



HAL
open science

Microparticules composites lipide-silice pour la libération prolongée d'un principe actif dans l'estomac.

Laurent Perge, Mike Robitzer, Françoise Quignard, Jean-Marie Devoisselle,
Philippe Legrand

► **To cite this version:**

Laurent Perge, Mike Robitzer, Françoise Quignard, Jean-Marie Devoisselle, Philippe Legrand. Microparticules composites lipide-silice pour la libération prolongée d'un principe actif dans l'estomac.. Matériaux Nantes 2010, Oct 2010, Nantes, France. pp.1335. hal-00912318

HAL Id: hal-00912318

<https://hal.science/hal-00912318>

Submitted on 7 Jan 2014

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

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

Microparticules composites lipide-silice pour la libération prolongée d'un principe actif dans l'estomac.

Laurent Perge^a, Mike Robitzer^a, Françoise Quignard^a, Jean-Marie Devoisselle^a, Philippe Legrand^a

^a Equipe "Matériaux Avancés pour la Catalyse et la Santé, MACS", Institut Charles Gerhardt, UMR 5253 Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier, 8, rue de l'Ecole Normale, 34296 Montpellier cedex 5
philippe.legrand@enscm.fr

RESUME:

Ces dernières années, les avancés scientifiques et technologiques ont été menées dans le développement de systèmes par voie orale à libération contrôlée de principe actif indépendants du temps de transit dans le tractus digestif et capables de résider plus longtemps dans l'estomac évitant une vidange gastrique prématurée. Différentes approches ont été développées pour permettre de surpasser ces problèmes, comme des systèmes flottants, des systèmes polymères bioadhésifs, des systèmes hautes densités,... Nous avons décidé de développer des microparticules lipidiques solides composites (~ 550µm de diamètre) à base d'excipients déjà acceptés dans l'industrie pharmaceutique en tant que systèmes à libération prolongée sur plusieurs jours pour un principe actif modèle (l'ibuprofène). L'organisation interne de la microparticule présente une structure matricielle au sein de laquelle la silice colloïdale hydrophobe (Aérosil® R974) est dispersée. Cette organisation permet une libération sur plusieurs jours de l'ibuprofène est un élément clé du contrôle de la libération de l'ibuprofène et de la flottaison des microparticules composites dans un milieu gastrique simulé contenant de la pepsine..

MOTS-CLES : *Merci d'identifier 1 à 5 mots-clés (police Arial, taille 10).*
Microparticules lipidiques solides, rétention gastrique libération prolongée

Introduction

Les microparticules lipidiques solides (MLS) présentent de nombreux avantages comme systèmes de libération de principes actifs, tels que la biocompatibilité,[1] la biodégradabilité,[2] la stabilité physicochimique, le faible coût de fabrication, une capacité de charge importante de principes actifs (PA) aussi bien lipophiles,[3] qu'hydrophiles,[4] que macromoléculaires comme l'insuline,[5] et un contrôle précis de la libération des PA incorporés. L'utilisation des MLS est aussi très diversifiée, telle qu'une utilisation par voie sous-cutanée, topique, orale, intramusculaire ou pulmonaire.[6], [7]

Les MLS sont préparées avec ou sans solvant organique, à chaud ou à basse température, cependant, leur développement peut être limité par l'instabilité physique de certains lipides et par le manque de contrôle de libération du PA encapsulé. En fait, le tensio-actif adsorbé en surface des MLS dans le but de les stabiliser est le plus souvent responsable d'une libération prématurée d'une partie du PA encapsulé. Ainsi, pour éviter l'utilisation de tensio-actifs organiques, plusieurs groupes de recherche ont travaillé sur l'association d'émulsions organiques avec des particules organiques de polymère ou inorganiques siliciques ou argileuses. On appelle ces associations des émulsions de Pickering. Récemment, deux groupes ont montré l'intérêt de la silice colloïdale commercialement disponible, l'Aérosil, pour sa capacité à non seulement stabiliser l'interface d'un système émulsionné, mais aussi pour le contrôle et le prolongement de la libération de PA. Prestidge et coll. (2006) ont préparé des émulsions microniques de PDMS recouverts de différentes silices colloïdales Aérosil.[8] Cependant, uniquement l'Aérosil R974, hydrophobe, a été capable de contrôler la libération de la molécule lipophile encapsulé par la formation d'une coque rigide en surface de l'émulsion due à l'agglomération intense de nanoparticules de silice à l'interface huile-eau à pH basique et une force ionique importante. Albertini et coll. (2006) ont proposé des MLS composites originaux préparées par spray-congealing ultrasonique et basées sur un cœur contenant du PRECIROL ATO 5 associé à des nanoparticules de silice Aérosil hydrophiles.[9] Les caractéristiques physicochimiques des nanoparticules de silices, en particulier leurs propriétés de gélifications en relation directe avec leur surface spécifique peuvent contrôler les cinétiques de libération d'un principe actif encapsulé.

Dans le but de proposer des microparticules alternatives capable d'améliorer les caractéristiques des MLS conventionnelles, nous nous sommes focalisés sur les microparticules lipidiques composites organiques-inorganiques. De plus, l'utilisation de matériaux dont la densité est inférieure à celle de l'eau (alcool gras et

silice colloïdale) nous permet d'envisager ces microparticules comme des systèmes multiparticulaires flottants à visée gastrorétentive en réduisant potentiellement la vitesse de libération des actifs encapsulés. La nature de la silice colloïdale utilisée, sa concentration, son mode d'incorporation au sein des particules sont des paramètres clés qui influencent la structuration des particules. Ces particules sont caractérisées par des analyses thermogravimétriques (ATG) et microscopiques (MEB associée à unecartographie microscopique). Il s'avère que la localisation des constituants influence la vitesse de libération de l'ibuprofène encapsulé en tampon PBS à pH 7,4 ainsi qu'en milieu acide gastrique simulé à pH 1,2. Ces cinétiques de libération dans différents milieux de dissolution permettent de mieux définir les mécanismes de libération du PA mis en jeu. Ce travail sur un principe actif modèle est essentiel avant d'envisager d'incorporer des actifs dont les cibles sont intragastriques (exemple Helicobacter Pylori.)

Section expérimentale

Pour produire les microparticules lipidiques solides composites, nous avons utilisé sans purification de l'alcool cétylique, Sipol C16 (Henkel, Düsseldorf, Allemagne), de la silice colloïdale hydrophobe, Aérosil® R974 (Evonik, Francfort, Allemagne), de l'ibuprofène (Global bulk drugs and fine chemicals limited, Hyderabad, Inde).

Pour préparer les milieux de dissolutions, nous avons utilisé : le chlorure de sodium, le chlorure de potassium, le phosphate hydrogéné disodique, le phosphate dihydrogéné potassique, l'hydroxyde de sodium, l'acide chlorhydrique, fournis par Prolabo Normapur (Darmstadt, Allemagne), ainsi que la pepsine Sigma-Aldrich.

Préparations des microparticules lipidiques solides composites (MLSC)

L'alcool cétylique a été chauffé à 65°C, au dessus de son point de fusion, avec de l'ibuprofène (5 à 30 % en poids de l'alcool cétylique). Une suspension de 0,1 à 0,5% en poids de silice Aérosil® R974 est dispersée dans l'eau à pH initial de 9 et une force ionique importante (NaCl 0,1M) à 65°C. L'émulsion est obtenue en agitant vigoureusement à 750 tours/minute la phase aqueuse avec la phase organique dans un rapport 1:30, en utilisant une turbine Ika Eurostar (IKA® Werke GmbH & Co, KG, Allemagne) avec une pâle en téflon. L'émulsion est refroidie jusqu'à 20°C après 1h d'agitation. Les microparticules sont séparées par filtration, lavées avec de l'eau distillée avant d'être lyophilisées. Dans le tableau 1, nous avons reporté les labels et les compositions des différents échantillons utilisés dans ce travail.

Caractérisation des MLSC.

Analyse de la taille et de la morphologie des microparticules

Les tailles des microparticules ont été mesurées en utilisant le Mastersizer 2000 (Malvern instruments Ltd, GB) équipé avec un banc optique et deux lasers (laser Hélium-Néon, $\lambda = 543$ nm, et laser à diode, $\lambda = 405$ nm). Les mesures ont été obtenues après dispersions aqueuses des microparticules à 3500 tours/minute.

Pour comparer les distributions de tailles, les termes $d(10)$, $d(50)$ et $d(90)$ représentent respectivement le diamètre où 10%, 50% et 90% des particules volume sont plus petites que cette taille. L'indice de polydispersité (S) est défini comme le rapport $[d(90) - d(10)]/d(50)$.

Les micrographies des particules sont obtenues sur un microscope électronique à balayage (MEB) S-4500 I (Hitachi, Japon) (voltage utilisé = 10kV) après métallisation au platine. La cartographie élémentaire au silicium a été enregistrée sur une coupe des microparticules.

Détermination de la charge en silice

Les analyses thermogravimétriques ont été obtenues avec un appareil STA 6000 (Perkin-Elmer, USA) en utilisant des échantillons de 10 mg, un flux d'air de 40 mL/min, de 25 à 550°C avec une rampe de 5°/minute. Le pourcentage de silice dans la composition des microparticules a été déterminé par la masse résiduelle à 500°C.

Détermination de la charge en ibuprofène

Pour mesurer la charge réelle en ibuprofène contenue dans les microparticules, des échantillons de 20 mg de microparticules ont été complètement dissous et déstructurés dans 20 mL d'éthanol. La solution a été diluée au 1/10° avant d'être analysé par spectroscopie UV (Spectrometer UV/Visible Lambda 35, Perkin-Elmer, USA) à $\lambda = 222$ nm. Le coefficient d'extinction molaire de l'ibuprofène dans l'éthanol a été déterminé à partir d'une gamme étalon et est égal à : $\epsilon_{222nm} = 8,3 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$. La charge en ibuprofène a été déterminée à partir du coefficient d'extinction molaire et de l'absorbance des échantillons.

Charge en PA (%) = (quantité de PA dans les MLSC/quantité de MLSC) x 100

Efficacité d'encapsulation = (% réelle de charge en PA/% théorique de charge en PA) x 100

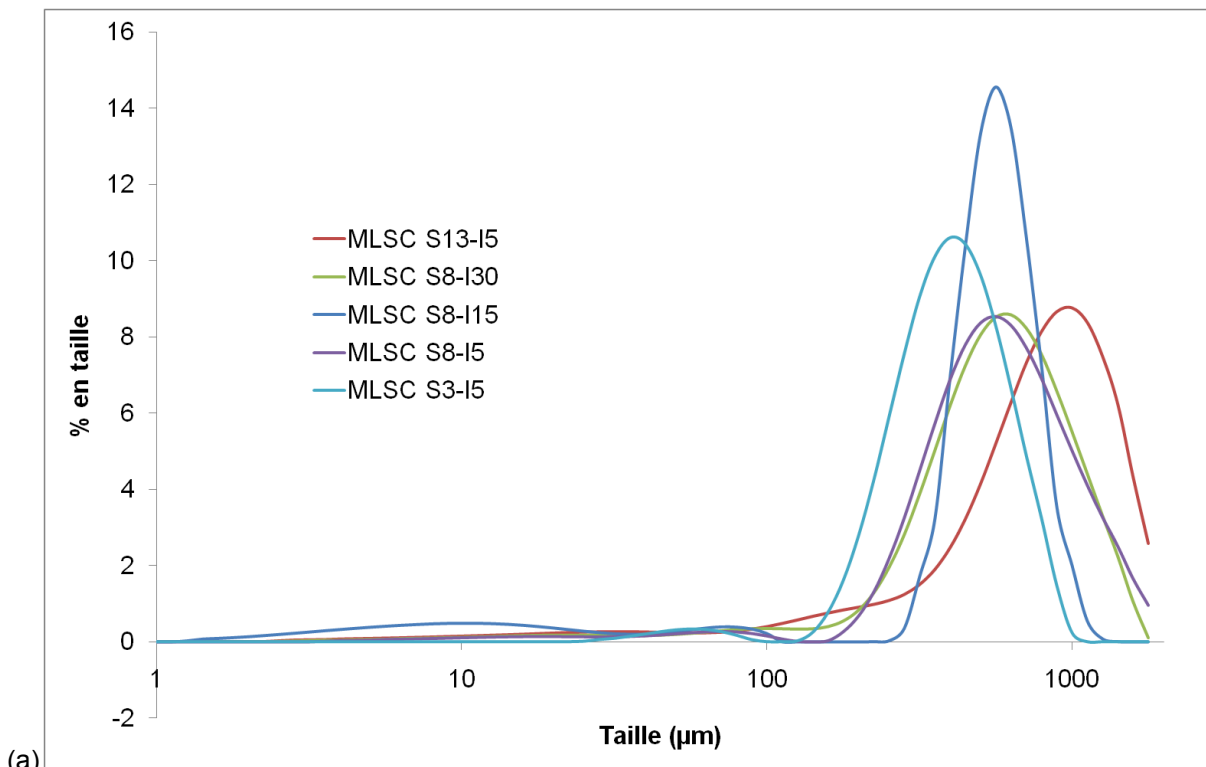
Etudes cinétiques in vitro

Un milieu gastrique simulé (SGF, pH 1,2) préparé selon la pharmacopée Européenne, 6° édition (2 g de NaCl, 3,2 g de pepsine, 7 mL de HCl, qsp 1 L eau distillée) a été utilisé pour obtenir les cinétiques de dissolution du PA. Les cinétiques de libération sont effectuées à l'aide d'une cellule à flux continu (USP 4), avec un débit de 8 mL/min à travers la cellule et thermostatée à 37°C. La masse de microparticules utilisée par expériences contient 25 mg d'ibuprofène, calculée selon la charge réelle en ibuprofène contenue par les

microparticules. L'utilisation de la pepsine nous oblige à déterminer la concentration en ibuprofène dissous par HPLC. L'éluant utilisé est un mélange acétonitrile/eau (65/35) avec un ajout de 0,5% d'acide acétique. La colonne utilisée est une colonne C18 Kromasil, particules 5µm, 250×4,6mm, vitesse d'élution de 1,2 mL/min, détection UV à 222nm.

Résultats / Discussion

Après avoir préparé les microparticules lipidiques solides composites (MLSC), nous nous sommes intéressés en premier lieu à l'influence de la charge en silice sur leur taille. Par granulométrie laser, nous observons que les MLSC sont relativement monodisperses. Par ailleurs, nous observons que la taille des MLSC est influencée par la charge en silice. En effet, à charge en ibuprofène égale, l'augmentation de la charge en silice entraîne une augmentation de la taille des microparticules (Figure 1). Cependant, à charge en silice constante (MLSC S8), la charge d'ibuprofène n'entraîne pas de modification quand à la taille des microparticules. L'indice de polydispersité reste faible quelle que soit la formulation, ce qui implique que ni le processus de fabrication ni la charge en ibuprofène et en silice n'ont entraîné un effet de ségrégation dans une gamme spécifique de taille.



(b)

	MLSC S3-I5	MLSC S8-I5	MLSC S8-I15	MLSC S8-I30	MLSC S13-I5
d(10)	240	298	57	272	223
d(50)	423	602	573	612	851
d(90)	707	1202	835	1154	1495
Span	1,1	1,5	1,4	1,4	1,5

Figure 1 : Distribution granulométrique des microparticules en fonction de leur formulation (a) représentation graphique, (b) tableau regroupant les valeurs de d(10), d(50) et d(90) représentant respectivement le diamètre où 10, 50 et 90% de particules sont plus petites que la taille indiquée.

Déjà dit

La charge en silice et en ibuprofène ont été regroupées dans le tableau 1, déterminées respectivement par ATG et par spectroscopie UV-visible. Les échantillons MLSC S3-I5, MLSC S8-I5 et MLSC S8-I30 ont été tamisés en quatre gammes de taille (inférieur à 315 µm, de 315 à 500 µm, de 500 à 710 µm et supérieur à 710 µm), tandis que les échantillons MLSC S8-I15 et MLSC S13-I5 n'ont pas subi cette étape. Une investigation MEB a montré que les microparticules présentaient une surface relativement régulière tandis qu'une cartographie de la surface d'une coupe des microparticules a été effectuée pour chacune des formulations précédemment citée. Ainsi, la distribution de la silice à l'intérieur des MLSC a été étudiée par microsonde EDX. Les micrographies ont montré que l'élément Si est dispersé sur toute la surface d'une

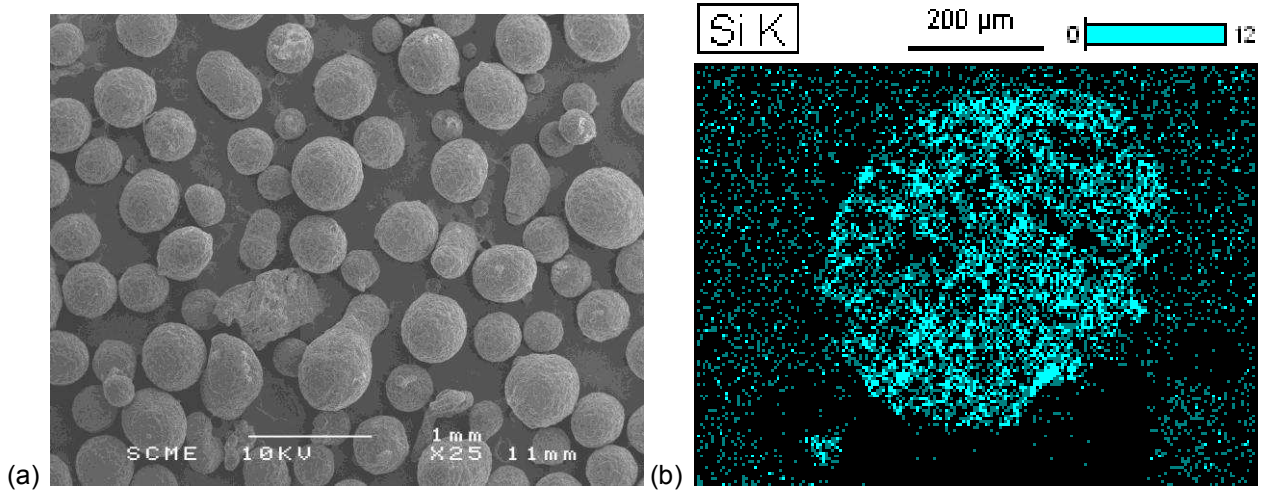
coupe des microparticules. Quand un zoom a été effectué sur des zones chargées en Si, il a été possible de distinguer des nanoparticules de silice agglomérées au sein de la matrice particulaire. La figure 2 présente l'investigation MEB ainsi que la cartographie de surface des MLSC S3-I5 d'un diamètre entre 315 et 500 μm .

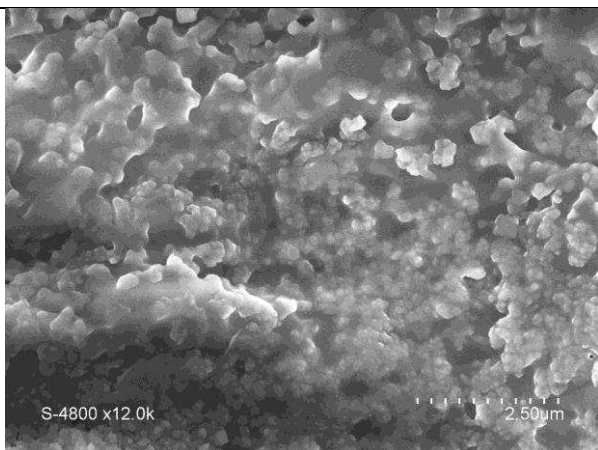
Nom de la formulation	Gamme de taille (μm)	% de silice (m/m)*	% d'ibuprofène encapsulé (%m/m)**
MLSC S3-I5	d<315	2,6	5,9
	315<d<500	1,7	5,8
	500<d<710	3,8	5,8
	d>710	1,9	5,5
MLSC S8-I5	d<315	9,5	6,2
	315<d<500	8,0	6,0
	500<d<710	8,0	5,2
	d>710	7,5	5,2
MLSC S8-I15		8,8	12,8
MLSC S8-I30	d<315	8,3	28,7
	315<d<500	7,7	32,8
	500<d<710	9,5	29,4
	d>710	9,7	29,5
MLSC S13-I5	???	???	???

Tableau 1 : Pourcentage d'encapsulation de l'ibuprofène et de silice dans les microparticules en fonction de leur formulation. Les formulations sont libellées en fonction de leur charge théorique en silice et ibuprofène. S3-I5 signifie en charge théorique 3% de silice et 5% d'ibuprofène par exemple

*Déterminé par analyse thermogravimétrique.

**Déterminé par spectroscopie UV-vis à 222nm.





(c)

Figure 2 : Micrographie MEB de microparticules lipidiques solides composites MLSC S3-I5, diamètre entre 315 et 550 µm : (a) technique MEB ; (b) cartographie de l'élément Si avec analyse par microsonde EDX couplé à une technique MEB de la surface d'une coupe d'une microparticule, et (c) focus sur la section de coupe de la microparticule par MEB.

Par ces trois techniques (ATG, MEB, MEB-EDX), nous avons pu démontrer que pour chaque lot, les microparticules présentaient une charge en silice constante quelle que soit la gamme de taille observée, qui plus est, correspondant à la charge en silice théorique. De plus, la silice engagée dans la production des microparticules est dispersée de manière homogène à l'intérieur des microparticules pour former une matrice lipide-silice, et ce quelle que soit la taille des microparticules, la charge en silice et la charge en ibuprofène. La charge en ibuprofène est quand à elle aussi répartie de façon homogène dans les différentes fractions de taille de microparticules sachant que l'efficacité d'encapsulation de la matrice lipide-silice est totale quelle que soit la charge en ibuprofène étudiée.

Les cinétiques de libération en milieu gastrique simulé complexe (utilisation de pepsine) ont donné en résultat préliminaire une libération de l'ibuprofène sur un temps prolongé (Figure 3). On remarque que la libération de l'ibuprofène n'est pas contrôlée par la charge en silice (MLSC S3-I5 et MLSC S8-I5), par contre, elle est ralentie lorsque la charge en ibuprofène augmente pour la même charge en silice (MLSC S8-I5 et MLSC S8-I30). De plus, il est aussi intéressant de noter que les microparticules sont restées intactes, sans agrégations, même après 100h dans un milieu de dissolution à pH acide en présence d'enzyme. Enfin, pour toute charge en silice et en ibuprofène variant dans les microparticules, elles ont été capables de flotter pendant plus de 40h dans le milieu gastrique simulé.

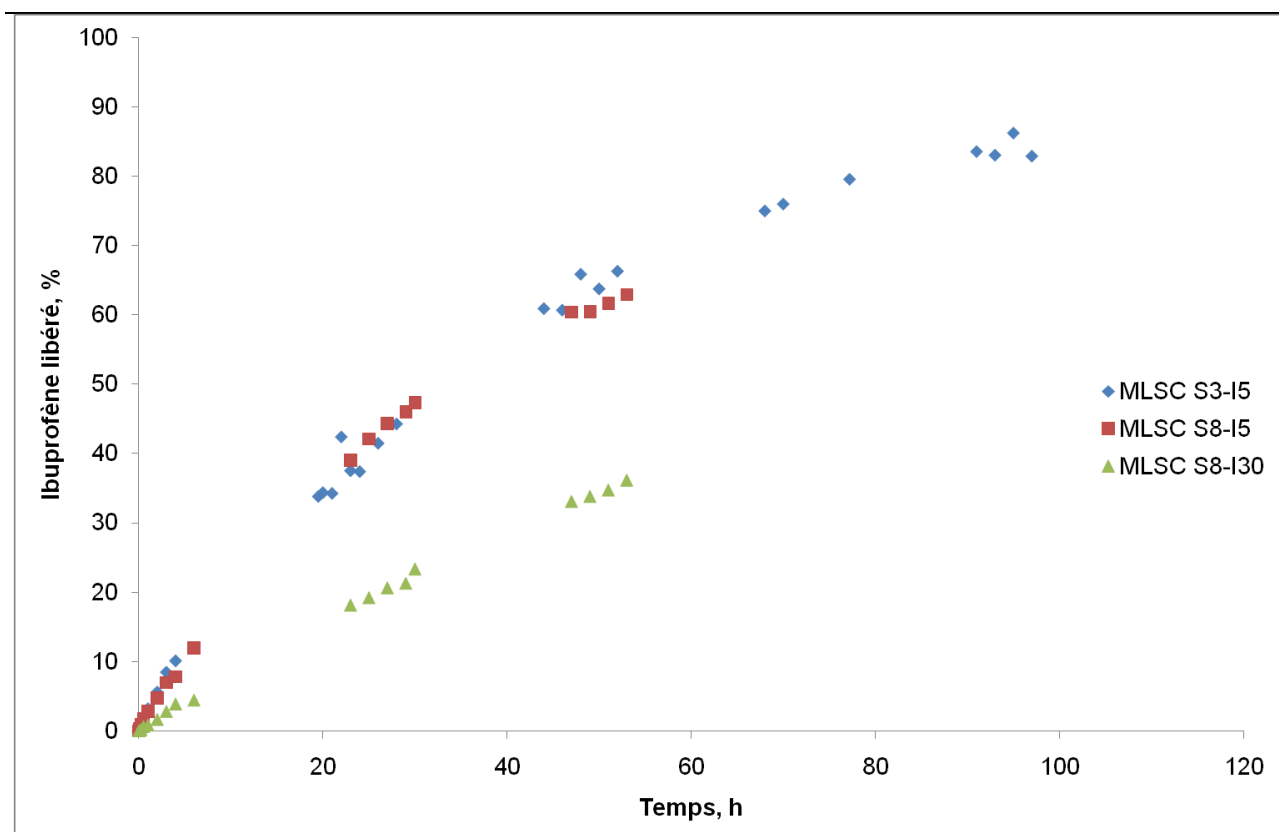


Figure 3 : Cinétiques de libération de l'ibuprofène en milieu gastrique simulé pour des particules de diamètre compris entre 315 et 500 µm.

Conclusion

En stabilisant l'alcool cétylique par une silice Aérosil® hydrophobe ajoutée dans la phase dispersante, nous avons pu démontrer par microscopie électronique à balayage que pour la première fois un système matriciel composite avait pu être obtenu par diffusion des nanoparticules agrégées jusqu'au cœur des particules. De plus, la taille des microparticules est sensiblement monodisperse et elle est contrôlée par la charge en silice et non par la charge en ibuprofène à vitesse d'agitation égale. La charge en silice et en ibuprofène ne sont pas dépendantes de la taille de la microparticule pour un lot de même que l'organisation de la silice dans la matrice des microparticules. Les études préliminaires sur la libération de l'ibuprofène en milieu gastrique simulé ont montré qu'elle avait pu être obtenue sur un temps relativement long (plusieurs jours), mais qu'elle n'était pas influencée par la charge en silice à charge en ibuprofène constante, par contre elle était ralentie lorsque la charge en ibuprofène augmentait à charge en silice constante. Enfin, ces microparticules, lorsqu'elles étaient placées dans un milieu gastrique simulé pendant 40h, conservaient leurs propriétés de flottaison, quelle que soit la charge en silice et en ibuprofène.

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier le Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche pour les fonds alloués (thèse LP).

References:

- [1] X Dong et R J Mumper, "The metabolism of fatty alcohols in lipid nanoparticles by alcohol dehydrogenase," *Drug Development and Industrial Pharmacy* 32, no. 8, 973-980, 2006
- [2] Andrew J. Humberstone et William N. Charman, "Lipid-based vehicles for the oral delivery of poorly water soluble drugs," *Advanced Drug Delivery Reviews* 25, no. 1, 103-128, 1997
- [3] Rita Cortesi et al., "Production of lipospheres as carriers for bioactive compounds," *Biomaterials* 23, no. 11, 2283-2294, 2002
- [4] Robert O. Cook, Rupi K. Pannu, et Ian W. Kellaway, "Novel sustained release microspheres for pulmonary drug delivery," *Journal of Controlled Release* 104, no. 1, 79-90, 2005
- [5] M. Trotta et al., "Solid lipid micro-particles carrying insulin formed by solvent-in-water emulsion-diffusion technique," *International Journal of Pharmaceutics* 288, no. 2, 281-288, 2005
- [6] R. H. Müller, M. Radtke, et S. A. Wissing, "Nanostructured lipid matrices for improved microencapsulation of drugs," *International Journal of Pharmaceutics* 242, no. 1-2, 121-128, 2002

- [7] J R Villalobos-Hernández et C C Müller-Goymann, "Novel nanoparticulate carrier system based on carnauba wax and decyl oleate for the dispersion of inorganic sunscreens in aqueous media," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics: Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V* 60, no. 1, 113-122, 2005
- [8] Spomenka Simovic et Clive A. Prestidge, "Nanoparticle layers controlling drug release from emulsions," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 67, n°. 1, 39-47, 2007
- [9] Beatrice Albertini et al., "Effect of Aerosil® on the properties of lipid controlled release microparticles," *Journal of Controlled Release* 100, n°. 2, 233-246, 2004