FACULTES UNIVERSITAIRES
NOTRE-DAME DE LA PAIX

FUNDP
NAMUR

NAMUR

FACULTE DES SCIENCES

Conception de nanovecteurs à base de matériaux silicatés mésoporeux hautement structurés organomodifiés pour la délivrance contrôlée de molécules médicamenteuses

Dissertation présentée par
Samuel Martinquet
en vue de l'obtention du grade
de Docteur en Sciences

Composition du Jury :

Prof. Pascal Van Der Voort (UGent, Ghent)
Prof. Steve Lanners (FUNDP, Namur)
Prof. Laurent Houssiaux (FUNDP, Namur)
Dr. Alexandre Léonard (FUNDP, Namur)
Prof. Bao-Lian Su (FUNDP, Namur, Promoteur)

Septembre 2009

FACULTES UNIVERSITAIRES
NOTRE-DAME DE LA PAIX

FUNDP
NAMUR

NAMUR

FACULTE DES SCIENCES

Conception de nanovecteurs à base de matériaux silicatés mésoporeux hautement structurés organomodifiés pour la délivrance contrôlée de molécules médicamenteuses

Dissertation présentée par
Samuel Martinquet
en vue de l'obtention du grade
de Docteur en Sciences

Composition du Jury :

Prof. Pascal Van Der Voort (UGent, Ghent)
Prof. Steve Lanners (FUNDP, Namur)
Prof. Laurent Houssiaux (FUNDP, Namur)
Dr. Alexandre Léonard (FUNDP, Namur)
Prof. Bao-Lian Su (FUNDP, Namur, Promoteur)

Septembre 2009

Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix
FACULTE DES SCIENCES
Rue de Bruxelles, 61 – 5000 NAMUR

Conception de nanovecteurs à base de matériaux silicatés mésoporeux hautement structurés organomodifiés pour la délivrance contrôlée de molécules médicamenteuses

Martinquet Samuel

Résumé

La nécessité de diminuer les effets secondaires liés à l'emploi de tel ou tel médicament n'est plus à démontrer. L'industrie pharmaceutique est toujours à la recherche de moyens pour diminuer ces effets néfastes afin de garantir le bien-être du patient mais également de pouvoir en tirer profit.

L'objectif principal de cette thèse de doctorat est d'étudier la potentialité des matériaux mésoporeux hautement structurés à remplir le rôle de nanovecteur pour la délivrance contrôlée de molécules médicamenteuses afin de pouvoir réduire les effets secondaires liés à l'utilisation de ce médicament.

La première partie de cette thèse aborde dans un premier temps la synthèse de différentes matrices mésoporeuses silicatées CMI-1 possédant différentes propriétés texturales afin d'étudier l'influence de ce paramètre sur la conception du médicament. La conception de matériaux SBA-15 a été envisagée afin d'agrandir la gamme de propriétés texturales étudiées. Dans un deuxième temps, ces synthèses multiples ont permis d'optimiser l'immobilisation de l'Ibuprofen au sein de ces matériaux. Enfin, les profils pharmacocinétiques, illustrant le passage dans des solutions simulant les milieux gastrique et intestinal, des différents médicaments ont été comparés afin de déterminer l'influence des propriétés texturales et la potentialité de ces matrices à jouer le rôle de nanovecteurs.

La deuxième partie traite de la fonctionnalisation des matrices mésoporeuses silicatées CMI-1 et SBA-15 par une fonction propylamine. Ceci a permis de renforcer les interactions Ibuprofen-matrice. L'influence de cette fonction a été étudiée sur l'immobilisation d'Ibuprofen et sur les profils pharmacocinétiques des médicaments conçus.

La dernière partie de cette thèse est consacrée à l'étude de l'influence d'un groupement éthane au sein du réseau silicaté des matériaux PMO. Tout comme pour les matrices précédentes, nous avons étudié l'influence de ces matrices sur l'immobilisation de l'Ibuprofen et le profil pharmacocinétique.

Dissertation présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Sciences
Septembre 2009
Promoteur : Professeur Bao-Lian Su

Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix
FACULTE DES SCIENCES
Rue de Bruxelles, 61 – 5000 NAMUR

Design of nanovectors based on mesoporous silica materials highly structured organomodified for the controlled delivery of medicinal molecules

Martinquet Samuel

Summary

The need for decreasing the side effects related to the employment of such or such drug is further prove. The drug company is always focused on a way to decrease these harmful effects in order to guarantee the wellbeing of the patient but also of being able to benefit from it.

The main aim of this thesis is to study the potentiality of mesoporous materials highly structured to fulfill the role of nanovectors for the controlled delivery of medicinal molecules in order to be able to reduce the side effects related to the use of this drug.

The first part of this thesis initially approaches the synthesis of various silicate mesoporous CMI-1 matrices having various textural properties in order to study the influence of this parameter on the design of the drug. The design of SBA-15 materials was planned in order to increase the range of textural properties studied. Then, these multiple syntheses allow to optimize the immobilization of the actives molecules within these materials. To finish, the pharmacokinetic profiles, in solutions simulating the mediums gastric and intestinal, of various drugs were compared in order to determine the influence of the textural properties and the potentiality of these matrices to play the part of nanovectors.

The second part treats of the functionalization of silicate mesoporous CMI-1 and SBA-15 matrices by an aminopropyl group. This allowed to reinforce the interactions Ibuprofen-matrix. The influence of this function was studied on the immobilization of Ibuprofen and the pharmacokinetic profiles of the designed drugs.

The last part of this thesis is devoted to the study of the influence of an ethane function within the silicate network of PMO materials. Just like for the preceding matrices, we studied the influence of these supports on the immobilization of Ibuprofen and the pharmacokinetics profiles.

Thesis presented for the obtention of the degree of Doctor in Sciences
September 2009
Supervisor: Professor Bao-Lian Su

CHAPITRE 1 : Introduction

I.1 Introduction générale 11

I.1.a Principe actif 14

I.1.b Forme galénique 18

I.2 Nanovecteurs 20

I.2.a Liposomes 22

I.2.b Nanoparticules polymériques biodégradables 23

I.2.c Cyclodextrines 25

I.2.d Polymères inorganiques et hybrides organiques – inorganiques dérivés 28

I.3 Méthode d'immobilisation au sein de structures poreuses silicatées 35

I.3.a Méthode du procédé sol-gel 35

I.3.b Méthode d'imprégnation directe 37

I.3.c Méthodes de fonctionnalisation des surfaces 38

CHAPITRE 2 : Objectifs et stratégie

II.1 Objectifs 41

II.2 Stratégie 41

CHAPITRE 3 : Partie expérimentale

III.1 Protocole de synthèse des matrices mésoporeuses de type CMI-1 48

III.2 Protocole de synthèse des matrices mésoporeuses de type SBA-15 50

III.3 Protocole de synthèse des matrices de type PMO éthane ponté 51

III.4 Protocole de fonctionnalisation des matrices mésoporeuses de type CMI-1, SBA-15 et PMO éthane ponté 53

III.5 Protocole d'immobilisation de la molécule médicamenteuse 54
III.5.a Imprégnation directe 55
III.5.b Effet d'un prétraitement thermique sur l'immobilisation 56
III.5.c Imprégnations successives 56
III.5.d Déposition par filtration 56
III.6 Etablissement des droites de calibration dans différents solvants 57
III.7 Etude du profil cinétique de relargage de l'Ibuprofen 59
III.7.a Préparation des solutions 59
III.7.b Etude de la cinétique de relargage 59
III.8 Méthodes utilisées pour caractériser les différentes matrices mésoporeuses 60

CHAPITRE 4 : Conception d'un médicament à base de matrices mésoporeuses de type CMI-1 et SBA-15

IV.1 Synthèses et caractérisations des nanovecteurs de type CMI-1 et SBA-15 63
IV.1.a Conception de matrices mésoporeuses silicatées CMI-1 63
IV.1.b Conception de matrices mésoporeuses silicatées SBA-15 81
IV.1.c Conclusion 85
IV.2 Immobilisation de l'Ibuprofen au sein des matrices mésoporeuses de type CMI-1 et SBA-15 86
IV.2.a Influence du temps d'immobilisation 86
IV.2.b Influence du solvant 98
IV.2.c Influence de la méthode d'imprégnation 103
IV.2.d Influence des propriétés texturales et morphologiques des matrices CMI-1 114
IV.2.e Immobilisation de l'Ibuprofen au sein des matrices SBA-15 117
IV.3 Influence des propriétés texturales sur le profil de libération 120
IV.3.a Influence du milieu de relargage sur les propriétés des matériaux CMI-1 et SBA-15 121
IV.3.b Profils de libération des matrices CMI-1-Ibu et SBA-15-Ibu 123
IV.3.c Conclusion 127

CHAPITRE 5 : Conception d'un médicament à base de matrices mésoporeuses de type CMI-1 et SBA-15 organomodifiées

V.1 Synthèses et caractérisations des nanovecteurs de type CMI-1 et SBA-15 organomodifiés....130
V.1.a Fonctionnalisation post-synthèse des matériaux CMI-1....130
V.1.b Fonctionnalisation post-synthèse des matériaux SBA-15....143
V.1.c Conclusion....151
V.2 Immobilisation de l'Ibuprofen au sein des matrices CMI-1 et SBA-15 organomodifiées151
V.3 Influence des liens fonctionnels sur le profil de libération....156
V.3.a Profils de libération des matériaux CMI-1-Ibu et CMI-N-x-Ibu....156
V.3.b Conclusion....161

CHAPITRE 6 : Conception d'un médicament à base de matrices mésoporeuses de type PMO et PMO organomodifiées

VI.1 Synthèses et caractérisations des nanovecteurs de type PMO et PMO organomodifiés.164
VI.1.a Synthèse et caractérisation des matrices PMO éthane pontées conventionnelles....164
VI.1.b Fonctionnalisation post-synthèse des matériaux PMO éthane pontés....168
VI.1.c Conclusion....178
VI.2 Immobilisation de l'Ibuprofen dans les matériaux PMO et PMO organomodifiés....179
VI.2.a Immobilisation de l'Ibuprofen dans les matériaux PMO éthane pontés conventionnels..179
VI.2.b Influence de la fonctionnalisation des matrices de type PMO sur l'immobilisation....186
VI.3 Profils de libération des matériaux PMO-Ibu et PMO-N-x-Ibu....190

CHAPITRE 7 : Comparaison des profils de libération des médicaments conçus

VII.1 Profils de libération des matériaux CMI-1-Ibu, SBA-15-Ibu et PMO-Ibu 196

VII.2 Profils de libération des matériaux CMI-N-Ibu, SBA-N-Ibu et PMO-N-Ibu 198

CHAPITRE 8 : Conclusions et perspectives

VIII.1 Conclusions générales 201

VIII.2 Perspectives 204

Comme le veut la tradition, je vais tenter de satisfaire au difficile exercice de l'écriture de la page de remerciements. On sait pertinemment que tout le monde lit les remerciements et que le lecteur est toujours dans l'attente d'émotion. Je vais donc essayer de ne décevoir personne en faisant rire les collègues mais sans oublier de faire pleurer dans les chaumières.

Je tiens à remercier tout d'abord le professeur Bao-Lian Su, mon promoteur, qui m'a permis d'effectuer cette thèse au sein de son laboratoire. Je me souviendrai toujours du temps passé pour les répétitions FRIA, des conseils que vous avez su me donner en tant que professeur mais également en tant qu'homme. Vous avez toujours su catalyser les problèmes que l'on pouvait rencontrer et m'aider à progresser. Plus important encore, vous m'avez fait confiance. Les cinq années passées au laboratoire CMI seront un souvenir inoubliable pour moi et, si l'ambiance du laboratoire a été si bonne, c'est en grande partie grâce à vous.

Mes remerciements s'adressent également aux membres du Jury, les professeurs Pascal Van Der Voort, Steve Lanners et Laurent Houssiaux ainsi que le docteur Alexandre Léonard qui m'ont fait l'honneur d'accepter de participer à l'évaluation de cette thèse.

Je sais également que, si le professeur Bao-Lian Su a été un excellent catalyseur, tous les membres du laboratoire ont plutôt bien réagis ensemble ! Je vais donc remercier les plus anciens dans un premier temps, les vieux de la vieille, ceux qui sont là depuis … ah oui, quand même ! Alex - et oui tu es considéré comme le plus ancien du labo que je connaisse, mis à part Vahit - je te remercie pour les relectures, pour les soirées jeux, pour les discussions, pour ton amitié, pour le GFZ de Montpellier (merci à Arnaud aussi…) et pour tout le reste. Il y aussi les anciens partis vers d'autres horizons. Je voudrais remercier Fred et Sarah pour les moments passés au labo et hors labo. Nico, je me souviendrai toujours de ma première préparation FRIA pendant laquelle on a su trouver le moyen de faire retomber la pression en tapotant sur une souris et un clavier et en parlant de nos R19 communes. J'espère que j'aurai l'occasion de tous vous revoir.

Merci également à tous les membres du laboratoire avec qui j'ai partagé de chouettes moments Aurel, Claire, Timothee, Guo, Yang, Yu Li, Joahnna, Dai, Arnaud (vive la piscine, les Mojitos et la Triforce), Greg, Mat, Martial, Jean-Yves, Marie, Amélie, Dorothee, Zoulika, Vahit, Guy, Isa (merci pour toutes les petites choses qui, mises bout à bout, rendent d'énormes services) et ceux que j'oublie certainement.

Un merci tout particulier à François et John pour le titre de Champion de mini foot 2008 FUNDP, pour l'emballage des petits déjeuners à la Péda pendant l'IMMS et les moments qu'on a pu passer ensemble. Un tout grand merci à Christophe qui a su m'initier à l'art de la pêche et du camping. Phile, merci pour les parties de Poker et S4F ainsi que la course aux trolleys. Merci les amis et merci aussi les copines Virginie, Val, Ophélie, Muriel, Louise, Malika, Pascale, …

Je voudrais profiter des quelques lignes qu'il me reste pour remercier Noan. Il a su me soutenir pendant mon mémoire et me conseiller pendant ma thèse fort de son expérience. Surtout, je te remercie d'être devenu l'ami extraordinaire sur qui je pourrai toujours compter.

Il faut également que je remercie mes amis Vince, David, Philou, Julie, Benja et les matheux avec qui j'ai passé des moments inoubliables en dehors du boulot. Je n'oublierai jamais nos années communes et toutes les anecdotes que nous avons vécues ensemble. Malgré la distance qui nous sépare vous avez toujours une place dans mon cœur.

Je remercie tout particulièrement ma maman, mon papa et mon frère qui ont toujours cru en moi et qui ont toujours été là pour moi. Je remercie également toute ma famille pour avoir passé des heures à essayer de comprendre ce que je faisais vraiment et à me poser des questions toujours utiles. Je voudrais tout spécialement remercier mon papy, ma mamy et mon parrain qui seront toujours dans mon cœur.

Pour terminer, je tiens à te remercier Pauline pour ta patience, tes conseils, ton aide précieuse et surtout je te remercie d'avoir fait de moi celui que je suis aujourd'hui.

Chapitre 1 :
Introduction

Ce chapitre permettra de mettre en évidence les facteurs qui entrent en jeu dans le développement de nouveaux médicaments. La notion de principe actif sera développée à travers l'exemple concret que sont les anti-inflammatoires non stéroïdiens. Ensuite, l'importance des formes galéniques, même simples, sur les propriétés finales d'un médicament sera abordée. Les systèmes de délivrance contrôlée de principe actif feront l'objet d'une attention particulière via la présentation de différents systèmes existant pour finalement arriver à la présentation des polymères inorganiques et les hybrides organiques-inorganiques dérivés et les méthodes d'immobilisation au sein de ces structures poreuses.

I.1 Introduction générale : Des premiers médicaments aux systèmes de délivrance contrôlée

Depuis la nuit des temps, l'homme utilise la nature pour subvenir à ses besoins et pour se soigner. La découverte de nouveaux médicaments a en effet longtemps été liée à l'observation empirique des effets que certaines plantes avaient sur des maladies. A l'aube du 20ème siècle, 90 % des médicaments utilisés par l'humanité étaient des produits naturels. A l'heure actuelle, cette tendance s'est complètement renversée et la majorité des médicaments sont issus de molécules de synthèse. L'un des exemples les plus connus, est celui de l'aspirine (Figure 1.1) qui, en tant que produit synthétique, a supplanté l'écorce de saule. Cette augmentation de produit de synthèse est liée au développement de la chimie et à l'émergence de l'industrie pharmaceutique. Cette dernière est en effet, l'une des plus rentables et importantes économiquement au monde. Elle doit cette prospérité au vieillissement de la population et à l'émergence des services de santé dans de nombreux pays.[1,2]

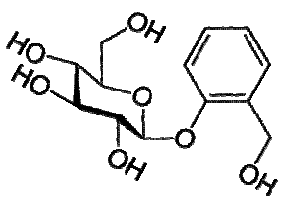
Ces molécules conçues par l'homme sont, pour une grande partie, des dérivés de molécules naturelles. Vu le nombre croissant de produits de synthèse et les remèdes naturels existants, la notion de médicament est devenue assez floue. Il est donc nécessaire de trouver une définition qui permette de développer au mieux un nouveau médicament afin de pouvoir en développer de nouveaux.



Ecorce de saule

Isolation

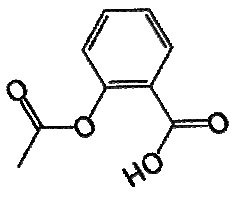
(1827)



Salicine
2-(hydroxymethyl)phenyl-β-D-glucopyranoside

1. Hydrolyse
2. Oxydation
3. Acetylation

(1938)



Aspirine
acide 2-acétyloxybenzoïque

Figure 1.1 : Illustration du passage du remède naturel de l'écorce de saule vers l'aspirine

[1] C. Moussard *Biochimie structurale et métabolique : médecine, pharmacie, science* (2002) Deboeck
[2] J. Libbey *Recherche et innovation pharmaceutique à l'approche du 3ème millénaire* (1994) Eurotext

Le but de tout traitement est d'utiliser un médicament exerçant un seul effet sur un problème particulier ou une série de problèmes. Pour qu'un médicament soit qualifié de bénéfique il faut que le dit médicament exerce les effets que l'on attend de lui et qu'il ne présente aucune toxicité. En outre, il ne peut pas induire des effets secondaires indésirables et son administration doit être aisée.

A l'heure actuelle, aucun médicament sur le marché ne répond à cette définition. En effet, la tentative de vouloir contrôler un processus physiologique entraîne des effets non désirés.

Lorsqu'un nouveau médicament est conçu, tout est fait pour que celui-ci agisse de manière sélective dans la modification d'un processus physiologique. Cependant, la sélectivité de ce médicament n'est que relative. Il est donc capable d'induire aussi bien des effets bénéfiques, que des effets dits secondaires. Il faut donc être capable de déterminer si les effets positifs prévalent sur les effets secondaires. Pour ce faire, l'industrie pharmaceutique dispose d'un moyen qui est l'*indice thérapeutique*. Cet indice va quantifier la qualité d'innocuité d'un médicament donné. Il représente donc le rapport entre les effets positifs d'un médicament à faible dose et ses effets nocifs à plus grande concentration.

Plus la valeur de cet indice est élevée, plus la marge entre les doses bénéfiques et toxiques est élevée. Cette sélectivité relative, cause de tous ces problèmes (effets secondaires), est dictée par plusieurs paramètres : la nature du médicament, la dose administrée et les caractéristiques du patient (Figure 1.2).



Figure 1.2 : Représentation des différents paramètres propres à la sélectivité d'un médicament

L'énumération des facteurs qui entrent en jeu dans la mise au point d'un médicament nouveau peut seule donner une idée de la complexité du problème ainsi posé et de l'étendue des connaissances nécessaires pour le résoudre :

Principe actif : ses propriétés physiques, chimiques et thérapeutiques conditionnent tous les choix qui vont suivre.

Voie d'administration : la plus « normale » est la voie orale mais d'autres voies peuvent être utilisées pour des raisons de stabilité du principe actif ou encore son mode d'action.

Excipient : il en existe énormément et de type différent. Son choix est très important car il conditionne l'efficacité et la bonne conservation du médicament.

Vitesse d'action : les temps d'action ont des répercussions notables sur les effets thérapeutiques et la toxicité.

Forme galénique : désigne la forme individuelle sous laquelle sont mis en forme les principes actifs et les excipients pour constituer un médicament. Elle correspond à l'aspect physique final du médicament tel qu'il sera utilisé chez un patient : comprimés, gélules, sachets, solutions buvables, suspensions injectables, etc (Figure 1.3).



Figure 1.3 : Différents types de formulation : gélules, pilules, …

I.1.a Principe actif

La nature du médicament est, dans un premier temps, propre au principe actif. La synthèse de nouvelles molécules actives est effectuée de manière à ce qu'elles puissent avoir une action sur un récepteur à l'échelle moléculaire. Mais une biomolécule possède une structure chimique bien particulière qui lui confère ses caractéristiques physico-chimiques, à savoir par exemple son pKa, son poids moléculaire, sa lipophilie ou sa capacité à se fixer à des protéines.

Et finalement, ce sont ces propriétés physico-chimiques qui vont conditionner le devenir biologique du principe actif, autrement dit sa distribution, sa transformation et son élimination de l'organisme. Pour illustrer ce concept, prenons l'exemple d'une molécule active qui présente une activité particulièrement efficace sur un récepteur donné en situation in vitro.

Il se peut très bien qu'in vivo, cette molécule ne puisse pas diffuser au travers d'une barrière biologique en raison de ses caractéristiques physico-chimiques et, par conséquent, elle ne pourra atteindre le récepteur souhaité ou encore, elle peut agir sur un récepteur pour lequel elle n'a pas été conçue. De manière semblable, les différentes barrières enzymatiques présentes dans l'organisme peuvent entraîner la dégradation et la métabolisation prématurées d'un principe actif. De ce fait, l'obtention de concentrations efficaces au niveau du site actif, ne peut donc se faire qu'au détriment d'une importante déperdition de médicament vers d'autres tissus ou cellules, ce qui occasionne des effets secondaires importants. C'est l'une des principales limites au développement de ces molécules comme médicaments. Afin d'illustrer ces effets, prenons l'exemple des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).

Au début de l'année 1829, une nouvelle classe de médicaments allait connaître un essor important suite à la découverte de la salicine (Figure 1.4) isolée à partir d'écorce de saule.

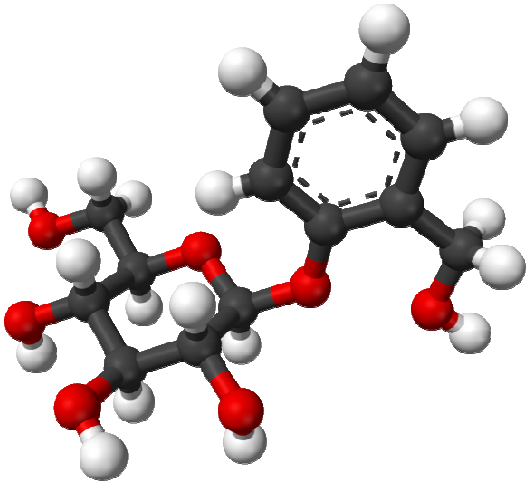


Figure 1.4 : Représentation de la structure 3D du 2-(hydroxymethyl)-6-[2-(hydroxymethyl) phenoxy]oxane-3,4,5-triol

Cette classe de molécules actives se dénomme les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS). Les AINS sont devenus l'un des moyens les plus utilisés par l'industrie pharmaceutique dans le traitement de la douleur (à faibles doses) et de l'inflammation (à des doses plus élevées). Une partie de la popularité des AINS est que, contrairement aux opiacés, ils ne produisent pas de sédation ou de dépression respiratoire et ont un très faible taux de dépendance. Toutefois les AINS ne sont pas sans leurs propres problèmes.

Ces anti-inflammatoires sont des inhibiteurs de la cyclo-oxygénase (COX)[3], enzyme intervenant dans la biosynthèse des prostaglandines (PGD_2, PGE_2, PGF_2), de la prostacycline (PGI_2) et du thromboxane (TXA_2). Ce mécanisme d'action a été élucidé par Sir John Robert Vane, qui a reçu un prix Nobel de physiologie ou médecine pour ses travaux en 1982.[4, 5, 6, 7]

[3] J.R. Vane, R.M. Botting, *Scand. J. Rheumatol.*, 25 (1996), 9
[4] S.H. Ferreira, S. Moncada, J.R. Vane, *Eur. J. Pharmacol.*, 31 (1975), 250
[5] S.H. Ferreira, S. Moncada, J.R. Vane, *Br. J. Pharmacol.*, 47 (1973), 629
[6] S.H. Ferreira, S. Moncada, J.R. Vane, *Nature New Biol.*, 231(1971), 237
[7] J.R. Vane , *Nature New Biol.*, 231 (1971), 232

L'enzyme cyclo-oxygénase existe sous deux isoformes présentant une homologie de séquence d'acides aminés d'environ 60 % (Figure 1.5).[8]

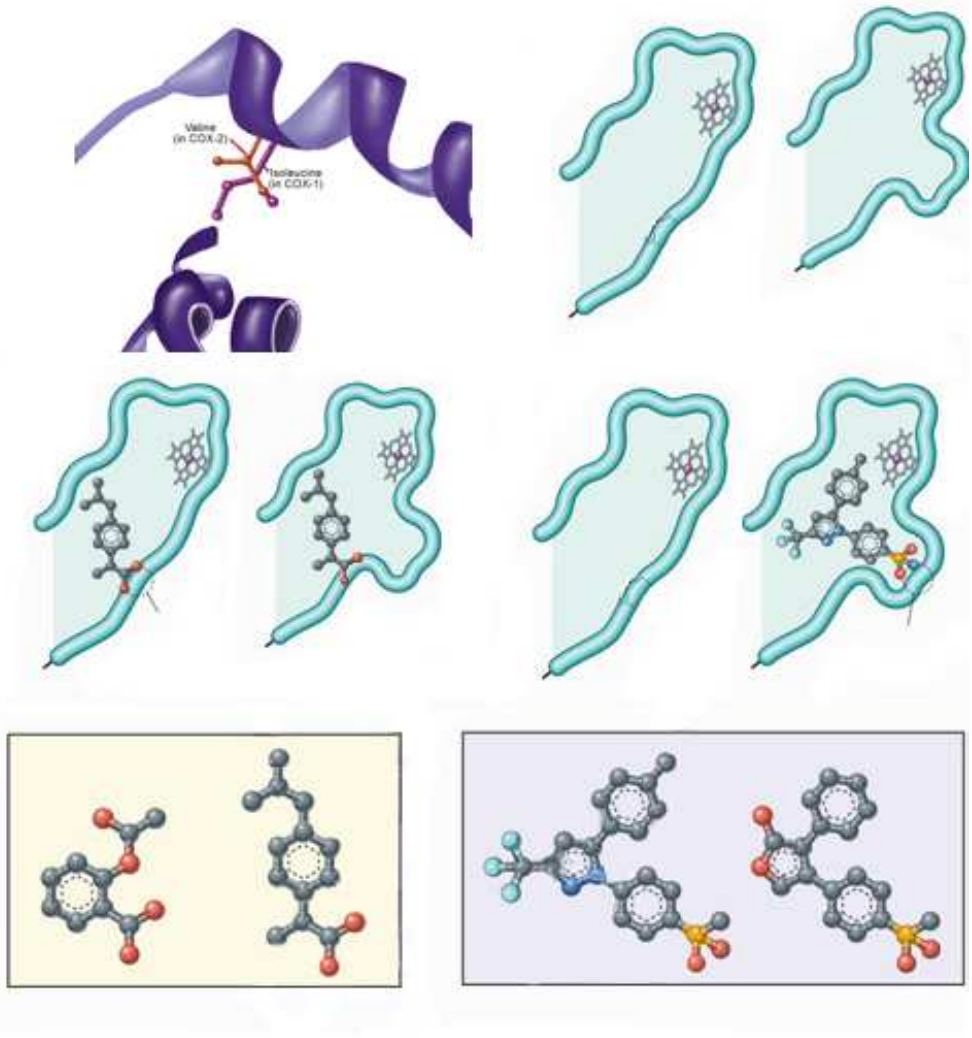


Figure 1.5 : Schématisation de la différence entre les sites actifs de COX-1 et COX-2 montrant la sélectivité des AINS nouvelle génération (les COXIB). Les sites actifs diffèrent par le groupement isoleucine pour la COX-1 et valine pour la COX-2

[8] J. Desmeules, *La Lettre de l'Institut UPSA de la Douleur*, (1999)

- La COX-1 (forme constitutive) est continuellement exprimée dans la plupart des cellules et régule des processus physiologiques essentiels tels que le maintien de l'intégrité de la muqueuse gastrique, le maintien de la perfusion rénale et l'inhibition ou l'induction de l'agrégation plaquettaire, via les substances énoncées ci-dessus.

- La COX-2 (forme inductible) est exprimée en présence de médiateurs inflammatoires (cytokines par exemple) dans de nombreux tissus. Les prostaglandines qu'elle synthétise sont impliquées dans la médiation de la douleur et de l'inflammation.

Les AINS inhibent de façon non sélective les deux isoformes de la COX. Par conséquent, il est facile de déduire que son activité thérapeutique est due à l'inhibition de la COX-2 tandis que la plupart des effets secondaires indésirables[9] ont pour origine le blocage du site actif de la COX-1. Il convient de mentionner ici qu'une troisième isoforme, la COX-3, a été mise en évidence récemment lors d'études sur l'inhibition de cette enzyme par l'acétaminophène.[10]

L'utilisation généralisée des AINS a fait en sorte que les effets néfastes de ces médicaments sûrs sont de plus en plus répandus. Les deux principaux effets indésirables associés aux AINS ont trait à des effets gastro-intestinaux (GI) et des effets rénaux.

Ces effets secondaires sont dans bien des cas suffisamment graves et liés à la durée de la thérapie mais également à la dose administrée. Le risque d'ulcère, de perforation, hémorragique ou dans certains cas de mort limite l'utilisation des AINS. Pourtant, en 2001, les AINS représentent 7 millions de prescriptions et 30 milliards d'euros de chiffre d'affaire chaque année aux États-Unis. De plus, avec le vieillissement des baby-boomers l'utilisation d'AINS est en continuelle augmentation.[11]

Ces observations concernant l'inhibition relative des COX-1 et COX-2 ont mené à l'élaboration d'anti-inflammatoires inhibant sélectivement la COX-2. En effet, il existe une petite différence au niveau du site actif de ces deux enzymes comme le montre la figure 1.5.

[9] N Kourounakis, K. Tsiakitzis, A.P. Kourounakis, D. Galanakis, *Toxicology*, 144 (2000), 205.
[10] N.V. Chandrasekharan, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 99 (2002), 13 926.
[11] G.A. Green, *Clin. Cornerstone.*, 3 (2001), 50

Comme toute molécule de cette classe, elles possèdent une action anti-inflammatoire et présentent sensiblement moins d'effets indésirables gastriques (brûlures, ulcères). Cependant, les différents scandales entourant le Rofecoxib (Vioxx) montrent que le développement et l'utilisation de molécules de ce type provoquent des effets secondaires beaucoup plus graves. En effet, contrairement à l'aspirine et aux anti-inflammatoires non stéroïdiens classiques, elles ne modifient pas la sécrétion de Thromboxane A2. De plus, elles diminuent le taux de prostacycline circulante, cette dernière étant vaso-dilatatrice, l'agrégabilité plaquettaire est alors augmentée et provoque le risque de développer des maladies cardio-vasculaires.[12,13,14,15,16,17]

Afin de préserver l'inhibition sélective de la COX 2, tout en réduisant voire en annihilant les effets secondaires, il est nécessaire de développer une forme galénique adéquate.

I.1.b Forme galénique

En plus de cette partie active, un médicament est constitué d'excipients qui donnent au médicament sa forme finale. Cette forme est appelée la forme galénique.

La pharmacie galénique est la « science et l'art de préparer, conserver et présenter les médicaments ».[18] Il fut un temps où la pharmacie galénique ne semblait s'intéresser qu'aux médicaments de composition complexe ou mal définis c'est-à-dire à ceux qui étaient obtenus par traitement des plantes et des organes animaux. Actuellement, elle concerne la totalité des médicaments puisque tout principe actif nécessite pour son administration une mise en forme galénique et on peut la définir plus clairement par l'énoncé de son objectif : *trouver pour chaque principe actif la présentation médicamenteuse la mieux adaptée au traitement d'une maladie.*

[12] D. Amstrong, *Wall street journal*, 05-15 (2006)
[13] J. Karha, E. J. Topol, *Clin. J. Med.,* 71 (2004), 933
[14] R.S. Bresalier, R.S. Sandler, H. Quan, K. Horgan, *N. Engl. J. Med.*, 352 (2005), 1092
[15] P. Jüni, L. Nartey, S. Reichenbach, R. Sterchi, M. Egger, *The Lancet*, (2004)
[16] Merck & Co., *Response to Article by Juni et al. Published in The Lancet*, 11-05 (2004)
[17] S.D. Solomon, J.J. McMurray, M.A. Pfeffer, P. Finn, *N. Engl. J. Med.*, 352 (2005), 1071
[18] A. Le Hir, *Pharmacie galénique* (2001) Masson

Les formes galéniques précitées ci-dessus, bien qu'ayant une importance, ne modifient que très peu les propriétés du médicament et influencent peu le parcours pharmacocinétique du médicament. Ce parcours est dicté par la manière dont le corps absorbe, distribue, métabolise et excrète les médicaments.

Au début du 20ème siècle, le prix Nobel de médecine de 1908 Paul Ehrlich aspirait déjà à la création de médicament capable d'agir exclusivement sur une cible thérapeutique souhaitée. Durant ces 20 dernières années, d'énormes progrès ont été réalisés dans le domaine de la *délivrance contrôlée* de médicaments, et de ce fait en pharmacie galénique, permettant peut-être au rêve de Paul Ehrlich de se réaliser.

L'administration de médicaments par un système de délivrance contrôlée permet de surmonter les inconvénients liés aux méthodes d'administration conventionnelles. En effet, ces systèmes sont capables de libérer la dose de médicaments désirée à un endroit précis et durant une période de temps déterminée. De cette manière, ils limitent la perte de médicament vers des sites non ciblés, suppriment de ce fait certains effets secondaires indésirables et empêchent l'affaiblissement de l'activité thérapeutique.

La conception de tels systèmes permet à la définition du mot « médicament » de prendre tout son sens. En effet, aucune définition ne mentionne les effets secondaires inhérents à l'utilisation de médicament. Avec la disparition de ceux-ci, l'indice thérapeutique de ces composés devient infini créant ainsi le médicament parfait. Cet espoir est d'autant plus accessible avec l'apparition des nanotechnologies qui ont permis de proposer la vectorisation de molécules actives et de réaliser ainsi d'énormes développements dans le ciblage thérapeutique.

I.2 Nanovecteurs

Le développement des systèmes d'administration contrôlée a été grandement influencé par la nanotechnologie. En effet, il est bien établi que les propriétés et les phénomènes propres à la matière à cette échelle peuvent être très particulier et fort différentes de l'état « bulk » (massif).

En particulier, les chercheurs sont désormais capables de développer de nouveaux matériaux pour des applications telles que des microsystèmes (catalyseurs, nanosenseurs, …) ou des systèmes d'administration de médicaments dont une illustration est reprise en figure 1.6.[19,20,21,22]

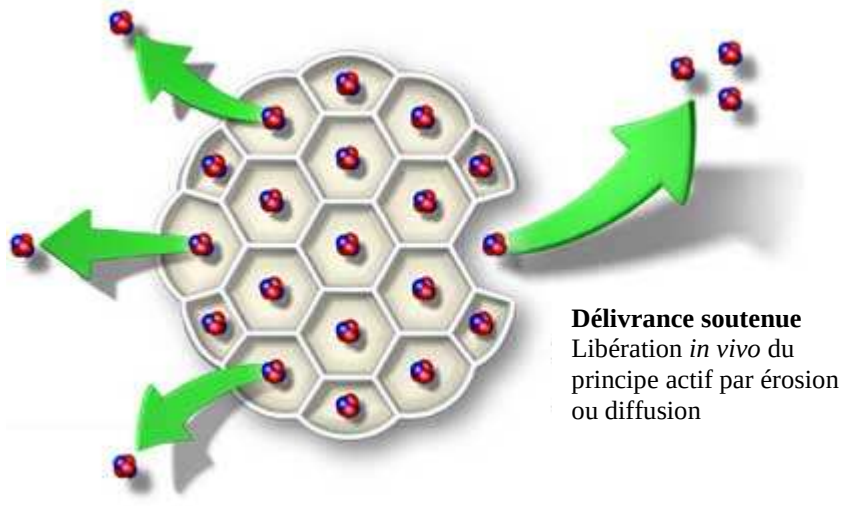


Figure 1.6 : Schématisation d'un système de délivrance contrôlée pour molécules actives

Les systèmes de délivrance contrôlée de médicaments représentent un outil stratégique pour l'industrie pharmaceutique. En effet, cette technologie s'applique aussi bien à la relance du marché des principes actifs déjà créés en augmentant leur efficacité et en diminuant leurs effets secondaires mais, également dans la nécessité de tels systèmes pour les nouvelles molécules actives, très souvent hydrophobes et instables en environnement biologique.

[19] R. Aiello, G. Giordano, F. Testa, *Stud. Surf. Sci. Catal.*, 142 (2002), 1165
[20] C. Tourné-Péteilh, D.A. Lerner, C. Charnay, L. Nicole, S. Bégu, J-M. Devoiselle, *Eur. J. Chem. Phys.and Phys. Chem.*, 3 (2003), 281
[21] M. Vallet-Regi, A. Ramila, R.P. del Real, J. Pérez-Pariente, *Chem. Mater.*,13 (2001), 308
[22] N.K. Mal, M. Fujiwara, Y. Tanaka, *Nature*, 421 (2003), 350

Les différents avantages que l'industrie pharmaceutique peut tirer de l'emploi des vecteurs dans la délivrance de médicaments sont repris ci-dessous.

- Augmentation de la délivrance menant à une performance supérieure caractéristique du produit.

- La durée de vie des médicaments peut être renouvelable par reformulation du principe actif à travers un nouveau système de délivrance.

- Prolongation du brevet de protection.

- Allégement financier de la formulation de nouveaux systèmes de délivrance en comparaison à la découverte de nouvelles molécules.

- Administration de nouvelles molécules faiblement bio-disponibles.

Du fait de ces différents avantages, le développement de nanovecteurs de molécules médicamenteuses connaît un essor considérable depuis ces dernières années. Cette notion de vectorisation consiste à associer le principe actif à un genre de transporteur qui va lui-même avoir des caractéristiques de taille, d'hydrophilicité ou de lipophilicité, de charge, de stabilité et qui, finalement, va permettre de distribuer le médicament, non plus en fonction des caractéristiques physicochimiques de la molécule biologique, mais en fonction de celles du vecteur. Par conséquent, en s'appuyant sur de nouveaux concepts physico-chimiques et sur le développement de nouveaux matériaux (synthèse de nouveaux polymères par exemple) dont les caractéristiques de surface sont maîtrisées, la recherche galénique a permis d'imaginer des systèmes submicroniques d'administration capables, premièrement, de protéger la molécule active de la dégradation et, deuxièmement, d'en contrôler la libération dans le temps et dans l'espace (ciblage vis-à-vis d'un organe, d'un tissu ou d'une cellule). Le besoin de support pour molécules actives présente un réel intérêt aussi bien pour l'industrie qui en tire profit que pour les patients. Et l'essor de différentes matrices aptes à jouer le rôle de nanovecteurs, comme les nanoparticules polymériques biodégradables, les liposomes ou encore la cyclodextrine, confirme ce réel besoin.

Au vu de cet essor, attardons nous sur les différents nanovecteurs qui ont fait l'objet d'études au cours de ces dernières années.

I.2.a Liposomes

Depuis le début des années 80, les liposomes ont été intensivement étudiés en tant que nanovecteurs pour de nombreux principes actifs dans le traitement des cancers et des maladies infectieuses et auto-immunes. Les liposomes (Figure 1.7) sont des systèmes colloïdaux vésiculaires de forme sphérique, biocompatibles et biodégradables, composés d'une bicouche (liposomes unilamellaires) ou de plusieurs bicouches (liposomes multilamellaires) de phospholipides organisés en phase lamellaire, et délimitant un ou plusieurs compartiments aqueux. Du fait de leur taille, de leur double caractère hydrophile et hydrophobe et de leur biocompatibilité, les liposomes ont rapidement été considérés comme des candidats prometteurs en tant que systèmes de libération médicamenteux. Les propriétés des liposomes sont dépendantes de la composition des lipides, de la taille de ceux-ci, de leurs charges et de la méthode de préparation.

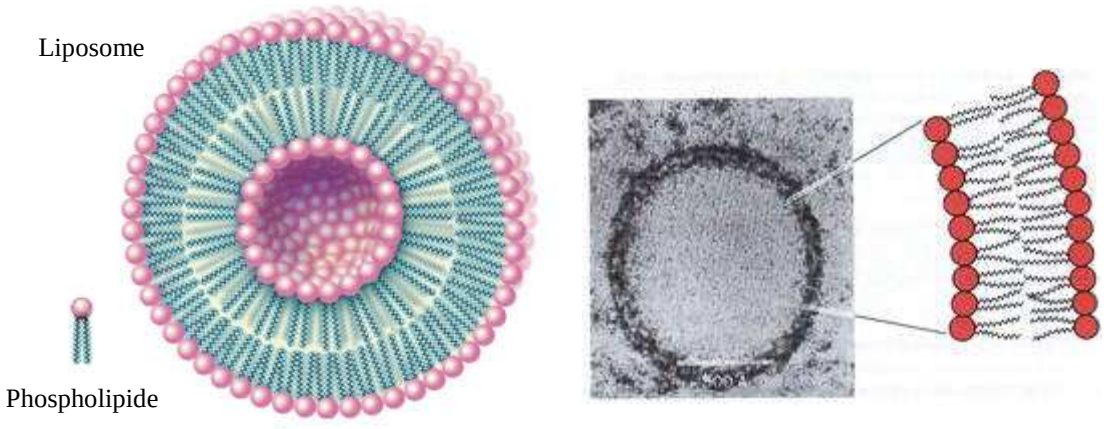


Figure 1.7 : Illustration et micrographie TEM d'un liposome unilamellaire composé d'une bicouche phospholipidique délimitant un compartiment aqueux

Des principes actifs hydrophiles peuvent être encapsulés dans la phase aqueuse tandis que les molécules lipophiles se localisent dans la (les) bicouche(s). Cette association modifiera profondément le profil pharmacocinétique de la molécule en comparaison de la libération de celle-ci de manière classique en solution.[23,24]

Cependant, pour certaines applications, les liposomes sont instables du fait de leur nature phospholipidique. C'est pour cette raison que les chimistes des polymères ont développé des systèmes synthétiques à l'échelle nanométrique.

1.2.b Nanoparticules polymériques biodégradables

L'intérêt porté aux développements de nanoparticules polymériques biodégradables comme système de délivrance médicamenteux n'a pas cessé de croître ces dernières années.[25,26,27,28]

Les nanoparticules sont des systèmes colloïdaux, de taille variant entre 100 et 500 nm et dont la structure est constituée de polymères biodégradables incluant les biopolymères (Gelatin, Albumin, Polysaccharides,…) et les polymères synthétiques (polyacide lactique, polyacide glycolique, polymethacrylate de methyle, polyuréthane, polyalkylcyanoacrylate, etc.). [29,30]

Le principe actif qui nécessite un contrôle de son administration est soit dissout, emprisonné, adsorbé, attaché ou encapsulé au sein de la nanoparticule. En fonction de la méthode de préparation, des nanoparticules, des nanosphères ou encore des nanocapsules peuvent être obtenues (Figure 1.8).

[23] A. Gabizon, D. Goren, R. Cohen,. *J. Control. Release*, 53 (1998), 275
[24] T.-M. Allen, *Drugs*, 54 (1997) (suppl.4), 8
[25] I. Brigger, C. Dubernet, P. Couvreur, *Adv. Drug Deliv. Rev*, 54 (2002), 631
[26] J. Panyam, V. Labhasetwar, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 55 (2003), 329
[27] Y. Pellequer, Y. Meissner, N. Ubrich, A. Lamprecht, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 229 (2001), 775
[28] C.M. Niemeyer, C.A. Mirkin, *Nanobiotechnology*, (2004) Wiley-VCH
[29] J. Panyam, V. Labhasetwar, *FASEB J.* 16 (2002), 1217
[30] J. Davda, *Int. J. Pharm*., 233 (2002), 51

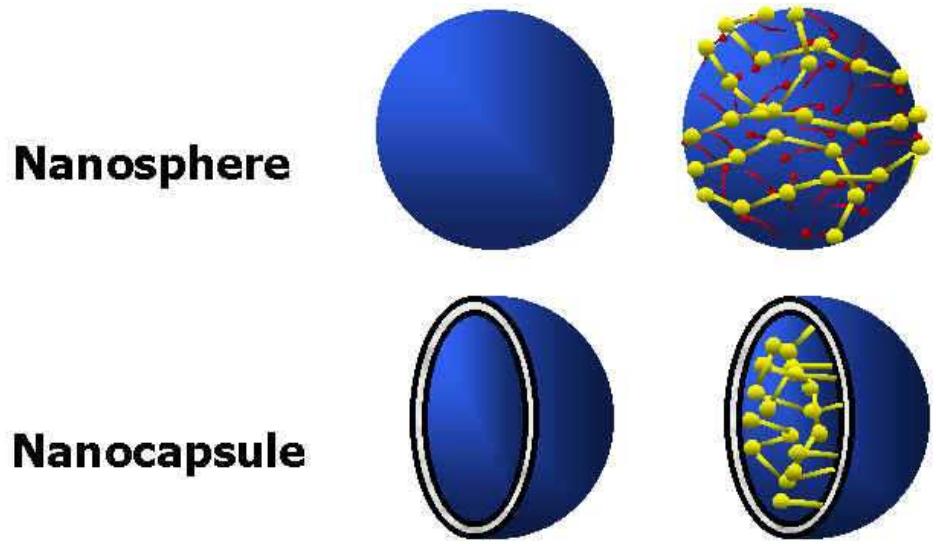


Figure 1.8 : Illustration de nanosphère et nanocapsule poymériques

Les nanoparticules peuvent être de type matriciel ; dans ce cas, le principe actif peut être dispersé ou dissout dans la matrice polymère et être libéré par simple diffusion du principe actif hors de la matrice ou à la suite de la biodégradation du polymère dans l'organisme. Les nanoparticules[27] peuvent aussi être de type réservoir ; dans ce cas, elles sont constituées d'un noyau central généralement liquide (solution contenant le principe actif) entouré par une mince paroi de polymère dont l'épaisseur ne dépasse pas quelques nanomètres. Le choix du type de polymère dépendra de l'application thérapeutique du système, de la manière dont le principe actif doit être libéré et de la biocompatibilité.

L'avantage de l'utilisation de ce type de particules en tant que vecteurs de médicaments provient de leurs deux principales propriétés. Tout d'abord, leur petite taille leur permet de pénétrer au travers de petits capillaires et d'être pris en charge par les cellules et ainsi d'avoir une action efficace sur un site actif ciblé.[31, 32, 33, 34]

De plus, l'utilisation d'un matériel biodégradable permet de délivrer le principe actif de manière soutenue pendant plusieurs jours voire plusieurs semaines.

[31] M.P. Desai, V. Labhasetwar, G.L. Amidon, R.J. Levy, *Pharm. Res.*, 13(1996), 1838
[32] M.P. Desai, V. Labhasetwar, G.L. Amidon, R.J. Levy, *Pharm. Res.*, 14 (1997), 1568
[33] J. Panyam, V. Labhasetwar, *Int. J. Pharm.*, 262 (2003), 1
[34] M. Thomas, A. M. Klibanov, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 100 (2003), 9138

En plus de leurs nombreux avantages, les liposomes et les nanoparticules présentent cependant plusieurs inconvénients :

- leur préparation est généralement effectuée à partir d'émulsions nécessitant des solvants organiques dont l'élimination est rendue difficile en raison des surfaces spécifiques considérables développées par ces systèmes ultradispersés ;
- les techniques de préparation comportent souvent plusieurs étapes, onéreuses pour l'industrie pharmaceutique, pour le développement d'un nouveau médicament. Une application à des pathologies très vastes semble inabordable ;
- ils libèrent souvent rapidement les molécules encapsulées.

Pour ces raisons, d'autres alternatives ont été étudiées, et parmi elles, les cyclodextrines.

I.2.c Cyclodextrines

Les cyclodextrines[35] (Figure 1.9) sont des molécules « hôtes naturelles » obtenues par dégradation enzymatique de l'amidon.

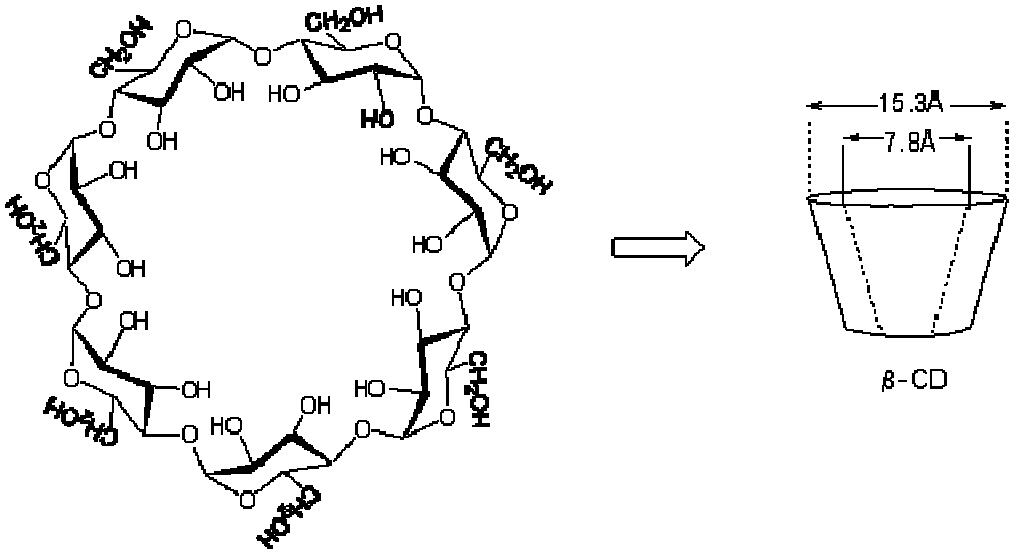


Figure 1.9 : Structure d'une β-cyclodextrine présentant une forme conique tronquée creuse

[35] T. Loftsson, M. Masson, *Int. J. Pharm.*, 225 (2001), 15

Elles se présentent sous forme d'oligomères cycliques du glucose et comportent de 6 à 12 unités. Les plus abondantes sont les hexamères (α-cyclodextrine), les heptamères (β-cyclodextrine) et les octamères (γ-cyclodextrine). L'ensemble des groupes polaires (hydroxyles OH) sont localisés à l'extérieur, délimitant ainsi une cavité relativement hydrophobe. Ce caractère amphiphile permet aux cyclodextrines d'inclure (partiellement ou en totalité) dans leur cavité des molécules hydrophobes pour former des complexes d'inclusion solubles dans l'eau.

En effet, en solution aqueuse, la cavité des cyclodextrines est occupée par des molécules d'eau. Cette situation énergétiquement défavorable permet une substitution aisée par des molécules hôtes généralement hydrophobes. C'est non seulement les interactions faibles (interactions de Van der Waals, liaisons hydrogènes, interactions hydrophobes, etc.) se formant entre la cyclodextrine et la molécule, mais aussi la diminution d'enthalpie et l'augmentation d'entropie engendrées par l'expulsion des molécules d'eau qui sont à l'origine de la formation d'un complexe stable.

Le caractère biodégradable de ces oligosaccharides cycliques les prédispose à des applications importantes dans le domaine pharmaceutique[36]. L'encapsulation dans les cyclodextrines permet en effet de protéger des molécules fragiles et d'assurer leur libération lente et contrôlée. De plus, la solubilisation de molécules actives insolubles dans l'eau sous forme de complexes d'inclusion dans les cyclodextrines permet de disposer de préparations injectables. Ce processus s'applique à de très nombreux médicaments insolubles dans l'eau et dans les fluides physiologiques (anti-inflammatoires, stéroïdes, anti-tumoraux, etc.).[37]

La cyclodextrine peut être modifiée chimiquement pour optimiser les interactions entre la molécule encapsulée et la cyclodextrine, pour augmenter la solubilité aqueuse du complexe d'inclusion ou pour diriger celui-ci vers l'organe à traiter.

[36] K. Uekama, F. Hirayama, T. Irie, *Chem. Rev.*, 98 (1998), 2045
[37] F. Djedaïni-Pilard, S.Z. Lin, B. Perly, D. Wouessidjewe, *J. Pharm. Sci.*, 79 (1990), 643

Un exemple de cette dernière application concerne le ciblage de médicaments neurotropes, c'est-à-dire agissant directement au niveau cérébral. Pour ce faire, un peptide (la leucine-enképhaline), qui présente une très grande affinité pour les récepteurs cérébraux de la morphine, est greffé sur la β-cyclodextrine.[38]

Récemment, des nanoparticules formées au départ de polycyclodextrine et de dextran ont été brevetées.[39] Les polycyclodextrines sont solubles dans l'eau, tout comme le dextran (polysaccharide) ; ce qui va permettre de travailler en milieu aqueux (pas de solvant organique). Pour pouvoir synthétiser ces nanoparticules, une chaîne hydrophobe d'au moins 8 atomes de carbone (qui va se placer dans la cage formée par les cyclodextrines) est préalablement fixée au dextran. Ensuite, un simple mélange de solutions aqueuses de polycyclodextrines et de molécules de dextran (munies de chaînes hydrophobes) va permettre à ces dernières de se positionner dans les cavités de la polycyclodextrine pour former un édifice macromoléculaire et nanoparticulaire. Les biomolécules peuvent être mises dans les cages de cyclodextrine soit avant de réaliser le mélange, soit après. Cette méthode nécessite très peu d'étapes.

La cyclodextrine n'est pas le seul vecteur de molécules prometteur. Ces dernières décennies, des matériaux hybrides organiques-inorganiques furent synthétisés et rapidement considérés comme les matériaux les plus porteurs d'innovations dans de nombreux domaines (optique, électronique, mécanique, catalyseur, capteur) et ont déjà reçu de nombreuses applications (nanosenseur, nanovecteur, catalyseur,…).[40,41,42]

[38] T.L. Yaksh , J.D. Jang , Y. Nishiuchi, K.P. Braun, S.G. Ro, M. Goodman, *Life Sci.*, 48 (1991), 623

[39] R. Gref, C. Amiel, B. Sebille, P. Couvreur, *Dispersions aqueuses de particules nanométriques ou micrométriques pour l'encapsulation de composés chimiques,* Brevet : Référence 0208766, déposé le 11 juillet 2002.

[40] H.-C. Tsai, R.-A. Doong, H.-C. Chiang, K.-T. Chen, *Anal. Chim. Acta*, 481 (2003), 75

[41] M. Vallet-Regi, A. Ramila, R.P. del Real, J. Pérez-Pariente, *Chem. Mater.*, 13 (2001), 308

[42] P.L. Llewellyn, U. Ciesla, H. Decher, R. Stadler, *Stud. Surf. Sci. Catal*., 84 (1994), 2013

I.2.d Polymères inorganiques et hybrides organiques – inorganiques dérivés

En 1983 déjà, K. Unger[43] et ses collaborateurs proposaient d'utiliser la silice pour la libération contrôlée de médicaments préalablement incorporés dans le réseau poreux d'un xérogel silicé. Les résultats obtenus montrent que la silice se présente comme un vecteur très prometteur pour la délivrance *In Vivo* contrôlée de molécules médicamenteuses.

a) Les matrices silicées par procédé sol-gel :

Lors de ce procédé, le nanovecteur silicique étant biocompatible ne provoque aucun effet secondaire pour les tissus humains. Sa dégradation implique l'hydrolyse d'une partie des liaisons siloxanes, menant à des dérivés siliciques lesquels sont éliminés de l'organisme par les reins. Des avancées considérables ont été réalisées, depuis lors, dans l'immobilisation de molécules biologiques dans des matrices inorganiques silicatées préparées par la méthode sol-gel.[44,45] Celles-ci sont aisément préparées par hydrolyse d'un alkoxyde de silicium suivie d'une polycondensation en présence de la molécule à encapsuler.

[43] K. Unger, H. Rupprecht, B. Valentin, W. Kircher, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 9 (1983), 69
[44] R. Gupta, N.K. Chaudhury, *Biosens. Bioelectron.*, 22 (2007), 2387
[45] T. López, P. Quintana, J.M. Martínez, D. Esquivel , *J. Non-Cryst. Solids*, 353 (2007), 987

Grâce à l'immobilisation par procédé sol-gel, le contrôle du taux de libération de la molécule médicamenteuse peut être obtenu en faisant varier divers paramètres[46] tels que :

- la substitution d'un alkoxysilane par un alkoxysilane organomodifié pendant la synthèse, de façon à modifier les interactions entre la matrice et le principe actif ;

- la modification de la surface du gel silicaté, en utilisant des agents de fonctionnalisation pour améliorer l'affinité de la surface vis-à-vis de la molécule et permettre la libération de médicaments très hydrophobes ;

- la variation du rapport eau/alkoxysilane permettant de modifier la taille des pores, celles-ci jouant un rôle important pour le contrôle du relargage.

Les matrices synthétisées par le procédé sol-gel possèdent des avantages non négligeables pour l'immobilisation de molécules organiques comme la possibilité de modifier la surface du matériau, une taille moyenne de pores modulable, une répartition relativement homogène de la molécule au sein de la matrice et une biocompatibilité de la silice. Cependant, cette méthode d'immobilisation a rapidement montré ses limites.

En effet, les matériaux synthétisés possèdent une distribution de taille de pores inhomogène et des canaux désordonnés induisant des interactions différentes pour chaque molécule et provoquant un relargage propre à chaque site. C'est la raisons pour laquelle les chercheurs se sont tournés vers des systèmes plus homogènes tout en gardant les avantages inhérents à l'utilisation de la silice.

[46] H. Böttcher, P. Slowik, W. Suss, *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, 1 (1998), 277

b) Les matériaux mésoporeux silicatés hautement structurés par l'utilisation d'agents structurants : MCM, CMI, SBA, PMO

En 1992, les chercheurs du groupe Mobil apportèrent une solution aux problèmes liés à la technique sol-gel en synthétisant pour la première fois des matériaux mésoporeux silicatés hautement structurés (M41S).[47] Ces matrices possèdent des caractéristiques très intéressantes par rapport aux autres matériaux utilisés comme vecteurs de molécules médicamenteuses.

En effet, elles sont caractérisées par une surface spécifique proche de 1000 m^2/g, une organisation des canaux (hexagonale pour les MCM-41, cubique pour les MCM-48 et lamellaire pour les MCM-50) et un volume poreux pouvant excéder 1 cm^3/g (Figure 1.10).

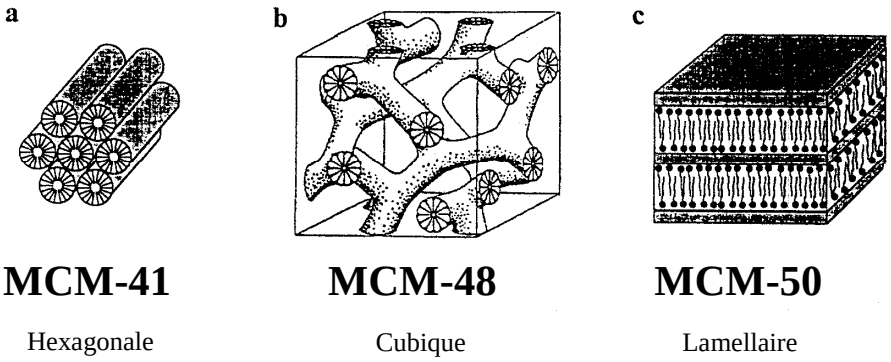


Figure 1.10 : Schéma des différentes mésophases des matériaux mésoporeux silicatés hautement structurés M41S

De plus, ces matériaux sont constitués d'un grand nombre de silanols distribués sur leur surface autorisant la modification de celle-ci si nécessaire afin de permettre la modification des interactions entre le support et le principe actif.

[47] J.S. Beck, J.C. Vartuli, W.J. Roth, M.E. Leonowicz, C.T. Kresge, *J. Am. Chem. Soc.*, 114 (1992), 10834

Toutes ces caractéristiques font des M41S des hôtes très intéressants pour l'immobilisation de molécules médicamenteuses en vue de leur exploitation en tant que système de délivrance contrôlée pour des médicaments.[48] Cependant, le matériau mésoporeux MCM-41 est obtenu par polymérisation d'une source de silice autour de micelles de surfactant cationique lequel sert de gabarit pour structurer la croissance du réseau silicaté. Ce surfactant, le bromure de cétyltriméthylammonium, possède une tête hydrophile constituée d'un groupement ammonium pouvant laisser des traces d'ammonium indésirables et toxiques pour le corps humain, ce qui est peu compatible avec une utilisation pharmacologique.

Notre laboratoire a également mis au point une nouvelle classe de matériaux mésoporeux hautement structurés (possédant les mêmes avantages que les MCM-41) synthétisés à partir de surfactant neutre et dénommés les CMI-n (Chimie des Matériaux Inorganiques).[49] Le tensioactif utilisé présente l'avantage, contrairement au CTMABr, d'être biodégradable et non toxique. En effet, ces surfactants de type polyoxyéthylène alkyl éther sont couramment utilisés dans la production de détergents, de plus, la taille des pores des matériaux CMI-1 est légerement supérieure à celle des MCM. Tous ces avantages font du matériau mésoporeux CMI-1 un hôte idéal pour l'immobilisation de molécules médicamenteuses.

Cependant, des recherches effectuées sur la taille de pores montrent que celle-ci peut avoir une influence sur le taux de chargement en molécules actives.[48] La taille de pores des matrices CMI-1 est tout à fait ajustable mais même à l'aide d'agent gonflant celle-ci reste comprise entre 3 et 8 nm. En 1998, Zhao et ses collaborateurs ont synthétisé des matrices mésoporeuses hautement structurées en utilisant des surfactants copolymères triblocs (polyoxyéthylène-polyoxypropylène-polyoxyéthylène) (Figure 1.11) en milieu très acide dénommées SBA-15.[50]

[48] C.Charnay, S. Bégu, C.Tourné-Péteilh, L.Nicole, D.A. Lerner, J.M. Devoiselle, *Eur. J. Pharma. Biopharma.*, 57 (2004), 533
[49] J.L. Blin, A. Léonard, B.L. Su, *Chem. Mater*., 13 (2001), 3542
[50] D. Zhao, Q. Huo, J. Feng, B.F. Chmelka, G.D. Stucky, *J. Am. Chem. Soc.*, 120 (1998), 6024

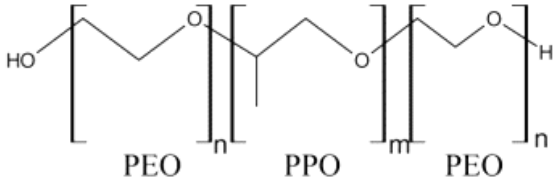


Figure 1.11 : Surfactant utilisé pour la synthèse du matériau SBA-15 (PEO-PPO-PEO)

Ses avantages par rapport aux MCM-41 et aux CMI-1 sont une taille de pores plus grande ainsi qu'une meilleure résistance aux milieux acides attendue grâce aux conditions de synthèse et aux parois plus épaisses. Ces avantages pourraient s'avérer cruciaux dans la conception d'un système de délivrance contrôlée de molécules actives.

En effet, le parcours d'un médicament dans le corps humain passant par le milieu gastrique (pH de 1,2), il est nécessaire que le matériau ne subisse aucune dégradation, retenant ainsi la molécule active jusqu'au milieu intestinal où elle sera libérée. De plus, une large gamme de tailles de pores (de 5 à 30 nm) peut être obtenue pour ces matériaux[51].

En plus des effets de la taille de pores sur l'immobilisation et le relargage, l'interaction entre le principe actif et le support est capitale. Que ce soit dans le cas des matériaux MCM, CMI ou SBA, la surface silicatée des canaux peut être modifiée par greffage d'entités organiques permettant ainsi de moduler les interactions avec les molécules thérapeutiques à l'instar des cavités hydrophobes des cyclodextrines. Néanmoins, lors de cette fonctionnalisation la surface spécifique et le volume poreux accessibles se trouvent réduits et un greffage inhomogène risque d'altérer les profils de relargage.

De plus, la fonctionnalisation des matériaux mésoporeux en pure silice via une co-condensation entre un tétraalkoxysilane et un dérivé trialkoxysilane mène généralement à une structure désordonnée ; tandis que la fonctionnalisation par une réaction post-synthèse de ce même trialkoxysilane avec les silanols de la surface interne du matériau aboutit à un plus faible taux d'insertion de groupes organiques. Ces inconvénients peuvent être surmontés lors de l'utilisation de matériaux PMO (Periodic Mesoporous Organosilica).

[51] T. Yamada, H. Zhou, K. Asai, I. Honma, *Mater. Lett.*, 56 (2002), 93

En effet, en 1999, S. Inagaki et ses collaborateurs[52] ont synthétisé pour la première fois une nouvelle classe de matériaux mésoporeux silicés intégrant des chaînes organiques dans une charpente de silice.[53,54,55] Ainsi, plutôt que de greffer des espèces organiques à la surface des canaux, il est possible d'introduire ces fonctions organiques directement dans les parois poreuses, et pas uniquement en surface, en utilisant des précurseurs bis(trialkoxysilyl) $\{(RO)_3Si\text{-}R'\text{-}Si(OR)_3\}$ incluant des chaînes organiques.[56,57,58,59]

Ces matériaux hybrides biocompatibles combinent les propriétés organiques avec les matériaux inorganiques et présentent, tout comme les CMI-1, une structure ordonnée (arrangement hexagonal de canaux unidirectionnels) ainsi que des pores uniformes et une surface spécifique élevée.

De plus, les PMO possèdent des distributions homogènes de groupes fonctionnels à travers la structure entière (Figure 1.12) (induisant des interactions homogènes partout dans la matrice) et permettent d'éviter un éventuel blocage des pores par des chaînes organiques.

[52] S. Inagaki, S. Guan, T. Ohsuna, O. Terasaki, *Nature*, 416 (2002), 304
[53] M.C. Burleigh, M.A. Markowitz, S. Jayasundera, M.S. Spector, C.W. Thomas, B.P. Gaber, *J. Phys. Chem.*, 107 (2003), 12628
[54] O. Muth, C. Schellbach, M. Fröba, *Chem. Commun.*, (2001), 2032
[55] X. Y. Bao, X.S. Zhao, X. Li, P. A. Chia, J. Li, *J. Phys. Chem.*, 108 (2004), 4684
[56] S. Hamoudi, S. Kaliaguine, *Chem. Commun.*, (2002), 2118
[57] M.A. Wahab, I. Kim, Chang-Sik Ha, *J. Solid State Chem.*, 177 (2004), 3439
[58] U. Diaz-Morales, G. Bellussi, A. Carati, R. Millini, W. O'Neil Parker, C. Rizzo, *Microporous Mesoporous Mater.*, 87 (2005), 185
[59] S.Z. Qiao, C.Z. Yu, Q.H. Hu, Y.G. Gin, X.F. Zhou, X.S. Zhao, G.Q. Lu, *Microporous Mesoporous Mater.*, 91 (2006), 59

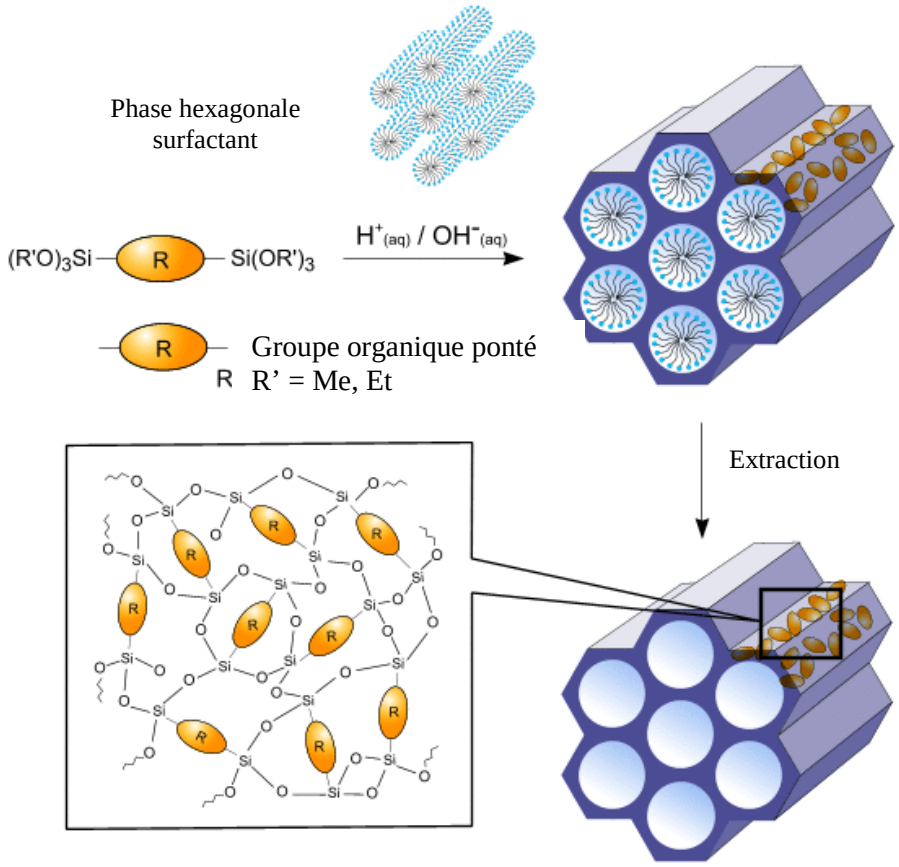


Figure 1.12 : Schéma de la structure et l'organisation des matériaux PMO

Comme pour les matériaux mésoporeux en pure silice, les matériaux PMO peuvent être synthétisés à partir de surfactants cationiques (bromure de cétyl triméthylammonium), neutres **(**Brij 76 : $CH_3(CH_2)_{17}(OCH_2CH_2)_{10}OH$**)**, ou copolymères tri-blocs (polyoxyéthylène/polyoxypropylène/polyoxyéthylène). Le principe de synthèse des PMO est identique à celui des matériaux mésoporeux en pure silice, à savoir la polymérisation de la source préalablement hydrolysée (en milieu acide ou basique) autour de micelles de surfactant. Les mécanismes de ces réactions d'hydrolyse et de polycondensation sont représentés à la figure 1.12 où R' représente la chaîne organique que l'on souhaite introduire dans les matrices PMO.

Bien évidemment, dans l'optique d'une vectorisation, ces ponts organiques devront présenter une fonction complémentaire à la biomolécule à immobiliser. Tous ces avantages font des matrices de type CMI-1, PMO et SBA-15 des hôtes prometteurs pour l'immobilisation de molécules médicamenteuses.

I.3 Méthode d'immobilisation au sein de structures poreuses silicatées

Les premières méthodes utilisées pour immobiliser une molécule sur un support étaient basées sur l'adsorption physique[60], la formation d'un lien covalent entre une surface fonctionnalisée et la molécule[61] ou encore l'encapsulation dans des membranes semi-perméables.[62] Malheureusement, ces techniques se sont révélées trop fastidieuses car elles nécessitent une réoptimisation totale de la méthode pour chaque nouvelle molécule immobilisée.

L'inefficacité de ces techniques a poussé un grand nombre de chercheurs à développer d'autres méthodes plus efficaces. Ainsi, d'autres techniques ont vu le jour : la méthode du procédé Sol-gel, la méthode d'imprégnation directe et les méthodes de fonctionnalisation des surfaces.

I.3.a Méthode du procédé sol-gel

Le procédé sol-gel implique l'immobilisation de la molécule au cours de la synthèse du matériau silicaté poreux. La formation du matériau commence par une hydrolyse d'un précurseur inorganique en silice pour former un sol aqueux. L'hydrolyse peut être aussi bien catalysée en milieu acide qu'en milieu basique.

[60] E. T. Vandenberg, R. S. Brown, U. J. Krull, I. E. Veliky (ED.), *Elsevier*, Holland, (1983), 129
[61] H. H. Weetall, *Appl. Biochem. Biotech.*, 41 (1993), 157
[62] L. Doreti, D. Ferrara, S. Lora, *Biosens. Bioelectron.,* 8 (1993), 443

Plusieurs étapes interviennent dans la synthèse par la méthode sol-gel. Celles-ci sont présentées dans la figure 1.13.

$$Si\text{-}(OR)_4 + H_2O \rightarrow Si\text{-}(OR)_3OH + ROH \text{ (hydrolyse)}$$

$$Si\text{-}(OR)_3OH + Si\text{-}(OR)_4 \rightarrow (RO)_3\text{-}Si\text{-}O\text{-}Si\text{-}(OR)_3 + ROH \text{ (condensation)}$$

$$Si\text{-}(OR)_3OH + Si\text{-}(OR)_3OH \rightarrow (RO)_3\text{-}Si\text{-}O\text{-}Si\text{-}(OR)_3 + H_2O \text{ (condensation)}$$

Figure 1.13 : Réactions d'hydrolyse et de condensation d'une source alkoxysilane intervenant dans le procédé sol-gel

Ensuite, le précurseur hydrolysé est mélangé avec une solution tampon contenant la molécule. La variation de pH, due à l'ajout de cette solution tamponnée, va entraîner une gélification du sol due à la réaction de polycondensation du précurseur et donc un emprisonnement de la molécule au sein de la matrice poreuse. Le gel obtenu contient entre 50 et 80 % d'eau et présente une distribution de taille de pores, relativement large, comprise entre 2 et 200 nm.

Vient ensuite une étape de vieillissement au cours de laquelle la condensation et la polycondensation continuent. Cette étape dure plusieurs heures voire plusieurs jours et est accompagnée de l'élimination de l'eau et de l'alcool libérés lors de la réaction d'hydrolyse et de condensation de la source de silice. Durant cette étape de vieillissement, la pression capillaire, exercée sur les parois des pores due à l'évaporation de l'eau et de l'alcool, provoque une diminution de la taille de pores. En effet, celle-ci passe d'environ 200 nm à une taille de pores comprise entre 1,0 et 20,0 nm (Figure 1.14).[63]

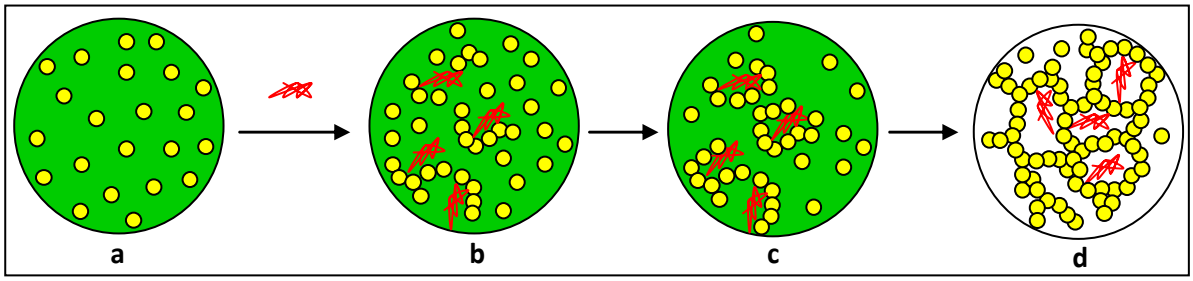


Figure 1.14 : Schéma représentatif de l'encapsulation d'une molécule dans une matrice silicée par le procédé sol-gel a) formation du sol durant les étapes d'hydrolyse et de condensation. b) addition de la molécule au sol c) immobilisation de la molécule par le réseau silicaté d) encapsulation de la molécule dans le matériau silicaté

[63] J. Livage, *Science*, 2 (1997), 132

Les avantages liés à cette technique sont :

- les conditions douces d'immobilisation ;
- la taille de pores modulable ;
- la possibilité de la modification des surfaces internes ;
- la transparence optique ;
- la répartition homogène de la molécule au sein de la matrice.

Le procédé sol-gel est une méthode courante mais elle présente certains inconvénients. Il est important que la molécule puisse garder sa flexibilité conformationnelle et qu'elle soit capable de se mouvoir dans les cas nécessaires. Or, le rétrécissement de la matrice, lors du vieillissement, peut induire un changement significatif de la structure de la molécule ou l'empêcher de tout mouvement et peut donc causer son inactivité. De plus, certaines molécules immobilisées se retrouvent piégées à cause du rétrécissement des pores. Cette technique est de plus peu reproductible car le rétrécissement, lors de l'étape de vieillissement, n'est que très peu contrôlé.

I.3.b Méthode d'imprégnation directe

L'imprégnation directe est une des méthodes les plus simples pour immobiliser une molécule dans une matrice poreuse. La quantité en molécules encapsulées dans le matériau mésoporeux sera mesurée en calculant la différence entre la concentration en molécules introduite initialement et celle contenue dans le surnageant après imprégnation. Ces concentrations sont en général déterminées par spectroscopie UV/Visible ou en analysant la matrice imprégnée par thermogravimétrie.

L'imprégnation directe, très simple à mettre en œuvre, présente un défaut relativement important. En effet, la molécule n'étant que faiblement adsorbée à l'intérieur de la structure poreuse, une remise en solution peut mener à une désorption rapide de la surface interne des canaux.

La désorption des molécules peut être diminuée voire contrôlée en fonctionnalisant la surface de la matrice et en créant ainsi une interaction plus importante entre le support et la molécule à immobiliser.[64]

I.3.c Méthodes de fonctionnalisation des surfaces

Il existe deux types de méthodes permettant la fonctionnalisation :

la fonctionnalisation In situ [38] qui consiste à faire co-condenser deux sources de silice, l'une étant responsable de la formation de l'ossature de la matrice mésoporeuse, le tetraalkoxysilane, et l'autre un organo trialkoxysilane pourvu du groupement désiré ;

la fonctionnalisation Post synthèse [65] qui consiste à greffer le groupement après synthèse et calcination du matériau. Pour cela, le matériau une fois synthétisé réagit avec la source de silice fonctionnalisée de type organo trialkoxysilane (Figure 1.15).

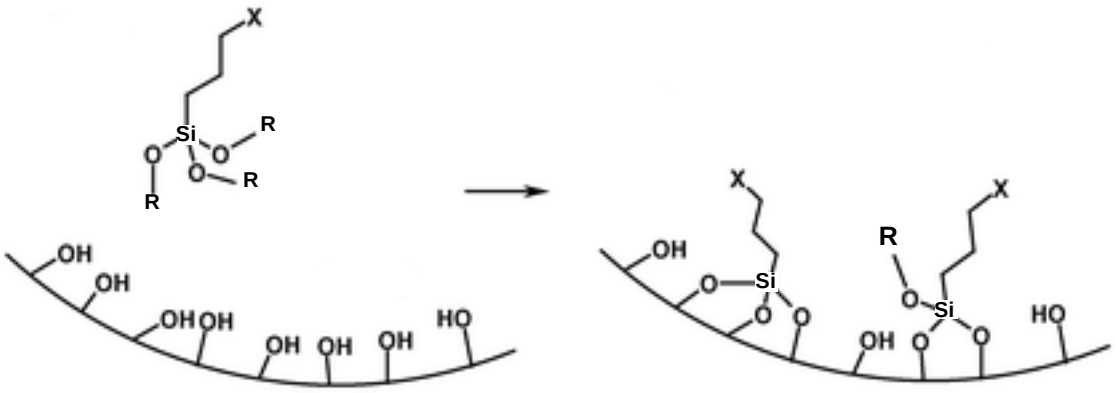


Figure 1.15 : Schéma représentant la fonctionnalisation de surfaces d'une matrice mésoporeuse silicatée par la méthode Post-synthèse

[64] L. Bois, A. Bonhomme, A. Ribes, B. Pais, G. Raffin, F. Tessier., *Colloid. Surf. A.*, 221 (2003), 221
[65] M. Park, S. Komarneni, *Microporous Mesoporous Mater.* , 25 (1998), 75

Cette fonctionnalisation devrait permettre dans bien des cas de renforcer les interactions entre la molécule à encapsuler et le support. Par ailleurs, les fonctionnalités qui sont ajoutées permettent de mimer les conditions dans lesquelles un principe actif intervient au niveau de sa cible thérapeutique.

Le développement de différents types de supports, la mise au point de techniques d'immobilisation et surtout l'avènement sans cesse croissant de nouveaux principes actifs de synthèse soulignent l'importance de la vectorisation nanométrique médicamenteuse. En particulier, les supports mésoporeux se révèlent être très prometteurs dans l'élaboration de médicaments de nouvelle génération mais un cheminement important reste à faire dans ce domaine de recherche avant de disposer d'un médicament à haut potentiel, ce qui nous amène à définir les objectifs que nous nous sommes fixés pour cette thèse de doctorat.

Chapitre 2 :
Objectifs et stratégie

Ce chapitre présentera les différents objectifs fixés pour cette thèse ainsi que la stratégie employée pour mener à bien les différents points auxquels nous avons été confrontés.

II.1 Objectifs

La nécessité de diminuer les effets secondaires liés à l'emploi de tel ou tel médicament n'est plus à démontrer. L'industrie pharmaceutique est toujours à la recherche de moyens pour diminuer ces effets néfastes afin de garantir le bien-être du patient mais également de pouvoir en tirer profit.

L'objectif principal de cette thèse de doctorat est d'étudier la potentialité des matériaux mésoporeux hautement structurés à remplir le rôle de nanovecteur pour la délivrance contrôlée de molécules médicamenteuses afin de pouvoir réduire les effets secondaires liés à l'utilisation de ce médicament. Pour ce faire, l'Ibuprofen, molécule hôte modèle choisie, sera immobilisée au sein de matrices mésoporeuses hautement structurées. Il est en effet tout à fait intéressant de mettre au point un système de délivrance contrôlé pour cette classe de médicaments qui représente un réel challenge pour l'industrie pharmaceutique. Cette immobilisation permettra l'obtention de profil de délivrance adéquat, c'est-à-dire pas ou très peu de libération du médicament en milieu acide (simulant le milieu gastrique) et un relargage progressif dans le milieu neutre (simulant le milieu intestinal).

En modifiant la façon dont cette molécule médicamenteuse sera libérée au sein de l'organisme cible une diminution de ses effets secondaires sera ainsi obtenue.

II.2 Stratégie

Dans cette optique, la synthèse des matériaux mésoporeux sera réalisée dans le but d'immobiliser l'acide 2(p-isobutylphényl)propanoïque. Afin de mettre au point une nouvelle forme galénique, nous avons décidé de cibler notre test sur une molécule anti-inflammatoire type.

Parmi la vaste quantité d'AINS existant, le choix de la molécule active s'est porté sur l'Ibuprofen (acide 2(p-isobutylphényl)propanoïque). L'Ibuprofen (Figure 2.1) est un anti-inflammatoire non stéroïdien abondamment étudié et très répandu qui rencontre des problèmes pratiques lors de son administration.

Il est généralement prescrit pour ses propriétés analgésiques et antipyrétiques et est notamment indiqué dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde et de l'arthrose.[66]

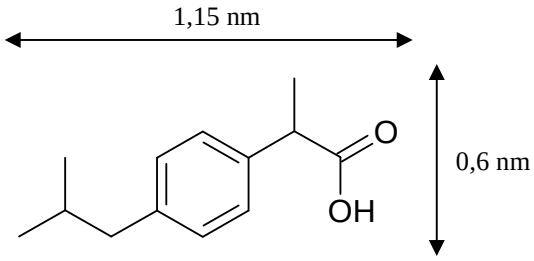


Figure 2.1 : Modèle d'une molécule d'Ibuprofen

Le mécanisme d'action de l'Ibuprofen est relativement proche de celui de l'aspirine habituellement décrit pour établir l'action des AINS sur l'enzyme COX. Cependant, contrairement à l'Ibuprofen, l'aspirine a une action irréversible, due à l'acétylation du site actif, tandis que l'Ibuprofen a une action réversible.

Lorsque l'Ibuprofen entre en interaction avec une cyclo-oxygénase, celui-ci va s'engager dans le canal hydrophobe de la COX et cela pour n'importe quelle isoforme (COX-1 et COX-2). Ensuite, la molécule va établir une liaison de type acide-base avec la fonction amine de l'arginine 120 par sa fonction acide carboxylique. De plus, l'Ibuprofen crée des interactions supplémentaires de type pont hydrogènes avec la Tyrine 355 tandis que le groupment phényl interagira avec la serine 589 (Figure 2.2).

[66] Association Générale de l'Industrie du Médicament, *Compendium **2003***, 21ème édition, 108

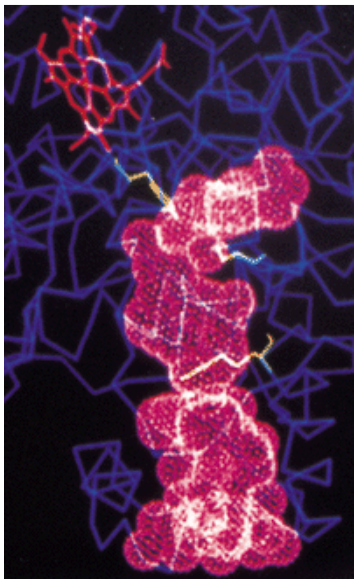


Figure 2.2 : Illustration du canal hydrophobe de la COX-2

Différents AINS (non sélectifs et sélectifs) ainsi que des anti-inflammatoires stéroïdiens n'ont pas du tout le même mode d'action. Ils inhibent soit la phospholipase A_2 (PLA_2), empêchant ainsi la formation d'acide arachidonique[67] (substrat naturel de la COX), soit la transcription du gène de la COX-2 (inductible).[7]

L'Ibuprofen est commercialisé sous forme de racémate et l'activité inhibitrice des cyclo-oxygénases est due à l'énantiomère S. Toutefois, in vivo, l'énantiomère R peut être bioconverties en la forme active S.[68,69] Aujourd'hui, il est vendu sous les vocables Ibuprofen®, Nurofen®, Advil®, Motrin®, etc.[70]

Le choix de l'Ibuprofen n'est pas anodin. C'est un médicament très utilisé, notamment pour certaines maladies chroniques (polyarthrite rhumatoïde). Or c'est souvent sur le long terme que surviennent les effets secondaires indésirables. En effet, lors de l'administration traditionnelle par comprimés, il y a une déperdition importante au niveau de l'estomac, ce qui entraine énormément d'effets secondaires. De plus, sa taille (Figure 2.1) est adaptée à l'incorporation dans les matériaux mésoporeux et sa faible solubilité en milieu aqueux pourrait être surmontée par l'utilisation d'un nanovecteur.

[67] C.D. Funk, *Lipid Biology*, 294 (2001), 1871
[68] K.M. Williams, R.D. Knihinicki, R.O. Day, *Agents Actions*, 34 (1991), 381
[69] J.S. Walker, R.D. Knihinicki, P. Seideman, R.O. Day, *J. Pharm. Sci.*, 82 (1993), 787
[70] http://www.biam.fr/substance/print/Ibuprofene.htm.

Etant donné que les interactions entre l'Ibuprofen et la matrice constituent le facteur clé pour avoir un relargage ciblé et prolongé, il est plus logique de tester la capacité de vectorisation des matériaux mésoporeux sur une molécule relativement « simple » (peu de fonctions organiques), comme l'Ibuprofen. Une fois les facteurs qui gouvernent l'immobilisation et le relargage de ces molécules « simples » maîtrisés, le concept (s'il marche) pourrait être étendu à des principes actifs de structures plus complexes. L'un des principaux matériaux que nous utiliserons sera la matrice mésoporeuse hautement structurée CMI-1. Les différentes études de la phase de conception du médicament, à savoir la mise en forme galénique du principe actif, seront réalisées sur ces matrices. Ces études comprennent celle de la méthode d'immobilisation, de l'influence du solvant, de l'influence du temps et de l'influence des propriétés texturales.

La synthèse de matrices de type SBA-15 permettra quant à elle d'effectuer une étude sur l'influence de la taille de pores sur l'immobilisation et le profil de relargage de la molécule.

L'influence des interactions entre la surface et l'Ibuprofen jouant très certainement un rôle très important dans la façon avec laquelle la molécule sera libérée, nous procéderons à la fonctionnalisation des matrices CMI-1 et SBA-15.

Pour ce faire, une fonction amine sera greffée à la surface du matériau mésoporeux. En effet, cette fonction basique est une fonction complémentaire aux fonctions chimiques de la biomolécule choisie présente au sein du site actif de l'enzyme.[71, 72] La figure 2.3 reprend les différentes interactions qui peuvent avoir lieu via les 2 méthodes précitées entre une matrice en pure silice et l'Ibuprofen.

[71] B. Munoz, A. Ramila, J. Pérez-Pariente, I. Diaz, M. Vallet-Regi, *Chem. Mater.* 15 (2003), 500
[72] E.M.B. Sousa, A.L. Doadrio, J.C. Doadrio, J. Perez-Pariente, I. Izquierdo-Barba, M. Vallet-Regi, *J. Cont. Release*, 97 (2004), 125

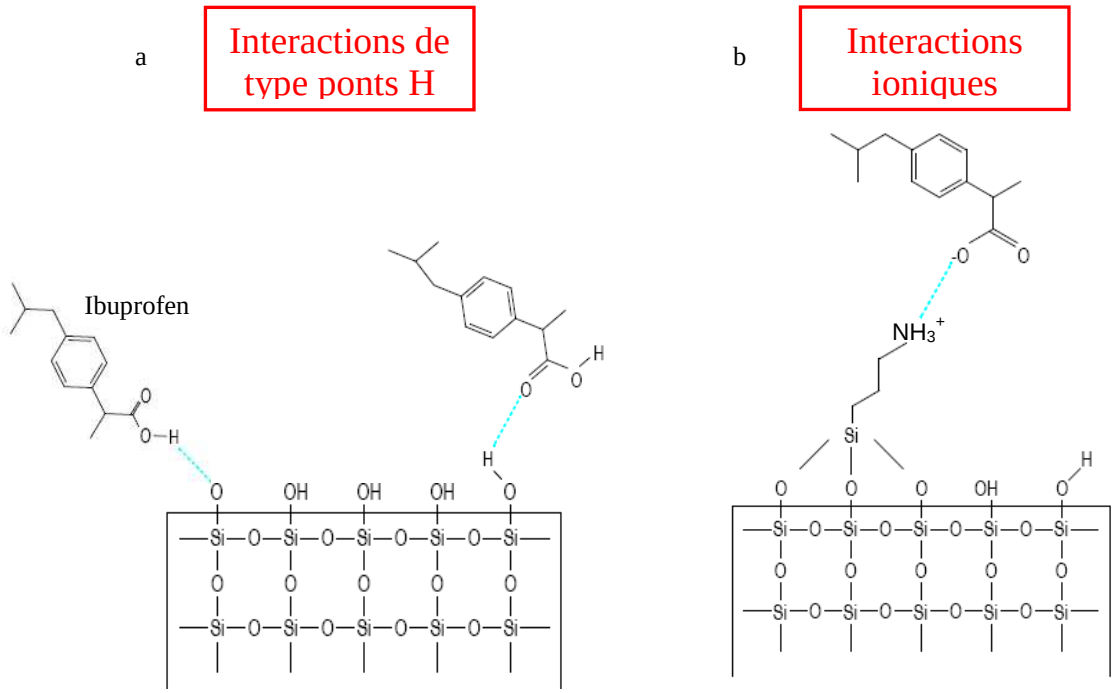


Figure 2.3 : a. Illustration d'un matériau mésoporeux silicaté non fonctionnalisé établissant des interactions de type ponts H avec la molécule d'Ibuprofen b. Illustration d'un matériau mésoporeux silicaté fonctionnalisé des chaînes amino-propyles établissant des interactions hydrophobes et ioniques avec les molécules d'Ibuprofen

Tandis que la figure 2.4 reprend les interactions pouvant exister entre un PMO fonctionnalisé et l'Ibuprofen qui en plus de la chaîne aminopropyle, permettant l'interaction acide – base, possède une chaîne hydrophobe. Cette interaction hydrophobe supplémentaire permet de créer un environnement proche de ce que l'Ibuprofen rencontre dans le site actif de la cyclo-oxygénase lors de l'inhibition de celle-ci. A savoir le canal hydrophobe et l'amine de la COX.

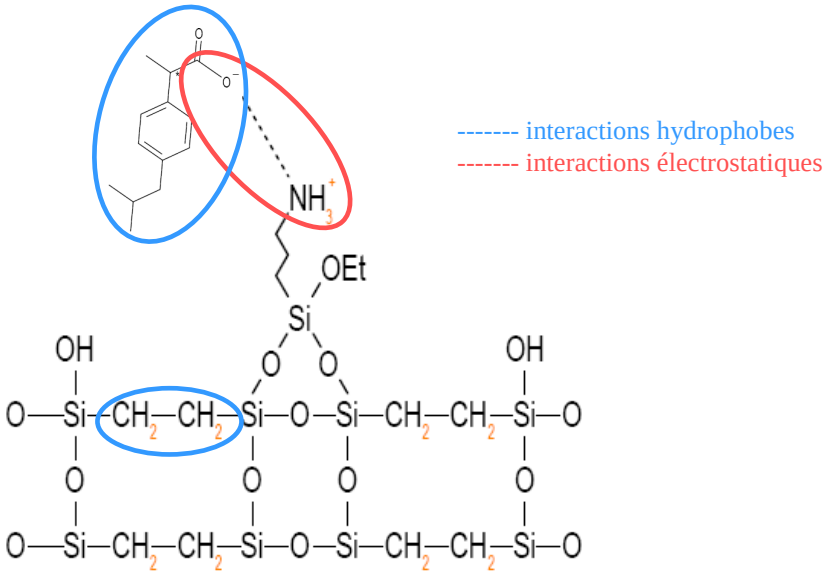


Figure 2.4 : Interactions entre l'Ibuprofen et le matériau PMO fonctionnalisé

Cette thèse sera exposée de la manière suivante : nous présenterons tout d'abord les résultats obtenus lors de l'utilisation de matrices de type CMI-1 et SBA-15 pour la conception d'un système de délivrance contrôlée. Les paramètres optimaux d'immobilisation de l'Ibuprofen au sein des différents matériaux CMI-1 seront décrits. Ils serviront de repère pour l'immobilisation au sein des autres matrices.

Enfin, les cinétiques de relargage obtenues pour les différents médicaments basés sur les matrices CMI-1 et SBA-15 conventionnelles seront intensivement comparées. Ce relargage contiendra deux étapes : tout d'abord la mise en solution acide de la matrice imprégnée, simulant le passage en milieu gastrique, et ensuite le passage vers une solution physiologique neutre, simulant le milieu intestinal.

Nous présenterons alors les résultats des matrices CMI-1 et SBA-15 fonctionnalisées par un groupement aminopropyle.

Pour terminer, nous étudierons l'influence des matériaux PMO éthane pontés et PMO fonctionnalisés lors des différentes étapes de conception et de test du médicament.

Chapitre 3 :
Partie expérimentale

La première partie de ce chapitre consiste à concevoir différentes matrices hôtes qui vont être capables de modifier le profil pharmacocinétique de l'Ibuprofen. Dans cette partie, les différentes manipulations effectuées au laboratoire au cours de cette thèse seront exposées. Dans un premier temps, les protocoles de synthèse conventionnelle des matrices CMI-1, SBA-15 et PMO seront décrits. Ensuite, le procédé de fonctionnalisation sera développé.

La seconde partie de ce chapitre repose sur la conception de notre médicament qui consistera en la recherche des différents paramètres optimaux d'immobilisation. Les différentes méthodes pratiquées au laboratoire seront exposées dans ce point.

Pour terminer, les conditions employées pour simuler les passages en milieux gastriques et intestinaux seront exposées.

III.1 Protocole de synthèse des matrices mésoporeuses de type CMI-1

Le protocole de synthèse du matériau CMI-1 conventionnel implique la préparation d'une solution micellaire de surfactant décaoxyéthylène cétyléther ($C_{16}H_{33}(CH_2CH_2O)_{10}H$ ou $C_{16}(EO)_{10}$) 10% en poids dans 60 ml d'eau bidistillée à 70°C pendant 3h sous agitation 300 tours par minute. La valeur du pH du mélange est ajustée à 2 par l'ajout de H_2SO_4 [49].

Ensuite, le tetramethoxysilane (TMOS), la source de silice, est ajouté goutte à goutte à la solution. Le rapport molaire surfactant / silice est fixé à 0,50, valeur permettant la formation d'une structure hexagonale tout en garantissant un volume de poudre finale appréciable. Après 1h, le gel obtenu est versé dans une gaine en téflon laquelle est scellée dans un autoclave pour y subir un traitement thermique de 1 jour à 80°C dans des conditions statiques. Ce traitement sous autoclave garantit l'homogénéité de la température et de la pression du mélange.

Le gel obtenu après traitement sera ensuite extrait à l'éthanol au moyen d'un appareillage Soxhlet afin d'y enlever environ 95% du surfactant. La synthèse se termine par la calcination du matériau obtenu dans le but d'éliminer le surfactant encore présent dans la structure mésoporeuse. Cette étape se déroule sous azote en augmentant la température à une vitesse de 2°C par minute jusqu'à 550°C en passant par des paliers d'une heure à 150 et 350°C. Après 12 heures, la calcination se poursuit à 550°C sous oxygène pendant 6 heures.

Afin d'obtenir des quantités plus importantes de matériaux CMI-1, une synthèse à grande échelle a été effectuée. Elle se déroule comme suit : 72,0 g de $C_{16}EO_{10}$ sont ajoutés progressivement dans un bicol d'1 L contenant 650 ml d'un mélange d'eau bidistillée et H_2SO_4 à pH 2 préalablement portée à 70°C et sous agitation 300 tours par minute.

Après dissolution totale du surfactant, la solution est laissée pendant 3 heures sous agitation à 200 tours par minute. Ensuite 32,09 g de TMOS sont introduits goutte à goutte et le mélange réagit pendant 1 heure. Les étapes de traitement hydrothermal, extraction et calcination qui suivent, sont identiques à celles décrites précédemment (Figure 3.1).

La variation de certains paramètres de synthèse tels que le rapport surfactant sur silice, le pH ou encore la température du traitement hydrothermal vont permettre la conception de matrices CMI-1 possédant des propriétés texturales et morphologiques différentes permettant ainsi l'étude de l'influence de ces paramètres sur l'immobilisation de l'Ibuprofen et de sa libération en solution.

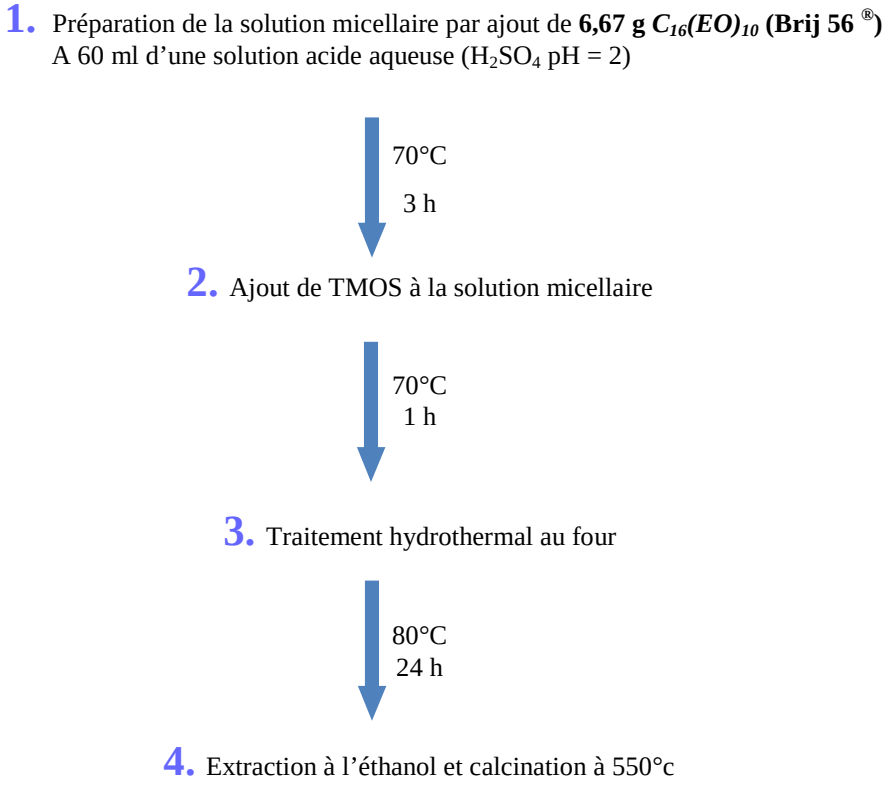


Figure 3.1 : Illustration du protocole conventionnel de synthèse des matériaux CMI-1

III.2 Protocole de synthèse des matrices mésoporeuses de type SBA-15

La synthèse des matériaux SBA-15 utilisés pour ce travail s'est déroulée selon le protocole décrit par Zhao et ses collaborateurs[50].

Cette synthèse est décrite comme suit : 4,0 g de pluronic P123 ($HO(CH_2CH_2O)_{20}(CH_2CH(CH_3)O)_{70}(CH_2CH_20)_{20}H$ - polyoxyéthylène-polyoxypropylène-polyoxyéthylène) sont dissous dans un mélange de 130 ml d'H_2O bidistillée et de 20 ml d'HCl 37%. Ce mélange est porté à 40°C et est agité. Lorsque tout le surfactant est dissout (après environ 3 heures), 8,5 g de tétraéthoxysilane (TEOS) sont ajoutés goutte à goutte. Une fois la source de silice ajoutée, la solution est maintenue à 40°C sous agitation constante pendant 24 heures.

Le gel obtenu est ensuite lavé à l'éthanol au moyen d'un appareillage Soxhlet pendant 30 heures avec un renouvellement de l'éthanol après 5 heures afin de permettre l'extraction de 95 % du surfactant.

Le produit obtenu sera séché et subira une calcination semblable à celle décrite pour les matériaux CMI-1.

En vue d'obtenir une plus grande quantité de matériau, une synthèse à plus grande échelle est réalisée. Pour ce faire, 12,0 g de P123 sont dissout dans un mélange de 312 ml d'H_2O bidistillée et de 60 ml d'HCl 37%. Ce mélange est porté à 40°C et est agité.[73]

Lorsque tout le surfactant est dissout (après environ 5 heures), 25,6 g de TEOS sont ajoutés goutte à goutte. Une fois la source ajoutée, la solution est maintenue à 40°C sous agitation constante pendant 24 heures.

L'extraction et la calcination qui suivent cette réaction sont identiques à la première synthèse décrite.

[73] Z. Luan, M. Hartmann, D.Y. Zhao, W.Z. Zhou, L. Kevan, *Chem. Mater.*, 1621 (1999), 11

Pour obtenir des matériaux possédant des tailles de pores plus importantes, un traitement hydrothermal suit l'étape de réaction. Après les 24 heures pendant lesquelles le surfactant et la source de silice sont laissés en solution sous agitation à 40°C, le gel obtenu est transféré dans une autoclave et cette dernière est mise au four à 80°C dans des conditions statiques. La durée de ce traitement à 80°C est variée entre 20 et 32 heures.

L'obtention de matériaux à haute surface spécifique est réalisée en passant outre l'étape d'extraction. Après réaction et traitement hydrothermal, le mélange surfactant-source de silice polymérisée obtenu est calcinée sous azote à une vitesse de 1°C par minute jusqu'à 550°C en passant par des paliers d'une heure à 150 et 350°C. Après 12 heures, la calcination se poursuit à 550°C sous oxygène pendant 6 heures.

III.3 Protocole de synthèse des matrices mésoporeuses de type PMO éthane ponté

Afin de renforcer les interactions entre l'Ibuprofen et la matrice mésoporeuse PMO, il est primordial que des interactions suffisantes soient établies entre la molécule médicamenteuse et la fonction à greffer.

La molécule d'Ibuprofen est composée d'un cycle benzénique auquel sont connectés, en para, un groupement isobutyle ainsi qu'une courte chaîne aliphatique terminée par une fonction acide carboxylique. Il est possible d'établir diverses interactions faibles telles que :

- des ponts hydrogènes,
- des liaisons ioniques étant donné que la fonction acide carboxylique (pKa = 4,9) est ionisable,
- des interactions hydrophobes puisque la molécule tend à être lipophile,
- des interactions quadripolaires avec un autre cycle aromatique.

Les fonctions organiques pouvant être intégrées dans la structure des matériaux PMO sont assez limitées. Par conséquent, nous retrouvons principalement dans la littérature des matériaux synthétisés à partir de précurseurs pontés possédant les groupes organiques suivants : méthane (A), phénylène (B), thiophène (C), éthane (D) et dipropylamine (E) (Figure 3.2).

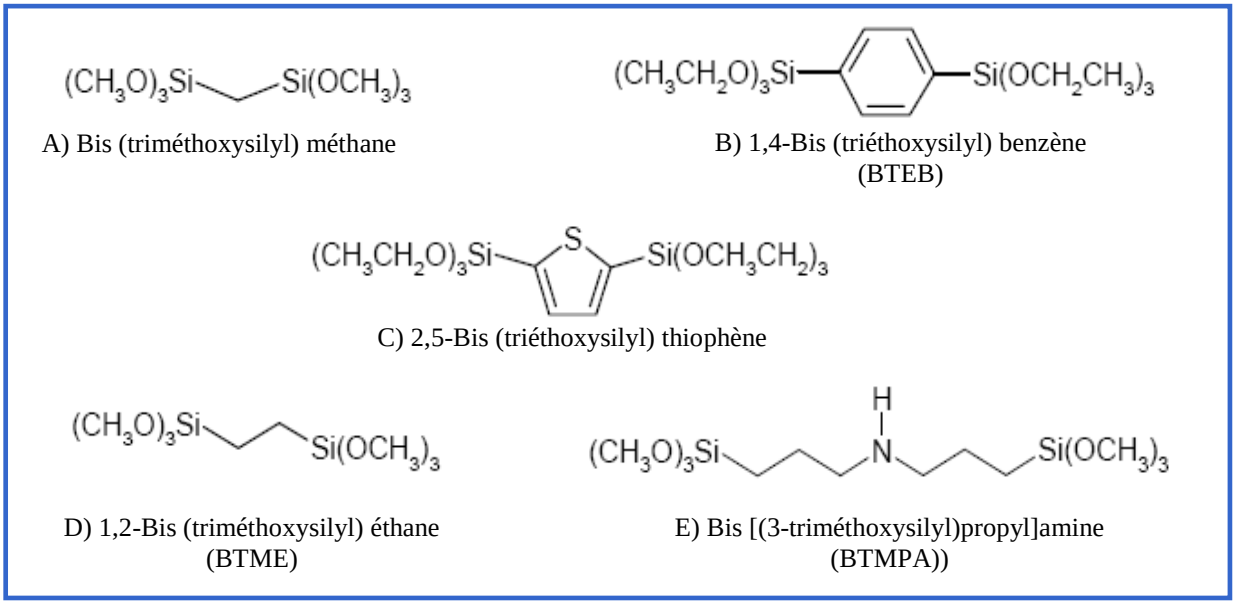


Figure 3.2 : Ponts organiques les plus rencontrés

De ces différentes sources commerciales, deux ont été retenues le BTME et le BTMPA. En effet, ces sources permettront de créer des interactions supplémentaires avec la molécule d'Ibuprofen qui présente un caractère hydrophobe et une fonction acide. La chaîne éthane donnera un caractère hydrophobe tandis que la chaîne aminopropyle conféra une propriété hydrophobe et basique au nanovecteur. Les résultats obtenus lors de la synthèse de PMO ponté d'une chaîne aminopropyle n'ont pas donné les résultats escomptés.

En effet, ces matrices possédaient des surfaces spécifiques très faibles et une porosité quasi nulle. Ces synthèses ont donc été abandonnées et l'incorporation de la chaîne aminopropyle se fera donc par fonctionnalisation post-synthèse de structures mésoporeuses organosilicatées tel que décrite dans le point suivant.

Le protocole de synthèse des matrices PMO éthane ponté se déroule comme suit : sous agitation, 4,0 g ($5{,}6.10^{-3}$ mol) de surfactant Brij 76 ($C_{18}H_{37}(OCH_2CH_2)_{10}OH$ ou décaoxyéthylène octadécyléther) sont additionnés à une solution aqueuse acide de 186,9 ml d'eau désionisée et 13,1 ml d'HCl 37 %. Ce mélange est recouvert et porté à une température de 50°C durant 24h. Ensuite, 7,57 g ($2{,}8.10^{-2}$ mol) de précurseur 1,2-bis (triméthoxysilyl) éthane (BTME) sont ajoutés au goutte à goutte à la solution obtenue. Le mélange est conservé sous agitation constante (300 rpm) à 50°C durant 12h, puis, placé dans une autoclave en polypropylène afin de subir un traitement hydrothermal de 50 h à 90°C.[54]

Le solide formé est obtenu par filtration sous vide et séché à température ambiante. La poudre obtenue est ensuite extraite à l'éthanol grâce à un appareil Soxhlet afin d'éliminer le surfactant. Cette extraction se déroule durant une période de 30 h avec renouvellement de l'éthanol après 6 h. Le matériau PMO éthane ponté est finalement séché au four.

III.4 Protocole de fonctionnalisation des matrices mésoporeuses de type CMI-1, SBA-15 et PMO éthane ponté

Le protocole de fonctionnalisation post-synthèse a été mis au point au laboratoire d'après la méthode décrite par Park et ses collaborateurs.[74] Il implique au préalable une étape de dégazage du matériau afin de libérer tous les silanols présents à la surface du matériau par désorption de l'eau et de toutes les impuretés physisorbées. Le dégazage peut s'effectuer à l'aide de la rampe à vide, toutefois le même résultat est obtenu en laissant le matériau pendant 12h dans une étuve à 80°C.

[74] C.W. Lee, D.H. Ahn, B. Wang, J.S. Hwang, S.E. Park, *Microporous Mesoporous Mater.*, 44-45 (2001), 587

Ensuite, 1,0 g de matériau préalablement séché au four est placé dans un ballon réactionnel sous atmosphère inerte. A cette poudre sont ajoutés 100 ml de toluène, séché sur $CaCl_2$, à l'aide d'une seringue à travers un septum. Le mélange ainsi obtenu est porté à 110°C sous agitation. Lorsque le toluène est à reflux, x ml d'AminoPropylTriEthoxySilane (APTES) sont ajoutés goutte à goutte (Où x = 1ml, 3ml et 6ml d'AminoPropylTriEthoxySilane (APTES MM= 221,3 g/mol)). La réaction est poursuivie pendant 24 heures à 110°C. La densité de l'APTES étant de 0,95 cela correspond à 4,29, 12,88 et 25,76 mmol respectivement.

Afin de récupérer les matériaux fonctionnalisés, la solution est filtrée et lavée avec 40 ml de toluène et ensuite avec 40 ml d'éther diéthylique. Enfin, les matériaux sont séchés à l'étuve à 80°C. Les matériaux fonctionnalisés seront dénommés CMI-N-1, CMI-N-3 et CMI-N-6 et PMO-N-1, PMO-N-3.

Dans le cas du SBA-15 une seule quantité d'aminopropyltriéthoxysilane est utilisée, celle-ci étant x = 3ml (12,88 mmol). Les matrices obtenues sont donc dénommées SBA-N-3. Cette quantité sera utilisée comme moyen de comparaison afin d'étudier l'influence du matériau SBA-15 sur l'immobilisation et le relargage de molécule.

III.5 Protocole d'immobilisation de la molécule médicamenteuse

Après avoir synthétisé et éventuellement fonctionnalisé les matériaux mésoporeux, la réalisation du médicament s'en remet à l'immobilisation de la molécule médicamenteuse au sein du support nanovecteur. Pour cela, comme décrit dans les objectifs de cette thèse, la technique d'imprégnation sera utilisée.

III.5.a Imprégnation directe

L'immobilisation de l'Ibuprofen à l'intérieur des canaux poreux des matériaux mésoporeux sera réalisée selon la méthode de Diaz et Balkus (Figure 3.3).[75] Cette méthode dite « d'imprégnation directe » résulte en la mise en suspension du matériau mésoporeux dans une solution de concentration connue en Ibuprofen pendant un temps déterminé. Ensuite, la matrice contenant l'Ibuprofen est filtrée, rincée avec environ 20 ml de solvant pour éliminer les molécules faiblement retenues présentes à la surface de la matrice et séchée au four à 40°C. Quant au surnageant de la filtration, celui-ci est transféré dans un ballon jaugé pour une future analyse par Spectroscopie UV.

Le protocole d'immobilisation par imprégnation directe implique la mise en suspension de 1 g de matériau dans 20 ml de solvant (l'hexane, l'éthanol, l'acétone, l'éther, acétate d'éthyle ou le tetrahydrofurane) contenant 1,0 g d'Ibuprofen (0,242 M) pendant un temps de 3 heures sous forte agitation à température ambiante dans un ballon surmonté d'un réfrigérant afin d'éviter l'évaporation du solvant. Le matériau, une fois imprégné, est récupéré par filtration et séché à 60°C sous vide de trompe à eau.

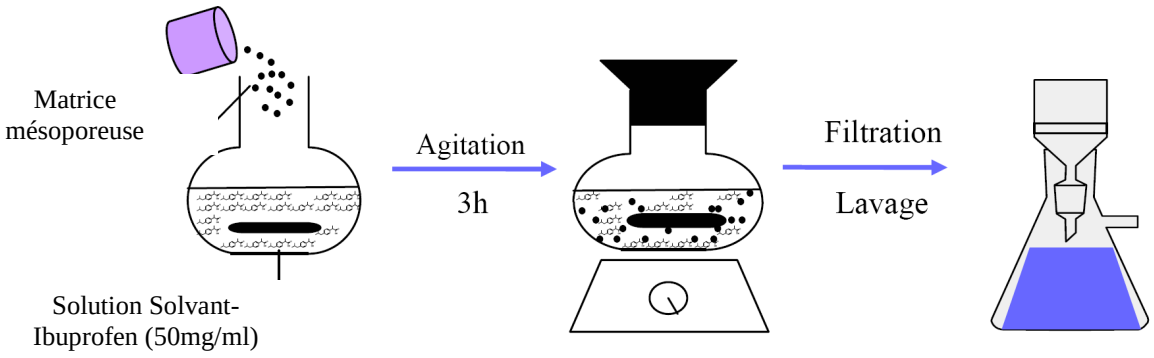


Figure 3.3 : Schéma représentant l'immobilisation de l'ibuprofen dans le matériau mésoporeux par l'imprégnation directe

[75] J.F.Diaz, K.J. Balkus, J. Molec. Catal. B, 2 (1996), 115

Les médicaments ainsi créés se dénommeront CMI-Ibu, CMI-N-x-Ibu, SBA-Ibu, SBA-N-x-Ibu et PMO-Ibu, PMO-N-x-Ibu où x = 1,3 et 6 ml.

Cette méthode permettra en plus l'étude du solvant optimal afin de n'étudier qu'une gamme réduite de solvants pour les autres méthodes. Elle sera également utilisée pour l'étude de l'influence de la fonctionnalisation.

III.5.b Effet d'un prétraitement thermique sur l'immobilisation

Cette méthode suit le même schéma que la méthode d'imprégnation directe mis à part que le matériau subit un pré-traitement. En effet celui-ci sera séché dans une étuve pendant 12h à 120°C afin de libérer tous les silanols présents à la surface du matériau. Leur présence peut être mise à profit pour interagir avec l'Ibuprofen via l'établissement d'interactions de type pont hydrogène. De plus, l'imprégnation se fera dans un solvant séché sur $CaCl_2$ et sous atmosphère inerte. Le matériau, une fois imprégné, est récupéré par filtration et séché.

III.5.c Imprégnations successives

Cette méthode est en fait une répétition de la méthode d'immobilisation par imprégnation directe 3 fois de suite.

III.5.d Déposition par filtration

Pour cette méthode, 1,0 g d'Ibuprofen sont dissout dans 20 ml de solvant. Cette solution sera ensuite passée plusieurs fois au travers d'un filtre de 1 cm de diamètre sur lequel on aura préalablement mis 0,1 g de matériau. Pour terminer, le matériau obtenu est séché.

III.6 Etablissement des droites de calibration dans différents solvants

Afin d'estimer la quantité d'Ibuprofen immobilisé, une des méthodes qui s'offre à nous est de déterminer la concentration en principe actif du surnageant de l'encapsulation pour chacun des solvants étudiés. Les mesures sont effectuées par spectroscopie UV-visible en transmittance et une droite de calibration doit être établie au préalable à l'aide de solutions standards de concentrations variables connues.

Ayant pris les différents spectres des solutions standards (Figure 3.4), après un calcul de l'intensité d'un pic caractéristique de la molécule, il est possible d'établir des droites de calibration en portant en graphique la transmittance à 222 nm en fonction de la concentration en molécules actives de la solution analysée.

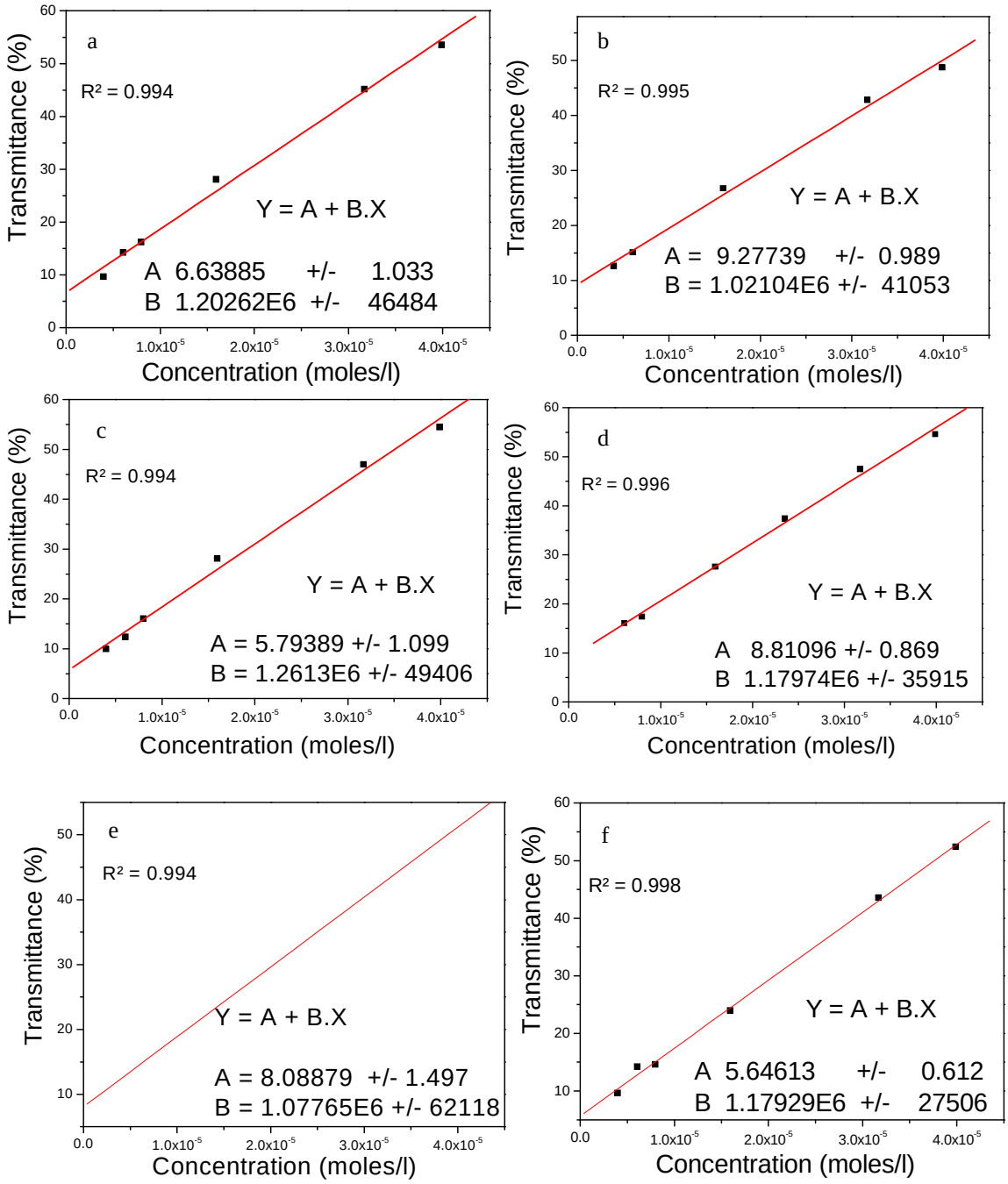


Figure 3.4 : Droites de calibrations obtenues dans l'hexane (a), l'éthanol (b), l'acétone (c), l'éther (d), acétate d'éthyle (e) et le tetrahydrofurane (f)

Les droites de calibration, nécessaires à la détermination des concentrations en Ibuprofen immobilisé, ont pu être réalisées dans une gamme de concentration comprise entre $4{,}0.10^{-6}$ M et $4{,}8.10^{-5}$ M. Cette méthode sera par ailleurs complétée par des mesures par thermogravimétrie.

III.7 Etude du profil cinétique de relargage de l'Ibuprofen

Une fois la matrice imprégnée de la molécule active, le profil pharmacocinétique peut être étudié. Afin de simuler le passage du médicament dans le corps humain, la libération de l'Ibuprofen est réalisée dans deux milieux : une solution de HCl pH 1,2 simulant le milieu gastrique et une solution physiologique de pH 7,25 simulant le milieu intestinal.

III.7.a Préparation des solutions

Le milieu gastrique est préparé à partir de 63 ml d'une solution d'acide chlorhydrique (HCl) 1 M dans 1 L d'eau distillée. Le pH est vérifié à l'aide d'une électrode et vaut à 1,2 (pH moyen constaté dans l'estomac).

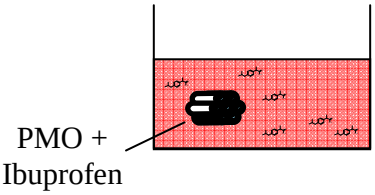
La solution physiologique est une solution « simulant le fluide corporel ». Elle est obtenue par dissolution de divers ions dans de l'eau distillée et dont le pH est ajusté à 7,25 à l'aide du tris-hydroxyméthyl-aminométhane.[76] Pour obtenir un litre de solution, les concentrations suivantes sont requises : 8,0 g NaCl, 0,35 g $NaHCO_3$, 0,23 g KCl, 0,22 g KH_2PO_4.3 H_2O, 0,34 g de $MgCl_2$.6 H_2O, 0,28 g de $CaCl_2$, 6,06 g de $NH_2C(CH_2\text{-}OH)_3$ et 40 ml d'HCl 1 M.

III.7.b Etude de la cinétique de relargage

L'étude de la cinétique de relargage de l'Ibuprofen est effectuée en baignant le matériau préalablement imprégné d'Ibuprofen pendant 30 minutes dans la solution d'HCl à pH 1,2 imitant le passage du médicament à travers l'estomac. Les concentrations en Ibuprofen seront mesurées après 10, 20 et 30 minutes. Ensuite, le matériau est placé dans la solution physiologique de pH 7,25 pendant des temps variables : 10, 30 minutes et 1, 2, 4, 8 heures (Figure 3.5). Ces différentes mesures de la concentration d'Ibuprofen en fonction du temps permettront d'établir un profil cinétique de délivrance.

[76] T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro, *J. Biomedic. Mater. Res*, 24 (1990), 721

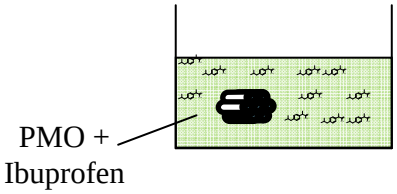
→ *Passage dans une solution acide d'HCl (pH=1,2):*



Simulant le passage à travers l'estomac

10', 20', 30'

→ *Passage dans une solution physiologique (pH=7,4):*



Simulant le passage dans le milieu intestinal

10', 30', 1h, 2h, 4h, 8h

Figure 3.5 : Protocole de relargage en milieu acide et en milieu neutre

III.8 Méthodes utilisées pour caractériser les différentes matrices mésoporeuses

Les différentes matrices mésoporeuses synthétisées durant ces quatre années de recherche ont été caractérisées par différentes techniques.

Les caractérisations structurales de ces matériaux ont été étudiées par Microscopie Electronique à Transmission (MET) sur un microscope de type Philips Tecnai 10 dont la tension accélératrice peut atteindre 100 kV. Cette technique permet d'observer l'organisation locale du matériau qui, pour un matériau de type CMI-1, SBA-15, PMO,…, se traduit par un arrangement des canaux en « nid d'abeille » lors d'une coupe transversale ou par l'observation de canaux rectilignes parallèles lors d'une coupe longitudinale d'une particule. La diffraction des rayons X à bas angle permet quant à elle de vérifier l'ordre global des matrices. L'appareillage utilisé pour ces mesures est de type PanAlytical BEO 2582 en utilisant la raie K_α du cuivre comme source de rayon X.

Les propriétés texturales de la matrice seront obtenues par la technique d'adsorption - désorption d'azote. L'appareil utilisé pour effectuer ces analyses est de type Tristar 3000 de la marque Micromeritics. Cette technique permettra ainsi d'estimer les valeurs de tailles de pores, de la surface spécifique et du volume poreux du matériau mésoporeux et également de déterminer les variations de ces valeurs lors de la fonctionnalisation par des chaînes organiques par exemple.

La morphologie externe du matériau sera étudiée par Microscopie Electronique à Balayage (MEB) sur un microscope Philips XL 20. Cette technique permettra d'observer les morphologies sphériques, gyroïdales et toroïdales caractéristiques des matériaux CMI-1, SBA-15, PMO, …

La nature chimique de la matrice sera quant à elle étudiée par la spectroscopie infrarouge (spectromètre FT-IR de type Spectrum 2000) via la conception de pastilles KBr 95% et la RMN du ^{29}Si ou ^{13}C dans le cas des structures organomodifiées ou immobilisées en molécules actives (Bruker Avance 500). En effet, ces deux techniques nous renseigneront sur la nature chimique des liaisons présentes dans la charpente du matériau.

La thermogravimétrie nous permettra de déterminer de manière directe les quantités en molécules médicamenteuses incorporées ou en lien fonctionnel présent à la surface des différentes matrices en étudiant la perte de masse du matériau imprégné ou fonctionnalisé en fonction de la température. L'appareillage utilisé est de type *TG-DSC 111 SETARAM*.

L'analyse thermogravimétrique sera réalisée en soumettant le matériau (sous flux d'air) à une montée en température de 2°C par minute en commençant à la température de 20°C pour arriver à la température de 650°C. Ce protocole est ensuite imposé au même matériau, ayant subi le même traitement, mais ne contenant pas d'Ibuprofen ou l'agent de fonctionnalisation.

Chapitre 4 : Conception d'un médicament à base de matrices mésoporeuses de type CMI-1 et SBA-15

Dans ce chapitre, nous aborderons successivement la synthèse de différentes matrices mésoporeuses silicatées CMI-1 possédant différentes propriétés texturales afin d'étudier l'influence de ce paramètre sur la conception du médicament. Ensuite, la conception de matériaux SBA-15 sera envisagée afin d'agrandir la gamme de propriétés texturales étudiées.

La seconde partie de ce chapitre permettra d'optimiser l'immobilisation du principe actif au sein de ces matériaux. Nous analyserons également l'influence de différents facteurs tels que le solvant d'immobilisation, la méthode d'imprégnation, les propriétés texturales des matrices et les interactions entre le support et l'Ibuprofen.

Pour finir, les profils de relargage des différents matériaux CMI-1 et SBA-15 préalablement imprégnés dans les conditions optimales seront comparés afin de déterminer l'influence des propriétés texturales et la potentialité de ces matrices à jouer le rôle de nanovecteurs.

IV.1 Synthèses et caractérisations des nanovecteurs de type CMI-1 et SBA-15

La synthèse des matrices mésoporeuses est une étape importante de la conception du nanovecteur. En effet, ces matrices seront utilisées comme support pour l'immobilisation de l'acide 2(p-isobutylphényl)propanoïque (Ibuprofen).

Afin d'étudier l'influence de la taille de pores sur le taux d'immobilisation en molécules médicamenteuses, la variation des conditions de synthèse doit être effectuée. Pour ce faire, nous avons préparé différents matériaux présentant des porosités différentes.

IV.1.a Conception de matrices mésoporeuses silicatées CMI-1 aux propriétés texturales différentes

Parmi les variables existant pour moduler la taille de pores, différentes conditions de synthèse telles que le pH de la solution micellaire[77], le temps et la température du traitement hydrothermal[78, 79, 80] ou encore le rapport surfactant/silice[81, 82] peuvent être utilisées. Parmi celles-ci, seules l'influence du pH et la variation du rapport surfactant/silice seront étudiées.

A. Effet de la variation du pH de la solution micellaire

Le protocole de synthèse conventionnel de la matrice mésoporeuse hautement structurée CMI-1 a été décrit dans le chapitre III.1. La modification du pH a des effets sur plusieurs étapes clés de cette synthèse. En effet, le pH joue un rôle important au niveau de l'hydrolyse et de la condensation de la source de silice mais également au niveau du surfactant.

[77] G. Herrier, J. L. Blin, B. L. Su, *Langmuir*, 17 *(*2001), 4422
[78] A. Leonard, J. L. Blin, B. L. Su, *Stud. Surf. Sci. Catal.*, 141 (2002), 109
[79] A. Leonard, J. L. Blin, P. A. Jacobs, P. Grange, B. L. Su, *Microporous Mesoporous Mater.*, 63, (2003) 59
[80] J. L. Blin, A. Becue, B. Pauwels, G. Van Tendeloo, B. L. Su, *Microporous Mesoporous Mater.*, 44 – 45 (2001), 41
[81] J. L. Blin, C. Otjacques, G. Herrier, B. L. Su, *Langmuir*, 16 (2001), 4229
[82] J. L. Blin, B. L. Su, *Langmuir*, 18 (2002), 5303

La compétition entre l'hydrolyse et la condensation conditionne l'équilibre entre le grossissement de particules denses et leur collage ; elle détermine ainsi, à l'échelle du nanomètre, la géométrie des structures formées. Cette compétition est contrôlable chimiquement par le pH, lequel modifie la vitesse des réactions et la charge superficielle des particules formées.

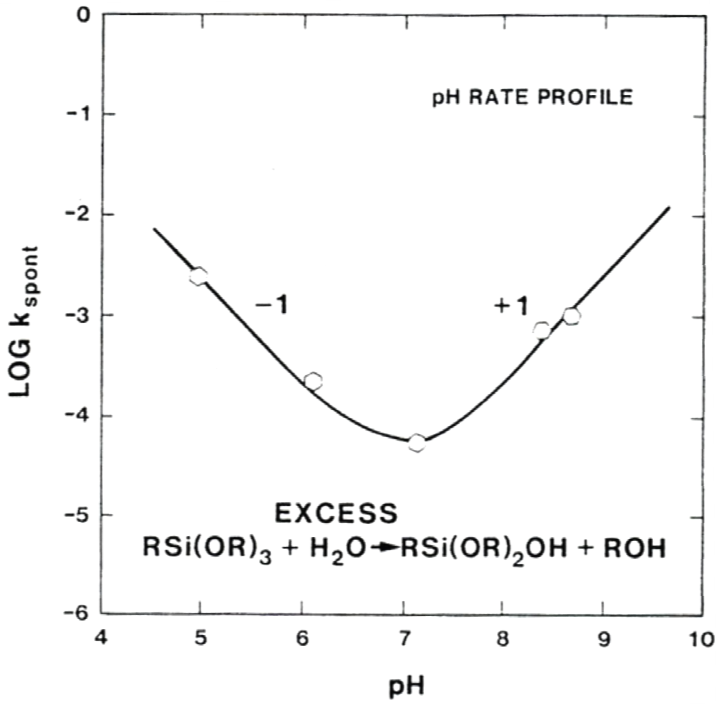


Figure 4.1 : Variation de la vitesse d'hydrolyse en fonction du pH

En effet, comme le montrent les figures 4.1 et 4.2, le pH influence l'hydrolyse (Figure 4.1) et la condensation (Figure 4.2) de la source de Silice. Ainsi, la réaction d'hydrolyse peut être catalysée à pH acide ou à pH basique tandis qu'un pH neutre mène à des vitesses d'hydrolyse plus lentes. En conditions acide le groupement alkoxyde de la source de silice est protonné rendant l'atome de silice électro-déficient. Il devient de ce fait plus électrophile et donc plus susceptible d'être attaqué par l'eau. En conditions basiques, la molécule d'eau est dissociée en anion hydroxyle qui va attaquer l'atome de silicium. A pH neutre cette catalyse n'ayant pas lieu, le mécanisme d'hydrolyse est plus lent.

Au niveau de la condensation des espèces hydrolysées, le graphique de la figure 4.2 nous indique une vitesse relativement faible en conditions acide tandis que la réaction sera beaucoup plus rapide en milieu neutre et basique.

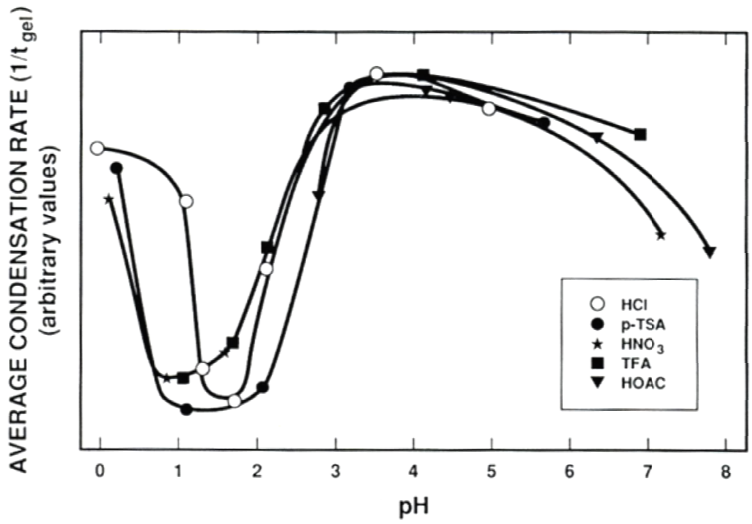


Figure 4.2 : Variation du taux de condensation d'une source d'alkoxysilane en fonction du pH

La formation des matériaux et leurs propriétés texturales et structurales sont donc conditionnés par une balance entre ces deux profils de réaction, lesquels doivent être pris en compte en fonction de la nature du matériau silicaté.

En faisant varier la valeur de pH de préparations des matériaux, des matrices possédant différentes propriétés texturales seront obtenues. Ces différents matériaux permettront d'étudier l'influence de celles-ci sur l'immobilisation et le relargage de l'Ibuprofen.

Pour ce faire, trois différentes synthèses ont été réalisées. Deux synthèses avec une solution micellaire possédant une valeur de pH de 0 et de 2. Ces deux solutions sont obtenues en suivant le protocole décrit au point III.1 en adaptant les quantités d'acide sulfurique pour obtenir ces valeurs de pH. Une solution possédant une valeur de pH de 7 a été obtenue en suivant toujours ce protocole mais en utilisant du NaOH.

Caractérisation morphologique

L'observation des particules des matrices CMI-1 synthétisées à pH 0, 2 et 7 a été effectuée par microscopie à balayage. Cette étude montre que le pH joue un rôle important sur la morphologie des matériaux mésoporeux de type CMI-1.

En effet, comme le montre la figure 4.3, le matériau synthétisé à pH 7 possède des particules de type sphères accolées de taille comprise entre 2 et 3 µm tandis que celles obtenues à pH acide (0 et 2) sont de morphologies complètement différentes (gyroïdes et toroïdes) et ont une taille de l'ordre de 5-6 µm.

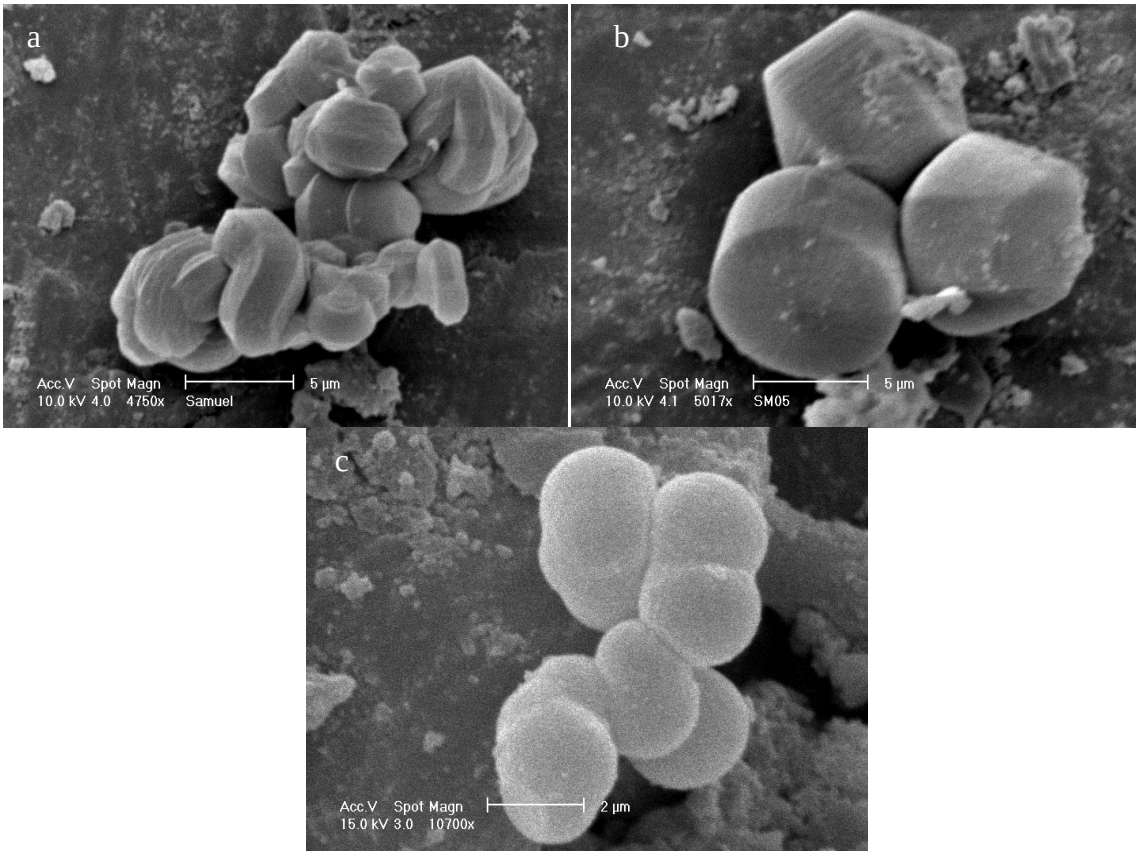


Figure 4.3 : Micrographies MEB de matériaux mésoporeux de type CMI-1 pH 0 (a), 2 (b) et 7(c)

Le pH de la solution micellaire a un effet important sur la formation des particules des matrices CMI-1. En effet, le point isoélectrique de la silice est de 2,2. De ce fait, à une valeur de pH de 7, la silice est chargée négativement induisant des répulsions électrostatiques lors de la condensation rapide et menant à des morphologies de faibles tailles. Tandis que pour une valeur pH de 2, la silice est neutre permettant ainsi le développement de particules plus grandes. Pour les valeurs de pH inférieures à 2, la condensation lente et les répulsions +/+ mènent à la formation de morphologie en forme de chenille.[79]

Caractérisation structurale

L'organisation hexagonale locale des canaux au sein des particules peut être observée par microscopie électronique à transmission. Les micrographies obtenues sont reprises dans la figure 4.4. L'obtention d'une structure ordonnée de manière hexagonale est donc confirmée pour les différentes matrices synthétisées à pH 0, 2 et 7.

Les canaux de ces trois matériaux de type CMI-1 sont bien parallèles entre eux lors d'une coupe longitudinale. Ce parallélisme est lié à l'organisation hexagonale de ces particules. L'espacement des canaux a également pu être évalué à partir de ces micrographies et vaut environ 4 nm.

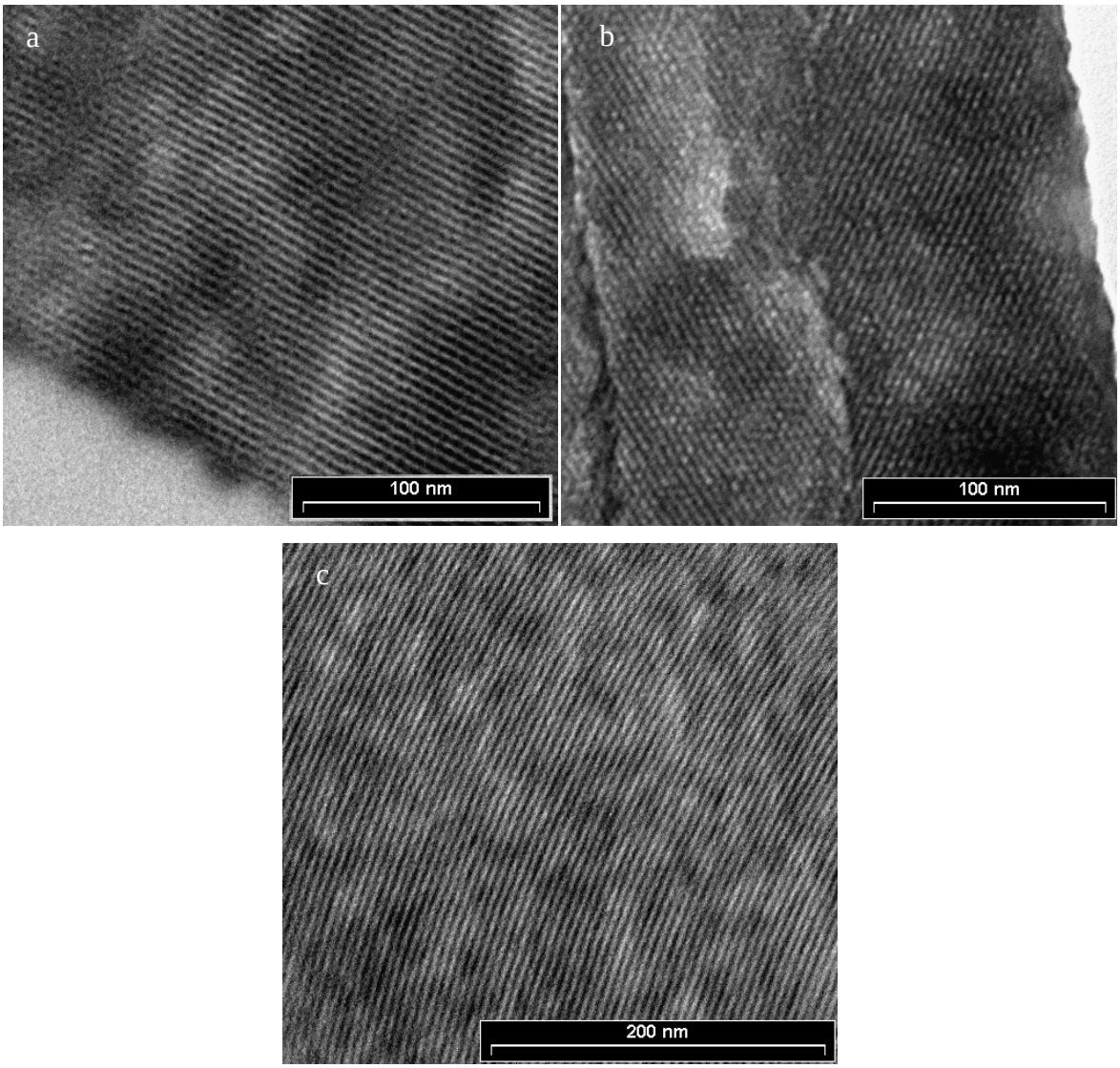


Figure 4.4 : Micrographies MET de matériaux mésoporeux de type CMI-1 pH 0 (a), 2 (b) et 7(c)

En complément à l'observation des matériaux par MET, des mesures par diffraction des rayons X à bas angles des matériaux CMI-1 ont été effectuées. Le réseau de silice à proprement parler ne présente pas de caractère cristallin à l'échelle atomique. Cependant, l'arrangement régulier des canaux provoque une diffraction des rayons X aux bas angles d'incidences, comme le montre le diffractogramme des matériaux CMI-1 synthétisés (Figure 4.5). Celui-ci présente trois pics dans la zone d'angles de 1 à 4° (2 θ).

La position de ces pics de réflexion permet également de conclure que ces matrices possèdent un arrangement hexagonal global de leurs canaux. Le pic intense en 100 correspond à la réflexion primaire et témoigne de l'homogénéité de la taille de pores. Les réflexions secondaires mettent en évidence une symétrie hexagonale dans l'arrangement des canaux étant donné qu'ils peuvent être indexés sur une maille hexagonale.

La valeur de d_{100} étant obtenue par l'équation de Bragg $2d \sin \theta = n\lambda$ et en supposant une maille associés à une phase hexagonale *p6mm*, il est possible de calculer le paramètre de maille a_0 par la relation $a_0 = 2d_{100}/\sqrt{3}$. Des valeurs de 5,8 nm, 5,5 nm, 5,9 nm correspondant respectivement à la synthèse à pH = 0, 2 et 7 sont obtenue. Ce paramètre de maille a_0 correspond à la distance entre deux centres de pores voisins, soit à la somme de l'épaisseur de la paroi et du diamètre d'un pore. La valeur du diamètre poreux est fournie par la technique d'adsorption - désorption d'azote (BET).

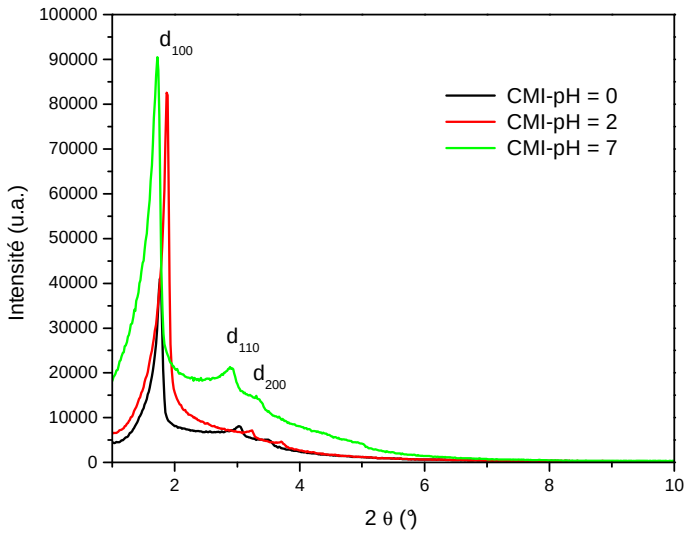


Figure 4.5 : Diffractogramme de rayon X des matériaux CMI-1 synthétisés à différents pH (pH = 0 ——, 2 ——, 7 ——)

Caractérisation texturale

L'analyse par adsorption - désorption d'azote montre que les matériaux CMI-1 synthétisés font partie de la famille des matériaux mésoporeux. En effet, les isothermes obtenues pour chaque synthèse sont de type IV (Figure 4.6) (cf. IUPAC). Sur ces isothermes, les trois régions de la courbe expliquées par la théorie BET sont visibles : aux faibles pressions relatives, il y a formation d'une monocouche. A partir d'une pression relative de 0,4 a lieu la condensation capillaire et aux pressions relatives élevées, un plateau de saturation peut être observé pour les valeurs de pH faible. Tandis que l'isotherme pour un pH d'une valeur de 7 présente une nouvelle augmentation.

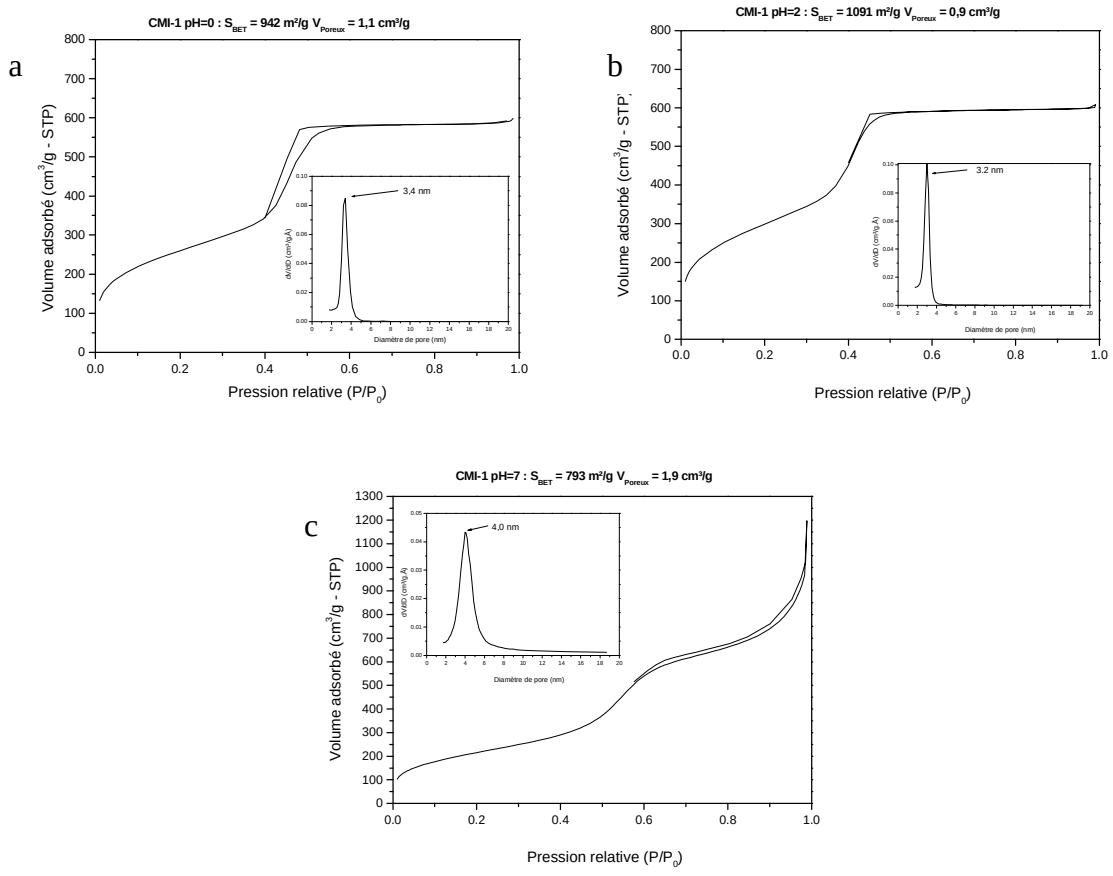


Figure 4.6 : Isothermes d'adsorption - désorption d'azote et distributions de taille de pores des matériaux CMI-1 à pH = 0(a), 2(b) et 7(c)

L'isotherme d'adsorption peut être analysée mathématiquement par différentes méthodes permettant d'obtenir les valeurs des propriétés texturales. L'équation de Brunauer Emmet et Teller (BET)[83] donne accès aux valeurs de la surface spécifique. Tandis que la méthode de Barrett, Joyner & Halenda (BJH)[84] permet d'obtenir la taille de pores des matrices. Le tableau 4.1 reprend les différentes valeurs de surface spécifique et taille de pores obtenues.

Tableau 4.1 : Propriétés texturales pour la synthèse de CMI-1 à pH 0, 2 et 7

Condition	Surface spécifique (m^2/g-stp)	Taille de pores (nm)
pH = 0	942	3,4
pH = 2	1091	3,2
pH = 7	793	4,0

Les valeurs de surfaces spécifiques obtenues par l'équation BET pour les pH acides sont proches de 1000m^2/g. Alors que la matrice synthétisée à pH 7 présente une surface spécifique plus faible. Cette diminution de surface spécifique est liée à une condensation plus rapide et une hydrolyse plus lente de notre matrice à un tel pH mais également à l'influence du pH sur le surfactant. En effet, l'acidité du milieu a provoqué des contractions des micelles induisant des tailles de pores plus faibles et donc des surfaces spécifiques plus élevées.

De plus, l'autre influence liée au pH, confirmée par les isothermes, est la présence de porosité interparticulaire lors de la synthèse à pH 7 liée à la morphologie sphérique des particules. En effet, aux pressions relatives élevées, le volume adsorbé augmentent plutôt que d'atteindre une saturation, suggérant la présence d'un second niveau de porosité. Les micrographies MEB révèlent que les sphères forment des agglomérats créant ainsi une porosité interparticulaire formée de large mésopores et macropores. Cette modification de morphologie de la matrice silicée en fonction du pH va permettre d'étudier l'influence de ce paramètre lors de la conception du médicament.

[83] S. Brunauer, P. H. Emmett, E. Teller, *J. Am. Chem. Soc.*, 60 (1938), 309
[84] E. P. Barrett, L. G. Joyner, P. P. Halenda, *J. Am. Chem. Soc*. 373 (1951), 73

Ayant au préalable calculé le paramètre de maille (a_o), qui nous renseigne sur la distance de pores à pores, l'épaisseur des parois entre 2 pores va pouvoir être obtenue (Tableau 4.2).

Tableau 4.2 : Taille des parois pour la synthèse de CMI-1 à pH 0, 2 et 7

Condition	a_o-Taille de pores	Epaisseur des parois
pH = 0	5,8 nm - 3,4 nm	2,3 nm
pH = 2	5,5 nm - 3,2 nm	2,3 nm
pH = 7	5,9 nm – 4 nm	1,9 nm

Le pH joue également un rôle au niveau de l'épaisseur des parois. En effet, une valeur de pH faible mène à une épaisseur plus importante. Cette influence est également liée à la vitesse d'hydrolyse et de condensation. Plus la vitesse d'hydrolyse est lente et moins les parois des matrices ont de temps pour se construire induisant des épaisseurs plus faibles.

En conclusion de cette partie, l'élaboration de 3 matrices aux propriétés texturales différentes a pu être réalisée. De plus, nous avons pu constater l'influence du pH sur la synthèse de ces matrices.

L'élaboration de ces matrices nous permettra d'étudier l'influence de la taille de pores sur l'incorporation de molécules actives au sein de la charpente silicée des nanovecteurs.

B. Effet de la variation du rapport surfactant sur silice

L'influence du rapport molaire surfactant sur silice sera étudiée afin de concevoir des matrices aux propriétés texturales différentes. La concentration en surfactant restant constante, la variation du rapport se fera par des ajouts de quantités de TMOS différentes afin d'obtenir des rapports Surf./Si de 0,3 ; 0,5 ; 0,7. Ces synthèses s'effectuent à une valeur de pH = 0, rendant la formation d'épaisseur de parois plus importante possible.

L'étude réalisée dans ces conditions très acides est très intéressante, l'influence de ce paramètre n'ayant été étudiée précédemment que pour un pH de 2 [77,78].

Caractérisation morphologique

L'étude de la morphologie par microscopie électronique à balayage permet d'observer que le rapport surfactant sur silice, tout comme le pH, joue un rôle dans le type de particules obtenues (Figure 4.7). Ainsi un rapport Surf./Si de 0,3 donne des sphères accolées d'environ 2 µm mais également des monolithes de taille supérieure à 5 µm suggérant selon notre expérience une matrice peu organisée. Les rapports Surf./Si de 0,5 et 0,7 présentent quant à eux des morphologies typiquement CMI-1 avec des particules de 5-6 µm en forme de vers et de gyroïde.

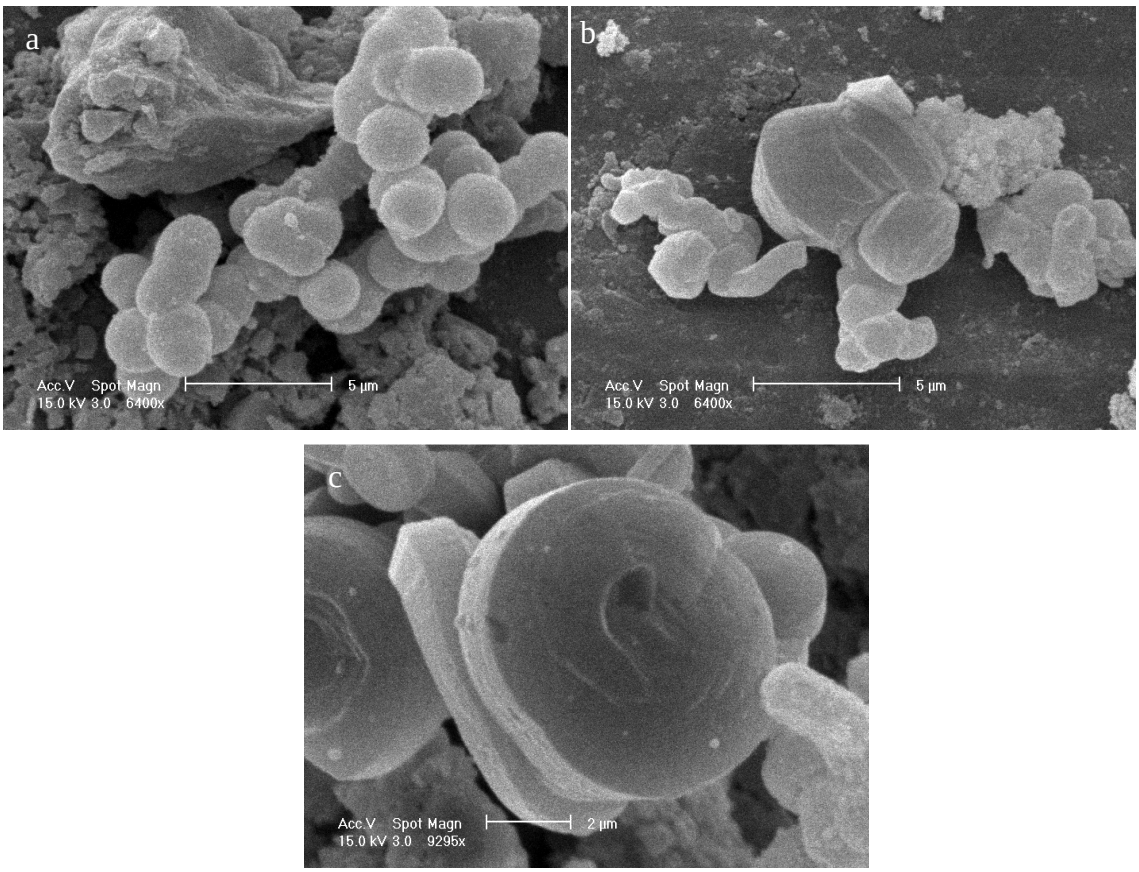


Figure 4.7 : Micrographies MEB de matériaux mésoporeux de type CMI-1 Surf./Si 0,3 (a), 0,5 (b) et 0,7(c)

Caractérisation structurale

L'observation de ces différents échantillons via les micrographies MET reprises à la figure 4.8 montre très clairement que les matrices synthétisées avec des quantités de silice plus faibles (0,5 et 0,7) présentent un arrangement hexagonal de leurs canaux tandis que le rapport de 0,3 mène à une structure désordonnée.

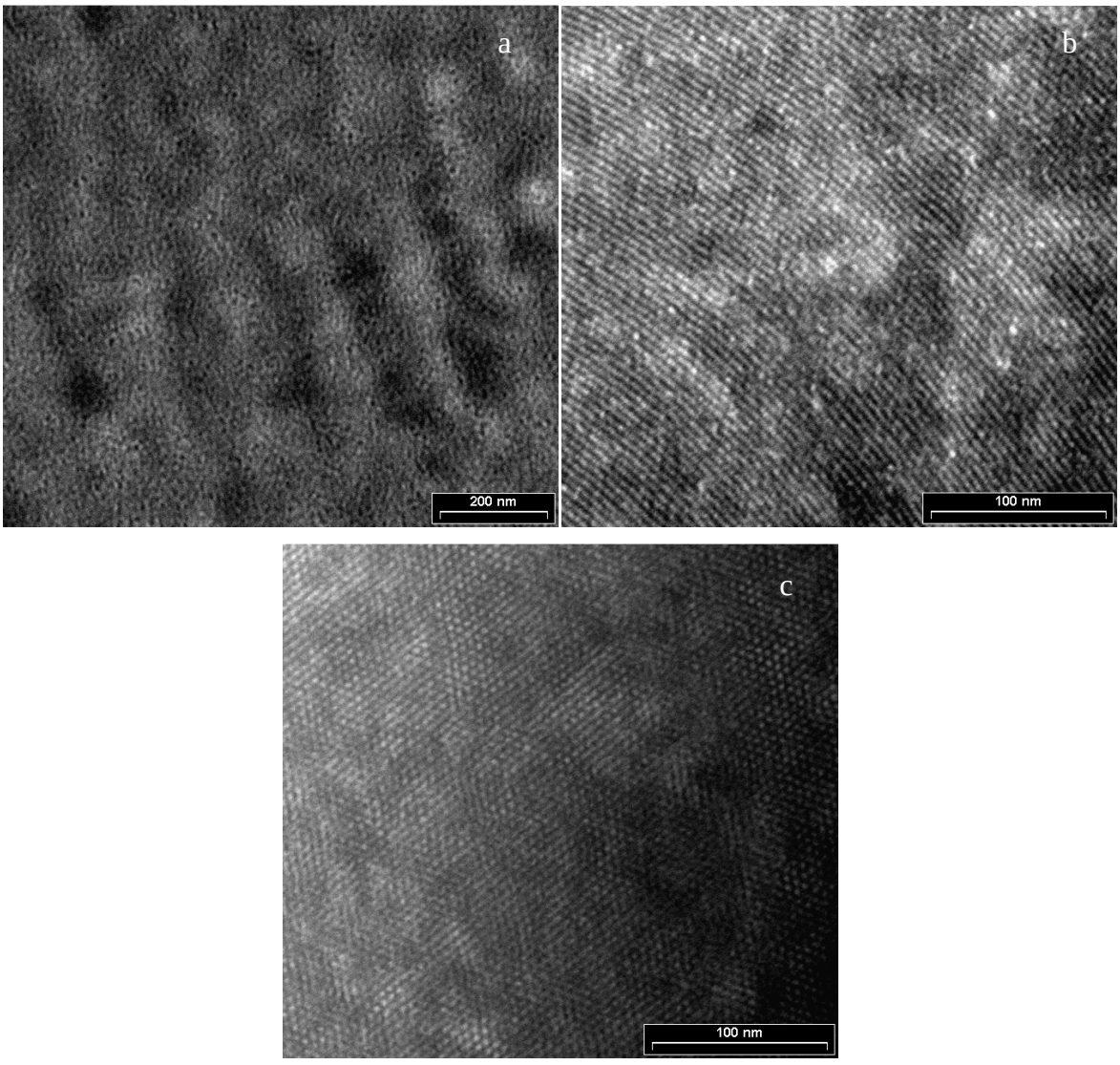


Figure 4.8 : Micrographies MET de matériaux mésoporeux de type CMI-1 Surf./Si = 0,3 (a), 0,5 (b) et 0,7 (c)

Les diffractogrammes de rayon X obtenus pour les 3 matrices (Figure 4.9) confirment les résultats obtenus par microscopie à transmission. En effet, pour de faibles quantités de source de silice, ces matériaux présentent tous deux les 3 pics de diffractions caractéristiques d'un arrangement hexagonal. Tandis que la synthèse réalisée avec un rapport Surf./Si de 0,3 mène à un matériau ne présentant qu'un seul pic lié à l'homogénéité de la taille de pores.

Les premier pics de coordonnées 100, des matrices synthétisées avec un rapport Surf./Si de 0,5 et 0,7, se situent à un angle correspondant respectivement à un paramètre de maille a_0 de 5,8 nm et 5,3 nm.

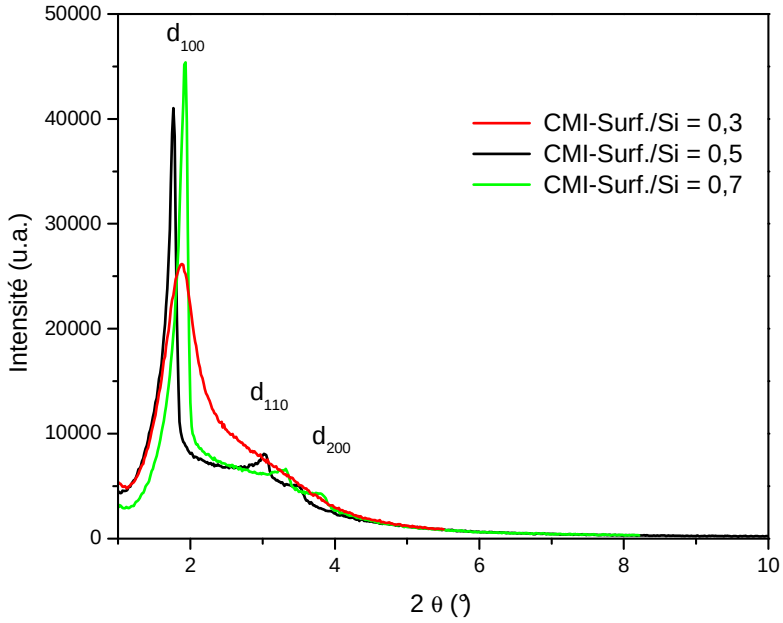


Figure 4.9 : Diffractogramme de rayon X des matériaux CMI-1 synthétisés à différents pH (Surf./Si = 0,3 ——, 0,5 ——, 0,7 ——)

Caractérisation texturale

L'analyse par adsorption - désorption d'azote (Figure 4.10) confirme la mésoporosité des matériaux synthétisés et cela pour n'importe quel rapport molaire surfactant sur silice. Les valeurs de surfaces spécifiques sont toutes très élevées et aux alentours de 900 m²/g. L'influence de la quantité de silice semble jouer un rôle sur la taille de pores, le diamètre des canaux passe ainsi de 2,8 nm pour un rapport de 0,3 à 3,4 nm pour 0,5. Ensuite celle-ci décroît de nouveau pour atteindre de nouveau 2,8 nm pour un rapport de 0,7. Le tableau 4.3 reprend les propriétés texturales de ces matériaux mésoporeux silicés.

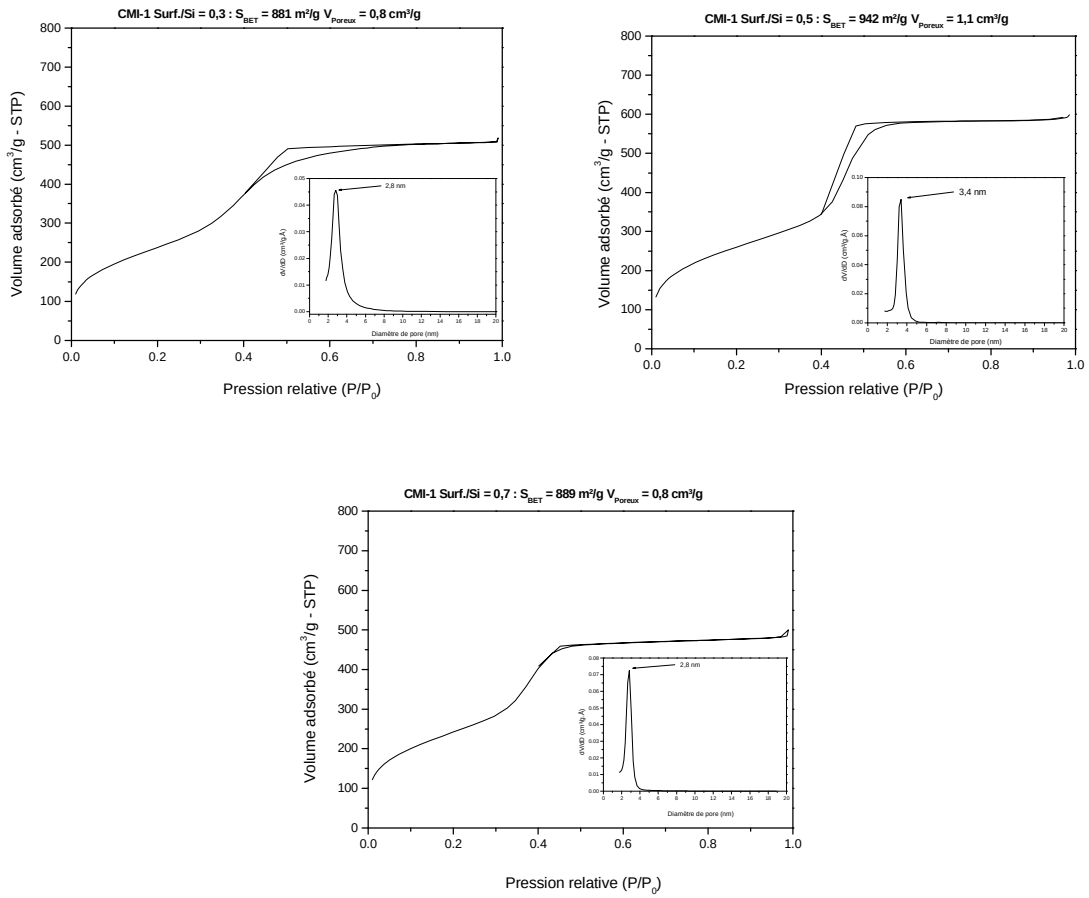


Figure 4.10 : Isotherme d'adsorption - désorption d'azote et distributions de taille de pores des matériaux CMI-1 avec Surf./Si = 0,3, 0,5 et 0,7

Tableau 4.3 : Résultats obtenus pour la synthèse de CMI-1 avec Surf./Si = 0,3 ;0,5 ;0,7

Condition	Surface spécifique (m^2/g-stp)	Taille de pores (nm)
Surf./Si = 0,3	881	2,8
Surf./Si = 0,5	942	3,4
Surf./Si = 0,7	889	2,8

Les paramètres de maille ayant été déterminés préalablement par DRX, le calcul de la taille des parois se fait par simple soustraction de la taille de pores à a_0 (Tableau 4.4).

Tableau 4.4 : Taille des parois pour la synthèse de CMI-1 avec Surf./Si = 0,5 et 0,7

Condition	a_o-Taille de pores	épaisseur des parois
Surf./Si = 0,5	5,8 nm - 3,4 nm	2,4 nm
Surf./Si = 0,7	5,3 nm – 2,8 nm	2,5 nm

La rapport Surf./Si ne semble pas intervenir au niveau de l'épaisseur des parois, les deux rapports menant à une structure organisée possédant des murs d'épaisseur semblable.

Ces matériaux seront par la suite testés sur leur potentialité de jouer le rôle de nanovecteur. Toutefois, La synthèse classique de matrices CMI-1 est limitée à 1g de matériau ce qui représente une trop faible quantité afin d'effectuer les études désirées sur un matériau possédant les mêmes caractéristiques texturales pour chaque étude. De ce fait et afin de disposer d'un volume de matériau suffisant permettant une étude systématique du relargage de l'Ibuprofen, nous avons employé un mode opératoire légèrement différent mis au point au laboratoire et qui permet l'obtention de 15 g de matériau en une seule synthèse. Cette dernière a donc été réalisée afin d'effectuer des études de l'influence du solvant et de la méthode d'imprégnation sur le taux de chargement.

En conclusion de cette partie, nous avons pu montrer que le rapport Surfactant / Silice permettait l'obtention de matrices de différentes taille de pores qui vont pouvoir être utilisées lors de la conception de notre médicament.

C. Synthèse et caractérisation des matériaux CMI-1 à grande échelle

La synthèse de matériaux CMI-1, selon le protocole mis au point au laboratoire, est décrite dans la partie expérimentale au point III.1. Cette méthode permettra d'obtenir une grande quantité de matériau aux propriétés texturales identiques.

Caractérisation morphologique

L'analyse par microscopie électronique à balayage révèle que les particules des matériaux CMI-1 à grande échelle possèdent une morphologie typique de CMI-1 conventionnel. Ainsi, des morphologies de type gyroïde, toroïde ou de vers sont présentes (Figure 4.11). Cette micrographie permet également de déterminer la taille des particules que l'on estime à 5 µm.

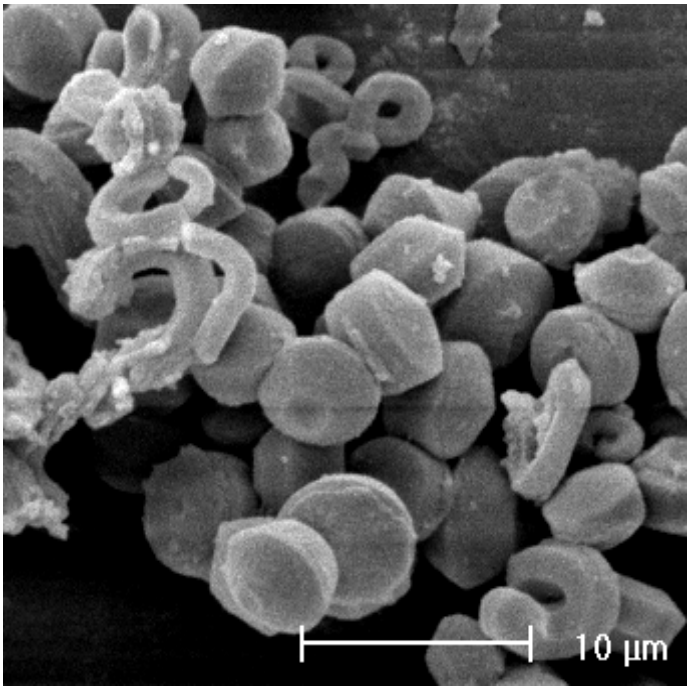


Figure 4.11 : Micrographie MEB d'un matériau CMI-1 préparé à l'échelle de 15 g

Caractérisation structurale

L'observation de ce même matériau par microscopie électronique à transmission montre que la coupe transversale (Figure 4.12) met en évidence la haute organisation hexagonale de cette matrice mésoporeuse synthétisée à grande échelle. La taille de pores peut être estimée à 4 nm.

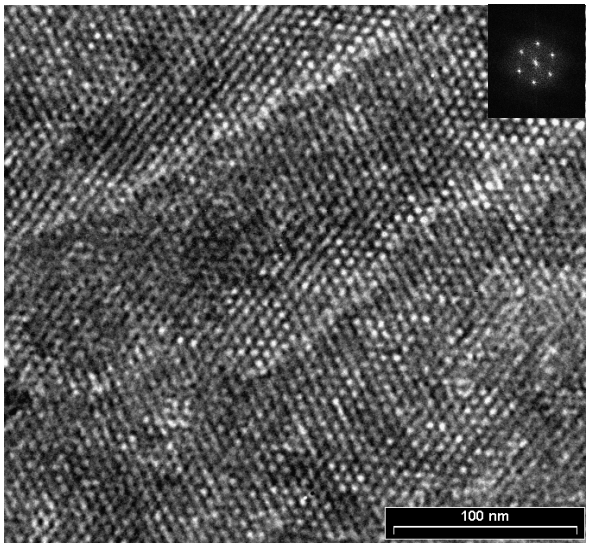


Figure 4.12 : Micrographie MET d'un matériau CMI-1 préparé à l'échelle de 15g

Caractérisation texturale

Tout comme les premières synthèses réalisées, la matrice obtenue possède une isotherme de type IV confirmant la mésoporosité du matériau et la courbe de distribution de la taille de pores est très étroite, témoignant d'une bonne homogénéité de la taille de pores (Figure 4.13).

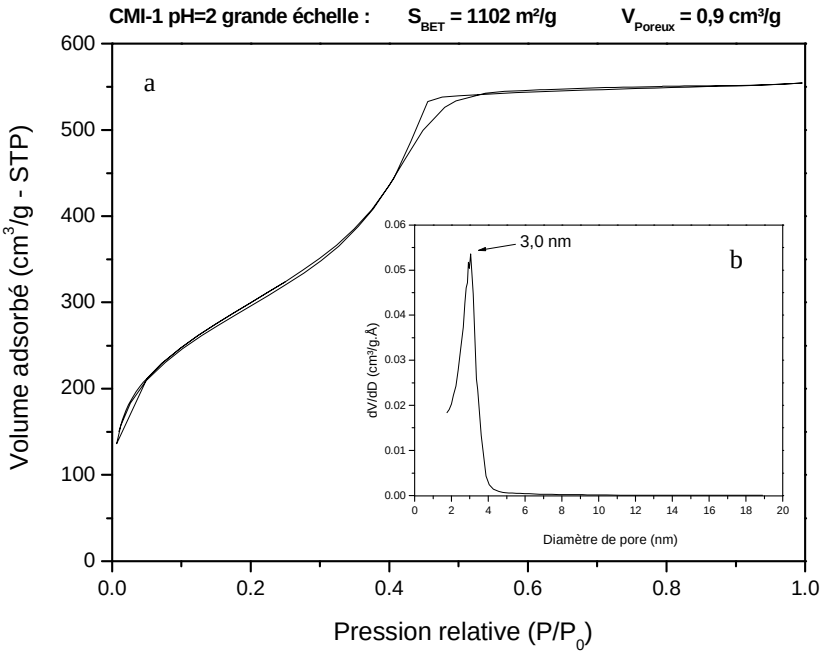


Figure 4.13 : Isotherme d'adsorption - désorption d'azote (a) et distribution de la taille de pores (b) d'un matériau CMI-1 préparé à l'échelle de 15g

Les valeurs de surface spécifique et du volume poreux obtenues par l'équation BET sont respectivement de 1102 m²/g et 0,9 cm^3/g et la taille de pores est de 3 nm. Ce diamètre poreux permet de calculer une épaisseur de paroi de 1,9 nm, par soustraction du paramètre de maille a_0. Cette faible épaisseur de paroi permet d'expliquer sa très grande surface spécifique et son grand volume poreux.

Une autre voix possible pour obtenir des propriétés texturales différentes est l'utilisation de surfactant permettant l'obtention de taille de pores plus importante. La synthèse de matrice de type SBA-15 permettra d'étendre la gamme de tailles de pores étudiées au ainsi observer l'influence de ce paramètre sur l'immobilisation et le relargage de molécules médicamenteuses.

IV.1.b Conception de matrices mésoporeuses silicatées SBA-15

Le protocole de synthèse de ces matériaux est décrit dans la partie expérimentale III.2. Tout comme les précédents matériaux, ils ont été caractérisés d'un point de vue morphologique, structural et textural.

Caractérisation morphologique

Les matériaux SBA-15 obtenus selon cette synthèse présentent tous une morphologie de vers enchevêtrés (Figure 4.14). Cette morphologie fibreuse correspond à celle décrite dans une étude spécifique concernant le contrôle de la morphologie pour les matériaux SBA-15.[85] La microscopie électronique à balayage permet aussi d'observer la taille des particules. Celle-ci est de l'ordre de quelques micromètres pour ces matériaux.

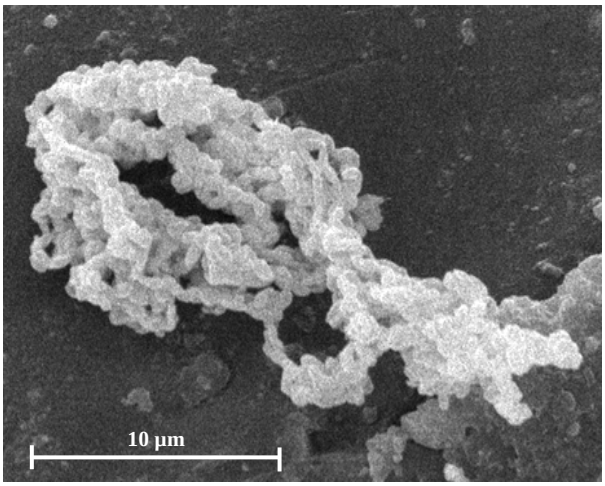


Figure 4.14 : Micrographie MEB d'un matériau SBA-15 conventionnel

[85] D. Zhao, J. Sun, Q. Li, G.D. Stucky, *Chem. Mater.*, 12 (2000), 275

Caractérisation structurale

La microscopie électronique à transmission permet d'observer l'arrangement des matériaux. Ceux-ci sont hautement organisés, montrant des canaux rectilignes pour les coupes longitudinales, visibles sur la figure 4.15(a) ci-dessous. Les coupes transversales telles qu'observées sur la figure 4.15(b) dévoilent l'arrangement hexagonal des matériaux SBA-15, faisant penser à un nid d'abeille. Ces micrographies permettent d'estimer l'espacement entre les canaux. Celui-ci peut être évalué à 5 nm.

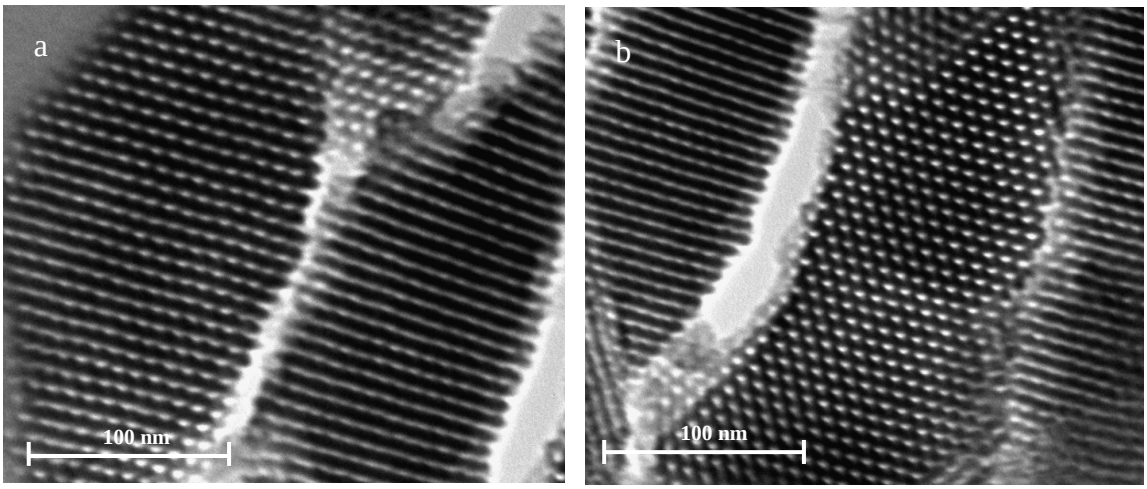


Figure 4.15 : Micrographies MET d'un matériau SBA-15 conventionnel, coupe longitudinale (a) et coupe transversale (b)

Le diffractogramme obtenu (Figure 4.16) montre les trois pics relativement bien résolus dans la zone d'angles de 1 à 3° (2θ), qui peuvent être indexés selon les indices de Miller comme (100), (110) et (200). Tout comme pour les matériaux CMI-1, ils sont associés à une phase hexagonale *p6mm*. Le pic intense (100) correspondant à la réflexion primaire et confirmant l'homogénéité de la taille de pores est bien présente. Cependant, cette diffraction a lieu à un angle beaucoup plus bas que les matrices CMI-1 donnant un paramètre de maille beaucoup plus important.

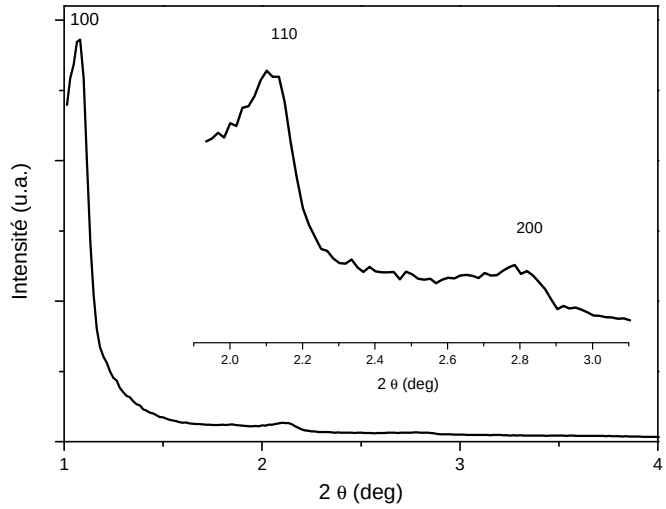


Figure 4.16 : Diffractogramme d'un matériau SBA-15 conventionnel

Le pic correspondant au plan réticulaire (100) se trouve à un angle $2\theta = 1{,}08°$. Le paramètre de maille a_0 est donc obtenu et vaut 9,4 nm pour ce matériau. Cette valeur correspond à la distance entre deux centres de pores soit à la somme de l'épaisseur de la paroi silicatée et du diamètre d'un pore, ce dernier étant obtenu par la technique d'adsorption - désorption d'azote (BET). La présence des pics de réflexions secondaires confirme la symétrie hexagonale dans l'arrangement des canaux.

Caractérisation texturale

La courbe d'adsorption - désorption d'azote obtenue pour ces matériaux SBA-15 conventionnels (Figure 4.17(a)) possède tout à fait l'allure de l'isotherme de type IV caractéristique des matériaux mésoporeux selon l'IUPAC. Cette isotherme permet également d'observer une boucle d'hystérésis caractéristique des matrices de type SBA-15.

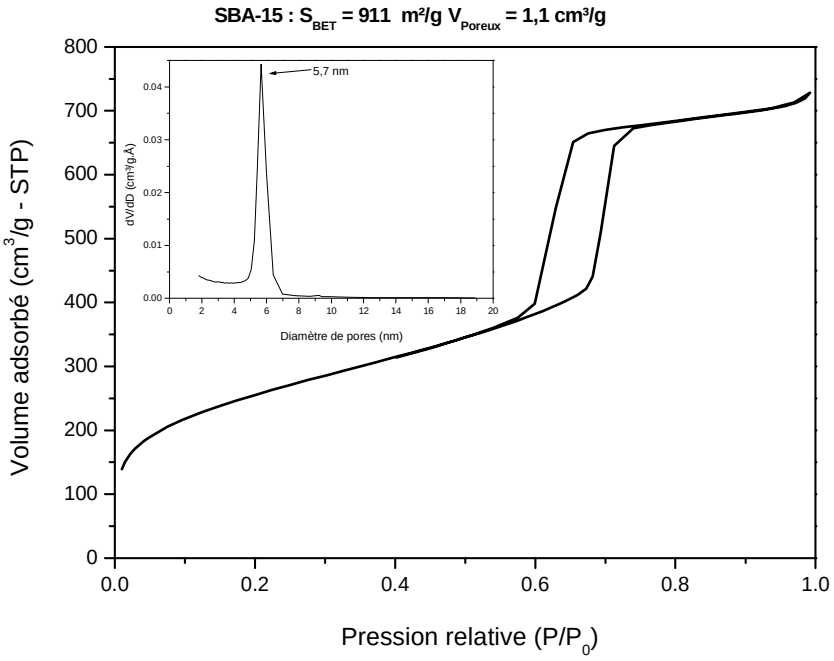


Figure 4.17 : Isotherme d'adsorption - désorption d'azote (a) et distribution de la taille de pores (b) d'un matériau SBA-15 conventionnel

La surface spécifique obtenue par l'équation de BET est de 911 m^2/g. Elle est plus élevée que celle présentée dans la synthèse de Zhao et coll.[44] qui était de 690 m^2/g. Cela pourrait s'expliquer par le fait que cette synthèse implique un traitement hydrothermal plus long induisant une taille de pores plus faibles et donc une surface spécifiques plus élevée.

La condensation capillaire présente sur l'isotherme arrive à des pressions relatives plus grandes que pour les matrices CMI-1 donnant lieu à une taille de pores de 5,7 nm (Figure 4.17(b)). Par soustraction de ce diamètre poreux du paramètre de maille valant 9,4 nm, l'épaisseur de la paroi peut être obtenue. Elle vaut 3,7 nm pour ce matériau SBA-15 conventionnel. Ce qui correspond aux attentes étant donné que les matrices SBA-15 synthétisées en milieu très acide possèdent des parois plus épaisses que les matrices CMI-1.

IV.1.c Conclusion

Le premier point de ce chapitre a mis en évidence l'élaboration de différents nanovecteurs possédant diverses propriétés texturales. Les différentes matrices mésoporeuses hautement structurées ont été synthétisées en faisant varier des paramètres tels que le pH, le rapport surfactant sur silice et le type de surfactant. Ces différentes études ont permis la synthèse de 6 matrices de même type mais aux propriétés texturales et aux morphologies différentes.

La variation du pH a rendu possible la modification des morphologies mais également des propriétés texturales des matrices. Nous avons pu montrer que le pH jouait un rôle capital dans la formation de particules mésoporeuses hautement structurées.

La modification du rapport surfactant sur silice a permis la conception de deux matrices hautement structurées possédant également des propriétés texturales différentes.

Les matrices CMI-1 et SBA-15 permettront l'étude de l'influence de la taille de pores et de la morphologie sur l'immobilisation et les capacités de ces matrices à libérer de façon contrôlée l'Ibuprofen.

IV.2 Immobilisation de l'Ibuprofen au sein des matrices mésoporeuses de type CMI-1 et SBA-15

Cette partie est un point crucial dans le développement de notre médicament. En effet, elle va permettre d'étudier différents paramètres qui influenceront probablement la conception de notre médicament, tels que le solvant ou encore la méthode d'immobilisation.

Les matériaux mésoporeux CMI-1 seront donc utilisés en vue de trouver les paramètres optimaux pour l'élaboration du nouveau nanovecteur.

Ainsi, une fois ces paramètres obtenus, nous les transposerons aux matrices SBA-15, CMI-N, SBA-N, PMO et PMO-N.

IV.2.a Influence du temps d'immobilisation

Ce point consiste en une détermination du taux d'incorporation d'Ibuprofen dans nos matrices en fonction du temps d'imprégnation. Le solvant qui sera utilisé dans cette partie sera l'hexane car son caractère hydrophobe devrait permettre de limiter les interactions de celui-ci avec la matrice (relativement hydrophile) et donc favoriser les interactions de l'Ibuprofen avec la surface mais également de favoriser la dissolution du principe actif.

Les matériaux imprégnés d'Ibuprofen ont été caractérisés par thermogravimétrie ainsi qu'en adsorption - désorption d'azote.

L'Ibuprofen va être immobilisé dans la matrice mésoporeuse de type CMI-1 synthétisée à grande échelle décrite dans le chapitre précédent.

Pour rappel, ce matériau présente une taille de pores de 3,0 nm et possède une surface spécifique de 1102 m^2/g et un volume poreux de 0,9 cm^3/g. Sachant que la taille de

la molécule médicamenteuse (1,15 x 0,6 nm)[66] est inférieure à celle des canaux du matériau hôte, les dimensions de celui-ci semblent tout à fait appropriées.

Cette étude utilisera la méthode d'imprégnation directe décrite dans le chapitre 3 section III.5.a. Pour rappel, 1 g de matériau dans 20 ml d'hexane contenant 1000 mg d'Ibuprofen (0,242 M) est utilisé. Les différentes conditions d'immobilisation réalisées au laboratoire sont représentées dans le tableau 4.5 ci-dessous.

Tableau 4.5 : Variation du temps d'encapsulation de l'Ibuprofen utilisant la méthode d'imprégnation directe dans l'hexane

Echantillon	Temps d'imprégnation (heures)
1	0,5
2	1
3	2
4	3
5	4
6	6
7	8
8	10
9	12
10	16
11	20

Afin de s'assurer que la variation des propriétés de la matrice hôte est due à la présence de l'Ibuprofen, l'élaboration d'un blanc d'immobilisation est nécessaire.

Dans le cadre de cette étude les blancs utilisés seront des matrices ayant subit le même traitement que les différents échantillons mais sans molécule active. Ceci permettra d'étudier l'incorporation d'Ibuprofen sans tenir compte de l'effet du solvant sur les propriétés texturales.

Analyse par adsorption - désorption d'azote

Les isothermes obtenues sont toutes de type IV, caractéristiques des matériaux mésoporeux, montrant ainsi le maintien des propriétés texturales de la matrice. L'analyse des sauts de condensation capillaire situés à des pressions relatives similaires, traduit des diamètres poreux relativement proches. Les valeurs de surface spécifique et de diamètre poreux repris dans le tableau 4.6 permettent de compléter ces observations.

Tableau 4.6 : Surfaces spécifiques et taille de pores des matériaux encapsulés pour des durées variables d'imprégnation dans l'hexane

	Blancs			**Matériaux impregnés**		
Echantillon	Surfaces Spécifiques (m^2/g)	Taille de pores (nm)	Volume poreux (cm^3/g)	Surface spécifique (m^2/g)	Taille de pores (nm)	Volume poreux (cm^3/g)
1	1078	3,1	0,9	947	2,9	0,7
2	1082	3,0	0,8	884	3,1	0,7
3	1039	3,0	0,9	812	3,0	0,6
4	1026	2,9	0,9	539	2,6	0,5
5	1013	3,1	0,8	512	2,6	0,5
6	1047	3,0	0,9	508	2,7	0,4
7	1064	2,9	0,9	516	2,6	0,5
8	1009	3,0	0,9	502	2,6	0,5
9	1057	3,0	0,8	765	2,6	0,6
10	1098	2,9	0,9	789	2,8	0,7
11	1054	3,0	0,9	794	2,7	0,7

La diminution de la surface spécifique du matériau après immobilisation confirmerait le succès de l'incorporation d'Ibuprofen dans les canaux de la matrice silicée, mais il se peut également qu'il s'agisse de restes de solvant.

Afin d'avoir une idée de la place occupée par le solvant, rappelons que les blancs d'immobilisation dans l'hexane n'ont présenté qu'une très faible diminution de la surface spécifique et que la taille de pores n'a pas été modifiée par ce traitement. Ceci prouve que l'hexane n'altère aucunement la matrice et n'interagit pas avec la surface et que la diminution de la surface spécifique est bien liée à la présence d'Ibuprofen.

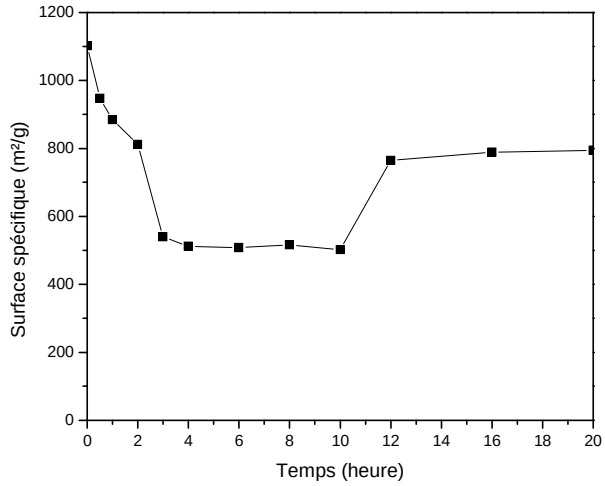


Figure 4.18 : Evolution de la surface spécifique au cours du temps d'immobilisation de l'Ibuprofen

Suite à l'analyse de la surface spécifique des différents échantillons obtenus, une tendance peut clairement en être tirée comme le montre la figure 4.18. Au cours des premières heures, la surface spécifique diminue de façon linéaire et rapide jusqu'à atteindre un palier qu'elle va conserver pendant une dizaine d'heures. Ensuite, pour des temps plus élevés, la diminution de la surface spécifique est devenue moindre.

L'une des explications à cette diminution subite est l'effet capillaire que peut jouer la matrice CMI-1 sur la solution concentrée en Ibuprofen. Ainsi, lors des premières heures, la solution est littéralement aspirée par les canaux de la matrice par effet capillaire jusqu'à atteindre un équilibre qui perdurera pendant un long moment. Il parait également probable que plus la diminution de surface spécifique est importante et plus la quantité en Ibuprofen est grande.

Ces diminutions de surface témoignent donc clairement de la présence de molécules actives au sein de la charpente silicée du support CMI-1.

Spectroscopie infrarouge

La figure 4.19 représente le spectre infrarouge d'un matériau CMI-1 imprégné d'Ibuprofen et le spectre du matériau non imprégné. Pour le spectre du matériau imprégné du principe actif, une bande d'absorption située à 1715 cm^{-1} (Tableau 4.7) confirme la présence d'Ibuprofen au sein du matériau. Cette bande correspond à l'élongation de la fonction C=O de l'acide carboxylique. Vers 1760 cm^{-1}, les acides carboxyliques aliphatiques absorbent sous leurs formes monomères et lorsqu'il se dimérisent par formation de ponts hydrogènes, ceux-ci absorbent le rayonnement IR entre 1706 et 1720 cm^{-1}. Il est donc probable que l'Ibuprofen établisse des liaisons hydrogènes avec les nombreux groupes hydroxyles des silanols présents à la surface interne de la matrice. A cela s'ajoute l'absence d'une forte bande d'élongation asymétrique de 1550 à 1650 cm^{-1}, caractéristique de l'ion carboxylate, prouvant bien que l'Ibuprofen est sous sa forme neutre dans les canaux des matériaux CMI-1.

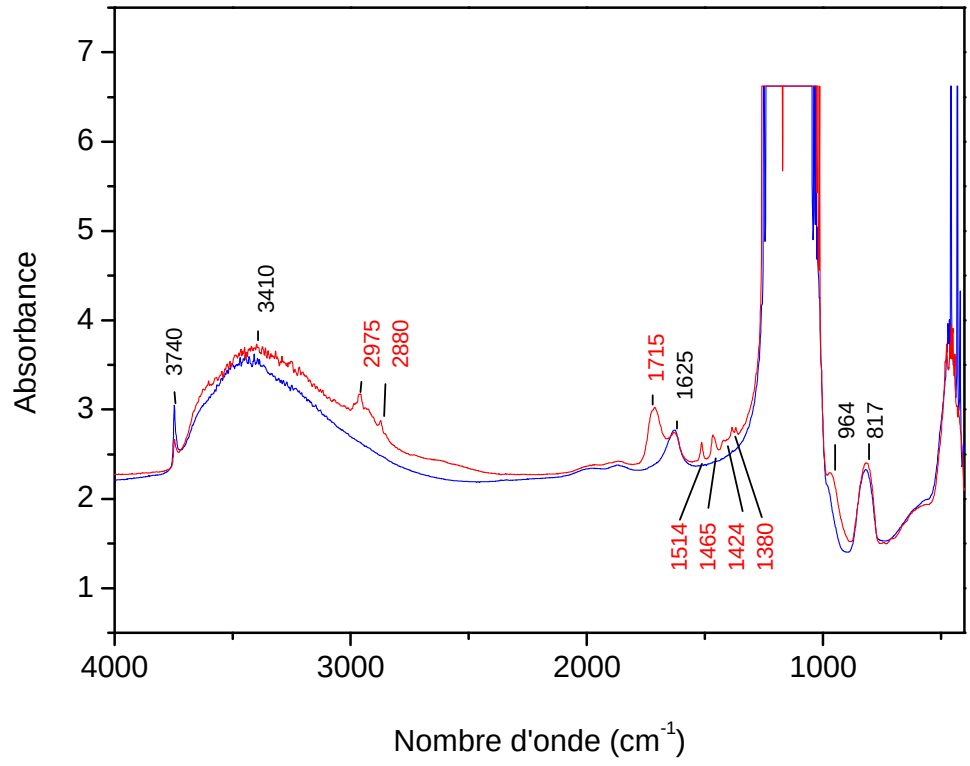


Figure 4.19 : Spectres IR d'un matériau CMI-1 traditionnel (——) et d'une matrice CMI-1 contenant de l'Ibuprofen (——)

La zone du spectre comprise entre 1250 et 1600 cm^{-1} présente un grand nombre de bandes d'absorption qui ne se trouvent pas sur le spectre du matériau non imprégné. Ceci montre que la matrice imprégnée possède des liaisons C-H diverses appartenant à l'Ibuprofen. Vers 1465 et 1514 cm^{-1} se trouvent les élongations C-C du cycle aromatique et vers 1380 cm^{-1}, les déformations des liaisons C-H du groupement isopropyle qui témoignent également de la présence de l'Ibuprofen au sein des canaux.

A 2975 cm^{-1}, apparaît un pic caractéristique des élongations asymétriques des groupes CH_3 confirmant de nouveau la présence de l'Ibuprofen. Le tableau 4.7 reprend l'attribution des bandes de vibrations des deux spectres infrarouges obtenus.

Tableau 4.7 : Attribution des bandes de vibrations des spectres IR d'un matériau CMI-1 non imprégné (•) et imprégné d'Ibuprofen (•)

Fréquence de vibrations (cm^{-1})	Vibrations ou déformations correspondantes
964	Elongations symétriques Si-OH
1031-1174	Elongations asymétriques Si-O-Si et déformations angulaires Si-O-Si
1380	Déformations C-H d'un groupement isopropyle
1424	Déformations angulaires H-C-H dans le plan (cisaillement)
1465 et 1514	Elongations C-C du cycle aromatique
1625	Déformation angulaire H-O-H
1715	Elongations C=O des acides carboxyliques
2880	Elongations asymétriques C-H
2975	Elongations asymétriques C-H des méthyles
3740-3410	Elongations symétriques SiO-H (libres), élongations symétriques et asymétriques des SiO-H impliqués dans des ponts H avec H_2O et vibration d'élongation de H_2O physisorbée

Spectroscopie RMN ^{13}C

Le spectre RMN ^{13}C du matériau CMI-1 imprégné d'Ibuprofen est présenté à la figure 4.20. Ce spectre est à comparer avec le spectre de ce même matériau, mais sans Ibuprofen. Sur ce spectre n'apparait aucun signal relatif au matériau car aucun Carbone n'est présent dans le réseau silicé. De ce fait, tous les signaux présents sur ce spectre sont attribués à l'Ibuprofen immobilisé au sein du matériau.

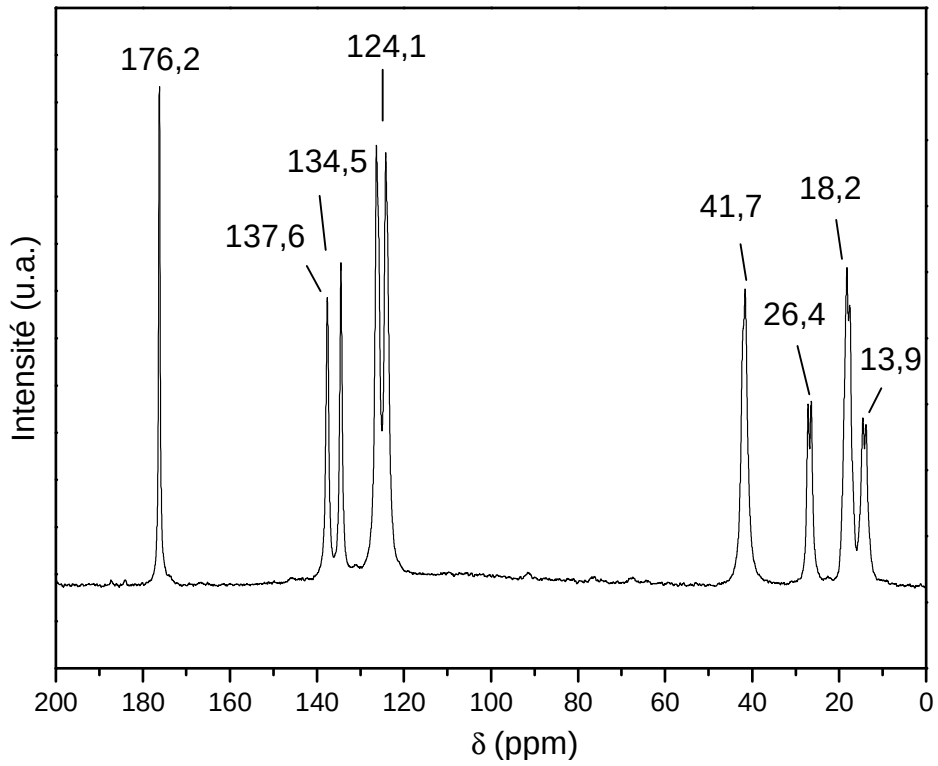
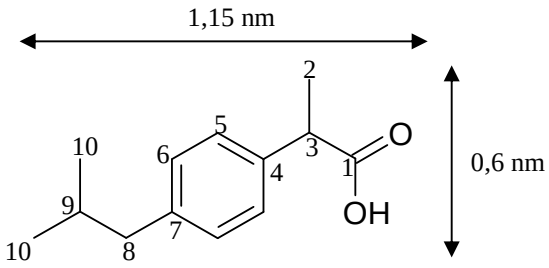


Figure 4.20 : Spectre RMN ^{13}C d'un matériau CMI-1 imprégné d'Ibuprofen

Les signaux situés à haut champ (13,9 ; 18,2 ; 26,4 et 41,7 ppm) proviennent des différents C (sp^3) que contient l'Ibuprofen. Le signal de la matrice imprégnée d'Ibuprofen à 41,7 ppm est attribué au C (sp^3) adjacent au groupement acide carboxylique (COOH), tandis que les pics à 124,1 ; 134,5 et 137,6 ppm sont attribués aux différents C (sp^2) du cycle benzénique. Enfin, le signal à plus bas champ (176,2 ppm) provient de la résonance du carbone de la fonction acide carboxylique (Tableau 4.8).

Tableau 4.8 : Déplacement chimique de l'Ibuprofen isolée et au sein de la matrice CMI-1 en RMN ^{13}C



	Carbones	1	2	3	4-7	5-6	8	9	10
δ (ppm)	Ibuprofen	182,6	14,9	43,6	136,8/141,6	129,8	45,4	31,9	21,5/24,5
	CMI-Ibu	176,2	13,9	41,7	134,5/137,6	126,4/124,1	41,7	26,4	18,2

L'analyse des déplacements chimiques de l'Ibuprofen au sein de la charpente silicique de la matrice CMI-1 met en évidence un déplacement vers les hauts champs de certaines raies de résonnance. Ce déplacement peut être expliqué par l'influence de la matrice qui modifie l'environnement entourant l'Ibuprofen.

Ces spectres IR et RMN ^{13}C présentés prouvent la présence des molécules d'Ibuprofen au sein de la structure poreuse du nanovecteur. Cependant, ils restent qualitatifs, car la quantité d'Ibuprofen incorporée n'est pas encore connue. C'est pourquoi il est nécessaire de passer par l'analyse thermogravimétrique afin de déterminer la quantité précise immobilisée au sein de la structure des CMI-1.

Analyse thermogravimétrique et spectroscopie ultraviolet

La détermination des quantités de principes actifs immobilisés au sein de notre matrice a peut être effectuées par deux méthode d'analyse distincte. En effet, l'analyse du surnageant d'immobilisation par spectroscopie UV-vis et l'étude de la perte de masse suite à la combustion du médicament conçu par thermogravimétrie vont permettre de déterminer la quantité de molécules médicamenteuses présentes dans les canaux de la matrice CMI-1.

La figure 4.21 représente la courbe de perte de masse de l'Ibuprofen. Celui-ci subit une dégradation dans une gamme de températures qui s'étendent de 140 à 465°C. La perte de masse sera donc calculée depuis la température de 140°C jusqu'à 650°C plutôt que 450°C car la courbe est davantage horizontale à 650°C (risque d'erreur réduit).

Cette opération est appliquée à la fois sur la courbe de perte de masse du matériau imprégné d'Ibuprofen et sur celle du blanc d'imprégnation.

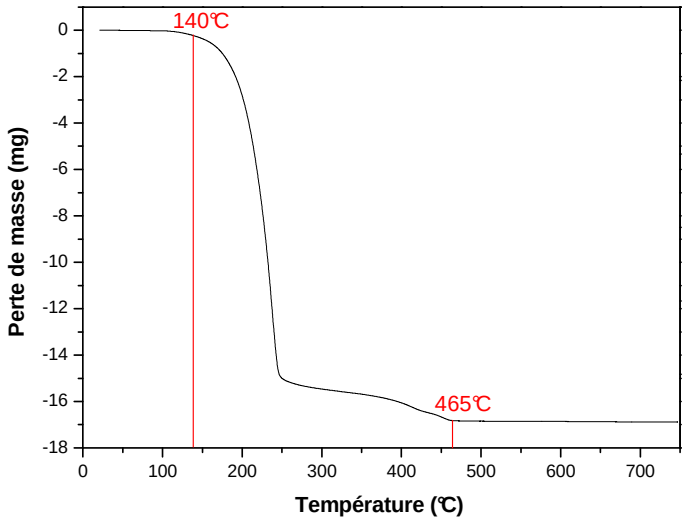


Figure 4.21 : Analyse thermogravimétrique de l'Ibuprofen dégradé sur une gamme de températures allant de 140°C à 465°C

Notons que les pertes de masse, principalement dues à la libération de dioxyde de carbone et d'eau, sont fonction de la masse d'analyte introduite au départ. C'est pourquoi les pertes de masse sont exprimées en mg/g. A cette valeur doit être retranchée la valeur du blanc d'imprégnation. La perte de masse présente aux alentours de 225°C est liée à la combustion de l'Ibuprofen tandis que la perte de masse centrée sur 400°C est probablement liée à l'oxydation du résidu de calcination.

Sur base de ce calcul, les quantités immobilisées au sein de chaque échantillon pourront être déterminées. On pourra ainsi tracer un graphe des quantités d'Ibuprofen présentes au sein des matrices au cours du temps.

L'analyse UV-vis du surnageant a permis d'obtenir un spectre (Figure 4.22) duquel l'intensité à 222 nm est reportée sur les droites de calibrations décrites dans la section III.7.

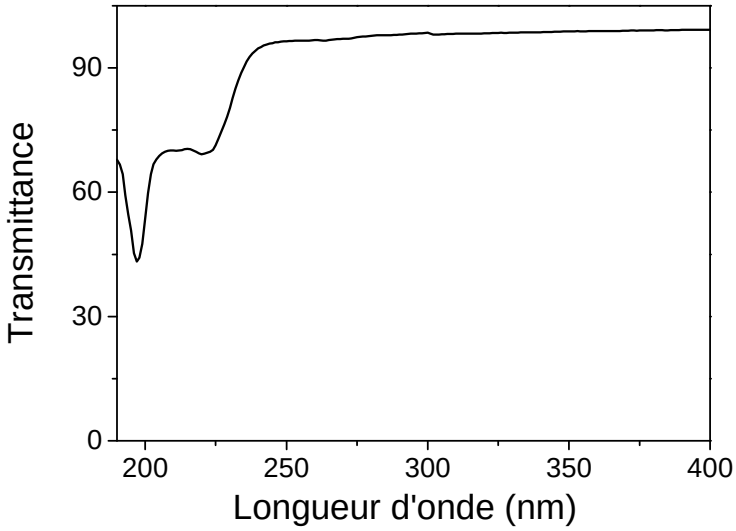


Figure 4.22 : Spectre UV/vis d'une solution d'Ibuprofen après 3h d'immobilisation dans l'hexane

Les valeurs obtenues par UV et par thermogravimétrie pour les 10 échantillons sont reprises dans le tableau 4.9.

Tableau 4.9 : Détermination des quantités en Ibuprofen immobilisées en fonction du temps d'encapsulation dans l'hexane exprimées en mg d'Ibuprofen par gramme de matériau

	TG	**UV**
Echantillon	Quantité d'Ibuprofen immobilisée (mg/g) - (mmol/g)	
1	35,4 - 0,2	24,4 - 0,1
2	85,9 - 0,4	79,6 - 0,4
3	154,2 - 0,7	138,8 - 0,7
4	289,3 - 1,4	201,9 - 1,0
5	284,1 - 1,4	212,8 - 1,0
6	293,8 - 1,4	225,7 - 1,0
7	294,8 - 1,4	236,4 - 1,0
8	292,6 - 1,4	224,8 - 1,0
9	198,8 - 1,0	121,9 - 0,6
10	187,6 - 0,9	113,8 - 0,6

Une augmentation progressive de la quantité en Ibuprofen immobilisée avec le temps d'immobilisation peut être observée, tendance plus visible sur un graphique reportant la quantité de molécules actives immobilisées en fonction du temps (Figure 4.23).

Ce profil d'immobilisation peut être relié à l'évolution des surfaces spécifiques mesurées par adsorption – désorption d'azote (Figure 4.18). L'hypothèse fournie par ces résultats suggère un effet capillaire important lors des premières heures d'immobilisation faisant augmenter les concentrations rapidement. Comme le montrent les résultats thermogravimétriques, les quantités d'Ibuprofen immobilisées suivent un profil inverse des propriétés texturales des matrices, ce qui confirme l'effet capillaire suggéré précédemment.

Le plateau présent par la suite est induit par un équilibre entre le nanovecteur et le milieu d'immobilisation. Il est également important de constater que, après un temps de 10 heures, le taux d'immobilisation diminue comme le laissait supposer l'augmentation de la surface spécifique liée à une dégradation du réseau silicaté.

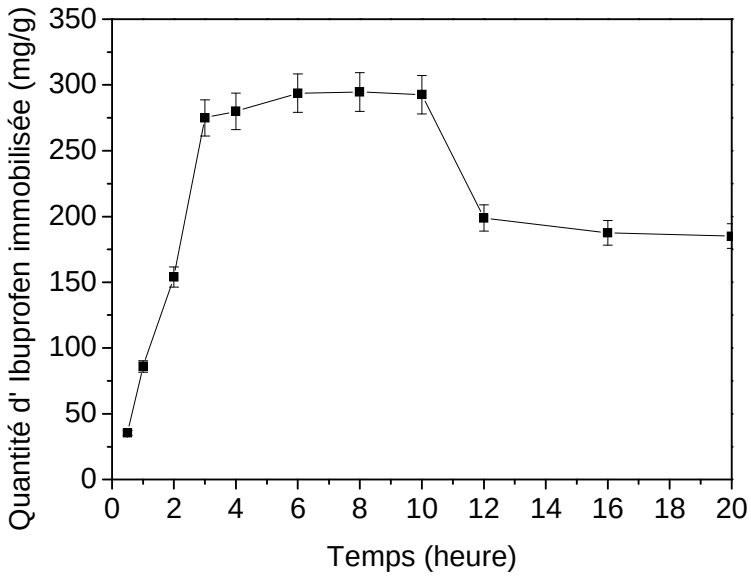


Figure 4.23 : Evolution des quantités d'Ibuprofen immobilisées en fonction du temps déterminées par thermogravimétrie

De cette comparaison, il ressort que le pourcentage mesuré par spectroscopie est plus faible que celui mesuré par thermogravimétrie. De plus, il y a une diminution du taux d'imprégnation mesuré par UV tandis que ce taux reste relativement constant par l'analyse

thermique. Ces différences peuvent être expliquées par des erreurs expérimentales intervenant dans la méthode spectroscopique.

En effet, celle-ci se base sur des différences de concentration en Ibuprofen et nécessite une précision tant sur le volume de solvant que sur la masse d'Ibuprofen pesée. Or l'hexane, le solvant utilisé, est très volatil même à température ambiante et, malgré l'utilisation d'un réfrigérant, le volume de solvant récolté à la fin de l'imprégnation était moindre qu'au départ, représentant une perte de 10 %. Ce volume a été ajusté à l'aide du solvant utilisé pour le rinçage du matériau mais cet ajout provoque un effet de dilution non négligeable. Ceci expliquerait une surestimation de la concentration en Ibuprofen dans le matériau. Enfin, les solutions ont été diluées entre 100 et 500 fois avant leur analyse ajoutant une imprécision à la concentration malgré l'utilisation d'un appareillage précis pour ces dilutions.

L'analyse thermogravimétrique, par contre, est une méthode directe et n'exige aucune manipulation expérimentale, si ce n'est la pesée de la masse du matériau mise dans le creuset qui a été réalisée sur une balance précise au dixième de milligramme. La quantité de matériau moyenne pesée étant de 20 mg, l'erreur sur la masse est de 0,5 %. Seuls les résultats obtenus par cette méthode, jugés plus fiables pour les raisons précitées, seront présentés par la suite.

Conclusion

Cette partie a déterminé l'évolution du pourcentage d'Ibuprofen immobilisé en fonction du temps d'imprégnation, en vue de définir la durée adéquate du traitement à utiliser pour la suite de cette thèse. En effet, l'influence du temps sur les quantités d'Ibuprofen immobilisées au sein de la matrice CMI-1 a rendu possible la détermination du temps d'immobilisation optimal. L'analyse par adsorption – désorption d'azote a permis d'observer que l'hexane n'altérait pas les propriétés texturales, morphologiques et structurales du matériau mésoporeux. Les analyses thermogravimétriques et d'adsorption - désorption d'azote ont, quant à elles, montré que le taux de chargement maximum de 289,3 mg/g peut être atteint après seulement 3 heures d'immobilisation.

Les quantités immobilisées au sein du support mésoporeux sont légèrement plus faibles que ce que propose l'industrie pharmaceutique dans le commerce actuellement : de 200 à 500 mg selon le type de soin nécessaire et les voies d'administrations. Cependant, si la matrice mésoporeuse permet de contrôler le relargage du principe actif et d'éviter une déperdition vers des sites non-ciblés, cette quantité serait suffisante que pour avoir les mêmes effets tout en évitant les inconvénients. Cette étude a également permis de déterminer le temps optimal pour une immobilisation dans un solvant qui est l'hexane. Il pourrait être intéressant d'étudier l'influence du solvant en utilisant d'autres solvants d'immobilisation. Cette étude est décrite dans la partie suivante.

IV.2.b Influence du solvant

L'étude des paramètres optimaux d'immobilisation passe obligatoirement par l'essai de différents solvants. En effet, ceux-ci jouent un rôle important dans l'immobilisation de la molécule médicamenteuse car ils dictent le comportement et les interactions des molécules avec le support.

Pour cette étude, 6 solvants ont été utilisés. Ces solvants ont été employés car ils permettaient la solubilisation de l'Ibuprofen et ne détérioraient à priori pas la matrice. Ces solvants sont l'acétone, l'éthanol, l'hexane, l'éther, l'acétate d'éthyle et le tetrahydrofurane.

Dans un premier temps il était nécessaire d'observer l'influence de cette imprégnation directe sur les caractéristiques texturales, morphologiques et structurales du matériau. Pour ce faire, des blancs d'immobilisation ont été réalisés et comparés aux matériaux d'origine ainsi qu'aux matériaux contenant de l'Ibuprofen.

Tout comme l'étude du temps, celle de l'influence du solvant sera faite pour une imprégnation de 1g de matériau avec une solution d'Ibuprofen de 1000 mg dans 20 ml (0,242M) pendant 3 h. La matrice CMI-1 utilisée pour cette étude provient d'une synthèse à grande échelle ayant donné des valeurs de surface spécifique de 1033 m^2/g et une taille de pores de 3 nm.

Analyses structurale et morphologique

Les micrographies MET et MEB montrent que, ni le fait de mettre le matériau CMI-1 en suspension, ni la présence de la molécule médicamenteuse dans ce milieu d'encapsulation pendant un temps de 3 heures, ne perturbe la morphologie et l'arrangement du matériau. La figure 4.24 représente les micrographies MEB et MET du matériau imprégné d'Ibuprofen pendant 3 heures dans les différents solvants.

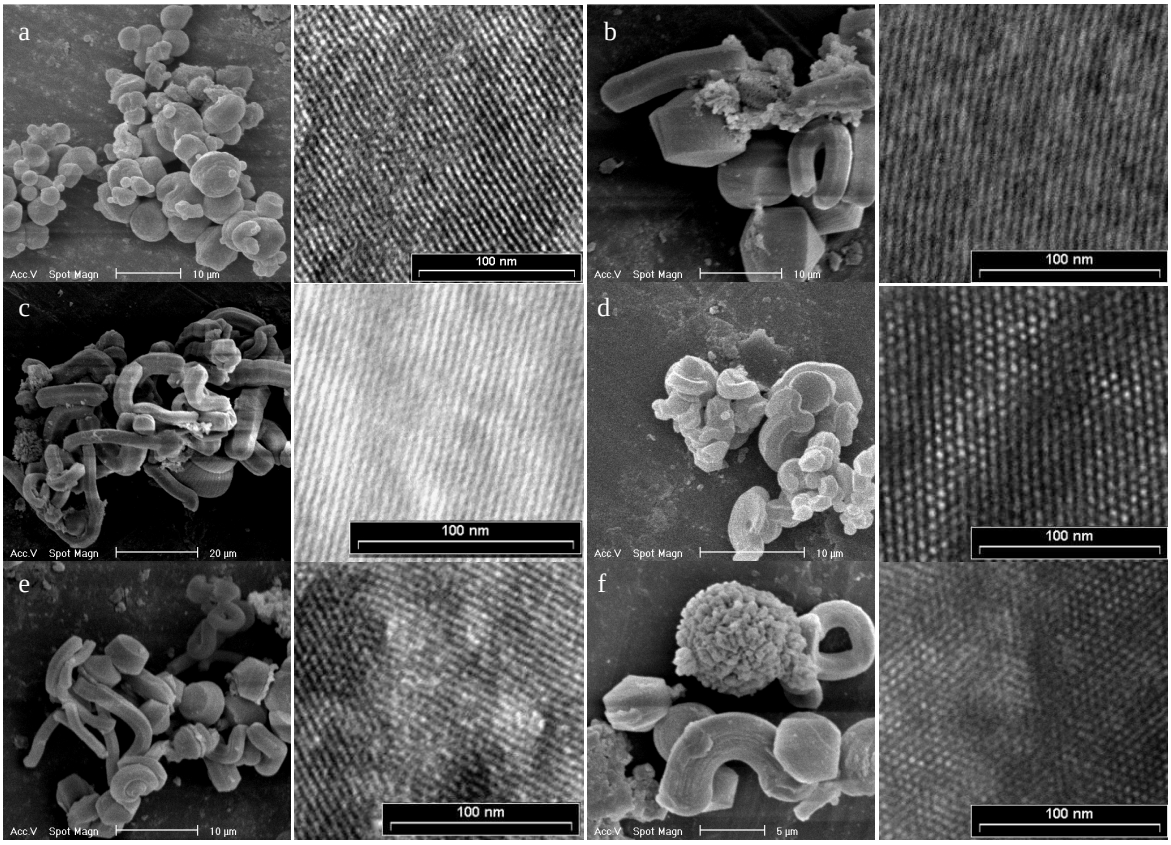


Figure 4.24 : Micrographies MEB et MET d'un matériau imprégné d'Ibuprofen pendant 3h dans l'acétone (a), l'éthanol (b), l'hexane (c), l'éther (d), l'acétate d'éthyle (e) et le tetrahydrofurane (f)

Analyse d'adsorption - désorption d'azote

La diminution de la surface spécifique du matériau après immobilisation confirmerait le succès de l'incorporation d'Ibuprofen au sein des canaux de la matrice mésoporeuse silicée. Afin d'écarter l'influence du solvant sur la diminution des surfaces spécifiques des matériaux mis en présence d'Ibuprofen, les isothermes des matériaux

imprégnés d'Ibuprofen ainsi que celles du matériau d'origine devront être comparées à celles des blancs d'immobilisation correspondants (Figure 4.25).

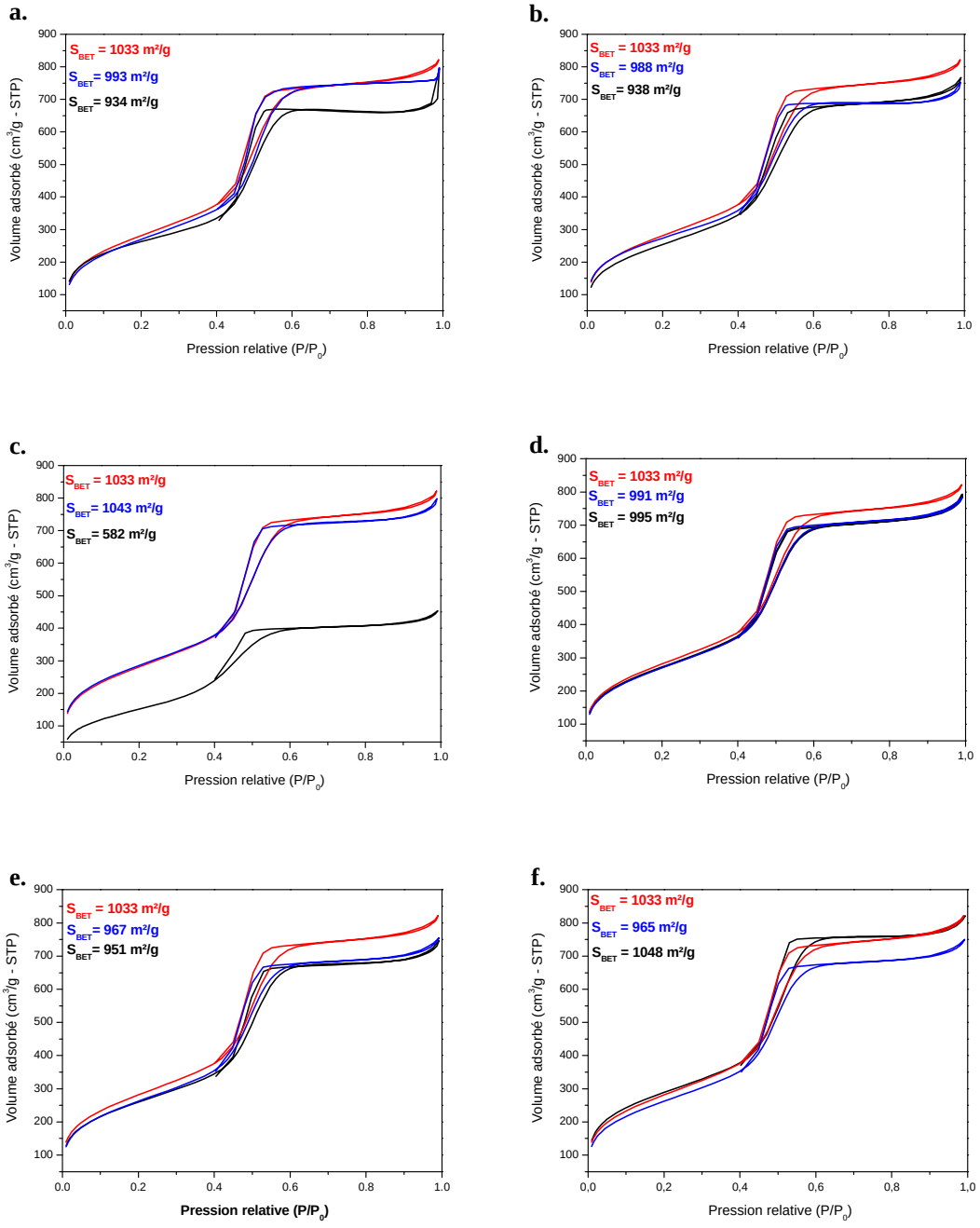


Figure 4.25 : Isothermes d'adsorption - désorption d'azote des matériaux utilisés pour l'étude de l'effet de solvant. a. Acétone, b. Ethanol, c. Hexane, d. Ether, e. Acétate d'éthyle, f. Tetrahydrofurane (—— : matériau d'origine, —— : blanc d'immobilisation, —— : matériau imprégné d'Ibuprofen)

Les résultats obtenus montrent que dans tous les cas une isotherme de type IV, caractéristique des matériaux mésoporeux CMI-1, est observée. Les isothermes des échantillons *b, d, e* et *f* montrent une variation insignifiante des surfaces spécifiques. En effet, les zones allant de 0 à 0,4, au niveau de la pression relative, sont similaires pour ces 4 échantillons, ce qui témoigne d'une faible influence du solvant mais qui pourrait témoigner également d'une très faible quantité de molécules médicamenteuses immobilisées. Ces solvants ne sont probablement pas propices à l'immobilisation de principe actif.

Dans le cas de l'échantillon *a* (acétone) on peut observer que là aussi le solvant n'a que très peu d'influence sur la surface spécifique du matériau et que l'ajout d'Ibuprofen, dans une moindre mesure, provoque une légère diminution de surface spécifique.

Mais, si dans le cas des autres solvants l'ajout d'Ibuprofen n'avait que très peu influencé, dans le cas de l'hexane (échantillon c), une diminution de près de 450 m^2/g peut être attribuée à l'ajout de l'Ibuprofen au sein du matériau.

Ces analyses d'adsorption - désorption ne permettent pas dans tous les cas de tirer une conclusion définitive sur la présence d'Ibuprofen au sein des matériaux. Il semblerait que l'acétone et l'hexane permettent un taux de chargement plus élevé mais, pour le confirmer, d'autres analyses doivent être effectuées.

En comparant les propriétés texturales des blancs par rapport aux matériaux n'ayant subit aucun traitement après leur synthèse. Nous pouvons cependant affirmer que les propriétés texturales des matériaux ne sont pas touchées par les traitements de solvants que subissent les matériaux.

Pour ce qui est de la taille de pores aucune variation sensible n'est observée sauf dans le cas de l'imprégnation directe dans l'hexane où le matériau passe d'une taille de pores de 3 nm à 2,6 nm. Cette diminution est très probablement due à la présence d'Ibuprofen dans les canaux du matériau.

Afin de quantifier et de vérifier les analyses effectuées par adsorption - désorption d'azote, la thermogravimétrie va être utilisée.

Analyse thermogravimétrique

Les résultats obtenus pour ces solvants sont décrits dans le tableau 4.10. Tous ces résultats sont obtenus en utilisant la méthode d'immobilisation par imprégnation directe décrite dans le chapitre III.5.a.

Tableau 4.10 : Résultats de l'immobilisation de l'Ibuprofen par imprégnation directe obtenus au cours de l'étude de l'influence du solvant sur des matériaux CMI-1 conventionnels

	TG
Solvant	Quantité d'Ibuprofen immobilisée (mg/g) - (mmol/g)
Acétone	64,2 – 0,3
Ethanol	82,6 – 0,4
Hexane	289,3 – 1,4
Ether	38,7 – 0,2
Acétate d'éthyle	34,3 – 0,2
Tetrahydrofurane	37,2 – 0,2

Conclusions

Cette étude a donc permis de déterminer les solvants d'immobilisation optimaux à l'incorporation d'Ibuprofen au sein des matrices CMI-1. Si, d'un point de vue de conservation des propriétés physiques, les solvants se valent tous, ce n'est pas le cas concernant le taux d'incorporation. En effet, les analyses thermogravimétriques montrent clairement que l'hexane se démarque fortement des cinq autres solvants avec un taux d'immobilisation de 29 %. Ces résultats confirment les analyses effectuées dans la section précédente. L'hexane semble donc avoir un taux d'immobilisation nettement supérieur aux autres solvants, ce qui explique la forte diminution de surface spécifique du matériau.

Ces analyses révèlent également que l'acétone et l'éthanol se trouvent dans une gamme d'immobilisation plus faible que l'hexane mais cela reste, malgré tout, significatif avec des taux d'immobilisation respectifs de 6 et 8 %. En comparaison avec les autres solvants, l'hexane n'a pas la possibilité d'interagir avec les silanols laissant l'Ibuprofen profiter de tous les silanols libres. Tandis que dans le cas des autres solvants, ceux-ci peuvent créer des interactions ponts hydrogènes avec les silanols de la surface masquant ceux-ci pour l'Ibuprofen.

Au vu de ces résultats, les études sur les méthodes d'imprégnation seront appliquées à ces 3 solvants laissant de côté les solvants éthérés qui ont montré un taux de chargement très faible.

IV.2.c Influence de la méthode d'imprégnation

A. Imprégnation directe

Cette méthode a été utilisée pour la comparaison des solvants et a montré que l'hexane est le solvant le plus adéquat pour cette méthode.

B. Effet de prétraitement thermique sur l'immobilisation (activation)

La méthode utilisée dans ce point est décrite dans la section III.5.b. Pour cette étude, trois solvants d'immobilisation seront utilisé, l'hexane, l'éthanol et l'acétone. Les trois matériaux obtenus ont été attentivement étudiés par l'adsorption - désorption d'azote, microscopies électroniques à balayage et transmission et enfin par thermogravimétrie afin de déterminer le taux d'immobilisation en Ibuprofen présent dans les matériaux.

Analyses structurale et morphologique

Les micrographies MET et MEB montrent que ni le fait de mettre le matériau CMI-1 en suspension, ni l'étape d'activation, ni la présence de la molécule médicamenteuse dans ce milieu d'imprégnation pendant un temps de 3 heures ne perturbe la morphologie et l'arrangement du matériau. La figure 4.26 représente les micrographies MEB et MET d'un matériau ayant subit le prétraitement thermique (activé) et imprégné d'Ibuprofen. L'immobilisation en molécule active a été réalisée pendant 3h dans l'hexane. Tous les autres matériaux furent également analysés par ces techniques et ont montré le même type de morphologie ainsi que la conservation de l'arrangement des canaux.

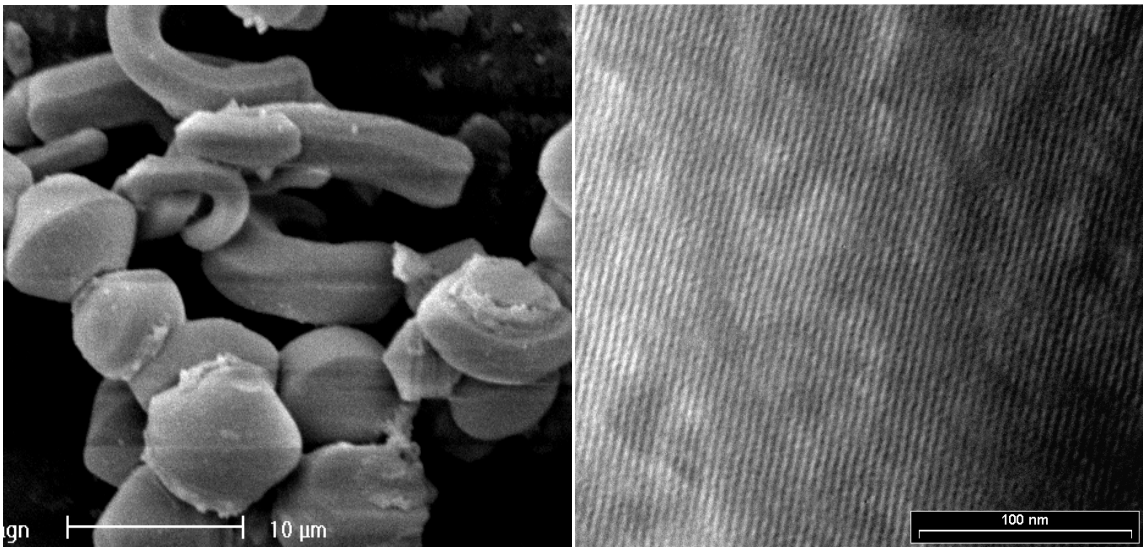


Figure 4.26 : Micrographies MEB et MET d'un matériau activé et imprégné d'Ibuprofen pendant 3h dans l'hexane

Analyse d'adsorption - désorption d'azote

Les analyses d'adsorption - désorption d'azote se comportent de la même manière que pour la méthode d'imprégnation directe. En effet, sur la figure 4.27 on peut observer que les solvants n'influencent pratiquement pas la surface spécifique des matériaux et que l'imprégnation via l'hexane donne une forte diminution de la surface spécifique en comparaison aux autres solvants.

Cette analyse permet de supposer que, une fois encore, le meilleur solvant est l'hexane et que les quantités imprégnées en Ibuprofen via les autres solvants sont assez faibles.

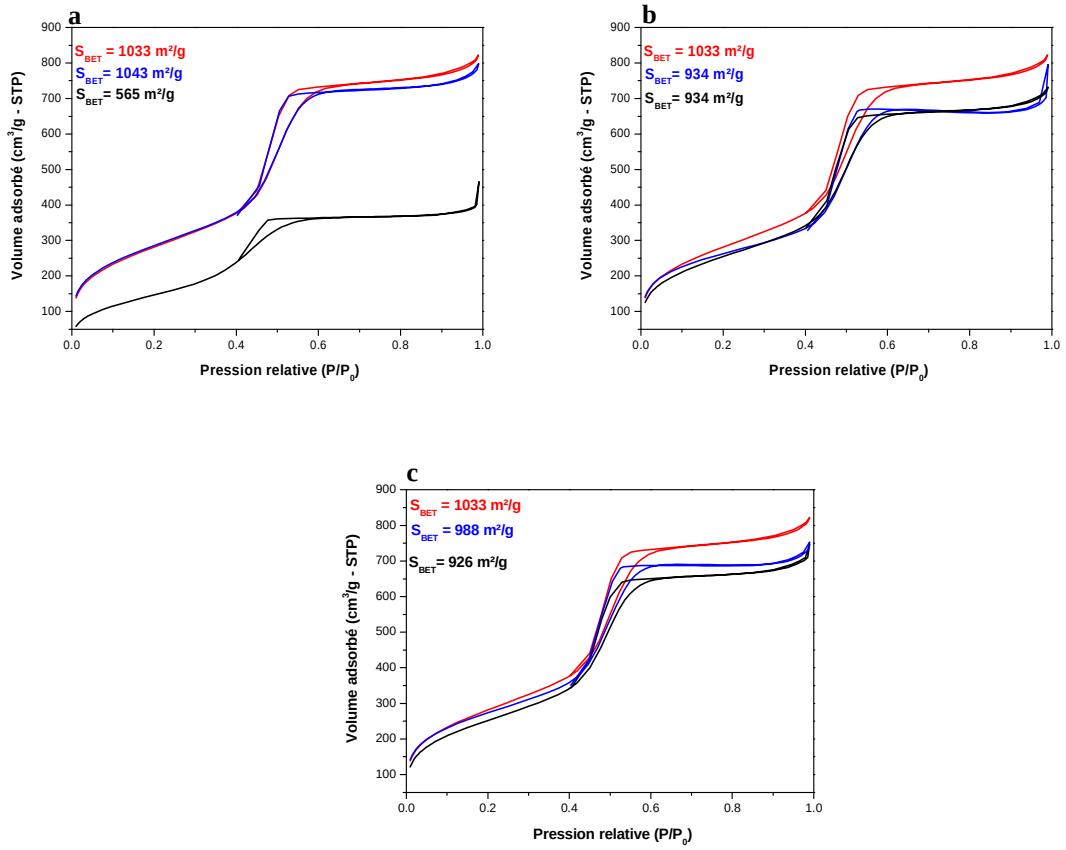


Figure 4.27 : Isothermes d'adsorption - désorption d'azote des matériaux imprégnés par la méthode d'activation. a. Hexane, b. Acétone et c. Ethanol (—— : Blanc d'immobilisation, —— : Matériau d'origine, —— : Matériau imprégné d'Ibuprofen)

Afin de quantifier et de vérifier les analyses effectuées par adsorption - désorption d'azote, la thermogravimétrie va être utilisée.

Analyse thermogravimétrique

Les résultats obtenus pour cette étude confirment encore une fois les résultats obtenus par adsorption - désorption d'azote à savoir que l'hexane via cette méthode est encore le meilleur solvant d'imprégnation (Tableau 4.11). Il est également à noter que le rendment d'imprégnation a diminué de plus de la moitié pour l'acétone et l'éthanol et seulement de 2% pour l'hexane.

Le prétraitement thermique afin d'éliminer les molécules absorbées à la surface du support rend les silanols beaucoup plus accessibles renforçant les interactions d'attraction entre ceux-ci et l'acide carboxylique présent sur l'Ibuprofen. Cependant, celle-ci renforce également les interactions de répulsions entre ces groupes hydrophiles et la partie hydrophobe de la molécule. Il est donc possible que, dans le cas d'un matériau ayant subit un prétraitement thermique, ces répulsions chassent une partie des molécules à l'extérieur des canaux.

De plus, contrairement à l'hexane, l'éthanol et l'acétone présenteront également une attraction accrue avec la surface.

Tableau 4.11 : Résultats de l'immobilisation de l'Ibuprofen par imprégnation directe sur des matériaux CMI-1 activés

Solvant	Quantité d'Ibuprofen immobilisée (mg/g) – (mmol/g)	Rendement (%)
Acétone	30,0 – 0,1	3
Ethanol	38,3 – 0,2	4
Hexane	265,2 – 1,3	27

Cette étude montre donc qu'il n'est pas nécessaire d'effectuer un prétraitement thermique sur les matériaux pour favoriser une immobilisation plus importante en molécules médicamenteuses.

C. Imprégnations successives

Analyses structurale et morphologique

Les micrographies MET et MEB montrent que ni le fait de mettre le matériau CMI-1 plusieurs fois en suspension, ni la présence de la molécule médicamenteuse dans ce milieu d'encapsulation pendant un temps de 3 fois 3 heures ne perturbe la morphologie et l'arrangement du matériau. La figure 4.28 représente les micrographies MEB et MET d'un matériau imprégné d'Ibuprofen pendant 3 fois 3 heures dans l'hexane. Tous les autres matériaux furent également analysés par ces techniques et ont montré le même type de morphologie ainsi que la conservation de l'arrangement des canaux.

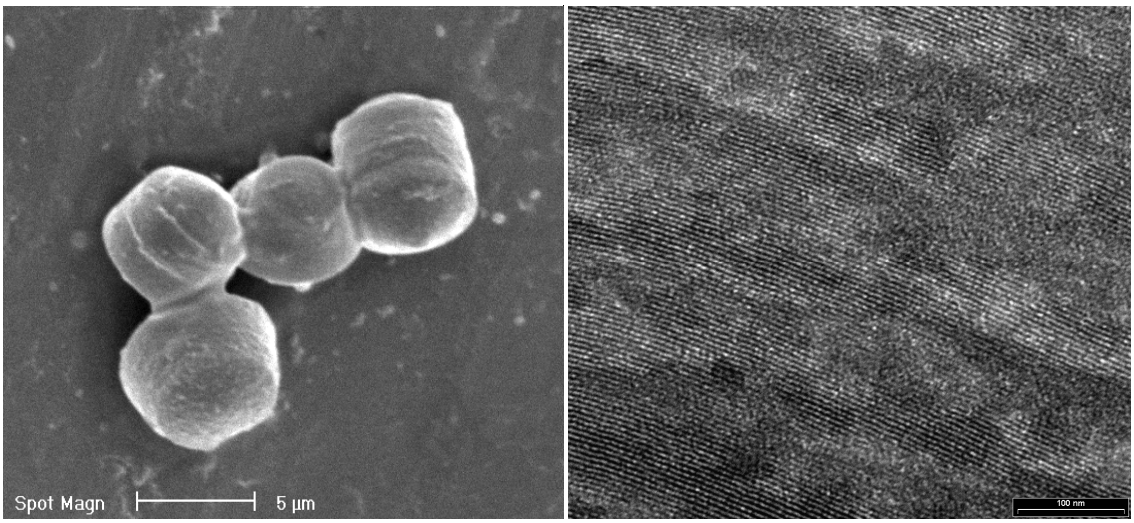


Figure 4.28 : Micrographies MEB et MET d'un matériau imprégné d'Ibuprofen pendant 3 fois 3h dans l'hexane

Analyse d'adsorption - désorption d'azote

Les analyses d'adsorption - désorption d'azote suivent le même comportement que dans les autres études. En effet, sur la figure 4.29, les propriétés texturales du matériau ne sont pas influencées par les solvants seuls et l'imprégnation via l'hexane donne une forte diminution de la surface spécifique comparée aux imprégnations utilisant les autres solvants.

Cette analyse permet de supposer que, une fois de plus, le meilleur solvant est l'hexane et que les quantités imprégnées en Ibuprofen via les autres solvants sont assez faibles.

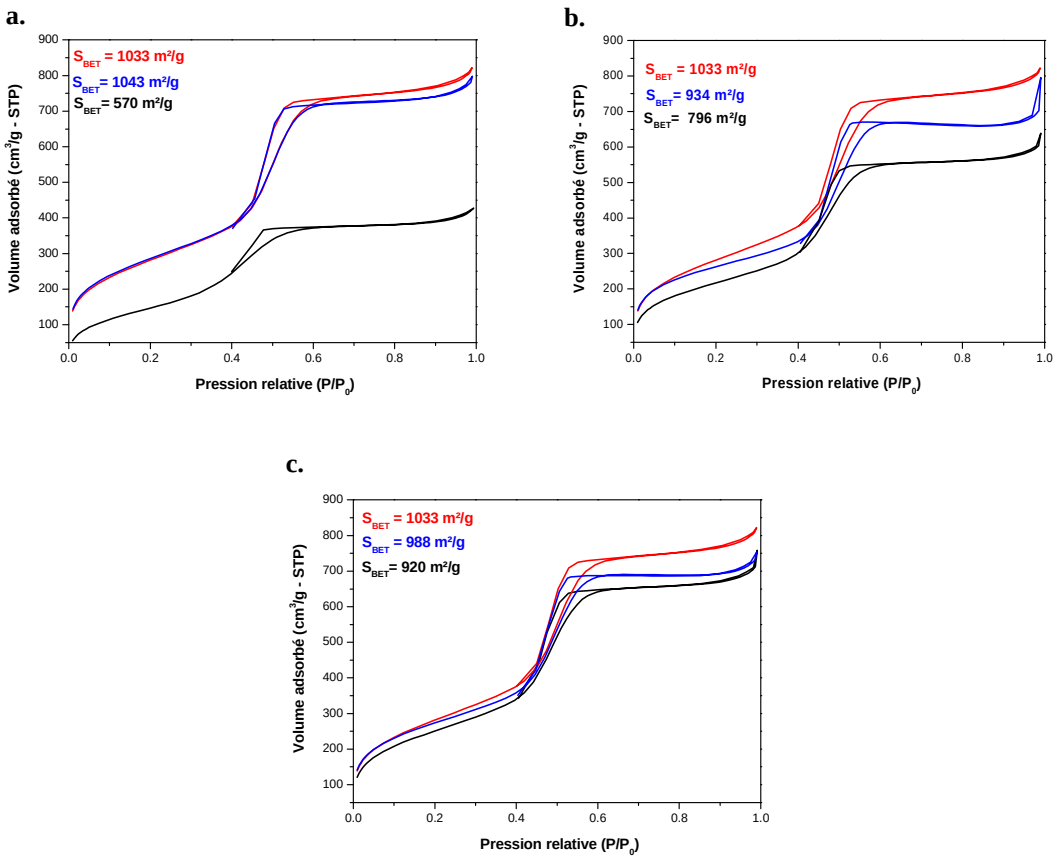


Figure 4.29 : Isothermes d'adsorption - désorption d'azote des matériaux imprégnés par la méthode d'imprégnations successives. a. hexane, b. acétone et c. ethanol (—— : Blanc d'immobilisation, —— : Matériau d'origine, —— : Matériau imprégné d'Ibuprofen)

Tout comme précédemment, l'analyse d'adsorption - désorption d'azote ne permet pas de mesurer la quantité d'Ibuprofen au sein des matrices. Il est donc nécessaire de procéder à une analyse thermogravimétrique.

Analyse thermogravimétrique

Les résultats obtenus (Tableau 4.12) pour cette étude confirment encore une fois les résultats obtenus par adsorption - désorption d'azote à savoir que l'hexane via cette méthode est aussi le meilleur solvant d'imprégnation pour les mêmes raisons citées précédemment. Il est également à noter que le rendement d'imprégnation a fortement diminué pour les trois solvants. Malgré que les quantités en mg/g soient semblables, il ne faut pas oublier que dans ce cas nous avons imprégné 3 fois de manière successive ces matériaux. Il y a donc d'importantes pertes en molécules médicamenteuses pour arriver aux mêmes résultats.

Tableau 4.12 : Résultats de l'immobilisation de l'Ibuprofen par imprégnations directes successives sur des matériaux CMI-1 conventionnels

Solvant	Quantité d'Ibuprofen immobilisée (mg/g) – (mmol/g)	Rendement (%)
Acétone	48,2 – 0,2	5
Ethanol	42,6 – 0,2	4
Hexane	290,8 – 1,4	9

Ce phénomène peut s'expliquer par le fait que, lorsque les matériaux sont mis en suspension, ceux-ci subissent un déplacement de concentration de l'Ibuprofen en solution vers l'intérieur des canaux. Cependant, lors d'une remise en suspension, les matériaux contiennent déjà une certaine quantité d'Ibuprofen. Ce matériau va donc équilibrer les concentrations entre la solution et le matériau ne faisant augmenter les concentrations au sein des matériaux que très faiblement. Cette méthode nécessite 3 fois plus d'Ibuprofen. Ce qui a pour conséquence de diviser les rendements par trois.

D. Déposition par filtration

Analyses structurale et morphologique

Les micrographies MEB et MET montrent que le passage du solvant par déposition par filtration avec ou sans molécule médicamenteuse de manière répétée ne perturbe pas la morphologie et l'arrangement du matériau. La figure 4.30 représente les micrographies MEB et MET d'un matériau imprégné par filtration avec de l'hexane.

Tous les autres matériaux ont également été analysés par ces techniques et ont montré le même type de morphologie ainsi que la conservation de l'arrangement des canaux.

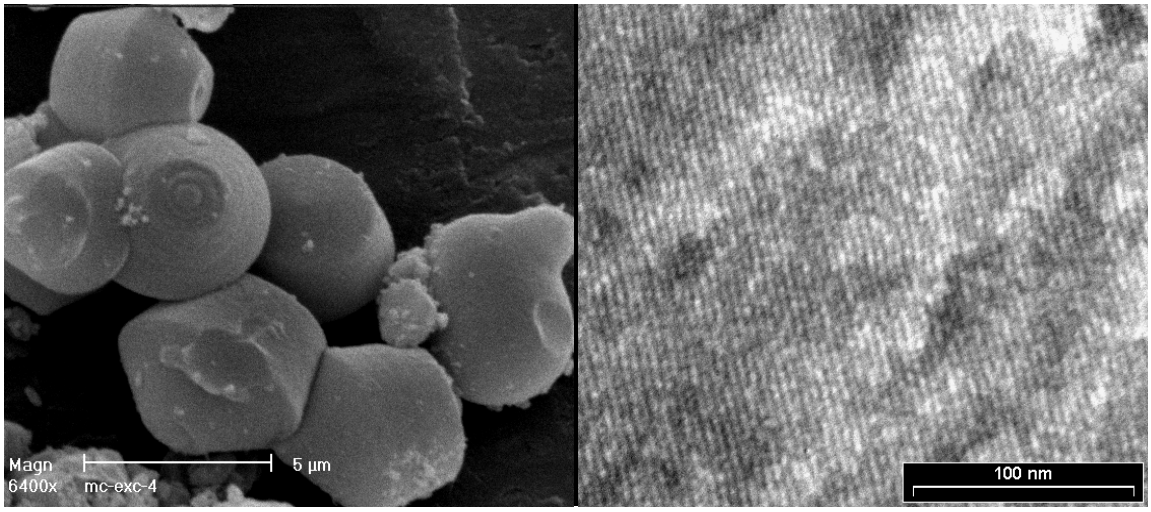


Figure 4.30 : Micrographies MEB et MET d'un matériau imprégné d'Ibuprofen par filtration avec de l'hexane

Analyse par adsorption - désorption d'azote

Les matériaux analysés par adsorption - désorption d'azote (Figure 4.31), dans le cas de la méthode d'immobilisation par filtration, montrent que, à l'instar des autres méthodes, les solvants n'altèrent pas ou très peu les propriétés texturales du matériau.

Lorsque l'Ibuprofen est mis en présence du solvant, une forte diminution de la surface spécifique est toujours observée dans le cas de l'hexane mais via cette méthode, une diminution significative de cette caractéristique est également observée dans le cas de l'Ibuprofen immobilisé à l'aide de l'éthanol.

Cette diminution respective des surfaces spécifiques pourrait signifier que les quantités immobilisées ont fortement augmenté dans le cas de l'éthanol et de l'hexane. Pour confirmer ces résultats, l'analyse thermogravimétrique est nécessaire.

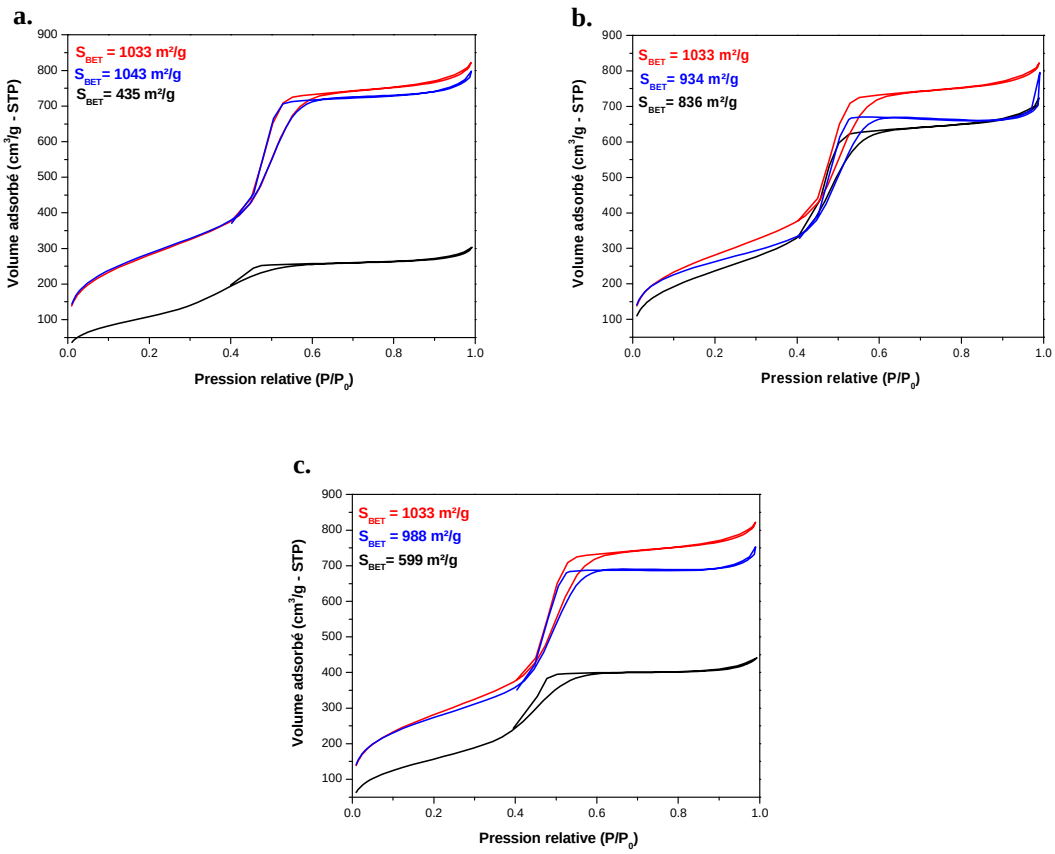


Figure 4.31 : Isothermes d'adsorption - désorption d'azote des matériaux imprégnés par la méthode de filtration. a. Hexane, b. Acétone et c. Ethanol (—— : Blanc d'immobilisation, —— : Matériau d'origine, —— : Matériau imprégné d'Ibuprofen)

Analyse thermogravimétrique

Les résultats obtenus pour cette étude confirment encore une fois les résultats obtenus par adsorption - désorption d'azote à savoir que l'hexane et l'éthanol via cette méthode possèdent une quantité d'Ibuprofen plus importante que l'acétone (Tableau 4.13). Cependant, il est également à noter que le rendement d'imprégnation a fortement diminué pour les trois solvants malgré que les quantités en mg/g soient semblables voire plus élevées pour l'éthanol.

Il ne faut pas oublier que dans ce cas nous avons imprégné avec une solution 10 fois plus concentrée en rapport à la quantité de matériaux. Il y a donc d'importantes pertes en molécules médicamenteuses pour arriver au même résultat.

Tableau 4.13 : Résultats de l'immobilisation de l'Ibuprofen par déposition par filtration sur des matériaux CMI-1 conventionnels

Solvant	Quantité d'Ibuprofen immobilisée (mg/g) – (mmol/g)	Rendement (%)
Acétone	60,3 – 0,3	1
Ethanol	156,5 – 0,8	3
Hexane	354,2 – 1,7	8

La déposition par filtration a permis de sensiblement augmenter les quantités d'Ibuprofen au sein de la charpente des matériaux CMI-1 et cela pour les trois solvants. Cependant, cette augmentation s'est faite au détriment d'un bon rendement car les concentrations nécessaires à un taux d'immobilisation doivent être importantes. En effet le rendement passe de près de 30 % à 8 %.

Conclusions

Au vu de ces résultats, nous pouvons remarquer que la quantité d'Ibuprofen immobilisée avec l'hexane ne varie que très peu au cours des différentes études. Ceci témoigne sans doute d'une saturation du matériau avec ce solvant et des très faibles interactions de celui-ci avec la surface des matériaux.

Nous avons également pu observer que, malgré les modifications des méthodes, si d'un point de vue conservation des propriétés physiques les solvants se valent tous, ce n'est pas le cas concernant le taux d'incorporation. En effet, les analyses thermogravimétriques montrent clairement que l'hexane se démarque fortement de tous les autres solvants.

Ainsi, l'utilisation de l'hexane pour une durée de 3 heures d'imprégnation directe permet d'atteindre un taux de chargement des canaux de 29 %.

Si cette valeur est comparée à celle avancée par les groupes de chercheurs espagnols[41] ou français[86] qui ont tous deux obtenu 30 %, on peut considérer que l'efficacité de l'incorporation est maximale.

[86] C. Charnay, S. Bégu, C. Tourné-Péteilh, L. Nicole, D.A. Lerner, J.M . Devoisselle, *Eur. J Pharmac. Biopharmac*., 57(3) (2004), 533

IV.2.d Influence des propriétés texturales et morphologiques des matrices CMI-1

Après avoir testé différents paramètres pour améliorer le taux d'imprégnation par la modification des méthodes d'imprégnations et l'étude du solvant, il s'est avéré intéressant d'étudier plus en détails l'interaction entre l'Ibuprofen et la matrice silicatée.

L'un des paramètres importants au niveau des interactions matrice et molécules hôtes est lié aux propriétés texturales de ce matériau.

En effet, les propriétés texturales des matrices CMI-1 jouent très certainement un rôle important dans les différentes interactions que peut créer l'Ibuprofen avec le support. Les différentes matrices de type CMI-1 synthétisées dans la section IV.1 vont permettre l'étude de l'influence de la taille de pores sur le taux d'imprégnation mais également celle de l'influence de la morphologie.

L'étude de cette influence se fera par la mise en suspension d'1g de ces matériaux dans 20 ml d'une solution 0,242 M d'Ibuprofen pendant 3h.

Le tableau 4.14 reprend les différentes propriétés des matrices qui seront étudiées pour l'influence de la taille de pores.

Tableau 4.14 : Propriétés des matrices CMI-1 et de leurs blancs utilisées pour l'étude de l'influence des propriétés texturales et morphologiques

	Matrices de départ		**Blanc d'immobilisation**	
Condition	Surface spécifique (m^2/g)	Taille de pores (nm)	Surface spécifique (m^2/g)	Taille de pores (nm)
Surf./Si = 0,7 pH = 0	889	2,8	802	2,8
Surf./Si = 0,5 pH = 2	1102	3,0	1026	2,9
Surf./Si = 0,5 pH = 2	1091	3,2	996	3,1
Surf./Si = 0,5 pH = 0	942	3,4	896	3,4
Surf./Si = 0,5 pH = 7	793	4,0	705	3,8

Analyse par adsorption - désorption d'azote

Les valeurs de surface spécifique et de taille de pores des matériaux CMI-1 imprégnés en Ibuprofen sont reprises dans le tableau 4.15 permettant la comparaison avec les propriétés texturales des matériaux CMI-1 utilisés pour l'étude de cette influence.

Tableau 4.15 : Propriétés texturales des matrices CMI-1 imprégnées en Ibuprofen dans l'hexane pendant 3h

Condition	Surface spécifique (m^2/g)	Δ surface spécifique (m^2/g)	Taille de pores (nm)
Surf./Si = 0,7 pH = 0	477	506	2,3
Surf./Si = 0,5 pH = 2	590	563	2,6
Surf./Si = 0,5 pH = 2	611	496	2,8
Surf./Si = 0,5 pH = 0	547	454	2,8
Surf./Si = 0,5 pH = 7	468	426	3,3

Les résultats obtenus montrent très clairement une diminution de la surface spécifique des matériaux imprégnés. La taille de pores subit également une diminution. Cette diminution, comme précédemment, provient de la présence de l'Ibuprofen au sein du réseau silicé.

Il est également observé que les tailles de pores proches de 3 nm induisent une diminution plus importante de la surface spécifique, ce qui laisse à penser que ces matériaux permettent un taux de chargement plus important.

Analyse thermogravimétrique

L'analyse des thermogrammes a permis d'obtenir les résultats décrits dans le tableau 4.16.

Tableau 4.16 : Quantité d'Ibuprofen immobilisée dans les matrices CMI-1 imprégnées dans l'hexane pendant 3h

Conditions	Taille de pores (nm)	Δ surface spécifique (m^2/g)	Quantité d'Ibuprofen immobilisée (mg/g) – (mmol/g)
Surf./Si = 0,7 pH = 0	2,8	506	279,4 – 1,4
Surf./Si = 0,5 pH = 2	3,0	563	289,3 – 1,4
Surf./Si = 0,5 pH = 2	3,2	496	268,6 – 1,3
Surf./Si = 0,5 pH = 0	3,4	454	251,2 – 1,2
Surf./Si = 0,5 pH = 7	4,0	426	224,3 – 1,1

La tendance qui peut être observée est très claire. Les tailles de pores proches de 3 nm, tout comme les résultats d'adsorption – désorption d'azote l'ont montré, présentent un taux d'imprégnation plus important.

En effet, dans ces matériaux mésoporeux, l'Ibuprofen, dont sa taille est estimée à 1,2 x 0,6 nm, interagit de manière plus aisée avec la surface et l'effet capillaire lié à ces tailles de pores plus faibles est plus important, ce qui induit une augmentation de la quantité d'Ibuprofen immobilisée.

Jusqu'à présent, les imprégnations ont été réalisées à partir d'un même matériau de type CMI-1, possédant une taille de pores allant de 2,8 nm à 4 nm et une surface spécifique de +/- 1000 m^2/g. Afin d'étudier l'influence des propriétés texturales, et surtout de la taille de pores, de façon plus élargie, différents matériaux de type SBA-15 ont été synthétisés en modifiant le temps du traitement hydrothermal.

IV.2.e Immobilisation de l'Ibuprofen au sein des matrices SBA-15

Au cours du chapitre 4, seul un type de synthèse a été décrit mais la variation des conditions du traitement hydrothermal a permis d'obtenir 4 matrices de type SBA-15 aux propriétés texturales différentes reprises dans le tableau 4.17. L'immobilisation se déroulera comme dans les études précedentes avec 1 g de matériau dans 20 ml d'une solution d'hexane de 0,242 M en Ibuprofen pendant 3h. Les informations concernant la matrice CMI-1 ayant subit le même traitement seront rappelées à travers ce chapitre afin de comparer les matrices de type SBA-15 avec les matrices CMI-1.

Tableau 4.17 : Propriétés des matériaux SBA-15 et CMI-1 et de leurs blancs avant l'immobilisation

	Matrices de départ		**Blanc d'immobilisation**	
	Surface spécifique (m^2/g)	Taille de pores (nm)	Surface Spécifique (m^2/g)	Tailles de pores (nm)
SBA15	566	5,1	512	5,1
	817	7,1	767	6,9
	897	6,6	854	6,5
	1007	6,9	965	6,9
CMI-1	1102	3,0	1026	2,9

Analyse par adsorption – désorption d'azote

Comme lors des études précédentes, l'immobilisation de l'Ibuprofen au sein de la charpente silicée peut-être suivie par adsorption – désorption d'azote. Le tableau 4.18 reprend les différentes valeurs de taille de pores et de surface spécifique des matrices imprégnées en Ibuprofen.

Tableau 4.18 : Propriétés texturales des matrices SBA-15 et CMI-1 imprégnées en Ibuprofen dans l'hexane pendant 3h

Condition	Surface spécifique (m^2/g)	Δ surface spécifique (m^2/g)	Taille de pores (nm)
SBA-15	361	205	4,6
	553	264	6,7
	508	389	6,0
	720	287	6,5
CMI-1	590	563	2,6

Comme dans le cas des matrices CMI-1, la mise en suspension du matériau SBA-15 dans une solution concentrée en Ibuprofen induit une diminution de la surface spécifique et de la taille de pores des matériaux.

L'analyse de ces diminutions permet déjà de confirmer les résultats obtenus lors de l'étude de l'effet de la taille de pores des matériaux CMI-1. En effet, pour les matrices allant de 6,6 à 7,1 nm, la surface spécifique décroît de façon plus importante pour les matrices possédant une taille de pores plus faible.

Analyses thermogravimétriques

Les résultats thermogravimétriques ont permis de déterminer les quantités d'Ibuprofen immobilisées dans le réseau des matrices SBA-15. Les valeurs obtenues pour ces différentes matrices sont reprises dans la dernière colonne du tableau 4.19.

Tableau 4.19 : Influence des propriétés texturales sur le taux d'imprégnation pour les matériaux SBA-15 et CMI-1

	Surface spécifique (m^2/g)	Taille de pores (nm)	Quantité d'Ibuprofen immobilisée (mg/g) - (mmol/g)
SBA15	566	5,1	120,9 - 0,6
	817	7,1	156,6 - 0,8
	897	6,6	210,4 - 1,0
	1007	6,9	164,2 - 0,8
CMI-1	1102	3,0	289,3 – 1,4

Suite à ces analyses, l'influence de la taille de pores, dans les gammes étudiées, sur l'incorporation de molécules actives a pu être confirmée. En effet, pour les tailles de pores allant de 7,1 jusque 6,6 nm une augmentation de la quantité d'Ibuprofen immobilisée dans 1 g de matériau a été observée.

Cependant, l'influence de la surface spécifique est également mise en évidence. Plus cette surface spécifique augmente, plus le taux d'incorporation en molécules actives augmente.

Cette constatation accentue l'hypothèse selon laquelle la surface spécifique joue un rôle important dans la quantité de molécules d'Ibuprofen immobilisées. L'existence d'interactions de type pont hydrogène entre l'acide carboxylique de l'Ibuprofen et les silanols du matériau silicaté donne l'explication de cette influence. En effet, l'augmentation de la surface spécifique de ce dernier augmente le nombre de silanols pouvant interagir avec l'Ibuprofen augmentant par le même occasion la quantité d'Ibuprofen immobilisée.

Les matériaux mésoporeux hautement structurés synthétisés se sont révélés capables de jouer le rôle de matrice hôte pour l'Ibuprofen. Il reste à tester leur aptitude à délivrer cette molécule active de manière contrôlée à la fois dans l'espace et dans le temps. Le contrôle dans l'espace consiste à retenir la molécule à l'intérieur des canaux en milieu acide et à la libérer uniquement en milieu neutre ou basique, ceci afin d'éviter une perte inutile de principe actif. Le contrôle dans le temps sous-entend une libération progressive de l'Ibuprofen, pour prolonger son action thérapeutique et limiter l'apparition d'effets secondaires.

Les différents médicaments ainsi conçus vont donc subir une simulation de relargage in vivo. Ce relargage contiendra deux étapes : tout d'abord la mise en suspension acide de la matrice imprégnée, simulant le passage en milieu gastrique, et ensuite le passage vers une solution physiologique neutre, simulant le milieu intestinal.

IV.3 Influence des propriétés texturales sur le profil de libération

Lors de la conception du médicament, une influence des propriétés texturales sur le taux d'incorporation d'Ibuprofen dans les canaux des matrices a pu être mise en évidence. En effet, plus la taille de pores était adaptée à la taille de l'Ibuprofen et plus le taux d'immobilisation en molécules actives est important.

Il est maintenant nécessaire d'observer si ces propriétés texturales jouent un rôle lors du test pharmacocinétique de notre médicament. Cette étude comportera tout d'abord la vérification de la résistance du matériau au milieu de relargage. Ensuite, les profils de relargage des différents matériaux SBA-15 et CMI-1, préalablement imprégnés dans les conditions optimales présentées dans les points précédents, seront comparés. Le tableau 4.20 reprend les résultats d'immobilisation obtenus pour les matrices utilisées pour cette étude.

Tableau 4.20 : Quantités d'Ibuprofen immobilisées au sein des matrices CMI-1 et SBA-15

	Taille de pores (nm)	Quantité d'Ibuprofen immobilisée (mg/g)	Quantité d'Ibuprofen immobilisée (mmol/g)
SBA-15	5,7	208,7	1,0
CMI-1 a	3,8	232,4	1,1
CMI-1 b	3,4	251,2	1,2
CMI-1 c	3,2	268,6	1,3
CMI-1 d	3,0	289,3	1,4

IV.3.a Influence du milieu de relargage sur les propriétés des matériaux CMI-1 et SBA-15

Afin d'étudier le comportement des matrices CMI-1 et SBA-15 lors du test de libération de l'Ibuprofen, un blanc de relargage des matrices a été réalisé. Toutes les conditions expérimentales sont identiques aux études de libération si ce n'est que les matériaux mis en suspension ne contiennent pas d'Ibuprofen. Les matrices subissent un traitement de 30 minutes dans un milieu HCl de pH 1,2 à 37°C puis, après filtrage et séchage, le traitement est poursuivi par 1 heure dans un milieu physiologique de pH 7,4 à 37°C.

Les isothermes d'adsorption - désorption d'azote de ces blancs de relargage possèdent une allure identique à celle des matériaux CMI-1 et SBA-15 de départ. Ces isothermes présentent néanmoins un plus faible volume adsorbé, une surface spécifique plus faible et un déplacement vers les plus hautes pressions relatives induisant une taille de pores plus élevée.

Le tableau 4.21 ci dessous reprend les différentes valeurs des propriétés texturales de ces matrices.

Tableau 4.21 : Propriétés texturales des matériaux CMI-1 et SBA-15 avant et après la simulation de la libération de molécules médicamenteuses pendant 30 minutes dans un milieu HCl de pH 1,2 à 37°C et 1 heure dans un milieu physiologique de pH 7,4 à 37°C

	Surface spécifique (m^2/g)	Volume poreux (cm^3/g)	Taille de pores (nm)
SBA-15	911	1,1	6,5
SBA-15 Blanc	451	0,8	7,3
CMI-1 a	1149	1,2	3,8
CMI-1 a Blanc	882	0,9	4,1
CMI-1 b	942	1,1	3,4
CMI-1 b Blanc	825	0,9	3,8
CMI-1 c	1091	0,9	3,2
CMI-1 c Blanc	912	0,7	3,7
CMI-1 d	1102	0,9	3,0
CMI-1 d Blanc	912	0,8	3,4

La diminution de la surface spécifique est liée à la dégradation de la matrice qui dans de telles conditions s'hydrolyse (Figure 4.32). Cette dégradation de la surface entraîne une augmentation de la taille de pores, ce qui provoque une diminution de la surface spécifique et du volume poreux.

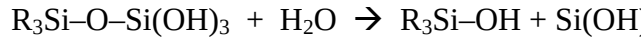


Figure 4.32 : Réaction d'hydrolyse des liaisons siloxanes

IV.3.b Profils de libération des matrices CMI-1-Ibu et SBA-15-Ibu

Le protocole pour permettre l'étude de libération de l'Ibuprofen dans les milieux mimant les conditions gastrique et intestinale est décrit dans la section III.6. Les profils de libération des matériaux CMI-1 et SBA-15 qui ont été obtenus par thermogravimétrie sont comparés à partir du pourcentage d'Ibuprofen libéré en fonction du temps. Après chaque étape du relargage, les matériaux sont analysés par la spectroscopie infrarouge et par la thermogravimétrie afin de déterminer le pourcentage d'Ibuprofen restant.

Analyse par spectroscopie infrarouge

La spectroscopie IR permet de déterminer de façon non quantitative si de l'Ibuprofen est encore présent au sein de la charpente silicique des matériaux CMI-1 et SBA-15. En effet, l'acide carboxylique présent dans cette molécule donne lieu à une bande de vibration caractéristique vers 1717 cm^{-1}, juste à côté de la bande de déformation angulaire de l'eau à 1634 cm^{-1} (Figure 4.33). Un agrandissement de cette zone (de 1800 à 1550 cm^{-1}) permet d'observer plus clairement ces bandes d'absorption.

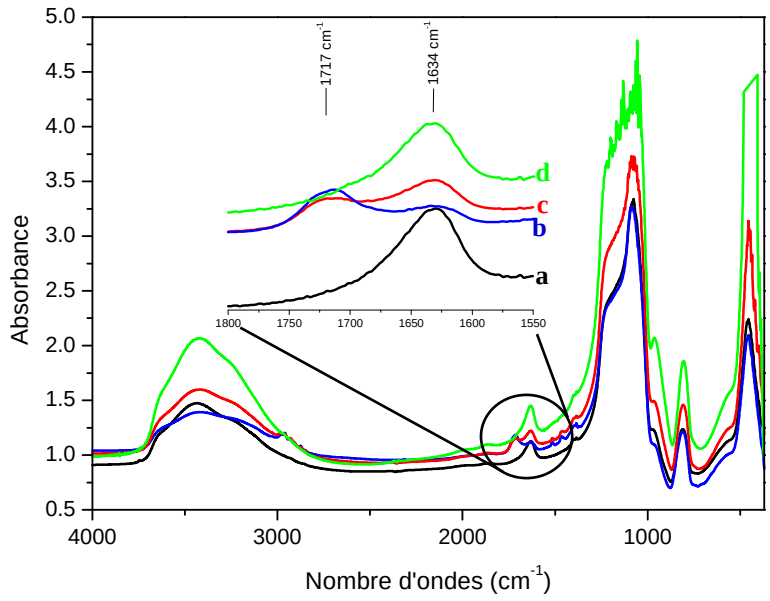


Figure 4.33 : Comparaison de spectres IR des matériaux CMI-1 et SBA-15 (—a—), des matériaux imprégnés (—b—), après relargage de 30' en milieu acide (—c—), après relargage d' 1h en milieu neutre (—d—)

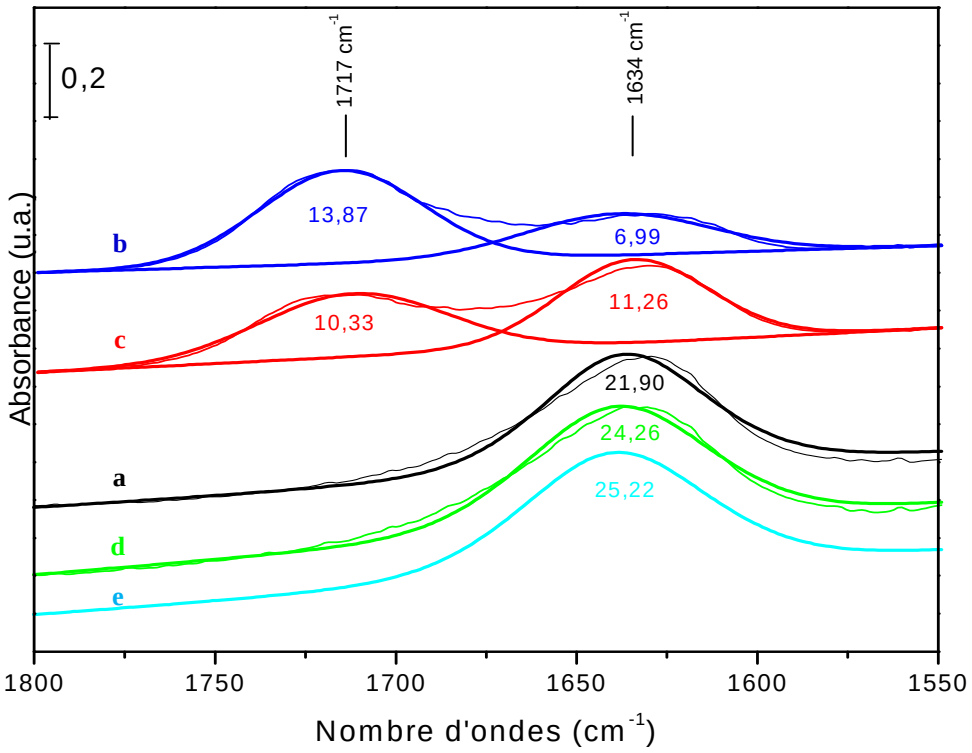


Figure 4.34 : Déconvolution de 1800 à 1500 cm^{-1} des spectres IR pour l'étude du relargage des matériaux CMI-1 et SBA-15 (—a—), des matériaux imprégnés (—b—), après relargage de 30' en milieu acide (—c—), de 30' en milieu neutre (—d—) , après relargage d'1h en milieu neutre (—e—)

La figure 4.34 permet d'observer que l'intensité de la bande de vibrations due à la fonction carboxylique à 1717 cm^{-1} est maximale dans le cas des matériaux imprégnés d'Ibuprofen (en bleu). Après le passage en milieu acide (—c—), cette bande est toujours visible mais est d'intensité plus faible que précédemment, ce qui laisse suggérer qu'une partie de l'Ibuprofen a pu être conservée au sein de la matrice CMI-1. Cependant, après le passage en milieu neutre, celle-ci à complètement disparu (—d—) induisant une libération totale de l'Ibuprofen lors du passage en milieu intestinal.

Afin de quantifier de manière exacte les quantités d'Ibuprofen libérées lorsque les médicaments conçus passent dans des solutions simulant les milieux gastrique et intestinal, chaque médicament sera analysé par thermogravimétrie.

Analyse thermogravimétrique

Les thermogrammes obtenus (Figure 4.35) ont permis de mettre en évidence la nette diminution suite au passage en milieu acide et en milieu neutre des quantités d'Ibuprofen au sein de la structure. En effet, après le passage en milieu acide, la matrice contient encore une quantité importante d'Ibuprofen. Cette rétention de la molécule active au sein des canaux est due à son insolubilité en milieu aqueux de pH inférieur à son pKa (4,9).

Cependant, lors du passage en milieu neutre, la molécule se retrouve sous forme de sel et sa solubilité est augmentée. Elle diffuse alors hors des canaux de la matrice et la perte de masse enregistrée montre une très faible quantité d'Ibuprofen au sein du matériau.

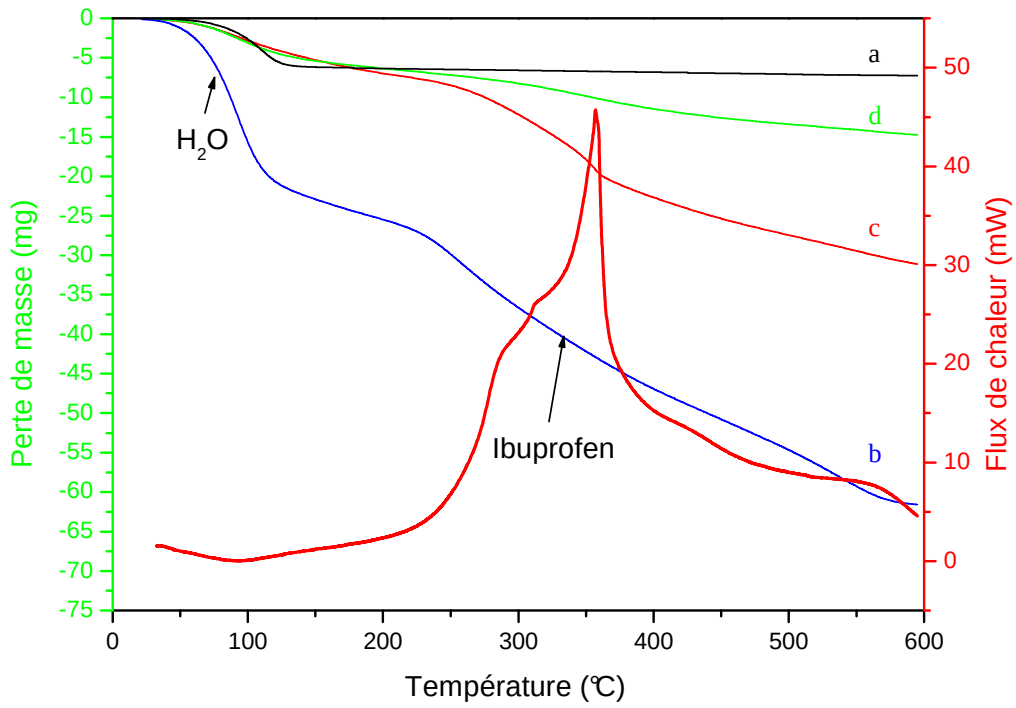


Figure 4.35 : Analyse thermogravimétrique des matériaux CMI-1 et SBA-15 (—a—), des matériaux imprégnés (—b—), après relargage de 30' en milieu acide (—c—), de 30' en milieu neutre (—d—)

Le pourcentage d'Ibuprofen libéré en dehors de notre nanovecteur en fonction du temps obtenu à partir des résultats de la thermogravimétrie permet de tracer le profil de relargage de la molécule médicamenteuse. Afin de déterminer l'influence des propriétés texturales sur la libération, les profils de deux matériaux sont comparés (Figure 4.36).

Sur l'axe des ordonnées est représenté le pourcentage d'Ibuprofen relargué et l'axe des abscisses indique le temps. Les temps inférieurs ou égaux à 30 minutes correspondent au relargage en milieu acide, simulant le passage gastrique représenté en couleur rouge. Les temps supérieurs à la demi-heure correspondent à la libération de l'Ibuprofen en milieu physiologique, simulant le passage intestinal (représenté en couleur verte).

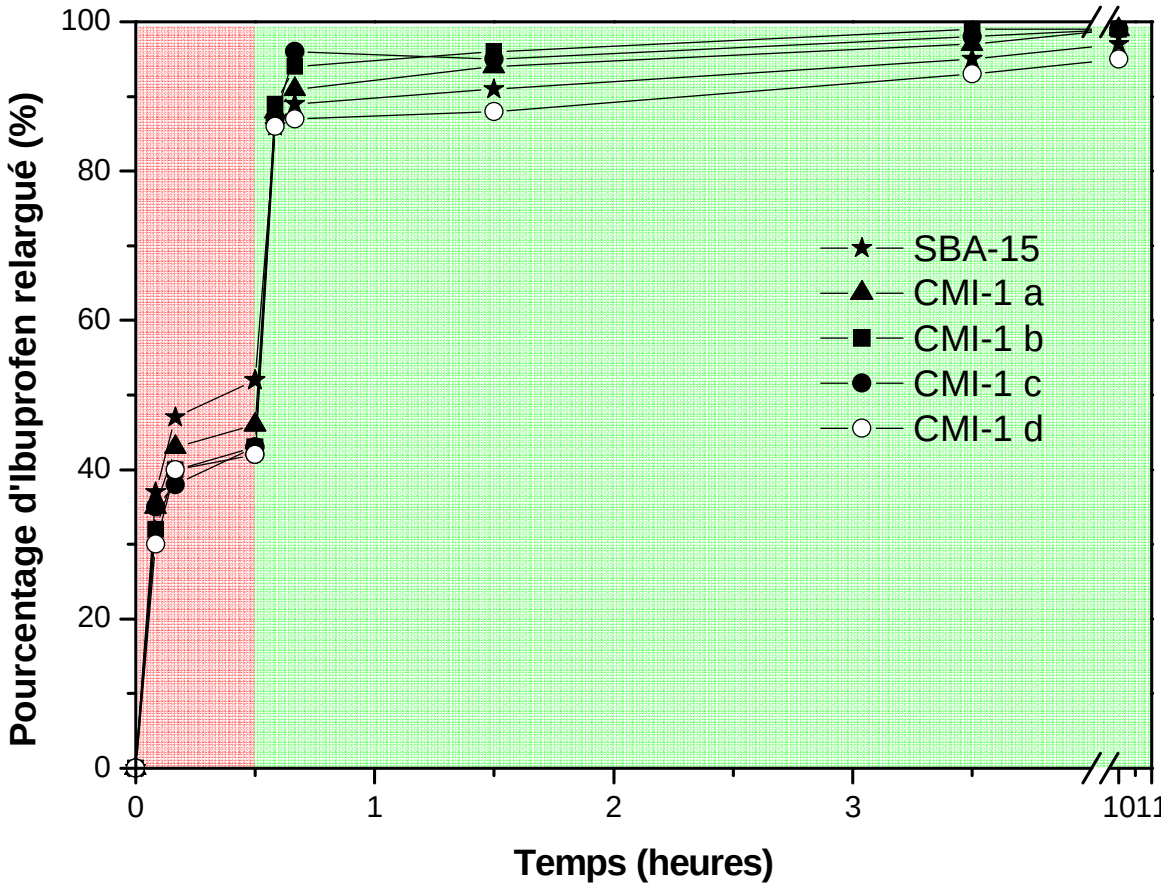


Figure 4.36 : Profils de libération de l'Ibuprofen dans le milieu acide (—) et dans la solution physiologique (—) à partir de matériaux CMI-1 et SBA-15

Les profils montrent que la taille de pores et les propriétés de surfaces influencent légèrement la libération des molécules médicamenteuses. En effet, le profil correspondant au matériau SBA-15 présente une libération en milieu acide plus importante que les matrices CMI-1. Cette variation est sans doute liée aux interactions de type pont H que l'Ibuprofen possède avec le nanovecteur. Les conditions de synthèse de ces matrices font qu'en plus d'une distribution de taille de pores différente, les propriétés de la surface sont différentes. Ces propriétés influencent les interactions du support avec l'Ibuprofen. Il semble cependant évident que plus la taille de pores est adaptée à la taille de la molécule plus celle-ci sera retenue par le support car elle sera plus susceptible d'interagir avec la surface.

IV.3.c Conclusion

Au terme de la dernière partie de ce chapitre, nous avons pu montrer que l'utilisation de matériaux mésoporeux de type CMI-1 et SBA-15 en tant que nanovecteurs permet d'améliorer le ciblage spatial de l'Ibuprofen. En effet, après le passage de 30 minutes en milieu acide, les médicaments conçus contenaient encore un minimum de 50 % d'Ibuprofen au sein de la charpente silicée des nanovecteurs. Cette diminution de la quantité d'Ibuprofen libérée lors du passage en milieu gastrique devrait permettre de diminuer l'action de l'Ibuprofen sur les COX-1 présentes dans les muqueuses stomacales, permettant ainsi de diminuer les effets secondaires liés à cette inhibition. La libération rapide lors du passage en milieu neutre peut également constituer un avantage car elle permet un passage de l'Ibuprofen des intestins vers le site de l'inflammation qui ne sera pas ralenti par le nanovecteur.

Nous avons pu également montrer que la taille de pores jouait un rôle important dans le taux de relargage en milieu acide et qu'une diminution de ce taux était obtenue pour des tailles plus faibles.

Nous avons donc pu mettre en avant l'importance capitale des propriétés texturales et l'influence des caractéristiques de la surface des supports. Les matériaux mésoporeux de type CMI-1 et SBA-15 créent des interactions de type pont H avec l'Ibuprofen.

Ces interactions sont relativement faibles et ne peuvent empêcher la libération de 50% d'Ibuprofen lors du passage en milieu acide. Nous allons donc étudier d'autres types d'interactions en greffant à la surface de ces matériaux une fonction capable de créer une liaison plus forte entre le support et l'Ibuprofen. Pour ce faire, les matrices CMI-1 et SBA-15 seront fonctionnalisées par un lien propylamine capable de créer une liaison de type ionique avec l'acide carboxylique de l'Ibuprofen.

Chapitre 5 :
Conception d'un médicament à base de matrices mésoporeuses de type CMI-1 et SBA-15 organomodifiées

---

Dans ce chapitre, nous aborderons tout d'abord la fonctionnalisation par une fonction propylamine des matrices mésoporeuses silicatées CMI-1 et SBA-15 afin d'étudier l'influence de ce paramètre sur la conception du médicament. Nous étudierons ensuite l'influence de cette fonction organique sur l'immobilisation d'Ibuprofen et sur les profils pharmacocinétiques des médicaments conçus.

V.1 Synthèses et caractérisations des nanovecteurs de type CMI-1 et SBA-15 organomodifiés

Le chapitre précédent montre que les propriétés texturales telles que la taille de pores influencent l'immobilisation du principe actif au sein des matrices CMI-1 et SBA-15. Cependant, l'effet de ces propriétés sur le profil de libération est quasi nul et provoque une libération rapide. Ce phénomène signifie que les interactions entre l'Ibuprofen et la matrice sont faibles. Pour améliorer le profil de libération, le renforcement des interactions entre l'Ibuprofen et les matrices mésoporeuses CMI-1 et SBA-15 est essentiel. Celui-ci passera par la fonctionnalisation de ces dernières avec une chaîne fonctionnelle aminopropyle qui mènera à l'élaboration d'une matrice adaptée pour la délivrance contrôlée d'Ibuprofen. En effet, le renforcement des interactions devrait permettre un contrôle accru sur la libération de la molécule médicamenteuse lors du test de notre médicament. Les premières étapes dans l'élaboration de ce médicament sont la synthèse et la caractérisation de ces nanovecteurs fonctionnalisés.

V.1.a Fonctionnalisation post-synthèse des matériaux CMI-1

La fonctionnalisation post-synthèse des matériaux CMI-1 implique la réaction du matériau calciné avec l'aminopropyltriéthoxysilane (APTES) dans un solvant organique, le toluène, sous atmosphère inerte.

Pour permettre l'étude de l'influence des quantités d'agent fonctionnalisant sur l'immobilisation et le contrôle de la libération de la molécule médicamenteuse, différentes quantités d'APTES ont été utilisées (1, 3 et 6 ml soit 4,29 ; 12,88 ; 25,76 mmol). Le protocole de synthèse a été décrit dans la partie expérimentale III.4.

Pour réaliser cette étude sur un même type de matériaux, la matrice mésoporeuse CMI-1 synthétisée à grande échelle sera utilisée. De plus, le matériau synthétisé à pH 7 sera également fonctionnalisé à l'aide de 3 ml d'APTES (12,88 mmol) ce qui permettra d'étudier l'influence des propriétés texturales sur la fonctionnalisation.

Caractérisation morphologique

Suite à l'observation au microscope électronique à balayage, il apparaît que la fonctionnalisation post-synthèse en vue de modifier la surface des canaux du matériau par des chaînes aminopropyles n'induit aucun changement de morphologie des matériaux CMI-1.

En effet, une grande majorité de formes gyroïdales typiques des synthèses à pH 2 sont toujours observées comme le montrent les micrographies a, b et c ci-dessous (Figure 5.1). Pour la matrice synthétisée à pH 7, les sphères de petites tailles sont toujours observées (Figure 5.1.d).

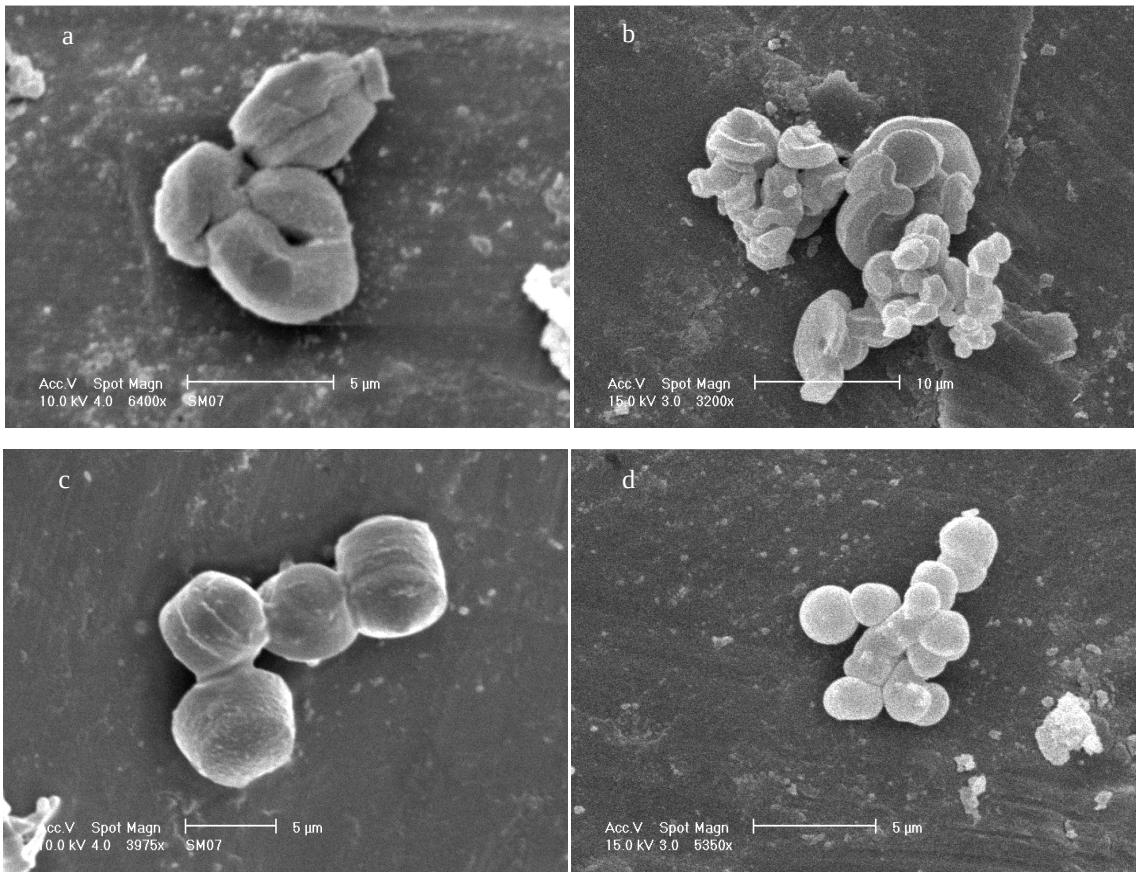


Figure 5.1 : Micrographies MEB de matériaux CMI-1 pH=2 fonctionnalisés par le procédé post-synthèse avec 1, 3 et 6 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (a, b, c) et d'un matériau CMI-1 pH=7 fonctionnalisé par le procédé post-synthèse avec 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (d)

Caractérisation structurale

L'analyse au microscope électronique à transmission montre un alignement parallèle des canaux des matériaux CMI-1 fonctionnalisés (Figure 5.2). La réaction avec la source fonctionnelle maintient donc la structure poreuse organisée du matériau CMI-1 et cela quelque soit la quantité de source fonctionnelle et le pH de préparation de la matrice.

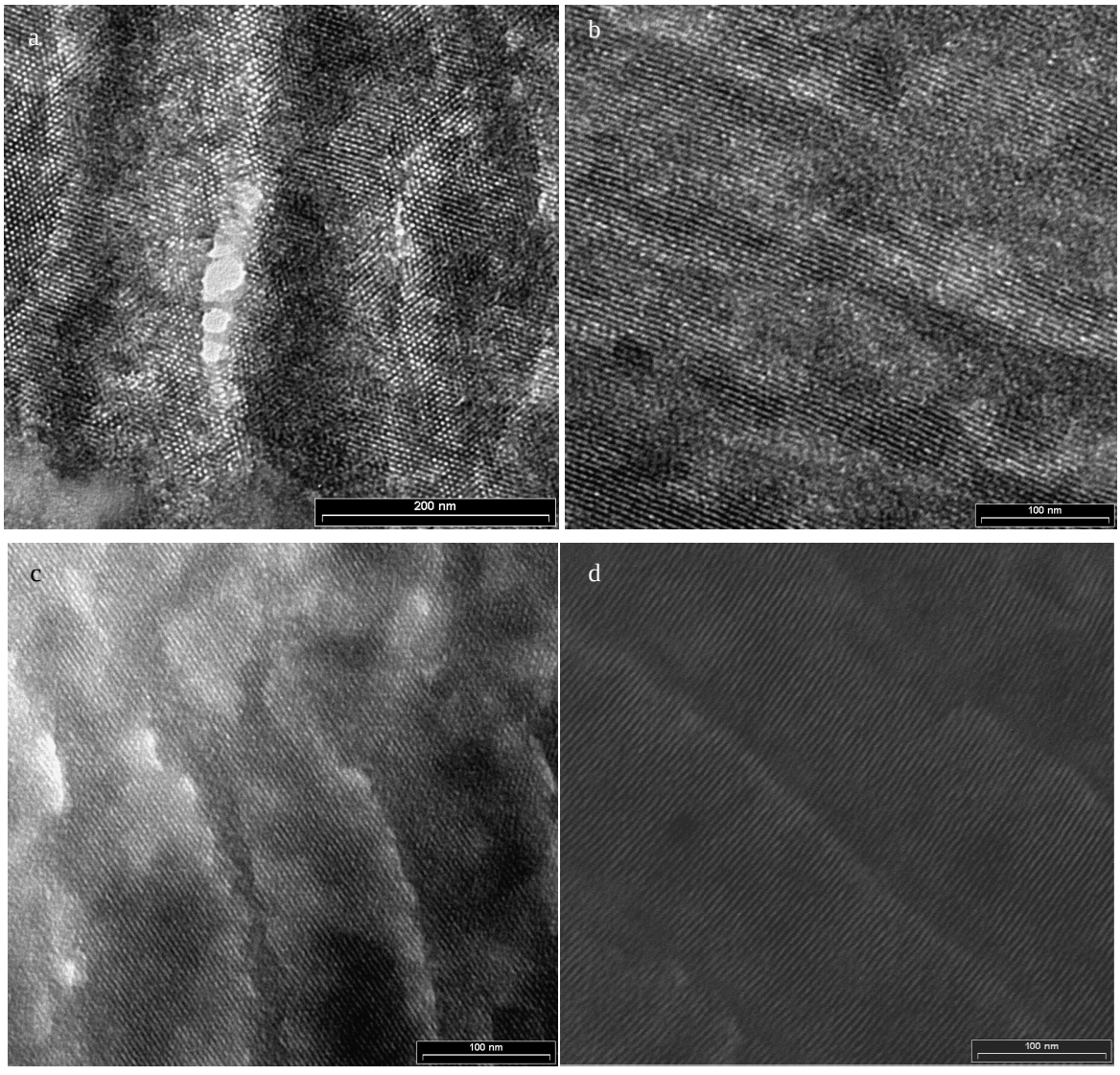


Figure 5.2 : Micrographies MET de matériaux CMI-1 pH=2 fonctionnalisés par le procédé post-synthèse avec 1, 3 et 6 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (a, b, c) et d'un matériau CMI-1 pH=7 fonctionnalisé par le procédé post-synthèse avec 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (d)

Caractérisation texturale

L'étude par adsorption - désorption d'azote constitue une preuve indirecte de la présence d'une chaîne organique au sein de la charpente silicique. La diminution de la taille de pores et de la surface spécifique permettra d'établir la localisation de la chaîne. En effet, si la chaîne aminopropyle se trouve sur la surface extérieure, seule une faible diminution sera observée car la surface externe des particules ne représente qu'un très faible pourcentage de la surface totale (+/- 10%).

Les isothermes d'adsorption - désorption d'azote des échantillons fonctionnalisés sont tous de type IV, indiquant que la mésoporosité a été conservée, et présentent donc la même allure que le matériau CMI-1 de départ (Figure 5.3).

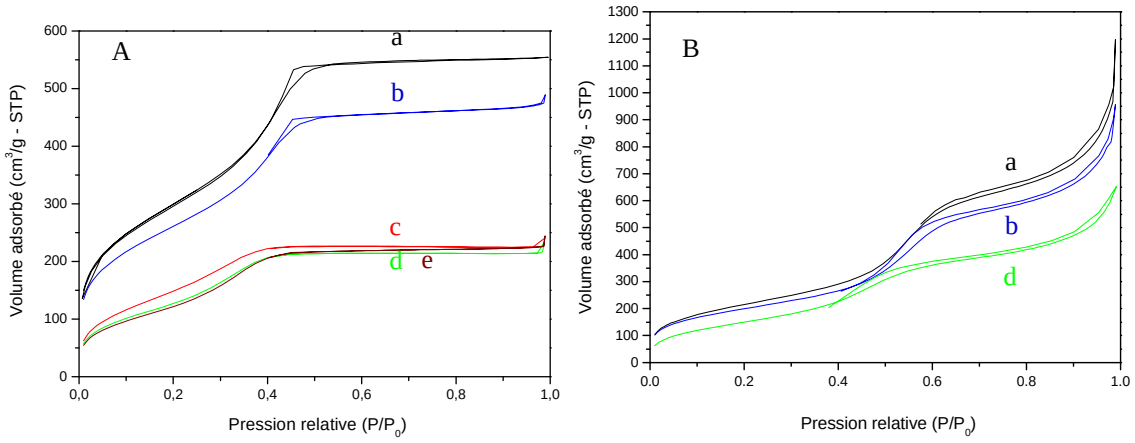


Figure 5.3 : (A) Isothermes d'adsorption - désorption d'azote des matériaux CMI-1 pH = 2 fonctionnalisés avec 1, 3 et 6 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (—c—, —d—, —e—) comparés au CMI-1 pH = 2 conventionnel et le blanc de fonctionnalisation (—a—, —b—). (B) Isothermes d'adsorption - désorption d'azote des matériaux CMI-1 pH = 7 fonctionnalisés avec 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (—d—) comparés au CMI-1 pH = 7 conventionnel et le blanc de fonctionnalisation (—a—, —b—)

Afin d'écarter tout effet liés au solvant et aux conditions de fonctionnalisation, des « blancs » des matrices CMI-1 ont été effectués en laissant les matrices dans les même conditions que lors de la fonctionnalisation mais sans ajout d'agent de fonctionnalisation. La caractérisation texturale de ceux-ci montre que les conditions de synthèse, à savoir le reflux dans le toluène, n'ont que très peu d'influence sur les matrices.

Comme prévu, l'incorporation de chaînes fonctionnelle à la surface des matrices CMI-1 a provoqué une diminution aussi bien de surface spécifique et du volume poreux que de la taille de pores. Plus les quantités d'agent de fonctionnalisation sont importantes, plus la surface spécifique diminue laissant penser que les quantités greffées augmentent également.

Dans le cas des matrices CMI-1 synthétisées à pH 7, la fonctionnalisation entraîne également une diminution de caractéristiques texturales cependant cette diminution n'est que de 153 m^2/g tandis que pour la même quantité d'agent fonctionnalisant la surface spécifique des CMI-1 pH 2 diminue de 434 m^2/g. Cette diminution est liée à l'encombrement stérique des chaînes fonctionnelles qui diminue la surface accessible aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur du support. Le tableau 5.1 reprend les différentes valeurs de propriétés texturales obtenues.

Tableau 5.1 : Propriétés texturales d'un matériau CMI-1 pH = 2 et pH = 7 avant et après la fonctionnalisation avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse

	Surface spécifique (m^2/g)	Volume poreux (cm^3/g)	Taille de pores (nm)
CMI-1 pH 2	1102	0,9	3,0
Blanc pH 2	922	0,8	3,0
CMI-N-1 pH 2	580	0,4	2,3
CMI-N-3 pH 2	488	0,4	2,4
CMI-N-6 pH 2	470	0,4	2,4
CMI-1 pH 7	793	1,9	4,0
Blanc pH 7	727	1,5	3,9
CMI-N-3 pH 7	574	1,0	3,2

Comme le montre la figure 5.4, les distributions de la taille de pores des matériaux restent étroites et sont centrées sur 2,4 nm dans le cas des matériaux CMI-N pH = 2 et sur 3,2 nm pour le CMI-N pH = 7, soit une diminution du diamètre moyen comprise entre 0,6 nm et 0,7 nm suite à la fonctionnalisation, ce qui correspond de façon très proche à la longueur de la chaîne aminopropyle greffée qui est d'environ 0,5 nm.

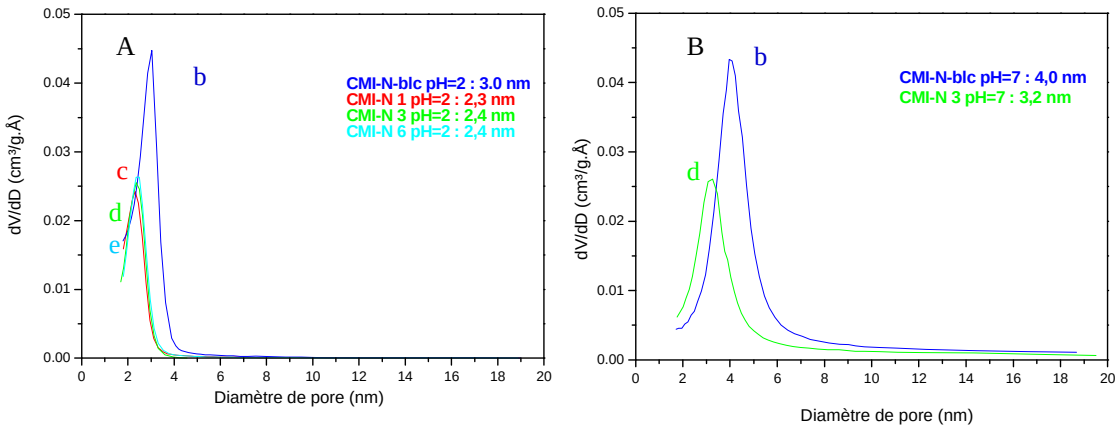


Figure 5.4 : Distributions de taille de pores des matériaux CMI-1 pH = 2 (A) et 7 (B) fonctionnalisés avec 1, 3 et 6 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (—c—, —d—, —e—) comparées au blancs CMI-1 pH = 2 et 7 conventionnel (—b—)

Caractérisation de la fonction organique

La preuve de la présence et de l'ancrage de la chaîne aminopropyle à la surface du matériau a été fournie par les spectroscopies infrarouge, RMN ^{29}Si et ^{13}C. Ces différentes méthodes permettent de mettre en évidence la présence de la chaîne organique à la surface du matériau mésoporeux et qu'elle se trouve liée de façon covalente avec celle-ci.

La détermination des quantités greffées ont quant à elles été mesurées par thermogravimétrie.

Spectroscopie infrarouge

Le spectre infrarouge obtenu pour les matériaux CMI-1 fonctionnalisés (Figure 5.5) avec un lien aminopropyle présente bien les pics caractéristiques de cette chaîne et fournit la première preuve de greffage de cette fonction à la surface de la matrice mésoporeuse.

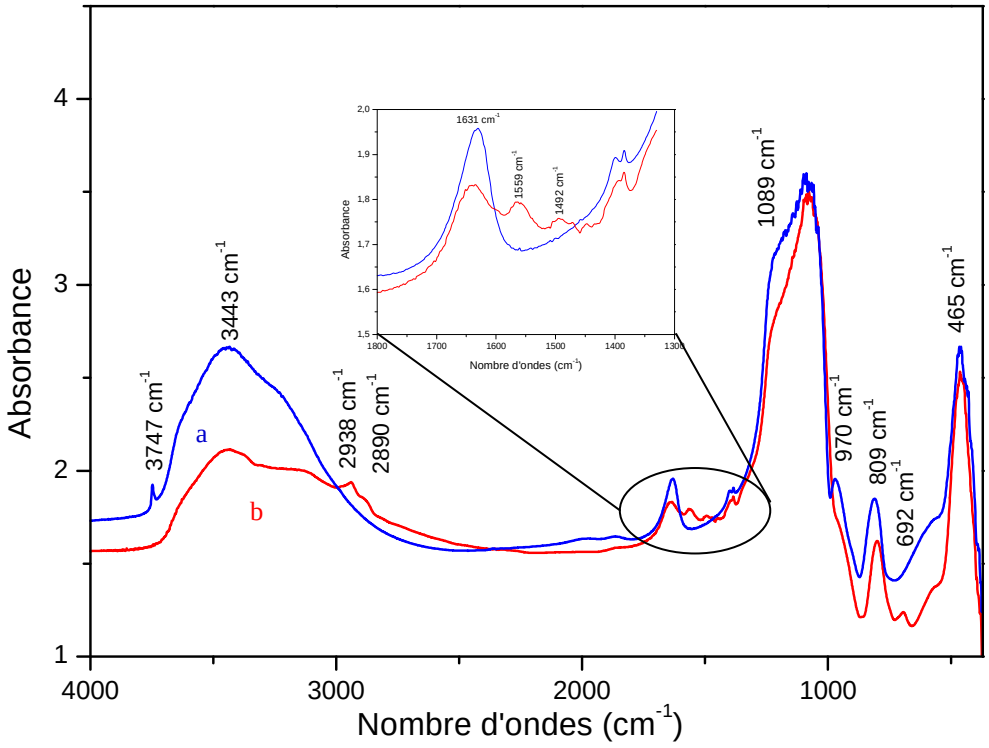


Figure 5.5 : Comparaison des spectres IR d'un matériau CMI-1 pH = 2 (—a—) et d'un matériau CMI-1 fonctionnalisé (—b—) avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane

La comparaison des spectres infrarouge de la matrice CMI-1 non fonctonnalisée et fonctionnalisée montre que les deux matrices présentent des similitudes propres à la structure silicée des matériaux CMI-1. En effet, à la fréquence de vibration de 970 cm^{-1} apparaît un pic caractérisant les silanols de la surface interne du matériau. Cependant, cette bande est moins intense dans le cas de la matrice fonctionnalisée.

Ensuite, entre 1000 et 1200 cm^{-1} est située une bande intense regroupant les élongations asymétriques et les déformations angulaires des liaisons Si-O-Si. Ces liaisons forment une grande partie du réseau, c'est pourquoi la bande d'absorption sature (absorbance trop importante).

Dans la zone centrée sur 3430 cm^{-1} se trouve une large bande représentant la superposition d'une série de vibrations telles que l'élongation des molécules d'eau physisorbées à la surface de la matrice et les élongations des silanols (SiO-H) impliqués dans des ponts hydrogènes avec des molécules d'eau.

Malgré tout la fonctionnalisation a modifié le spectre IR du matériau CMI-1. En effet, les amines primaires montrent deux faibles bandes d'absorption : l'une vers 3500 cm^{-1} et l'autre vers 3400 cm^{-1}. Ces bandes représentant respectivement les modes d'élongation asymétrique et symétrique du lien N-H libre. Cependant, la large bande située dans la zone centrée autour de la fréquence de 3430 cm^{-1} et représentant les molécules d'eau physisorbées à la surface de la matrice masque les faibles pics d'élongation de la fonction amine. Toutefois, la bande d'absorption responsable de la déformation angulaire d'une liaison N-H est visible et est situé à 1559 cm^{-1}.

La présence de raies à des longueurs d'onde de 2938 cm^{-1} et de 2890 cm^{-1} est attribuée à la vibration symétrique et asymétrique C-H, tandis que la raie à 1492 cm^{-1} est caractéristique de la déformation angulaire d'un lien C-H. Ce spectre infrarouge confirme donc bien la présence d'une chaîne aminopropyle.

De plus, le pic caractérisant les silanols libres à 3747 cm^{-1} a disparu, indiquant qu'il y a bien eu réaction de l'aminopropyletriethoxysilane avec les silanols de la surface et la liaison Si-C est traduite par la bande d'adsorption à 692 cm^{-1} (Tableau 5.2).

Tableau 5.2 : Attribution des bandes de vibrations des spectres IR d'un matériau CMI-1 pH = 2 (—a—) et d'un matériau CMI-1 fonctionnalisé (—b—) avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane

Fréquence de vibrations (cm^{-1})	Vibrations ou déformations correspondantes
692	Vibrations de la liaison Si-C
970	Elongations symétriques Si-OH
1000-1200	Elongations asymétriques Si-O-Si et déformations angulaires Si-O-Si
1492	Déformations angulaires C-H
1559	Déformations angulaires N-H
2890-2938	Elongations asymétriques et symétriques C-H
3740-3430	Elongations symétriques SiO-H (libres), élongations symétriques et asymétriques des SiO-H impliqués dans des ponts H avec H_2O et vibration d'élongation de H_2O physisorbée

Spectroscopie RMN ^{13}C

Le spectre RMN du carbone obtenu pour les matériaux CMI-1 fonctionnalisés (Figure 5.6) avec une chaîne aminopropyle n'atteste pas du lien entre la fonction et le support mais établit la présence de cette fonction au sein du matériau.

Les signaux situés à 9,6 (**C**); 25,4 (**C**) et 43,7 (**C**) ppm correspondent aux trois carbones ayant des environnements différents de la chaîne aminopropyle : **-Si-CH_2-CH_2-CH_2-NH_2**.

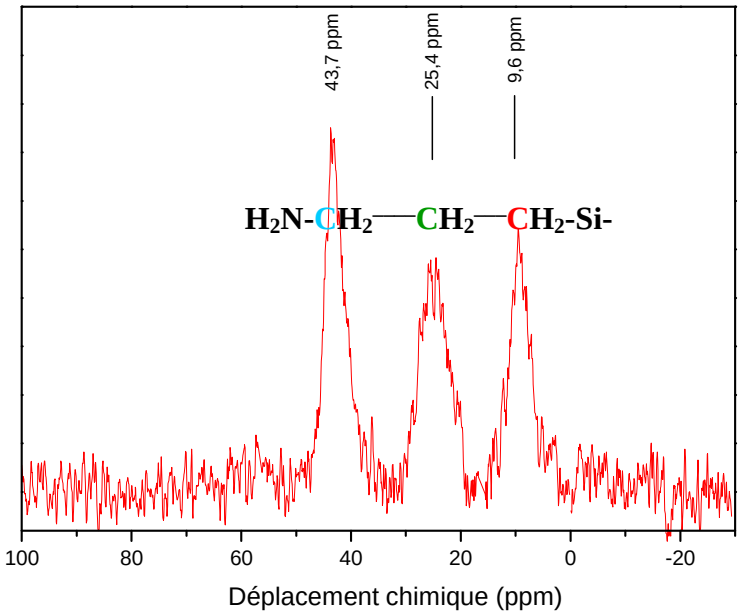


Figure 5.6 : Spectre RMN ^{13}C du matériau CMI-1 fonctionnalisé avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane

Spectroscopie RMN 29Si

La spectroscopie RMN du silicium permet de caractériser l'environnement direct des noyaux de silicium et dès lors le réseau des matériaux mésoporeux. Les spectres RMN ^{29}Si des matériaux fonctionnalisés sont repris à la figure 5.7. Ceux-ci sont comparés au matériau CMI-1 non modifié.

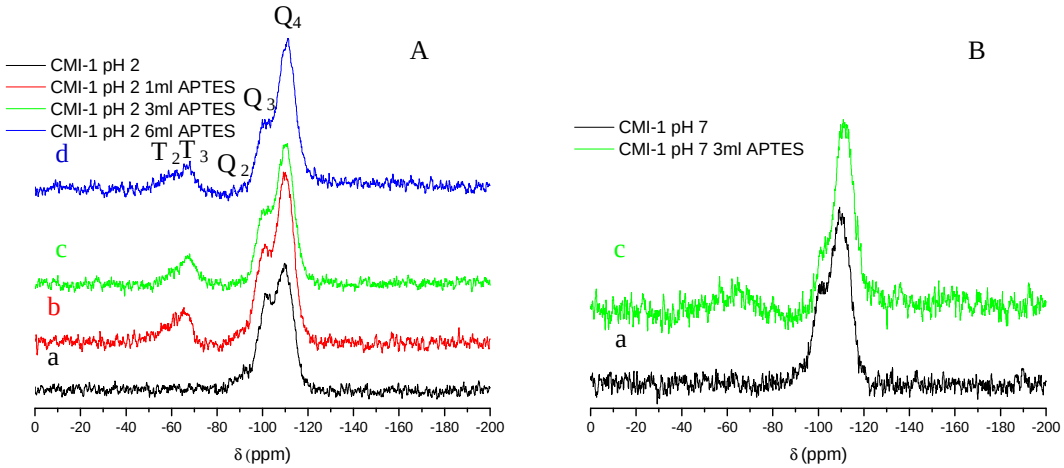


Figure 5.7 : Spectres RMN ^{29}Si de matériaux CMI-1 préparés à pH = 2 (A) et pH = 7 (B) avant (—a—) et après la fonctionnalisation avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec 1, 3 et 6 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (—b—, —c—, —d—)

L'analyse du spectre des matrices CMI-1 pH = 2 et pH = 7 conventionnelle met en évidence la présence des trois signaux de résonnance, caractéristiques des matériaux mésoporeux silicatés, à des déplacements chimiques de -110 (Q_4), -100 (Q_3) et -90 (Q_2) ppm (Figure 5.8) qui sont respectivement caractéristiques des siliciums de réseau et des silanols de surface de matrice en pure silice.

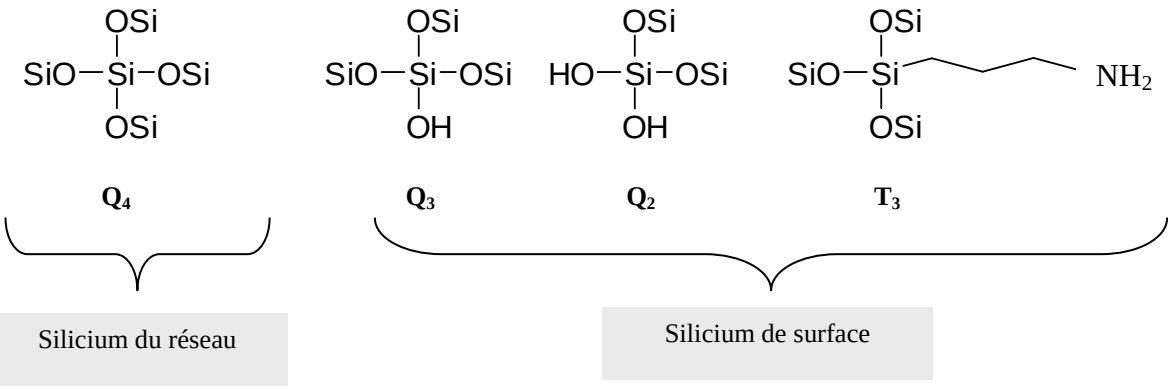


Figure 5.8 : Illustration des siliciums de surface et de réseaux rencontrés dans les matériaux CMI-1 fonctionnalisés

La comparaison des spectres des matrices conventionnelles avec les matériaux fonctionnalisé permet d'observer la disparition totale du signal associé au silicium portant deux groupement hydroxyles (-90 ppm Q_2) et une diminution du signal Q_3. De plus, le calcul des aires relatives des pics caractéristiques des siliciums de réseaux (Q_4) et des silicium de surface ($Q_3 + Q_2$) a permis de confirmer les différentes observations faites par l'étude des propriétés texturales. En effet, plus la quantité en APTES est importante et plus la quantité de silanols de surface disparaît, ce qui induit un taux de greffage plus important.

Les spectres des matériaux fonctionnalisés présentent un signal de résonnance indexé T_3, caractéristique d'une liaison entre un atome de silicium lié à trois fonctions siloxanes et liés à un atome de carbone, à un déplacement chimique de -65 ppm. De plus, pour des quantités de lien fonctionnel de 1, 3 et 6 ml (4,29, 12,88 et 25,76 mmol), un signal T_2 peut être observé à un déplacement chimiques de – 55ppm. Ce signal provient de la fonctionnalisation de silanols géminés (Q_2) ($(OSi)_2Si(OH)C$-).

Analyse thermogravimétrique

La détermination des quantités de chaînes fonctionnelles greffées au sein des canaux des matrices a été réalisée par thermogravimétrie. La figure 5.9 reprend les thermogrammes du matériau CMI-1 pH = 2 et du matériau CMI-1 fonctionnalisé à l'aide de 3 ml d'APTES.

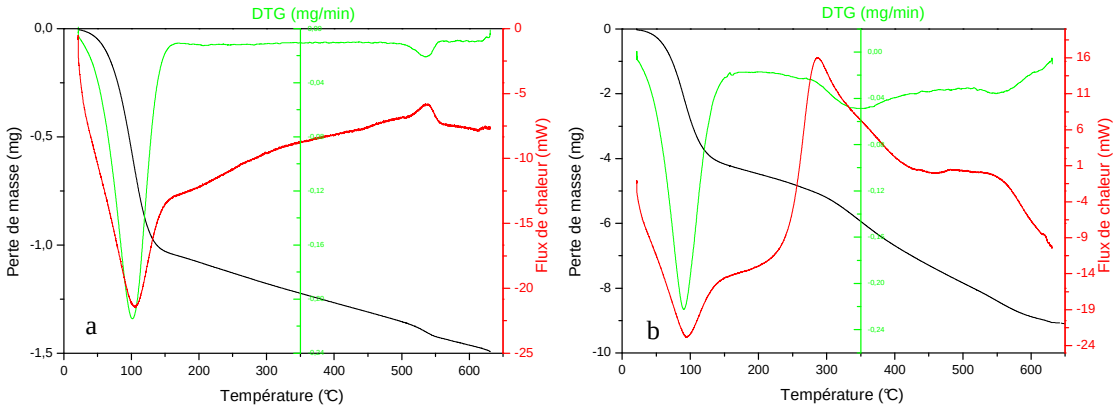


Figure 5.9 : Thermogramme de matériaux CMI-1 avant (a) et après la fonctionnalisation avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (b) enregistrés de 20 à 650°C avec une vitesse de chauffe de 2°C/minute sous flux d'air

L'analyse du thermogramme du support CMI-1 permet d'observer une perte de masse de la température ambiante à 130°C. Cette perte s'effectue de manière endothermique et est attribuée à la désorption de l'eau physisorbé avec les groupements silanols à la surface du support mésoporeux en interaction de type pont H. Ce qui correspond aux bandes d'absorption dans la zone 3000-3700 cm^{-1} en spectroscopie infrarouge. La perte de masse suivante est beaucoup plus diffuse et s'étend jusqu'à 650°C. Cette perte de masse s'explique par la déshydratation progressive des silanols afin de former des liaisons siloxanes. La courbe de flux de chaleur confirme ce phénomène de désorption car elle indique un phénomène endothermique.

Les thermogrammes des matrices fonctionnalisées présentent quant à eux une allure totalement différente. Si l'on a toujours la désorption entre 25 et 130°C, la matrice possède une perte de masse supplémentaire de 250°C jusqu'à 650°C correspondant à la combustion de la chaîne aminopropyle.

Cette combustion est mise en évidence par le flux de chaleur qui indique un dégagement d'énergie. L'analyse de cette perte de masse permet de calculer les quantités de chaînes organiques greffées. Les différents résultats sont repris dans le tableau 5.3.

Tableau 5.3 : Quantités de chaînes fonctionnelles greffées à la surface du matériau pour 1, 3 et 6 ml d'aminopropyltriéthoxysilane

	CMI-1 pH = 2	CMI-1 pH = 7	CMI-N-1 pH = 2	CMI-N-3 pH = 2	CMI-N-6 pH = 2	CMI-N-3 pH = 7
Quantité d'APTES de départ (mmol/g)	0	0	4,29	12,88	25,76	12,88
Perte de masse totale (mg/g)	44,6	42,9	57,2	68,8	73,2	56,1
Taux de greffage* (mg/g)			12,6	24,2	28,6	13,2
Taux de greffage (mmol/g)			0,2	0,4	0,5	0,2

* Le taux de greffage est calculé en retranchant de la perte de masse du matériau fonctionnalisé la perte de masse du blanc de fonctionnalisation et correspond donc à la quantité d'APTES

Ces résultats confirment ceux issus des analyses RMN ^{29}Si et de l'adsorption - désorption d'azote, où un maximum de fonctions greffées est obtenu lors de l'utilisation de 6 ml (25,76 mmol) d'agent de fonctionnalisation. Il apparaît clairement que, plus la quantité d'aminopropyletriethoxysilane est importante, plus la quantité en groupements fonctionnels greffés est grande. Cependant une quantité de 6 ml semble ne pas être nécessaire pour fonctionnaliser la surface de la matrice étant donné que l'augmentation n'est que de 15 % pour des volumes réactionnels doubles.

De plus, les résultats pour la matrice synthétisée à pH = 7 et fonctionnalisée à l'aide de 3 ml d'aminopropyletriethoxysilane (12,88 mmol) confirment les résultats obtenus précédemment par adsorption-désorption d'azote.

En effet, la diminution de surface spécifique pour ce matériau était plus faible que lors de la fonctionnalisation, dans les mêmes conditions, de la matrice synthétisée à une valeur de pH = 2. Ce qui laissait suggérer une quantité d'aminopropyle plus faible à la surface de ce support. L'une des raisons qui explique cette diminution est sans aucun doute le plus faible surface spécifique de cette matrice synthétisée à une valeur de pH égale à 7.

V.1.b Fonctionnalisation post-synthèse des matériaux SBA-15

Tout comme pour les matrices CMI-1, la fonctionnalisation post-synthèse des matériaux SBA-15 a été effectuée. Ce greffage de la fonction amine au sein de la charpente SBA-15 permettra d'étudier l'influence d'une telle fonction au sein d'un tel support, aux propriétés texturales différentes.

Caractérisation morphologique

Suite à l'observation au microscope électronique à balayage, il apparaît que les matériaux SBA-15 conservent leur morphologie après la fonctionnalisation post-synthèse. La majorité des particules observées se retrouvent sous forme de vers avec également la présence de quelques sphères (Figure 5.10).

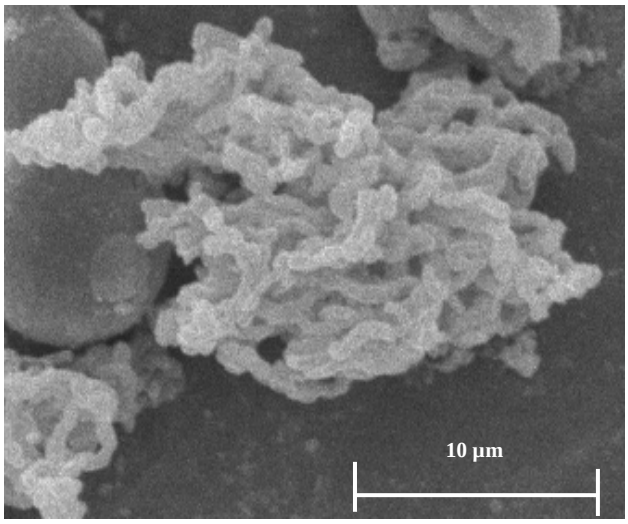


Figure 5.10 : Micrographie MEB d'un matériau SBA-15 fonctionnalisé avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane

Caractérisation structurale

La structure locale du matériau fonctionnalisé observée par microscopie électronique à transmission est toujours caractérisée par un arrangement hexagonal des canaux. (Figure 5.11).

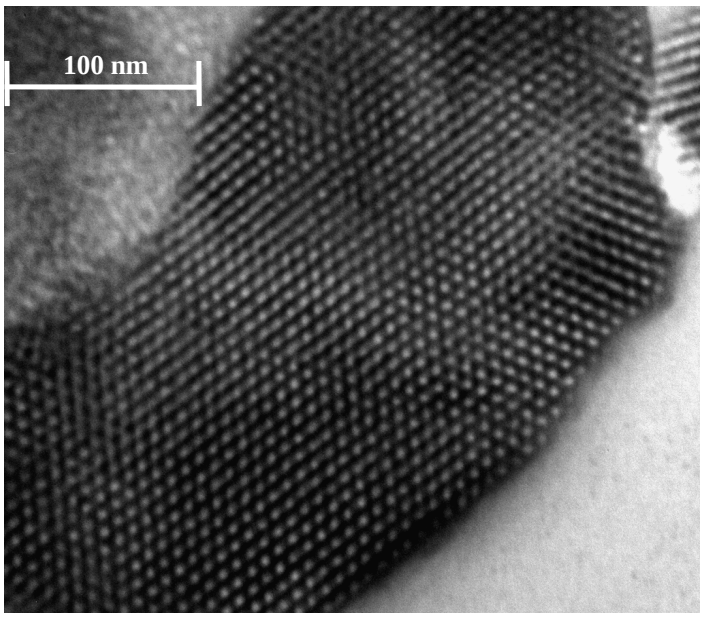


Figure 5.11 : Micrographie MET d'un matériau SBA-15 fonctionnalisé avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane

Caractérisation texturale

La technique d'adsorption - désorption d'azote montre que l'isotherme obtenue est similaire à celle du matériau SBA-15 de départ (Figure 5.12) indiquant que la mésoporosité du matériau est conservée ainsi que l'homogénéité de la taille de pores. La fonctionnalisation a par contre une influence sur la surface spécifique du matériau qui diminue de 911 m^2/g pour le matériau de départ à 397 m^2/g après modification. Cette diminution est expliquée par l'encombrement stérique lié aux chaînes fonctionnelles.

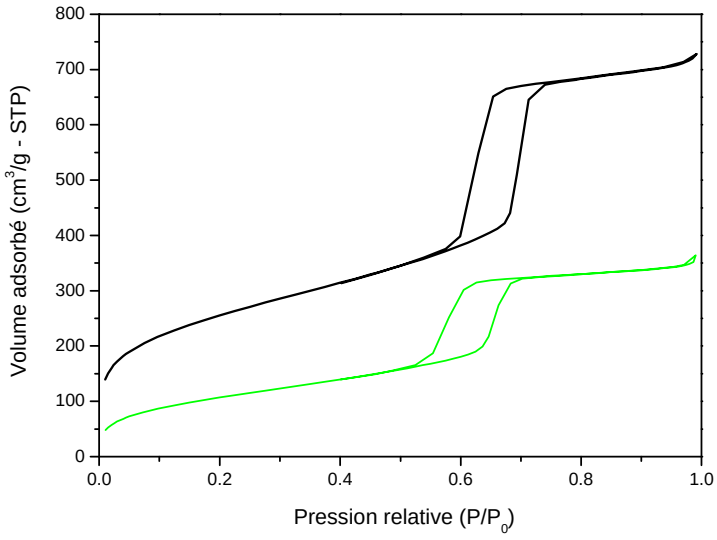


Figure 5.12 : Isothermes d'adsorption - désorption d'azote et distribution de la taille de pores d'un matériau SBA-N-3 (——) comparé au matériau SBA-15 (——)

Le volume poreux est réduit de moitié, passant de 1,1 à 0,6 cm^3/g tandis que le diamètre moyen des pores reste assez élevé, il passe de 6,4 à 5,7 nm (Tableau 5.4).

Tableau 5.4 : Propriétés texturales d'un matériau SBA-15 avant et après la fonctionnalisation avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane

	Surface spécifique (m^2/g)	Volume poreux (cm^3/g)	Taille de pores (nm)
SBA-15	911	1,1	6,4
Blanc de fonctionnalisation	912	1,1	6,3
SBA-N-3	397	0,6	5,7

La diminution de la taille de pores de la matrice SBA-15 suite à la fonctionnalisation est, tout comme pour les matériaux CMI-1, de l'ordre de 0,6 nm ce qui correspond à la longueur de la chaîne aminopropyle. Cette diminution fournit donc une preuve indirecte de la fonctionnalisation.

La forte diminution en particulier de la surface spécifique de 512 m^2/g, ce qui est légèrement supérieur à la diminution observée pour les matrices CMI-1 fonctionnalisées dans les mêmes conditions, laisse supposer une quantité de chaînes fonctionnelles plus importante au sein de la matrice SBA-15. Cette augmentation pourrait être liée à une diffusion plus aisée des espèces au sein de la matrice SBA-15 du fait de sa taille de pores plus importante.

Caractérisation de la fonction organique

Spectroscopie infrarouge

Le spectre infrarouge du matériau SBA-15 fonctionnalisé (Figure 5.13) par le procédé post-synthèse présente les mêmes pics que pour celui du matériau CMI-1 fonctionnalisé.

La présence de la chaîne aminopropyle est confirmée par des pics de vibrations d'élongations et de déformations des groupements CH_2 à 2936 cm^{-1}, 2879 cm^{-1} et 1470cm^{-1} ainsi que celui par les pics correspondant à la déformation angulaire du NH_2 à 1515 cm^{-1}.

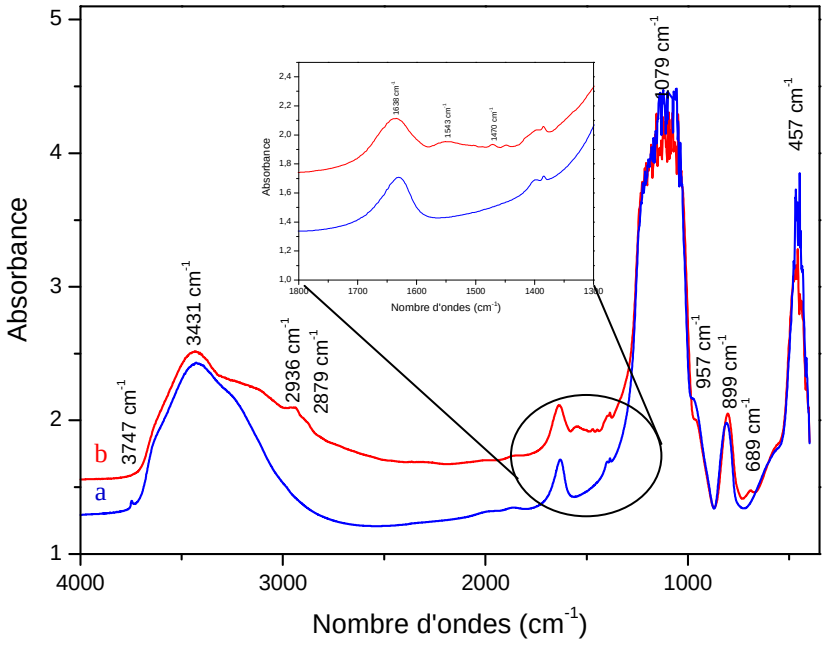


Figure 5.13 : Comparaison des spectres IR d'un matériau SBA-15 (—a—) et d'un matériau SBA-15 fonctionnalisé (—b—) avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane

Le lien entre la chaîne fonctionnelle et la matrice silicatée est prouvé par l'absence du pic des silanols libres à 3747 cm^{-1} et par l'apparition d'un pic à 689 cm^{-1} caractéristique de la vibration de la liaison Si-C.

Spectroscopie RMN ^{13}C

Le spectre RMN ^{13}C de ce même matériau permet d'observer trois larges raies à 8,04 ; 22,97 et 42,84 ppm correspondant aux trois carbones de la chaîne aminopropyle (Figure 5.14), prouvant une nouvelle fois la présence de la fonction organique au sein du matériau mésoporeux.

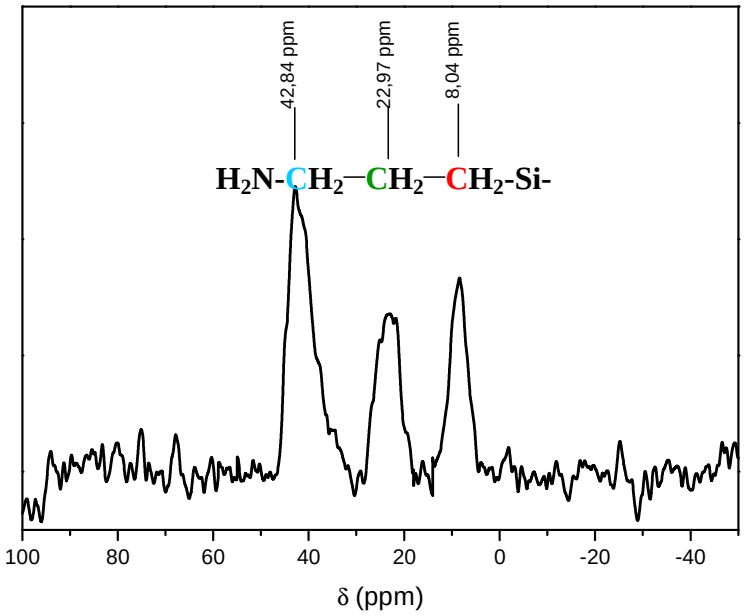


Figure 5.14 : Spectre RMN ^{13}C du matériau SBA-N-3 fonctionnalisé avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane

Les pics situés à 8,04 (**C**); 22,97 (**C**) et 42,84 (**C**) ppm correspondent aux trois carbones de la chaîne aminopropyle : **-Si-CH$_2$-CH$_2$-CH$_2$-NH$_2$**. La différence de déplacement chimique par rapport aux matériaux CMI-1 pourrait être expliquée par la différence d'environnement au sein des canaux. En effet, la taille de pores des matériaux CMI-1 étant plus faible la chaîne propyle interagit différemment avec la surface.

Spectroscopie RMN ^{29}Si

L'analyse du spectre de la matrice SBA-15 conventionnelle, tout comme pour les matrices CMI-1, met en évidence la présence des trois pics, caractéristiques des matériaux mésoporeux silicatés, à des déplacements chimiques de -110 (Q_4), -100 (Q_3) et -90 (Q_2) ppm qui sont respectivement caractéristiques des siliciums de réseau et des silanols de surface de matrice en pure silice.

Le spectre RMN ^{29}Si du matériau fonctionnalisé par le procédé post-synthèse présente deux raies en plus que celui du matériau SBA-15 : l'une à -67,06 ppm due aux atomes de silicium liés à un carbone et trois oxygènes ($(OSi)_3SiC$) indexé T_3 et l'autre à -59,18 ppm due à un atome de silicium semblable mais portant également un groupement hydroxyl ($(OSi)_2Si(OH)C$-) indexé T_2 (Figure 5.15).

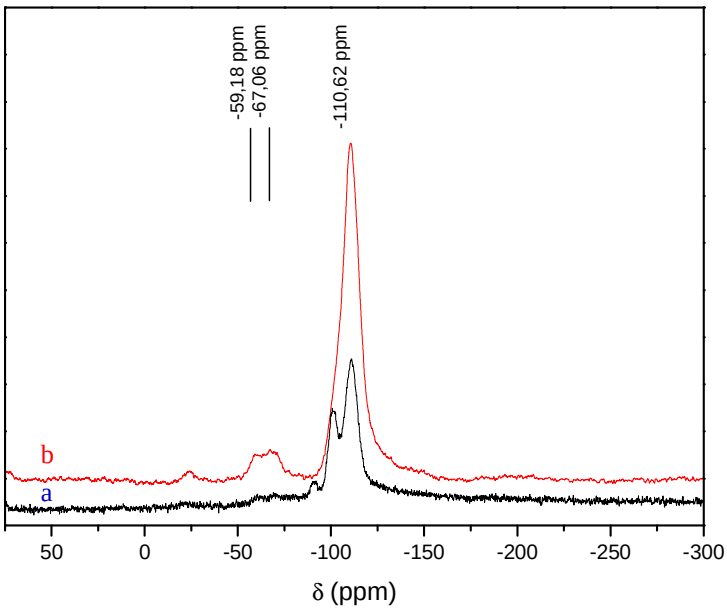


Figure 5.15 : Spectres RMN ^{29}Si de matériaux SBA-15 avant (—a—) et après la fonctionnalisation avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (—b—)

Par rapport au spectre du matériau fonctionnalisé de type CMI-1, ce spectre présente une raie accolée aux siliciums du réseau pour les silanols et ne présente pas de raie pour les silanols géminés. La fonctionnalisation couvrirait donc plus de silanols que pour la matrice CMI-1.

Les différences de déplacement entre les pics T_3 et T_2 des matrices SBA-15 par rapport aux matrices CMI-1 sont expliqué par les propriétés de surface différentes au sein des matrices (Figure 5.16).

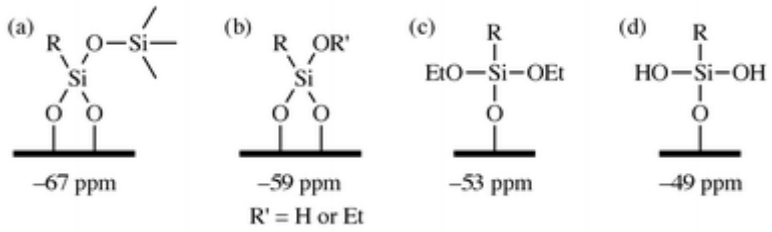


Figure 5.16 : Influence de l'environnement sur le déplacement des raies T_2 et T_3

Analyse thermogravimétrique

La détermination des quantités de chaînes fonctionnelles greffées au sein des canaux des matrices a été réalisée par thermogravimétrie et est reprise dans le tableau 5.5 ci-dessous.

Tableau 5.5 : Quantités de chaînes fonctionnelles greffées à la surface du matériau pour 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane

	SBA-15	blanc de fonctionnalisation	SBA-N-3
Quantité d'APTES de départ (mmol/g)	0	0	12,88
Perte de masse totale (mg/g)	52,3	50,4	81,6
Taux de greffage* (mg/g)			31,2
Taux de greffage (mmol/g)			0,5

* Le taux de greffage est calculé en retranchant de la perte de masse du matériau fonctionnalisé la perte de masse du blanc de fonctionnalisation et correspond donc à la quantité d'APTES

Les matériaux SBA-N-3 ainsi conçus présentent un taux de fonctionnalisation supérieur au matériau CMI-N-3 (24,2 mg/g). La taille de pores, plus grande, a permis cette augmentation de la quantité de lien fonctionnel à la surface de la matrice comme le laissait suggérer la diminution de la surface spécifique plus importante. Ce nouveau support ainsi conçu va permettre d'étudier l'influence du lien fonctionnel mais également de la taille de pores sur la conception et le test du médicament.

V.1.c Conclusion

La première partie de ce chapitre a permis de concevoir des matrices fonctionnalisées par le procédé post-synthèse. Celui-ci permet de conserver toutes les propriétés des matrices et d'obtenir ainsi des matériaux hautement structurés possédant les fonctions organiques souhaitées à la surface des canaux. La présence de la chaîne aminopropyle au sein des matériaux a été prouvée par différentes techniques de caractérisation, de même que sa liaison avec le réseau silicaté.

Nous avons mis en évidence l'influence des propriétés texturales sur le taux de greffage de la fonction aminopropyle à la surface des matrices CMI-1 et SBA-15. En effet, l'utilisation de matrices de type SBA-15, possédant une taille de pores plus grande, a permis d'augmenter le taux de fonctionnalisation. Nous avons également observé que la surface spécifique des matériaux donnait de meilleurs résultats plus celle-ci était importante.

Les deux types de matériaux fonctionnalisés (CMI, SBA-15) vont être utilisés en tant que nanovecteurs lors de l'immobilisation de la molécule médicamenteuse. Des études concernant leurs capacités d'imprégnation et de relargage seront réalisées et comparées avec celles des matrices non fonctionnalisées dans les points suivants.

V.2 Immobilisation de l'Ibuprofen au sein des matrices CMI-1 et SBA-15 organomodifiées

La partie suivante permettra de mettre en évidence l'influence de la fonction aminopropyle sur l'immobilisation de la molécule médicamenteuse. En effet, l'imprégnation sera réalisée dans des matrices porteuses d'une chaîne aminopropyle, donnant lieu à des interactions acide-base entre l'amine primaire de la chaîne possédant une valeur de pKa égale à 10,2 et l'acide carboxylique de l'Ibuprofen dont la valeur de pKa est de 4,9.

L'immobilisation d'Ibuprofen a donc été réalisée dans les différentes matrices CMI-1, SBA-15 fonctionnalisées dans les sections précédentes de ce chapitre. Les caractéristiques de ces matériaux imprégnés seront comparées aux médicaments conçus à partir des matrices CMI-1 et SBA-15 imprégnées en Ibuprofen et décrits dans le chapitre 4.

Le protocole d'immobilisation de la molécule active reste inchangé afin de pouvoir étudier uniquement les effets de la fonctionnalisation sur le taux de chargement. Ainsi, 1g de matériau fonctionnalisé est mis en suspension dans 20 ml d'une solution d'hexane de 0,242 M en Ibuprofen.

Analyse par adsorption – désorption d'azote

Les matériaux fonctionnalisés contenant l'Ibuprofen ont été analysés par adsorption – désorption d'azote afin d'observer si ces matrices se comportent de la même manière que les matrices classiques. Vu le nombre de matériaux différents, l'analyse est faite par type de matériaux. Ainsi, le tableau 5.6 reprendra les différentes valeurs de surface spécifique obtenue pour les matrices CMI-1 et SBA-15 fonctionnalisées.

Tableau 5.6 : Propriétés texturales des matériaux SBA-N et CMI-N avant et après l'immobilisation de l'Ibuprofen

	Matrices de départ		**Matrices imprégnées**	
	Surface spécifique (m^2/g)	Taille de pores (nm)	Surface spécifique (m^2/g)	Taille de pores (nm)
CMI-N1 pH = 2	580	2,4	254	1,9
CMI-N3 pH =2	488	2,4	175	2,0
CMI-N6 pH = 2	470	2,4	165	1,9
CMI-N3 pH = 7	574	3,2	268	2,8
SBA-N3	397	5,0	112	4,5

Comme attendu, l'incorporation d'Ibuprofen a provoqué une diminution de la surface spécifique et de la taille de pores de ces matrices fonctionnalisées, ce qui atteste de la présence de l'Ibuprofen au sein des matrices. Bien que ces diminutions soient moins importantes que pour la matrice CMI-1, celles-ci restent conséquentes. La taille de pores quant à elle décroit de façon similaire dans chaque cas.

Spectroscopie infrarouge

L'analyse par spectroscopie infrarouge (Figure 5.17) reprend les différents pics caractéristiques de l'Ibuprofen et de la chaîne aminopropyle greffée à la surface de la matrice.

De plus, la présence des interactions entre l'acide carboxylique de l'Ibuprofen et l'amine de la chaîne fonctionnelle peut être mise en évidence par le spectre infrarouge pour les matrices silicatées de type CMI-N et SBA-N.

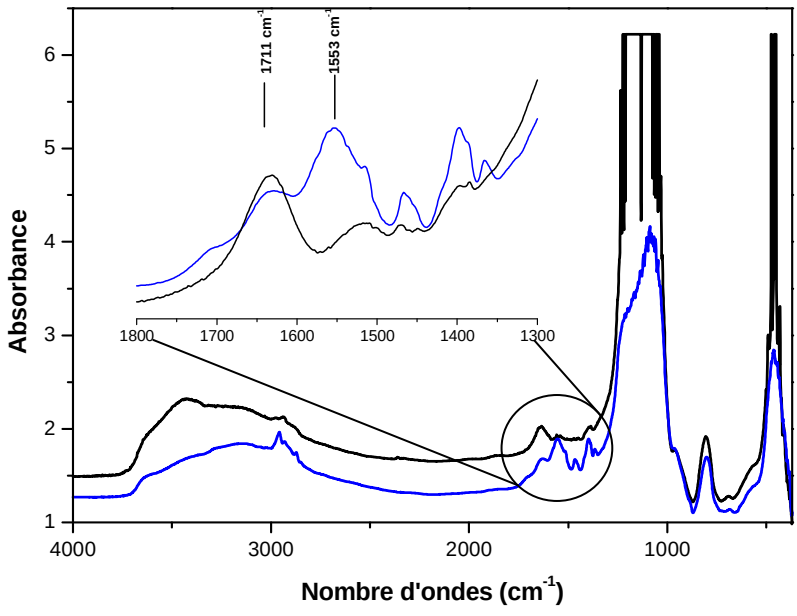


Figure 5.17 : Représentation des spectres IR des matériaux CMI-1 fonctionnalisés par le procédé post-synthèse avec 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (—) et fonctionnalisée par le procédé post-synthèse avec 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane imprégnées d'Ibuprofen (—)

En effet, le matériau fonctionnalisé imprégné d'Ibuprofen présente un nouveau pic à 1553 cm^{-1}, caractéristique d'une fonction carboxylate. Le pic de l'acide carboxylique à 1711 cm^{-1} est quant à lui devenu faible, montrant que la plupart des molécules sont en interaction avec l'amine.

Analyse thermogravimétrique

La capacité d'immobilisation des nanovecteurs CMI-N-1-Ibu, CMI-N-3-Ibu, CMI-N-6-Ibu, SBA-N-3-Ibu est comparée à celles des matrices conventionnelles dans le tableau 5.7. Ce tableau reprend également les valeurs de surfaces spécifiques des nanovecteurs synthétisés.

La quantité d'Ibuprofen présente dans les matériaux a été déterminée par la thermogravimétrie. Le calcul de ce taux de chargement est identique à celui des matériaux non fonctionnalisés si ce n'est qu'il faut soustraire la perte de masse due aux chaînes aminopropyles qui se dégradent à partir de 200°C d'où la nécessité d'effectuer des blancs d'imprégnation.

Tableau 5.7 : Résultats de l'immobilisation d'Ibuprofen au sein des différents nanovecteurs synthétisés et rappel de leurs propriétés texturales

Type de matrice	Surface spécifique (m^2/g)	Taux de greffage (mmol/g)	Quantité d'Ibuprofen immobilisée (mg/g) - (mmol/g)
CMI-1 pH = 2	1102	0	289,3 – 1,4
CMI-1 pH = 7	793	0	224,3 – 1,1
CMI-N1 pH = 2	580	0,2	354,5 – 1,7
CMI-N3 pH =2	488	0,4	368,2 – 1,8
CMI-N6 pH = 2	470	0,5	359,7 – 1,7
CMI-N3 pH = 7	574	0,2	312,2 – 1,5
SBA-15	1007	0	164,2 – 0,8
SBA-N3	397	0,5	235,2 – 1,1

Les résultats obtenus mettent en évidence un effet positif de la chaîne aminopropyle présente à la surface des matériaux CMI-1 et SBA-15 sur le taux de chargement. Cependant, aucune corrélation entre le taux de greffage et la quantité d'immobilisation ne peut être observée signifiant probablement que la capacité d'immobilisation est arrivée à son maximum.

Conclusion

De façon générale, les résultats obtenus montrent que les matériaux fonctionnalisés permettent une immobilisation plus importante d'Ibuprofen dans la matrice par rapport à un matériau non fonctionnalisé. L'ajout d'une chaîne aminopropyle au matériau est donc favorable à un meilleur taux d'imprégnation. En effet, Les matrices CMI-N-1, CMI-N-3 et SBA-N-3 présentent toutes un taux d'immobilisation plus élevé que les matrices conventionnelles correspondantes.

Cependant, la présence en trop grande quantité de chaînes fonctionnelles réduit la quantité d'Ibuprofen immobilisée. En effet, pour une meilleure accessibilité, le taux de fonctionnalisation doit être optimal. S'il est trop élevé, l'accessibilité de l'Ibuprofen envers la matrice sera réduite. En revanche, s'il est trop faible, les interactions ne seront pas suffisantes pour permettre une immobilisation importante d'Ibuprofen dans le matériau. Cela est lié au fait qu'une trop faible quantité de chaînes fonctionnelles ne permet pas de renforcer les interactions.

Les profils de libération de ces matériaux seront comparés dans le point suivant. Si les nanovecteurs ainsi conçus montrent des capacités de chargement très intéressantes, ils doivent surtout répondre à la cinétique de relargage attendue pour un tel mode d'administration, à savoir ralentie dans le temps. Ainsi, une étude de la cinétique de libération des nanovecteurs a été menée et les résultats obtenus sont présentés dans le chapitre suivant.

V.3 Influence des liens fonctionnels sur le profil de libération

L'étude suivante va permettre de mettre en évidence l'influence de la fonction aminopropyle greffée à la surface des matériaux sur le profil de libération de l'Ibuprofen. Ces fonctionnalités ont permis d'augmenter les quantités d'Ibuprofen immobilisées au sein des nanovecteurs synthétisés.

V.3.a Profils de libération des matériaux CMI-1-Ibu et CMI-N-x-Ibu

Dans un premier temps, la cinétique de relargage a été étudiée à partir des matériaux mésoporeux SBA-15 et CMI-1 fonctionnalisés afin de déterminer le rôle de l'interaction entre la matrice et la molécule sur le contrôle de la libération de cette dernière. Les propriétés texturales des matériaux utilisées pour cette étude sont rappelées dans le tableau 5.8 ainsi que le pourcentage d'Ibuprofen immobilisé au sein des canaux de ces matrices mésoporeuses selon les conditions optimales dans ces matériaux.

Tableau 5.8 : Résultats de l'immobilisation d'Ibuprofen au sein des nanovecteurs de type CMI-1 (conventionnels et fonctionnalisés) synthétisés et rappel de leures propriétés texturales

	Surface spécifique (m^2/g)	Taille de pores (nm)	Quantité d'Ibuprofen immobilisée (mg/g)	Quantité d'Ibuprofen immobilisée (mmol/g)
CMI-1	1102	3,0	289,3	1,4
CMI-N-1	580	2,3	354,5	1,7
CMI-N-3	488	2,4	368,2	1,8
CMI-N-6	470	2,4	359,7	1,7
SBA-15	911	6,4	164,2	0,8
SBA-15-N-3	397	5,7	235,2	1,1

Spectroscopie infrarouge

Comme précédemment, l'étude par spectroscopie infrarouge des différents médicaments après différentes étapes de relargage va permettre d'étudier de manière non quantitative le profil de délivrance.

En effet, les différents spectres vont permettre de voir sous quelle forme se trouve l'acide carboxylique (Figure 5.18) aux différents moments du relargage. Comme cela l'a été montré précédemment, lors de l'imprégnation, l'acide carboxylique (en bleu) est sous forme de carboxylate, présentant une large bande d'absorption centré sur 1553 cm^{-1}. Après le traitement en milieu acide, le spectre du matériau récolté (en rouge) ne présente plus cette bande là mais bien une autre à 1711 cm^{-1} caractéristique de la forme acide, indiquant ainsi que toutes les molécules ont été protonées. Le matériau passé en milieu neutre pendant 30 minutes (en vert) ne présente ni le pic du carboxylate, ni le pic de la forme acide, laissant penser qu'il ne reste plus d'Ibuprofen dans ce matériau.

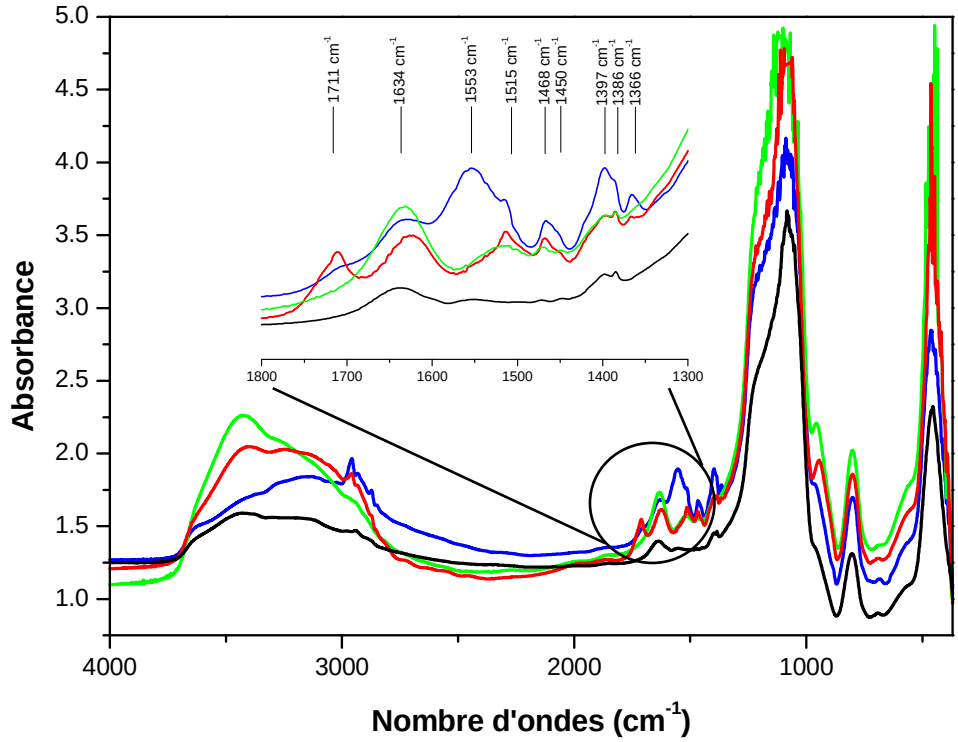


Figure 5.18 : Comparaison de spectres IR (— matériau CMI-1 fonct. CMI-N-3, — matériau fonct. Imprégné, — après relargage de 30' en milieu acide, — après relargage d'1h en milieu neutre)

Cette analyse montre bien qu'une fois en milieu acide l'interaction entre le carboxylate et l'amine protonée disparaît, rendant ainsi l'interaction moins forte. Il est donc probable que l'allure des profils de relargage soit identique à celles des matériaux non fonctionnalisés. Cependant, il est nécessaire de quantifier la quantité d'Ibuprofen libérée lors du passage en milieu acide.

Analyse thermogravimétrique

Les profils de libération des médicaments conçus à partir des matériaux fonctionnalisés présentent une différence majeure par rapport aux profils des matrices conventionnelles (Figure 5.19).

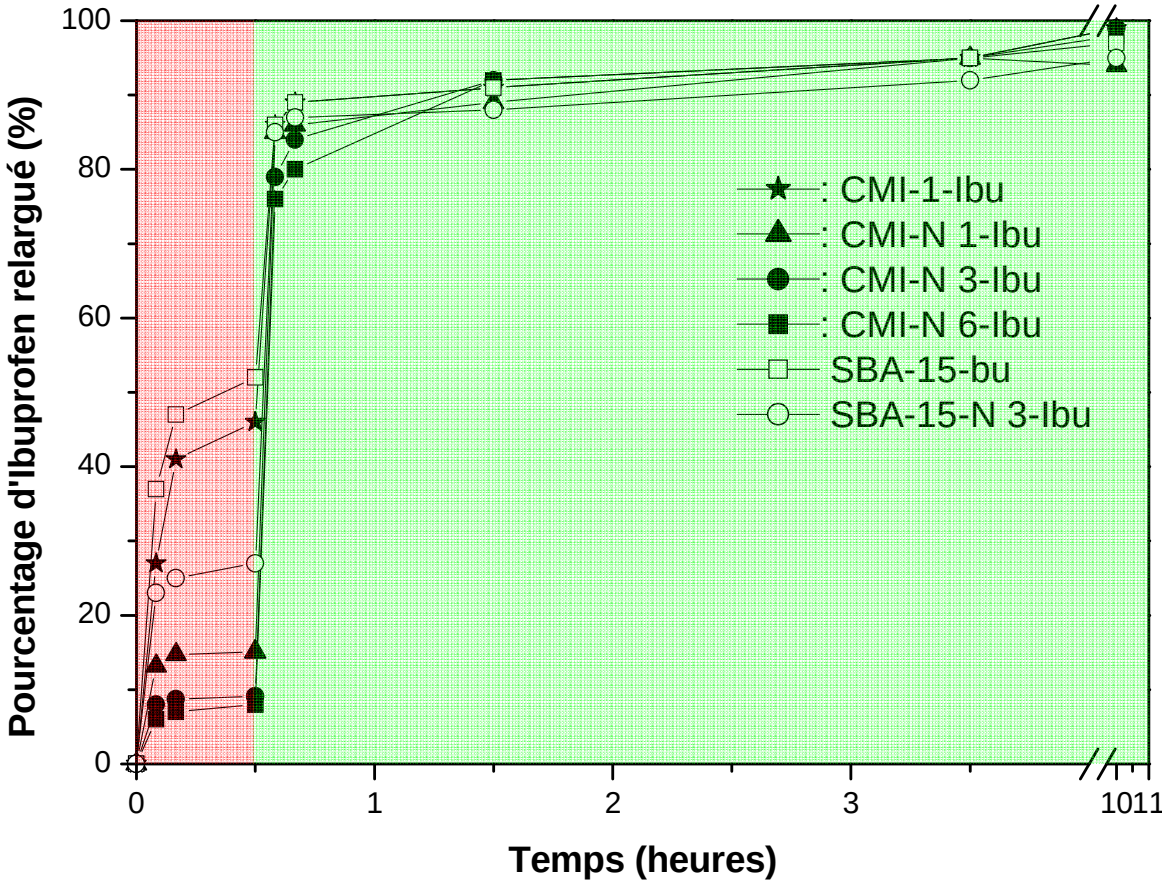


Figure 5.19 : Profils de libération de l'Ibuprofen dans le milieu acide (—) et dans la solution physiologique (—) à partir de matériaux CMI-1 et SBA-15 et CMI-N et SBA-N fonctionnalisés

En effet, les profils de libération obtenus présentent une allure relativement différente. Le pourcentage d'Ibuprofen relargué après le passage en milieu acide est de près de 60 % dans le cas du matériau CMI-1 conventionnel tandis qu'il passe à approximativement 10 % dans les cas du CMI-N 1, 3 et 6.

Cette meilleure rétention des molécules d'Ibuprofen en milieu acide dans les canaux du matériau hybride peut s'expliquer par la création d'une interaction plus forte entre l'Ibuprofen et la matrice. L'interaction de type ionique entre l'amine protonnée et l'anion carboxylate est une interaction possédant une énergie plus importante que celle de type pont H présente entre les silanols et l'acide carboxylique. En effet, les enthalpies de liaison des ponts hydrogènes sont de 1 à 4 $kJ.mol^{-1}$ contre 100 à 4000 $kJ.mol^{-1}$ pour les liaisons ioniques.

L'obtention d'un relargage en deux temps constitue déjà une excellente première étape dans l'élaboration du médicament. Les effets secondaires liés à cette déperdition du principe actif dans l'estomac devraient être sensiblement diminués.

Une fois les matériaux passés en milieu neutre, cette interaction ne semble pas jouer de rôle donnant lieu à un relargage rapide. L'interaction entre l'acide carboxylique de l'Ibuprofen et l'amine de la chaîne fonctionnelle ne suffit donc pas à ralentir la diffusion de la molécule médicamenteuse hors des canaux du matériau mésoporeux afin d'obtenir une libération contrôlée dans le temps.

La solubilité de l'Ibuprofen dans les différents milieux explique également l'allure de ces courbes. A un pH d'une valeur de 1,2, la solubilité de l'Ibuprofen est faible contrairement à un pH 7,24 où celle-ci est plus importante étant donné qu'il est sous forme de sel. Lorsque l'on a un matériau CMI-1 conventionnel, la majorité des molécules se trouvent en surface et sont donc libérées très facilement. Lorsque nous avons un matériau fonctionnalisé, l'Ibuprofen est immobilisé beaucoup plus profondément au sein de la structure et, étant insoluble en solution acide, il précipitera au sein de la matrice et pas en solution. Malgré cela, lorsque le vecteur est soumis à un traitement physiologique, l'Ibuprofen est de nouveau sous forme carboxylate. Mais, étant donné sa solubilité

importante dans ce milieu et sous cette forme, l'Ibuprofen est chassé des canaux donnant un taux de relargage très important en milieu neutre.

L'effet de la quantité de groupe fonctionnel au sein des canaux de la matrice CMI-1 peut être observé via les profils de relargage des médicaments CMI-N-x-Ibu (x = 1, 3 et 6). Le tableau 5.9 permettra de comparer les effets sur le relargage par rapport au taux de greffage effectif. Les différents profils obtenus pour ces médicaments montrent que la quantité de groupe fonctionnel présent à la surface des canaux joue un rôle sur les molécules d'Ibuprofen retenues au sein de la matrice lors du passage en milieu acide. En effet, pour les matrices CMI-N-1et CMI-N-3, le pourcentage de molécules libérées diminue lors du passage en milieu acide. Cette diminution est très certainement liée à l'augmentation du nombre d'interactions entre la matrice et l'Ibuprofen.

De plus, le profil de libération du médicament CMI-N-6-Ibu ne présente pas de réel avantage par rapport à celui du CMI-N-3-Ibu ce qui est logique contenu du fait que les quantités de groupe fonctionnel présent au sein des matrices sont proches.

Tableau 5.9 : Quantités de chaînes fonctionnelles greffées à la surface du matériau pour 1, 3 et 6 ml d'aminopropyltriéthoxysilane

	CMI-N-1 pH = 2	CMI-N-3 pH = 2	CMI-N-6 pH = 2
Taux de greffage (mmol/g)	0,2	0,4	0,5

Le profil de libération du médicament conçu à base de matrices SBA-15 fonctionnalisées montre que la largeur de la taille des pores est un désavantage. En effet, pour une même quantité de liens fonctionnels, la libération en milieu acide passe de 10 % pour la matrice CMI-N-3 à 30 % pour la matrice SBA-N-3.

V.3.b Conclusion

Par opposition aux deux premières matrices, les nanovecteurs de type CMI-N et SBA-N retiennent de façon plus importante les molécules d'Ibuprofen au sein de leur structure poreuse. En effet, 90 % du principe actif a résisté au passage gastrique pour la matrice fonctionnalisée à partir de 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane contre seulement 60 % pour le matériau CMI-1 et SBA-15. Cette différence semble montrer l'importance de la nature de la surface du matériau sur le relargage et de la présence de chaînes fonctionnelles greffées à leur surface. Ces profils mettent également en évidence une libération rapide de l'Ibuprofen lors du passage en milieu intestinale ce qui constitue un atout pour une action rapide du principe actif.

L'obtention d'un médicament permettant de limiter les effets secondaires lors du passage du principe actif en milieu gastrique est déjà une étape importante dans la conception de celui-ci. Nous avons pu obtenir un ciblage spatial qui réduira considérablement l'action du principe actif sur des récepteurs non ciblés.

Cependant, même si la fonctionnalisation libère les fonctions présentes au sein de la charpente, ces interactions ne permettent pas de contrôler la libération de l'Ibuprofen hors de la matrice lors du passage en solution pH 7,25. Il pourrait s'avérer intéressant de pouvoir contrôler cette libération afin d'obtenir un médicament capable d'avoir un effet prolongé dans le temps.

La comparaison des trois profils de libération a permis d'avancer l'hypothèse que le pH ainsi que la présence d'ions favoriseraient la sortie de l'Ibuprofen hors des canaux des matrices CMI-1 et SBA-15 fonctionnalisées en milieu physiologique. Dans tous ces matériaux mésoporeux hautement ordonnés, fonctionnalisés ou non, il faut que les interactions Ibuprofen-matrice soient suffisantes pour empêcher les interactions eau-matrice de se former, ce qui déplacerait l'Ibuprofen des canaux de la matrice.

L'utilisation de matrices de type PMO possédant une fonction organique hydrophobe au sein de son réseau silicé pourrait permettre un contrôle de la libération de la molécule. De plus, l'influence de ce groupe fonctionnel organique supplémentaire pourrait être mise en évidence si l'on arrivait à créer une cavité hydrophobe en fonctionnalisant la matrice et en obtenant ainsi un site dans lequel l'Ibuprofen pourrait venir se fixer (Figure 5.20).

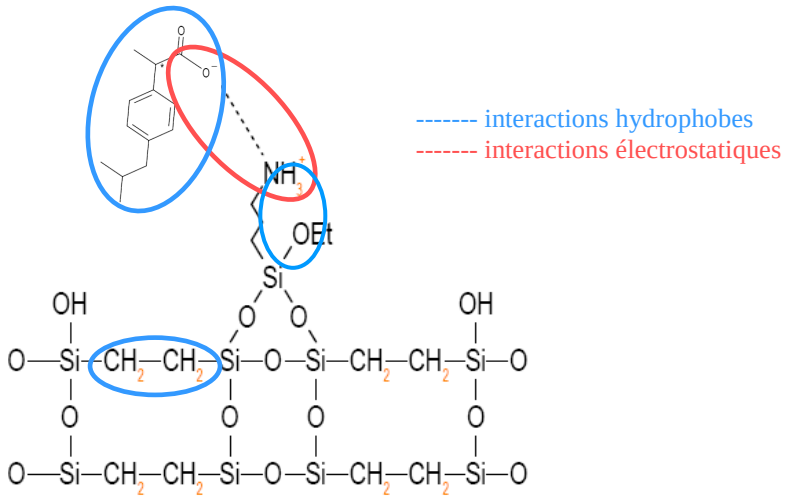


Figure 5.20 : Interactions entre l'Ibuprofen et le matériau PMO fonctionnalisé

L'étude de l'influence de cette fonction intra réseau sur les interactions avec la molécule active sera effectuée dans le chapitre suivant.

Chapitre 6 :
Conception d'un médicament à base de matrices mésoporeuses de type PMO et PMO organomodifiées

---

Au cours de ce chapitre, nous étudierons l'influence du groupement éthane des matériaux PMO. La première partie de ce chapitre sera consacrée à la synthèse de matrices PMO et PMO fonctionnalisées.

Ensuite, tout comme pour les matrices précédentes, nous étudierons l'influence de ces matrices sur l'immobilisation de l'Ibuprofen et le profil pharmacocinétique lors du passage dans des solutions simulant les milieux gastrique et intestinal.

VI.1 Synthèses et caractérisations des nanovecteurs de type PMO et PMO organomodifiés

Les résultats obtenus pour les matrices CMI-1 et SBA-15 fonctionnalisées par le procédé post-synthèse sont très encourageants. Les fonctions aminopropyles greffées à la surface de ces matériaux renforcent les interactions permettant une libération de l'Ibuprofen mieux contrôlée. Néanmoins, le procédé post-synthèse est un procédé fastidieux nécessitant une étape supplémentaire. C'est pourquoi les matrices de type PMO ont été utilisées afin d'étudier l'influence de groupements organiques présents dans la charpente sur l'immobilisation et le relargage. La première partie de ce chapitre sera consacrée à la synthèse des nanovecteurs de type PMO et PMO-N.

VI.1.a Synthèse et caractérisation des matrices PMO éthane pontées conventionnelles

L'élaboration de matrices PMO éthane pontées permettra d'introduire un caractère hydrophobe à la surface des nanovecteurs et de permettre ainsi des interactions supplémentaires entre la surface et l'Ibuprofen. Le protocole de synthèse de ces matériaux a été décrit dans la partie expérimentale (III.3). Ils ont été caractérisés d'un point de vue morphologique, structural et textural.

Caractérisation morphologique

L'observation des particules d'un matériau PMO, par microscopie électronique à balayage, est reprise à la figure 6.1. Les particules de type toroïde et gyroïde, également typique des matériaux PMO, se présentent sous forme d'agrégats de l'ordre de 15 μm et la taille des particules qui constituent cet agrégat varient quant à elles de 2 à 6 μm.

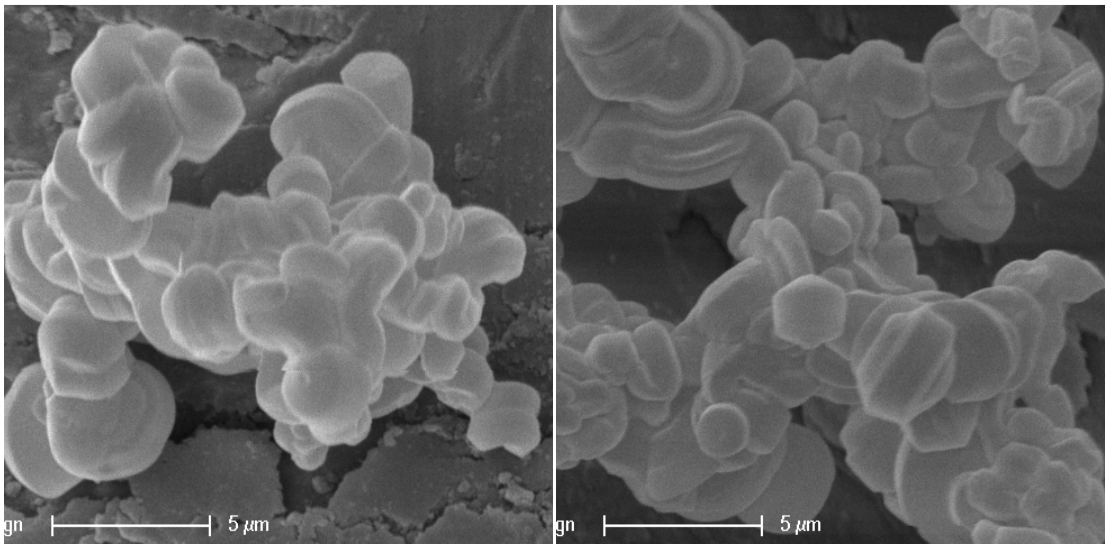


Figure 6.1 : Micrographies MEB d'un matériau PMO éthane ponté

Caractérisation structurale

Les micrographies obtenues par microscopie électronique à transmission montrent très clairement l'organisation hexagonale des canaux du matériau. Selon une coupe longitudinale, les canaux sont rectilignes et parallèles (Figure 6.2(a)) et, suivant une coupe transversale, l'arrangement hexagonal des matériaux PMO est mis en évidence, semblable à un nid d'abeilles (Figure 6.2(b)). La transformée de Fourier de cette dernière micrographie montre clairement la symétrie hexagonale de ces canaux (Figure 6.2(c)).

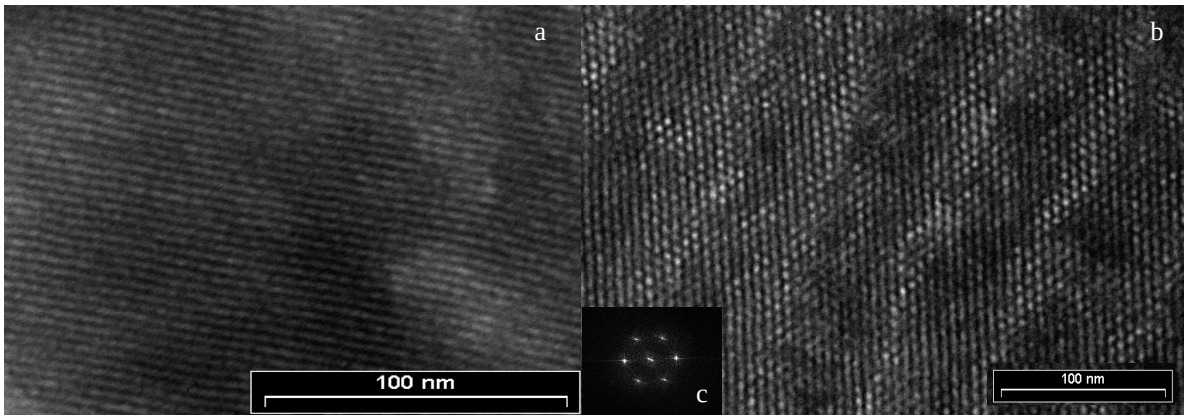


Figure 6.2 : Micrographies MET d'un matériau PMO éthylène ponté coupé longitudinalement (a) et coupé transversalement (b)
Transformée de Fourier de la micrographie (c)

L'étude de la structure globale du matériau ainsi que le calcul de l'épaisseur des parois sont obtenus par la diffraction des rayons X à bas angles. L'épaisseur des parois est calculée via le paramètre de maille a_0 dont les formules ont été décrites précédemment. Le diffractogramme suivant (Figure 6.3) présente trois pics bien visibles dans une zone d'angles variant de 1° à 3°. Tout comme pour les matrices CMI-1 et SBA-15, ces pics peuvent être indexés selon les indices de Miller comme 100, 110 et 200 et sont associés à une phase hexagonale *p6mm*.

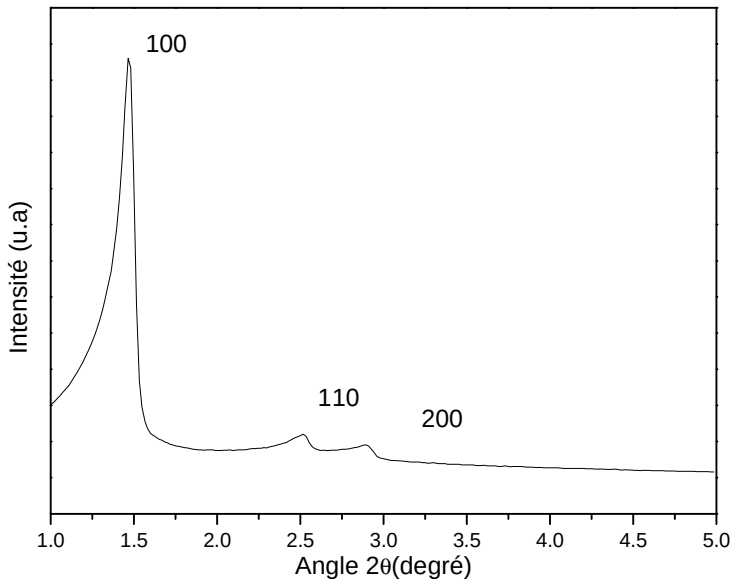


Figure 6.3 : Diffractogramme du matériau PMO éthane ponté

Le pic correspondant au plan réticulaire 100 apparaît à un angle $2\theta = 1{,}46°$. La loi de Bragg permet de calculer la distance entre deux plans réticulaires d_{100} , le paramètre de maille a_0 peut ainsi être obtenu. Une valeur de a_0 égale à 7,0 nm a été déterminée pour ce matériau.

Caractérisation texturale

La technique d'adsorption - désorption d'azote (BET) permet d'obtenir une courbe présentant l'allure typique d'une isotherme de type IV, caractéristique des matériaux mésoporeux (Figure 6.4).

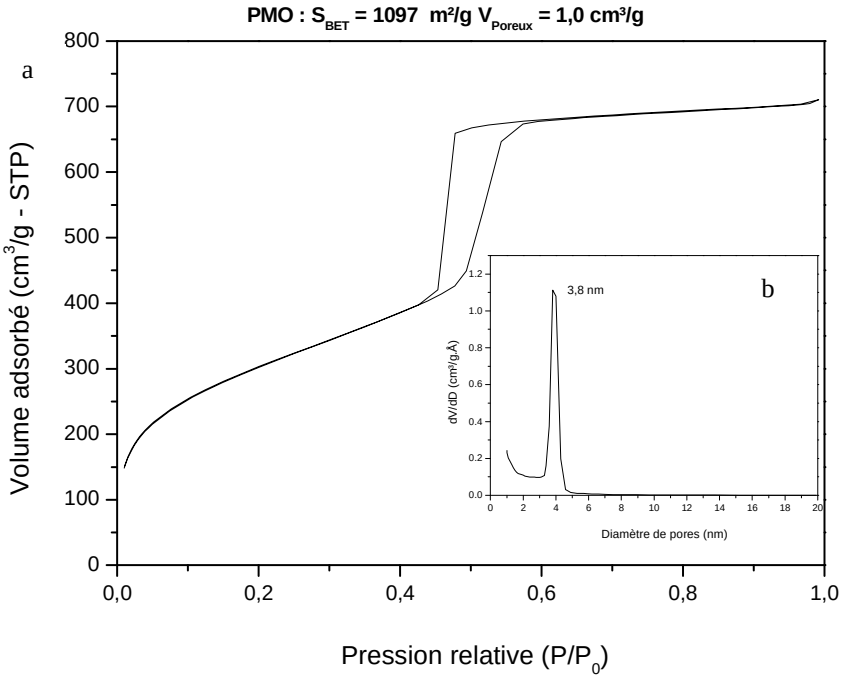


Figure 6.4 : Isotherme d'adsorption - désorption d'azote (a) et distribution de la taille de pores (b) d'un matériau PMO éthane ponté

Le tableau 6.1 reprend les valeurs de propriétés texturales calculées à partir de l'isotherme.

Tableau 6.1 : Résultats obtenus pour la synthèse de PMO

Surface spécifique (m^2/g-stp)	Taille de pores (nm)	Volume poreux (cm^3/g-stp)
1097	3,8	1,0

L'épaisseur des parois dont il a été question dans le paragraphe précédent a été obtenue en retranchant ce diamètre poreux (3,8 nm) à la valeur du paramètre de maille (7,0 nm). L'épaisseur des parois obtenue pour ce type de matériau est de 3,2 nm.

VI.1.b Fonctionnalisation post-synthèse des matériaux PMO éthane pontés

La fonctionnalisation de la matrice PMO permettra, en plus du caractère hydrophobe lié à la fonction éthane présente à sa surface, d'ajouter un caractère basique à la matrice PMO. Ces interactions cumulées, par rapport aux matrices SBA-15 et CMI-1, permettent de créer un environnement proche de celui que l'Ibuprofen rencontre dans le site actif de la cyclo-oxygénase lors de l'inhibition de celle-ci, à savoir le canal hydrophobe et l'amine de la COX.

Caractérisation morphologique

Lors de cette synthèse, les matériaux obtenus possèdent une morphologie typique des matériaux PMO conventionnels. Des gyroïdes et toroïdes sont observées sur les micrographies prises en microscopie électronique à balayage (Figure 6.5). La fonctionnalisation ne semble pas altérer la morphologie des matériaux de départ.

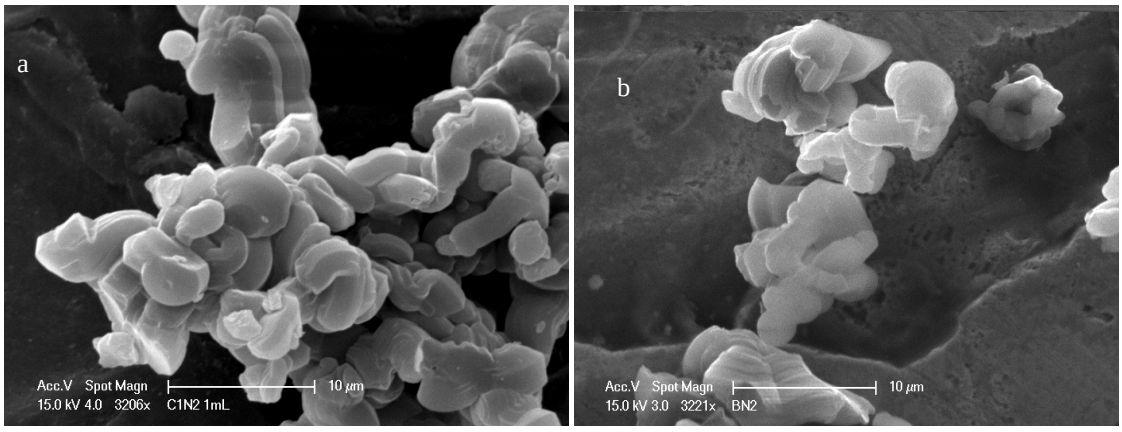


Figure 6.5 : Micrographies MEB de matériaux PMO fonctionnalisés avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec 1 et 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (a, b)

Caractérisation structurale

L'analyse par microscopie électronique à transmission montre que la structure locale du matériau est conservée après fonctionnalisation. En effet, les matrices présentent toujours un parallélisme de leurs canaux (Figure 6.6).

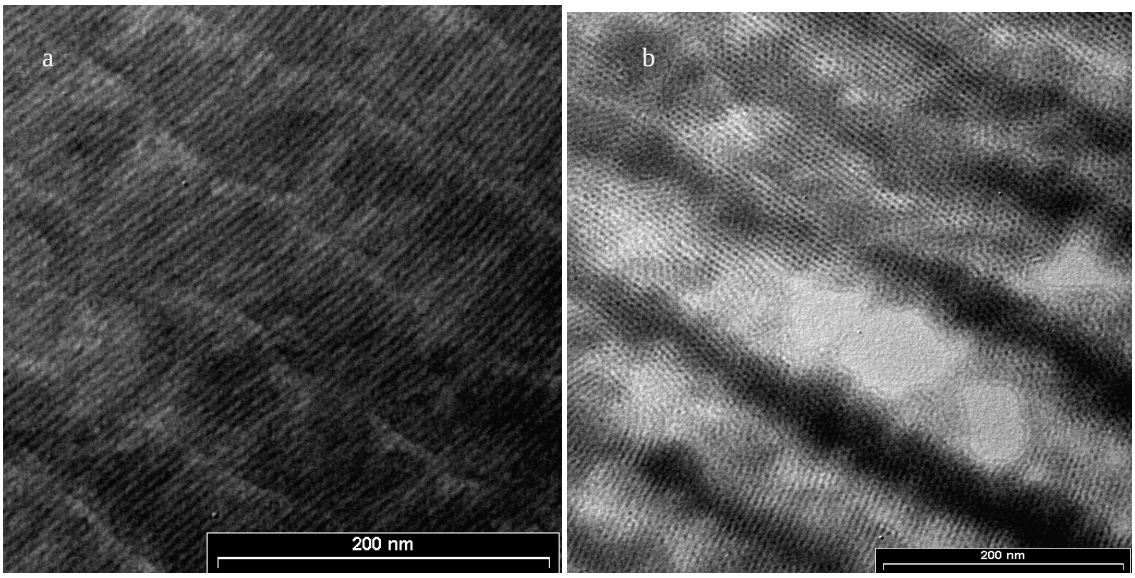


Figure 6.6 : Micrographies TEM de matériaux PMO fonctionnalisés avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec 1 et 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (a, b)

Caractérisation texturale

L'isotherme obtenue par la technique d'adsorption - désorption d'azote (Figure 6.7) est semblable à l'isotherme du matériau PMO de départ. La caractéristique mésoporeuse du matériau est conservée ainsi que l'homogénéité de la taille de pores. Cependant, la surface spécifique du matériau PMO fonctionnalisé a fortement diminué de 1096 $m^{2/}g$ pour le matériau de départ à 705 m^2/g pour le matériau fonctionnalisé avec 1ml d'aminopropyle et 660 m^2/g pour 3 ml d'aminopropyle. Soit une différence de 391 m^2/g et 436 m^2/g. Ces valeurs sont très proches de celles obtenues pour la fonctionnalisation des matériaux CMI-1, on peut donc s'attendre à obtenir des taux de greffage proches.

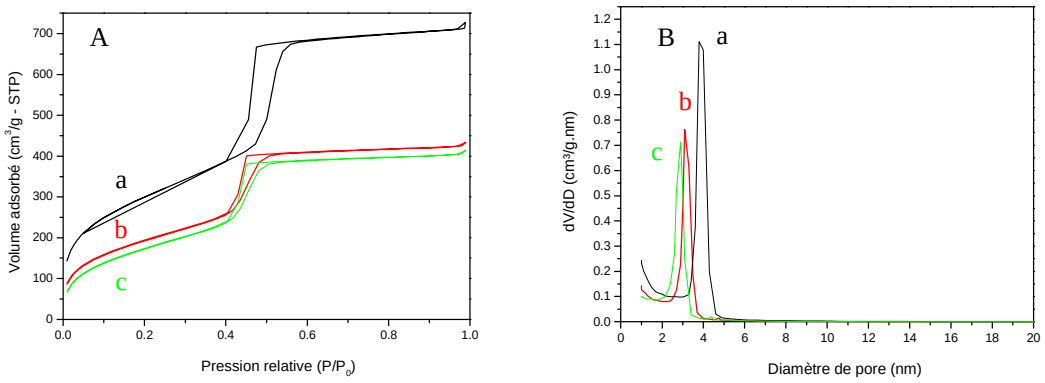


Figure 6.7 : Isothermes d'adsorption - désorption d'azote (A) et distribution de la taille de pores (B) d'un matériau PMO (—a—) et PMO fonctionnalisé avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec 1 et 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (—b—, —c—)

Le volume poreux a quant à lui diminué de 0,93 cm^3/g pour le matériau PMO à une valeur de 0,63 cm^3 /g pour le matériau fonctionnalisé. Le diamètre des pores diminue légèrement en passant d'une valeur de 3,7 à 3,1 nm (Tableau 6.2). Ces valeurs témoignent de la présence de chaînes aminopropyles à l'intérieur des canaux. En effet, la diminution tout comme pour les autres matrices correspond à la taille de la chaîne greffée. L'élaboration de blanc à été effectuées pour les analyses thermogravimétriques mais l'influence du traitement de blanc pour la fonctionnalisation sur les propriétés texturales était quasiment nul. Ils n'ont donc pas été ajoutés.

Tableau 6.2 : Propriétés texturales des matériaux PMO avant et après la fonctionnalisation avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse

	PMO	PMO-N-1	PMO-N-3
Surface spécifique (m^2/g)	1096	705	660
Volume poreux (cm^3/g)	0,93	0,63	0,60
Taille de pores (nm)	3,7	3,1	2,9

Caractérisation de la fonction organique

Spectroscopie infrarouge

La comparaison entre le spectre du matériau PMO non fonctionnalisé et les PMO fonctionnalisés est représentée à la figure 6.8. Ces spectres sont relativement proches des spectres infrarouges des matériaux CMI-1 et SBA-15 avec les bandes supplémentaires caractéristiques des vibrations des groupements organiques de la charpente.

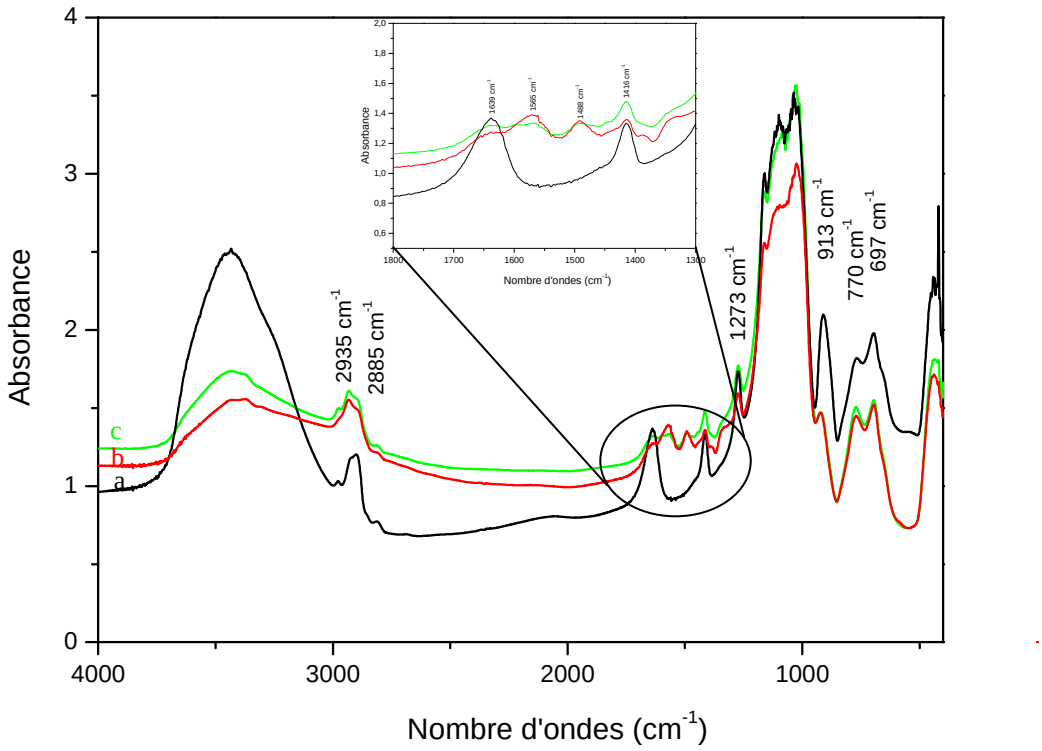


Figure 6.8 : Spectres IR d'un matériau PMO non fonctionnalisé (—a—) et fonctionnalisé avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec 1 et 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (—b—, —c—)

En effet, vers 1273, 1416 et 2907 cm^{-1} apparaissent des pics nettement visibles qui confirment la présence des groupements éthanes. Ces pics sont dus aux déformations angulaires H-C-H hors du plan ainsi qu'aux élongations asymétriques des liaisons C-H.

La présence de la chaîne aminopropyle est confirmée par les pics de vibrations et déformations des groupements CH_2 à 2935 cm^{-1} et 1488 cm^{-1} ainsi que celui de la déformation angulaire du NH_2 à 1565 cm^{-1}.

De plus, le pic présent à 913 cm^{-1}, caractéristique des silanols de surface, diminue, ce qui est lié à la fonctionnalisation de ceux-ci par la chaîne aminopropyle.

Spectroscopie RMN ^{13}C

La spectroscopie RMN ^{13}C permet la visualisation de l'environnement de chacun des carbones du matériau PMO et de la chaîne aminopropyle. Les spectres des matériaux PMO non fonctionnalisés et fonctionnalisés sont représentés à la figure 6.9. Les différents déplacements chimiques observés sont repris dans le tableau 6.3.

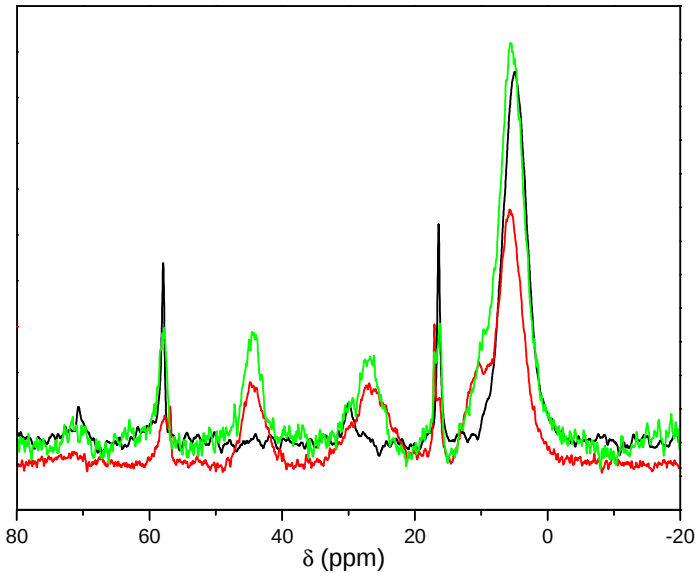


Figure 6.9 : Spectres RMN ^{13}C d'un matériau PMO non fonctionnalisé (——) et fonctionnalisé avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec 1 et 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (——, ——)

Tableau 6.3 : Comparaison des déplacements chimiques observés pour les carbones présent dans les matrices PMO non fonctionnalisée et fonctionnalisée avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec l'aminopropyltriéthoxysilane

	δ (ppm) PMO non fonctionnalisé	**δ (ppm) PMO fonctionnalisé**
-Si-CH_2- CH_2-Si-	5,0	5,6
CH_3CH_2OH	16,5	16,1
CH_3CH_2OH	57,8	57,7
Brij 76 (Surfactant)	29,9	30,0
Brij 76 (Surfactant)	70,9	71,5
-Si-CH_2-CH_2-CH_2-NH_2		10,5
-Si-CH_2-CH_2-CH_2-NH_2		26,8
-Si-CH_2-CH_2-CH_2-NH_2		44,8

Le spectre du matériau non fonctionnalisé possède cinq raies, or les deux carbones composant la chaîne éthylène sont équivalents et seul un pic devrait être observé, celui à plus haut champ (5,0 ppm)[53]. L'apparition de ce signal confirme la présence de groupements éthanes dans le matériau PMO.

Les raies situées à 16,5 et 57,8 ppm correspondent à la présence d'éthanol au sein des canaux du matériau. L'éthanol possède deux carbones à savoir le carbone du groupe méthylène (CH_3CH_2OH) et le carbone du groupe méthyle (CH_3CH_2OH). Etant donné que le groupe méthylène est plus proche de l'atome d'oxygène électronégatif, sa raie se trouve à un déplacement de 57,8 ppm tandis que le pic à 16,5 ppm est attribué au carbone du groupe méthyle.

L'éthanol présent au sein des canaux du matériau est probablement dû à l'étape d'extraction à l'éthanol, pour éviter ces raies, il aurait été préférable de dégazer le matériau sous vide en le chauffant avant d'en prendre un spectre RMN.

Enfin, les signaux présents à 29,9 et 70,9 ppm confirment la présence en traces de molécules de surfactant (Brij 76)[86].

Quant au spectre du matériau PMO fonctionnalisé, celui-ci comporte toutes les raies détaillées ci-dessus. A cela s'ajoute de nouveaux pics témoignant de la présence de la chaîne aminopropyle greffée au sein du matériau. Le spectre du matériau PMO fonctionnalisé, celui-ci comporte toutes les raies détaillées ci-dessus. A cela s'ajoute de nouveaux pics témoignant de la présence de la chaîne aminopropyle greffée au sein du matériau. Les pics situés à 10,5 (**C**); 26,8 (**C**) et 44,8 (C) ppm correspondent aux trois carbones de la chaîne aminopropyle : **-Si-CH_2-CH_2-CH_2-NH_2**. Etant donné que le carbone le plus proche de l'amine est le plus déblindé, celui-ci apparaît à plus bas champ et possède donc un déplacement chimique plus élevé.

Spectroscopie RMN ^{29}Si

La spectroscopie RMN du silicium permet la caractérisation de l'environnement direct des noyaux de silicium et, dès lors, du réseau des matériaux PMO. La figure 6.10 présente les spectres des matériaux PMO fonctionnalisés et non fonctionnalisés.

Le spectre du matériau PMO non fonctionnalisé présente trois signaux qui sont respectivement T_1, T_2 et T_3. Pour rappel, la notation T_n représente les environnements $R'Si(OSi)_n(OH)_{3-n}$ où R' est ici le groupement éthane (Figure 6.11).

[86] M.C. Burleigh, S. Jayasundera, M.S. Spector, C.W. Thomas, M.A. Markowitz, B.P. Gaber, *Chem. Mater.*, 16 (2004), 3

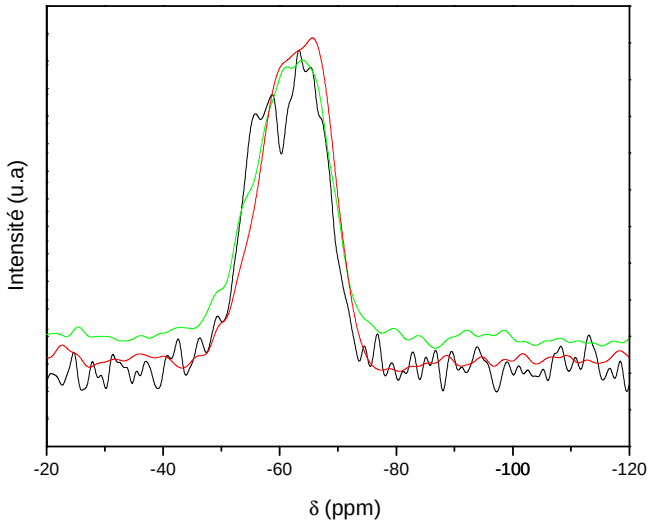


Figure 6.10 : Spectres RMN ^{29}Si d'un matériau PMO non fonctionnalisé (-----) et fonctionnalisé avec 1 et 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (-----, ——)

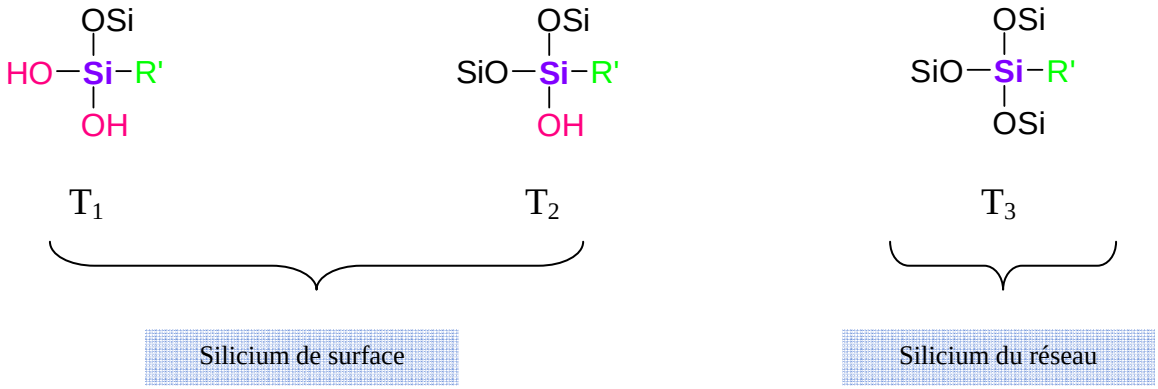


Figure 6.11 : Illustration des siliciums de surface et de réseau rencontrés dans les matériaux PMO

Les signaux observés sont à des déplacements chimiques (δ) identiques (Tableau 6.4) aux valeurs observées par Burleigh et ses collaborateurs [86]. En examinant le spectre du matériau non fonctionnalisé, c'est le pic T_2 qui possède la plus grande intensité. Selon cette observation, il y a davantage d'atomes de silicium liés à un groupe hydroxyle (OH) que d'atomes de silicium du réseau.

Tableau 6.4 : Comparaison des déplacements chimiques observés pour les silicium T_1, T_2 et T_3

T_n	δ (ppm) PMO non fonctionnalisé	δ (ppm) PMO fonctionnalisé
T_1	-48,5	-49,5
T_2	-56,6	-56,1
T_3	-63,6	-64,2

La présence importante d'atomes de silicium de type T_2 peut être désavantageuse car celle-ci renforce légèrement le caractère hydrophile de la surface du matériau PMO éthane ponté. Par conséquent, les interactions avec l'Ibuprofen, molécule au caractère hydrophobe prédominant, peuvent être peu favorables.

L'absence totale de signaux dans la région située autour de -100 ppm indique l'absence d'atomes de silicium liés à quatre atomes d'oxygène $\{Si(OSi)_4\}$ caractéristiques des matériaux mésoporeux en pure silice, ce qui justifie bien que les liaisons Si-C sont restées intactes.

En ce qui concerne le spectre du matériau fonctionnalisé, les signaux détectés concernant les types de silicium T_1 et T_2 sont assez faibles, signifiant la consommation des groupements OH. Seul le pic T_3 possède une grande intensité. Ceci indique que la majorité des atomes de silicium de surface ont bien été fonctionnalisés.

Analyse thermogravimétrique

L'analyse thermogravimétrique du matériau mésoporeux silicaté non fonctionnalisé (Figure 6.12(a)), met en évidence deux pertes de masse. La première est due à l'évaporation de l'eau physisorbée à la surface de la matrice provoquant une perte de masse de 6,4 % du matériau, tandis que la seconde perte est due à la dégradation des liaisons CH_2-CH_2 et à déshydroxylations progressives des silanols de surface donnant lieu à une perte de 14,7 % en masse du matériau.

Quant au matériau fonctionnalisé avec un lien aminopropyle (Figure 6.12(b)) par le procédé post-synthèse, il enregistre deux pertes de masse : la perte de masse correspondant à la zone allant de 25 à 130°C et la perte de masse due à la fonction organique se situant entre 250 et 650°C. Le taux de fonctionnalisation pour les deux matériaux conçus à l'aide de 1 et 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane est repris dans le tableau 6.5. La dégradation des liaisons et la combustion de l'APTES se trouvent dans la même zone, ce qui complique notre analyse.

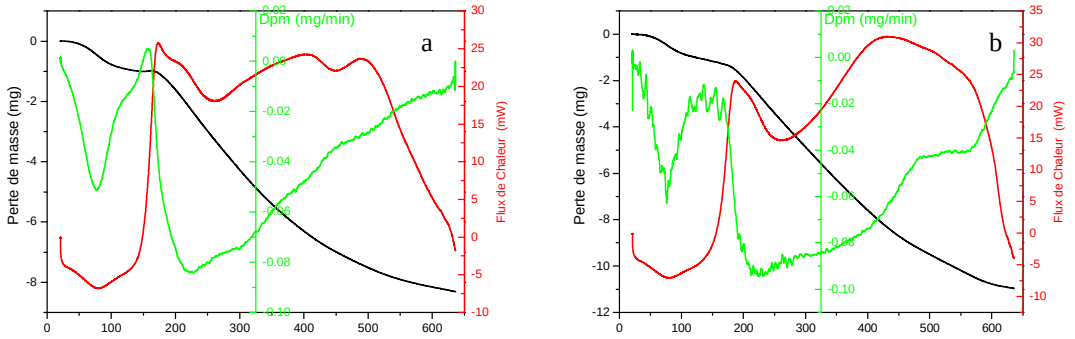


Figure 6.12 : Thermogramme de matériaux PMO éthane pontés avant (a) et après la fonctionnalisation avec un lien aminopropyle par le procédé post-synthèse avec 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane (b) enregistrés de 20 à 650°C avec une vitesse de chauffe de 2°C/minute

Tableau 6.5 : Quantités de chaînes fonctionnelles greffées à la surface du matériau pour 1 et 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane

	PMO	blanc de fonctionnalisation	PMO-N-1	PMO-N-3
Quantité d'APTES de départ (mmol/g)	0	0	4,29	12,88
Perte de masse (mg/g)	147,2	147,6	159,9	171,7
Taux de greffage* (mg/g)			12,3	24,1
Taux de greffage (mmol/g)			0,2	0,4

* Le taux de greffage est calculé en retranchant de la perte de masse du matériau fonctionnalisé la perte de masse du blanc de fonctionnalisation

La présence de la chaîne organique a bien été confirmée. La thermogravimétrie a permis de connaître le taux de fonctionnalisation de ces matériaux qui est relativement proche des valeurs obtenues pour les matériaux mésoporeux de type CMI-1, ce qui est logique compte tenu de leurs propriétés texturales semblables.

VI.1.c Conclusion

La première partie de ce chapitre a permis l'élaboration de différents nanovecteurs. L'emploi d'une source de silicium possédant une chaîne éthane au sein de la charpente a donné lieu à la conception des matériaux PMO conventionnels. Ces matériaux possédant des chaînes éthane au sein de leur charpente silicique ont été synthétisés avec succès afin de déterminer si ce caractère particulier pouvait avoir une influence sur les interactions entre la matrice et l'Ibuprofen. En effet, la présence de ce lien hydrophobe permettra de renforcer les interactions du nanovecteur avec le principe actif. Les silanols de surface peuvent interagir avec l'acide carboxylique et la chaîne éthane avec les fonctions hydrophobes de l'Ibuprofen.

Enfin, tout comme pour les matrices de type CMI-1et SBA-15, ces matériaux ont été fonctionnalisés par le procédé post-synthèse. La présence de la chaîne aminopropyle au sein des matériaux a été prouvée par différentes techniques de caractérisation, de même que sa liaison avec le réseau silicaté.

Les étapes suivantes permettront d'étudier l'influence de ces différentes fonctions sur l'immobilisation et le profil pharmacocinétique de l'Ibuprofen.

VI.2 Immobilisation de l'Ibuprofen dans les matériaux PMO et PMO organomodifiés

Les matériaux PMO vont permettre d'étudier plus en détail l'influence du caractère chimique de la surface du support. La présence d'une chaîne éthane au sein de la charpente silicique permettra la création d'interactions supplémentaires entre le nanovecteur et l'Ibuprofen. En effet, cette molécule active, en plus de posséder une partie hydrophile, possède une partie hydrophobe qui pourra interagir avec la fonction éthylène du PMO et augmentera ainsi la quantité d'Ibuprofen immobilisée.

VI.2.a Immobilisation de l'Ibuprofen dans les matériaux PMO éthane pontés conventionnels

Adsorption - désorption d'azote

La technique d'adsorption - désoprtion d'azote va permettre d'estimer la quantité d'Ibuprofen immobilisée à l'intérieur des canaux de la matrice. En effet, plus le matériau PMO contient de molécules médicamenteuses, plus les valeurs de ses propriétés texturales (surface spécifique, volume et diamètre poreux) seront modifiées. Ceci étant dû au fait que l'Ibuprofen occupe une certaine surface et un certain volume qui n'est plus accessible. La figure suivante (Figure 6.13) représente les isothermes BET de la matrice imprégnée d'Ibuprofen dans l'hexane ainsi que les valeurs de leurs propriétés texturales (surface spécifique, volume et diamètre poreux).

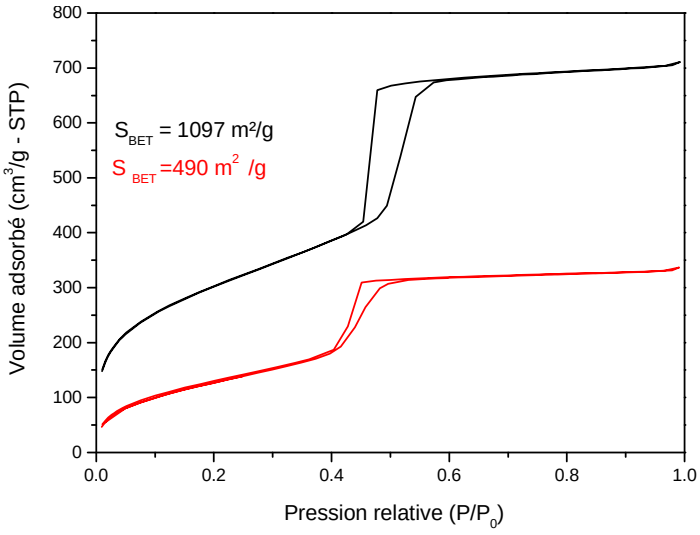


Figure 6.13 : Isothermes d'adsorption - désorption d'azote des matériaux PMO éthane pontés (—— : matériau d'origine, —— : matériau imprégné)

La surface spécifique et le volume poreux ont significativement diminué, il en va de même pour le diamètre de pores. La décroissance de ces grandeurs atteste bien la présence de l'Ibuprofen au sein de la matrice. En effet, la surface spécifique passe de 1097 m²/g à 490 m²/g soit une diminution de plus de la moitié de la surface accessible.

Spectroscopie IR

La figure 6.14 représente le spectre infrarouge d'un matériau PMO imprégné d'Ibuprofen et le spectre du matériau non imprégné.

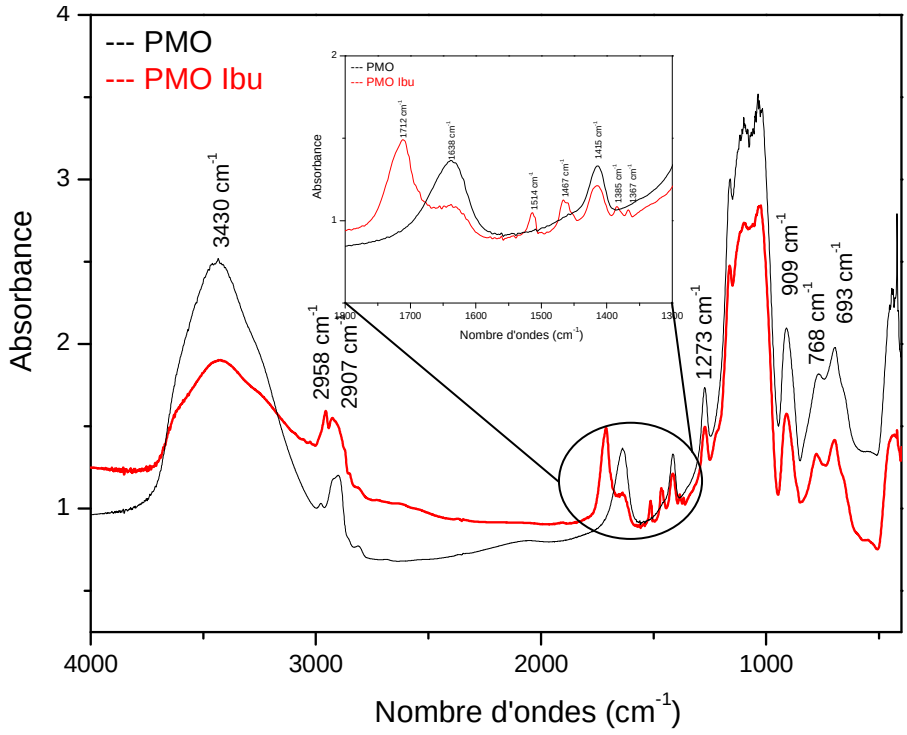


Figure 6.14 : Spectres IR d'un matériau PMO éthylène ponté non imprégné d'Ibuprofen (—) et imprégné d'Ibuprofen (—)

Pour rappel, la formule de structure la molécule d'Ibuprofen se trouve à la figure 6.15. Il faut savoir que les analyses de spectroscopie IR ne permettent pas de distinguer clairement les liaisons C (sp^3)-H de l'Ibuprofen et celles des groupements éthylènes du matériau PMO.

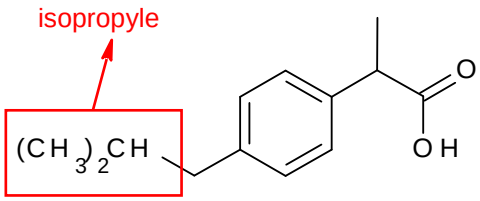


Figure 6.15 : Structure d'une molécule d'Ibuprofen

Tout comme pour la matrice CMI-1, la présence d'une bande d'absorption située à 1712 cm^{-1} (Tableau 6.6) confirme la présence d'Ibuprofen au sein des canaux des matériaux PMO éthylène pontés.

Tableau 6.6 : Attribution des pics d'absorption des spectres IR d'un matériau PMO non imprégné (•) et imprégné d'Ibuprofen (•)

Fréquence de vibrations (cm^{-1})	Vibrations ou déformations correspondantes
700	Elongations symétriques Si-C
762	Elongations asymétriques Si-C
906	Elongations symétriques Si-OH
1031-1174	Elongations asymétriques Si-O-Si et déformations angulaires Si-O-Si
1255-1411	Déformations angulaires H-C-H hors du plan (hochement et torsion)
1367	Déformations C-H d'un groupement isopropyle
1423	Déformations angulaires H-C-H dans le plan (cisaillement)
1467 et 1514	Elongations C-C du cycle aromatique
1635 et 1641	Déformation angulaire H-O-H
1716	Elongations C=O des acides carboxyliques
2907	Elongations asymétriques C-H
2958	Elongations asymétriques C-H des méthyles
la large bande centré sur 3450 cm^{-1}	Elongations symétriques SiO-H (libres), élongations symétriques et asymétriques des SiO-H impliqués dans des ponts H avec H_2O et vibration d'élongation de H_2O physisorbée

Entre 1250 et 1600 cm^{-1} apparaît un grand nombre de nouvelles bandes d'absorption par rapport au spectre du matériau non imprégné montrant que la matrice imprégnée possède beaucoup plus de liaisons C-H diverses que les seuls groupements CH_2CH_2 du matériau PMO d'origine. Vers 1467 et 1514 cm^{-1} se trouvent les élongations C-C du cycle aromatique et vers 1367 cm^{-1}, les déformations des liaisons C-H du groupement isopropyle (Figure 6.15) témoignent de la présence de l'Ibuprofen au sein des canaux.

A 2958 cm^{-1}, apparaît un pic caractéristique des élongations asymétriques des groupes CH_3 confirmant la présence de l'Ibuprofen.

Enfin, pour le spectre du matériau PMO non imprégné, les vibrations des liaisons impliquant le silicium sont toujours bien identifiables sur le spectre IR, comme en témoigne la série de pics apparaissant entre 700 et 1300 cm^{-1}. Les liens Si-C sont donc parfaitement résistants à une mise en suspension durant plusieurs heures.

Spectroscopie RMN ^{13}C

Le spectre RMN ^{13}C du matériau PMO éthane ponté imprégné d'Ibuprofen est présenté à la figure 6.16. Ce spectre est à comparer avec le spectre de ce même matériau, mais sans Ibuprofen, analysé dans la section IV.8.d et avec les déplacements chimiques observés dans le cas de la matrice CMI-1. Sur ce spectre, apparaissent des signaux relatifs au matériau (4,5 ppm), déjà présents sur le spectre du matériau sans Ibuprofen. Les autres signaux sont attribués à l'Ibuprofen immobilisé au sein du matériau.

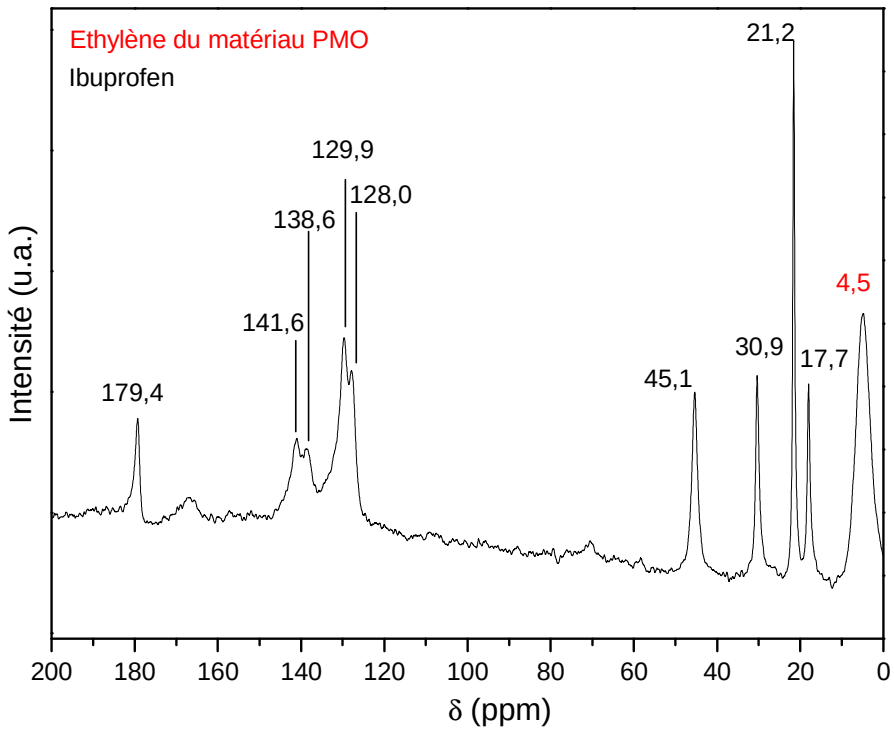
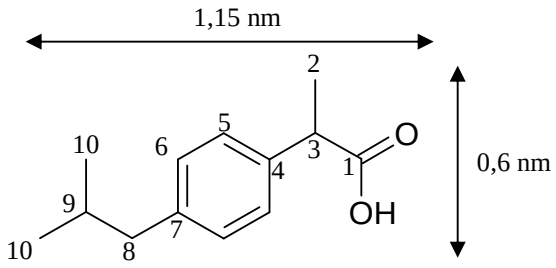


Figure 6.16 : Spectre RMN ^{13}C d'un matériau PMO imprégné d'Ibuprofen

Les signaux situés à haut champ (17,7 ; 21,2 ; 30,9 et 45,1 ppm) proviennent des différents C (sp^3) que contient l'Ibuprofen. Le signal à 45,1 ppm est attribué au C (sp^3) adjacent au groupement acide carboxylique (COOH), tandis que les pics à 129,9 ; 138,6 et 141,6 ppm sont attribués aux différents C (sp^2) du cycle benzénique. Enfin, le signal à plus bas champ (179,4 ppm) provient de la résonance du carbone de la fonction acide carboxylique (Tableau 6.7).

Tableau 6.7 : Déplacement chimique de l'Ibuprofen isolé et au sein de la matrice CMI-1 et PMO en RMN ^{13}C



	Carbones	1	2	3	4-7	5-6	8	9	10
δ (ppm)	Ibuprofen	182,6	14,9	43,6	136,8/141,6	129,8	45,4	31,9	21,5/24,5
	CMI-Ibu	176,2	13,9	41,7	134,5/137,6	126,4/124,1	41,7	26,4	18,2
	PMO-Ibu	179,4	17,7	45,7	138,6/141,6	129,9/128,0	45,1	30,9	21,2

Ces spectres IR et RMN ^{13}C présentés prouvent la présence des molécules d'Ibuprofen au sein de la structure poreuse du nanovecteur. Cependant, ils restent qualitatifs, car la quantité d'Ibuprofen incorporée n'est pas encore connue. C'est pourquoi il est nécessaire de passer par l'analyse thermogravimétrique afin de déterminer la quantité précise immobilisée au sein de la structure des PMO.

Analyse thermogravimétrique

Le tableau 6.8 présente les résultats obtenus pour les matrices PMO ainsi que pour comparaison les résultats obtenus pour les matrices CMI-1 et SBA-15.

Tableau 6.8 : Influence des propriétés chimiques de la surface sur le taux d'imprégnation pour les matériaux SBA-15, CMI-1 et PMO

	Surface spécifique (m^2/g)	Vol. poreux (cm^3/g)	Taille de pores (nm)	Quantité d'Ibuprofen immobilisée (mg/g) –(mmol/g)
SBA-15	1007	1,1	6,9	164,2 – 0,8
CMI-1	1102	0,9	3,0	289,3 – 1,4
PMO	1097	1,0	3,7	230,5 – 1,1

Comme le montrent les résultats obtenus, le groupe fonctionnel organique présent au sein de la charpente silicique des matériaux n'a que très peu d'influence sur la quantité d'Ibuprofen immobilisée au sein de ces matériaux. Ceci peut être expliqué par le fait que, étant donné la présence de silanols en quantité importante à la surface de la matrice de type PMO, ceux-ci masquent le caractère hydrophobe de la chaîne carbonée et empêchent l'Ibuprofen d'interagir avec celle-ci. On se retrouve donc avec un matériau possédant les mêmes propriétés que la matrice CMI-1.

L'influence de ce groupe fonctionnel organique supplémentaire pourrait être mise en avant grâce à la fonctionnalisation que permettrait de créer une cavité hydrophobe et obtenir ainsi un site dans lequel l'Ibuprofen pourrait venir se fixer (Figure 6.17).

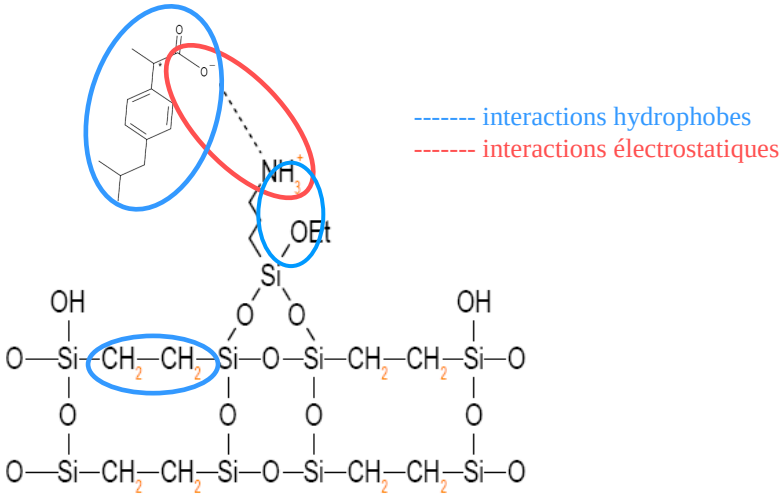


Figure 6.17 : Interactions entre l'Ibuprofen et le matériau PMO fonctionnalisé

L'utilisation des matériaux PMO n'a pour l'instant pas encore répondu aux attentes de créer des interactions supplémentaires permettant un taux d'immobilisation plus important. Cette similarité entre la matrice CMI-1 et PMO tend à démontrer que l'effet des chaînes organiques, présentes au sein du réseau du matériau PMO, est quasi inexistant.
Il semblerait que ces ponts éthyléniques ne soient pas suffisamment proches de la surface de la matrice pour pouvoir interagir de manière significative avec l'Ibuprofen. En effet, la portée des forces de Van der Wals est faible ($1/d^6$), correspondant à une distance d'équilibre d'environ 0,3 à 0,5 nm. Visiblement, l'Ibuprofen est incapable d'approcher à cette distance, sans doute à cause des groupements silanols qui constitueraient une barrière qui repousserait la partie hydrophobe de la molécule.

VI.2.b Influence de la fonctionnalisation des matrices de type PMO sur l'immobilisation

La conception d'un médicament à partir de matrice PMO-N est décrite dans les points suivant. Les interactions entre l'Ibuprofen et les deux fonctionnalités que possède ce support vont être analysées attentivement.

Analyse par adsorption – désorption d'azote

Les matériaux fonctionnalisés contenant l'Ibuprofen ont été analysés par adsorption – désorption d'azote afin d'observer si ces matrices se comportent de la même manière que les matrices classiques. Le tableau 6.9 reprendra les différentes valeurs de propriétés texturales pour les matrices PMO fonctionnalisées avant et après l'étape d'immobilisation du principe actif.

Tableau 6.9 : Propriétés texturales des matériaux PMO-N avant et après l'immobilisation de l'Ibuprofen

	Matrices de départ		**Matrices imprégnées**	
	Surface spécifique (m^2/g)	Taille de pores (nm)	Surface spécifique (m^2/g)	Taille de pores (nm)
PMO-N1	705	3,1	311	2,0 nm
PMO-N3	660	3,0	208	1,8 nm

Tout comme pour les matrices CMI-1, SBA-15 et PMO, l'imprégnation des matrices PMO fonctionnalisées entraîne une diminution de la surface spécifique et de la taille de pores. Cependant, ces variations sont plus importantes dans le cas de la matrice PMO-N que dans le cas des matrices CMI-1 et SBA-15 laissant supposer un taux d'imprégnation plus important pour ces matrices.

Spectroscopie infrarouge

L'analyse par spectroscopie infrarouge (Figure 6.18) met en évidence la présence des différentes bandes d'absorption caractéristiques de l'Ibuprofen et de la chaîne aminopropyle greffée à la surface de la matrice.

De plus, la présence des interactions entre l'acide carboxylique de l'Ibuprofen et l'amine de la chaîne fonctionnelle peut être mise en évidence par le spectre infrarouge pour les matrices silicatées de type PMO-N.

En effet, le matériau fonctionnalisé imprégné d'Ibuprofen présente une bande d'absorption à 1553 cm^{-1}, caractéristique d'une fonction carboxylate. La bande de l'acide carboxylique à 1711 cm^{-1} absorbe quant à elle de façon moins importante, montrant que la plupart des molécules sont en interaction avec l'amine.

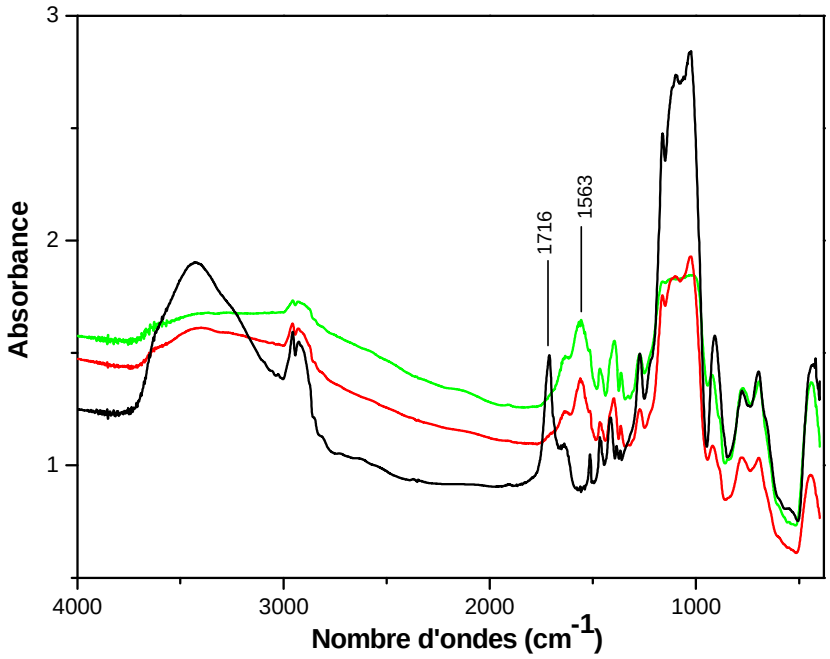


Figure 6.18 : Superpositions des spectres IR des matériaux PMO non fonctionnalisés imprégnés d'Ibuprofen (—) et fonctionnalisés par le procédé post-synthèse avec 1 et 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane imprégnés d'Ibuprofen respectivement (—,—)

Analyse thermogravimétrique

Les quantités d'Ibuprofen immobilisées au sein des matrices PMO-N sont reprises dans le tableau 6.10. Ce tableau reprend également les taux d'immobilisation des matrices CMI-N et SBA-N.

Le calcul de ce taux de chargement est identique à celui des matériaux CMI-1 et SBA-15 fonctionnalisés si ce n'est qu'il faut soustraire la perte de masse due aux chaînes éthanes présente dans le résau silicé des matériaux PMO.

Tableau 6.10 : Résultats de l'immobilisation d'Ibuprofen au sein des différents nanovecteurs synthétisés et rappel de leurs propriétés texturales

Type de matrice	Surface spécifique (m^2/g)	Taux de greffage (mmol/g)	Quantité d'Ibuprofen immobilisée (mg/g) - (mmol/g)
CMI-N1 pH=2	580	0,2	354,5 – 1,7
CMI-N3 pH=2	488	0,4	368,2 – 1,8
SBA-N3	397	0,5	235,2 – 1,1
PMO	1096	0	230,5 – 1,1
PMO-N1	705	0,2	302,6 – 1,5
PMO-N3	660	0,4	375,9 – 1,8

Tout comme pour les matrices purement silicatées, la présence de la fonction aminopropyle permet une immobilisation plus importante d'Ibuprofen dans la matrice par rapport à un matériau non fonctionnalisé.

Cependant, comme nous l'avions observé pour les matrices PMO non fonctionnalisées, aucune différence majeure dans le taux d'immobilisation n'est observée entre les nanovecteurs PMO-N et CMI-N. Lors de l'immobilisation, l'influence de ce lien éthane ponté n'est pas renforcée par la fonctionnalisation. L'interaction hydrophobe du réseau organosilicé ne semble pas avoir d'influence dans le phénomène d'immobilisation de l'Ibuprofen. L'établissement de ces cavités aux propriétés basiques et hydrophobes n'a pas permis d'augmenter les quantités d'Ibuprofen immobilisées.

Tout comme pour les précédents médicaments conçus, l'étape suivante est l'une des plus importantes. Si, lors de l'immobilisation du principe actif, aucune influence des matrices éthane pontées ne semble avoir été mise en évidence, il est toutefois primordial de voir si cette fonction organique aura une influence lors de la libération de la molécule hors du nanovecteur.

VI.3 Profils de libération des matériaux PMO-Ibu et PMO-N-x-Ibu

Lors de cette étude, les profils de libération de l'Ibuprofen immobilisé au sein des matériaux PMO éthane pontés fonctionnalisés seront présentés. La comparaison de leurs profils de relargage aux matériaux non fonctionnalisés permettra de discuter de leur capacité à délivrer les molécules médicamenteuses de façon contrôlée.

Les propriétés texturales ainsi que les taux d'immobilisation d'Ibuprofen des différentes matrices PMO éthane pontées utilisées pour cette étude sont repris dans le tableau 6.11.

Tableau 6.11 : Résultat de l'immobilisation d'Ibuprofen au sein des nanovecteurs de type PMO éthane ponté (conventionnels et fonctionnalisés) synthétisés et rappel de leurs propriétés texturales

	Surface spécifique (m^2/g)	Taille de pores (nm)	Quantité d'Ibuprofen immobilisée (mg/g)	Quantité d'Ibuprofen immobilisée (mmol/g)
PMO	1096	3,7	289,3	1,4
PMO-N-1	705	3,1	354,5	1,7
PMO-N-3	660	2,9	368,2	1,8

Spectroscopie infrarouge

Comme pour les matrices de type CMI-1 et SBA-15, la spectroscopie infrarouge nous permettra de déterminer sous quelle forme se trouve l'Ibuprofen au fur et à mesure des passages en milieu acide et neutre. Ceci permettra d'observer les influences des liens fonctionnels présents sur le support. Le spectre infrarouge des matrices PMO est repris sur la figure 6.19.

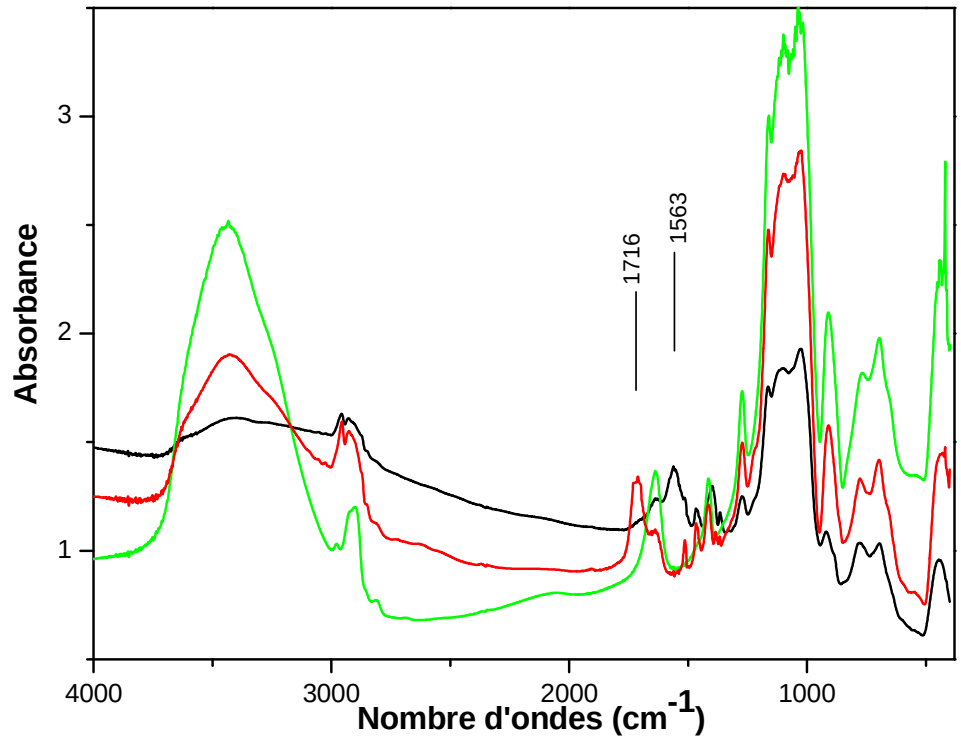


Figure 6.19 : Comparaison de spectres IR (— matériau fonct. imprégné, — après relargage de 30' en milieu acide, — après relargage de 1h en milieu neutre)

Le comportement des matrices PMO est identique à celui rencontré pour les matrices CMI-1 et SBA-15. En effet, lors du passage en milieu acide, la matrice présente toujours de l'Ibuprofen à sa surface mais n'est plus en interaction avec l'amine. De plus, lors du passage en milieu neutre, l'Ibuprofen n'est plus présent au sein de la charpente organosilicée.

Afin de confirmer les constatations effectuées par spectroscopie infrarouges et de déterminer les quantités restantes dans les nanovecteurs après leur passage en milieu gastrique, il est nécessaire d'étudier les différentes étapes de relargage par thermogravimétrie.

Analyse thermogravimétrique

La figure 6.20 représente les profils de libération d'Ibuprofen obtenus pour les matériaux PMO éthane pontés fonctionnalisés et non fonctionnalisés.

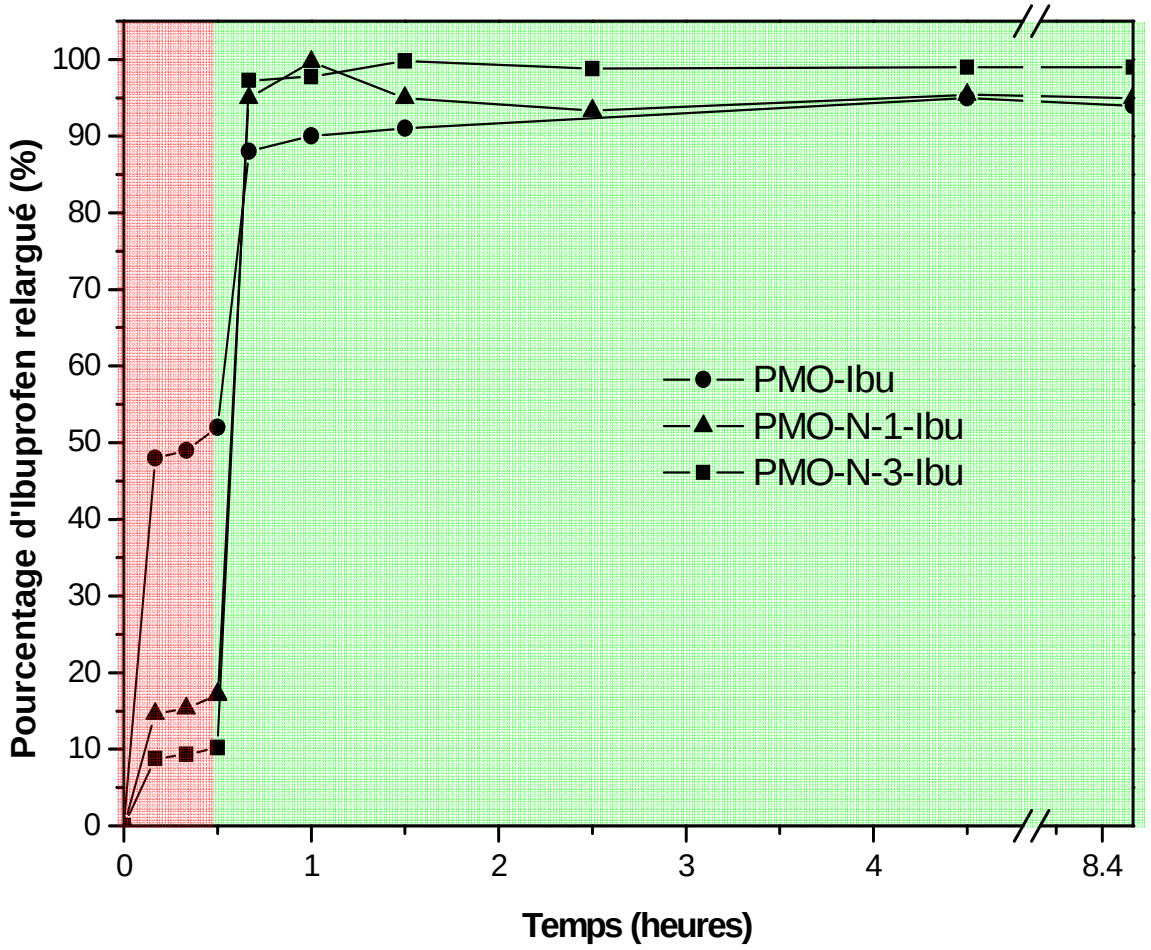


Figure 6.20 : Superposition des profils de libération de l'Ibuprofen en milieu acide (-----) et en milieu physiologique (-----) d'un matériau PMO éthane ponté non fonctionnalisé (□), des matériaux PMO éthane pontés fonctionnalisés

Le profil de libération du matériau PMO éthane ponté non fonctionnalisé (□) présente une libération d'Ibuprofen très importante en milieu acide. En effet, il ne reste que 50% de molécules actives incorporées dans la matrice avant le passage en milieu physiologique. La quantité d'Ibuprofen libérée en milieu acide est donc trop conséquente pour obtenir un ciblage spatial complet. De même que pour les matrices purement silicées de type CMI-1 et SBA-15, un relargage immédiat est observé en milieu neutre.

En ce qui concerne les profils de libération des matériaux PMO éthane pontés fonctionnalisés, il y a une nette différence au niveau du relargage en milieu acide. En effet, pour les matériaux PMO-N-1 (▲) et PMO-N-3 (■), il reste respectivement près de 80 et 90% d'Ibuprofen avant le passage en milieu physiologique. La comparaison des profils de relargage des matériaux non fonctionnalisés et fonctionnalisés montre qu'un ciblage a bien eu lieu en milieu acide.

De plus, nous constatons que la quantité utilisée de liens fonctionnels au sein de la matrice a, comme pour les matrices de type CMI-N, une influence sur la quantité de relargage d'Ibuprofen. En comparant les courbes des matériaux fonctionnalisés, la courbe représentant le relargage du matériau PMO se situe bien au-dessus des courbes des matériaux PMO-N-1 et PMO-N-3, qui présentaient pourtant une quantité d'Ibuprofen immobilisée plus importante.

L'avantage de ces matériaux fonctionnalisés se situe dans la présence de chaînes fonctionnelles aminopropyles à la surface des pores permettant des interactions supplémentaires de type électrostatique avec l'Ibuprofen. Le nombre de silanols en est donc réduit et il apparaît que l'eau présenterait moins d'affinité vis-à-vis de la surface du matériau fonctionnalisé (recouvert de groupements aminopropyles) que l'Ibuprofen. Nous pouvions donc espérer que la fonctionnalisation permette à l'Ibuprofen d'interagir avec les chaînes éthanes à la surface de la matrice et permette ainsi de retenir l'Ibuprofen au sein des canaux lors du passage en solution physiologique.

En milieu neutre, la fonctionnalisation ne joue aucun rôle. La libération est aussi rapide à partir des matériaux fonctionnalisés que pour celle des matrices conventionnelles. L'interaction entre l'acide carboxylique de l'Ibuprofen et l'amine de la chaîne fonctionnelle n'est pas suffisante pour ralentir la libération de la molécule médicamenteuse en milieu physiologique.

L'une des raisons pour laquelle nous voulions utiliser les matériaux éthane pontés était la modification du profil lors du passage en milieu neutre. Cependant, nous avions déjà mis en évidence l'indépendance de cette fonction lors l'immobilisation et nous constatons que la fonction hydrophobe présente dans les matériaux PMO n'a aucune influence sur la libération du principe actif que ce soit en milieu acide ou en milieu neutre.

L'explication concernant ces profils de délivrance est due au fait que la présence de chaînes organiques au sein du réseau du matériau PMO n'est pas suffisante pour interagir avec l'Ibuprofen. De fait, la portée des forces de Van der Waals est faible (proportionnelle à $1/d^6$), correspondant à une distance d'équilibre d'environ 0,3 à 0,5 nm. Visiblement, il n'est pas possible à l'Ibuprofen de s'approcher à moins de 0,5 nm des groupements éthanes.

Ceci s'explique par le fait que les groupements silanols présents à la surface formeraient une « barrière » entre l'Ibuprofen et la matrice, ce qui empêche les ponts éthane de « percer » à la surface des canaux et l'Ibuprofen de s'approcher davantage suite aux répulsions pouvant exister entre les silanols hydrophiles et la partie hydrophobe de l'Ibuprofen.

Chapitre 7 : Comparaison des profils de libération des médicaments conçus

Ce chapitre va permettre de comparer, de façon succincte, les différents médicaments conçus tout au long de cette thèse. L'une des étapes les plus importantes dans la conception de ces médicaments est l'analyse du comportement de ceux-ci lors du passage en milieux gastrique et intestinal. Afin de comparer le comportement des principaux hybrides matrice-Ibuprofen en tant que vecteurs de molécules médicamenteuses, les différents profils de libération seront comparés.

VII.1 Profils de libération des matériaux CMI-1-Ibu, SBA-15-Ibu et PMO-Ibu

Le tableau 7.1 ci-dessous reprend les différentes valeurs des propriétés texturales des matrices pour lesquelles les profils de libération de l'Ibuprofen vont être comparés.

Tableau 7.1 : Propriétés texturales des matériaux CMI-1, SBA-15 et PMO avant la simulation de la libération de molécules médicamenteuses pendant 30 minutes dans un milieu HCl de pH 1,2 à 37°C et 9 heures dans un milieu physiologique de pH 7,4 à 37°C

	Surface spécifique (m^2/g)	Volume poreux (cm^3/g)	Taille de pores (nm)
SBA-15	911	1,1	6,5
CMI-1	942	1,0	3,4
PMO	1097	1,1	3,8

Jusqu'ici, nous avons pu montrer que l'utilisation de matériaux mésoporeux de type CMI-1, SBA-15 et PMO éthane ponté en tant que nanovecteur ne permet pas d'améliorer significativement les ciblages temporel et spatial. En effet, un contrôle dans l'espace n'a pu être atteint que pour un maximum de 60 % de l'Ibuprofen. Le principe actif restant a été diffusé hors des canaux après un passage de 30 minutes en milieu acide. Les différences entre ces trois matrices sont faibles. Néanmoins, le résultat le plus intéressant a été obtenu pour la matrice CMI-1. La taille de pores et les propriétés texturales des matériaux CMI-1 permettent une libération moins importante en milieu acide que les matrices SBA-15 et PMO (Figure 7.1).

Il est évident que les propriétés texturales différentes jouent un rôle important dans ce léger avantage. Nous pouvons cependant observer que l'ajout d'une fonction éthane au sein du réseau ne confère aucune autre propriété au médicament.

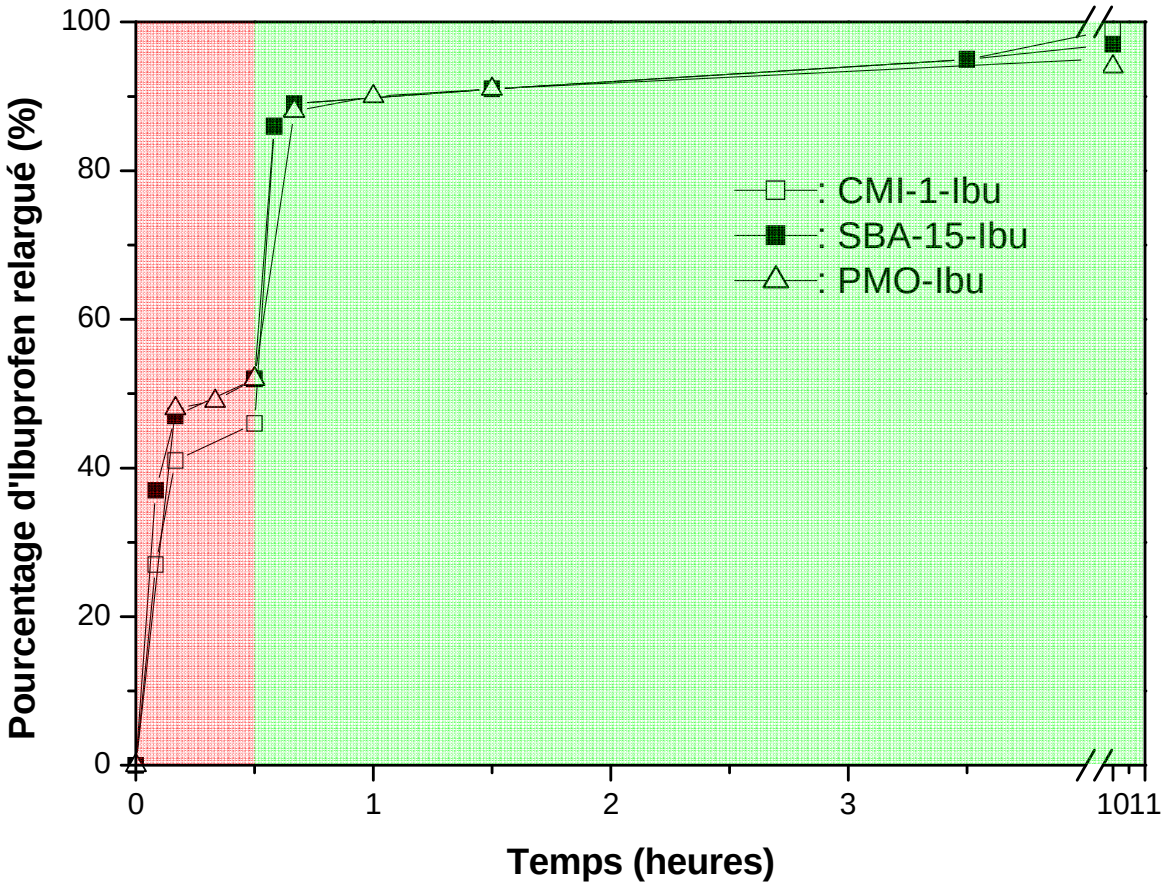


Figure 7.1 : Profils de libération de l'Ibuprofen dans le milieu acide (—) et dans la solution physiologique (—) à partir de matériaux CMI-1, SBA-15 et PMO

Afin de renforcer les interactions entre la matrice et l'Ibuprofen, les différents types de matrices ont été fonctionnalisés. L'ajout de ce lien fonctionnel a permis de contrôler la libération des molécules médicamenteuses lors du passage en milieu gastrique. Le point suivant résumera les différents profils les plus intéressants obtenus pour ces médicaments.

VII.2 Profils de libération des matériaux CMI-N-Ibu, SBA-N-Ibu et PMO-N-Ibu

Le tableau 7.2 reprend le taux de greffage et les propriétés texturales des matrices fonctionnalisées pour lesquelles les profils de libération sont comparés (Figure 7.2).

Tableau 7.2 : Quantités de chaînes fonctionnelles greffées à la surface des matériaux pour 3 ml d'aminopropyltriéthoxysilane

	CMI-N-3	SBA-N-3	PMO-N-3
Taux de greffage (mmol/g)	0,4	0,5	0,4
Taille de pores (nm)	2,4	5,7	2,9
Surface spécifique (m^2/g)	488	397	660

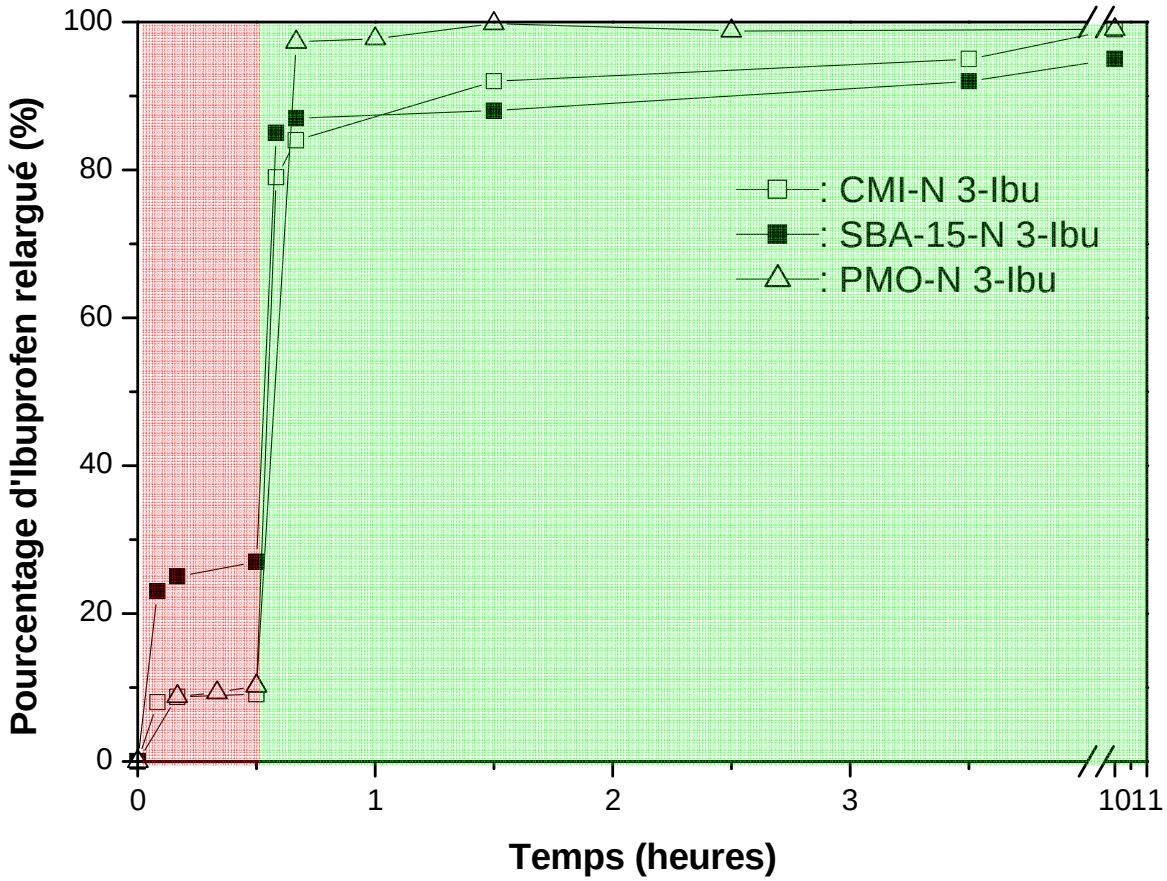


Figure 7.2 : Profils de libération de l'Ibuprofen dans le milieu acide (—) et dans la solution physiologique (—) à partir de matériaux CMI-1, SBA-15 et PMO fonctionnalisés par le procédé post-synthèse avec 3 ml d'aminopropyletriethoxysilane

Contrairement aux matrices conventionnelles, les matériaux CMI-N, SBA-N et PMO-N retiennent les molécules d'Ibuprofen au sein de leur structure poreuse lors du passage en solution acide. En effet, 90 % du principe actif a résisté au passage gastrique pour la matrice CMI-1 et PMO fonctionnalisée. La taille de pores plus importante des matériaux SBA-15, même si elle permet un taux de greffage plus important, induit une libération plus importante de l'Ibuprofen hors des canaux.

La modification du profil de libération met en évidence l'importance des interactions du support avec le principe actif. Nous pouvons également observer que les fonctions éthane ne semblent pas avoir d'impact rendant inutile l'utilisation de PMO éthane pontés.

L'obtention d'un médicament permettant de limiter les effets secondaires lors du passage du principe actif en milieu gastrique est déjà une étape importante dans la conception de celui-ci. Nous avons pu obtenir un ciblage spatial qui réduira considérablement l'action du principe actif sur des récepteurs non ciblés.

Chapitre 8:
Conclusions et perspectives

VIII.1 Conclusions générales

L'objectif principal de cette thèse de doctorat était d'étudier la potentialité des matériaux mésoporeux hautement structurés à remplir le rôle de nanovecteur pour la délivrance contrôlée de molécules médicamenteuses afin de pouvoir réduire les effets secondaires liés à l'utilisation de ce médicament. Pour atteindre cet objectif, nous avons élaboré une stratégie de conception d'un nouveau médicament mettant en jeu plusieurs étapes cruciales :

- la synthèse de matrices mésoporeuses hautement structurées en tant que nanovecteurs ;
- l'immobilisation de l'Ibuprofen dans les nanovecteurs conçus ;
- l'étude des profils de libération.

Dans un premier temps, nous nous sommes concentrés sur la synthèse de matrices silicées dites conventionnelles de type CMI-1 et SBA-15. Ces matrices sont synthétisées à l'aide de tensioactif neutre palliant certains désavantages des surfactants cationiques tels que leur prix, leur toxicité et leur difficulté à se biodégrader. Des matériaux de type CMI-1 caractérisés par des tailles de pores différentes ont été obtenus par la variation du rapport Surfactant/Source de silice ainsi que celle des valeurs de pH. Ces supports nous ont permis d'étudier les paramètres optimaux d'immobilisation de l'Ibuprofen mais également l'influence des propriétés texturales du matériau sur le taux d'immobilisation. L'importance de celle-ci dans la libération de l'Ibuprofen lors du passage des médicaments dans une solution HCl pH 1,2 et une solution physiologique de pH 7,25 a été mise en évidence. Le profil pharmacocinétique de ces matrices est étudié dans ces conditions afin de simuler le passage du médicament dans le corps humain.

Les résultats obtenus en tant qu'hôtes pour molécules actives furent très encourageants. L'étude des paramètres optimaux d'imprégnation dans le matériau CMI-1, par l'analyse d'adsorption – désorption et par thermogravimétrie, a révélé que l'hexane était le meilleur solvant d'imprégnation et ce quelque soit la méthode d'imprégnation.

Nous avons également montré que le procédé dit d'imprégnation directe était le meilleur procédé. La rapidité de l'imprégnation et son taux relativement constant constituent des atouts intéressants pour l'application de cette matrice comme système de délivrance contrôlée.

En effet, l'évolution cinétique du chargement au cours du temps a montré qu'un temps de 3 heures était suffisant pour charger les nanovecteurs au maximum de leur capacité. L'influence de la taille de pores des supports mésoporeux sur le taux de chargement a révélé que plus la taille de pores était faible, plus les quantités en molécules actives étaient importantes.

De plus, les matrices CMI-1 et SBA-15 présentaient toutes deux un taux d'immobilisation en Ibuprofen dépassant les 200 mg/g. Lors de l'étude de libération de la molécule active dans les milieux simulant le passage par l'estomac et l'intestin, nous avons pu mettre en évidence l'influence de la taille de pores sur la libération de l'Ibuprofen en milieu acide. En effet, plus la taille de pores était faible, plus la rétention à pH = 1,2 était importante. Cependant, lors de l'étude des profils de libération en milieux pH 1,2 et pH 7,25, ces matériaux se sont révélés très prometteurs car ils ont permis d'obtenir un contrôle spatial pour 50 % du principe actif. De plus, lors du passage en milieu neutre, la libération de l'Ibuprofen n'est pas entravée par ces nanovecteurs. Malgré ces atouts intéressants, plus de la moitié du principe actif est toujours non contrôlée.

Dans ce but, un autre type de support mésoporeux hautement structuré et synthétisé à partir de surfactant neutre fut synthétisé. Ainsi, nous avons synthétisé une matrice de type PMO éthane ponté. Ce matériau possède un lien fonctionnel intra réseau pouvant amener des interactions supplémentaires avec l'Ibuprofen. Mais là aussi, malgré la présence de cette chaîne éthane et un taux de chargement dépassant les 200 mg/g, le médicament conçu n'a pas permis de contrôle plus important lors de l'étude des profils de libération.

L'étude plus en détails des interactions entre l'Ibuprofen et la matrice silicatée a mis en évidence la création de ponts hydrogènes entre les matrices conventionnelles et l'acide carboxylique de l'Ibuprofen. Nous avons montré lors de l'étape de libération en milieu acide que ces interactions sont trop faibles et qu'elles ne permettent pas une libération contrôlée de l'Ibuprofen. Il était donc important pour nous de renforcer les interactions matrices-Ibuprofen. Celles-ci pourraient être renforcées en donnant aux matrices un caractère supplémentaire avec un lien aminopropyle. Ainsi, l'imprégnation sera réalisée dans des matrices porteuses de cette chaîne organique donnant lieu à des interactions acide-base entre l'amine primaire de la chaîne de pKa 10,2 et l'acide carboxylique de l'Ibuprofen de pKa 4,9.

Les matrices CMI-1, SBA-15 et PMO ont donc été fonctionnalisées par un lien aminopropyle selon le procédé dit de post-synthèse et le succès de la fonctionnalisation a été observé par la spectroscopie infrarouge, la RMN du ^{29}Si et du ^{13}C et la thermogravimétrie.

L'imprégnation a enfin été réalisée dans les matrices fonctionnalisées. Cette étude a montré que le renforcement de l'interaction entre la molécule active et la matrice hôte permet d'augmenter le taux d'imprégnation, celui-ci passant de 289,3 mg/g pour le matériau CMI-1 conventionnel à 368,2 mg/g pour la matrice CMI-1 fonctionnalisée à l'aide de 3 ml (12,88 mmol) d'aminopropyltriéthoxysilane. Cette augmentation est également visible pour la matrice PMO éthylène ponté passant de 230,5 mg/g à 375,9 mg/g. Nous avons donc montré que cette fonctionnalité joue un rôle important pour l'immobilisation en molécules actives au sein des matériaux mésoporeux.

Nous sommes donc passés, tout comme pour les matrices conventionnelles, à l'étude du profil de libération de la molécule active permettant de tester la capacité de nos matrices à délivrer l'Ibuprofen de manière contrôlée dans le temps et dans l'espace. Cette étude a été réalisée dans deux milieux : l'un de pH égal à 1,2 simulant le passage dans l'estomac, l'autre de pH d'une valeur de 7,24 simulant le milieu intestinal.

Nous avons, grâce à cette étude, montré que la fonctionnalisation permettait à l'Ibuprofen de se trouver localisé au sein de la matrice et d'empêcher ainsi sa fuite lors du passage en milieu acide. Nous avons également pu constater que plus la quantité en groupe fonctionnel organique au sein de la matrice était importante plus les interactions entre l'Ibuprofen et le nanovecteur étaient renforcées et moins le relargage en milieu acide était important.

L'établissement de ces interactions nous a permis de cibler la délivrance dans l'espace et ces nanovecteurs permettent actuellement d'éviter la déperdition d'Ibuprofen dans l'estomac. Ceci constitue un avantage indiscutable lorsque l'on connaît les effets secondaires importants que ce principe actif provoque lors de son passage dans l'estomac. Beaucoup de choses peuvent encore être faites et c'est ce sur quoi porte le point suivant.

Lors du passage en milieu neutre, les interactions entre l'Ibuprofen et le lien aminopropyle ayant cessé d'exister et la solubilité de l'Ibuprofen étant plus importante, la molécule active quitte les canaux de façon rapide lui permettant d'agir le plus rapidement possible sur le site de l'inflammation. Il aurait été cependant intéressant d'obtenir un contrôle sur cette délivrance en milieu neutre mais de nombreuses solutions pourraient être élaborées afin de contrôler cette libération.

VIII.2 Perspectives

Les matériaux mésoporeux permettant une grande flexibilité d'utilisation, de nombreuses pistes peuvent encore être explorées afin d'obtenir un nanovecteur susceptible de remplacer les méthodes d'administration traditionnelles.

A court terme, d'autres sources fonctionnalisantes pourraient être étudiées en vue de contrôler le taux de fuite de la molécule médicamenteuse dans le milieu neutre étant donné le succès en milieu acide. Nous pourrions également obtenir des cinétiques de relargages variées.

Nous envisageons par exemple la fonctionnalisation du matériau mésoporeux CMI-1 avec un groupement fonctionnel acide folique sur la surface extérieure et le greffage de cyclodextrine au sein des canaux. Par ailleurs, l'étude de la méthode de fonctionnalisation devrait être approfondie.

De nouvelles techniques de co-condensation de deux sources fonctionnelles permettraient en effet d'augmenter le taux de fonctionnalisation tout en maintenant la structure ordonnée du matériau. Une augmentation du nombre de fonctions organiques à la surface du matériau renforcerait l'interaction entre la molécule médicamenteuse et la matrice. L'élaboration de film mésoporeux contenant un principe actif pourrait être utilisée dans l'optique de patch curatif.

Le couplage des propriétés des matériaux CMI-1 avec ceux des polymères serait un paramètre très intéressant à étudier car il permettrait de lier le très bon comportement des polymères et la distribution homogène du médicament au sein de la matrice CMI-1.

L'une des autres voies qui pourrait être utilisée est la polymérisation d'aminopropyltriéthoxysilane (APTES) ou bien encore de Bis [(3-triméthoxysilyl)propyl]amine (BTMPA) dans une solution EtOH/Eau contenant une quantité d'Ibuprofen qui jouerait le rôle de « surfactant ». La figure 8.1 reprend le principe de cette synthèse.

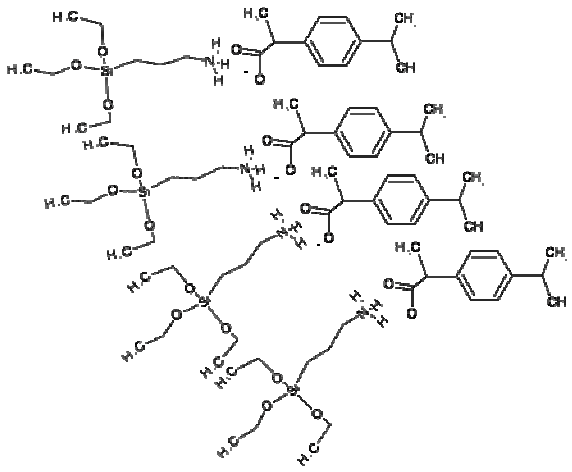


Figure 8.1 : Schéma de synthèse potentielle de nanovecteurs à base d'aminopropyltriéthoxysilane

Afin de vérifier la faisabilité de cette perspective, nous nous sommes livrés à une tentative de synthèse de ces nanovecteurs. La solution préparée contient 500 mg d'Ibuprofen dans 20 ml d'un mélange éthanol/H_2O dans un rapport 3/1. Nous avons laissé réagir pendant 12h à 40°C. Ensuite une étape de traitement sous autoclave a été réalisée à 40°C pendant 24h. Après filtration et rinçage, nous avons obtenu une poudre que nous avons analysée en microscopie électronique. La figure 8.2 reprend les micrographies en MEB et MET.

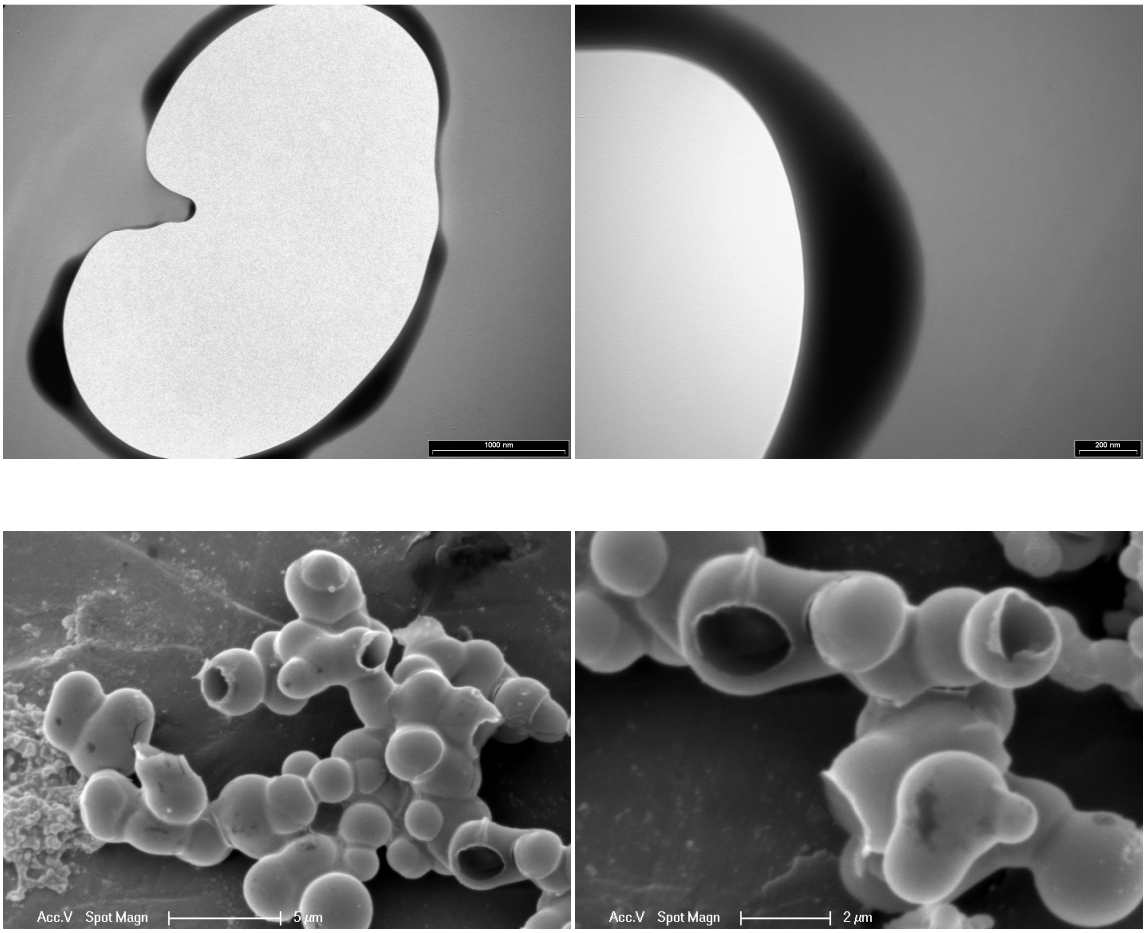


Figure 8.2 : Micrographies MET et MEB de nanovecteurs potentiels à base d'aminopropyltriéthoxysilane

La synthèse réalisée a fournis des capsules de taille micrométrique qui contiennent probablement l'Ibuprofen immobilisé. Afin de confirmer la présence d'Ibuprofen au sein de cette structure, une spectroscopie infrarouge de cette matrice à été réalisée et révèle la présence de la fonction carboxylate de l'Ibuprofen en interaction avec l'amine (Figure 8.3).

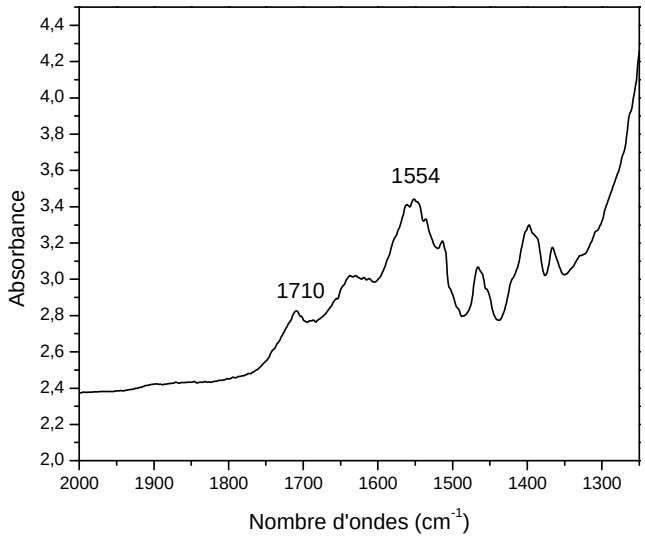


Figure 8.3 : Spectres IR de nanovecteurs potentiels à base d'aminopropyltriéthoxysilane

La présence de la bande d'absorption à 1554 cm^{-1} confirme bien la présence de l'Ibuprofen en interaction avec l'amine. La présence d'une bande d'absorption à 1710 cm^{-1} signifie qu'il y a certainement une partie de l'Ibuprofen à l'extérieur des capsules et donc sous forme neutre.

Cependant, nous n'avons pas pu déterminer les quantités d'Ibuprofen immobilisées et établir le profil de libération pour ce médicament car les quantités synthétisées actuellement sont trop faibles que pour pouvoir effectuer ces études.

Les possibilités concernant les matrices inorganiques ou hybrides organiques-inorganiques sont inépuisables. Nous avons pu établir que les matrices de ce type peuvent remplir le rôle de système de délivrance contrôlée de molécules médicamenteuses. De plus, les sources réactionnelles disponibles ou synthétisables sont nombreuses et représentent toutes un intérêt pour les différents challenges qui sont proposés. Les seules limites qui peuvent exister dans de tels développements sont les limites de l'esprit et du temps.