

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abderrahmane Mira-Bejaïa



Faculté de Technologie  
Département de Génie des Procédés

**Mémoire**  
Présenté en vue de l'obtention du diplôme de  
**Master**  
En Génie des procédés  
Option **Génie pharmaceutique**

## Thème

**Optimisation de l'encapsulation d'un  
principe actif (progestérone) par une  
Cyclodextrine native**

Réalisé par:

**Melle ALOUACHE Firouz**

Soutenu devant le jury composé de :

Président : MF.REZGUI

Examineur : M.FATMI

Promotrice : Mme O. SENHADJI

Co-promoteur : Mr A. FETIMI

**Promotion 2019**

# *Remerciements*

*Nos sincères louanges au tout puissant, Dieu source de la santé et de la volonté pour réaliser ce travail.*

*Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à notre promotrice **Mme SENHADJI Ouanissa**, qui nous a permis de bénéficier de la qualité de son encadrement, les conseils qu'elle nous a prodigué, la patience et la confiance qu'elle nous a témoigné.*

*Nous tenons à remercier **Mr FETIMI Abdelhalim**, pour le temps qu'il nous a prodigué, nous sommes très reconnaissantes pour ses grandes contributions et témoins de ses remarquables compétences. Soyez assurée, de toute notre estime et de notre profond respect.*

*Nos sincères remerciements s'adressent aussi à Mr. ARZEOUG Djoumad, pour son aide. Nos vifs remerciements vont au **Mr F.REZGUI**, d'avoir accepter la présidence du jury et de juger ce travail, nous tenons compte à exprimer toute nos reconnaissances au..... et au....., qui nous ont fait l'honneur d'examiner notre travail, leurs regards critiques ne sauront que rehausser le niveau de notre savoir faire.*

*Merci également aux techniciens du Département de Génie des Procédés plus particulièrement à **Mme MERABET Kahina**, et **Mme BENAMOR Kahina**, et **Mme MEDRAR Magda**.*

*Toute notre gratitude va à nos familles, et spécialement à nos parents qui nous ont soutenus tout au long de nos études.*

*Enfin et pas moindre, un grand merci à tous nos amis(e).*

## **DEDICACES**

*Je tiens à dédier ce travail à tous ceux qui m'ont aidé tout a long de mon cursus universitaire.*

*Après cinq années de labeur durant lesquelles j'ai essayé de donner le meilleur de moi-même, je dédie ce modeste travail à :*

- *A mes parents qui m'ont soutenue : **Abdel-nour** et **Nadia**.*
- *A mon très cher mari pour son amour et son soutien morale :  
**HADDAD A. Karim***
- *A ma petite fille, ma princesse, ma joie et mon bonheur :  
**Eline**.*
- *A mes frères et sœurs : **Amirouche, Halim, A. Krime** et  
**Mouna**.*
- *A mes oncles et tantes.*
- *A ma belle-famille : ma belle-mère : **Khadoudja**. Et à mes  
beaux-frères et mes belles-sœurs.*
- *A mes amies : **Wissam, Samira, Sara, Kahina**.*

*Ma chère famille, je te remercie de m'avoir guidé jusqu'ici, Ce travail est à votre honneur, que dieu nous garde ensemble et en bonne santé.*

***ALOUACHE Firouz***

---

*Liste des abréviations*

---

ATG : Analyse thermogravimétrique.

$\alpha$ -CD : Alpha-cyclodextrine.

$\beta$ -CD : Beta-cyclodextrine.

CD(s): Cyclodéxtrine(s).

$\gamma$ -CD : Gamma-cyclodextrine.

PA : Principe actif.

Ks : Constante de stabilité.

RMN: Résonance magnétique nucléaire.

DRX : Diffraction des rayons X.

IR : Infrarouge.

CGTase : Cyclodextrine glucosyltransférase.

KBr: Bromure de potassium.

UV-Visible : Ultraviolet-Visible.

**Sommaire**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Introduction générale**

|   |    |
|---|----|
| Introduction générale                                 | 1  |
| I-1 Les cyclodextrines                                | 2  |
| I-1-1 Définition                                      | 2  |
| A. Sa structure                                       | 2  |
| B. Formulation des cyclodextrines                     | 3  |
| I.1.2 Production des CD                               | 4  |
| I-1-3 Cyclodextrines (CDs) modifiées                  | 5  |
| I.1.4 Propriétés physicochimiques                     | 6  |
| I.1.4.1 Solubilité dans l'eau                         | 7  |
| I.1.5 Complexe d'inclusion                            | 7  |
| I.1.5.1 Définition                                    | 7  |
| I.1.5.2 Formation d'un complexe                       | 7  |
| I.1.5.3 Forces Régissant la Complexation              | 8  |
| I.1.5.4 Diagramme de solubilité (Diagramme d'Higuchi) | 9  |
| I.1.5.5 Spectroscopie UV-visible                      | 10 |
| I.1.5.6 Analyse calorimétrique différentielle (DSC)   | 11 |
| I.1.5.7 Spectroscopie Infrarouge (IR)                 | 11 |
| I.1.5.8 Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)          | 11 |
| I.1.5.9 Analyse thermogravimétrique (ATG)             | 12 |
| I.1.5.10. La diffraction des rayons X (DRX)           | 12 |
| I.1.6 Utilisation des cyclodextrines                  | 13 |
| A. Domaine environnemental                            | 14 |
| B. B. Domaine pharmaceutique                          | 14 |
| C. Industrie alimentaire                              | 14 |
| I.1.7 Toxicité des cyclodextrines                     | 14 |
| I.1.7.1 CDs naturelles                                | 15 |
| I.1.7.2 CDs modifiées                                 | 15 |
| I.2 Encapsulation                                     | 15 |
| I.2.1 Définition                                      | 15 |
| I.2.2 Technique d'encapsulation                       | 16 |
| I.2.3 Les procédés d'encapsulation                    | 17 |
| 1) Les procédés physico-chimiques                     | 17 |
| 2) Les procédés chimiques                             | 18 |

|   |    |
|---|----|
| 3) Les procédés mécaniques  | 18 |
| I.2.4 But de l'encapsulation  | 18 |
| I.2.5 Application dans le domaine pharmaceutique                    | 18 |
| I.3 Historique de la découverte de la progestérone                  | 19 |
| I.3.1 Définition de la progestérone                                 | 19 |
| I.3.2 L'origine de la progestérone                                  | 20 |
| I.3.3 Actions physiologiques principales de la progestérone         | 21 |
| I.3.4 Mécanisme d'action de la progestérone                         | 21 |
| I.3.5 Propriétés physiques de la progestérone                       | 22 |
| I.3.6. Propriétés chimiques de la progestérone                      | 22 |
| II.4 Plan d'expérience  | 23 |
| II.4.1 Plans pour surface de réponse                                | 23 |
| I.4 .2 Généralités sur plans de Box-Behnken                         | 24 |
| Chapitre II   |    |
| II.1 Matériels et méthodes  | 25 |
| II.1.1 Produits chimiques utilisés                                  | 25 |
| II.1.1.1 progestérone   | 25 |
| II.1.2 $\beta$ -Cyclodextrine                                       | 25 |
| II.1.3 Solvants utilisés  | 26 |
| II.3.1 Ethanol.   | 26 |
| II.1.4 Acide et base utilisés                                       | 26 |
| II. 2 Appareillage  | 26 |
| II.3.1 Solution tampon  | 29 |
| II.3.2. Mode opératoire   | 29 |
| II.4. Technique physicochimique de caractérisation des échantillons | 29 |
| II.4.1 Spectrophotométrie d'absorption UV-Visible                   | 29 |
| II.4.2 Spectroscopie INF  | 30 |
| II.4.3. Préparation du plan d'expériences                           | 30 |
| II.31. Courbe d'étalonnage  | 33 |
| III.2. Caractérisation des complexes d'inclusion                    | 33 |
| III.2.1. Caractérisation par spectroscopie IR TF                    | 33 |
| III.3 Diagramme de solubilité                                       | 36 |

III.3 Modélisation du processus de complexation de Progéstérone par la  $\beta$ -Cyclodextrine par les plans d'expériences 37

Interprétation des résultats du plan 38



## Liste des figures

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure I.1:</b> présentation de la conformation chaise rigide de la $\alpha$ , $\beta$ et $\gamma$ CD  | 2  |
| <b>Figure I.2:</b> Structure chimique des cyclodextrines $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$  | 3  |
| <b>Figure I.3 :</b> Le modèle conventionnel de la formation du complexe d'inclusion   | 8  |
| <b>Figure I.4:</b> Représentations schématiques de complexes d'inclusion de stœchiométries différentes.   | 8  |
| <b>Figure I.5:</b> Types de diagrammes de solubilité selon la classification d'Higuchi et Connors.  | 10 |
| <b>Figure I.6:</b> Influence de l'addition de la $\beta$ -cyclodextrines sur le spectre UV d'une solution aqueuse d'un principe actif, le piroxicam à 95 $\mu$ M et à pH 5  | 12 |
| Figure I.7: Courbe TG de <i>Mentha X. villosa</i> / cyclodextrine 56 (A : huile, B : mélange mécanique, C : mélangemécanique après un mois, D : mélange par pétrissage, E : complexe par Co-précipitation).   | 13 |
| <b>Figure I. 8:</b> Spectres obtenus par diffraction des rayons X (a) d'un principe actif, l'ibuprofène (sel de trométhamine), (b) de la $\beta$ -cyclodextrine, (c) du mélange physique et (d) du complexe.  |    |
| <b>FIGURE I.9:</b> Les différents procédés d'encapsulation.   | 16 |
| <b>Figure I.10 :</b> Comportement d'une gouttelette de substance active (L1) vis-à-vis d'une gouttelette de coacervat (L3) dans une phase non miscible (L2) en fonction des tensions interfaciales et des coefficients d'étalement. Si la tension interfaciale L1/L2 ( $\gamma_{12}$ ) est plus grande que celle entre L3 et L2, il existe alors trois situations sont alors possibles ; l'encapsulation peut être totale, partielle, ou la substance active peut être non – encapsulée | 17 |
| <b>Figure I.11 :</b> Progestérone.  | 19 |
| <b>Figure I.4.1 :</b> Illustration du plan de Box-Behnken pour trois facteurs.  | 23 |
| <b>Figure II.1 :</b> Agitateur axiale mécanique.  | 28 |
| <b>Figure II.2 :</b> Spectrophotomètre UV-Visible   | 28 |
| <b>Figure II.3 :</b> Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF)  | 29 |
| <b>Tableau II.4:</b> Analyseur thermogravimétrique (ATG)  | 29 |
| <b>Figure III.1 :</b> courbe d'étalonnage de la progestérone dans eau/éthanol (50/50 v/v)   | 33 |
| <b>Figure III.2 :</b> le spectre IR de la $\beta$ -CD   | 33 |

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure III.3:</b> le spectre IR de la progestérone                                     | 34 |
| <b>Figure III.4 :</b> le spectre IR de complexe progestérone / $\beta$ -CD pour un ph=10  | 34 |
| <b>Figure III.5 :</b> le spectre IR de complexe progestérone / $\beta$ -CD pour un ph=6,4 | 35 |
| <b>Figure III.6 :</b> Diagramme de solubilité avec la $\beta$ -CD a ph=4.8                | 36 |
| <b>Figure III.7:</b> Diagramme de solubilité avec la $\beta$ -CD a ph=6.4                 | 36 |

### Liste des tableaux

|  |    |
|--|----|
| <b>Tableau I.1:</b> Synthèse de cyclodextrines par dégradation enzymatique de l'amidon.  | 4  |
| <b>Tableau I.2:</b> donne les dimensions et quelques caractéristiques physicochimiques importantes des trois principales cyclodextrines $\alpha$ , $\beta$ et $\gamma$ CDs | 6  |
| <b>Tableau I.4.3 :</b> Matrice d'expériences   |    |
| <b>Tableau II.1 :</b> Caractéristiques physico-chimique de la progestérone   | 26 |
| <b>Tableau II.2 :</b> Caractéristiques physico-chimiques et structurales de la $\beta$ -CD utilisée.   | 27 |
| <b>Tableau II.3 :</b> les caractéristiques physico-chimiques de l'éthanol  | 27 |
| <b>Tableau II.4 :</b> Les caractéristiques physico-chimiques de l'acide citrique monohydrate et de di-Sodium hydrogénophosphate  | 27 |
| <b>Tableau II. :</b> Variables indépendantes et les niveaux des facteurs influençant sur La solubilité de la progestérone.   | 33 |
| <b>Tableau III.1 :</b> Fréquences des principales bandes caractéristiques de $\beta$ -CD   | 35 |
| <b>Tableau III.2 :</b> Fréquences des principales bandes caractéristiques de progestérone  | 35 |
| <b>Tableau III.3 :</b> Fréquences des principales bandes caractéristiques du complexe  | 35 |
| <b>Tableau III.4 :</b> variable indépendants et les niveaux des facteur influencent sur solubilité de la progestérone  | 38 |
| <b>Tableau III.5 :</b> Matrice des expériences   | 38 |
| <b>Tableau III.6:</b> coefficients modèle ( unités codées)   | 39 |



## Introduction générale

Des cyclodextrines (CDs) commencent il y a un peu plus de 100 ans, en 1891. Villiers a isolé 3 g d'une substance cristalline à partir de la digestion bactériologique de 1000 d'amidon. Il détermine la composition de cette substance comme étant  $(C_6H_{10}O_5)_2 \cdot 3H_2O$  et la nomme "cellulosine" car ses propriétés se rapprochent de celles de la cellulose (résistance à l'hydrolyse acide, propriétés non réductrices). Il observe également l'existence Une molécule invitée est encapsulée dans la cavité d'une molécule hôte pour former ce que nous appelons « un complexe d'inclusion ». Les cyclodextrines trouvent de nos jours un champ d'application important. Elles sont produites à partir de la dégradation enzymatique de l'amidon et constituées de six ( $\alpha$ -cyclodextrine), sept( $\beta$ -cyclodextrine) et huit ( $\gamma$ -cyclodextrine) unités de glucopyranose liés par des liaisons  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  4). La  $\beta$ -Cyclodextrine possède, en effet, une structure particulière caractérisée par sa cavité en forme de cône tronqué, relativement hydrophobe dans laquelle une molécule invitée hydrophobe peut être encapsulée (**Mendeep et al, 2016**).

L'encapsulation est parmi les préparations pharmaceutiques en cours d'élaboration par les grandes firmes médicamenteuses, qui consiste à encapsuler selon un procédé déterminé un principe actif dans une autre matière inactive, afin d'améliorer les propriétés de conservation, de présentation et de biodisponibilité (**Richard, Benoit ,2000**).

Ce mémoire est donc divisé en trois parties principales : la premier ou présente une revue bibliographique concernant les axes principaux de ce projet : les cyclodextrines, l'encapsulation, et progestérone. La seconde et la troisième partie est consacrée à la résultats et discussions. Nous terminons par une conclusion générale qui résume les résultats les plus concluants obtenus de cette étude.

## Recherche bibliographique

### I-1 Les cyclodextrines

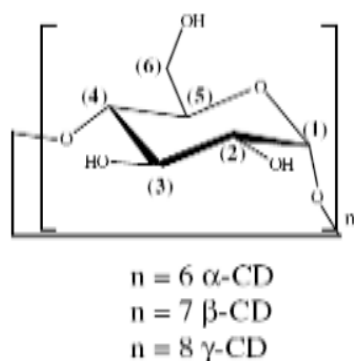
Les cyclodextrines (CDs) font partie des molécules cages d'origine naturelle, connues pour leur capacité à former des complexes d'inclusion avec divers composés organiques, dont les propriétés physico-chimiques seront modifiées suite à la complexation.

#### I-1-1 Définition

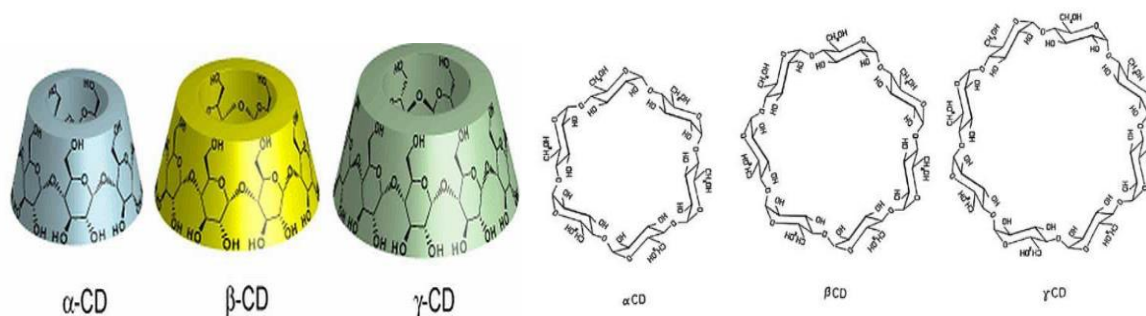
Les cyclodextrines sont des oligomères cycliques formés par l'enchaînement de plusieurs unités D-glucopyranoses liées par des liaisons glycosidiques, provenant de la dégradation enzymatique de l'amylose, extrait essentiellement des céréales (blé, maïs) et de la pomme de terre (Fontanay, 2012). Chaque unité de D-glucose en conformation chaise est liée par son carbone monomérique à l'autre unité par des liaisons glycosidiques  $\alpha$ 1-4. Les trois cyclodextrines naturelles les plus courantes se composent de 6, 7 ou 8 unités. Elles sont dénommées respectivement  $\alpha$ -,  $\beta$ - ou  $\gamma$ -cyclodextrines (Teffaha, 2010).

##### a. La structure des cyclodextrines

Les CDs sont uniquement composées d'atomes de carbone, d'oxygène et d'hydrogène, dont chaque unité glucopyranoses se trouve dans une conformation chaise rigide (Figure I.1).



**Figure I.1:** Présentation de la conformation chaise rigide d'une unité de la  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  CD (A. Bouzitouna 2009)



**Figure I.2:** Structure chimique des  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  cyclodextrines

Le diamètre de la cavité et la masse moléculaire augmentent avec le nombre d'unités glucopyranoses constitutives.

Les cyclodextrines se trouvent sous forme hydratée à l'état solide. La teneur en eau à l'équilibre dépend des conditions de cristallisation et de la nature de la CD.

### I.1.2 Production des CD

Différents types d'amidons sont utilisés pour la préparation des cyclodextrines, Après avoir prouvé que les cyclodextrines n'étaient pas toxiques, le nombre de publications relatives aux cyclodextrines a considérablement augmenté. La production mondiale de cyclodextrines en 1995 était de 1000 tonnes/an. La première étape dans la production de cyclodextrines est la liquéfaction à température élevée de l'amidon, préalablement hydrolysé. Après refroidissement à la température optimum, l'enzyme glycosyltransférase (CGT-ase) est ajoutée à la solution d'amidon. La CGT-ase est produite par un grand nombre de microorganismes, tels que *Bacillus macerans*, *Klebsiella oxytoca* ... Dans le cas d'une production en présence de solvant, un agent complexant approprié est ajouté au mélange de conversion. Si du toluène est ajouté par exemple, le complexe toluène/B-CD formé est immédiatement retiré et la conversion est ramenée vers la formation de  $\alpha$ -CD. Si du 1-décanol est ajouté au mélange de conversion, de l' $\alpha$ -CD sera principalement produite tandis qu'en présence de cyclohexadécanol ce sera de la  $\gamma$ -CD. Le choix de l'agent complexant dépend principalement de la facilité à retirer le solvant du produit final et également de son prix et de sa toxicité. La solution aqueuse obtenue après avoir retiré l'agent complexant est traitée avec du charbon actif et filtrée.

Les cyclodextrines sont alors séparées de cette solution par cristallisation et filtration. La pureté des cyclodextrines produites industriellement est généralement supérieure à 99%. (Stéphanie, 2007).

## **Les difficultés d'obtention des CDs**

Les difficultés d'obtention des CDs sont multiples :

- ✓ Chez la plupart des amidons, le taux d'amylose oscille entre 15 % et 25 %. Le rendement en cyclodextrines à partir de la matière première est donc relativement faible (Maury et al., 1986, Bovetto, 1988). D'autant plus que la dégradation de l'amidon par la CGTase mène à un mélange de trois principales cyclodextrines  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ , avec du maltose et divers oligosaccharides, qu'il est nécessaire de séparer (M. L. Bender et al., 1978, J. Szejtli, 1988, D. Duchêne, 1987).
- ✓ L'amylose donne des solutions instables. Elle est trop sujette à des précipitations inopportunes, et elle s'agrège au cours du temps (phénomène dit de rétrogradation) (M. Maury et al., 1986, L. J. Bovetto, 1988).
- ✓ La CGTase de *Bacillus macerans* ne convient pas à une production industrielle, car elle est elle-même difficile à produire et surtout instable à la chaleur (D. Duchêne, 1987, L. J. Bovetto, 1988). L'industrie utilise plutôt la CGTase de *Alkalophilic bacterium No 38-2* pour la production de 13-cyclodextrine. En effet, cette enzyme est encore active à 80°C et à pH compris entre 6 et 10, c'est-à-dire sous des conditions qui évitent les dommages par d'autres micro-organismes (A. Mifune et al., 1977). Ainsi, 80 % d'amidon peut être converti en 13-cyclodextrine avec une très faible quantité d'autres cyclodextrines [W. Saenger, 1980]. Cette méthode a l'avantage de ne pas utiliser d'agent précipitant sélectif, lequel est souvent toxique.
- ✓ Les solvants utilisés pour précipiter les cyclodextrines présentent une certaine toxicité, comme le trichloréthylène ou le bromobenzène. De nos jours, on essaye d'utiliser des mélanges de solvants aqueux à base d'alcools (D. Duchêne, 1987, D. Duchêne, 1991). Ces solvants permettent d'isoler une cyclodextrine particulière (J. Szejtli, 1988). En effet, le produit final est celui qui est continuellement relargié du mélange réactionnel par une précipitation sélective. Aussi, les différentes cyclodextrines peuvent être obtenues avec de très bons rendements et avec une remarquable pureté (99 %) (tableau I.1) (D. Duchêne, 1991, G. Wenz, 1994).
- ✓

**Tableau 1:** Synthèse de cyclodextrines par dégradation enzymatique de l'amidon.

|                | AGENT PRECIPITANT | RENDEMENT (%) |
|----------------|-------------------|---------------|
| CYCLODEXTRINES |                   |               |



|          |                                |              |
|----------|--------------------------------|--------------|
| <b>A</b> | <b>1-DECANOL</b>               | <b>40</b>    |
| <b>B</b> | <b>TOLUENE</b>                 | <b>50-60</b> |
| <b>Y</b> | <b>CYCLOHEXADEC-8-EN-1-ONE</b> | <b>40-50</b> |

Enfin, parmi les différentes cyclodextrines, toutes ne présentent pas le même intérêt. Les cyclodextrines à 5 (et moins) unités glucose n'existent pas pour des raisons de contrainte stérique (K. Uekama et al,1987. K. Uekama et al,1985). Les cyclodextrines à 9 (et plus) unités glucose sont difficiles à purifier et leurs propriétés complexâtes sont faibles (R. J. Clarke et al,1988).

### I-1-3 Cyclodextrines (CDs) modifiées

Généralement l'utilisation des CDs naturelles est limitée en raison de leur faible solubilité dans les milieux aqueux. La modification chimique des CDs permet d'obtenir des dérivés possédant des propriétés physico-chimiques différentes de celles des CDs naturelles et d'élargir leurs champs d'application.

Les objectifs de ces modifications sont (Hanna, 2004):

- L'augmentation de la solubilité aqueuse.
- La modification de la capacité de complexation.
- L'introduction de groupements à fonctions spécifiques (catalytique, complexation de cations métalliques, etc.)

Les modifications chimiques les plus courantes portent sur (Hanna, 2004) :

- L'oxydation des alcools primaires pour former des aldéhydes ou des acides carboxyliques.
- La substitution nucléophile interne avec formation d'époxyde.
- La substitution d'un ou de plusieurs atomes d'hydrogène (des hydroxyles primaires ou secondaires) pour former des éthers ou des esters.

#### I.1.4 Propriétés physicochimiques

**Tableau I.2** donne les dimensions et quelques caractéristiques physicochimiques importantes des trois principales cyclodextrines  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$  CD<sub>s</sub>. (Audrey, 2013) :

| <i>Caractéristiques<br/>CDs</i>                      | <i><math>\alpha</math>-CD</i>          | <i><math>\beta</math>-CD</i>           | <i><math>\gamma</math>-CD</i>          |
|--|--|--|--|
| <i>Formule brute</i>                                 | <i><math>C_{36}H_{60}O_{30}</math></i> | <i><math>C_{42}H_{70}O_{35}</math></i> | <i><math>C_{48}H_{80}O_{40}</math></i> |
| <i>Nombre d'unités<br/>glucose</i>                   | <i>6</i>                               | <i>7</i>                               | <i>8</i>                               |
| <i>Masse molaire<br/>(g/mol)</i>                     | <i>972</i>                             | <i>1135</i>                            | <i>1297</i>                            |
| <i>Solubilité<br/>dans l'eau à<br/>25°C(g/100ml)</i> | <i>14,5</i>                            | <i>1,85</i>                            | <i>23,2</i>                            |
| <i>Point de fusion<br/>(° C)</i>                     | <i>275</i>                             | <i>280</i>                             | <i>275</i>                             |
| <i>pK, à 25°C</i>                                    | <i>12,33</i>                           | <i>12,2</i>                            | <i>12,08</i>                           |
| <i>Nombre moyen<br/>de molécules<br/>d'eau</i>       | <i>6-8</i>                             | <i>12</i>                              | <i>13</i>                              |

La  $\beta$ CD, la plus utilisée, possède la plus faible solubilité en milieu aqueux et de plus une toxicité rénale et un pouvoir hémolytique par voie intraveineuse. De ce fait des PCD chimiquement modifiées ont été synthétisées dans le but d'augmenter l'hydro solubilité, de réduire la toxicité, voire d'augmenter le pouvoir solubilisant.

Notre étude consiste en un essai de solubilisation et de stabilisation du rétinol, molécule hautement hydrophobe et instable, par les cyclodextrines naturelles ou modifiées. Dans un premier temps, nous rappellerons les caractéristiques physico-chimiques du rétinol. Puis nous évoquerons les différentes techniques, autres que les cyclodextrines, utilisées pour modifier les caractéristiques physico-chimiques du rétinol. Pour finir nous nous intéresserons

aux complexes d'inclusion du rétinol dans les cyclodextrines et aux techniques destinées à leur caractérisation, (Thomson et coll,1997).

#### **I.1.4.1 Solubilité dans l'eau**

Les groupements hydroxyles des CDs naturelles, conduisent à une bonne solubilité qui est cependant fortement variable selon les composés. Ainsi la  $\beta$ -CD est près de dix fois moins soluble que l' $\alpha$ -CD ou la  $\gamma$ -CD (S. Fontanay, 2012), Cette perte de solubilité peut être expliquée par la formation d'une ceinture continue de liaisons hydrogène entre les groupements hydroxyles O2 et O3 d'unités de glucose adjacentes qui rend la molécule de  $\beta$ -CD plus rigide que les molécules de  $\alpha$  ou  $\gamma$ -CD (leury,2005)comme le montre la (FigureI.3).

En effet, dans l' $\alpha$  et  $\gamma$ -CD, les liaisons hydrogènes ne sont pas toutes orientées sur la face secondaire.il reste donc des fonctions hydroxyles libres pour interagiravec les molécules d'eau. Par conséquent, ces deux CDs sont moins rigides mais plus solubles dansl'eau(Oulmou,2014).

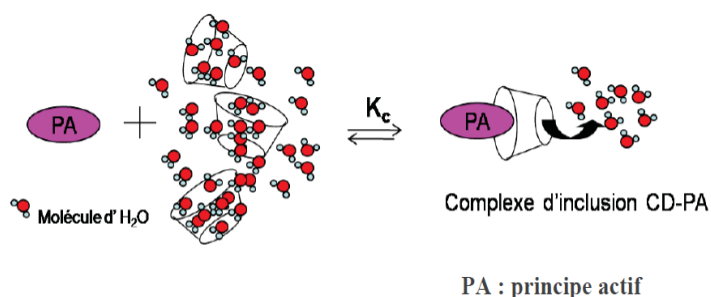
### **I.1.5Complexe d'inclusion**

#### **I.1.5.1 Définition**

Un complexe d'inclusion est une espèce chimique constituée par l'association de deux ou plusieurs molécules. La molécule hôte est capable d'inclure la molécule invitée dans sa cavité, ce qui donne une encapsulation stable sans formation de liaison covalente. Dans le but d'améliorer la solubilité, la stabilité ou la biodisponibilité des molécules invitées (W.L. Hinze,1981).

#### **I.1.5.2 Formation d'un complexe**

Le principe général d'inclusion d'un invité dans la cavité moléculaire de lacyclodextrines est basé sur le gain énergétique réalisé par le système hôte-invité lors duprocessus. En effet, en solution aqueuse, la cavité légèrement apolaire de la cyclodextrinesest occupée par des molécules d'eau qui engendre des interactions énergétiquesdéfavorables de type polaire/apolaire(Jenks W. P ,1987). Ainsi ces molécules d'eau peuvent êtresubstituées par une molécule invitée moins polaire que les molécules d'eau.



**Figure I.3:** Le modèle conventionnel de la formation du complexe d'inclusion (**R. Diab,2009**).

L'association et la dissociation du complexe formé entre la cyclodextrines et l'invité sont alors gouvernées par l'équilibre thermodynamique suivant dans le cas d'une complexation entre une molécule de cyclodextrines et une molécule invitée:



La stabilité du complexe peut être exprimée par la constante de stabilité  $K_s$  ou la constante de dissociation  $K_d$  :

$$K_s = \frac{1}{K_d} = \frac{[Invité-CD]}{[CD][Invitée]}$$

Où  $[Invité-CD]$ ,  $[CD]$  et  $[Invitée]$  sont respectivement les concentrations du complexe, de la CD et de la molécule invitée. Les complexes Invitée-CD formés, sont généralement du type 1/1, comme celui décrit ci-dessus, c'est-à-dire qu'une CD complexe une seule molécule invitée.

Toutefois, il existe aussi des complexes du type 1/1, 2/1, 1/2 et 2/2 ou d'ordre supérieur (**figure I.5**).



**Figure I.4:** Représentations schématiques de complexes d'inclusion de stœchiométries différentes.

### I.1.5.3 Forces Régissant la Complexation

La nature des interactions responsables de la formation d'un complexe Invité-CD sont les suivantes :

- Interactions électrostatiques (ion-ion, ion-dipôle, dipôle-dipôle).
- Interactions de Van der Waals (dipôle-dipôle induit, dipôle induit- dipôle induit).
- Interactions hydrophobes.

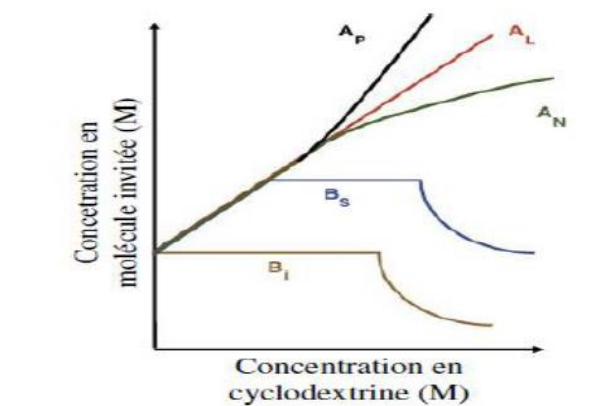
- Liaisons hydrogènes.

Pour certains chercheurs, le phénomène régissant la complexation serait la substitution des molécules d'eau présentes dans la cavité par la molécule invitée. Ces molécules d'eau se trouvent dans un état énergétique défavorable à cause des interactions polaire-apolaires et leur exclusion s'accompagne d'une diminution de l'enthalpie. Toutefois, d'autres chercheurs avancent le fait que ces molécules d'eau forment des liaisons hydrogènes avec leurs voisines et donc, ne constituent pas un facteur déterminant lors de la complexation, mais peuvent intervenir dans l'orientation relative des deux molécules. De même, la modification des contraintes conformationnelles de la CD ne semble pas être déterminante mais permet par contre de maximiser les différentes interactions entre la molécule invitée et la CD. Par contre, les interactions hydrophobes et de Van der Waal semblent être les plus importantes. L'existence d'interactions hydrophobes est vérifiée par plusieurs observations : la complexation de la molécule invitée concerne généralement sa partie la plus apolaire et la complexation est corrélée à l'hydrophobie de celui-ci (Douhal A, 2006).

En plus des interactions discutées ci-dessus, la complexation fait intervenir des paramètres stériques, c'est-à-dire les dimensions et la géométrie des deux molécules qui interagissent<sup>38</sup>. La cavité doit être assez large pour contenir la molécule invitée ou au moins une partie, mais pas trop grande pour que cette molécule ne se contente pas de traverser la cavité sans y établir d'interaction. Les trois CDs ont des cavités de tailles différentes et par conséquent l' $\alpha$ -CD complexe d'avantage les molécules de faibles masses moléculaires ou ayant une chaîne aliphatique, le  $\beta$ -CD complexe les molécules aromatiques ou hétérocycliques tandis que le  $\gamma$ -CD complexe des molécules plus étendues<sup>39</sup>.

#### **I.1.5.4 Diagramme de solubilité (Diagramme d'Higuchi)**

L'évaluation de l'effet de la CD sur la solubilité apparente des molécules invitées permet de construire le diagramme de phase ou isotherme de solubilité et ceci en rapportant sur un graphique : Les concentrations molaires de l'agent complexant (CDs) sur l'axe des abscisses et les concentrations molaires du soluté sur l'axe des ordonnées (D. Castagne, 2005). Les diagrammes de solubilité de phase sont classés selon deux types A et B (Figure I.6) (T. Higuchi, K. Connors, 1965).



**Figure I.5 :** Types de diagrammes de solubilité selon la classification d'Higuchi et Connors.

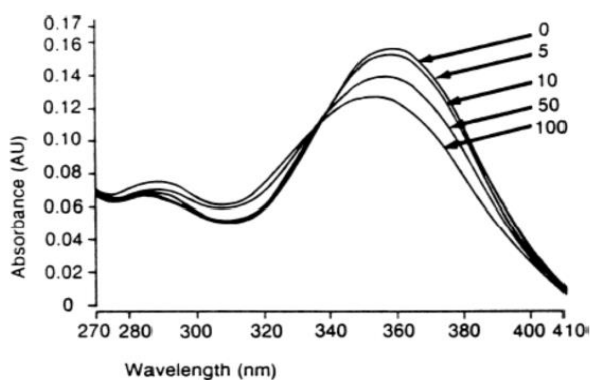
Le type A est observé lorsque la solubilité de l'invité augmente d'une manière continue avec la concentration en CD indiquant que le complexe formé présente une solubilité au moins équivalente à celle de la CD.

Le profil parfaitement linéaire (type AL) est généralement attribué au complexe de stoechiométrie 1:1. Si le complexe est supérieur à l'ordre 1 par rapport à la CD, l'augmentation de la concentration de CD aboutit à un plus fort accroissement de solubilité du fait de la formation simultanée de complexes de plus hautes stoechiométries (2:1, 3:1, etc.), dans ce cas, un diagramme positif de type AP est obtenu. Des diagrammes négatifs de type AN peuvent être observés mais leur interprétation est délicate.

Le type B est obtenu lorsque le complexe présente une solubilité limitée. En d'autres termes, sa solubilité est inférieure à celle de la CD. Le type BS désigne les diagrammes de phase de solubilité où la solubilité du complexe est supérieure à celle de l'invité seul. Le complexe atteint sa solubilité maximale au point A et au-delà du point B l'ajout de CD conduit à la précipitation du complexe. Dans le cas du diagramme BI, le complexe formé est moins soluble que l'invité et l'ajout de CD n'entraîne aucune augmentation de solubilité.

### I.1.5.5 Spectroscopie UV-visible

La spectroscopie d'absorption UV-visible est une technique fréquemment utilisée pour la détermination de la constante d'équilibre d'association. Elle est particulièrement intéressante pour la mise en évidence de la formation des complexes d'inclusion pour les composés qui absorbent dans le domaine UV-visible. Souvent la formation d'un complexe produit des modifications du spectre d'absorption de la molécule invitée. Ces modifications se manifestent sous la forme d'un déplacement et/ou d'un élargissement de la bande. Ce déplacement peut être attribué au changement de l'environnement (**F. Oulmou,**).



**Figure I.6:** Influence de l'addition de la  $\beta$ -cyclodextrines sur le spectre UV d'une solution aqueuse d'un principe actif, le piroxicam à 95  $\mu$ M et à pH 5 (Vaysse-Dufaure, 2011).

#### I.1.5.6 Analyse calorimétrique différentielle (DSC)

Cette méthode permet de vérifier la formation des complexes d'inclusion, et d'étudier l'effet thermodynamique résultant de la présence de la molécule invitée. On utilise cette méthode pour des 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-invité 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 (R, Snigh et al, 2010).

#### I.1.5.7 Spectroscopie Infrarouge (IR)

L'infrarouge est une technique qui peut être également utilisée pour caractériser les complexes d'inclusion. D'après la littérature, la bande OH caractéristique des CD est influencée par la formation du complexe et les bandes de la partie incluse de la molécule invitée sont généralement déplacées ou leur intensité diminue suite à la modification de l'environnement de l'invité. Les spectres des complexes présentent généralement un léger déplacement des pics, ce qui indique qu'il n'y a pas de liaison chimique forte (covalente) entre les composés mais juste une interaction. Chaque bande du spectre caractérise un groupement fonctionnel de la molécule et son déplacement permet de désigner quelle partie de la molécule invitée à interagit avec la CD (Oulmou, 2014).

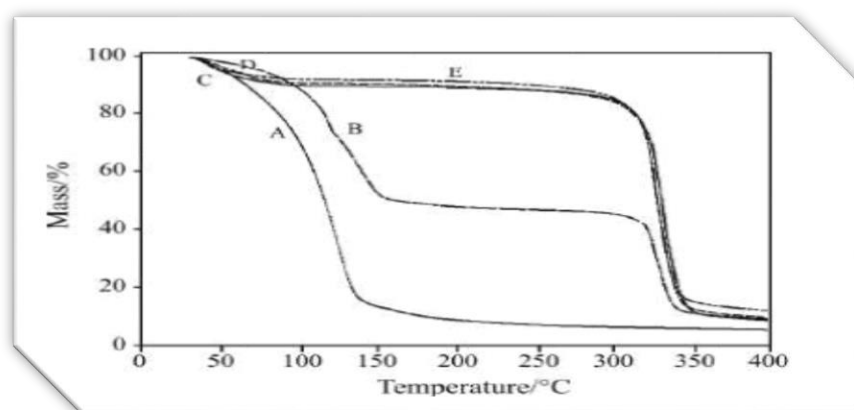
#### I.1.5.8 Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

La résonance magnétique nucléaire est une technique utilisée pour l'analyse des structures de nombreuses molécules biochimiques. La RMN est aujourd'hui considérée comme une méthode de choix dans l'étude des complexes formés par les cyclodextrines. En effet, la RMN, du proton notamment, permet d'observer des changements de déplacements chimiques

dus à la complexation. Après inclusion, les protons situés à l'intérieur de la cavité de la  $\beta$ -cyclodextrines (H-3, H-5) voient leur environnement électronique modifié du fait de la présence d'une molécule invitée dans la cavité, tandis que les protons localisés à l'extérieur (H-2, H-4 et H-6) de la cavité restent pratiquement inchangés. La molécule invitée présente quant à elle, des modifications de déplacements chimiques au niveau de la plupart de ses protons. On peut considérer, en première approximation, que la molécule cage constitue le solvant de la molécule invitée (. S. Benhadi,2010).

#### I.1.5.9 Analyse thermogravimétrique (ATG)

L'analyse ATG donne des informations sur la formation des complexes d'inclusion entre les cyclodextrines et certaines molécules invitées. Martins et coll56 ont étudié la formation du complexe d'inclusion entre l'huile de *Mentha X. villosa* et la  $\beta$ -cyclodextrines ; les résultats sont montrés sur la (figure I.8) (A.P. Martins et all, 2007):



**Figure I.7:** Courbe TG de *Mentha X. villosa* / cyclodextrine 56 (A : huile, B : mélange mécanique, C : mélange mécanique après un mois, D : mélange par pétrissage, E : complexe par Co-précipitation).

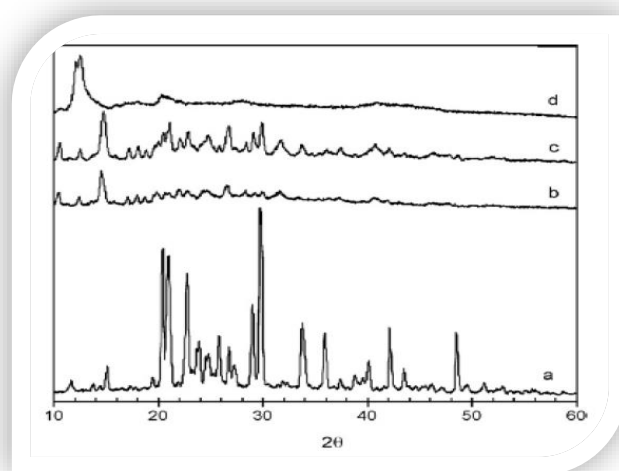
Les analyses ATG montrent qu'en présence de cyclodextrine, la température d'évaporation de l'huile de Menthe est considérablement augmentée. En outre, le comportement thermique du mélange des deux constituants après un mois est en tout point identique à celui d'un complexe obtenu par Co-précipitation ou pétrissage ce qui met en évidence que l'inclusion a bien eu lieu (A.P. Martins et all,2007).

#### I.1.5.10. La diffraction des rayons X (DRX)

La diffraction des rayons X permet d'observer un changement du réseau cristallin lors de la formation d'un complexe. En général, on observe la disparition ou la diminution des raies de



diffraction du substrat synonyme, d'une perte de cristallinité et donc d'une possible complexation. **La figure I.9** montre le spectre obtenu par diffraction des rayons X d'un principe actif, le sel de trométhamine de l'ibuprofène (a), de la  $\beta$ -cyclodextrine (b), du mélange physique (c) et du complexe (d). Le spectre obtenu pour le mélange physique comporte des raies caractéristiques du principe actif et de la  $\beta$ -cyclodextrine avec une prédominance de cette dernière. Le spectre obtenu pour le complexe est complètement différent dû à la perte de cristallinité qui est généralement associée à la formation d'un complexe d'inclusion. (Al Omari M.M et al, 2009).



**Figure I. 8:** Spectres obtenus par diffraction des rayons X (a) d'un principe actif, l'ibuprofène (sel de trométhamine), (b) de la  $\beta$ -cyclodextrine, (c) du mélange physique et (d) du complexe (Al Omari M.M, 2009).

### I.1.6 Utilisation des cyclodextrines

Les CDs trouvent des applications dans de nombreux secteurs notamment dans le domaine pharmaceutique et cosmétique, agroalimentaire ainsi que le domaine du textile et de l'environnement. Et diverses applications des CDs sont décrites dans la littérature<sup>41,42,43</sup> Parmi celles-ci :

- Stabilisateurs de substances sensibles à la lumière et à l'oxygène.
- Stabilisateurs de substances volatiles.
- Stabilisateurs d'arômes dans les industries d'agroalimentaires.
- Catalyseurs chimiques.
- Inducteurs chiraux en synthèse organique asymétrique

- Modèles enzymatiques.
- Vecteurs en industrie pharmaceutique.
- Dépolluantes des sols.(**M. El Amine,2017**)

#### **A. Domaine environnemental**

Les CDs peuvent jouer un rôle important dans la science environnementale en termes de solubilisation des contaminants organiques, de l'enrichissement et du déplacement des polluants organiques et des métaux lourds du sol, de l'eau et de l'atmosphère. Les CDs sont également utilisés dans le traitement de l'eau afin d'éliminer les agents contaminants. Les eaux usagées contenant des composés aromatiques inacceptables tels que le phénol, le p chlorophénol et le benzène, peuvent être débarrassés de ses produits par le traitement avec la  $\beta$ -CD. Un rôle important des CDs dans la protection de l'environnement est son utilisation dans la formulation d'insecticide (**Y. Bakkour,2005**)

#### **B. Domaine pharmaceutique**

Les cyclodextrines sont des molécules intéressantes pour la formulation des médicaments, c'est pourquoi elles sont couramment utilisées des le domaine de la technologie pharmaceutique. Les principales applications de ces excipients résident dans leur capacité à solubiliser des substances actives peu solubles en milieu aqueux et à améliorer potentiellement la biodisponibilité des molécules hydrophobes. Elles permettent parfois d'augmenter la stabilité, de diminuer la perception du mauvais gout voire les effets indésirables de certain principe actif. De nombreux complexes à base de cyclodextrines ont été étudié en solution ou à l'état solide pour être délivrés pas différentes voies d'administration (**D. Ghadiali,2000**)

#### **C. Industrie alimentaire**

Dans l'industrie alimentaire, les cyclodextrines sont utilisés comme stabilisants pour les arômes et pour améliorer le gout et masquer les odeurs désagréables, mais aussi pour enlever le cholestérol des produits d'origines animales comme les œufs et les produits laitiers (**Hélène J,2008**).

### **I.1.7 Toxicité des cyclodextrines**

Le profil toxicologique des 3 CDs natives les plus communes et de certains dérivés chimiquement modifiés, a souvent été passé en revue<sup>53</sup>. En général, ces CDs ainsi que leurs dérivés plus hydrophiles sont capables de passer à travers les membranes biologiques lipophiles, telles la cornée, les muqueuses ou la peau, avec de grandes difficultés<sup>54,55</sup>.

Les CDs ont longtemps été accusées de provoquer des irritations lors de leur applications cutanées<sup>56</sup>, ceci étant lié directement à leur capacité à inclure les différents constituants des membranes biologiques.(**J.W. Steed,2000**)

Il est important de noter, que toutes les études de toxicité ont démontré que l'administration orale de CDs est non-toxique, ceci étant dû à leur très faible absorption gastro-intestinale (0.1 à 3%).

#### **I.1.7.1 CDs naturelles**

Les cyclodextrines présentent une très faible cytotoxicité(**J. Szejtli,1988**) qui peut être pratiquement éliminée par modifications chimiques. Cette cytotoxicité, pour de hautes concentrations, entraîne une hémolyse par absorption des molécules de cholestérol et de phospholipides présentes dans la membrane cellulaire et conduit à la destruction de la cellule (**G. Fleury,2005**). C'est la  $\beta$ -cyclodextrines qui présente la toxicité la plus élevée pour l'organisme humain.L'administration orale de cyclodextrines à des rats ou à des chiens n'est pas toxique sila dose journalière ne dépasse pas 3% du ratio alimentaire. Chez l'homme la prise journalière ne doit pas excéder 1 à 2 grammes(**C. Marcopolus2011**).

#### **I.1.7.2 CDs modifiées**

Parmi les cyclodextrines modifiées hydrophiles, seules les 2HP- $\beta$ CD et sulfobutyl $\beta$ -CD sont désignées comme étant sans danger et n'ayant aucun effet secondaire lors de l'administration par voie parentérale (**J. Szejtli,1988**) (**G. Fleury,2005**).

### **I.Encapsulation**

#### **I.2 Historique**

La première application industrielle de microparticules date des années 1950 quand Green et Schleicher ont encapsulé des particules de pigments dans des polymères naturels (protéine/gélatine et polysaccharide/gomme arabique) par coacervation complexe. Cette stratégie, utilisée pour la production de papier "carbone", permet la duplication d'un texte ou d'une figure sous l'effet d'une faible pression en encapsulant des colorants (**Yong et all,2006**).

##### **I.2.1 Définition**

L'encapsulation est une technique qui consiste à piéger ou enrober une substance ou un mélange de substances spécifiques à l'aide de matériaux adaptés (**Madene,et all.2006**).Les substances à encapsuler peuvent être liquides, solides ou gazeuses (**Deladino,et all.2008 ;Anbinder, et all 2011**)Ce sont souvent des principes actifs sensibles ou instables à

certaines facteurs environnementaux ayant une action ciblée (vectorisation), ou bien des substances dont on souhaite modifier l'état (Transformation d'un liquide en solide par exemple)(Gouin, S.2004).

### II.2.2 Techniques d'encapsulation

Il existe plusieurs manières de classer les procédés industriels d'encapsulation suivant différents critères (**Richard et Benoît, 2000**) :

- Les procédés peuvent être classés selon l'emploi ou non de solvant organique, certaines techniques telles que la coacervation complexe utilisant des fluides supercritiques.
- La nature du milieu dispersant peut également servir de base à une classification : il peut être liquide (polycondensation interfaciale) gazeux (enrobage en lit fluidisé, ...), ou encore à l'état supercritique (séparation de phase, ...).
- La famille à laquelle appartient le composé employé pour obtenir la capsule peut également permettre de classer les modes d'encapsulation : peuvent être utilisés des polymères préformés (coacervation, ...), des lipides (spray-congealing, ...), ou encore des monomères (polycondensation interfaciale, polymérisation en milieu dispersé, ...).
- Enfin, une dernière classification repose sur la nature du principe selon lequel est réalisée la micro encapsulation : on distingue les procédés physico-chimiques des procédés chimiques et mécaniques.

Cette dernière manière de classer les procédés industriels est la plus couramment utilisée. Nous distinguons, comme le résume la (**figure I.10**)

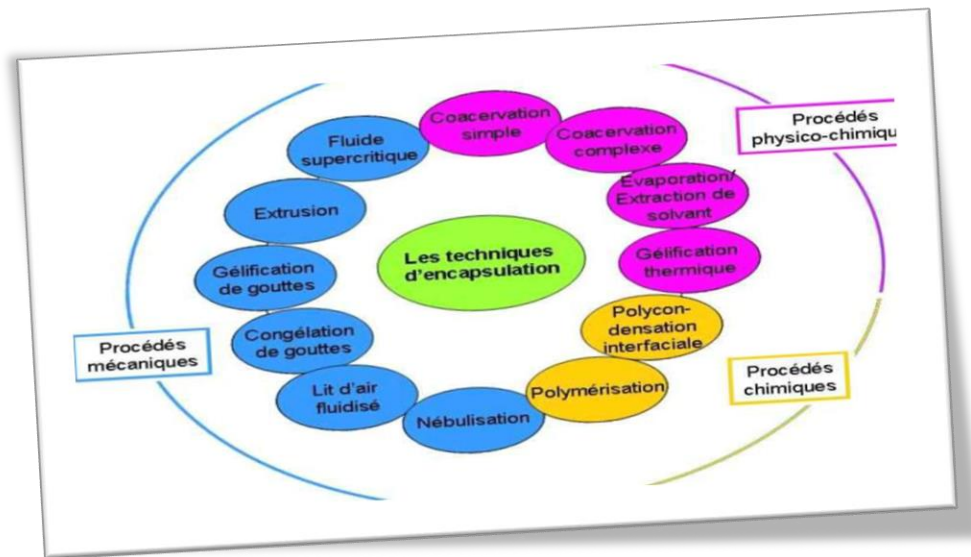
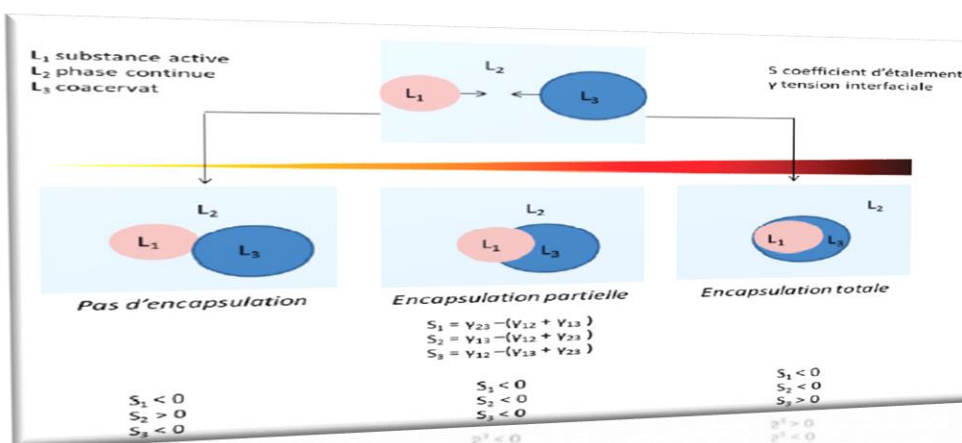


FIGURE I.9: Les différents procédés d’encapsulation.

### I.2.3 Les procédés d’encapsulation

- 1) **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 sur la maîtrise des changements d’état (fusion, solidification) des polymères.

Au cours de ce procédé, la substance active est dispersée sous forme de gouttes ou de particules, l’encapsulation va alors dépendre des conditions d’étalement des phases en présence (Figure I.11)(CHILLA. B,2017).



**Figure I.10:** Comportement d'une gouttelette de substance active (L1) vis-à-vis d'une gouttelette de coacervat (L3) dans une phase non miscible (L2) en fonction des tensions interfaciales et des coefficients d'étalement. Si la tension interfaciale L1/L2 ( $\gamma_{12}$ ) est plus grande que celle entre L3 et L2, il existe alors trois situations sont alors possibles ; l'encapsulation peut être totale, partielle, ou la substance active peut être non – encapsulée (CHILLA. B,2017).

- 2) **Les procédés chimiques**, basés sur la formation in situ du matériau enrobant par polycondensation, polymérisation radicalaire, ou polymérisation anionique d'unités monomères. De ce fait, ils se distinguent des méthodes physico-chimiques et mécaniques qui utilisent des matériaux enrobant préformés (polymères, lipides).
- 3) **Les procédés mécaniques**, qui mettent en œuvre des techniques de pulvérisation, de formation de gouttes ou de gouttelettes et d'extrusion.

#### **I.2.4 But de l'encapsulation**

- L'encapsulation permet de transformer un liquide en solide.
- Masquer une odeur ou un goût désagréable.
- Protéger des substances sensibles des effets délétères de l'environnement extérieur.
- Obtenir une libération contrôlée et ciblée des principes actifs (Ach, 2006).

#### **I.2.5 Application dans le domaine pharmaceutique**

Dans le domaine pharmaceutique, l'encapsulation peut avoir pour objectif (Bile,2015)

##### **❖ Immobiliser ou isoler le principe actif**

Cet objectif résulte souvent du désir de vouloir limiter le contact entre certaines parties d'un système. L'immobilisation est souvent utilisée pour des cellules microbiennes. En effet, leur confinement dans une membrane semi-perméable permet d'obtenir une activité optimum de par une isolation physique du milieu extérieur tout en maintenant un environnement interne hospitalier adapté pour leur croissance et leur métabolisme.

##### **❖ Protéger**

De nombreux composés actifs sont fragiles et doivent être protégés du milieu extérieur.

L'encapsulation permet leur protection vis-à-vis des contraintes appliquées.

Les vitamines E et C sont très souvent encapsulées car elles sont sensibles à la dégradation par contact avec la lumière, la chaleur ou encore l'oxygène.

#### ❖ Vectoriser

La vectorisation par l'encapsulation permet de cibler l'action du principe actif. Par exemple, l'amélioration de la pénétration cutanée au travers du derme ou de l'épiderme peut être atteinte grâce à l'encapsulation.

#### ❖ Contrôler la libération

Dans la majorité des cas, le but de l'encapsulation est d'établir un profil de libération spécifique. Par exemple le médicament Lupron Depot, traitant le cancer de la prostate, permet d'obtenir une libération contrôlée à un taux journalier de 2,8% pendant un mois après une administration sous-cutanée ou intramusculaire.

#### ❖ Structurer

L'encapsulation d'un composé liquide dans des microparticules solides permet d'obtenir une modification de l'état physique de l'actif qui passe de la forme liquide à la forme solide. Cela permet par exemple une homogénéisation simplifiée du mélange de l'actif initialement liquide au sein d'une poudre.

### **I.3 Historique de la découverte de la progestérone**

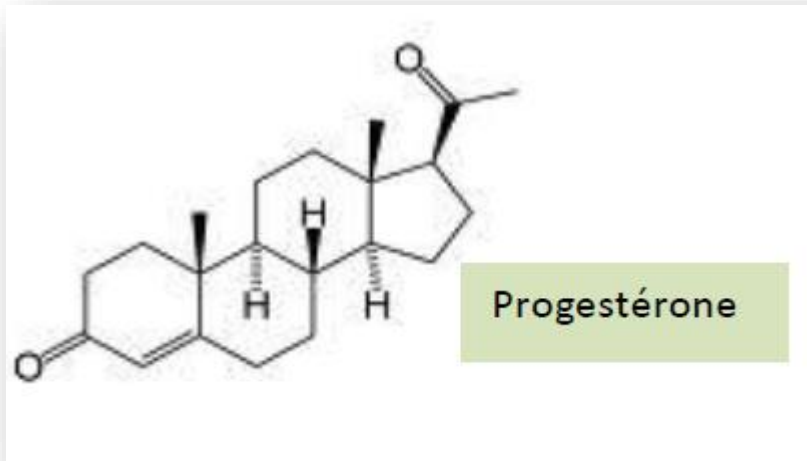
En 1898, PRENANT émet l'hypothèse que le corps jaune fonctionnait comme une glande à sécrétion interne et en 1903, FRAENKEL démontre que la gestation chez la lapine devient impossible à la suite de l'ablation des corps jaunes après l'ovulation, celle-ci empêchant la fixation de l'ovule fécondé dans l'utérus. Sa structure chimique est établie par BUTENANDT. En 1957, elle est identifiée dans l'ensemble des tissus la produisant, le tissu ovarien, les surrénales et le placenta, ainsi que dans le sang qui en assure le transport.

#### **I.3.1 Définition de la progestérone**

La Progestérone est une hormone stéroïde synthétisée dans toutes les glandes stéroïdogènes (ovaire, testicule, corticosurrénale, placenta) à partir de la prégnénolone qui

provient du cholestérol par coupure oxydative de la chaîne latérale.

La progestérone fait également partie des neurostéroïdes, c'est-à-dire qu'elle est formée dans le système nerveux central et périphérique (Perlemuter.2003).



**Figure I.11** : Progestérone.

#### **A. Structure de la progestérone**

La progestérone est une hormone stéroïdienne dont la structure de base dérive de celle du cholestérol plasmatique. Elle possède les quatre cycles fondamentaux du noyau prégnane et est constituée de vingt et un atomes de carbone, d'une double liaison en C4-C5 et de deux fonctions cétones, l'une en C3 et l'autre en C20. La progestérone est donc la **tri**4-pregnène-3-20-dione, également désignée par le sigle P, ou P4. Le chiffre 4 rappelle la présence de la double liaison sur le C4. **BLANCHARD S., (2006),**

La progestérone possède six centres d'asymétrie : cinq ont toujours la même orientation, C8, C9, C10, C13, C14. Le sixième, situé sur le carbone numéro 17, détermine les isomères  $\alpha$  et  $\beta$  **BLANCHARD S., (2006),**

#### **I .3.2L'origine de la progestérone**

L'origine de la progestérone circulante est différente selon l'âge et le sexe. Ainsi chez l'homme, l'enfant prépubère, la femme en phase folliculaire et la femme ménopausée, elle provient de la sécrétion surrénalienne et de la conversion périphérique de la prégnénolone laquelle provient également de la surrénale. En revanche, chez la femme en phase préovulatoire ou lutéale, la quasi-totalité de la progestérone provient de l'ovaire "actif", celui



qui porte le Corp jaune.

Au cours de la grossesse, le corps jaune gravidique assure la sécrétion de progestérone jusqu'à la 7<sup>ème</sup> semaine puis c'est le placenta qui synthétise et sécrète.

La synthèse de la progestérone par le Corp. jaune est stimulée par la LH dont l'effet est maximal en début de phase lutéale et diminué aux cours lutéales tardive.

Quelle que soit son origine, la progestérone circule dans le plasma essentiellement liée aux protéines porteuses: la transcortine et l'albumine sérique.

La progestérone exerce son action après liaison à un récepteur spécifique qui est présent dans le myomètre, les trompes, l'hypophyse, le vagin, les glandes mammaires... **(Larsen.1998 et all).**

### **I.3.3 Actions physiologiques principales de la progestérone**

#### **➤ Au niveau de l'utérus**

Outre la croissance utérine et la suppression de la contractilité myométriale, la progestérone facilite l'implantation (transformation sécrétoire de l'endomètre) et le maintien de la grossesse.

#### **➤ Au niveau du sein**

La progestérone produit un développement lobulo-alvéolaire et prépare à la lactation ; elle supprime la synthèse des protéines du lait avant la parturition.

#### **➤ Au niveau ovarien et hypothalamo-hypophysaire**

La progestérone bloque une nouvelle ovulation par action antigonadotrope. Elle a une action antiandrogénique par compétition avec les androgènes (elle est le substrat préférentiel de la 5-alpha-réductase), mais aussi antiminéralocorticoïde par compétition avec le récepteur des minéralocorticoïdes (transactivation). Son activité dépasse cependant la sphère de la reproduction et elle a des actions pléiotropiques avec un impact osseux, cérébral ou vasculaire... **(Rozembaum ,2009) (Raccha-Tebekka,1997).**

### **I.3.4 Mécanisme d'action de la progestérone**

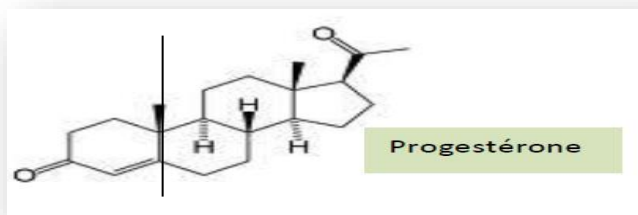
La progestérone agit principalement par l'intermédiaire de sa fixation sur les récepteurs de la progestérone. La similitude des récepteurs aux hormones stéroïdes fait que les

molécules à action progestative dominante peuvent également avoir une action via les autres récepteurs nucléaires (androgéniques, glucocorticoïdes, minéralocorticoïdes ou estrogéniques). Les effets biologiques de la progestérone vont dépendre d'une série d'étapes comme :

- la captation cellulaire et le métabolisme local de la molécule ;
- la disponibilité et le nombre de récepteurs à la progestérone ;
- l'expression relative des deux iso formes A ou B ;
- la liaison des corégulateurs ;
- l'interaction avec les autres signaux de transduction ;– l'action non génomique (Chabbert-Buffet N,2005).

### I.3.5 Propriétés physiques de la progestérone

La progestérone est une substance cristalline, incolore et de faible poids moléculaire (314 daltons). Elle est peu soluble dans l'eau, mais l'est nettement plus dans certains solvants organiques, tels les éthers ou les essences. Elle est active sur la lumière polarisée et possède une bande d'absorption dans l'ultraviolet, avec un pic d'absorption situé à 240 nm. Elle possède également une fluorescence en milieu alcalin BLANCHARD S., (2006),



Adrénaline  $C_9H_{13}NO_4$  + Thyroxine  $C_{15}H_{11}I_4NO_4$  ;

Formule brute  $C_{21}H_{30}O_2$  ;

Masse molaire :  $314.4617+0.0195g/mol$ .

### 1.3.6. Propriétés chimiques de la progestérone

.Présentant peu de groupements fonctionnels, la progestérone ne possède donc qu'un nombre restreint de dérivés, ce qui lui confère des propriétés chimiques limitées. Elle est facilement

réduite par des enzymes spécifiques telles la 20-hydroxystéroïdodeshydrogénase et est essentiellement à la base de la biosynthèse des androgènes et des oestrogènes. A l'inverse des autres stéroïdes, elle ne peut être conjuguée avec les glyconates ou les sulfates  
**BLANCHARD S., (2006),**

## **I.4 Plan d'expérience**

### **I.4.1 Plans pour surface de réponse**

Les plans classiques examinés n'avaient que deux niveaux d'étude par facteur et les modèles mathématiques utilisés étaient du premier degré (avec ou sans interactions) par rapport à chaque facteur. Ces plans sont les plus employés car ils permettent le criblage des facteurs et conduisent parfois à des modélisations simples mais suffisantes. Pourtant, il existe de nombreux cas où il est nécessaire d'avoir une bonne modélisation des phénomènes étudiés et où il faut passer à des modèles mathématiques du second degré. On fait alors appel aux plans pour surfaces de réponse. Ces plans utilisent des modèles polynomiaux du second degré (J. Goupy).

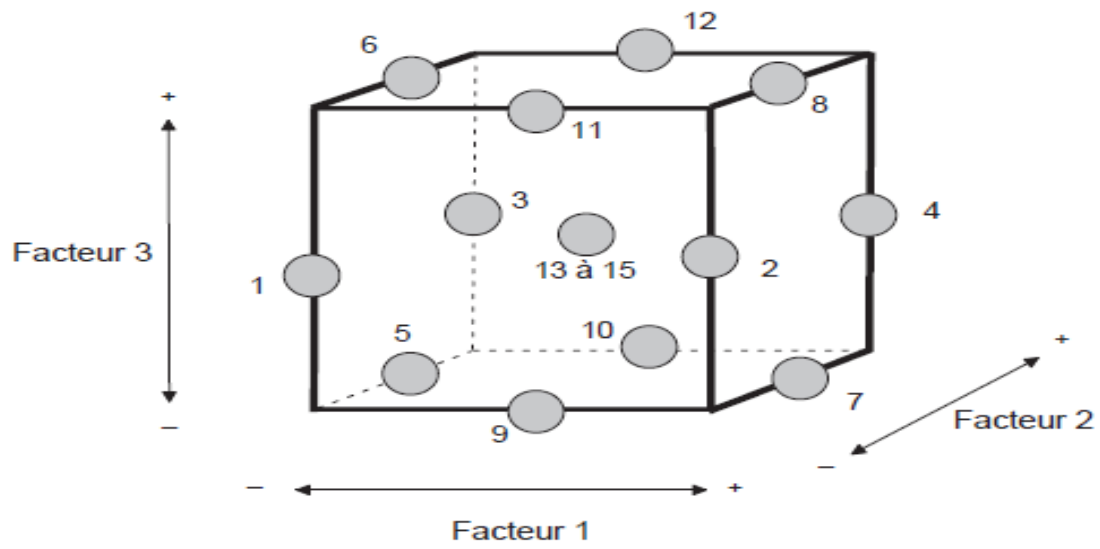
Nous étudierons l'un des trois plus importants plans de ce type qui est le plan Box-Behnken

Le modèle mathématique postulé utilisé avec le plan pour surfaces de réponse est un modèle du second degré avec interactions d'ordre 2 pour trois facteurs :  $y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{11} + b_{22} + b_{33} + e$

### **I.4.2 Généralités sur plans de Box-Behnken**

Box et Behnken ont proposé en 1960 ces plans qui permettent d'établir directement des modèles du second degré. Tous les facteurs ont trois niveaux : -1, 0 et +1. Ces plans sont faciles à mettre en œuvre et possèdent la propriété de séquentialité. On peut entreprendre l'étude des k premiers facteurs en se réservant la possibilité d'en ajouter de nouveaux sans perdre les résultats des essais déjà effectués. Le plan de Box-Behnken pour trois facteurs est construit sur un cube, On ajoute des points au centre du domaine d'étude.

Le plan de Box-Behnken pour trois facteurs est illustré par la figure suivante. Le cube possède 12 arêtes. On a l'habitude d'ajouter des points d'expériences au centre du domaine d'étude, en général trois. Le plan de Box-Behnken pour 3 facteurs possède donc 12 + 3 essais, soit 15 essais. On pourra remarquer qu'avec 4 points au centre au lieu de 3, on obtient un plan qui répond au critère de presque-orthogonalité (J. Goupy).



**Figure I.12:** Illustration du plan de Box-Behnken pour trois facteurs.

Il y a douze points d'expériences au milieu des arêtes du cube et trois points au centre.

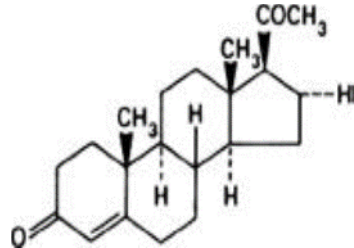
## Chapitre II : Matériels et méthodes

### II .1. Produits chimiques utilisés

#### II.1.1. Progestérone :

Dans cette partie nous avons utilisé du progestérone qui est de forme poudre blanche et qui a des caractéristiques physico-chimiques cités dans le tableau suivant :

**Tableau I.13** : Caractéristiques physico-chimique de la progestérone

| Nom          | Formule chimique  | Formule développée  | Masse molaire g/mol |
|--------------|-------------------|---|---------------------|
| Progestérone | $C_{21}H_{30}O_2$ |  | 314,77              |

#### II.1.2. $\beta$ -Cyclodextrine

La  $\beta$ -Cyclodextrine ( $\beta$ -CD) que nous avons utilisé est fourni par Alfa Aesar, elle est sous forme de poudre blanche, ses caractéristiques physico-chimiques sont récapitulées dans le tableau ci-dessous.

**Tableau II.2** : Caractéristiques physico-chimiques et structurales de la  $\beta$ -CD utilisée.

| Nom                    | Nombre d'unité de glucose | Formule chimique     | Masse molaire g/l | Solubilité dans l'eau g/l |
|------------------------|---------------------------|----------------------|-------------------|---------------------------|
| $\beta$ -Cyclodextrine | 7                         | $C_{42}H_{72}O_{35}$ | 1135              | 18                        |

### II.1.3. Solvant utilisé : Ethanol :

L'alcool éthylique ou éthanol est un alcool dérivé de l'éthane. Il est connu par son utilisation dans l'industrie des produits pharmaceutiques. C'est un solvant qui peut être considéré comme assez inoffensif.

**Tableau II.3** : les caractéristiques physico-chimiques de l'éthanol

| Solvant | Formule chimique                | Masse moléculaire g/l | Densité | Pureté |
|---------|---------------------------------|-----------------------|---------|--------|
| Ethanol | C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O | 46.07                 | 0.81    | 96%    |

### II.1.4. Acide et base utilisés :

Les acide et base utilisés dans ce travail ainsi que leurs caractéristiques sont donnés dans le tableau II.4.

**Tableau II.4** : Caractéristiques physico-chimiques de l'acide citrique et di-Sodium hydrogénophosphate

| Nom                          | Formule chimique                             | Masse moléculaire g/l | Pureté | Fournisseur         |
|------------------------------|--|-----------------------|--------|---------------------|
| Acide Citrique hydraté       | C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> | 192,13                | 100%   | BIOCHEM Chemopharma |
| di-Sodium hydrogénophosphate | Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>             | 141,96                | 99%    | BIOCHEM Chemopharma |

## II.2. Appareillage

- Balance Analytique : toutes les pesées ont été réalisées moyennant une balance de marque « OHAUS », à 0,1 mg de précision.
- pH mètre : Les mesures du pH ont été effectuées avec un pH mètre de marque «HANNA », modèle pH 211.
- Agitateur oscillant « Vibromatic », à 8 postes assurant une agitation mécanique axiale à vitesse réglable (0-1000 tours/min).



**Figure II.1 :** Photographie de l'Agitateur mécanique axial

- Un spectrophotomètre UV- Visible piloté par ordinateur, de marque « Thermo SCIENTIFIC », modèle EVOLUTION 220.



**Figure II.2:** Photographie du Spectrophotomètre UV-Visible

- Un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF) de marque SHIMADZU, modèle Affinity-1.



**Figure II.3** : Photographie du Spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier (IR Affinity-1).

- Analyseur thermogravimétrique de marque SETERAM TG/DTA 92



**Figure II.4** : Analyseur thermogravimétrique (ATG)



## II.3. Protocoles expérimentaux

### II.3.1 Solution tampon :

Préparation d'une solution d'acide citrique 0,50 M et une solution de phosphate de sodium di-sodique 0,50 M. Des mélanges des 2 solutions, sont préparés suivant les indications du tableau II.5, puis dilués à 200 ml.

**Tableau II.5** : préparations des solutions tampons

| <b>PH</b> | <b>Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> à 0,50M</b> | <b>Acide citrique à 0,50M</b> |
|-----------|--|-------------------------------|
| 4,8       | 39,44 ml                                     | 20,28 ml                      |
| 6,4       | 55,40 ml                                     | 12,30 ml                      |
| 8         | 77,80 ml                                     | 1,10 ml                       |

### II.3.2 Mode opératoire :

On a préparé des solutions mères de progestérone/éthanol à une concentration de 8mmol/l et de  $\beta$ -cyclodextrine/eau distillée à une concentration de 4mmol/l. Les ont été réalisés par mélange de quantités variables des 2 solutions mères et ajustement avec la solution tampon et l'éthanol, selon le tableau II.6 donné ci-dessous :

**Tableau II.6** : Composition des essais effectués

|  |    |    |    |    |      |    |
|--|----|----|----|----|------|----|
| <b>V (progestérone) ml</b>                     | 25 | 20 | 15 | 10 | 7.5  | 5  |
| <b>V (<math>\beta</math>-cyclodextrine) ml</b> | 15 | 12 | 10 | 8  | 6    | 5  |
| <b>V (Solution tampon) ml</b>                  | 10 | 13 | 15 | 17 | 19   | 20 |
| <b>V (éthanol) ml</b>                          | 0  | 5  | 10 | 15 | 17.5 | 20 |

Des échantillons sont prélevés par la suite, afin de mesurer l'absorbance et le pH. Après pendant 24 heures, le pH du mélange est mesuré et des échantillons sont prélevés et filtrés, et les absorbances mesurées pour déterminer la quantité de progestérone solubilisée.

### II.3.3 Courbe d'étalonnage

La courbe d'étalonnage de la progestérone est établie par la méthode des étalons. On verse 126mg de progestérone poudre, on rajoute 50 ml de mélange composé de l'eau /éthanol (50/50 v/v). De cette solution on prélève 2ml qu'on met dans une fiole de 25 ml puis on le dilue avec le mélange (eau/éthanol). On prélève, par la suite 1ml de cette solution et on le met

dans une fiole de 10 ml et dilue toujours avec le même mélange de solvant. On prélève les volumes suivants (0.25, 0.3, 0.35, 0.4, 0.45, 0.7, 0.8, 1, 2, 3.5, 5.5, 6) ml, on dilue jusqu'à 10ml, puis on mesure l'absorbance.

## II.4. Techniques physicochimiques de caractérisation des échantillons

### II.4.1. Spectrophotométrie d'absorption UV-Visible

On a préparé une solution diluée de concentration définie que l'on introduit dans une cuve en verre (ou en quartz pour les longueurs d'ondes maximales inférieures à 245 nm).

#### a. Analyse quantitative

L'utilisation de la loi de Beer-Lambert dans le domaine de la linéarité aux faibles concentrations du soluté, constitue une très bonne méthode d'analyse quantitative.

La loi de Beer –Lambert : loi qui traduit la relation entre l'absorbance, la concentration et la longueur de solution traversée par la lumière (trajet optique) dans la cuve de mesure.

$$A = \epsilon I C$$

A : désigne l'absorbance, paramètre optique sans dimension, accessible au moyen du spectrophotomètre,

I : est l'épaisseur (en cm) de la solution traversée, ou le trajet optique.

C : concentration molaire de la solution en mol. L<sup>-1</sup>

$\epsilon$  : coefficient d'absorptivité molaire (mol<sup>-1</sup> .L.cm<sup>-1</sup>) spécifique à la substance dans milieudonné.

### II.4.2. Spectroscopie infrarouge

On a préparé des pastilles KBr plus échantillons puis nous avons fait passer par IR. Les complexes d'inclusion (CD<sub>s</sub> et Pg) préparés par différentes méthodes ont été caractérisés par spectroscopie infrarouge (IR) en utilisant un spectrophotomètre IR. Les échantillons à analyser sont préparés par mélange physique, sous forme de pastilles KBr (de KBr et de complexe).

### **a. Principe**

La spectrométrie infrarouge est la mesure de la diminution de l'intensité du rayonnement qui traverse un échantillon en fonction de la fréquence de vibration de la liaison chimique dans une molécule. Le rayonnement infrarouge dispense suffisamment d'énergie pour stimuler les vibrations moléculaires à des niveaux d'énergie supérieurs. Elle est utilisée principalement pour l'analyse qualitative d'une molécule, en mettant en évidence la présence de liaisons entre les atomes (fonctions et groupements). La majorité des applications se situe entre 2,5 et 25  $\mu\text{m}$  soit en nombre d'ondes de 4000  $\text{cm}^{-1}$  à 400  $\text{cm}^{-1}$  (IR moyen).

Un spectre infrarouge est traditionnellement présenté en transmission (fraction de l'intensité transmise par rapport à l'intensité incidente) exprimée en pourcentage et l'axe des abscisses en fonction du nombre d'onde (inverse de la longueur d'onde), sur un axe dirigé vers la gauche.

## **II.4.3 Préparation du plan d'expériences**

### **II.4.3.1 Principe de l'étude**

On estime d'augmenter la solubilité de progestérone en utilisant de la  $\beta$ -cyclodextrine en se basant sur la variation de trois facteurs.

### **II.4.3.2 Les facteurs**

PH-mètre

La concentration de  $\beta$ -cyclodextrine

La concentration de progestérone

### **II.4.3.3 Domaine d'étude**

Les niveaux haut et bas de chaque facteur sont définis comme l'indique le tableau

**Tableau II.2 :** Variables indépendantes et les niveaux des facteurs influençant sur La solubilité de la progestérone.

| Les variables indépendantes                  | Niveaux des facteurs |     |      |
|--|----------------------|-----|------|
|  | -1                   | 0   | +1   |
| PH-mètre                                     | 4,8                  | 6,4 | 8    |
| Concentration de progestérone mg/l           | 252                  | 756 | 1260 |
| Concentration de $\beta$ -cyclodextrine mg/l | 450                  | 900 | 1350 |

Facteur :  $C=n/v$  ; 1350g/l ; 1.350g/l ; 13.50g/100l

#### II.4.3.4 La réponse

Notre réponse choisie est le rendement expérimental

#### II.4.3.5 Choix du plan expérimental

L'expérimentateur s'attend à des variations de la réponse correspondant à un modèle du second degré. Après avoir examiné son problème en détail, il retient un plan de Box-Behnken qui permet d'établir le modèle désiré et ne nécessite qu'un nombre restreint d'essais.

**Tableau II.3** : Matrice d'expériences

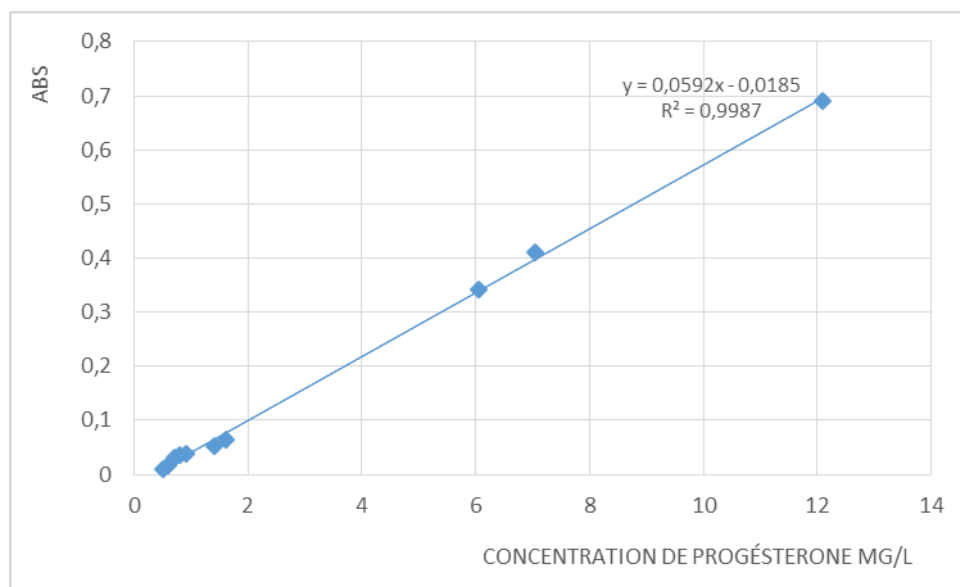
| Essai N° | PH | Concentration de progestérone mg/l | Concentration de $\beta$ -CD mg/L |
|----------|----|------------------------------------|-----------------------------------|
| 1        | -1 | 0                                  | -1                                |
| 2        | 1  | 0                                  | -1                                |
| 3        | -1 | 0                                  | 1                                 |
| 4        | 1  | 0                                  | 1                                 |
| 5        | -1 | -1                                 | 0                                 |
| 6        | 1  | -1                                 | 0                                 |
| 7        | -1 | 1                                  | 0                                 |
| 8        | 1  | 1                                  | 0                                 |
| 9        | 0  | -1                                 | -1                                |
| 10       | 0  | -1                                 | 1                                 |
| 11       | 0  | 1                                  | -1                                |
| 12       | 0  | 1                                  | 1                                 |
| 13       | 0  | 0                                  | 0                                 |
| 14       | 0  | 0                                  | 0                                 |
| 15       | 0  | 0                                  | 0                                 |
| 16       | 0  | 0                                  | 0                                 |
| 17       | 0  | 0                                  | 0                                 |

## Chapitre III

### Résultats et discussion

#### III.1. Courbe d'étalonnage

Sur la figure III.1 est représentée la courbe d'étalonnage de la progestérone.



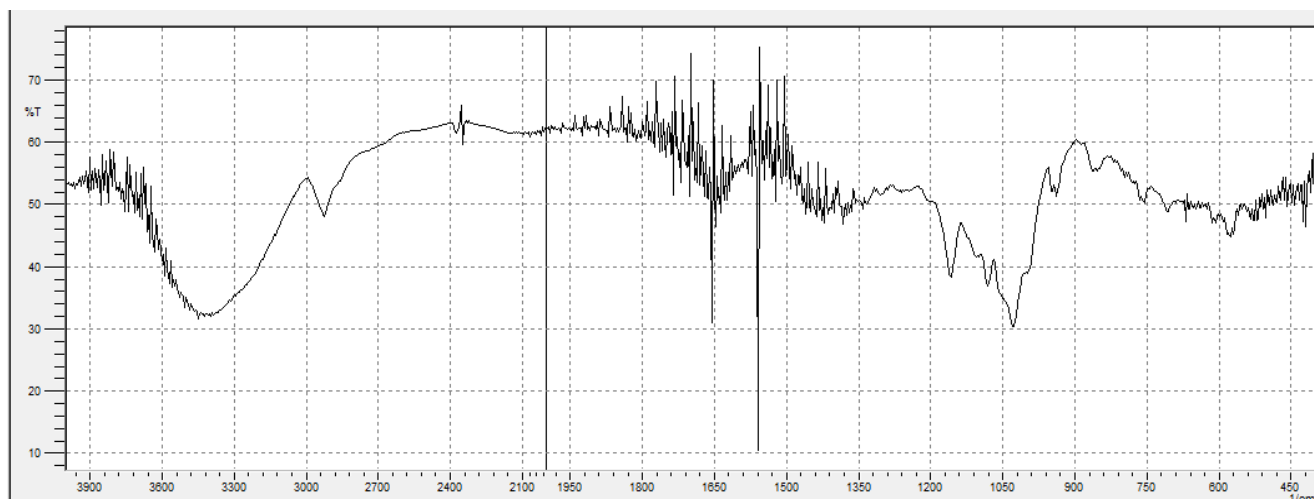
**Figure III.1 :** Courbe d'étalonnage de la progestérone dissoute dans un mélange eau/éthanol (50/50 v/v).

#### III.2. Caractérisation des complexes d'inclusion

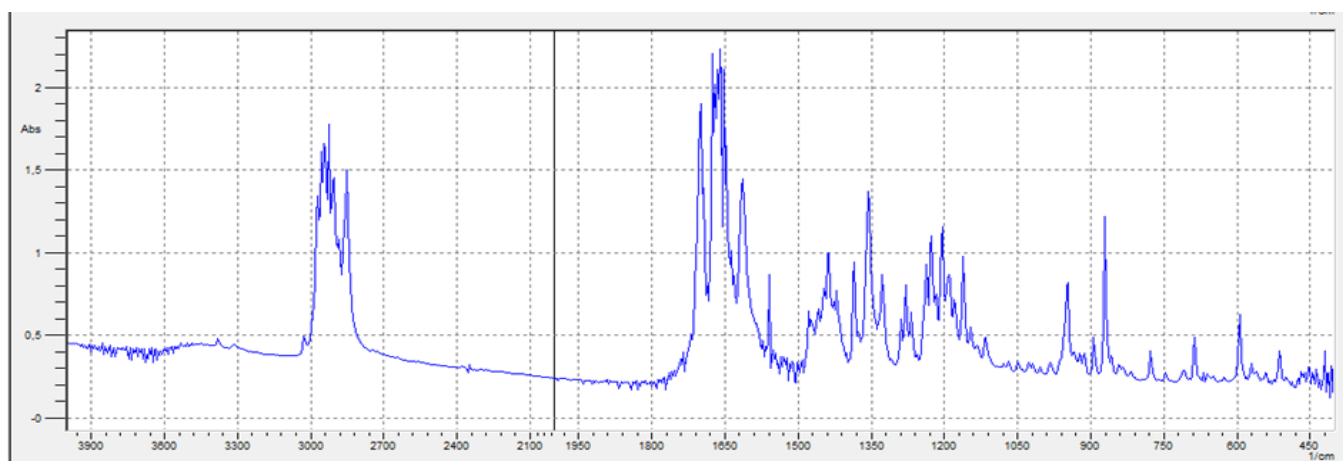
Les poudres de la progestérone, la  $\beta$ -CD et du complexe progestérone/  $\beta$ -CD ont été analysées par deux techniques de caractérisation : l'IR et l'ATG

##### III.2.1. Caractérisation par spectroscopie IR TF

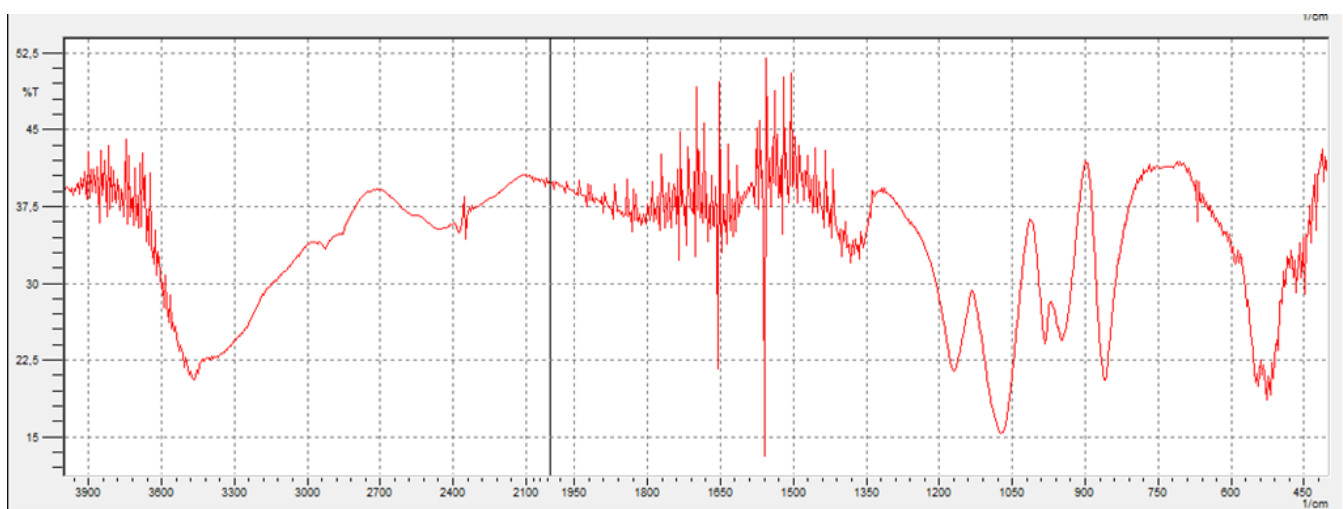
Les figures III.2-III.5 présentent les spectres IR de la  $\beta$ -CD, de la progestérone et du complexe progestérone /  $\beta$ -CD.



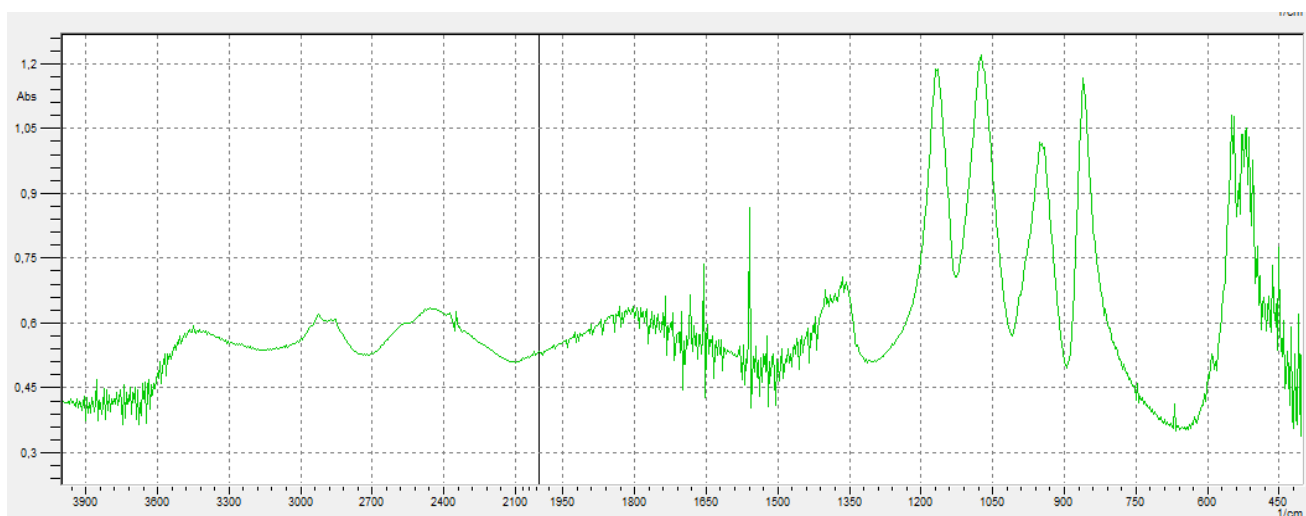
**Figure III.2** : Spectre IR de la  $\beta$ -CD



**Figure III.3** : Spectre IR de la progestérone



**Figure III.4** : le spectre IR du complexe progestérone / $\beta$ -CD formé à pH=10



**Figure III.5 :** Spectre IR du complexe progesterone /  $\beta$ -CD formé à pH=6,4

**Tableau III.1 :** Fréquences des principales bandes caractéristiques de  $\beta$ -CD

| Fréquence /cm | Intensité     | Liaison | Fonction |
|---------------|---------------|---------|----------|
| 2799          | moyenne       | C-H     | aldéhyde |
| 1165          | 2 absorptions | C-O     | Ester    |
| 1033          | 2 absorptions | C-O     | ester    |

**Tableau III.2:** Fréquences des principales bandes caractéristiques de la progesterone

| Fréquence /cm | Intensité | Liaison | Fonction           |
|---------------|-----------|---------|--------------------|
| 1730          | Forte     | C=O     | Ester              |
| 1685          | Forte     | C=O     | Acide carboxylique |

**Tableau III.3 :** Fréquences des principales bandes caractéristiques du complexe

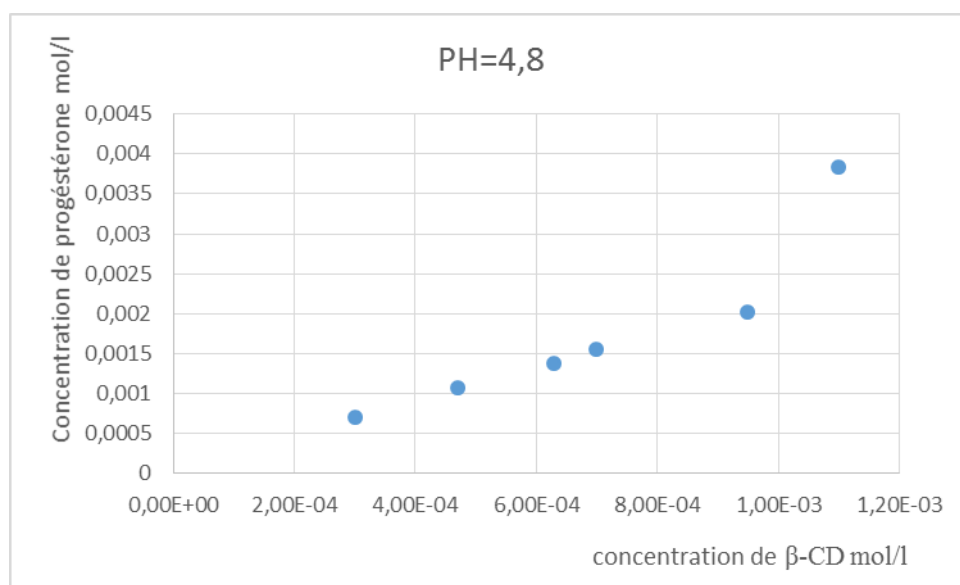
| PH-mètre | Fréquence /cm | Intensité     | Liaison | Fonction |
|----------|---------------|---------------|---------|----------|
| 6,4      | 1165          | 2 absorptions | C-O     | Ester    |
|          | 1085          | 2 absorptions | C-O     | ester    |
|          | 1170          | 2 absorptions | C-O     | Ester    |
|          | 1085          | 2 absorptions | C-O     | Ester    |
|          | 1005          | 2 absorptions | C-O     | Ester    |



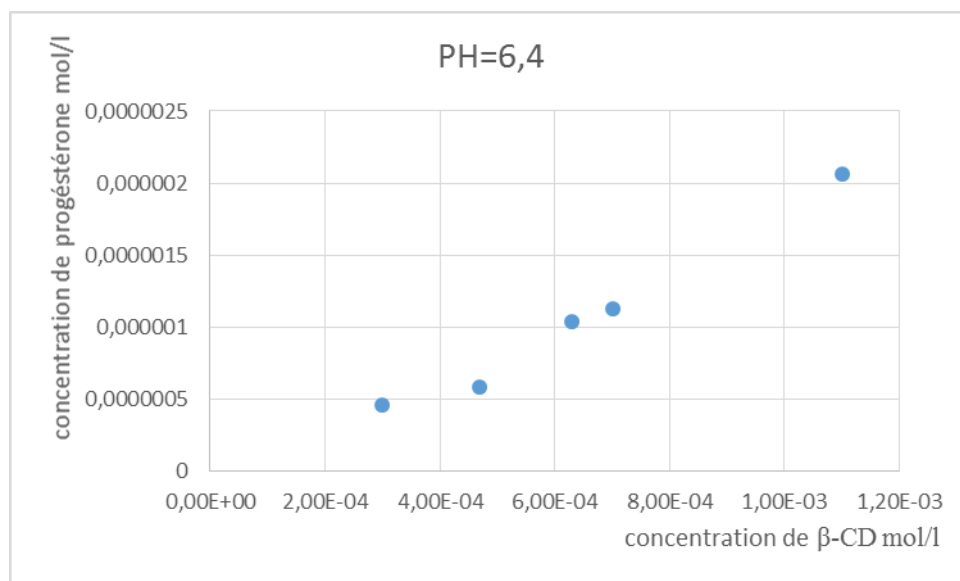
### III.3 Diagramme de solubilité

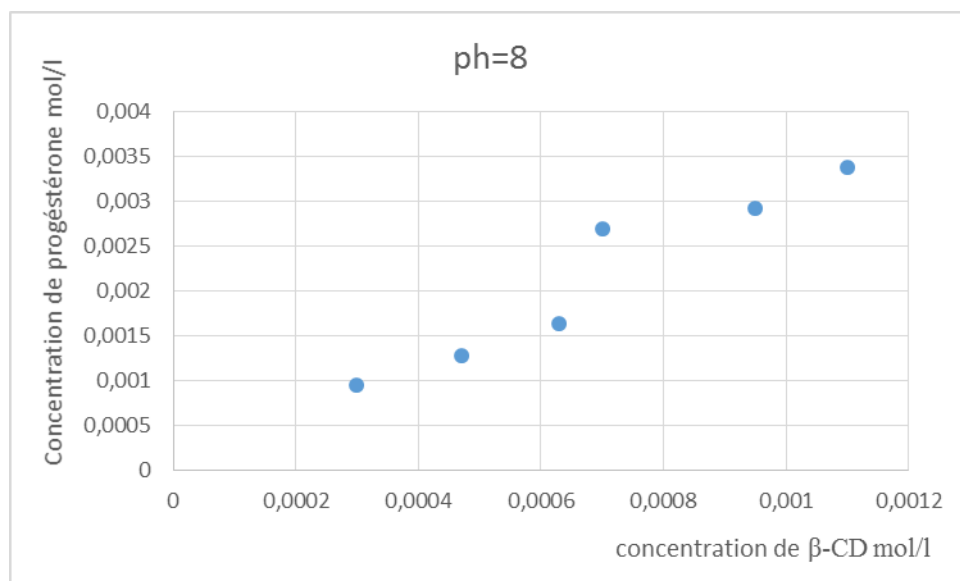
Après analyses des solutions préparées par UV-visible, en utilisant la courbe d'étalonnage nous avons déterminé les concentrations en progestérone correspondant aux absorbances obtenues, les résultats de l'étude sont représentés sur les figures III.6-III.8.

Les diagrammes d'Higuchi-Connors, qui donnent la concentration de la molécule invitée (progestérone) dans le complexe, en fonction de la concentration de la molécule hôte ( $\beta$ -CD) dans les différents milieux étudiés (pH=4,8, pH=6,4 et pH=8), sont représentés respectivement dans les figures suivantes.



**Figure III.6** : Diagramme de solubilité de avec la  $\beta$ -CD a pH=4,8



**Figure III .7** : Diagramme de solubilité de avec la  $\beta$ -CD a pH=6,4**Figure III.8** : Diagramme de solubilité de avec la  $\beta$ -CD a pH=8 Les diagrammes de solubilité de la progésterone avec la  $\beta$ -CD dans les trois milieux étudiés (pH=4.8, pH=6.4, pH=8).

Selon Higuchi-Connors, il s'agit d'une isotherme de type Ap, car il y a une augmentation de solubilité par rapport au profil linéaire qui peut être liée à des modifications de la solubilité du complexe ou à l'association de molécules de cyclodextrines entre elles.

### III.3 Modélisation du processus de complexation de Progésterone par la $\beta$ -Cyclodextrine par les plans d'expériences

**Tableau II.3** : Matrice des expériences

| Essai N° | PH | Concentration de progésterone (mg/l) | Concentration de $\beta$ -CD (mg/L) | %       |
|----------|----|--------------------------------------|-------------------------------------|---------|
| 1        | -1 | 0                                    | -1                                  | 61,896  |
| 2        | 1  | 0                                    | -1                                  | 16,1336 |
| 3        | -1 | 0                                    | 1                                   | 26,5361 |
| 4        | 1  | 0                                    | 1                                   | 16,9203 |
| 5        | -1 | -1                                   | 0                                   | 5,70362 |
| 6        | 1  | -1                                   | 0                                   | 30,6725 |
| 7        | -1 | 1                                    | 0                                   | 8,23847 |
| 8        | 1  | 1                                    | 0                                   | 33,4456 |
| 9        | 0  | -1                                   | -1                                  | 71,2517 |

|    |   |    |    |         |
|----|---|----|----|---------|
| 10 | 0 | -1 | 1  | 29,557  |
| 11 | 0 | 1  | -1 | 72,0375 |
| 12 | 0 | 1  | 1  | 35,4983 |
| 13 | 0 | 0  | 0  | 8,56392 |
| 14 | 0 | 0  | 0  | 8,56392 |
| 15 | 0 | 0  | 0  | 8,56392 |

### Interprétation des résultats du plan

Le modèle mathématique postulé est un modèle du second degré

$$y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_{12}x_1x_2 + a_{13}x_1x_3 + a_{23}x_2x_3 + a_{11}x_1 + a_{22}x_2 + a_{33}x_3 + e$$

L'interprétation commence par le calcul des coefficients du modèle (Tableau 9.11).

**Tableau 9.11 – Coefficients du modèle (unités codées).**

| Coefficients    | Valeurs |
|-----------------|---------|
| a <sub>0</sub>  | 8,543   |
| a <sub>1</sub>  | -0,650  |
| a <sub>2</sub>  | -14,101 |
| a <sub>3</sub>  | 1,504   |
| a <sub>12</sub> | 9,036   |
| a <sub>13</sub> | 0,0596  |
| a <sub>23</sub> | 1,289   |
| a <sub>11</sub> | -5,371  |

Ces coefficients permettent d'établir le modèle du second degré (en termes de valeurs codées) :

|        |  |
|--------|--|
| Y =    |  |
| 8,5426 |  |

|             |                |
|-------------|----------------|
| -0,650275   | A              |
| -14,1008875 | B              |
| 1,5043875   | C              |
| 9,03665     | AB             |
| 0,05955     | AC             |
| 1,288875    | BC             |
| -5,3710875  | A <sup>2</sup> |

Ajustement Statistique :

|                         |       |
|-------------------------|-------|
| R <sup>2</sup>          | 0,778 |
| Adjusted R <sup>2</sup> | 0,377 |

**L'ANOVA pour le modèle Quadratique :**

| Source         | Sum of Squares | df | Mean Square | F-value   | p-value  |                 |
|----------------|----------------|----|-------------|-----------|----------|-----------------|
| Model          | 5700,10        | 9  | 633,34      | 1,94      | 0,2407   | not significant |
| A-A            | 3,38           | 1  | 3,38        | 0,0104    | 0,9229   |                 |
| B-B            | 1590,68        | 1  | 1590,68     | 4,88      | 0,0783   |                 |
| C-C            | 18,11          | 1  | 18,11       | 0,0555    | 0,8231   |                 |
| AB             | 326,64         | 1  | 326,64      | 1,00      | 0,3630   |                 |
| AC             | 0,0142         | 1  | 0,0142      | 0,0000    | 0,9950   |                 |
| BC             | 6,64           | 1  | 6,64        | 0,0204    | 0,8921   |                 |
| A <sup>2</sup> | 106,52         | 1  | 106,52      | 0,3265    | 0,5925   |                 |
| B <sup>2</sup> | 2731,71        | 1  | 2731,71     | 8,37      | 0,0340   |                 |
| C <sup>2</sup> | 986,26         | 1  | 986,26      | 3,02      | 0,1426   |                 |
| Residual       | 1631,25        | 5  | 326,25      |           |          |                 |
| Lack of Fit    | 1631,24        | 3  | 543,75      | 3,995E+05 | < 0.0001 | significant     |

|            |         |    |        |  |  |  |
|------------|---------|----|--------|--|--|--|
| Pure Error | 0,0027  | 2  | 0,0014 |  |  |  |
| Cor Total  | 7331,35 | 14 |        |  |  |  |

## Coefficients in Terms of Coded Factors

| Factor         | Coefficient Estimate | df | Standard Error | 95% CI Low | 95% CI High | VIF    |
|----------------|----------------------|----|----------------|------------|-------------|--------|
| Intercept      | 7,03                 | 1  | 2,92           | -0,4759    | 14,54       |        |
| A-pH           | 3,41                 | 1  | 1,79           | -1,19      | 8,01        | 1,0000 |
| B-Cpg          | -18,15               | 1  | 1,79           | -22,75     | -13,55      | 1,0000 |
| C-Cbcd         | -0,1487              | 1  | 1,79           | -4,75      | 4,45        | 1,0000 |
| AB             | 7,80                 | 1  | 2,53           | 1,30       | 14,31       | 1,0000 |
| AC             | -3,13                | 1  | 2,53           | -9,64      | 3,37        | 1,0000 |
| BC             | 1,17                 | 1  | 2,53           | -5,33      | 7,68        | 1,0000 |
| A <sup>2</sup> | -10,05               | 1  | 2,63           | -16,81     | -3,28       | 1,01   |
| B <sup>2</sup> | 28,67                | 1  | 2,63           | 21,90      | 35,44       | 1,01   |
| C <sup>2</sup> | 16,49                | 1  | 2,63           | 9,73       | 23,26       | 1,01   |

---

## Les références

---

- A. Bouzitouna**, 2009, Utilisation des méthodes hybrides (QM/MM) dans l'étude des
- A.P. Martins**, A. A. Craveiro, M. I. L. Machado, F. N. Raffin, T. F. Moura, Cs. Novák, Z, 2007, Éhen, Preparation and characterization of Mentha X Villosa Hudson oil-Cyclodextrin complex, *Journal of Thermal Analysis and*
- ACH. D**, 2006, Microencapsulation par coacervation complexe des protéines du lactosérum et **Al Omari** M.M, Daraghme NH., El-Barghouthi M.I., Zughul M.B., Chowdhry alimentaires, Thèse de doctorat, Toulouse Université Toulouse III Paul Sabatier (UT3 Paul
- Anbinder, P.S.**, Deladino, L., Navarro, A.S., Amalvy, J.I., & Martino, M.N. 2011, Yerba mate extract encapsulation with alginate and chitosan systems: interactions between active compound encapsulation polymers. *Journal of Encapsulation and Adsorption Sciences*, 80-87.Lyon 1.
- appliquée, Ed Numdam 385-44.
- Arima H., Yunomae K., Miyake K., Irie T., Hirayama F., Uekama K., Comparative
- Audrey. D**, mars 2013, Catalyse dans l'eau en présence de cyclodextrine native ou modifiée – Application au couplage croisé de type Suzuki, Thèse présentée Docteur de l'UTC, Université de Technologie de Compiègne, spécialités Génie des Procédés .
- B. Wahdame, 2006**, Analyse et optimisation du fonctionnement de piles à combustible par
- B.Z., Leharne S.A., Badwan A.A, 2009, *Novel inclusion complex of ibuprofen tromethamine* Bejaia. Belfort Montbéliard et de l'université de Franche-Comte.
- BLANCHARD S., (2006)**, L'insuffisance lutéale chez les femelles domestiques et la femme, Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine de Créteil, Créteil, 123 p.
- C. Marcolpus, 2011** , Insertion cyclodextrines amphiphiles dans les membranes lipidiques. *Calorimetry*, 88, 363-371
- cellulosiques, Thèse de Doctorat, Université Henri Poincaré Nancy 1.

**Chabbert-Buffet N, Meduri G, 2005, Bouchard P, Spitz IM.** Selective progesterone receptor modulators and progesterone antagonists: mechanisms of action and clinical applications. *Human Reprod Update*; 11,3:293-307.

**CHILLA. B,2017** , Etude de stabilité d'un principe actif par encapsulation par la  $\beta$ -cyclodextrine/extrait de plante de thé, Filière : Génie des Procédés Spécialité : Science et technologie du médicament, Université A. MIRA – BEJAIA.

colorant et d'autres contaminants en milieux aqueux. Thèse de doctorat, université de communications électroniques. Thèse de doctorat, université de Lille France.

complexation de l'amlodipine, Mémoire de magister, Université de Béjaia.

complexes- A review, *Journal of Pharmaceutical Science and Technologie*, Vol.

complexes d'inclusion a base de cyclodextrine, Mémoire de magister, Université BADJI

controlled release – a review. *International Journal of Food Science and Technologie*, 41 ,

**D. AMOURA, 2011**, Modélisation d'un réacteur à lit fixe par la méthode des plans

**D. Castagne,2005** , : Etude des interactions entre les cyclodextrine et les membranes

**D. Ghadiali, 2000**, Arminolysis of the 4-acetoxybenzoate anion catalysed by cyclodextrins, d'expériences. Application à la cémentation du cuivre par la poudre de zinc, mémoire de de la gomme d'acacia, Thèse de doctorat, Université de Claude Bernard.

**Deladino, L., Anbinder, P.S., Navarro, A.S., & Martino, M.N., (2008)**, Encapsulation of natural antioxidants extracted from *Ilex paraguariensis*. *Carbohydrate Polymers*, 71,126-134. *Delivery Rev.*, 1999.

des sols : Solubilisation et extraction de polluants organiques par les cyclodextrines, Thèse de doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Lyon.

**Douhal A.2006**, Cyclodextrin Materials Photochemistry, Photophysics and Photobiology, first ed., Toledo, Spain ,

dynamique d'un module IGBT utilisé en traction ferroviaire ». Thèse de doctorat, Institut England,

et antibiotiques) par oxydation électrochimique direct sur électrode de plomb couplée à un

**F. Gillon, 1997**, Modélisation et optimisation par plans d'expériences un moteur a

**F. RABIER, 2007**, Modélisation par la méthode des plans d'expériences du comportement

**F. Teffaha**, Avril 2010, caractérisation physico-chimique et thermodynamique de complexes d'inclusion Cyclodextrine/tetracaine, Thèses de Doctorat, Université d'Oran, faculté des sciences, département de chimie, spécialité : chimie-physique.

**G. leury**, décembre 2005, Des polyrotaxanes de haute masse moléculaire au réseau topologique : les gels à points de réticulation glissants, Thèse de Doctorat en chimie et science des matériaux, Université de Louis Pasteur – Strasbourg I,.

**G. Sado, M. Sado. 1991**, Les plans d'expériences, de l'expérimentation à la qualité. 2<sup>ème</sup> gluten. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 6034-6040.

**Gouin, S., Micro-encapsulation**, 2004, industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in Food & Technology*, 15, 330-347.

**Guillaume Fleury, 2005**, : Des polyrotaxotaxanes de haute masse moléculaire au réseau

**Hanna. K**, 2004, Etude de faisabilité de l'utilisation de molécules "cage" dans la dépollution

**Hélène JEULIN**, 17 décembre 2008, Impact virologique et pharmacologique de la complexation de la ribavirine aux cyclodextrines sur un modèle animal d'encéphalite rougeoleuse. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré.

**Hicham SAFINE**, 2002, SYSTEMES DE DELIVRANCE DES MEDICAMENTS PEU SOLUBLES DANS L'EAU PAR VOIE ORALE, THESE DE DOCTORAT, FACULTE DE PHARMACIE, UNIVÉRSITÉ de lorraine.

**Hirayama F., Uekama K.**, Cyclodextrin-based controlled drug release system. *Adv. Drug*

**J. Bile**, Octobre 2015, Microencapsulation d'agent antimicrobien pour le développement de conditionnements primaires fonctionnalisés, Thèse de Doctorat, Université de Claude Bernard-Lyon1.

**J. FAUCHER, 2006**, Les plans d'expériences pour le réglage de commandes à base de

**J. Goupy, 1990**, Etude comparative de divers plans d'expériences, *Revue de statistique*

**J. Goupy, 1999**, Plans d'expériences pour surface de réponses . DUNOD, Paris, 255-256.

**J. Goupy, 2006**, Les plans d'expériences. *Revue MODULAD*, 75-78.

**J. Goupy. 2006**, Factorial experimental design: Detecting an outlier with the dynamic

**J. Richard et J.P. Benoît**, 2000, Microencapsulation. *Technique de l'Ingénieur*, J2 210,.

**J. Vial, A. Jardy, 1998**, Validation of an automatic diluter by comparison with traditional

**J.W.Steed, 2000**, J.L.Atwood, *Supramolecular chemistry*, John Wiley & Sons Ltd, Chichester,



**K. Kimouche, 2008**, Étude de quelques plans d'expériences associées aux surfaces de

**K. Mme Madi-Azegagh, 2016**, Utilisation de l'électrocoagulation pour l'élimination de

**Karam. S, 2004**, Application de la méthodologie des plans d'expériences et de l'analyse de données à l'optimisation des processus de dépôt, Thèse de doctorat, Université de Limoge.

la méthode des plans d'expériences, thèse de doctorat. Université de technologie de

la qualité de médicaments conventionnels, de phytomédicaments et de compléments

**Laurent.L, 11 Juillet 1997**, ETUDE DE LA CAPACITE D'INCLUSION DE LA  $\beta$ -CYCLODEXTRINE VIS-A-VIS DE DIVERS POLYÉLECTROLYTES, Spécialité: Chimie Organique et Macromoléculaire, L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNOLOGIES DE LILLE.

liposomes ou biologique, thèse doctorat, université de Liège, Belgique.

logique floue ». Thèse, institut nationale polytechnique de Toulouse.

**Madene, A., Jacquot, M., Scher, J., & Desobry, S., 2006** Flavour encapsulation and

magister, Université Abderrahmane MIRA Bejaia.

**Mandeep. K, Mohit. B, Minni. S, 2016**,  $\beta$ -carotene- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex : methods, Analysis 26145-156.

Mokhtar-Annaba.

**Mounir L, 2014**, cours de spectroscopie infrarouge ; Directeur du laboratoire de Recherche LGVRNAQ. Université de Bouira.

**N. Hamaidi Née Maouche, 2012**, Modélisation Optimisation du Procédé D'adsorption du

National Polytechnique de Toulouse.

of Tacrolimus in Rats. *J Pharm Sei.*

**Oulmou. F, 2014**, Fonctionnalisation sélective de la  $\beta$ -Cyclodextrine en vue de la

**Perlemuter L. et thomas J., Endocrinologie.** 5<sup>e</sup> édition , 2003 , masson, Paris, éditeur.

pharmaceuticals.- C.R.C Crit. Rev. Ther. Drug. Carrier Syst.

Phénoldans un Réacteur Batch par les Plans D'expériences ». Thèse de Doctorat en

process in fixed bed reactor using two-level factorial design. Arabian Journal of Chemistry,

**R. Diab, 2009**, vectorisation des analogues de nucléosides pour le traitement des métastases, Thèse de Doctorat, Université Claude Bernard – Lyon 1.

**R., Snigh, N. Bahrti, J. Madan et S.N. Hiermath**, 2010, Caractérisation of CD inclusion

**Raccha-Tebeka B. Progestatifs. In: Mauvais-Jarvis P, Schaison G, 1997**, Touraine Ph. Med Reprod 3<sup>e</sup> édition. Paris : Flammarion Médecine- Sciences,.

réponse, thèse de doctorat ». Université Mentouri Constantine

**Rozembaum H. EMC 2009**, Gynécologie, 86 A 10. Progestérone et progestatifs de synthèse.

**S. Benhadi, 2010**, Greffage de cyclodextrines modifiées par traitement Corona sur matériaux

**S. Fontanay**, Décembre **2012**, Complexation de triterpènes pentacycliques par des cyclodextrines Caractérisation physicochimique et activités biologiques. Thèse de Doctorat Université de Lorraine Mention : « Sciences de la Vie et de la Santé »,.

Sabatier).

Sciences.

**Stéphanie w, décembre 2007**, matériaux organosilicés mésoporeux porteurs de cyclodextrine et de fonctions amines, Synthèse par voie sol-gel structurante et propriétés.

Studies of the Enhancing Effects of Cyclodextrins on the Solubility and Oral Bioavailability

**T. Higuchi et K. Connors 2001**, Phase solubility technique. Adva Anal Chem Instr, (1965).

Thèse de Doctorat, Université Montréal. Québec. Canada,.

**Thomson D.O. 1997**, -Cyclodextrins-enabling excipients : their présent and future use in tirage, AFRNOR.

topologique : les gels à points de réticulation glissants.

towards enhanced aqueous solubility, Journal of Global Biosciences, 2, 3665-3675

**Meriem.M, et all, 2016**, Optimisation et caractérisation des complexes d'inclusion vitamine E/cyclodextrine et cholestérol/cyclodextrine, Faculté de Technologie Département de Génie des Procédés, Université A. MIRA – BEJAIA.

traitement biologique . Thèse de doctorat, université de Bejaia.

variable and the Daniel's diagram Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems. 80156 - 166.

**Vaysse-Dufaure. J, 2011**, Apport de la Résonance Magnétique Nucléaire pour le contrôle et  
**W. Kronenberg H.M., Larsen P.R.**, editors 9<sup>th</sup> edition ,1998,W.B. Saunders Company,  
Philadelphia ; 1259-1271.

*with cyclodextrins: Physicochemical characterization.* J. Pharm. Biomed. Anal, 50449-458.

**Y. Bakkour, Juillet 2005**, Etude par RMN des complexes d'inclusion avec des  
Cyclodextrines natives et polymérisées, Thèse de Doctorat Université des Sciences et  
Technologies de Lille 1, Montions : chimie organique et macromoléculaire.

**YAHIAOUI, 2013**, Dégradation de composés organiques récalcitrants (phénol, colorants

**Yahiaoui, F. Aissani –Benissad, 2010**, Experimental design for copper cementation

**Yong Y.H., Yamaguchi S. and Matsumura Y, 2006**, Effects of enzymatic deamidation by  
proteinglutaminase on structure and functional properties of wheat

**Zemmouri H, 2008**, le chitosane est il la molécule du siècle. Bulletin des Energies  
Renouvelables. p. 3.

## Résumé

L'objectif de notre travail est d'étudier la complexation de la progestérone par CDs

- Complexation de la progestérone par la  $\beta$ - Cyclodextrine
- Tenter la modalisation de ce processus par la méthodes des plans d'expériences.

L'encapsulation est une technique qui consiste à piéger ou enrober une substance ou un mélange de substances spécifiques à l'aide de matériaux adaptés.

L'encapsulation permet :

- Transformer un liquide en solide et Masquer une odeur ou un gout désagréable
- Protéger des substances sensibles aux effets délétères de l'environnement extérieur.
- Obtenir une libération contrôlée et ciblée des principes actifs

Amélioration de la solubilité de la progesterone encapsulé par  $\beta$ - cyclodextrine et

Démonstration de formation de complexes par divers méthodes de caractérisation, Études des trois paramètres de modilisation.

## summary

The objective of our work is to study the complexation of progesterone by CDS

- Complexation of progesterone by  $\beta$ -Cyclodextrin
- Attempt to modalize this process using the design of experiments method.

Encapsulation is a technique that involves trapping or coating a specific substance or mixture of substances using suitable materials. encapsulation allows:

- Turning a liquid into a solid and masking an unpleasant smell or taste
- Protect substances sensitive to the deleterious effects of the external environment.
- Obtain controlled and targeted release of active ingredients

Improvement of the solubility of progesterone encapsulated by  $\beta$ -cyclodextrin and Demonstration of complex formation by various characterization methods, Studies of the three modilization parameters.

