

# La transparence dans les formulations à base de vésicules

Julie Monneraye

*E.I.3 Option MiDiFAB, Sujet bibliographique proposé par le Dr André Crutzen*

*Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Rennes, Av. Général Leclerc, 35700 Rennes*

*Soumis le 27.1.2004 ; accepté le 16.2.2004*

---

**Résumé :** Dans les formulations liquides comme les savons, shampooings et même les lessives, la tendance actuelle est d'obtenir un liquide le plus transparent possible. Ce projet a pour but de voir comment est obtenue cette transparence dans les milieux à base de vésicules. L'intérêt des vésicules de petite taille est qu'elles permettent de diminuer la turbidité du milieu et ainsi d'obtenir la transparence optique. La réduction de taille des vésicules peut se faire par des méthodes mécaniques, comme la microfluidisation, ou sous de fortes contraintes de cisaillement, mais celles-ci nécessitent un équipement industriel. De plus en plus, la recherche se tourne vers une approche physico-chimique qui permet de modifier la courbure spontanée de la bicouche pour diminuer le diamètre de la vésicule. Les facteurs influençant la courbure spontanée sont la composition en tensioactifs, le rapport tête polaire/chaîne hydrocarbonée, le contre ion ou bien encore l'augmentation de la température. Mais il existe aussi d'autres approches comme le changement de l'indice de réfraction de la phase aqueuse ou de la phase lamellaire qui permettent l'obtention d'un milieu plus transparent.

---

Les vésicules sont des systèmes constitués de molécules amphiphiles, pouvant présenter des morphologies différentes qui diffusent d'autant plus la lumière que leur taille est élevée. La première partie de cette étude est une description générale des morphologies de vésicules et de leur importance. Les différentes méthodes permettant d'influencer la transparence du milieu vont ensuite être présentées. Tout d'abord, les méthodes mécaniques fortement industrialisées seront décrites. Par la suite, nous nous intéresserons plus aux méthodes physico-chimiques qui permettent d'obtenir une clarification progressive du milieu étudié.

## Morphologie et composition des vésicules

Les molécules amphiphiles entre dans la composition des vésicules sont mono- ou bicaténaires (une ou deux chaînes hydrocarbonées et une tête polaire) [1]. Les molécules amphiphiles s'organisent en fonction de leur "packing parameter" ( $PP$ ) où  $PP = V/(aL_c)$  où  $V$  (volume de la partie hydrophobe),  $L_c$  (longueur de la chaîne hydrophobe) et  $a$  (surface occupée par la tête polaire). Lorsque  $PP \gg 1$ , des phases hexagonales ou des micelles inverses sont obtenues. Pour  $PP \ll 1$ , des micelles sont formées. L'organisation supramoléculaire permettant l'obtention des vésicules correspond à  $PP \approx 1$  où les molécules amphiphiles vont en effet former des bicouches. Les liposomes par exemple peuvent être constitués de lipides de la famille des glycérophospholipides (Figure 1) [1,2].

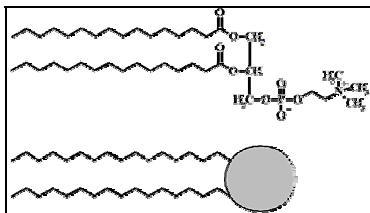


Figure 1: Structures chimique et schématique d'un phospholipide (di-acyl-glycero-phosphatidylcholine, PC).

Les différentes morphologies pouvant être observées sont les LUV, MLV, MVV, SUV (Tableau 1) [2]. Ces vésicules jouent un rôle essentiel pour l'encapsulation. La capacité à transporter les molécules est LUV>MLV>SUV. La concentration en molécules amphiphiles est importante car elle relie directement le nombre de vésicules et la capacité d'encapsulation. Cependant, les petites vésicules telles que les SUV présentent un intérêt car leur taille permet de diminuer la turbidité du système, le rendant alors beaucoup plus transparent. Par la suite, nous allons donc nous intéresser à des techniques permettant d'obtenir un milieu moins turbide.

### Méthodes influençant la transparence du milieu

Plusieurs techniques sont envisageables pour obtenir la transparence optique du milieu étudié. En effet, des recherches ont été faites sur l'influence de la réduction de la taille des vésicules permettant d'obtenir un milieu moins turbide, soit par des méthodes mécaniques, soit par des méthodes physico-chimiques modifiant la courbure spontanée des vésicules. D'autre part, des études sur l'indice de réfraction du milieu ont permis l'obtention de la transparence optique du système.

Tableau 1: Les différentes morphologies des vésicules (PA : principe actif).

| Structure | SUV                                                                                                                                                             | LUV                       | MLV ou OLV                                           | MVV                    |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|------------------------------------------------------|------------------------|
|           |                                                                                                                                                                 |                           |                                                      |                        |
|           | Small Unilamellar Vesicle                                                                                                                                       | Large Unilamellar Vesicle | Multilamellar Large Vesicle ; Oligolamellar Vesicle. | Multivesicular Vesicle |
| Taille    | 50-80 nm                                                                                                                                                        | 600-800 nm                | Taille très hétérogène                               |                        |
| Capacité  | Contient peu de PA                                                                                                                                              | Contient beaucoup de PA   | Capacité intermédiaire à celle de SUV et LUV.        |                        |
| Stabilité | Plus le rayon de courbure est grand, plus on diminue les contraintes mécaniques de la membrane : MLV > LUV > SUV. La stabilité est maximale entre 80 et 200 nm. |                           |                                                      |                        |

## Les méthodes mécaniques

Il existe plusieurs méthodes mécaniques permettant une réduction de la taille des vésicules [1]. L'une de celles-ci est la sonication (agitation mécanique produite par ultrasons). Cette technique a deux inconvénients majeurs. Elle peut produire un échauffement important pouvant provoquer une dégradation des substances actives et également l'apparition de particules métalliques provenant de la dégradation de la sonde à ultrasons. L'utilisation de cette technique à grande échelle est réalisable mais elle présente des difficultés. La seconde méthode mécanique est la microfluidisation, technique où des liposomes multilamellaires préformés sont propulsés dans une chambre d'interaction à une vitesse de 600 m/s. Suite à leur collision, les liposomes se rompent et forment de plus petites vésicules. En dépit d'un échauffement important, cette méthode est utilisée en industrie et plus particulièrement pour les émulsions. Une autre technique fortement industrialisée est l'extrusion, qui consiste à faire passer au travers d'une membrane les liposomes préformés. La taille des vésicules sera fonction du diamètre des pores.

Enfin, des vésicules de diamètre plus faible peuvent être obtenues sous de forts cisaillements [3,4]. Le cisaillement est produit grâce à un rhéomètre de type Carrimed. Des tests ont été menés sur les changements morphologiques vésicules → micelles induite par une contrainte avec du cetyltriméthylammonium 3-hydroxynaphtalène-2-carboxylate (CTAHNC, tensioactif cationique). Le milieu contient 12 mM de CTAHNC et 0,5 mM de cetyltriméthylammonium bromide (CTAB, tensioactif cationique) et la température est de 37°C. Dans la figure 2, l'intensité diffusée en fonction du vecteur d'onde  $q$  dépend du cisaillement, un pic se formant et se développant avec l'augmentation de la vitesse de cisaillement. Au dessus d'une vitesse de  $59 \text{ s}^{-1}$ , un second pic émerge. La valeur de  $q$  au maximum de ce pic permet de calculer la distance moyenne entre les micelles. Le point le plus important est le déplacement du premier pic vers des valeurs de  $q$  plus élevées quand la vitesse de cisaillement augmente. Ceci indique que plus la contrainte est élevée, plus le nombre de micelles est important. Sous cisaillement, les vésicules sont réduites en taille et ensuite une transition

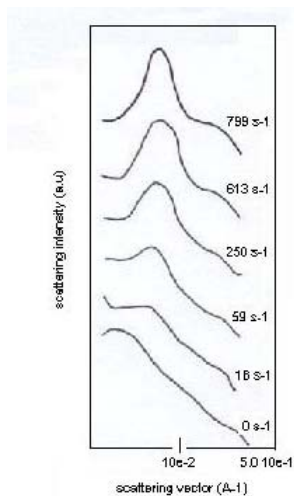


Figure 2: Intensité diffusée fonction du vecteur d'onde  $q$  en échelles log-log pour différentes vitesses de cisaillement. L'échantillon est constitué de 12 mM de CTAHNC et 0,5 mM de CTAB à 37°C. (Figure inspirée de la figure 3 de [3])

vésicules→micelles a lieu. Dans notre cas, nous ne cherchons pas à aller jusqu'à la transition de bicouche à monocouche mais seulement à réduire le plus possible le diamètre des vésicules, les micelles obtenues ne restant probablement pas stables à l'arrêt du cisaillement.

Ces différentes méthodes mécaniques permettent de réduire la taille des vésicules mais elles nécessitent un équipement industriel. Nous allons donc nous intéresser dans la partie suivante aux méthodes physico-chimiques.

## Les méthodes physico-chimiques

L'équilibre d'un ensemble de vésicules est déterminé par une compétition entre l'entropie du mélange et l'élasticité de courbure des bicouches. Le premier modèle pour décrire les propriétés élastiques des systèmes amphiphiles fut celui de Helfrich en 1973 [5]. La forme de la membrane est alors caractérisée par ses courbures principales  $c_1$  et  $c_2$ . L'énergie élastique par unité de surface s'écrit  $f = k/2(c_1 + c_2 - c_0)^2 + K c_1 c_2$ , où les propriétés élastiques de la membrane sont déterminées par l'élasticité de courbure totale  $k$ , l'élasticité de courbure gaussienne  $K$  et la courbure spontanée  $c_0$ . Les courbures sont définies comme  $1/R$  où  $R$  est le rayon de la vésicule (dans ce cas d'objets sphériques  $c_1 = c_2 = 1/R$ ). L'élasticité de courbure gaussienne diminue lorsque les bicouches sont constituées de monocouches ayant des courbures spontanées de plus en plus positives (cours diagrammes de phases des molécules amphiphiles, option MiDiFAB, ENSC-Rennes). Cette diminution de  $K$  a pour conséquence de réduire la taille de la vésicule puis de provoquer la transformation de vésicules à micelles. L'idée de ces méthodes est donc de faire des bicouches avec des courbures spontanées des monocouches constituantes de plus en plus positives. Différents facteurs comme la composition en tensioactifs ou polymères, la longueur de la chaîne, les contre ions ou bien encore la température vont avoir des effets sur la courbure spontanée [5-7].

Dans un premier exemple, la réduction de taille de vésicules pour des systèmes de tensioactifs « gemini » va être étudiée [8]. Ces tensioactifs sont des alkanediyl- $\alpha,\omega$ -bis (dimethyldodecylammonium bromide) de la forme 12-20-12 (m-s-m) connus pour former des vésicules. Ces tensioactifs « gemini » de la famille des bicaténaires sont composés de deux chaînes hydrocarbonées, de deux têtes polaires et sont séparés par un bras espaceur dont la longueur « s », la flexibilité et l'hydrophobicité peuvent varier (Figure 3). L'addition de dodécyltriméthylammonium bromide (DTAB, tensioactif cationique) va provoquer une réduction de la taille des vésicules jusqu'à une certaine quantité de tensioactifs car après une transition de phase de vésicules (système en bicouche) à micelles (système monocouche) aura lieu. Ceci est observé par microscopie « video-enhanced light » et par microscopie électronique à transmission à température cryogénique (cryo-TEM).

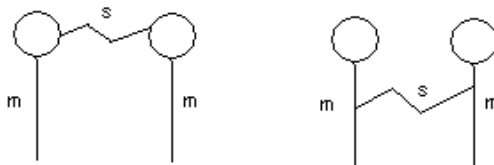
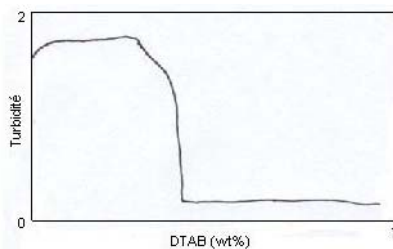


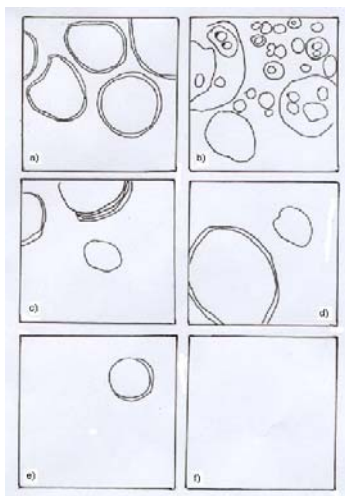
Figure 3: Structures schématiques de tensioactifs "gemini".



**Figure 4:** Mesure de turbidité à 375 nm en fonction de l'addition de DTAB dans une suspension vésiculaire de 12-20-12 fixée à 1,4 wt%. (Figure inspirée de la figure 1 de [8])

Des mesures de turbidité à 375 nm sont effectuées en augmentant l'ajout de DTAB dans une suspension vésiculaire de 12-20-12 fixée à 1,4 wt% (Figure 4) [8]. Il en ressort que les solutions contenant le plus de DTAB deviennent de plus en plus transparentes. En effet, pour les solutions ayant une concentration en DTAB supérieure à 2,80 wt% (90,9 mEq), la courbe est presque une ligne horizontale avec une turbidité faible. Ceci indique que les vésicules ont été solubilisées et le système est maintenant seulement constitué de micelles.

Une autre technique expérimentale, la cryo-TEM (Figure 5), montre le changement de structure des solutions. La solution initiale ne contenant que du tensioactif 12-20-12 à 1,4 wt% (32,4 mEq), on observe de très larges vésicules (Figure 5a). Cette quantité de larges vésicules diminue avec l'ajout d'un peu de DTAB. Puis, au fur et à mesure de l'addition de DTAB, une clarification progressive de la solution est constatée. Les larges vésicules deviennent plus petites (Figure 5b), puis elles coexistent avec des micelles (Figures 5c, 5d) et à la fin, il ne reste que des systèmes micellaires (Figures 5e, 5f). Le DTAB possède une large tête polaire. L'addition de celui-ci dans une solution de 12-20-12 permet



**Figure 5:** Micrographes obtenus par cryo-transmission de mélanges de 12-20-12/DTAB comprenant une augmentation de la concentration en DTAB où la concentration en 12-20-12 est fixée à 1,4 wt%. (a) pas DTAB; (b) 0,36 wt% DTAB; (c) 1,74 wt% DTAB; (d) 1,94 wt% DTAB; (e) 2,70 wt% DTAB; (f) 2,80 wt% (Figure inspirée de la figure 3 de [8]).

de former des agrégats avec une courbure spontanée plus grande et ainsi d'obtenir des solutions plus transparentes. La suite de ce projet est de poursuivre les recherches en ajoutant d'autres types de tensioactifs comme l'octylglucoside ou bien des cholates de sodium.

D'autre part, il a aussi été démontré que l'addition de polyéthylèneglycol (le PEG est un polymère utilisé notamment pour la défloculation) à une solution lamellaire a permis de modifier la courbure spontanée et donc de jouer sur la transparence du système [9]. Le rôle de ces polymères est de générer de la gêne stérique afin d'éviter la floculation mais ils réduisent en même temps la taille des vésicules sur lesquelles ils se sont adsorbés. Dans cette étude, l'ajout de polymères de défloculation a pu se faire pendant la préparation de la phase lamellaire, ou après dispersion des petites vésicules multilamellaires.

Maintenant, intéressons-nous au contre ion et au rapport tête polaire/chaîne hydrocarbonée qui permettent eux aussi de modifier la courbure spontanée. L'autoassociation de tensioactifs cationiques avec des contre ions hydrophobes en solution aqueuse a été étudiée [10]. Le contre ion utilisé est un anion salicylate modifié. Les solutions de tensioactifs cationiques avec les contre ions salicylates modifiés induisent la formation de vésicules. Une modification sur la structure du contre ion peut permettre de remarquables changements morphologiques au niveau de l'agrégation des tensioactifs. Ces changements de contre ion diminuent en général l'élasticité de courbure gaussienne  $K$  permettant alors la formation de vésicules plus petites. L'importance de cette réduction dépend de la différence du nombre de charges, du volume de la tête polaire et de la longueur de la chaîne entre les deux tensioactifs. Cette réduction de  $K$  est plus prononcée pour des mélanges où le tensioactif portant la charge est celui qui a la tête polaire la plus large et la chaîne hydrocarbonée la plus courte (Figure 6) [5, 11, 12].

La température est aussi un facteur ayant une influence sur la courbure spontanée de la bicouche [3]. Nous avons étudié précédemment l'effet de fortes conditions de cisaillement sur une solution de CTAHNC provoquant une réduction de la taille des vésicules avant la transition de vésicules à micelles. La figure 7 résume les résultats de l'addition de CTAB, de l'augmentation de température et de l'augmentation de vitesse de cisaillement sur une solution de 12 mM de CTAHNC. Pour l'étude de l'influence de la température, l'échantillon est une solution de 12 mM de CTAHNC et 1 mM de CTAB. A 37°C, l'échantillon consiste en une large fraction de micelles coexistant avec des vésicules. En augmentant la température, la position du pic de corrélation est déplacée vers des valeurs plus élevées (Figure 7b). A 75°C, le pic a une position identique à celui observé pour une solution de

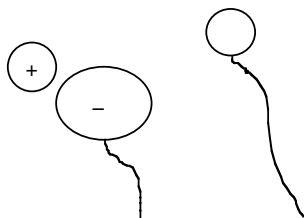


Figure 6: Influence de l'asymétrie entre deux tensioactifs sur l'élasticité de courbure gaussienne.

CTAHNC de 12 mM avec 3 mM de CTAB à 37°C (Figure 7a). Il en ressort qu'au-dessus de 60°C, le système de 12 mM de CTAHNC avec addition ou non de CTAB contient seulement des micelles. Plus le milieu est chauffé, plus les tensioactifs vont se mélanger et cela permet de réduire la taille des vésicules. La position finale des pics est identique pour les trois techniques indiquant que les vésicules sont presque toutes transformées en micelles (Figure 7). Avec ces méthodes, une réduction de la taille des vésicules est possible et ceci est intéressant pour nos formulations vésiculaires liquides. Le but est donc de réduire la taille au maximum tout en s'arrêtant avant la transition de phase de vésicules à micelles.

Comme nous venons de le voir, la plupart des méthodes physico-chimiques permettent d'obtenir la transparence d'un milieu en modifiant la courbure spontanée de la bicouche en rendant celle-ci de plus en plus positive.

Des techniques modifiant l'indice de réfraction permettent l'obtention de la transparence optique du système. En effet, des compositions de liquides structurés transparents ont été obtenues par Unilever [9]. Les liquides structurés sont des détergents liquides organisés en phase lamellaire. D'une part, la transparence de ces liquides structurés a été réalisée en diminuant l'indice de réfraction de la phase lamellaire. Pour faire cela, il faut arriver à optimiser un mélange à partir de tensioactifs anioniques / nonioniques / cationiques / zwitterioniques / amphotères, avec un indice de réfraction proche de celui de l'eau. L'autre moyen pour obtenir la transparence optique du milieu est d'augmenter l'indice de réfraction de la phase aqueuse jusqu'à ce qu'il soit identique à celui de la phase lamellaire.

L'indice de réfraction de la phase lamellaire ( $n_{lam}$ ) peut être calculé en utilisant l'indice de réfraction de chaque composé ( $n_k$ ) dans la phase lamellaire et la fraction volumique ( $v_k/v_{lam}$ ) dans laquelle le composé est présent. L'équation  $[(n_{lam}^2-1)/(n_{lam}^2+2)] \times v_{lam} = \sum [(n_k^2-1)/(n_k^2+2)] \times v_k$  est

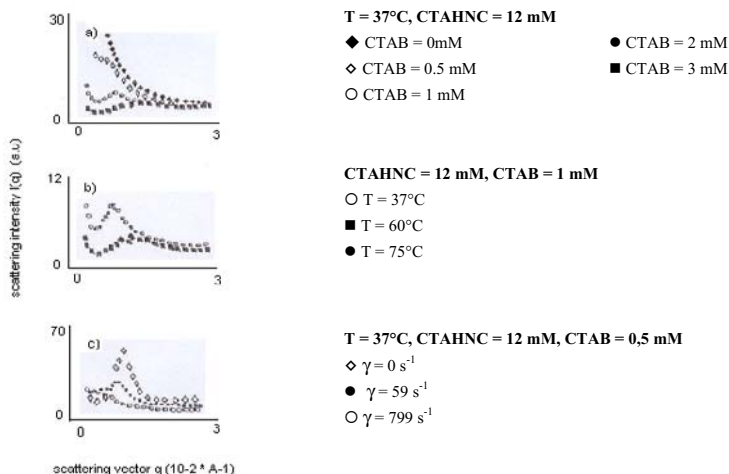


Figure 7: Résultats de SANS indiquant le changement de vésicules à micelles induites de 3 façons différentes. (a) par addition CTAB, (b) par changement de T, (c) par modification de  $\gamma$  (figure inspirée de la figure 4 de [3]).

appliquée et permet de déterminer l'indice de réfraction de la composition du liquide structuré [9]. Pour cela, un faisceau lumineux de longueur d'onde de 589 nm passe à travers une fine couche du liquide structuré d'environ 1 mm. Les angles d'incidence et de réfraction sont mesurés et en appliquant l'équation de Snell, les indices de réfraction des composés ( $n_k$ ) sont obtenus. D'autre part, des réfractomètres comme l'« Atago digital refractometer RX-1000 » ou le « Bellingham and Stanley refractometer RFM 91 » effectuent directement des mesures de réfraction.

## Conclusion

Les vésicules présentent des morphologies différentes mais chacune d'elles a son intérêt. Les vésicules de plus grande capacité servent à l'encapsulation d'une substance active, alors que les vésicules de plus petit diamètre permettent de diminuer la turbidité du système et ainsi d'obtenir un milieu beaucoup plus transparent. Ceci est fort intéressant pour les formulateurs car les produits liquides transparents comme les lessives, savons ou shampoings prennent de plus en plus de place sur le marché. Dans ce projet nous avons vu que des méthodes mécaniques et physico-chimiques influent sur la transparence du milieu. Les industriels utilisent déjà les méthodes mécaniques pour réduire la taille. La recherche est de plus en plus axée vers les méthodes physico-chimiques comme la composition en tensioactifs. En général, le but de ces techniques est de modifier la courbure spontanée de la bicouche. En rendant cette courbure spontanée plus positive, le diamètre de la vésicule diminue permettant alors de réduire la turbidité du milieu. Dans notre cas, il faut essayer de réduire au maximum le diamètre des vésicules en s'arrêtant avant la transition de vésicules à micelles. D'autre part, les méthodes modifiant l'indice de réfraction semblent aussi être une bonne approche pour rendre le système plus transparent.

Remerciements : Je souhaite remercier le Dr André Crutzen pour son aide et les commentaires qu'il m'a accordés.

## Références

- [1] Rapport de Fattal, E., Méthode de préparation de liposomes. (recherche sur google)
- [2] Rapport de Bardonnet, P.L., Les liposomes : potentialités thérapeutiques. (recherche sur google)
- [3] Mendes, E., Narayanan, J., Oda, R., Kern, F. and Candau, S.J. (1997) *J. Phys. Chem. B* 101, 2256-2258.
- [4] Mendes, E. and Oda, R. (1998) *J. Phys. Chem. B* 102, 338-343.
- [5] Bergström, M. (2001) *Journal of Colloid and Interface Science*, 240, 294-306.
- [6] Jung, H.T., Coldren, B., Zasadzinski, J.A., Iampietro, D.J. and Kaler, E.W. (2001) *PNAS* 98, 1353-1357.
- [7] <http://arxiv.org/pdf/cond-mat/9803264> (consulté en décembre 2003).
- [8] Danino, G., Talmon, Y. and Zana, R. (1997) *Journal of Colloid and Interface Science* 185, 84-93.
- [9] Structured liquid detergent composition, Birker, P.J., Flanagan, M., Machin, D., Patel, D. and Broun, L.F. (2000) Brevet Unilever WO 00/36079.
- [10] <http://www.ub.rug.nl/eldoc/dis/science/r.t.buwalda/c5.pdf> (consulté en décembre 2003)
- [11] Putlitz, B., Landfester, K., Förster, S. and Antonietti, M. (2000) *Langmuir* 16, 3003-3005.
- [12] Putlitz, B., Hentze, H. P., Landfester, K. and Antonietti, M. (2000) *Langmuir*, 16, 3214-3220.