

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. MIRA – BEJAIA



Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés



Polycopié de cours

Matière : Systèmes de délivrance des médicaments

Niveau : Master I génie pharmaceutique

Présenté par : Dr FATMI SOFIANE

-2022/ 2023-

Liste des figures

Liste des figures

Figure I.1. Structures de α -CD, β -CD et γ -CD.....	3
Figure I.2. Structure tridimensionnelles des cyclodextrines naturelles (α -, β - et γ -CD).	3
Figure I.3. Processus de complexation des cyclodextrine.....	6
Figure I.4. Schéma représentatif d'un lyophilisateur.....	8
Figure I.5. Schéma représentatif d'un rotavapeur.....	8
Figure I.6 : Représentation schématique de complexes d'inclusion respectivement de gauche à droite 1 :1, 2 :1, 1 :2.....	10
Figure I.7. Représentation graphique des types de diagramme de solubilité selon la classification de Higuchi et Connors.....	12
Figure II.1. La structure d'un liposome.....	20
Figure II.2 Structure de la molécule de cholestérol.....	21
Figure II.3. Classification des liposomes.....	22
Figure II.4. Préparation des liposomes par la méthode d'hydratation du film lipidique.....	26
Figure III.1. Structure chimique du PEG.....	33

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Caractéristiques physico-chimiques de α -, β - et γ -cyclodextrines.....	4
Tableau II.1. Classifications des liposomes.....	22
Tableau III.1. Classification des dispersions solides.....	29

SOMMAIRE

PRÉAMBULE

Chapitre I : Vectorisation par les cyclodextrines

I.1 Introduction.....	1
I.2 Définition.....	1
I.3 Historique.....	1
I.4 Structure des cyclodextrines	1
I.5 Caractéristiques physico-chimiques des cyclodextrines.....	3
I.6 Les cyclodextrines modifiées.....	4
I.7 Stabilité des cyclodextrines en solution.....	5
I.8 Toxicité.....	5
I.9 Complexe d'inclusion.....	5
I.9.1 Facteur influençant le phénomène d'inclusion	6
I.9.2 Techniques de préparation d'un complexe.....	6
I.9.3 Mécanisme de formation d'un complexe.....	9
I.9.4 Forces d'interactions.....	10
I.9.5 Conséquences de l'inclusion.....	11
I.9.6 Caractérisation.....	12
I.10 Application des cyclodextrines.....	16
I.10.1 Domaine pharmaceutique.....	16
I.10.2 Autre domaine	17

Chapitre II : Vectorisation par les liposomes

II.1 Introduction.....	19
II.2 Historique.....	19
II.3 Définition.....	19
II.4 Composition des liposomes.....	20

SOMMAIRE

II.4.1 Les phospholipides.....	20
II.4.1.1 Température de transition de phase des phospholipides.....	20
II.4.2 Le cholestérol.....	21
II.4.3 Autres constituants.....	21
II.5 Les propriétés physico-chimiques des liposomes.....	21
II.6 Classification des liposomes.....	21
II.7 Stabilité des liposomes.....	23
II.7.1 Stabilité chimique.....	23
II.7.2 Stabilité physique	24
II.7.3 Stabilité colloïdale.....	25
II.8 Avantages et inconvénients des liposomes.....	25
II.9 Les principales méthodes de préparation des liposomes.....	26
II.9.1 Hydratation du film lipidique.....	26
II.9.2 Evaporation en phase inverse.....	26
II.9.3 Méthode par chauffage.....	26
II.9.4 Injection d'une solution éthanolique de phospholipides.....	27
II.10 Conclusion.....	27

Chapitre III : Les dispersions solides

III.1. Introduction.....	28
III.2 Historique.....	28
III.2.1 Première génération de dispersions solide.....	28
III.2.2 Deuxième génération de dispersion de solide.....	28
III.2.3 Dispersions de solide de troisième génération.....	28
III.3 Définition et structure.....	29

SOMMAIRE

III.3.1 Définition des dispersions solides.....	29
III.3.2 Classification des dispersions solides.....	29
III.4 Les méthodes de préparation des dispersions solides.....	30
III.4.1 Procédé de fusion.....	30
III.4.2 Méthode d'évaporation de solvant.....	30
III.4.3 Atomisation (séchage par pulvérisation).....	30
III.4.4 Lyophilisation.....	30
III.4.5 La méthode de Co-précipitation.....	30
III.4.6 Procédé d'émulsification.....	31
III.4.7 Méthode de pétrissage.....	31
III.5 Caractérisation des dispersions solides.....	31
III.5.1 Spectroscopie infrarouge (IR).....	31
III.5.2 Diffraction des Rayons X.....	31
III.5.3 Analyse thermogravimétrique (ATG).....	32
III.5.4 Calorimétrie différentielle à balayage (DSC).....	32
III.5.5 Raman spectroscopie.....	32
III.5.6 Microscopie à Balayage électronique (SEM).....	32
III.5.7 Études de dissolution.....	32
III.6 Avantages de la dispersion solide.....	32
III.7 Le polyéthylène glycol (PEG) et la dispersion solide.....	33
III.8 Conclusion.....	33

PRÉAMBULE

Les systèmes de délivrance des médicaments (SDD) ont la capacité d'améliorer l'administration et l'efficacité des traitements des produits pharmaceutiques tels que les anticorps, les peptides, les vaccins, les médicaments, les enzymes.... Les SDD ont le potentiel d'améliorer la qualité de vie et la longévité de millions de patients. La possibilité de créer des formulations à libération contrôlée de médicaments existants a changé l'économie du développement des médicaments. Ainsi, ces nouveaux systèmes peuvent améliorer les performances et l'efficacité, ainsi que d'étendre la durée de vie du brevet d'un composé existant en créant un nouveau produit.

En 1990, l'amphotéricine B liposomale a été le premier SDD approuvé par la Food and Drug Administration (FDA). Depuis, il existe plus d'une centaine de SDD qui sont disponibles sur le marché pour le traitement d'un large éventail de maladies allant du cancer aux infections fongiques et à la dégénérescence musculaire.

Cependant, une des limitations les plus importantes pour toute thérapie médicamenteuse (nouvelle ou ancienne) est la cytotoxicité inhérente. Ainsi, l'apparition possible de ces effets nocifs (effets secondaires), après le traitement, peut considérablement limiter l'application clinique de nombreux nouveaux composés. Dans de nombreux cas, l'administration contrôlée par SDD atténue bon nombre de ces inconvénients en améliorant les propriétés suivantes : La biodisponibilité, la prévention de la dégradation prématurée (minimiser l'effet du premier passage hépatique), l'amélioration de l'absorption, maintien et contrôle du taux de libération du médicament, et la réduction des effets indésirables (par ciblage de l'effet thérapeutique).

L'utilisation de nanovecteurs pharmaceutiques spécifiques à un site est un exemple d'approche de ciblage. Le ciblage des médicaments par ces nanovecteurs a fait l'objet ces dernières années de nombreuses études et présente les avantages suivants: La modification de la dynamique de distribution des médicaments, des méthodes d'administration simplifiées, une efficacité accrue et un coût réduit. Les liposomes et les cyclodextrines en sont un exemple parfait, et seront discutés en détail dans ce cours.

Chapitre I : Vectorisation par les cyclodextrines**I.1 Introduction**

Les cyclodextrines (CD) font partie des molécules cages d'origines naturelles ou modifiées, elles permettent d'encapsuler diverses molécules. Elles sont connues pour leurs aptitudes à accroître la solubilité et/ou stabilité de nombreuses molécules organiques par formation de complexes d'inclusion.

I.2 Définition

Les cyclodextrines sont des oligosaccharides cycliques issus de la dégradation enzymatique de l'amidon. Les trois CDs natives les plus courantes se composent de 6, 7 ou 8 unités de glucose. Elles sont dénommées respectivement α -, β - ou γ CD.

I.3 Historique

Les cyclodextrines ont été isolées pour la première fois par Villiers en 1891, grâce à l'expérience de la dégradation de l'amidon par une souche de micro-organismes, il met alors en évidence deux produits (l' α - et la β cyclodextrine) ayant des propriétés physico-chimiques proches de celles de la cellulose. Les cyclodextrines ont été caractérisées en 1903 par Schardinger en tant que oligosaccharides cycliques ; c'est pour cette raison qu'elles sont nommées dextrines de Schardinger dans les premières publications traitant des cyclodextrines. En 1938 Freudenberg et son équipe ont démontré que les cyclodextrines sont construites à partir d'unités de D-glucoses liées entre elles par des liaisons α (1 \rightarrow 4) glucosidiques ; Ils ont découvert que les cyclodextrines étaient capables de former des complexes d'inclusion, et déterminèrent entièrement la structure de la γ -cyclodextrine.

Dans les années 1950, French et Cramer ont intensément travaillé sur la synthèse et la purification de complexes de cyclodextrines. Le premier brevet concernant l'application des cyclodextrines pour la mise en forme d'un composé à activité biologique fut déposé par Freudenberg en 1953.

I.4 Structure des cyclodextrines

L'intérieur de la cavité (figure I.1) est tapissé par des squelettes carbonés et oxygène en liaison éther, ce qui lui confère un caractère apolaire. C'est grâce à ce caractère amphiphile

que les CDs sont capables d'interagir avec une large variété de molécules pour former des complexes d'inclusion de type hôte-invité ou « hostguest ».

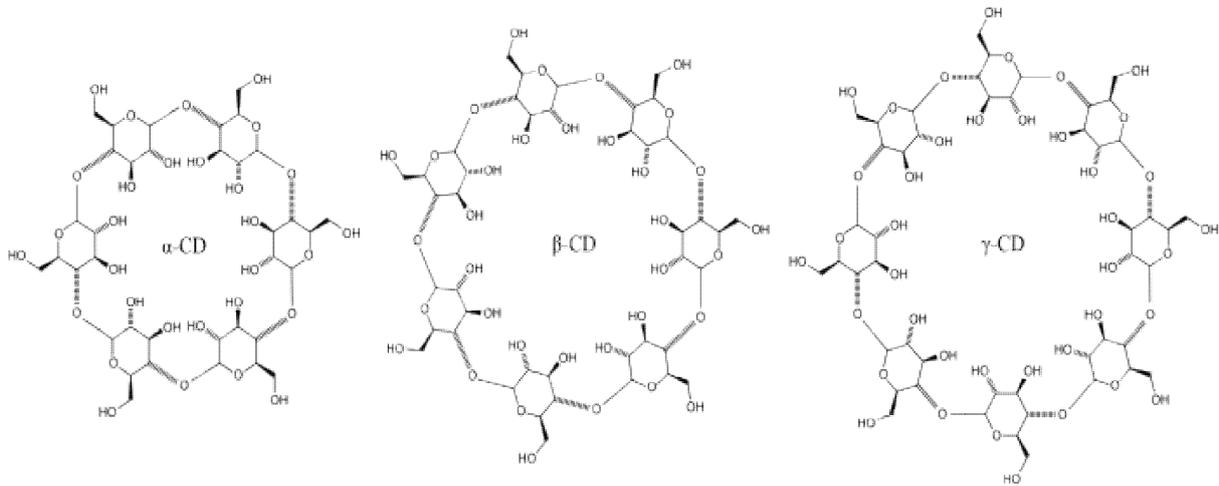


Figure I.1. Structures de α -CD, β -CD et γ -CD.

Leur structure en trois dimensions apparaît sous la forme d'un cône tronqué à l'extérieur duquel se trouvent les groupements hydroxyles (Figure I.2).

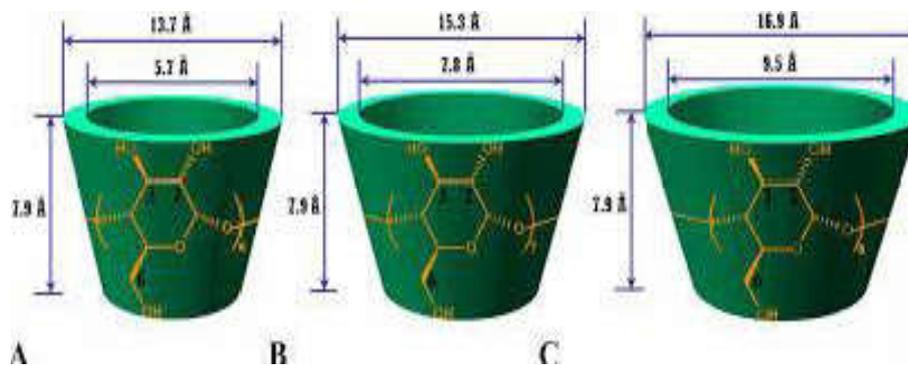


Figure I.2. Structure tridimensionnelles des cyclodextrines naturelles (α -, β - et γ -CD).

I.5 Caractéristiques physico-chimiques des cyclodextrines

Les principales caractéristiques physicochimiques des cyclodextrines natives sont rassemblées et présentées dans le tableau I.1.

Tableau I.1 : Caractéristiques physico-chimiques de α -, β - et γ -cyclodextrines

Propriétés	α	β	γ
Nombre d'unités glucose	6	7	8
Formule brute	C ₃₆ H ₆₀ O ₃₀	C ₄₂ H ₇₀ O ₃₅	C ₄₈ H ₈₀ O ₄₀
Masse molaire (g.mol ⁻¹)	972.87	1135.01	1297.1
Diamètre de la cavité (Å)	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3
Solubilité dans l'eau à 25°C (mg/ml)	145	18.5	232
Volume de cavité (Å ³)	174	262	427
Point de fusion (°C)	275	280	270

I.6 Les cyclodextrines modifiées

Dans le but d'améliorer certaines propriétés des CDs, la synthèse de nombreux dérivés de CDs a été entreprise. D'une manière générale, ces modifications ont pour but : d'améliorer la solubilité intrinsèque des cyclodextrines natives (surtout celle de la β -CD), de diminuer la toxicité et d'améliorer leur aptitude à former des complexes d'inclusion dans l'eau et dans les émulsions.

Ces modifications chimiques portent sur :

- La substitution d'un ou de plusieurs groupements hydroxyles par des halogènes, ou des groupements amines.
- L'oxydation des alcools primaires pour former des aldéhydes ou des acides carboxyliques.
- La substitution nucléophile interne avec formation d'époxyde...
- Actuellement, Plus de 1500 dérivés différents ont été synthétisés et décrits dans la littérature et plus de 100 sont disponibles à la vente sous forme de produits chimiques.

Les objectifs de la modification des CDs :

De nombreux dérivés de CDs ont été synthétisés pour différents objectifs :

- Améliorer la capacité de complexation des CDs ;
- Augmenter leur solubilité aqueuse ;

- Augmenter leur affinité pour une molécule donnée ;
- Introduire des groupements spécifiques facilitant la complexation ;
- Synthétiser des polymères de cyclodextrines;
- Diminuer les dommages provoqués au niveau des membranes cellulaires (cytotoxicité).

I.7 Stabilité des cyclodextrines en solution

La stabilité des cyclodextrines en solution est relativement peu influencée par les conditions de pH et de température. L'hydrolyse des cyclodextrines peut avoir lieu dans certaines conditions de pH très acides (< 1) et à 80°C . En milieu très basique il y a possibilité de former des liaisons alcoolates plus solubles que les cyclodextrines neutres.

I.8 Toxicité

En général, les cyclodextrines naturelles et leurs dérivées sont capables de passer à travers les membranes biologiques lipophiles, telles la cornée, les muqueuses ou le foie, mais avec de grandes difficultés, ceci est dû dans la plupart du temps à leurs poids moléculaires qui limitent ce passage. Aussi, les cyclodextrines présentent très peu de toxicité lors de leur administration par voie orale car elles ne sont pas absorbées au niveau du tractus gastro-intestinal (0,1 à 3%).

Le caractère hémolytique des cyclodextrines est très bien connu mais n'apparaît en fait qu'à de fortes concentrations: en effet à faible concentration (5 mmol pour l' α -CD et 10 mmol pour la β -CD) les cyclodextrines protègent les globules rouges contre l'hémolyse osmotique, qui est induite par la chaleur, alors qu'à forte concentration elles provoquent l'hémolyse en complexant et relarguant le cholestérol des membranes cellulaires. Cette action hémolytique est faible avec la γ -CD mais plus forte avec la α -CD et la β -CD (la cavité de la γ -CD est plus grande et donc ne peut retenir le cholestérol). Cette propriété conditionne les effets des CD par voie intraveineuse ou intramusculaire.

I.9 Complexe d'inclusion

La propriété la plus remarquable des CD est la capacité de se lier avec des molécules très diverses, pour donner des complexes d'inclusion de type hôte – invité (Figure I.3). Elles présentent des avantages nombreux qui peuvent être résumés comme suit :

- Ce sont des produits "semi naturels" issus d'une simple conversion enzymatique de l'amidon.
- Elles sont fabriquées en grande quantité en utilisant des technologies non-polluantes.
- Le prix initial élevé est devenu abordable grâce à une augmentation de la production.
- A partir des complexes d'inclusion formés, les propriétés des substances complexées peuvent être modifiées.
- Les effets secondaires toxiques peuvent être éliminés grâce à une sélection appropriée des dérivés des cyclodextrines.
- Les molécules complexées sont très variées, allant des réactifs polaires comme les acides ou les amines, jusqu'aux hydrocarbures aliphatiques et aromatiques, en passant par les ions et les halogénures.

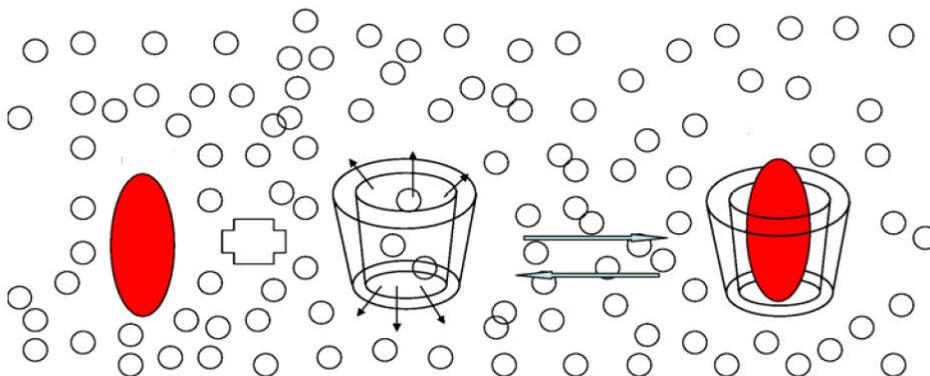


Figure I.3. Processus de complexation des cyclodextrine.

I.9.1 Facteur influençant le phénomène d'inclusion

La formation des complexes d'inclusion dépend de plusieurs facteurs :

- La taille de la molécule hôte ;
- Les propriétés de la molécule hôte (composition des fonctions chimiques, solubilité...);
- Les structures des CDs (ioniques, ramifiées...);
- Les propriétés du solvant (polarité, pH);
- Le déroulement de la synthèse organique.

I.9.2 Techniques de préparation d'un complexe

La formation d'un complexe consiste essentiellement à substituer les molécules d'eau présentes dans la cavité de la cyclodextrine par une autre molécule. La libération de ces molécules d'eau

et la formation d'interactions de Van der Waals entre la cyclodextrine et la molécule invitée amènent le complexe à un niveau d'énergie plus favorable. Il existe différents procédés pour réaliser des complexes d'inclusion.

- **La complexation en solution**

La complexation en solution consiste à dissoudre la cyclodextrine et la molécule à inclure dans un milieu souvent aqueux et à laisser l'équilibre s'établir. Le complexe formé est récupéré sous forme solide après sa précipitation. Cette précipitation peut se faire par diverses façons : Précipitation spontanée, précipitation par refroidissement, neutralisation, lyophilisation et évaporation du solvant.

La complexation en suspension (co-évaporation) est quasi identique sauf que les composés ne sont pas dissous mais maintenus en suspension à l'aide d'une forte agitation. Le principal inconvénient de cette méthode est l'utilisation d'un solvant et donc la nécessité de l'éliminer une fois le complexe formé.

La méthode de précipitation

Le mélange des deux constituants est dispersé dans l'eau. La solution est agitée et chauffée pour obtenir un liquide concentré, visqueux et translucide. Le complexe est obtenu par précipitation du mélange réalisé, qui est séparé et séché pour obtenir l'inclusion pleine.

La méthode de pétrissage (Kneading)

La cyclodextrine est triturée dans un mortier avec une petite quantité d'eau pour obtenir une pâte homogène. La molécule invitée est alors ajoutée. Préalablement ; une petite quantité de solvant (méthanol, éthanol) peut être ajoutée pour faciliter la dissolution de la molécule invitée.

Mélange physique

La méthode est basée sur un mélange homogène des cyclodextrines et du substrat dans un mortier, le mélange s'effectue sans ajout de solvant. Les molécules invitées peuvent être complexées par simple mélange des deux poudres ensemble. Son principal avantage est de ne pas utiliser d'eau et ses inconvénients sont le risque de formation de croûtes des poudres et l'obtention d'un mélange incomplet conduisant à une complexation insuffisante.

Lyophilisation

Appelée autrefois cryodessiccation, c'est une opération de déshydratation à basse température qui consiste à éliminer la majeure partie de l'eau contenue dans le produit par sublimation.

La molécule invitée est ajoutée à la solution aqueuse de CDs, après mélange sous agitation, la substance obtenue est congelée puis lyophilisée dans un lyophilisateur.

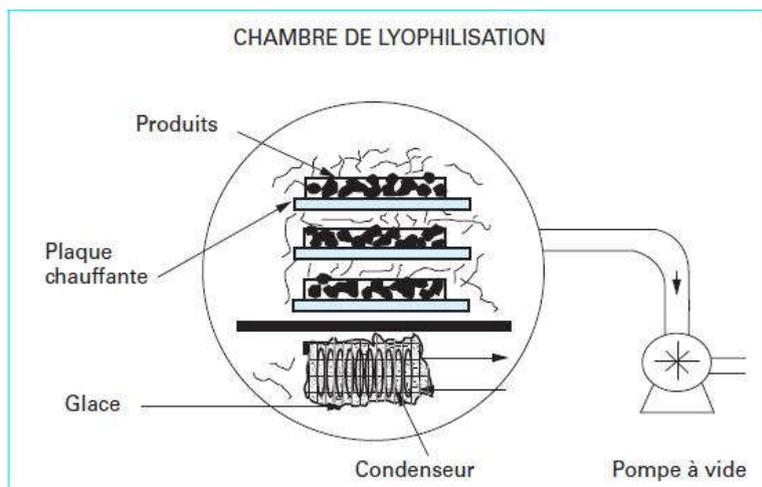


Figure I.4. Schéma représentatif d'un lyophilisateur.

La coévaporation

Cette méthode permet d'éliminer le solvant utilisé pour la réalisation des complexes d'inclusion à basse température à l'aide de la création de vide.

La molécule invitée est ajoutée à la solution généralement alcoolique (ou mélange eau/alcool) de CDs, après mélange sous agitation, la substance obtenue est séchée à l'aide d'un rotavapeur.

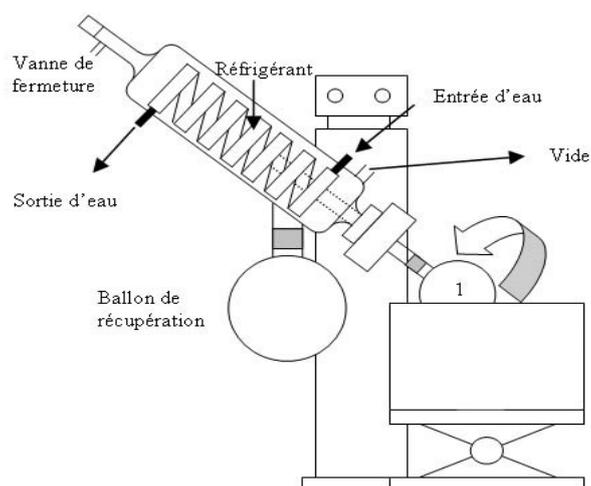


Figure I.5. Schéma représentatif d'un rotavapeur.

- **La complexation par CO₂ à l'état supercritique**

Lorsqu'un fluide est placé dans des conditions de température et de pressions supérieures à son point critique, il passe dans un état de matière appelé supercritique, ce dernier est caractérisé par un état intermédiaire entre le liquide et le gaz (avec une viscosité proche de celle d'un gaz,

une densité proche de celle du liquide et un pouvoir de diffusivité très élevé par rapport au fluide liquide).

Le dioxyde de carbone à l'état supercritique a été proposé pour réaliser l'inclusion de substances actives diverses dans des cyclodextrines en 1990.

L'avantage de l'utilisation du CO₂ est qu'il reste non toxique, facilement disponible et son point critique facile à atteindre ($T_c = 31,1 \text{ °C}$; $P_c = 73,8 \text{ bar}$).

Grâce à sa faible température critique, le CO₂ supercritique permet de développer des procédés à basse température pour des produits thermosensibles. A la fin de l'encapsulation, une phase de détente est réalisée. Elle consiste à abaisser la pression ce qui provoque le passage du gaz carbonique de l'état supercritique à l'état gazeux et permet de récupérer le complexe à l'état solide exempt de tout résidu de solvant d'extraction.

Ce procédé présente de nombreux avantages dont celui de réaliser une réaction d'inclusion simple, reproductible en une seule étape. L'absence de solvant permet de supprimer l'étape d'élimination de ce dernier et par conséquent de réduire l'investissement, la pollution et le coût.

I.9.3 Mécanisme de formation d'un complexe

Les CDs sont entourées de molécules d'eau d'hydratation qui sont relativement thermolabiles et peuvent être éliminées par séchage et de molécules d'eau d'inclusion énergétiquement défavorables dans la cavité apolaire, qui peuvent être remplacées par une « molécule invitée » appropriée, moins polaire que l'eau.

Ces molécules invitées pénètrent dans la cavité par la plus grande ouverture et le côté le plus accessible, elles sont incluses de manière à éloigner leur portion non polaire pour avoir un maximum de contact avec la cavité hydrophobe et leur partie polaire interagit avec la surface hydrophile de la CD. Ainsi, le mécanisme de formation d'un complexe n'est régi essentiellement que par un facteur géométrique : Le substrat doit avoir une taille compatible avec la cavité de la CD. En effet, les molécules trop grosses ne pénétrant que partiellement, ne pourront pas former de complexes stables. Les molécules trop petites compte à elles, pourront en sortir très rapidement car les interactions formées seront trop faibles pour les maintenir à l'intérieur de la cavité. Il faut donc une certaine proximité de la molécule invitée pour former un complexe d'inclusion stable avec la cavité de la molécule hôte.

Ces inclusions partielles ou totales, donnent lieu à la formation de complexes avec divers arrangements structuraux, on trouve des complexes de type 1 : 1 si une molécule de CD

interagit avec une molécule invitée, de type 2 : 1 si la molécule invitée est de grande taille et que plusieurs molécules de CDs peuvent interagir avec, ou de type 1 : 2, 1 : 3 ou la cavité de la CD est assez spacieuse pour accueillir deux molécules invitée (Figure I.6).

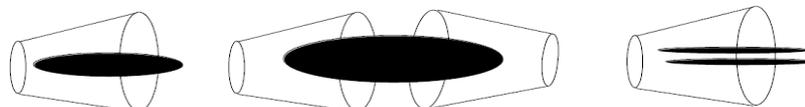
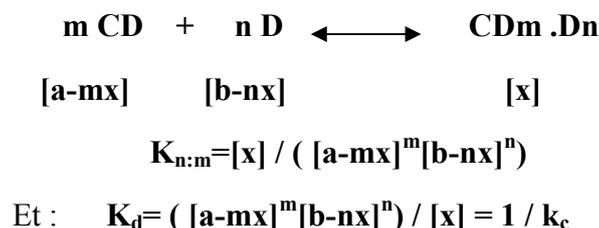


Figure I.6 : Représentation schématique de complexes d'inclusion respectivement de gauche à droite 1 : 1, 2 : 1, 1 : 2.

En solution, le complexe étant régi par de faibles forces d'interactions, un équilibre thermodynamique s'établit entre les molécules complexées et les molécules libres en solution. Ce processus réversible peut être quantifié par une constante d'équilibre appelée constante de stabilité (K_c ou $K_{n:m}$) ou par une constante de dissociation K_d .

Dans le cas d'une cyclodextrine CD et d'une molécule invitée D, on peut écrire les relations suivantes :



Avec :

m : nombre de moles de CD ; **n** : nombre de moles de la molécule invitée.

a : quantité initiale en CD ; **b** : quantité initiale en molécule invitée.

x : quantité de complexe formé.

K_c : constante d'association ; **K_d** : constante de dissociation.

Plus $K_{c(1:1)}$ est grand, plus le complexe est stable.

I.9.4 Forces d'interactions

Les interactions mises en œuvre entre l'hôte et l'invité peuvent être de différentes natures :

- Adaptation stérique : Par des changements conformationnels de la molécule invitée et/ou de la CD (conformation induite) lors du processus d'inclusion.
- Formation de liaisons hydrogène.

- Interactions de Van der Waals.
Interactions hydrophobes, dipôle-dipôle, de transfert de charges et électrostatiques.

Ce phénomène d'inclusion-complexation ne fait intervenir aucune liaison covalente mais uniquement des forces telles que les liaisons hydrogène ou des interactions de Van der Waals, ce qui permet ainsi le relargage de la molécule invitée. La principale force provoquant la formation des complexes est la stabilisation énergétique du système par le remplacement dans la cavité, des molécules d'eau à haute enthalpie par des molécules hydrophobes créant des associations apolaires-apolaires.

I.9.5 Conséquences de l'inclusion

La formation d'un complexe d'inclusion entre une CD et une molécule invitée confère à ce complexe des propriétés physico-chimiques et biologiques différentes de celles de la CD et de la molécule incluse prises séparément, cette différence se traduit au niveau:

- **Des propriétés de la molécule complexée**
 - Augmentation de la solubilité de la molécule invitée dans l'eau ;
 - Augmentation de la stabilité de la molécule invitée ;
 - Diminution de la diffusion et de la volatilité de la molécule invitée ;
 - Modification des propriétés biologiques ;
 - Protection de la substance complexée.
- **Du comportement lors des différentes études analytiques**
 - Modification des propriétés spectrales;
 - Modification de déplacement chimique en RMN du fait de ce changement d'environnement anisotropique ;
 - Les propriétés chirales : Lorsque des composés achiraux sont inclus dans une CD, le complexe formé est optiquement actif et montre un important effet de Cotton induit en dichroïsme circulaire ;
 - Modification de la fluorescence ;
 - Modification de la mobilité en chromatographie : La molécule invitée initialement hydrophobe devient, sous forme de complexe, hydrophile.

Ces différences de comportement permettent de mettre en évidence ces complexes et de les étudier.

I.9.6 Caractérisation

- **Diagramme de phase**

La formation de complexe avec la CD augmente la solubilité de la molécule incluse, ce phénomène peut apporter des informations sur la constante d'association. L'analyse de la solubilité donne un aperçu de la stœchiométrie de l'équilibre. Expérimentalement, un excès d'une substance peu soluble dans l'eau est introduit dans différentes fioles auxquelles un véhicule aqueux contenant des CDs de concentrations croissantes est ajouté.

Après que l'équilibre de complexation soit établi, en agitant les fioles à température constante (plusieurs heures à plusieurs jours), les suspensions sont filtrées et la quantité de substance solubilisée est quantifiée.

L'évaluation de l'effet de la CD sur la solubilité apparente de molécules invitées permet de construire le diagramme de phase ou isotherme de solubilité et ceci en rapportant sur un graphique la concentration molaire du soluté sur l'axe des abscisses et la concentration molaire de l'agent complexant (les cyclodextrines) sur l'axe des ordonnées.

En 1964 Higuchi et Connors ont classé les différents types d'isothermes qui caractérisent les interactions substrat-ligand pouvant être assimilées aux interactions CD-molécule invitée. On distingue deux profils majeurs ; le profil A et le profil B (Figure I.7).

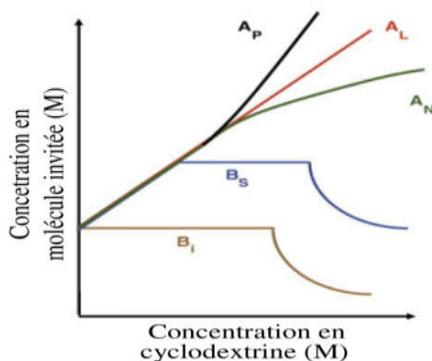


Figure I.7. Représentation graphique des types de diagramme de solubilité selon la classification de Higuchi et Connors.

a) Le profil A

Le profil A est obtenu lorsque la solubilité du substrat augmente avec des concentrations croissantes en CD. Il contient trois (03) variantes :

- Les profils de type A_L indiquent une augmentation linéaire de la solubilité apparente en fonction de la concentration de CD. Ces profils sont généralement attribués à la formation de complexes de stœchiométrie égale (1 :1, 2 :2...).
- Les profils de type A_P indiquent une déviation positive de la linéarité de l'isotherme ; c'est-à-dire que la CD est proportionnellement plus efficace à de haute concentration. Ces profils traduisent la formation simultanée de complexes à stœchiométrie différente (1 : 1 à l'origine, puis 1 : 2, 1 : 3 ...).
- Les profils de type A_N indiquent une déviation négative par rapport à la linéarité, en d'autres termes, la CD est proportionnellement moins efficace à de haute concentration. Cependant, ces profils peuvent être difficiles à interpréter. La chute de solubilité par rapport au profil linéaire peut être liée à des modifications de la solubilité du complexe, de la constante diélectrique du milieu ou à l'association de CD entre elles à de hautes concentrations.

b) Le profil B

Le profil de type B indique en général la formation d'un complexe à solubilité limitée. On y trouve :

- Le profil de type B_s suit au départ le profil de type A_L puis à partir d'un certain point, tout ajout de CDs entraîne une précipitation du complexe.
- Le profil de type B_I peut être interprété de la même manière sauf que dans ce cas, le complexe est tellement insoluble que l'augmentation initiale de la solubilité ne peut être détectée.

L'établissement de ces diagrammes de solubilité permet de calculer, à partir de la partie linéaire de la courbe, une constante de stabilité apparente K_c en se basant sur l'équation d'Higuchi :

$$K_c = \frac{\alpha}{S_0(1-\alpha)}$$

Avec α : la pente de la partie linéaire de la courbe.

S_0 : la solubilité aqueuse en mol/L du principe actif sans CD.

K_c : la constante de stabilité en M^{-1} .

Cette constante peut refléter la stabilité du complexe formé et son devenir dans les milieux biologiques. Plus la constante de stabilité est petite, plus vite est libéré le PA.

- **Spectroscopie de résonance magnétique nucléaire (RMN)**

La résonance magnétique nucléaire est utilisée pour l'analyse des structures de nombreuses molécules, aujourd'hui elle est considérée comme une méthode de choix dans l'étude des complexes PA - CDs, elle permet de mettre en évidence l'environnement chimique des noyaux étudiés (le déplacement chimique).

Après inclusion, les protons situés à l'intérieur de la cavité de la β -CD (H-3, H-5) voient leur environnement électronique modifié du fait de la présence d'une molécule invitée dans la cavité, ce qui est caractérisé par une modification du déplacement chimique, les protons localisés à l'extérieur de la cavité (H-2, H-4 et H-6) restent pratiquement inchangés. Pour la molécule invitée, ces modifications se présentent au niveau de la plupart de ses protons, on peut donc considérer la molécule cage comme solvant de la molécule invitée.

- **Spectroscopie UV/Visible**

La spectroscopie d'absorption UV/visible est une technique fréquemment utilisée pour la détermination de la constante d'équilibre d'association dans les applications biochimiques. C'est une technique assez sensible, elle permet de travailler dans des gammes de concentrations faibles, ce qui peut être intéressant pour des produits peu solubles. Elle permet de mettre en évidence la formation des complexes qui souvent produit des modifications du spectre d'absorption de la molécule invitée par déplacement et/ou d'un élargissement de bande. Cependant, il faut que la molécule étudiée absorbe à des longueurs d'ondes différentes de celle des CDs. De plus cette technique ne permet pas de distinguer clairement entre un phénomène d'inclusion ou un autre type d'interaction.

- **Analyse thermogravimétrique (ATG)**

La thermogravimétrie, ou analyse thermique pondérale est une méthode thermo- analytique de mesure continue de la variation de masse d'un matériau soumis à une loi de chauffe définie soit par des paliers de température en fonction du temps (mode isotherme), soit par élévation

constante de la vitesse de chauffe. Elle permet, ainsi, d'obtenir une quantification de la perte d'éléments constituant les matériaux et de surveiller leur stabilité thermique.

Le diagramme d'une molécule en thermogravimétrie présente des points caractéristiques en fonction de la température : point de fusion, d'ébullition et de sublimation, représentant le passage à différents états : amorphe, cristallin ou de fusion.

Quand deux molécules s'associent pour former un complexe, on observe un déplacement de ces points vers des températures supérieures pour la molécule invitée ou alors une disparition dans l'intervalle de température où la CD est décomposée. Toutes les modifications structurales de la molécule invitée avant le début de la dégradation thermique et l'oxydation des CD peuvent être évaluées par ces techniques.

- **Analyse calorimétrique différentielle (DSC)**

L'analyse calorimétrique différentielle est une méthode thermo-analytique qui permet d'étudier les transformations physiques ou chimiques que subissent de nombreux matériaux pendant leur chauffage ou leur refroidissement.

La formation des complexes d'inclusion peut être vérifiée par cette technique, et ce par l'étude de l'effet thermodynamique résultant de la présence de la molécule invitée.

Néanmoins, cette technique est limitée aux composés ayant une température de fusion et d'ébullition en dessous de celle de dégradation de la CD. Il a été observé que la formation des complexes CD-molécules invitées provoque la diminution du pic endothermique de fusion de la molécule invitée (cas d'un mélange physique), et sa disparition dans le cas d'une complexation complète.

- **Microscopie Electronique à Balayage (MEB)**

Cette méthode fournit des informations sous forme d'images lumineuses. Elle consiste à balayer ligne par ligne, la surface des échantillons avec un faisceau lumineux puis à transmettre le signal du détecteur à un écran cathodique.

Elle est utilisée pour étudier les aspects microscopiques de la CD et de la molécule invitée d'une part et du produit obtenu par complexation d'autre part. L'état de cristallisation des molécules brutes (CD et molécule invitée) et du complexe obtenu n'est pas le même ; cette différence peut indiquer la formation d'un complexe d'inclusion.

- **Diffraction des Rayons X (DRX)**

C'est une méthode facile à mettre en œuvre, nécessitant de faibles quantités de composés. Elle repose sur l'observation des différences entre le mélange physique simple des deux composés et le complexe d'inclusion potentiel. La formation d'un complexe CD-molécule invitée altère les modèles de diffraction et change la nature cristalline de la molécule invitée. La diffraction aux rayons X permet non seulement de prouver l'inclusion mais aussi d'obtenir des informations sur la structure du complexe formé.

- **Spectroscopie Infrarouge (IR)**

La spectroscopie IR mesure l'excitation vibrationnelle induite par une exposition à des radiations électromagnétiques et permet donc d'étudier l'arrangement des atomes et les distances interatomiques.

Les spectres des complexes présentent généralement un léger déplacement des pics indiquant l'absence de fortes liaisons chimiques, ce déplacement étant dû à l'influence du complexe formé sur la bande OH des CDs et sur les bandes de la partie incluse suite à la modification de l'environnement.

Chaque bande du spectre caractérise un groupe fonctionnel de la molécule, et leur déplacement permet la désignation de quelle partie de la molécule invitée interagit avec la CD. La position des bandes d'absorption dépendant de la nature des groupes fonctionnels présents dans une molécule, cette méthode est souvent peu appropriée pour la détection des complexes.

I.10 Application des cyclodextrines

I.10.1 Domaine pharmaceutique

Dans le domaine pharmaceutique, on utilise les cyclodextrines pour :

- Solubiliser des substances actives peu solubles en milieu aqueux ;
- Améliorer potentiellement la biodisponibilité de molécules hydrophobes ;
- Augmenter la stabilité ;

- Diminuer la perception du mauvais goût voir les effets indésirables de certains principes actifs ;
- Intervenir dans le stockage, la protection des médicaments sensibles à la lumière, à la chaleur ou à l'air ;
- Employées comme vecteurs pour cibler et contrôler la libération du principe actif et pour maintenir les distributions homogènes ;

Les principales CDs utilisées à l'heure actuelle par l'industrie pharmaceutique sont les β -CD natives ou modifiées. La plupart des médicaments à base de CDs sont administrés par voie orale (comprimés, sirops,...).

I.10.2 Autres domaines

- **En cosmétologie**

Les principaux avantages des cyclodextrines dans ce secteur sont la stabilisation, le relargage, la protection et la livraison des arômes.

- **Dans l'alimentaire**

L'incorporation de cyclodextrines offre différents avantages:

- Protection des molécules actives contre l'oxydation, contre la lumière, contre la décomposition par la chaleur, l'humidité ...
- Elimination ou réduction de goûts indésirables, d'odeurs, de contaminations microbiennes, etc;
- Amélioration des caractéristiques nutritionnelles de quelques produits laitiers.

- **En environnement**

Les CDs peuvent jouer un rôle important dans la science environnementale en terme de :

- Solubilisation des contaminants organiques ;
- Piégeage et déplacement des polluants organiques et des métaux lourds du sol, de l'eau et de l'atmosphère ;
- Traitement de l'eau afin d'éliminer les agents contaminant.

- **Dans le textile**
 - Éliminer ou masquer les odeurs indésirables (par exemple la fumée de cigarette et la sueur).
 - Renforcer la prise des colorants par le tissu et par la suite réduire la quantité de colorants perdus lors du lavage.
- **En chimie catalytique et analytique**
 - Catalyseurs chimiques efficaces (augmente le taux de conversion) ;
 - Modèles d'enzymes artificielles ;
 - En raison de leurs effets stériques, les CDs jouent un rôle significatif dans des processus biocatalytiques en augmentant l'énantiosélectivité ;
 - En chromatographie, potentiel élevé pour la séparation chirale (HPLC, électrophorèse capillaire).

II.1 Introduction

Les liposomes (Figure II.1) sont des vésicules sphériques composées d'une ou plusieurs bicouches phospholipidiques entourant des compartiments aqueux. Leur taille varie d'une vingtaine de nanomètres à quelques micromètres. Ils sont utilisés comme système de délivrance de substances actives. Ils peuvent encapsuler à la fois des substances hydrophiles (dans le compartiment aqueux), lipophiles (dans la membrane) et amphiphiles (à l'interface eau-lipide).

II.2 Historique

Les liposomes ont été découverts par A. BANGHAM dans les années 60 et ont été d'abord principalement utilisés comme modèle membranaire. Le terme « liposome » dérive de deux mots d'origine grecque, « lipos » qui signifie gras et « soma » qui signifie corps. Mais c'est MEZEI, qui le premier a suggéré que les liposomes pouvaient se révéler utiles comme systèmes de transport médicamenteux pour le traitement des maladies cutanées.

II.3 Définition

Les liposomes sont des systèmes d'encapsulation de structures sphériques fermées constituées d'un espace aqueux interne. Ils sont caractérisés par la courbure des bicouches lipidiques composées de phospholipides entourant une partie du solvant environnant (figure II.1), mais aussi de cholestérol encapsulant un réservoir aqueux ou d'autres composés.

Leur intérêt réside principalement dans la possibilité de vectoriser et de véhiculer des substances, soit par inclusion dans la membrane lipidique, soit par encapsulation dans l'espace interne. Ils sont non-toxiques, nonimmunogènes, biocompatibles et biodégradables.

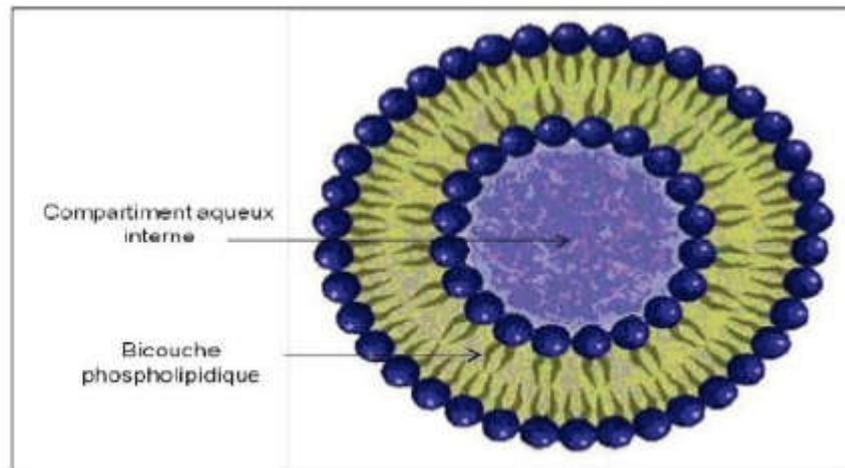


Figure II.1. La structure d'un liposome.

II.4 Composition des liposomes

II.4.1 Les phospholipides

Les glycérophospholipides, constituants majeurs de la membrane biologique, sont généralement les phospholipides qui forment les liposomes. Ce sont des molécules amphiphiles. Ils sont construits à partir du glycérol dont deux fonctions alcool ont été estérifiées par des acides gras qui forment la zone hydrophobe (apolaire) de la molécule de phospholipide. La troisième fonction alcool porte un groupe phosphate polaire, lui-même estérifié par différents groupements (glycérol, choline, éthanolamine, sérine et inositol), constituant la tête polaire du phospholipide.

II.4.1.1 Température de transition de phase des phospholipides

Les phospholipides sont caractérisés par une température de transition de phase (T_m , melting temperature). C'est un paramètre thermodynamique généralement utilisé pour étudier la fluidité de la bicouche lipidique. La température de transition de phase varie en fonction de la longueur et du degré de saturation des chaînes d'acides gras des phospholipides. Ainsi, la T_m augmente proportionnellement avec la longueur des chaînes car les interactions de Van der Waals augmentent. Par contre, la T_m diminue avec le nombre d'insaturation qui défavorise les interactions entre les chaînes. Cette température doit être prise en considération lors de la préparation des liposomes. Ces derniers ne se forment qu'à une température supérieure à celle de leur transition de phase.

II.4.2 Le cholestérol

Le cholestérol est une substance cireuse molle, elle est présente dans les lipides ou les graisses, dans le sang et dans toutes les membranes cellulaires concentré essentiellement dans le cerveau et la moelle épinière (figure II.2). Il est le stérol majeur dans le corps humain et appartient à une classe de molécules appelées stéroïdes, utilisé pour former des membranes cellulaires, plusieurs hormones, la vitamine D, et les acides biliaires nécessaires pour digérer les graisses présentes dans nos aliments.

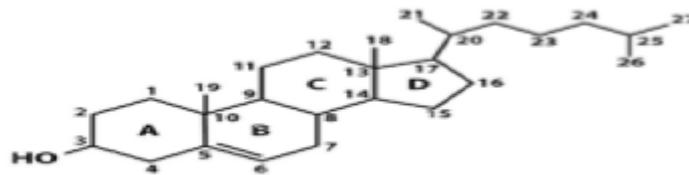


Figure II.2 Structure de la molécule de cholestérol.

II.4.3 Autres constituants

Selon l'application souhaitée, d'autres constituants peuvent également entrer dans la composition des liposomes. Par exemple, les chaînes de polyéthylène glycol (PEG) sont souvent greffées sur des phospholipides ou du cholestérol. La PEGylation permet une stabilisation stérique des liposomes.

II.5 Les propriétés physico-chimiques des liposomes

L'état physique de la bicouche lipidique a un impact important sur les propriétés des liposomes. Les vésicules composées uniquement de phospholipides, maintenues à une température inférieure à la température de transition de la phase principale de ces phospholipides (T_c), sont considérées comme « solides » (état « gel », dans lequel les chaînes acyles ont un aspect rigide). A l'inverse, si la température du milieu ambiant est supérieure à T_c , ces liposomes sont considérés « fluides » (état dans lequel les chaînes acyles ont une certaine liberté de mouvement).

II.6 Classification des liposomes

Les liposomes sont classés en fonction de leur nombre de bicouches appelé lamellarité et de leur taille (figure II.3).

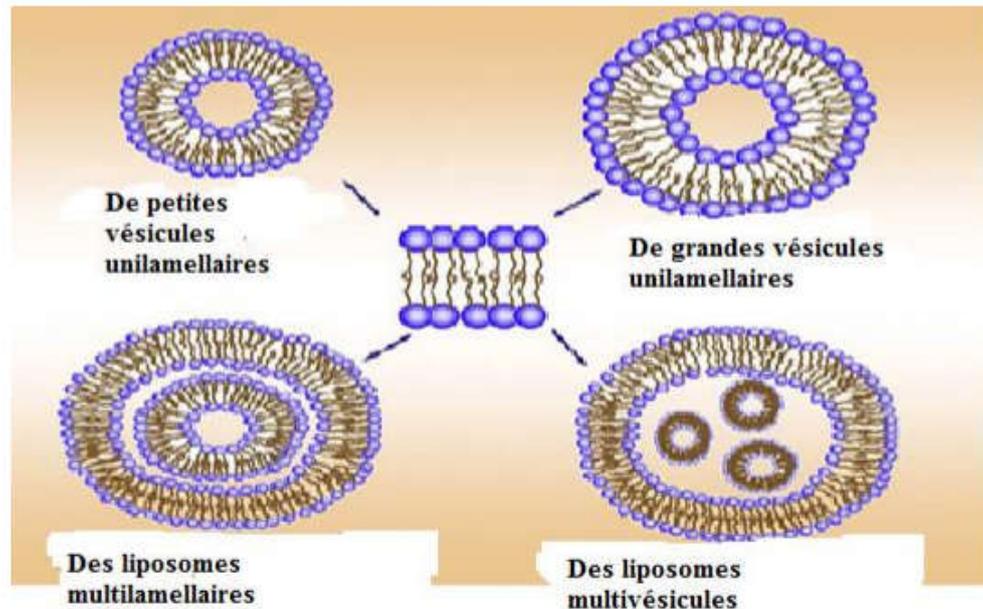


Figure II.3. Classification des liposomes.

Les vésicules unilamellaires (unilamellar vesicles) : sont constituées d'une seule bicouche concentrique. En fonction du diamètre des liposomes, on a deux types :

- les vésicules unilamellaires de petite taille (small unilamellar vesicles ou SUV)
- les vésicules unilamellaires de grande taille (large unilamellar vesicles ou LUV)

Les vésicules multilamellaires (multilamellar vesicles ou MLV) : Sont constituées de plusieurs bicouches. Lorsque les MLV ne comptent que deux à trois bicouches elles sont appelées Vésicules oligolamellaires (oligolamellar vesicles ou OLV).

Les vésicules multivésiculaires (multivesicular vesicles ou MVV) : Sont constituées de plusieurs vésicules emprisonnées dans une vésicule plus grosse.

Tableau II.1. Classifications des liposomes

MLV Multilamellar large vesicle	>0.5 μm
OLV Oligolamellar vesicle	0.1-1 μm
SUV Small unilamellar vesicle	20-100 μm
LUV Large unilamellar vesicle	>100 μm
MVV Multi vesicular vesicle	>1 μm
GUV Giant unilamellar vesicle	>1 μm

II.7 Stabilité des liposomes

Une suspension liposomiale peut être sujette à des problèmes d'instabilité physique et chimique. La stabilité physique est reliée à la conservation de la taille des liposomes. La stabilité chimique est en relation avec la conservation de la structure et de la composition moléculaire des constituants.

II.7.1 Stabilité chimique

Ces molécules sont le siège de deux types de dégradation chimique : l'hydrolyse de leurs fonctions esters et la peroxydation de leurs chaînes insaturées d'acyles. Ce sont les phospholipides qui assurent la stabilité de la membrane du liposome. Des paramètres tels que la température, le pH et la conformation des phospholipides dans la membrane influencent la cinétique de la réaction d'hydrolyse. Un pH optimal de 6.5 et une faible température permettent de limiter la dégradation des phospholipides par hydrolyse. La peroxydation des chaînes d'acyles peut être limitée grâce à certaines précautions comme une température faible. GRIT et CROMMELIN ont démontré que la dégradation des phospholipides par hydrolyse entraîne une hausse considérable de la perméabilité de la membrane. De même, la peroxydation des phospholipides dégrade les constituants de la membrane et des questions restent ouvertes actuellement sur l'innocuité des produits de cette réaction.

Réaction de peroxydation

Elle se déclenche en présence de l'oxygène, de la lumière, de la chaleur et des métaux. Principalement les phospholipides insaturés et polyinsaturés sont les plus susceptibles à subir l'oxydation. La peroxydation lipidique est une réaction catalytique qui se définit par un enchaînement de réactions radicalaires aboutissant au clivage de la chaîne hydrocarbonée et la formation des peroxydes. La peroxydation des phospholipides peut être limitée en stockant les liposomes à faible température (4 °C), à l'abri de l'air et de la lumière, en empêchant le contact direct avec les métaux lourds et en ajoutant des antioxydants. Les liposomes avec des chaînes lipidiques saturés sont plus résistants à la peroxydation.

Réaction d'hydrolyse

Les liaisons esters présentes dans un phospholipide peuvent subir une hydrolyse dans les dispersions aqueuses, donnant lieu à un et/ou deux acides gras libres et un lysophospholipide. Ce dernier peut par la suite s'hydrolyser au niveau de la liaison phosphate ester pour donner

l'acide glycérophosphorique. La température et le pH influencent la cinétique de la réaction d'hydrolyse. Un pH neutre de 6,5 et une faible température (4 °C) permettent de limiter la dégradation des phospholipides par hydrolyse. Par contre, l'hydrolyse augmente à des pH acide et basique. In vivo, les phospholipides sont dégradés par des phospholipases.

II.7.2 Stabilité physique

Les liposomes sont des vésicules à double couche qui se forment lorsque les phospholipides sont hydratés dans l'eau. Les vésicules obtenues au cours de ce processus sont de tailles différentes. Pendant leur stockage, les vésicules ont tendance à s'agréger et augmentent en taille pour atteindre un état thermodynamiquement favorable. Au cours de l'entreposage, des fuites de PAs des vésicules peuvent survenir en raison de la fusion et de la rupture des vésicules.

II.7.3 Stabilité colloïdale

Les deux grands types d'instabilités auxquels sont soumis les liposomes sont l'agrégation et la fusion. Les forces électrostatiques, stériques ou d'hydratation (c'est-à-dire les forces liées aux propriétés particulières des molécules d'eau près de la surface) qui existent entre deux liposomes, sont fonction de la nature des phospholipides constituant la membrane.

Le bilan de ces forces (attractives et répulsives) détermine la stabilité des suspensions de liposomes. Si les forces répulsives prédominent et si l'énergie répulsive qui en résulte est suffisamment efficace pour compenser les forces attractives, les membranes ne viennent pas au contact l'une de l'autre et la suspension de liposomes reste cinétiquement stable. Par contre, si la densité de charges à la surface du liposome est faible ou s'il n'y a pas de répulsion stérique entre les objets, la barrière répulsive n'est alors pas suffisante pour compenser les forces attractives de Van Der Waals et les liposomes s'agrègent.

II.8 Avantages et inconvénients des liposomes

Avantages

- Les liposomes sont biocompatibles, entièrement biodégradables, non toxiques et non immunogènes.
- Les liposomes sont adaptés pour la livraison du PA d'hydrophobe et hydrophile.
- Les liposomes protègent le PA encapsulé dans le milieu extérieur

- Les liposomes réduisent la toxicité des agents encapsulés et augmentent l'effet des médicaments chimio- thérapeutiques.
- Les liposomes réduisent l'exposition des tissus sensibles aux PAs toxiques.
- Les liposomes fournissent une libération prolongée.
- Les liposomes modifient la pharmacocinétique et la pharmacodynamie du médicament.

Les liposomes peuvent être administrés par des voies diverses.

Inconvénients

- Le coût de production élevé surtout à l'échelle industrielle.
- Courte demi-vie.
- Problème de stabilité.
- Fuites et fusion des PA(s) encapsulés.

II.9 Les principales méthodes de préparation des liposomes

De nombreuses méthodes de préparation des liposomes ont été développées. Le choix de la méthode de préparation dépend de plusieurs paramètres ;

- Les propriétés physico-chimiques de la molécule encapsulée et celles des composants liposomiques,
- La nature du milieu dans lequel les vésicules lipidiques seront dispersées,
- La concentration de la substance encapsulée et sa toxicité potentielle,
- La taille optimale, la polydispersité et la durée de vie des vésicules pour l'application prévue,
- La reproductibilité de la méthode et la possibilité de production à grande échelle des liposomes.

La plupart des médicaments hydrosolubles sont incorporés dans les liposomes par la technique d'évaporation en phase inverse, par infusion d'éther ou par la méthode de congélation- décongélation. Ces techniques permettent d'obtenir des LUV mais généralement toutes les méthodes de préparation des liposomes produisent un mélange hétérogène de vésicules de différentes tailles.

II.9.1 Hydratation du film lipidique

Cette méthode originale décrite par Bangham est simple et largement employée mais son utilisation est limitée par la faible capacité d'encapsulation des liposomes formés. Au contact d'une solution aqueuse, plusieurs bicouches lipidiques superposées, s'hydratent, deviennent fluides, gonflent puis se décollent des parois du ballon pour former spontanément des vésicules (Figure II.4). Ce procédé permet d'obtenir des vésicules multilamellaires de grande taille (de l'ordre du micromètre). La distribution de la taille est par ailleurs très hétérogène.

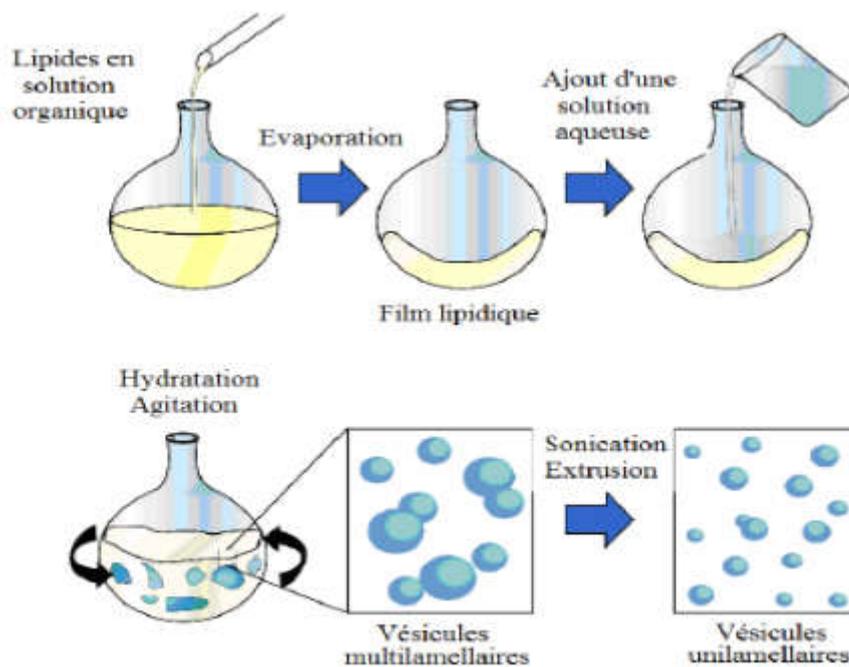


Figure II.4. Préparation des liposomes par la méthode d'hydratation du film lipidique.

II.9.2 Evaporation en phase inverse

Cette méthode permet l'obtention des liposomes unilamellaires avec une grande cavité aqueuse LUV également appelés REV pour « Reverse phase Evaporation Vesicles ». Cette méthode consiste à dissoudre les phospholipides dans un solvant organique, en ajoutant des aliquotes de la phase aqueuse. Le mélange est ensuite soniqué pour produire des micelles inverses. Le solvant organique est éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif. Il se forme alors un gel visqueux. Cette méthode présente l'inconvénient de mettre en contact le principe actif avec un solvant organique avant le procédé d'encapsulation.

II.9.3 Méthode par chauffage

La méthode fut développée par MOZAFARI, elle implique l'hydratation des composants phospholipidiques dans une solution aqueuse contenant du glycérol à (3% du volume total) pendant une heure, suivie d'un chauffage à une température allant de 60 °C à 120 °C et d'une agitation à 1000 tours par minute au bain Marie. Le solvant utilisé est le glycérol car il est soluble dans l'eau et physiologiquement acceptable. L'effet anticoagulant de cet agent isotonique permet d'augmenter la stabilité des vésicules lipidiques et empêchant de ce fait la sédimentation. Cette méthode économique permet d'élaborer des transporteurs bioactifs, y compris des liposomes et nanoliposomes, avec une stabilité supérieure et une monodispersité.

II.9.4 Injection d'une solution éthanolique de phospholipides

La méthode d'injection d'éthanol est décrite par BATZRI et KORN en 1973, elle est fondée également sur la dispersion d'une solution organique de phospholipides. L'une d'entre elles consistent à injecter une solution éthanolique de phospholipides dans une phase aqueuse. Dans ce cas, les lipides secs sont dissous dans de l'éthanol et la solution est alors injectée. On obtient des liposomes unilamellaires dont le diamètre dépend de la vitesse d'injection, de la vitesse d'agitation et de concentration en phospholipides dans l'éthanol.

La méthode d'injection d'éthanol présente plusieurs avantages par rapport aux autres techniques utilisées pour la préparation des liposomes :

- Rapide, simple, reproductible, peu coûteuse;
- Procédé en une seule étape (sans extrusion ni sonication);
- Ne nécessite pas l'utilisation des solvants dangereux ni des traitements mécaniques qui peuvent endommager les liposomes ainsi que les substances encapsulées

II.10 Conclusion

Les liposomes sont l'un des systèmes de vectorisation de molécules actives les plus utilisés car ils permettent d'encapsuler les molécules hydrophiles, lipophiles et amphiphiles ; ceci pour diverses raisons, tels que l'amélioration de la solubilité, stabilité et biodisponibilité. Ils sont utilisés dans plusieurs domaines tels que le domaine pharmaceutique, agroalimentaire et cosmétique.

III.1. Introduction

Les principes actifs (PAs) peu hydrosolubles sont caractérisés par une biodisponibilité insuffisante (taux de dissolution trop faible). Différentes méthodes ont été employées pour atténuer voir effacer ces lacunes, comprenant : La micronisation, l'utilisation d'agents tensio-actifs et la formation des dispersions solides (DSs). Les dispersions solides augmentent la solubilité des PAs par la conversion de ces derniers en cristaux amorphes et par la réduction de leur dimension particulaire et l'augmentation de leur mouillabilité. Ainsi, les mêmes résultats pharmacologiques peuvent être obtenus à partir d'une quantité réduite d'un principe actif donné.

Dans ce sens, les polyéthylènes glycols sont très souvent utilisés comme matrice polymérique hydrosoluble. Ces derniers sont biocompatibles, ont une bonne solubilité dans l'eau et une faible toxicité. Les polyéthylènes glycols avec une masse moléculaire de 4000 et 6000 sont les plus employés comme matrice polymérique notamment dans les dispersions solides.

III.2 Historique

III.2.1 Première génération de dispersions solide

SEKIGUCHI et OBI en 1961 ont démontré que l'utilisation de formulation à base de mélanges eutectiques améliore la biodisponibilité des molécules hydrophobes. Les dispersions solides ont été développées par LEVY (1963) et KANIG (1964), qui ont choisi des dispersions moléculaires au lieu des mélanges eutectiques en utilisant du mannitol comme vecteur. Les améliorations obtenues sont en relation avec une dissolution rapide du vecteur libérant ensuite le PA. Ce type de dispersion utilisant des vecteurs cristallins fut considéré comme première génération. L'urée et les sucres étaient les premiers vecteurs cristallins utilisés. Cependant, l'inconvénient majeur de ce type de dispersion était l'obtention d'un état cristallin, qui thermodynamiquement est trop stable, libérant moins rapidement le PA que sous l'état amorphe.

III.2.2 Deuxième génération de dispersion de solide

Dans les années soixante (60), on s'est aperçu que la cristallinité des vecteurs de la dispersion solide amoindrissait son rôle, ainsi des vecteurs de deuxième génération ont été utilisés à l'état amorphe (de nature polymérique).

III.2.3 Dispersions de solide de troisième génération

La troisième génération utilise des vecteurs à caractéristiques auto-émulsifiantes, elle comporte des vecteurs d'agents tensio-actifs ou un mélange de polymère amorphe et un agent

tensio-actif. Cette génération a comme caractéristique d'augmenter la biodisponibilité et de réduire la recristallisation du PA.

III.3 Définition et structure

III.3.1 Définition des dispersions solides

Le terme "dispersion solide" indique la dispersion d'une ou plusieurs substances actives dans un vecteur ou une matrice inerte à l'état solide. Généralement, elle est composée d'une matrice hydrophile et de molécules actives hydrophobes. La matrice peut être cristalline ou amorphe et le PA peut être moléculairement dispersé dans des particules amorphes (faisceaux) ou dans des particules cristallines.

III.3.2 Classification des dispersions solides

Sur la base de leur arrangement moléculaire, six différents types de dispersions peuvent être distingués (Tableau III.1).

Tableau III.1. Classification des dispersions solides.

Type de la DS		Matrice*	PA**	Observations	Nombre de phase
I	Eutectique	C	C	Est la première DS préparée	2
II	Précipitation amorphe	C	A	Rarement utilisée	2
III	Solution solide				
	Continue	C	M	Miscibilité totale	1
	Discontinue	C	M	Le PA est dispersé à l'échelle moléculaire	2
	Substitutionnelle	C	M	Les diamètres moléculaires du PA et de la matrice sont très proches	1 ou 2
	Interstitielle	C	M	Le diamètre moléculaire du PA est très inférieur à celui de la matrice (cas de dispersion dans le PEG)	2
IV	Suspension vitreuse	A	C	Obtenu après cristallisation du PA dans la matrice amorphe	2
V	Suspension vitreuse	A	A	Plusieurs dispersions sont de ce type	2
VI	Solution vitreuse	A	M	Généralement obtenu lors de l'utilisation du PVP	1

* A : Matrice en état amorphe, C : Matrice en état cristallin,

** A : PA dispersé à l'état amorphe, C : PA dispersé à l'état cristallin, M : PA moléculairement dispersé dans toute la matrice.

III.4 Les méthodes de préparation des dispersions solides

Le plus souvent, les DSs sont obtenues par fusion et par évaporation de solvants, cependant, d'autres techniques sont également utilisées.

III.4.1 Procédé de fusion

La méthode de fusion a été proposée par SEKIGUCHI et OBI, le mélange PA et vecteur (matrice) est fondu et rapidement refroidi afin d'obtenir la sursaturation du PA sous forme de molécules piégées entre les molécules du vecteur. L'obtention de DS par le procédé de fusion présente des limites essentiellement dues à la thermolabilité du PA.

III.4.2 Méthode d'évaporation de solvant

Dans ce procédé de préparation, le vecteur et le PA sont dissous dans un solvant organique ou un gaz dans des conditions supercritiques. Avec l'élimination du solvant, on obtient une sursaturation du milieu suivie simultanément de la précipitation des constituants. Le solvant, collé à la surface des particules co-précipitées est éliminé par séchage. Cette méthode est adaptée pour les PAs thermolabiles, mais le défi reste de trouver un solvant qui puisse dissoudre à la fois le PA et le vecteur. En outre, l'utilisation des solvants peut induire l'apparition du phénomène de polymorphisme.

III.4.3 Atomisation (séchage par pulvérisation)

La qualité du mélange et l'élimination rapide de l'eau fournissent un rendement élevé de dispersion. De plus, cette technique permet de contrôler la taille des particules obtenues (diamètre et forme), pouvant être utilisée comme poudre dans l'administration pulmonaire à travers des aérosols.

III.4.4 Lyophilisation

Cette technique est souvent proposée comme alternative à l'évaporation de solvants. Elle consiste à enlever le solvant (contenant le PA et le vecteur) sous vide, à basse température d'un mélange préalablement congelé. Le temps assez long du procédé est l'un des inconvénients majeurs de cette technique.

III.4.5 La méthode de Co-précipitation

Cette technique consiste à travailler dans des conditions proches de la saturation et par des changements de température ou addition de solvants organiques, on obtient la précipitation du

mélange PA-vecteur et après centrifugation ou filtration on obtient des cristaux. Cette méthode est largement utilisée à l'échelle laboratoire, mais son faible rendement et la lenteur du procédé (un à trois jours) rend ce dernier peu attrayant à l'échelle industrielle.

III.4.6 Procédé d'émulsification

Dans ce procédé, le PA est dispersé dans un solvant qui est à son tour dispersé dans une phase aqueuse contenant un agent tensioactif. Cette étape est suivie par l'évaporation du solvant organique sous pression réduite (par rotavapeur), ce qui donne un précipité stabilisé par l'addition de tensioactifs. L'émulsification ne doit pas être utilisée pour les médicaments qui ont une faible solubilité dans les deux milieux employés.

III.4.7 Méthode de pétrissage

Il s'agit d'ajouter une petite quantité d'eau ou de l'eau-éthane au mélange du PA et du vecteur de façon à obtenir une pâte. A l'échelle laboratoire, ce procédé est effectué dans un mortier à l'aide d'un pilon. Industriellement, le mélange et séchage des composants sont effectués dans un arbre de pétrissage, il est également possible d'utiliser des extrudeuses ou des granulateurs à lit fluidisé. En raison de sa simplicité, efficacité et facilité de mise en place, cette méthode est l'une des plus utilisées dans l'industrie pharmaceutique.

III.5 Caractérisation des dispersions solides

Les méthodes de caractérisation des DS sous leur état solide ou en milieu aqueux sont nombreuses parmi lesquelles: La spectroscopie infrarouge (IR), la diffraction à rayons X, méthodes thermogravimétriques, l'étude des profils de dissolution et la microscopie électronique à balayage (SEM).

III.5.1 Spectroscopie infrarouge (IR)

La spectroscopie infrarouge a été employée pour identifier la nature et l'ampleur des interactions chimiques qui se produisent dans la DS. Ainsi ces interactions vont décaler ou élargir les bandes des groupements caractéristiques du PA et du vecteur.

III.5.2 Diffraction des Rayons X

Parmi les techniques cristallographiques, la diffraction des rayons X est la méthode la plus utilisée grâce à sa simplicité et sa vitesse d'exécution.

Chaque composé fournit un profil de diffraction caractéristique et il devient possible d'identifier la forme et le degré de sa cristallinité. D'ailleurs, un solide amorphe donne un diffractogramme de forme non définie (pas de pic). Par la diffraction des rayons X il est

possible de différencier entre les SDs dans lesquels le PA est sous une forme amorphe et dans lesquelles il est semi-cristallin ou cristallin.

III.5.3 Analyse thermogravimétrique (ATG)

Cette méthode permet de mesurer l'énergie de cristallisation d'un matériau chauffé au-dessus de sa température de transition vitreuse (Tg). Cependant, cette technique a des limites, elle suppose que tout matériau amorphe cristallise et aussi, dans un mélange binaire de composés amorphes, une distinction entre les énergies de cristallisation du PA et vecteur reste difficile.

III.5.4 Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

C'est une technique fréquemment utilisée, les échantillons sont chauffés à une vitesse constante tout en mesurant la quantité d'énergie émise. Ainsi, les températures auxquelles se produisent les changements d'état (fusion, recristallisation, dégradation...) peuvent être détectés, donnant implicitement des informations sur la cristallinité du PA.

III.5.5 Raman spectroscopie

La spectroscopie Raman est utilisée pour mesurer l'homogénéité du mélange solide et par conséquent la bonne distribution du PA dans le vecteur.

III.5.6 Microscopie à Balayage électronique (SEM)

En général, les particules de polymères ou vecteurs sont globulaires et amorphe et les PAs sont sous forme de cristaux plus petits, irrégulièrement formés, mais avec une distribution particulière plus homogène. Dans les mélanges physiques, il est possible de distinguer les particules de PA et celle du vecteur.

III.5.7 Études de dissolution

Les essais de dissolution *in vitro* permettent de comparer différentes formulations et sont une étape fondamentale dans le développement et le contrôle de qualité des préparations pharmaceutiques. Habituellement, les essais de dissolution *in vitro* sont influencés par la solubilité du PA, la distribution et la dimension particulière, la forme et les excipients utilisés. La comparaison des profils et taux de dissolution entre le PA seul, le mélange physique et la dispersion solide permet de démontrer sans équivoque l'amélioration de solubilité par la dispersion.

III.6 Avantages de la dispersion solide

En général, la dispersion solide est utilisée :

- ❖ Pour réduire la taille des particules du PA.
- ❖ Pour améliorer la mouillabilité.
- ❖ Pour améliorer la porosité du PA.
- ❖ Pour passer d'une structure cristalline du PA à sa forme amorphe.

- ❖ Pour améliorer la dissolution d'un PA faiblement hydrosoluble ou hydrophobe.
- ❖ Pour masquer le goût du PA.
- ❖ Pour préparer des comprimés oraux à désintégration rapide.
- ❖ Pour stabiliser les médicaments instables.

III.7 Le polyéthylène glycol (PEG) et la dispersion solide

Le PEG (figure III.1) existe sous différents poids moléculaires et par conséquent présente différentes températures de fusion. Son poids moléculaire est compris entre 200 et 300000. D'ordinaire, les DS utilisent des PEG avec un poids moléculaires entre 1500 et 20000. L'augmentation du poids moléculaire est suivie de l'élévation de viscosité et du point de fusion. Ainsi, les PEG de poids moléculaire inférieur à 600 sont de nature fluide, ceux entre 800-1500 sont plus consistant, entre 2000-6000 ont un aspect cireux et ceux qui ont des poids moléculaires supérieurs à 20000 sont sous forme de cristaux fragiles à la température ambiante.

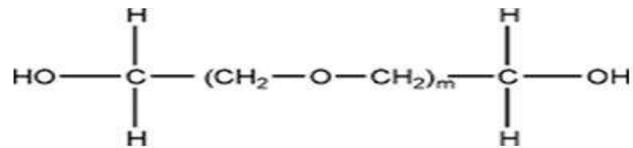


Figure III.1. Structure chimique du PEG.

III.8 Conclusion

La dispersion solide, est une méthode, qui couplée à un vecteur de choix : le PEG, se positionne naturellement comme solution potentielle à la vectorisation de principes actifs non ou peu solubles.

Références bibliographiques

- Livre, « Cyclodextrines - Histoire, propriétés, chimie & applications », Nadia Morin-Crini, Sophie Fourmentin, Grégorio Crini, édition PU de Franche-Comté – PUFC, 2015.
- Livre, « Etude de l'impact des cyclodextrines sur la solubilité de la vitamine E et Cholesterol », Chafia Mammasse, Sara Matoub, Sofiane Fatmi, éditions Universitaires Européennes, ISBN : 978-6202288163, 2018.
- Livre, « Cyclodextrin Applications in Medicine, Food, Environment and Liquid Crystals », Sophie Fourmentin, Grégorio Crini, Eric Lichtfouse, springer, ISBN : 978-3-319-76161-9, 2018.
- Livre, « Functionality of Cyclodextrins in Encapsulation for Food Applications », Thao M. Ho, Hidefumi Yoshii, Keiji Terao, Bhesh R. Bhandari, springer, ISBN : 978-3-030-80055-0, 2021.
- Livre, « Les Liposomes en biologie cellulaire et pharmacologie », Patrick Machy, Lee D. Leserman, INSERM, EAN : 9782855983288, 1987.
- Livre, « Liposome Methods and Protocols », Subhash C. Basu, Manju Basu, springer, ISBN: 978-1-59259-175-6, 2002.
- Thèse de Doctorat, « Formulation et caractérisation d'un anticancéreux à base de polymère hydrophile et de cyclodextrines », Sofiane FATMI, université de Bejaia, 2015.
- Thèse de Doctorat « Encapsulation de la vitamine E par des cyclodextrines, liposomes et PEG Application dans la cryoconservation spermatique animale », Lamia TAOUZINET, université de Bejaia, 2021.
- Article review, « Encapsulation Nanotechnology in Sperm Cryopreservation: Systems Preparation Methods and Antioxidants Enhanced Delivery », Lamia TAOUZINET, Sofiane FATMI, Malika LAHIANI-SKIBA, Mohamed SKIBA and Mokrane IGUER-OUADA, CryoLetters, 42 (1), 1 – 12, 2021.