

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université A. Mira-Béjaïa
Faculté de la Technologie
Département de génie des procédés

MÉMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de
MASTER
En GENIE DES PROCÉDÉS

Spécialité : Science et Technologie du Médicament.

Thème

« Formulation d'un système matriciel à libération contrôlée par
microencapsulation de l'amlodipine (bésylate)
dans HPMC – Eudragit[®] - PEG »

Réalisé par :

M^{lle} Idrissou Hassiba

M^{lle} Kacimi Khadidja

Thème encadré par :

M^{me} H.BELKACEMI

Président du jury : M^r S. FATMI

Examinatrice : M^{me} N. BELHADJ

Promotion 2012-2013

REMERCIEMENTS

Au terme de ce travail très prenant et très formateur, je voudrais remercier infiniment toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à ce travail. Il est parfaitement clair que le travail de recherche est nécessairement un projet collectif incluant enseignants, laborantins, amis et famille. En effet comme dit le proverbe « *Seule je peux marcher plus vite, mais à plusieurs, on marche plus loin* ».

<<Je remercie Dieu pour le courage, la patience et la santé qui m'ont aidé tout au long de mon parcours. >>

En premier lieu, je tiens à remercier **M^{me} belkacemi** a bien voulu me proposer le sujet et en a assuré la direction. Tout au long de ce travail elle n'a jamais ménagé ses efforts et ses conseils au combien précieux. Ses analyses judicieuses et pertinentes m'ont permis de mieux analyser les résultats de mon travaille. Je tiens à lui exprimer toute ma gratitude.

Monsieur **Fatmi .S** d'avoir bien voulu assurer la Présidence de mon jury. Je le remercie vivement pour l'effort qu'il a du faire pour d'abord lire et ensuite juger et commenter le travail objet de cette présentation.

J'adresse mes remerciements a **M^{me} Belhadj** pour avoir accepté d'être examinatrice et pour l'honneur qu'elle me fait de participer au jury.

Je remercie, enfin, tout le personnel du laboratoire qui on pris une part très importante dans la mise au point de la partie pratique et a mis à ma disposition tous les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail. Je voudrais l'assurer de toute ma reconnaissance

Il est clair que je n'oublierais naturellement jamais l'aide de mes parents qui ont contribué à n'insuffler l'énergie et le goût du travail bien fait et qui m'ont accompagné moralement et financièrement pour affronter les difficultés diverses et variées.

DEDICACES

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents, en témoignage de mon profond amour, que je remercie infiniment pour leurs sacrifices, soutien et amour. Je leurs serai éternellement reconnaissante. Puisse Dieu, le tout puissant, les préserver et leur accorder santé, longue vie et bonheur.

A ma sœur et mon frère Mouna et Nadir

Mon oncle Karim et sa petite famille : sa femme Karima et ses adorables enfants : Nissa , Aya , Mouhamed

Mon oncle Malek qui a été d'une aide incontestable, c'est avec un énorme honneur et plaisir que je voudrais l'assurer de ma reconnaissance la plus profonde.

Tout(e) s mes ami(e)s et en particulier Darina, Wissem, Nerimen, Asma, Abd alhak, Khaled et ma chère amie Kenza en témoignage de l'amitié qui nous unie et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble.

Sans oublier Ma chère camarade Hassiba et toute sa famille.

Kacimi Khadidja

Dédicace

Je dédie ce travail à

À mes très chers parents,

À mes chères sœurs,

À mes chers frères,

À mes belles sœurs,

Et à tout(e)s mes ami (e)s.

Idrissou Hassiba

Liste des abréviations

Abs :	absorbance
ASC :	air sous la courbe
AVC :	accident vasculaire cérébrale
BET :	BROWNAUER-EMETT-TELLER
CTAB :	Le cetyltriméthylammonium bromure
EUD :	Eudragit [®]
FTIR :	Fourier Transformed InfraRed spectroscopy (infrarouges à transformée de Fourier)
HPMC :	Hydroxypropylméthylcellulose
HTA :	hypertension artérielle
IR :	Infrarouge
K :	constante cinétique de dissolution
MCV :	maladie cardiovasculaires
MEB :	Microscopie électronique à balayage.
n :	Exposant de libération (coefficient de peppas)
PA :	Principe actif
PEG :	le polyéthylène glycol
T :	température
t :	temps
TA :	Tensioactif
T_f :	Température de fusion
T_g :	Température de transition vitreuse
TG :	Triglycéride
UV :	Ultraviolet

Liste des tableaux

Chapitre I : Généralités sur les maladies cardiovasculaires

Tableau I.1 Spécialités, principes actifs cardiovasculaires et leurs valeurs pharmacocinétiques et pharmacodynamiques.

Chapitre II : Vectorisation de principes actifs

Tableau II.1 : Physiologie de la partie gastro-intestinale humaine

Chapitre III : matériel et méthodes

Tableau III.1 : structure chimique et caractéristiques physicochimiques de l'amlopidine (besylate)

Tableau III.2 : fréquences des principales bandes caractéristiques IR de HPMC

Tableau III.3 : principales bandes IR de l'Eudragit® E 100

Tableau III.4 : principales bandes IR de Polyéthylène glycol

Tableau III.5 : principales bandes IR caractéristiques de l'amlopidine (bésylate)

Chapitre IV : protocole expérimental

Tableau IV.1 : variation de taux de polymères pour les différents essais.

Tableau IV.2 : variation du pH de la phase aqueuse pour les différents essais

Tableau IV.3 : variation du taux de tensioactif pour les différents essais.

Tableau IV.4 : variation du taux de tensioactif et les quantités de polymères.

Tableau IV.5 : variation du pH de la phase continue et de température.

Chapitre VI : Résultats et discussions

Efficacités d'encapsulation

Tableau VI-1 : taux d'encapsulation de Bésylate d'Amlodipine en fonction des quantités de polymères

Tableau VI-2 : les efficacités d'encapsulation de Bésylate d'Amlodipine en fonction du pH de la phase continue

Tableau VI-3: les efficacités d'encapsulation de Bésylate d'Amlodipine en fonction taux de tensioactif.

Tableau VI.4 : Variation de pH à température ambiante (série 1)

Tableau VI.5: Variation de PH à température 10°C (série 2)

Présentation des résultats des cinétiques de libération de Bésylate d'amlodipine

Tableau VI.6 : résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 2)

Tableau VI.7 : résultats des concentrations, et absorbances de Bésylate d'amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 3)

Tableau VI.8 : résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 4)

Tableau VI.9 : résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 5)

Tableau VI.10: résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 6).

Tableau VI.11: résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 7)

Tableau VI.12: résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 8)

Tableau VI.13 : résultats des concentrations, et absorbances de Bésylate d'amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 11)

Tableau VI.14 : résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 13)

Tableau VI.15 : résultats des concentrations, et absorbances de Bésylate d'amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 15)

Tableau VI.16: résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 16)

Tableau VI.17: résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 22)

Tableau VI.18 : résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 17)

Tableau VI.19 : résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 19)

Modèles cinétiques

Tableau VI.20 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour la poudre
essai 2

Tableau VI.21 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour la poudre
essai 3

Tableau VI.22 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour la poudre
essai 4

Tableau VI.24 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour la poudre
essai 5

Tableau VI.25 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour la poudre
essai 6

Tableau VI.26 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour la poudre
essai 8

Tableau VI.27 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour la poudre
essai 15

Tableau VI.28 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour la poudre
essai 22

Tableau VI.29 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour la poudre
essai 19

Tableau VI.30 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour la poudre
essai 17

Synthèse et interprétations des résultats

Tableau VI.31 : Surfaces spécifiques et volume de pores des microparticules des essais
17 et 20

Liste des figures

Chapitre I : Généralités sur les maladies cardiovasculaires

Figure I.1 : schéma anatomique du muscle du cœur, des artères et des veines.

Figure I.2 : canal calcique de type L

Chapitre II : Vectorisation de principes actifs

Figure II.1 : niveau de concentration dans la plage thérapeutique.

Figure II.2 : Schéma de libération du principe actif à partir d'une matrice inerte.

Figure II.3 : Représentation d'une matrice hydrophile : Mécanisme de libération du principe actif

Figure II.4 : Matrice érodable (libération par érosion du principe actif).

Figure II.5 : Mécanisme simplifié de formation de liposomes.

Figure II.6 : caractéristiques des principaux types de liposomes

Figure II.7 : Comportement d'un coacervat.

Figure II.8 : Schéma de principe du procédé de microencapsulation par coacervation complexe.

Figure II.9 : Schéma de principe du procédé d'encapsulation par gélification thermique

Figure II.10: Schéma représentatif des divers types d'émulsions.

Figure II.11: Profils de libération obtenus à partir de différents types de microparticules

Figure II.12 : Différentes voies d'administrations.

Figure II.13 : Anatomie de la partie gastro-intestinale humaine.

Chapitre III : matériel et méthode

Figure III.1 : Formule développée des Eudragit[®] E 100.

Figure III.2 : structure chimique de la cellulose.

Figure III.3 : modification chimique de l'alpha-cellulose en HPMC.

Figure III.4 : Structure moléculaire de l'hydroxypropylméthylcellulose.

Figure III.5: Représentation schématique du polyéthylène glycol.

Figure III.6 : Spectres IR de l'amlodipine pure en pastille de KBr.

Chapitre V : Caractérisation des microparticules

Figure V.1: Spectres IR des différentes formulations et d'Amlodipine (Bésylate); influence de taux de polymères

Figure V.2 : Spectres IR des différentes formulations et d'Amlodipine (Bésylate); influence du pu du milieu continue

Figure V.3 : spectres IR des microparticules des essais 17 et 19, et de l'amlodipine(Bésylate)

Chapitre VI : Résultats et discussions

Efficacités d'encapsulation

Figure VI.1 : Histogramme des taux d'encapsulation de Bésylate d'Amlodipine en fonction de la quantité et de la nature des polymères.

Figure VI.2 : Histogramme des efficacités d'encapsulation de Bésylate d'Amlodipine en fonction du pH de la phase continue.

Figure VI.3 : Histogramme des efficacités d'encapsulation de Bésylate d'Amlodipine en fonction du taux de tensioactif.

Figure VI.4 : Histogramme des taux d'encapsulation de Bésylate d'Amlodipine en fonction de la température et le pH de la phase continue.

Présentation des résultats des cinétiques de libération de l'amlodipine

Figure VI.5 : profil de libération de Bésylate d'Amlodipine essai 2

Figure VI.6 : Profil de libération de Bésylate d'Amlodipine, Essai 3

Figure VI.7 : Profil de libération de Bésylate d'Amlodipine, Essai 4

Figure VI.8 : profils de libération de Bésylate d'Amlodipine à différents pH.

Figure VI.9 : profil de libération de Bésylate d'Amlodipine , Essai 11

Figure VI.10 : profils de libération de Bésylate d'Amlodipine, Essai 13

Figure VI.11 : profils de libération de Bésylate d'Amlodipine Essai 15

Figure VI.12: profils de libération de Bésylate d'Amlodipine, Essai 16

Figure VI.13 : profils de libération de Bésylate d'Amlodipine de l'essai 22

Figure VI.14 : profils de libération de Bésylate d'Amlodipine, Essai 17 et Essai 19.

Figure VI.15 : profils de libération de Bésylate d'Amlodipine, Essai 4 et Essai 17.

Modèles cinétiques

Figure VI.16 : superposition des deux profils expérimental et théorique de la cinétique de libération de l'amlodipine des microparticules de HPMC-EUD-PEG de l'essai 2,

Figure VI.17 : linéarisation du modèle, a) fonction $B(t)$; b) coefficient de proportionnalité $A(t)$

Figure VI.18 : modélisation de la cinétique de l'essai 3, a) peppas ; b) polynomiale d'ordre 4

Figure VI.19 : superposition des deux profils cinétiques non fickien, expérimental et théorique de l'essai 3

Figure VI.20 : modèle non fickien selon peppas de l'essai 4, a) linéarisation ; b) superposition des deux profils, expérimental et théorique calculé par le modèle

Figure VI.21 : modèle linéaire et d'ordre zéro de la cinétique de libération de l'amlodipine pour l'essai 5.

Figure VI.22 : courbes et modèle cinétiques de libération du PA de l'essai 6, a) linéarisation du modèle; b). profils de libération expérimental et théorique

Figure VI.23 : modèle et courbes cinétiques de libération de l'essai 8, a) linéarisation du modèle ; b) superposition des profils expérimental et théorique de type peppas.

Figure VI.24 : courbes cinétiques et modèle pour l'essai 15,; a) linéarisation du modèle de peppas. b) superposition des courbes expérimentale et théorique

Figure VI.25 : courbes cinétiques et modèle de l'essai 22, a) linéarisation du modèle d'ordre 1 à 2 branches et pentes avant saturation ; b) modèle polynomiale d'ordre 2 de type peppas à la saturation

Figure VI.26 : courbes cinétiques et modèle de l'essai 19, a) linéarisation du modèle de peppas ; b) superposition des courbes expérimentale et théorique

Figure VI.27 : courbes cinétiques et modèle de l'essai 17, a) linéarisation du modèle de peppas ; b) superposition des courbes expérimentale et théorique

Synthèse et interprétations des résultats

Figure VI.28 : représentation schématique de la libération d'un PA incorporé dans un système matriciel par les mécanismes d'érosion et de diffusion [Modifié de Dandelot, 1990]

Figure VI.29 : représentation schématique : du front de gélification r_A , du front de diffusion r_B , de la surface initiale de la matrice r_0 et du front d'érosion r_C . L'abscisse X représente la distance radiale de la forme matricielle. (A) le corps de forme non gélifié contenant le PA non dissous; (B) couche gélifiée contenant le PA non dissout, (C) couche gélifiée contenant le PA dissous ; et (D) milieu de dissolution

Figure VI.30 : isothermes d'adsorption BET des microparticules des essais 17 et 20.

Figure VI.31 : courbes $\log V$ en fonction de $(\log(P_0/P))^2$ des isothermes BET pour les microparticules des essais 17 et 20

SOMMAIRE

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
INTRODUCTION	1
Chapitre I : Généralité sur les maladies cardiovasculaires	
I.1. INTRODUCTION	3
I.2. QUE SONT LES MALADIES CARDIO-VASCULAIRES	
I.3. FACTEURS DE RISQUES	5
I.4. LES MEDICAMENTS CARDIOVASCULAIRES	6
I.4.1. Les antagonistes calciques	6
I.4.2. Mécanisme d'action des dihydropyridines.....	7
Chapitre II : Vectorisation de principe actif	
II.1.INTRODUCTION	14
II.2. CONCEPT GENERAL DE LA VECTORISATION DE PRINCIPES ACTIFS	14
II.3.LES SYSTEMES MATRICIELS	16
II.3.1 Classification des matrices.....	17
II-3.2. Les matrices inertes.....	17
II.3.3. LES MATRICES HYDROPHILES.....	19
II-4 LES SYSTEMES RESERVOIRS (MEMBRANE)	20
II-5 LES LIPOSOMES ET LES VESICULES	20
II-5-1-Définition des vésicules polymériques (ou polymèresomes)	20
II-5-2-Définition des liposomes.....	21
II.5.3 Les différentes classes de liposomes et leurs caractéristiques	22
II.6. METHODES D'ENCAPSULATIONS	22
II.6.1.Coacervation	22
II.6.2. Microencapsulation par gélification thermique	24
II.6.3 - Emulsion simple E/H et double E/H/E et par évaporation de solvant	25
II.6.4. Polycondensation interfaciale	26
II.7. LES MODELES CINETIQUES DE LIBERATION DES SUBSTANCES ACTIVES	27
II.7.1. Définitions	27
II.7.2. Avantages.....	27
II.7.3. Inconvénients	28
II.8.MECANISME DE RELARGAGE DU PRINCIPE ACTIF DANS LES SYSTEMES A LIBERATION PROLONGEE	28
II.8.1 Modèles théoriques des mécanismes de la libération de principe actif	28
II.8.2. Paramètres influençant la libération d'un PA	31

II.8.3. Profils de libération des différents types de microparticules	32
II.9.DIFFERENTES VOIES D'ADMINISTRATION DES MEDICAMENTS	32
II.9.1. Voie orale.....	33
II.10. UTILISATION DES POLYMERES BIODEGRADABLES POUR LA LIBERATION CONTROLEE DE PRINCIPES ACTIFS	35
II.11. ROLE DE L'INTERACTION POLYMERE/PRINCIPE ACTIF DANS LA LIBERATION PROLONGEE DE PRINCIPES ACTIFS	35

Chapitre III : Matériels et méthodes

PREMIERE PARTIE	37
III.1 TECHNIQUES PHYSICOCHIMIQUES DE CARACTERISATION DES ECHANTILLONS	37
III.1.1 Spectrophotométrie d'absorption UV-Visible	37
III.1.2 Spectroscopie infrarouge	38
III.1.3 : principe de BET	38
III.2 LES TESTS BIOPHARMACEUTIQUES	38
III.2.1 Test de dissolution	38
SECONDE PARTIE	40
III.3 PRESENTATION DES MATIERES PREMIERES.....	40
III.3.1 Polymères	40
III.3.2 Le principe actif (Bésylate d'amolodipine)	43
III.3.3 Tensioactifs	44
III.3.4 Solvants organiques (C ₂ H ₂ Cl ₂)	44
TROISIEME PARTIE	46
III.4 CARACTERISATIONS DES MATIERES PREMIERES.....	46
III.4.1. Caractérisations physicochimiques des polymères (HPMC - Eudragit [®] –PEG6000)	46
III.4.2. Caractérisations physicochimiques de bésylate d'amolodipine	47

Chapitre IV : Protocol expérimental

PROTOCOL EXPERIMENTAL	52
IV.1.INTRODUCTION.....	52
IV.2.MISE EN ŒUVRE DU PROCEDE DE LA MICROENCAPSULATION	52
IV.3.OPTIMISATION DES PARAMETRES D'ENCAPSULATION	53
IV.5.OPTIMISATION DES PARAMETRES D'ENCAPSULATION	56
IV.6.ETUDE DE LA CINETIQUE DE LIBERATION IN VITRO D'BESYLATE D'AMLODIPINE	56

Chapitre V : Caractérisation des microparticules

CARACTERISATION DES MICROPARTICULES	57
V.1 PHYSICOCHIMIQUES	57

V.1.1.Par infrarouge	57
----------------------------	----

Chapitre VI : Résultats et discussion

RESULTATS ET DISCUSSION	60
VI.1. EFFICACITE DE L'ENCAPSULATION	60
VI.2. INFLUENCE DU PH DE LA PHASE CONTINUE SUR L'EFFICACITE DE L'ENCAPSULATION :	62
VI.3 .VARIATION DU TAUX DE TENSIOACTIF : A PH=7,4.....	63
VI.4. INFLUENCE DE PH A TEMPERATURE AMBIANTE	64
VI.5. INFLUENCE DU PH A TEMPERATURE 10°C.....	64
PRESENTATION DES RESULTATS DES CINETIQUES DE LIBERATION DE BESYLATE D'AMLODIPINE	66
MODELES CINETIQUES.....	75
SYNTHESE ET INTERPRETATIONS DES RESULTATS	89
I- CONCEPTION GENERALE	89
II- ETUDE DE LA DISSOLUTION IN VITRO	89
II-1 Paramètres influençant la libération de Bésylate d'amlopidine incorporé dans les microparticules	89
II-2 Influence des propriétés mécanique des polymères utilisés	89
II-3 Influence de la porosité de la matrice	93
II-4 Rendement d'incorporation de Bésylate d'Amlodipine dans les microparticules	94
CONCLUSION	99
Référence bibliographique	
Annexes	

INTRODUCTION

Certaines nouvelles molécules, à fort potentiel thérapeutique ne sont pas développées en raison de leurs propriétés physico-chimiques, qui limitent la fraction circulant sous forme active après administration orale. Une alternative technologique consiste à piéger ces molécules dans des vecteurs particuliers, afin de modifier leur devenir *in vivo* et d'améliorer leurs performances. Des résultats précliniques prometteurs ont été obtenus grâce à cette technologie qui rend envisageable l'administration orale de ces principes actifs.

L'enjeu consiste maintenant à optimiser ces assemblages principe actif/transporteur afin d'améliorer encore les propriétés biopharmaceutiques de ces molécules, tout en concevant des procédés de fabrication simples et industrialisables.

La voie orale est la voie d'administration de choix des médicaments, car elle est la plus naturelle et la plus confortable pour le patient, permettant de garantir au mieux le suivi des prescriptions. Toutefois, l'administration orale d'un nombre important de nouvelles molécules actives, issues des étapes de screening pharmacologique, révèle une faible biodisponibilité d'après les premières études pharmacocinétiques.

Le potentiel thérapeutique de ces molécules est en fait limité par leurs caractéristiques physicochimiques, peu favorables à leur passage dans la circulation systémique. Certaines sont peu stables en milieu physiologique et sont rapidement dégradées dans l'environnement acide de l'estomac ainsi que sous l'action des nombreuses enzymes présentes tout au long du tractus digestif (peptides et protéines thérapeutiques). D'autres sont très peu solubles en milieu aqueux et/ou peu perméables vis-à-vis des membranes biologiques et sont donc mal absorbées au niveau de la muqueuse intestinale. Enfin, la mise en évidence d'un important effet de premier passage hépatique, peut stopper le développement d'une nouvelle molécule dès les phases précliniques.

Diverses solutions sont proposées afin d'améliorer la biodisponibilité orale des médicaments.

La vitesse de dissolution des molécules peu solubles peut être améliorée en réduisant la taille des particules de principe actif et en augmentant ainsi leur surface spécifique, grâce à des stratégies telles que la micronisation. [1]

Pour assurer une concentration stable du principe actif dans l'organisme au cours de la durée du traitement, des systèmes à libération programmée ou des systèmes à libération prolongée ont été mis au point. Pour cela le principe actif est formulé avec, ou emprisonné dans des matériaux biocompatibles, inertes et biodégradables. Sa libération se fera de manière progressive, avec une vitesse contrôlée, et souvent près de la cible ou du récepteur.

La libération contrôlée d'un médicament se produit quand un polymère est judicieusement combiné à un principe actif de façon que ce dernier soit libéré dans des conditions spécifiques à l'action du principe actif visant à mieux le protéger. Elle est déclenchée généralement une fois la formulation est en contact avec le milieu environnant.

Les systèmes enzymatiques et l'acidité des fluides gastro-intestinaux présentent les premiers éléments qui amorcent le relargage du principe actif. Dans tous les cas, la libération contrôlée doit assurer:

- L'augmentation de la durée d'action du principe actif en maintenant sa concentration dans l'organisme supérieure à la concentration minimale efficace le plus longtemps possible.
- La diminution de la toxicité du produit en réduisant la hauteur du pic de concentration dans l'organisme.

Les microcapsules sont des produits à fortes valeur ajoutée, dont les propriétés sont nombreuses, et délicates à maîtriser toutes à la fois. Si l'étape de formulation a pour objectif de trouver la recette optimale pour répondre le mieux possible au cahier des charges, le type de procédé de fabrication choisi doit garantir une production homogène dans le temps, sans écarts par rapports aux propriétés attendues.[2]

Dans cet objectif est née l'idée de retarder la libération de l'amlodipine par l'élaboration des formulations à effet prolongée pharmaceutiquement acceptable (HPMC, EUDRAGIT[®], PEG6000) ou le travail est structuré en plusieurs étapes. Les deux premiers chapitres sont consacré à des rappels bibliographiques, le troisième est désigné pour la présentation des méthodes et la caractérisation des matières premières, qui sont destinées par la suite à l'élaboration de formulations à libération prolongée.

La partie expérimentale est consacrée à la caractérisation des microparticules, et la dernière thématique de notre sujet est réservée à l'étude de la cinétique de relargage de l'amlodipine dans différentes conditions, simulant le compartiment physiologique.

Généralités sur les maladies cardiovasculaires

I.1. INTRODUCTION

Les maladies cardio-vasculaires sont la première cause de mortalité dans le monde, il meurt chaque année plus de personnes en raison de maladies cardio-vasculaires que de toute autre cause. [3]

On estime à 17,3 millions le nombre de décès imputables aux maladies cardio-vasculaires, soit 30% de la mortalité mondiale totale. [3] Parmi ces décès, on estime que 7,3 millions sont dus à une cardiopathie coronarienne et 6,2 millions à un AVC (statistiques 2008). [4] Plus de 80% des décès interviennent dans des pays à revenu moyen ou faible et touchent presque également hommes et femmes.

D'ici 2030, près de 23,3 millions de personnes mourront d'une maladie cardio-vasculaire (cardiopathie ou AVC principalement). D'après les projections, ces maladies devraient rester les premières causes de mortalité dans le monde. [3][5]

Il est possible de prévenir la plupart des maladies cardiovasculaires en s'attaquant aux facteurs de risque tels que le tabagisme, une mauvaise alimentation et l'obésité, le manque d'activité physique, l'hypertension artérielle, le diabète et l'hyperlipidémie. Les statistiques avancent un chiffre de 9,4 millions de décès chaque année, soit 16,5% de l'ensemble des décès, peuvent être attribués à l'hypertension artérielle. [6] Celle-ci est ainsi responsable de 51% des décès dus aux AVC et de 45% des décès dus aux cardiopathies coronariennes. [7]

I.2. QUE SONT LES MALADIES CARDIO-VASCULAIRES ?

L'expression « maladie cardiovasculaire » englobe plusieurs pathologies de l'appareil circulatoire, constitué du cœur et des vaisseaux sanguins, qui alimentent les poumons, le cerveau, les reins ou d'autres parties du corps.

I.2.1 Les maladies cardiaques

Ces pathologies concernent :

- **les valves cardiaques** : les plus fréquentes sont les atteintes des valves aortique et mitrale ; elles provoquent des rétrécissements ou des fuites – appelées insuffisances – ou les deux associés.

La cause des lésions valvulaires était autrefois surtout infectieuse. Aujourd'hui, les maladies de dégénérescence de valves liées à l'âge (rétrécissement aortique et insuffisance mitrale) sont devenues les plus fréquentes.

- **le cœur** : ces maladies peuvent s'attaquer au muscle cardiaque lui-même : ce sont les cardiomyopathies. Elles peuvent avoir des causes multiples : génétiques, toxiques, infectieuses ou bien résulter d'une « surcharge » du cœur en cas d'HTA sévère ou d'un rétrécissement aortique. Elles finissent par aboutir à une insuffisance cardiaque.

I.2.2 Les maladies vasculaires

Ces pathologies concernent les vaisseaux qui sont:

- les artères coronaires (désignées couramment par le terme «les coronaires») qui sont les vaisseaux nourriciers du cœur.
- ou les gros vaisseaux comme l'aorte et ses branches artérielles qui distribuent le sang à l'organisme.

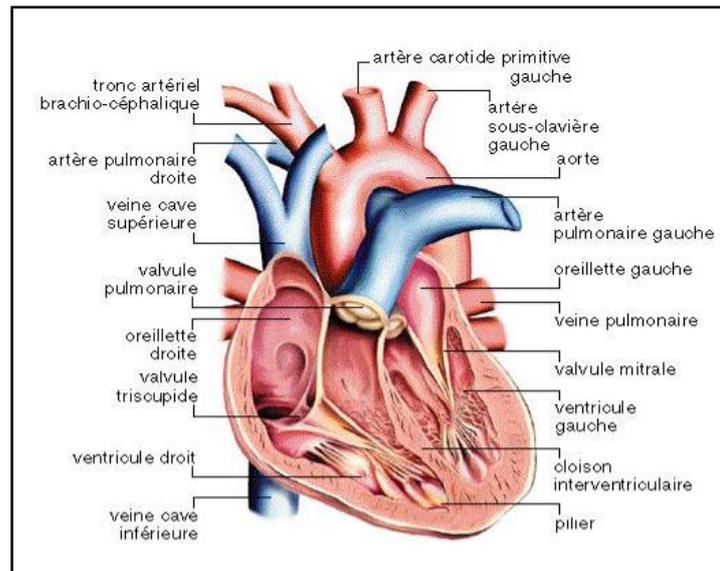


Figure I.1 : Schéma anatomique du muscle du cœur, des artères et des veines

Les maladies cardio-vasculaires constituent un ensemble de troubles affectant le cœur et les vaisseaux sanguins, qui comprennent :

1. La **cardiopathie ischémique**, le type de maladie cardiovasculaire le plus répandu dans plusieurs pays industrialisés, se rapporte à des problèmes d'irrigation sanguine du muscle cardiaque. Un blocage partiel d'une artère coronaire, ou des deux, peut entraîner une insuffisance de sang oxygéné (ischémie), provoquant des symptômes comme l'angine de poitrine (douleur thoracique) et la dyspnée (essoufflement). Le blocage complet d'une artère provoque une nécrose (dommage aux tissus) ou un infarctus du myocarde, couramment appelé crise cardiaque.

-Définition de l'angine de poitrine ou l'angor

L'expression « angine de poitrine » se rapporte à une sensation de douleur ou de malaise à la poitrine. L'angine de poitrine se produit quand le muscle du cœur ne reçoit pas assez de sang et par conséquent, pas assez d'oxygène, pour fonctionner normalement. Elle est généralement causée par le durcissement des artères, et elle peut être stable ou instable.

- L'angine de poitrine stable a un comportement régulier. L'activité physique ou le stress émotionnel peuvent souvent déclencher la douleur de l'angine. L'angine de poitrine

stable se contrôle habituellement en prenant des médicaments ou en mettant fin à l'activité.

- L'angine de poitrine instable est moins prévisible. La douleur peut se produire en tout temps, même pendant le sommeil.
- 2. La **maladie cérébrovasculaire** désigne un problème de circulation sanguine dans les vaisseaux du cerveau. Un blocage dont les effets durent moins de 24 heures est appelé un accident ischémique transitoire. Un blocage complet avec des effets à long terme constitue une thrombose cérébrovasculaire ou un accident vasculaire cérébral (AVC). Parfois, un vaisseau sanguin peut éclater dans le cerveau, causant des effets à long terme.
- 3. La **maladie vasculaire périphérique** affecte principalement la circulation sanguine dans les jambes. Les personnes atteintes se plaignent habituellement de douleurs aux mollets, en particulier en marchant.
- 4. L'**insuffisance cardiaque** survient lorsque l'activité de pompage du cœur ne permet pas d'atteindre le niveau de circulation sanguine dont le corps a besoin. Cet état peut être la conséquence de dommages au muscle cardiaque, par exemple une crise cardiaque, d'une consommation excessive d'alcool, ou d'une maladie du muscle cardiaque appelée myocardiopathie. Les personnes atteintes d'insuffisance cardiaque éprouvent habituellement un essoufflement et une enflure des jambes.
- 5. Le **rhumatisme cardiaque** : demeure un grave problème dans de nombreux pays pauvres. La maladie a son origine dans une infection bactérienne subie pendant l'enfance, qui affecte les articulations et les valvules cardiaques. Les problèmes cardiaques se manifestent de nombreuses années plus tard, et il faut souvent procéder à une intervention pour remplacer les valvules. D'autres infections peuvent attaquer les tissus internes du cœur, y compris les valvules (endocardite), ou l'enveloppe externe du cœur (péricardite).
- 6. La **cardiopathie congénitale** désigne un problème de structure du cœur, découlant d'une anomalie présente à la naissance. Il peut s'agir d'une anomalie très simple, comme une petite perforation de la paroi interne du cœur, ou d'un problème très complexe affectant la circulation sanguine dans le cœur et les poumons. Certaines cardiopathies congénitales peuvent causer automatiquement le décès si l'on ne procède pas à une intervention chirurgicale immédiate pour les corriger. D'autres entraînent un degré variable d'invalidité, et peuvent être traitées par chirurgie au laser à un âge ultérieur, exigeant parfois plusieurs interventions.

I.3.FACTEURS DE RISQUES

Ce sont les mêmes pour tous les accidents qu'ils soient coronariens ou vasculaires : l'hypertension artérielle, l'excès de cholestérol, le tabac, l'obésité et plus généralement le mode de vie (sédentarité et alimentation déséquilibrée). Le diabète non ou mal traité est également un facteur de risque important.

Plusieurs facteurs peuvent influencer l'apparition de troubles cardiovasculaires. Certains ne sont pas modifiables, comme l'âge et l'hérédité (au moins deux cas de MCV précoces dans la famille), mais d'autres facteurs le sont. Le niveau de risque peut être réduit

par la modification du mode de vie. L'état de santé peut également influencer le développement des MCV. Ces facteurs se subdivisent en plusieurs catégories :

-Facteurs associés au mode de vie

- Tabagisme
- Obésité
- Inactivité physique
- Consommation excessive d'alcool
- Stress chronique

-Facteurs associés à l'état de santé

- Hypertension artérielle
- Fréquence cardiaque élevée
- Faible taux de "bon" cholestérol (HDL)
- Taux élevé de "mauvais" cholestérol (LDL)
- Excès de triglycérides (TG) (graisses de réserve)
- Taux élevé d'homocystéine (parfois héréditaire)
- un apport insuffisant de vitamines B6, B9 et B12 qui influence le stress)
- le diabète

I.4. LES MEDICAMENTS CARDIOVASCULAIRES

I.4.1. Les antagonistes calciques

Les antagonistes calciques [9] jouent un rôle important dans le traitement de l'hypertension artérielle depuis plus de 20 ans. Introduits à la fin des années 1970 et au début des années 1980, les antagonistes calciques représentent une des quatre principales classes médicamenteuses utilisées pour le traitement de l'hypertension, les autres étant les diurétiques, les β -bloquants et les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine 1.

Les propriétés pharmacologiques des antagonistes calciques permettent de les classer en trois grandes classes : les phénylalkylamines dont le chef de file est le vérapamil, les benzothiazépines dont le seul représentant est le diltiazem, et les phényldihydropyridines dont le chef de file est la nifédipine. Les deux premières d'entre elles présentent un tropisme à la fois myocardique et vasculaire et la troisième, un tropisme principalement vasculaire.

Aujourd'hui, la classification de TOYO-OKA T, NA YIER WG, [10] permet de distinguer trois générations d'antagonistes calciques, en fonction de leurs propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques, et de tenir compte aussi des sélectivités d'action, artérielle ou cardiaque.

- Les antagonistes calciques de première génération

Les antagonistes calciques de première génération sont caractérisés par une rapidité d'action conduisant à une activation neurohumorale (activation sympathique réflexe induite par la vasodilatation périphérique), une demi-vie d'élimination courte expliquant une durée

d'action brève, nécessitant des administrations multiples, des effets dromotrope et inotrope négatifs, une contre-indication chez les patients ayant une dysfonction du ventricule gauche ou ceux ayant eu un infarctus du myocarde.

- Les antagonistes calciques de deuxième génération

Les antagonistes calciques de deuxième génération sont divisés en 2 sous-classes:

1. la sous-classe (II-a) résulte de l'apport de nouvelles formulations galéniques comme le comprimé osmotique de nifédipine,
2. la sous-classe (II-b) comprend de nouvelles molécules chimiques à demi-vie intermédiaire (isradipine, nitrendipine).

Ils présentent par rapport à ceux de première génération des propriétés pharmacodynamiques et pharmacocinétiques améliorées, une sélectivité vasculaire accrue, une durée d'action prolongée, une fréquence moindre d'effets secondaires dus à la vasodilatation, des effets dromotrope et inotrope négatifs réduits.

Cependant, ils présentent encore des inconvénients : leur biodisponibilité reste faible ; leur effet sur la pression pendant les 24 h est très fluctuant; une perte d'efficacité est observée à moyen terme; ils activent de façon intermittente le système nerveux autonome.

- Les antagonistes calciques de troisième génération

Les antagonistes calciques de troisième génération (amlodipine, lacidipine) sont caractérisés par une affinité hautement spécifique pour le site de liaison au canal calcique et une longue durée d'action soit en raison d'une demi-vie très longue (égale à 34 ± 5 h pour l'amlodipine), soit en raison d'une mise en réserve au sein de la membrane cellulaire (lacidipine). Ils entraînent une diminution progressive de la pression et un effet prolongé sur 24 h.

I.4.2. Mécanisme d'action des dihydropyridines

Les sites d'action des dihydropyridines sont localisés dans:

I.4.2.1-Les canaux calciques

Le calcium sous sa forme cationique (Ca^{2+}) joue un rôle fondamental dans les régulations cardiovasculaires. L'entrée du calcium est nécessaire à la contraction myocardique. Le tonus des fibres musculaires lisses de la paroi vasculaire détermine les résistances vasculaires, et la pénétration intracellulaire du calcium est indispensable à la vasoconstriction. Dans l'hypertension artérielle, la teneur en calcium intracellulaire et sa mobilisation sont anormales. L'augmentation du calcium intracellulaire favorise la contraction musculaire, conduisant à l'élévation des résistances périphériques et de la pression artérielle.

Il existe actuellement quatre types de canaux calciques activés par dépolarisation: les canaux L, N, T, P. Les canaux calciques sont des complexes multimériques dont les sous-

unités α , essentielles à l'activité du canal proprement dite, comportent environ 2000 résidus amino-acyles. [11]

Le canal calcique le plus connu est le canal de type L (L pour long lasting car leur temps d'ouverture est relativement long). Il est présent principalement sur les cellules myocardiques, les cellules musculaires lisses, les cellules endocrines et certains neurones.

Les canaux calciques de type L sont hétérogènes et leur fonction est différente dans les muscles squelettiques et cardiaques. (Figure I.2)

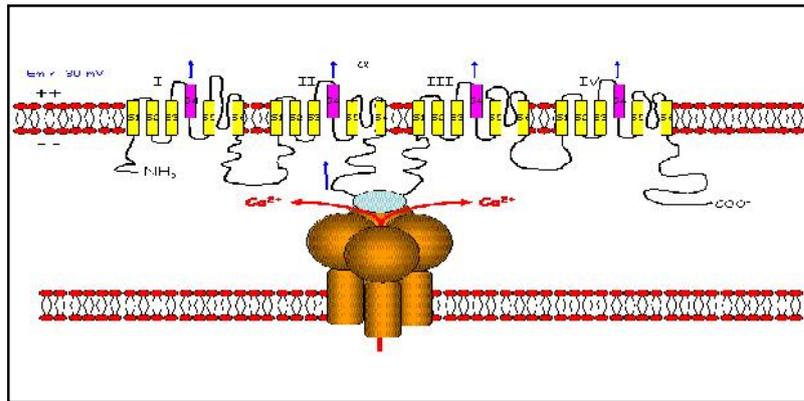


Figure I.2 : Canal calcique de type L

Dans le muscle cardiaque, la présence de calcium extracellulaire, l'entrée de calcium et sa fixation sur la troponine sont nécessaires à la contraction. Celle-ci est inhibée par les dihydropyridines.

Pour les muscles squelettiques, le couplage excitation-contraction ne nécessite pas de calcium extracellulaire et est insensible aux dihydropyridines.

Le canal L squelettique présent sur la membrane plasmique (au niveau des tubules transverses) lie cependant les dihydropyridines et il est appelé "récepteur des dihydropyridines". Ce récepteur est activé par le potentiel d'action propagé le long de la membrane des tubules transverses. Il stimule un canal calcique de la membrane du réticulum.

Ce canal s'ouvre et le calcium stocké dans le réticulum passe dans le cytoplasme pour induire la contraction.

I.4.2.2-Mécanisme d'action des dihydropyridines

Chaque classe d'antagonistes calciques se fixe sur son récepteur spécifique. Les dihydropyridines, molécules très lipophiles, atteignent leur site de liaison sur la protéine canalaire par voie transmembranaire. Elles interagissent préférentiellement avec le canal calcique quand celui-ci est à l'état inactivé. Cette situation prévaut dans des tissus où existe

une dépolarisation persistante tels que le tissu vasculaire soumis à un tonus vasoconstricteur permanent. Cette activité préférentielle des dihydropyridines sur les canaux à l'état inactivé explique qu'elles exercent des effets plus marqués au niveau des vaisseaux qu'au niveau du cœur.

L'activité des dihydropyridines résulte de la relaxation de la cellule musculaire lisse des vaisseaux induite par l'inhibition de l'entrée de calcium dans la cellule musculaire ; il s'ensuit une vasodilatation responsable de la diminution des résistances périphériques totales et de la diminution de la pression artérielle. [12]

1-Mode d'action de l'Amlodipine (bésylate)

Est un inhibiteur de l'entrée des ions calcium dans la cellule (antagoniste du calcium ou inhibiteur calcique) appartenant à la classe des dihydropyridines.

L'amlodipine inhibe de façon sélective le passage des ions calcium à travers la membrane cellulaire, plus particulièrement celle du muscle lisse vasculaire plutôt que celle du muscle cardiaque. L'amlodipine n'altère pas la concentration plasmatique du calcium. À pH physiologique, l'amlodipine est un composé ionisé; son interaction cinétique avec les récepteurs des canaux calciques se caractérise par sa fixation graduelle aux récepteurs suivie de la dissociation de ces derniers. Les données expérimentales nous permettent de croire que l'amlodipine se fixe à la fois aux récepteurs spécifiques des dihydropyridines et aux autres récepteurs. [13]

- A. Effet sur l'hypertension :** L'amlodipine abaisse la tension artérielle en entraînant une vasodilatation artérielle périphérique et en réduisant la résistance vasculaire.
- B. Angine de poitrine :** On n'a pas entièrement élucidé le mode d'action de l'amlodipine pour soulager l'angine de poitrine. L'amlodipine (Bésylate) est un vasodilatateur des artères et des artérioles périphériques. Elle abaisse donc la résistance vasculaire totale, réduisant ainsi le travail du cœur (postcharge). On croit que cette réduction de la postcharge atténue l'ischémie et soulage l'angine d'effort en diminuant les besoins en oxygène du myocarde ainsi que sa consommation d'oxygène.

2-Pharmacocinétique et métabolisme

L'amlodipine subit une biotransformation sous la médiation du cytochrome P450, principalement par l'intermédiaire de l'isoenzyme CYP 3A4. Après l'administration orale de doses thérapeutiques d'amlodipine, l'absorption se fait graduellement; la concentration plasmatique maximale est atteinte en 6 à 12 heures.

On a estimé que la biodisponibilité absolue du médicament se situerait entre 64 et 90 %. Elle n'est pas altérée par les aliments.

L'amlodipine est en grande partie transformée en métabolites inactifs (90 % environ) par le foie; 10 % de la molécule-mère et 60 % des métabolites sont excrétés dans l'urine. Des études ex vivo ont révélé qu'environ 93 % du médicament circulant se lie aux protéines plasmatiques chez l'hypertendu.

Généralité sur les maladies cardiovasculaires

L'élimination plasmatique se déroule en 2 phases; la demi-vie d'élimination terminale se situe entre 35 et 50 heures. La concentration plasmatique de l'amlodipine atteint l'état d'équilibre après 7 à 8 jours de traitement quotidien. Une atteinte rénale n'altère pas de façon marquée la pharmacocinétique de l'amlodipine. Chez des patients atteints d'insuffisance rénale modérée ou grave, la concentration plasmatique était plus élevée que celle des sujets sains. Chez tous les patients, le degré d'accumulation et la demi-vie d'élimination moyenne se sont révélés semblables à ce que l'on a observé à l'issue d'autres études sur la pharmacocinétique de l'amlodipine chez des sujets sains.

Chez des hypertendus âgés (69 ans en moyenne), on a observé une baisse de l'élimination plasmatique de bésylate d'amlodipine comparativement à ce que l'on a observé chez des volontaires plus jeunes (36 ans en moyenne) avec pour résultat, une hausse d'environ 60 % de l'aire sous la courbe (ASC).

Après l'administration orale d'une dose unique de 5 mg d'amlodipine à des patients atteints d'une insuffisance chronique, légère ou modérée, de la fonction hépatique, on a observé une hausse de 40 % environ de l'aire sous la courbe (ASC) de bésylate d'amlodipine, comparativement à des volontaires sains.

Cette hausse s'explique probablement par une baisse du coefficient d'élimination de l'amlodipine, étant donné que la demi-vie d'élimination du médicament est passée de 34 heures chez de jeunes sujets sains à 56 heures chez des patients âgés atteints d'insuffisance hépatique. [14]

Généralité sur les maladies cardiovasculaires

Tableau I.1: Spécialités, principes actifs cardiovasculaires et leurs valeurs pharmacocinétiques et pharmacodynamiques

DCI	Nitrendipine	Amlodipine	Isradipine	Caldine	Lercanidipine
Spécialité	Nidrel® Baypress®	Amlor® Vaskyl®	Izar® LP 10	Lacidipine	Lercan® Zanidip®
Présentation	cp 10-20mg	gél 5-10 mg	cp 5-10mg	cp 2 mg cp 4 mg	cp 5-10 mg
Absorption p.o. Biodisponibilité T ½ (élim.)	80 % 10-50 % 12 h	60-65 % 35- 50 h	95 % 17 % 9 h	95 % 2 - 9 % 10 - 35 h	80 % 10 - 20 % 12 - 24 h
Durée d'action	16 h	>24 h	-	> 24 h	> 24 h
Elimination : -> rénale -> fécès	15 % 77 %	60 % 25 %	70 % 30 %	30 % 70 %	70 % 30 %
Fixation protéique	80 %	97 %	97 %	> 95 %	97 %
Posologie HTA	10-40 mg/j (1- 2 prises)	5-(10) mg/j (1 prise)	LP 10 mg/j (1 prise) 5- 20 mg/j (2 prises)	6 mg (1 prise)	10 mg (1 prise)
Posologie Angor	-	5-10 mg/j (1 prises)	7.5-22.5 mg/j (2-3 prises)	-	-
Autres indications	-	-	-	-	-
Métabolisme	Foie	Foie	Foie	Foie	Foie
(x) : contre-indication en cas d'altération de la fonction VG · : usage hospitalier strict · : cardiomyopathie obstructive Sl : Sub lingual TSV : tachycardie supra-ventriculaire °° : Métabolismes actifs T1/2 : ½ vie d'élimination Cor : coronaire					

3-Pharmacodynamie:

Après l'administration des doses recommandées chez l'hypertendu, l'amlodipine produit une vasodilatation qui entraîne une baisse de la tension artérielle en décubitus et en station debout. Cette baisse de la tension artérielle ne s'associe à aucune altération importante de la fréquence cardiaque, ni de la concentration plasmatique des catécholamines lors d'un traitement prolongé.

L'administration prolongée d'une dose quotidienne unique par la voie orale (5 à 10 mg/jour) permet d'obtenir un effet antihypertenseur efficace durant l'intervalle posologique de 24 heures, avec un écart minimal entre les pics et les creux de la concentration plasmatique. Étant donné que l'amlodipine entraîne une vasodilatation graduelle, on a rarement rapporté des cas d'hypotension aiguë avec son administration orale. Chez les sujets normotendus souffrant d'angine de poitrine, l'amlodipine ne s'est associée à aucune baisse importante clinique de la tension artérielle, ou à aucune altération de la fréquence cardiaque.

Chez l'humain, on n'a pas observé d'effet inotrope négatif après l'administration d'amlodipine aux doses recommandées; mais cet effet a été observé chez l'animal de laboratoire.

L'évaluation hémodynamique de la fonction cardiaque au repos et à l'effort (ou après une stimulation) chez des angineux dont la fonction ventriculaire était normale, a démontré une légère hausse de l'indice cardiaque sans effet marqué sur l'indice dP/dt ni sur la pression ou le volume télédiastolique du ventricule gauche.

Chez des hypertendus ayant une fonction rénale normale, l'administration de doses thérapeutiques de bésylate d'amlodipine a entraîné une baisse de la résistance vasculaire rénale et une augmentation de la filtration glomérulaire et du débit plasmatique rénal efficace sans altérer la fraction de filtration.

4. Indications et usage clinique de l'amlodipine

- Hypertension

Le bésylate d'amlodipine est indiqué pour le traitement de l'hypertension essentiellement légère ou modérée.

On a constaté que l'on peut associer à un diurétique, à un bêtabloquant ou à un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine II et que cette association ou bithérapie produit un effet antihypertenseur additif.

- Angine chronique stable

Ce principe actif est indiqué pour le traitement de l'angine chronique stable (angine d'effort) chez les patients qui demeurent symptomatiques malgré l'administration de doses suffisantes d'un bêtabloquant ou d'un dérivé nitré ou encore, chez ceux qui ne peuvent tolérer ces agents.

On peut faire l'essai de bésylate d'amlodipine en association avec un bêtabloquant pour traiter les patients atteints d'angine chronique stable dont la fonction ventriculaire est normale. Quand on établit un tel traitement, on doit prendre soin de surveiller de près la tension artérielle, car une telle association peut causer à la limite une hypotension.

5. Interactions médicamenteuses

Comme pour tout autre médicament, on doit faire preuve de prudence quand on traite des patients qui prennent déjà plusieurs autres médicaments. Les inhibiteurs calciques de la classe des dihydropyridines subissent une biotransformation sous la médiation du récepteur cytochrome P450, principalement par l'intermédiaire de l'isoenzyme CYP 3A4.

L'administration de bésylate d'amlodipine en concomitance avec d'autres médicaments qui empruntent la même voie de biotransformation, a pour effet de modifier la biodisponibilité de l'amlodipine ou des autres médicaments. Quand on amorce ou que l'on interrompt l'administration concomitante d'amlodipine, il peut être nécessaire d'ajuster la posologie des médicaments métabolisés de la même manière. Notamment ceux dont l'indice

thérapeutique est faible, afin de maintenir une concentration thérapeutique optimale dans le sang; cela est particulièrement important dans les cas d'atteinte rénale ou hépatique.

Ce rappel sur l'amlodipine montre que malgré l'apparition de nouvelles formes pharmaceutiques, l'augmentation de la biodisponibilité et la prolongation de la durée d'action de bésylate d'amlodipine sont deux paramètres à améliorer afin de mieux contrôler le niveau de la pression artérielle. [15]

L'utilisation d'une nouvelle forme galénique pourrait être un moyen d'y parvenir; nous avons choisi d'incorporer bésylate d'amlodipine dans des vecteurs colloïdaux polymères tels que les microcapsules ou les microsphères.

II.1. INTRODUCTION

Depuis les années 70, **Langer et Folkman [16]** ont montré l'utilité thérapeutique de la libération contrôlée des médicaments, ce concept a eu un impact important dans toutes les branches de la médecine [17]

Durant cette période aussi, des systèmes de vectorisation des médicaments implantables ont été développés pour remplacer les systèmes traditionnels, comme les pilules et les injections hypodermiques. Parmi les implants disponibles actuellement, on trouve les norplant et divers pompes, comme la pompe d'insuline. Il existe aussi des pompes implantables qui ont été développées pour le traitement de divers maux, à savoir le diabète et le cancer. Ces pompes servent à réduire le besoin des doses de l'insuline répétées ou des injections de la chimiothérapie. Elles peuvent aussi fournir des prises de sang pour analyse sans utiliser les systèmes de prélèvement traditionnels [18]

Depuis la fin des années 80 jusqu'à présent, l'activité immense et le succès clinique des micro-thérapeutiques est dû à trois facteurs principaux. Le premier était le concept de « PEGylation » (conjugué de polyéthylène glycol-principe actif), le second facteur était le concept « ciblage actif » du principe actif, et enfin le troisième facteur était le concept « ciblage passif » qui a été découvert par Hiroshi Maeda [19] où des vecteurs de micro-échelles ont été enfermés dans des tumeurs.

Récemment, comme un résultat de développement de la micro technologie, une nouvelle génération de polymères a émergé, elle utilise des matériaux et des dispositifs à l'échelle de micro-mètre pour transporter des peptides, des médicaments, des gènes et des oligonucléotides.

Ces matériaux vecteurs englobent des liposomes, dendrimères, micelles polymériques, les complexes polymère-ADN et d'autres microparticules. Cette nouvelle génération de vecteurs peuvent protéger les agents actifs de la dégradation dans les liquides biologiques et favorisent la pénétration intracellulaire des substances actives. Ces vecteurs assurent aussi le transport des agents actifs vers leurs sites d'action. [20], [21]

Plus récemment, c'est le développement des vecteurs de médicaments, qui utilisent des microparticules composés de polymères biodégradables, qui a été le plus ciblé par de nombreux chercheurs dans le domaine pharmaceutique. Ces systèmes peuvent se présenter sous forme d'une matrice polymère (dite microsphère) ou sous forme d'un système réservoir dans lequel un milieu huileux ou aqueux est entouré d'une membrane polymérique (micocapsule). Ce type de vecteur présente certains avantages, par comparaison aux liposomes à cause de leur stabilité pendant le stockage et dans le corps vivant (i.e. in vivo). [20]

II.2. CONCEPT GENERAL DE LA VECTORISATION DE PRINCIPES ACTIFS

Lorsqu'un principe actif est administré, seul une très petite fraction de la dose arrive réellement à atteindre les récepteurs ou les sites d'action appropriés, alors que le reste de la

dose est perdue un peu partout entre le point d'administration et le site d'action dans l'organisme vivant. [22]

Pour minimiser la dégradation et la perte de masse du principe actif, prévenir les effets secondaires indésirables ou nocifs, augmenter la biodisponibilité et l'accumulation du principe actif dans la zone pathologique, divers systèmes de vectorisation de principes actifs ont été développés. [23]

La réussite des systèmes de vectorisation de médicaments nécessite une collaboration entre plusieurs spécialistes de domaines différents qui sont les chimistes, pharmaciens, les physiologistes et les cadres biomédicaux. [18], [24]

Le concept de la libération contrôlée regroupe tout système exerçant un contrôle soit spatial, soit temporel ou bien les deux à la fois sur la libération d'un principe actif. Le contrôle temporel signifie le choix d'une cinétique de libération prédéterminée durant le traitement. Le contrôle spatial a comme objectif de diriger un principe actif précisément vers son site d'action désiré. [21], [24]

La vectorisation de principes actifs est une science et une technologie nouvelles, qui sont très appliquées pour les systèmes à libérations contrôlées, et comportent plusieurs avantages relativement aux systèmes classiques, à savoir :

- Le prolongement de la durée d'action par le piégeage du principe actif dans la matrice vecteur. [25]
- La diminution de la dose requise pour l'action, et l'amélioration du confort du patient. [17]
- La vectorisation localisée du principe actif, en d'autres termes le vecteur peut être un système à libération ciblée. Dans ce cas le principe actif peut être dirigé directement vers le site où il doit exercer un effet thérapeutique. Pour cela, les vecteurs en questions sont conçus afin de ne libérer les principes actifs, que sous l'effet de certains facteurs bien précis (pH, température, concentration...). De tels systèmes sont destinés spécialement à la vectorisation des principes actifs toxiques qui sont à l'origine de divers effets secondaires. [18], [26], [27]
- La stabilisation du principe actif par le polymère qui peut le protéger dans le milieu physiologique (contre la dégradation par les enzymes, le pH du tractus gastro-intestinal, etc..) et par conséquent l'amélioration de sa stabilité in vivo. Ce type de vecteurs est particulièrement intéressant pour la vectorisation des principes actifs de faibles durées de vie. [18], [26]
- Les systèmes à libération contrôlée sont conçus pour véhiculer des principes actifs à une vitesse spécifique, durant une période de temps bien définie, ce qui a pour but le maintien de son niveau de concentration dans la plage thérapeutique.

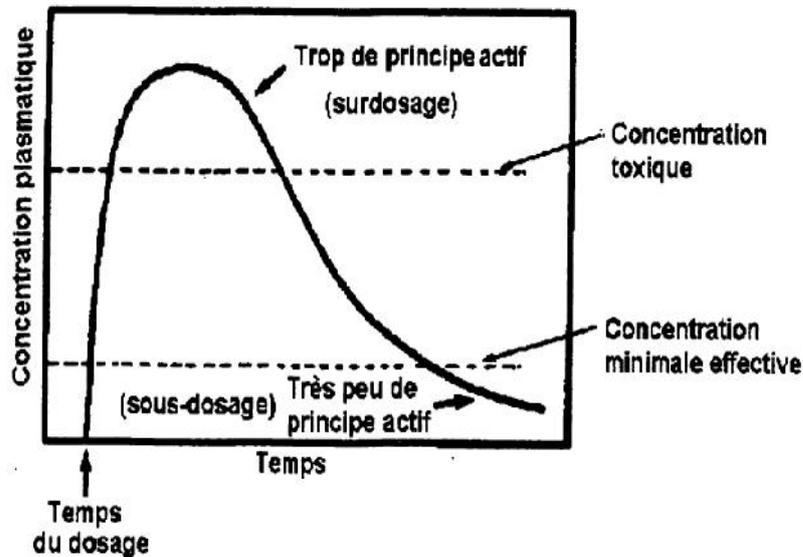


Figure II.1 : niveau de concentration dans la plage thérapeutique

II.3.LES SYSTEMES MATRICIELS

Le terme matrice a été utilisé la première fois par WIEGAND et TAYLOR [28], pour désigner un système décrit par CAMBELL et THEIVAGT. [29] Il s'agissait d'une préparation à base d'un principe actif (méthyle-sulfate d'hexocyclium) incorporé dans un plastique physiologiquement inerte. Le principe actif était libéré à raison de 46% la première heure, 36% les trois suivantes heures, puis la totalité vers la huitième heure.

C'est T. HIGUCHI [30] qui a mis l'accent sur cette forme en 1963 en faisant référence à une revue antérieure de LAZARUS et COOPER. [31]

En première approche, une matrice peut être définie comme étant une dispersion uniforme d'un principe actif dans un excipient. On l'oppose en général au système réservoir qui est de type membranaire. Cette définition reste simple et surtout incomplète. C'est pour cette raison que d'autres informations complémentaires sont utiles pour mieux cerner la définition et la classification des matrices. [32] Notamment la nature chimique du support qui forme le réseau de la matrice et qui peut être polymérique, lipidique ou minéral.

Le principe actif peut être dissous à l'état moléculaire ou dispersé à l'état particulaire dans le support matriciel. Il peut y avoir un équilibre entre ces deux états du principe actif, dans des proportions dépendant de sa solubilité dans le support matriciel. En ce qui concerne le comportement des matrices formées en contact avec le milieu, c'est leur résistance à la désagrégation qui semble en premier responsable de la prolongation de la libération du principe actif. Donc un système matriciel ne doit pas se désagréger. Par contre, son volume peut augmenter par gonflement en contact avec le milieu ou au contraire il peut encore diminuer par érosion en fonction de la nature de l'agent matriciel. [33],[34]

Les matrices peuvent être destinées à toutes les voies principales d'administration. Mais c'est pour la voie orale qu'elles sont le plus utilisées. Le mode de libération du principe

actif à partir de la matrice dépend de sa nature : il peut intervenir par diffusion, par érosion ou par gonflement. Il arrive aussi que deux mécanismes interviennent simultanément.

Par définition : « Les matrices sont des supports constitués d'excipients physiologiquement tolérés ou biocompatibles, plus ou moins inertes et formant un réseau destiné à piéger le principe actif d'une manière uniforme et résistant à la désagrégation ». Elles sont surtout monolithiques (comprimés, capsules), mais aussi multi-particulaires (granulés, mini-granules, microsphères et mini-comprimés). Elles peuvent néanmoins subir avec le temps une biodégradation et être sujettes à la métabolisation puis à l'élimination dans l'organisme.

Les matrices sont caractérisées par la présence d'une dose unique ou multiple du principe actif, l'effet initial étant obtenu par dissolution rapide de celui-ci par plusieurs mécanismes tels que, la diffusion à travers la membrane polymérique selon le principe de la loi de Fick, d'abord vers la surface puis au sein de la partie liquidienne et physiologique. Sa libération se fait ensuite par épuisement progressif de la matrice qui peut subir plusieurs processus de dégradation par érosion.

II.3.1 Classification des matrices

La classification des matrices peut se baser sur différents critères tels que leur structure, leur comportement dans les milieux ou liquides digestifs, le mécanisme de la cinétique de libération du principe actif, ou encore la nature chimique et les propriétés des matériaux utilisés.

La classification la plus simple est celle donnée en fonction de la structure de la matrice. [35] On peut distinguer deux types :

Les matrices homogènes :

Sont formées d'une phase continue non poreuse dans laquelle le principe actif diffuse.

Les matrices hétérogènes :

Sont les particules du polymère entourées d'un réseau de canalicules. La libération a lieu par dissolution du principe actif dans le liquide baignant les pores selon D. LEFORT DES YLOUSES et C. BROSSARD. [36] Les matrices à libération prolongée sont des formes qui permettent une diffusion lente et continue des principes actifs tout au long du tube digestif.

La classification qui semble la plus retenue ici, est celle rapportée par C. Brossard [37] [38]; elle est basée sur la nature de l'agent matriciel constituant le squelette de la matrice ainsi que sur le comportement de celle-ci au contact du milieu ou des liquides digestifs. Selon cette classification on peut distinguer trois grandes catégories de matrices :

- Les matrices inertes
- Les matrices hydrophiles
- Les matrices érodables

II-3.2. Les matrices inertes

Les matrices inertes, appelées également insolubles ou « plastiques », sont constituées d'un support insoluble formant un réseau poreux dans lequel est dispersé le principe actif.

Elles sont caractérisées par le fait qu'elles ne subissent pas de modification de forme lors du transit gastro-intestinal. [36], [39] Elles assurent une libération prolongée grâce à leur structure poreuse, qui est un élément structurel de la forme galénique (squelette insoluble), et un mécanisme de libération du principe actif indépendant des conditions extérieures, et donc très peu influencé par les facteurs physiologiques.

Il est possible de moduler la vitesse de libération en modifiant seulement la structure poreuse de la matrice. La libération du principe actif à partir de la matrice se fait d'abord par la libération plus ou moins importante d'une dose initiale de surface, ensuite par l'épuisement graduel de la matrice en principe actif. La libération peut être schématisée en trois étapes :

- pénétration par capillarité du fluide environnant ou des liquides digestifs à travers la poudre médicamenteuse dispersée dans le réseau poreux de la matrice,
- dissolution progressive du principe actif,
- diffusion lente de la solution vers l'extérieur le long des canalicules de la matrice poreuse.

Parmi ces trois étapes qui ont lieu de façon concomitante, la dernière constitue le plus souvent l'étape contrôlant la cinétique de libération, comme le décrit Higuchi pour les matrices dites granulaires ou hétérogènes. (Figure II.2)

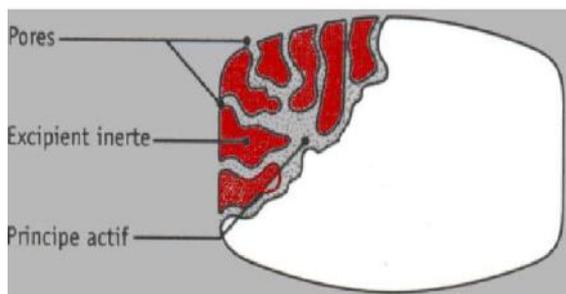


Figure II.2 : Schéma de libération du principe actif à partir d'une matrice inerte

Il est important de noter que la dose initiale de surface qui est libérée par dissolution rapide du principe actif est directement disponible, ce qui assure un début d'action immédiate.

Ensuite, la libération se poursuit par dissolution et diffusion continues le long des canalicules à l'intérieur du support jusqu'à épuisement de la matrice. Elle devra donc conserver son intégrité tout au long du processus.

La vitesse de libération du principe actif à partir des matrices plastiques dépend essentiellement, en plus des caractéristiques propres du principe actif, de la mouillabilité du polymère, ainsi que de la porosité et de la tortuosité du support du constituant matriciel.

En fonction de la nature de l'excipient insoluble constituant le réseau poreux, deux types de matrices inertes peuvent être distingués : les matrices minérales et les matrices plastiques.

II-3.2.1 les matrices minérales :

Les matrices minérales d'emploi assez rare, sont généralement constituées d'un excipient pulvérulent d'origine minérale en forte proportion, le ciment. Ce dernier assure l'inclusion du principe actif par durcissement au cours de la formation de la matrice.

II-3.2.2 Les matrices plastiques

Les matrices plastiques sont essentiellement composées de polymères thermoplastiques insolubles qui doivent répondre à des critères plus spécifiques. Ces polymères doivent être totalement inertes, non digestibles et insolubles dans les fluides du tractus gastro-intestinal, non réactifs avec le principe actif et les autres adjuvants.

II.3.3. LES MATRICES HYDROPHILES

Les matrices hydrophiles constituent le support des comprimés à libération prolongée composés du mélange d'un ou de plusieurs principes actifs avec un agent gélifiant. Elles se distinguent donc des précédentes par le fait qu'elles gonflent après hydratation, au contact des liquides digestifs, en raison de la présence du polymère hydrophile doué de propriétés gélifiantes.

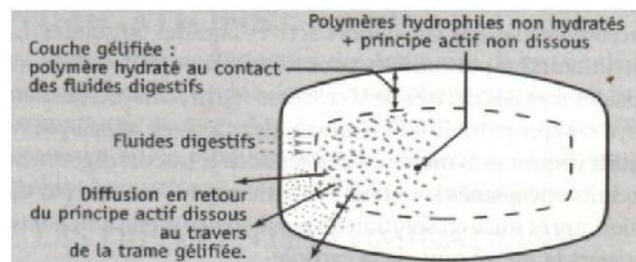


Figure II.3 Représentation d'une matrice hydrophile : Mécanisme de libération du principe actif

Au contact de l'eau ou des liquides digestifs, une fraction du principe actif est rapidement dissoute. Puis le polymère s'hydrate et se gélifie en formant une couche visqueuse, à travers laquelle l'eau continue à pénétrer dans la matrice. Au fur et à mesure du processus d'hydratation, la matrice augmente de dimension et traverse le tractus gastro-intestinal, sans se désagréger. La barrière gélifiée formée contrôle la pénétration de l'eau de l'extérieur vers l'intérieur et s'oppose à la libération rapide du principe actif. De ce fait, le principe actif est libéré par diffusion après sa dissolution.

Donc, après la dissolution du principe actif, celui-ci diffuse à travers la barrière gélifiée vers l'extérieur de la matrice.

Au cours du transit gastro-intestinal, la matrice hydratée gonfle progressivement, elle ne se désagrège pas totalement, ce qui peut conduire seulement à une érosion partielle de la matrice.

II.3.4. Les matrices érodables

Les matrices érodables se différencient des matrices inertes et hydrophiles, par le simple fait qu'elles subissent une certaine érosion lors de leur transit gastro-intestinal. Celle-ci

est due à la nature des composants de la matrice, qui peuvent subir l'attaque enzymatique et/ou du pH des sucs digestifs.

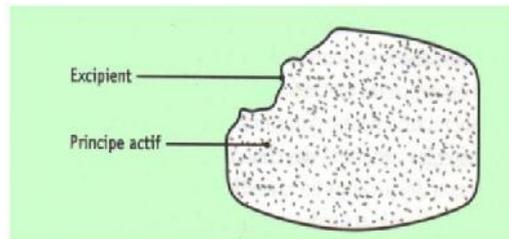


Figure II.4 : Matrice érodable (libération par érosion du principe actif)

En fonction de la nature de celui-ci on distingue deux catégories de matrices à érosion lente, ce sont les matrices lipidiques et les matrices polymériques.

II-3-4-1 Les matrices lipidiques

Les matrices lipidiques, improprement appelées matrices hydrophobes ou encore cireuses, sont des matrices constituées de corps gras qui subissent une érosion lente due à l'action de la lipase pancréatique.

La libération du principe actif à partir de la matrice dépend de la composition enzymatique des liquides digestifs. La nature des corps gras constituant la matrice, peut aussi avoir une influence sur la vitesse et le lieu de l'érosion.

Les différentes substances lipidiques utilisées sont surtout des glycérides dont certains sont utilisés comme lubrifiants dans la fabrication des comprimés conventionnels, des acides et alcools gras (acide stéarique, alcool stéarylique) et des cires (cires blanche et de carnauba).

II-3-4-2 Les matrices polymériques :

Les matrices érodables polymériques sont en général composées de polymères de solubilité pH- dépendante tels que les polymères gastro-résistants utilisés en enrobage par film. Ils permettent d'obtenir des matrices à érosion lente et peu sensibles aux variations de pH des liquides digestifs.

Les principaux polymères gastro-résistants sont l'acétylphthalate de cellulose, les phthalates de l'hydroxypropylméthylcellulose, les copolymères méthacryliques.

Des polymères solubles peuvent également réaliser des matrices érodables (tels que polyvinylpyrrolidone ou le copolymère de vinylpyrrolidone et d'acétate de vinyle).

La libération du principe actif à partir de la matrice érodable résulte à la fois de l'érosion se produisant à la surface et de la diffusion du principe actif à l'intérieur de la matrice.

II-4 LES SYSTEMES RESERVOIRS (MEMBRANE)

C'est le système le plus simple. Il s'agit d'un noyau de principe actif dissous, suspendu ou compressé entouré d'une membrane polymère insoluble dans l'eau.

La géométrie de ce type de systèmes est généralement sphérique, cylindrique ou sous forme d'un disque. Le mécanisme qui régit la libération du principe actif à travers la

membrane est souvent de type solution-diffusion. En effet, d'abord le principe actif se dissout dans l'un des côtés de la membrane polymère (i.e. dispersion du principe actif dans la membrane polymère), suivi de sa diffusion à travers cette membrane, enfin le principe actif se désorbe à partir de l'autre côté de la membrane. [40], [41], [42].

Le système réservoir peut rencontrer certains problèmes, par exemple dans le cas d'une rupture accidentelle dans la membrane, une grande quantité du principe actif peut être libérée dans le sang : ce phénomène est appelé décharge du principe actif. [42].

II-5 LES LIPOSOMES ET LES VESICULES

II-5-1-Définition des vésicules polymériques (ou polymèresomes)

En fonction de leurs architectures et des conditions de préparation, des blocks copolymères amphiphiles peuvent s'auto-associer pour former différents agrégats, à savoir des sphères, tiges, micelles tubulaires, lamelles, ou des vésicules. Des vésicules polymériques possèdent une structure similaire à celle des liposomes, où une cavité hydrophile est entourée par une membrane polymérique hydrophobe appelées polymèresomes. [24], [44]

Les polymèresomes présentent certains avantages comparativement aux liposomes, en plus de leur stabilité, ils ont la possibilité de réguler l'épaisseur de leur membrane. [24]

La méthode la plus utilisée pour la préparation des vésicules géantes avec des diamètres de l'ordre de 10 à 200 μm est l'électroformation. Dans ce processus, un courant alternatif est appliqué sur un film polymérique dans une solution aqueuse. La taille des vésicules peut être facilement contrôlée par la variation de voltage et de la fréquence du champ électrique. [24]

II-5-2-Définition des liposomes

Les liposomes sont des systèmes d'encapsulation les plus utilisés à des fins de vectorisation. Ce sont des structures sphériques fermées, caractérisées par la courbure des bicouches lipidiques entourant une partie du solvant environnant et principalement composés de phospholipides, mais pouvant contenir du cholestérol ou d'autres composés. Leur taille est environ 70 fois plus petite qu'un globule rouge, de l'ordre de quelques dizaines à quelques milliers de nanomètres de diamètre.

Le liposome peut être composé d'une ou plusieurs membranes concentriques d'une épaisseur de 4 nm. [45], [46]

Les phospholipides sont un exemple de lipides complexes bien connus, ils sont rencontrés principalement dans les membranes cellulaires (bicouches lipidiques), ils sont aussi présents dans les globules gras du lait et dans le jaune d'oeuf (lécithines).

La structure du phospholipide se caractérise par la présence sur le glycérol de deux acides gras et d'un groupement phosphate auquel est lié une autre molécule ; un composé azoté plus ou moins chargé ou neutre (sérine, choline, inositol, etc).

Les phospholipides sont des molécules amphiphiles présentant une structure caractéristique, montrant une tête polaire (partie hydrophile) et une queue apolaire (partie hydrophobe). Cette structure joue un rôle important dans la stabilisation de la matière grasse dans la phase aqueuse.

La conformation la plus stable des phospholipides est de se mettre en bicouches, elle est basée sur le fait que lorsque de tels composés sont mis en présence d'un excès de solution aqueuse, ils s'organisent de manière à minimiser les interactions entre leurs chaînes hydrocarbonées et l'eau.

Les têtes polaires se regroupent entre elles face à la phase aqueuse de part et d'autre de la bicouche formée et les queues apolaires, hydrophobes se mettent au centre de la bicouche, inaccessibles à l'eau. L'effet hydrophobe constitue la force principale dirigeant la formation des bicouches lipidiques. [47]

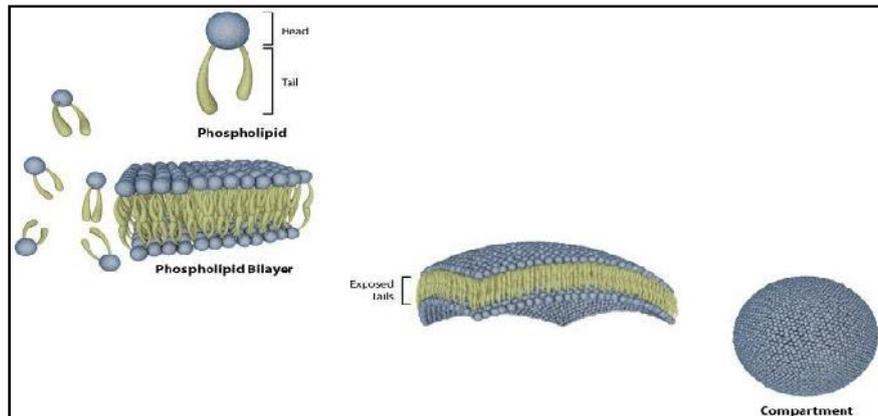


Figure II.5 : Mécanisme simplifié de formation de liposomes.

Un apport d'énergie à ces structures phospholipidiques va leur permettre de se refermer sur elles mêmes formant une vésicule (liposome). Pendant ce processus, le piégeage des solutés présents dans le milieu aqueux survient, [48] Les phospholipides naturels forment spontanément des liposomes en milieu aqueux. [49]

II.5.3 Les différentes classes de liposomes et leurs caractéristiques

Les liposomes sont classés selon leurs tailles, le nombre de bicouches et la méthode entreprise pour leur préparation. [50], [51] On distingue des liposomes unilamellaires répartis en trois catégories selon l'importance de leur taille : les liposomes de grande taille (LUV) allant de 80 nm à 1 µm de diamètre, des liposomes unilamellaires géants (GUV) d'une taille supérieure à 1 µm, et des liposomes nanométriques SUV de petite taille mesurée entre 20 et 80 nm. On arrive aussi à observer des liposomes multilamellaires (MLV) dont la taille est supérieure à 400 nm et des liposomes à plusieurs vésicules non concentriques encapsulées dans de grandes vésicules uniques appelées vésicules multi-vésiculaires (MVV) d'une taille avoisinant 1 µm en diamètre. [49]

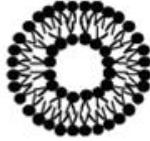
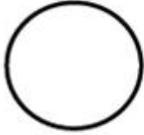
			
DENOMINATION	LUV	MLV/OLV	SUV
DIAMETRE (nm)	80-1000	100-4000	20-80

Figure II.6: caractéristiques des principaux types de liposomes

II.6. METHODES D'ENCAPSULATIONS

Indépendamment du fait qu'elle présente un grand intérêt actuellement, la microencapsulation a envahi ces dernières décennies tous les domaines y compris le domaine pharmaceutique. Du point de vue technologique, elle permet d'immobiliser, d'isoler, de protéger ou de libérer des principes actifs des médicaments. Elle permet également de structurer la matière, de la fonctionnaliser et ainsi d'innover dans le domaine de la vectorisation de substances actives. Les exemples d'applications industrielles et pharmaceutiques sont déjà nombreux et montrent bien la diversité des méthodes d'encapsulation utilisées dans la formulation de nouveaux médicaments.

Il n'est toutefois pas toujours simple de se retrouver dans les classifications complexes des méthodes d'encapsulation. C'est pourquoi, nous proposons une description basée essentiellement sur les méthodes mises en œuvre lors d'un procédé d'encapsulation.

II.6.1. Coacervation

La coacervation est le phénomène de désolvation des macromolécules, conduisant à une séparation de phases au sein d'une solution. A l'issue de la coacervation, deux phases sont présentes dans le milieu :

- Le coacervat : Riche en polymère et pauvre en solvant .
- Le surnageant : Pauvre en polymère et riche en solvant.

Si, dans le même temps, une matière active est dispersée dans ce milieu, sous forme de gouttelettes par exemple, le coacervat formé pourra l'encapsuler si les conditions d'étalement des phases en présence sont respectées.

La figure (II.7) représente trois situations possibles: Cas où une encapsulation complète aura lieu, partielle, ou pas d'encapsulation, (l'encapsulation est complète si le coacervat mouille spontanément la surface de la matière active, c'est-à-dire lorsque $S_3 > 0$, $S_2 < 0$ et $S_1 < 0$ où S_3 , S_2 et S_1 sont les tensions superficielles qui s'exercent à l'interface des deux liquides). [50]

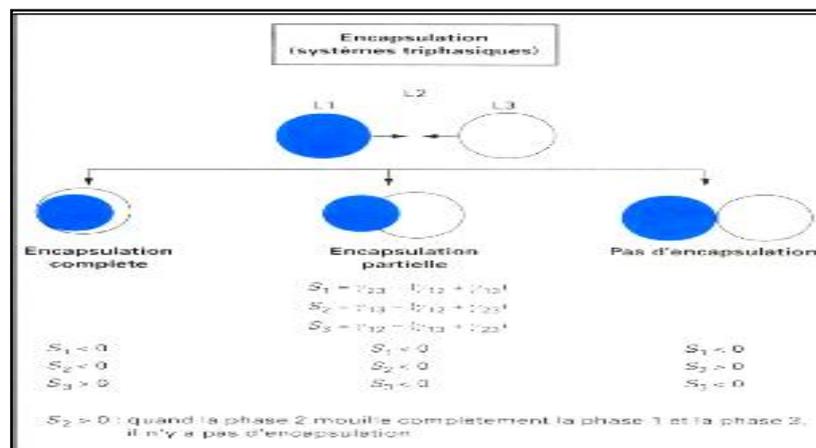


Figure II.7 : Comportement d'un coacervat (3) vis-à-vis une phase liquide non miscible (1). [50]

II.6.1.1. Microencapsulation par coacervation complexe

La coacervation complexe est une désolvatation simultanée de deux polyélectrolytes hydrosolubles portant des charges opposées provoquée par une modification du pH du milieu aqueux. En effet, la structure du coacervat est complexe puisqu'elle comprend deux polymères.

Le procédé de microencapsulation par coacervation complexe se déroule de la façon suivante (figure II.8)

Dans un premier temps, le produit à encapsuler (sous forme liquide ou solide) est dispersé dans une solution aqueuse contenant les deux polymères (phase a).

Dans un deuxième temps, la coacervation est induite par un ajustement du pH de la solution, de façon que les charges positives du premier polymère équilibrent les charges négatives du second (phase b). L'attraction électrostatique des deux polyélectrolytes provoque l'apparition d'un coacervat mixte.

Dans un troisième temps, les gouttelettes de coacervat formé viennent s'adsorber (phase c) à la surface de la matière active à encapsuler et former un enrobage continu (phase d).

-Finalement, cet enrobage est consolidé par réticulation (phase e) des macromolécules constitutives du coacervat. [50]

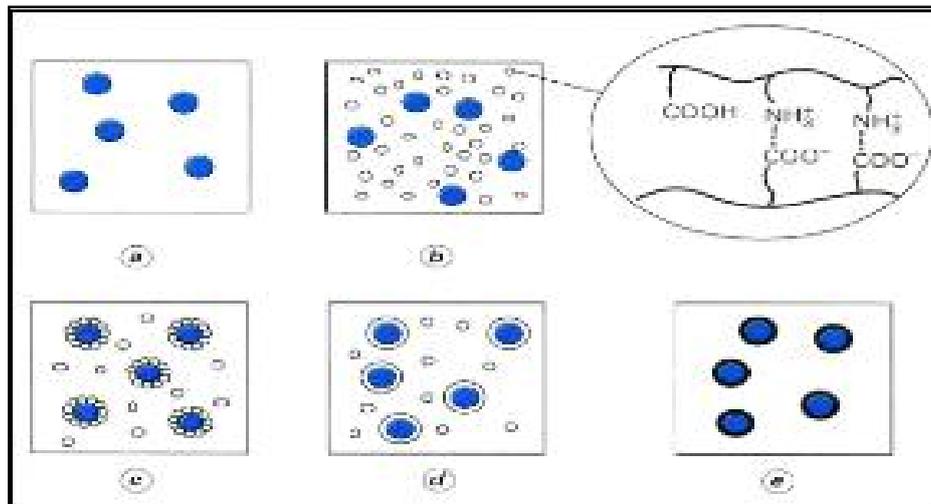


Figure II.8 : Schéma de principe du procédé de microencapsulation par coacervation complexe.

II.6.1.2. Microencapsulation par coacervation simple

La coacervation simple se rapporte aux procédés faisant intervenir la désolvation d'un seul polymère par l'un des facteurs suivants : abaissement de température, addition d'un nonsolvant, addition d'électrolytes, addition d'un deuxième polymère incompatible.

Ce phénomène peut se dérouler en milieu aqueux ou organique. Les étapes du procédé sont en tous points identiques à celles décrites pour la coacervation complexe.

Les particules obtenues sont généralement des microcapsules. Toutefois, dans certains cas, le procédé par coacervation simple permet d'obtenir des microsphères. C'est le cas lorsque la proportion de substance active est faible par rapport au volume du coacervat.

La taille des microparticules obtenues ainsi que la teneur en matière active sont semblables à celles résultant du procédé par coacervation complexe. [50]

II.6.2. Microencapsulation par gélification thermique

Ce procédé, encore appelé *hot melt*, repose sur la fusion du matériau d'enrobage. La matière active à encapsuler est dissoute ou dispersée dans ce matériau fondu. L'ensemble est émulsionné dans une phase dispersante, dont la température est maintenue supérieure à la température de fusion (T_f) de l'enrobage et pour laquelle la matière active n'a aucune affinité: il s'agit d'eau distillée lorsque la substance à encapsuler est lipophile, et d'huile de silicone, par exemple, lorsqu'elle est hydrosoluble. La solidification des globules dispersés est obtenue en refroidissant brutalement le milieu. (Figure II.9) [50]

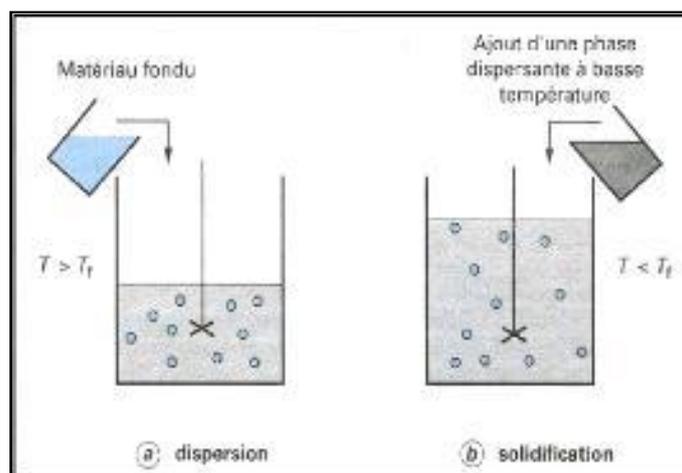


Figure II.9 : Schéma de principe du procédé d'encapsulation par gélification thermique (**hot melt**)

Comme de nombreuses substances actives sont thermolabiles, les matériaux supports, généralement utilisés dans ce procédé de microencapsulation, sont des lipides de bas point de fusion. Les particules obtenues sont ici des microsphères d'une taille pouvant aller généralement de 30 à 300 μm . La teneur en matière active est de l'ordre de 20 %.

II.6.3 - Emulsion simple E/H et double E/H/E et par évaporation de solvant

Une émulsion selon l'IUPAC, est une dispersion colloïdale d'un liquide sous forme de globules (phase dispersée ou discontinue) dans un autre liquide non miscible (phase dispersante ou continue) comme l'eau et l'huile, à laquelle on ajoute généralement un agent de surface (tensioactif) afin d'éviter la séparation des phases et d'assurer la stabilité de l'interface de l'émulsion [53],[54],[55].

Le processus de dispersion consiste à cisailer l'une des Phases dans l'autre de manière à former des gouttes dont la taille peut varier de 0.1 μm à environ 10 μm .

II.6.3.1- Emulsion-simple

L'émulsion eau/huile est généralement utilisée pour le PA faiblement hydrosolubles ou insolubles dans l'eau, tandis que l'émulsion huile/eau est envisagée lorsque le PA est cette fois hydrosoluble. Le type d'une émulsion simple, directe ou inverse, est fixé au premier ordre par la solubilité préférentielle du tensioactif dans l'une ou l'autre des phases, en accord avec la règle empirique de Bancroft : le recours à un tensioactif hydrosoluble permet de former préférentiellement une émulsion directe, alors qu'un tensioactif liposoluble favorise une émulsion inverse. [54], [56]

Cette méthode est la plus simple et toutes les autres en dérivent. Elle s'effectue en préparant la phase dispersée par dissolution du principe actif et le polymère dans un solvant organique , puis en réalisant l'émulsification (la mise en suspension) qui consiste à introduire la phase hydrophile dans la phase lipophile. [54], [57] Cette étape est suivie par l'évaporation du solvant organique qui engendre la solidification des gouttelettes de phase dispersée. [57]

II.6.3.2- Emulsion double ou complexe: eau dans huile dans eau (E/H/E)

Les émulsions doubles ou multiples, par leur structure compartimentée, ont depuis longtemps été envisagées comme un matériau idéal pour jouer le rôle de microréservoirs [56].

L'encapsulation des composés hydrophiles ne peut s'effectuer par la méthode eau/huile du fait de leur insolubilité dans les solvants organiques et de leur diffusion vers la phase continue durant l'étape d'émulsification conduisant à de faibles taux d'encapsulation [57].

La solution aqueuse contenant le principe actif à encapsuler est émulsionnée avec la phase huileuse (solution organique dissolvant ou dispersant les polymères) avec une agitation ultrason pour obtenir une émulsion submicronique du type eau/huile (E/H). Cette émulsion est ensuite utilisée comme phase dispersée dans la troisième solution aqueuse contenant l'agent tensioactif, permettant d'obtenir une double émulsion (E/H/E). Enfin, les particules obtenues sont séchées et récupérées [54], [56], [58], [59].

La figure (II.10) suivante élucide l'aspect des deux types d'émulsions simple et complexe que se soient directe ou inverse.

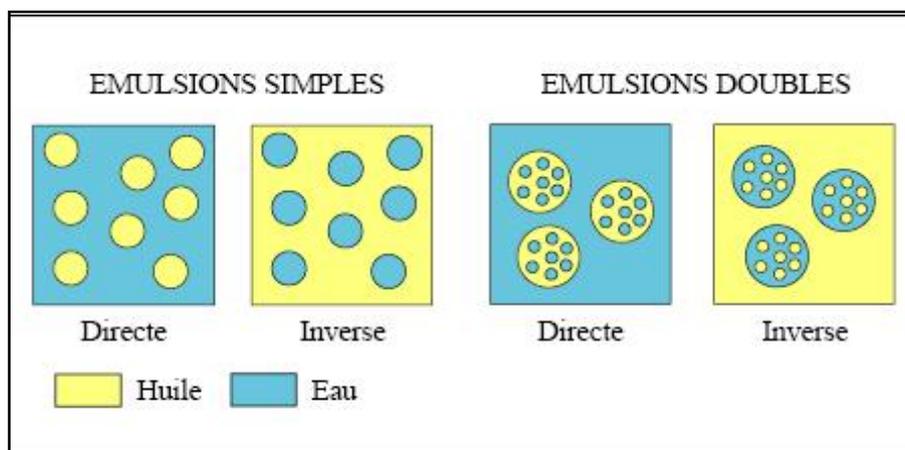


Figure II.10: Schéma représentatif des divers types d'émulsions [60]

II.6.4. Polycondensation interfaciale

La polycondensation interfaciale met en jeu deux monomères ayant des groupes fonctionnels complémentaires (A et B), chacun soluble dans une des phases d'un système diphasique. L'encapsulation de principes actifs peut être réalisée par cette méthode via un protocole en deux étapes. Dans un premier temps une émulsion est préparée, la phase dispersée contenant l'espèce à encapsuler ainsi qu'un monomère. Puis cette émulsion est diluée afin d'apporter le second monomère en phase continue. La réaction démarre alors à l'interface des gouttelettes. On obtient en fin de réaction une membrane à l'interface des gouttelettes qui renferment l'espèce à encapsuler.

Cette méthode est largement décrite par Morgan et Kwolek (1959) [61], Wittbecker [62] et Morgan [61] et Deasy (1984). [63] Elle s'applique à des solutions de matières actives, aussi bien organiques qu'aqueuses. Ainsi, lorsque la matière active est organosoluble, l'émulsion préparée dans un premier temps est de type directe huile dans eau, et lorsque la matière active est hydrosoluble, l'émulsion préparée est de type indirecte eau dans huile.

La gamme de taille des microcapsules préparées par ce type de procédé varie de quelques micromètres à quelques centaines de micromètres. La taille des capsules obtenues en fin de réaction dépend directement de la taille des gouttelettes de l'émulsion formée dans un premier temps. Ainsi, la maîtrise de l'étape d'émulsification permet de contrôler la taille moyenne des microcapsules, ainsi que l'étalement des tailles autour de cette valeur moyenne.

Selon l'application visée, cet étalement revêt un caractère plus ou moins important.

II.7. LES MODELES CINETIQUES DE LIBERATION DES SUBSTANCES ACTIVES

II.7.1. Définitions

D'un point de vue pharmacocinétique, avec une formulation conventionnelle, la molécule est libérée immédiatement entraînant un pic sérique élevé voire toxique. La concentration décline ensuite plus ou moins rapidement en fonction du métabolisme de la molécule, ce qui peut donner lieu à une période d'inefficacité jusqu'à l'administration suivante du médicament ou imposer son administration à un rythme inadapté au patient, mettant en péril le suivi et la réussite du traitement.

Le seul moyen d'éliminer les pics et les creux des concentrations plasmatiques d'une thérapie conventionnelle, était une perfusion intraveineuse permanente, méthode lourde et onéreuse. Par contre, un système à libération contrôlée permet de maintenir la concentration sérique d'un principe actif, incluse dans sa marge thérapeutique, sur une longue période et avec une seule administration.

Par définition, les médicaments à libération prolongée sont des formulations conçues à base de principe actif incorporé dans un matériau inerte et biocompatible. Leurs rôles consistent à libérer la molécule thérapeutique de manière prolongée et progressive dans le temps une fois en contact avec les milieux physiologiques. Dans le même contexte, il est aussi possible de parler de systèmes à libération ciblée appelé encor contrôlée ou leurs rôles cette fois ci est de délivrer la bonne quantité d'un principe actif, au bon endroit et au bon moment.

Une autre définition pourrait s'appliquer, il s'agit de système de vectorisation qui permet de cibler la libération de la substance thérapeutique au voisinage des récepteurs pathologiques.

La voie et le mode d'administration, la durée et le site d'action de l'agent thérapeutique sont autant de facteurs à considérer lors de l'élaboration des formulations à effet prolongée.

En fait, la manière d'administrer un principe actif est aussi importante que le principe actif lui même. Ce dernier rencontre durant son passage dans l'organisme, plusieurs obstacles physiologiques, qui participent potentiellement à réduire la dose initiale du médicament.

Citons comme exemple son passage à travers la muqueuse intestinale, sa fixation au niveau des protéines plasmatiques, son élimination par voie lymphatique, l'effet de premier passage hépatique ou encore la barrière hémato-encéphalique.

Les nombreux systèmes à libération contrôlée, jusqu'à maintenant commercialisés sont administrés essentiellement par voie orale ou transdermique. Mais pour une réelle efficacité dans le traitement à long terme de plusieurs maladies, l'implantation de systèmes à libération contrôlée devient nécessaire. L'objectif à ne pas perdre de vue lors de la conception d'une formulation à libération contrôlée, est d'obtenir un produit suffisamment fiable in vivo

pour libérer un principe actif à une vitesse connue, sur une durée définie, permettant une fréquence d'administration acceptable pour le patient.

II.7.2. Avantages

Tel que déjà mentionné auparavant, le concept du système à libération contrôlée a pour avantage majeur de maintenir une concentration du principe actif dans la fenêtre thérapeutique, en évitant les pics toxiques et les creux inefficaces d'une thérapie conventionnelle. [64] D'autres avantages plus ou moins directement liés à ce concept peuvent être cités :

- Les concentrations atteintes localement sont plus élevées, augmentant l'efficacité de la thérapie tout en diminuant la quantité de principe actif nécessaire.
- Les concentrations systémiques ne sont pas élevées inutilement, protégeant ainsi le patient et minimisant le gaspillage du principe actif.
- Les molécules instables (protéines) et/ou rapidement métabolisées (temps de demi-vie court) sont protégées contre une dégradation précoce.
- Le suivi clinique est moindre.
- Le confort du patient au cours du traitement est amélioré.
- L'observance thérapeutique est augmentée.

D'une manière générale, l'utilisation d'un système à libération contrôlée en pratique clinique a pour conséquence directe d'augmenter le taux de réussite du traitement tout en diminuant le coût.

II.7.3. Inconvénients

L'utilisation des systèmes à libération contrôlée n'est pas sans inconvénients. Nous remarquons:

- Une toxicité ou un manque de biocompatibilité du matériau utilisé ou des produits de dégradation quand il est biodégradable.
- Une douleur occasionnée par la présence de la forme solide.
- Un coût élevé de la fabrication du matériau.
- Un risque de perte de contrôle de la libération du principe actif.

II.8.MECANISME DE RELARGAGE DU PRINCIPE ACTIF DANS LES SYSTEMES A LIBERATION PROLONGEE

Il existe plusieurs mécanismes de libération qui peuvent contrôler le relargage de la molécule thérapeutique, une fois incorporée dans la matrice polymérique. Mais leur classification est surtout basée sur la nature physicochimique du principe actif et du polymère ainsi que sur les propriétés structurales de ce dernier.

En effet, l'architecture des systèmes à libération prolongée, la nature des liaisons chimiques du polymère, la taille des particules (cas des microsphères), l'indice de polydispersité des chaînes polymériques, la proportion en phase cristalline et amorphe, le taux de gonflement, la vitesse de recristallisation et le comportement de tels systèmes une fois en

contact avec les milieux environnants sont autant d'éléments à considérer, et qui auront un impact direct sur les mécanismes de relargage du principe actif.

Toutefois, les mécanismes de libération, que ça soit pour un système implant ou pour une administration orale, ils peuvent être similaires. Le relargage de la molécule thérapeutique est généralement réalisé, soit par diffusion (loi de fick) ou lors de la dégradation- érosion du polymère.

II.8.1 Modèles théoriques des mécanismes de la libération de principe actif

La libération du principe actif à travers une matrice polymérique est généralement régit par trois mécanismes. Ils sont fortement dépendants de la nature du principe actif, et plus particulièrement des propriétés structurales du polymère tel que son taux de gonflement, vitesse de gélification et son comportement dans les fluides physiologiques.

Ces mécanismes selon Jalil. [65] obéissent à des lois telles que:

1- Diffusion fickienne: ou le principe actif diffuse à travers les chaînes macromoléculaires

du polymère, due à l'existence d'un gradient de concentration du PA entre la matrice et le milieu dans lequel elle se trouve. Les modèles d'ordre 0 et 1 sont ceux qui représentent le mieux les profils de la cinétique de libération du principe actif en fonction du temps, exprimés respectivement par les deux équations suivantes :

$$\frac{C_t}{C_\infty} = \frac{M_t}{M_\infty} = \quad , \text{ ordre zéro (le rapport de concentrations est proportionnel au temps est linéaire en fonction de t)}$$

$$\frac{C_t}{C_\infty} = \frac{M_t}{M_\infty} = (1 - e^{-kt}) \quad \text{ordre 1 (le rapport de concentrations varie exponentiellement en fonction du temps)}$$

Où,

C_t et C_∞ , sont respectivement les concentrations du PA libéré au temps t et à saturation (équilibre), M_t et M_∞ leurs masses ou quantités en mg correspondantes.

k : est la constante cinétique.

2- Diffusion non fickienne :

Dans ce cas la le principe actif passe à travers les micropores remplis d'eau. Celles-ci sont formées lors du gonflement du polymère, où le principe actif s'hydrate avant même de

diffuser vers le milieu environnant. Ce mécanisme est appelé aussi diffusion par transport. qui fait généralement référence à l'état de relaxation-gonflement du polymère.

Pour cela, on peut trouver deux modèles de profils de cinétique de libération du PA, qui sont les modèles d'Higuchi et de Weibull ou RRSBW.

-Modèle d'Higuchi :

Pour celui-ci, le rapport des concentrations varie linéairement en fonction de $t^{1/2}$. L'équation du modèle cinétique peut s'écrire globalement ainsi :

$$\frac{C_t}{C_\infty} = \frac{M_t}{M_\infty} = kt^{1/2}$$

-Modèle de Weibull ou de la fonction RRSBW :

Lorsque le profil s'écarte sensiblement du cas idéal d'ordre 1 aux temps faibles, du à un ralentissement au départ du relargage du PA. Ainsi, l'équation varie exponentiellement en fonction du temps, mais elle comporte aussi un coefficient de forme ou de sigmoïté β . Elle peut s'écrire de la manière suivante :

$$\frac{C_t}{C_\infty} = \frac{M_t}{M_\infty} = 1 - 1 - e^{-\frac{t - t_0}{t_D} \beta}$$

Où,

t_0 : temps initial

t_D : temps correspondant à un pourcentage de 63,2% de PA dissout. .

β : est le facteur de sigmoïté. Il est compris dans l'intervalle 0.42-0.59. Pour nos calculs, on peut prendre soit la valeur minimale (0,42), ou maximale (0,59), ou bien la moyenne c-à-d 0,50. La valeur retenue est celle qui vérifie le plus le modèle (linéarisation de l'équation

$$\ln \left(1 - \frac{C_t}{C_\infty} \right) = - \frac{t - t_0}{t_D} \beta$$

3- relargage du principe actif par érosion du polymère :

Il est possible également que le relargage du principe actif soit modulé par les trois mécanismes. Un constat souvent observé par Shahet et coll. [66]

Un modèle théorique purement empirique a été proposé par Kosmeyer et Pépasse [67], celui-ci donnant les différents mécanismes du relargage du principe actif en fonction du temps. Cette expression, est une équation exponentielle décrivant la cinétique de relargage pour une fraction libérée de principe actif < 60%. Ce modèle est proposé dans le but de déterminer la loi qui régit la cinétique de relargage et plus particulièrement quand ce dernier est modulé par plusieurs mécanismes, dont ceux qui ont été cités auparavant par Costa et coll. [68]

$$f_t = \frac{Mt}{M_\infty} = kt^n \quad \dots\dots\dots [1]$$

- f_t : la fraction du principe actif libérée en fonction du temps.
- k : Constante décrivant la nature du principe actif, et les propriétés géométriques et structurales des microparticules du polymère.
- n : Exposant décrivant le mécanisme de libération qui peut être soit fickien ou non fickien.
- t : Temps de libération du principe actif.

La relation (1) peut être modifiée pour être exprimée en fonction du rayons de la particule (r) (relation (2)).

$$f_t = f_0 + a \left(\frac{t}{r^2} \right)^n \quad \dots\dots\dots [2]$$

- f_0 : fraction libre du principe actif en surface qui est capable d’amorcer le relargage.
- a : Coefficient égale à kr^{2n} .
- r : Rayon de la particule (microparticule).
- k = constante de dissolution.
- n = facteur exponentiel de diffusion.

Peppas et Sahlin [69] modifient l’expression en ajoutant le terme qui décrit la diffusion du principe actif par transport (équation (3)). Cette expression est mise en avant lorsque le polymère présente un taux de gonflement assez considérable (relaxation).

$$f_t = f_0 + a \left(\frac{t}{r^2} \right)^n + b \left(\frac{t}{r^2} \right)^{2n} \quad \dots\dots\dots [3]$$

Le rapport représente le pourcentage de contribution des deux mécanismes ensembles. Il est également possible d’exprimer l’équation (3) en fonction de la surface de la particule. Fonner et coll. [70] présentent l’expression du diamètre moyen des microparticules en fonction de la surface, qui est donnée comme suit :

$$d = \sqrt{\frac{s}{\pi}} \dots\dots\dots [4]$$

$$ft = f_0 + a\left(\frac{t\pi}{s}\right)^n + b\left(\frac{t\pi}{s}\right)^{2n} \dots\dots\dots [5]$$

De manière générale, les différents mécanismes de diffusions cités auparavant sont étroitement liés aux différentes architectures des systèmes à libération prolongée. Pour chaque système il lui correspond son mécanisme de libération.

II.8.2. Paramètres influençant la libération d'un PA :

Il est à noter que les paramètres influençant la libération d'un PA encapsulé sont :

- Solubilité du PA dans le milieu de libération et dans la membrane polymérique ;
- Taux d'encapsulation ;
- Interactions chimiques entre le PA et polymère (qui doivent être minimisées) ;
- Caractéristiques morphologiques du système de libération (porosité, tortuosité, surface, forme)
- Caractéristiques du polymère telles que le poids moléculaire (des études récentes montrent que les polymères de faibles poids moléculaires présentent une porosité plus élevée que celles des polymères) à haut poids moléculaires, d'où une cinétique de libération plus rapide et plus élevée. [71]

II.8.3. Profils de libération des différents types de microparticules :

La diffusion du PA selon les modes de la cinétique de libération obéit aux types de microparticules formulées (figure II.11) :

À partir des microcapsules, on peut obtenir des cinétiques de libération d'ordre 0 ou d'ordre 1 (profils A et D), en fonction de la solubilité dans l'eau de la matière active. Les cinétiques d'ordre 0 peuvent être modifiées dans leur phase initiale: Soit la vitesse de libération est exagérément marquée (effet de BURST) en raison de la présence d'un excès de matière active dans la membrane (profil B), soit un temps de latence qui précède la libération, temps nécessaire par exemple pour que le principe actif diffuse à travers la membrane, avant d'atteindre le milieu extérieur (profil C).

À partir de microsphères, la cinétique obéit beaucoup plus à la loi d'HIGUCHI (profil E) [52]

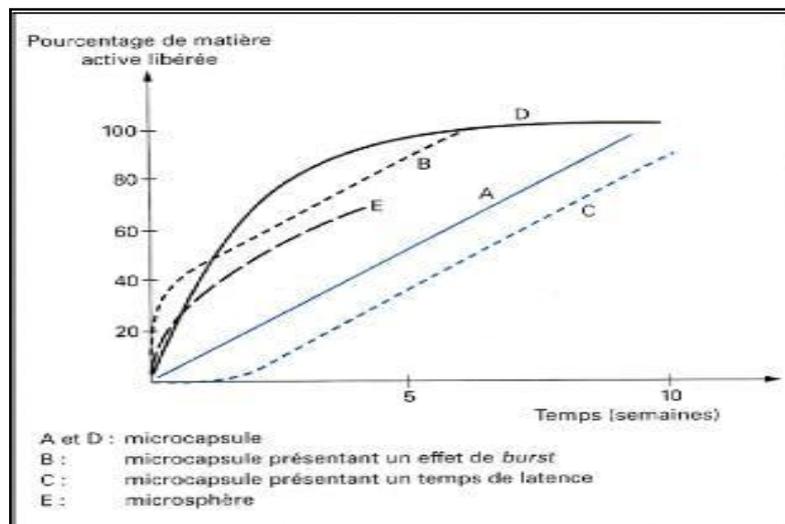


Figure II.11 : Profils de libération obtenus à partir de différents types de microparticules [52]

II.9. DIFFERENTES VOIES D'ADMINISTRATION DES MEDICAMENTS

Les systèmes à libération contrôlée sont bénéfiques vis-à-vis de la santé humaine. Mais plusieurs médicaments présentent un comportement indésirable dont l'origine est reliée précisément à la voie d'administration du médicament. [72]

Le choix de la voie d'administration du médicament dépend de plusieurs facteurs, à savoir l'acceptabilité du patient, les propriétés du principe actif (sa solubilité), l'accès à l'endroit de la maladie. [18] La figure (II.12) présente les différentes voies d'administrations de médicaments.



Figure II.12 Différentes voies d'administrations [73]

II.9.1. Voie orale

L'administration du principe actif par la voie orale a été, généralement, la voie la plus commode et la plus utilisée [17], [74]. Cette voie consiste au passage du principe actif à travers la partie gastro-intestinale. (Figure II.13)

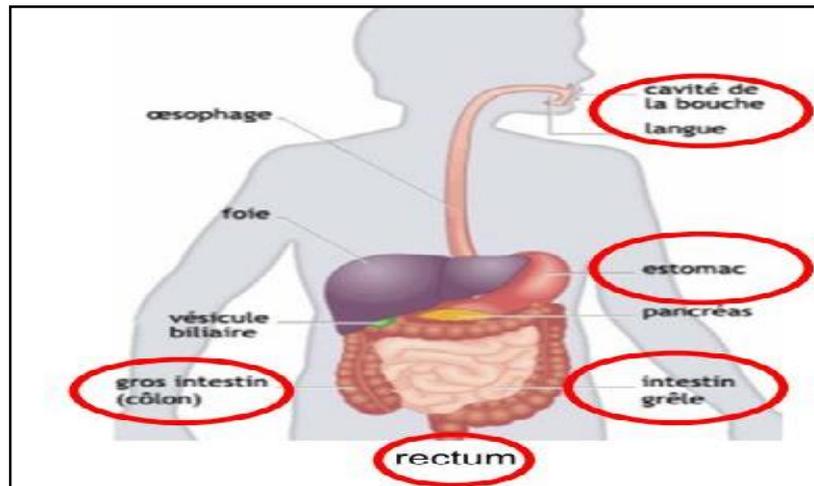


Figure II.13 Anatomie de la partie gastro-intestinale humaine. [75]

Une fois administré par la bouche, le principe actif passe rapidement à la partie gastro-intestinale. Le long de cette partie, le principe actif est absorbé principalement au niveau de l'iléon, mais sa biodisponibilité peut être réduite à cause du premier passage hépatique. Ce dernier désigne toute transformation du principe actif au niveau du foie. Enfin, le principe actif passe dans la circulation générale à travers la veine. [17]

La partie gastro-intestinale est le site d'absorption préféré pour divers agents thérapeutiques à cause de la facilité d'administration et le confort aux patients. Les formes galéniques orales consistent en des comprimés et des capsules lesquelles sont souvent fourni comme des systèmes à libération instantanée. [76], [77]

Cette partie est aussi caractérisée par les différentes valeurs de pH comme le montre le tableau II.1.

Tableau II.1 : Physiologie de la partie gastro-intestinale humaine [78]

Région	Longueur (m)	Surface (m ²)	Ph
Bouche	0,20	0,10	1,0-2,5
Intestin grêle	3-5		
duodénum	0,25	1,90	5,5-6,0
jéjunum	2,80	184	6,0-7,0

iléon	4,20	276	7,0- 7,5
Gros intestin	20-30		
cæcum	0,20	0,05	6,4- 7,0
côlon	1,50	0,25	7,0- 7,5

L'administration de médicaments par voie orale possède des avantages et aussi des inconvénients [49] les avantages sont :

- Acceptabilité et confort du patient,
 - Voie orale présente une grande surface efficace à l'absorption du principe actif (Surface de l'intestin grêle est 200 m²),
 - Muqueuse gastro-intestinale possède une surface vascularisée importante, ce qui assure une absorption rapide de médicament,
 - Possibilité de retenir le principe actif dans la partie gastro-intestinal si un système de vectorisation approprié est utilisé, par conséquent, la fréquence de la dose diminue
 - Voie orale offre un potentiel pour réaliser une libération contrôlée d'ordre zéro,
 - Coût de la thérapie orale est généralement plus faible comparativement aux autres voies d'administration.
- **Les inconvénients sont :**
- Vitesse d'absorption du principe actif à partir des formes galéniques conventionnelles est affectée par plusieurs facteurs, à savoir fluctuation du pH dans l'estomac et l'intestin grêle, présence ou absence de la nourriture, rythme journalier...
 - Possibilité d'avoir des effets secondaires, par exemple certains principes actifs sont gastrotoxiques en causant des dommages dans la muqueuse de l'estomac.

II.10. UTILISATION DES POLYMERES BIODEGRADABLES POUR LA LIBERATION CONTROLEE DE PRINCIPES ACTIFS

Dans un premier temps, la majorité des polymères utilisés pour la vectorisation de principes actifs sont de nature hydrophobes et non dégradables comme le poly(diméthylsiloxane), polystyrène, polyuréthane...etc. Mais l'application de tels polymères comme vecteurs de principes actifs est limité par la nécessité d'une deuxième intervention chirurgicale pour les extraire du corps. Pour y remédier, des polymères biodégradables naturels et synthétiques sont devenus des candidats très attractifs pour la vectorisation de médicaments. [22]

Dans les systèmes polymères, le principe actif est incorporé dans une matrice polymère. La vitesse de libération du principe actif à partir de tels systèmes dépend de plusieurs paramètres, à savoir la nature de la matrice polymère, la géométrie de la matrice, les propriétés du principe actif, la quantité du principe actif initialement incorporée dans la matrice polymère et l'interaction polymère-principe actif.

Le mécanisme qui régit la libération du principe actif à partir de la matrice polymère peut être contrôlé physiquement ou chimiquement. Les systèmes physiquement contrôlés peuvent être classifiés en systèmes à diffusion contrôlée et en systèmes à solvant contrôlé. Les systèmes chimiquement contrôlés peuvent être obtenus par la dispersion du principe actif dans la matrice polymère biodégradable ou par le développement des systèmes complexes biodégradables de type polymère-principe actif. [80]

II.11. ROLE DE L'INTERACTION POLYMERE/PRINCIPE ACTIF DANS LA LIBERATION PROLONGEE DE PRINCIPES ACTIFS

La libération du principe actif à partir d'une matrice polymère est régie par trois mécanismes : (a) diffusion Fickienne à travers la matrice polymérique, (b) diffusion à travers des pores remplis d'eau créés lors de gonflement de la matrice polymérique et (c) libération lors de l'érosion de la matrice polymérique.

Cependant, il a été montré que l'interaction polymère-principe actif joue un rôle significatif sur la libération de principe actif. [81] En effet, divers agents ont été liés aux différents systèmes polymériques au moyen des liaisons dégradables. Ces systèmes polymériques sont hydrolysés dans le corps vivant en libérant le principe actif à une vitesse prédéterminée. Des polymères fonctionnels contenant des agents bioactifs ont été préparés, soit par une modification chimique de polymères préformés, ou par une copolymérisation directe de monomère fonctionnel souhaité avec le principe actif adéquat. [82] L'interaction polymère-principe actif peut être de type covalente, électrostatique ou par pont hydrogène.

PREMIERE PARTIE

III.1. Technique physicochimique de caractérisation des échantillons

III.1.1 Spectrophotométrie d'absorption UV-Visible

La spectrophotométrie d'absorption dans l'UV-Visible est une technique basée sur l'absorption des radiations lumineuses par la matière dans le domaine qui s'étend du proche ultraviolet au très proche infrarouge, soit entre 180 et 1100 nm. Cette partie du spectre est désignée par l'UV –Visible, parce qu'elle englobe les radiations sur spectre de la lumière blanche.

D'une manière générale, elle apporte peu d'informations structurales, mais elle a, en revanche, de nombreuses applications en analyse quantitative. Les calculs de concentration découlent de la loi de Beer et Lambert.

-Principe :

Le domaine spectral est divisé en trois plages de longueur d'onde appelées l'UV moyen et proche (185 – 400 nm), visible (400 – 700nm) et très proche infrarouge (700 – 1100nm).

L'origine de l'absorption lumineuse est due à l'interaction de photons incidents avec les substances d'un échantillon. Ainsi, lorsqu'une molécule isolée absorbe un photon de l'UV-Visible, l'énergie d'un ou plusieurs électrons de valence se trouve accrue en entraînant des perturbations énergétiques d'origine électromagnétiques.

-Application de la spectroscopie UV-Visible :

➤ **Analyse quantitative :**

Cette technique est largement exploitée en analyse quantitative, depuis fort longtemps. Les mesures reposent sur la loi de Beer et Lambert qui relie dans certaines conditions, l'absorption de la lumière à la concentration d'un composé en solution.

La loi de Beer et Lambert est présentée ci-dessous sous sa forme actuelle :

$$A = \epsilon \cdot I \cdot C$$

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

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

C : la concentration molaire

ϵ : coefficient d'absorption molaire à la longueur d'onde spécifique à une substance qui absorbe en solution.

➤ **Analyse qualitative :**

Les applications de la spectrophotométrie dans l'UV-Visible sont quelque peu limitées en analyse qualitative, parce que la résolution des bandes d'absorption des substances

chimiques en solution est relativement faible. L'identification indiscutable d'un composé est donc peu précise. [83]

III.1.2 Spectroscopie infrarouge

La spectrophotométrie IR est une méthode physique d'analyse à la fois qualitative et quantitative. Elle est fondée sur l'absorption des photons « $h\nu$ » émis par une radiation très peu énergétique permettant de modifier l'énergie de vibration des molécules.

Le spectre IR est étudié dans une gamme de fréquences de l'infrarouge moyen compris entre 400 cm^{-1} à 4000 cm^{-1} , les bandes les plus caractéristiques se distinguent dans trois régions différentes:

- 4000 cm^{-1} à 1500 cm^{-1} : contient des bandes d'allongement des liaisons simples (OH, NH₂, CH₃, CH₂, ..) suivies des liaisons triples (C≡C et C≡N, ..) d'énergies moins élevées, puis des liaisons doubles (C=C, C=O, C=N,..) de plus faibles énergies.

- 1500 cm^{-1} à 1000 cm^{-1} : c'est une région complexe appelé parfois «empreinte digitale» du composé dans laquelle se situe de nombreuses vibrations de déformation dans le plan de liaisons simples CH d'alkyles saturés et des alcènes, des NH (bandes amide I et II), des OH, ainsi que des bandes d'allongement des liaisons simples CO des esters, des éthers et des alcools.

- 1000 cm^{-1} à 600 cm^{-1} : c'est une zone très particulière du domaine de l'empreinte digitale, comportant essentiellement les déformations hors du plan, utilisée pour la détermination de structures éthyliques, des alcènes et alcynes et des noyaux aromatiques, grâce aux déformations en dehors du plan des liaisons CH et du cycle aromatique.

Il est cependant possible et intéressant à la fois d'exploiter cette méthode pour mettre en évidence des interactions susceptibles d'être établies dans un mélange entre les différents composants. Dans notre cas, nous avons utilisé l'analyse FTIR pour caractériser les différents polymères (HPMC, EUDRAGIT[®], PEG6000) et le principe actif (Bésylate d'amlodipine) ainsi que les mélanges des différentes formulations de microparticules, dans le but de déceler d'éventuelles interactions entre les différents constituants.

III.1.3 : Principe de BET

La détermination de la surface spécifique constitue un paramètre important pour définir les propriétés de solides à particules fines et dispersés ou de substances poreuses. Ainsi, la mesure de la surface spécifique joue, un rôle significatif dans le développement des matériaux, le contrôle de la qualité.

La surface spécifique d'une poudre est estimée après dégazage, par adsorption d'une monocouche de gaz, par liaison de Van Der Waals, autour de chaque particule et dans chaque pore ouvert de l'échantillon. Les résultats obtenus sont exploités selon l'équation établie par Brunauer

III.2 LES TESTS BIOPHARMACEUTIQUES

III.2.1 Test de dissolution

L'essai de dissolution trouve son importance dans le contrôle d'une formulation mais aussi pour expliquer son comportement. Il est destiné à déterminer la plus ou moins grande aptitude d'une forme galénique à laisser passer en solution, dans un milieu physiologique déterminé, le ou les principes actifs qu'elle contient. Il permet ainsi la validation des choix à faire à différents stades de développement de la forme médicamenteuse.

En pré-formulation, il sera question d'étudier les différents paramètres pour préparer la formulation. En formulation, ce sont les études comparatives des résultats de dissolution qui permettent de faire les différents choix, d'abord par l'étude du screening dont l'objectif est d'étudier les différents facteurs ayant un impact sur la formulation. Celles-ci seront ensuite suivies d'une étude d'optimisation de la formulation, dont l'objectif final est de déterminer la surface de réponse optimale. Les conditions de l'essai sont résumées comme suit :

- milieu de dissolution : milieu physiologique pH=6,8 (milieu intestinal)
- volume du milieu de dissolution : 900ml
- -Système d'agitation : palette tournante
- température du milieu : $37^{\circ}+1^{\circ}\text{C}$
- vitesse d'agitation : 50trs/min
- prélèvement : 4ml (compensé par le milieu)
- -durée de l'essai : 2h
- - le dosage du principe actif est suivi par spectrophotométrie UV-Visible à 240nm pour Bésylate d'amlodipine.

SECONDE PARTIE

III.3 PRESENTATION DES MATIERES PREMIERES

III.3.1 Polymères

a- EUDRAGIT[®] E 100:

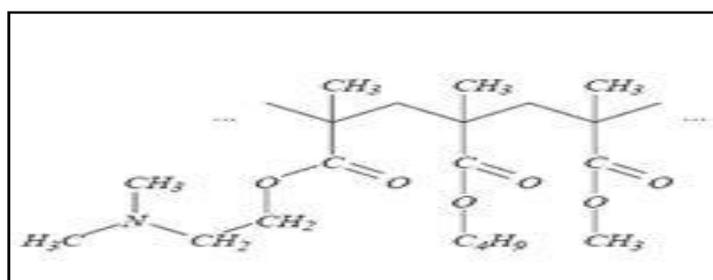


Figure III.1 : Formule développée des Eudragit[®] E 100.

La stabilité chimique et physique des Eudragit[®] est due à la présence d'un squelette de base formé d'atomes de carbone et à des branches esters. Les unités monomères méthacryliques assurent la rigidité. Les unités acryliques contribuent plutôt à la souplesse et à la flexibilité.

Les groupes esters méthacryliques sont aussi plus stables vis-à-vis de l'hydrolyse que les esters acryliques. En raison de leur nature hydrophile, les groupes ammoniums quaternaires augmentent la perméabilité du polymère.

De plus, les Eudragit[®] restent ionisés à tous les pH physiologiques, si bien que la perméabilité in vivo du polymère est indépendante du pH. Ce ne sont pas des polymères biodégradables à proprement parlé, car ils ne sont ni absorbés ni métabolisés in vivo mais éliminés sans biotransformations. [84]

Selon la littérature, il ressort que de nombreux facteurs (pH, température, enzymes, masse moléculaire, morphologie, structure et composition chimique, etc.) sont susceptibles d'intervenir dans leur dégradation in vitro et in vivo et par conséquent, dans la libération des principes actifs incorporés et que ces facteurs sont tous interdépendants.

Eudragit[®] aide à sceller les principes actifs sensibles et d'accroître l'observance du patient. Même les minces couches d'Eudragit[®] fournissent l'effet désiré, ce qui en fait une application très économique. Evonik propose différents EUDRAGIT[®] cationique grades E avec le méthacrylate de diméthyl-aminoéthyle comme groupe fonctionnel pour les revêtements de protection.

Revêtements protecteurs Eudragit[®]:

- pH dépendant de la drogue
- Protection contre l'humidité
- Application économique
- Amélioration de transit de la forme posologique
- Surfaces lisses et brillantes, un excellent revêtement de couleur

b-La cellulose et ses dérivés :

Ce polymère constitue la matière organique la plus abondante dans la nature, en effet elle représente plus de 50 % de la biomasse. La quantité synthétisée par les végétaux est estimée à 50-100 milliards de tonnes par an, ce qui lui donne une position spéciale.

C'est une des matières premières les plus utilisées dans le domaine industriel. La cellulose est un polymère correspondant à la combinaison de plusieurs molécules de glycosides, liées entre elles. Sa structure est donnée par la formule présentée dans la figure ci-dessous. Les différents monomères de glucose sont liés entre eux par des liaisons bêta 1-4, conduisant à une structure linéaire.

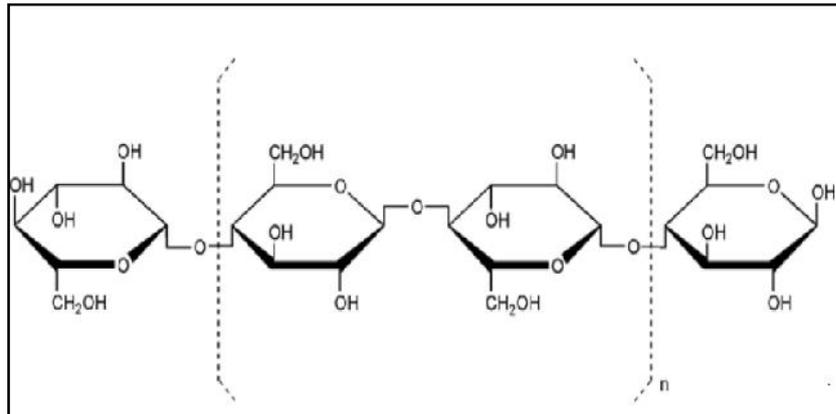


Figure III.2 : structure chimique de la cellulose [85]

Les différents types de cellulose utilisée sont obtenus par traitement mécanique ou chimique de la cellulose native (cellulose I). Le traitement mécanique et chimique à l'acide chlorhydrique aboutit à la cellulose en poudre et à la cellulose microcristalline.

En raison de la présence des groupements hydroxyle sur chaque motif constituant le polymère de la cellulose et par leur facile accessibilité, il y a possibilité de création de liaisons hydrogènes intra et inter moléculaires. Ce qui pousse les chaînes à se regrouper en formant des structures cristallines donnant ainsi aux fibres de celluloses la bonne ténacité et l'insolubilité dans l'eau et dans la plupart des solvants. [86]

Les principales familles de dérivés cellulosiques sont les esters et les éthers. [87] Les esters de celluloses sont obtenus par estérification de la cellulose ; on peut noter comme exemple l'acétate de cellulose. Les éthers de cellulose quand à eux sont obtenus par éthérification.

Les dérivés de cellulose sont généralement produits en différentes qualités qui se distinguent par leur degré de substitution et de polymérisation (viscosité).

- **Hydroxypropylméthylcellulose [88], [89] :**

L'hydroxypropylméthylcellulose est préparée par éthérification à partir d'une forme purifiée de l'alpha cellulose issue de la pulpe de bois rendue réactive par un traitement à la soude caustique, qui conduit à une cellulose alcaline réactive; cette dernière en présence du chlorométhane et l'oxyde de propylène à température élevée sera convertie en HPMC.

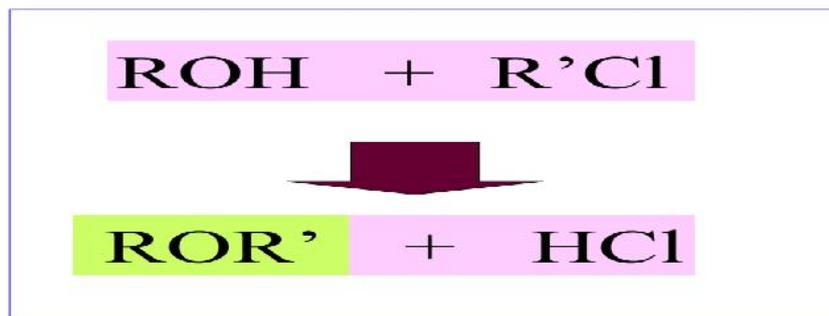


Figure III.3 : modification chimique de l'alpha-cellulose en HPMC.

Le mécanisme de cette réaction d'éthérisation est expliqué comme le montre la figure III.3 ci-dessus, où ROH représente l'un des groupements hydroxyles de l'unité glucose constituant la cellulose, R'Cl un chlorure d'alkyle qui va mettre à disposition le radical R'; dans notre cas, il correspond à -CH₃ ou encore CH₃CH(OH)CH₂-. Selon la littérature [90], hydroxypropylméthylcellulose est une cellulose partiellement O-méthylée et O-(2-hydroxypropylée).

On la trouve sous forme pulvérulente ou sous forme de granulés blancs, blanc-jaune ou blanc-gris, hygroscopiques après dessiccation inodore de masse moléculaire 6178g /mole.

Pratiquement insoluble dans l'eau chaude, dans l'acétone, dans l'éthanol anhydre et dans le toluène.

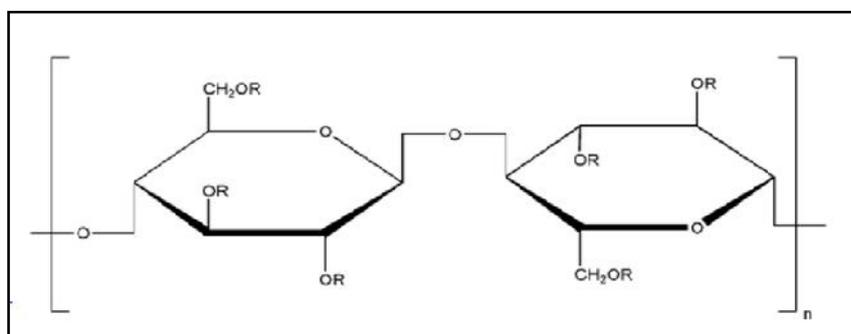


Figure III.4 : Structure moléculaire de l'hydroxypropylméthylcellulose ou R peut être H, CH₃ or CH₃CH(OH)CH₂- [87],[88] Réaction d'éthérisation de l'alpha cellulose.

c- Le polyéthylène glycol (PEG) :

Le polyéthylène glycol est un polymère linéaire appartenant à la famille des polyéthers non-ionique, c'est un thermoplastique cristallin. La chaîne de PEG est inerte d'un point de vue chimique alors que les groupements hydroxyles terminaux peuvent être exploités pour la synthèse de copolymères.

Les PEG ont des poids moléculaires moyens compris entre 2000 et 20000, ils sont généralement produits par polymérisation anionique d'oxyde d'éthylène avec une étape de terminaison, afin de donner des polyéthers.

Les deux catégories les plus utilisées en synthèse organique sont le poly(éthylène glycol)

possédant deux groupements hydroxyles terminaux (HO-PEG-OH ou PEG) et le poly(éthylène glycol) possédant un éther méthylique à une des extrémités de la chaîne du polymère (MeO-PEG-OH).

Le substrat est ancré aux extrémités du polymère grâce à des modifications chimiques. De plus, une fois que la liaison est effectuée, le PEG qui peut avoir une influence sur les réactions chimiques contrôle la solubilité et augmente la taille des molécules

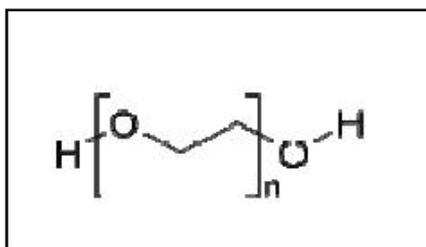


Figure. III.5: Représentation schématique du polyéthylène glycol.

Le PEG présente des propriétés physico-chimiques et biologiques uniques, y compris, la solubilité aqueuse illimitée indépendamment de sa masse moléculaire, biocompatibilité avec un faible degré d'immunogénicité et la non biodégradabilité. [91]

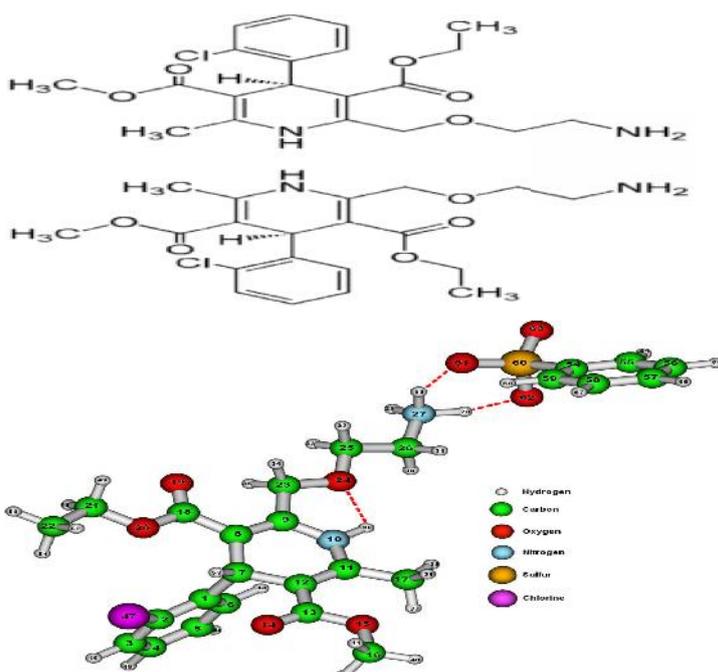
Le PEG est largement employé comme polymère de couronne de microparticules hydrophobes. Alors que des homopolymères ont été utilisés à cette fin [92], des dérivés amphiphiles du PEG comportant des segments de nature hydrophobe, ont été développés afin d'améliorer son adsorption à la surface des particules.

III.3.2 Le principe actif (Bésylate d'amolodipine)

- **Les propriétés physico-chimiques du principe actif (Bésylate d'amolodipine):**

Les caractéristiques d'identification physico-chimique de Bésylate d'amolodipine sont résumées dans le tableau qui suit :

Tableau III.1 : structure chimique et caractéristiques physicochimiques de l'Amlodipine

Le nom chimique	(RS)-3-ethyl-5-methyl-2-(2-aminoethoxymethyl)-4-(2-chlorophenyl)-1,4-dihydro-6-methyl- 3,5-pyridinedicarboxylate benzenesulfonate; 2-[(2-Aminoethoxy) methyl]-4-(2-Chlorophenyl)-3-Ethoxycarbonyl-5-Methoxycarbonyl- 6-Methyl-1, 4-Dihydropyridine;
Poids moléculaire	567.05 g/mole
Structure chimique	
Formule chimique	$C_{26}H_{31}ClN_2O_8S$
Aspect	Le bésylate d'amlodipine est une poudre cristalline blanche
Point de fusion (et de décomposition)	203 °C pKa = 9,02 à 23,5 °C.
Solubilité	Légèrement soluble dans l'eau et peu soluble dans l'éthanol

III.3.3 Tensioactifs

- Le cétyltriméthylammonium bromure CTAB :

Tensioactif cationique de formule brute $C_{19}H_{42}BrN$ de masse moléculaire 364,45g/mole. C'est une poudre cristalline blanche de point de fusion 230°C.

III.3.4 Solvants organiques (C₂H₂Cl₂)

Le dichlorométhane C₂H₂Cl₂ également appelé dichlorure de méthylène est un liquide volatil de point d'ébullition 40°C, incolore et limpide, dont l'odeur s'apparente à celle du chloroforme. Il est utilisé comme solvant dans la production de produits pharmaceutiques et dans l'enrobage par film. Cependant, sa toxicité risque de changer radicalement les contextes de son utilisation.

Pour l'optimisation des paramètres et l'étude de la cinétique de libération, nous avons utilisé les réactifs pour la préparation des milieux physiologiques : l'acide chlorhydrique (HCL), le chlorure de sodium (NaCl), l'hydroxyde de sodium (NaOH), le monohydrogénophosphate de sodium (Na₂HPO₄) et le dihydrogénophosphate de potassium (KH₂PO₄).

-Matériels utilisés :

Durant nos expériences nous avons exploité les appareils suivants :

- Balance analytique à 0,1mg de précision
- PH-mètre
- Agitateur ultrason
- Plaque chauffante thermostatée
- Spectrophotomètre UV-visible
- Spectrophotomètre FTIR Shimadzu affinity
- Dissolutest Pharmatest

TROISIEME PARTIE

III.4 CARACTERISATIONS DES MATIERES PREMIERES

III.4.1. Caractérisations physicochimiques des polymères (HPMC- Eudragit[®] – PEG6000)

Analyse infrarouge :

Nous avons utilisé un spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier de marque Shimadzu affinity. Des pastilles de KBr anhydre ont été préparées par compression en mélangeant 2 mg de chaque polymère (HPMC, EUDRAGIT[®], PEG6000) en poudre avec 80 mg de KBr finement broyé. Le spectre infrarouge de chaque échantillon est effectué par balayage dans une plage de fréquences comprises entre 400 et 4000 cm^{-1} .

1- HPMC

Le spectre IRTF représenté sur la figure dans l'annexe 2 révèle l'existence de plusieurs groupements fonctionnels et qui se regroupent majoritairement entre 500-4000 cm^{-1} .

Tableau III.2 : fréquences des principales bandes caractéristiques IR de HPMC

Fréquences cm^{-1}	Attribution des groupements fonctionnels
[3703-3122]	l'élongation du OH de la fonction alcool du cycle hétéroside rappelant la structure d'un dérivé cellulosique (forte et large)
[2929 ; 2846]	bandes d'élongations asymétriques des CH_3 et des CH_2
1651	Déformation de OH
[1463 ; 1381]	déformations symétrique (cisaillement) et asymétrique (torsion) de CH_2 et de CH_3 (moyennes)
[1250-966]	Plusieurs bandes d'élongation de C-O-C des éthers
943	Elongation de C-O d'alcool

2- EUDRAGIT[®]

Les bandes les plus caractéristiques observés sur le spectre IR de l'Eudragit[®] utilisé, permettent d'identifier les groupements fonctionnels du polymère. Ce qui montre que celui-ci est pur et de structure intacte. (Voir annexe 2)

Tableau III.3 : principales bandes IR de l'Eudragit®

Fréquences cm^{-1}	Attribution des groupements fonctionnels
[3600-3200]	Elongation du OH de la fonction acide COOH et de l'eau d'hydratation
[2960 ; 2821]	bandes d'élongations asymétriques et symétriques des CH_3 et des CH_2 (fortes et moyennes)
1732	élongation forte de C=O de l'ester
[1462 ; 1382]	Déformations symétrique (cisaillement) et asymétrique (torsion) de CH_2 et de CH_3 (moyennes)
[1313-1050]	Plusieurs bandes d'élongation asymétriques et symétriques du groupement C-O de l'ester (forte).

3- Polyéthylène glycol (PEG) :

Egalement pour le PEG, les pics sont regroupés dans la zone des empreintes digitales, Ces vibrations sont attribuées aux groupements fonctionnels récapitulés dans le tableau III.4.

Tableau III.4 : principales bandes IR de Polyéthylène glycol

Fréquences cm^{-1}	Attribution des groupements fonctionnels
[959- 840]	Elongation symétrique de C–C–O
1148-1060-1111	bandes d'élongations asymétriques de C–O–C des éthers
[1279 – 1243]	déformations symétrique de CH_2
[1345]	déformations symétrique de C–OH
[1468]	Déformations asymétrique de CH_2
[2882]	Elongation asymétrique de CH_2
[3453]	Elongation symétrique de OH

III.4.2. Caractérisations physicochimiques de bésylate d'amlodipine

La figure présentée dans l'annexe 2 permet d'identifier les groupements fonctionnels de notre principe actif

🌈 Analyse infrarouge :

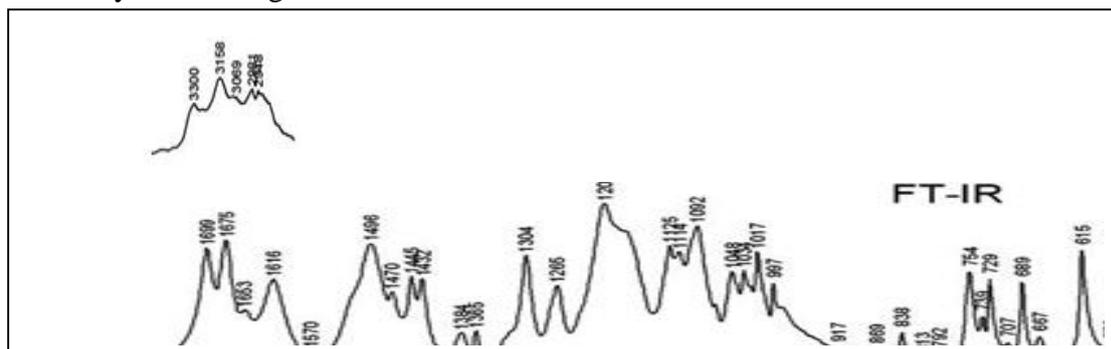


Figure III.6 : spectres IR de l'amlodipine pure en pastille de KBr. [93]

Après examen du spectre de la figure III.6, celui-ci confirme sa pureté et son authenticité, par comparaison à celui de la Les bandes caractéristiques IR de l'amlodipine utilisée dans notre travail sont rassemblées dans le tableau qui suit :

Tableau III.5 : principales bandes IR caractéristiques de l'amlodipine (bésylate)

Bandes IR (nombre d'onde en cm^{-1})	Types de liaisons ou de groupement
3300, 3167 2961, 2947	ν_{as} et ν_{s} de N-H de NH_2 d'amine primaire (moyennes) ν_{as} de C-H de CH_3 (moyennes)
1717	ν (C=O) ester proche du méthyl en méta sur le cycle pyridinium (forte)
1674	ν (C=O) ester proche de l'ether et en méta' sur le cycle pyridinium (forte)
1616	δ (NH) dans le plan du groupement amine primaire NH_2 (forte)
1494	δ (NH) dans le plan du groupement NH d'amine secondaire cyclique (forte)
1207	$\nu_{\text{as}}(\text{SO}_3)$ élongation asymétrique du groupement sulfonium (forte)
1126	ν (C-O-C) élongation de la fonction éther (forte)
1083	$\nu_{\text{s}}(\text{SO}_3)$ élongation symétrique du groupement sulfonium (forte)

🚦 Analyse UV-visible :

-Matériels et matière première

- Spectrophotomètre UV-visible
- Balance analytique
- Verreries
- Amlodipine
- Milieux physiologiques (eau distillée, pH=1.2, pH=6.8)

a- Préparation des milieux physiologiques :

- ❖ Solution acide chlorhydrique 2N dans un volume de 100ml:

$$m_{\text{HCL}} = C.V.M \longrightarrow m_{\text{HCL}} = 7,3\text{g}$$

$$M = 36,46\text{g/mole}$$

$$\text{Pureté} = 37\%$$

$$\text{Densité} = 1,18$$

$$37\text{g} \longrightarrow 100\text{g de solution concentré}$$

$$7,3\text{g} \longrightarrow m_{\text{HCL}} \text{ concentré}$$

$$m_{\text{HCL}} = 19,72\text{g}$$

$$d = m_{\text{HCL}}/v \longrightarrow v = 16,72\text{ml}$$

Donc mettre le volume prélevé dans une fiole graduée de 100ml, puis compléter avec l'eau distillée au trait de jauge.

- ❖ Solution de NaOH 2N dans un volume de 100ml :

$$M = 40\text{g/mole}$$

$$m_{\text{NaOH}} = C.V.M \longrightarrow m_{\text{NaOH}} = 8\text{g.}$$

Donc transférer la masse pesée dans une fiole graduée de 100 ml, compléter avec l'eau distillée au trait de jauge et laisser sous agitation jusqu'à dissolution complète.

🚦 Analyse qualitative par UV-Visible:

A- spectrophotométrie : dans l'eau distillée

On prépare une solution mère aqueuse d'amlodipine(Bésylate) de 50mg/l, on dissolvant 5mg d'amlodipine (Bésylate) dans 100ml d'eau distillée. A partir de cette solution mère, on prépare des solutions filles par dilution avec l'eau distillée pour avoir des étalons de concentrations suivantes : 1, 3, 5, 7, 10(mg/l) (voir le tableau dans l'annexe 1).

On réalise un balayage en longueur d'onde dans UV-Visible de 190-400nm de la solution étalon la plus concentrée (10mg/l) en élément à doser afin de déterminer la ou les longueurs d'onde d'absorption maximale de l'amlodipine (Bésylate).

Le spectre d'absorption UV-Visible obtenu est représenté dans l'annexe1:

A partir de se spectre, on observe 3 bandes d'absorption UV-Visible caractéristiques des groupements chromophores, mais la longueur d'onde les plus caractéristiques de

l'amlodipine (Bésylate) sont situées à 240nm et 360nm, correspondant respectivement à l'absorption du cycle benzène substitué par un chlore et l'hétérocycle azoté aromatique.

B-spectrophotométrie : milieu gastrique (tampon PH= 1,2)

De même cette analyse est réalisée sur une solution de 5mg d'Amlodipine(Bésylate) dans 100ml de tampon pH=1,2.

Le spectre UV-Visible obtenu fait apparaître pratiquement les mêmes bandes avec seulement un léger décalage des longueurs d'onde maximales. Mais, on remarque un effet hypochrome très important sur toutes les 3 bandes d'absorptions. La bande la plus caractéristique de l'amlodipine (Bésylate) est située pratiquement à la même valeur 240 nm. Ces résultats montrent que le pH a peu d'influence sur la structure chimique de l'amlodipine (Bésylate), qui subit peu de protonation des principaux groupements fonctionnels en milieu fortement acide. (Voire l'annexe1)

C- milieu physiologique intestinal (tampon pH=6,8)

Le même protocole expérimental a été suivi pour réaliser l'analyse UV de la solution d'amlodipine (Bésylate) dans le milieu physiologique intestinal correspondant à un pH = 6,8. (Voir l'annexe 1)

L'examen du spectre UV-Visible montre qu'il existe peu d'écarts entre les bandes d'absorption dans le milieu tampon pH=6.8 et les autres milieux précédemment cités. On note cependant un léger déplacement de la principale bande d'absorption vers une longueur d'onde maximale estimée à 239nm. On conclut que les positions des bandes d'absorption UV de l'amlodipine sont peu influencées par la valeur du pH.

Analyse quantitative :

1. Courbe d'étalonnage de l'amlodipine (Bésylate) dans l'eau distillée.

On a obtenu sur le spectre une bande d'absorption à $\lambda_{max} = 240nm$. Par conséquent, on mesure les absorbances des étalons en fixant la longueur d'onde à 240nm. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau qui suit:

La courbe d'étalonnage de l'amlodipine (Bésylate) est représentée dans la figure (annexe 1). En portant les absorbances en abscisse et les concentrations en ordonnée, on trace la courbe d'étalonnage $Abs=f(C)$ qui est linéarisable aux moindres carrées (annexe 1).

2. Courbe d'étalonnage à pH=6,8 (milieu intestinal) :

La préparation des étalons a été suivie de la même manière que précédemment, mais en dissolvant l'amlodipine (Bésylate) dans le milieu à pH=6,8 (voir l'annexe 1).

On trace la courbe d'étalonnage de l'absorbance en fonction de la concentration à pH=6,8 .les valeurs sont portées sur le graphique de la figure (annexe 1).

3. Courbe d'étalonnage dans le milieu à pH=1,2 (milieu gastrique)

Les concentrations des étalons de l'amlodipine (Bésylate) sont les mêmes que précédemment, sauf que pour ce cas, on dissout l'amlodipine (Bésylate) dans un milieu très acide à pH=1,2 correspondant au milieu physiologique gastrique. Les résultats des mesures des absorbances à 240nm sont consignés dans l'annexe 1.

IV.1.INTRODUCTION

Les microparticules constituent une forme pharmaceutique innovante d'une taille de micromètre et sont applicables à l'administration orale de médicaments. Parmi les multiples techniques développées pour préparer des microparticules, la méthode de double émulsion suivie de l'évaporation de solvant est applicable à l'encapsulation de principes actifs hydrophobes. Une phase interne aqueuse de principe actif est émulsionnée dans une phase organique de polymères. L'émulsion eau dans huile obtenue est à son tour émulsionnée dans la phase aqueuse externe contenant l'agent tensio-actif et entraîne la formation de la deuxième émulsion eau dans huile dans eau. L'évaporation du solvant organique provoque la précipitation du polymère au contact de la phase aqueuse et donc la formation des particules renfermant le principe actif. Nous avons appliqué cette technique tout au long de notre travail pour la fabrication de microparticules destinées à l'administration orale.

Ce chapitre contient le procédé de préparation d'une formulation de la micro encapsulation de Bésylate d'Amlodipine par double émulsion dans le but d'une libération prolongé, avec optimisation de quelque paramètre, ensuite l'étude de la cinétique de libération de PA pour la meilleure formulation dans des milieux physiologique.

IV.2.MISE EN ŒUVRE DU PROCEDE DE LA MICROENCAPSULATION :

1^{ere} méthode de procédé d'encapsulation :

1-Préparation de la phase continue :

On fait dissoudre 200mg de cetyltriméthylammonium bromure(CTAB) dans 100ml (40ml pour chaque prise d'essai) d'eau distillée dans une fiole de 100ml, puis on complète jusqu'au trait de jauge.

2-Préparation de la phase dispersée (1ere émulsion) des polymères :

On fait dissoudre dans un erlen les différentes masse des polymères (suivre le tableau) dans 10ml de dichlorométhane prélevé à l'aide d'une éprouvette de 10ml sous la hôte et qu'on ferme hermétiquement pour empêcher l'évaporation de solvant. On agite manuellement jusqu'à dissolution complète des polymères.

3-Emulsification

On prélève à l'aide d'une seringue 1ml de la solution Bésylate d'Amlodipine (5 mg/ml) [5mg Bésylate d'Amlodipine dissoute dans 1ml de milieu tampon PH=6,8] qu'on verse goutte a goutte dans la solution polymère (phase dispersée). On agite à l'aide d'un agitateur à ultrason à froid 10 °C pendant 1 mn. Le mélange est ensuite rajouté goutte à goutte au 40ml de la phase continue (pour obtenir une 2ème émulsion).

4-Evaporation du solvant

On fait agiter l'émulsion placé sur une plaque agitatrice pendant 30minutes sous pression atmosphérique.

5-Récupération de microcapsules et dosage du surnageant :

Ensuite, on filtre l'émulsion sur un filtre en verre de porosité 4 qu'on laisse reposer pendant quelque heure. Puis on récupère le surnageant à l'aide d'une seringue qui sera dosé par UV-visible, et on obtient une suspension laiteuse Qui va être laissé séchés à l'air libre.

- Préparation des microcapsules non chargées en Bésylate d'Amlodipine

Des microcapsules sans principe actif (microcapsules blanches) sont aussi préparées pour chaque formulation étudiée, selon les méthodes décrites précédemment.

IV.3.OPTIMISATION DES PARAMETRES D'ENCAPSULATION

Pour l'étude de l'influence de tous les paramètres qui viennent, on suit les mêmes étapes successives décrites précédemment, en faisant varier le paramètre à étudier son influence.

a) Influence des quantités et les proportions en polymères :

Le rapport de quantité des polymères sont présenté dans le tableau suivant :

Tableau IV.1 : variation de taux de polymères pour les différents essais.

Formulation	Quantité en PEG (mg)	Quantité en HPMC (mg)	Quantité en EUD (mg)
Essai 1	100	300	200
Essai 2	200	300	200
Essai 3	100	100	300
Essai 4	100	200	300

b) influence du PH du milieu continue

Après avoir calculé le taux d'encapsulation pour chaque essai on a optimisé pour la meilleure formulation (essai 4)

➤ Préparation des différents pH:

-Préparation des pH acides de la phase continue (pH=4 et pH=5):

On introduit 0,2 g de tensioactif(CTAB) dans 100ml d'eau distillé, puis on réajuste à l'aide d'une micropipette quelques gouttes d'une solution d'acide HCl 0,1N jusqu'à l'obtention des PH désirés, en contrôlant leur valeurs à l'aide d'un pH-mètre.

-Préparation de PH basiques de la phase continue (pH=8):

On introduit 0,2 g de tensioactif(CTAB) dans 100ml d'eau distillé, de la même manière on ajuste avec une solution de NaOH 0,1N jusqu'à l'obtention des pH désirés en les contrôlant a l'aide d'un pH-mètre

-Préparation du tampon PBS (phosphate buffered saline) selon la 6^{ème} édition de la pharmacopée :

On Dissolve 2,38 g de phosphate disodique, 0,19g de phosphate monopotassique et 8,0 g de chlorure de sodium dans de l'eau distillé et complétez à 1000,0 ml. Puis on ajuste le pH si nécessaire.

-Préparation de la phase continue a PH=7,4 :

On fait dissoudre 200mg de CTAB dans 100ml de solution tampon PBS qui est préparé de la même façon cité précédemment.

- **Préparation des formulations**

Tableau IV.2 : variation du pH de la phase aqueuse pour les différents essais.

Formulation : Essai 4 (100PEG-200HPMC-300EUD)	
Essais	Variation de PH
5	4
6	5
7	7,4
8	8

Après avoir analysé les résultats obtenus, nous avons trouvé que la meilleure encapsulation est obtenue pour celle réalisée dans le pH=7,4 car on a obtenue un taux d'encapsulation important (les détails seront présentés dans le chapitre résultats et discussion qui suit). Pour cela, l'optimisation des paramètres est réalisée dans la phase aqueuse dont le pH=7,4.

c) Variation du taux de tensioactif :

On suit les mêmes étapes précédentes mais cette fois-ci en réalisant l'étape d'émulsification à différents taux de tensioactif dans la phase aqueuse et on fixe le PH=7,4 :

Tableau IV.3 : variation du taux de tensioactif pour les différents essais.

Formulation : (100PEG-500HPMC-0EUD)	
Essais	% de tensioactif
9	0,05
10	0,1
11	0,2
12	0,3

d) L'influence de taux de tensioactif sur la variation de la quantité de polymères

Tableau IV.4 : variation du taux de tensioactif et les quantités de polymères.

Formulations					
100mgPEG-450mgHPMC-50mg EUD		100mgPEG-400HPMC-100mg EUD		100mg PEG -300mgHPMC-100mg EUD	
Essais	% de tensioactif	Essais	% de tensioactif	Essais	% de tensioactif
13	0,2	15	0,2	16	0,2
14	0,3				

2^{ème} méthode de procédés d'encapsulation

Après avoir analysé les résultats obtenus dans la première méthode d'encapsulation, et dans le but d'améliorer la formulation et la vectorisation Bésylate d'Amlodipine on procède comme suite:

- Préparation de la phase continue :

On fait dissoudre 200 mg de HPMC et 100mg de PEG dans 40ml de solution tensioactif (200mg de CTAB dissoute dans 100ml d'eau distillé) sous agitation pendant quelques minute jusqu'à dissolution totale de HPMC a une température ambiante.

- Préparation de la phase dispersée :

La phase organique est obtenue par dissolvation de 300mg EUD dans 10ml de dichlorométhane sous la hôte et qu'on ferme hermétiquement pour empêcher l'évaporation de solvant. On agite manuellement jusqu'à dissolution complète de polymère.

- Emulsification

On prélève a l'aide d'une seringue 1ml de la solution Bésylate d'Amlodipine (5mg dissoute dans 1ml de tampon PH=6,8) qu'on introduit dans la solution organique (phase dispersée) sous agitation forte pendant 1min a température ambiante, ensuite ce dernier est rajouté goutte a goutte dans la phase aqueuse (phase continue) toujours sous agitation afin d'obtenir la 2^{ème} émulsion.

- Evaporation de solvant :

On fait agiter l'émulsion placé sur une plaque agitatrice pendant 30minutes sous pression atmosphérique.

- Récupération de microcapsule et dosage de surnageant :

A l'aide d'une centrifugeuse de 600 tours /min, on centrifuge l'émulsion dans des tubes de 15ml pendant 40min

A la fin du procédé on récupère le résidu dans une boîte pétrie qui sera séché à l'air libre, alors que le surnageant est dosé par UV-Visible

- Préparation des microcapsules non chargées en Bésylate d'Amlodipine

Des microcapsules sans principe actif (microcapsules blanches) sont aussi préparées pour chaque formulation étudiée, selon les méthodes décrites précédemment.

IV.5.OPTIMISATION DES PARAMETRES D'ENCAPSULATION :

1-Influence du PH de la phase continue et la température d'émulsification :

Tableau IV.5 : variation du pH de la phase continue et de température.

Formulation de l'essai 4 (100PEG-200HPMC-300EUD)			
T (ambiante)		T 10°C	
Essais	Variation de PH	Essais	Variation de PH
17	Eau distillée	20	Eau distillée
18	5	21	5
19	7,4	22	7,4

IV.6.ETUDE DE LA CINETIQUE DE LIBERATION IN VITRO D'BESYLATE D'AMLODIPINE

La cinétique de libération est réalisée pour les meilleures formulations, dans le milieu physiologique tampon pH=6,8.

➤ Préparation 2l de milieux physiologiques PH=6,8 :

- On fait dissoudre 13,6g de KH₂PO₄ dans 250ml d'eau distillée, et 8g de NaOH dans 250ml d'eau distillé
- On prélève 77ml de la solution de NaOH et les 250ml de la solution de KH₂PO₄ qu'on introduit dans une fiole de 2l puis complété jusqu'au trait de gauge
- On ajuste le pH désirés (6,8) avec une solution de NaOH 1N

Pour pouvoir effectuer l'étude de la cinétique de libération, après séchage des résidus des émulsions dont les conditions sont optimisées.

Dans chaque bac on introduit la formulation la plus optimisée à une température constante de $37 \pm 2^\circ\text{C}$. A l'aide d'une seringue de 5ml, on prélève pour différents intervalles de temps (voir le tableau) 4ml de la solution du milieu de dissolution, on les verse dans un tube à essais. Le même volume de milieu de dissolution a été remplacé pour maintenir le volume constant. Ensuite, on effectue le dosage des échantillons à $\lambda_{\text{max}}=240\text{nm}$ en prenant le tampon comme solution de référence et on trace la courbe correspondant à la cinétique de libération Bésylate d'Amlodipine : % de libération=f(t).

V.1 PHYSICOCHIMIQUES

V.1.1.Par infrarouge

La spectroscopie infrarouge est très utile pour examiner la présence de liaisons ou toutes autres interactions à distance susceptibles d'être établis entre différents groupements de substances distinctes dans un mélange. Elle permet d'étudier l'impact que présente l'incorporation des corps structurés différemment au départ sur la morphologie du matériau obtenu. L'établissement de ces liaisons se traduit généralement par la formation d'un nouvel état physique due au changement des énergies vibratoires et de déformations à l'échelle intra ou inter atomiques. Ces états se manifestent au niveau du spectre soit par l'apparition de nouveaux pics, leurs décalage, changement de la forme du pic ainsi que parfois par leurs disparitions.

a) Influence de taux de polymères :

Les spectres IR-TF réalisés sur les pastilles de KBr des poudres des différentes formulations, nous permettent de les comparer entre eux, soit pour interpréter les changements opérés sur les bandes d'absorption IR, par suite de l'identification de chacune d'elles et de leurs attributions aux polymères (HPMC, Eudragit[®], PEG600), soit de déceler la présence du Bésylate d'Amlodipine dans les microparticules, en les comparant aux bandes d'absorption du spectre du principe actif pur, comme montre la figure suivante :

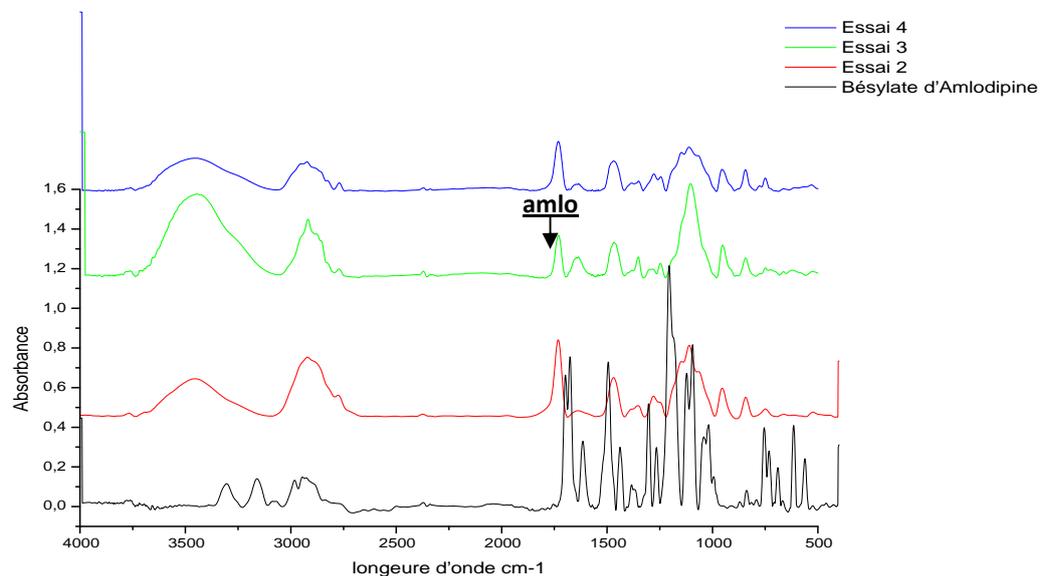


Figure V.1: Spectres IR des différentes formulations et d'Amlodipine (Bésylate)

- Interprétation :

Le spectre montre qu'il n'y a aucun décalage appréciable du pic situé autour de $3448,04\text{cm}^{-1}$ correspondant à la bande du groupement OH de la fonction alcool du cycle hétéroside de HPMC, dans les différentes microparticules de chaque essai.

Aussi bien que certaines bandes d'absorption ne sont que la superposition de la composition pure d'Amlodipine (Bésylate), en d'autre terme, ces pics ne sont pas affectés par la composition du mélange (HPMC, EUD, PEG).

Effectivement dans la zone des carbonyles, les deux bandes à $1690-1675\text{cm}^{-1}$ attribués aux 2 fonctions esters de l'Amlodipine (Bésylate), se retrouvent décalés vers les basses fréquences. Ce qui peut être traduit par l'établissement d'une liaison hydrogène susceptible d'être formée entre le carbonyle de la fonction ester d'Amlodipine (Bésylate) et l'hydrogène de la fonction OH de HPMC.

Les autres bandes intenses apparaissant sur le spectre masquant celles du PA, sont attribuées aux polymères (HPMC et eudragit®).

b) Influence du pH de la phase continue :

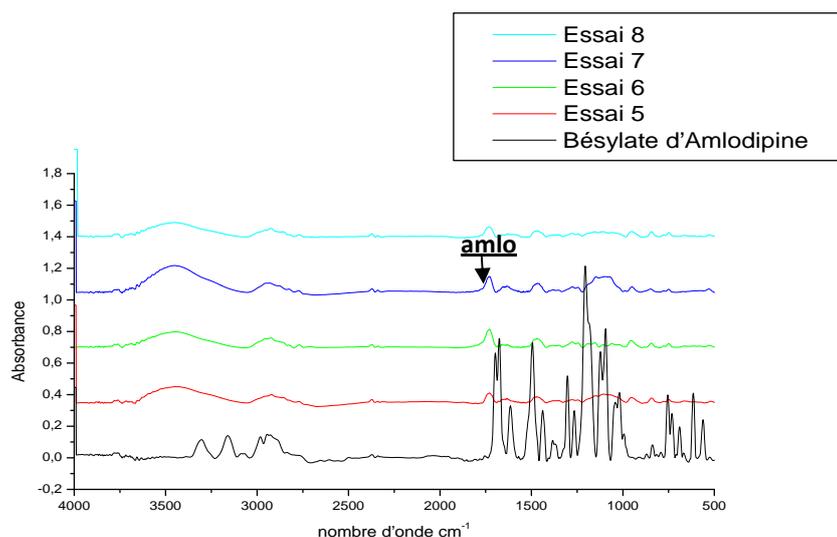


Figure V.2 : Spectres IR des différentes formulations et d'Amlodipine (Bésylate)

-Interprétation :

Par comparaison du spectre de l'amlodipine à celui des microparticules des différents essais, on remarque un décalage des différentes bandes caractéristiques d'amlodipine avec une faible intensité à pH =4 (essai 5) et de même pour pH =8 (essai 8). En particulier pour celle des fonctions esters qui sont décalées vers des fréquences plus basses. On note que l'intensité de cette bande IR est relativement plus intense pour l'essai 7) à pH 7,4, correspondant à meilleur taux d'encapsulation du PA réalisé dans les conditions optimales. Egalement, on

remarque la disparition du pic à 1207 cm^{-1} dues aux interactions avec les protons du milieu acide.

➤ 2^{eme} procédé:

- Variation de la température :

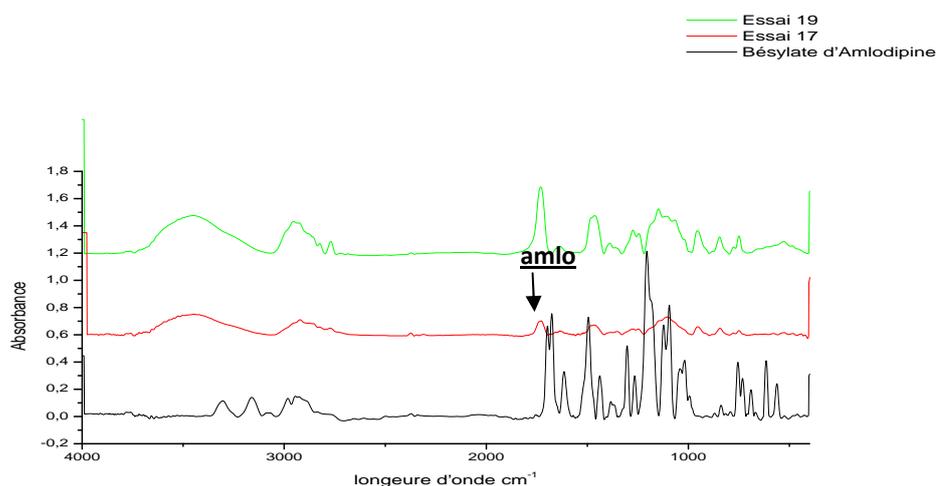


Figure V.3 : spectres IR des microparticules des essais 17 et 19, et de l'Amlodipine (Bésylate)

-Interprétation :

On remarque que pour l'essai 19, la bande caractéristique des C=O de esters de l'amlodipine est relativement intense comparée à celle du spectre de l'essai 17. Ce qui montre une meilleure encapsulation du PA dans l'essai 19. Les autres bandes de l'amlodipine sont masquées par celles des polymères, notamment celles de l'Eudragit[®] et de HPMC.

EFFICACITE DE L'ENCAPSULATION

Notre étude consiste à optimiser les paramètres expérimentaux tels que la température, le pH et les proportions des polymères et celle du tensio-actif, afin d'obtenir un meilleur rendement d'encapsulation.

- Taux d'encapsulation Eff(%) par analyse UV-visible:

Pour chaque expérience, on récupère le surnageant qu'on dose par l'UV-visible à $\lambda_{\max}=240\text{nm}$ pour évaluer l'efficacité d'encapsulation en connaissant la concentration de Bésylate d'Amlodipine dans le filtrat (Bésylate d'Amlodipine non encapsulée), car:

$$Eff(\%) = \frac{C_0 - C_f}{C_0} \cdot 100$$

- C_0 : Concentration initiale en Bésylate d'Amlodipine, 5mg introduite dans 50ml (40ml de phase continue, 10ml de phase dispersée).
- C_f : Concentration finale en Bésylate d'Amlodipine.

1^{ère} méthode de procédé de la microencapsulation :

VI.1. Influence de quantité de polymères (HPMC -EUDRAGIT®-PEG 6000) :

Les efficacités d'encapsulation Eff(%) sont données dans le tableau IV-1 et représentées par la figure IV-1.

Tableau VI.1 : taux d'encapsulation de Bésylate d'Amlodipine en fonction des quantités de polymères

Essai	1	2	3	4	13	15	16
EFF (%)	48,99	94,89	81,51	97,87	99,933	96,779	85,1
Aspect	film	poudre	poudre	poudre	poudre	poudre	poudre

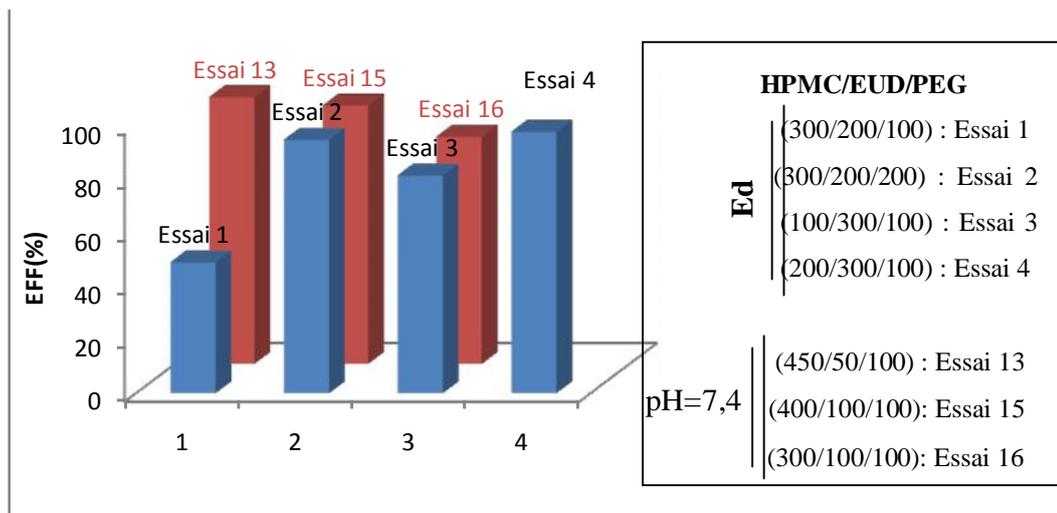


Figure VI-1 : Histogramme des taux d'encapsulation de Bésylate d'Amlodipine en fonction de la quantité et de la nature des polymères

Discussion :

Le taux d'encapsulation varie en fonction de la quantité et de la nature des polymères. Le taux d'encapsulation est maximal (97,87%) pour la quantité la plus élevée en EUDRAGIT[®] (300mg) pour l'essai 4. Alors que la valeur de ce taux est minimale (48,99%) avec une quantité maximale de HPMC (300mg). Les valeurs dépendent également de la masse totale en polymères (700mg) ajoutés, on obtient un taux d'encapsulation élevé de l'ordre de 94,89% pour l'essai 2.

On conclue que l'efficacité de l'encapsulation de Bésylate d'Amlodipine est plus importante pour l'essai 4 (voir figure VI-1), ce qui signifie que la présence de l'HPMC et l'EUDRAGIT[®] en forte proportion dans la formulation favorise l'encapsulation du PA.

HPMC est une matrice très hydrophile et l'EUDRAGIT[®] est un acrylate de nature hydrogels mais de plus faible solubilité dans l'eau. Ces derniers présentent une structure tridimensionnelle très importante (cavité), en contact avec l'eau les deux matrices s'hydratent et gonflent facilement, ce qui conduit à l'augmentation de la dimension de leurs cavités.

Ce phénomène favorise ainsi l'encapsulation du principe actif durant le premier procédé de l'émulsification.

L'efficacité d'encapsulation est meilleure pour l'essai 13 comparée à celle de l'essai 16. La présence de HPMC en forte proportion dans la phase organique, augmente la viscosité du milieu par formation d'un gel. Ce qui diminue la mobilité des molécules notamment celle de Bésylate d'amlodipine

L'aspect de la biomasse isolée varie en fonction de l'essai. On obtient un film pour l'essai 1, tandis que les trois autres essais aboutissent à des poudres.

VI.2. INFLUENCE DU PH DE LA PHASE CONTINUE SUR L'EFFICACITE DE L'ENCAPSULATION :

Dans ces essais, on fixe les quantités de polymères de l'essai 4 qui correspond à la valeur optimale du taux d'encapsulation, et on fait varier le pH de la phase continue.

Les résultats de l'analyse par UV-Visible ont abouti aux taux d'encapsulation des essais mentionnés dans le Tableau IV-2, tandis la représentation graphique des variations est donnée dans la figure IV-2.

Tableau VI-2 : les efficacités d'encapsulation de Bésylate d'Amlodipine en fonction du pH de la phase continue

Formulation	Essai 4 : HPMC- EUD-PEG (200-300-100)			
Essais	5	6	7	8
PH	4	5	7,4	8
E(%)	89,575	63	97,742	96,682
Aspect	poudre	poudre	poudre	poudre

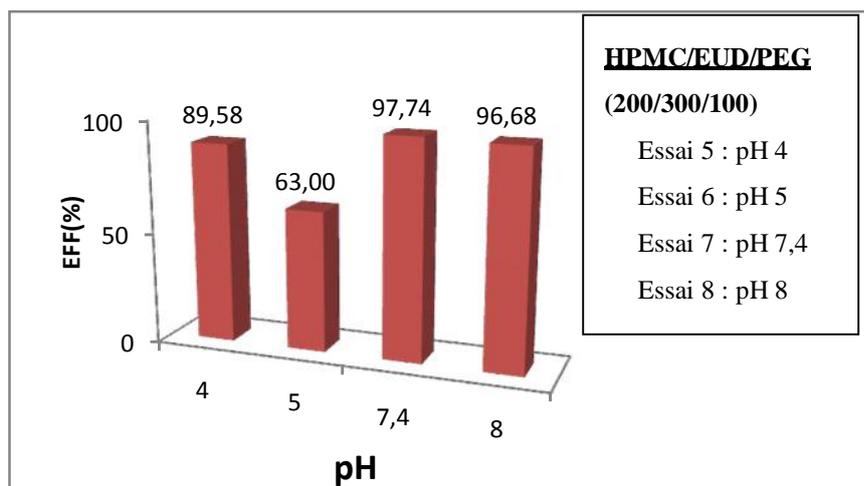


Figure VI-2 : Histogramme des efficacités d'encapsulation de Bésylate d'Amlodipine en fonction du pH de la phase continue.

Discussion :

Les résultats des essais montrent une grande influence du pH sur les résultats de l'encapsulation. La valeur optimale du taux d'encapsulation correspondant à 97,74% est observée le pH 7,4 (tampon ou milieu physiologique sanguin). Dans ce milieu, l'EUDRAGIT® ainsi que le HPMC sont moins solubles, ce qui favorise la formation des microcapsules et améliore ainsi l'encapsulation du PA.

On remarque la diminution du taux d'encapsulation à pH=5, qui dissout non seulement beaucoup plus l'EUDRAGIT[®] et empêche ainsi la formation des microcapsules, mais aussi il confère à l'émulsion une neutralité de la charge qui déséquilibre celle-ci à l'interface eau/huile.

Pour le pH plus acide on inverse la charge de l'émulsion qui devient positive, Veut dire les protons H⁺ du milieu acide interagissent avec la fonction carboxylate CO⁻ des méthacrylates (Eudragit[®]). Les groupements hydroxyles de l'HPMC à leur tour développent de forte liaisons hydrogènes; ces deux phénomènes créent des liaisons entre les chaînes polymériques réduisant le taux d'encapsulation

En comparaison avec l'émulsion faite à pH =8 basique qui chargée négativement. L'effet répulsif charges des ions hydroxyles de la phase continue, avec celles des anions des polymères favorise l'augmentation des dimensions des cavités ce qui augmentera en parallèle l'emprisonnement de Bésylate d'amlodipine

L'influence du signe de la charge apparaît ici très importante sur la stabilité de l'émulsion et donc sur le taux d'encapsulation.

VI.3 .VARIATION DU TAUX DE TENSIOACTIF : A PH=7,4 :

Tableau VI-3: les efficacités d'encapsulation de Bésylate d'Amlodipine en fonction taux de tensioactif.

essais	Essai 9	Essai 10	Essai11	Essai 12
E(%)	61,093	99,66	98,605	77,824
aspect	poudre	poudre	Poudre	Poudre

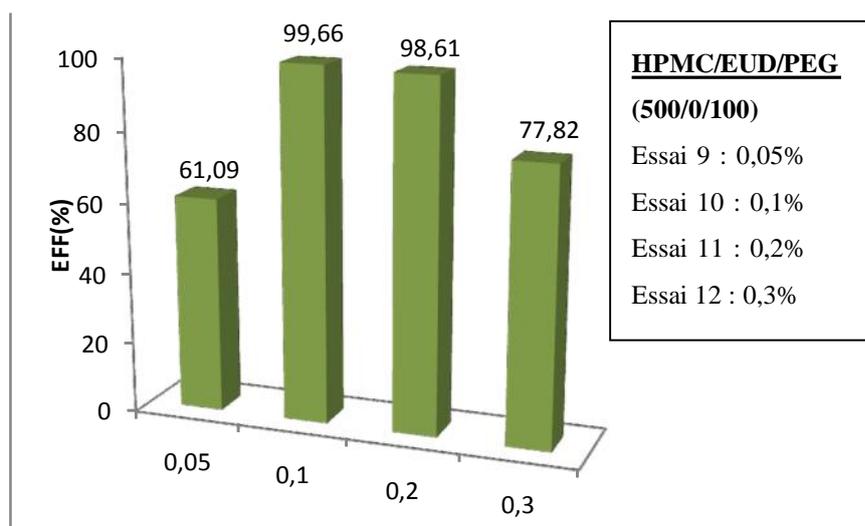


Figure VI-3 : Histogramme des efficacités d'encapsulation de Bésylate d'Amlodipine en fonction du taux de tensioactif.

Discussion

Le meilleur taux d'encapsulation (99,66-98,61) est obtenue pour des quantités moyenne de tensioactif CTAB (0,1-0,2) du à l'existence d'un équilibre entre les forces de type Van der Waals, favorisant l'interaction polymères-tensioactif. Le moteur dominant de l'association est la réduction de l'aire de contact entre l'eau et les chaînes hydrocarbonées du tensioactif. [94]

Pour les autres essais, l'augmentation (0,3%) et la diminution très nette (0,05%) du taux de tensioactif conduit à des efficacités moins importantes, car il déstabilise l'émulsion soit par un excès ou par un déficit en charge positive (cationique) à l'interface eau/huile.

2^{ème} méthode de procédés de la microencapsulation :

Dans le deuxième procédé d'encapsulation, nous avons mis en évidence l'effet de la température et la force ionique de la phase continue, sur l'efficacité de l'encapsulation. Les résultats observés sont discutés ci-dessous

VI.4. INFLUENCE DE PH A TEMPERATURE AMBIANTE :

Tableau VI.4 : Variation de pH à température ambiante (série 1)

Température ambiante	Essai 17	Essai 18	Essai 19
E(%)	65,87	42,1	60,1
aspect	poudre	poudre	Poudre

VI.5. INFLUENCE DU PH A TEMPERATURE 10°C :

Tableau VI.5: Variation de pH à température 10°C (série 2)

Température (10°C)	Essai 20	Essai 21	Essai 22
E(%)	46,14	62,13	26,00
aspect	poudre	poudre	Poudre

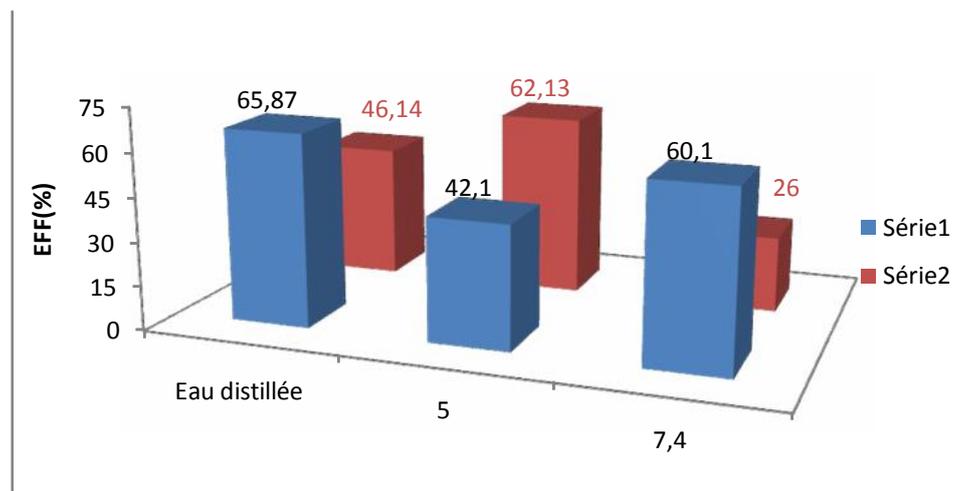


Figure VI.4. Histogramme des taux d'encapsulation de Bésylate d'Amlodipine en fonction de la température et le pH de la phase continue

Discussion :

D'après l'histogramme illustré sur la figure VI-4, nous pouvons conclure que l'efficacité de l'encapsulation est nettement meilleure pour une phase continue neutre (eau distillée).

La force ionique étant quasiment nulle (eau distillée), d'une part Bésylate d'Amlodipine est plus soluble dans un milieu aqueux à pH neutre, et d'autre part les interactions inter et intra existant entre les chaînes polymériques de la phase dispersée diminuent, en devenant plus flexibles et plus mobiles. L'abaissement de la force ionique, en particulier à l'interface eau/huile (dichlorométhane), favorise la diminution aussi des tensions inter faciales au profit d'une meilleure encapsulation de Bésylate d'Amlodipine et en faveur de la formation d'un taux élevé de microcapsules.

La variation de la température de la phase continue présente un changement plus en moins particulier ce qui confirme que la température optimale de l'encapsulation a un effet sur l'entropie de l'émulsion qui augmente sa stabilité et sur l'état physique dans lequel se trouvent les polymères, correspondant à une phase qui se trouve au dessous et éloignée de l'état de transition vitreuse (diagramme d'équilibre thermodynamique).

En ce qui concerne les performances des deux procédés d'encapsulation, il est clair que le premier procédé d'encapsulation présente un taux d'encapsulation plus importants. Ceci est probablement du aux différentes conditions mises en jeu. Dans le système tertiaire (HPMC - l'EUDRAGIT® -PEG-6000) la matrice est plus dense et visqueuse, les interactions de type hydrogènes sont plus importantes entre les C-O de l'Eudragit® et le O-H de l'HPMC et /ou de PEG6000. Ce qui provoque un encombrement stérique permettant de mieux retenir Bésylate d'Amlodipine. Un effet moindre a pu être considéré dans le cas des systèmes binaires vis à vie la phase continue.

Conclusion :

Le procédé d'encapsulation a été étudié en variant plusieurs grandeurs afin d'optimiser l'effet de l'encapsulation de Bésylate d'Amlodipine .Nous avons varié les paramètres de la phase organique en changeant les proportions des polymères. Puis ceux de la phase continue en changeant le pH, et enfin nous avons varié la concentration du tensioactif.

D'après les résultats que nous avons récoltés durant notre étude expérimentale, on conclut qu'à pH voisin de 7,4 (tampon physiologique sanguin), et pour une phase organique contenant des polymères susceptibles de former des hydrogels, tels que HPMC et Eudragit[®], et ayant certaines propriétés de solubilité, de viscosité et de charge, constituent des conditions favorables pour que l'efficacité de l'encapsulation de l'amlodipine soit optimale de l'ordre de 98%.

PRESENTATION DES RESULTATS DES CINETIQUES DE LIBERATION DE BESYLATE D'AMLODIPINE

Les différents profils de libération du principe actif, obtenue par la dissolution des microparticules sont illustrés dans les figures ci-dessus.

1- premier procédé d'encapsulation :

➤ Influence de quantité de polymères (HPMC-EUDRAGIT®-PEG 6000)

• Essai 2 :

Tableau VI.6 : résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'Amlodipine libéré en fonction du temps (Essai 2)

T (min)	0,15	10,12	20,07	30,1	45,1	60,1	75,08	90,07	105,05	120,12
C(mg /l)	5,94	6,29	6,43	6,68	5,24	6,75	6,36	5,42	6,54	5,18
Abs	0,108	0,118	0,122	0,129	0,109	0,131	0,120	0,09	0,125	0,09

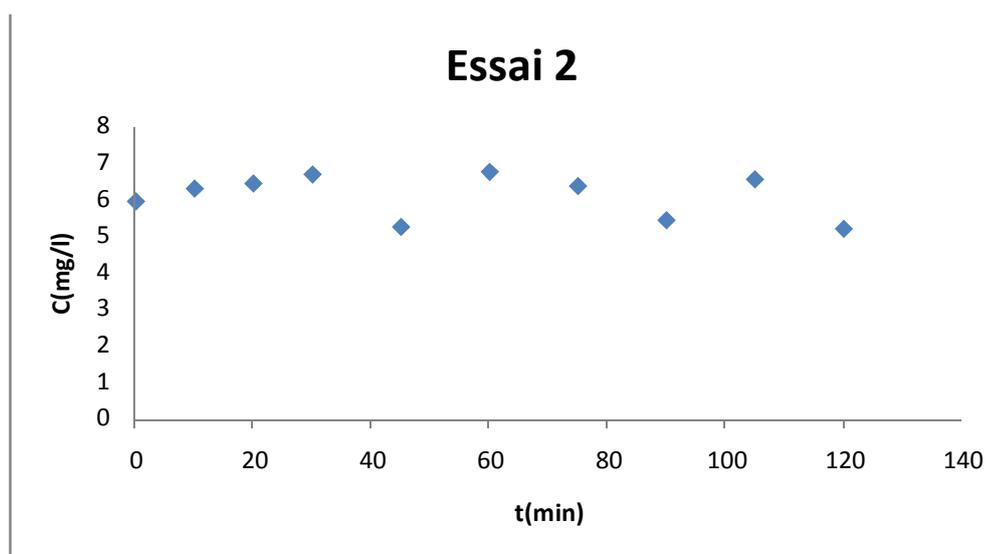


Figure VI.5 : profil de libération de Bésylate d'Amlodipine , essai 2

• Essai 3 :

Tableau VI.7 : résultats des concentrations, et absorbances de Bésylate d'Amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 3)

T(min)	0,28	10,28	20,23	30,16	45,18	60,02	75,22	90,02	105,18	120,18
C(mg /l)	3,63	5,91	5,95	5,98	6,15	7,73	5,84	6,29	7,83	5,84
Abs	0,042	0,107	0,108	0,109	0,114	0,159	0,073	0,091	0,162	0,105

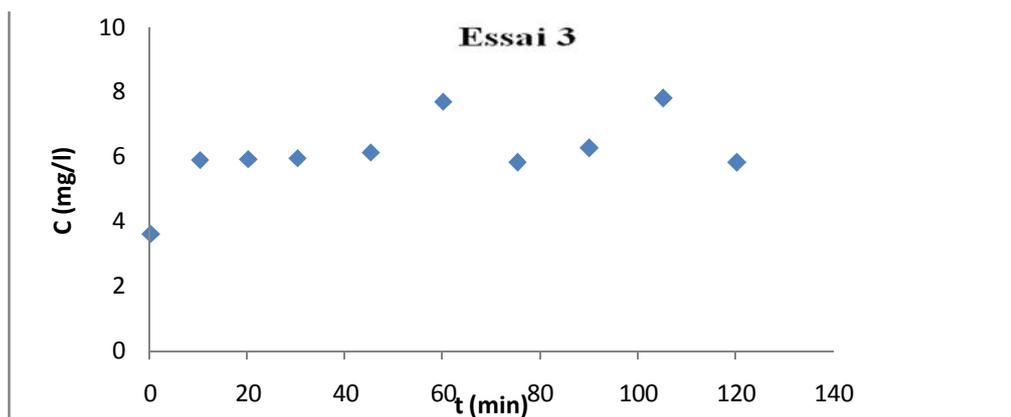


Figure VI.6 : Profil de libération de Bésylate d'Amlodipine, Essai 3

- Essai 4 :

Tableau VI.8 : résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'Amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 4)

t(min)	0,13	10,15	20,58	30,13	45,15	60,18	75,18	90,13	105,1	120,1
C (mg/l)	4,23	8,74	8,84	9,19	9,30	9,57	9,26	9,12	9,26	9,02
Abs	0,06	0,188	0,191	0,201	0,204	0,212	0,203	0,199	0,203	0,196

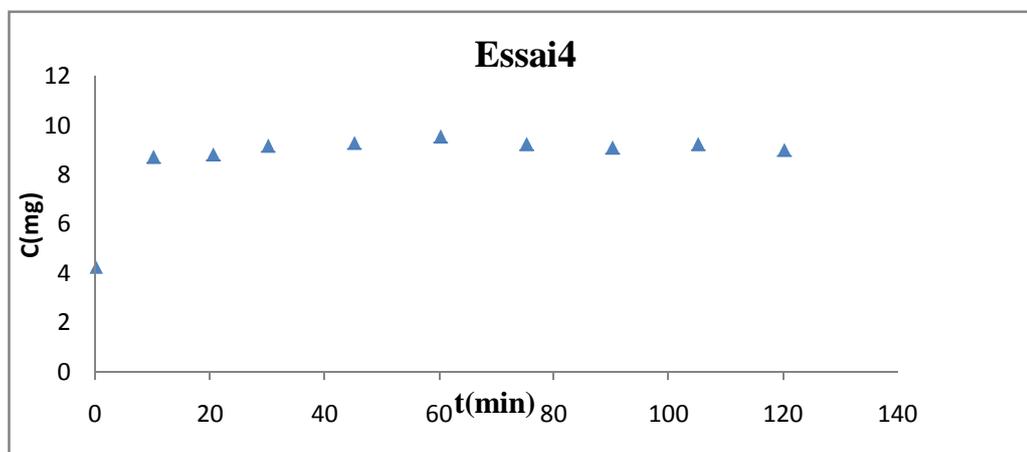


Figure VI.7 : Profil de libération de Bésylate d'Amlodipine, Essai 4

L'allure de la courbe révèle une cinétique qui suit soit le modèle de Higuchi ou de Peppas, correspondant à la majorité des profils observés lors de la libération de principes actifs encapsulés dans les microparticules. Au début de la libération la vitesse est rapide (diffusion du principe actif encapsulé proche de la surface) puis ralentit par appauvrissement de la matrice en principe actif (diffusion plus lente du principe actif qui se trouve au cœur de la matrice).

➤ Influence du pH de la phase continue sur l'efficacité de l'encapsulation :

- **Essai 5 :**

Tableau VI.9 : résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'Amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 5)

T(min)	0,1	10,07	20,07	30,07	45,08	60,07
C(mg /l)	5,18	5,39	5,42	5,73	5,84	5,63
Abs	0,08	0,092	0,093	0,10	0,11	0,1

- **Essai 6 :**

Tableau VI.10: résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'Amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 6).

T(min)	0,22	10,15	20,17	30,15	45,18	60,1
C(mg /l)	3,60	4,9	5,42	5,53	5,77	5,80
Abs	0,041	0,078	0,093	0,096	0,103	0,104

- **Essai 7 :**

Tableau VI.11: résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'Amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 7)

T(min)	0,17	10,07	20,07	30,07	45,08	60,07
C(mg /l)	3,95	7,03	5,87	5,42	5,70	5,11
Abs	0,05	0,14	0,10	0,09	0,1	0,08

- **Essai 8 :**

Tableau VI.12: résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'Amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 8)

T(min)	0,22	10,15	20,16	30,15	45,18	60,16
C(mg /l)	3,50	5,95	5,56	5,91	6,05	7,38
Abs	0,04	0,11	0,09	0,10	0,11	0,15

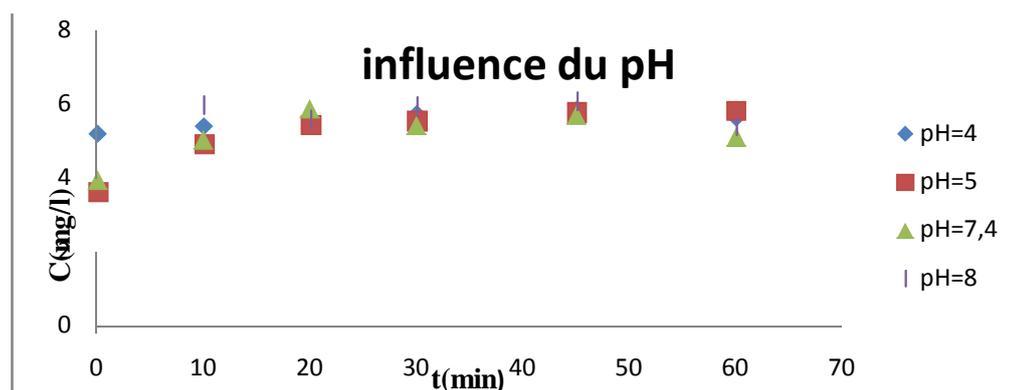


Figure VI.8 : profils de libération de Bésylate d'Amlodipine à différents pH.

Les profils de libération de principes actifs à partir des microparticules obtenues à différents pH se caractérisent par :

- L'apparition de l'effet de libération rapide, « burst effect », indique une libération immédiate du principe actif (essai 5). Ce type de profil de libération est observé généralement dans le cas de principe actif adsorbé sur la surface des particules, lorsque les interactions principe actif-polymère ne sont pas très fortes, dans le cas d'une distribution inhomogène du principe actif dans la matrice ou encore dans le cas de particules poreuses. Le principe actif est alors libéré avant que la matrice ne se dégrade.
- À pH = 5, on observe exactement une libération ralentie de Bésylate d'Amlodipine durant les 20 premières minutes suivie de la formation d'un palier témoignant du relargage constant et continu de celle-ci à saturation du milieu.
- L'allure obtenue dans les deux cas (pH=7,4 et pH=8) reflète une dissolution rapide de Bésylate d'Amlodipine, dans le milieu physiologique, durant les premières minutes suivie de la formation d'un pic important, due à des interférences impliquées par l'absorbance probable de l'Eudragit® (possédant un groupement chromophore carbonyle) et à la dissolution des polymères à caractère hydrophile tels que HPMC et le PEG. La vitesse de libération *in vitro* de Bésylate d'Amlodipine semble dépendre du pH.

➤ Variation du taux de tensioactif : à pH=7,4

• **Essai 11 :**

Tableau VI.13 : résultats des concentrations, et absorbances de Bésylate d'Amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 11)

T(min)	0,06	10,01	20,57	30,33	45,15	60,2	75,15	90,12	105,17	120,15
C(mg /l)	6,08	6,82	6,92	6,78	6,99	6,68	6,57	6,71	6,40	6,54
Abs	0,11	0,13	0,14	0,13	0,14	0,13	0,13	0,13	0,12	0,13

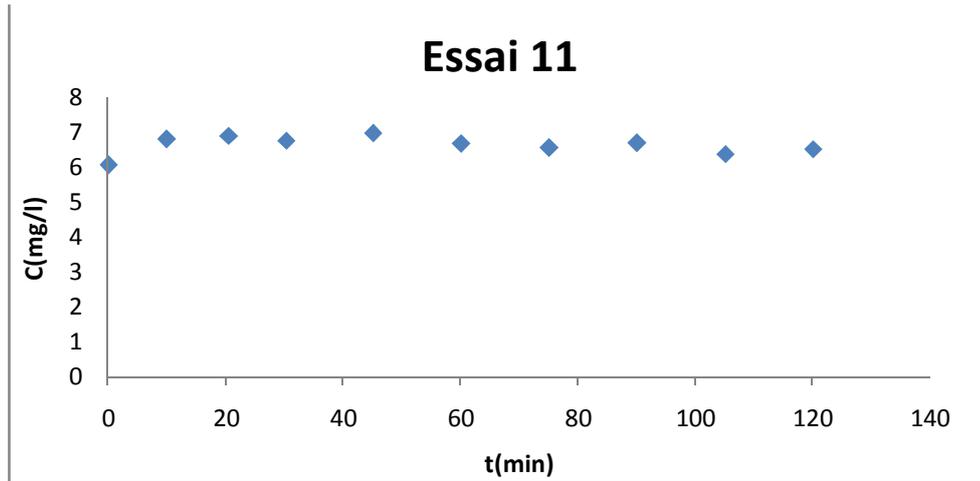


Figure VI.9 : profil de libération de Bésylate d'Amlodipine , Essai 11

- Essai 13 :

Tableau VI.14 : résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'Amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 13)

T(min)	0,22	10,23	20,77	30,55	45,25	60,28	75,27	90,27	105,3	120,25
C(mg /l)	5,77	6,71	6,47	6,50	6,78	6,53	6,85	7,13	7,48	6,57
Abs	0,10	0,13	0,12	0,12	0,13	0,13	0,13	0,14	0,15	0,13

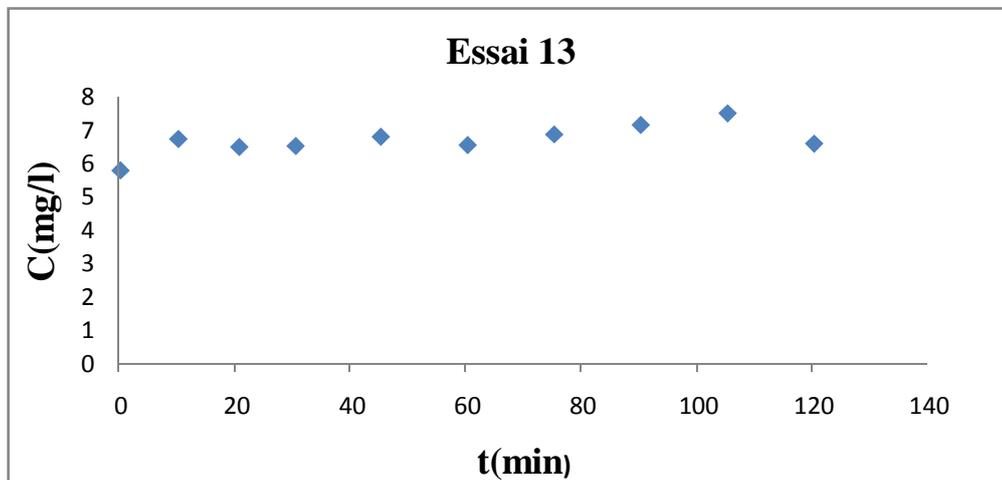


Figure VI.10 : profils de libération de Bésylate d'Amlodipine, Essai 13

- **Essai 15 :**

Tableau VI.15 : résultats des concentrations, et absorbances de Bésylate d’Amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 15)

T(min)	0,12	10,15	20,63	30,38	45,2	60,2	75,2	90,17	105,23	120,2
C(mg /l)	5,59	7,48	8,15	7,83	8,15	8,32	7,69	7,97	8,64	7,83
Abs	0,09	0,15	0,17	0,16	0,17	0,18	0,16	0,17	0,18	0,16

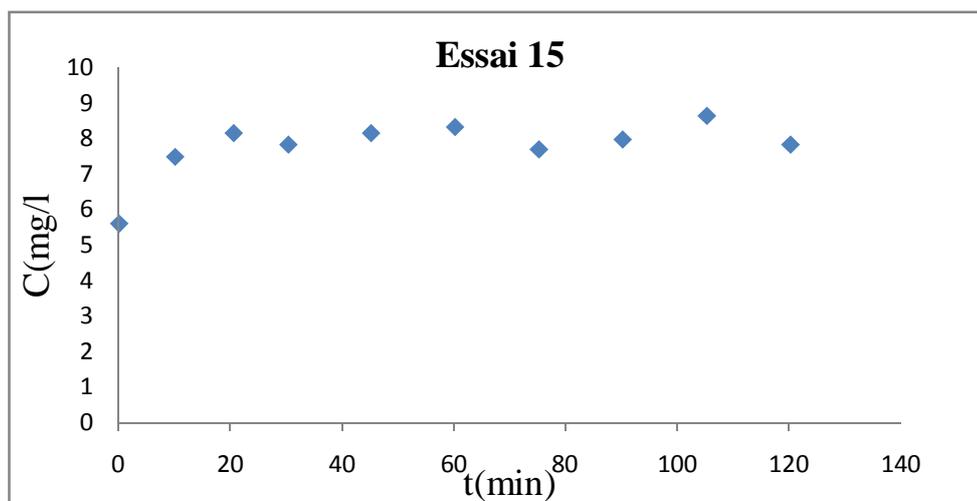


Figure VI.11 : profils de libération de Bésylate d’Amlodipine Essai 15

- **Essai 16 :**

Tableau VI.16: résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d’Amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 16)

T(min)	0,03	10,07	20,5	30,25	45,08	60,07	75,08	90,07	105,17	120,08
C(mg /l)	8,39	10,24	10,59	10,45	10,10	10,07	10,38	10,31	10,28	10,10
Abs	0,18	0,23	0,24	0,23	0,23	0,23	0,24	0,23	0,23	0,23

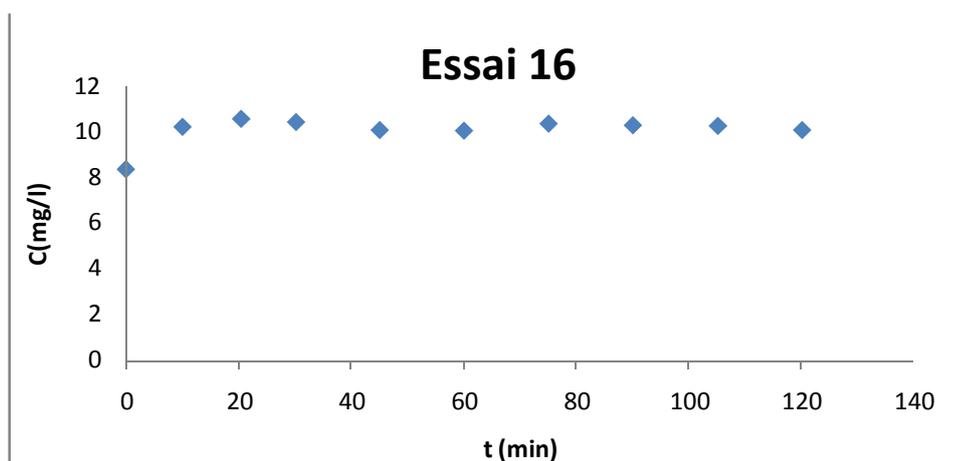


Figure VI.12: profils de libération de Bésylate d'Amlodipine, Essai 16

2- deuxième procédé d'encapsulation :

Les résultats de la cinétique de libération de PA dans le milieu physiologique intestinal de pH=6,8 pour les différentes formulations sont présentés respectivement comme suit :

➤ influence de PH de la phase continue et la température d'émulsification :

• **Essai 22:**

Tableau VI.17: résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d'Amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 22)

t(min)	0,15	10,25	20,66	30,15	45,25	60,28	75,21	90,16	105,15	120,15
C (mg/l)	3,63	4,12	4,58	4,93	4,79	4,68	5,17	4,79	5,071	5,106
Abs	0,042	0,056	0,068	0,079	0,075	0,072	0,086	0,075	0,083	0,084

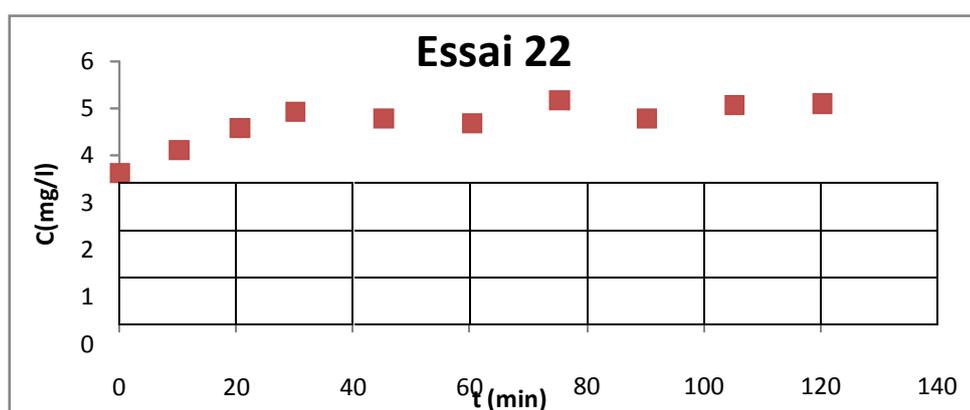


Figure VI.13 : profils de libération de Bésylate d'Amlodipine de l'essai 22

- **Essai 17 :**

Tableau VI.18 : résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d’Amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 17)

t(min)	0,06	10,06	20,5	30,06	45,06	60,13	75,11	90,06	105 ,06	120,06
Ct(mg/l)	3,67	7,27	8,04	8,46	9,26	9,54	9,75	9,54	9,78	9,45
Abs	0,043	0,146	0,168	0,180	0,203	0,24	0,217	0,211	0,218	0,208

- **Essai 19 :**

Tableau VI.19 : résultats des concentrations et absorbances de Bésylate d’Amlodipine libérée en fonction du temps (Essai 19)

t(min)	0,18	10,33	20,71	30,18	45,33	60,33	75,25	90,22	105,2	120,2
Ct(mg/l)	5,42	6,36	6,64	6 ,54	6,88	6,78	6,64	6,78	6,82	6,64
Abs	0,093	0,120	0,128	0,125	0,135	0,132	0,128	0,132	0,133	0,128

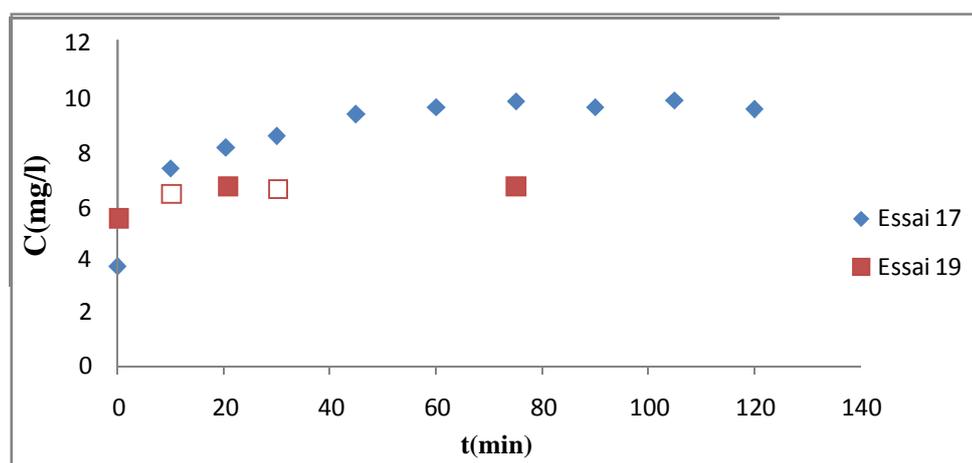


Figure VI.14 : profils de libération de Bésylate d’Amlodipine, Essai 17 et Essai 19

- Comparaison des profils de dissolution des deux meilleures formulations des deux procédés d'encapsulation:

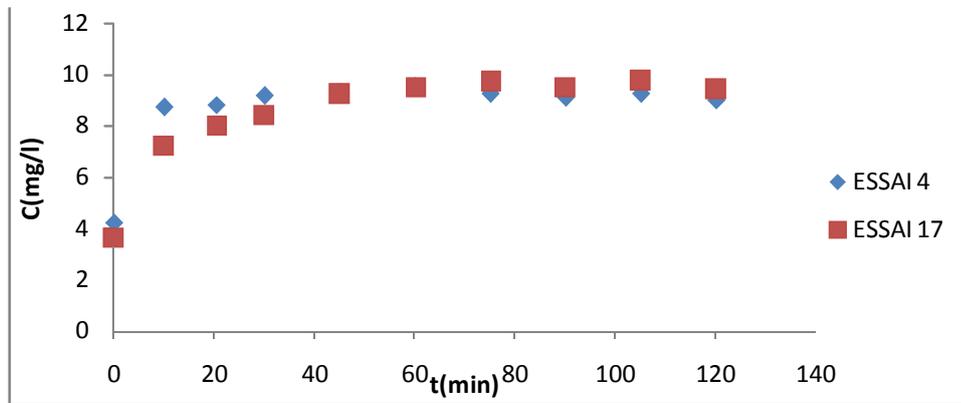


Figure VI.15 : profils de libération de Bésylate d'Amlodipine, Essai 4 et Essai 17

Modèles cinétiques

➤ **Premier procédé :**

• **Influence de la nature et de la quantité de polymères**

Les calculs sont faits à la base des équations des deux modèles qui se rapprochent le plus des profils de la courbe cinétique C_t/C_s (rapport de la concentration à t sur la concentration à saturation) en fonction du temps, Les équations des deux modèles retenus sont pour la majorité des cas, d'ordre 1 (fickien) et polynomiale (non fickien) selon peppas.[95] Ils permettent de recalculer les valeurs en s'appuyant sur les équations linéarisées et les constantes cinétiques k déduites respectivement des deux modèles, La superposition des deux profils cinétiques, expérimental et théorique confirment la validité du modèle,

Les résultats des calculs est les équations à partir des deux modèles sont regroupés dans les tableaux, et les courbes représentatives correspondant aux deux modèles sont reportées dans les figures qui suivent:

1-Essai 2 :

Le modèle de la cinétique de libération validé comporte deux termes dépendants du temps, Le premier répond à un profil linéaire en fonction du temps (d'ordre zéro), tandis que le deuxième terme correspond à un produit de deux fonctions, l'une est linéaire et la seconde est une fonction sinus hyperbolique (\sinh) en fonction du temps, comportant deux termes exponentielles correspondant à un mécanisme limité par diffusion à deux sens, tel que les vitesses de relargage et de réabsorption sont égales et de signes opposés, de part et d'autre de la membrane polymérique, Ceci se traduit par un équilibre de diffusion du PA à travers la membrane des microparticules, Le premier représente la libération du PA de la matrice ternaire HPMC-EUD-PEG vers le milieu, tandis que le deuxième terme correspond à la diffusion dans le sens contraire au premier, c-à-d du milieu vers la matrice qui se produit à saturation, Il est de la forme :

Soit la vitesse globale de diffusion aux temps très grands,

$$V = V_1 - V_2 = -k_1 C_t + k_2 C_t ;$$

V_1 : est la vitesse de relargage du PA ; V_2 : est la vitesse de réabsorption du PA à saturation

La fonction du profil cinétique globale de dissolution est de type :

$$f(t) = (C_t/C_s)_{the} = B(t) + A(t) F_s(t)$$

où ;

$B(t) = 0,0035t + 0,8845$; tel que $k_1 = 0,0035$ (terme du modèle fickien d'ordre zéro valable de t_0 à $t = 30,1 \text{ min}$)

$A(t) F_s(t)$: est le terme non fickien à saturation (de $t = 30,1 \text{ min}$ à $t = 120,12 \text{ min}$) est le produit de deux fonctions, telles que :

$A(t) = 0,012t - 1,7364$; est un coefficient de proportionnalité dépendant linéairement du temps,

$$F_s(t) = \text{Sinh}(k_2 t) = \frac{e^{-0,0137 t} - e^{+0,0137 t}}{2} ; \text{ tel que } k_2 = -0,0137 \text{ (la pente du profil entre } t=30,1 \text{ min et } t=45,1 \text{ min) est déterminé expérimentalement,}$$

-Valeurs aux limites :

- $A(t)F_s(t) \rightarrow 0$ si $t \rightarrow 0$
- $A(t)F_s(t) = B(t)$ si $t \rightarrow 30,1 \text{ min}$

Les différents résultats et calculs du modèle de l'essai 2 sont spécifiés dans le tableau IV.20 qui suit :

Tableau VI.20 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour lessai 2

T (min)	0,15	10,1 2	20,0 7	30,1	45,1	60,1	75,0 8	90,0 7	105,0 5	120,1 2
C(mg /l)	5,94	6,29	6,43	6,68	5,24	6,75	6,36	5,42	6,54	5,18
Ct/C _{S(exp)}	0,88	0,93	0,95	0,99	0,78	1,00	0,94	0,80	0,97	0,77
A(t)				-2,33	-1,18	1,09	0,77	0,51	-0,49	-0,31
	Modèle d'ordre zéro									
B(t)	0,89	0,92	0,95	0,99						
validation	$\sigma_a = 0,095$; $\frac{\text{res}}{C_s} = 0,0229$; $R^2=1$; $r(\%)=99,99$									
					Modèle non fickien à 2 termes					
F _s (t)= Sinh(k ₂ t)				-0,42	-0,66	0,92	1,22	1,57	-1,99	-2,50
A(t) F _s (t)				0,99	0,78	1,00	0,94	0,80	0,98	0,78
validation					$\sigma_a = 0,224$; $\frac{\text{res}}{C_s} = 0,0559$; $R^2=1$; $r(\%)=100,15$					
Ct/C _{S(th)} = B(t) + A(t) sinh(k ₂ t)	0,89	0,92	0,95	0,99	0,78	1,00	0,94	0,80	0,97	0,77

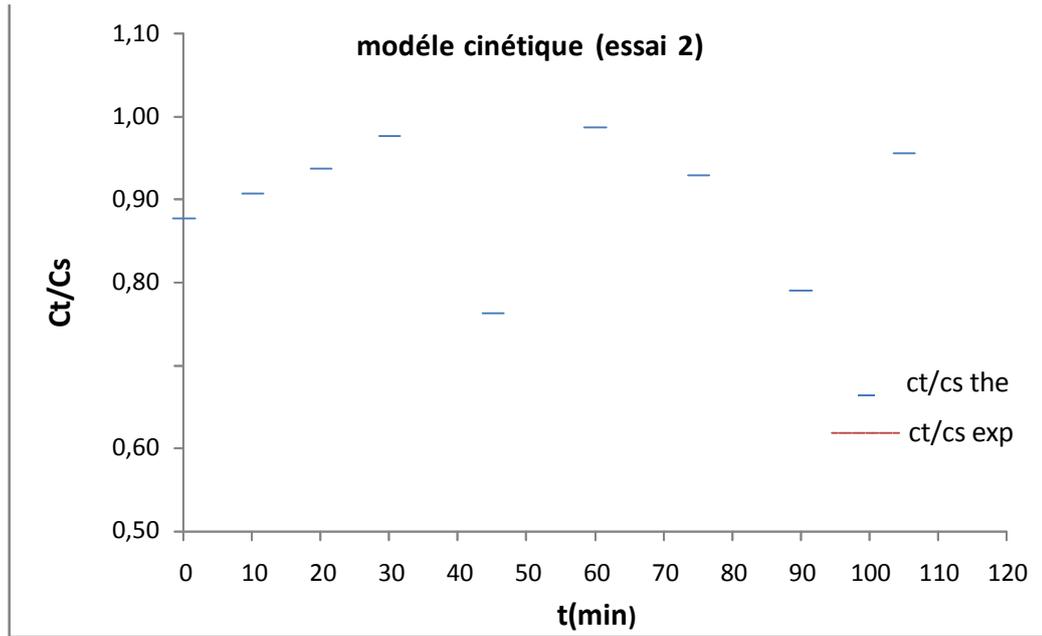


Figure VI.16 : superposition des deux profils expérimental et théorique de la cinétique de libération de l'amlodipine des microparticules de HPMC-EUD-PEG de l'essai 2.

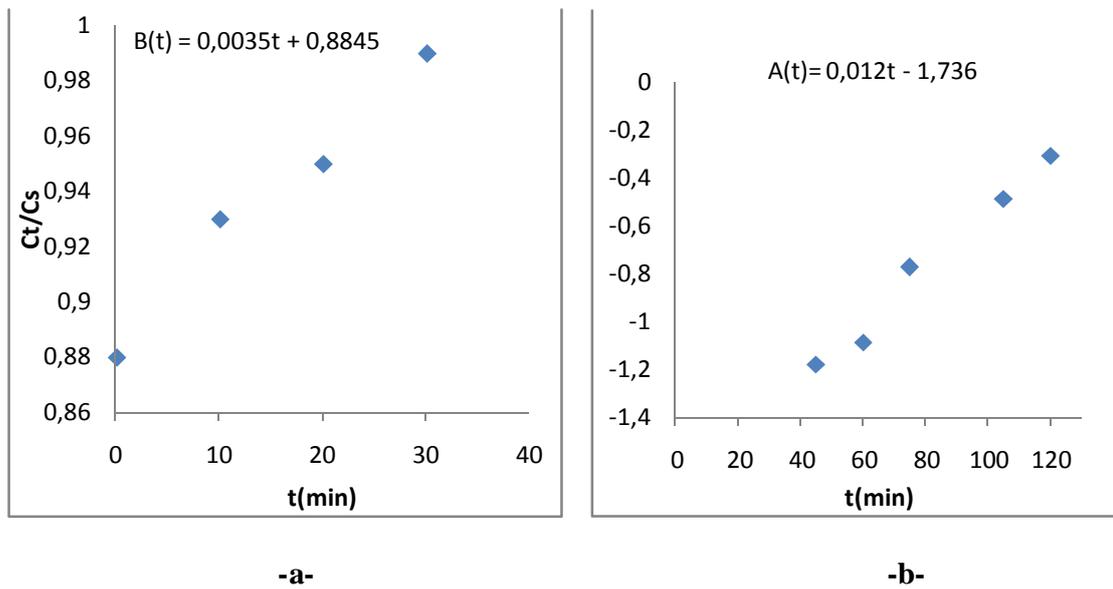


Figure VI.17 : linéarisation du modèle, a) fonction B(t) ; b) coefficient de proportionnalité A(t)

-Discussion :

D'après le profil global de la cinétique de libération correspondant à l'essai 2, on conclut que celui-ci se subdivise en deux parties : le premier est linéaire d'ordre zéro au début de la dissolution, tandis que le second est non linéaire à saturation. Le mécanisme répond en général à un modèle fickien complexe, mettant en évidence l'évolution des microparticules au cours du processus de dissolution, par la modification de la matrice, qui se transforme en un gel, favorisé par la présence d'une quantité élevée en HPMC

(300mg), La gélification de la membrane des microparticules conduit à la variation de la viscosité, de l'épaisseur de la couche de diffusion dans laquelle évoluent les molécules du PA, avec apparition d'un phénomène de réabsorption du PA lorsque on atteint la saturation.

2- Essai 3 :

Pour cet essai, le modèle est non fickien, selon peppas il répond à un modèle de type polynomiale, dans ce cas d'ordre 4 en fonction du temps.

Tableau VI.21 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour l'essai 3

t (min)	0,28	10,28	20,23	30,16	45,18	60,02	75,22	90,02	105,18	120
(Ct /Cs) _{exp}	0,59	0,96	0,96	0,97	1,00	0,99	0,75	0,80	1	0,75
	Modèle de peppas					Validation : $\sigma_{\bar{y}} = 1,05$; $R^2 = 1$; $r(\%) = 101,9$; $N = 0,15$;				
Ln(Ct /Cs)	-0,527		-0,033	-0,028	0,000					
Ln t	-1,27		3	3,4	3,81					
	k= 0,679 n=0,107									
(Ct /Cs) _{th} = kt ⁿ	0,59	0,87	0,94	0,98	1,02					
	Modèle polynomiale d'ordre 4									
(C _t /C _s) _{th} = fonction polynomiale d'ordre 4	y = -3,80346E-07x ⁴ + 1,18787E-04x ³ - 0,01317x ² + 0,60496x - 8,63426					0,97	0,73	0,78	0,97	0,71
						Validation : $\sigma_a = 0,179$; $R^2 = 0,998$; $r(\%) = 103,22$; $N = 0,056$;				
(Ct/Cs) _{th}	0,59	0,87	0,94	0,98	1,02	0,97	0,73	0,78	0,97	0,71

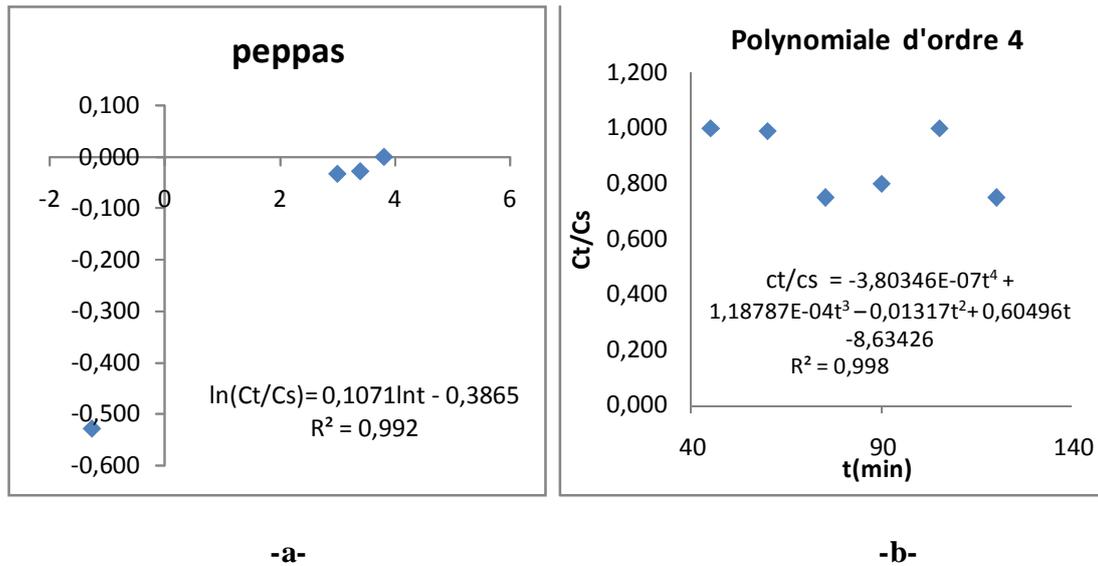


Figure VI.18 : modélisation de la cinétique de l'essai 3, a) peppas ; b) polynomiale d'ordre 4

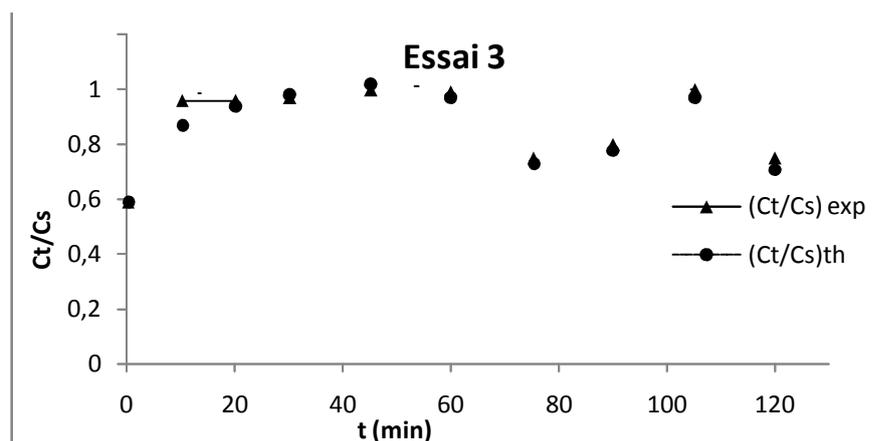


Figure VI.19 : Superposition des deux profils cinétiques non fickien, expérimental et théorique de l'essai 3

-Discussion modèle :

D'après les résultats obtenus et les calculs qui répondent à un modèle non fickien se subdivisant en deux régions : le premier est de type peppas avec une valeur de $n < 0,45$, met en évidence la présence d'un processus cinétique limité par un phénomène de transport, Ce dernier est induit par une matrice plus riche en Eudragit[®], très résistante et moins érodable, ce qui freine le mouvement des molécules du PA vers la surface de la membrane en raison de l'existence d'une forte tortuosité au sein du polymère, durant les premiers instants de la dissolution,

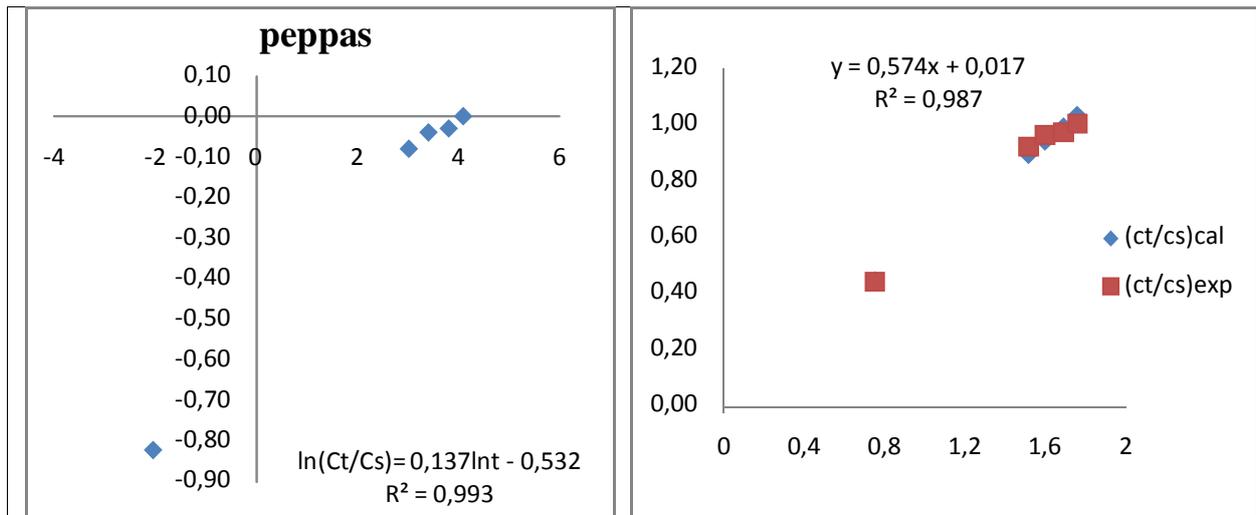
Le second est de type polynomial d'ordre 4 signifiant que la matrice a subi un gonflement qui tend à devenir maximal à la saturation, Ceci a pour conséquence de favoriser la réabsorption partielle du PA après saturation du milieu physiologique,

3-Essai 4 :

Pour cet essai, les résultats expérimentaux ainsi que les calculs du modèle mentionnés dans le tableau IV.22, mettent en évidence une cinétique qui obéit à un modèle non fickien de type peppas.

Tableau VI.22 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour l'essai 4

t (min)	0,13	10,15	20,58	30,13	45,15	60,18	Paramètres: Ln(Ct/Cs)= 0,1375Lnt- 0,5324 n=0,1375 Lnk=-0,5324 k=0,587
(C _t /C _s) _{exp}	0,44	0,91	0,92	0,96	0,97	1	
Modèle peppas							
t ⁿ	0,76	1,38	1,52	1,60	1,69	1,76	
Lnt	-2,04	2,32	3,02	3,41	3,81	4,1	
Ln (C _t /C _{sat})	-0,82	-0,09	-0,08	-0,04	-0,03	0	
(C _t /C _s) _{th}	0,45	0,81	0,89	0,94	0,99	1,03	
Validation	σ _a = 2,09 ; / $\frac{\sigma_a}{\bar{y}} = 0,19$; R ² =1 ; r(%)= 101,77						



-a-

-b-

Figure VI.20 : modèle non fickien selon peppas de l'essai 4, a) linéarisation ; b) superposition des deux profils, expérimental et théorique calculé par le modèle

-Discussion :

Une quantité plus élevée de HPMC (200mg) provoque un gonflement plus important de la matrice polymère (HPMC-EUD-PEG) des microparticules dans le milieu physiologique, L'augmentation de la taille des particules à la suite du gonflement, fait croître la dimension de la couche de diffusion et ralentie le transport des molécules de PA au sein de la matrice polymérique puis leur libération dans le milieu, D'où, la limitation de la cinétique par un phénomène de transport.

• **Influence du pH du milieu continue**

4-Essai 5 :

La modélisation des résultats de la cinétique de libération de l'amlopidine (Bésylate) pour cet essai, a montré qu'elle est de type fickienne et d'ordre zéro et linéaire en fonction du temps (Tableau IV.24).

Tableau VI.24 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour l'essai 5

t (min)	0,1	10,07	20 ,07	30,07	45,08
Ct /Cs	0,88	0,92	0,93	0,98	1
validation	Erreur-type : S/ $\approx 0,0117$; $R^2 = 0,98$				

Les résultats expérimentaux et du modèle sont représentés par la figure VI.21, qui montrent qu'il est linéaire par rapport au temps et d'ordre zéro attribué à une vitesse de cinétique de libération constante en fonction du temps.

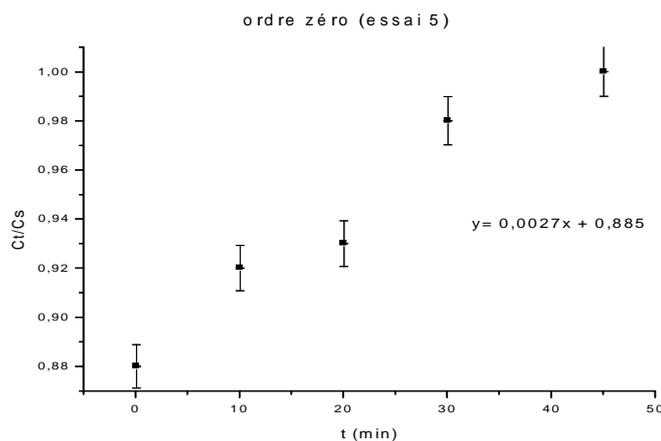


Figure VI.21 : Modèle linéaire et d'ordre zéro de la cinétique de libération de l'amlopidine pour l'essai 5.

-Discussion :

On remarque que la libération a atteint un rapport très élevé de l'ordre de 0,88 dès les premiers instants de la dissolution. Aux temps plus élevés, les valeurs sont presque constantes et maximales, On conclut que la cinétique est immédiate et peut être considérée d'ordre zéro. Ceci est du à la valeur du pH=4 (acide) de la phase continue, qui rend plus hydrophile la matrice, et donc plus rapidement solubilisée dans le milieu physiologique.

5-Essai 6 :

Les résultats de cet essai ainsi que le modèle cinétique sont spécifiés dans le tableau VI.25 et représentés par les figures, qui montrent clairement qu'il s'agit d'une cinétique non fickienne et limitée par un phénomène de transport répondant au modèle de peppas.

Tableau VI.25 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour l'essai 6

t (min)	0,22	10,15	20 ,17	30,15	45,18	60,1	Paramètres : Ln(Ct /Cs) = 0,087Lnt - 0,3532 n=0,087 Lnk=-0,3532 k=0,702
(Ct /Cs) _{exp}	0,62	0,84	0,94	0,95	0,99	1	
Modèle peppas							
t ⁿ	0,87	1,22	1,29	1,34	1,39	1,42	
Lnt	-1,51	2,32	3,00	3,41	3,81	4,1	
Ln(Ct /Cs)	-0,48	-0,17	-0,06	-0,05	-0,01	0	
(Ct /Cs) _{th} =kt ⁿ	0,61	0,85	0,91	0,94	0,98	0,99	
validation	σ _a = 1,29 ; / 0,9 ; 13; R ² =1 ; r(%)= 101,15						

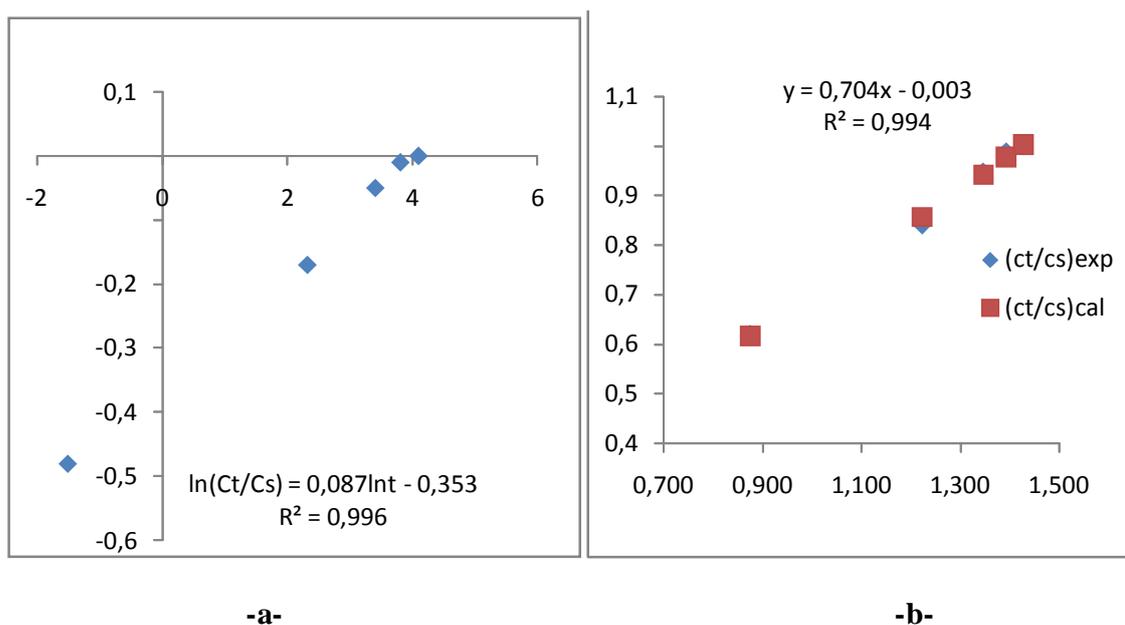


Figure VI.22 : courbes et modèle cinétiques de libération du PA de l'essai 6, a) linéarisation du modèle; b). profils de libération expérimental et théorique

-Discussion :

La diminution du pH à 5 légèrement acide, par rapport à l'essai 4 réalisé avec les mêmes conditions mais dans l'eau distillée (pH neutre), produit seulement une cinétique de libération plus rapide (k de l'essai 6 est supérieur au k de l'essai 4) et de même modèle (peppas) non fickien mais avec le paramètre $n=0,087$ inférieur à celui de l'essai 4. Ce qui montre que plus le pH tend vers la valeur 7 (neutre) plus le phénomène de diffusion et de transport se compliquent et s'écartent de l'idéalité (fickien) et plus le modèle est de type non fickien. Ceci est dû au fait que la matrice contient de l'Eudragit qui est insoluble à ce pH.

7-Essai 8 :

Tableau VI.26 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour l'essai 8

t (min)	0,22	10,15	20,16	30,15	45,18	Paramètres : $\ln(Ct/Cs) = 0,1036x - 0,3832$
$(Ct/Cs)_{exp}$	0,58	0,98	0,92	0,99	1	
Modèle peppas						$n=0,1036$ $\ln k = -0,3832$ $k=0,681$
t^n	0,85	1,27	1,37	1,42	1,48	
Ln t	-1,51		3,00	3,41	3,81	
$\ln(Ct/Cs)$	-0,54	-0,02	-0,08	-0,01	0	
$(Ct/Cs)_{th}$	0,58	0,86	0,93	0,96	1	
validation	$\sigma_a = 0,49 ; \quad / \quad \frac{-0,0}{0,95,15} ; \quad R^2 = 1 ; \quad r(\%) = 103,2$					

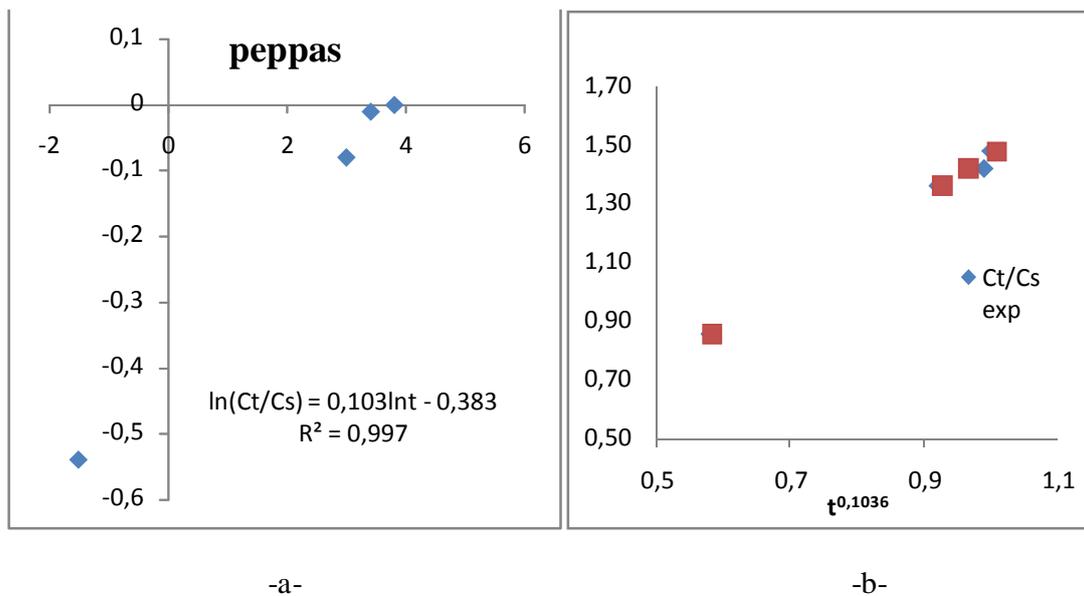


Figure VI.23 : modèle et courbes cinétiques de libération de l'essai 8, a) linéarisation du modèle ; b) superposition des profils expérimental et théorique de type peppas.

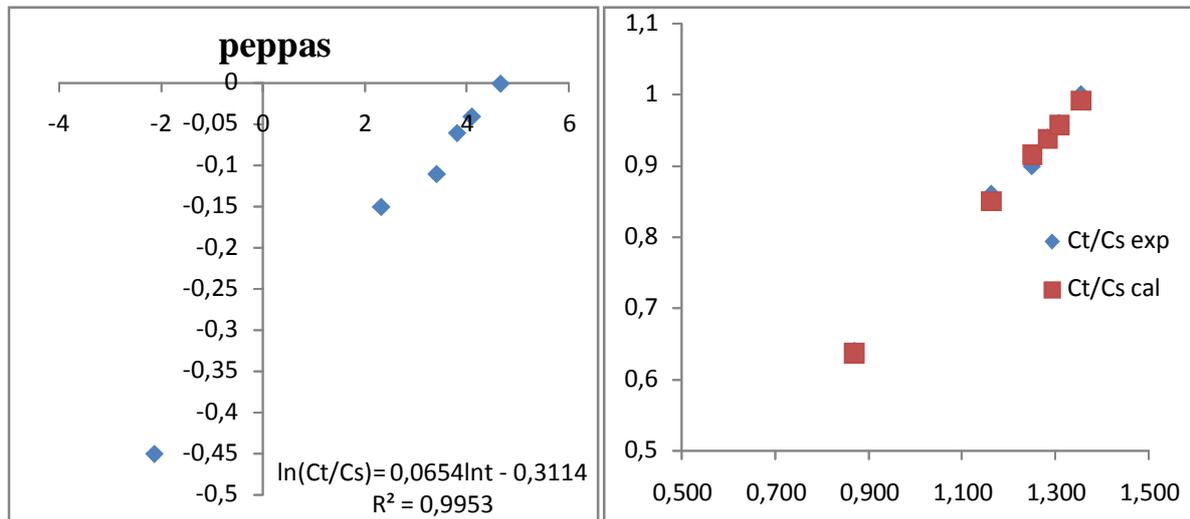
-Discussion :

A pH=8 légèrement basique, on remarque que les paramètres cinétiques changent, la valeur de k est plus élevée que celle des essais 5 et 4, ce qui montre que la cinétique est plus rapide pour un même type de modèle de libération. Par contre, la valeur de n=0,1036 est inférieure à celle trouvée pour l'essai 4, mais supérieure à celle de l'essai 5. Ce qui veut dire que la matrice subit plus d'érosion et de dégradation à pH 8 qu'à pH 5, mais elle est encore plus à pH 4.

9-Essai 15 :

Tableau VI.27 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour l'essai 15

t (min)	0,12	10,15	20,63	30,38	45,2	60,2	75,2	90,17	105,23	Paramètres: Ln(Ct/Cs)= 0,0654Lnt - 0,3114 n=0,0654 Lnk=-0,3114 k=0,732
(Ct /Cs) _{exp}	0,64	0,86	0,94	0,90	0,94	0,96	0,89	0,92	1	
Modèle peppas										
t ⁿ	0,87	1,16	1,22	1,25	1,28	1,31	1,33	1,34	1,36	
Lnt	-2,12	2,32	3,03	3,41	3,81	4,1	4,32	4,50	4,66	
Ln(Ct/Cs)	-0,45	-0,15	-0,06	-0,11	-	0,06	0,04	0,11	-0,08	0
(Ct /Cs) _{th}	0,64	0,85	0,89	0,91	0,94	0,96	0,97	0,98	0,99	
validation	σ _a =; 0,7 / $\overline{N}=0,99$; R ² = 1 ; r(%)= 99,12									



-a-

-b-

Figure VI.24 : courbes cinétiques et modèle pour l'essai 15,; a) linéarisation du modèle de peppas. b) superposition des courbes expérimentale et théorique

-Discussion :

Pour cet essai, on a varié le pH à 7,4 (milieu tampon sanguin) et les taux de polymères (HPMC-EUD : 400/100mg) en augmentant la quantité de HPMC par rapport à celle de l'Eudragit. Le modèle est le même de type peppas limité par un phénomène de transport plus accentué du à la formation d'un gel de consistance plus épaisse qui ralentit la cinétique de libération en freinant les mouvements des molécules au sein du gel et vers la surface de la matrice. Les paramètres cinétiques, k et n diminuent nettement par comparaison avec l'essai réalisé à pH 8. Par contre, les valeurs sont plus proches de celles obtenues pour l'essai à pH 5.

On conclut, que le pH a une influence plus importante encore que celles des quantités de polymères, sur les paramètres cinétiques de libération. Plus le pH tend vers 7 (neutre) plus les paramètres cinétiques diminuent et la libération du PA est ralenti. Par contre, la quantité et la nature des polymères influencent sur l'orientation de la cinétique et donc sur le type du modèle cinétique.

➤ Deuxième procédés :

On a varié le mode des ajouts des polymères, en séparant l'eudragit dans la phase dispersée (dichlorométhane), et le HPMC ainsi que le PEG dans la phase continue (aqueuse).

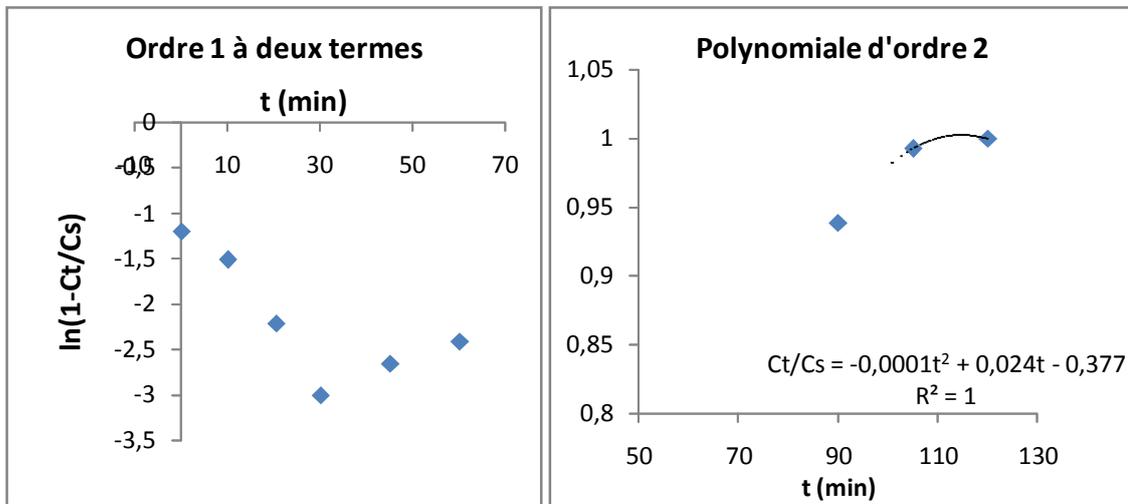
Les résultats expérimentaux et ceux du modèle sont réunis dans les tableaux ci-dessous.

- Influencedelatempératured'émulsificationetdupHdumilieucontinue

10-Essai 22 :

Tableau VI.28 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour l'essai 22

t (min)	0,15	10,25	20,66	30,15	45,25	60,28	75,21	90,16	105,15	120,15
(C _t /C _s)exp	0,7	0,78	0,89	0,95	0,93	0,91	1	0,94	0,99	1
Modèle polynomiale d'ordre 2										
(C _t /C _s) _{th} =f ₁ = f ₀ +At ⁿ + Bt ²ⁿ	Ct/Cs = -0,0001t ² + 0,024t - 0,377 n=1							0,97	1,04	1,06
stat	σ _a = 0,115 ; / $\frac{0,05}{\sqrt{1-0,97}}$ R ² =1 ; r(%)=95,48 ; CV(%) =11,77									
Modèle d'ordre 1 à 2 termes										
1-(C _t /C _s)	0,30	0,22	0,11	0,05	0,08	0,09	0	A=0,3177 k ₁ =0,0583 B=0,028 K ₂ =0,0196		
Ln(1-(C _t /C _{sat}))	-1,2	-1,51	-2,21	-3	-2,65	-2,41				
(1-(C _t /C _{sat})) _{th} = Ae ^{-k₁t} + Be ^{-k₂t}	0,32	0,21	0,14	0,05	0,07	0,09				
statistiques	σ _a = 0,517 ; / $\frac{0,05}{\sqrt{1-0,985}}$ R ² =0,985; r(%)=98,56 CV(%) =10,45									



-a-

-b-

Figure VI.25 : courbes cinétiques et modèle de l'essai 22, a) linéarisation du modèle d'ordre 1 à 2 branches et pentes avant saturation ; b) modèle polynomiale d'ordre 2 de type peppas à la saturation.

-Discussion :

On remarque pour cet essai que le modèle change est plus complexe, fickien mais à deux constantes cinétiques distinctes, d'abord elle décroissante puis elle devient croissante (effet burst) dues à la saturation de la couche externe de la membrane qui est plus résistante au pH 7,4, d'où accumulation d'une concentration plus élevée de PA qui atteint un maximum au bout de 30,1minute. Ceci entraîne une augmentation de la vitesse de libération du PA à cet instand. A la fin de la dissolution, la cinétique n'obéit plus à un modèle de type fickien, il est du type peppas selon une loi polynomiale d'ordre 2 limité par un phénomène de transport.

11- Essai19 :

Cet essai est réalisé au pH 7,4 mais à la température ambiante supérieure à celle des précédents essais (10°C). On a maintenu les mêmes taux en polymères (HPMC-EUD-PEG : 200-300-100).

Tableau VI.29 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour l'essai 19

t (min)	0,18	10,33	20,71	30,18	45,33	Paramètres : Ln(Ct/Cs)= 0,0413Lnt- 0,1622 n=0,0413 Ln k=-0,1622 k=0,850
(C _t /C _s) _{exp}	0,79	0,92	0,97	0,95	1	
Modèle peppas						
t ⁿ	0,93	1,10	1,13	1,15	1,17	
Lnt	-1,71	2,33	3,03	3,41	3,81	
Ln (C _t /C _{sat})	-0,23	-0,08	-0,03	-0,05	0	
(C _t /C _s) _{th} =kt ⁿ	0,79	0,94	0,96	0,98	0,99	
validation	σ _a = 0,638 ; / σ_a ; R2 = 1 ; r(%)= 99,98					

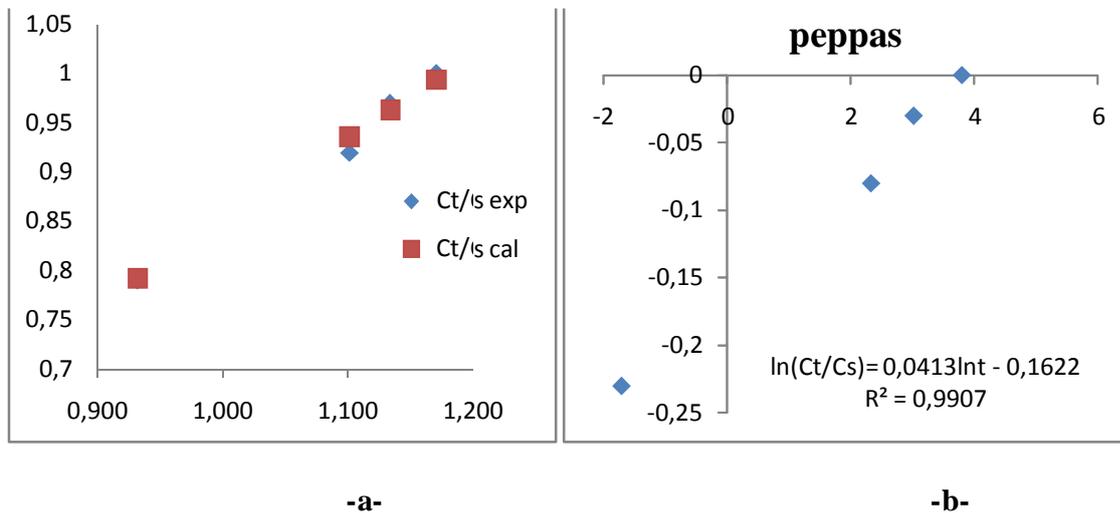


Figure VI.26 : courbes cinétiques et modèle de l'essai 19, a) linéarisation du modèle de peppas ; b) superposition des courbes expérimentale et théorique

-Discussion :

On remarque qu'on obtient le même modèle cinétique de type peppas non fickien dominé par un phénomène de transport, si on maintient les mêmes taux en polymères et le pH à 7,4. On conclut que la température a peu d'influence sur le modèle cinétique si on augmente celle-ci de 10°C jusqu'à la température ambiante. Par contre, on note une diminution plus importante des paramètres cinétique, tels que n=0,041 est inférieur aux précédentes valeurs. Ce résultat est justifié par l'augmentation de l'entropie avec la température du gel formé, qui provoque une agitation plus importante des molécules, ce qui diminue la vitesse de transport de celles-ci vers la surface de la matrice d'où elle pourrait être libérée dans le milieu.

12- Essai 17 :

Tableau VI.30 : valeurs, paramètres et équations des modèles cinétiques pour l'essai 17

t (min)	0,06	10,06	20,5	30,06	45,06	60,13	75,11	90,06	105,06	Paramètres: Ln(Ct/Cs) = 0,136Lnt- 0,608 n=0,136 Ln k= -0,162 k=0,544
C_t/C_{sat}_{exp}	0,37	0,74	0,82	0,86	0,95	0,97	0,99	0,97	1	
Modèle de peppas										
t^n	0,68	1,37	1,51	1,59	1,68	1,75	1,80	1,84	1,88	
Lnt	-2,81	2,31	3,02	3,40	3,81	4,10	4,32	4,50	4,65	
Ln (C_t/C_{sat})	-0,99	-0,30	-0,20	-0,15	-0,05	-0,03	-0,01	-0,03	0,00	
(C_t/C_s) _{th} =kt ⁿ	0,37	0,74	0,82	0,86	0,91	0,95	0,98	1	1,02	
validité	$\sigma_a = 3,08$; / $\overline{N} = 0,19$; r(%) = 100,28 ; R ² = 1									

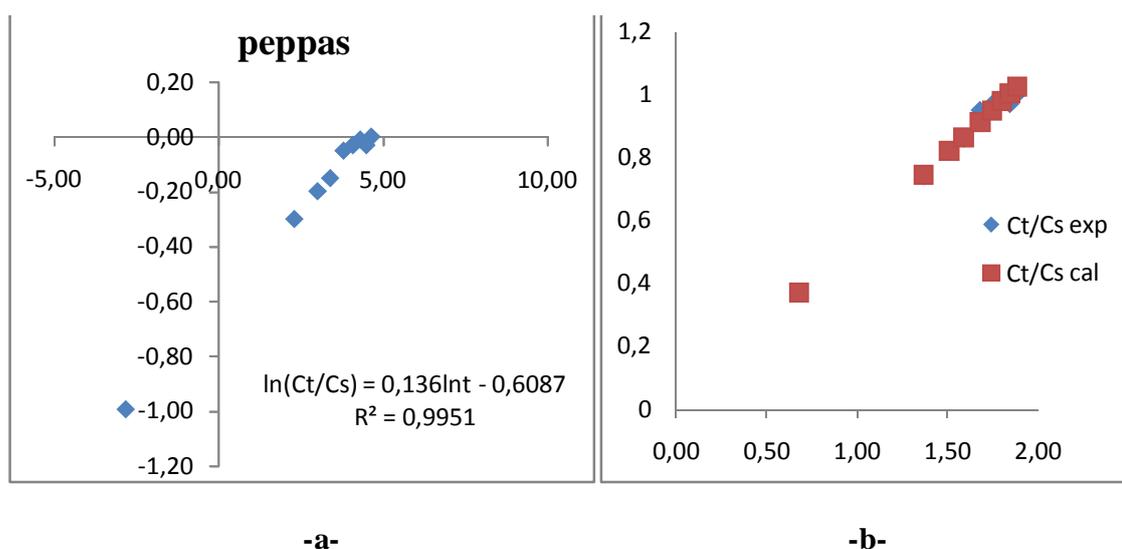


Figure VI.27 : courbes cinétiques et modèle de l'essai 17, a) linéarisation du modèle de peppas ; b) superposition des courbes expérimentale et théorique

-Discussion :

La microencapsulation de l'amlodipine dans l'eau distillée (pH neutre) a abouti à des microparticules qui donnent un profil de cinétique de libération du PA, similaire à ceux obtenus à pH=7,4 (milieu tampon sanguin). Les paramètres cinétiques sont pratiquement du même ordre (n=0,138, k=0,544), et le modèle obéit à une loi non fickienne de type peppas limité par un phénomène de transport. Ce qui montre que dans l'eau distillée on forme un gel HPMC-EUD, qui subit un gonflement très important et empêche les molécules de PA à se mouvoir au sein du gel vers la périphérie d'où elles pourraient s'extraire.

SYNTHESE ET INTERPRETATIONS DES RESULTATS

I- CONCEPTION GENERALE

L'objectif de ce travail est de concevoir des formes microcapsulaires pouvant incorporer le bésylate d'amlodipine lipophile dans un cœur huileux entouré par une membrane polymérique de surface hydrophile. Ainsi, Bésylate d'amlodipine intégré dans un véhicule qui pourra se solubiliser dans le liquide digestif, et facilitera son absorption intestinale. Ce type de système libère le PA de façon prolongée dans le temps selon une cinétique déterminée.

A la suite de ce travail, nous avons obtenu de bons taux d'encapsulation, les plus marqués sont supérieurs à 70%. Ces valeurs différentes montrent l'affinité du Bésylate d'amlodipine pour les polymères utilisés (HPMC, EUD, PEG).

Ce qui veut dire qu'il s'incorpore plus ou moins dans le cœur huileux, et évite la diffusion vers la phase aqueuse externe. Comme nous l'avons remarqué, l'association ternaire des polymères dans la phase huileuse, comme nous l'avons illustré dans le premier procédé et celui de l'EUD seul (deuxième procédé) ne modifie pas de façon sensible le taux d'encapsulation.

Les propriétés des polymères (le caractère hydrophile et hydrophobe, la nature biodégradable ou non, la structure amorphe ou cristalline) sont autant de paramètres dépendants l'un de l'autre et pouvant influencer le comportement *in vivo* des microcapsules ainsi que celui du principe actif incorporé.

Dans le but de caractériser le système et de comprendre les phénomènes mis en jeu dans le mode de libération, la détermination des profils *in vitro* s'avère de première importance.

Une discussion des différents points soulevés jusqu'ici tentera d'apporter des explications aux résultats obtenus. Nous essayerons de discerner dans ces interprétations fondées sur les paramètres physico-chimiques, quelle(s) forme(s) parmi les microcapsules à base de HPMC-PEG-EUD, sont susceptibles de présenter les profils d'une forme à libération prolongée.

II- ETUDE DE LA DISSOLUTION IN VITRO

II-1 Paramètres influençant la libération de Bésylate d'amlodipine incorporé dans les microparticules

Le mécanisme de libération, le coefficient de diffusion à l'intérieur du système polymère et la vitesse de biodégradation du polymère sont les principaux facteurs gouvernant la cinétique de libération du principe actif incorporé dans les microparticules. La vitesse de libération du principe actif est aussi influencée par l'environnement biologique, et peuvent aussi interagir avec les membranes biologiques avec lesquelles elles seront en contact.

Par conséquent, les cinétiques de libération in vitro peuvent avoir des profils différents de ceux rencontrés in vivo. Néanmoins, dans le but de caractériser le système et de comprendre les phénomènes mis en jeu dans le mode de libération, l'étude des modèles cinétiques des profils in vitro s'avère de première importance.

II-2 Influence des propriétés mécanique des polymères utilisés

II-2-1 Interactions avec le mucus intestinal

Pour convenir à la réalisation d'une forme à libération contrôlée, le polymère doit répondre aux trois exigences générales suivantes:

-Il doit présenter certaines caractéristiques de libération du PA en relation avec les propriétés physico-chimiques du PA et les exigences pharmacocinétiques.

-Il doit posséder une résistance mécanique suffisante pour permettre l'administration de la forme médicamenteuse et le maintien de son intégrité relative au cours du traitement.

-Il doit être compatible avec les muqueuses et les tissus récepteurs. [96]

L'utilisation de vecteurs bio- ou muco-adhésifs permet d'immobiliser le principe actif à la surface de la muqueuse intestinale et d'augmenter ainsi la fraction de principe actif absorbé.

La libération du principe actif se fait alors au plus proche de son site d'absorption, créant un gradient de concentration local qui favorise son passage à travers l'épithélium intestinal. Cette proximité permet également de limiter la dégradation du principe actif dans le fluide luminal.

L'immobilisation du vecteur et de son contenu au niveau de la muqueuse intestinale, peut se faire soit en surface des cellules épithéliales (bioadhésion) soit au sein du mucus qui recouvre la quasi- intégralité de l'épithélium intestinal (mucoadhésion).

Le mucus est un gel visco-élastique formé de glycoprotéines hydrophiles de haute masse molaire et chargées négativement, appelées mucines.

L'adsorption d'un vecteur particulière à la surface de l'intestin résulte des interactions qui s'établissent entre les groupements fonctionnels présents en surface du vecteur et ces glycoprotéines. Ces interactions sont de différentes natures :

- interactions électrostatiques,
- interactions hydrophobes,
- interactions de Van der Waals
- liaisons hydrogène.

Le caractère muco-adhésif d'un vecteur dépend donc de ses propriétés de surface, en particulier de sa charge et de son hydrophobie [97]. Les polymères hydrophiles flexibles et de haute masse molaire comme les dérivés cellulosiques [98], le poly(éthylène glycol) [99], ou encore le poly(acide acrylique) [100] interagissent fortement avec le mucus [101]. Bernkop-

Schnürch et al [102] ont montré que les dérivés thiolés de ces polymères ont la capacité de former des liaisons covalentes (ponts disulfure) avec les régions riches en cystéine du mucus.

Enfin, le contact étroit entre le vecteur et les cellules épithéliales pourrait mener à sa propre incorporation dans la muqueuse intestinale.

II-2-2 Relation entre structure polymérique et mécanisme de libération :

- **Influence du caractère vitreux**

Le milieu environnant pénètre le système polymère seulement si le polymère est à l'état caoutchouteux, c'est-à-dire quand les chaînes macro-moléculaires jouissent d'une certaine mobilité et flexibilité, tandis que les copolymères d'acide méthacrylique étudiés étant gastro-résistants, due à sa structure moléculaire rigide [103]. Ce dernier est composé d'une chaîne centrale carbonée stabilisée par des groupements «méthyles». Les groupes esters sont très résistants à l'hydrolyse [104].

De ce ci en peut expliquer le phénomène d'inclusion du Bésylate d'Amlodipine dans la matrice inerte à base d'EUD et de concevoir une libération prolongée dans le temps.

- **Influence du caractère hydrophile du polymère**

En général, la quantité de principe actif libéré dépend du caractère hydrophile du polymère biodégradable, capable de retenir le PA pendant un temps prolongé en formant une gangue gélative au contact du milieu de dissolution.

Le gonflement de la matrice, issu du phénomène de gélification, se produit par hydratation des chaînes de polymère (ponts hydrogènes entre les molécules d'eau et les chaînes de polymère) [105]. La diffusion de l'eau à l'intérieur de la matrice s'effectue dès contact avec le milieu de dissolution. La présence d'eau entre les chaînes de polymère augmente leur mobilité, facilitant ainsi le transport du PA à l'intérieur de la matrice. Le PA est donc libéré par diffusion à travers la couche visqueuse gélifiée mais également par érosion des chaînes de polymère (Figure VI.28).

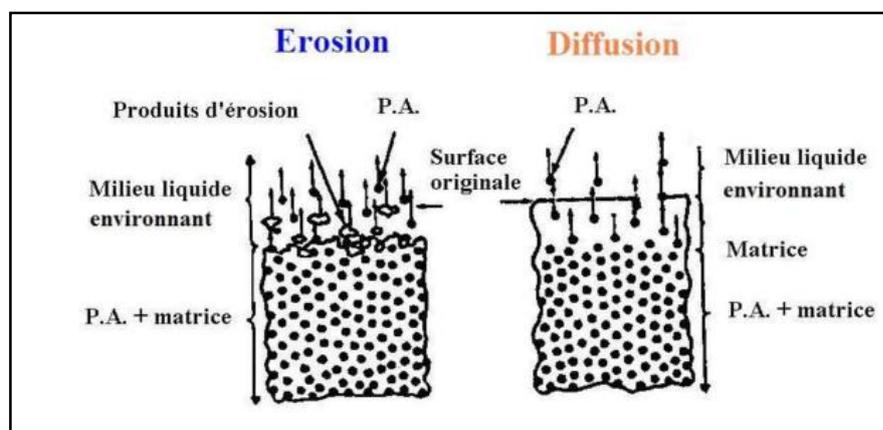


Figure VI.28 : Représentation schématique de la libération d'un PA incorporé dans un système matriciel par les mécanismes d'érosion et de diffusion

Cette dernière est engendrée par le démantèlement des chaînes lorsque la concentration hydrique devient trop importante. Elle correspond à un changement brusque des propriétés rhéologiques du gel [106].

Comme le cas de HPMC qui est utilisé en raison de son important potentiel de gélification, Lee et Peppas ont montré qu'il était possible de prévoir l'épaisseur de la couche gélifiée en fonction du temps, mais également les vitesses de gélification et d'érosion [107]. Harland et al. ont ainsi constaté que l'épaisseur de la couche gélifiée était directement proportionnelle au carré du temps aussi longtemps que le phénomène de gélification était plus rapide que l'érosion [108].

Schématiquement, un système matriciel hydrophile mis en solution est composé de trois fronts dynamiques distincts, de nature et de comportement différent vis-à-vis de la libération du PA (Figure 12) [105].

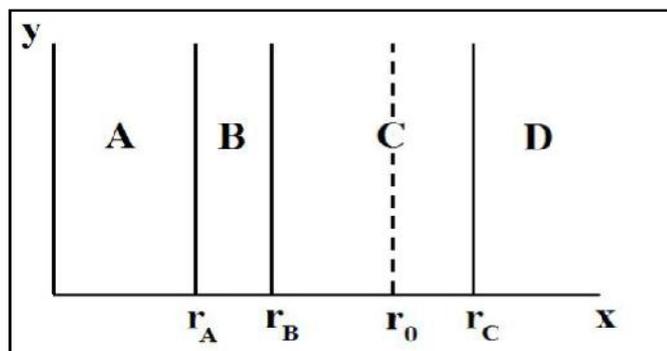


Figure VI.29 : Représentation schématique : du front de gélification r_A , du front de diffusion r_B , de la surface initiale de la matrice r_0 et du front d'érosion r_C . L'abscisse X représente la distance radiale de la forme matricielle. (A) le corps de forme non gélifié contenant le PA non dissous; (B) couche gélifiée contenant le PA non dissout, (C) couche gélifiée contenant le PA dissous ; et (D) milieu de dissolution. [109]

Avant immersion, la surface initiale de la forme matricielle est représentée par r_0 . Lorsque la forme entre en contact avec le milieu de dissolution, le polymère s'hydrate pour former une gangue gélatineuse en surface. Ainsi, le front d'érosion (r_C), est directement en contact avec le milieu de dissolution. Il est constitué des chaînes de polymère en cours de démantèlement.

Il constitue le facteur principal régissant la dissolution des PA peu solubles. Le front de diffusion (r_B) constitue l'interface entre les couches de polymère gélifié contenant le PA dissous et non dissous.

La diffusion du PA dans la zone r_B-r_0 est caractérisée par une cinétique d'ordre 0. Au niveau de la zone r_0-r_C , la diffusion du PA est alors conditionnée par le phénomène d'érosion.

Une diffusion constante du PA ne s'effectue donc que lorsque le polymère se gélifie plus vite qu'il ne s'érode.

Le déplacement du front de solvant en zones B et C est significativement plus élevé qu'en zone A ($\sim 10^{-10}$ m²/s), ce qui facilite la diffusion radiale du PA dissous vers le front d'érosion.

Le front de gélification (r_A) sépare la matrice non gélifiée de l'espace où la pénétration de l'eau a déjà provoqué l'hydratation des chaînes de polymère, engendrant le gonflement de la matrice.

HPMC présent en zone A se trouve sous forme non gélifiée puisque le milieu de dissolution n'a pas encore diffusé à travers la matrice. La mobilité des chaînes de polymère est très faible, ce qui ralentit fortement le déplacement du front de solvant ($\sim 10^{-16}$ m²/s à 37°C).

L'épaisseur de la couche gélifiée évolue donc selon 3 phénomènes :

- Elle augmente lorsque la pénétration de l'eau est le phénomène dominant;
- Elle reste constante lorsque le gonflement du polymère compense l'érosion ;
- Elle diminue au moment où la totalité de la matrice est gélifiée et est alors influencée uniquement par le phénomène d'érosion.

La cinétique de libération du PA est étroitement liée à cette évolution dynamique de la couche gélifiée [105];[106].

II-3 Influence de la porosité de la matrice :

Le polyéthylène glycol joue le rôle de plastifiant, dont le but est de rendre plus souples et flexibles les réseaux polymériques, en diminuant les forces intermoléculaires présentes entre chaînes, ce qui diminue aussi les forces de cohésion de la transition vitreuse.

Cependant, il peut être employé comme agent porogène qui produit une structure poreuse dans la membrane de la matrice. Ceci facilite le mouillage de la surface des particules et la pénétration de l'eau à travers la matrice polymérique, et favoriser la libération du principe actif [110], Klose et al. 2006) [111].

De nombreuses études ont montré l'influence de la porosité des microparticules à base de polymère sur les cinétiques de libération d'une espèce encapsulée, [112]

Par porosité, il faut entendre aussi bien la présence de fissures, de trous que de crevasses au sein de la microparticule. La nature poreuse du matériau va influencer les processus intervenant au cours de la dissolution, l'adsorption et la diffusion d'un principe actif encapsulé, [113].

Pour un matériau poreux donné, la diffusion de l'espèce, et donc sa libération, seront fonction du coefficient de diffusion propre à l'espèce, de la distribution des pores au sein du matériau mais aussi de leur taille, de leur forme, de leur structure, c'est-à-dire de la tortuosité du réseau de pores. [114]

Une molécule présente dans ce réseau aura à diffuser vers le pore voisin le plus proche et se frayer un chemin à travers ce réseau jusqu'à atteindre le milieu continu. Pour une microparticule poreuse donnée, plus le réseau sera tortueux, plus la diffusion de l'espèce et sa libération vers le milieu continu seront ralenties. [115]

Dans le cas d'une microcapsule dégradable par érosion, la présence de pores dans la matrice va également influencer ce processus et donc les cinétiques de relargage et de destruction du matériau. L'érosion du matériau augmente le volume du pore et donc l'espace de diffusion de la molécule, conduisant à une accélération de son relargage. Ainsi, au cours de l'érosion d'un matériau poreux, le coefficient de diffusion apparent de l'espèce va augmenter avec le temps. [116]

La formation des pores dans la microparticule est influencée majoritairement par le processus de fabrication utilisé. Ainsi, afin de disperser dans la matrice une molécule active hydrophobe, la technique d'évaporation du solvant d'une émulsion huile dans eau est fréquemment utilisée. [117]. Or, au cours de ce processus complexe, il a été mis en évidence la formation de pores au moment de l'évaporation du solvant organique. [118]

II-4 la porosité et la surface spécifique des microparticules

Ce dernier peut être soit incorporé dans la matrice polymère, soit éventuellement adsorbé à la surface des microparticules. On sait que d'une part, une surface plus importante offre une plus grande probabilité pour le principe actif de s'y fixer et que d'autre part, la surface des microparticules est inversement proportionnelle à leur diamètre.

-Surface spécifique par BET

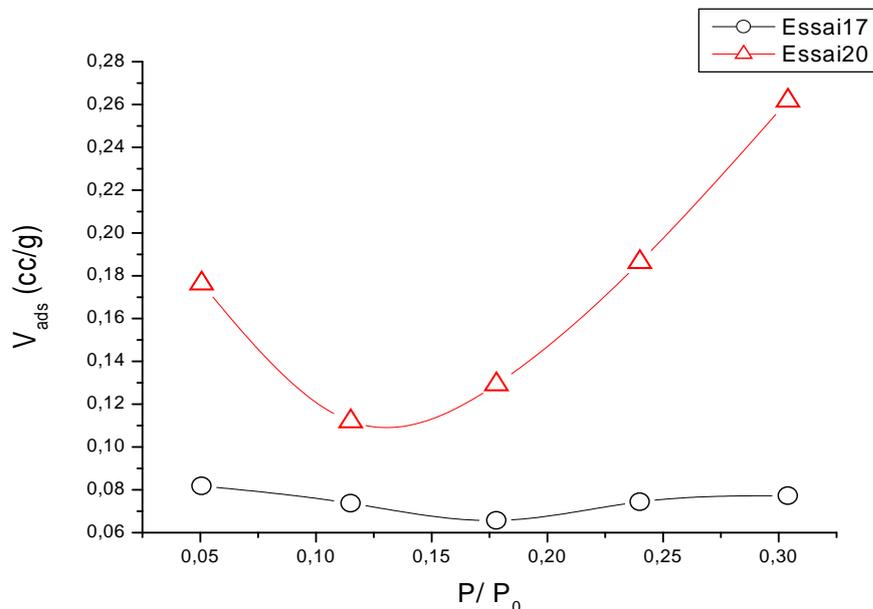


Figure VI.30 : isothermes d'adsorption BET des microparticules des essais 17 et 20.

Tableau VI.31 : Surfaces spécifiques et volume de pores des microparticules des essais 17 et 20

échantillon	Surface spécifique (m ² /g)	pente	C	Volume de micropores (cm ³ /g)
Essai 17	0.225	15821.074	-50.009	0,084
Essai 20	0.781	4157.830	14.688	0,570

Pour la détermination des surfaces, l'adsorbat idéal doit avoir une valeur de la constante C dans la relation B.E.T. qui ne soit ni trop petite ni trop grande. Une très forte valeur de C révèle que l'adsorbat est très lié à la surface et risque de se fixer sur des sites spécifiques. Une très faible valeur de C indique une liaison faible et, dans ce cas, la mobilité latérale des molécules s'oppose à la constitution d'une monocouche organisée.

De nombreuses études ont montré que sur une grande variété de corps, les valeurs du paramètre C de l'azote restaient comprises entre 50 et 300, ce qui fait de ce gaz l'adsorbat standard de référence pour les mesures de surface.

La méthode de Dubunin-Raduskevitch donne une valeur pour le volume microporeux, de par la relation:

$$\log(V) = \log(V_0) - \frac{B.T^2}{S} \left(\log \frac{P_0}{P} \right)^2$$

B est une constante liée à l'énergie d'adsorption d'un gaz de référence (azote), E₀.

β : constante d'affinité du gaz d'analyse, ici égale à 0,267.

Ci-après on donne le tracé de logV en fonction de (log P₀/P)² ; l'ordonnée à l'origine fournit le volume de micropores V₀ (en volume de gaz équivalent).

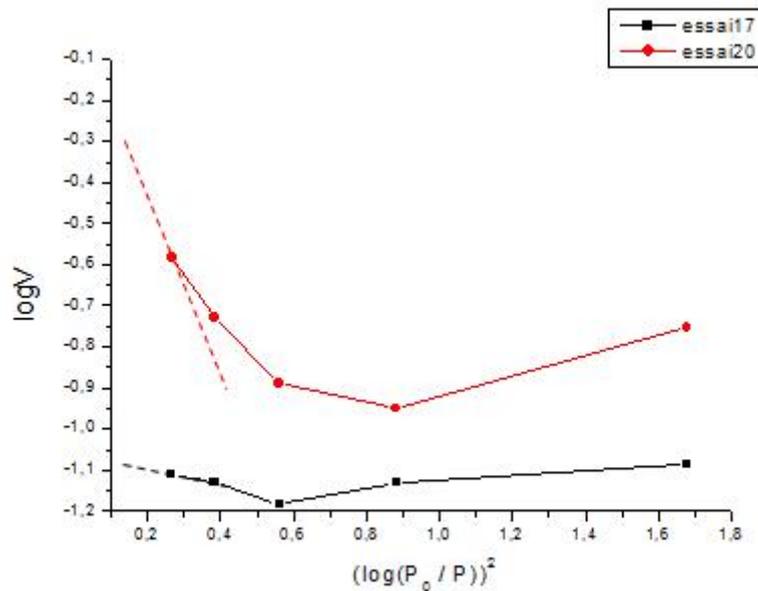


Figure VI.31 : courbes $\log V$ en fonction de $(\log(P_0/P))^2$ des isothermes BET pour les microparticules des essais 17 et 20

Les pentes des tangentes à $(\log(P_0/P))^2$ minimale, correspondant aux rapports P/P_0 maximale, nous donnent les valeurs des $\log V_0$ pour chaque échantillon des deux essais 17 et 20, tel que V_0 représente le volume moyen des micropores des microparticules.

L'ordonnée à l'origine fournit le volume de micropores V_0 (en volume de gaz équivalent), pour chacun des deux échantillons, les équations linéaires des tangentes aux points d'abscisses 0,2674 nous donnent les ordonnées à l'origine correspondant à $\log V_0$ d'où on tire les deux valeurs de V_0 :

- Pour l'essai 20 : $\text{Log}V = -1,263 (\log(P_0/P))^2 - 0,244$

$$-0,244 = \log V_0 \Rightarrow V_0 = 0,570 \text{ cm}^3/\text{g}$$

- Pour l'essai 17 : $\text{Log}V = -0,137 (\log(P_0/P))^2 - 1,075$

$$-1,075 = \log V_0 = -1,075 \Rightarrow V_0 = 0,084 \text{ cm}^3/\text{g}$$

-Discussion

- Les isothermes d'adsorption BET présentent un minimum pour les deux échantillons, celui de l'essai 17 correspond à la valeur de la pression relative P/P_0 estimée à 0,175 tandis que celle des microparticules de l'essai 20, elle est évaluée à 0,115. Pour ces minimums, l'adsorption de l'azote est minimale, due à une forte désorption au départ des molécules de solvant (eau) et de celles du PA présentes initialement dans les pores des deux échantillons. Puis, l'adsorption croit au-delà de ces deux valeurs après désorption des substances retenues dans les micropores, jusqu'à la valeur maximale de P/P_0 qui est d'environ 0,3.
- La valeur de la surface spécifique est plus élevée ainsi que le volume de micropores pour l'échantillon de microparticules préparées à 10°C dans l'eau distillée. Lorsque la température de la phase dispersée augmente jusqu'à la température ambiante pour l'essai 20, la porosité (volume des micropores) ainsi que la surface spécifique diminuent dues au changement de l'état physique de la matrice polymérique.

On conclut que les microparticules préparées à 10°C sont plus microporeuses que celles de l'échantillon préparé à température ambiante. Ce qui explique les écarts entre les taux d'encapsulation de l'Amlodipine (Bésylate).

CONCLUSION

Ce travail de mémoire s'inscrit dans la continuité des travaux de recherches, dont l'objectif est la préparation de microparticules d'amlodipine. L'étude a été consacrée à évaluer l'effet de l'association de trois polymères biodégradables et biocompatibles, HPMC, Eudragit® et PEG, sur la libération modifiée de la substance active.

Afin de développer la meilleure formulation, une étude d'optimisation est préalablement effectuée, pour rechercher les meilleures conditions de microencapsulation, telles que le pH, la température, le taux de tensioactif et celles des polymères. Ces derniers demeurent les paramètres primordiaux ou clés déterminant les caractéristiques des microparticules obtenues.

Dans un premier temps, nous avons caractérisé les microparticules d'un point de vue physico-chimique.

Les résultats de la caractérisation par FTIR et par UV -visible nous ont permis de conclure, que les meilleures conditions opératoires sont obtenues pour une phase continue à pH neutre de l'eau distillée, avec 0,2% CTAB (tensioactif) et à des quantités en polymères 200mg HPMC, 300mg EUD et 100mg PEG, correspondant à un taux d'encapsulation très élevé de l'ordre de 97,87%, et pour lesquels l'aspect de la poudre est acceptable.

Afin de valider les microparticules pour la délivrance de la substance active, nous avons étudié leur cinétique de libération par dissolution dans le milieu physiologique tampon pH=6.8. Une grande amélioration de la libération et des profils cinétiques, correspondant à des cinétiques modifiées (par ralentissement des vitesses de libération du PA), ont été remarquées pour les deux formulations optimales des essais 4 et 17, réalisés à pH neutre dans l'eau distillée avec deux procédés distincts.

Les analyses BET nous ont permis de confirmer les résultats de la cinétique de la libération de l'amlodipine. En particulier, par l'estimation des valeurs de surfaces spécifiques des microparticules, telles que celles-ci dépendent des conditions de température. La surface spécifique est trois fois plus élevée pour les microparticules de l'essai 20, réalisé à la température ambiante, que celle des microparticules obtenues dans l'essai 17 à température 10°C.

Enfin, cette étude constitue un début d'une recherche qui nécessite un approfondissement et à compléter par d'autres analyses telles que des observations par microscopie MEB pour déterminer la morphologie et la taille des particules, par HPLC pour mieux quantifier le principe actif et d'autres techniques comme la zétamétrie ou la viscosimétrie pourront mieux cerner les matrices hydrogels obtenues.

1- Spectrophotométrie d'absorption UV-Visible

1- Analyse qualitative par UV-Visible :

✚ Analyse qualitative de l'Amlodipine (Bésylate) par UV-Visible dans l'eau distillée :

Etalon	Le blanc	1	2	3	4	5
[Amlo] mg/L	0	1	3	5	7	10
V (ml) solution std à 50mg/L	0	0.2	0.6	1.0	1.4	2.0
V (ml) d'eau distillée	10	9.8	9.4	9.0	8.6	8.0

Le spectre d'absorption UV-Visible obtenu est représenté dans la figure suivante :

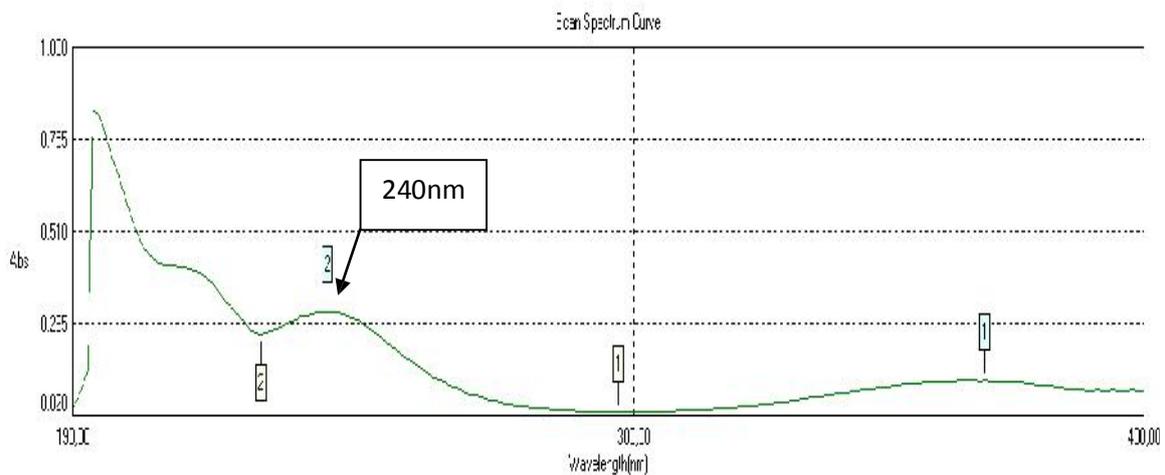


Figure : spectre électronique d'absorption UV-Visible de l'Amlodipine (Bésylate) pure dans l'eau distillée.

✚ Analyse qualitative de l'Amlodipine (Bésylate) par UV-Visible dans (tampon PH= 1,2)

Etalon	Le blanc	1	2	3	4	5
[Amlo] mg/L	0	1	3	5	7	10
V (ml) solution std à 50mg/L	0	0.2	0.6	1.0	1.4	2.0
V (ml) solution Hcl	10	9.8	9.4	9.0	8.6	8.0

Le spectre d'absorption UV-Visible obtenu est représenté dans la figure suivante :

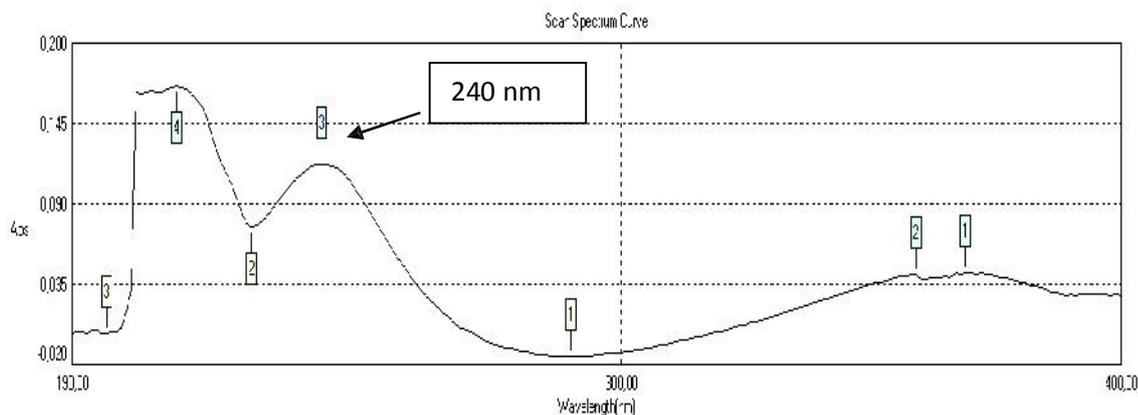


Figure : spectre UV-Visible de l'amlodipine dans le tampon pH=1,2.

■ Analyse qualitative de l'Amlodipine (Bésylate) par UV-Visible dans tampon pH=6,8

Etalon	Le blanc	1	2	3	4	5
[Amlo] mg/L	0	1	3	5	7	10
V (ml) solution std à 50mg/L	0	0.2	0.6	1.0	1.4	2.0
V (ml) solution NaOH	10	9.8	9.4	9.0	8.6	8.0

Le spectre d'absorption UV-Visible obtenu est représenté dans la figure suivante :

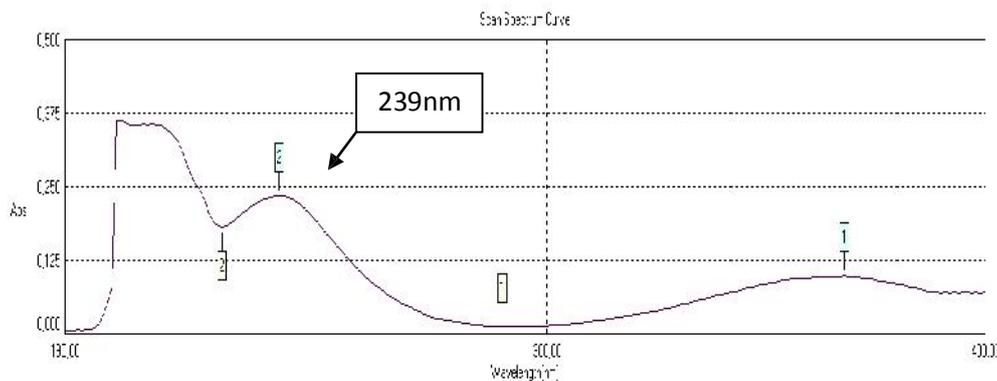


Figure : spectre électronique d'absorption UV de l'Amlodipine (Bésylate) pure dans le tampon pH=6,8.

➤ Analyse qualitative de l'Amlodipine (Bésylate) par UV-Visible à pH=5

Le spectre d'absorption UV-Visible obtenu est représenté dans la figure suivante :

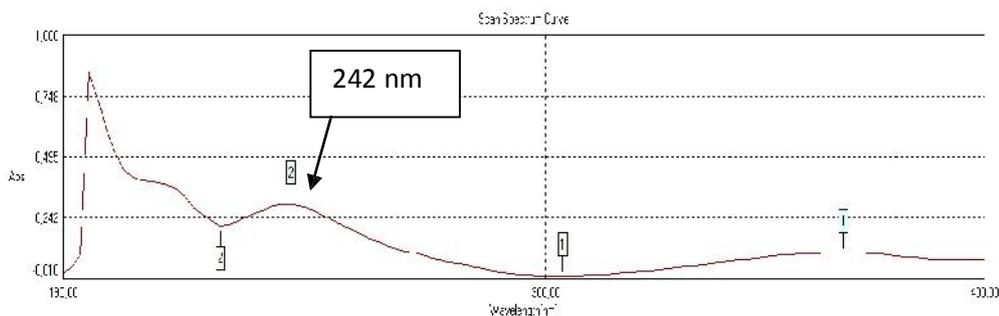


Figure : spectre UV-Visible de l'amlodipine (Bésylate) dans le tampon à pH=5

➤ Analyse qualitative de l'Amlodipine (Bésylate) par UV-Visible à pH=4

Le spectre d'absorption UV-Visible obtenu est représenté dans la figure suivante :

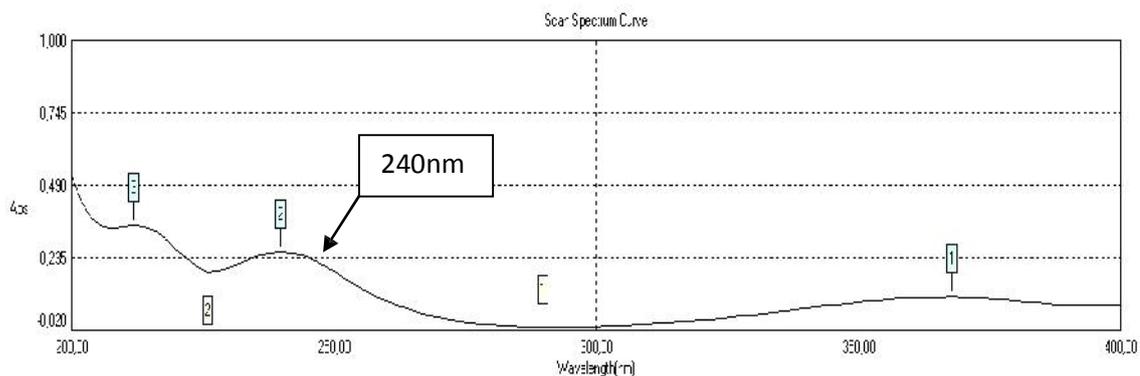


Figure : spectre UV-Visible de l'amlodipine (Bésylate) dans le tampon pH=4

➤ Analyse qualitative de l'Amlodipine (Bésylate) par UV-Visible à pH=8

Le spectre d'absorption UV-Visible obtenu est représenté dans la figure suivante :

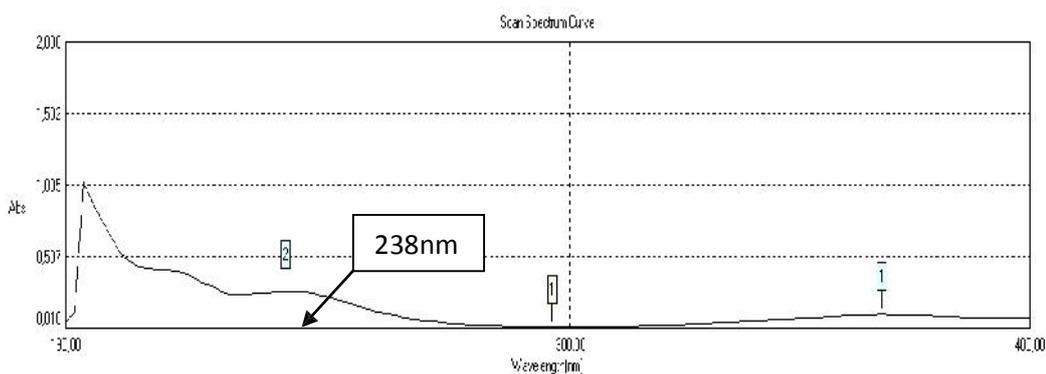


Figure : spectre UV-Visible de l'amlodipine (Bésylate) dans le tampon à pH=8

➤ Analyse qualitative de l'Amlodipine (Bésylate) par UV-Visible à pH=7,4

Le spectre d'absorption UV-Visible obtenu est représenté dans la figure suivante :

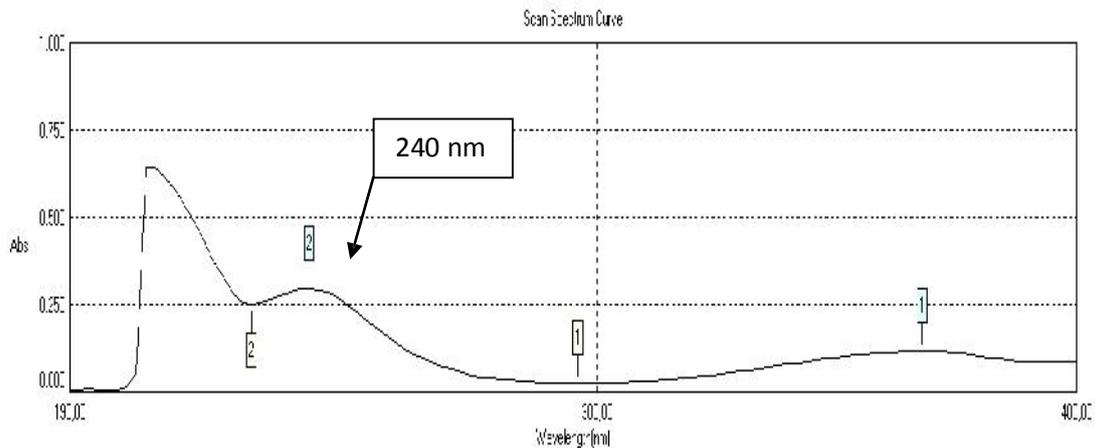


Figure : spectre UV-Visible de l'amlodipine (Bésylate) dans le tampon pH=7,4

2- Analyse quantitative

➤ Courbe d'étalonnage de l'amlodipine (Bésylate) dans l'eau distillée

Tableau: courbe d'étalonnage de l'amlodipine (Bésylate) dans l'eau distillée

Etalon	1	2	3	4	5
[AMLO] (mg/L)	1	3	5	7	10
Abs ($\lambda_{\max}=240\text{nm}$)	0,048	0,111	0,162	0,242	0,326

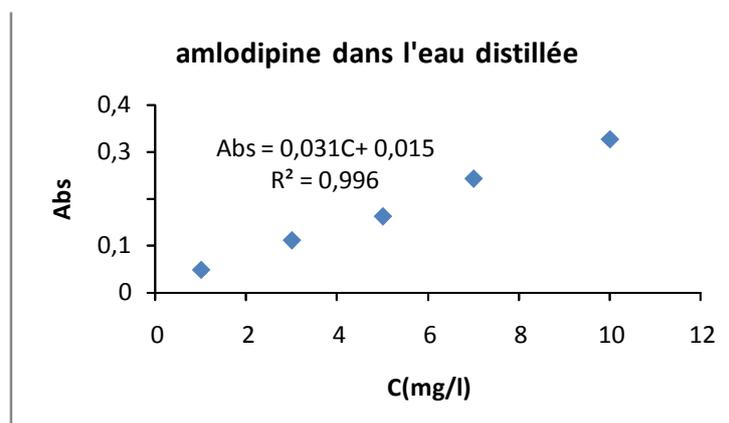


Figure : Courbe d'étalonnage de l'amlodipine (Bésylate) à $\lambda_{\max}=240\text{ nm}$ dans l'eau distillée

✚ Courbe d'étalonnage de l'amlodipine à pH=6,8 (milieu intestinal)

Tableau : étalons d'amlodipine à pH =6,8 (milieu intestinal)

Etalon	1	2	3	4	5
[AMLO] (mg/L)	1	3	5	7	10
Abs ($\lambda_{\max}=240\text{nm}$)	-	0,025	0,082	0,113	0,226

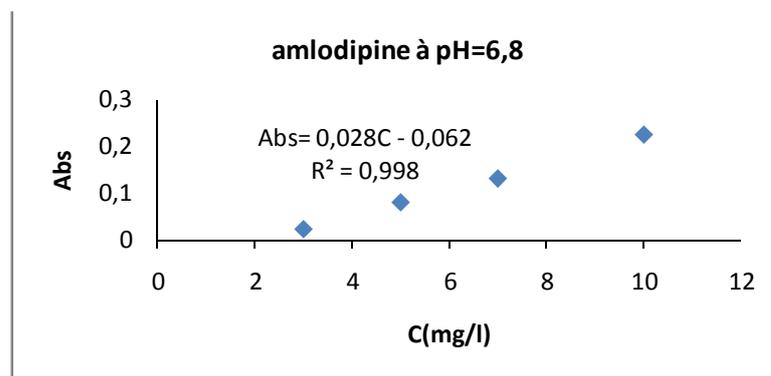


Figure : Courbe d'étalonnage de l'amlodipine à $\lambda_{\max}=239\text{ nm}$ dans le milieu pH=6,8.

✚ Courbe d'étalonnage d'amlodipine (Bésylate) dans le milieu à pH=1,2 (milieu gastrique)

Tableau : courbe d'étalonnage de l'amlodipine (Bésylate) dans le milieu à pH=1,2 (gastrique)

Etalon	1	2	3	4	5
[AMLO] (mg/L)	1	3	5	7	10
Abs ($\lambda_{\max}=240\text{nm}$)	-	-	0,024	0,054	0,118

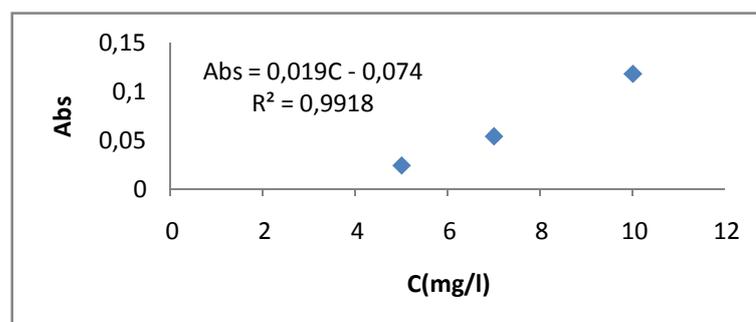


Figure : Courbe d'étalonnage de l'amlodipine (Bésylate) à $\lambda_{\max}=240\text{ nm}$ dans le milieu à pH=1,2.

✚ Courbe d'étalonnage de l'amlodipine (Bésylate) à pH=5

Étalon	1	2	3	4	5
[AMLO] (mg/L)	1	3	5	7	10
Abs ($\lambda_{\max}=240\text{nm}$)	0,011	0,049	0,087	0,183	0,302

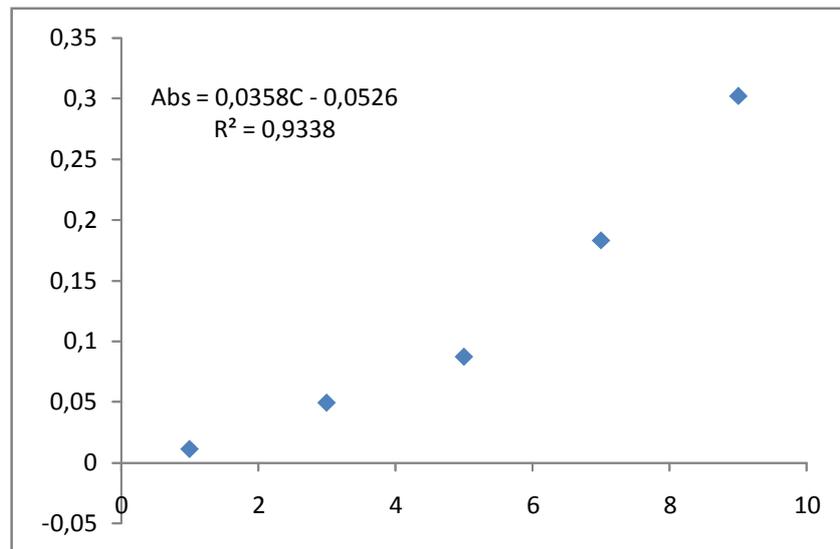


Figure : Courbe d'étalonnage de l'amlodipine (Bésylate) à $\lambda_{\max}=242\text{ nm}$ dans le milieu à pH=5

✚ Courbe d'étalonnage de l'amlodipine (Bésylate) à pH=4

Étalon	1	2	3	4	5
[AMLO] (mg/L)	1	3	5	7	10
Abs ($\lambda_{\max}=240\text{nm}$)	0,027	0,080	0,11	0,165	0,246

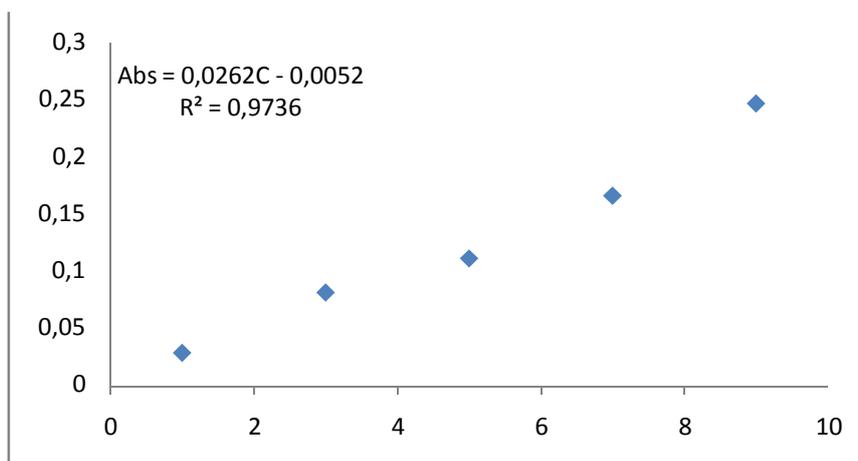


Figure : Courbe d'étalonnage de l'amlodipine (Bésylate) à $\lambda_{\max}=240\text{ nm}$ dans le milieu à pH=4.

✚ Courbe d'étalonnage de l'amlodipine (Bésylate) à pH=8

Étalon	1	2	3	4	5
[AMLO] (mg/L)	1	3	5	7	10
Abs ($\lambda_{\max}=240\text{nm}$)	0,047	0,090	0,147	0,175	0,239

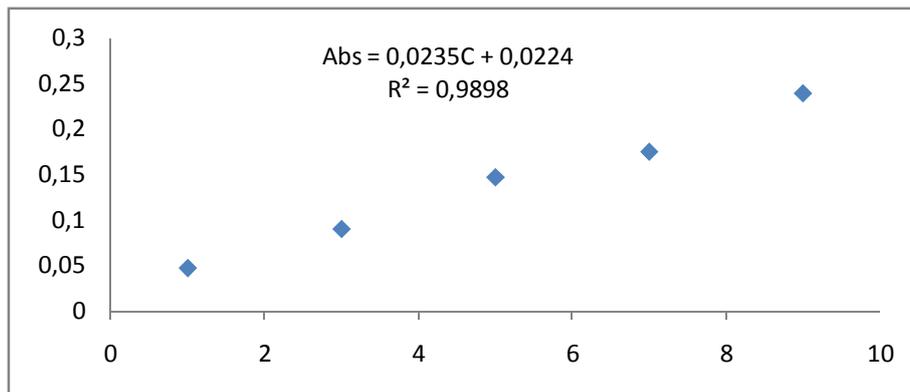


Figure : Courbe d'étalonnage de l'amlodipine (Bésylate) à $\lambda_{\max}=240\text{ nm}$ dans le milieu à pH=8

✚ Courbe d'étalonnage de l'amlodipine (Bésylate) à pH=7,4

Étalon	1	2	3	4	5
[AMLO] (mg/L)	1	3	5	7	10
Abs ($\lambda_{\max}=240\text{nm}$)	0,051	0,104	0,168	0,230	0,290

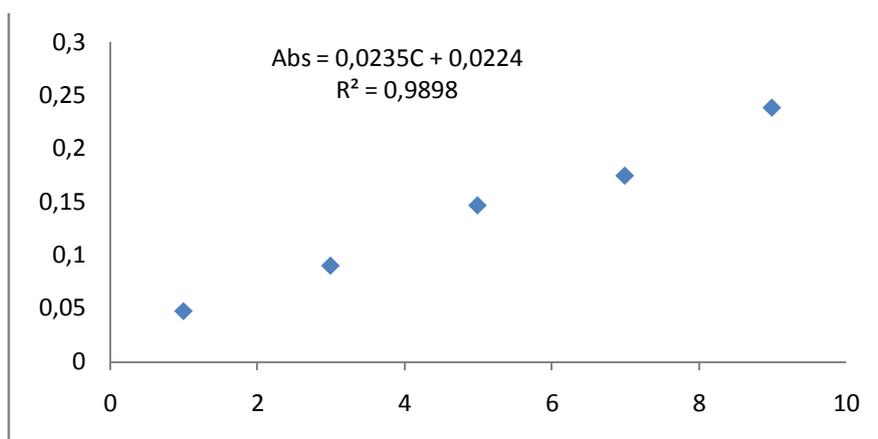


Figure : Courbe d'étalonnage de l'amlodipine (Bésylate) à $\lambda_{\max}=240\text{ nm}$ dans le milieu à pH=7,4

1- Caractérisations physicochimiques des polymères (HPMC- Eudragit –PEG) par spectrophotomètre infrarouge à transformée de Fourier :

HPMC : Hydroxypropylméthylcellulose

Le spectre IRTF représenté sur la figure suivante :

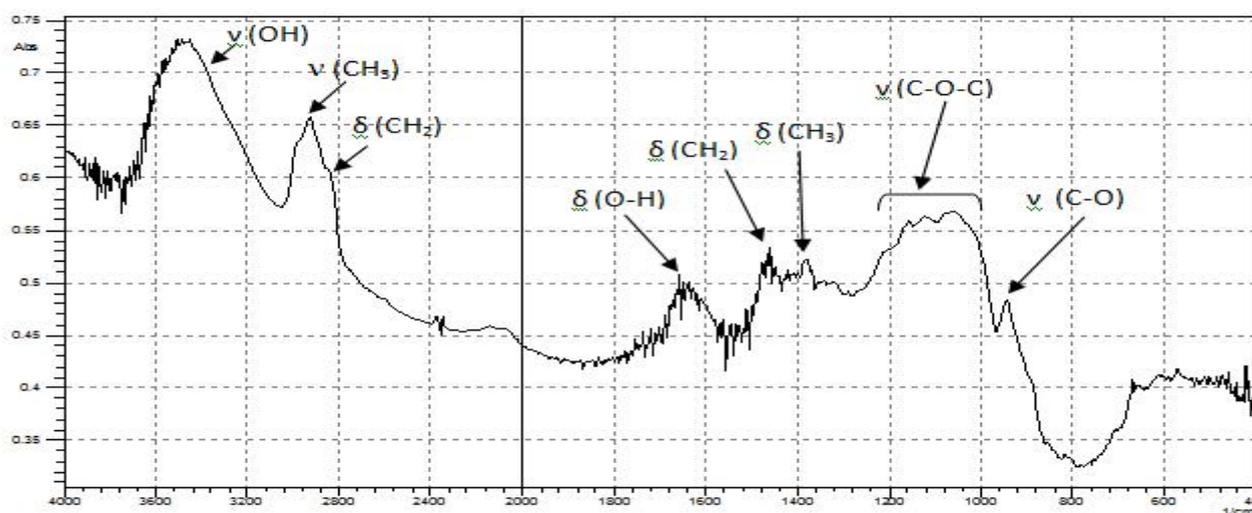


Figure : Spectre infrarouge de HPMC dans KBr

EUDRAGIT :

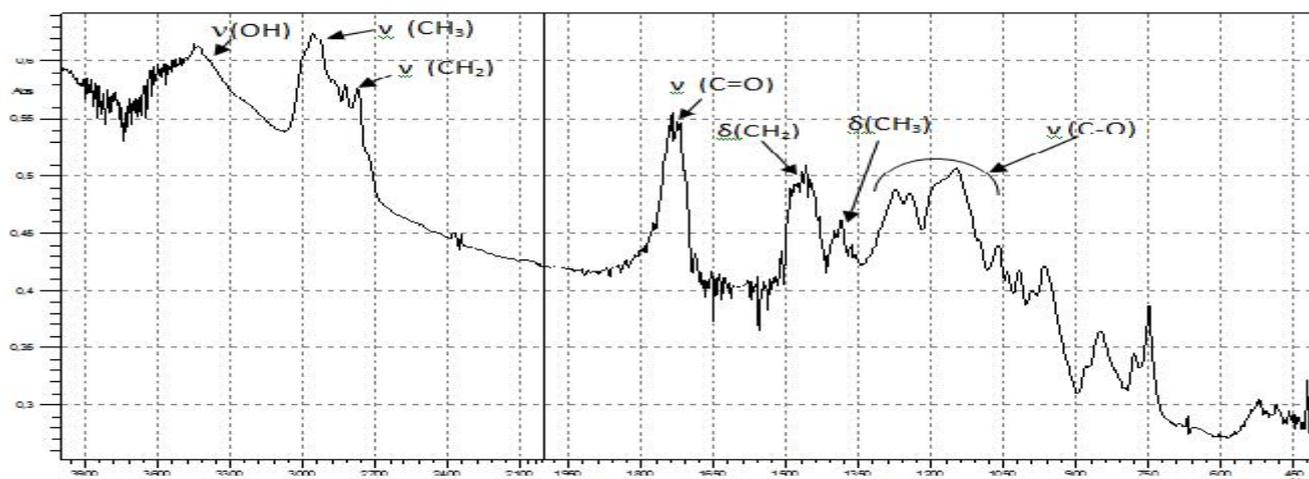


Figure : Spectre infrarouge de l'EUDRAGIT E 100

✚ Polyéthylène glycol (PEG) :

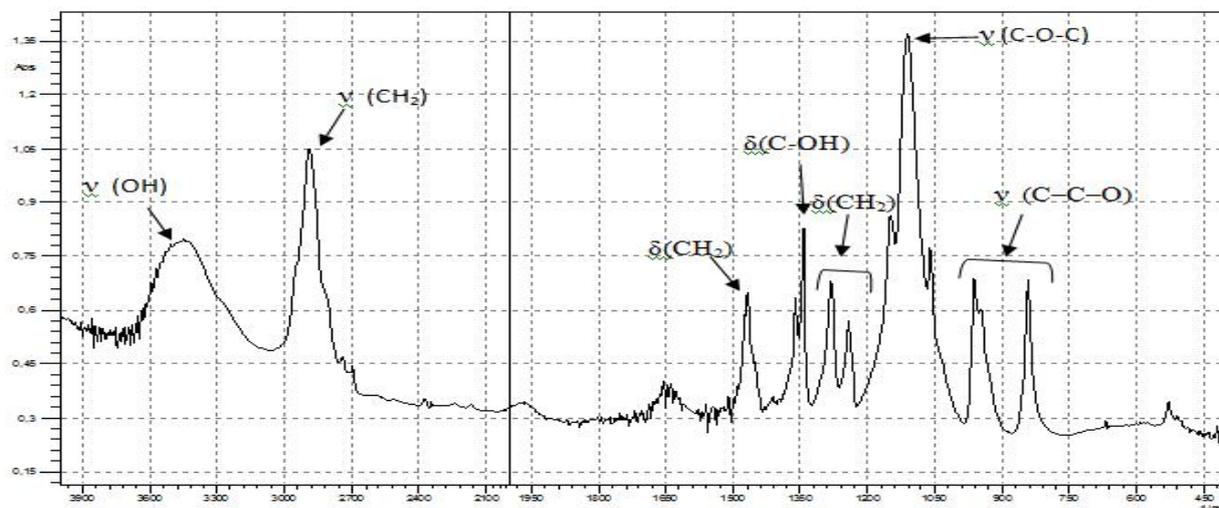


Figure: Spectre infrarouge du polyéthylène glycol

✚ Bésylate d'amlodipine

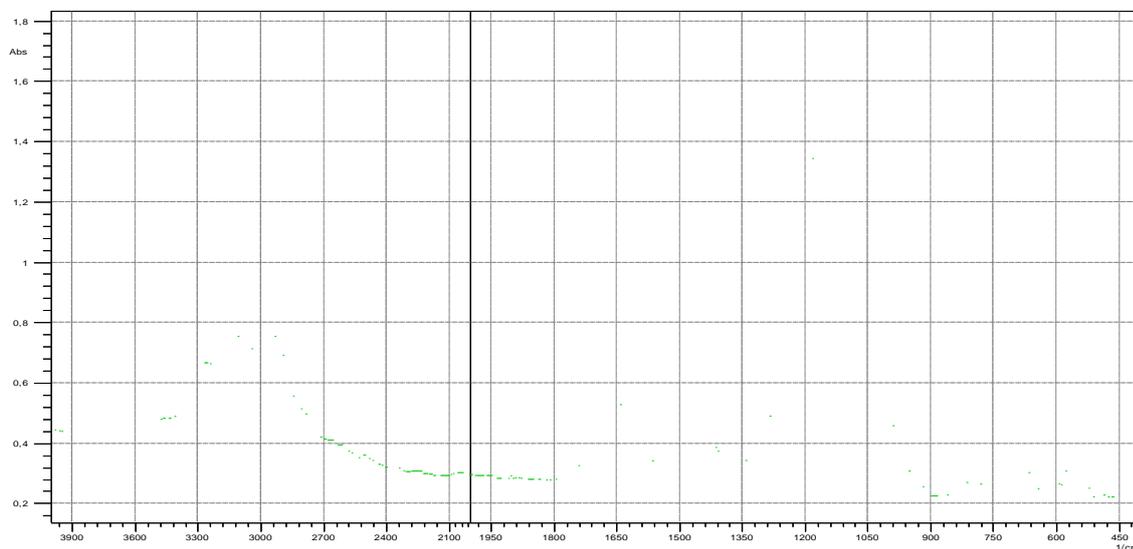


Figure: Spectre infrarouge du Bésylate d'Amlodipine pure

Résultats et discussions :

- Analyse UV-visible:

La concentration et les absorbances obtenus à $\lambda_{\max}=240\text{nm}$ des différents essais sont présentés dans les tableaux suivants:

- ✓ Influence de quantité de polymères (HPMC-EUDRAGIT®-PEG 6000)

Essai	1	2	3	4
Abs	1,608	0,084	0,467	0,082
C (mg/l)	51,01	5,106	18,491	2,135

- ✓ Influence du pH de la phase continue sur l'efficacité de l'encapsulation

Essais	5	6	7	8
PH	4	5	7,4	8
Abs	0,267	1,172	0,086	0,100
C (mg/l)	10,425	37	2,258	3,318

- ✓ Variation du taux de tensioactif à PH=7,4

	Essai 9	Essai 10	Essai 11	Essai 12
Abs	1,19	0,028	0,055	0,686
C (mg/l)	38,907	0,33	1,395	22,176

Essai	Essai 13	Essai 14	Essai 15	Essai 16
Abs	0,02	0,103	0,115	0,372
C (mg/l)	0,067	2,823	3,221	14,90

2^{ème} méthode de procédés de la microencapsulation

- ✓ influence de PH à température ambiante

Température ambiante	Essai 17	Essai 18	Essai 19
Abs	1,081	1,86	1,194
C (mg/l)	34,134	57,90	39,9

- ✓ influence du pH à température 10°C

Température (10°C)	Essai 20	Essai 21	Essai 22
Abs	1,697	1,201	2,247
C (mg/l)	53,864	37,87	73,996

Statistique :

- L'écart type (σ_a) de l'ordonnée à l'origine (a) est donné par la relation :

$$\sigma_a = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N a_i^2}{N-1} - \frac{(\sum_{i=1}^N a_i)^2}{N}}$$

- L'erreur type est donné par σ_a / \sqrt{N}

$$\text{Ou } S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N a_i^2}{N-1} - \frac{(\sum_{i=1}^N a_i)^2}{N}}$$

- Le coefficient de variation (CV) :

$$CV \% = \frac{\sigma_a}{\bar{a}} \cdot 100$$

- Recouvrement est calculé par :

$$(\%) = \frac{\sum_{i=1}^N \frac{a_i}{a_{hé}}}{\sum_{i=1}^N \frac{a_i}{a_{i}} \cdot \frac{a_{i}}{a_{i}} \cdot \frac{a_{i}}{a_{i}}} \cdot 100$$

Ou :

N : Nombre de prélèvement a chaque temps

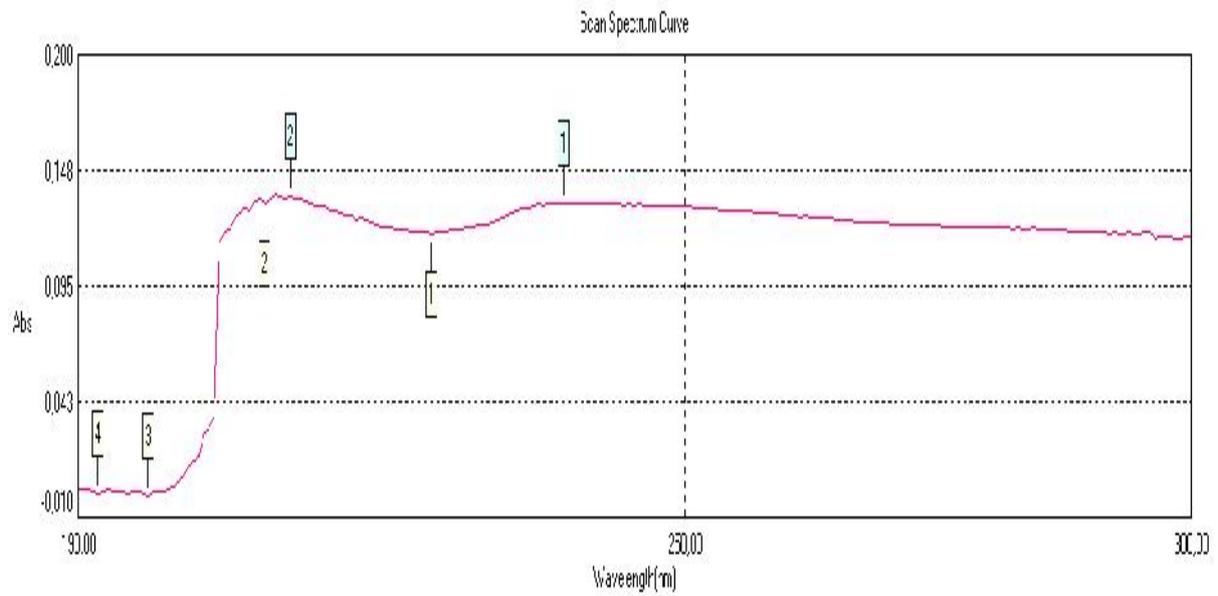
t_i : Temps de chaque prélèvement

\bar{t} : Temps moyens des prélèvements

R : Rapport des concentration

: Rapport des concentrations moyennes

Analyse UV-Visible d'EUD à pH=6,8 et à température 37°C



Spéctre d'absorption UV-Visible d'eudragit[®] a pH=6,8

Essais	Conditionsopératoires
1^{er} procédés de la microencapsulation	
Influence du taux de polymères	
Essai 1	T=10°C, Milieu aqueux :Eau Distillée 100 PEG, 300 HPMC, 200 EUD (mg) ; 0,2% CTAB
Essai 2	T=10°C, Milieu aqueux : Eau Distillée 200 PEG, 300 HPMC, 200 EUD (mg) ; 0,2% CTAB
Essai 3	T=10°C, Milieu aqueux : Eau Distillée 100 PEG, 100 HPMC, 300 EUD (mg) ; 0,2% CTAB
Essai 4	T=10°C, Milieu aqueux : Eau Distillée 100 PEG, 200 HPMC, 300 EUD (mg); 0,2% CTAB
Influence du pH de milieuaqueux	
Essai 5	T=10°C, Milieu aqueux : pH=4 100 PEG, 200 HPMC, 300 EUD (mg) ;0,2% CTAB
Essai 6	T=10°C, Milieu aqueux : pH=5 100 PEG, 200 HPMC, 300 EUD (mg) ; 0,2% CTAB
Essai 7	T=10°C, Milieu aqueux : pH=7,4 100 PEG, 200HPMC, 300 EUD(mg); 0,2% CTAB
Essai 8	T=10°C, Milieu aqueux : pH=8 100 PEG, 200 HPMC, 300 EUD(mg); 0,2% CTAB
Influence de taux de tensioactif à pH=7,4	
Essai 9	T=10°C, Milieu aqueux : pH=7,4 100 PEG, 500 HPMC, 0 EUD, (mg) ;0.05% de CTAB
Essai 10	T=10°C, Milieu aqueux : pH=7,4 100 PEG, 500 HPMC, 0 EUD (mg) ;0.1% CTAB
Essai 11	T=10°C, Milieu aqueux : pH=7,4 100 PEG, 500 HPMC, 0 EUD(mg) ;0,2% CTAB
Essai 12	T=10°C, Milieu aqueux : pH=7,4 100 PEG, 500 HPMC, 200 EUD(mg) ;0,3%CTAB
L'influence de taux de tensioactif et de la quantité de polymères	
Essai 13	T=10°C, Milieu aqueux : pH=7,4 100 PEG, 450 HPMC, 50 EUD (mg) ;0,2% CTAB
Essai 14	T=10°C, Milieu aqueux : pH=7,4 100 PEG, 450 HPMC, 50 EUD (mg) ; 0,3% CTAB
Essai 15	T=10°C, Milieu aqueux : pH=7,4 100 PEG, 400 HPMC, 100 EUD(mg) ;0,2% CTAB
Essai 16	T=10°C, Milieu aqueux : pH=7,4 100 PEG, 300 HPMC, 100 EUD(mg) ;0,2% CTAB
2^{eme} procédés de la microencapsulation	
Variation de pH à T=ambiante	
Essai 17	T=ambiante, Milieu aqueux : eau distillée 100 PEG, 200 HPMC, 300 EUD(mg); 0,2% CTAB
Essai 18	T=ambiante, Milieu aqueux : pH=5 100 PEG, 200 HPMC, 300 EUD(mg);0,2% CTAB
Essai 19	T=ambiante, Milieu aqueux : pH=7,4 100 PEG, 200 HPMC, 300 EUD(mg); 0,2% CTAB
Variation de pH à T= 10°C	
Essai 20	T=10°C, Milieu aqueux : Eau Distillée 100 PEG, 200 HPMC, 300 EUD(mg);0,2% CTAB
Essai 21	T=10°C, Milieu aqueux : pH=5 100 PEG, 200 HPMC, 300 EUD(mg);0,2% CTAB
Essai 22	T=10°C, Milieu aqueux : pH=7,4 100 PEG, 200 HPMC, 300 EUD(mg);0,2% CTAB

MATERIELS UTILISES



Balance électronique



UV-Visible



Plaque agitatrice



infrarouges à transformée de Fourier



ultrason



Dissoluteste



Centrifugeuse à 600tr/min



BET

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1]: Anne wawrezniec ,jean – Manuel péan , patrick wuthrich , jean-pierre benoit
MEDECINE/SCIENCES 2008.
- [2]: Benita S. Microencapsulation. Methods and industrial applications. Marcel Dekker.
- [3] : Rapport de l'organisation mondiale de la santé (OMS) sur la situation mondiale des
maladies non transmissibles, 2010-2011. Genève.
- [4]: WHO, Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. 2011, Geneva
- [5]: Mathers C.D., Loncar D., Projections of global mortality and burden of disease from
2002 to 2030. PLoS Med., 2006.
- [6]: Lim S.S., Vos T., Flaxman A.D., Danaei G., Shibuya K., Adair-Rohani H. et al. A
comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and
risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of
Disease Study 2010. Lancet 2012.
- [7]: World Health Organization. The global burden of disease: 2004 update, 2008, Geneva
- [9]: LUSCHER TF, COSENTINO F, The classification of calcium antagonists and their
selection in the treatment of hypertension. A Reappraisal. Drugs, 1998.
- [10]: TOYO-OKA T, NA YIER WG, Third generation calcium entry blockers. Blood Press.,
1996.
- [11] : GIES JP, Les canaux ioniques. Paris : Ellipses, 1993
- [12]: ALDERMAN MH, COHEN H, ROQUE R,MADHAVAN S, Effect of long-acting and
short-acting calcium antagonists on cardiovascular outcomes in hypertensive patients. Lancet,
1997.
- [13] : ABERNETHY, D.R., J. GUTKOWSKA et M.D. LAMBERT. "Amlodipine in elderly
hypertensive patients: pharmacokinetics and pharmacodynamics", *J Cardiovasc Pharmacol*,
1988.
- [14]: BERNINK, P.J.L.M., P. DE WEERD, F.J. TEN CATE, W.J. REMME, J. BARTH, R.
ENTHOVEN, F.D.M. HAAGEN, N.J. HOLWERDA, H.C. KLOMPS et coll. "An 8-week
double-blind study of amlodipine and diltiazem in patients with stable exertional angina
pectoris", *J Cardiovasc Pharmacol*, 1991.
- [15] : TOUPANCE, O., S. LAVAUD, E. CANIVET, C. BERNAUD, J.M. HOTTON et J.
CHANARD. "Antihypertensive effect of amlodipine and lack of interference with
cyclosporine metabolism in renal transplant recipients", *Hypertension*, vol. 24, no 3, 1994.
- [16]: Langer, J. Folkman. Polymers for the sustained release of proteins and other
macromolecules. Nature, 263 (1976) 797-800.

[17]: Jean-François. Synthèse et évaluation in vivo de microparticules d'hydrogel, Thèse doctorat, Université du QUEBEC à MONTREAL (2004).

[18]: Zecheru. New biopolymers with possible use in the field of dentistry and in the field of orthopaedics, Thesis doctorat, University Polithdnica of Bucharest, ROMANIA (2008).

[19]: S. Hoffman. The origins and evolution of «controlled» drug delivery systems. Journal of Controlled Release 132 (2008).

[20]: Hung. Drug transformation : Advances in drug delivery systems. CAN. J. ANESTH. 53 (11) (2006) .

[21]: V. Kabanov, E. V. Batrakova. Polymer Nanomaterials . T. Ikezu and H. E. Gendelman (ed.), Neuroimmune Pharmacology (2008).

[22]: Allen, P. Cillis. Drug delivery systems : entering the mainstream, Science, 303 (2004).

[23]: P. Torchilin. Targeted polymeric micelles for delivery of poorly soluble drugs. CMLS, Cel. Mal. Life Sci. 61 (2004).

[24]: Y. Qiu, Y. H. Bae. Polymer architecture and drug delivery. Pharmaceutical Research, 23(1) (2006).

[25]: M. Perry, R. N. Brogden, Goserelin. A review of its pharmaceutic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in benign gynecological disorders drugs, 51 (1996) 319-349.

[26] : Laroui. Nanosphères polymères à couverture de hyaluronate pour la délivrance ciblée de molécules actives dans le traitement des affections du cartilage, Thèse doctorat, Université de HENRI POINCARÉ-NANCY I (2007).

[27]: Kircheis, L. Wightman, M. Kursá, E. Osterman, E. Wagner. Tumor-targeted gene delivery : an attractive strategy use highly active effect for molecules in cancer treatment, Gene Ther., 9 (2002).

[28]: G. WIEGAND, J.T., An exponential expression for in vitro release from sustained release preparations, in Drugs standarts 1959.

[29]: DJ. CAMPBELL, J.T., Determination of drug release from gradual release preparations., in Drugs standarts. 1958.

[30]: HIGUCHI, T., Mechanisme of sustained-action medication; theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices Journal pharmaceutical science 1963.

[31]: J. LAZARUS, J.C., Mechanisme of sustained-action medication; theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices Journal pharmaceutical science 1961.

[32]: P. Buri, Définition et classification des systèmes matriciels., in S. T. P. PHARMA. 1987.

[33]: Sriamornsak, P., et al., Swelling and erosion of pectin matrix tablets and their impact on drug release behavior. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2007.

[34]: S. R. PARAKH, A. V. GOTHOSKAR, and M. T. KARAD, A novel method for the study of water absorption rates by swellable matrices, in *Pharmaceutical Technology*. 2003.

[35]: BURI, P., *Emploi des Polymères Pour la Fabrication des Matrices Hydrophiles et insolubles* 1981: GENEVE.

[36] : BROSSARD, D.L.D.Y.e.C., *Matrices à action prolongée* in *R Science et techniques Pharmaceutiques*. 1976.

[37] :BROSSARD, C., *les formes galéniques orales matricielles* in *Actualités Pharmaceutiques*. 2000.

[38] :E. Doelker, J.-L.SALAMON, *Formulation des comprimés à libération prolongée I. Matrices inertes*, in *PHARMA. ACTA HELV.* 1980 .

[39] : J. L. SALOMON and E. DOELKER, *Formulation des comprimés à libération prolongée I. Matrices inertes.*, in *Pharm. Acta Helv.* 1980.

[40] : K. Bajpai, S. K. Shukla, S. Bhanu, S. Kankane. *Responsive polymers in controlled drug delivery*. *Progress in Polymer Science* 33 (2008).

[41]: Jones. *Pharmaceutical Applications of Polymers for Drug Delivery*. Rapra Technology Limite. United Kingdom (2004).

[42]: V. Ranade, M. A. Hollinger. *Drug delivery systems*. 2nd edition, by CRC Press LLC (2004).

[43]: Brannon-Preppas. *Biomaterials: Polymers in controlled drug delivery*. *Medical Plastics and Biomaterials Magazine* (1997).

[44]: Kakula, H. Schlaad, M. Antonietti, S. Förster. *The formation of polymer vesicles or «peptosomes» by polybutadiene-block-poly(L-glutamate)s in dilute aqueous solution*. *J. Am. Chem. Soc.* 124(8) (2002) 1658-1663.

[45]: Augustin, M.A.; Hemar Y. *Nano- and micro-structured assemblies for encapsulation of food ingredients*. *Chem. Soc. Rev.*, 2009.

[46]: Mozafari, M. R., Khosravi-Darani, K., Borazan, G.G., Cui, J., Pardakhty, A. and Yurdugul, S. *Encapsulation of food ingredients using nanoliposome technology*. *International Journal of Food Properties*,11 (2008).

[47]: De Oliveira M. C., Fattal E., Ropert C., Malvy C., Couvreur P., *Delivery of antisense oligonucleotides by means of pH-sensitive liposomes*, *J. Controlled Release*, 1997.

[48]: Mozafari, M. R., Khosravi-Darani, K., Borazan, G.G., Cui, J., Pardakhty, A. and Yurdugul, S. *Encapsulation of food ingredients using nanoliposome technology*. *International Journal of Food Properties*; (2008).

[49]: Lorin, A., Flore, C., Thomas., Brasseur R. Les liposomes : description, fabrication et applications *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2004 .

[50]: Mozafari, M. R.; Mortazavi, M. S. Nanoliposomes: From Fundamentals to Recent Developments; Trafford Publishing Ltd: UK, 2005.

[51] Mortazavi, S.M.; Mohammadabadi, M.R.; Khosravi-Darani, K.; Mozafari, M.R. Preparation of liposomal gene therapy vectors by a scalable method without using volatile solvents or detergents. *J. Biotechnol.*, 2007.

[52] : Richard J., Benoît J.P. (2000) Microencapsulation. *Technique de l'ingénieur*. J2210 .

[53]: BORIS O.MASHKEVICH, « Drug delivery research advances », Nova Science Publishers, Inc, New York, 2007.

[54] BOUDENDOUNA Abdel Hakim, « Méthodologie de la formulation d'une forme orale solide à libération prolongée », thèse de Doctorat à l'université de Toulouse, 2010.

[55]: A.Le Hir, J.C.Chaumeil, D.Brossard, « Pharmacie galénique : Bonnes pratiques de fabrication des médicaments », 9ème édition, MASSON, Paris, 2009.

[56] : J.P. Benoît, S. Briançon, E. Fattal, H. Fessi, P. Legrand et C. Passirani, Sphéroïdes et formes vectorisées, hal-00385473, version 1.

[57] Roland Kieffer, « Contacteurs à membrane pour la précipitation du sulfate de baryum : Simulations numériques et résultats expérimentaux », thèse Claude Bernard – Lyon, 2008

[58]: Marie SOCHA, « Apport des nanotechnologies dans le domaine des peptides et des protéines : Application à l'absorption par voie orale et à la furtivité », thèse de Doctorat à l'université Henri Poincaré – NANCY 1, 2008

[59]: Raquel ANTÓN-SALAGER, « contribution à l'étude du comportement de phase des systèmes : mélanges de surfactifs-eau-huile », thèse de doctorat à université de Oriente, Venezuela ,1992.

[60] : Julie GUERY,« Emulsions doubles cristallisables: stabilité, encapsulation et relargage », thèse de doctorat à l'université de Paris VI, 2006.

[61]: Morgan, P.W., Kwolek, S.L., 1959, Interfacial Polycondensation. Fundamentals of polymer formation at liquid interfaces, *Journal of Polymer Science*.

[62]: Wittbecker, E.L., Katz, M., 1959, Interfacial polycondensation, VII Polyurethanes, *Journal of Polymer Science*.

[63]: Deasy, P.B., 1984, Microencapsulation and related drug processes, Marcel Dekker

[64]: R. Langer et N.A. Peppas, Present and future applications of biomaterials in controlled drug delivery systems, *Biomaterials*, 2 , 201-214, (1981).

[65]: Jalil R, Nixon JR, Biodegradable poly (lactic acid) and poly(lactide-co-glycolide) microcapsules: problems associated with preparative techniques and release properties, *J Microencapsulation*, 7(3) ,297–325, (1990)

[66]: S.S. Shah, Y. Cha, C.G. Pitt, Poly (glycolic acid-co-DL-lactic acid) diffusion or degradation controlled drug delivery, *J Controlled Release*, 18 (3), 261–270, (1992).

[67]: Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E.M., Buri, P., Peppas, N.A. Mechanism of solute release from porous hydrophilic polymers, *Int. J. Pharm*, 15, (1983).

[68]: P. Costa, J.Manuel, S. Lobo, Modeling and comparison of dissolution profiles, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 13, 123–133, (2001).

[69]: N.A. Peppas et R. Langer, New challenges in biomaterials Science, 263, 1715-1720, (1994).

[70]: R.Fonner, D.E., Anderson, N.R., Banker, G.S, Granulation and tablet characteristics. In: Lieberman, H.A., Lachman, L. (Eds.), *Pharmaceutical Dosage Forms, Tablets*, Marcel Dekker, Inc., New York/Basel, 2, 193, (1981).

[71]: Igor Yu, Mattiasson, Bo, Dainiak, Maria B ... Published in *Analytical and Bioanalytical Chemistry* (2/2008).

[72]:W. Cleary. Transdermal controlled-release systems. In *Medical Application of Controlled Release*, (1984).

[73] Mort. Multiple modes of drug delivery. *Modern drug discovery*. 3(3) (2000).

[74] S. Kwon. *Polymeric drug delivery systems*. Taylor & Francis (ed.). Madison, Wisconsin, USA (2005).

[75]: H. Martini. *Fundamentals of anatomy and physiology* (5th ed.), Prentice Hall, NJ, (2002).

[76]: V. Ranade ^a. Drug delivery systems, 5B, *Orale drug delivery*, *J. Clin. Pharmacol.*, 31 (98) (1991).

[77]: V. Ranade ^b. Drug delivery systems. 5A. *Orale drug delivery*, *J. Clin. Pharmacol.*, 31 (98) (1991).

[78]: W. Fara. Colonic drug absorption and metabolism, in *Novel Drug Delivery and Its Therapeutic Application*, Precott, L. F. and Nimmo, W. S., Eds., John Wiley & Sons, Chichester, U. K. (1989).

[79]: M. Hillery, A. W. Lloyd, J. Swarbrick. *Drug delivery and targeting for pharmacists and pharmaceutical scientists*. Ed. Taylor & Francis (2005).

[80]: Lakshmi, C. T. Laurencin. *Polymers as biomaterials for tissue engineering and controlled drug delivery*. *Adv. Biochem. Engin/Biotechnol.* 102 (2006).

[81] : S. Proikakis, P. A. Tarantili, A. G. Andreopoulos. The role of polymer/drug interactions on the sustained release from poly(DL-lactic acid) tablets. *European Polymer Journal* 42 (2006).

[82]: Babazadeh. Synthesis and study of controlled release of ibuprofen from the new acrylic type polymers. *International Journal of Pharmaceutics* 316 (2006).

[83]: Santus, G., R.W. Baker, and A.M. Robert, *Pharmaceuticals, Controlled Release of*, in *Encyclopedia of Physical Science and Technology*. 2001, Academic Press: New York.

[84]:DITTMER M, DURRANI M, LEHMAN K, *Acrylic polymers. A review of pharmaceutical applications*. S.T.P. Pharma ScL, 1997.

[85]: AULTON, M., *Powdered cellulose*, in *Handbook of Pharmaceutical Excipients* 6ème édition 2006, Pharmaceutical Press.

[86]: METOLOSES, in *Documentation Shin Etsu*. 2009.

[87]: Grosse, L., *Cellulose derivatives*, in *S.T.P. PHARMA 6 (hors serie)*. 1990. p. 83-86. « 33HARWOOD, R., *Hypromellose*, in *Handbook of Pharmaceutical Excipients* 6ème édition 2006, Pharmaceutical Press.

[88] : Hypromellose, in *PHARMACOPEE EUROPEENNE* 6ème édition 2008, CONSEIL DE L'EUROPE.

[89]: Grosse, L., *Cellulose derivatives*, in *S.T.P. PHARMA 6 (hors serie)*. 1990.

[90] S. Kamel, N.A., K. Jahangir, S. M. Shah, A. A. El-Gendy, *Pharmaceutical significance of cellulose: A review*, in *eXPRESS Polymer Letters*. 2008.

[91] :Abuchowski, van Es et al. 1977 Abuchowski, A., T. van Es, et al. "Alteration of immunological properties of bovine serum albumin by covalent attachment of polyethylene glycol " *J Biol Chem* 252(11): 3578-81(1977)

[92] : Leroux, De Jaeghere et al.1995 Leroux, J. C., F. De Jaeghere, et al. "An investigation on the role of plasma and serum opsonins on the internalization of biodegradable poly(D,L-lactic acid) nanoparticles by human monocytes " *Life Sci* 57(7): 695-703. (1995).

[93]: L. Szabó et al. / *Journal of Molecular Structure* 924–926 (2009) .

[94] : Bruno JEAN, « Un polymère thermosensible à l'interface eau-air : Interaction avec les tensioactifs et stabilisation de films minces », thèse de Doctorat de l'université Paris 6, 2000.

[95] : P, Wehrlé, *Pharmacie galénique, formulation et technologie pharmaceutique*, Edition Maloine, Paris, 2007.

[96]: Doelker E., *Cinétique et mécanismes de la libération contrôlée à partir des systèmes polymériques*, dans *Formes pharmaceutiques nouvelles:aspects technologique, biopharmaceutique et médical*, P. Buri. F. Puisieux, E. Dolker et J.P. Benoit (Eds.), *Technique et Documentation (Lavoisier)*, Paris, (1985)

[97]: Jung T, Kamm W, Breitenbach A, et al. Biodegradable nanoparticles for oral delivery of peptides : is there a role for polymers to affect mucosal uptake? Eur J Pharm Biopharm 2000.

[98] : Bravo-Osuna I, Vauthier C, Farabollini A, et al. Mucoadhesion mechanism of chitosan and thiolated chitosan-poly(isobutyl cyanoacrylate) coreshell nanoparticles. Biomaterials 2007.

[99]: Bertholon I, Ponchel G, Labarre D, et al. Bioadhesive properties of poly(alkylcyanoacrylate) nanoparticles coated with polysaccharide. J Nanosci Nanotechnol 2006.

[100]: Park K, Robinson JR. Bioadhesive polymers as platforms for oralcontrolled drug delivery : method to study bioadhesion. Int J Pharm 1984.

[101] : Ponchel G, Montisci MJ, Dembri A, et al. Mucoadhesion of colloidal particulate systems in the gastro-intestinal tract. Eur J Pharm Biopharm 1997.

[102]: Bernkop-Schnürch A. Thiomers : a new generation of mucoadhesive polymers. Adv Drug Deliv Rev 2005.

[103]: Fukumori Y., Yamaoka Y., Ichikawa H., Takeuchi Y., Fukuda T. & Osako Y., 1988, Coating of pharmaceutical powders by fluidized-bed process. IV. Softening temperature of acrylic copolymers and its relation to film-formation in aqueous coating, Chem. Pharm. Bull.

[104]: Lehmann K., 1996, Practical Course in Film Coating of Pharmaceutical Dosage Forms with Eudragit®, Rohm® Pharma

[105]: Kiil S., Dam-Johansen K., 2003, Controlled drug delivery from swellable hydroxypropylmethylcellulose matrices: model-based analysis of observed radial front movements, J. Control. Release.

[106]: Colombo P., Santi P., Bettini R., Brazel C.S., 2000, Drug Release from Swelling-Controlled Systems, Drugs and the Pharmaceutical Sciences : Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology, Ed. D.L. Wise, Marcel Dekker, New York.

[107]: Lee P.I., Peppas N.A., 1987, Prediction of polymer dissolution in swellable controlledrelease systems, J. Control. Release .

[108]: Harland R.S., Gazzaniga A., Sangalli M.E., Colombo P., Peppas N.A., 1988, Drug/polymer matrix swelling and dissolution, Pharm.

[109]: Ferrero Rodriguez C., Bruneau N., Barra J., Alfonso D., Doelker E., 2000, In : Hydrophilic Cellulose Derivatives as Drug Delivery Carriers, Drugs and the Pharmaceutical Sciences : Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology, Ed. D.L. Wise, Marcel Dekker, New York.

[110]: Coombes, A. G., Tasker, S., Lindblad, M., Holmgren, J., Hoste, K., Toncheva, V., Schacht, E., Davies, M. C., Illum, L. & Davis, S.S. "Biodegradable polymeric microparticles for drug delivery and vaccine formulation: the surface attachment of hydrophilic species using the concept of poly(ethylene glycol) anchoring segments". Biomaterials. (1997).

[111]: Klose, D., Siepmann, F., Elkharraz, K., Krenzlin, S. & Siepmann, J. "How porosity and size affect the drug release mechanisms from PLGA-based microparticles". *International journal of pharmaceutics*, 314, 198-206. (2006).

[112]: Yang Y.Y., Chung T.S., Ping Ng N. "Morphology, drug distribution and in vitro release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method", *Biomaterials*, 22, 231-241.(2001).

[113]: Mehta K.A., Serpil Kislalioglu M., Phuapradit W., Waseem Malick A., Shah N.H. "Effect of formulation and process variables on porosity parameters and release rates from a multi unit erosion matrix of a poorly soluble drug", *J. Control. Release*, 63, 201-211. (2000).

[114]: Veith S.R., Hughes E., Vuataz G., Pratsinis E. "Restricted diffusion in silica particles measured by pulsed field gradient NMR", *J. Colloid and Interf. Sci.*, 274, 216-228. (2004).

[115]: Sant S., Nadeau V., Hildgen P. "Effect of porosity on the release kinetics of propafenone-loaded PEG-g- PLA nanoparticles", *J. Control. Release*, 107, 203-214. (2005).

[116]: Lemaire V., Bélair J., Hildgen P. "Structural modelling of drug release from biodegradable porous matrices based on a combined diffusion/erosion process", *Int. J. Pharm.*, 258, 95-107. (2003).

[117]: Rosca I.D., Watari F., Uo M. "Microparticle formation and its mechanism in single and double emulsion solvent evaporation", *J. Control. Rel.*, 99, 271-280. (2004).

[118]: Sant S., Nadeau V., Hildgen P. "Effect of porosity on the release kinetics of propafenone-loaded PEG-g- PLA nanoparticles", *J. Control. Release*, 107, 203-214. (2005).