

COMPLEXES POLYIONIQUES À BASE D'ALGINATE ET DE CHITOSAN POUR LA LIBÉRATION CONTROLÉE DE LA CIPROFLOXACINE

POLYIONIC COMPLEXES BASED ON ALGINATE AND CHITOSAN FOR THE CONTROLLED RELEASE OF CIPROFLOXACIN

Ovidiu NOVAC,^a Marcel Ionel POPA,^a Nicolae AELENEI^a et Viorel MELNIG^b

^aDépartement de Chimie Physique, Faculté de Ingénierie Chimique et de Protection de l'Environnement, Université Technique Gh. Asachi, Bd. D. Mangeron 71A, Iasi 700050, Roumanie

^bDépartement de Biophysique, Faculté de Physique, Université Al. I. Cuza Iasi, Bd. Carol I, 11, Iasi 700506, Roumanie

Reçu le 25 mars, 2009

On a préparé directement par échange ionique deux types de microparticules avec la ciprofloxacine (CF) englobé dans alginate et dans le chitosan. Les particules ont été caractérisées par spectroscopie FTIR et analyse thermogravimétrique. Les spectres FTIR confirment que la formation des complexes polymère-médicament a lieu par interactions électrostatiques entre les groupements ionisés du polymère et la CF. L'analyse thermogravimétrique montre la modification de la stabilité des complexes par comparaison avec des polymères et des médicaments libres. On a étudié la cinétique de la libération de la CF dans les complexes à des pH différents, compris entre 2,13 et 10,80. Les courbes cinétiques révèlent un comportement complexe. Les deux échantillons (chitosan/CF et alginat/CF) libèrent totalement le médicament dans une solution de pH 9,18 après 72 heures d'élution.

Two types of microparticles based on alginate and chitosan with encapsulated ciprofloxacin (CF) were prepared directly, by ionic exchange. The particles were characterized by FTIR spectroscopy and analyzed by thermogravimetric techniques. The FTIR specters indicated the presence of the polymer-drug complex obtained via electrostatic interactions between polymer and ciprofloxacin ionized groups. Moreover, thermogravimetric analysis showed a modified stability of the obtained complexes in comparison with the free drug and polymers. The release studies of ciprofloxacin from the two types of microparticles were carried out at different pH values between 2.13 and 10.80. The kinetic curves showed a complex behavior. The results of the release test for the two types of microparticles (chitosan/CF and alginate/CF) revealed that CF was totally released at pH=9.18 after 72 hours of elution.

INTRODUCTION

L'alginate de sodium (Al) est un polysaccharide qui se trouvant dans toutes les algues brunes, est soluble dans l'eau, biodégradable et biocompatible.¹ On a utilisé l'alginate comme additif dans l'alimentation et dans les produits pharmaceutiques pour la préparation de tablettes ou comme agent de gélification.² L'alginate de sodium a la propriété unique de réticuler en présence des cations bivalents tels que les ions de calcium. Ainsi, par précipitation d'une solution contenant l'alginate et le médicament on peut obtenir des systèmes à libération contrôlée.³

Le chitosan (Ch), (1,4)-[2amino-2-deoxy-β-D-glucan], est un dérivé naturel de la chitine, obtenu par sa deacétylation partielle. Le chitosan a un groupe aminé qui lui confère un caractère de polycation et la possibilité de former des complexes avec les acides ou les polyanions. C'est un polymère biocompatible et biodégradable, il présente une activité antimicrobienne, permet de propriété de guérir les blessures et il est utilisé dans de nombreuses applications biomédicales, notamment dans la préparation de microparticules et de microsphères renfermant des médicaments.⁴⁻¹¹

La ciprofloxacine (CF), acide 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-piperazin-1-ilquinolina-3-carboxylique,

* Correspondant: mipopa@ch.tuiasi.ro

est une fluorochinolone avec un large spectre d'activité antibactérienne, elle est efficace dans le traitement de nombreuses infections bactériennes, notamment pour traiter les infections pulmonaires.^{12,13}

RÉSULTATS ET DISCUSSION

CF présente dans sa structure un groupe basique et un autre acide, son point isoélectrique est situé au pH = 7,4. C'est grâce à cette structure qu'elle est capable de former des complexes stables, autant avec les composés macromoléculaires polycationiques

qu'avec les composés polyanioniques. Le caractère ionique de la CF lui permet de se lier par échange ionique à l'alginate et au chitosan (fig. 1).

L'analyse FTIR (fig. 2) met en évidence pour alginate deux bandes d'absorption à 1624 cm^{-1} et 1420 cm^{-1} , dues à la vibration dissymétrique et respectivement symétrique du groupe $-\text{COO}^-$. Les pics d'absorption caractéristiques du chitosan apparaissent pour le groupe $\text{C}=\text{O}$ (1655 cm^{-1}), NH_2 (1599 cm^{-1}) et CH_2 (1381 cm^{-1}). Les bandes d'absorption pour la structure saccharidique apparaissent pour les liaisons $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ (1155 cm^{-1}), $\text{C}-\text{O}$ (1078 cm^{-1}) et $\text{C}-\text{O}$ (1032 cm^{-1}).

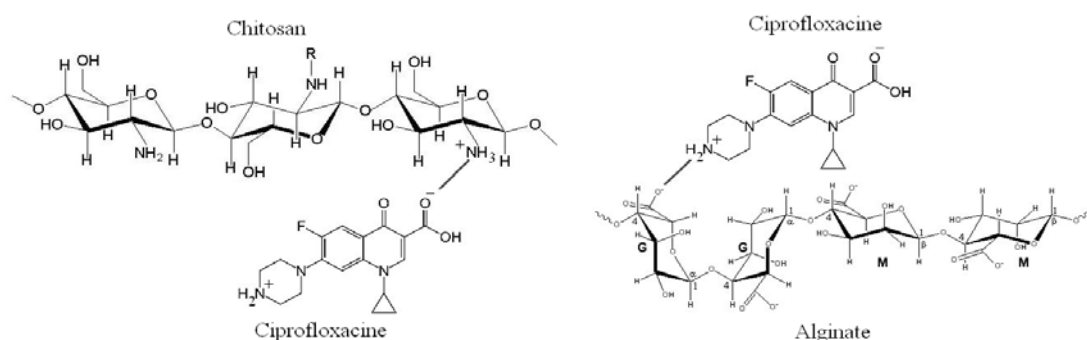


Fig. 1 – Les complexes polyioniques obtenus par l'échange ionique.

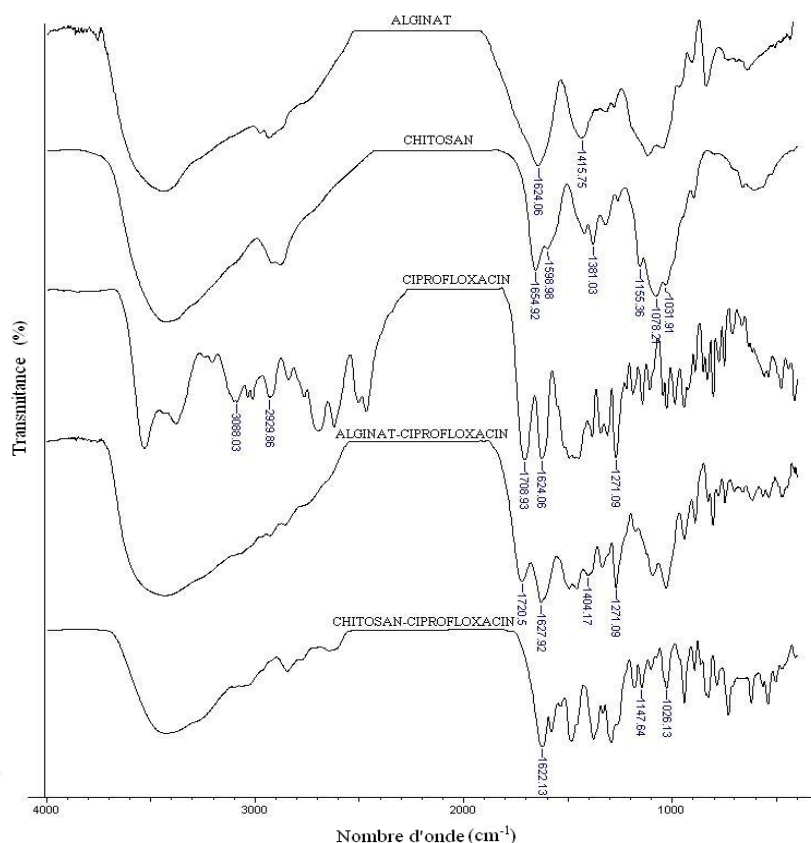


Fig.2 – Spectres FTIR pour les précurseurs et pour les complexes intermoléculaires.

Pour CF les bandes d'absorption de 1271 cm^{-1} et de 1624 cm^{-1} sont dues aux vibrations de la liaison C-F et à la vibration du groupement phényle conjugués avec le groupement -COOH. La présence d'une bande à la valeur de 1709 cm^{-1} est attribuée au groupement -COOH, et l'apparition des bandes à 3088 cm^{-1} et à 2930 cm^{-1} est due à la vibration des liaisons C-H du groupe phényle.

Quant aux complexes, il y a dans le spectre des bandes communes tant pour les précurseurs que pour CF, elles sont légèrement déplacées. Dans le complexe Al/CF à 1271 cm^{-1} , 1404 cm^{-1} , 1627 cm^{-1} et 1720 cm^{-1} et pour le complexe chitosan/CF à 1026 cm^{-1} , 1148 cm^{-1} et 1622 cm^{-1} , caractéristiques des vibrations de valence que l'on rencontre dans les composés simples.

La distribution des microparticules en fonction de leur diamètre pour deux types de particules est illustrée dans la Figure 3, elle présente le volume des particules ainsi que la fréquence numérique: nombre de particules ayant un diamètre commun.

Des courbes de distribution numérique on peut observer que pour l'échantillon de chitosan /CF, le plus grand nombre de microparticules ont un diamètre compris entre 10 nm et 36 nm, avec une valeur moyenne $d_m = 26\text{ nm}$, et pour l'échantillon d'alginate/CF, le plus grand nombre de microparticules présentent un diamètre compris entre $3,5\text{ }\mu\text{m}$ et $10,5\text{ }\mu\text{m}$, avec une valeur moyenne $d_m = 7\text{ }\mu\text{m}$.

Des courbes de distribution volumétrique pour le chitosan/CF on trouve une valeur moyenne $d_m = 498\text{ nm}$, tandis que pour l'alginate/CF le diamètre moyen des particules est $d_m = 75\text{ }\mu\text{m}$. Les particules sont dans le domaine nanométrique pour le système chitosan/CF.

Des courbes thermogravimétriques (fig. 4 et fig. 5) obtenues on a évalué les caractéristiques thermiques pour toutes les étapes de la dégradation thermique. Les données sont présentées dans le tableau 1.

En analysant les données de la tableau 1 on peut considérer que la première étape de dégradation thermique, correspond à l'élimination de l'eau dans la structure des composés soumis à l'analyse, les pertes de masse correspondant à cette étape offrent des informations sur l'humidité des échantillons. On peut observer que les microparticules de chitosan CF renferment la plus grande quantité d'eau (la perte de masse de la première étape est de 12,67 %).

La signification des grandeurs de cette tableau est la suivante: T_{onset} – température initiale de la dégradation thermique pour chaque étape, T_{endset} – température finale de la dégradation thermique pour chaque étape, T_{peak} – température à laquelle la vitesse de dégradation pour chaque étape est maximale, $W\%$ - pourcentage de perte de masse pour chaque étape.

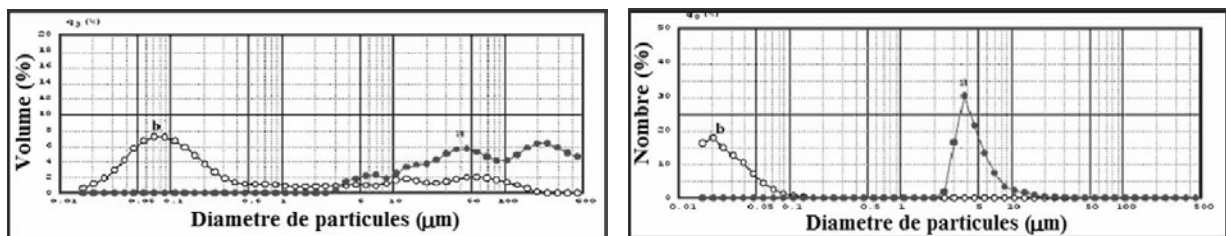


Fig. 3 – Courbes de distribution volumétrique et numérique; courbe (a) – microparticules d'Alginate/CF, courbe (b) – microparticules de chitosan/CF

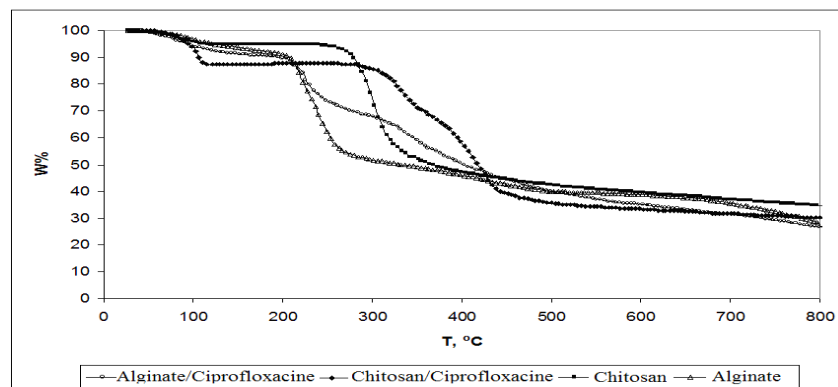


Fig. 4 – Les courbes TG.

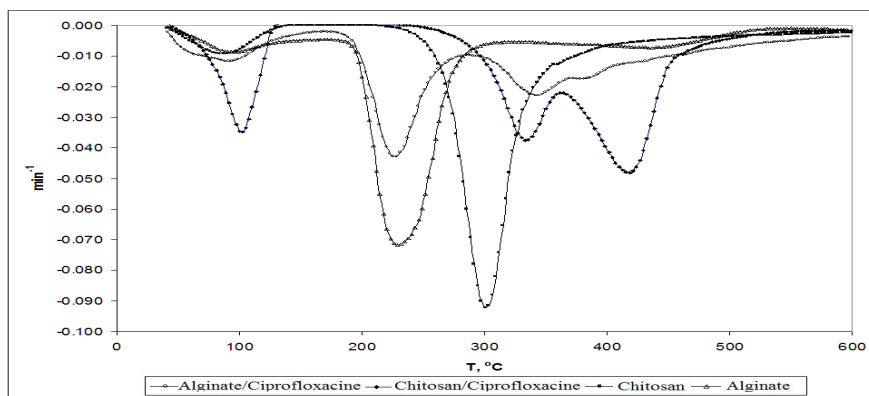


Fig. 5 – Les courbes DTG.

Tableau 1

Caractéristiques thermogravimétriques des précurseurs et des complexes

ECHANTILLON	ETAPE	T _{onset}	T _{peak}	T _{endset}	W%	Résidu
Na-Alginate	I	50	91	205	7,81	39,84
	II	205	226	268	40,00	
	III	268	440	488	12,35	
Chitosan	I	50	88	118	5,12	32,34
	II	272	283	472	62,54	
(Alginate/CF)	I	77	95	112	8,98	20,10
	II	208	226	245	22,32	
	III	317	337	539	48,60	
(Chitosan/CF)	I	76	103	112	12,67	27,67
	II	307	334	346	18,30	
	III	346	422	486	41,36	

Du point de vue de la stabilité thermique on peut déterminer que les microparticules alginate/CF ont approximativement la même stabilité que le sel de sodium de l'acide alginique, il est cependant moins stable que le complexe chitosan/CF étant aussi plus stable que le chitosan pur.

La Figure 6 illustre l'évolution des profils de libération de la ciprofloxacine des deux types de microparticules pour une période plus grande, 72 heures, à des pH différents.

L'analyse des courbes de libération pour les deux types de particules met en évidence deux périodes distinctes: une période entre 0 et 7 heures, qui est importante pour la libération *in vivo*, et une autre comprise entre 7 et 72 heures qui donne des indications sur la stabilité du médicament en solution.

Dans la première période on constate un comportement complexe, avec des particularités et des similitudes entre les deux types de particules. La libération de la majorité de la CF à un certain pH a lieu très vite, entre 30 et 60 minutes à partir de l'immersion de l'échantillon dans l'éluant,

ensuite la concentration peut rester constante, diminuer ou s'accroître, en fonction du pH. Pour les deux échantillons, une quantité plus réduite se libère au pH = 2,13 ; 19 % pour chitosan/CF et 46 % pour Alginate/CF. Si on pouvait s'y attendre pour les microparticules d'alginate/CF par l'effet des ions de même signe, cela nous surprend pour les microparticules de chitosan/CF, le chitosan étant soluble en milieu acide. On peut l'expliquer dans le cas du complexe chitosan/CF par le compactage en milieu acide des particules suite à la protonisation des groupes aminés des molécules de CF à ce pH.

Pour les deux échantillons, à un pH à alcalinité moyenne, pH=9,18, il se libère la quantité la plus grande de CF, 92% de l'alginate/CF et 85% du chitosan/CF, la libération n'est pas terminée après 7 heures d'éluion. Au pH=10,8 durant 1 à 2 heures la CF se libère totalement (100%) des échantillons, mais après 3 heures a lieu une baisse accentuée de la concentration, ceci est dû à la dégradation de la CF en solution.

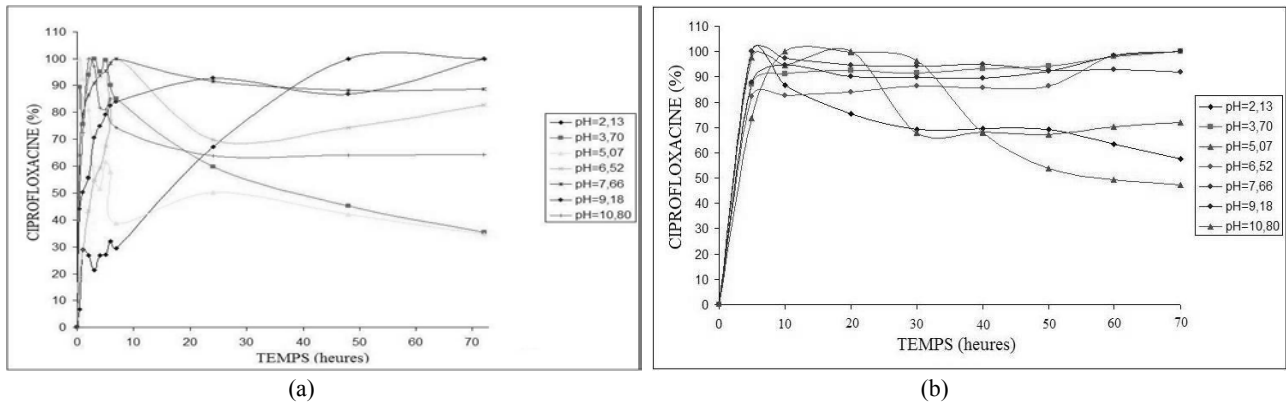


Fig.6 - Profil des courbes cinétiques pour libérer la CF des microparticules en fonction de pH.
(a) le système chitosan/ CF, (b) le système alginate/CF.

Au pH = 7,66, qui est proche du point isoélectrique du médicament, on atteint en une heure dans les deux échantillons un niveau maximum de libération (23 % pour le chitosan/CF et 70 % pour l'alginate/CF), mais ensuite a lieu une variation linéaire très lente. Dans le cas CH/CF la quantité libérée s'accroît arrivant après 7 heures à 30%, et dans le cas de la CF elle diminue arrivant après 7 heures à 65%. Ce comportement indique le fait qu'à ce pH, CF est relativement stable dans la solution. Au pH faiblement acide (pH=6,52) dans le cas des deux échantillons la quantité libérée s'accroît de façon marquante dans le temps.

Comme observation générale, on a démontré qu'en dépit de la charge pratiquement identique des deux particules à CF, le complexe alginate/CF libère une quantité plus importante de médicament pour toute la gamme de pH par rapport au complexe chitosan/CF.

L'analyse du comportement pour une période plus grande nous permet de mettre en évidence pour les deux échantillons qu'après 10 heures de maintien dans l'éluant le niveau de la CF dans la solution reste approximativement constant, avec certaines variations que l'on peut ainsi résumer.

Au pH = 2,13 le niveau de la CF a une valeur minimale pour les particules Alginate/CF 41,2% et reste constant pour toute la période analysée, tandis que pour les particules chitosan/CF, la quantité de la CF dans la solution s'accroît continuellement pendant 50 heures arrivant à la valeur constante représentant 69,7 % de la CF englobée dans l'échantillon. Grâce à ce comportement on peut utiliser le complexe chitosan/CF pour la libération prolongée de la CF dans le trajet gastro duodénal.

Au pH 7,66 pour les deux échantillons se maintient un niveau constant de la CF dans la solution; minimum dans le cas chitosan/CF 27 % et plus grand 51,7 % dans le cas Alginate/CF.

Au pH = 3,7, pour les deux échantillons on constate une instabilité accentuée marquée par une diminution continue de la concentration de la CF due à sa dégradation dans le milieu d'éluant.

Le comportement au pH =9,18 est similaire pour les deux types de particules, il y a un accroissement constant du niveau de la CF, la libération étant totale après 72 heures.

PARTIE EXPERIMENTALE

Matériaux et méthodes

L'alginate de sodium provient de la firme Sigma-Aldrich (viscosité en solution aqueuse 1% = 30,2 cP). Le chitosan utilisé a une masse moléculaire moyenne, $M_w = 94\ 800$ g/mol et le degré de deacétylation de 79,7% (Vanson Co-Canada). Les données concernant l'alginate et le chitosan proviennent du fournisseur. La ciprofloxacine utilisée a été fournie par Krka-Slovénie.

Préparation des microparticules

On a obtenu les microparticules en mélangeant une solution aqueuse 1 de CF 2 %, dans une solution 2 de concentration 0,5% w/v d'alginate ou de chitosan dans acide acétique 0,1 M. On a réalisé le mélange au moyen d'un dispositif que l'on présente dans la Figure 7.

Pour disperser la solution 1 on a utilisé un pulvérisateur coaxial ayant un diamètre extérieur d'aiguille de 0,4 mm. La pression de l'air a été maintenue à 0,8 Pa et le débit d'introduction de la solution de médicament a été de 1 à 3 mL/min. Après avoir mélangé on a dispersé le gel obtenu par agitation pendant 10 min à 18000 rpm. On a séparé les microparticules par centrifugation à 4500 rpm pendant 30 min et on les a séchées ensuite par lyophilisation.

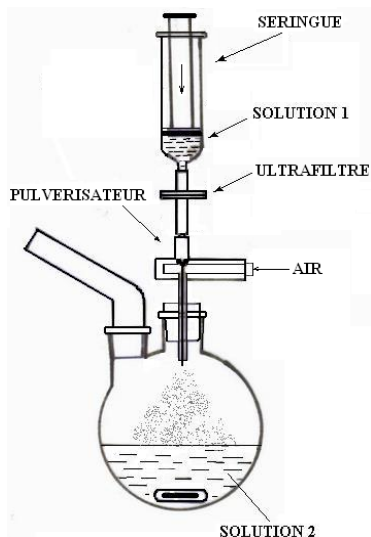


Fig.7 - Schéma de l'installation de préparation des microparticules

Caractérisation des microparticules

On a caractérisé les microparticules obtenues par différentes méthodes. On a obtenu les spectres FTIR avec un spectrophotomètre BOMEM MB 104 (Canada).

La distribution et la dimension des particules ont été déterminées avec l'analyseur SALD-7001 (Shimadzu, Japon).

Pour l'analyse thermogravimétrique on a utilisé un équipement Mettler Toledo TGA-SDTA 851e, on a travaillé en atmosphère inerte d'azote, avec un débit de 20 mL/min, et une vitesse de réchauffement de 10° C/min. On a dosé la CF par la méthode spectrophotométrique en utilisant un spectrophotomètre NanoDrop 1000, à la longueur d'onde de 277 nm.

Études de libération

La libération de la CF des deux types de microparticules est faite en milieu d'élution au pH compris entre 2,13 et 10,80. Une quantité de 0,1 g microparticules a été introduite dans 50 mL éluant. La quantité de CF libérée a été déterminée

sur la base d'une courbe d'étalonnage tracée avec des solutions aqueuses de la CF de concentration connue. L'équation de la courbe d'étalonnage pour l'appareil utilisé est: $A = 7,99 \times 10^{-3} c$ ($\mu\text{g/mL}$).

On a déterminé spectrophotométriquement la quantité de la CF dans les complexes par la dégradation des échantillons durant 72 heures en solution tampon de pH = 9,18. La teneur en CF des échantillons est calculée avec la moyenne de 5 déterminations, obtenant: 13,38 % pour le complexe alginate/CF, et 13,35 % pour le complexe chitosan/CF.

Remerciement: Ce travail a été financé par le programme CEEEX 108/2006.

BIBLIOGRAPHIE

1. S. A. Musa, D.A. Fara et A.A. Badwan, *J. Control Release*, **1999**, 57, 223-232.
2. Z. X. Shu et K. J. Zhu, *Eur. J. Pharm., Biopharm.*, **2002**, 53, 193-201.
3. K. Wang et Z. M. He, *Int. J. Pharm.*, **2002**, 224, 117-126.
4. K. Ohkawa, M. Yamada, A. Nishida, N. Nishi et H. Yamamoto, *J. Polym. Env.*, **2000**, 8, 59-66.
5. S. Hirano, H. Seino et Y. Akiyama, "Chitin and Chitosan: Ecologically Bioactive Polymers", in "Biotechnologies Bioactive Polymer", C. G. Gebelein et C. Carraher (Eds.), New York, Plenum Press, **1994**, p. 43- 54.
6. C. Y. Wel, S. M. Hudson et J. M. Mayer, *J. Polym. Sci.*, **1992**, 30, 2187-2193.
7. H. Wang, Y. E. Fang et Y. Yan, *J. Mater. Chem.*, **2001**, 11, 1374-1377.
8. M. L. Lorenzo-Lamosa, C. Remunan-Lopez, J.L. Vila-Jato et M.J. Alonso, *J. Control Release*, **1998**, 52, 109-118.
9. S. Ziyad Haidar, Reggie C. Hamdy et Maryam Tabrizian, *Biomat.*, **2007**, 29, 1207-1215.
10. Ping Ding, Ke-Long Huang, Gui-Yin Li et Yan-Fei Liu, *Int. J. Bio. Macromolec.*, **2007**, 41, 125-131.
11. Yongmei Xu, Changyou Zhan, Lihong Fan, Le Wang et Hua Zheng, *Int. J. Pharm.*, **2007**, 336, 329-337.
12. R. Wise, *Clin. Drug. Invest.*, **1998**, 15, 39-46
13. D.M. Wood et A.R. Smyth, *Cochrane Database Syst. Rev.*, **2006**, 1.