figure 36. Image de microscope optique des microcapsules mono-dispersées et mono-nucléaires contenant un noyau liquide de dibutylsébacate, utilisées pour l'extraction des produits pharmaceutiques dans l'eau. Les capsules affichées ont un d_m de $621,01 \mu\text{m} \pm 1,53\%$ et un d_{ic} de $546,4 \pm 1,07 \mu\text{m}$ (Whelehan et al., 2010).

Les mêmes capsules générées précédemment par Whelehan et al. (2010), ont été utilisées pour la récupération et la purification de la geldanamycine à partir des milieux de culture. Les résultats ont montré que cette procédure était capable de faire une extraction rapide de $> 70\%$ de la geldanamycine. Cette extraction immédiate et sélective *in situ* a empêché la geldanamycine de se dégrader ; les capsules ont servi comme plate-forme pour la purification du composé (Whelehan and Marison, 2010; Whelehan, 2011).

1.6.4 Libération d'un principe actif à partir des structures cœur-membrane

L'un des objectifs communément étudiés est la possibilité de contrôler, avec précision, la vitesse de libération d'un composé piégé dans le cœur des capsules cœur-membrane.

En fonction de l'application envisagée pour les capsules, elles peuvent être désignées pour libérer le composé de manière abrupte (immédiate) ou d'une manière continue. Les systèmes à libération immédiate requièrent généralement des membranes de faible perméabilité, qui libèrent leur contenu rapidement par rupture. La rupture est alors déclenchée par une pression (mécanique ou osmotique), un changement de température, un changement de pH ou par dégradation enzymatique de la membrane. Par ailleurs, une libération de manière continue doit se produire par diffusion du composé à travers la membrane.

La Figure 37 illustre hypothétiquement quelle serait la vidange de la structure par diffusion de son noyau à travers de la membrane, où $m(t)$ = masse libérée au temps t et $m(\infty)$ = masse libérée à l'infini. L'expression cinétique pour une capsule qui libère son contenu à une vitesse constante est donnée par $M^*t = \frac{m(t)}{m(\infty)} = f(b, t)$ (Figure 38). La cinétique de libération d'une population de capsules est, à son tour, montré sur la Figure 39 où l'influence de la taille (Figure 39-a) et de la distribution de taille (Figure 39-b) sont illustrées.

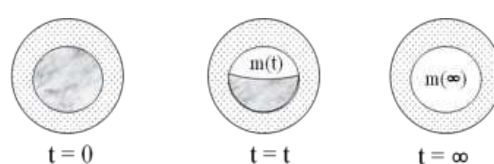


Figure 37. Microcapsules libérant leur contenu.

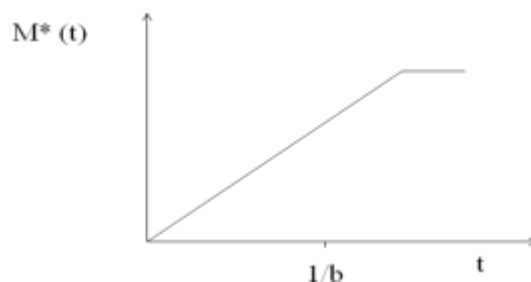


Figure 38. Diagramme illustrant la cinétique de libération d'une capsule qui libère son contenu actif à vitesse constante.

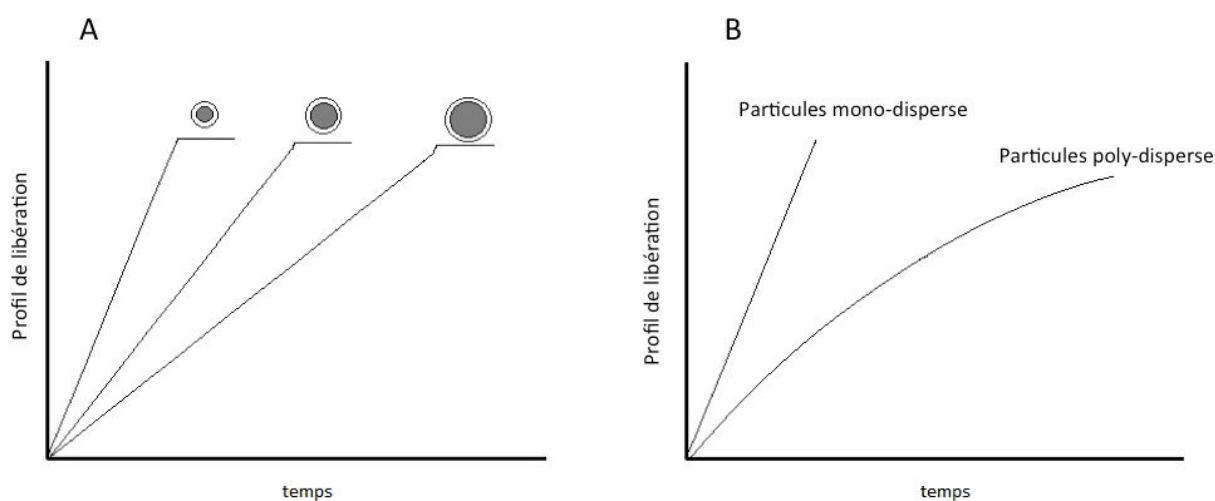


Figure 39. Profils cinétiques de libération d'un P.A. à partir de capsules cœur-membrane : a) population de capsules de différents diamètres ; b) populations de capsules monodisperses et polydisperses en taille.

L'intérêt de l'obtention de capsules mono-disperses en taille est facile à comprendre en observant l'effet du paramètre '*polydispersité en taille*' sur les profils cinétiques de libération d'une population de capsules. Ces profils dépendront des tailles de l'ensemble de capsules constituant un lot. Ils seront d'autant moins prédictibles que la dispersion sera plus importante. Par conséquent, cette conception est concernée par l'étude des structures complexes en formulation, cependant, mono-disperses en taille. L'élimination de l'effet d'une *polydispersité en taille* des capsules sur les profils de libération cinétiques des P.A. piégées dans leurs structures rendra plus intéressante et précise une analyse de l'effet d'autres paramètres telles que les formulations plus complexes comme celle que l'on propose dans ce travail de thèse.

1.6.4.1 Modèles cinétiques

Le transfert de matière qui a lieu entre la forme à libération contrôlée et le milieu aqueux environnant est complexe et peut être réglé par différents phénomènes :

- transfert de la phase aqueuse dans la forme ;
- gonflement du polymère et dissolution ;
- diffusion du principe actif à travers le réseau polymérique et
- le processus de dissolution de la substance active.

Un grand nombre de modèles mathématiques empiriques et mécanistiques sont proposés pour décrire la cinétique de libération de molécules actives à partir de systèmes générés par des procédés d'encapsulation (matriciels, réservoir) obtenus généralement à partir de polymères. Le Tableau 6 récapitule les équations des modèles les plus utilisés et la nature des mécanismes qui contrôlent la libération.

➤ Ordre zéro

Quand un principe actif suit une cinétique d'ordre zéro, c'est-à-dire qu'il est libéré de façon constante au cours du temps. Il s'agit véritablement d'un système à libération contrôlée. Pour étudier cette cinétique de libération, les données obtenues à partir des études de libération *in vitro* sont tracées en tant que montant cumulé de P.A libérée en fonction du temps. Cette relation peut être utilisée pour décrire la dissolution du P.A de plusieurs types de formes de dosage pharmaceutique à *libération modifiée*, comme dans le cas de certains systèmes transdermiques, des systèmes osmotiques, etc (Yang and Fassihi, 1996 ; Freitas and Marchetti, 2005).

➤ Première ordre

La cinétique de premier ordre correspond à la majorité des profils observés lors de la libération de principes actifs encapsulés dans les nano/microparticules. Au début de la libération la vitesse est rapide (diffusion du principe actif encapsulé proche de la surface) puis se ralentit (diffusion plus lente au travers de la matrice). Les données obtenues sont tracées en tant que log du pourcentage cumulé de P.A restant en fonction du temps, ceci donnerait une ligne droite avec une pente qui représente le $-K_1$. Cette relation peut être utilisée pour décrire

la dissolution de P.A dans des formes pharmaceutiques qui contient des P.A solubles dans l'eau dans des matrices poreuses (Narisimhan et al., 1999).

Tableau 6. Les modèles mathématiques régissant les mécanismes de libération.

Modèle mathématique	Equation	Nature du mécanisme
Ordre zéro	$Mt = M_0 + K_0 t$ (1.14)	Vitesse de libération <i>indépendante</i> de la concentration du principe actif dissous
Première ordre	$dC/dt = -K_1$ (1.15)	Vitesse de libération <i>dépendante</i> de la concentration du principe actif dissous
Higuchi	$Mt = K_{Hi} \cdot t^{0.5}$ (1.16)	Libération par <i>diffusion</i>
Baker-Lonsdale	$3/2(1-(1-Mt/M_\infty)^{2/3}), Mt/M_\infty = K_B$ (1.17)	Diffusion à partir de microcapsules ou microsphères.
Hixson-Crowell	$(1 - Mt/M_0)^{1/3} = K_{HC} \cdot t$ (1.18)	Libération par <i>dissolution</i> accompagnée d'un <i>changement de surface spécifique et du diamètre de la matrice</i>
Hopfenberg	$Mt - M_\infty = 1 - [1 - K_{HP} \cdot t]n^2$ (1.19)	Libération par <i>érosion hétérogène</i> (surface).
Korsmeyer-Peppas	$Mt / M_\infty = K_{KP} \cdot t^n$ (1.20)	La magnitude de l'exposant <i>n indique le mécanisme de libération</i> (transport Fickien, transport non-Fickien)

Mt: quantité du principe actif libéré dans le temps t ;

M₀: quantité initiale du principe actif dans la forme posologique ;

M_∞: quantité total du principe actif libéré lorsque la forme posologique est épuisé ;

K₀ : constante du modèle d'Ordre Zéro ;

K₁ : constante du modèle de Première ordre ;

K_B : constante du modèle Baker-Lonsdale ;

K_{Hi} est la constante dans le modèle de Higuchi (Higuchi, 1963) ;

K_{HC} est la constante dans le modèle de Hixson-Crowell (Hixson and Crowell, 1931) ;

K_{HP} est la constante de libération dans le modèle Hopfenberg, $K_H = K_0/(C_0.R_0)$, où K₀ est la constante de taux d'érosion, C₀ la concentration initiale du principe actif dans la matrice, et R₀ est le rayon initial ; pour une sphère n² est égal à 2 et pour un cylindre est égal à 3 (Hopfenberg, 1976) ;

K_{KP} est la constante de libération incorporant les caractéristiques structurelles et géométriques de la forme posologique; n est l'exposant diffusionnel indiquant le mécanisme de libération du principe actif (Korsmeyer et al., 1983).

➤ Higuchi

Le premier exemple d'un modèle mathématique destiné à décrire la libération du P.A à partir d'un système matriciel a été proposé en 1961 par Higuchi (Higuchi, 1961). Initialement conçu pour les systèmes planaires, il a ensuite été étendu à différentes géométries et des systèmes poreux (Grassi and Grassi, 2005). Les données sont tracées en tant que pourcentage cumulatif du P.A libéré par rapport à la racine carrée du temps. Cette relation peut être utilisée pour décrire la dissolution d'un P.A à partir de plusieurs types de formes pharmaceutique à *libération modifiée* (Shoaib et al., 2006).

➤ Baker-Lonsdale

Ce modèle a été développé par Baker et Lonsdale (1974) à partir du modèle décrit par Higuchi pour les matrices sphériques. Le pourcentage libéré d'un P.A. est tracé en tant que $[d(M_t/M_\infty)]/dt$ par rapport à la racine inverse du temps. Ce modèle est utilisé pour la linéarisation des données de libération de plusieurs formulations de microcapsules ou microsphères (Fuentes et al., 2005 ; Poletto et al., 2007).

➤ Hixson-Crowell

L'équation décrit la libération des systèmes où il y a un changement dans la zone de surface et de diamètre de particules ou de comprimés (Hixson and Crowell, 1931). Pour étudier la cinétique de libération, les données de libération sont tracées comme la racine cubique de pourcentage de P.A restant dans la matrice en fonction du temps. Cette expression s'applique aux formes où les dimensions de la structure analysée diminuent proportionnellement de telle manière que sa forme géométrique initiale reste constante tout le temps.

➤ Hopfenberg

Hopfenberg a développé une équation mathématique générale décrivant la libération du P.A à partir de brames, des sphères et des cylindres affichant des érosions hétérogènes (Hopfenberg, 1976).

➤ Korsmeyer-Peppas

Korsmeyer et al. (1983) ont proposé une relation simple (équation 1.20) qui décrit la libération d'un P.A. Dans ce modèle, la valeur de n , qui caractérise le mécanisme de libération du P.A, est donné comme décrit dans le Tableau 7. Les données libération *in vitro* sont tracées comme le log du pourcentage cumulé du P.A libéré en fonction du log du temps. Quand les formes suivent un Cas II de transport, c'est à dire que la relaxation du polymère (érosion) devient le mécanisme dominant et le Super cas II transport s'agit de la combinaison de deux mécanismes régissant la libération : diffusion et érosion.

Tableau 7. Mécanismes attendus à partir de différentes formes pour chaque valeur de n .

Couche mince	Forme cylindrique	Forme sphérique	Mécanisme de libération
$0,5 < n$	$0,45 < n$	$0,43 < n$	Diffusion de Fick
$0,5 < n < 1,0$	$0,45 < n < 0,89$	$0,43 < n < 0,85$	Transport non-Fickien
$n = 1,0$	$n = 0,89$	$n = 0,85$	Cas II de transport
$n > 1,0$	$n > 0,89$	$n > 0,85$	Super cas II de transport

Ces modèles seront utilisés en tant qu'un outil d'aide à l'interprétation des données cinétiques obtenues dans ce travail de thèse afin d'appréhender les mécanismes contrôlant les propriétés de relargage des capsules bi-gels développées.

Quatrième partie

Molécule modèle : Efavirenz

Introduction

Dans la dernière partie du Chapitre 1, nous présenterons le principe actif qui sera utilisé comme modèle de molécule à être incorporée dans les particules noyau-membrane. L'Efavirenz est un inhibiteur non-nucléoside de première ligne de la transcriptase inverse utilisé dans la pharmacothérapie du VIH/Sida. C'est une molécule hydrophobe, de faible solubilité dans l'eau et par conséquent ce pauvre biodisponibilité quand administrée par voie orale.

Après avoir posé le contexte du virus d'immuno-déficience humaine, les mécanismes d'action des antirétroviraux, nous présenterons l'Efavirenz et différentes stratégies déjà proposées pour l'amélioration de sa faible biodisponibilité orale.

1.7 Le VIH et son cycle répliatif

Le syndrome d'immunodéficience acquise est dû à l'infection par le virus de l'immuno-déficience humaine qui détruit les défenses immunitaires (Geretti, 2006). Le terme VIH est l'acronyme pour dire virus d'immunodéficience humaine, et le terme SIDA est l'acronyme pour dire syndrome d'immunodéficience acquise.

Le VIH fait partie de la famille des rétrovirus, donc un virus dont le patrimoine génétique est constitué d'Acide RiboNucléique ARN, et non d'ADN comme c'est le cas pour la plupart des organismes cellulaires vivants (OMS, 2008).

Le VIH est un parasite du système immunitaire. Il se développe et se multiplie à l'intérieur de ces cellules, entraînant leur destruction. La multiplication comporte six étapes (Abrogoua, 2011) :

- *Attachement de la surface virale sur la surface cellulaire* : Les virus VIH infectent principalement les lymphocytes T CD4+ car leur enveloppe peut s'attacher sur la molécule CD4, récepteur spécifique de ces virus. La structure d'attachement des VIH est la glycoprotéine de surface de l'enveloppe, la gp120 (glycoprotéine de 120 000 daltons, 120 kDa de poids moléculaire, d'où son nom).
- *Pénétration* : Le virus pénètre à l'intérieur de la cellule, le plus souvent par endocytose pour les virus nus et, pour les virus enveloppés, par fusion de l'enveloppe virale et de la membrane cytoplasmique en une membrane unique, fusion suivie de lyse, par formation d'un pore (trou) qui s'élargit et laisse passer la capside dans le cytoplasme. Cette fusion-lyse résulte de l'action d'une glycoprotéine de l'enveloppe virale : pour l'HIV, c'est la gp41.
- *Décapsidation* : Les structures virales sont ensuite dégradées, à l'exception du génome qui, débarrassé de la capside, se trouve libéré. Il est nécessaire que la capside soit détruite pour que le génome, décortiqué, puisse fonctionner, livrer son information génétique à la machinerie cellulaire. C'est par des ARN messagers viraux que les génomes viraux transmettent leur information, donnent leurs ordres à la machinerie cellulaire. Dès que des ARN messagers viraux apparaissent dans la cellule, celle-ci est « piégée » : elle lit sur les ribosomes ces messagers viraux comme si c'était des messagers cellulaires et elle les traduit en protéines virales
- *Réplication* : Le génome viral se substitue en totalité ou en partie au génome cellulaire qui jusqu'alors organisait les synthèses cellulaires. Le génome cellulaire faisait en sorte que la cellule produise des sécrétions, exocrines ou endocrines, et éventuellement des éléments pour faire une deuxième cellule. Désormais, la cellule va produire des virus. Pour les VIH il y a également une transcription du génome à ARN en une copie d'ADN qui sera intégrée dans l'ADN cellulaire, cela par une **transcriptase** virale dite **inverse** (elle catalyse l'opération inverse de la transcription cellulaire normale d'ADN en ARN). Le terme anglais est **reverse transcriptase** (RT).
- *Assemblage* : Les nouveaux génomes fabriqués par la cellule s'entourent de nouvelles protéines virales fabriquées par la cellule. Cet emballage est l'encapsidation (l'inverse de la décapsidation) des génomes qui aboutit à la formation de nouveaux virus.
- *Libération* : Ces nouveaux virus sont relargués hors de la cellule.

1.7.1 Mécanismes d'action des antirétroviraux

La connaissance du cycle de réplication du VIH permet de mettre en évidence les sites d'action actuels et potentiels des substances antirétrovirales. Les traitements antiviraux actuellement disponibles combinent des **inhibiteurs de la transcriptase inverse** ainsi que des **inhibiteurs de la protéase** (Didierjean, 2005). Ils peuvent être associés à un inhibiteur de la fusion des membranes virale et cellulaire qui se produit lors de l'infection virale.

Les inhibiteurs de la protéase agissent en inhibant l'action de la protéase virale qui permet le découpage et l'assemblage des protéines virales, processus indispensable à l'obtention de virus infectieux.

Les inhibiteurs de la transcriptase inverse empêchent la synthèse d'ADN proviral (c'est-à-dire qui va permettre la duplication du virus) à partir de l'ARN viral. On trouve dans cette classe les inhibiteurs nucléosidiques (INTI), les inhibiteurs non nucléosidiques (INNTI) et les analogues nucléotidiques. Les INNTI sont des inhibiteurs puissants et très sélectifs de la transcriptase inverse du VIH. On trouve dans cette classe **l'Efavirenz** (Wintergerst et al., 2008 ; Sosnik et al., 2009) notre molécule d'étude.

1.7.2 Présentation de l'Efavirenz

Propriétés physico-chimiques

Son nom chimique est (S)-6-chloro-4-(cyclopropylethynyl)-1-4-dihydro-(trifluorométhyl)-2- dihydro-3,1-benzoxazine-2-one. Sa formule brute est donnée dans le Tableau 8 et sa formule développée est la suivante (Figure 40).

Ses propriétés sont regroupées dans le Tableau 8. L'Efavirenz (EFV) se présente sous forme d'une poudre blanche cristallin. Cette molécule appartient à la classe II du Système de Classification Biopharmaceutique (SCB) dû à sa faible solubilité dans l'eau (Diego A. Chiappetta et al., 2011).

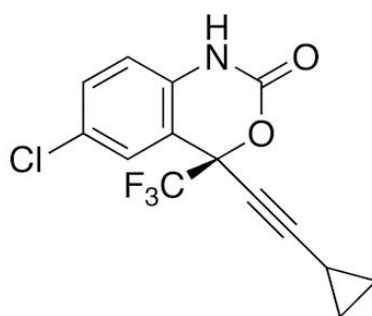


Figure 40. Structure moléculaire de l'Efavirenz

Tableau 8. Abréviation et propriétés physicochimiques de l'Efavirenz

Abréviation	EFV
Formule chimique	$C_{14}H_9C_1F_3NO_2$
Solubilité dans l'eau ($\mu\text{g/ml}$) à 25°C	$< 10 \mu\text{g/mL}$
Point de fusion ($^\circ\text{C}$)	138
Log P	5,4
pKa	10,2
Masse moléculaire (g/mol)	315,68

L'EFV est commercialisée sous le nom de Sustiva® ou Stocrin® en Europe et aux Etats Unis. Il existe sous différentes formes, comme les gélules à 50, 100, 200 mg, une solution buvable à 30 mg/mL en flacon de 180 mL et une forme de comprimé de 600 mg. La posologie recommandée est de un comprimé de 600 mg en une seule prise par jour au coucher en dehors de repas pour les adultes. Néanmoins, il semblerait avoir un vrai besoin de nouvelles formes galéniques efficaces et non contraignantes pour le traitement pédiatrique (Seremeta et al., 2013) .

1.7.1.1 Stratégies galéniques déjà proposées pour améliorer sa biodisponibilité orale

La faible solubilité de l'EFV rend difficile son administration, absorption et biotransformation (Sosnik et al., 2009). Plusieurs stratégies galéniques sont proposées en vue soit d'une amélioration de sa biodisponibilité après une administration orale soit d'une délivrance contrôlée/prolongée.

Les stratégies pouvant être regroupées dans la **première catégorie** sont :

- L'utilisation d'excipients ayant un rôle de désintégrant dans de formulations conventionnelles obtenues par compression d'un mélange de poudre/granules (Chowdary and Naresh, 2011) ;
- Le co-broyage de cristaux d'EFV avec SDS ou polyvinylpyrrolidone (PVP) comme agents dispersants (da Costa et al., 2013) ;
- La lyophilisation de nanocristaux dispersés en présence de ces mêmes tensioactifs (Patel et al., 2014) ;
- La complexation de l'EFV avec des cyclodextrines en présence de PVP (Chadha et al, 2012), PVPK30 et poloxamer 407 (Lamba and Chowdary, 2012) ;
- L'encapsulation de l'EFV dans des micelles (Diego A. Chiappetta et al., 2010 ; Diego A Chiappetta et al., 2010 ; Diego A Chiappetta et al., 2011) ;
- L'amorphisation de l'EFV sous la forme de solutions solides avec des polymères divers (PVP K30 (Alves et al., 2014), Eudragit EPO ou PLasdone S-630 (Sathigari et al., 2012) ou encore des amidons modifiés (Chowdary and Enturi, 2013).

Parmi les stratégies proposées pour assurer un **relargage contrôlé** de l'EFV, citons :

- Des nanoparticules lipidiques à base de monostearate de glycerol (Madhusudhan et al., 2012) ;
- Nanoparticules composites d'EFV et polycaprolactone (PCL) ou Eudragit S100 ou encore PCL /Eudragit S100 (Seremeta et al., 2013).

1.7.1.2 Dissolution de l'Efavirenz

La littérature nous renseigne sur l'effet de paramètres comme le pH ou les tensioactifs sur la solubilité et la vitesse de dissolution de l'EFV dans les milieux aqueux :

- Panikumar et al. (2012), Figure 41: l'échantillon d'EFV analysé présente une très faible variation de solubilité ($< 4 \mu\text{g/mL}$) dans la plage de pH 1,2 à 7,4) à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ l'effet du pH n'étant pas détectable sur cette gamme de valeurs si faibles.
- Pinto (2012), Tableau 9: l'échantillon d'EFV étudié présente à son tour une variation de solubilité (25°C) dans la plage de pH 1,2 à 7,4 de $1,2 \mu\text{g/mL}$ (pH 1,2) à $7,2 \mu\text{g/mL}$ (pH 6,8), ce qui correspond toujours à une très faible solubilité de la molécule dans ces milieux.

Tableau 9. Solubilité de l'EFV dans différents milieux aqueux (pH 1,2 à 6,8). Données expérimentales de Pinto (2012) à 25°C .

Milieux	pH	Quantité de DSS	Solubilité (mg/mL)
L'eau	5,5	0%	0,01
		0,5%	1,07
		1,0%	1,87
		2,0%	2,98
Milieu acide	1,2	0%	0,01
		0,5%	0,89
		1,0%	2,07
		2,0%	4,32
Tampon acétate	4,6	0%	0,01
		0,5%	1,14
		1,0%	2,54
		2,0%	5,37
Tampon phosphate	6,8	0%	0,01
		0,5%	1,02
		1,0%	2,30
		2,0%	4,84

Des milieux aqueux sans additifs sont préférés pour une dissolution *in vitro*, mais des milieux avec additifs peuvent être utilisés pour augmenter la solubilité des molécules faiblement solubles ou insolubles (Abdou, 1989). Pour l'EFV, la solubilité dans des milieux aqueux sans additifs est très faible et, lors d'une étude cinétique de dissolution, la quantification de la molécule en solution par les méthodes analytiques conventionnelles (UV, HPLC) peut s'avérer très difficile pour les premiers prélèvements. C'est le cas de l'EFV.

Pour pallier à ce problème, des tensioactifs comme le SDS ou Tween-80 sont utilisés. A titre d'exemple, nous pouvons voir cet effet à travers les travaux de Panikumar et al. (2012)

et Pinto (2012), (Tableau 9, Figure 41 et Figure 42). En effet, la solubilité de l'EFV dans les milieux de dissolution augmente proportionnellement avec l'augmentation de la concentration du tensioactif SDS ou encore du Tween 80.

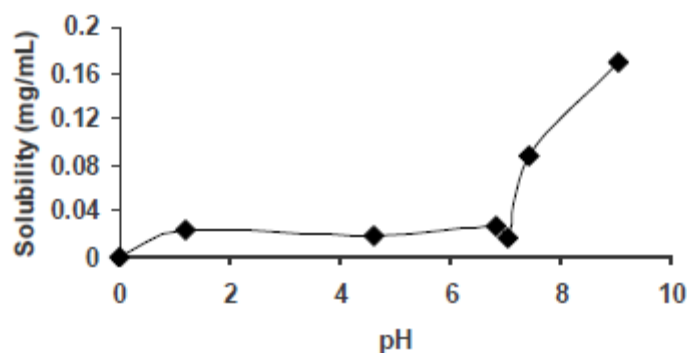


Figure 41. Solubilité de l'EFV dans l'eau (pH 1,2 à 9) à $37 \pm 0,5$ °C. Données expérimentales de Panikumar et al. (2012).

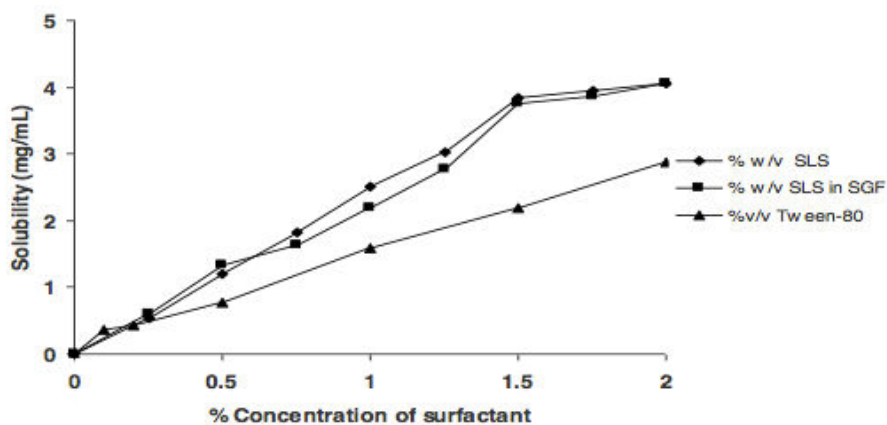


Figure 42. Solubilité de l'EFV dans des milieux aqueux à $37 \pm 0,5$ °C, en présence de tensioactifs. Données expérimentales de Panikumar et al. (2012).

Le SDS (surfactant anionique) demeure le tensioactif préférable pour les études de dissolution in vitro de l'EFV selon les monographies officielles (1% ou 2% en masse). Dans nos études de dissolution nous nous sommes inspirés à des monographies officielles et fixées 1% en masse de SDS dans les milieux aqueux étudiés.

Par ailleurs, une étude de dissolution menée toujours par (Panikumar et al., 2012) a montré qu'une concentration de 0,25% de SDS pourrait suffire pour discriminer les courbes cinétiques de dissolution.

Conclusions

Les molécules de faible solubilité en milieux aqueux représentent une proportion croissante des nouveaux médicaments en développement. De nombreux facteurs peuvent expliquer une faible biodisponibilité telle qu'une mauvaise vitesse de dissolution, une faible solubilité ou une faible perméabilité. De nos jours, ils constituent une des principales causes d'échec dans le développement d'un médicament. Afin de répondre à cette problématique plusieurs stratégies peuvent être utilisées pour augmenter la biodisponibilité de ces types de molécules comme nous le montrons encore dans la première partie de ce chapitre. Parmi les stratégies galéniques possibles, l'utilisation de formulations à base de lipides est intéressante car elles permettent d'améliorer la biodisponibilité en présentant et maintenant la molécule active en solution dans le tractus gastro-intestinal.

Dans une deuxième partie nous avons vu l'intérêt d'un organogel en tant que véhicule potentiel pour solubiliser et piéger une molécule active dans son réseau tridimensionnel. On comprend que les organogels possèdent un fort potentiel dans une large gamme d'applications industrielles et médicales. En présentant quelques exemples d'applications dans le domaine des systèmes de délivrance de molécules actives (*drug delivery systems*), nous avons mis en évidence que la versatilité des propriétés de ces matériaux les rend de plus en plus intéressants. Une recherche sur ces matériaux nous a permis de voir la nécessité de bien maîtriser certains paramètres comme la concentration de la molécule gélatrice et les températures de transition sol-gel-sol et encore la vitesse et la température de refroidissement de l'organogel fondu. Plusieurs techniques de mesure du diagramme de transition de phases ont pu être répertoriées.

Des publications décrivent leurs utilisations dans des applications par des voies très variées (cutanée, sous-cutanée, rectale et orale, d'entre autres). L'emploi des organogels comme vecteurs pour une administration par voie orale des molécules peu solubles dans l'eau est encore très peu exploré, ce qui se traduit par un très faible nombre de travaux dans la littérature et motive ce travail de thèse.

Nous avons vu également qu'il serait judicieux de protéger l'organogel lors de son passage par l'estomac pour éviter une dégradation trop rapide par effet enzymatique et prolonger l'action de son contenu actif dans l'intestin après administration orale. Pour ce faire, nous avons décidé d'y associer une membrane d'hydrogel qui l'entoure. En raison de

leurs propriétés notables et flexibles passées en revue dans ce chapitre, nous avons choisi l'hydrogel d'alginate pour constituer la membrane autour de l'organogel.

Nous avons vu également que le procédé de prilling est bien adapté pour la fabrication de structures cœur-membrane comme celles qui nous développons ici. Les éléments bibliographiques permettront d'ajuster l'approche expérimental pour leur fabrication (effet de variables du procédé et de formulation).

Enfin, cette synthèse bibliographique nous a permis de mettre un accent sur le défis de développer une nouvelle structure bi-gel en utilisant un cœur d'organogel et une membrane d'alginate et anticiper les étapes critiques éventuelles : mise en place de protocoles de caractérisation, choix de l'alginate (type, masse molaire...) et les caractéristiques de la molécule active (l'Efavirenz étant la molécule choisie pour cette étude).

D'une manière générale, nous pouvons identifier un grand effort concernant la recherche de nouvelles formes galéniques pour l'EFV ; néanmoins, une augmentation de la biodisponibilité de la molécule n'est pas encore démontrée par ces études. Les capsules bi-gels qui nous proposons ici peuvent représenter une nouvelle alternative intéressante dans la catégorie de « systèmes lipidiques », pour une amélioration de la biodisponibilité orale de molécules comme l'EFV.

Références

- Abang, S., Chan, E.-S., Poncelet, D., 2012. Effects of process variables on the encapsulation of oil in ca-alginate capsules using an inverse gelation technique. *J. Microencapsul.* 29, 417–428. doi:10.3109/02652048.2012.655331
- Abdou, H.M., 1989. Dissolution, bioavailability & bioequivalence. Mack Publishing Company, Easton.
- Abrogoua, D.P., 2011. Modélisation de la réponse antirétrovirale pour l'aide à l'optimisation thérapeutique et pharmaco-économique en Côte d'Ivoire (phdthesis). Université Claude Bernard - Lyon I ; Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan).
- Aggarwal, B.B., Kumar, A., Bharti, A.C., 2003. Anticancer potential of curcumin: preclinical and clinical studies. *Anticancer Res.* 23, 363–398.
- Agharkar, S., Lindenbaum, S., Higuchi, T., 1976. Enhancement of solubility of drug salts by hydrophilic counterions: properties of organic salts of an antimalarial drug. *J. Pharm. Sci.* 65, 747–749.
- Agoston, G.A., Harte, W.H., Hottel, H.C., Klemm, W.A., Mysels, K., Pomeroy, H., Thompson, J., 1954. Flow of Gasoline Thickened by Napalm. *Ind. Eng. Chem.* 46, 1017–1019. doi:10.1021/ie50533a055
- Agrawal, G.P., Juneja, M., Agrawal, S., Jain, S.K., Pancholi, S.S., 2004. Preparation and characterization of reverse micelle based organogels of piroxicam. *Pharm.* 59, 191–193.
- Agrawal, V., Gupta, V., Ramteke, S., Trivedi, P., 2010. Preparation and Evaluation of Tubular Micelles of Pluronic Lecithin Organogel for Transdermal Delivery of Sumatriptan. *AAPS PharmSciTech* 11, 1718–1725. doi:10.1208/s12249-010-9540-7
- Ahmed, E.M., 2013. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications. *J. Adv. Res.* doi:10.1016/j.jare.2013.07.006
- Alves, L.D.S., de La Roca Soares, M.F., de Albuquerque, C.T., da Silva, É.R., Vieira, A.C.C., Fontes, D.A.F., Figueirêdo, C.B.M., Soares Sobrinho, J.L., Rolim Neto, P.J., 2014. Solid dispersion of efavirenz in PVP K-30 by conventional solvent and kneading methods. *Carbohydr. Polym.* 104, 166–174. doi:10.1016/j.carbpol.2014.01.027
- Amidon, G.L., Lennernäs, H., Shah, V.P., Crison, J.R., 1995. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability. *Pharm. Res.* 12, 413–420. doi:10.1023/A:1016212804288
- Amsden, B., 1998. Solute Diffusion within Hydrogels. *Mechanisms and Models.* *Macromolecules* 31, 8382–8395. doi:10.1021/ma980765f
- Anseth, K.S., Bowman, C.N., Brannon-Peppas, L., 1996. Mechanical properties of hydrogels and their experimental determination. *Biomaterials* 17, 1647–1657. doi:10.1016/0142-9612(96)87644-7
- Aquino, R.P., Auriemma, G., d' Amore, M., D'Ursi, A.M., Mencherini, T., Del Gaudio, P., 2012. Piroxicam loaded alginate beads obtained by prilling/microwave tandem technique:

- Morphology and drug release. *Carbohydr. Polym.* 89, 740–748. doi:10.1016/j.carbpol.2012.04.003
- Asija, R., Sharma, R., 2014. Formulation and Evaluation of Diclofenac Organogel. *Int. J. Med. Pharm. Res.* 2, 722–731.
- Augst, A.D., Kong, H.J., Mooney, D.J., 2006. Alginate hydrogels as biomaterials. *Macromol. Biosci.* 6, 623–633. doi:10.1002/mabi.200600069
- Auriemma, G., Del Gaudio, P., Barba, A.A., d' Amore, M., Aquino, R.P., 2011. A combined technique based on prilling and microwave assisted treatments for the production of ketoprofen controlled release dosage forms. *Int. J. Pharm.* 415, 196–205. doi:10.1016/j.ijpharm.2011.05.077
- Auriemma, G., Mencherini, T., Russo, P., Stigliani, M., Aquino, R.P., Del Gaudio, P., 2013. Prilling for the development of multi-particulate colon drug delivery systems: Pectin vs. pectin–alginate beads. *Carbohydr. Polym.* 92, 367–373. doi:10.1016/j.carbpol.2012.09.056
- Bahal, S.M., Romansky, J.M., Alvarez, F.J., 2003. Medium chain triglycerides as vehicle for palatable oral liquids. *Pharm. Dev. Technol.* 8, 111–115. doi:10.1081/PDT-120017518
- Banga, S., Chawla, G., Bansal, A.K., 2004. New trends in the Crystallization of Active Pharmaceutical Ingredients. *Businessbriefing Pharmagenetics* 70–74.
- Behera, B., Patil, V., Sagiri, S.S., Pal, K., Ray, S.S., 2012. Span-60-based organogels as probable matrices for transdermal/topical delivery systems. *J. Appl. Polym. Sci.* 125, 852–863. doi:10.1002/app.35674
- Benita, S., 2006. *Microencapsulation: Methods and Industrial Applications*, 2nd ed, Drug and Pharmaceutical Sciences. Taylor & Francis Group.
- Bhatia, A., Singh, B., Raza, K., Wadhwa, S., Katore, O.P., 2013. Tamoxifen-loaded lecithin organogel (LO) for topical application: Development, optimization and characterization. *Int. J. Pharm.* 444, 47–59. doi:10.1016/j.ijpharm.2013.01.029
- Boudier, A., Kirilov, P., Franceschi-Messant, S., Belkhelfa, H., Hadioui, L., Roques, C., Perez, E., Rico-Lattes, I., 2010. Evaluation of biocompatible stabilised gelled soya bean oil nanoparticles as new hydrophobic reservoirs. *J. Microencapsul.* 27, 682–692. doi:10.3109/02652048.2010.506582
- Brandenberger, H., Nüssli, D., Piëch, V., Widmer, F., 1999. Monodisperse particle production: A method to prevent drop coalescence using electrostatic forces. *J. Electrostat.* 45, 227–238. doi:10.1016/S0304-3886(98)00052-7
- Brandenberger, H., Widmer, F., 1998. A new multinozzle encapsulation/immobilisation system to produce uniform beads of alginate. *J. Biotechnol.* 63, 73–80. doi:10.1016/S0168-1656(98)00077-7
- Brannon-Peppas, L., Harland, R.S., 1991. Absorbent polymer technology. *J. Controlled Release* 17, 297–298. doi:10.1016/0168-3659(91)90148-7
- Buchholz, F.L., Graham, A.T., 1998. *Modern Superabsorbent Polymer Technology*. Wiley-VCH, New York.

- Bui, A., Virgilio, N., 2013. Tuning Organogel Properties by Controlling the Organic-Phase Composition. *Ind. Eng. Chem. Res.* 52, 14185–14191. doi:10.1021/ie401965z
- Chakraborty, S., Shukla, D., Mishra, B., Singh, S., 2009. Lipid – An emerging platform for oral delivery of drugs with poor bioavailability. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 73, 1–15. doi:10.1016/j.ejpb.2009.06.001
- Chan, E.-S., 2011. Preparation of Ca-alginate beads containing high oil content: Influence of process variables on encapsulation efficiency and bead properties. *Carbohydr. Polym.* 84, 1267–1275. doi:10.1016/j.carbpol.2011.01.015
- Charman, S.A., Charman, W.N., 2002. Oral modified-release delivery systems. In: Rathbone, M.J.; Hadgraft, J.; Roberts, M.S. *Modified-Release drug delivery technology*. CRC Press, pp. 1–10.
- Chaumeil, J.C., 1998. Micronization: a method of improving the bioavailability of poorly soluble drugs. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.* 20, 211–215.
- Chen, X., Martin, B.D., Neubauer, T.K., Linhardt, R.J., Dordick, J.S., Rethwisch, D.G., 1995. Enzymatic and chemoenzymatic approaches to synthesis of sugar-based polymer and hydrogels. *Carbohydr. Polym., Frontiers in Carbohydrate Research-4* 28, 15–21. doi:10.1016/0144-8617(95)00082-8
- Chiappetta, D.A., Alvarez-Lorenzo, C., Rey-Rico, A., Taboada, P., Concheiro, A., Sosnik, A., 2010. N-alkylation of poloxamines modulates micellar assembly and encapsulation and release of the antiretroviral efavirenz. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 76, 24–37. doi:10.1016/j.ejpb.2010.05.007
- Chiappetta, D.A., Facorro, G., Rubin de Celis, E., Sosnik, A., 2011. Synergistic encapsulation of the anti-HIV agent efavirenz within mixed poloxamine/poloxamer polymeric micelles. *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.* 7, 624–637. doi:10.1016/j.nano.2011.01.017
- Chiappetta, D.A., Hocht, C., Taira, C., Sosnik, A., 2011. Oral pharmacokinetics of the anti-HIV efavirenz encapsulated within polymeric micelles. *Biomaterials* 32, 2379–2387. doi:10.1016/j.biomaterials.2010.11.082
- Chiappetta, D.A., Hocht, C., Taira, C., Sosnik, A., 2010. Efavirenz-loaded polymeric micelles for pediatric anti-HIV pharmacotherapy with significantly higher oral bioavailability [corrected]. *Nanomed.* 5, 11–23. doi:10.2217/nnm.09.90
- Choia, J.C., Job, B.W., Kim, Y.C., 2004. Enhanced paclitaxel bioavailability after oral administration of paclitaxel or prodrug to rats pretreated with quercetin. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 57, 313–318.
- Chowdary, K.P.R., Enturi, V., 2013. Preclinical Pharmacokinetic Evaluation of Efavirenz Solid Dispersions in Two New Modified Starches. *J. Appl. Pharm. Sci.* 3, S89–S92. doi:10.7324/JAPS.2013.34.S1 7
- Chowdary, K.P.R., Naresh, A., 2011. Formulation Development of Efavirenz Tablets Employing β Cyclodextrin- PVP K30- SLS: A Factorial Study. *J. Appl. Pharm.* 1, 130–134.
- Cole, E.T., Cadé, D., Benameur, H., 2008. Challenges and opportunities in the encapsulation of liquid and semi-solid formulations into capsules for oral administration. *Adv. Drug Deliv.*

Rev., Lipid-Based Systems for the Enhanced Delivery of Poorly Water Soluble Drugs 60, 747–756. doi:10.1016/j.addr.2007.09.009

Da Costa, M.A., Seiceira, R.C., Rodrigues, C.R., Hoffmeister, C.R.D., Cabral, L.M., Rocha, H.V.A., 2013. Efavirenz Dissolution Enhancement I: Co-Micronization. *Pharmaceutics* 5, 1–22. doi:10.3390/pharmaceutics5010001

Del Gaudio, P., Auriemma, G., Mencherini, T., Porta, G.D., Reverchon, E., Aquino, R.P., 2013. Design of alginate-based aerogel for nonsteroidal anti-inflammatory drugs controlled delivery systems using prilling and supercritical-assisted drying. *J. Pharm. Sci.* 102, 185–194. doi:10.1002/jps.23361

Del Gaudio, P., Colombo, P., Colombo, G., Russo, P., Sonvico, F., 2005. Mechanisms of formation and disintegration of alginate beads obtained by prilling. *Int. J. Pharm.* 302, 1–9. doi:10.1016/j.ijpharm.2005.05.041

Del Gaudio, P., Russo, P., Rosaria Lauro, M., Colombo, P., Aquino, R., 2009. Encapsulation of Ketoprofen and Ketoprofen Lysinate by Prilling for Controlled Drug Release. *AAPS PharmSciTech* 10, 1178–1185. doi:10.1208/s12249-009-9309-z

Desai, J., Alexander, K., Riga, A., 2006. Characterization of polymeric dispersions of dimenhydrinate in ethyl cellulose for controlled release. *Int. J. Pharm.* 308, 115–123. doi:10.1016/j.ijpharm.2005.10.034

Didierjean, J., 2005. Étude d'une nouvelle classe d'inhibiteurs de la rétrotranscriptase et de l'intégrase du virus de l'immunodéficience humaine de type-1 (VIH-1). (phdthesis). Université Louis Pasteur - Strasbourg I.

Draget, K.I., Moe, S.T., Skjak-Bræk, G., Smidsrød, O., 2005. Alginate from Algae, in: *Polysaccharides and Polyamides in the Food Industry. Properties, Production, and Patents.* Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, p. 783.

Draget, K.I., Skjåk-Braek, G., Smidsrød, O., 1997. Alginate based new materials. *Int. J. Biol. Macromol.* 21, 47–55.

Duvoix, A., Blasius, R., Delhalle, S., Schnekenburger, M., Morceau, F., Henry, E., Dicato, M., Diederich, M., 2005. Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett.* 223, 181–190. doi:10.1016/j.canlet.2004.09.041

Emara, L.H., Badr, R.M., Elbary, A.A., 2002. Improving the dissolution and bioavailability of nifedipine using solid dispersions and solubilizers. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 28, 795–807. doi:10.1081/DDC-120005625

EMA, T.E.A. for the E. of M.P., 2001. Note for Guidance on the Investigation of Bioavailability and Bioequivalence.

Eyraud, C., Accary, A., 1992. Analyse thermique et calorimétrie différentielle. P1295.

FDA, F. and D.A., 2013. Guidance for Industry. Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-Crystals. U.S. Department of Health and Human Services.

Freitas, M.N., Marchetti, J.M., 2005. Nimesulide PLA microspheres as a potential sustained release system for the treatment of inflammatory diseases. *Int. J. Pharm.* 295, 201–211. doi:10.1016/j.ijpharm.2005.03.003

- Frish, N., Igonin, A., Benameur, H., 2007. Développement de systèmes pharmaceutiques automicroémulsionnants, in: *Microencapsulation: Des Sciences Aux Technologies*. Editions Tec&Doc, Paris, pp. 243–268.
- Fuentes, G., Lara, A., Peón, E., Torres, M., 2005. Preliminary evaluation of TEDMA/HEMA + HAP composites as bone substitutes and drug controlled delivery matrixes. *Lat. Am. Appl. Res.* 35, 9–14.
- Geretti, A.M., 2006. HIV-1 subtypes: epidemiology and significance for HIV management. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 19, 1–7.
- Goto, S., Kawata, M., Suzuki, T., Kim, N.S., Ito, C., 1991. Preparation and evaluation of Eudragit gels. I: Eudragit organogels containing drugs as rectal sustained-release preparations. *J. Pharm. Sci.* 80, 958–961.
- Grassi, M., Grassi, G., 2005. Mathematical modelling and controlled drug delivery: matrix systems. *Curr. Drug Deliv.* 2, 97–116.
- Gursoy, R., Benita, S., 2004. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs. *Biomed. Pharmacother.* 58, 173–182. doi:10.1016/j.biopha.2004.02.001
- Haas, P.A., 1992. Formation of uniform liquid drops by application of vibration to laminar jets. *Ind. Eng. Chem. Res.* 31, 959–967. doi:10.1021/ie00003a043
- Hamidi, M., Azadi, A., Rafiei, P., 2008. Hydrogel nanoparticles in drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2008 Editors' Collection 60, 1638–1649. doi:10.1016/j.addr.2008.08.002
- Hatefi, A., Amsden, B., 2002. Biodegradable injectable in situ forming drug delivery systems. *J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc.* 80, 9–28.
- Hayward, R.C., Utada, A.S., Dan, N., Weitz, D.A., 2006. Dewetting Instability during the Formation of Polymersomes from Block-Copolymer-Stabilized Double Emulsions. *Langmuir* 22, 4457–4461. doi:10.1021/la060094b
- Heinzen, C., 1995. Herstellung von monodispersen Mikrokugeln durch Hydropillen (Thèse). Swiss Federal Institute of Technology, Zurich.
- Heinzen, C., Berger, A., Marison, I., 2004. Use of Vibration Technology for Jet Break-Up for Encapsulation of Cells and Liquids in Monodisperse Microcapsules, in: Nedović, V., Willaert, R. (Eds.), *Fundamentals of Cell Immobilisation Biotechnology, Focus on Biotechnology*. Springer Netherlands, pp. 257–275.
- Heinzen, C., Marison, I., Berger, A., Von Stockar, U., 2002. Use of vibration technology for jet break-up for encapsulation of cells, microbes and liquids in monodisperse microcapsules. *Pract. Asp. Encapsulation Technol.* 1, 19–25.
- He, J., Shen, Y., Chen, S., Wei, H., Zhu, J., You, L., Lu, K., 2011. Preparation and evaluation of molecularly imprinted microspheres for solid-phase extraction of 1,4-hydroxybenzoic acid esters in soy. *J. Sep. Sci.* 34, 2739–2744. doi:10.1002/jssc.201100452
- Higuchi, T., 1963. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *J. Pharm. Sci.* 52, 1145–1149. doi:10.1002/jps.2600521210

- Higuchi, T., 1961. Rate of release of medicaments from ointment bases containing drugs in suspension. *J. Pharm. Sci.* 50, 874–875. doi:10.1002/jps.2600501018
- Hixson, A.W., Crowell, J.H., 1931. Dependence of Reaction Velocity upon Surface and Agitation. *Ind. Eng. Chem.* 23, 1160–1168. doi:10.1021/ie50262a025
- Hoffman, A.S., 2002. Hydrogels for biomedical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, Recent Developments in Hydrogels 54, 3–12. doi:10.1016/S0169-409X(01)00239-3
- Hopfenberg, H., 1976. Controlled Release Polymeric Formulation, in: Paul, D. R., Haris, F. W., Eds. ACS Symposium Series, Washington DC, p. 222.
- Hotten, B.W., Birdsall, D.H., 1952. Fine structure and rheological properties of lithium soap-oil dispersions. *J. Colloid Sci.* 7, 284–294. doi:10.1016/0095-8522(52)90074-3
- Iwanaga, K., Kawai, M., Miyazaki, M., Kakemi, M., 2012. Application of organogels as oral controlled release formulations of hydrophilic drugs. *Int. J. Pharm.* 436, 869–872. doi:10.1016/j.ijpharm.2012.06.041
- Iwanaga, K., Sumizawa, T., Miyazaki, M., Kakemi, M., 2010. Characterization of organogel as a novel oral controlled release formulation for lipophilic compounds. *Int. J. Pharm.* 388, 123–128. doi:10.1016/j.ijpharm.2009.12.045
- Jadhav, K.R., Gambhire, M., Shaikh, I.M., Kadam, V.J., Pisal, S.S., 2007. Nasal Drug Delivery System-Factors Affecting and Applications. *Curr. Drug Ther.* 2, 27–38.
- Jadhav, N.K., Patil, K.A., Patil, J.K., Patil, P.A., Pawar, S.P., 2012. A review on organogels: lipid based carrier systems. *Pharma Sci. Monit. Int. J. Pharm. Sci.* 3, 3132–3143.
- Jain, R.A., Rhodes, C.T., Railkar, A.M., Malick, A.W., Shah, N.H., 2000. Controlled release of drugs from injectable in situ formed biodegradable PLGA microspheres: effect of various formulation variables. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 50, 257–262. doi:10.1016/S0939-6411(00)00062-X
- Jono, K., Ichikawa, H., Miyamoto, M., Fukumori, Y., 2000. A review of particulate design for pharmaceutical powders and their production by spouted bed coating. *Powder Technol.* 113, 269–277. doi:10.1016/S0032-5910(00)00310-7
- Kaihara, S., Matsumura, S., Fisher, J.P., 2008. Synthesis and characterization of cyclic acetal based degradable hydrogels. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, Interactive Polymers for Pharmaceutical and Biomedical Applications 68, 67–73. doi:10.1016/j.ejpb.2007.05.019
- Kai, T., Akiyama, Y., Nomura, S., Sato, M., 1996. Oral absorption improvement of poorly soluble drug using solid dispersion technique. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* 44, 568–571.
- Kashyap, N., Kumar, N., Kumar, M.N.V.R., 2005. Hydrogels for pharmaceutical and biomedical applications. *Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.* 22, 107–149.
- Kawata, M., Suzuki, T., Kim, N.S., Ito, T., Kurita, A., Miyagoe, Y., Goto, S., 1991. Preparation and evaluation of Eudragit gels. II: In vitro release of salicylic acid, sodium salicylate, and ketoprofen from Eudragit L and S organogels. *J. Pharm. Sci.* 80, 1072–1074.
- Kirilov, P., Lukyanova, L., Franceschi-Messant, S., Perier, V., Perez, E., Rico-Lattes, I., 2008. A new type of colloidal dispersions based on nanoparticles of gelled oil. *Colloids Surf.*

Physicochem. Eng. Asp. 328, 1–7. doi:10.1016/j.colsurfa.2008.06.011

Klausner, E.A., Lavy, E., Friedman, M., Hoffman, A., 2003. Expandable gastroretentive dosage forms. *J. Controlled Release* 90, 143–162. doi:10.1016/S0168-3659(03)00203-7

Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P., Peppas, N.A., 1983. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int. J. Pharm.* 15, 25–35. doi:10.1016/0378-5173(83)90064-9

Krsko, P., McCann, T.E., Thach, T.-T., Laabs, T.L., Geller, H.M., Libera, M.R., 2009. Length-scale mediated adhesion and directed growth of neural cells by surface-patterned poly(ethylene glycol) hydrogels. *Biomaterials* 30, 721–729. doi:10.1016/j.biomaterials.2008.10.011

Kumar, R., Katare, O.P., 2005. Lecithin organogels as a potential phospholipid-structured system for topical drug delivery: a review. *AAPS PharmSciTech* 6, E298–310. doi:10.1208/pt060240

Kurabayashi, T., 1959. Atomization of liquid by means of rotating nozzle. *Trans. Jpn. Soc. Mech. Eng.* 25, 1266–1273.

Lamba, S., Chowdary, K.P.R., 2012. A factorial study on formulation development of Efavirenz tablets employing β cyclodextrin- Poloxamer 407- PVP k30. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 3, 782–787.

Legrand, P., Lesieur, S., Bochot, A., Gref, R., Raatjes, W., Barratt, G., Vauthier, C., 2007. Influence of polymer behaviour in organic solution on the production of polylactide nanoparticles by nanoprecipitation. *Int. J. Pharm., New Trends in Drug Delivery Systems* 344, 33–43. doi:10.1016/j.ijpharm.2007.05.054

Lim, P.F.C., Liu, X.Y., Kang, L., Ho, P.C.L., Chan, S.Y., 2008. Physicochemical effects of terpenes on organogel for transdermal drug delivery. *Int. J. Pharm.* 358, 102–107. doi:10.1016/j.ijpharm.2008.02.021

Lim, P.F.C., Liu, X.Y., Kang, L., Ho, P.C.L., Chan, Y.W., Chan, S.Y., 2006. Limonene GP1/PG organogel as a vehicle in transdermal delivery of haloperidol. *Int. J. Pharm.* 311, 157–164. doi:10.1016/j.ijpharm.2005.12.042

Lin, C.-C., Metters, A.T., 2006. Hydrogels in controlled release formulations: Network design and mathematical modeling. *Adv. Drug Deliv. Rev., Computational Drug Delivery* 58, 1379–1408. doi:10.1016/j.addr.2006.09.004

Lisserre, A.M., Ré, M.I., Franco, B.D.G.M., 2007. Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* in Modified Alginate-chitosan Beads and Evaluation of Survival in Simulated Gastrointestinal Conditions. *Food Biotechnol.* 21, 1–16. doi:10.1080/08905430701191064

Li, Y., Huang, G., Zhang, X., Li, B., Chen, Y., Lu, T., Lu, T.J., Xu, F., 2013. Magnetic Hydrogels and Their Potential Biomedical Applications. *Adv. Funct. Mater.* 23, 660–672. doi:10.1002/adfm.201201708

Li, Y., Hu, M., Du, Y., Xiao, H., McClements, D.J., 2011. Control of lipase digestibility of emulsified lipids by encapsulation within calcium alginate beads. *Food Hydrocoll.* 25, 122–130. doi:10.1016/j.foodhyd.2010.06.003

- Lukyanova, L., Franceschi-Messant, S., Vicendo, P., Perez, E., Rico-Lattes, I., Weinkamer, R., 2010. Preparation and evaluation of microporous organogel scaffolds for cell viability and proliferation. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 79, 105–112. doi:10.1016/j.colsurfb.2010.03.044
- Lupi, F.R., Gabriele, D., Baldino, N., Mijovic, P., Parisi, O.I., Puoci, F., 2013. Olive oil/policosanol organogels for nutraceutical and drug delivery purposes. *Food Funct.* 4, 1512–1520. doi:10.1039/c3fo60259a
- Madhusudhan, A., Bhagavanth Reddy, M., Venkatesham, M., Veerabhadram, G., 2012. Design and Evaluation of Efavirenz loaded Solid Lipid Nanoparticles to Improve the Oral Bioavailability. *International J. Pharm. Pharm. Sci. Res.* 2, 84–89.
- Martinez, L., 2004. Application du procédé de prilling pour la préparation de micro-réseaux à base de chitosane.
- Meesters, G.M.H., 1992. Mechanisms of droplet formation. PhD Thesis Tech. Univ Delft Neth.
- Müller, Christoph, 1985. Bildung einheitlicher Feststoffpartikel aus Schmelzen in einer inerten Kuhlflussigkeit (Hydroprilling). Swiss Federal Institute of Technology, Zurich.
- Murdan, S., 2005. Organogels in drug delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2, 489–505. doi:10.1517/17425247.2.3.489
- Narisimhan, B., Mallapragada, S.K., Peppas, N.A., 1999. Release kinetics, data interpretation, in: *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*. John Wiley & Sons, New York, pp. 921–935.
- Ogbonna, JC, 2004. Atomisation Techniques for Immobilisation of Cells in Micro Gel Beads, in: *Atomisation Techniques for Immobilisation of Cells in Micro Gel Beads*. Kluwer Academic Publishers, pp. 327–341.
- OMS, D.V., 2008. Traitement antirétroviral de l'infection à VIH chez l'adulte et l'adolescent en situation de ressources limitées : vers un accès universel : recommandations pour une approche de santé publique. – Version 2006. Organisation mondiale de la Santé 2008, Genève, Suisse.
- Ouwerx, C., Velings, N., Mestdagh, M., Axelos, M.A., 1998. Physico-chemical properties and rheology of alginate gel beads formed with various divalent cations. *Polym. Gels Netw.* 6, 393–408. doi:10.1016/S0966-7822(98)00035-5
- Panikumar, A.D., Venkat, R.Y., Sunitha, G., Sathesh, B.P.R., Subrahmanyam, C.V.S., 2012. Development of biorelevant and discriminating method for dissolution of Efavirenz and its formulations. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 5, 220–223.
- Patel, A., Mequanint, K., 2011. Hydrogel Biomaterials, in: Fazel, R. (Ed.), *Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges*. InTech.
- Patel, G.V., Patel, V.B., Pathak, A., Rajput, S.J., 2014. Nanosuspension of efavirenz for improved oral bioavailability: formulation optimization, in vitro, in situ and in vivo evaluation. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 40, 80–91. doi:10.3109/03639045.2012.746362
- Peppas, N.A., Huang, Y., Torres-Lugo, M., Ward, J.H., Zhang, J., 2000. Physicochemical foundations and structural design of hydrogels in medicine and biology. *Annu. Rev. Biomed. Eng.* 2, 9–29. doi:10.1146/annurev.bioeng.2.1.9

Pinnamaneni, S., Das, N.G., Das, S.K., 2002. Formulation approaches for orally administered poorly soluble drugs. *Pharm.* 57, 291–300.

Pinto, E.C., 2012. Estudo de dissolução intrínseca de Efavirenz como ferramenta para antecipação de sua biodisponibilidade. Faculdade de Farmacia, Universidade federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Pisal, S., Shelke, V., Mahadik, K., Kadam, S., 2004. Effect of organogel components on in vitro nasal delivery of propranolol hydrochloride. *AAPS PharmSciTech* 5, 92–100. doi:10.1208/pt050463

Pivette, P., Faivre, V., Daste, G., Ollivon, M., Lesieur, S., 2009. Rapid cooling of lipid in a prilling tower. *J Therm Anal Calorim* 98, 47–55. doi:DOI 10.1007/s10973-009-0348-1

Pivette, P., Faivre, V., Mancini, L., Gueutin, C., Daste, G., Ollivon, M., Lesieur, S., 2012. Controlled release of a highly hydrophilic API from lipid microspheres obtained by prilling: Analysis of drug and water diffusion processes with X-ray-based methods. *J. Controlled Release* 158, 393–402. doi:10.1016/j.jconrel.2011.11.027

Plunkett, K.N., Moore, J.S., 2004. Patterned dual pH-responsive core-shell hydrogels with controllable swelling kinetics and volumes. *Langmuir ACS J. Surf. Colloids* 20, 6535–6537. doi:10.1021/la049453y

Poletto, F.S., Jäger, E., Ré, M.I., Guterres, S.S., Pohlmann, A.R., 2007. Rate-modulating PHBHV/PCL microparticles containing weak acid model drugs. *Int. J. Pharm.* 345, 70–80. doi:10.1016/j.ijpharm.2007.05.040

Poncelet, D., Dreffier, C., 2007. Les méthodes de microencapsulation de A à Z (ou presque), in: *Microencapsulation: Des Sciences Aux Technologies*. Editions Tec&Doc, Paris, pp. 23–33.

Porter, C.J.H., Pouton, C.W., Cuine, J.F., Charman, W.N., 2008. Enhancing intestinal drug solubilisation using lipid-based delivery systems. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 60, 673–691. doi:10.1016/j.addr.2007.10.014

Pouton, C.W., 2006. Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: Physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system. *Eur. J. Pharm. Sci., Advances in Understanding Oral Absorption and Delivery of Problem Compounds Selected Papers from the 3rd World Conference on Drug Absorption, Transport and Delivery* 29, 278–287. doi:10.1016/j.ejps.2006.04.016

Pouton, C.W., 2000. Lipid formulations for oral administration of drugs: non-emulsifying, self-emulsifying and “self-microemulsifying” drug delivery systems. *Eur. J. Pharm. Sci., Frontiers in Biopharmacy* 11, Supplement 2, S93–S98. doi:10.1016/S0928-0987(00)00167-6

Prüsse, U., Bruske, F., Breford, J., Vorlop, K. D., 1998. Improvements to the jet cutting process for manufacturing spherical-particles from viscous polymer solutions. *Chem Ing Tech* 556–560.

Raut, S., Bhadoriya, S.S., Uplanchiwar, V., Mishra, V., Gahane, A., Jain, S.K., 2012. Lecithin organogel: A unique micellar system for the delivery of bioactive agents in the treatment of skin aging. *Acta Pharm. Sin. B* 2, 8–15. doi:10.1016/j.apsb.2011.12.005

Rayleigh, 1878. On the stability of jets. *Proc. Lond. Math. Soc.* 10.

- Richard, J., Benoit, J.P., 2000. Microencapsulation. *Tech. Ing. J* 2210, 1–20.
- Rodríguez-Hornedo, N., Nehm, S.J., Jayasankar, A., 2006. Cocrystals: Design, Properties and Formation Mechanisms, in: *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, Third Edition. Informa Healthcare, pp. 615–635.
- Rogers, M.A., Kontogiorgos, V., 2012. Temperature Dependence of Relaxation Spectra for Self-Assembled Fibrillar Networks of 12-Hydroxystearic Acid in Canola Oil Organogels. *Food Biophys.* 7, 132–137.
- Rogers, M.A., Marangoni, A.G., 2009. Solvent-modulated nucleation and crystallization kinetics of 12-hydroxystearic acid: a nonisothermal approach. *Langmuir ACS J. Surf. Colloids* 25, 8556–8566. doi:10.1021/la8035665
- Rogers, M.A., Marangoni, A.G., 2008. Non-Isothermal Nucleation and Crystallization of 12-Hydroxystearic Acid in Vegetable Oils. *Cryst. Growth Des.* 8, 4596–4601. doi:10.1021/cg8008927
- Rogers, M.A., Wright, A.J., Marangoni, A.G., 2009. Nanostructuring fiber morphology and solvent inclusions in 12-hydroxystearic acid / canola oil organogels. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 14, 33–42. doi:10.1016/j.cocis.2008.02.004
- Rogers, M.A., Wright, A.J., Marangoni, A.G., 2008. Crystalline stability of self-assembled fibrillar networks of 12-hydroxystearic acid in edible oils. *Food Res. Int.* 41, 1026–1034. doi:10.1016/j.foodres.2008.07.012
- Rolland, L., 2013. Propriétés physico-chimiques de capsules d'hydrogel à coeur liquide. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI.
- Ruel-Gariépy, E., Leroux, J.-C., 2004. In situ-forming hydrogels—review of temperature-sensitive systems. *Eur. J. Pharm. Biopharm., The International Association of Pharmaceutical Technology (APV)* 58, 409–426. doi:10.1016/j.ejpb.2004.03.019
- Sagiri, S.S., Behera, B., Sudheep, T., Pal, K., 2012. Effect of Composition on the Properties of Tween-80–Span-80-Based Organogels. *Des. Monomers Polym.* 15, 253–273.
- Sagiri, S.S., Pal, K., Basak, P., 2014a. Encapsulation of animal wax-based organogels in alginate microparticles. *J. Appl. Polym. Sci.* 131, 1–11. doi:10.1002/app.40910
- Sagiri, S.S., Pal, K., Basak, P., Rana, U.A., Shakir, I., Anis, A., 2014b. Encapsulation of sorbitan ester-based organogels in alginate microparticles. *AAPS PharmSciTech* 15, 1197–1208. doi:10.1208/s12249-014-0147-2
- Sagiri, S.S., Sethy, J., Pal, K., Banerjee, I., Pramanik, K., Maiti, T.K., 2013. Encapsulation of vegetable organogels for controlled delivery applications. *Des. Monomers Polym.* 16, 366–376. doi:10.1080/15685551.2012.747154
- Sagiri, S.S., Singh, V.K., Banerjee, I., Pramanik, K., Basak, P., Pal, K., 2015. Core–shell-type organogel–alginate hybrid microparticles: A controlled delivery vehicle. *Chem. Eng. J.* 264, 134–145. doi:10.1016/j.cej.2014.11.032
- Satapathy, D., Sagiri, S.S., Pal, K., Pramanik, K., 2014. Development of mustard oil- and groundnut oil-based span 40 organogels as matrices for controlled drug delivery. *Des. Monomers Polym.* 17, 545–556. doi:10.1080/15685551.2013.869652

- Sathigari, S.K., Radhakrishnan, V.K., Davis, V.A., Parsons, D.L., Babu, R.J., 2012. Amorphous-state characterization of efavirenz—polymer hot-melt extrusion systems for dissolution enhancement. *J. Pharm. Sci.* 101, 3456–3464. doi:10.1002/jps.23125
- Saul, J.M., Williams, D.F., 2011. Hydrogels in regenerative medicine, in: *Principles of Regenerative Medicine*, Atala A, Lanza RP, Thomson JA, Nerem RM. Elsevier Academic Press, San Diego, pp. 637–631.
- Saxena, A.K., 2010. Synthetic biodegradable hydrogel (PleuraSeal) sealant for sealing of lung tissue after thoracoscopic resection. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 139, 496–497. doi:10.1016/j.jtcvs.2008.11.003
- Schneider, J.M., Hendricks, C.D., 1964. Source of Uniform□Sized Liquid Droplets. *Rev. Sci. Instrum.* 35, 1349–1350. doi:doi:10.1063/1.1718742
- Serajuddin, A.T.M., 2007. Salt formation to improve drug solubility. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 59, 603–616. doi:10.1016/j.addr.2007.05.010
- Seremeta, K.P., Chiappetta, D.A., Sosnik, A., 2013. Poly(ε-caprolactone), Eudragit® RS 100 and poly(ε-caprolactone)/Eudragit® RS 100 blend submicron particles for the sustained release of the antiretroviral efavirenz. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 102, 441–449. doi:10.1016/j.colsurfb.2012.06.038
- Serp, D., Cantana, E., Heinzen, C., Von Stockar, U., Marison, I.W., 2000. Characterization of an encapsulation device for the production of monodisperse alginate beads for cell immobilization. *Biotechnol. Bioeng.* 70, 41–53.
- Shaikh, I.M., Jadhav, K.R., Gide, P.S., Kadam, V.J., Pisal, S.S., 2006. Topical delivery of aceclofenac from lecithin organogels: preformulation study. *Curr. Drug Deliv.* 3, 417–427.
- Sharma, R.A., Gescher, A.J., Steward, W.P., 2005. Curcumin: the story so far. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* 1990 41, 1955–1968. doi:10.1016/j.ejca.2005.05.009
- Shchipunov, Y.A., 1999. End-to-End Fusion of Polymer-like Micelles in the Lecithin Organogel under the Action of an Electric Field. *Langmuir* 16.
- Shoaib, M.H., Tazeen, J., Merchant, H.A., Yousuf, R.I., 2006. Evaluation of drug release kinetics from ibuprofen matrix tablets using HPMC. *Pak. J. Pharm. Sci.* 19, 119–124.
- Sikareepaisan, P., Ruktanonchai, U., Supaphol, P., 2011. Preparation and characterization of asiaticoside-loaded alginate films and their potential for use as effectual wound dressings. *Carbohydr. Polym.* 83, 1457–1469. doi:10.1016/j.carbpol.2010.09.048
- Singh, A., Sharma, P.K., Garg, V.P., Garg, G., 2010. Hydrogels: a review. *Int. J. Pharm. Sciences Rev. Res.* 4, 97–105.
- Singh, M., 2011. Development of sorbitan monostearate organogels for controlled delivery systems. Department of Biotechnology & Medical Engineering National Institute of Technology, Rourkela, India.
- Sosnik, A., Chiappetta, D.A., Carcaboso, A.M., 2009. Drug delivery systems in HIV pharmacotherapy: what has been done and the challenges standing ahead. *J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc.* 138, 2–15. doi:10.1016/j.jconrel.2009.05.007

- Spacca, G., Cacchio, A., Forgács, A., Monteforte, P., Rovetta, G., 2005. Analgesic efficacy of a lecithin-vehiculated diclofenac epolamine gel in shoulder periarthritis and lateral epicondylitis: a placebo-controlled, multicenter, randomized, double-blind clinical trial. *Drugs Exp. Clin. Res.* 31, 147–154.
- Stamatialis, D.F., Papenburg, B.J., Gironés, M., Saiful, S., Bettahalli, S.N.M., Schmitmeier, S., Wessling, M., 2008. Medical applications of membranes: Drug delivery, artificial organs and tissue engineering. *J. Membr. Sci.* 308, 1–34. doi:10.1016/j.memsci.2007.09.059
- Stark, D., Münch, T., Sonnleitner, B., Marison, I.W., von Stockar, U., 2002. Extractive bioconversion of 2-phenylethanol from L-phenylalanine by *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol. Prog.* 18, 514–523. doi:10.1021/bp020006n
- Streubel, A., Siepmann, J., Bodmeier, R., 2006. Drug delivery to the upper small intestine window using gastroretentive technologies. *Curr. Opin. Pharmacol.* 6, 501–508. doi:10.1016/j.coph.2006.04.007
- Strickley, R.G., 2004. Solubilizing Excipients in Oral and Injectable Formulations. *Pharm. Res.* 21, 201–230. doi:10.1023/B:PHAM.00000016235.32639.23
- Tamura, T., Ichikawa, M., 1997. Effect of lecithin on organogel formation of 12-hydroxystearic acid. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 74, 491–495. doi:10.1007/s11746-997-0170-5
- Tamura, T., Suetake, T., Ohkubo, T., Ohbu, K., 1994. Effect of alkali metal ions on gel formation in the 12-hydroxystearic acid/soybean oil system. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 71, 857–861. doi:10.1007/BF02540462
- Terech, P., Weiss, R.G., 1997. Low Molecular Mass Gelators of Organic Liquids and the Properties of Their Gels. *Chem. Rev.* 97, 3133–3160.
- Tiwari, S.B., Amiji, M.M., 2006. Improved oral delivery of paclitaxel following administration in nanoemulsion formulations. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 6, 3215–3221.
- Toro-Vazquez, J.F., Morales-Rueda, J.A., Dibildox-Alvarado, E., Charó-Alonso, M., Alonzo-Macias, M., González-Chávez, M.M., 2007. Thermal and Textural Properties of Organogels Developed by Candelilla Wax in Safflower Oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 84, 989–1000. doi:10.1007/s11746-007-1139-0
- Toro-Vazquez, J.F., Morales-Rueda, J., Torres-Martínez, A., Charó-Alonso, M.A., Mallia, V.A., Weiss, R.G., 2013. Cooling rate effects on the microstructure, solid content, and rheological properties of organogels of amides derived from stearic and (R)-12-hydroxystearic acid in vegetable oil. *Langmuir ACS J. Surf. Colloids* 29, 7642–7654. doi:10.1021/la400809a
- Touitou, Y., 2013. *Pharmacologie et thérapeutiques UE 2.11*. Elsevier Masson, France.
- Vasanthrao, P.V., 2011. Span-60 based organogels as probable matrices for transdermal/topical delivery systems. Department of Biotechnology & Biomedical Engineering, National Institute of Technology, Rourkela, Orissa-769008, India.
- Velings, N.M., Mestdagh, M.M., 1995. Physico-Chemical Properties of Alginate Gel Beads. *Polym. Gels Netw.* 3, 311–330. doi:10.1016/0966-7822(94)00043-7
- Vervaeck, A., Monteyne, T., Saelens, L., De Beer, T., Remon, J.P., Vervaet, C., 2014. Prilling

as manufacturing technique for multiparticulate lipid/PEG fixed-dose combinations. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* doi:10.1016/j.ejpb.2014.06.018

Vervaeck, A., Saerens, L., De Geest, B.G., De Beer, T., Carleer, R., Adriaensens, P., Remon, J.P., Vervaet, C., 2013. Prilling of fatty acids as a continuous process for the development of controlled release multiparticulate dosage forms. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* doi:10.1016/j.ejpb.2013.02.003

Vintiloiu, A., Leroux, J.-C., 2008. Organogels and their use in drug delivery — A review. *J. Controlled Release* 125, 179–192. doi:10.1016/j.jconrel.2007.09.014

Vyas, T.K., Shahiwala, A., Amiji, M.M., 2008. Improved oral bioavailability and brain transport of Saquinavir upon administration in novel nanoemulsion formulations. *Int. J. Pharm.* 347, 93–101. doi:10.1016/j.ijpharm.2007.06.016

Wang, D., Zhao, J., Liu, X., Sun, F., Zhou, Y., Teng, L., Li, Y., 2014. Parenteral thermo-sensitive organogel for schizophrenia therapy, in vitro and in vivo evaluation. *Eur. J. Pharm. Sci.* 60, 40–48. doi:10.1016/j.ejps.2014.04.020

Wang, F., Li, Z., Khan, M., Tamama, K., Kuppusamy, P., Wagner, W.R., Sen, C.K., Guan, J., 2010. Injectable, rapid gelling and highly flexible hydrogel composites as growth factor and cell carriers. *Acta Biomater.* 6, 1978–1991. doi:10.1016/j.actbio.2009.12.011

Wang, W., Waterhouse, G.I.N., Sun-Waterhouse, D., 2013. Co-extrusion encapsulation of canola oil with alginate: Effect of quercetin addition to oil core and pectin addition to alginate shell on oil stability. *Food Res. Int.* 54, 837–851. doi:10.1016/j.foodres.2013.08.038

Weber, C., 1931. Zum Zerfall eines Flüssigkeitsstrahls. *Zeit Für Angew. Math. Mech.* 11, 136–154.

Wee, Gombotz, 1998. Protein release from alginate matrices. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 31, 267–285.

Whelehan, M., 2011. Liquid-core microcapsules: A mechanism for the recovery and purification of selected molecules in different environments [WWW Document]. URL <http://doras.dcu.ie/16649/> (accessed 8.13.12).

Whelehan, M., Marison, I.W., 2011. Capsular perstraction as a novel methodology for the recovery and purification of geldanamycin. *Biotechnol. Prog.* 27, 1068–1077. doi:10.1002/btpr.550

Whelehan, M., von Stockar, U., Marison, I.W., 2010. Removal of pharmaceuticals from water: using liquid-core microcapsules as a novel approach. *Water Res.* 44, 2314–2324. doi:10.1016/j.watres.2009.12.036

Wichterle, O., Lím, D., 1960. Hydrophilic Gels for Biological Use. *Nature* 185, 117–118. doi:10.1038/185117a0

Willimann, H., Luisi, P.L., 1991. Lecithin organogels as matrix for the transdermal transport of drugs. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 177, 897–900.

Willimann, H., Walde, P., Luisi, P.L., Gazzaniga, A., Stroppolo, F., 1992. Lecithin organogel as matrix for transdermal transport of drugs. *J. Pharm. Sci.* 81, 871–874.

- Wintergerst, U., Hoffmann, F., Jansson, A., Notheis, G., Huss, K., Kurowski, M., Burger, D., 2008. Antiviral efficacy, tolerability and pharmacokinetics of efavirenz in an unselected cohort of HIV-infected children. *J. Antimicrob. Chemother.* 61, 1336–1339. doi:10.1093/jac/dkn112
- Wyss, A., Cordente, N., von Stockar, U., Marison, I. w., 2004. A novel approach for the extraction of herbicides and pesticides from water using liquid-core microcapsules. *Biotechnol. Bioeng.* 87, 734–742. doi:10.1002/bit.20181
- Yang, L., Fassihi, R., 1996. Zero-order release kinetics from a self-correcting floatable asymmetric configuration drug delivery system. *J. Pharm. Sci.* 85, 170–173. doi:10.1021/js950250r
- Yu, H., Huang, Q., 2012. Improving the Oral Bioavailability of Curcumin Using Novel Organogel-Based Nanoemulsions. *J. Agric. Food Chem.* 60, 5373–5379. doi:10.1021/jf300609p
- Yu, L.X., Amidon, G.L., Polli, J.E., Zhao, H., Mehta, M.U., Conner, D.P., Shah, V.P., Lesko, L.J., Chen, M.-L., Lee, V.H.L., Hussain, A.S., 2002. Biopharmaceutics classification system: the scientific basis for biowaiver extensions. *Pharm. Res.* 19, 921–925.
- Zhang, L., Li, K., Xiao, W., Zheng, L., Xiao, Y., Fan, H., Zhang, X., 2011. Preparation of collagen–chondroitin sulfate–hyaluronic acid hybrid hydrogel scaffolds and cell compatibility in vitro. *Carbohydr. Polym.* 84, 118–125. doi:10.1016/j.carbpol.2010.11.009
- Zhang, Y., Rochefort, D., 2010. Comparison of emulsion and vibration nozzle methods for microencapsulation of laccase and glucose oxidase by interfacial reticulation of poly(ethyleneimine). *J. Microencapsul.* 27, 703–713. doi:10.3109/02652048.2010.509518
- Zia, H., Suzette, R.F., Mohammed, Q., Needham, T.E., Squillante, E., 1998. Ketorolac tromethamine and Ketoprofen suppositories: release profiles and bioavailability of cocoa butter base formula in rabbits. *Int. J. Os Pharm. Compd.* 2, 390–393.
- Zweep, N., 1978. Control of Structure and Function of Organogels through Self-Assembly. Rijksuniversiteit Groningen, Delfzijl.

Chapitre 2.

Préparation et caractérisation

d'organogels

d'huile de tournesol et de 12-HSA

Première partie

Transitions de phases sol-gel et gel-sol d'organogels à base d'huile de tournesol et de 12-HSA

Introduction

L'organogel est au cœur de la structure proposée dans ce travail, c'est à dire une particule « bi-gel » pour la délivrance d'un principe actif de nature hydrophobe (EFV) en environnement gastro-intestinal après administration par voie orale. Sa composition, la structure du réseau tridimensionnel du gélifiant, la nature de la phase organique, la concentration et l'état de dispersion du principe actif dans la phase huile (solubilisé ou dispersé) sont des paramètres déterminants de la fonctionnalité des particules bi-gels qui nous souhaitons développer. Ce chapitre est donc dédié à l'étude de l'organogel qui sera structuré à partir d'une huile végétale (l'huile de tournesol) et un d'organogélifiant : le 12-HSA.

Nous nous sommes penchés dans un premier temps sur la détermination de la transition sol-gel des organogels constitués d'huile de tournesol (phase organique) et 12-HSA (gélifiant).

Le premier paramètre d'étude est la concentration du 12-HSA dans l'organogel.

La présence d'une molécule active solubilisée dans la phase huile peut modifier les propriétés de ces gels. Nous avons donc mesuré cet effet en déterminant les transitions de phases des organogels contenant de l'EFV. Le deuxième paramètre de l'étude est la concentration de l'EFV dans l'organogel. Néanmoins, une donnée indispensable pour la réalisation de cette deuxième étude est la solubilité de l'EFV dans l'organogel. Elle a été déterminée par calorimétrie en solution.

La première partie de ce Chapitre 2 est dédié à l'étude des organogels d'huile ; y nous présentons les différentes méthodes d'analyse mises en œuvre pour :

- caractériser les transitions de phases sol-gel et gel-sol des organogels constitués d'huile de tournesol et différentes concentrations en 12-HSA ;
- mesurer la solubilité de l'EFV dans l'organogel au dessus de sa température de transition *gel-sol* (90°C) ;

- caractériser les transitions de phase des organogels à deux concentrations différentes de 12-HSA et deux concentrations différentes d'EFV.

I-1. Produits

Nous avons utilisé de l'huile de tournesol comme phase organique. Elle a été choisie comme phase organique et solvant pour l'EFV car il s'agit d'une huile riche en vitamine E, qui est un excellent antioxydant et aide le bon fonctionnement de l'organisme, en améliorant la santé cardiovasculaire et contrôlant le cholestérol sanguin. Cette huile (masse volumique 0,92 g/mL) est constituée majoritairement par l'acide linoléique (Omega 6), l'acide oléique (Omega 9) et l'acide palmitique (Tableau 10).

Tableau 10. Composition des acides gras de l'huile de tournesol (Anvisa, 1999).

Composé	Législation % (g/100g)
Acide myristique	< 0,5
Acide palmitique	3,0-10,0
Acide palmitoléique	< 1,0
Acide stéarique	1,0-10,0
Acide oléique	14,0-35,0
Acide linoléique	55,0-75,0
Acide linolénique	< 0,3
Acide araquidique	< 1,5
Acide eicosénoïque	< 0,5
Acide béhénique	< 1,0
Acide érucique	< 0,5
Acide lignocérique	< 0,5
Acide tetracosénoïque	< 0,5

L'acide 12-hydroxystéarique (12-HSA 85%, $C_{18}H_{36}O_3$, masse molaire 300,48g/mol) provient de chez Alfa Aesar (France). Sa température de fusion est proche de 76 °C pour une enthalpie de fusion de l'ordre de 182 J/g (Eloundou et al., 2005).

La molécule pharmaceutique modèle étudiée, l'Efavirenz, est fournie par la société Cristalia Ltda (Itapira, São Paulo, Brésil), avec une pureté de 99,9%. Elle se présente sous la forme d'une poudre blanche avec une masse molaire de 315,68 g/mol.

I-2. Méthodes de caractérisation

I-2.1 Détermination des transitions de phase gel-sol et sol-gel par calorimétrie différentielle à balayage

Des organogels ont été préparés en vue d'une analyse thermique pour déterminer leur température de fusion (T_m), de cristallisation (T_c) et les enthalpies respectives, en traçant le diagramme de transitions de phase correspondants.

Pour la préparation des organogels, une masse donnée de la molécule gélifiante (12-HSA) est ajoutée à une masse préalablement pesée d'huile végétale dans un flacon en verre (10ml), selon le pourcentage massique en HSA désiré soit : 2%, 4%, 5%, 6%, 8%, 10%, 15%, 20%, 30% et 40%. Le mélange physique est placé en étuve à 85 °C pendant 30 min afin de permettre la solubilisation complète du HSA dans l'huile. Par simple retour à température ambiante, l'organogel est formé.

Les transitions de phase sol-gel et gel-sol des organogels sont déterminées en utilisant un analyseur thermique FRS5 (Mettler Toledo, France) après deux passages : le premier est effectué afin de s'affranchir de l'histoire thermique des matériaux; le second permet la mesure des différentes transitions au sein des organogels étudiés. Les vitesses de chauffage et de refroidissement en température sont fixées à 3°C/min, sous un débit de 20 ml/min d'azote.

Les échantillons d'une masse de 5 à 10 mg sont placés dans un creuset en aluminium de 40µL scellé par un couvercle embouti. Un creuset vide de même poids est utilisé comme référence.

Les conditions opératoires pour les échantillons sont :

- Montée en température de 15 à 85 °C ;
- Refroidissement depuis la température de 85°C jusqu'à 15 °C ;

- Maintien d'un palier isotherme à 15 °C pendant 20 minutes ;
- Montée en température de 15 à 85 °C ;
- Refroidissement depuis la température de 85 °C jusqu'à 15 °C.

I-2.2. Mesure de la solubilité de l'Efavirenz dans l'organogel d'huile de tournesol-12HSA

Dans le cadre de notre étude, notre intérêt portant principalement sur le flux de chaleur dégagée au moment de la dissolution du principe actif dans l'organogel, un calorimètre Calvet C80 Setaram a été utilisé.

Le C80 est un calorimètre de mélange composé de deux cellules identiques placées au sein d'un bloc calorimétrique: une cellule de référence (R) et une cellule de mesure (M) comme montré par la Figure 43. Le volume des cellules est de 10 cm³. Un assemblage de thermocouples placés autour des cellules permet la mesure précise du flux thermique échangé entre les cellules et le bloc calorimétrique.

Deux fluxmètres sensibles et symétriques constitués de thermocouples connectés en série entourent les cellules expérimentales et relient thermiquement ces cellules au bloc calorimétrique. Etant montés en opposition, ils délivrent un signal électrique proportionnel à la différence entre les flux de chaleur échangés entre chacune des cellules et le bloc. Lors de la dissolution de l'EFV, le signal est constitué par un pic dont l'aire est proportionnelle à la quantité de chaleur dégagée de la dissolution de l'EFV dans l'organogel. Son intégration conduit à une valeur d'enthalpie. La présence de deux éléments identiques permet de travailler en différentiel de manière à conserver en permanence une référence parfaitement stable à confronter à la mesure.

Différents types de cellules existent selon leur utilisation. Nous avons utilisé une cellule de mélange par retournement, adaptée aux mélanges liquide-liquide et mélanges solide-liquide (notre cas). La cellule présente deux compartiments séparés par un piston. Les deux compartiments sont mis en communication par le retournement de l'appareil. Cette cellule permet de séparer initialement l'organogel et le principe actif (solide) puis de les mélanger dans le calorimètre.

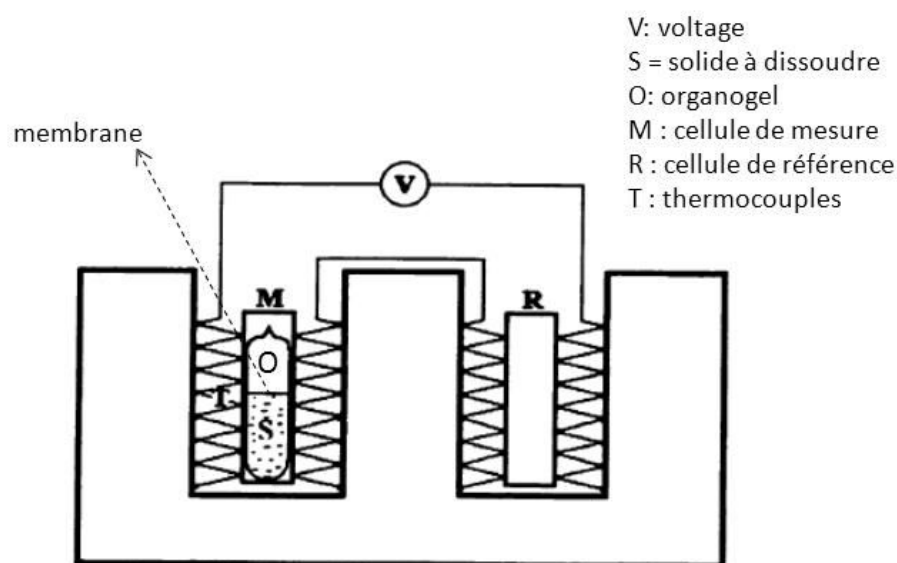


Figure 43. Schéma simplifié du calorimètre de mélange C80 utilisé.

La procédure expérimentale suivie pour effectuer des mesures de chaleur de dissolution du principe actif dans l'organogel est décrite comme suit :

Une quantité d'organogel est introduite dans un premier compartiment de la cellule de mesure. Une masse d'EFV est pesée au moyen d'une balance analytique (30, 60, 70, 80, 83, 85, 90 mg par gramme d'organogel) et ensuite disposée dans un autre compartiment adjacent, séparé du premier par un piston. Après atteinte de l'équilibre thermique dans l'appareil, le retournement du calorimètre est déclenché, ayant pour effet le mélange des deux produits. La cellule qui sert de référence contient la même quantité du mélange (huile plus HSA) précédemment cité mais sans le principe actif. Les résultats obtenus se présentent sous la forme d'une courbe représentant l'évolution du flux de chaleur au cours du temps (Figure 44).

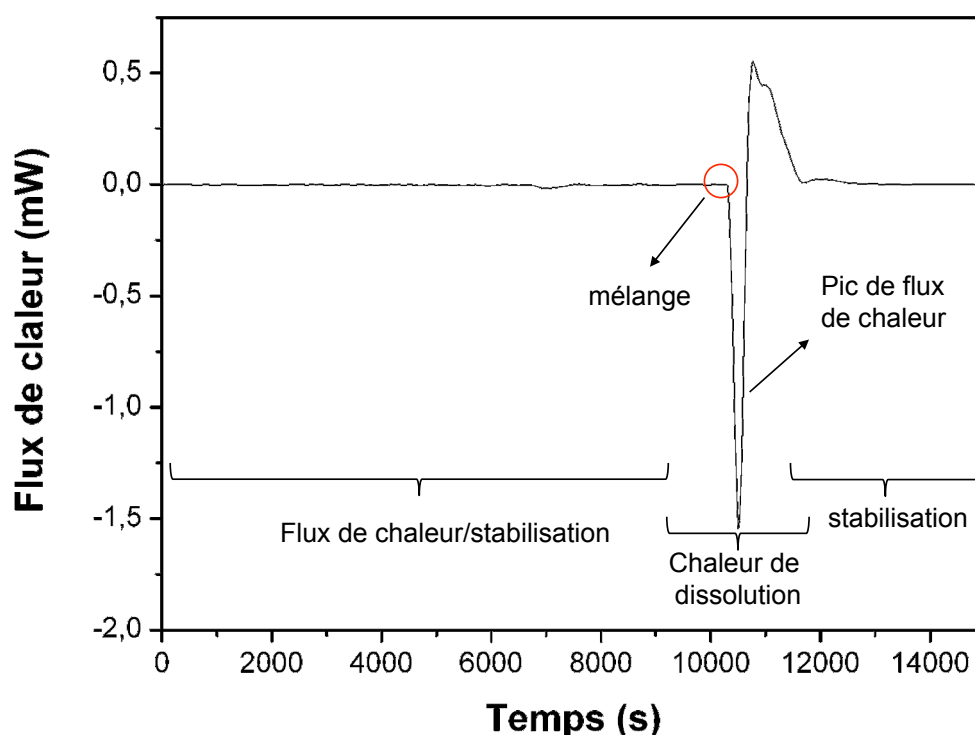


Figure 44. Courbe du flux de chaleur dégagé au cours de l'encapsulation avec le calorimètre C80.

Les chaleurs de dissolution (Q_{sol}) seront ainsi déterminées par l'intégration du pic de flux de chaleur (Figure 44). L'enthalpie de solution (ΔH_{sol}) correspond à (équation 2.1) :

$$\Delta H_{sol} = \frac{Q_{sol}}{m} \quad (2.1)$$

où m est la masse du solide dissous.

Ces essais ont été réalisés à une température de 90 °C (température qui sera fixée dans la suite de notre étude pour la génération des organogels par la technologie de prilling ; cette étude sera présentée dans le Chapitre 3).

La composition de l'organogel a été également fixée : 20% en 12-HSA en masse. Cette composition représente celle de l'organogel le plus concentré en molécule gélifiante que nous utiliserons pour les études d'encapsulation et relargage de notre principe actif à partir de billes d'organogel constituant le cœur de billes noyau-membrane, le bi-gels (Chapitre 3).

I-3. Résultats et discussion

I-3.1 Transitions de phases *sol-gel* et *gel-sol*

I-3.1.1 Effet de la concentration de la molécule gélifiante

Les structures tridimensionnelles formées dans les gels physiques par l'auto-assemblage des molécules gélifiantes peuvent subir des changements structuraux sous l'effet de la chaleur. Lors de la transformation de phase *sol-gel*, les réarrangements structuraux se traduisent par la formation des liaisons non covalentes et passage d'un état déstructuré (agrégats) à un auto-assemblage ordonné. En effet, ce passage s'apparente à une 'cristallisation' et est un processus exothermique. Nous l'appellerons ici de '**gélification**' ou 'cristallisation apparente'. La calorimétrie différentielle à balayage (DSC) mesure cette chaleur dégagée et permet d'identifier la transition de phase sol-gel des organogels.

En sens inverse, l'absorption de chaleur lors de la transition de phase *gel-sol* s'apparente à une fusion et est un processus endothermique qui peut aussi être mesuré par DSC, permettant d'identifier, à son tour, la transition *gel-sol* ('**dégélification**').

A l'aide de cette technique, nous avons étudié l'effet de deux paramètres sur les transitions de phase sol-gel et gel-sol des organogels constitués d'huile de tournesol (phase organique) et d'acide 12-hydroxystéarique (12-HSA): la **concentration en 12-HSA** et la **concentration en principe actif (EFV)**.

Nous avons caractérisé les organogels pendant une phase de chauffe et une phase de refroidissement lent (3 °C/min). La **Figure 45** représente les résultats typiques obtenus pour toutes les compositions d'organogels étudiées (2 à 30% en 12-HSA). Les cycles de chauffe et refroidissement sont réversibles, ce qui confirme la thermoreversibilité des organogels étudiés. Pour l'analyse des résultats présentés par la suite, nous allons nous concentrer sur les données enregistrées pendant le deuxième cycle de chauffage-refroidissement.

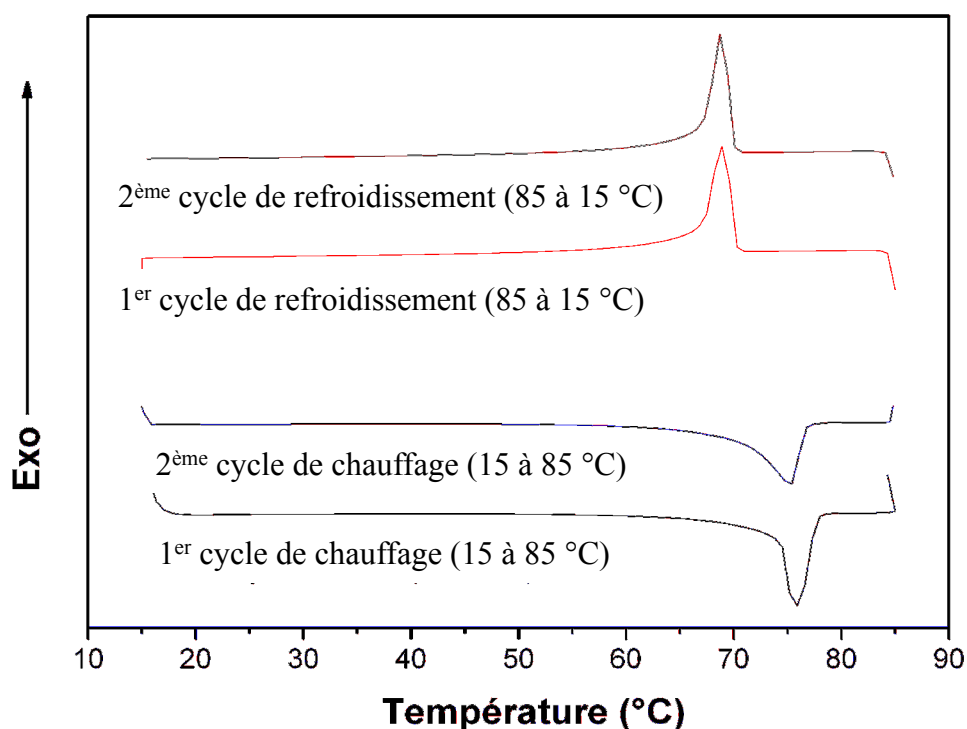


Figure 45. Thermogrammes DSC typiques obtenus pour toutes les compositions d'organogels étudiés (2 à 30% en 12-HSA) avec deux cycles de chauffage-refroidissement de 15 à 85°C (3°C/min).

Les Figures Figure 46-A et Figure 46-B montrent les thermogrammes DSC obtenus à partir du deuxième cycle de chauffage-refroidissement imposé aux organogels constitués de 2 à 30% en 12-HSA.

Les thermogrammes DSC de la Figure 46-A correspondent au cycle de chauffage entre 15 °C et 85 °C, tandis que les thermogrammes de la Figure 46-B correspondent au cycle de refroidissement entre 85°C et 15°C. Ces courbes permettent de mettre en évidence trois particularités :

- Figure 46-A : Un phénomène endothermique associé à la transition *gel-sol*, qui a lieu dans la plage de température [56,6 ; 77,4 °C].
- Figure 46-B: Un phénomène exothermique associé à la transition *sol-gel*, situé dans la plage de température [51,1 ; 70,5 °C].

- Les courbes sont respectivement décalées vers des *températures* plus hautes avec l'augmentation de la concentration en 12-HSA.

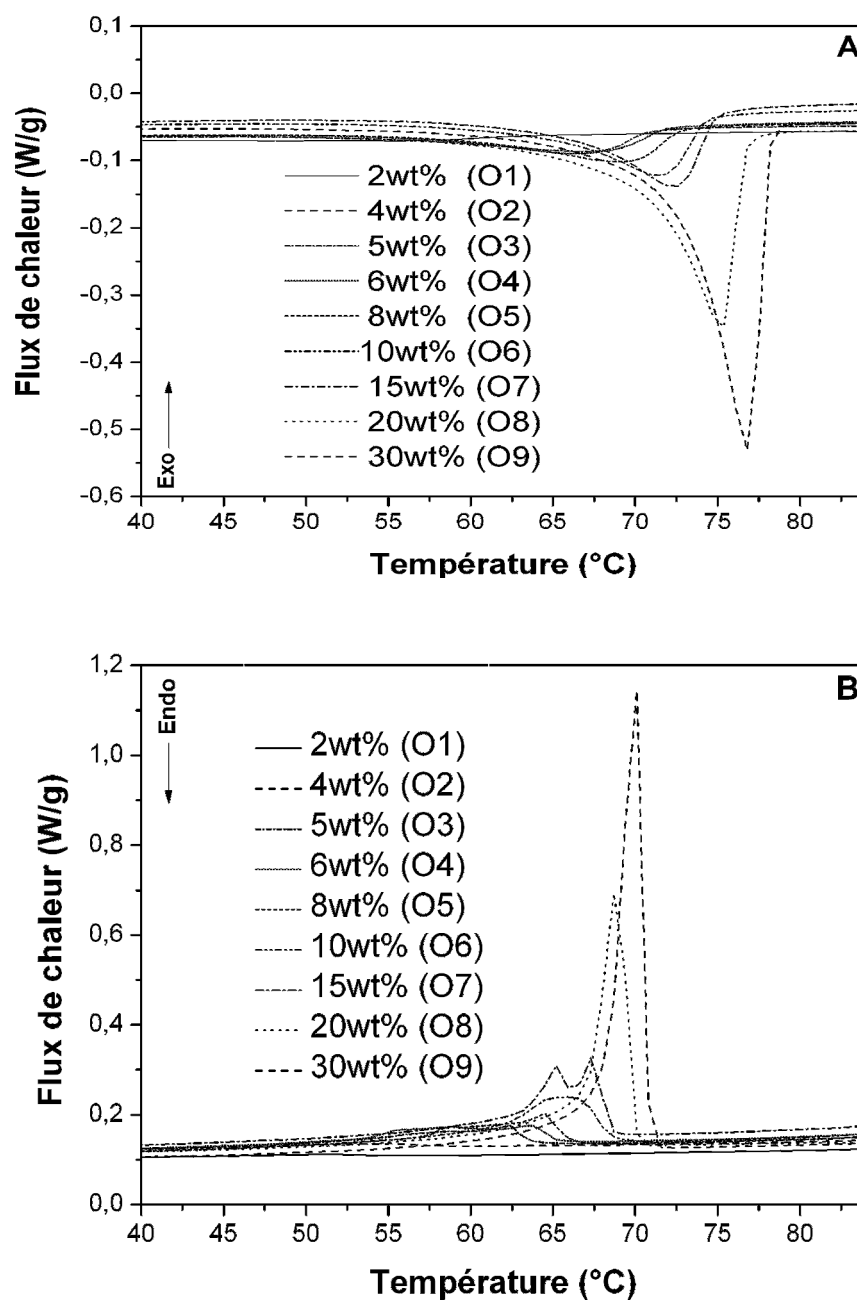


Figure 46. Thermogrammes DSC du deuxième cycle de chauffage (A) puis refroidissement (B) d'organogels à 3°C/min. Les organogels contiennent différentes teneurs en masse en 12-HSA (2 à 30%).

L'intégration des courbes donne accès à l'énergie dégagée ou absorbée au cours des transitions thermiques des organogels. Le Tableau 11 consigne pour chaque expérience les principaux résultats obtenus :

- la température « onset » correspondant à la température d'initiation de la transition de phase (T_{onset}) ;
- la température qui correspond au maximum du pic de la transition c'est-à-dire lorsque le flux de chaleur est maximum (T_{max}) ;
- la température « endset » correspondant à la température qui signale la fin de la transition de phase (T_{endset}) ;
- la chaleur dégagée au cours des transitions sol-gel (ΔH_c) et gel-sol (ΔH_m).

Le Tableau 11 nous montre que la T_m se décale vers des températures plus élevées avec l'augmentation de la concentration en 12-HSA. Cette valeur est proche de la température de fusion du 12-HSA qui est de 76 °C (Eloundou et al., 2005).

Il est peut-être opportun de rappeler que notre principal objectif est l'optimisation d'une structure à base d'organogel dans laquelle l'EFV serait tout en piégé, restant solubilisé dans l'huile de tournesol. Cette structure doit être capable de libérer l'EFV en milieu intestinal après administration orale. Les organogels étant thermoréversibles, leur stabilité thermique est un paramètre important à prendre en compte lors du choix de la formulation, et est influencé par la concentration en 12-HSA. Les températures de fusion apparente de nos organogels sont proches de 48 °C pour la concentration de 12-HSA la plus faible (2%), ce qui veut dire que les organogels étudiés (gamme de 2 à 30%) sont tous appropriés pour l'application envisagée.

I-3.1.2 Effet de la concentration d'Efavirenz

La présence d'un principe actif dans la phase huileuse peut faire varier l'enthalpie de dissolution de la molécule gélifiante dans cette phase et modifier les transitions de phase sol-gel de notre organogel. Pour vérifier cet effet, nous avons analysé par DSC des organogels contenant de l'EFV. Néanmoins, avant d'envisager l'ajout de l'EFV dans les formulations, sa solubilité dans l'organogel a dû être déterminée afin de s'assurer que la molécule reste soluble dans les concentrations étudiées.

Nous avons mesuré la concentration à saturation à 90 °C de l'EFV dans un organogel constitué de 20% en 12-HSA. Ce choix a été fait pour garantir la solubilisation du principe actif dans l'organogel à la température de 90 °C, température d'alimentation de la tour de prilling qui nous utiliserons pour la réalisation de particules bi-gels (Chapitre 3).

La méthode a consisté à mesurer, à l'aide d'un calorimètre différentiel C80 (SETARAM), le flux de chaleur dégagée (J) lors de la dissolution d'une masse connue (g) du principe actif dans l'organogel, puis à l'aide de ces mesures, à déterminer la concentration à saturation de l'organogel à la température étudiée. Les résultats obtenus sont présentés sur la Figure 47. Ils montrent que l'augmentation de la concentration de l'EFV dans l'organogel fondu à 90 °C entraîne une augmentation linéaire de la chaleur de dissolution jusqu'à ce qu'un plateau soit atteint, ce qui correspond à la saturation du solvant en EFV à la température fixée.

Les coordonnées du point d'*intersection* des *deux droites* sur la Figure 47 sont :

- Concentration à saturation à 90 °C = 75 mg EFV/g_{organogel} ;
- Enthalpie de dissolution = 2,01 J/g

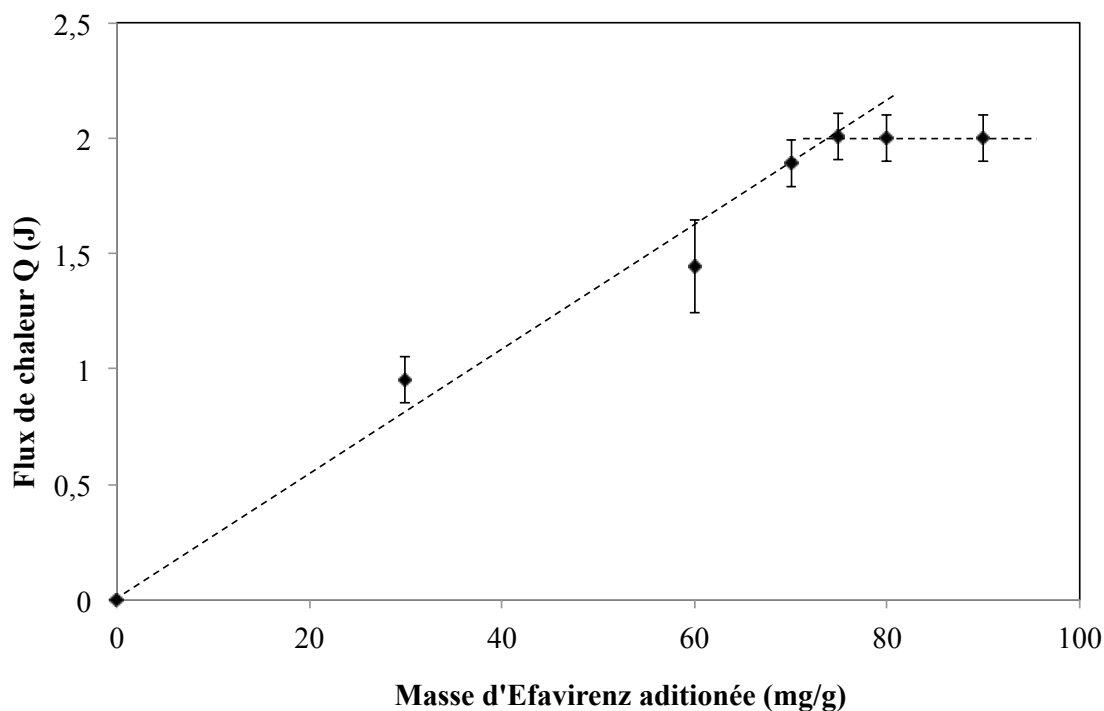


Figure 47. Evolution du flux de chaleur dégagé (J) lors de la dissolution d'une masse connue du principe actif dans l'organogel ($\text{mg}_{\text{EFV}}/\text{g}_{\text{organogel}}$). Mesures réalisées à 90°C à l'aide d'un calorimètre différentiel C80 (SETARAM); Concentration en 12-HSA de 20%.

Des concentrations inférieures ont été utilisées pour la préparation d'organogels contenant l'EFV : 30 $\text{mg}_{\text{EFV}}/\text{g}_{\text{organogel}}$ et 60 $\text{mg}_{\text{EFV}}/\text{g}_{\text{organogel}}$. Le diagramme de phase a été alors retracé avec l'introduction du principe actif à ces deux concentrations : 30 mg/g et 60 mg/g dans des organogels préparés avec différents concentrations en 12-HSA : 5%, 10%, 20% et 30% en masse.

Les Figure 48 A et B montrent les thermogrammes DSC obtenus à partir du deuxième cycle de chauffage-refroidissement imposé aux organogels constitués de 20% en 12-HSA, dans lesquels l'EFV a été ajouté aux deux concentrations étudiées.

Les thermogrammes DSC de la Figure 48 (A) correspondent à l'analyse des organogels lors du cycle de chauffage entre 15 °C et 85 °C, tandis que les thermogrammes de la Figure 48 (B) correspondent à l'analyse lors du cycle de refroidissement entre 85 °C et 15 °C. Ces courbes permettent de mettre en évidence les mêmes phénomènes endothermique (transition *gel-sol*) et exothermique (transition *sol-gel*) que ceux observés en absence d'EFV.

Rappelons que l'enthalpie de fusion de l'organogel (ΔH_m) combine au moins deux contributions énergétiques distinctes: (1) l'enthalpie de fusion des fibres, théoriquement

invariable et indépendante de la composition du solvant si les fibres comprennent uniquement des molécules de gélifiant organisées dans une structure plus homogène et régulière et, (2) l'enthalpie de dissolution du gélifiant dans le solvant, qui est liée à l'affinité moléculaire entre les espèces et qui dépend du solvant utilisé (Murata et al., 1994 ; Gronwald et al., 2001).

L'effet de la présence d'un principe actif dans les transitions de phase d'un organogel n'est pas généralement discuté dans les travaux de recherche de la littérature car les principes actifs se trouvent pour la plupart en suspension dans l'organogel (Iwanaga et al., 2010 ; Lupi et al., 2013).

Dans notre cas, l'ajout du principe actif à l'organogel semble avoir réduit les températures (T_c , T_m) de quelques degrés (Tableau 12). Cet effet est d'autant plus remarquable que la concentration de 12-HSA est plus importante. Un effet similaire de décalage (diminution de température) du début des transitions a été récemment reporté pour des organogels d'huile de soja et différents acides myristique, palmitique, stéarique et arachidique comme gélifiants (Wang et al., 2014).

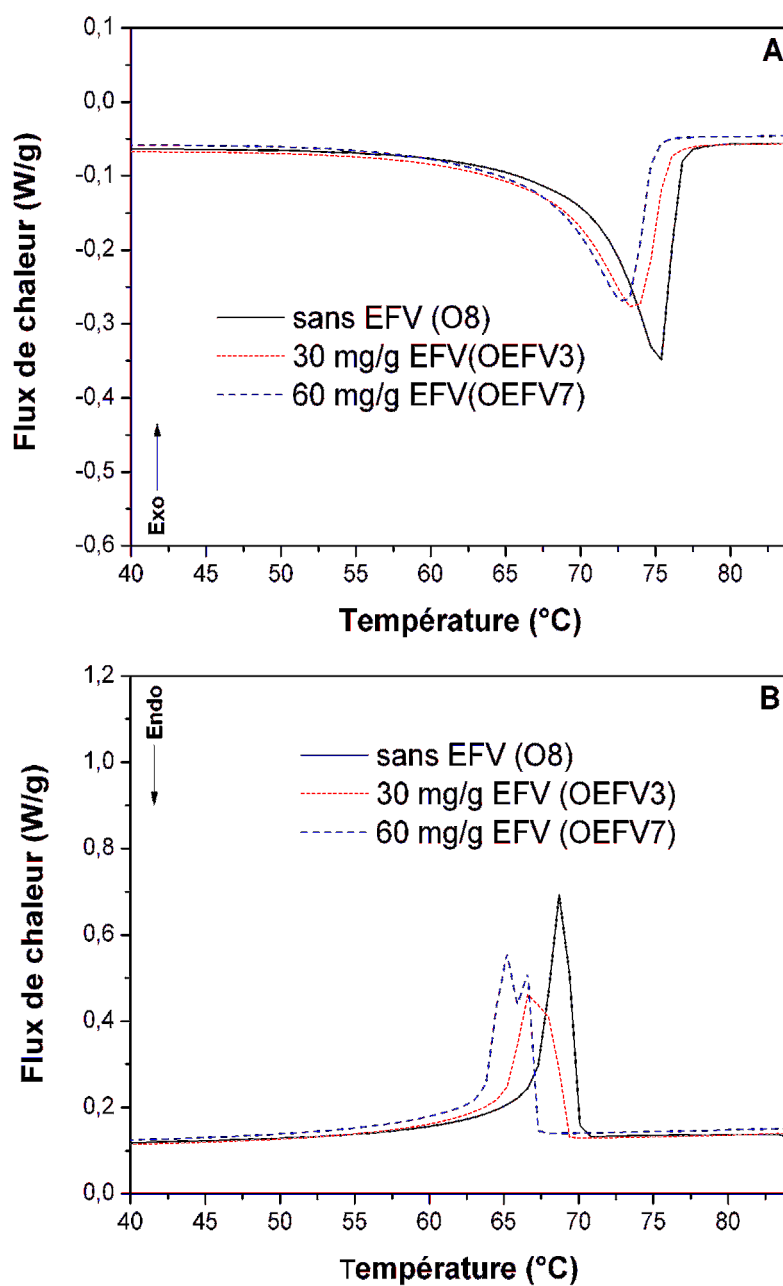


Figure 48. Thermogrammes de DSC du deuxième cycle de chauffage (A) et refroidissement (B) à 3°C/min des organogels de 12-HSA à 20% en masse avec 30 et 60 mg de l'Efavirenz par gramme de gel.

Tableau 12. Paramètres représentant les différentes transitions thermiques des organogels lors du deuxième cycle de chauffage-refroidissement à

% 12-HSA (Code)	Fusion apparente (transition <i>gel-sol</i>)			Cristallisation apparente (transition <i>sol-gel</i>)				
	Onset(°C)*	T _m (°C)*	Endset(°C)*	ΔH _m (J/g)*	Onset(°C)*	T _c (°C)*	Endset(°C)*	ΔH _c (J/g)*
30 mg EFV								
5 (OEFV1)	55,2 (6,55)	62,5 (0,39)	70,8 (3,03)	-5,1 (0,08)	61,0 (0,39)	58,8 (0,07)	55,5 (1,19)	4,8 (0,18)
10 (OEFV2)	60,2 (0,38)	69,7 (0,56)	73,2 (0,25)	-11,0 (0,20)	66,6 (0,04)	64,2 (0,42)	60,2 (0,68)	10,1 (0,86)
20 (OEFV3)	68,4 (1,02)	74,3 (1,08)	76,2 (0,58)	-28,5 (1,12)	68,9 (0,35)	67,2 (0,14)	64,9 (0,18)	27,7 (0,12)
30 (OEFV4)	72,8 (2,47)	75,6 (0,31)	77,1 (0,20)	-41,4 (1,5)	70,3 (0,05)	69,6 (0,10)	68,0 (0,04)	39,0 (0,49)
60 mg EFV								
5 (OEFV5)	50,9 (5,87)	58,0 (2,62)	61,8 (5,13)	-5,7 (0,44)	56,0 (0,78)	52,0 (1,49)	47,4 (0,22)	5,0 (0,27)
10 (OEFV6)	59,2 (0,18)	69,4 (1,05)	72,0 (0,31)	-13,7 (0,97)	62,6 (0,03)	61,1 (0,56)	59,1 (0,56)	13,9 (0,06)
20 (OEFV7)	70,0 (4,36)	73,6 (1,00)	75,01 (0,32)	-27,6 (1,25)	67,1 (0,08)	65,2 (0,08)	64,6 (0,56)	28,3 (0,04)
30 (OEFV8)	72,0 (2,81)	74,8 (0,13)	76,6 (0,10)	-40,4 (1,41)	69,7 (0,4)	68,2 (0,07)	66,7 (0,23)	38,8 (0,34)
Moyenne (écart-type)*								

I-3.1.3 Analyse de l'évolution des T_m , T_c , ΔH_m et ΔH_c avec la concentration en 12-HSA

Nous pouvons constater, comme le montre la Figure 49, que les températures T_m ($T_{gel-sol}$) et T_c ($T_{sol-gel}$) des organogels accroissent rapidement de façon logarithmique avec la concentration en 12- HSA. Ce comportement n'est pas modifié par le principe actif, EFV, présent dans l'organogel à deux concentrations différentes.

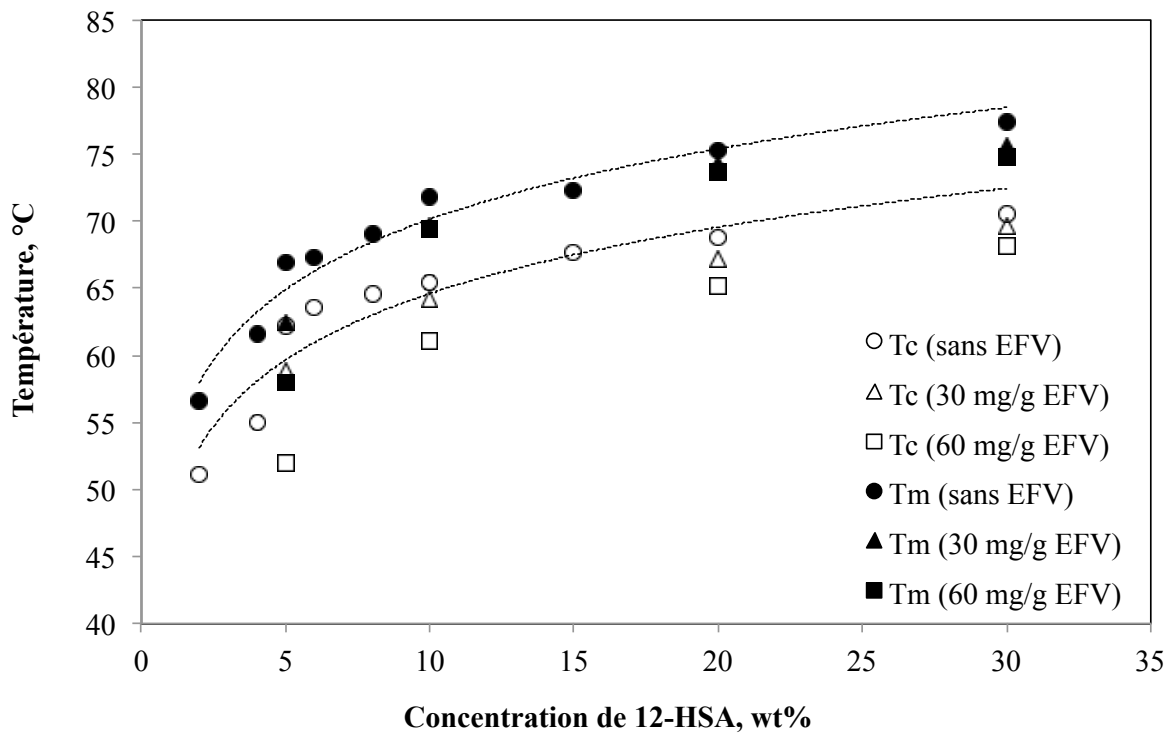


Figure 49. Evolution des températures de fusion T_m (gel-sol) et cristallisation T_c (sol-gel) des organogels d'huile de tournesol et 12-HSA (20%), en absence ou présence de l'EFV.

Comme déjà dit précédemment, la transition *gel-sol* est parfois interprétée comme une dissolution ou fusion des 'cristaux' des molécules gélifiantes (Murata et al., 1994 ; Kaszyńska et al., 2012). Dans cette logique, la concentration du gélifiant correspond à la solubilité des 'cristaux du gélifiant' dans une solution idéale à une température T_m donnée par l'équation suivante, appelée équation de Schroeder-van Laar (Murata et al., 1994 ; Amanokura et al., 1998 ; Kaszyńska et al., 2012) :

$$L_{In} C = \frac{-\Delta H_m}{R.T_m} + constante \quad (2.2)$$

où R est la *constante universelle des gaz* et ΔH_m correspond à l'enthalpie de fusion apparente (*gel-sol*) du gélifiant pur et C , sa concentration molaire dans le gel. Selon l'équation (2.2), un tracé de $\ln C$ en fonction de $1/T_m$ doit être une droite. Cette relation de dépendance linéaire est confirmée sur la Figure 50.

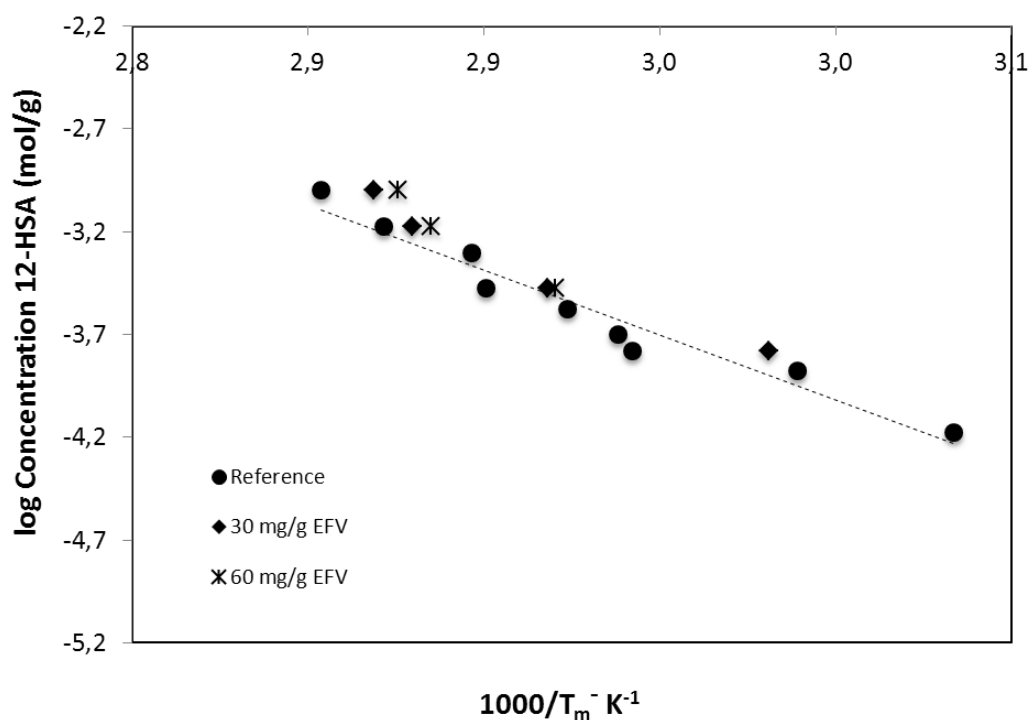


Figure 50. Représentation de l'équation de Schroeder-van Laar pour l'analyse de l'influence de la *concentration en gélifiant* sur la température de transition *gel-sol* (T_m).

Une évolution linéaire des valeurs d'enthalpies calculées à partir des courbes de fusion et cristallisation est montrée sur la Figure 51. Des comportements similaires ont été déjà reportés dans la littérature utilisant le 12-HSA dissous en phases organiques différentes (Bui and Virgilio, 2013).

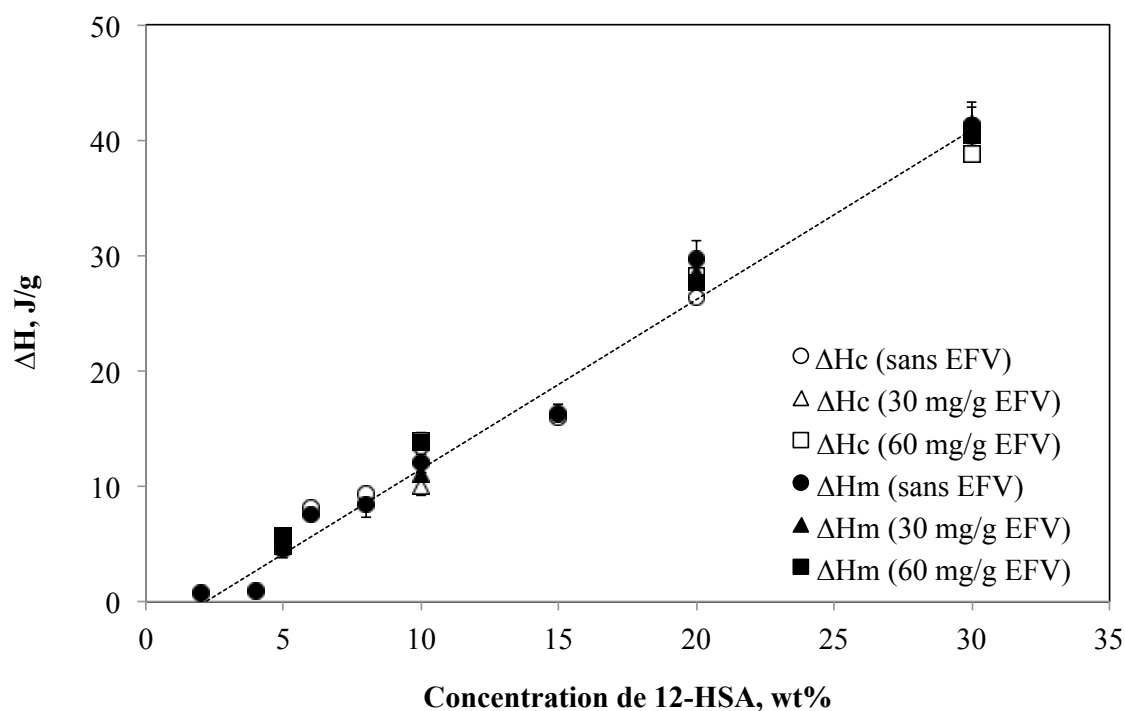


Figure 51. Evolution linéaire des enthalpies de transition de phase avec la concentration du gélifiant (12-HSA), en absence ou en présence de l'EFV.

I-4. Conclusion sur l'étude de transition de phase de l'organogel de l'huile de tournesol/HSA (EFV)

La caractérisation physico-chimique d'un organogel permet d'apprécier ses changements de structure en fonction de la concentration en molécules gélifiantes et d'autres paramètres tel que la présence d'une molécule active dissoute dans la phase organique (huile).

Les effets de la quantité (30 et 60 mg/g) d'EFV sur les températures de T_m et T_c ont été analysés par calorimétrie différentielle à balayage (DSC). Ces analyses ont montré que l'ajout d'EFV a réduit de quelques degrés la température de fusion pour les échantillons composés de concentrations plus élevées en 12-HSA. En revanche, la température de cristallisation se décale vers des températures d'autant plus basses que l'ajout d'EFV augmente.

Deuxième partie

Organogels sous forme massive : cinétiques de libération de l'Efavirenz

Introduction

Dans cette deuxième partie du Chapitre 2 dédié à l'étude des organogels, nous nous intéressons à la diffusion de l'EFV encapsulé dans une forme massive d'organogel (gélule de taille millimétrique) afin d'étudier l'effet de la formulation sur la perméabilité. Les paramètres de cette étude ont été les concentrations du principe actif et de l'agent gélifiant. La perte de poids subie par l'organogel a été également suivie dans le temps (érosion).

Nous décrivons les techniques de préparation d'organogels sur forme massive et les techniques de caractérisation utilisées pour suivre le relargage de l'EFV et l'évolution du poids de ces formes au cours du temps. Les résultats obtenus sont présentés et interprétés à l'aide de modèles mathématiques, afin d'appréhender les mécanismes contrôlant leurs propriétés de relargage.

II-1. Produits

En plus de l'huile de tournesol, de l'acide 12-hydroxystéarique et du principe actif Efavirenz, les produits utilisés pour la préparation des milieux de dissolution sont :

- des enzymes : pepsine (activité enzymatique de 800 $\mu\text{mole/min}$) et pancréatine (activité enzymatique de 1750 $\mu\text{mole/min}$) qui tout comme l'acétonitrile (grade HPLC) proviennent de Sigma-Aldrich (France).
- du *dodécylsulfate de sodium* (SDS) utilisé comme tensioactif ionique qui provient de VWR (Prolabo, France).
- des sels : phosphate de sodium monobasique (NaH_2PO_4) et phosphate de sodium dibasique (Na_2HPO_4) utilisés pour tamponner les milieux ; ils sont de qualité analytique, VWR (Prolabo, France).
- d'eau utilisée est distillée et purifiée grâce à un système de purification d'eau Milli-Q (Purelab classique DI , MK2, E3lga, Royaume-Uni).

II-2. Méthodes de caractérisation

II-2.1 Mesure de la solubilité de l'Efavirenz dans l'huile de tournesol à la température de l'expérience de libération *in vitro*

La solubilité de l'Efavirenz dans l'huile de tournesol a été mesurée à 37 ± 1 °C, température à laquelle cette molécule doit rester solubilisée dans son solvant (phase organique de l'organogel).

L'EFV est ajouté en excès (5 g) dans des flacons borosilicatés contenant la phase huile (50 g). La dispersion est maintenue sous agitation et à température constante. Des prélèvements sont réalisés après 24, 48 et 72 h.

Chaque échantillon est dilué dans le solvant adapté (acétonitrile dans une proportion 1:1). Un prélèvement de la solution résultante est ensuite dilué dans un mélange 60% d'acétonitrile et 40% de tampon acétate d'ammonium.

Les solutions sont analysées par Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC) (LaChrom Elite, Hitachi) pour déterminer la quantité d'EFV dissous. Cette technique permet la séparation d'un ou plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification. Le système chromatographique est composé d'un réservoir de solvant (phase mobile), d'un système de pompage, d'une colonne (phase stationnaire), d'un injecteur, d'un détecteur UV-Vis et d'une station d'acquisition de données. L'appareil utilisé est équipé d'une colonne en phase inverse C18, 250 x 4,6 mm, 5 µm (KinetexTM - Phenomenex, France). Les conditions opératoires de la colonne ont été optimisées : phase mobile acétonitrile: tampon acétate 60%:40%, débit de 1,0 mL/min. La longueur d'onde est 252 nm et le volume d'injection de 40 µL. Les expériences ont été effectuées en triplicate.

II-2.2. Etude de libération du principe actif à partir d'organogels sous forme massive

II-2.2.1. Préparation des milieux pour les tests de libération *in vitro*

Le milieu de simulation du fluide gastrique (Simulated Gastric Fluid, **SGF**) est préparé par ajout de 2,0 g de chlorure de sodium et 7 mL de HCl (37%) à 1 L d'eau ultra-pure contenant de la pepsine (1,6 mg/L). Le pH est fixé à 1,2. Le milieu de simulation du fluide intestinal (Simulated Intestinal Fluid, **SIF**) est préparé en mélangeant 12 mL de solution de NaH_2PO_4 (à 28,4 g/L_{eau}) et 88 mL de solution de Na_2HPO_4 (à 31,2 g/L_{eau}) dans un 1 L d'eau ultra-pure, avec ajout de pancréatine (8,75 mg/L). Le pH est fixé à 6,8. Nous avons ajouté 1% en masse du tensioactif *SDS* à ces milieux de dissolution (Brazil, 2010).

La solubilité de la molécule étudiée n'a pas été mesurée dans ces milieux aqueux sans additifs, mais ces données sont reportées dans la littérature, comme nous l'avons vu dans le Chapitre 1 de ce manuscrit. Afin de considérer des conditions 'sink' tout au long de la dissolution et éviter une recristallisation de la quantité d'EFV libérée de l'organogel, pour les milieux sans additifs, une solubilité de l'EFV d'environ 9,3 µg/ml de solution représenterait une concentration à utiliser d'environ 4.650 µg/ml (C cuve ~0,3* 1.395 µg/ml). Cependant, cette valeur est très faible, d'une part pour la quantification par HPLC, et d'autre part, pour la détermination de la cinétique de dissolution puisque, dans les premiers temps, la quantité de l'EFV serait trop faible. La concentration de 1% en SDS a été choisie également sous la base des données reportées dans le Chapitre 1 (Quatrième partie).

II-2.2.2 Protocole expérimental

Nous avons conçu un protocole permettant de suivre en simultané la variation de poids de la forme massive et la quantité de principe actif diffusé dans le milieu de dissolution. Ce protocole a été inspiré d'un protocole proposé précédemment dans la littérature (Iwanaga et al., 2010). L'organogel étudié est préparé par moulage dans une gélule de gélatine dure taille 00. La taille 00 correspond à une gélule avec les dimensions suivantes : volume de 0,95 mL ; longueur de 23,3 mm ; diamètre de 8,2 mm.

L'huile de tournesol, 12-HSA et l'EFV sont préalablement pesés et mélangés. Le mélange est chauffé à une température de 90°C sous agitation puis coulé dans les capsules de gélatine. Les paramètres variés lors de cette étude sont la concentration en gélifiant (5%, 20% HSA) et la température de refroidissement (25 °C ; 5 °C).

Pour les tests de dissolution *in vitro*, un appareil USP à panier tournant à la vitesse de 50 tr/min a été utilisé (Sotax AT7, Suisse). L'organogel, sous la forme massive d'une gélule 'taille 00', est placé dans un panier rotatif et immergé dans 500 ml d'un des milieux de dissolution étudiés, maintenu à 37 ± 0,5 °C. Après un intervalle de temps prédéterminé (1, 2, 3, 4, 6 et 8 h), la gélule est retirée du milieu (Figure 52), séchée à température ambiante pendant 24 h et pesée.

Conjointement au prélèvement de la gélule du milieu de dissolution, un prélèvement du milieu de dissolution (5 mL) est effectué. Ils sont analysés par Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) (LaChrom Elite, Hitachi) pour déterminer la quantité d'EFV dissous. Le système chromatographique est composé d'un réservoir de solvant (phase mobile), d'un système de pompage, d'une colonne (phase stationnaire), d'un injecteur, d'un détecteur UV-Vis et d'une station d'acquisition de données. L'appareil utilisé est équipé d'une colonne en phase inverse en C18, 250 x 4,6 mm, 5 µm (Kinetex™ - Phenomenex, France) et les conditions opératoires de la colonne ont été optimisées : phase mobile ACN: tampon acétate 60:40, débit de 1,0 mL/min (USP, 2007). La longueur d'onde est 252 nm et le volume d'injection de 40 µL. Des expériences ont été effectuées en duplicate.

La variation du poids de la capsule suivie en fonction du temps d'incubation se traduit par un pourcentage d'érosion calculé de la façon suivante :

$$E (\%) = \left(\frac{m_0 - m_t - m_{EFV \text{ libérée}}}{m_0} \right) \times 100 \quad (2.3)$$

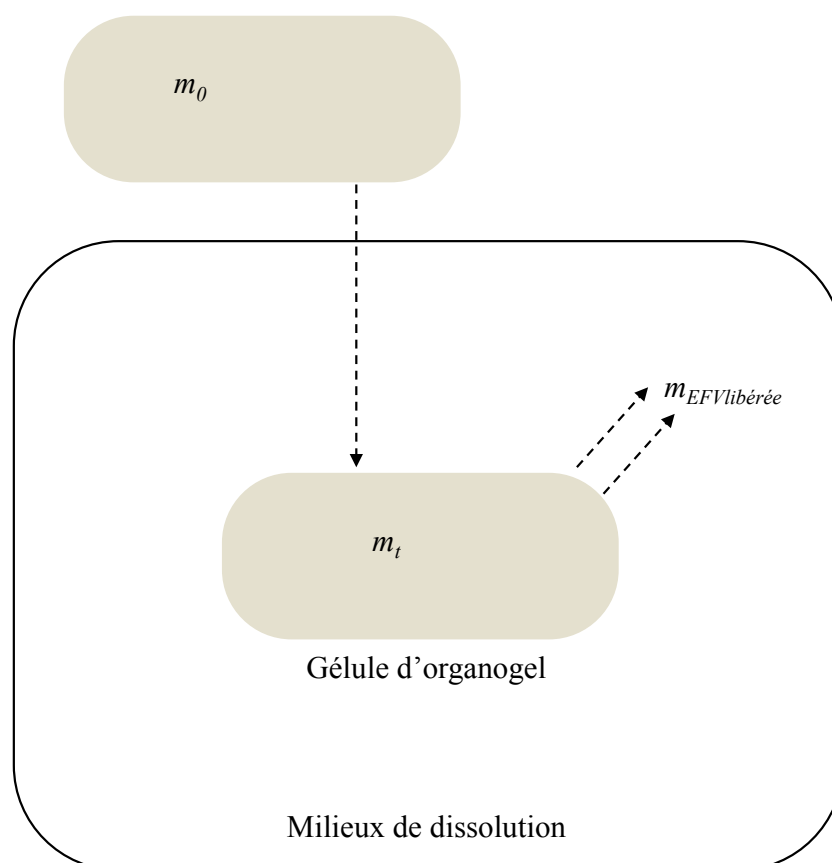


Figure 52. Schéma représentatif de l'essai de dissolution de la forme massive de l'organogel de 12-HSA.

Où

m_0 = masse initiale de l'organogel ;

m_t = masse de l'organogel à l'instant t ;

$m_{EFVlibérée}$ = massa d'EFV libéré dans le milieu de dissolution (quantifiée par HPLC).

II-2.2.3 Évaluation du mécanisme de libération du principe actif en utilisant différents modèles cinétiques

Un grand nombre de modèles mathématiques empiriques et mécanistiques sont proposés pour décrire la libération de molécules actives à partir de matrices polymériques caractérisés par un réseau 3D. Même si les organogels ont des structures différentes des

systèmes polymériques, les modèles existants peuvent être utiles pour corréler les données expérimentales et les comparer, afin d'analyser l'effet des différentes formulations (concentration en gélifiant, taux de chargement d'EFV dans l'organogel) et du mode de fabrication des organogels (température ou vitesse de refroidissement) sur leurs propriétés de relargage de l'EFV.

Nous avons appliqué quatre modèles mathématiques à notre étude afin de mieux identifier le mécanisme de libération du principe actif étudié : Higuchi, Hixson-Crowell, Hopfenberg et Korsmeyer-Peppas. Les modèles mathématiques appliqués ainsi que leurs expressions mathématiques et la nature du mécanisme correspondant sont reportés dans le Chapitre 1 (item 1.6.4.1, Modèles cinétiques).

II-3. Résultats et discussion

II-3.1 Mesure de la solubilité de l'Efavirenz dans l'huile de tournesol à la température des essais de libération *in vitro* (37 °C)

Avant d'effectuer les essais de dissolution la linéarité de la méthode HPLC a été vérifiée. La linéarité d'une méthode est sa capacité, à l'intérieur d'un certain intervalle, à fournir des résultats proportionnels à la concentration en soluté à doser dans l'échantillon (FDA, 1996).

Pour évaluer la linéarité de notre méthode, cinq solutions d'EFV ont été préparées par dissolution de la poudre d'EFV dans le solvant constitué par 60% d'acétonitrile et 40% de tampon acétate d'ammonium : 2 µg/mL, 8 µg/mL, 16 µg/mL, 20 µg/mL, 40 µg/mL de solution.

La droite d'étalonnage (Figure 53) obtenue montre une bonne corrélation pour la gamme de concentration de 2 à 40 µg/mL de solution ($y = 83,623x$, $R^2 = 0,9999$), dépassant le 0,99 qui est le minimum recommandé par les organismes de régulation (FDA, 1996).

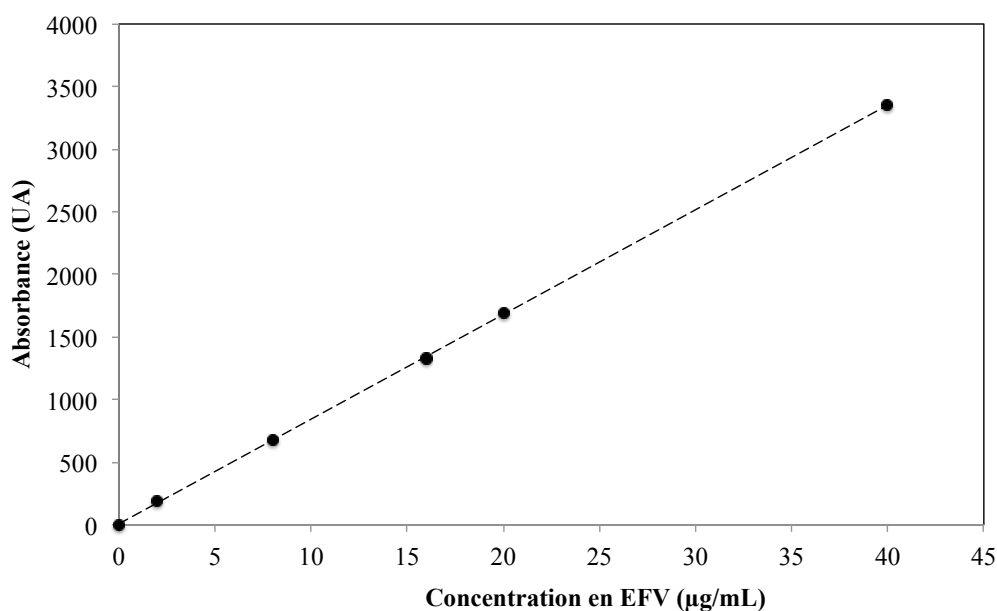


Figure 53. Courbe d'étalonnage pour la quantification de l'EFV en solutions aqueuses.

Les résultats de l'étude de solubilité à 37 ± 1 °C de l'EFV dans la phase huile de l'organogel sont donnés dans le Tableau 13. Les concentrations sont calculées à partir des aires obtenues par l'analyse en HPLC en considérant la courbe d'étalonnage fournie par la Figure 53. Ces résultats ont été obtenus après différents temps d'équilibration.

L'équilibre liquide-solide à température et pression constantes est normalement atteint lorsque la concentration en solution n'évolue plus au cours du temps. Pour les molécules peu solubles, le temps d'équilibre peut être excessivement long dû à une faible cinétique de dissolution qui est de plus en plus faible à mesure que l'équilibre avance et que la concentration en solution s'approche de la saturation. Dans notre cas, l'équilibre est considéré comme atteint lorsque la différence entre deux valeurs consécutives est inférieure à 5%.

En bref, la solubilité de l'EFV dans l'huile de tournesol, mesurée à 37 ± 1 °C, est de 79.8 ± 0.7 mg EFV/g d'huile (Tableau 13). Cette valeur représenterait la quantité maximale d'EFV à introduire dans les structures bi-gels qui nous développons dans ce travail, c'est-à-dire, dans leurs noyaux d'organogel. Nous rappelons que l'objectif est d'administrer la molécule solubilisée dans ce véhicule. Elle doit être en concentration inférieure à la concentration de saturation dans son solvant à la température de 37 °C (température dans le tractus gastro-intestinal).

Tableau 13. Evolution de la concentration d'EFV dans l'huile de tournesol avec le temps (37 ± 1 °C).

Temps d'équilibre (h)	24	48	72
Concentration de l'EFV (mg/g _{huile})	$82,5 \pm 2,2$	$79,1 \pm 3,5$	$79,8 \pm 0,7$

II-3.2 Erosion/diffusion de l'Efavirenz à partir des organogels (format cylindrique)

L'étude qui sera décrite dans cette partie a été menée afin d'élucider le mécanisme régissant la libération de notre principe actif à partir des organogels.

Le mécanisme de libération d'un principe actif à partir d'une matrice est généralement contrôlé par diffusion ou par érosion, ou l'ensemble de deux (Miyajima et al., 1998 ; Mehta et

al., 2001). Dans les matrices lipidiques ou hydrophobes solides la libération d'une substance active est essentiellement contrôlée par diffusion à travers la matrice, associée ou non à son érosion. L'un ou l'autre mécanisme est dominant en fonction des propriétés du principe actif et des excipients utilisés. Dans cette étude, l'organogel est préparé sous une forme massive, ce qui permet de suivre assez facilement sa variation de poids en cours du temps d'incubation dans les milieux de dissolution. La variation de poids est exprimée sous forme d'un taux d'érosion.

Ainsi, le taux d'érosion de la forme massive et les quantités d'EFV dans les milieux de dissolution en fonction du temps d'incubation ont été déterminés et corrélés à partir de deux matrices d'organogels différentes (moins et plus chargé en agent gélifiant) à pH 1,2 et 6,8 en présence d'enzymes.

Les données expérimentales tracées sur la Figure 54 montrent une libération initiale lente au cours de la première période ($t < 1$ h), au cours de laquelle l'EFV diffuse probablement lentement, suivie d'une seconde étape, caractérisée par une libération plus rapide. Il est connu que l'érosion combinée à la diffusion d'un principe actif peut contribuer à une libération plus rapide que la diffusion toute seule (Iwanaga et al., 2012). Ceci pourrait expliquer l'accélération de la libération après 1 h.

Les données montrées sur les Figure 54 et Figure 55 rassemblent l'influence de quatre paramètres:

- La concentration en agent gélifiant (5 ou 20 % en masse de 12-HSA) ;
- La température de formation du gel (5 °C ou 25 °C) ;
- La concentration massique d'EFV dans le gel (30 ou 60 $\text{mg}_{\text{EFV}}/\text{g}_{\text{organogel}}$) ;
- La composition du milieu d'incubation (pH 1,2 contenant de la pepsine ou de pH 6,8 enrichi de pancréatine) pour simuler le tractus gastro-intestinal.

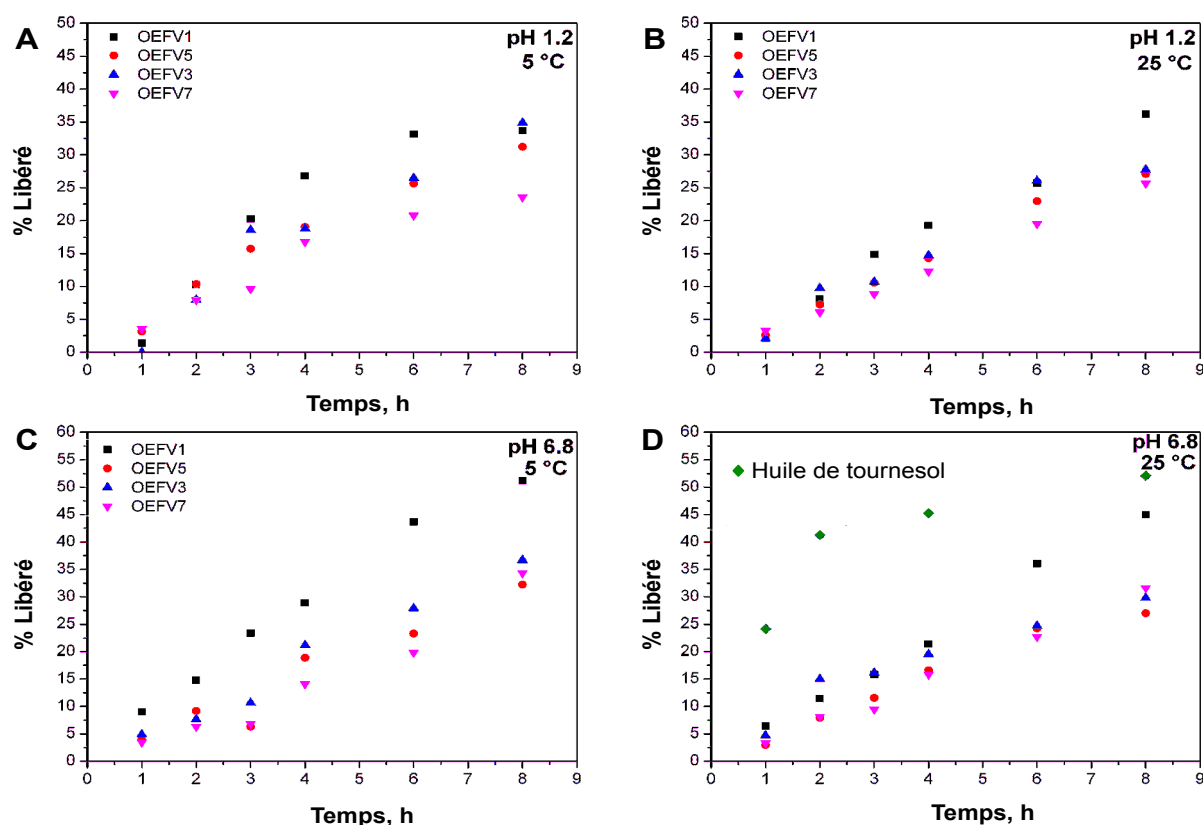


Figure 54. Evolution du taux de libération sur l'organogel contenant EFV en fonction du temps d'incubation dans les milieux de dissolution. (A, B) Milieu gastrique simulé (SGF, pH 1,2 et pepsine à 800 $\mu\text{mole/min}$ d'activité enzymatique); (C, D) Milieu intestinal simulé (SIF, pH 6,8 et pancréatine à 1750 $\mu\text{mole/min}$ d'activité enzymatique). Des expériences ont été menées en double (les écarts-types sont plus petits que les symboles).

Ces résultats nous montrent que la quantité d'EFV libéré (Figure 54) et le taux d'érosion (Figure 55) sont plus prononcés pour les organogels moins concentrés en 12-HSA (5 %) formés à plus basse température (5 °C). En effet, au bout de 8 h d'incubation, les organogels contenant 5 % de 12-HSA et 30 mg EFV/g formés à 5 °C ont libéré 34% d'EFV en milieu gastrique **SGF**, contre 51% en milieu intestinal **SIF**. Les taux d'érosion correspondants sont de 25 % et 41 %, respectivement.

Considérons maintenant les organogels les plus chargés en gélifiant (20% 12-HSA) et en principe actif (60 mg/g) formés à la même température (5 °C) : ils ont libéré 24% d'EFV en milieu gastrique **SGF**, contre 34% en milieu intestinal **SIF**. Les taux d'érosion correspondants sont de 7 % et 22 %, respectivement.

Nous pouvons également observer que la température de formation du gel influence la quantité d'EFV libéré et le taux d'érosion de l'organogel :

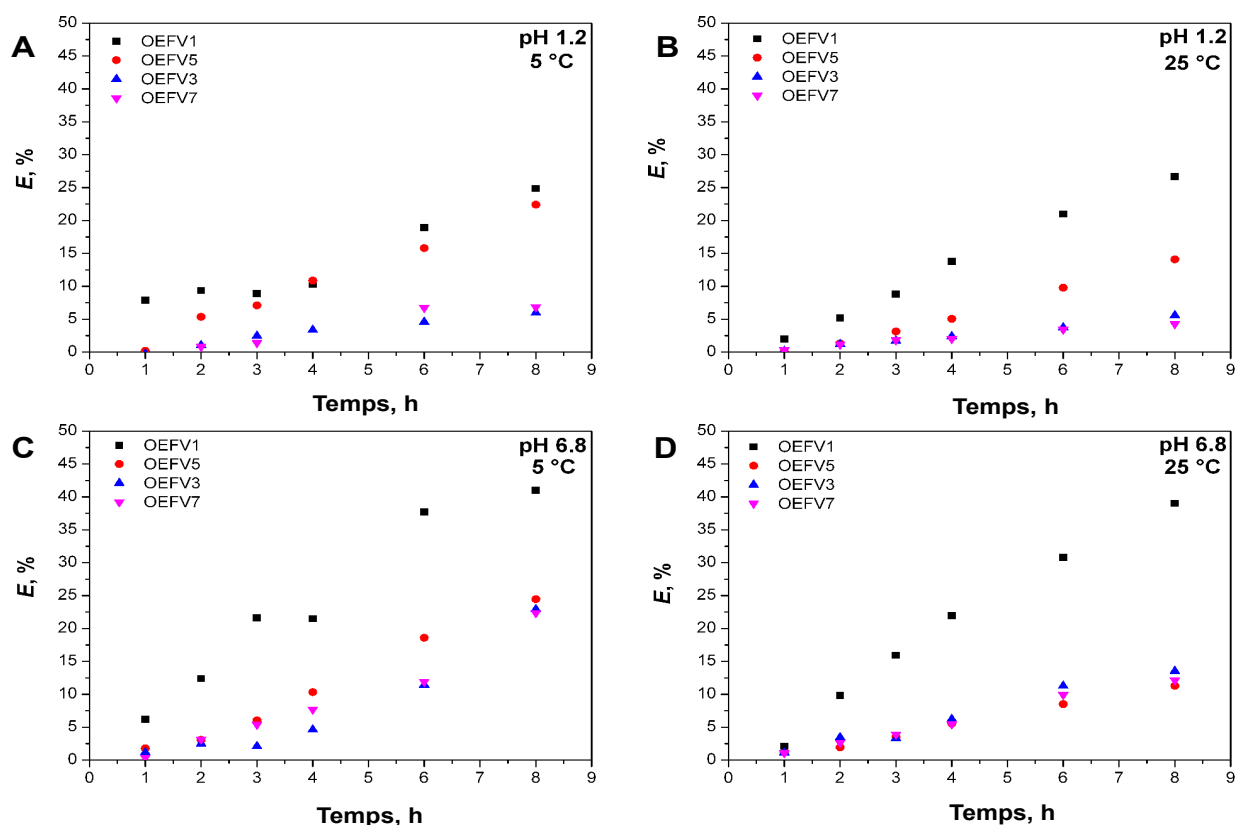


Figure 55. Evolution du taux d'érosion sur l'organogel contenant EFV en fonction du temps d'incubation dans les milieux de dissolution. (A, B) Milieu gastrique simulé (SGF, pH 1,2 et pepsine à 800 $\mu\text{mole/min}$ d'activité enzymatique); (C, D) Milieu intestinal simulé (SIF, pH 6,8 et pancréatine à 1750 $\mu\text{mole/min}$ d'activité enzymatique). Des expériences ont été menées en double (les écarts-types sont plus petits que les symboles).

- pour les organogels contenant 5% de 12-HSA et 30 mg EFV/g, l'augmentation de 5 °C à 25 °C conduit à une libération accrue de l'EFV en milieu SIF (36% en milieu SGF et 45% en milieu SIF), pour des taux d'érosion de 27% et 39%, respectivement ;
- pour les organogels contenant 20% de 12-HSA et 60 mg EFV/g, l'augmentation de 5 °C à 25 °C conduit toujours à une libération accrue de l'EFV en milieu SIF (32%) contre 26% en milieu SGF, pour des taux d'érosion respectifs de 4% et 12%.

II-3.3 Évaluation du mécanisme de libération du principe actif en utilisant différents modèles cinétiques

Les résultats expérimentaux ont été analysés à l'aide de quatre modèles mathématiques. L'analyse est donc réalisée par traçage des quantités expérimentales d'EFV libéré selon les Equations (1.14 à 1.20) correspondant aux quatre modèles décrits : Higuchi, Hixson-Crowell, Hopfenberg et Korsmeyer-Peppas. Le choix du meilleur modèle est basé sur la valeur de « R^2 », coefficient de corrélation obtenu par traçage des résultats expérimentaux selon les équations correspondantes aux modèles étudiés.

Les valeurs obtenues des coefficients de corrélation « R^2 » pour tous les modèles ainsi que « n », exposant caractéristique du modèle de Korsmeyer-Peppas sont rassemblés dans le Tableau 14.

En analysant ces résultats, on constate d'abord que, pour aucune des formulations testées, le modèle mathématique d'Higuchi ne peut être considéré comme acceptable ($R^2 < 0,90$). Le modèle qui décrit le mieux les profils de libération dans le plus part des cas est le modèle d'Hopfenberg, suivi par les modèles d'Hixson-Crowell (équation 1.18) et de Korsmeyer-Peppas (loi de puissance). Les valeurs obtenues de « R^2 » pour le modèle d'Hopfenberg sont en effet comprises entre 0,943 et 0,999.

En ce qui concerne la Loi de Puissance (équation 1.20), celle-ci est utilisée pour analyser la libération de formes galéniques pharmaceutiques à base de polymères, lorsque le mécanisme de libération n'est pas bien connu ou lorsque plus d'un type de phénomènes peuvent être impliqués. La valeur numérique de « n », l'exposant de libération, est utilisée afin de caractériser les différents mécanismes de libération. La valeur de « n » ne peut être déterminée que sur les premiers 60% de la libération (Korsmeyer et al., 1983).

Généralement quand « n » est égale ou proche de 0,5, le mécanisme de libération est contrôlé par une diffusion dite de Fick. Dans le cas où « n » est supérieur à 0,5, le mécanisme de libération n'est pas bien connu. On a alors plusieurs mécanismes impliqués, la plupart du temps, une diffusion couplée à une érosion ou à des phénomènes d'hydratation et gonflement de matrices polymériques. On remarque que les valeurs de « n » obtenues pour les cas étudiés ici sont toutes supérieures à 0,5, voire même de 1 pour la plupart des cas (Tableau 14).

En résumé, les résultats de tous ces modèles convergent vers un mécanisme de libération autre que la diffusion du principe actif dissous à travers la matrice d'organogel. Cette conclusion peut être corrélée par l'observation visuelle des matrices d'organogels avant et après incubation dans les milieux de libération. Les photographies présentées sur Figure 56 ont été prises à la fin des cinétiques. Il est clairement visible que les organogels subissent des changements d'épaisseur (diminution de diamètre), principalement les organogels contenant 5% de 12-HSA, tandis que la longueur de la matrice est restée pratiquement immuable. Ces résultats démontrent une érosion de l'organogel en surface, qui dépend de la concentration en gélifiant (Figure 56).

Ainsi, le mécanisme de libération de l'EFV à partir de forme d'organogel « massive » est une combinaison de diffusion et d'érosion de l'organogel. Les paramètres étudiés comme la température de préparation et la concentration en HSA, influent sur les cinétiques.

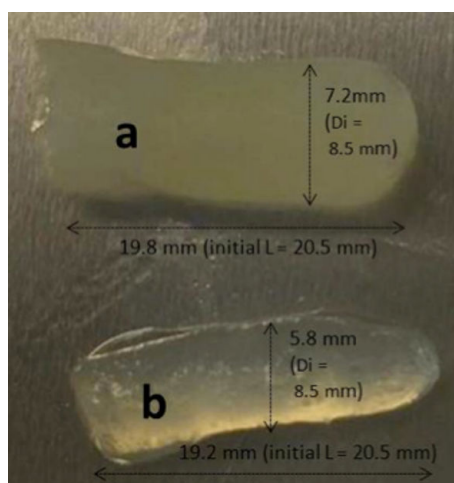


Figure 56. Organogels de 12-HSA/huile de tournesol formés dans des gélules de gélatine (taille # 00) après 8h d'incubation dans milieu SIF (pH 6,8, pancréatine à 1750 $\mu\text{mole/min}$ d'activité enzymatique). (a) 20% 12HSA et (b) 5% 12HSA. Chargés avec EFV (60 mg/g). Un pied à coulisse calibré a été utilisé pour l'évaluation du diamètre et de l'épaisseur des organogels.

Tableau 14. Les coefficients de corrélation (R^2) et les paramètres d'ajustement obtenus à partir de modèles mathématiques de Higuchi, Hixson-Crowell, Hopfenberger et Korsmeyer-Peppas pour la libération de l'EFV à partir des organogels sous forme massive.

% en 12-HSA	EFV mg/g	Code	Génération °C	Higuchi		Hixson-Crowell		Hopfenberger		Korsmeyer-Peppas		
				R ²	K _{Hi} (10 ³ .h ^{1/2})	R ²	K _{HC} (10 ³ .h ⁻¹)	R ²	K _{HP} (10 ³ .h ^{1/2})	R ²	K _{HC} (10 ³ .h ⁻¹)	n
Milieu de test : solution gastrique (pH 1.2) avec pepsine												
5	30	OEFV1	25	0,833	101,2	0,986	16,7	0,990	25,5	0,959	27,02	1,33
		OEFV1	5	0,854	117,2	0,903	19,0	0,902	26,4	0,861	24,98	1,49
	60	OEFV5	25	0,851	80,3	0,991	12,8	0,992	19,2	0,986	29,2	1,13
		OEFV5	5	0,906	97,6	0,98	15,6	0,980	21,8	0,948	40,16	1,06
20	30	OEFV3	25	0,843	86,5	0,964	13,8	0,964	20,3	0,931	28,07	1,21
		OEFV3	5	0,822	101,9	0,961	16,7	0,961	25,3	0,841	0,48	3,75
	60	OEFV7	25	0,836	71,7	0,994	11,4	0,996	17,3	0,996	31,1	1,00
		OEFV7	5	0,896	76,1	0,959	11,8	0,962	16,5	0,971	38,12	0,93
Milieu de test: solution intestinale (pH 6.8) avec pancréatine												
5	30	OEFV1	25	0,844	128,5	0,987	21,9	0,992	32,8	0,991	60,3	0,95
		OEFV1	5	0,905	158,3	0,995	27,4	0,994	38,4	0,994	87,5	0,87
	60	OEFV5	25	0,876	84,5	0,981	13,4	0,980	19,4	0,98	33,8	1,08
		OEFV5	5	0,789	84,5	0,946	14,5	0,949	22,1	0,988	42,4	0,99
20	30	OEFV3	25	0,950	99,1	0,912	15,4	0,939	19,6	0,904	60,8	0,82
		OEFV3	5	0,820	103,7	0,977	17,2	0,981	26,1	0,963	43,1	1,02
	60	OEFV7	25	0,824	86,6	0,986	14,1	0,990	21,5	0,986	34,2	1,06
		OEFV7	5	0,721	82,5	0,977	17,2	0,943	22,5	0,947	29,5	1,09

Troisième partie

Organogels sous forme particulière : aptitude à la libération d'un principe actif (Efavirenz)

Introduction

L'étude que nous avons menée dans cette dernière partie a pour objectif de générer des organogels d'huile de tournesol et 12-HSA sous forme particulière. Cette forme (billes) a été préparée par un procédé de prilling.

Dans un premier temps, la faisabilité de la méthode a été testée. Nous avons pu faire varier les conditions de refroidissement des billes d'organogel afin de visualiser cet effet sur l'organisation fibrillaire du 12-HSA par observation microscopique (cryo-MEB). Pour caractériser d'avantage les billes, nous avons aussi utilisé la microscopie Raman.

Néanmoins, cette partie s'est focalisée autour d'une étude de dissolution *in vitro* de l'organogel sous forme particulière générée par prilling (billes) avec une composition de référence, en vue d'identifier les propriétés de dissolution dans les milieux SGF et SIF. Les résultats sont présentés et discutés dans cette troisième partie du Chapitre 2.

Ces cinétiques seront les cinétiques de référence lors de la réalisation de cinétique de libération à partir de particules bi-gels, afin d'élucider le rôle de la membrane externe en hydrogel (prochain Chapitre).

III-1. Produits

Huile de tournesol, 12-HSA, EFV et milieux de dissolution déjà décrits dans les Parties 1 et 2 de ce Chapitre.

III-2. Méthodes de caractérisation

III-2.1 Protocole expérimental de fabrication de billes d'organogel par prilling

Les particules ont été générés en utilisant un équipement de prilling (Spherisator M, BRACE - GmbH, Allemagne) composé de deux systèmes de refroidissement: un bain liquide thermostaté (25 °C à 5 °C) ou une tour de refroidissement à l'air (jusqu'à -30 °C). Cet équipement fait partie des moyens matériels de la plateforme technologique régionale **GALA®**, orientée recherche et innovation, spécialisée dans le développement de stratégies galéniques.

Pour cette série d'essais préliminaires, nous avons utilisé la tour de refroidissement pour un refroidissement à l'air (Figure 57, 8) et un réacteur en verre d'un volume de 1 L pour un refroidissement en milieu liquide (Figure 57, 8'), en vue d'explorer l'effet des conditions de refroidissement sur les organogels formés par prilling. Le réacteur en verre utilisé dans le deuxième cas présente un système de double enveloppe permettant son refroidissement par un bain thermostaté.

Comme déjà dit précédemment dans le Chapitre 1, le principe de fonctionnement de cet équipement schématisé sur la Figure 57 consiste à extruder une phase liquide à travers un système de buse en vibration. Un débit et une vibration adaptés conduiront à la formation de gouttes monodisperses et équidistantes. Afin d'adapter la technique aux phases liquides à extruder, un système contrôle permet le réglage de la fréquence, de l'amplitude de vibration, de la pression d'air, ainsi que de la température souhaitée au sein de la tête de prilling. Une lampe stroboscopique placée en arrière de la tête de prilling permet une meilleure visualisation de la formation des gouttelettes à la sortie de la buse.

Les organogels sont préparés à partir d'un mélange constitué de l'huile de tournesol et du gélifiant 12-HSA chauffé sous agitation mécanique jusqu'à obtention d'une solution homogène. Le choix de la température s'est porté sur 90 °C. Rappelons qu'il est nécessaire de chauffer l'organogel afin de permettre son passage à travers les tubulures et la buse.

Ensuite, le mélange fondu est extrudé à travers une buse vibrant à une fréquence de vibration donnée, à la sortie de laquelle le jet liquide est rompu en gouttelettes de tailles calibrées. Ces gouttelettes sont ensuite refroidies à une température inférieure à la Tgel lors de leur chute libre, soit dans la colonne de refroidissement (1,80 m d'hauteur) à une température contrôlée (-30 °C), soit dans un volume d'eau à 25 °C dans le réacteur en verre. Ces gouttelettes forment ainsi des billes gélifiées d'organogel.

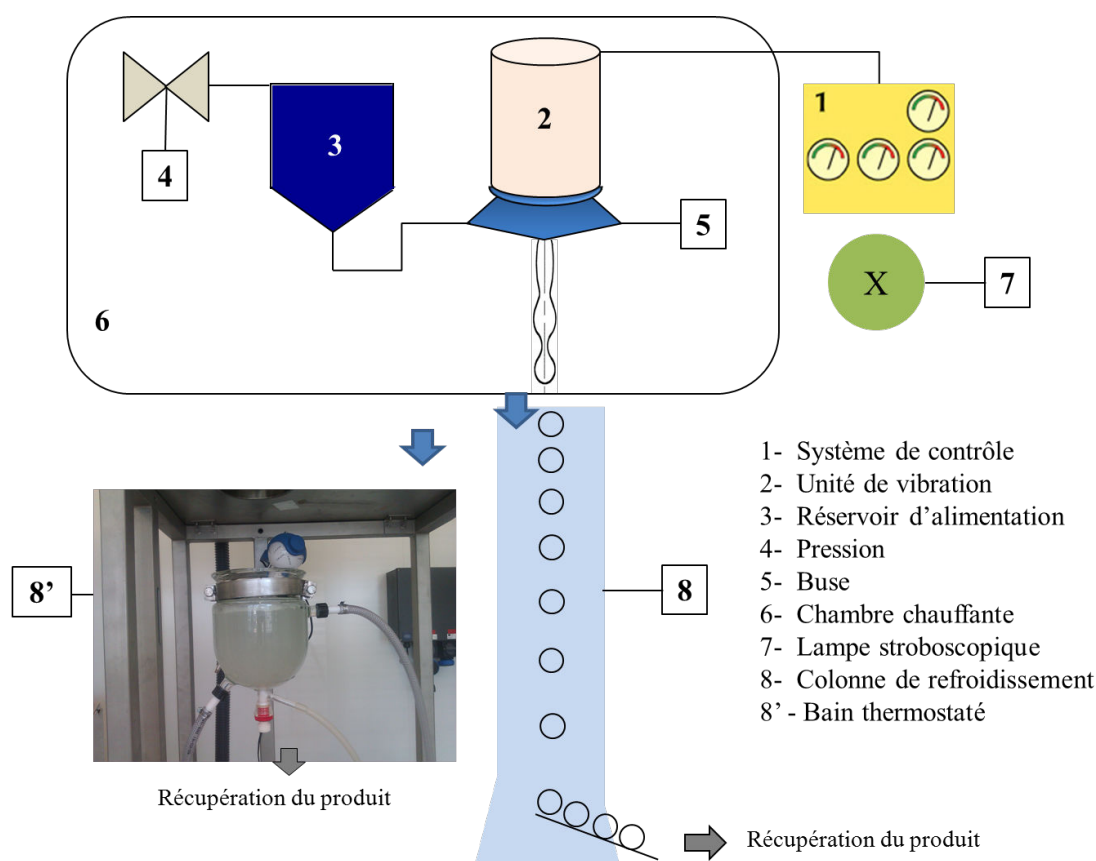


Figure 57. Schéma de génération des particules par la technologie de prilling dans une tour refroidissement à l'air (8) ou dans l'eau à température contrôlée (8').

Les billes d'organogel ont été fabriquées à partir de 20%, 30% ou 40% en masse de 12-HSA dans l'huile de tournesol. A la fin de chaque essai, les billes gélifiées ont été récupérées immédiatement et stockées à 20 °C, jusqu'au moment des expériences de caractérisation.

III-2.2 Caractérisation de l'organogel sous forme particulière

III-2.2.1 Microscopie électronique à balayage

Utilisation en mode environnemental. Des images MEB ont été prises avec un microscope électronique à balayage, équipement XL30 ESEM- FEG (Philips, USA). Ce type de microscopie est basé sur le principe des interactions électrons-matière : un faisceau d'électrons balaie la surface de l'échantillon à analyser qui, en réponse, réémet certaines particules. Ces particules sont analysées par différents détecteurs qui permettent la reconstruction d'une image de la surface.

Utilisation en mode cryogénique. Afin de ne pas perturber la structure interne et l'état des organogels, une caractérisation par cryo-MEB a été utilisée. Les images Cryo-MEB ont été obtenues par microscope Quanta FEG-250 (Fei Phillips, Pays-Bas). Les échantillons sont d'abord sublimés à -90 °C pendant 10 minutes afin d'éliminer toute trace d'humidité puis l'observation est faite à -140 °C.

III-2.2.2 Dissolution *in vitro* d'une forme particulière d'organogel

Après avoir vérifié la faisabilité de générer des billes d'organogel par la technique de prilling, des formulations contenant 20% de 12-HSA et chargées avec 60mg/g d'EFV ont été préparées (refroidissement en solution à 25 °C) pour une étude de dissolution *in vitro*.

L'essai de dissolution a été effectué en utilisant des cellules à flux continu (CFC) (CH4008, SOTAX, Suisse), modèle de cellule à poudre en circuit fermé (Pharmacopée Européenne). Un schéma du montage expérimental utilisé est montré sur la Figure 58. Vingt billes d'organogel ont été introduites dans la cellule avec 50 mL de milieu de dissolution maintenu à 37 °C à un débit de 16 mL/min. Chaque essai a été effectué sur trois cellules et mené avec deux milieux de dissolution différents (pH 1,2 et 6,8), permettant de simuler les conditions gastriques SGF et/ou intestinales SIF.

Les milieux de dissolution ont été préparés comme décrit dans la Partie 2 de ce Chapitre, mais sans enzymes. Des échantillons liquides (50 μ L) ont été prélevés des milieux à temps prédéterminés (0,5 ; 1,0, 1,5 ; 2,0 ; 3,0 4,0 ; 5,0 ; 6,0 ; 7,0 et 8,0 h) pour une analyse de la concentration d'EFV dissous par HPLC, selon les conditions opératoires aussi précédemment décrites (II-2.2.2).

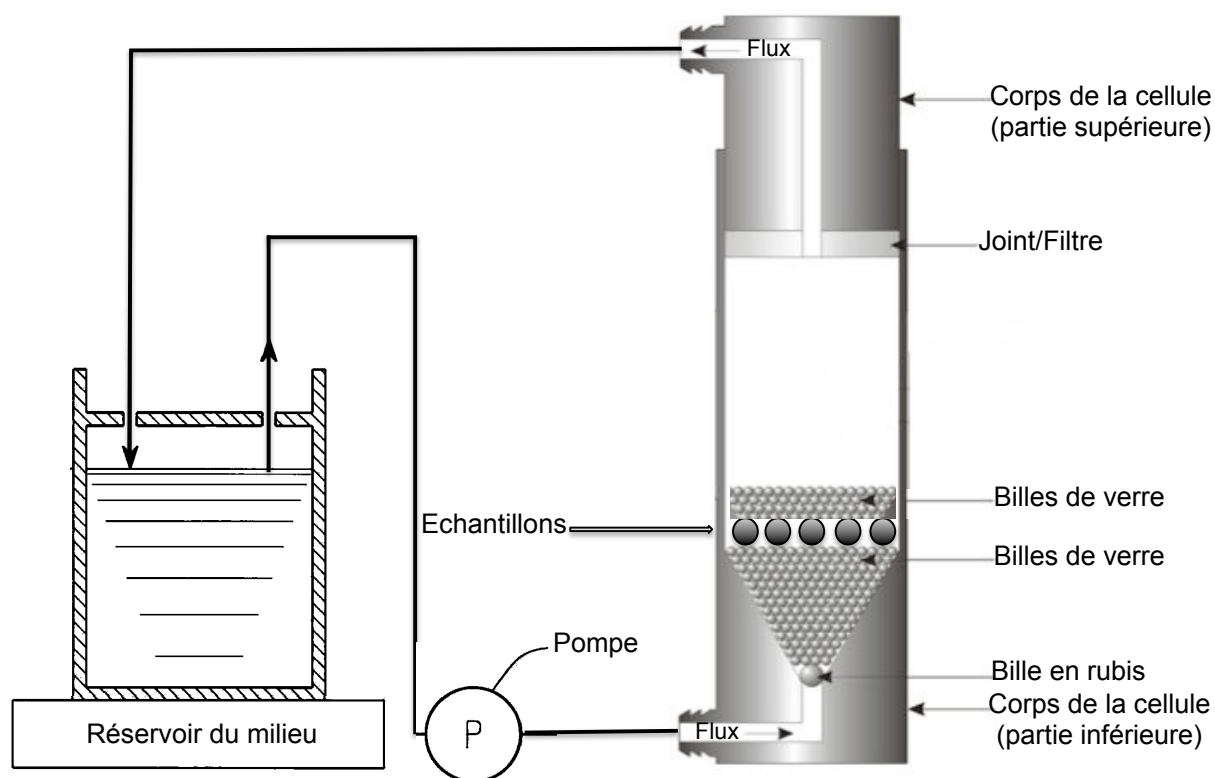


Figure 58. Schéma d'une cellule à flux continue en circuit fermé utilisé dans les essais de dissolution des billes d'organogel.

III-2.2.3 Microscopie Raman

Pour caractériser davantage les billes préparées pour l'étude de dissolution in vitro, des analyses complémentaires ont été réalisées par spectroscopie Raman.

Le principe de la spectroscopie Raman consiste à envoyer une lumière monochromatique sur l'échantillon et à analyser la lumière diffusée. Cette lumière diffusée subit une modification de fréquence, cette réponse est de très faible intensité et est difficile à

observer à côté du phénomène majoritaire : la diffusion de lumière sans changement de fréquence (diffusion Rayleigh). Le processus mis en jeu est le suivant : les photons incidents sont détruits et leur énergie sert à créer des photons diffusés et à créer (processus Stokes) ou à détruire (processus anti-Stokes) des vibrations dans l'échantillon étudié. On peut ensuite obtenir des cartes en 2D ou 3D représentatives des espèces chimiques présentes dans l'échantillon.

La cartographie Raman a été effectuée en utilisant le microscope confocal Raman 300AR Alpha-AFM (Witec, Allemagne), équipé d'un laser à une longueur d'onde de 532nm.

Les sections de billes ont été analysées par un objectif de 50x, avec résolution latérale de 432 nm et résolution axiale de 1320 nm. Tous les spectres ont été acquis en utilisant un temps de pose de 10 s et un pas de 200 nm. La zone cartographiée était d'environ 15 μm x 30 μm . Les spectres Raman ont été produits sur la plage de 200-3600 cm^{-1} . Après reconstruction des spectres des composants purs et de composants sous-jacents reconstruits, les contributions relatives de ces signaux en chaque point mesuré ont pu être calculées en les projetant sur l'ensemble des données de base corrigées et normalisées. La distribution spatiale de chacun des composants sous-jacents a ensuite été générée.

III-3. Résultats et discussion

III-3.1 Mise au point d'un protocole expérimental pour la formation d'une forme particulière d'organogel par prilling

Plusieurs paramètres importants interviennent dans la formation de gouttelettes par prilling (Brandenberger et al., 1999) :

- la fréquence de vibration appliquée sur la buse: une fréquence plus élevée fournit des gouttelettes plus petites.
- l'amplitude de vibration: une amplitude plus élevée donne des gouttelettes plus sphériques et moins allongées.
- la pression d'air utilisée pour pousser le liquide à travers la buse.

- le diamètre de la buse utilisée.

Le Chapitre 1 nous a permis d'appréhender que, dans la littérature, il existe des équations simples permettant de calculer la taille théorique des particules produites par prilling (Serp et al., 2000) Le diamètre de la gouttelette peut être déterminé par :

$$d_d = \sqrt[3]{\frac{3}{2} d_j^2 \lambda_{opt}} \quad (2.8)$$

avec F le débit de liquide, f la fréquence de vibration appliquée, 400 μm le diamètre du jet.

La formation des billes d'organogels se fait en plusieurs étapes successives: dissolution du HSA dans l'huile à chaud, maintien du système (huile + HSA) au sein de la tête de prilling à l'état liquide à 90 °C ($T \gg T_{gel}$), formation de gouttelettes calibrées par une fréquence de vibration adaptée puis refroidissement contrôlé de ces gouttelettes.

La formation de gouttelettes sphériques et de taille mono disperse nécessite un ajustement ou compromis à trouver entre ces paramètres. De ce fait, avec chaque organogel préparé, une étape de détermination visuelle des « meilleurs » paramètres est nécessaire: nous avons testé les conditions paramétriques présentées dans le Tableau 15.

Tableau 15. Paramètres fixés lors des essais de prilling.

Diamètre de la buse (μm)	% 12-HSA	Fréquence de vibration (Hz)	Amplitude (mV)	Pression de poussée du liquide dans la buse (mbar)
800	10	500	5000	100
800	20	450	5000	100
800	30	250	6000	100
400	30	250	3000	50
400	40	250	4000	50

Après une longue série d'essais pour l'identification de l'effet de paramètres variés sur la taille, la forme et le rendement en nombre de billes récupérées, nous avons identifiés les paramètres fixés pour la suite de cette étude :

- ✓ Pression d'air : 50 mbar
- ✓ Diamètre de la buse : 400 μm
- ✓ Fréquence de vibration : 250 Hz
- ✓ Amplitude : 3000 mV

Le diamètre de gouttelettes auxquelles on pourrait s'attendre en fixant ses paramètres pour l'opération du prilling est de 670,5 μm , selon calcul théorique à partir de l'équation 2.8.

III-3.2 Observations morphologiques

Dans les premier temps nous observons, par microscopie électronique à balayage, la forme et la texture des organogels obtenus par prilling. Cette analyse révèle une forme sphérique avec une distribution de taille très homogène d'environ 600-700 μm , comme le montre la **Figure 59**, ce qui correspond au diamètre attendu selon le calcul théorique ($d_d = 670,5 \mu\text{m}$). La technologie de prilling est intéressante en raison de cette distribution de taille étroite des particules résultantes.

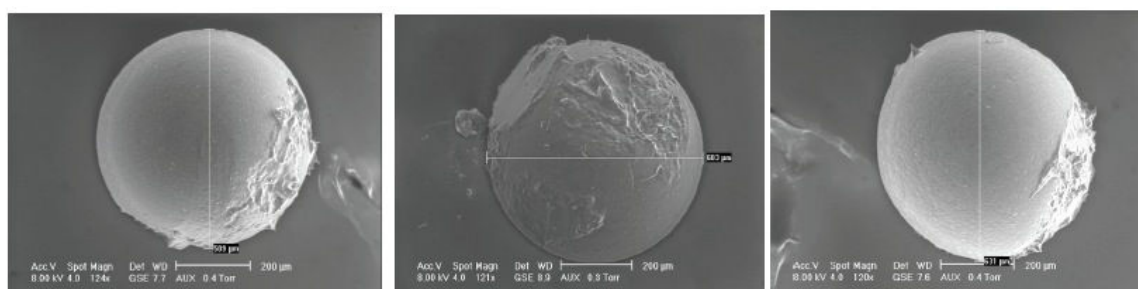


Figure 59. Images MEB de billes d'organogel de 30%12-HSA/huile de tournesol, générées par la technologie de prilling couplé au refroidissement à -30°C .

En utilisant la méthode de refroidissement à l'air (-30°C), nous n'avons pu récupérer des billes qu'à partir de concentrations de gélifiant supérieures à 20% (masse), c'est-à-dire, 30

et 40%. Les billes moins concentrées en 12-HSA n'avaient pas assez de tenue mécanique pour être récupérées dans les tiroirs de récupération de produit placés au fond de la tour de refroidissement (organogels trop mous).

La Figure 60 montre des images MEB de billes d'organogel à 30% en 12-HSA. Un zoom sur les surfaces des billes montre des traces d'endommagement sur leurs surfaces, très probablement dû à l'impact de ces billes avec la surface en inox des tiroirs de récupération de produit au fond de la tour de refroidissement (1,8 m).

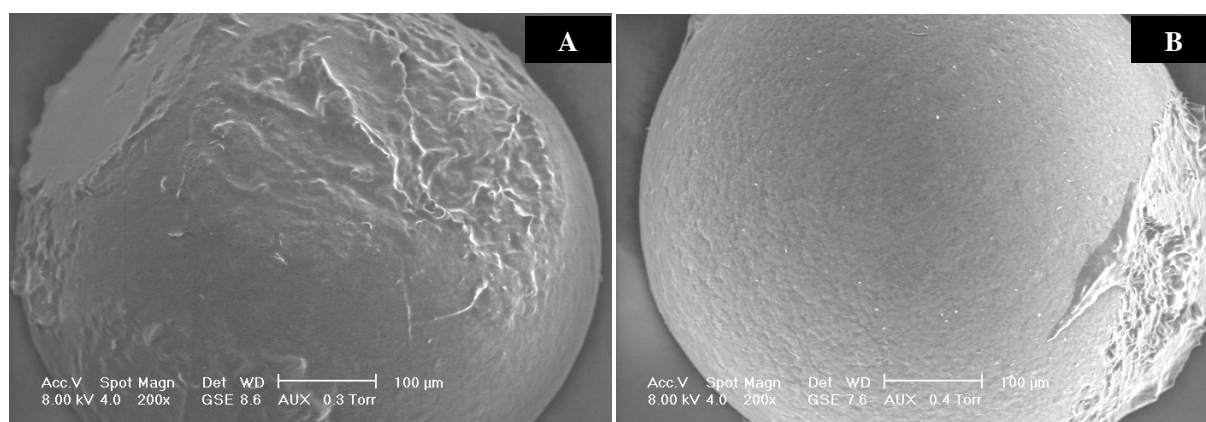


Figure 60. Images MEB de billes d'organogel de 30% 12-HSA-huile de tournesol générées par prilling à -30 °C.

Toujours à partir d'une observation des billes d'organogel obtenues lors de ces premiers essais par prilling, nous avons pu comparer la surface des billes obtenues dans différentes conditions de refroidissement, comme le montre la Figure 60.

Sur la **Figure 61(a)**, on observe une structure très dense d'organisation fibrillaire avec des fibres épaisses. Elle correspond à l'organisation structurale des molécules d'HSA déjà observées dans la littérature (Lukyanova et al., 2008 ; Kirilov et al., 2008 ; Lukyanova et al., 2010 ; Boudier et al., 2010). Cependant il semblerait que la vitesse de refroidissement modifie la morphologie du réseau tridimensionnel formé par les molécules de 12-HSA comme le montre la **Figure 61(b)** les fibres sont plus courtes et larges lors d'un refroidissement à l'air à -30°C.

Ce changement physique peut avoir un impact important sur les propriétés de piégeage/relargage d'un principe actif introduit dans l'organogel. En effet, l'importance de la distribution de taille des mailles du réseau tridimensionnel des organogels sur la vitesse de libération de certains principes actifs a déjà été souligné dans la littérature (Rogers et al., 2008; Liu and Sawant, 2002). Cette taille semble être influencée par la vitesse de nucléation, par la longueur, ainsi que par le degré de ramification et d'interpénétration des fibres (Rogers et al., 2009).

L'effet de la température de gélification des billes d'organogel sera un paramètre auquel nous allons nous intéresser dans la suite de nos travaux (Chapitre 3).

III-3.3 Microscopie Raman

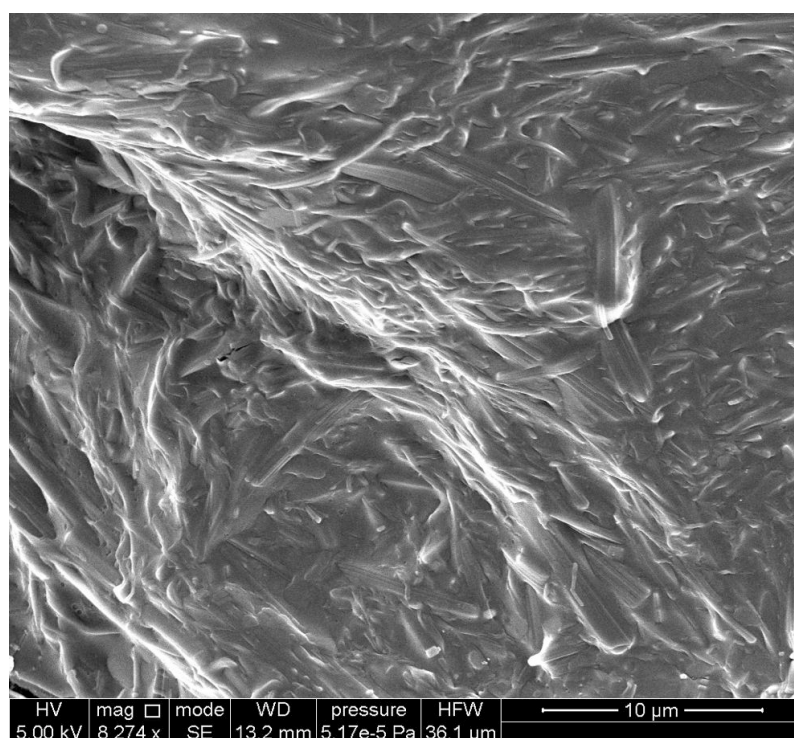
Comme dit auparavant, pour caractériser davantage les billes préparées pour l'étude de dissolution in vitro, des analyses complémentaires ont été réalisées par spectroscopie Raman.

L'objectif est de vérifier s'il est possible, à l'aide de cette technique, d'identifier la distribution des composants dans les billes : Le 12-HSA se trouve-il en forme de réseau tridimensionnel concentré dans des clusters ou domaines physiques bien identifiés? L'EFV est-il associé à la phase huile et distribué de façon homogène dans les billes ?

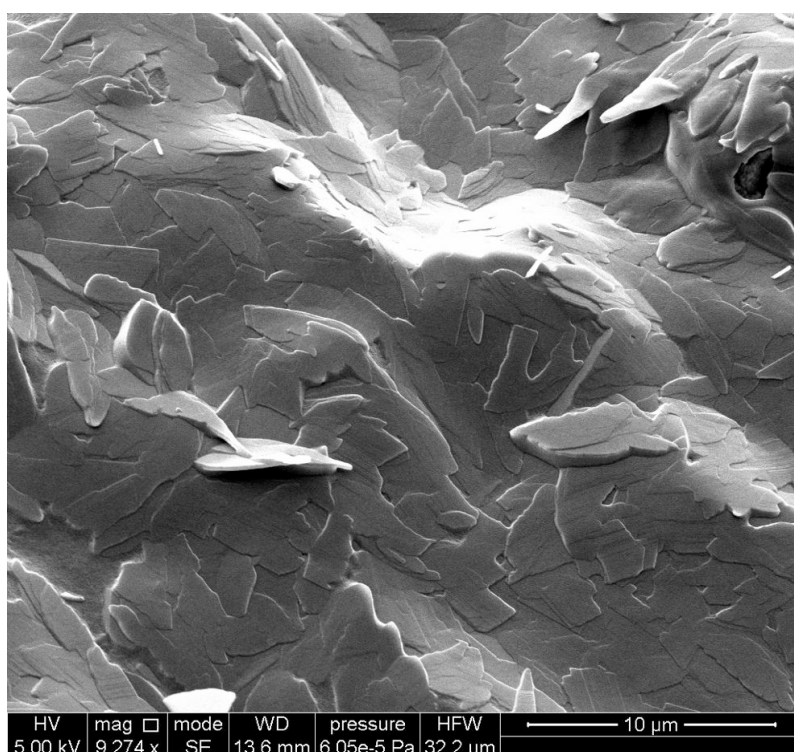
Les spectres Raman d'une bille analysée est montré sur la Figure 62 en comparaison avec les spectres Raman des composants individuels (HSA, huile de tournesol). Des codes couleur (rouge, bleu et vert) y sont associés et doivent être pris en compte lors de la lecture de cette figure. Des billes d'organogel, avec et sans EFV (préparées pour comparaison), ont été analysées et leurs spectres Raman correspondent respectivement aux Figure 62 A et B.

Le spectre Raman de 12-HSA affiche un pic intense à environ 2850 à 2900 cm^{-1} (CH), des pics à 1440 cm^{-1} (CH_2), 1298 cm^{-1} ($=\text{CH}$) et deux pics autour de 1068 à 1135 cm^{-1} caractéristiques de bandes d'élongation C-O. Pour ce qui est de l'huile de tournesol, ses pics caractéristiques déjà décrits dans la littérature (Sadeghi-Jorabchi et al., 1990) sont aussi identifiés : 1660 cm^{-1} (bandes $\text{C}=\text{C}$) et 1306 et 1272 cm^{-1} (déformation $=\text{CH}$).

L'effet de la température de gélification des billes d'organogel sera un paramètre auquel nous allons nous intéresser dans la suite de nos travaux (Chapitre 3).



(a)



(b)

Figure 61. Images Cryo-MEB des billes d'organogel (40% 12-HSA) refroidies en solution à 25°C (a) et à l'air (-30°C) dans la colonne de refroidissement.

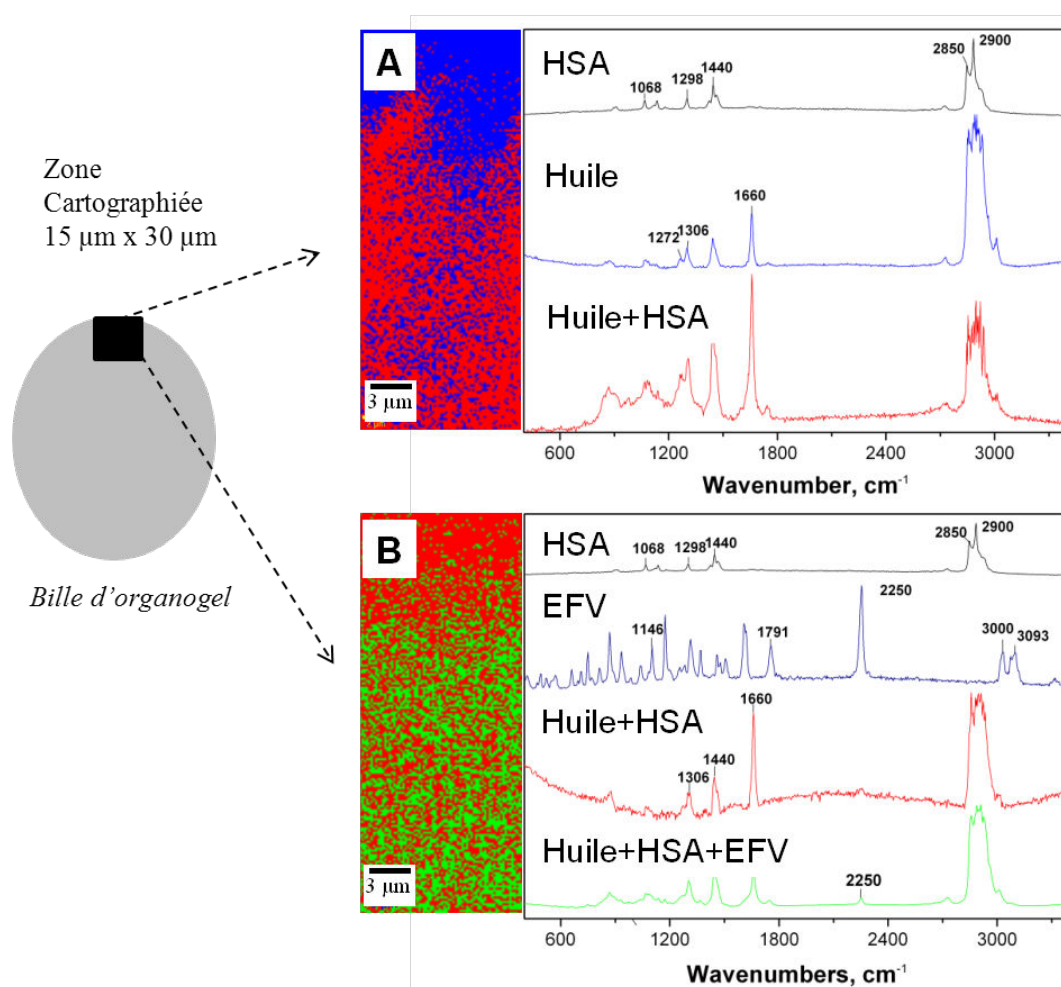


Figure 62. Cartographie Raman pour les billes d'organogel (20% de 12-HSA), refroidis à 25°C en solution. A) sans la présence et B) en présence d'Efavirenz.

La Figure 62-A montre que le spectre Raman du 12-HSA n'a pas pu être séparé du spectre de l'huile de tournesol en utilisant une analyse de cluster en raison d'une distribution homogène de ce composant dans la bille d'organogel. Cela nous laisse imaginer un réseau fibrillaire en forme de matrice distribué dans les billes et non seulement sous forme de « coque ».

En présence de l'EFV, nous pouvons identifier le pic signature de cette molécule sur le spectre Raman de la bille d'organogel (Figure 62-B) à 2250 cm^{-1} (bandes $\text{C}\equiv\text{C}$). L'EFV semble être réparti de façon homogène dans la bille.

II-3.4 Diffusion de l'Efavirenz à partir des organogels sous forme particulière

Dans le Chapitre 2, nous avons réalisé des mesures simultanées de la variation du poids de la forme massive obtenue par moulage en gélule et de la quantité d'EFV présente dans les différents milieux de dissolution (SGF, SIF). L'étude qui sera décrite dans cette partie a été menée afin d'élargir notre connaissance sur les profils cinétiques de l'EFV pouvant se dessiner à partir de différentes formes physiques d'un organogel d'huile de tournesol et 12-HSA. L'organogel est obtenu sous forme de billes de taille micrométrique par prilling. Une seule composition a été utilisée pour cette étude : 20% de HSA, 60 mg/g d'EFV dans la formulation. Ces billes ont été préparées par prilling, et refroidies à 25°C dans l'eau.

Pour aller plus loin dans ces investigations, nous avons suivi l'évolution des vitesses de dissolution lors de variations contrôlées du pH du milieu de dissolution. Les données expérimentales tracées sur la Figure 63 montrent que la concentration en EFV en milieu SGF évolue d'une façon presque linéaire jusqu'à 40% de libération de leur charge en EFV au bout de 2h ; cette concentration attendra environ 80% après 5 heures en milieu SIF.

Plusieurs modèles mathématiques pour les profils de dissolution ont été sélectionnés afin d'évaluer la qualité de leur ajustement par rapport aux données de dissolution présentées sur la Figure 64. Le meilleur modèle sera sélectionné pour une analyse de la cinétique de dissolution.

Les modèles suivants ont été testés : Higuchi, Hixson-Crowell et Korsmeyer-Peppas. L'évaluation des coefficients de détermination (R^2), qui permet d'identifier le modèle s'ajustant le mieux aux données, a été réalisée. Les paramètres d'ajustement sont résumés dans le Tableau 16.

On observe que les libérations du principe actif des billes d'organogel s'ajustent mieux à l'équation de Higuchi ($R^2 = 0,989$). La Figure 64 montre la corrélation entre les données expérimentales de libération de l'EFV avec les profils théoriques obtenus à partir des modèles de Higuchi et Korsmeyer-Peppas.

Une analyse sur les cinétiques en deux parties à pH 1,2 et à pH 6,8 séparément, donne la même tendance de libération du P.A. A pH acide la libération de l'EFV à partir de particules suit le modèle de Higuchi et à pH 6,8 Korsmeyer-Peppas semble être le modèle le plus parlant, avec un n de 0,46, caractéristique de libération par diffusion (Fick).

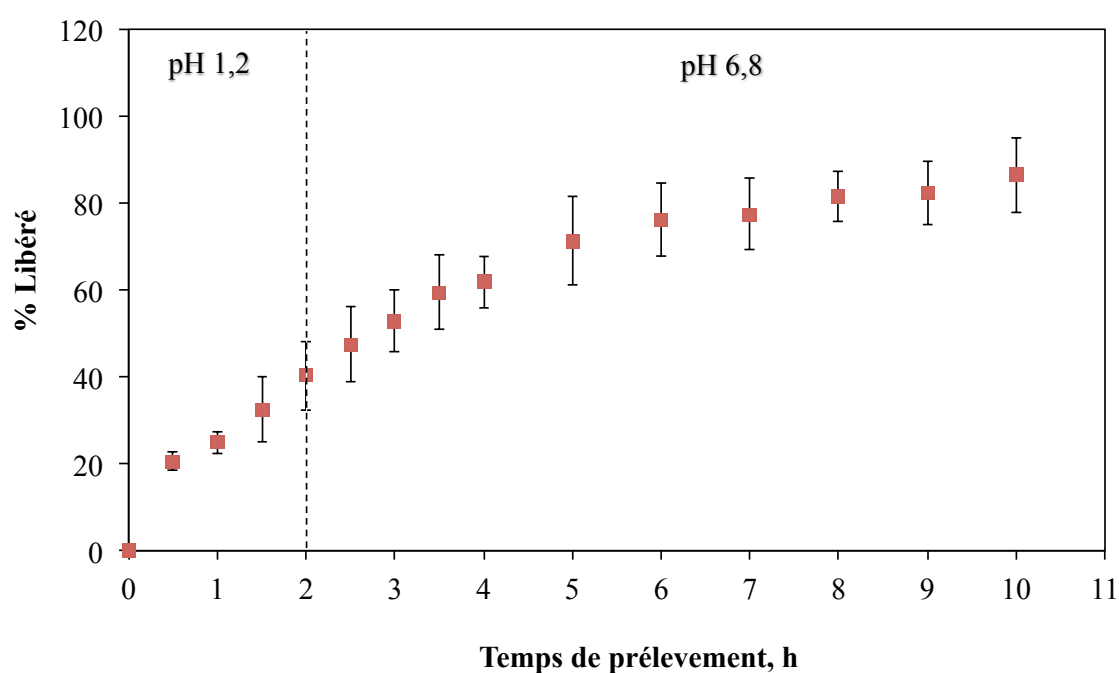


Figure 63. Courbe de dissolution de billes d'organogel (20% HSA ; 60 mg EFV/g) lors de variations contrôlées du pH du milieu de dissolution (2h en milieu SGF, 8h en milieu SIF).

Tableau 16. Les coefficients de corrélation (R^2) et les paramètres d'ajustement obtenus à partir de modèles mathématiques Higuchi, Hixson-Crowell et Korsmeyer-Peppas pour la libération de l'EFV à partir de l'organogel sous forme particulaire.

HSA wt%	EFV mg/g	pH du milieu	Conditions du test: changement de pH (2 h à pH 1,2 suivi de 8 h à pH 6,8), milieux sans enzymes.						
			Higuchi		Hixson-Crowell		Korsmeyer-Peppas		
			R^2	k_H ($10^2 \cdot h^{1/2}$)	R^2	k_{HC} ($10^2 \cdot h^{-1}$)	R^2	k_{KP} ($10^2 \cdot h^{-n}$)	n
20	60	1,2	0,988	27,24	0,916	8,37	0,944	27,18	0,478
20	60	6,8	0,789	18,07	0,418	8,98	0,987	50,65	0,465
20	60	1,2-6,8	0,989	30,0	0,928	6,2	0,974	27,7	0,572

Nous rappelons que les résultats de l'étude de dissolution réalisée pour une forme d'organogel massive et des dimensions plus grandes (20 mm x 8 mm) ont démontré que ce processus était contrôlé plutôt par un couplage de diffusion et d'érosion. Cette étude a été réalisée dans des milieux de dissolution contenant des enzymes, ces dernières pouvant accélérer le processus d'érosion par effet enzymatique.

Dans le cas des billes d'organogel de dimensions plus petites (billes d'environ 600-700 μm de diamètre), la dissolution a été réalisée en conditions gastro-intestinales simulées en absence d'enzymes. L'effet couplé diffusion/érosion n'apparaît pas clairement dans les conditions étudiées. En effet, les résultats obtenus avec le modèle Korsmeyer-Peppas sont en accord avec le modèle de Higuchi, faisant ressortir le rôle prédominant de la diffusion dans le contrôle de cette cinétique de libération de l'EFV dans les milieux de dissolution. Le coefficient exponentiel n dans le modèle de Korsmeyer-Peppas est proche de 0,5 pour lequel les deux modèles sont identiques.

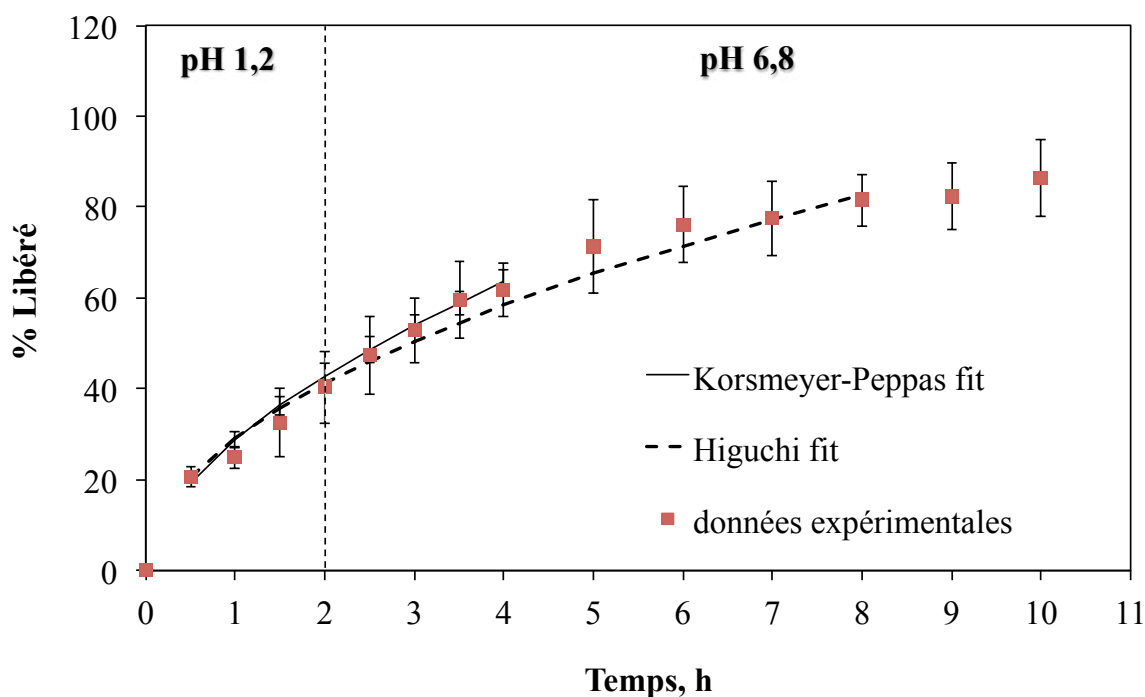


Figure 64. Quantité d'EFV libéré à partir des particules d'organogel contenant 20% en masse de 12-HSA dissous dans l'huile de tournesol (2h à pH 1,2 et 8h à pH 6,8) ; comparaison avec l'échantillon de référence (nano-cristaux d'EFV pris comme une formulation à libération de référence).

Conclusions

Du fait des résultats obtenus, c'est-à-dire l'obtention de billes d'organogel mono disperses en taille, le prilling apparait comme une technique adaptée sous certaines conditions opératoires : seuls les organogels suffisamment solides après refroidissement permettent la récupération de billes. Ils correspondent aux formulations contenant des concentrations importantes en agent gélifiant ; a contrario il est très difficile d'obtenir des billes d'organogels à faible concentration en 12-HSA. Celles-ci sont fragiles et semblent difficilement utilisables en tant que telles pour une administration par voie orale (VO).

De plus, elles libèrent relativement rapidement la totalité du PA par diffusion. Il est donc particulièrement intéressant d'envisager une forme « stabilisée », mieux protégée des effets du pH gastrique acide, via une membrane externe gélifiée entourant un cœur d'organogel.

Références

- Amanokura, N., Yoza, K., Shinmori, H., Shinkai, S., Reinhoudt, D.N., 1998. New sugar-based gelators bearing a p-nitrophenyl chromophore: remarkably large influence of a sugar structure on the gelation ability. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* 2585–2592. doi:10.1039/A807001F
- Anvisa, A.N. de V.S., 1999. Resolução RDC n° 482, de 23 de setembro de 1999. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Óleos e Gorduras Vegetais., D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 13 de outubro de 1999.
- Boudier, A., Kirilov, P., Franceschi-Messant, S., Belkhef, H., Hadioui, L., Roques, C., Perez, E., Rico-Lattes, I., 2010. Evaluation of biocompatible stabilised gelled soya bean oil nanoparticles as new hydrophobic reservoirs. *J. Microencapsul.* 27, 682–692. doi:10.3109/02652048.2010.506582
- Brandenberger, H., Nüssli, D., Piëch, V., Widmer, F., 1999. Monodisperse particle production: A method to prevent drop coalescence using electrostatic forces. *J. Electrostat.* 45, 227–238. doi:10.1016/S0304-3886(98)00052-7
- Brazil, 2010. Farmacopeia Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília: Anvisa.
- Bui, A., Virgilio, N., 2013. Tuning Organogel Properties by Controlling the Organic-Phase Composition. *Ind. Eng. Chem. Res.* 52, 14185–14191. doi:10.1021/ie401965z
- Eloundou, J.P., Girard-Reydet, E., Gérard, J.-F., Pascault, J.-P., 2005. Calorimetric and rheological studies of 12-hydroxystearic acid / diglycidyl ether of bisphenol A blends. *Polym. Bull.* 53, 367–375. doi:10.1007/s00289-005-0345-x
- FDA, F. and D.A., 1996. Guidance for Industry.Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology. ICH.
- Gronwald, O., Sakurai, K., Luboradzki, R., Kimura, T., Shinkai, S., 2001. Further evidence for the gelation ability-structure correlation in sugar-based gelators. *Carbohydr. Res.* 331, 307–318.
- Higuchi, T., 1963. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *J. Pharm. Sci.* 52, 1145–1149. doi:10.1002/jps.2600521210
- Hixson, A.W., Crowell, J.H., 1931. Dependence of Reaction Velocity upon Surface and Agitation. *Ind. Eng. Chem.* 23, 1160–1168. doi:10.1021/ie50262a025
- Hopfenberg, H., 1976. Controlled Release Polymeric Formulation, in: Paul, D. R., Haris, F. W., Eds. ACS Symposium Series, Washington DC, p. 222.
- Iwanaga, K., Kawai, M., Miyazaki, M., Kakemi, M., 2012. Application of organogels as oral controlled release formulations of hydrophilic drugs. *Int. J. Pharm.* 436, 869–872. doi:10.1016/j.ijpharm.2012.06.041
- Iwanaga, K., Sumizawa, T., Miyazaki, M., Kakemi, M., 2010. Characterization of organogel

as a novel oral controlled release formulation for lipophilic compounds. *Int. J. Pharm.* 388, 123–128. doi:10.1016/j.ijpharm.2009.12.045

Kaszyńska, J., Łapiński, A., Bielejewski, M., Luboradzki, R., Tritt-Goc, J., 2012. On the relation between the solvent parameters and the physical properties of methyl-4,6-O-benzylidene- α -D-glucopyranoside organogels. *Tetrahedron* 68, 3803–3810. doi:10.1016/j.tet.2012.03.067

Kirilov, P., Lukyanova, L., Franceschi-Messant, S., Perier, V., Perez, E., Rico-Lattes, I., 2008. A new type of colloidal dispersions based on nanoparticles of gelled oil. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp.* 328, 1–7. doi:10.1016/j.colsurfa.2008.06.011

Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P., Peppas, N.A., 1983. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int. J. Pharm.* 15, 25–35. doi:10.1016/0378-5173(83)90064-9

Lukyanova, L., Castangia, R., Franceschi-Messant, S., Perez, E., Rico-Lattes, I., 2008. Soft Microporous Green Materials from Natural Soybean Oil. *ChemSusChem* 1, 514–518. doi:10.1002/cssc.200800036

Lukyanova, L., Franceschi-Messant, S., Vicendo, P., Perez, E., Rico-Lattes, I., Weinkamer, R., 2010. Preparation and evaluation of microporous organogel scaffolds for cell viability and proliferation. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 79, 105–112. doi:10.1016/j.colsurfb.2010.03.044

Lupi, F.R., Gabriele, D., Baldino, N., Mijovic, P., Parisi, O.I., Puoci, F., 2013. Olive oil/policosanols organogels for nutraceutical and drug delivery purposes. *Food Funct.* 4, 1512–1520. doi:10.1039/c3fo60259a

Mehta, K.A., Kislalioglu, M.S., Phuapradit, W., Malick, A.W., Shah, N.H., 2001. Release performance of a poorly soluble drug from a novel, Eudragit-based multi-unit erosion matrix. *Int. J. Pharm.* 213, 7–12.

Miyajima, M., Koshika, A., Okada, J., Kusai, A., Ikeda, M., 1998. Factors influencing the diffusion-controlled release of papaverine from poly (L-lactic acid) matrix. *J. Control. Release Off. J. Control. Release Soc.* 56, 85–94.

Murata, K., Aoki, M., Suzuki, T., Harada, T., Kawabata, H., Komori, T., Ohseto, F., Ueda, K., Shinkai, S., 1994. Thermal and Light Control of the Sol-Gel Phase Transition in Cholesterol-Based Organic Gels. Novel Helical Aggregation Modes As Detected by Circular Dichroism and Electron Microscopic Observation. *J. Am. Chem. Soc.* 116, 6664–6676. doi:10.1021/ja00094a023

Rogers, M.A., Wright, A.J., Marangoni, A.G., 2009. Nanostructuring fiber morphology and solvent inclusions in 12-hydroxystearic acid / canola oil organogels. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 14, 33–42. doi:10.1016/j.cocis.2008.02.004

Rogers, M.A., Wright, A.J., Marangoni, A.G., 2008. Engineering the oil binding capacity and crystallinity of self-assembled fibrillar networks of 12-hydroxystearic acid in edible oils. *Soft Matter* 4, 1483–1490. doi:10.1039/B803299H

Sadeghi-Jorabchi, H., Hendra, P.J., Wilson, R.H., Belton, P.S., 1990. Determination of the total unsaturation in oils and margarines by fourier transform raman spectroscopy. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 67, 483–486. doi:10.1007/BF02540752

Serp, D., Cantana, E., Heinzen, C., Von Stockar, U., Marison, I.W., 2000. Characterization of an encapsulation device for the production of monodisperse alginate beads for cell immobilization. *Biotechnol. Bioeng.* 70, 41–53.

USP, U.S.P., 2007. USP's Pending Standards Guideline.

Wang, D., Zhao, J., Liu, X., Sun, F., Zhou, Y., Teng, L., Li, Y., 2014. Parenteral thermo-sensitive organogel for schizophrenia therapy, in vitro and in vivo evaluation. *Eur. J. Pharm. Sci.* 60, 40–48. doi:10.1016/j.ejps.2014.04.020

Chapitre 3.

Préparation et caractérisation des particules bi-gels

Première partie

Préparation et caractérisation des particules bi-gels

Introduction

Nous venons d'étudier la capacité des billes d'organogel, générées par un procédé de prilling, à piéger et libérer l'EFV dans des milieux gastro-intestinaux simulés. Néanmoins, nous avons constaté que cette forme d'organogel est sensible au pH acide et qu'une quantité considérable d'EFV a été libérée dans le temps d'incubation dans ce milieu (~40% pour les billes contre ~15-20% pour la forme gélule), au point que l'ajout d'une membrane protectrice, susceptible de participer au contrôle de la libération du principe actif, apparaît comme une alternative intéressante. De plus, un procédé de prilling peut permettre l'élaboration d'une telle forme via l'utilisation d'une double buse.

Ce dernier Chapitre est consacré au développement de la nouvelle forme appelé ici « bi-gel » (Figure 65). Elle sera du type noyau-membrane, composée d'un noyau d'organogel similaire à ceux caractérisés dans les parties précédentes. Néanmoins, ce noyau d'organogel sera entouré d'une membrane protectrice, composée par un hydrogel d'alginate de calcium.

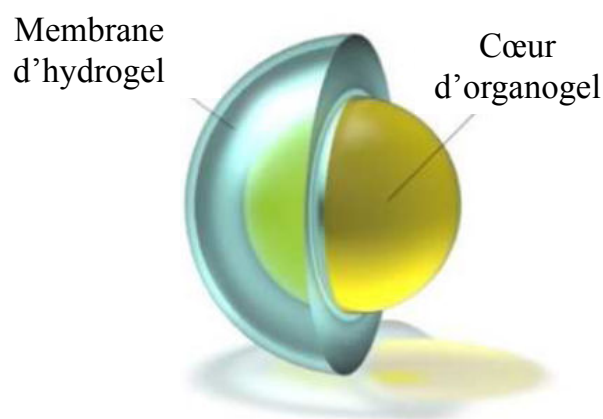


Figure 65. Schéma représentatif d'une particule bi-gels.

Nous décrivons ici la mise en œuvre de la technique utilisée pour générer ce type de forme particulière, puis les techniques utilisées pour la caractériser (taille, morphologie, comportement mécanique, profils cinétiques de relargage de la molécule active EFV). Ces paramètres participent à leur évaluation en tant que véhicules de principes actifs pour une administration par voie orale. L'EFV demeure notre molécule d'étude.

I-1. Produits

En plus de l'huile de tournesol, de l'acide 12-hydroxystéarique, du principe actif Efavirenz et des produits utilisés pour la préparation des milieux de dissolution déjà décrits précédemment, les autres produits utilisés pour cette étude sont :

- Alginate de sodium, fourni par FMC Biopolymer, Belgique.

Deux types d'alginate ont été choisis afin d'étudier la rigidité, la stabilité et l'intégrité des membranes obtenues, puisque leurs propriétés sont dépendantes de la proportion et longueur des monomères guluroniques (G) :

- le Protanal CR 8133 (lot GQ7505504) ~ 40%G (type G)
- le Protanal LF 10/60 FT (lot GQ7205601) proportion de G/M de 65-75/25-35% (type M)
- Polysorbate Tween 20 comme tensioactif non ionique (Riedel-de-Haën, 631589).

I-2. Méthodes de préparation et caractérisation des particules bi-gels

I-2.1 Préparations des solutions utilisées

- Membrane d'alginate

Deux solutions d'alginate ont été utilisées. La première solution été préparée en solubilisant 2 g d'alginate de sodium (type G) dans 98,0 g ou d'eau ultra-pure (MilliQ). Et la deuxième, en solubilisant 2,5 g d'alginate de sodium (type M) dans 97,5 g d'eau ultra-pure

(MilliQ). Le paramètre fixé a été une même viscosité des solutions d'alginate pouvant alimenter la buse de prilling. La viscosité des solutions d'alginate comme explicité dans le résultats, alimentent l'appareil de prilling a été le critère de choix des concentrations utilisées.

- Bain de gélification

Le bain de gélification été composé par une solution aqueuse de chlorure de calcium 0,5 M mélangé à 0,1% de Tween 20 (en masse).

- Noyau d'organogel

Le noyau est composé soit par de l'huile de tournesol soit par un organogel à base de 12-HSA. Les proportions de 5% et 20% en masse de l'agent gélifiant ont été dissoutes à chaud (90 °C) dans l'huile de tournesol jusqu'à l'obtention de solutions homogènes, sous agitation mécanique. Ensuite les concentrations d'Efavirenz de 30 ou 60 mg/g_{solution} ont été ajoutées au mélange.

I-2.2 Détermination de la viscosité des solutions

La viscosité (μ) peut permettre de caractériser le comportement rhéologique d'une substance (sa déformation sous l'effet d'un cisaillement). La viscosité des solutions d'alginate a été mesurée au rhéomètre HAAKE RheoStress-600 en utilisant une géométrie cône-plateau P60Ti (Figure 66).

Les échantillons ont été équilibrés à 20 °C avant le début de la mesure. Une rampe de température (20 - 90 °C) a été utilisée. La vitesse de chauffage a été fixée à 5 °C/min. Une vitesse de cisaillement de 0 à 500 s⁻¹ est appliquée.

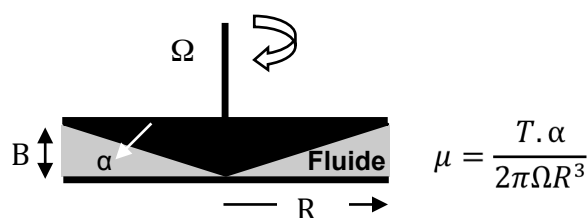


Figure 66. Schéma de représentation d'un viscosimètre cône-plateau. La viscosité (μ) est mesurée en fonction de la rotation Ω appliquée au couple mesuré (T).

I-2.3 Abaissement de la tension de surface de la solution de chlorure de calcium

Une des difficultés rencontrées lors de l'étude de génération de billes par prilling dans le Chapitre 2 est la déformation subie par la goutte lors de l'impact avec la surface du bain de gélification/refroidissement comme illustré sur la Figure 67. Lors de cet impact, l'énergie associée à la tension de surface liquide/air est instantanément convertie en énergie cinétique : la goutte peut se déformer à la traversée de l'interface, ce qui résultera en formation de gouttes non sphériques. L'évolution de la forme /déformation de la goutte dépendra aussi de la viscosité du liquide, de la hauteur de chute de la goutte et de son volume initial.

Considérant que certains paramètres sont fixés dans notre cas (phases liquides, distance entre la double buse et la surface du bain de gélification/refroidissement), pour réduire la déformation à l'impact nous avons réduit la tension de surface bain de chlorure de calcium/air avec l'ajout d'un tensioactif non ionique dans la solution, le polysorbate Tween 20.

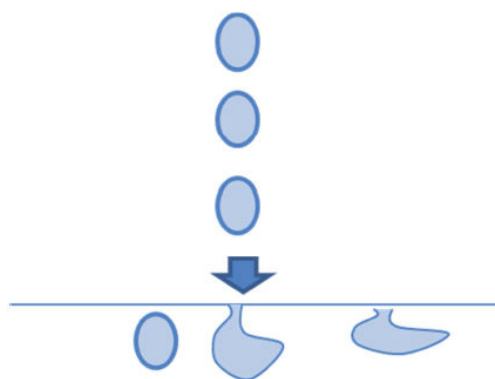


Figure 67. Goutte bi-gel tombant dans la solution de chlorure de calcium (situations de déformation possibles : la goutte reste connectée à l'interface air/fluide, elle se déforme, elle subit une déformation mineure lors de la traversée de l'interface).

Pour déterminer la concentration en tensioactif, la tension superficielle de la solution de CaCl_2 a été mesurée utilisant une lame avec un tensiomètre K-12 (Krüss GmbH, Allemagne).

L'expérience consiste à déterminer la force nécessaire pour détacher une lame de la surface d'un liquide. Cette lame, en platine, est suspendue au bras d'une balance de précision et plongée dans le liquide. Le récipient contenant le liquide est abaissé et la force de traction est enregistrée jusqu'à l'arrachement. Quand le point de rupture du ménisque approche, la force de traction passe par un maximum (**Figure 68**).

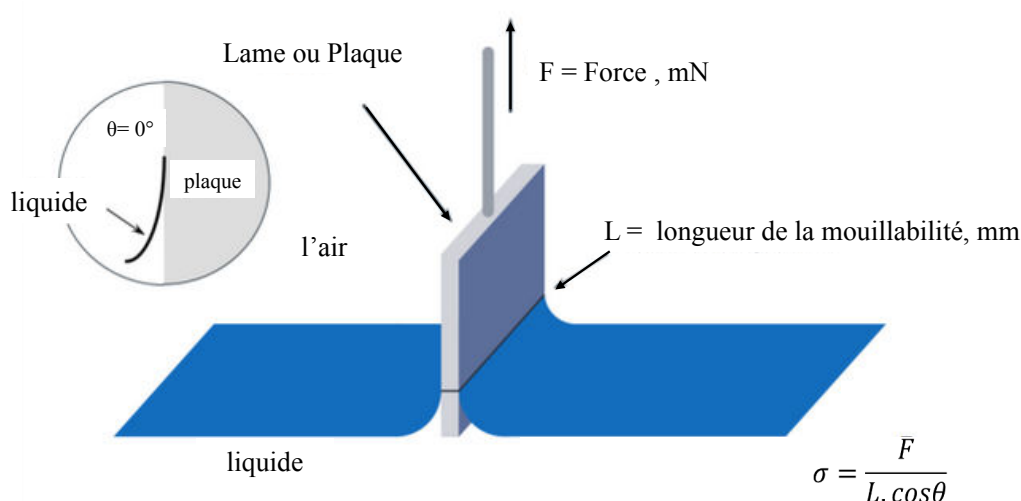


Figure 68. Schéma représentatif de la mesure de tension de surface utilisant le procédé de la lame. Lorsque une plaque suspendue verticalement touche la surface ou l'interface du liquide, la force F , qui est la corrélation entre la tension de surface ou la tension interfaciale σ et l'angle de contact θ , passe à agir sur cette plaque.

Afin d'obtenir une courbe représentant la tension superficielle en fonction de la concentration en tensioactif, nous avons mesuré la tension superficielle de solutions contenant différentes concentrations de tensioactif (Tween 20): 0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,5, 1,0 et 2,0 g/mL

I-2.4 Protocole expérimental de fabrication de capsules bi-gel par prilling

La fabrication de la particule noyau-membrane était réalisée dans une seule étape en utilisant le procédé de prilling. Afin de former des capsules l'appareil de prilling a été équipé d'une buse concentrique. Le système est le même que celui décrit dans le Chapitre 2, les différences principales sont la substitution de la buse d'écoulement par un système concentrique, ce qui demande une double alimentation: une pour la membrane (extérieure) et l'autre pour le noyau (interne), et le couplage au bain de gélification/refroidissement/collecte (Figure 69).

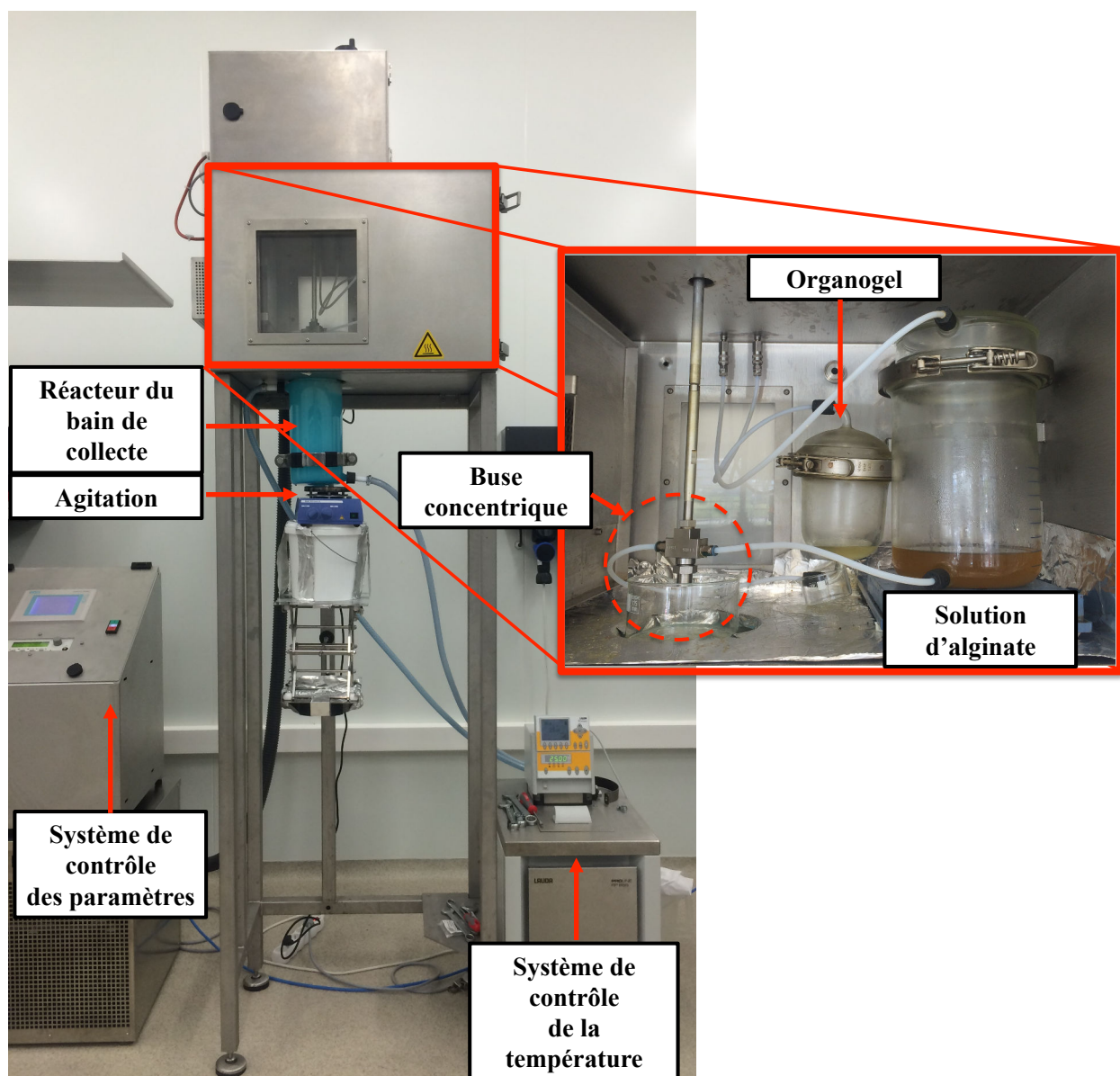


Figure 69. Vue de l'ensemble de l'appareil de prilling (Spherisator M, BRACE - GmbH, Allemagne) utilisé dans la génération de particules bi-gel.

Des buses concentriques (Spherisator M, BRACE - GmbH, Allemagne) de diamètres de 0,8 à 1,5 mm sont disponibles pour la buse externe, et de 250 à 700 μm pour la buse interne. Après les essais de faisabilité, les particules bi-gel ont été générées en utilisant une buse interne de 700 μm et une buse externe de 1500 μm .

Une double alimentation via la buse concentrique permet la formation du jet laminaire co-extrudé rompu en gouttes, par l'application d'une vibration de fréquence optimum (Figure 70).

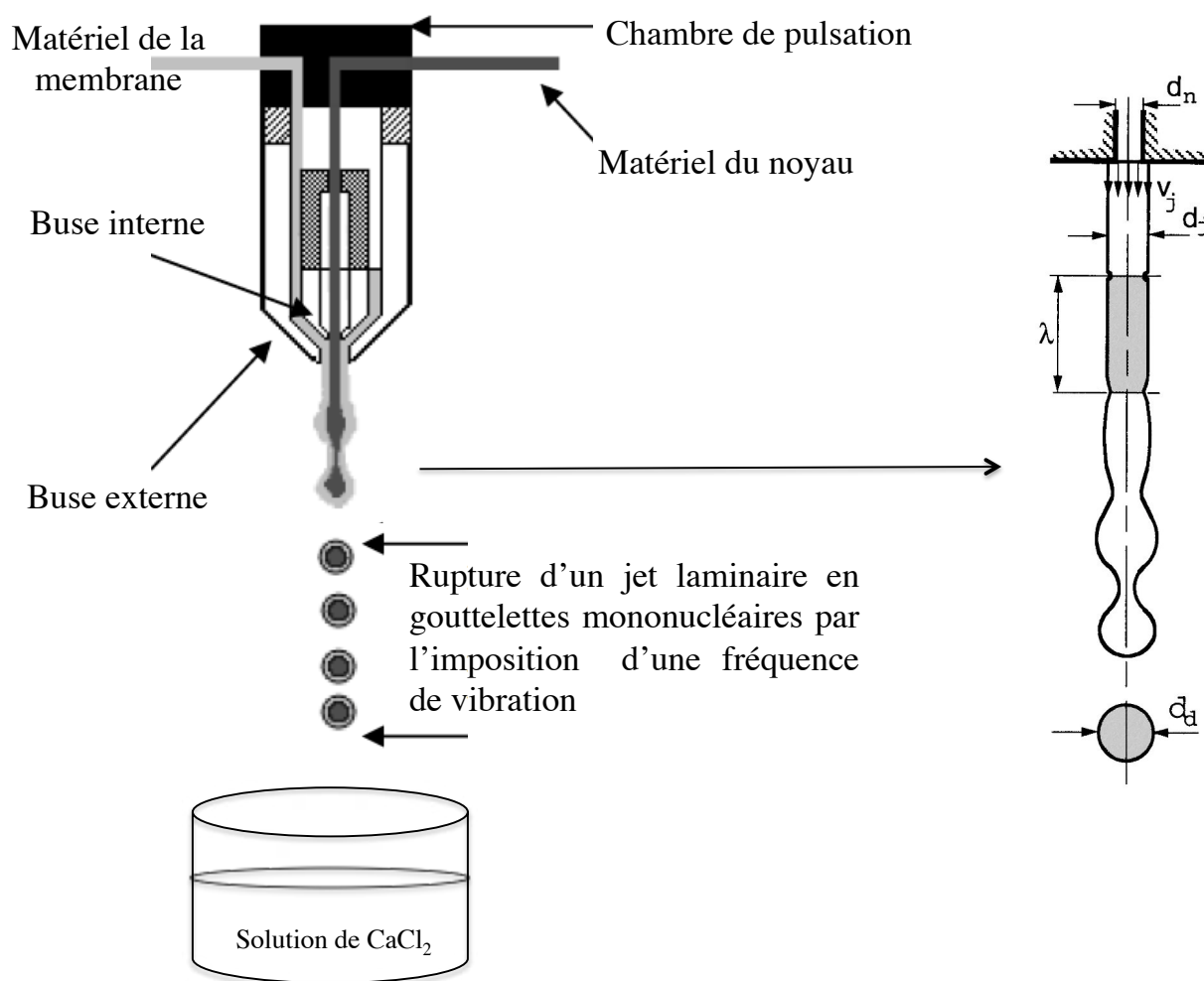


Figure 70. Schéma de formation des particules de noyau-membrane par la technologie de prilling dans un bain de gélification de chlorure de calcium, paramètres liés à la formation de particules mono-disperses en taille (d_d) : diamètre de la buse (d_n), diamètre du jet (d_j), le taux du flux (v_j), la longueur d'onde optimale (λ).

Le diamètre de la capsule dépend essentiellement du diamètre de la buse extérieure. En règle générale, la taille finale peut varier entre 1,5-2,5 fois la taille du diamètre de la buse externe (Whelehan, 2011). Des tailles plus petites peuvent être obtenues par l'utilisation des fréquences plus élevées et des débits d'alimentation plus faibles.

Ces microcapsules peuvent être décrites comme ayant un diamètre moyen (d_m), qui est la somme de diamètre du noyau et l'épaisseur de la membrane. Le diamètre moyen interne, est constitué uniquement de la mesure du diamètre du cœur (d_c). La taille moyenne de la membrane de la microcapsule (épaisseur) peut être calculée à partir de l'équation 3.1:

$$M_m = \frac{d_m - d_c}{2} \quad (3.1)$$

I-2.5 Définition de conditions opératoires

Les solutions visant à constituer la membrane et le noyau des particules ont été placées dans des réacteurs en verre, ces éléments se trouvent dans la tête de prilling (enceinte fermée, que l'on chauffe à une température 90 °C). Les paramètres de génération de particules (Tableau 17) ont été fixés en tenant compte des caractéristiques des formulations et paramètres tels que la concentration en polymère (paramètre lié à la viscosité de la solution qui constitue un facteur limitant pour son bon écoulement) et la tension superficielle (Martinez, 2004 ; Del Gaudio et al. 2005).

Les billes ont tombées dans la solution de CaCl_2 , placée à 9 cm de distance de la buse, à une température contrôlée à 25 ou 5 °C. Les essais de mise au point du protocole expérimental ont permis le bon positionnement entre la buse et le bain de collecte. Une agitation mécanique faible est maintenue afin de renouveler la surface de la solution et améliorer le rendement de production de capsules, en favorisant la séparation entre celles qui sont déjà dans le bain de gélification. Après 1 heure d'incubation dans le bain de gélification, les capsules bi-gels sont rincées plusieurs fois avec l'eau distillée pour éliminer l'excès de Ca^{+2} . Ensuite elles sont maintenues hydratées (température ambiante) jusqu'à réalisation des essais de caractérisation.

Tableau 17. Les paramètres utilisés dans la formation des particules bi-gels (BG) par la technique de prilling : Fréquence, Amplitude et Pression d'envoi des liquides (organique et hydrophile).

Type d'alginate	Concentration de la solution	Fréquence (Hz)	Amplitude (mV)	Pression (mbar)	Code
G	2,0%	100	1.000	Noyau (huile): 60 Membrane : 50	BG1
	2,0%	100	1.000	Noyau (5% HSA): 60 Membrane : 50	BG2
	2,0%	100	1.000	Noyau (20% HSA): 60 Membrane : 50	BG3
	2,5%	100	1.000	Noyau (huile): 60 Membrane : 50	BG4
	2,5%	100	1.000	Noyau (5% HSA): 60 Membrane : 50	BG5
	2,5%	100	1.000	Noyau (20% HSA): 60 Membrane : 40	BG6

I-2.6 Morphologie des particules

La caractérisation morphologique de billes a été faite en utilisant un microscope optique Leica (EZ4HD). Le diamètre de billes a été mesuré sur 100 billes hydratées (par chaque lot).

Le périmètre et la projection de surface obtenus par l'analyse d'image en utilisant ImageJ (logiciel d'analyse d'image en Java) ont été utilisés pour calculer le coefficient de sphéricité (CS) (équation 3.2). Une sphère est considérée telle à partir d'un CS de 0,97 à 1 (Almeida-Prieto et al., 2004).

$$CS = \frac{4\pi A}{P^2} \quad (3.2)$$

Où A est l'aire de surface de la bille et P est le périmètre.

I-2.7 Comportement mécanique

I-2.7.1 Cycles de compression/relaxation

Les propriétés mécaniques des particules bi-gels sont évidemment importantes pour garantir leur stabilité dans le temps et à la manipulation. Quel que soit leur domaine d'application, leur tenue mécanique doit être suffisante pour éviter une rupture de la membrane due à un effet d'usure. La rupture de la membrane pourrait aussi permettre à une libération rapide et efficace du principe actif piégé dans le cœur, mais ce n'est pas notre objectif ici. Toute fois, une simple augmentation du module d'élasticité du matériau n'est pas suffisante pour garantir une stabilité. Nos particules bi-gels devront être adaptées aux sollicitations rencontrées pour leurs applications. Pour connaître leur comportement en compression, nous avons développé un protocole expérimental et initié une série de mesures de compression par une presse uniaxiale instrumentée.

Une presse du type Instron – 5567, a été utilisée pour mesurer la résistance d'une monocouche d'environ 20 particules (hydratées) placées dans une matrice (1 cm^2). Un poinçon cylindrique (1 cm^2) équipé d'un capteur de force de 10 N a été utilisé pour appliquer une pression sur le lit de particules déposée au fond de la matrice, comme illustré sur la Figure 71.

Des cycles de compression-relaxation ont été employés jusqu'à une force de 7 N. Les cycles de compression consistent à réaliser une série consécutive de charge-décharge entre 0 et 7 N utilisant le chargement décrit dans le Tableau 18.

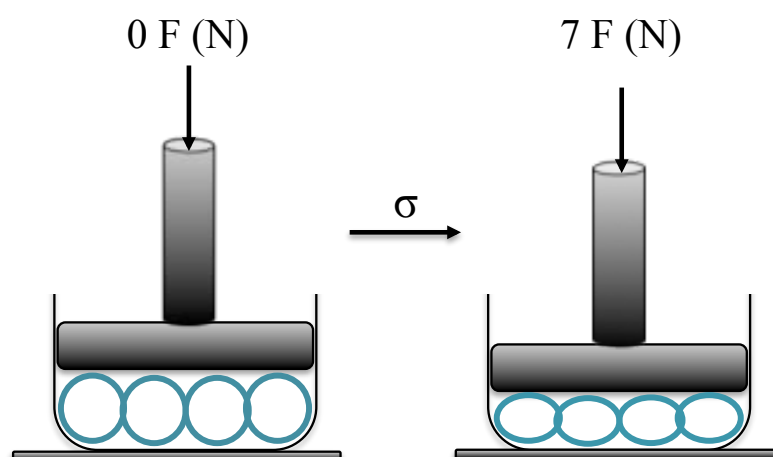


Figure 71. Schéma de l'essai compression dans une matrice cylindrique de 1 cm^2 .

Tableau 18. Cycles de compression-relaxation employés pendant la compression des particules bi-gels.

Force appliquée	Vitesse de compression	
0 – 2,5 N	V > 0	0,2 mm/min
2,5 – 1,8 N	V < 0	- 0,1 mm/min
1,8 – 6,0 N	V > 0	0,2 mm/min
6,0 – 5,5 N	V < 0	- 0,1 mm/min
5,5 – 7,0 N	V > 0	0,2 mm/min

I-2.8 Calcul du module élastique

Classiquement en mécanique, les propriétés élastiques des matériaux sont mesurées à partir d'un essai de traction ou de compression. Dans notre étude, vu que l'on manipule des particules sphériques, le test de compression était le plus adapté. Le test de compression sur une seule bille s'est avéré compliqué à réaliser du fait du glissement de la bille lors de la compression, ce qui entraînait des erreurs d'interprétations. Nous avons préféré appliquer la pression de sollicitation sur un lit de billes (environ une vingtaine) déposé au fond d'une matrice. Les tests de charge décharge ont été réalisés pour une charge maximale de 0,07 MPa. Les pentes de décharge intermédiaire et finale ont été calculées à partir de la formule :

$$\frac{\Delta\sigma}{\Delta\varepsilon} \quad (3.3)$$

Normalement, la pente de décharge est liée au module de compressibilité K et au module de cisaillement μ ($K+4/3\mu$). Dans cette étude nous assimilons la pente de décharge au module d'élasticité des particules bi-gels car nous considérons que l'effet du confinement par les parois de la matrice est négligeable. De plus en supposant que les capsules bi-gels sont identiques, le module d'élasticité sera considéré comme le module d'une capsule.

I-3. Résultats et discussion

I-3.1 Viscosité des solutions

L'évaluation de la viscosité des solutions d'alginate est une étude préliminaire indispensable à l'obtention des particules bi-gels par la technique de prilling à l'utilisation d'une double buse. Des solutions de viscosité (μ) supérieure à 300 mPa.s ont bouché la buse externe, empêchant l'écoulement laminaire du liquide. La viscosité (μ) des solutions à 90 °C joue un rôle important pour la formation de bi-gels.

Dans un premier temps différentes concentrations d'alginate en solution (de type G et de type M) ont été testées dans l'appareil de prilling. Des solutions de μ d'environ 110-120 mPa.s (Tableau 19) ont permis d'obtenir capsules sphériques récupérables, avec une bonne tenue mécanique. Les solutions comprenant une concentration en polymère supérieure à 2% pour l'alginate type G et de 2,5% pour l'alginate type M ont posé problème lors du passage dans la buse.

Tableau 19. Viscosité des solutions d'alginate (type M et type G) dans différentes concentrations massiques à la température ambiante (20 °C) et à la température de travail (90 °C).

Concentration (%)	μ (mPa.s)			
	Alginate type M		Alginate type G	
	Température		Température	
	20 °C	90 °C	20 °C	90 °C
0,5	19,6 ± 0,012	8,8 ± 0,005	24,2 ± 0,024	10,7 ± 0,007
0,75	32,6 ± 0,001	16,5 ± 0,010	34,9 ± 0,015	16,6 ± 0,011
1,0	43 ± 0,012	20,0 ± 0,014	46,0 ± 0,014	22,1 ± 0,013
1,5	122,5 ± 0,018	58,8 ± 0,031	115,8 ± 0,022	53,9 ± 0,030
1,75	188,2 ± 0,023	82,5 ± 0,046	185,1 ± 0,029	83,2 ± 0,046
2,0	221,8 ± 0,030	98,5 ± 0,054	235,7 ± 0,032	110,2 ± 0,060
2,5	254,6 ± 0,015	120,1 ± 0,067	-	-

I-3.2 Tension de surface

La réalisation des capsules bi-gel par prilling a supposé différents ajustements technologiques. Outre la viscosité initiale des solutions, la hauteur de chute, la température et la nature du bain de gélification, la tension interfaciale de la solution de CaCl_2 à l'interface avec l'air a été un des paramètres auquel nous nous intéressés.

Les tensioactifs sont connus pour modifier les propriétés de interfaces des liquides (Leal-Calderon et al., 2007). Pour assurer un parfait mouillage de la goutte dans le bain, plusieurs travaux montrent qu'il est nécessaire d'ajouter un peu de surfactant dans le bain de CaCl_2 (Bremond et al., 2010 ; Whelehan et al., 2010 ; Whelehan and Marison, 2011 ; Voo et al., 2011) ou de BaCl_2 (Hall et al., 2011). Nous avons choisi le polysorbate Tween 20, un surfactant non ionique, de caractéristiques hydrophile (HBL 16,7). Afin de définir la quantité optimale de tensioactif à utiliser, nous avons mesuré la tension de surface des solutions de CaCl_2 à 0,5 M avec des ajouts croissants de Tween 20.

Le Tableau 20 montre que l'ajout de 0,1% de tensioactif fait chuter la tension de surface de presque 50% : de 89 mN/m à 47,5 mN/m.

En effet, le tensioactif s'adsorbe aux interfaces de sorte que la tension superficielle existant entre deux phases diminue. Concrètement, lorsque le tensioactif est placé dans la solution de CaCl_2 , ses molécules se rassemblent aux interfaces de façon à ce que la partie hydrophile soit dans l'eau et la partie hydrophobe dans le milieu extérieur (air dans notre cas). Le tensioactif joue alors un rôle de liaison entre les deux milieux, ce qui a pour effet de diminuer la tension interfaciale entre les deux milieux. Lorsque la concentration de la solution aqueuse en tensioactif est suffisante pour saturer les interfaces, les molécules en excès se rassemblent au sein de la solution en agrégats de molécules orientées. Les parties hydrophiles sont tournées vers l'eau. Ces agrégats sont appelés micelles et la concentration de saturation est appelée Concentration Micellaire Critique (CMC).

La CMC est une caractéristique d'un tensioactif l'évolution de propriétés comme la tension interfaciale de la solution est différente selon que l'on se place avant ou après la CMC. C'est le cas représenté sur le Tableau 20. Une fois la CMC dépassée, aucune différence notable de la tension superficielle n'a été constatée (jusqu'à 2% de Tween 20 en masse). La concentration de 0,1% en masse de Tween 20 a donc été choisie pour la suite des expérimentations.

Tableau 20. Mesures de la tension de surface de la solution de chlorure de Calcium contenant différentes concentrations massiques de tensioactif – Tween 20.

Tension de surface mN/m	89,40 ± 0,02	47,53 ± 0,10	47,00 ± 0,13	47,30 ± 0,11	46,25 ± 0,09	45,75 ± 0,13	45,73 ± 0,18
Concentration de Tween 20 ajouté au bain de CaCl₂ (% en masse)	0	0,1	0,2	0,3	0,5	1	2

I-3.3 Morphologie de particules bi-gels

Les capsules bi-gels générées dans cette étude ont été analysées par microscopie optique. Les mesures ont été effectuées sur 100 capsules hydratées. Les images sont ensuite traitées avec le logiciel de traitement d'images ImageJ (logiciel libre multiplateforme d'analyse et traitement d'images en Java). Le périmètre et la projection de surface des capsules à l'aide du logiciel ImageJ ont été utilisés pour le calcul du coefficient de sphéricité selon l'équation 3.2 (item I-2.6)

Le Tableau 21 et le Tableau 22 regroupent des caractéristiques physiques (diamètre, degré de sphéricité) pour les capsules bi-gels obtenues avec l'alginate G et l'alginate type M, respectivement. Le Tableau 23 et le Tableau 24 présentent ces mêmes caractéristiques pour des capsules formulées et fabriquées dans les mêmes conditions en tant que réservoirs pour le principe actif EFV.

Tableau 21. Diamètres et coefficients de sphéricité (CS) de particules bi-gels (BG), à différentes températures de gélification et compositions du noyau, pour une membrane en alginate type G.

Code	Composition du noyau (%HSA)	Température de génération		d_{50} (mm)	CS
BG1	0	5 °C	Noyau	$2,00 \pm 0,04$	$0,97 \pm 0,02$
			Capsule*	$2,93 \pm 0,14$	
BG1	0	25 °C	Noyau	$1,63 \pm 0,01$	$0,96 \pm 0,01$
			Capsule*	$2,59 \pm 0,05$	
BG2	5	5 °C	Noyau	$1,74 \pm 0,05$	$0,96 \pm 0,01$
			Capsule*	$2,72 \pm 0,13$	
BG2	5	25 °C	Noyau	$1,84 \pm 0,03$	$0,95 \pm 0,01$
			Capsule*	$2,84 \pm 0,10$	
BG3	20	5 °C	Noyau	$1,66 \pm 0,04$	$0,91 \pm 0,03$
			Capsule*	$3,07 \pm 0,23$	
BG3	20	25 °C	Noyau	$1,77 \pm 0,03$	$0,92 \pm 0,02$
			Capsule*	$2,80 \pm 0,14$	

*Capsule : l'ensemble du noyau + membrane.

Tableau 22. Diamètres et coefficients de sphéricité (CS) de particules bi-gels (BG), à différentes températures de gélification et compositions du noyau, pour une membrane en alginate type M.

Code	Composition du noyau (%HSA)	Température de génération		d_{50} (mm)	SC
BG4	0	25 °C	Noyau	$1,85 \pm 0,02$	$0,98 \pm 0,01$
			Capsule	$2,56 \pm 0,051$	
BG5	5	25 °C	Noyau	$1,81 \pm 0,02$	$0,92 \pm 0,04$
			Capsule	$3,10 \pm 0,27$	
BG6	20	25 °C	Noyau	$1,80 \pm 0,03$	$0,97 \pm 0,01$
			Capsule	$2,55 \pm 0,16$	

Tableau 23. Diamètres et coefficients de sphéricité (CS) de particules bi-gels (BG), à différentes températures de gélification et compositions variables du noyau, pour une membrane d'alginate type G. Capsules contenant de l'EFV dans deux différentes concentrations.

Code	Concentration d'EFV mg/g _{solution}	Température de génération	d ₅₀ (mm)		CS
BG1	30	5 °C	Noyau	1,84 ± 0,0306	0,94 ± 0,02
			Capsule*	3,01 ± 0,2439	
BG1	30	25 °C	Noyau	1,74 ± 0,0270	0,96 ± 0,02
			Capsule*	2,74 ± 0,2173	
BG2	30	5 °C	Noyau	1,77 ± 0,02	0,96 ± 0,01
			Capsule*	2,79 ± 0,14	
BG2	30	25 °C	Noyau	1,85 ± 0,02	0,97 ± 0,01
			Capsule*	2,64 ± 0,13	
BG3	30	5 °C	Noyau	1,70 ± 0,03	0,95 ± 0,02
			Capsule*	2,78 ± 0,1206	
BG3	30	25 °C	Noyau	1,79 ± 0,03	0,95 ± 0,03
			Capsule*	2,75 ± 0,15	
BG3	60	25 °C	Noyau	1,81 ± 0,03	0,95 ± 0,016
			Capsule*	2,76 ± 0,09	

*Capsule : l'ensemble noyau + membrane

Tableau 24. Diamètres et coefficients de sphéricité (CS) de particules bi-gels (BG), à différentes températures de gélification et compositions variables du noyau, pour une membrane d'alginate type M. Capsules contenant de l'EFV dans deux différentes concentrations.

Code	Concentration d'EFV mg/g _{solution}	Température de génération	d ₅₀ (mm)		SC
BG4	30	5 °C	Noyau	1,69 ± 0,07	0,95 ± 0,02
			Capsule*	3,02 ± 0,40	
BG4	60	25 °C	Noyau	1,84 ± 0,05	0,96 ± 0,02
			Capsule*	3,12 ± 0,23	
BG4	30	5 °C	Noyau	1,68 ± 0,03	0,9493 ± 0,0199
			Capsule*	2,97 ± 0,18	
BG4	60	25 °C	Noyau	1,77 ± 0,04	0,98 ± 0,01
			Capsule*	2,67 ± 0,11	
BG5	30	25 °C	Noyau	1,75 ± 0,03	0,97 ± 0,01
			Capsule*	2,77 ± 0,14	

*Capsule : l'ensemble noyau + membrane

Les caractéristiques des capsules formées sont dépendantes du diamètre de la buse, du débit de liquides et de la fréquence de vibration. Les contraintes liées à la fabrication de nos capsules bi-gels n'ont pas permis de jouer de manière significative sur les diamètres du noyau ou sur l'épaisseur de la membrane d'alginate comme nous pouvons confirmer en comparant les diamètres des capsules présentées dans le Tableau 21 et Tableau 22. En effet, toutes les capsules ont été générées avec une buse de décharge interne de 700 µm pour la décharge de l'organogel à l'état fondu, et une buse de décharge externe de 1500 µm pour la décharge de la solution d'alginate, ces deux buses agencées de façon concentrique pour la formation des capsules bi-gels en tête de la tour de prilling. Il en résulte qu'elles sont constituées d'un cœur et une membrane que l'entoure comme attendu et ont un diamètre de noyau entre 1600 et 2000 µm. L'épaisseur de membrane d'alginate varie entre 400-700 µm. Le paramètre

(coefficient) de *sphéricité* met en évidence l'écart entre la forme de la *particule* par rapport à une *particule sphérique*. Nos capsules bi-gels ont un coefficient de sphéricité CS dans la gamme de 0,91 à 0,98.

Considérant que le diamètre de la buse de décharge externe (1500 μm) est égal au diamètre du jet, la valeur du diamètre de goutte théorique calculé en fonction du diamètre du jet (d_j) et de la longueur d'onde optimale λ_{opt} (Chapitre 2, item III-3.1 - l'équation 2.8) est de 2820 μm , proche des diamètres mesurés pour les capsules bi-gels, situés entre 2500 et 3000 μm .

L'ajout d'un principe actif dans des billes fabriquées par un procédé de prilling peut modifier leurs caractéristiques physiques comme la taille et la forme, comme déjà reporté dans la littérature, par exemple pour des billes d'acide behénique (où un principe actif hydrosoluble (Métoprolol tartrate) a été introduit (Vervaeck et al., 2013)). Cependant les modifications de taille ou de forme semblent plutôt imputables à de changements de viscosité des liquides sous l'effet de l'ajout du principe actif. Ces modifications de viscosité ont nécessité des changements de conditions opératoires du prilling, ce qui n'est pas notre cas en présence de l'EFV. En effet, nous pouvons constater que l'ajout d'EFV dans le cœur d'organogel n'a pas modifié de façon remarquable leur diamètre et CS comme le montre le Tableau 23 et Tableau 24.

Des images en microscopie optique de plusieurs de ces capsules peuvent être observées sur le Figure 72 et Figure 73. Concernant le cœur des capsules, on constate qu'il est d'autant plus opaque que le taux de HSA est important, ce qui est en lien avec la formation de structures fibrillaires en quantité proportionnelle au taux de HSA utilisé. Une membrane transparente est effectivement observable autour des capsules quelque soit la formulation et le type d'alginate utilisé. Elle présente une épaisseur d'environ 400 à 700 μm , calculé à partir de l'équation 3.1, en lien avec la taille des buses utilisées pour préparer les capsules.

Dans le cas des capsules BG entourées d'une couche d'alginate de calcium de type M, la membrane apparaît plus fragile que la membrane formée à partir d'alginate type G (Figure 78 et Figure 79 dans '*Informations complémentaires*' en fin de ce chapitre). L'apparente « fragilité » de la membrane peut être reliée directement à la nature chimique de l'alginate utilisé, les alginates de type M aboutissant à des gels moins rigides que les gels de type G car ce sont les unités monomères acide guluronique (majoritaires dans l'alginate de type G) qui sont impliquées dans la réaction de réticulation, sur le modèle de la boîte à œufs (Grant et al., 1973), en présence d'ions divalents comme le calcium. Ce phénomène réduit le rendement de

récupération de capsules avec une membrane type M. Pour cette raison le reste des caractérisations (évaluation des propriétés mécaniques, cinétiques de libération d'EFV) n'a pu être menée sur les capsules bi-gels à membrane type M (BG4, BG5 et BG6).

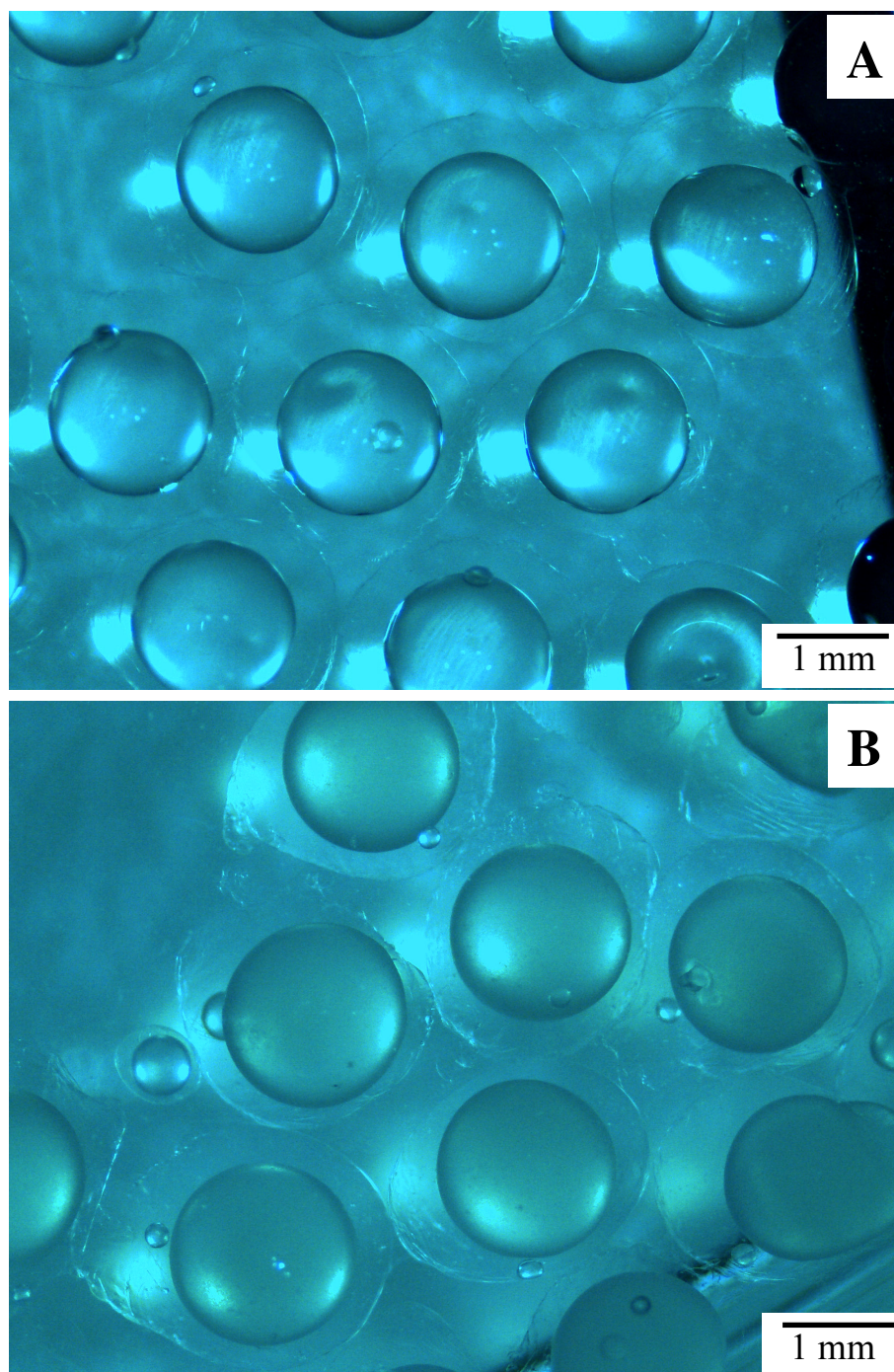


Figure 72. Capsules bi-gels formées à 25 °C avec une membrane d'alginate type G et différentes compositions du noyau A) huile de tournesol pure et B) 5% de 12-HSA.

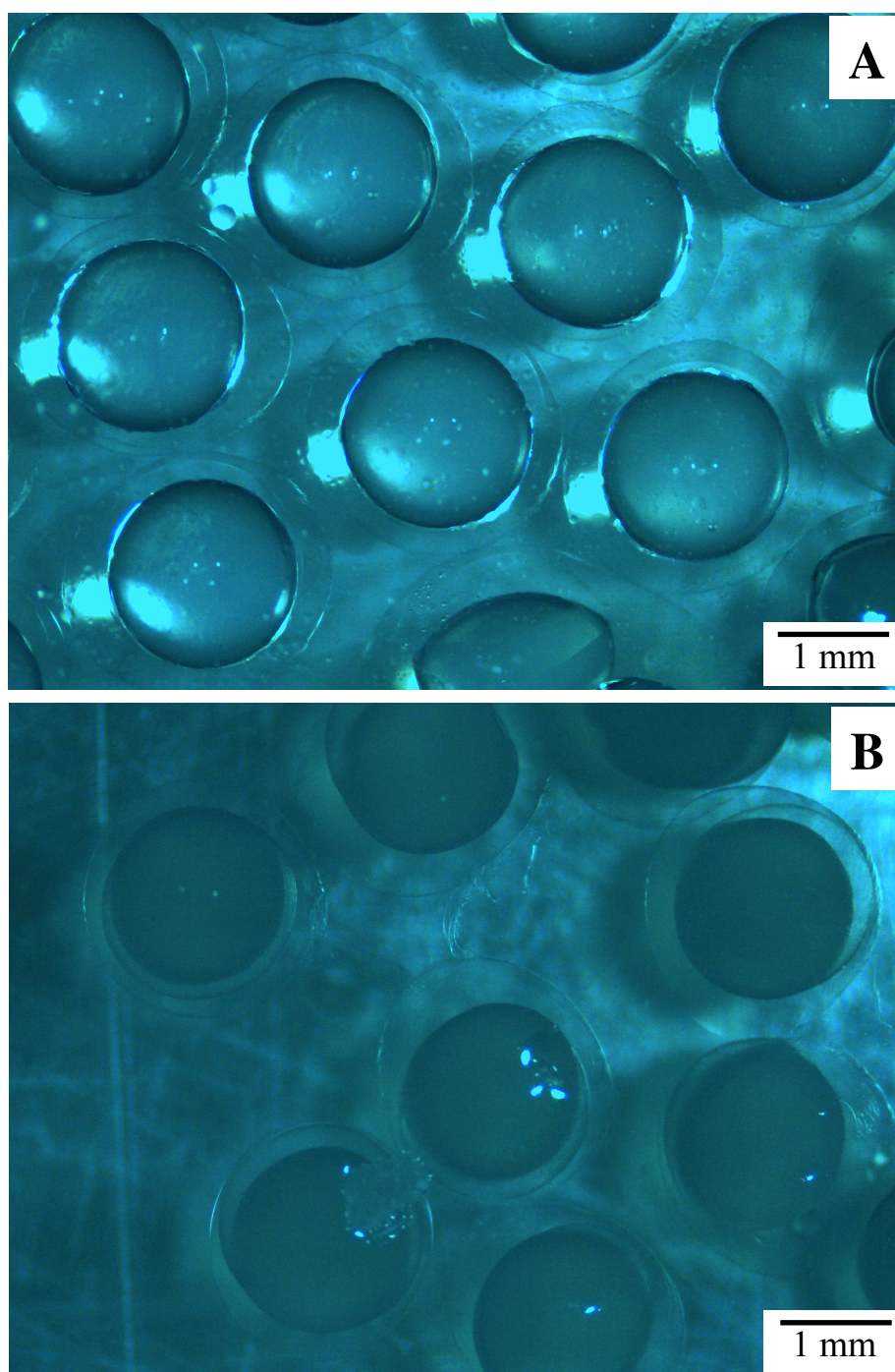


Figure 73. Capsules bi-gels formées à 25 °C avec une membrane d'alginate type G noyaux contenant de l'EFV 30 mg/g. A) huile de tournesol pure et B) 20% de 12-HSA.

I-3.4 Comportement mécanique

Dans le but de mettre en évidence une réponse de ces particules de structure complexe (noyau-membrane avec de compositions différentes) à une contrainte mécanique, nous nous focalisons ici sur le comportement mécanique d'une vingtaine de ces billes soumises à une contrainte de compression.

I-3.4.1 Cycles de compression-relaxation

Cette étude, bien que préliminaire, a demandé un travail d'ajustement du protocole de mesure. Nous avons également choisi d'appliquer un cycle de compression et relaxation de la contrainte pour étudier le comportement de ces particules sous l'effet de cette relaxation. Une analyse des courbes de contrainte-déformation en charge-décharge a été réalisée sur les différents

Une analyse sur les courbes de la contrainte (σ) *versus* la déformation (ε) nous montre deux régions bien remarquables, une sur la décharge intermédiaire (0,025 à 0,018 MPa) est l'autre sur la décharge finale (0,07 à 0,0 MPa).

Sur la Figure 74 (cœur huile – BG1) on observe une compression des particules jusqu'à 0,025 MPa avec des vaguelettes sur les courbes, traduisant probablement le réarrangement des particules dans leur contenant (rempli d'environ 20 spécimes, soit la quantité nécessaire pour recouvrir complètement le fond du bac de 1 cm²). Après 1^{er} cycle de compression-relaxation les objets apparaissent plus résistants à la compression, vraisemblablement parce que elles se déformées contre le contenant.

La température de génération de billes (5 °C ou 25 °C) ne semble pas avoir d'influence sur ce comportement mécanique car les courbes ne présentent pas des grandes différences. Il est vraisemblable que les différences de structuration entre les capsules obtenues dans des bains à différentes températures ne soient pas suffisamment notables pour être détectées par ce genre de mesure.

Pour les billes contenant un cœur gélifié (avec 5wt% d'HSA – BG2) la même tendance initiale est observée, c'est à dire que la contrainte augmente avec la déformation. Plus on comprime, plus le comportement est non linéaire. Les billes opposent de plus en plus de résistance à l'effort de la contrainte (Figure 75).

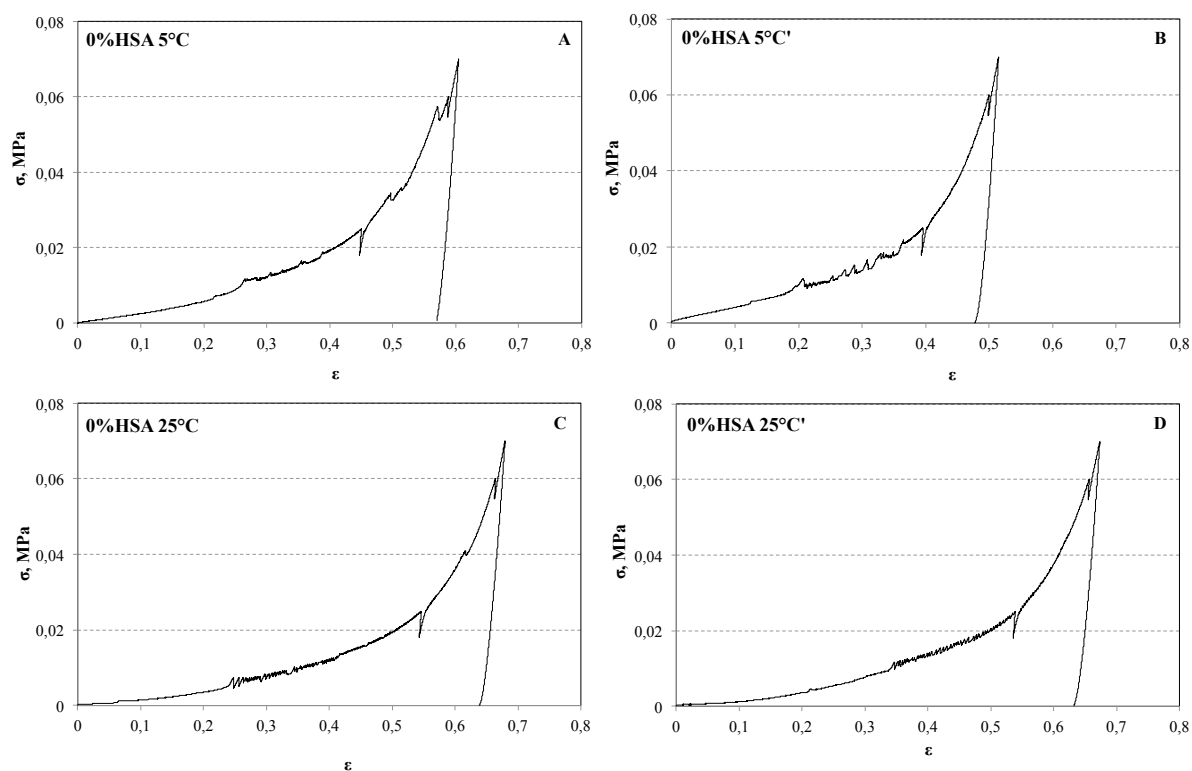


Figure 74. Evaluation Contrainte *versus* Déformation du piston lors du cycle de compression/relaxation de particules bi-gel comprenant un noyau liquide ($n = 2$). A et B) billes obtenues à 5 °C. C et D billes obtenues à 25 °C.

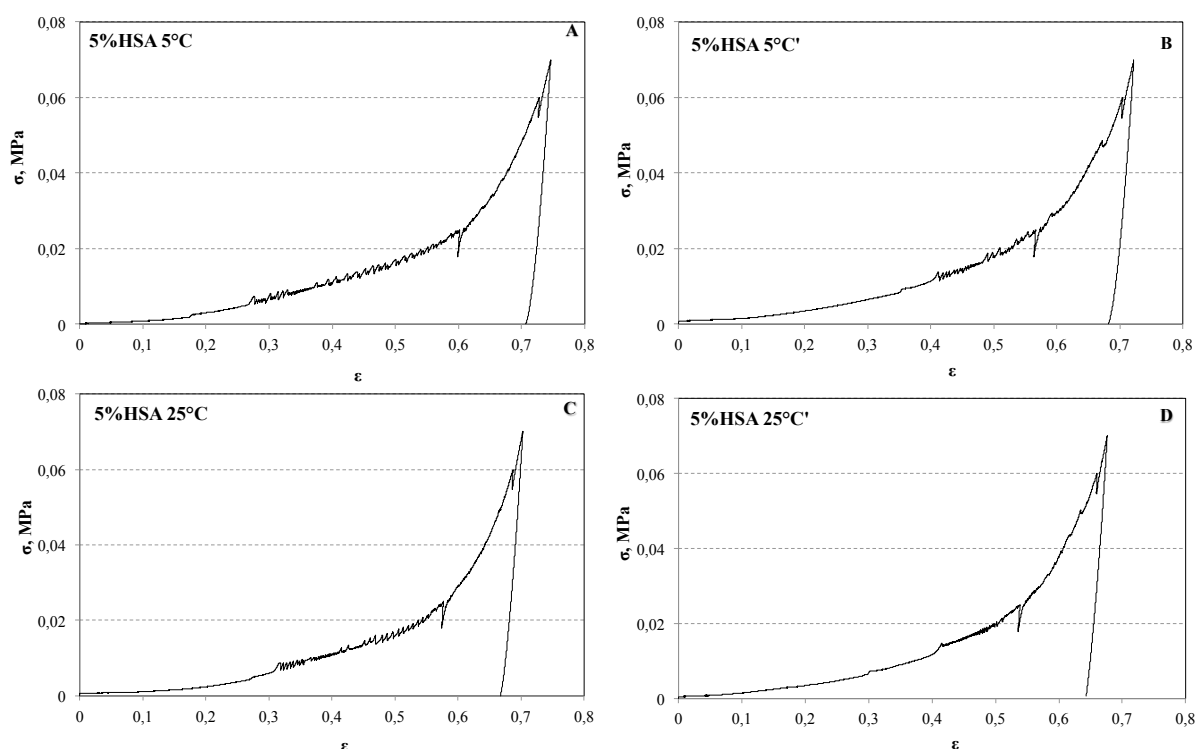


Figure 75. Evaluation Contrainte *versus* Déformation du piston lors du cycle de compression/relaxation de particules bi-gel comprenant un noyau gélifié à 5% d’HSA ($n = 2$). A et B) billes obtenues à 5 °C. C et D billes obtenues à 25 °C.

En ce qui concerne les particules au cœur gélifié par 20% d’HSA (lot BG3), une résistance supérieure à la compression est observée en phase initiale. Les temps de relaxation (pendant le premier cycle) n’est pas suffisant pour une récupération totale de la forme initiale des particules, d’où une courbe arrondie au début du deuxième cycle de compression (0,018 – 0,06 MPa). Ce comportement peut être interprété comme un comportement « visqueux » (Figure 76).

Si l’on se reporte à la littérature pour le comportement à la compression des organogels, une augmentation de l’élasticité d’un organogel constitué d’huile de canola et 12-HSA a été observé avec l’augmentation de la concentration en 12-HSA (Rogers and Marangoni, 2008; Rogers et al., 2009). Nous semblons rencontrer ce même phénomène, bien que nos matériaux ne présentent pas la même phase organique ni la même forme.

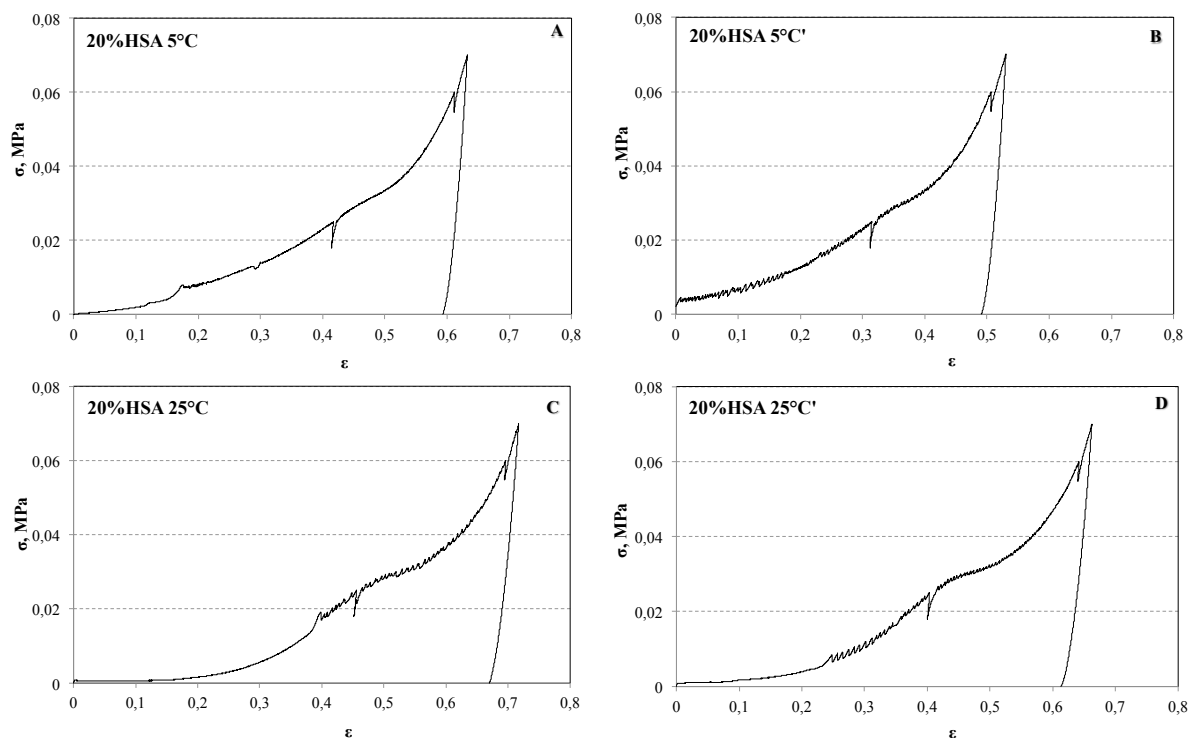


Figure 76. Evaluation Contrainte *versus* Déformation du piston lors du cycle de compression/relaxation de particules bi-gel comprenant un noyau gélifié à 5% d'HSA ($n = 2$). A et B) billes obtenues à 5 °C. C et D billes obtenues à 25 °C.

I-3.4.2 Calcul du module élastique

A partir de décharges intermédiaires et finales du cycle de compression-relaxation, on peut calculer la pente élastique de décharge. Le module élastique alors, été déterminé pour chaque courbe présenté sur les Figure 74, Figure 75 et Figure 76. Et le Tableau 25 récapitule l'ensemble des résultats en fonction de la nature du cœur des capsules.

A partir de ces résultats ont observe que la pente de la décharge intermédiaire est toujours supérieure à la pente de la décharge finale. On peut alors conclure que les billes présentaient un module de rigidité plus fort qu'à celui de la décharge finale. Cela signifie que certaines billes se sont rompues entre la déformation intermédiaire et finale. D'ailleurs, on peut observer sur les courbes de compression (Figure 74, Figure 75 et Figure 76) des « accidents » qui peuvent correspondre à la rupture de ces capsules.

Tableau 25. Modules d'Young lors des décharges intermédiaire et finale pour une mono-couche de particules bi-gels ($n = 2$).

Concentration en HSA (wt%)	Module d'Young (MPa)			
	Mono-Couche 1		Mono-Couche 2	
	Intermédiaire	Finale	Intermédiaire	Finale
Température de récupération				
5 °C				
0	2,72	2,07	2,70	2,01
5	2,59	1,98	2,37	1,84
20	2,53	1,87	2,45	1,88
Température de récupération				
25 °C				
0	2,37	1,84	2,38	1,80
5	2,67	2,06	2,76	2,12
20	1,71	1,55	2,04	1,50

La température du bain de récupération des particules ne semble pas avoir de grande influence sur cette mesure.

En comparant les cœurs gélifiés de capsules on observe que le module élastique est supérieur à faible concentration en agent gélifiant. Cela signifie qu'une augmentation de la concentration en 12-HSA a rendu les particules bi-gels plus rigides.

Ce phénomène peut être visualisé sur la Figure 77. Les capsules comprenant le cœur formé à 5% de 12-HSA présentent, à la fin de l'essai de compression, une réduction de diamètre plus remarquable que celle à cœur contenant 20% en HSA, qui n'ont pas subi trop de déformation.

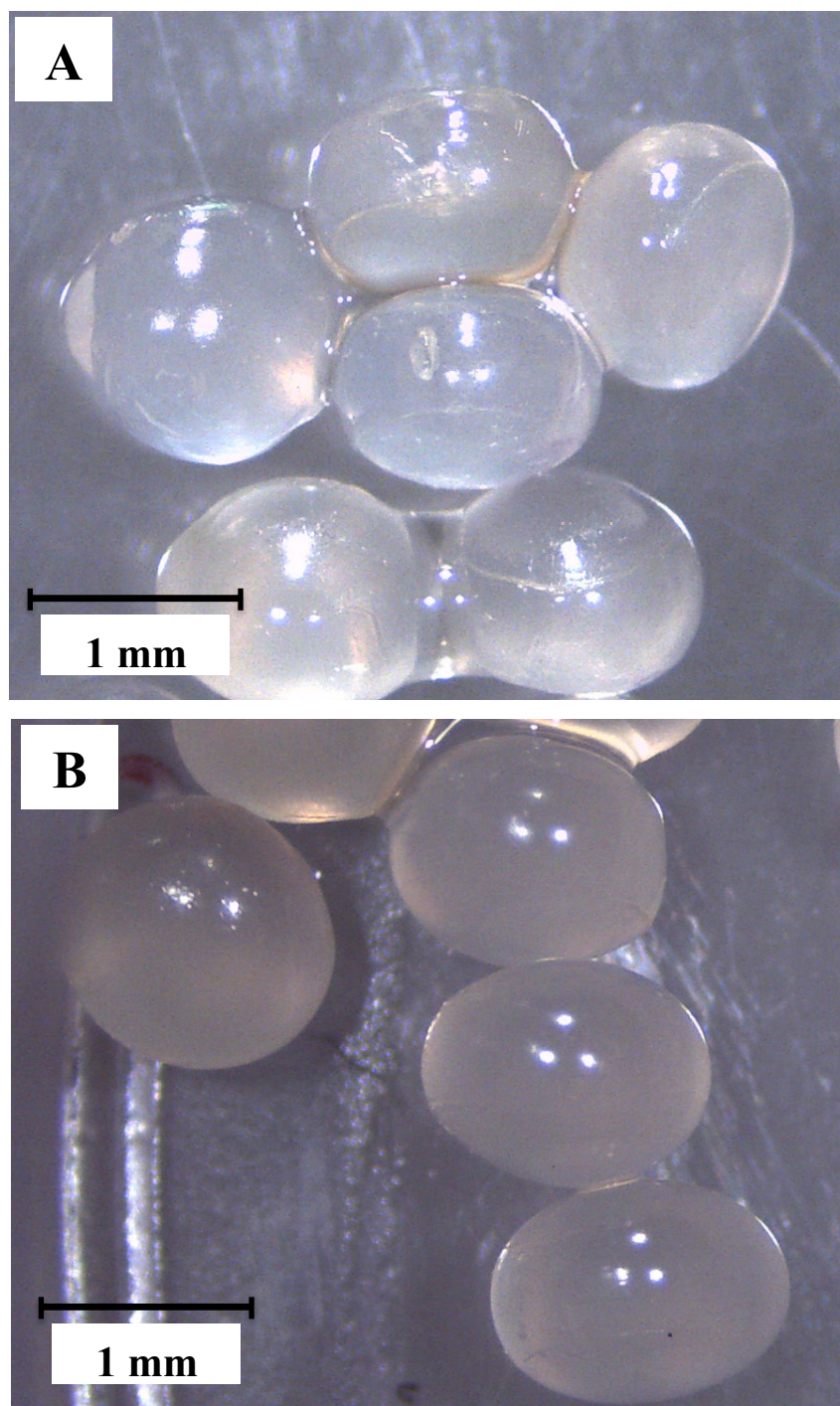


Figure 77. Photos en microscopie optiques de billes après test de résistance mécanique. A) particules bi-gels formées avec un noyau contenant 5% en masse de 12-HSA. B) particules bi-gels formées avec un noyau contenant 20% en masse de 12-HSA.

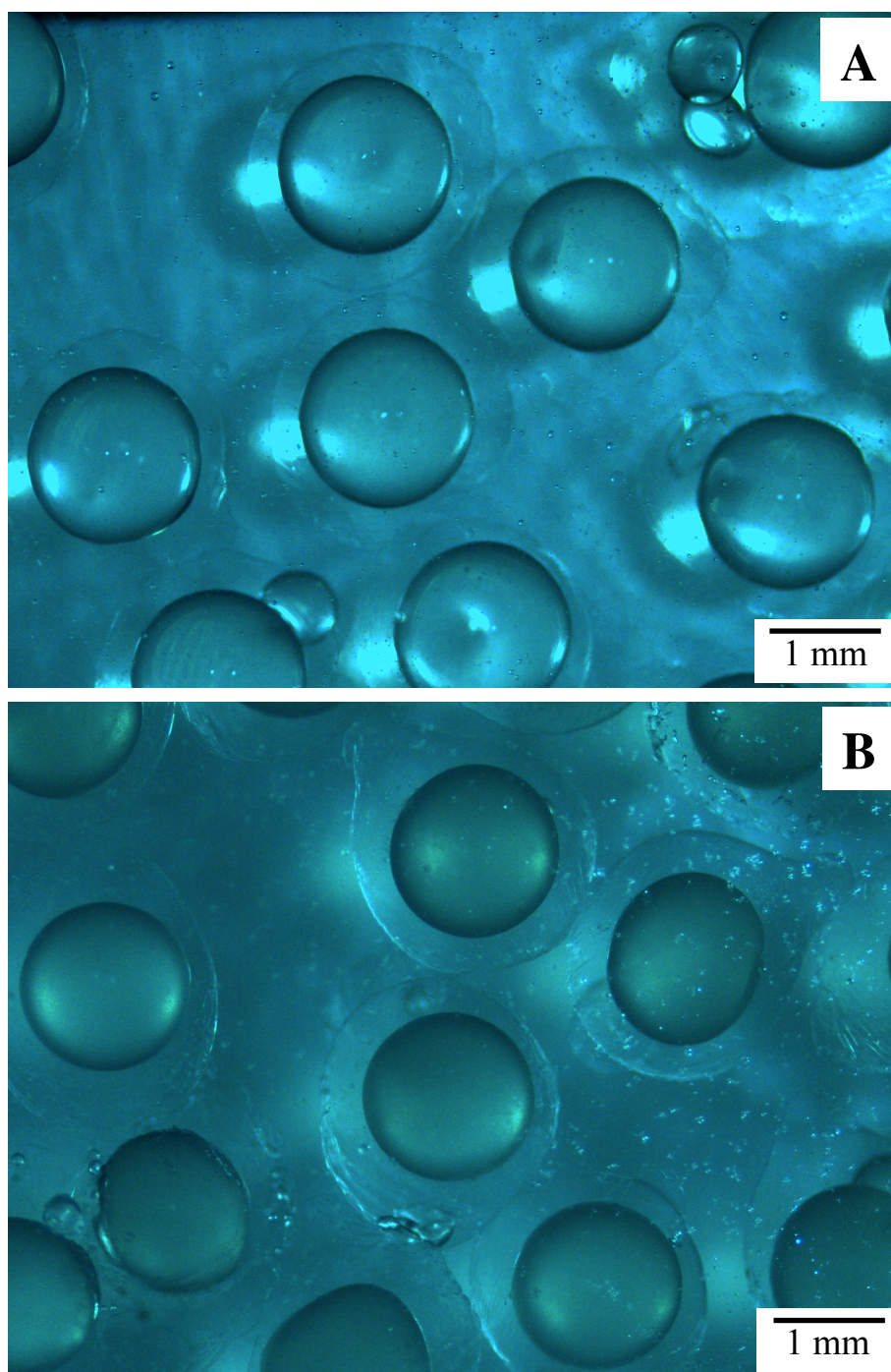
*Informations complémentaires**Capsules bi-gels avec membrane d'Alginate type M*

Figure 78. Capsules bi-gels formées à 25 °C avec une membrane d'alginate type M et différentes compositions du noyau. A) 0% de 12-HSA et B) 20% de 12-HSA.

Capsules bi-gels avec membrane d'Alginate type M

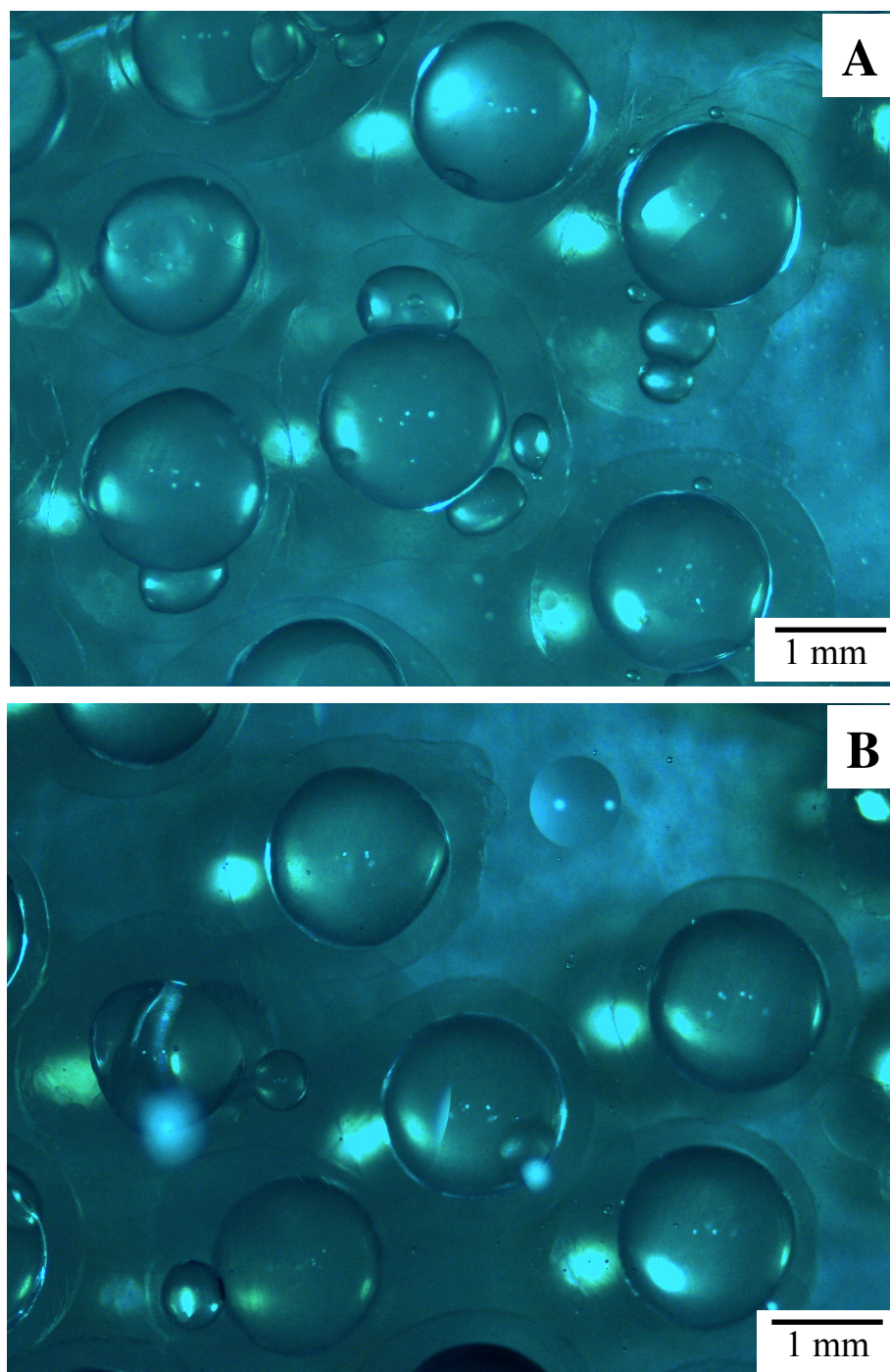


Figure 79. Capsules bi-gels formées à 25 °C avec une membrane d'**alginate type M** et noyau d'huile de tournesol contenant de l'**EFV**. A) 30 mg/g et B) 60 mg/g.

Deuxième partie

Capsules bi-gels : aptitude à la libération d'un principe actif (Efavirenz)

Introduction

Après l'introduction du concept de capsules bi-gels, générées par la technique de prilling et leur caractérisation physique, nous nous intéressons dans cette partie à la fonctionnalité de ces particules en tant que véhicule pour un principe actif faiblement soluble dans l'eau.

Le but de ce travail est d'augmenter la biodisponibilité de l'Efavirenz en l'exposant au site cible (l'intestin) sous forme déjà dissoute, via une formulation lipidique. Pour cela, nous nous sommes intéressés à la détermination des cinétiques de libération d'EFV à partir de particules bi-gels de formulations différentes afin de mettre en évidence l'influence :

- du réseau d'organogel, dont nous avons vu qu'il varie en fonction de la concentration d'HSA et de la température à laquelle il est formé (refroidi) ;
- de la présence de la membrane ;
- du pH du milieu (environnement gastro-intestinal simulé).

Un principe actif peut être libéré de différentes façons à partir d'un système de délivrance. Cela peut se faire par diffusion du principe actif et/ou par la dégradation de la matrice.

En vue d'élucider le mécanisme de libération de la substance active à partir des capsules bi-gels, les profils de libération des différentes formulations en conditions gastro-intestinales ont été suivis en utilisant des cellules à flux continu. L'analyse des résultats s'appuie sur les modèles mathématiques déjà décrits dans le chapitre précédent pour interpréter les cinétiques de libération.

III-1. Produits

Formulations identiques à celle décrites dans la Première partie de ce Chapitre (item II-2.5) noyau lipidique recouvert avec membrane externe d'alginate type G.

BG1 : 0% en HSA

BG2 : 5% en HSA

BG3 : 20% en HSA

Milieux de dissolution identiques à ceux utilisés précédemment (Chapitre 2 Partie 3 item III-2.2.2).

III-2. Méthodes de caractérisation

III-2.1 Microscopie Raman

La microscopie Raman a déjà été utilisée pour la caractérisation des capsules d'organogels présentée dans le Chapitre 2 (item III-2.2.1). Nous avons utilisé cette même technique pour analyser des capsules bi-gels. Les mêmes paramètres opératoires ont été fixés. Les particules bi-gels analysées sont celles composées d'un cœur en organogel à 20% en HSA et 60 mg/g d'EFV et d'une membrane d'alginate type G.

III-2.2 Etude de la libération de l'Efavirenz des capsules bi-gel

Le même montage expérimental et la même technique d'analyse de la teneur d'EFV en milieu de dissolution décrits dans le chapitre précédent ont été aussi utilisées (item III-2.2.2 et III-2.2.3, respectivement).

Les paramètres de l'étude sont les suivants :

- Concentration en 12-HSA dans le cœur d'organogel (5 et 20%), en comparaison à un cœur constitué que de l'huile de tournesol ;
- Milieu de dissolution avec changement contrôlé de pH selon conditions regroupées dans le Tableau 26 **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**

Tableau 26. Conditions maintenues pour les tests de libération en milieux SGF et SIF simulés.

Essai	Conditions		
	Gastrique	Intestinal	Gastro-intestinal
1	pH 1,2 (5 h)*	-	-
2	-	pH 6,8 (8 h)*	-
3	-	-	pH 1,2 (2 h) + pH 6,8 (8 h)*

* ajout de tensioactif (SDS) dans les milieux à une concentration de 1% en masse.

III-2.2.3 Évaluation du mécanisme de libération du principe actif en utilisant différents modèles cinétiques

Aux modèles déjà appliqués aux capsules d'organogels (Zéro, Higuchi, Hixson-Crowell et Korsmeyer-Peppas), nous avons ajouté le modèle d'ordre zéro. Les équations sont données dans le Tableau 6 Chapitre 1 – Troisième Partie.

III-3. Résultats et discussion

III-3.1 Microscopie Raman

La **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** présente les spectres Raman des composants individuels (alginate, huile de tournesol, 12-HSA, EFV) nécessaires pour l'analyse des spectres trouvés dans les particules bi-gels analysées. Pour rappel, il s'agit des particules avec un cœur d'organogel à 20% 12-HSA contenant de l'EFV à 60 mg/g_{organogel} entouré par une membrane d'alginate de calcium (formé à partir d'alginate type G).

Les codes couleurs (vert, rouge, bleu) doivent être considérés lors de cette analyse. Commençons par la lecture du spectre Raman de l'alginate type G : nous y identifions les pics suivants : un premier pic à 800 cm^{-1} (ν C-Cl), un deuxième pic à 912 cm^{-1} (ν C-O-C) et encore deux autres pics à 1292 cm^{-1} et 1350 cm^{-1} (bandes d'élongation C-H). Nous retrouvons certains de ces pics sur les particules bi-gels analysées (spectre en vert sur la Figure 80**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**), ce qui confirme la présence d'une membrane d'alginate en surface des particules.

Au-dessous de la membrane d'alginate se trouve l'organogel identifié par les spectres associés de ses composants, huile de tournesol, 12-HSA et l'EFV comme déjà vu auparavant pour les particules d'organogels (III-3.3, Chapitre 2).

Par ailleurs, la microscopie Raman a pu aussi donner des renseignements concernant la stabilité de la membrane en cours de stockage (temps, conditions de stockage). En effet, nous avons analysé des particules fabriquées et stockées depuis 6 mois en milieu aqueux (eau pure, solution contenant du CaCl_2) et nous avons pu constater la présence de quelques particules sans membrane d'alginate ou présentant des membranes d'épaisseur significativement réduite.

De ce fait, un stockage des capsules à l'état sec pourrait constituer une alternative intéressante. En première approche, nous avons réalisé quelques essais de séchage à l'air afin d'en étudier l'influence sur les cinétiques de libération de l'EFV.

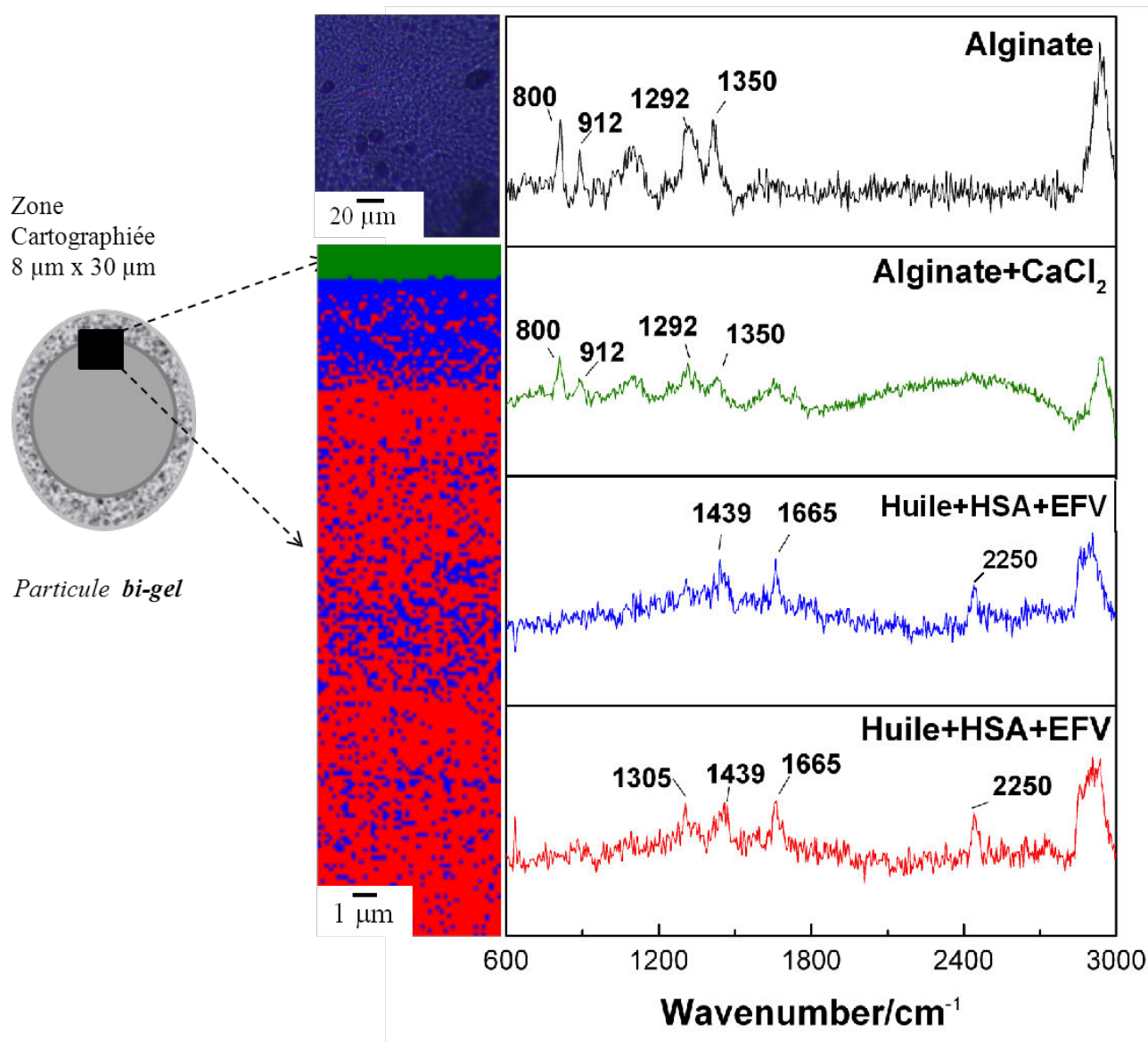


Figure 80. Les spectres et la cartographie Raman pour les particules bi-gel d'organogel à 20% de 12-HSA dissous dans l'huile de tournesol chargé de 60 mg/g de EFV et recouvert par une membrane d'alginate type G.

III-3.2 Cinétique de libération de l'Efavirenz à partir des capsules bi-gels

Les capsules bi-gels ont été chargées en leur cœur d'EFV à deux concentrations différentes. Des cinétiques de libération à partir de ces formulations ont été réalisées en conditions gastro-intestinales simulées, c'est-à-dire, à pH 1,2 et pH 6,8, séparément ou successivement, en présence ou absence d'enzymes.

Cette étude permet de mettre en évidence l'effet des différents paramètres étudiés sur la cinétique de libération dans ces milieux :

- La concentration du 12-HSA et la teneur en EFV dans le cœur d'organogel,
- La température de formation des capsules (refroidissement de l'organogel).

Dans un premier temps, nous nous sommes attachés à définir les conditions opératoires les plus pertinentes et les plus discriminantes. Pour cela, nous avons commencé par étudier l'importance de la présence d'enzymes dans les milieux de libération étudiés.

Pour suivre la concentration d'EFV libéré dans les milieux aqueux, nous avons tout d'abord préparé les courbes d'étalonnage pour la quantification de l'EFV dans les prélèvements effectués dans les deux milieux aqueux. Ces courbes sont présentées dans '*Informations Complémentaires*' à la fin de ce chapitre.

Définitions de conditions opératoires

Avant le début des essais de libération de l'EFV à partir de capsules bi-gels, nous avons décidé d'étudier la présence d'enzymes dans les milieux de dissolution. Ce choix s'est basé sur l'influence de la présence d'enzymes dans le processus de dégradation du réseau d'organogel, ce qui peut changer le taux de libération du P.A. Iwanaga et al. (2010) ont démontré que la présence d'enzyme a accéléré l'érosion de la matrice organogélifiée.

Nous avons utilisé le type et les paramètres du test de dissolution préconisés par les Pharmacopées le plus adaptés pour notre système. Dans cette étude nous avons utilisé deux

milieux de dissolution en présence ou absence d'enzymes, le gastrique à 800 U/L de pepsine et le milieu intestinal à 1750 U/L (USP35, 2012).

La **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** montre que 20% de la substance active est libérée dans des conditions gastriques. Après une heure dans des conditions intestinales (pH 6,8), le pourcentage de relargage d'EFV a doublé ($44,4 \pm 2,7\%$), arrivant à 80% de libération après 6 heures.

Comme la présence d'enzymes dans les milieux ne semble pas avoir d'influence sur la dissolution des particules bi-gels, nous avons choisi de travailler avec les milieux sans enzymes pour les essais suivants.

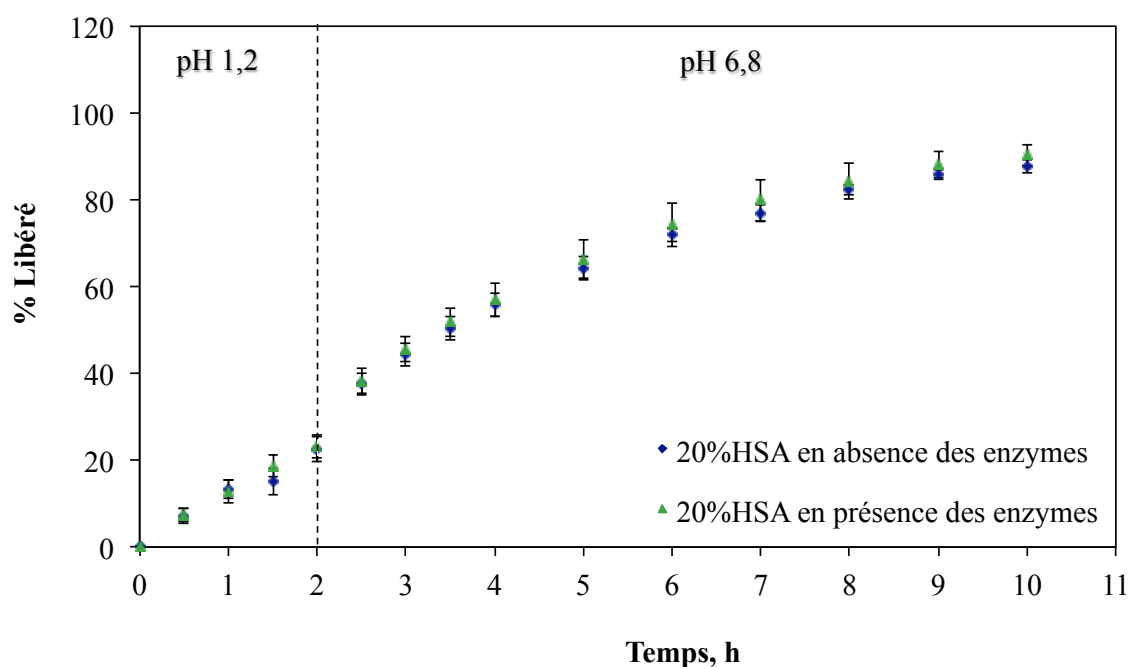


Figure 81. Profils de dissolution en conditions gastro-intestinales simulées de particules bi-gels, en présence et absence des enzymes gastriques (pepsine et pancréatine), pour capsules dont le cœur contient 20% en masse de 12-HSA.

La suite des expérimentations a été réalisée sans enzymes. Nous avons tout d'abord étudié chaque pH séparément et nous sommes intéressés à différents paramètres des formulations : la concentration du 12-HSA et la température de formation des capsules (refroidissement de l'organogel). Au vu des résultats du chapitre précédent et du nombre de paramètres à prendre en compte, nous nous sommes intéressées au cœur de capsules entouré d'une membrane d'alginate type G, qui a montré les meilleures aptitudes à la formation de

capsules technologiquement récupérables, avec un rendement acceptable, et résistantes mécaniquement.

III-3.2.2 Etude en conditions gastriques simulées à pH 1,2

Effet de la concentration de 12-HSA à 25 °C

Le premier effet qui sera discuté ici est celui de la concentration en molécule gélifiante dans l'organogel fabriqué à 25 °C. La **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** montre que, indépendamment du réseau fibrillaire d'organogel, l'EFV est libéré de manière similaire après 5h en milieu acide : $47,6 \pm 2,1\%$ pour le lot BG2 et $44,0 \pm 1,0\%$ pour le lot BG3.

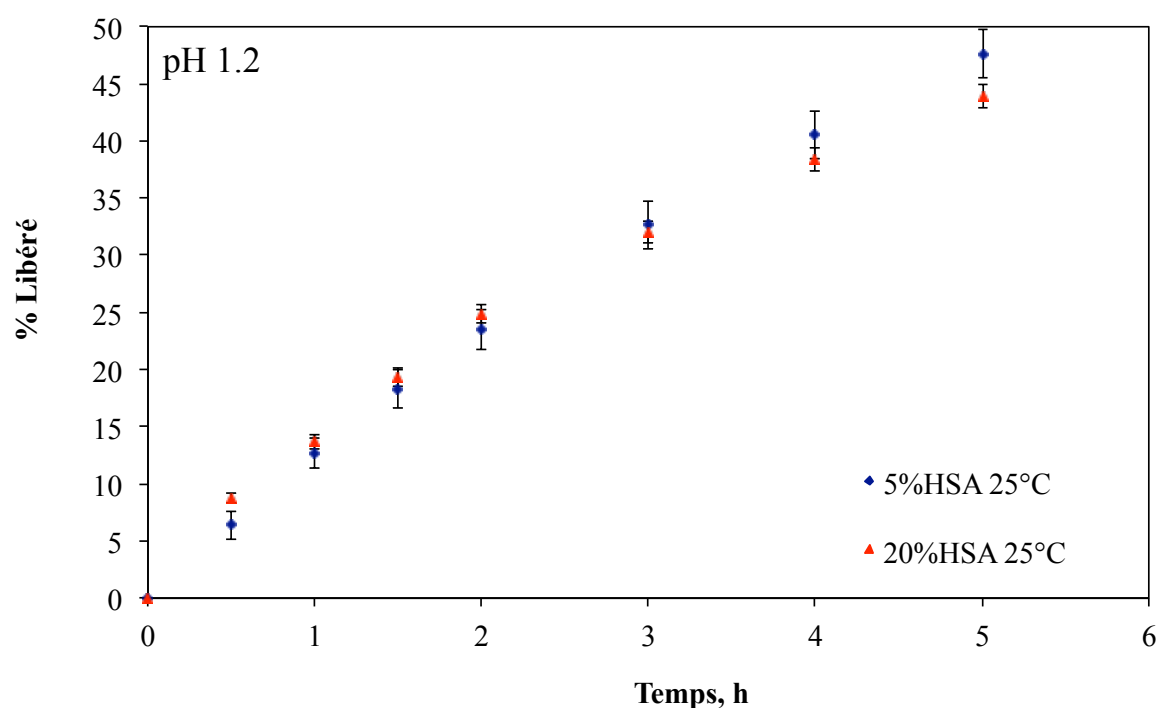


Figure 82. Profils de dissolution en milieu gastrique simulé de particules bi-gels dont le cœur contient 5% ou 20% en masse de 12-HSA.

Effet de la température de génération de particules

La température de génération des particules a aussi été étudiée en raison d'un effet attendu sur le réseau d'organogel. Mais la **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** montre que la substance active est libérée aussi de manière similaire à partir des capsules bi-gels, quelle que soit leur température de génération : 5 ou 25 °C (~ 40% dissous à la fin du temps d'incubation).

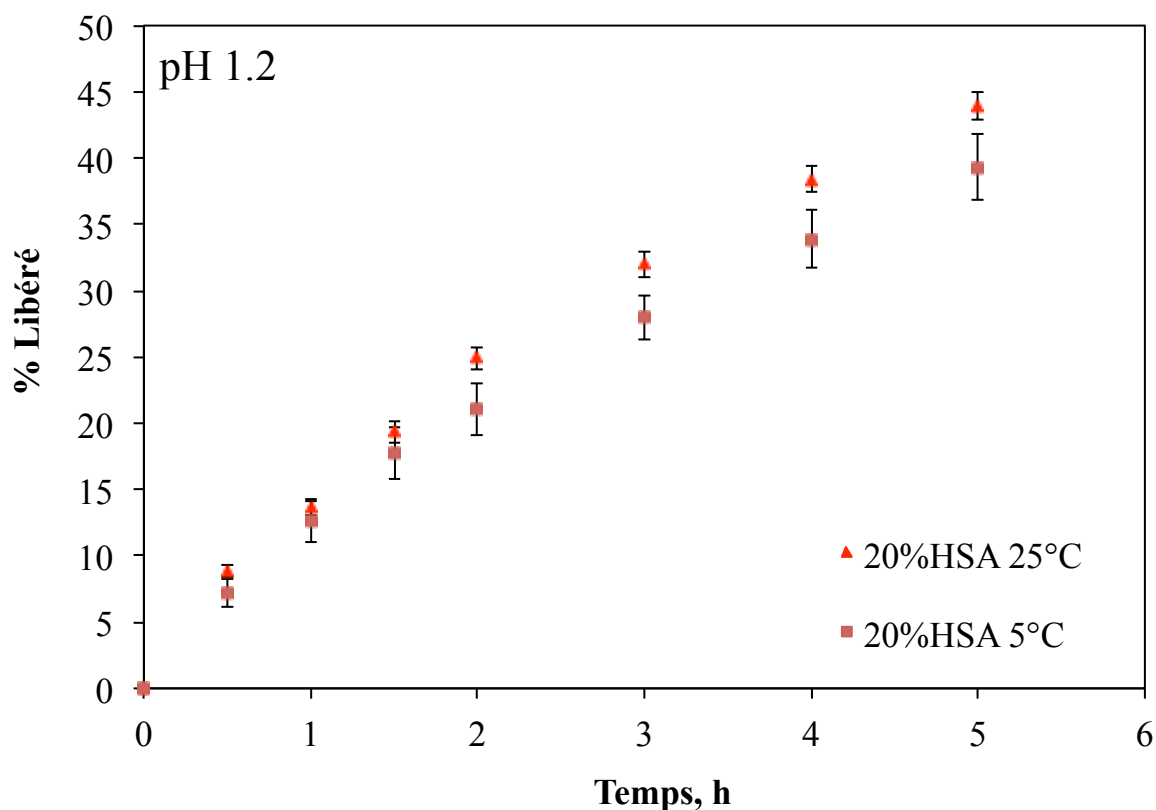


Figure 83. Profils de dissolution en milieu gastrique simulé de particules bi-gels dont le cœur contient 20% en masse de 12-HSA générées à 5 °C et à 25 °C.

III-3.2.3 Etude en conditions gastriques simulées à pH 6,8

Effet de la concentration de 12-HSA à 25°C

La **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** montre que la libération du P.A augmente en conditions intestinales. Au bout de 1,5 h, 80% de l'EFV est libéré à partir de

capsules bi-gels dont le cœur contient 5% en masse de 12-HSA. Les cinétiques obtenues à partir de capsules BG3 semblent plus lentes, pour aboutir à la libération de 80% d'EFV après 6 h incubation.

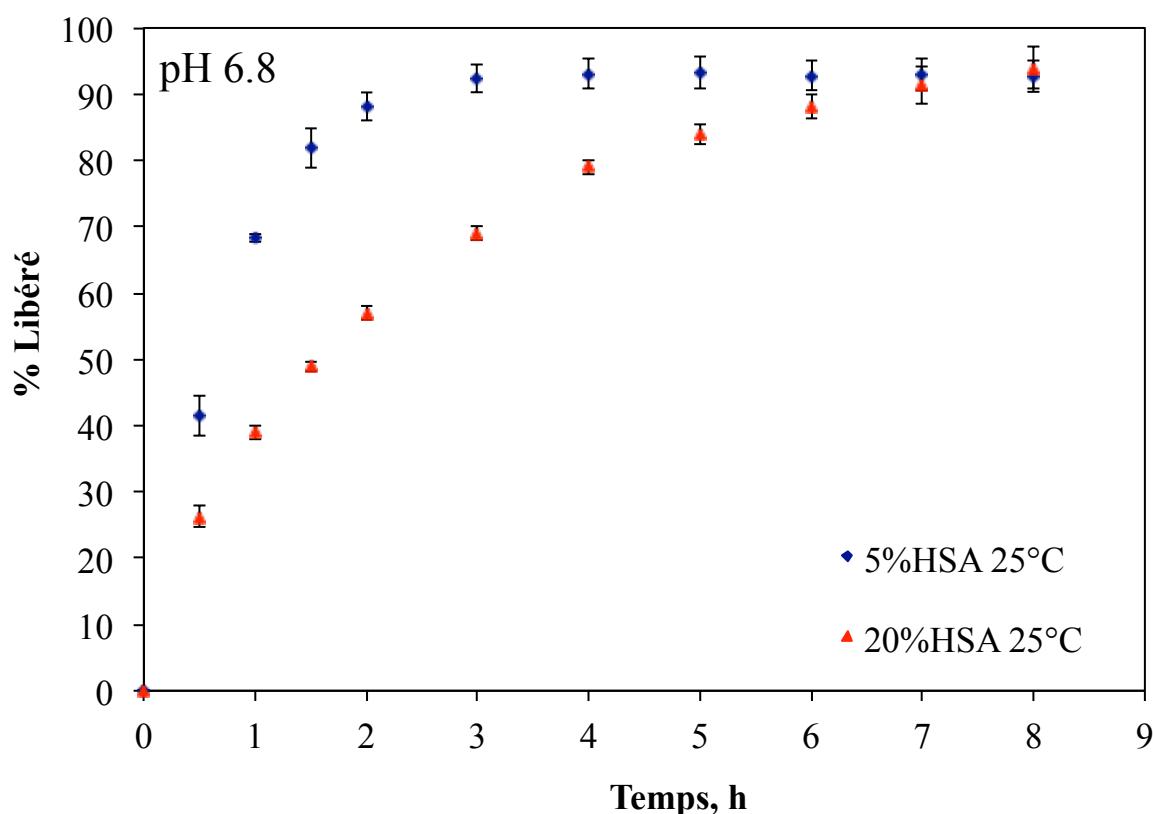


Figure 84. Profils de dissolution en milieu intestinale simulé de particules bi-gels dont le cœur contient 5% ou 20% en masse de 12-HSA.

Effet de la température de génération de particules

Comme tous les essais de dissolution d'EFV en pH gastrique simulé, l'influence de la température d'obtention de capsules n'est pas avérée détectable, peut être en raison de la température de stockage qui a été la même après récupération des capsules. La **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** montre des cinétiques de libération similaires pour le BG3 récupérées à 5 °C et à 25 °C. Au vu des résultats nous avons choisi de n'étudier que les capsules générées à la température de 25 °C.

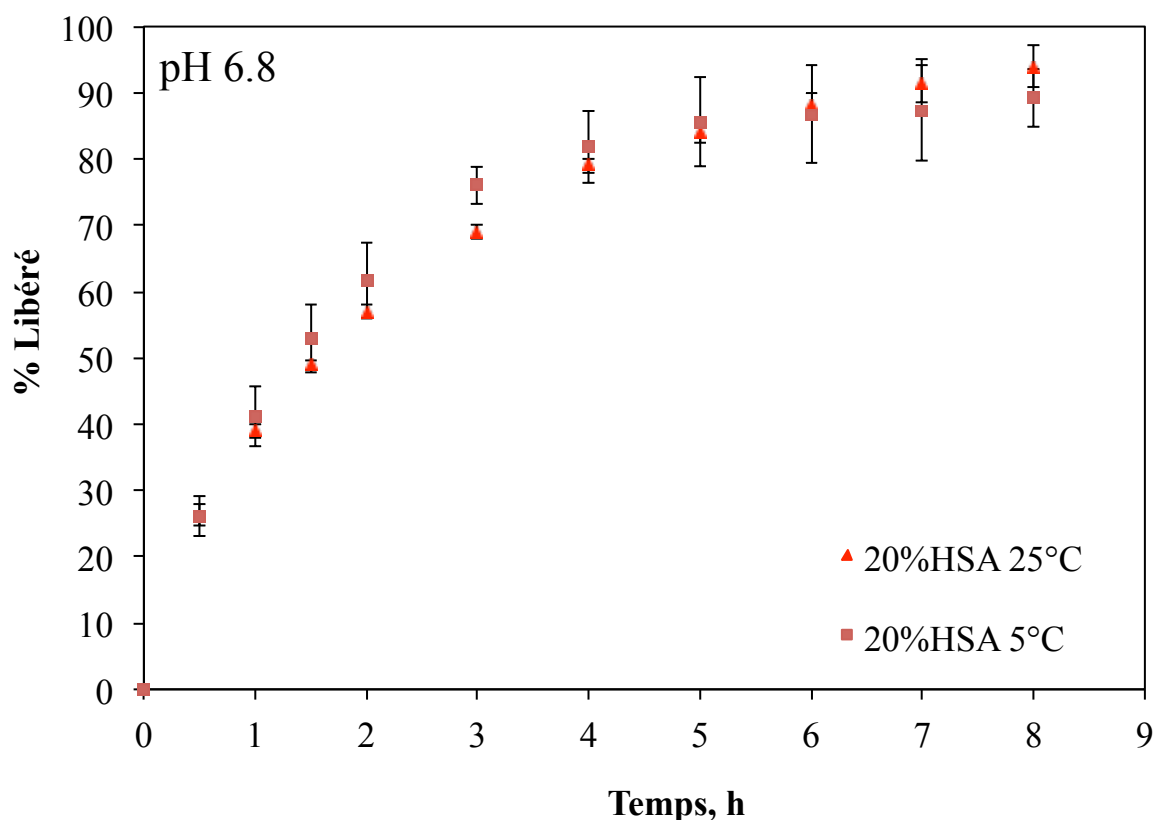


Figure 85. Profils de dissolution en milieu intestinale simulé de particules bi-gels dont le cœur contient 20% en masse de 12-HSA générées à 5 °C et à 25 °C.

III-3.2.4 Etude en conditions gastro-intestinales

Deux milieux de dissolution ont été employés. Les échantillons ont subi un changement de pH en simulant les conditions gastro-intestinales. Tout d'abord elles sont maintenues pendant 2 heures dans un pH 1,2, puis 8 heures à pH 6,8.

Effet de la concentration de 12-HSA

Des particules noyau-membrane, contenant un noyau liquide contenant de l'Efavirenz (lot BG1) dissous dans de l'huile de tournesol, entouré par une membrane d'alginate type G, ont été préparées comme référence. Ces particules ont libéré 30% de l'EFV en 2h à pH 1,2 puis $77,3 \pm 9,6\%$ après 30 minutes à pH 6,8.

L'introduction de l'agent gélifiant dans l'huile de tournesol à chaud, génère après refroidissement un réseau fibrillaire tridimensionnel, qui piège l'Efavirenz. En fonction de la quantité d'organogélifiant, le réseau du gel est plus ou moins dense, paramètre qui peut modifier le profil cinétique de relargage de la molécule active véhiculée par ce système. Une concentration de 5% de 12-HSA présente dans l'organogel d'huile de tournesol améliore le contrôle de libération de l'EFV à partir des particules bi-gels comme le montre la Figure 86, cependant la modification du profil cinétique de relargage de l'EFV devient remarquable pour une concentration de 12-HSA de 20% (ralentie surtout en pH 6,8).

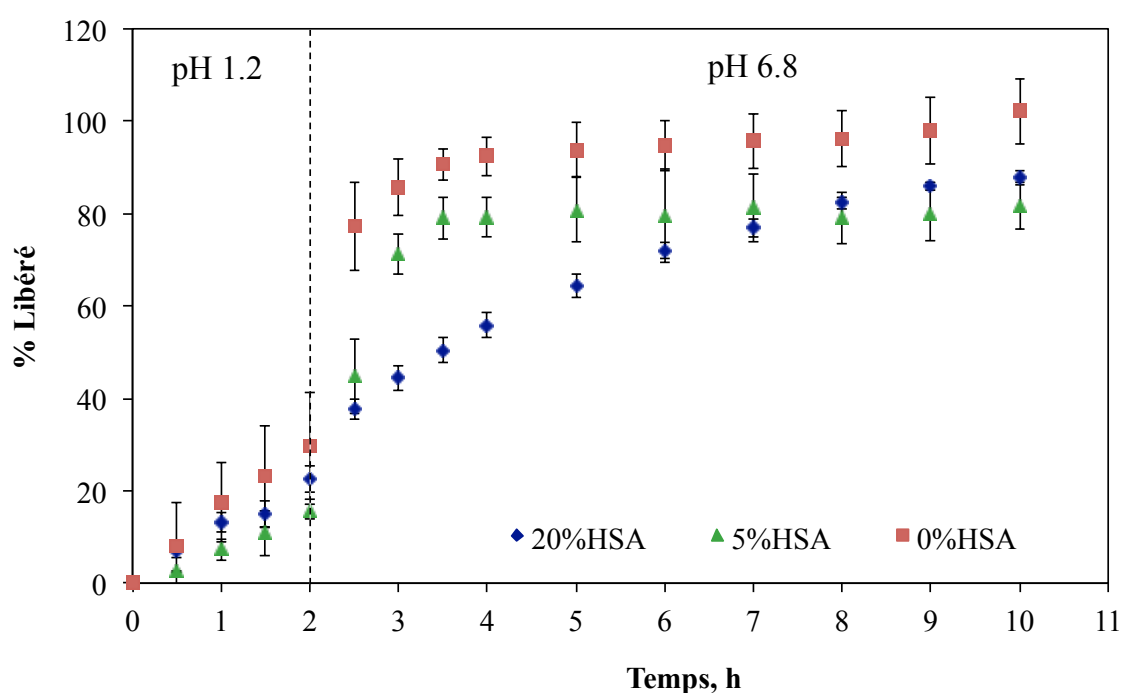


Figure 86. Profils de dissolution en conditions gastro-intestinales simulées de particules bi-gels, capsules dont le cœur contient 0%, 5% et 20% en masse de 12-HSA.

Effet de la nature du cœur après séchage

Pour une utilisation ultérieure il serait plus intéressant, en terme de conservation et stabilité dans le temps, de partir de capsules sèches. Mais le séchage peut avoir une influence

sur la porosité et la stabilité de la membrane d'alginate, en plus du mécanisme de relargage dû à la réhydratation.

Les différences observées entre les cinétiques de libération ont été reliées au réseau d'organogel, les capsules du lot BG2 ont libéré l'EFV plus rapidement que celles du lot BG3. Cela reste vrai même avec une membrane d'alginate à l'état sec. Bien que séchées, l'influence du cœur des capsules sur les cinétiques de libération reste visible (Figure 87).

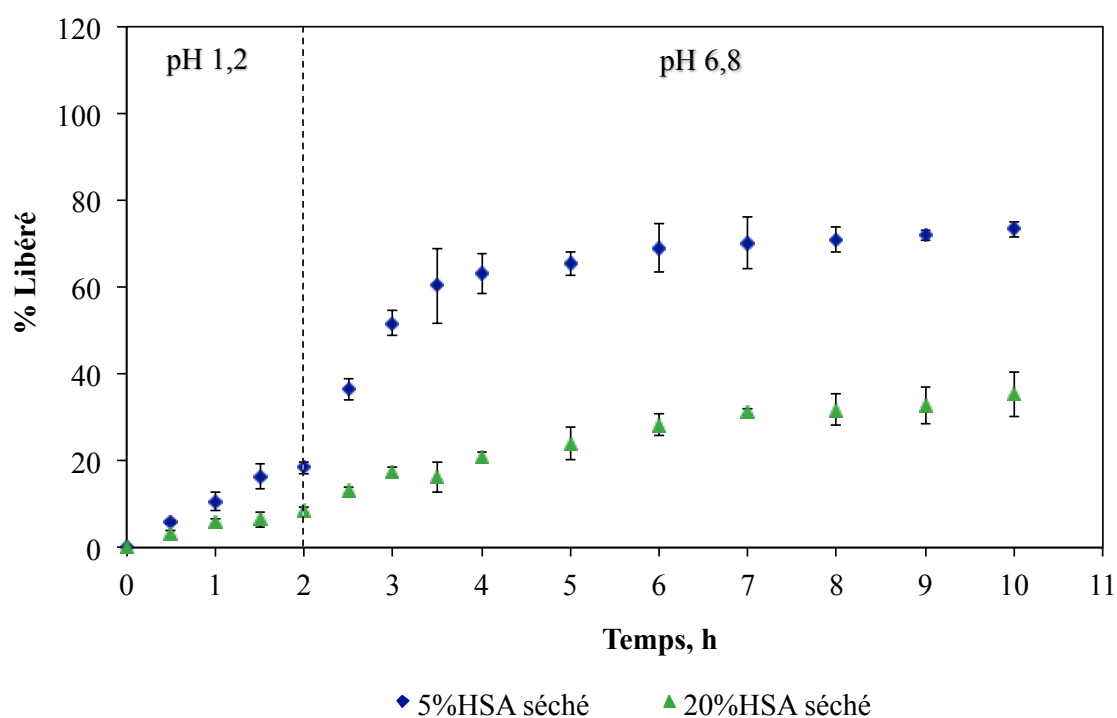


Figure 87. Profils de dissolution en conditions gastro-intestinales simulées de particules bi-gels, capsules dont le cœur contient 5% et 20% en masse de 12-HSA.

Comparaison entre les capsules hydratées et séchées

Un ralentissement des cinétiques obtenues à partir des capsules de composition similaire a été observé, en fonction de l'état de la membrane des capsules (hydratée ou sèche) (Figure 88 **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). On retrouve toujours une protection liée à la membrane en conditions gastriques et une libération de l'EFV en lien avec la structuration du réseau d'organogel. Les BG2 à l'état hydraté arrivent au pourcentage 80% de

relargage au bout de 4 h contre une libération ~70% après 10 heures d'essai pour les capsules du lot BG2 à l'état sec. Celles du lot BG3 présentent une libération plus soutenue dans le temps, 80% après 8 h d'essai pour les BG hydratées contre ~40% pour les BG séchées.

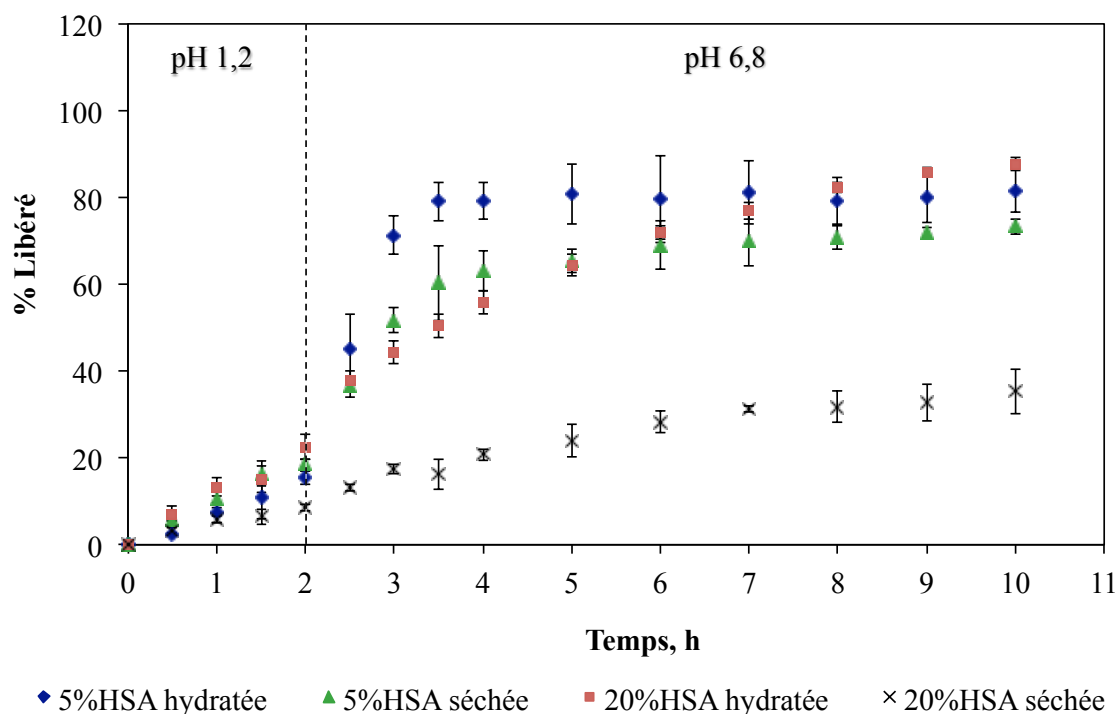


Figure 88. Profils de dissolution en conditions gastro-intestinales simulées de particules bi-gels, capsules dont le cœur contient 5% et 20% en masse de 12-HSA à l'état hydraté ou sec.

Discussion

L'ensemble de résultats de cette étude de dissolution nous dévoile la capacité des capsules bi-gels à contrôler les cinétiques de relargage de l'EFV en fonction de différents paramètres :

La température de refroidissement/formation des capsules est un des paramètres étudiés. Néanmoins, l'influence de ce paramètre (modification de 5 °C à 25 °C) n'est pas détectable sur les profils cinétiques (Figure 83 **Erreur ! Source du renvoi introuvable.** et Figure 85 **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**). Ce n'est pas le résultat attendu, car, selon la littérature, la vitesse de refroidissement d'un organogel influence son réseau

tridimensionnel : une formation plus rapide d'un réseau peut conduire à une variation morphologique des fibres de ce réseau. Par exemple, Rogers et Marangoni (2008) ont étudié la formation du réseau fibrillaire de 12-HSA dans l'huile de canola dans deux plages différentes de températures de refroidissement : supérieures et inférieures à 5 °C/min. Le refroidissement à des vitesses supérieures à 5 °C/min a généré des fibres plus courtes, ce qui correspond à un processus de 'nucléation' plus intense quand le processus de refroidissement est plus rapide. Dans une deuxième étude avec le même organogel, ces auteurs (Roger et al 2009) ont fabriqué et stocké les organogels soit à 5 °C, soit à 30 °C. Les gels fabriqués et stockés à 30 °C présentaient des réseaux cristallins plus structurés et denses qu'à 5 °C.

Une modification morphologique pourrait donc avoir un impact sur la structure du réseau de 12-HSA dans l'huile de tournesol et, par conséquence, sur sa capacité de 'piéger' ou 'libérer' une molécule. On pourrait s'attendre à un ralentissement de la libération plus marquée à partir de l'organogel fabriqué à 25 °C, si son réseau fibrillaire est effectivement constitué de fibres plus fines et enchevêtrées que le réseau formé à 5 °C. Mais dans notre cas la température de stockage n'a pas été identique aux températures de formation des billes. En effet, il semblerait que l'organisation fibrillaire du réseau d'organogel obtenu à 5 °C aurait évolué pendant le stockage à 25°C en se rapprochant du réseau formé à 25 °C, ce qui expliquerait cette absence d'effet visible de la structuration de l'organogel avec la température.

L'effet du deuxième paramètre étudié, la concentration en masse du 12-HSA dans le cœur gélifié, est visible uniquement à pH 6,8. Comme discuté précédemment et reporté dans la littérature, un organogel à 20% HSA présente un réseau plus dense ou structuré, capable d'imposer un relargage beaucoup plus lent que celui fourni par un organogel moins concentré (5% HSA). Néanmoins ce comportement devrait aussi être visible à pH acide (Iwanaga et al., 2010; Lupi et al., 2013), ce qui n'est pas notre cas. On peut émettre l'hypothèse que ceci pourrait résulter de la présence de la membrane externe.

Effectivement, la membrane exerce un rôle important de protection du noyau gélifié surtout à pH acide. En conditions gastriques simulées, la membrane d'alginate se rétracte, permettant un arrangement moléculaire plus compact au sein du réseau de la coquille, en raison soit des fortes interactions hydrogène ou de réactions de lactonisation intermoléculaires (Rayment et al., 2009 ; Tataru et al., 2011). Il en résulte un changement de porosité de la membrane qui ralentit significativement la sortie du PA : une comparaison entre les résultats obtenus à partir de billes d'organogel (Figure 63, Chapitre 2) avec ceux des capsules bi-gels

montre que la membrane réduit de 50% la libération de l'EFV à pH 1,2. En conditions intestinales simulées la membrane d'alginate perd ensuite progressivement sa fonction protectrice ; le noyau assure alors seul le contrôle de la cinétique de libération de l'EFV.

Un quatrième paramètre d'étude est l'état physique des capsules : hydratées ou sèches. Nous avons déjà vu dans notre synthèse bibliographique que le mode du séchage peut avoir une influence importante sur la structure de l'hydrogel d'alginate. Effectivement, des différences importantes entre les cinétiques sont observées en fonction de ces paramètres, un ralentissement de la libération a été observé après le séchage en fonction de la concentration en agent gélifiant. Pour approfondir l'analyse, les mécanismes de libération seront analysés pour chaque formulation à l'aide des modèles mathématiques.

II-3.3 Mécanisme de libération : modélisation

La modélisation mathématique est intéressante pour comprendre comment un type particulier de formulation à libération contrôlée fonctionne et quel est l'impact de la formulation et des paramètres du procédé sur le taux de libération du P.A (Lao et al., 2011 ; Siepmann and Siepmann, 2011). Ainsi, le temps et les coûts nécessaires pour l'optimisation du produit peuvent être considérablement réduits.

La libération d'une substance active à partir d'une formulation lipidique est toujours dépendante de sa solubilité et de son coefficient de partition huile dans eau. La libération *in vitro* du principe actif peut aider à prédire son profil et sa cinétique de libération. Lors de cette analyse de données, nous avons testé différents modèles (d'Ordre zéro, Higuchi, Hixson-Crowell et Korsmeyer-Peppas).

Différents modèles ont été testés pour les profils cinétiques à différents pH. Pour certaines formulations, les modèles ont été appliqués à la totalité de la courbe (capsules BG2 séchées et BG3 séchées et hydratées). Pour d'autres courbes changeant d'allure avec le changement de pH, les modèles ont été appliqués à chaque condition de dissolution bien définie (lots BG1 et BG2). Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 27 **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**

Le mécanisme de libération de l'Efavirenz à partir des capsules du lot BG1 à pH acide (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**) peut être décrit par le modèle de Hixson-Crowell : libération par dissolution accompagnée d'un changement de surface spécifique et du diamètre des particules. Ce résultat peut être lié à la présence de la membrane d'alginate de calcium. Une fois que les particules basculent vers les conditions intestinales, la membrane se dégrade et la libération va suivre une cinétique du premier-ordre, dépendante de la quantité de la substance dissoute ($R^2 = 1$).

Les capsules du BG2 s'accordent au modèle de Korsmeyer-Peppas à pH acide, avec un $n > 1$, soit un Cas II de Transport contrôlé par la relaxation du réseau de polymère présent dans la membrane d'hydrogel. Puis, en conditions intestinales, la libération de l'Efavirenz est régie par la matrice d'organogel selon le modèle de Korsmeyer-Peppas ($0,43 < n < 0,85$), soit une libération anormale (non-Fickienne).

Une augmentation de la concentration d'agent gélifiant dans le cœur de la capsule (20% d'HSA) rend leur réseau plus serré piégeant l'EFV plus efficacement. Dans ces conditions, le modèle de Hixson-Crowell décrit la libération de la substance active à partir des capsules du lot BG3 à pH 6,8 par un mécanisme d'érosion/dissolution de la structure entraînant un changement de la surface de billes ($n > 1$).

Une fois séchées (lot BG3), c'est le modèle de Korsmeyer-Peppas ($n = 0,85$ – diffusion non-Fickien) qui donne les meilleurs résultats, montrant que la diffusion du principe actif contrôle le mécanisme de libération de l'EFV.

Tableau 27. Les coefficients de corrélation (R^2) et les paramètres d'ajustement obtenus à partir de modèles mathématiques de Zéro-ordre, Higuchi, Hixson-Crowell et Korsmeyer-Peppas pour la libération de l'EFV à partir de particules bi-gels.

Conditions du test: changement de pH (2 h à pH 1,2 suivi de 8 h à pH 6.8), avec 1wt% de DSS					sans la présence d'enzymes.								
Code	HSA wt%	EFV mg/g	Etat de la bille	pH du milieu	Ordre zéro		Higuchi		Hixson-Crowell		Korsmeyer-Peppas		
					R ²	k ₀ (10 ² .h ⁻¹)	R ²	k _H (10 ² .h ^{1/2})	R ²	k _{HC} (10 ² .h ⁻¹)	R ²	k _{KP} (10 ² .h ⁻ⁿ)	
BG1	0	60	Hydraté	1,2	0,9891	15,4	0,9295	18,68	0,9946	5,64	0,9872	15,98	0,94
				6,8	0,7866	99,43	0,958	93,53	0,8565	53,7	-	-	-
BG2	5	30	Hydraté	1,2	0,9865	7,44	0,8353	8,84	0,9832	2,59	0,9904	6,5	1,31
				6,8	0,3423	37,16	0,8765	56,48	0,4359	18,93	1	71,28	0,66
BG2	5	30	Séché	1,2/6,8	0,7032	9,76	0,8631	25,33	0,80157	4,54	0,9465	11,31	1,221
BG3	20	60	Hydraté	1,2/6,8	0,9441	11,83	0,88947	26,53	0,9883	5,61	0,9685	12,96	1,025
BG3	20	60	Séché	1,2/6,8	0,9274	4,11	0,91225	10,41	0,95062	1,53	0,9765	5,62	0,851

II-3.4 Proposition du mécanisme de libération à partir de particules bi-gels

Le mécanisme de libération des principes actifs à partir de particules bi-gels pourrait être représenté par une combinaison de paramètres liés aux caractéristiques des matrices hydrophile (membrane) et hydrophobe (cœur) de ces systèmes. Un schéma est proposé et montré sur la **Erreur ! Source du renvoi introuvable**. Figure 89.

Si les capsules se présentent à l'état sec la réhydratation de la membrane externe intervient (sa vitesse et l'état initial du réseau plus ou moins collapsé suite au séchage). Cet état peut varier en fonction de la méthode choisie. Les conditions de séchage étant les mêmes pour toutes les formulations, nous pouvons considérer que l'état de la membrane est identique qu'il y ait 5 ou 20% de 12-HSA. Comme le montrent nos résultats, sa perméabilité est significativement diminuée par un séchage à l'air par rapport à la membrane hydratée.

A l'état hydraté, il existe une couche de gel autour du cœur huile ou organogel, la densité de son réseau conditionne sa perméabilité et intervient sur la vitesse de diffusion du P.A hors du gel, vitesse régulée par le taux d'HSA, qui ralentit encore plus la diffusion. A pH 1,2, les chaînes d'alginate sont moins solubles et la couche (moins hydratée) se rétracte, réduisant la perméabilité et donc la vitesse de sortie du P.A. A pH 6,8 le gel de la membrane reprend un état plus hydraté, augmentant la perméabilité et la vitesse de sortie du P.A. L'alginate étant très hydrophile, son réseau va gonfler et les ions calcium vont peu à peu diffuser dans le milieu externe, ce qui a pour conséquence d'augmenter la dimension des mailles du réseau, et par conséquent la diffusion du P.A, jusqu'à se dégrader complètement, car les chaînes polymères deviennent trop éloignées les unes des autres et la couche d'hydrogel se délite.

Reste alors le cœur organogel qui va s'éroder, ou les gouttelettes d'huile qui vont se disperser sous l'effet du débit de la pompe qui pousse le milieu au travers des cellules à flux et de l'agitation qui en résulte. A ce stade, la libération du P.A dépend de son coefficient de partition, de son pKa et de sa solubilité dans le milieu de dissolution.

Le cœur organogélifié régule la libération du principe actif ; sa teneur en agent gélifiant piègera plus ou moins le P.A. A pH acide, indépendamment de la matrice, l'EFV est libéré par diffusion à partir du réseau d'organogel, via la membrane externe. A pH intestinal les phénomènes d'érosion et de diffusion régulent la libération du P.A en proportions variables selon la proportion d'organogélifiant.

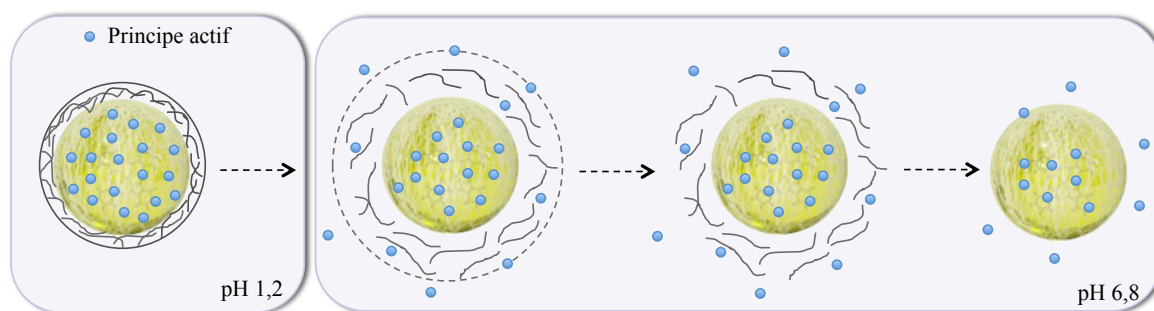


Figure 89. Mécanisme de libération d'un principe actif à partir de particules bi-gels.

A pH 1,2 : rétraction de chaînes de polymère au tour du cœur d'organogel, ralentissant la libération du P.A.

A pH 6,8 : hydratation du réseau polymérique avec réduction des interactions polymère-polymère (d'où une augmentation de la perméabilité de la membrane d'hydrogel), et diffusion du principe actif dissous régulée par la composition du cœur d'organogel.

Puis le réseau polymérique atteint son niveau d'hydratation maximal jusqu'à se déliter complètement. La cinétique de libération du PA n'est plus régulée que par le cœur d'organogel, via un mécanisme d'érosion/diffusion.

Informations complémentaires

Courbes d'étalonnage pour la quantification de l'EFV dans les milieux utilisés

Pour évaluer la linéarité de cette méthode, neuf solutions d'EFV ont été préparées par dissolution de la poudre d'EFV dans les deux milieux de dissolution étudiés (HCl 0,1 M pH 1,2 et tampon phosphate pH 6,8) pour obtenir des solutions des concentrations suivantes : 2 $\mu\text{g/g}_{\text{solution}}$, 10 $\mu\text{g/g}_{\text{solution}}$, 16 $\mu\text{g/g}_{\text{solution}}$, 20 $\mu\text{g/g}_{\text{solution}}$, 40 $\mu\text{g/g}_{\text{solution}}$, 60 $\mu\text{g/g}_{\text{solution}}$, 75 $\mu\text{g/g}_{\text{solution}}$, 100 $\mu\text{g/g}_{\text{solution}}$ et 125 $\mu\text{g/g}_{\text{solution}}$.

Les droites d'étalonnage (Figure 90 et Figure 91 **Erreur ! Source du renvoi introuvable.**) montrent la bonne corrélation dans les gammes des concentrations analysées ($y = 383,79x$, $R^2 = 0,999$ pour le pH 1,2 et $y = 388,05x$, $R^2 = 0,999$ pour le pH 6,8).

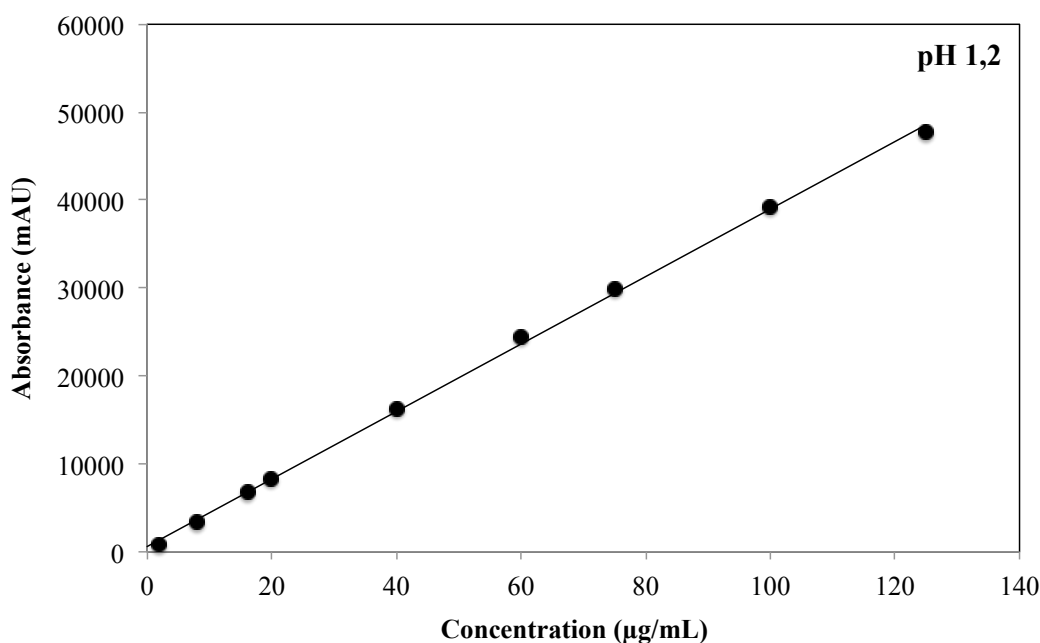


Figure 90. Droite d'étalonnage utilisée pour la quantification de l'EFV dans les prélèvements effectués en milieu aqueux pH 1.2.

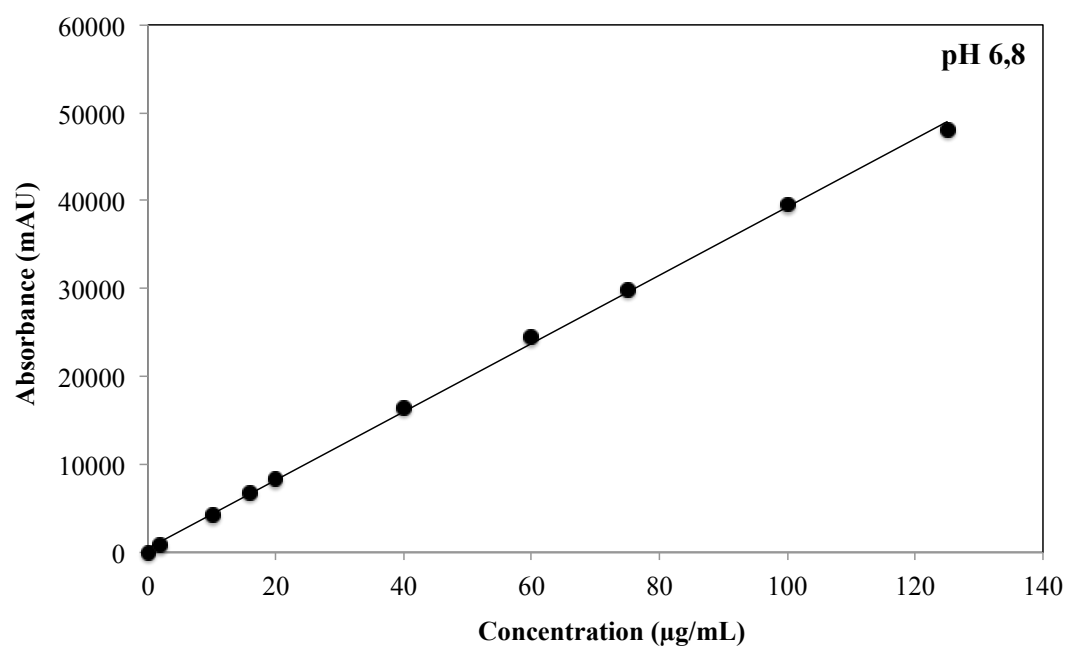


Figure 91. Droite d'étalonnage utilisée pour la quantification de l'EFV dans les prélèvements effectués en milieu aqueux à pH 6.8.

Conclusions

Cette partie a été consacrée à l'étude des capsules bi-gels, générées par prilling à partir de la fragmentation d'un jet composé. Nous avons fabriqué des capsules à partir de formulations différentes : concentration en 12-HSA, température de refroidissement du gel pour des conditions fixes du procédé de prilling. Ces capsules ont été incubées dans des milieux de compositions différentes pour étude de leur comportement cinétique de relargage de la molécule encapsulée dans l'organogel. Les capsules ont été aussi analysées par d'autres techniques de caractérisation (taille, microscopie Raman, comportement mécanique sous cycle de compression/relaxation).

En conclusion :

- Le paramètre ayant l'impact le plus notable sur les caractéristiques des capsules cœur-membrane (comportement mécanique, profil cinétique de relargage de l'EFV) est la concentration en 12HSA, la molécule gélifiante. C'est le paramètre qui définit la structure du réseau fibrillaire formé ; une augmentation de la concentration de 12HSA dans le cœur des capsules le rendent moins perméables à la diffusion de l'EFV et apparemment moins déformables par rapport à une sollicitation de compression mécanique (plus rigides) ;
- Ce réseau semble pouvoir subir un changement de structure en fonction de la température (ou vitesse) de refroidissement lors de sa préparation. Les capsules formées à une température plus proche de l'ambiante sembleraient avoir un réseau plus dense. En revanche, ces réseaux fibrillaires, quand formés à une température inférieure à la température de stockage, peuvent évoluer vers une structure plus organisée proche de celle qui serait formée aux conditions de stockage, ce qui expliquerait nos résultats expérimentaux lors de l'étude de l'influence de ce paramètre (pas d'influence identifiée sur le comportement mécanique ou sur la cinétique de relargage). En outre, la température de stockage influe au tant que celle de la formation de l'organogel.
- Le comportement au relargage de l'EFV s'est montré dépendant de la membrane d'hydrogel autour du cœur gélifié (état hydraté ou sèche) surtout dans des conditions acides.

Références

- Almeida-Prieto, S., Blanco-Méndez, J., Otero-Espinar, F.J., 2004. Image analysis of the shape of granulated powder grains. *J. Pharm. Sci.* 93, 621–634. doi:10.1002/jps.10572
- Bremond, N., Santanach-Carreras, E., Chu, L.-Y., Bibette, J., 2010. Formation of liquid-core capsules having a thin hydrogel membrane: liquid pearls. *Soft Matter* 6, 2484–2488. doi:10.1039/B923783F
- Del Gaudio, P., Colombo, P., Colombo, G., Russo, P., Sonvico, F., 2005. Mechanisms of formation and disintegration of alginate beads obtained by prilling. *Int. J. Pharm.* 302, 1–9. doi:10.1016/j.ijpharm.2005.05.041
- Grant, G.T., Morris, E.R., Rees, D.A., Smith, P.J.C., Thom, D., 1973. Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: The egg-box model. *FEBS Lett.* 32, 195–198. doi:10.1016/0014-5793(73)80770-7
- Hall, K.K., Gattas-Asfura, K.M., Stabler, C.L., 2011. Microencapsulation of islets within alginate/poly(ethylene glycol) gels cross-linked via Staudinger ligation. *Acta Biomater.* 7, 614–624. doi:10.1016/j.actbio.2010.07.016
- Iwanaga, K., Sumizawa, T., Miyazaki, M., Kakemi, M., 2010. Characterization of organogel as a novel oral controlled release formulation for lipophilic compounds. *Int. J. Pharm.* 388, 123–128. doi:10.1016/j.ijpharm.2009.12.045
- Lao, L.L., Peppas, N.A., Boey, F.Y.C., Venkatraman, S.S., 2011. Modeling of drug release from bulk-degrading polymers. *Int. J. Pharm., Mathematical modeling of drug delivery systems: Fifty years after Takeru Higuchi's models* 418, 28–41. doi:10.1016/j.ijpharm.2010.12.020
- Leal-Calderon, F., Schmitt, V., Bibette, J., 2007. *Emulsion Science: Basic Principles*. Springer.
- Lupi, F.R., Gabriele, D., Baldino, N., Mijovic, P., Parisi, O.I., Puoci, F., 2013. Olive oil/policosanols organogels for nutraceutical and drug delivery purposes. *Food Funct.* 4, 1512–1520. doi:10.1039/c3fo60259a
- Martinez, L., 2004. Application du procédé de prilling pour la préparation de micro-réseaux à base de chitosane.
- Rayment, P., Wright, P., Hoad, C., Ciampi, E., Haydock, D., Gowland, P., Butler, M.F., 2009. Investigation of alginate beads for gastro-intestinal functionality, Part 1: In vitro characterisation. *Food Hydrocoll.* 23, 816–822. doi:10.1016/j.foodhyd.2008.04.011.
- Rogers, M.A., Marangoni, A.G., 2008. Non-Isothermal Nucleation and Crystallization of 12-Hydroxystearic Acid in Vegetable Oils. *Cryst. Growth Des.* 8, 4596–4601. doi:10.1021/cg8008927
- Rogers, M.A., Wright, A.J., Marangoni, A.G., 2009. Nanostructuring fiber morphology and solvent inclusions in 12-hydroxystearic acid / canola oil organogels. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.* 14, 33–42. doi:10.1016/j.cocis.2008.02.004

Rogers, M.A., Wright, A.J., Marangoni, A.G., 2008. Crystalline stability of self-assembled fibrillar networks of 12-hydroxystearic acid in edible oils. *Food Res. Int.* 41, 1026–1034. doi:10.1016/j.foodres.2008.07.012

Siepmann, J., Siepmann, F., 2011. Mathematical modeling of drug release from lipid dosage forms. *Int. J. Pharm., Mathematical modeling of drug delivery systems: Fifty years after Takeru Higuchi's models* 418, 42–53. doi:10.1016/j.ijpharm.2011.07.015

USP35, 2012. United States Pharmacopeia 35 - National Formulary 30.

Vervaeck, A., Saerens, L., De Geest, B.G., De Beer, T., Carleer, R., Adriaenssens, P., Remon, J.P., Vervaeck, C., 2013. Prilling of fatty acids as a continuous process for the development of controlled release multiparticulate dosage forms. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* doi:10.1016/j.ejpb.2013.02.003

Voo, W.-P., Ravindra, P., Tey, B.-T., Chan, E.-S., 2011. Comparison of alginate and pectin based beads for production of poultry probiotic cells. *J. Biosci. Bioeng.* 111, 294–299. doi:10.1016/j.jbiosc.2010.11.010

Whelehan, M., 2011. Liquid-core microcapsules: A mechanism for the recovery and purification of selected molecules in different environments [WWW Document]. URL <http://doras.dcu.ie/16649/> (accessed 8.13.12).

Whelehan, M., Marison, I.W., 2011. Capsular perstraction as a novel methodology for the recovery and purification of geldanamycin. *Biotechnol. Prog.* 27, 1068–1077. doi:10.1002/btpr.550

Whelehan, M., von Stockar, U., Marison, I.W., 2010. Removal of pharmaceuticals from water: using liquid-core microcapsules as a novel approach. *Water Res.* 44, 2314–2324. doi:10.1016/j.watres.2009.12.036

Conclusions générales

CONCLUSIONS GENERALES

Dans cette thèse, nous avons élaboré et caractérisé les propriétés physiques et fonctionnelles de particules noyau-membrane du type bi-gels, possédant un cœur semi-solide d'organogel entouré par une membrane d'alginate. Ces structures ont été obtenues par fragmentation d'un jet composé par prilling, en couplant cette technique à une buse concentrique. Ceci a permis la fabrication de capsules millimétriques dont la membrane d'alginate possède une épaisseur d'un millimètre environ, et dont le diamètre global est de 3 mm. Ces capsules sont des systèmes innovants, leur constitution avec un cœur organogel entouré d'une membrane hydrogel et leur obtention par prilling n'ayant jamais été rapporté dans la littérature auparavant. De ce fait la mise au point des paramètres de formulation, de production et caractérisation a été l'objectif de ce travail de thèse, qui constitue une étude préliminaire des potentialités de ces systèmes dans le domaine pharmaceutique.

Plus particulièrement, nous nous sommes attachés à leur application pour l'encapsulation sous forme dissoute de principes actifs peu solubles dans l'eau, pour une administration par voie orale. Pour cela nous avons choisi comme principe actif modèle l'Efavirenz, un inhibiteur non-nucléoside de première ligne de la transcriptase inverse utilisé dans la pharmacothérapie associée du VIH/Sida. Cette molécule hydrophobe appartient à la classe II de la Classification Biopharmaceutique dite BCS.

Notre étude a été menée en trois étapes : la première a consisté à caractériser les organogels et leurs propriétés physiques, la seconde à les mettre sous forme matricielle ou particulaire, avant de les mettre sous forme de bi-gels. A chaque étape de formulation, différents paramètres ont été pris en compte tels que la concentration de la molécule gélifiante 12HSA, la température de refroidissement de l'organogel, le type d'alginate et l'état solide de la membrane (hydratée, séchée) ou la concentration de l'Efavirenz dans la formulation, avant d'étudier leur aptitude à libérer le principe actif hydrophobe modèle.

- ***Caractérisation des organogels***

Avant d'envisager la formulation d'EFV dans des organogels, sa solubilité dans l'huile de tournesol de manière à déterminer avec précision la plage de concentrations d'EFV aptes à être piégées sous forme dissoute dans le cœur organogel (30 à 60 mg/mL).

Partant de l'observation que le cœur semi-solide des organogels est sensible à la température, nous avons caractérisé leurs températures de transition de phase *sol-gel* et *gel-sol* en fonction de leur formulation et de la présence de principe actif. Les conditions de formulation et de prilling mises au point nous ont permis d'identifier la quantité d'organogélifiant, la température de refroidissement et la présence du principe actif dans la matrice comme étant des paramètres dont l'influence est essentielle à évaluer. Les effets de la quantité (30 et 60 mg/g_{organogel}) de l'EFV sur les températures de fusion/cristallisation ont été analysés. Ces études ont montré que la présence d'EFV réduit de quelque degrés la température de fusion des échantillons contenant de concentrations plus élevées en 12-HSA (20%). En revanche, la température de cristallisation se décale vers des températures d'autant plus basses que la proportion d'EFV dans la matrice augmente, phénomène expliqué par la réduction de polarité de la matrice en présence du P.A.

Tous les paramètres testés permettent d'obtenir des organogels dont les températures *sol-gel* et *gel-sol* sont compatibles avec une utilisation *in vivo* et un stockage aisé à température proche de l'ambiante, vu que ces températures sont supérieures à la température corporelle.

- ***Aptitude des organogels à la mise en forme et à la libération d'un actif hydrophobe modèle en milieu gastro-intestinal***

L'organogel a ensuite été mis en forme massive ou particulière. Dans le cas des formes massives, les résultats de libération en milieu gastro intestinal simulé montrent :

- une érosion à pH 1,2 d'autant plus importante que 25% ;
- une perte en masse d'environ 50%, fonction de la concentration en organogélifiant, à pH 6.8. La comparaison de différentes températures d'obtention a montré une plus grande fragilité des matrices obtenues par refroidissement à basse température (5 °C) par rapport à l'ambiante.

La libération de l'Efavirenz à partir des formes massives est plus rapide lorsque le réseau organogel est moins dense (5% en masse de molécule de l'agent gélifiant). Plus la concentration en organogélifiant (12-HSA) augmente, moins l'érosion de la matrice est importante, aboutissant à une libération du P.A moindre. En effet, dans ce cas le réseau de l'organogel présente des mailles plus resserrées et en conséquence un réseau de porosité plus faible, ralentissant la diffusion de l'EFV.

La technologie de prilling est apparue comme une méthodologie assez robuste pour la génération de particules sphériques avec une distribution étroite de la taille, que ce soit sous forme des sphères (avec une simple buse) ou sous forme de capsules (à l'aide d'une double buse concentrique). La température de refroidissement joue un rôle sur la génération de fibres plus longues ou plus ramifiées, en fonction de la concentration de l'agent gélifiant, mais son effet n'est vraiment notable que sur les analyses microscopiques, les autres méthodes de caractérisation n'ont pas pu identifier l'effet de ces différences.

- ***Fabrication de capsules bi-gels et aptitude de cette mise en forme à la libération d'un actif hydrophobe modèle en milieu gastro-intestinal***

Les caractéristiques de l'organogel ont aussi influencé les propriétés des particules bi-gels obtenues, même si toutes les formulations ont permis d'obtenir des capsules. Quelle que soit leur formulation, ces dernières présentent un intérêt technologique important vis-à-vis des particules d'organogel seul : elles sont plus résistantes et de ce fait plus faciles à récupérer à l'issu du procédé, avec un meilleur rendement. En fonction des paramètres que nous avons choisi de suivre, des différences notables ont pu être observées, caractérisées puis mises en parallèle avec des résultats de cinétique de libération en milieu gastro-intestinal simulé.

Chaque formulation des capsules bi-gels a eu une étroite distribution de taille des noyaux de 1,6 à 2,0 mm et diamètre total des capsules entre 2,5 à 3,0 mm toute a fait d'accord avec la théorie.

Les capsules mécaniquement les plus résistantes ont été obtenues lorsque leur cœur contenait une grande concentration en 12-HSA et une membrane d'alginate de type G. En effet, l'organogel est d'autant plus compact et plus résistant que le nombre de jonctions dans le réseau des fibres est important ; cela a des conséquences sur la morphologie et les propriétés des capsules, tout comme sur le rendement de synthèse qui est meilleur. Le type d'alginate choisi pour réaliser la membrane joue lui aussi un rôle. En effet, en fonction du

taux d'acide guluronique et manuronique, et de leur distribution dans les chaînes macromoléculaires d'alginate, un hydrogel plus ou moins bien structuré est obtenu en présence de chlorure de calcium. Ceci a pour conséquence d'aboutir à des membranes plus ou moins résistantes mécaniquement, et de porosités différentes, ce qui est susceptible d'influer sur les cinétiques de relargage de principe actif. Il n'a pas été possible au cours de cette thèse d'aborder la totalité des paramètres de formulation (type d'alginate, concentration en alginate et calcium mais aussi nature de l'ion divalent, du polymère, etc...) comme technologiques (tailles des buses intérieures et extérieures, etc...) susceptibles de jouer un rôle, aussi nous sommes, dans un premier temps, limités aux paramètres en lien avec la structuration de l'organogel.

Ces différences de structuration entre les capsules ont abouti à des différences plus ou moins notables du profil de dissolution apparent du principe actif encapsulé dans les particules bi-gels. A ce niveau la présence de la membrane d'hydrogel autour du noyau d'organogel joue un rôle clé; elle réduit significativement la libération de l'Efavirenz pendant son séjour en conditions gastriques. Une fois en conditions intestinales, la membrane d'alginate de calcium se désintègre progressivement, la libération du principe actif sur les dernières heures étant régulée par le réseau d'organogel uniquement. Cette hypothèse semble confirmée par les modèles mathématiques testés sur nos résultats : en conditions gastriques le mécanisme de libération serait basé sur la pH-sensibilité du réseau d'hydrogel, puis en conditions intestinales sur la combinaison de mécanismes d'érosion et/ou de diffusion, ou sur la diffusion simple en fonction du taux d'organogélifiant. En toute logique, les libérations les plus prolongées ont alors été obtenues pour le taux d'organogélifiant le plus élevé testé. Des premiers essais ont été réalisés afin de déterminer s'il était possible de sécher les capsules et si ces dernières conservaient leurs propriétés de libération d'EFV à la réhydratation. Les résultats préliminaires obtenus montrent que le séchage permet de ralentir encore la cinétique de libération de la formulation de capsules dont le cœur contient 20% en masse de 12-HSA. Ces résultats intéressants mériteraient une étude plus approfondie concernant l'influence du mode de séchage, mais démontrent que des capsules bi-gels sèches pourraient être envisagées comme formes adaptées pour la voie orale, administrées par exemple en gélules.

- ***Une nouvelle alternative de formulation dans la catégorie de « systèmes lipidiques »*** Plusieurs stratégies galéniques ont déjà été proposées pour une administration orale de l'EFV en vue soit d'une amélioration de sa biodisponibilité soit d'une délivrance contrôlée/prolongée. Elles ont été regroupées dans la synthèse bibliographique présentée dans la première partie de ce manuscrit. D'une manière générale, nous avons pu identifier un grand effort concernant la recherche de nouvelles formes galéniques pour l'EFV ; néanmoins, les capsules bi-gels qui nous proposons ici peuvent représenter une nouvelle alternative de formulation dans la catégorie de « systèmes lipidiques » : une particule cœur-membrane qui présente l'avantage de combiner une partie lipidique pour que le PA soit soluble dans la formulation, et une partie hydrophile (hydrogel) qui va assurer la protection et le contrôle de la libération. Le relargage sera contrôlé par la diffusion et dépendant de la structure du réseau tridimensionnel formé par l'agent gélifiant et des caractéristiques de la membrane entourant le cœur d'organogel.
- Corréler la libération de l'EFV *in vitro/in vivo* serait possible en adoptant des milieux de dissolution pertinents. Des paramètres comme le pH et la présence d'enzymes et de tensioactifs peuvent modifier le relargage. Ces données sont à l'origine du choix de milieux de dissolution que nous avons fait (tous les milieux testés pour la dissolution des lots BGs contenaient 1% de SDS). Concernant la présence d'enzymes nous avons montré que la présence/absence de pepsine et de pancréatine ne change pas la libération ; néanmoins un milieu de dissolution plus complexe, contenant d'autres enzymes ou des sels biliaires serait à tester avant de s'avancer sur une possible corrélation *in vitro/in vivo* des résultats. Idéalement, des essais *in vivo* seraient nécessaires pour la détermination d'une possible augmentation de la biodisponibilité de l'Efavirenz à partir de particules bi-gels.

Enfin, dans un contexte plus générale, ce travail de thèse a permis au laboratoire Rapsodee de renforcer ses recherches associant le génie des procédés et formulation et de créer de nouvelles collaborations dans le domaine des systèmes multi-particulaires et matériaux innovants pour la formulation galénique avec l'équipe Phosphates, Pharmacotechnie et Biomateriaux (PPB) du CIRIMAT et le Laboratoire des Interactions Moléculaires et Réactivité Chimique et Photochimiques (I.M.R.C.P), Université Paul Sabatier Toulouse 3.

Perspectives

PERSPECTIVES

Cette thèse est une première approche de synthèse et d'évaluation de capsules bi-gélifiées en tant que formes particulières destinées à véhiculer des principes actifs peu solubles par voie orale. Elle a été réalisée en parallèle de la structuration de la plateforme Gala® et de la mise en place sur sa structure de procédés susceptibles de permettre la valorisation de formes innovantes dans le domaine pharmaceutique.

Parmi ces techniques, le prilling présente de nombreuses potentialités du fait de son adaptabilité en termes de type et viscosité des solutions utilisables, de taille et de géométrie de buses, de températures de travail. Nous n'avons pu ici réaliser qu'une première approche des potentialités d'un tel système, néanmoins les résultats obtenus montrent qu'il est possible de générer des particules bi-gels, et qu'en jouant sur certains paramètres de formulation et de synthèse il est possible de moduler leur aptitude au relargage contrôlé d'un principe actif donné.

A notre connaissance, aucune formulation particulière ou microparticulaire du type cœur-membrane à base d'organogel n'est à l'heure actuelle rapportée dans la littérature, la fragilité de ce type de gel se prêtant difficilement aux procédés d'encapsulation classiquement utilisés pour obtenir des objets dans cette gamme de taille. D'où l'idée de les protéger à l'aide d'une membrane, dont les propriétés permettrait à la fois d'augmenter la résistance mécanique, de protéger le cœur en milieu acide, et de participer à la modulation des cinétiques de libération de principe actif.

Du fait de l'absence de références bibliographiques sur des formes organogels microparticulaires, nous nous sommes attachés dans un premier temps aux conditions opératoires et de formulations liées à la structuration de ces derniers : quantité de l'agent gélifiant et température de formation.

Nos capsules bi-gels n'ont pas encore dévoilé toutes les possibilités en termes de fonctionnalités. Il s'avère que d'autres paramètres, qui n'ont pu être abordés pour des raisons de temps, seraient aussi pertinents à étudier et mériteraient une étude plus approfondie :

- ***Au niveau technologique*** : modifications de diamètres de la double buse et d'autres paramètres liés à la génération de particules par prilling : fréquence et débit des liquides. Le séchage et le mode de séchage des capsules seraient particulièrement intéressants à étudier de façon plus approfondie, car l'état de la membrane extérieure impacte directement les capacités de libérations des particules.
- ***Au niveau de la mise en place d'outils de caractérisation adaptés*** :

La Microscopie Raman pourrait donner des renseignements concernant la stabilité de la membrane en cours de stockage (temps, conditions de stockage). En effet, nous avons aussi analysé des particules fabriquées et stockées depuis 6 mois en milieu aqueux (eau pure, solution contenant du CaCl_2 ..) et nous avons pu voir, à l'aide de la microscopie Raman, des particules sans membrane ou avec une réduction d'épaisseur remarquable. Cette technique pourrait encore s'avérer intéressante pour une analyse plus approfondie de la diffusion du principe actif vers une phase externe (milieu de libération) si utilisée pour analyser la distribution du principe actif dans les deux compartiments (noyau et membrane) en cours d'un essai de libération.

Pour ce qui est du comportement mécanique des capsules soumises à des contraintes de compression, dans l'étude réalisée nous avons assimilé la pente de décharge au module d'élasticité des capsules bi-gels, car nous avons considéré que l'effet du confinement par les parois de la matrice est négligeable. De plus, en supposant que les capsules bi-gels sont identiques, le module d'élasticité sera considéré comme le module d'une BG. Des essais sur une capsule unique pourraient valider cette hypothèse.

- ***Au niveau formulation*** : les aspects en lien avec la membrane sont encore à explorer. Les résultats présentés ici montrent clairement que la membrane régule les premières heures de libération du principe actif. De ce fait, sa structuration, son épaisseur, sa sensibilité au pH sont des paramètres clés qui peuvent présider au devenir de la capsule *in vivo*.

Enfin, concernant l'organogel, d'autres formulations faisant appel à des cires comme gélifiants, d'autres types d'huiles végétales, d'autres solutés de différentes solubilités dans l'huile pourraient s'avérer particulièrement adaptées pour *de la mise en forme particulière*, et constituent un autre axe d'optimisation des formulations présentées ici.

- A plus long terme, l'objectif pourrait être de proposer un modèle de transport dans les capsules bi-gels pour exprimer le temps caractéristique de fuite d'une molécule hydrophobe en fonction de paramètres géométriques et physicochimiques qui le déterminent, comme la taille des capsules ainsi que la solubilité du composé dans l'huile.

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Représentation schématique du devenir d'un médicament dans l'organisme après administration orale.	13
Figure 2. L'anatomie du tractus gastro-intestinal et ces particularités (variations de pH et nature des enzymes présentes le long du TGI).	14
Figure 3. Différentes stratégies utilisées pour l'amélioration de la solubilité/vitesse de dissolution des molécules faiblement solubles dans l'eau.	18
Figure 4. Représentation schématique du rôle de lipase/co-lipase, sels biliaires et des micelles mixtes dans la digestion des triglycérides. Chaque molécule de triglycéride est digérée pour produire deux molécules d'acide gras et une molécule de monoglycéride qui est solubilisée dans le lumen de l'intestin (Pouton, 2006).	22
Figure 5. Classification des gels organiques selon la nature des interactions intermoléculaires et la taille des molécules gélifiantes.	26
Figure 6. Processus de formation d'un organogel de lécithine (formation de fibres 'fluides') traduit de Raut et al. (2012).	27
Figure 7. Le processus de préparation des organogels	28
Figure 8. Le processus de formation d'un réseau tridimensionnel de fibres 'solides' dans un organogel.	28
Figure 9. Exemple de type de structures fibrillaires formées par l'auto-assemblage de N-stearoyl L-alanine méthyl ester (SAM) dans l'huile de tournesol. A) Organogel formé; B) Image de microscopie optique montrant les agrégats fibreux responsables de la gélification; C) Structure moléculaire responsable par l'organisation des fibres (Vintiloiu and Leroux, 2008).	29
Figure 10. Exemple de type de structures fibrillaires formées par l'auto-assemblage d'éther de phthalocyanine (molécule gélifiante) dans le chloroforme. A) Image obtenu par microscopie électronique à balayage de l'organogel formé; B) Représentation schématique des fibres hélicoïdales responsables par la gélification; C) Agrégats hélicoïdaux formés par l'empilement des anneaux de couronne d'éther. D) Structure obtenue par agrégation des fibres individuelles (Vintiloiu and Leroux, 2008).	29
Figure 11. Exemple de type de structures à plaquettes formées par l'auto-assemblage d'hexatriacontane dans l'octanol. A) Image obtenu par microscopie optique de l'organogel formé; B) Représentation schématique des plaquettes; C) Représentation d'empilement moléculaire orthorhombique à l'intérieur des plaquettes (Vintiloiu and Leroux, 2008).	30
Figure 12. Structure chimique de l'acide 12-hydroxy stéarique (12-HSA).	31
Figure 13. Méthode du tube renversé pour déterminer la transition sol-gel (a) solution homogène contenant la phase organique (huile de tournesol) et l'agent gélifiant (18% Span 60, en masse) ; (b) refroidissement du système ; (c) gel semi-solide qui ne coule pas sous l'effet de son poids (Behera et al., 2012).	32
Figure 14. Détermination des paramètres de transition de phases. A) Transition gel-sol ; B) Transition sol-gel.	34
Figure 15. Evolution du nombre de références indexées dans la base de données Web of Science concernant l'utilisation des organogels et en particulier pour le 'drug delivery'. Recherche effectuée sur les mots-clés : organogel et organogel+drug delivery (15/03/2015).	39
Figure 16. Les organogels pour une délivrance de principes actifs par différentes routes d'administration.	40
Figure 17. Implant de caoutchaouc de silicone (Norplant®) et dispositif pour son l'administration. Chaque bâtonnet est rempli d'une hormone appelée levonorgestrel, une progestérone de synthèse. Le levonorgestrel est libéré dès que les bâtonnets sont insérés sous la peau du bras.	44
Figure 18. Implant sous-cutanée formé in-situ par précipitation d'un polymère biodégradable (technologie Atrigel®) http://www.qtlinc.com/development/technologies/atrigel.htm .	44
Figure 19. Des organogels des acides gras (acides myristique, palmitique, stéarique et arachidique) et l'huile de soja préchauffés et injectés dans l'eau à 37 °C (Wang et al., 2014)	46
Figure 20. Stratégie galénique pour augmenter la biodisponibilité de la curcumine (passage d'une forme cristalline solide à une forme solubilisée dans la phase dispersée (organogel) d'une nanoémulsion) (Yu and Huang, 2012).	49

Figure 21. Schéma de préparation de particules matricielle organogel-alginate formées par double-émulsification. Composants de l'organogel : cire de cacao (CC), cire de mangue (CM) et l'huile de moutarde (HM) (Sagiri et al., 2015).	51
Figure 22. Classification des hydrogels selon différents critères. Traduit de Patel et Mequanint, (2011).	55
Figure 23. Représentation de la diffusion d'un soluté dans un hydrogel. Si la taille du soluté est inférieure à la maille du réseau, il peut diffuser librement (état hydraté). Si elle est de l'ordre de la taille de la maille du réseau ou supérieure, il est piégé dans le réseau (état déshydraté) (Rolland, 2013).	57
Figure 24. Transition de volume en réponse à une variété de stimuli physiques et chimiques. Traduit de Ahmed (2013).	59
Figure 25. Evolution du nombre de références indexées dans la base de données Web of Science concernant l'utilisation des hydrogels en 'drug delivery'. Recherche effectuée sur les mots-clés : hydrogel et drug delivery (15/03/2015).	61
Figure 26. Structure moléculaire de l'alginate avec la séquence GGMM.	62
Figure 27. Gélification ionique d'une solution d'alginate de sodium par des ions calcium, selon le modèle « boîte d'œufs ». Les blocs G de deux chaînes sont d'abord dimérisés par une liaison électrostatique avec un cation Ca^{2+} , puis ensuite polymérisés afin de former un gel dur.	63
Figure 28. Les techniques de gélification de l'alginate : (a) par diffusion externe, illustrée par la technique d'immobilisation dans une bille de gel et (b) par relargage interne, illustrée par la libération de Ca^{+2} à partir de CaCO_3 et Delta-gluconolactone (GDL) (Draget et al., 2005).	64
Figure 29. Exemples de structures fonctionnelles obtenues par des procédés d'encapsulation.	67
Figure 30. Représentation simplifiée des étapes d'un procédé d'encapsulation selon Poncelet et Dreffier (2007).	69
Figure 31. Procédés de formation d'une membrane autour d'un noyau existant.	70
Figure 32. Schéma de présentation d'une gélule molle et ces différents composés.	73
Figure 33. Différents mécanismes (1-5) de formation de gouttelettes en fonction de la vitesse du jet (Müller 1985).	74
Figure 34. Différentes méthodes pour la formation de microparticules par la technologie d'extrusion (Heinzen et al., 2004).	76
Figure 35. Schéma de formation d'une goutte par la rupture d'un jet laminaire s'écoulant à travers d'une buse de diamètre d_n , jet d'un diamètre d_j , la vitesse du jet v_j , la longueur d'onde λ et le diamètre de la goutte d_d (Brandenberger et al., 1999).	79
Figure 36. Image de microscope optique des microcapsules mono-disperses et mono-nucléaires contenant un noyau liquide de dibutylsébaçate, utilisées pour l'extraction des produits pharmaceutiques dans l'eau. Les capsules affichées ont un d_m de $621,01 \mu\text{m} \pm 1,53\%$ et un d_c de $546,4 \pm 1,07 \mu\text{m}$ (Whelehan et al., 2010).	86
Figure 37. Microcapsules libérant leur contenu.	87
Figure 38. Diagramme illustrant la cinétique de libération d'une capsule qui libère son contenu actif à vitesse constante.	88
Figure 39. Profils cinétiques de libération d'un P.A à partir de capsules cœur-membrane : a) population de capsules de différents diamètres ; b) populations de capsules monodisperses et polydisperses en taille.	88
Figure 40. Structure moléculaire de l'Efavirenz	96
Figure 41. Solubilité de l'EFV dans l'eau (pH 1,2 à 9) à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Données expérimentales de Panikumar et al. (2012).	99
Figure 42. Solubilité de l'EFV dans des milieux aqueux à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$, en présence de tensioactifs. Données expérimentales de Panikumar et al. (2012).	99
Figure 43. Schéma simplifié du calorimètre de mélange C80 utilisé.	124
Figure 44. Courbe du flux de chaleur dégagé au cours de l'encapsulation avec le calorimètre C80.	125
Figure 45. Thermogrammes DSC typiques obtenus pour toutes les compositions d'organogels étudiés (2 à 30% en 12-HSA) avec deux cycles de chauffage-refroidissement de 15 à 85°C ($3^\circ\text{C}/\text{min}$).	127
Figure 46. Thermogrammes DSC du deuxième cycle de chauffage (A) puis refroidissement (B) d'organogels à $3^\circ\text{C}/\text{min}$. Les organogels contiennent différents teneurs en masse en 12-HSA (2 à 30%).	128
Figure 47. Evolution du flux de chaleur dégagé (J) lors de la dissolution d'une masse connue du principe actif dans l'organogel ($\text{mg}_{\text{EFV}}/\text{g}_{\text{organogel}}$). Mesures réalisées à 90°C à l'aide d'un calorimètre différentiel C80 (SETARAM); Concentration en 12-HSA de 20%.	132
Figure 48. Thermogrammes de DSC du deuxième cycle de chauffage (A) et refroidissement (B) à $3^\circ\text{C}/\text{min}$ des organogels de 12-HSA à 20% en masse avec 30 et 60 mg de l'Efavirenz par gramme de gel.	134
Figure 49. Evolution des températures de fusion T_m (gel-sol) et cristallisation T_c (sol-gel) des organogels d'huile de tournesol et 12-HSA (20%), en absence ou présence de l'EFV.	136
Figure 50. Représentation de l'équation de Schroeder-van Laar pour l'analyse de l'influence de la concentration en gélifiant sur la température de transition gel-sol (T_m).	137

Figure 51. Evolution linéaire des enthalpies de transition de phase avec la concentration du gélifiant (12-HSA), en absence ou en présence de l'EFV.	138
Figure 52. Schéma représentatif de l'essai de dissolution de la forme massive de l'organogel de 12-HSA.	144
Figure 53. Courbe d'étalonnage pour la quantification de l'EFV en solutions aqueuses.	146
Figure 54. Evolution du taux de libération sur l'organogel contenant EFV en fonction du temps d'incubation dans les milieux de dissolution. (A, B) Milieu gastrique simulé (SGF, pH 1,2 et pepsine à 800 μ mole/min d'activité enzymatique); (C, D) Milieu intestinal simulé (SIF, pH 6,8 et pancréatine à 1750 μ mole/min d'activité enzymatique). Des expériences ont été menées en double (les écarts-types sont plus petits que les symboles).	149
Figure 55. Evolution du taux d'érosion sur l'organogel contenant EFV en fonction du temps d'incubation dans les milieux de dissolution. (A, B) Milieu gastrique simulé (SGF, pH 1,2 et pepsine à 800 μ mole/min d'activité enzymatique); (C, D) Milieu intestinal simulé (SIF, pH 6,8 et pancréatine à 1750 μ mole/min d'activité enzymatique). Des expériences ont été menées en double (les écarts-types sont plus petits que les symboles).	150
Figure 56. Organogels de 12-HSA/huile de tournesol formés dans des gélules de gélatine (taille # 00) après 8h d'incubation dans milieu SIF (pH 6,8, pancréatine à 1750 μ mole/min d'activité enzymatique). (a) 20% 12HSA et (b) 5% 12HSA. Chargés avec EFV (60 mg/g). Un pied à coulisse calibré a été utilisé pour l'évaluation du diamètre et de l'épaisseur des organogels.	152
Figure 57. Schéma de génération des particules par la technologie de prilling dans une tour refroidissement à l'air (8) ou dans l'eau à température contrôlée (8').	156
Figure 58. Schéma d'une cellule à flux continue en circuit fermé utilisé dans les essais de dissolution des billes d'organogel.	158
Figure 59. Images MEB de billes d'organogel de 30%12-HSA/huile de tournesol, générées par la technologie de prilling couplé au refroidissement à -30°C.	161
Figure 60. Images MEB de billes d'organogel de 30% 12-HSA-huile de tournesol générées par prilling à -30 °C.	162
Figure 61. Images Cryo-MEB des billes d'organogel (40% 12-HSA) refroidies en solution à 25°C (a) et à l'air (-30°C) dans la colonne de refroidissement.	164
Figure 62. Cartographie Raman pour les billes d'organogel (20% de 12-HSA), refroidis à 25°C en solution. A) sans la présence et B) en présence d'Efavirenz.	165
Figure 63. Courbe de dissolution de billes d'organogel (20% HSA ; 60 mg EFV/g) lors de variations contrôlées du pH du milieu de dissolution (2h en milieu SGF, 8h en milieu SIF).	167
Figure 64. Quantité d'EFV libéré à partir des particules d'organogel contenant 20% en masse de 12-HSA dissous dans l'huile de tournesol (2h à pH 1,2 et 8h à pH 6,8) ; comparaison avec l'échantillon de référence (nano-cristaux d'EFV pris comme une formulation à libération de référence).	168
Figure 65. Schéma représentatif d'une particule bi-gels.	175
Figure 66. Schéma de représentation d'un viscosimètre cône-plateau. La viscosité (μ) est mesurée en fonction de la rotation Ω appliquée au couple mesuré (T).	178
Figure 67. Goutte bi-gel tombant dans la solution de chlorure de calcium (situations de déformation possibles : la goutte reste connectée à l'interface air/fluide, elle se déforme, elle subie une déformation mineure lors de la traversée de l'interface).	178
Figure 68. Schéma représentatif de la mesure de tension de surface utilisant le procédé de la lame. Lorsque une plaque suspendue verticalement touche la surface ou l'interface du liquide, la force F, qui est la corrélation entre la tension de surface ou la tension interfaciale σ et l'angle de contact θ , passe à agir sur cette plaque.	179
Figure 69. Vue de l'assemble de l'appareil de prilling (Spherisator M, BRACE - GmbH, Allemagne) utilisé dans la génération de particules bi-gel.	180
Figure 70. Schéma de formation des particules de noyau-membrane par la technologie de prilling dans un bain de gélification de chlorure de calcium, paramètres liés à la formation de particules mono-disperses en taille (dd), : diamètre de la buse (dn), diamètre du jet (dj), le taux du flux (vj), la longueur d'onde optimale (λ).	181
Figure 71. Schéma de l'essai compression dans une matrice cylindrique de 1 cm ² .	184
Figure 72. Capsules bi-gels formées à 25 °C avec une membrane d'alginate type G et différentes compositions du noyau A) huile de tournesol pure et B) 5% de 12-HSA.	193
Figure 73. Capsules bi-gels formées à 25 °C avec une membrane d'alginate type G noyaux contenant de l'EFV 30 mg/g. A) huile de tournesol pure et B) 20% de 12-HSA.	194
Figure 74. Evaluation Contrainte versus Déformation du piston lors du cycle de compression/relaxation de particules bi-gel comprenant un noyau liquide (n = 2). A et B) billes obtenues à 5 °C. C et D billes obtenues à 25 °C.	196
Figure 75. Evaluation Contrainte versus Déformation du piston lors du cycle de compression/relaxation de particules bi-gel comprenant un noyau gélifié à 5% d'HSA (n = 2). A et B) billes obtenues à 5 °C. C et D billes obtenues à 25 °C.	197

Figure 76. Evaluation Contrainte versus Déformation du piston lors du cycle de compression/relaxation de particules bi-gel comprenant un noyau gélifié à 5% d'HSA (n = 2). A et B) billes obtenues à 5 °C. C et D billes obtenues à 25 °C.	198
Figure 77. Photos en microscopie optiques de billes après test de résistance mécanique. A) particules bi-gels formées avec un noyau contenant 5% en masse de 12-HSA. B) particules bi-gels formées avec un noyau contenant 20% en masse de 12-HSA.	200
Figure 78. Capsules bi-gels formées à 25 °C avec une membrane d'alginate type M et différentes compositions du noyau. A) 0% de 12-HSA et B) 20% de 12-HSA.	201
Figure 79. Capsules bi-gels formées à 25 °C avec une membrane d'alginate type M et noyau d'huile de tournesol contenant de l'EFV. A) 30 mg/g et B) 60 mg/g.	202
Figure 80. Les spectres et la cartographie Raman pour les particules bi-gel d'organogel à 20% de 12-HSA dissous dans l'huile de tournesol chargé de 60 mg/g de EFV et recouvert par une membrane d'alginate type G.	207
Figure 81. Profils de dissolution en conditions gastro-intestinales simulées de particules bi-gels, en présence et absence des enzymes gastriques (pepsine et pancréatine), pour capsules dont le cœur contient 20% en masse de 12-HSA.	209
Figure 82. Profils de dissolution en milieu gastrique simulé de particules bi-gels dont le cœur contient 5% ou 20% en masse de 12-HSA.	210
Figure 83. Profils de dissolution en milieu gastrique simulé de particules bi-gels dont le cœur contient 20% en masse de 12-HSA générées à 5 °C et à 25 °C.	211
Figure 84. Profils de dissolution en milieu intestinale simulé de particules bi-gels dont le cœur contient 5% ou 20% en masse de 12-HSA.	212
Figure 85. Profils de dissolution en milieu intestinale simulé de particules bi-gels dont le cœur contient 20% en masse de 12-HSA générées à 5 °C et à 25 °C.	213
Figure 86. Profils de dissolution en conditions gastro-intestinales simulées de particules bi-gels, capsules dont le cœur contient 0%, 5% et 20% en masse de 12-HSA.	214
Figure 87. Profils de dissolution en conditions gastro-intestinales simulées de particules bi-gels, capsules dont le cœur contient 5% et 20% en masse de 12-HSA.	215
Figure 88. Profils de dissolution en conditions gastro-intestinales simulées de particules bi-gels, capsules dont le cœur contient 5% et 20% en masse de 12-HSA à l'état hydraté ou sec.	216
Figure 89. Mécanisme de libération d'un principe actif à partir de particules bi-gels.	222
Figure 90. Droite d'étalonnage utilisée pour la quantification de l'EFV dans les prélèvements effectués en milieu aqueux pH 1.2.	223
Figure 91. Droite d'étalonnage utilisée pour la quantification de l'EFV dans les prélèvements effectués en milieu aqueux à pH 6.8.	224

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Système de Classification Biopharmaceutique BCS (Amidon et al., 1995).	16
Tableau 2. Classification des systèmes lipidiques (Pouton, 2006).	21
Tableau 3. Profils de libération des principes actifs à partir de différents types d'organogels interprétés à l'aide des modèles mathématiques.	53
Tableau 4. Profils de libération des principes actifs à partir de différents types de microparticules d'organogels et alginate interprétés à l'aide des modèles mathématiques.	54
Tableau 5. Les avantages de la technologie de vibration mécanique (Heinzen et al., 2004).	77
Tableau 6. Les modèles mathématiques régissant les mécanismes de libération.	90
Tableau 7. Mécanismes attendus à partir de différentes formes pour chaque valeur de n.	92
Tableau 8. Abréviation et propriétés physicochimiques de l'Efavirenz.	96
Tableau 9. Solubilité de l'EFV dans différents milieux aqueux (pH 1,2 à 6,8). Données expérimentales de Pinto (2012) à 25°C.	98
Tableau 10. Composition des acides gras de l'huile de tournesol (Anvisa, 1999).	121
Tableau 11. Paramètres représentant les différentes transitions thermiques des organogels lors du deuxième cycle de chauffage-refroidissement à 3°C/min.	130
Tableau 12. Paramètres représentant les différentes transitions thermiques des organogels lors du deuxième cycle de chauffage-refroidissement à 3°C/min. Organogels chargés en principe actif (30 et 60 mg/g).	135
Tableau 13. Evolution de la concentration d'EFV dans l'huile de tournesol avec le temps (37 ± 1 °C).	147
Tableau 14. Les coefficients de corrélation (R^2) et les paramètres d'ajustement obtenus à partir de modèles mathématiques de Higuchi, Hixson-Crowell, Hopfenberger et Korsmeyer-Peppas pour la libération de l'EFV à partir des organogels sous forme massive.	153
Tableau 15. Paramètres fixés lors des essais de prilling.	160
Tableau 16. Les coefficients de corrélation (R^2) et les paramètres d'ajustement obtenus à partir de modèles mathématiques Higuchi, Hixson-Crowell et Korsmeyer-Peppas pour la libération de l'EFV à partir de l'organogel sous forme particulaire.	167
Tableau 17. Les paramètres utilisés dans la formation des particules bi-gels (BG) par la technique de prilling : Fréquence, Amplitude et Pression d'envoi des liquides (organique et hydrophile).	183
Tableau 18. Cycles de compression-relaxation employés pendant la compression des particules bi-gels.	185
Tableau 19. Viscosité des solutions d'alginate (type M et type G) dans différentes concentrations massiques à la température ambiante (20 °C) et à la température de travail (90 °C).	186
Tableau 20. Mesures de la tension de surface de la solution de chlorure de Calcium contenant différentes concentrations massiques de tensioactif – Tween 20.	188
Tableau 21. Diamètres et coefficients de sphéricité (CS) de particules bi-gels (BG), à différentes températures de gélification et compositions du noyau, pour une membrane en alginate type G.	189
Tableau 22. Diamètres et coefficients de sphéricité (CS) de particules bi-gels (BG), à différentes températures de gélification et compositions du noyau, pour une membrane en alginate type M.	189
Tableau 23. Diamètres et coefficients de sphéricité (CS) de particules bi-gels (BG), à différentes températures de gélification et compositions variables du noyau, pour une membrane d'alginate type G. Capsules contenant de l'EFV dans deux différentes concentrations.	190
Tableau 24. Diamètres et coefficients de sphéricité (CS) de particules bi-gels (BG), à différentes températures de gélification et compositions variables du noyau, pour une membrane d'alginate type M. Capsules contenant de l'EFV dans deux différentes concentrations.	191
Tableau 25. Modules d'Young lors des décharges intermédiaire et finale pour une mono-couche de particules bi-gels (n = 2).	199
Tableau 26. Conditions maintenues pour les tests de libération en milieux SGF et SIF simulés.	205
Tableau 27. Les coefficients de corrélation (R^2) et les paramètres d'ajustement obtenus à partir de modèles mathématiques de Zéro-ordre, Higuchi, Hixson-Crowell et Korsmeyer-Peppas pour la libération de l'EFV à partir de particules bi-gels.	220

ABSTRACT

Encapsulation of hydrophobic molecules by bi-gels structures managed by prilling : structure-properties

This thesis focuses on the generation and characterization of organo-hydrogel capsules (bi-gels), manufactured by prilling technology for controlled drug delivery after oral administration. Efavirenz (EFV), an antiretroviral medications used to treat HIV/AIDS, is the active pharmaceutical ingredient (API) used as a model molecule of low solubility in water. It was dissolved in the organogel, which is compound of sunflower oil and 12-hydroxystearic acid (12-HSA). The organogel was characterized by its phase transition temperature *sol-gel-sol*. The typical thermoreversibility of this organogel has not changed with introduction of EFV. The organogels were produced at two temperatures (5 °C and 25 °C) and with two concentrations of 12-HSA (5% and 20%) for being characterized as an API vehicle. Two dissolution media were used with and without enzymes (pH 1.2 and 6.8), for EFV release quantification. The EFV release profile from bi-gels capsules (diameter from 2500 to 3000 µm) is essentially related to the amount of organogelator in their core, to the presence of the alginate membrane and to the state physics of this membrane (hydrated or dry). The release of EFV has reduced 50% at acid pH in the presence of the external membrane. In simulated gastric fluid, the release is slower than at pH 6.8 (simulated intestinal fluid). In the intestine, the membrane loses its protective function and the organogel's core begins to control the release of EFV. Two release mechanisms are observed: erosion and diffusion, which can be explained by the Korsmeyer-Peppas model.

Keywords: Capsules; Controlled drug release; Dosage form; Lipid formulation; Particule size; Prilling;



Encapsulation de molécules hydrophobes par des structures bi-gels générées par prilling : relation structure-propriétés.

Ce travail de thèse s'articule autour de la génération et de la caractérisation de capsules d'organo-hydrogel ou simplement bi-gels, obtenues par la technologie du *prilling* et destinées à la délivrance contrôlée d'un principe actif (P.A), après administration par voie orale. L'Efavirenz (EFV), un antirétroviral utilisé dans le traitement du VIH/Sida, a été le P.A utilisé comme modèle de molécule de faible solubilité dans l'eau. Il a été dissous dans l'organogel composé d'huile de tournesol et d'acide 12-hydroxystéarique (12-HSA). L'organogel a été caractérisé par sa température de transition de phase *sol-gel-sol*. Et la thermoréversibilité caractéristique de cet organogel n'a pas changée avec l'introduction de l'EFV. Pour la caractérisation des organogels comme véhicule de P.A, ils ont été produits à deux températures (5 °C et 25 °C) et avec deux concentrations de 12-HSA (5% et 20%). Pour les essais de libération de l'EFV deux milieux de dissolution ont été utilisés (pH 1,2 et 6,8) avec et sans enzymes. Le profil de libération de l'EFV à partir de capsules bi-gels (2500 à 3000 µm de diamètre) est essentiellement lié à la quantité d'organogélifiant dans le cœur, à la présence de la membrane d'alginate et à l'état physique de cette membrane (hydratée ou sèche). Une réduction de 50% a pu être observée à pH acide en présence de la membrane externe. A pH acide la libération est plus lente qu'à pH 6,8, quand la membrane perd sa fonction protectrice et le cœur organogel passe à régler la libération. Deux mécanismes de relargage sont observés : l'érosion et la diffusion, expliqués par le modèle de Korsmeyer-Peppas.

Mots clés : Capsule ; Forme pharmaceutique ; Formulation lipidique ; Libération contrôlée ; Prilling ; Taille particule.