

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université a. Mira de Bejaia

Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés
Laboratoire des Matériaux Organiques



Mémoire
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
Master
Option : Génie Pharmaceutique

Présenté par

AMAOUZ CELIA & AITOUT SORAYA

Thème

*Microencapsulation d'un Antihypertenseur «Hydrochlorothiazide»
à l'aide d'un polymère biodégradable «Poly Acide Lactique (PLA)»*

Soutenue en Juillet 2022

Devant le jury composé de :

REZGUI Farouk

Président du jury

Université de Bejaia

BELHADJ Nadra

Examinatrice

Université de Bejaia

BOUCHAL Fatiha

Promotrice

Université de Bejaia

CHABANE Ahmed

Co-Promoteur

Usine Antibiotical Medea /Saidal

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

Nos profonds remerciements s'adressent au bon dieu qui nous a donné la force, le courage, la patience et la volonté pour réaliser ce modeste travail.

Nous tenons à remercier en premier lieu, notre promotrice Dr BOUCHAL Fatiha qui a veillé sur la réalisation de ce travail du début jusqu'à la fin, pour l'aide qu'elle nous a apporté, pour son exigence intellectuelle, sa patience, son soutien et sa disponibilité.

Nous exprimons nos profonds remerciements à notre Co-promoteur Mr CHABANE Ahmed d'avoir Co-encadré ce travail et pour son exigence intellectuelle, ses encouragements continuels, sa patience et sa disponibilité.

Nos vifs et chaleureux remerciements s'adressent aux membres de Jury

Professeur REZGUI Farouk en qualité du Président de jury

Docteur BELHADJ Nadra en qualité d'examinatrice

Un grand remerciement à tous les membres du laboratoire de contrôle qualité de l'usine Antibiotical Medea / groupe Sidal

Nous exprimons aussi nos remerciements au chef du département M' FATMI ainsi qu'à tous les membres du département de génie des procédés.

Nous ne pouvons pas oublier de remercier tous les membres de nos familles pour leur soutien et leurs encouragements.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes parents

*En témoignage de l'Amour, du respect et de la Gratitude
que je leur porte.*

*Pour leur Soutien et leur Aide qu'ils m'ont apporté
durant mes années d'études.*

*Qui m'ont toujours soutenue et encouragée à suivre
les chemins que je désirais*

*Jamais je ne les remercierai assez de m'avoir donné le meilleur
d'eux-mêmes.*

A ma très chère sœur et son mari : Newal et Lyes

A mes frères : Djamel et Koceila

A mes chères nièces Lyna, Aya, Jana

A mes chers ami(e)

A ma binôme et meilleure amie Soraya

A mes collègues de la promotion du génie pharmaceutique.

A toute personne que j'aime.

Célia

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail

*A mon père en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le
tout puissant, le préserver et l'accorder santé et prospérité.*

*A ma mère: qu'elle trouve ici l'hommage de ma gratitude, si grande
qu'elle puisse être; ne sera à la hauteur de ses sacrifices et ses prières
pour moi.*

*A mes sœurs: Zohra et Celia et mes frères: Nacereddine et rayane à
qui je souhaite beaucoup de réussite et de bonheur.*

A tout la famille Aitout.

A ma binôme et ma meilleure amie: Celia

A mes chères ami (e)s.

A mes collègues de promotion de génie pharmaceutique

A toute personne que j'aime.

Soraya

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction Générale..... 01

Partie théorique

Chapitre I : Les antihypertenseurs

I.1. Introduction.....	04
I.2. Hypertension Artérielle.....	04
I.2.1. Définition.....	04
I.2.2.Types d’hypertension artérielle et leurs causes.....	04
I.2.3. Famille des antihypertenseurs	05
I.3.Hydrochlorothiazide	07
I.3.1.Définition	07
I.3.2.Utilisation médicale	08
I.3.3. Propriétés pharmacodynamiques	08
I.3.4. Propriétés pharmacocinétiques.....	08
I.3.5. Mécanisme d’action	09
I.3.6. Indications et utilisation de l’hydrochlorothiazide.....	10
I.3.3. Effets indésirables	11

Chapitre II : Les polymères biodégradables

II.1..Introduction	14
II.2..Biodégradations des polymères	14
II.3. Propriétés des polymères biodégradables	15
II.4. Classification des polymères biodégradables	16
II.5. Applications des polymères biodégradables.....	17
II.6. Avantages et inconvénients des polymères biodégradables	18
II.7. Poly acide lactique (PLA).....	19

Sommaire

II.7.1. Historique.....	19
II.7.2. Composition chimique de l'acide lactique.....	19
II.7.3. Propriétés du PLA.....	21
II.7.4. Avantages du PLA	21
II.7.5. Dégradation de poly (acide lactique)	22
II.7.6. Application du PLA	22
II.7.7. Processus de libération du PA à partir des systèmes matriciels polymériques...23	

Chapitre III : La micro encapsulation

III.1. Introduction	27
III.2. Historique de l'encapsulation	27
III.3. Définition de l'encapsulation	28
III.4. Objectif de la micro encapsulation	28
III.5. Types de structure des microparticules.	28
III.5.1.Systèmes vésiculaires (Microcapsules)...	29
III.5.2.Systèmes matriciels (Microsphères)...	29
III.6. Préparation de microparticules... ..	30
III.7. Techniques de la micro encapsulation.....	30
III.8. Emulsion.....	32
III.8.1.Définition d'une émulsion... ..	32
III.8.2.Différents type d'émulsion... ..	32
III.9. Applications de la micro encapsulation	34
III.10. Mécanisme de libération du principe actif à partir des microparticules.....	36

Chapitre IV : Caractérisation physico-chimique et biopharmaceutique des microparticules

IV.1. Introduction	42
IV.2. Technique de caractérisation physico-chimique des microparticules	42
IV.2.1. Haute Performance Liquide Chromatographie(HPLC).....	42
IV.2.2. Microscopie optique	43
IV.2.3. Spectroscopie UV-Visible	45
IV.2.4. Spectroscopie IR-TF.....	46
IV.2.5. Spectrométrie Electronique à Balayage	48
IV.3. Technique de caractérisation biopharmaceutique des microparticules.....	49

Sommaire

Partie expérimentale

Chapitre V : Matériel et méthodes

Objectif.....	52
V.1. Matières premières et matériel utilisés... ..	52
V.1.1. Matières premières.....	52
V.1.2. Appareillage.....	56
V.1.3. Verrerie et petit matériel de laboratoire.....	57
V.2. Méthode de préparation des microparticules.....	58
V.3. Caractérisation des microparticules	59
V.3.1. Microscopie optique... ..	59
V.3.2.Spectrophotométrie infrarouge (RT-TF)	60
V.3.3.Chromatographie liquide à haute performance (HPLC).....	60
V.3.4. Spectrophotométrie UV-Visible	63
V.3.5. Réalisation du test de dissolution	65
V.3.6. Microscopie Electronique à Balayage (MEB).....	67

Chapitre VI : Résultats et discussion

VI.1. Taux d'encapsulation	69
VI.2. Caractérisation par microscopie optique des microsphères formées	71
VI.3. Etude de la cinétique de libération <i>in vitro</i> des microparticules.	73
VI.4. Caractérisation par Microscopie Electronique à Balayage (MEB)	75
VI.5. Caractérisation des microparticules par Spectroscopie Infrarouge.....	76

Références bibliographiques

<i>Conclusion générale</i>	82
----------------------------------	----

Annexes

Sommaire

Liste des figures

Chapitre I: Les antihypertenseurs

Figure I.1: Structure de l'Hydrochlorothiazide.....	07
Figure I.2: Mécanisme d'action d'HCTZ.....	09

Chapitre II: Les polymères biodégradables

Figure II.1: Classement des polymères biodégradables.....	16
Figure II.2: Stéréo-isomères de l'acide lactique.....	20
Figure II.3: Les trois isomères du lactide.....	20
Figure II.4: Obtention du PLA à partir du lactide.....	21

Chapitre III: La microencapsulation

Figure III.1: Représentation schématique des différents types de microparticules.....	29
Figure III.2: Représentation des différents types d'émulsion	33
Figure III.3: Représentation schématique de processus d'émulsion.....	34
Figure III.4: Schéma des deux différents types de libération pour les microparticules.....	37

Chapitre IV: Caractérisation physico chimique et biopharmaceutique des microparticules

Figure IV.1: Schéma de principe actif de HPLC.....	43
Figure IV.2: Principe de microscopie optique.....	44
Figure IV.3: Schéma représentant d'une radiation à travers la cuve.....	45
Figure IV.4: Schéma de principe du spectromètre UV-Visible.....	46
Figure IV.5: Schéma de principe de spectrophotomètre IR-TF.....	47
Figure IV.6 : Schéma du principe de la microscopie MEB.....	48

Liste des figures

Chapitre VI: Résultats et discussion

Figure VI.1: Courbe d'étalonnage d'hydrochlorothiazid (HPLC).....	69
Figure VI.2 : Longueur d'onde maximale d'absorption d'hydrochlorothiazide.....	73
Figure VI.3 : Courbe d'étalonnage des solutions standard dosées par UV-Visible.....	73
Figure VI.4: Profil de libération en absence de PVPK30.....	73
Figure VI.5: Profil de libération en présence de PVPK30.....	73
Figure VI.6: Micrographie par MEB d'hydrochlorothiazide... ..	75
Figure VI.7: Micrographie par MEB des microsphères de la formulation H3.....	75
Figure VI.8: Spectre IR-TF d'Hydrochlorothiazide.....	76
Figure VI.9: Spectre IR-TF PVPK30.....	77
Figure VI.10: Spectre IR-TF du PLA.....	78
Figure VI.11: Spectre IR-TF de la formulation H3.....	79

Liste des tableaux

Chapitre III: La micro encapsulation

Tableau III.1: Classification des techniques d'encapsulation selon la nature du procédé....	31
Tableau III.2: Application de la microencapsulation dans l'industrie.....	35

Chapitre V: Matériels et Méthodes

Tableau V.1: Propriétés physicochimiques d'hydrochlorothiazide.....	53
Tableau V.2: Propriétés physicochimiques du poly acide lactique.....	54
Tableau V.3: Propriétés physicochimiques du poly vinyle pyrrolidone.....	54
Tableau V.4: Propriétés physicochimiques du poly alcool vinylique.....	55
Tableau V.5: Propriétés physicochimiques du dichlorométhane.....	55
Tableau V.6: Propriétés physicochimiques du méthanol.....	56
Tableau V.7: Matrice des essais de formulation.....	59
Tableau V.8: Préparation des solutions standards filles.....	63
Tableau V.9: Données USP pour les solutions tampon phosphate.....	66

Chapitre VI: Résultats et discussion

Tableau VI.1: Résultats expérimentaux du taux d'encapsulation.....	69
Tableau VI.2: Caractérisation des microparticules par microscopie optique.....	71
Tableau VI.3: Principales bandes caractéristiques d'hydrochlorothiazide.....	77
Tableau VI.4: Principales bandes caractéristiques du PVPK30.....	78
Tableau VI.5: Principales bandes caractéristiques du PLA.....	79

Liste des abréviations

- PA:** Principe actif
- ECA:** Enzyme de conversion de l'angiotensine
- ARA:** Antagoniste des récepteurs de l'angiotensine
- HTA:** L'hypertension artérielle
- IEC:** Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion
- HCTZ:** Hydrochlorothiazide
- USP:** Unique selling proposition
- PHA:** Polyhydroxylcanoates
- PBAT:** Poly butylène adipate –Co téréphtalate
- PLA:** Poly acide lactique
- PGA:** Polyglycolides
- PLGA:** Polylactides-co-glicolides
- PVA:** Polyalcool vinylique
- PVP:** Poly vinyle pyrrolidone
- (E/H)/ O/W:** (water/oil)
- (H/E)/ O/W:** (oil/water)
- DCM:** Dichlorométhane
- NaOH:** Hydroxyde de Sodium
- KH₂PO₄:** Phosphate de potassium monobasique
- HPLC:** High Performance Liquide Chromatographie
- IR-TF:** Infrarouge à Transformée de Fourier
- MEB:** Microscopie électronique à balayage
- UV-Visible:** Ultraviolet Visible
- TE (%):**Taux d'encapsulation
- Tr/min:** Tours/minutes
- μM:** Micromètre

Le marché du médicament ne cesse de connaître un grand essor motivant les industriels à multiplier les gammes des produits pharmaceutiques afin d'une part d'augmenter leur bénéfice et d'autre part, de répondre à la demande des patients [1].

Parmi les médicaments connus pour traiter les maladies chroniques et ayant prouvé leur efficacité thérapeutique, figurent les antihypertenseurs [1].

A cause des conséquences directes de l'hypertension artérielle, telles que l'hémorragie cérébrale, l'insuffisance cardiaque hypertensive et l'insuffisance rénale progressive, l'hypertension devient un problème clinique majeur dans le monde entier. Dans les pays développés, les maladies cardiaques sont les premières et les troisièmes causes de morbidité et de mortalité, respectivement [2].

L'Hydrochlorothiazide est l'un des diurétiques, considéré comme le médicament de premier choix dans le traitement de l'hypertension [3].

L'encapsulation présente un intérêt particulier pour ces différentes problématiques, ce qui fait qu'actuellement de plus en plus d'industries pharmaceutiques visent à encapsuler selon un procédé déterminé, un nombre important de principes actifs dans une autre matière inactive (matrice) pour une amélioration des propriétés de conservation, de présentation et de biodisponibilité [4].

Il existe une énorme gamme des polymères capable de transporter des principes actifs et de réguler leur libération dans le temps [5]. Le choix des polymères d'encapsulation dépend d'un certain nombre de facteurs tels que l'objectif et les conditions de l'utilisation du produit; la nature de polymère; le procédé d'encapsulation et le coût d'utilisation [6].

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail de recherche expérimentale portant sur la microencapsulation d'un antihypertenseur ; l'Hydrochlorothiazide à l'aide d'un polymère biocompatible, biodégradable le Poly Acide Lactique (PLA) en utilisant la technique d'évaporation de solvant. La cinétique de libération des microsphères du PLA contenant l'hydrochlorothiazide sont testées *in vitro* a été étudiée dans un milieu physiologique.

A cet effet, nous proposerons de suivre le plan d'étude suivant:

- Une partie bibliographique divisée en quatre chapitres :
 - Le premier chapitre, donne un aperçu sur les antihypertenseurs et le principe actif «Hydrochlorothiazide» ;
 - Le deuxième chapitre expose une recherche bibliographique sur les polymères biodégradables ;
 - Le troisième chapitre comporte une synthèse bibliographique sur le principe de l'encapsulation ainsi que les différents procédés utilisés ;
 - Le dernier chapitre, donne un aperçu sur les techniques de caractérisation physicochimique et biopharmaceutique des microparticules.

- Une deuxième partie constituée de deux chapitres expérimentaux :
 - Matériel utilisé et les méthodes de préparation et de caractérisation appliquées ;
 - Observation et discussion des résultats obtenus.

Enfin, une conclusion générale qui résume les résultats essentiels obtenus lors de notre travail expérimental.

Références bibliographiques

[1]: S/MERSELLAB, H/ANGOUD, «Contrôle physico-chimique, microbiologique et toxicologique d'une solution injectable Clofenal 75mg/3ml», mémoire de master, Université de Djilali Bounama, 2015.

[2]: Zappe D., Papst C.C. Ferbe P.R. (2009). Study to compare valsartan, HCTZ versus amlodipine, HCTZ strategies to maximize blood pressure control. *Vas. Health Risk Manag.*5, 883-892.

[3]: Shah S., Ibrahim khatri M.D., Edward M.D. D., Freis M.D. (1978). Mechanism of antihypertensive effect of thiazide diuretics. *American heart journal.*95, 611-618.

[4]: Yahia Nafti, « Contribution à l'étude de la cinétique de libération d'un principe actif : oxacilline sodique encapsulé en vue de déterminer les conditions de conservation », Université Ziane Achour de Djelfa - Ingénieur d'état en Biologie- Option, 2008.

[5]: A.Gallos, « Polylactides stéréocomposés et ignifugés: élaboration extrusion réactives et caractérisation», Thèse de doctorat, Université Lille 1, 2011.

[6]: M. LI, O. Rouaud, D. Poncelet, «Microencapsulation by solvent evaporation state of art for process engineering approaches», *international journal of pharmaceutics*, 363, 26-39.2008.

I.1. Introduction

A cause des conséquences directes de l'hypertension artérielle, telles que l'hémorragie cérébrale, l'insuffisance cardiaque hypertensive et l'insuffisance rénale progressive, l'hypertension devient un problème clinique majeur dans le monde entier. Dans les pays développés, les maladies cardiaques et les accidents vasculaires cérébraux sont les premières et les troisièmes causes de morbidité et de mortalité, respectivement.

Le traitement pharmacologique de l'hypertension consiste à administrer des médicaments, y compris des diurétiques, des bêtabloquants, des inhibiteurs calciques, des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA) et des antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (ARA) [1, 2, 3, 4].

I.2. Hypertension Artérielle (HTA)

L'hypertension artérielle (HTA) est une pathologie cardiovasculaire définie par une pression artérielle trop élevée. Souvent multifactorielle, l'HTA peut être aiguë ou chronique, avec ou sans signes de gravité.

I.2.1. Définition de l'hypertension artérielle

L'hypertension artérielle (tension) se caractérise, comme son nom l'indique, par une tension ou une pression trop élevée dans les artères. Cette élévation anormale de la pression est souvent permanente.

En fait, la tension artérielle est déterminée par la quantité de sang pompée et par la force de résistance du flux sanguin dans les artères. Si le cœur doit pomper plus de sang et plus les artères sont étroites alors plus la tension est élevée (risque d'hypertension). Il faut plus considérer l'HTA comme un facteur de risque cardiovasculaire que comme une maladie en soi. L'hypertension, appelée aussi le tueur silencieux car il n'y a en général aucun symptôme, peut entraîner infarctus, une attaque cérébrale insuffisance rénale [5].

I.2.2. Types d'hypertension artérielle et leurs causes**A. Hypertension primaire**

L'hypertension primaire (ou « essentielle ») représente environ 90% [6] des cas. Elle est causée par une multitude de facteurs dont les effets s'accumulent avec les années. Les principaux sont liés à l'âge, à l'hérédité (surtout pour les hommes) et aux habitudes de vie. Ainsi, l'obésité, la sédentarité, le tabagisme, l'abus d'alcool et le stress contribuent à l'hypertension artérielle. Ce type d'hypertension apparaît le plus souvent graduellement à partir de 50 ans, mais peut aussi survenir avant cet âge.

Une forte consommation de sel est également associée à une élévation de la pression artérielle. Or, selon une enquête menée par Statistique Canada, plus de 85% des hommes et 60% des femmes ont un apport en sel ou sodium qui dépasse la limite supérieure recommandée de 2300 mg par jour [7].

B. Hypertension secondaire

L'hypertension secondaire peut résulter d'un autre problème de santé, comme un problème rénal ou endocrinien ou une anomalie congénitale de l'aorte. Elle peut aussi provenir de l'usage fréquent de certains médicaments, par exemple les anti-inflammatoires, qui créent une rétention d'eau et de sel, les bronchodilatateurs, qui ont un effet stimulant sur le cœur et les décongestionnants nasaux, en raison de l'éphédrine qu'ils contiennent (une substance dont l'effet ressemble à celui de l'adrénaline sécrétée en situation de stress) [8]. Elle peut aussi provenir de la consommation de drogues illégales, telle la cocaïne et les amphétamines. L'hypertension secondaire apparaît plus soudainement et la tension artérielle est souvent plus élevée.

I.2.3. Familles des antihypertenseurs

Le traitement de l'hypertension artérielle fait appel à plusieurs familles de médicaments et dont quelques classes d'antihypertenseurs ont montré leur efficacité dans la prévention contre les accidents cardiovasculaires, on distingue les diurétiques, les bêtabloquants, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion(IEC), les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II et les inhibiteurs calciques [9].

a) Les diurétiques

Les diurétiques ou les thiazidiques considérés comme les anciens médicaments contre l'hypertension sont des médicaments natriurétiques, c'est-à-dire qui accélèrent l'élimination rénale du sodium (généralement en inhibant la réabsorption de cet ion) et entraînent à sa suite celle de l'eau par un mécanisme osmotique. Considérés comme le traitement idéal pour les personnes sans diabète et sans atteinte cardiovasculaire, il existe différents types de diurétique, la différenciation repose sur leurs sites d'action respectifs. Ainsi on distingue [9] :

- Les diurétiques de l'anse ;
- Les diurétiques thiazidiques ;
- Les diurétiques épargneurs de potassium.

b) Les bêtabloquants

Ces médicaments s'opposent à la stimulation du système sympathique en bloquant les récepteurs beta-adrénérique. Au niveau cardiaque, le blocage des récepteurs β entraîne une baisse de la fréquence cardiaque, donc de la pression artérielle. Au niveau rénal, le blocage des récepteurs β de l'appareil juxta-glomérulaire entraîne une diminution de la sécrétion de rénine ; il s'ensuit une baisse du taux d'angiotensine II et d'aldostérone, ce qui amène une baisse de la pression artérielle [9].

c) Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion(IEC)

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion bloquent la production d'une hormone produite par les reins désignés par le terme d'angiotensine, qui favorise la contraction des vaisseaux. Prescrits pour des personnes hypertendues atteintes également des troubles cardiaques [9].

d) Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II

Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II sont une nouvelle classe de substances qui inhibent le système rénine-angiotensine mais par un mécanisme différent de celui de l'inhibiteur de l'enzyme de conversion d'angiotensine. Ils agissent par antagonisme au niveau des récepteurs de l'angiotensine II. Ils inhibent donc l'effet vasoconstricteur de l'angiotensine II exogène et préviennent la sécrétion d'aldostérone induit par ce peptide [10].

e) Les inhibiteurs calciques

Les inhibiteurs calciques bloquent les canaux calciques lents et empêchent donc l'entrée de calcium dans les cellules. Ce blocage s'exerce aux deux niveaux vasculaires et myocardique.

On distingue deux types d'inhibiteurs calciques [9] :

- Le diltiazem et le verapamil ;
- Les dihydropyridines.

I.3. Hydrochlorothiazide

I.3.1. Définition

L'Hydrochlorothiazide, en abrégé HCTZ, HCT, ou HZT (**figure I.1**), est un médicament diurétique de la classe thiazidique qui agit en inhibant la capacité des reins à retenir l'eau. Cela permet de réduire le volume du sang, diminuant le retour du sang vers le cœur et de sortie ainsi cardiaque et par d'autres mécanismes, est soupçonné d'abaisser la résistance vasculaire périphérique.

L'Hydrochlorothiazide est un diurétique épargnant le calcium, ce qui signifie qu'il peut aider le corps à se débarrasser de l'excès d'eau tout en gardant le calcium [11].

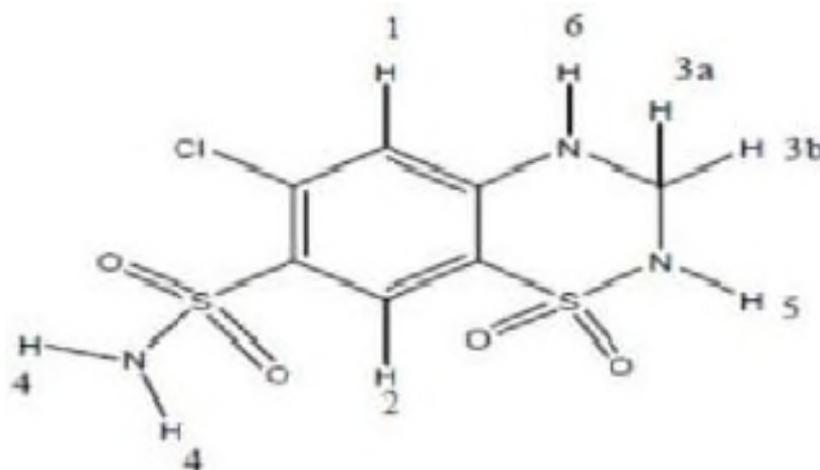


Figure I.1. Structure de l'Hydrochlorothiazide [12]

I.3.2. Utilisation médicale

L'Hydrochlorothiazide est fréquemment utilisé pour le traitement de l'hypertension, de l'insuffisance cardiaque congestive, de l'œdème symptomatique, du diabète insipide, de l'acidose tubulaire rénale et de la prévention des calculs rénaux. Il est aussi parfois utilisé pour la maladie hyper calciurie et la maladie de Ménière. Pour le diabète insipide, l'effet des diurétiques thiazidiques est vrai semblablement méditée par une augmentation de l'hypo volémie induite en sodium proximale et la réabsorption de l'eau [13].

I.3.3. Propriétés pharmacodynamiques

L'hydrochlorothiazide est un diurétique thiazidique qui agit en inhibant la réabsorption du sodium par le tubule au niveau du segment cortical de dilution. Il augmente l'excrétion urinaire du sodium et des chlorures et, à un moindre degré, l'excrétion du potassium et du magnésium, accroissant de la sorte la diurèse et exerçant une action anti hypertensive. Le délai de l'apparition de l'activité diurétique est d'environ 02 heures. Cette activité est maximale au bout de 04 heures et se maintient de 06 à 12 heures.

L'effet thérapeutique des diurétiques thiazidiques reste en plateau au-delà d'une certaine dose, tandis que les effets indésirables continuent d'augmenter : en cas d'inefficacité du traitement, il n'est pas utile, et souvent mal toléré, d'augmenter les doses au-delà des posologies recommandées [14].

I.3.4. Propriétés pharmacocinétiques**a) Absorption**

La biodisponibilité de l'hydrochlorothiazide varie selon les sujets entre 60 et 80%. Le temps nécessaire pour obtenir le pic plasmatique (T_{max}) varie entre 1,5 et 05 heures, la moyenne se situant aux environs de 04 heures.

b) Distribution

La liaison aux protéines plasmatiques est de 40% .La demi-vie est très variable d'un sujet à un autre : elle est comprise entre 06 et 25 heures.

c) Elimination

La clairance rénale représente 90% de la clairance totale. Le pourcentage de produit inchangé retrouvé dans les urines est de 95%. Chez les insuffisants rénaux et cardiaques, la clairance rénale de l'hydrochlorothiazide est diminuée, et la demi-vie d'élimination augmentée. Il en est de même chez les sujets âgés, avec en outre une augmentation de la concentration plasmatique maximale. Il existe un passage dans le placenta et le lait maternel [14].

I.3.5. Mécanisme d'action

L'hydrochlorothiazide est un diurétique thiazidique. En inhibant le Co-transport Na^+ Cl^- au niveau du tubule contourné distal, il permet de diminuer la réabsorption du sodium et de faciliter celle du calcium. Ainsi, il augmente l'excrétion urinaire du sodium, et accroît-la diurèse [15].

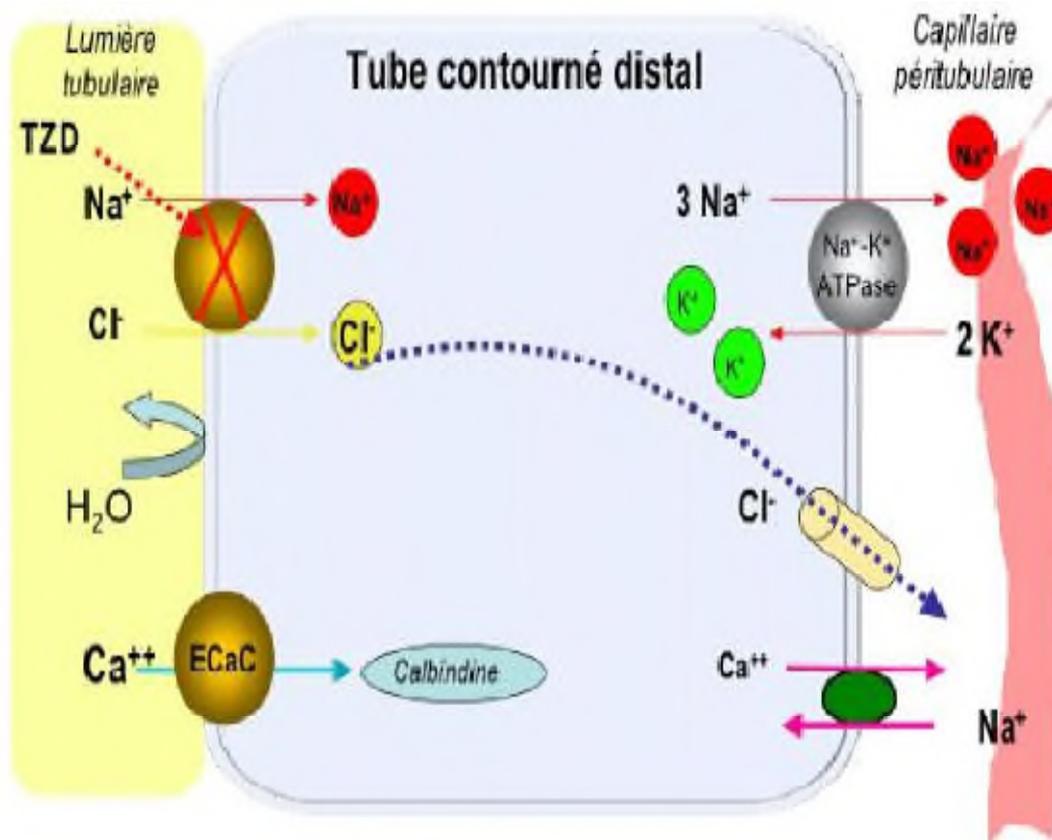


Figure I.2 : Mécanisme d'action d' HCTZ [15]

a. Pharmacologie clinique

Le mécanisme de l'effet antihypertenseur des thiazides est inconnu, l'hydrochlorothiazide n'a généralement pas d'effet sur la tension artérielle normale. L'hydrochlorothiazide affecte le mécanisme tubulaire rénal distal de la réabsorption d'électrolytes. A la dose thérapeutique maximale, tous les thiazides ont une efficacité diurétique à peu près égale [16].

L'Hydrochlorothiazide augmente l'excrétion de sodium et de chlorure en quantités approximativement équivalentes. La natriurèse peut s'accompagner d'une perte de potassium et de bicarbonate. Après une prise orale, la diurèse commence dans les 2 heures, atteint son maximum en 04 heures environ et dure environ 06 à 12 heures.

b. Pharmacocinétique et métabolisme

L'hydrochlorothiazide n'est pas métabolisé mais est éliminé rapidement par le rein. Lorsque les taux plasmatique ont été suivi pendant ou moins 24 heures, il a été observé que la demi-vie plasmatique varie entre 5,6 et 14,8 heures. Au moins 61% de la dose orale est éliminée inchangée dans les 24 heures. L'hydrochlorothiazide traverse la barrière placentaire mais pas la barrière hémato-encéphalique et est excrété dans le lait maternel [16].

I.3.6. Indications et utilisation de l'Hydrochlorothiazide

Les comprimés d'hydrochlorothiazide, USP, sont indiqués comme traitement d'appoint dans l'œdème associé à l'insuffisance cardiaque congestive, à la cirrhose hépatique et à la corticothérapie et à l'oestrogénothérapie [17, 18].

Les comprimés d'hydrochlorothiazide, USP ont également été trouvés utiles dans l'œdème en raison de diverses formes de dysfonctionnement rénal telles que le syndrome néphrotique, la glomérulonéphrite aiguë et l'insuffisance rénale chronique [17, 18].

Les comprimés d'hydrochlorothiazide, USP sont indiqués dans la prise en charge de l'hypertension soit comme seul agent thérapeutique, soit pour augmenter l'efficacité d'autres médicaments antihypertenseurs dans les formes plus sévères d'hypertension [17, 18].

I.3.7. Effets indésirables

Les effets indésirables de l'hydrochlorothiazide sont résumés ci –dessous [19] :

- Fonction cardiovasculaire : Hypertension orthostatique (pouvant être aggravée par l'alcool, les barbituriques ou les narcotiques) ;
- Système nerveux central : Etourdissements, vertiges, paresthésies, céphalées, xanthopsie ;
- Appareil digestif : Anorexie, irritation gastriques, nausées, vomissements, crampes, diarrhée, constipation, jaunisse (ictère chole statique intra hépatique), pancréatite, Sialadénite ;
- Fonction hématologique : Leucopénie, agranulocytose, thrombocytopénie, hypoplasie médullaire ;
- Hypersensibilité : Purpura, photosensibilité, éruptions cutanées, urticaire, angéite nécrosante (vascularité), fièvre, détresse respiratoire (comprenant la pneumopathie inflammatoire), réactions anaphylactiques ;
- Autres effets : Hyperglycémie, glycosurie, hyper uricémie, spasmes musculaires, faiblesse, agitation, vue temporairement brouillée.

En cas de réaction indésirable modérée ou grave, on doit soit réduire la posologie des thiazides, soit interrompre le traitement.

Références bibliographiques

- [1] : Mr Adade casimire, « bioéquivalence des médicaments générique : excipients, réglementaire et revue des pratiques », thèse de doctorat en pharmacie, 2019.
- [2] : Dj. Kissoum, H. Dahdah, 2011, « Encapsulation de chlorhydrate de metformine par double émulsion et étude de sa cinétique de libération », Mémoire d'ingénieur, Université de bejaia.
- [3]: K. Ankit, S. P. Kumar, B. Arunabha, 2011, <<Microencapsulation as a novel drug delivery system>>, International Pharmaceutique Scientia Vol. 1, Issue 1.
- [4]: N. Agnihotri, R. Mishra, C. Goda, M. Arora, 2012 <<Microencapsulation- A Novel Approach in Drug Delivery>>, Indo Global Journal of pharmaceutical Sciences, ISSN 2249-1023, India.
- [5]: Poulter N.R Prabhakaran, D; Caulfield, M. Hypertension. Lancet. 386 (9995). PP: 801-812. **2015**.
- [6]: Lifton R.P, Gharavi A. G, Geller D.S. Molecular mechanisms of human hypertension». Cell .**104** (4): pp. 545-56. **2001**.
- [7]: Dluhy RG, Williams. Endocrine hypertension. In Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM. Williams textbook of endocrinology .PP.729-749. 1998.
- [8]: Abhyankar L.N, Jones M.R, Guallar E, Navas-Acien, A. Arsenic exposure and hypertension: a systematic review “. Environmental Health Perspectives. 120 (4):pp. 494-500. **2012**.
- [9]: Gouraud A., Généralité sur la pharmacologie et les médicaments, pp : 8-42-43-48. **2012**.
- [10]: Fouteneau J.M, Orecchioni A.M et PAIN j. Galénique, préparateur en pharmacie. Edition Paris, p : 48. **1999**.
- [11] : Durate J.D, C Dehoff. Mechanism for blood pressure lowering and metabolic effects of thiazide and thiazide-like diuretics, RM. Expert Rev Cardiovasc Ther._8 (6), pp: 793-802. **2010**.
- [12]: Drugs. Com-Know More. Be Sure. Available online: <http://www.drugs.com/sfx/hydrochlothiazide-sideeffects.html> (accessed on 21 May 2016).
- [13]: Messerli F.H, Makani H, Benjo A. Antihypertensive efficacy of hydrochlothiazide as evaluated by ambulatory blood pressure monitoring. A meta-analysis of randomized trials. JACC, 57, pp: 590-600. **2011**.

[14]: Sanofi-Aventis. Comprimés d'irbesartan et d'hydrochlorothiazide, .canada, Inc.USP, Vol N°152466.2, 2012.

[15]: Hélène R. (2014). Mise en point d'une suspension buvable d'hydrochlorothiazide, Thèse de doctorat d'état, Université de Poitiers, faculté de médecine et de pharmacie.

[16]: Messerli, Franz, Makani, Harikrishna; Benjo, Alexandre ; Romero, Jorge ; Alviar, Carlos ; Bangalore, Sripal. Antihypertensive Efficacy of hydrochlorothiazide as Evaluated by Ambulatory Blood pressure Monitoring: A Meta-Analysis of Randomized Trials". Journal of the American college of cardiology. 57(5). PP: 590-600. **2011**.

[17]: Pfizer Canada Inc, spironolactone et hydrochlorothiazide, Vol N° 157074, 5, **2010**.

[18]: Moffatt A.C, Osselton M.D, Widdop B. et coll. Clarke's Analysis of drugs and Poisons in Pharmaceuticals, Body Fluids and Postmortem Material, third edition. Pharmaceutical Press, London. P 1109-1110. **2004**.

[19]: Messerli F.H, Makani H, Benjo A. Antihypertensive efficacy of hydrochlorothiazide as evaluated by ambulatory blood pressure monitoring. A meta-analysis of randomized trials. JACC, 57, pp: 590-600. **2011**.

II.1. Introduction

Un polymère est un système formé d'un ensemble de grosses macromolécules, résultant de l'assemblage covalent d'un très grand nombre d'unités qui dérivent d'un ou plusieurs monomères (appelés unités). Autrement dit, ils sont formés d'enchaînements de monomères liés entre eux par des liaisons chimiques. [1]. Les polymères biodégradables sont des matériaux qui sont aptes à subir un processus de décomposition sous forme de dioxyde de carbone, de méthane, d'eau, de composés non organiques ou de biomasse, le tout sous l'action enzymatique des micro-organismes [2].

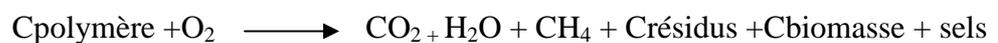
II.2. Biodégradations des polymères

La biodégradation est définie comme la décomposition/dégradation des matériaux organiques par des microorganismes (bactéries enzymes, champignons et algues). Ces matériaux perdent leurs propriétés mécaniques, ils sont modifiés chimiquement et ensuite convertis en H₂O, CO₂ et/ou CH₄, une nouvelle biomasse et éventuellement des résidus [3]. Le processus biochimique est résumé par les équations suivantes (C représente le carbone):

- Conditions aérobiques :



- Conditions anaérobiques :



La biodégradation peut donc avoir lieu en présence ou en absence d'oxygène, en milieu solide ou aqueux. Il existe trois éléments clés indispensable pour la biodégradation [4,5]:

❖ microorganismes

La base de tout processus de biodégradation est l'existence de microorganismes capables de synthétiser les enzymes actives sur le polymère cible, afin d'initier le processus de fragmentation et de minéraliser les monomères et oligomères formés par le processus.

❖ L'environnement

Certains facteurs sont indispensables au processus de biodégradation, comme la température, l'humidité, les sels minéraux, l'oxygène, l'élément le plus significatif étant l'humidité ;

❖ Le substrat

La structure du polymère influence le processus de biodégradation. Ces facteurs structuraux comprennent les liaisons chimiques, le degré d'hydrophobicité, La stéréochimie, la distribution des masses moléculaires, la cristallinité et d'autres aspects morphologiques.

II.3. Propriétés des polymères biodégradables

Les polymères biodégradables présentent des propriétés particulières et intéressantes pour des applications pharmaceutiques et médicales. Parmi ces propriétés, on peut citer ; la biodégradabilité, la biocompatibilité et la biorésorbabilité.

• Biodégradabilité

La biodégradabilité est un processus naturel de décomposition de la matière organique. Elle est due à la présence de liaisons facilement clivables comme les liaisons esters ou amides conduisant à la formation de molécules simples et de fragments de plus petite taille [6].

• Biocompatibilité et biorésorbabilité

Un matériau biocompatible est un matériau qui est capable d'assurer une fonction avec une réponse appropriée et sans effets indésirables sur l'environnement biologique dans lequel il est appelé à fonctionner. En plus de la biocompatibilité, on recherche également pour des applications médicales spécifiques, des matériaux bio résorbables pouvant se décomposer tout naturellement dans l'organisme humain pour être remplacés après par un tissu vivant [6].

II.4. Classification des polymères biodégradables

Il existe une grande variété de polymères biodégradables selon leur nature chimique, leur mode de production ou leur mécanisme de dégradation. En conséquence, plusieurs classifications ont été établies (figure II.1) [7] :

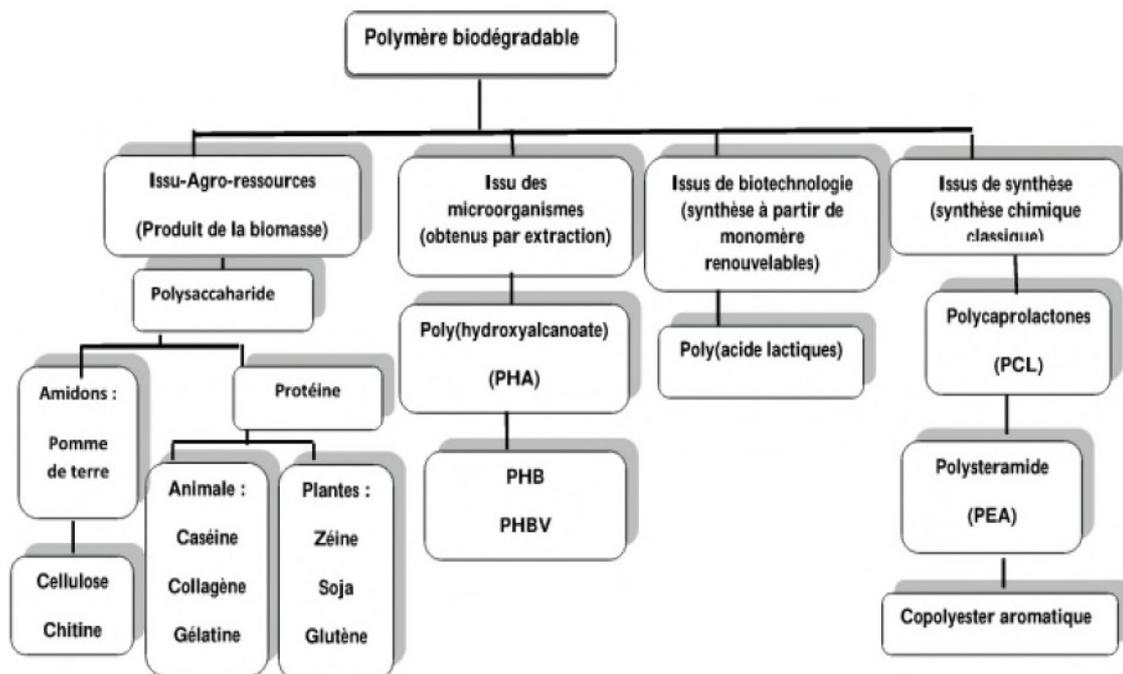


Figure II.1 : Classement des polymères biodégradables [7]

• **Polymères issus de la biomasse**

Ils se forment à l'intérieur des cellules des végétaux par des mécanismes métaboliques complexes. Il s'agit principalement des polysaccharides (amidon, cellulose, chitine...) et des protéines (collagène, gélatine...). Ces polymères sont très abondants dans la nature et leur coût reste modéré [8].

• **Polymères produits par des micro-organismes**

Ils sont synthétisés par fermentation de matières premières d'origines naturelles, puis excrétés ou stockés organismes. Il s'agit principalement de la famille des polyhydroxyalcanoates (PHA) [9].

- **Polymères issus de la biotechnologie**

Ce sont des polymères dont le monomère est produit par des bactéries. Une fois le monomère extrait, le polymère est synthétisé par voie chimique classique. On citera à titre d'exemple un polymère issu de la biotechnologie, le polyacide lactique est obtenu par polymérisation de l'acide lactique, lui-même obtenu par fermentation du glucose [10].

- **Polymères issus de la synthèse classique**

Ils sont obtenus conventionnellement par synthèse chimique de produits issus de ressources fossiles (pétrole). Parmi eux, on citera à titre d'exemple le poly (butylène adipate-co-téréphtalate) (PBAT) qui est un copolymère statistique semi-cristallin [10,11].

II.5. Applications des polymères biodégradables

Trois grands créneaux d'applications sont identifiés par rapport aux propriétés des biopolymères : la médecine, l'agriculture et les emballages [12].

- **En médecine et pharmacie**

Plusieurs types des biopolymères sont actuellement employés dans le domaine médical. Dans ce domaine, les polyesters de synthèse tels que les polyacides (PLA) et les polyglycolides (PGA) ainsi que leurs copolymères polyacides-Co-glycolides (PLGA) sont connus et utilisés pour les fils de suture et les implants médicaux. Ces biopolymères sont bien tolérés et ne présentent aucune toxicité pour l'organisme [13]. D'autres biopolymères comme les polyhydroxyalcanoates (PHA), la cellulose ou les polyacides aminés conviennent également pour les applications Médicales [7, 12, 14].

- **En agriculture**

En agriculture, la propriété de biodégradabilité des biopolymères est essentielle dans les applications [15]. Dans ce domaine, les films de paillage à base de biopolymères s'imposent progressivement en remplacement aux paillis en polymères conventionnels. Leur fonction principale est de réduire l'évaporation de l'eau et d'accroître la température du sol pour favoriser la croissance des jeunes plantes au printemps.

Des travaux d'enlèvement, de nettoyage et de traitement des déchets plastiques sont dès lors indispensables par la suite. Ainsi les paillis en polymères biodégradables évitent le ramassage et le traitement des déchets puisqu'ils se dégradent in situ. Des gains économiques et environnementaux évidents sont obtenus. Par ailleurs, leur biodégradation rapide évite l'incinération habituelle des films de paillage conventionnels, productrice d'éléments toxiques dans l'environnement et le coût de main-d'œuvre. Une autre application intéressante repose sur la production des bandes d'ensemencement. Il s'agit de bandes qui contiennent les semences réparties régulièrement ainsi que des nutriments. Elles se biodégradent dans le sol au fur et à mesure que les semences germent et s'enracinent. En agriculture marine, les biopolymères sont employés pour confectionner les cordes et les filets de pêche. Ils sont également utilisés comme supports pour les cultures marines [16].

- **En emballage**

Dans le domaine de la vie courante, le secteur de l'emballage est un autre créneau important pour le marché des polymères biodégradables. Ces derniers apportent une solution aux problèmes de déchets mais nécessitent toutefois la mise en place d'une filière de gestion de déchets adéquate à ce type de produits. Ainsi l'organisation d'une filière de compostage est indispensable pour assurer une valorisation optimale de ces emballages biodégradables. Outre leur biodégradabilité, les biopolymères présentent d'autres propriétés intéressantes pour les applications dans le domaine de l'emballage. A part leur fonction première de protection des produits, les biopolymères offrent aux emballages d'autres fonctions grâce à leurs propriétés intrinsèques [17].

II.6. Avantages et inconvénients des polymères biodégradables

Les principaux avantages des polymères biodégradables sont comme suit [18] :

- Neutralité en termes de cycle CO₂ ;
- Gestion de fin de vie facilitée par le compostage ;
- Panel varié de biopolymères disponibles ;
- Issus de ressources abondamment renouvelables ;
- Transformables par les processus traditionnels (extrusion, extrusion gonflage, injection, thermoformage) ; Haute valeur ajoutée

Les inconvénients des polymères biodégradables sont comme suit [18] :

- Prix de vente élevé (coût et faible production) ;
- Propriétés physiques parfois limitées ;
- Flou normatif et législatif concernant la notion de biodégradabilité (secteur du polymère peu structuré internationalement) ;
- Compostage industriel des déchets bio-polymériques peu développé ;
- L'inconvénient majeur de ces bio polymères est leur coût de revient élevé,avoisinant 7,5 €/kg.

II.7. Poly acide lactique (PLA)

II.7.1.Historique

Comme son nom l'indique, c'est dans le lait que, en 1780, Carl Wilhelm Scheele a trouvé un acide qu'il a séparé en cristallisant un sel de calcium. Scheele avait découvert « l'acide lactique » mais il pensait avoir trouvé un composant du lait et non un produit de fermentation du lait. L'acide lactique a été ainsi employé pendant des siècles comme conservateur dans beaucoup de produits alimentaires [19].

II.7.2. Composition chimique de l'acide lactique

L'acide lactique, monomère du PLA, est un acide carboxylique hydroxylé de formule ($C_3H_6O_3$). L'atome de carbone 2 portant le groupe hydroxyle est asymétrique rendant la molécule d'acide lactique chirale. Il se présente donc se forme de deux énantiomères (**Figure II. 2**) [20]:

- D- (-)-acide lactique ou (R) -acide lactique (R pour « Rectus »);
- L-(+)-acide lactique ou (S)-acide lactique (S pour « Sinister »).

Ces deux énantiomères sont représentés sur la **figure II.2** ci-dessous, tel que, le L- lactide à gauche et le D-lactide à droite.

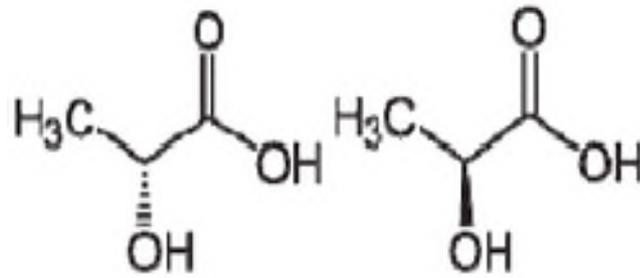


Figure II.2 : Stéréo – isomères de l'acide lactique [20].

Selon la dimérisation (condensation de deux unités monomère), trois configurations différentes peuvent être observées : LL (L-lactide), DD (D-lactide) ou LD (mésos) qui est sans activité optique, voir la figure II.3 [21].

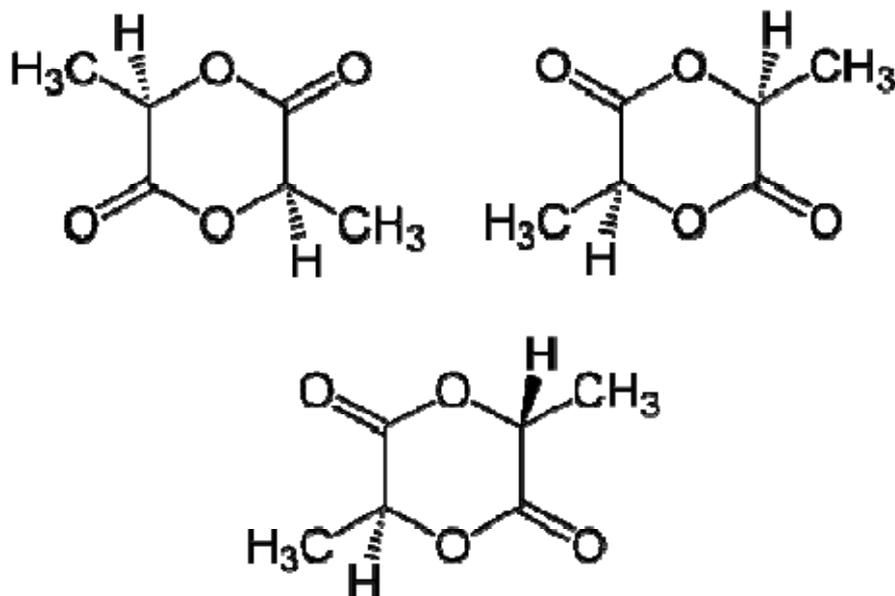


Figure II.3 : Les trois isomères du lactide [20]

Après l'obtention de l'acide lactique, des réactions nécessaires sont utilisés afin de polymériser le monomère. Le polymère, ainsi formé, a une masse moléculaire importante et peut être utilisé comme matière plastique [22]. La réaction de polymérisation est représentée sur la figure II.4.

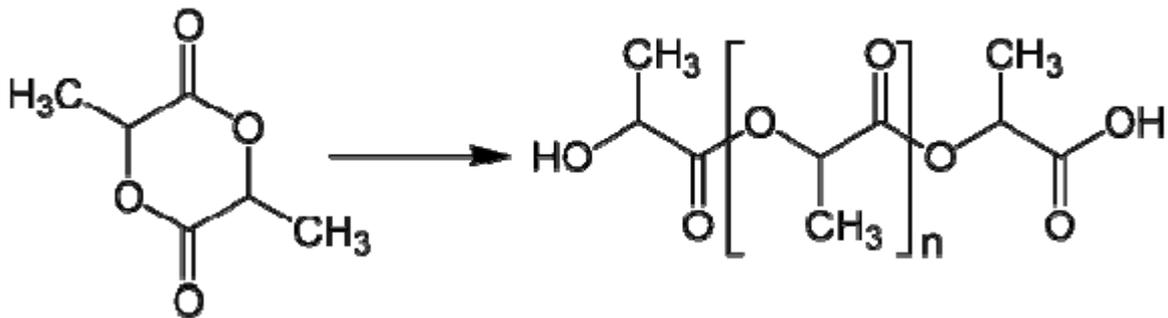


Figure II.4 : Obtention du PLA à partir du lactide [20].

II.7.3. Propriétés du PLA

Le poly (acide lactique) (PLA) est apparu comme un biopolymère très prometteur utilisé seul ou en copolymère dans divers domaines d'application à savoir la médecine, l'agriculture et l'emballage...etc.

Le poly (acide lactique) est un polyester aliphatique thermoplastique dérivé 100% de ressources renouvelables tel le maïs. Grâce à sa durabilité, sa biodégradabilité, sa transparence et ses propriétés mécaniques, la production du PLA n'a cessé de croître [23].

Cependant, il faudra tout de même attendre la fin des années 1990 Pour que les industriels tirent réellement profit des propriétés de ce polymère [24].

II.7.4. Avantages du PLA

Le PLA présente l'avantage d'être « renouvelable, biodégradable, recyclable, compostable et biocompatible », ainsi que d'autres propriétés avantageuses, telles que [20 ,22] :

- une rigidité importante ;
- très bonnes propriétés barrière aux graisses, aux huiles et aux arômes ;
- Un bon niveau de perméabilité à la vapeur d'eau (respirabilité) ;
- Une bonne rétention au pli ;

Tout de même, le PLA présente quelques inconvénients, tels que [25, 26] :

- Il n'est pas approprié à l'emballage des liquides carbonatés du a sa faible barrière à l'oxygène O₂, a la vapeur d'eau ainsi qu'au dioxyde de carbone (CO₂);
- Faible résistance thermique (58°C), peu de souplesse.

II.7.5. Dégradation de poly (acide lactique)

La dégradation normale de ce polymère résulte d'une simple hydrolyse à pH neutre, sans avoir recours à des enzymes. Selon la composition du polymère, la taille et l'épaisseur de l'échantillon,

L'hydrolyse peut être terminée en quelques mois à quelques années. Le taux d'hydrolyse dépend bien sur la température, de la quantité de monomère résiduel et d'acide présents. Cette vitesse de dégradation est d'un grand intérêt pour les applications biomédicales et pharmaceutiques [27].

Par thermo dégradation, en présence de microorganismes, dans des conditions d'humidité et de températures adéquates (définies par des normes internationales), le polymère est en partie dégradé généralement à plus de 60% en moins de six mois) [24].

II.7.6. Application de PLA

Les applications du PLA peuvent se diviser en trois catégories [20, 22, 28] :

- Produits domestiques : vêtements, bouteilles, vaisselle jetable, emballages alimentaires, films, cartes de transaction ;
- Produits pharmaceutiques /biomédicaux : fils de suture, peau artificielle, implants orthopédiques ou encore systèmes a libération contrôlée de médicaments ;
- Produits d'ingénierie : applications électrique / électronique, fibres.

Le plus grand producteur mondial de PLA. Nature Works (U.S.A.) produit annuellement 140 000 mégatonnes de PLA. L'entreprise produit principalement des produits utilisés dans : emballages, contenants, vêtements, fibres, etc. L'entreprise Purac (Pays Bas) limite quant à elle sa production au domaine biomédical et pharmaceutique.

II.7.7. Processus de libération du PA à partir des systèmes matriciels polymériques

La libération des principes actifs à partir des systèmes matriciels polymériques biodégradables, se fait par deux phénomènes principaux ; la diffusion des principes actifs dans les matrices et la dégradation des polymères. Plus précisément elle se fait par la pénétration de l'eau dans la matrice ; ici un phénomène de solubilisation du principe actif ainsi que le clivage des groupements esters va avoir lieu, suivi de la dissolution des cristaux et des agrégats de polymorphes de PA, puis de la dissolution des excipients, ensuite viendra l'étape de la diffusion des ions/molécules de PA et/ou des excipients dissous pour finir par le gonflement et/ou la dissolution du polymère [29].

Références bibliographiques

- [1] : fontanille M, Gnanou, « chimie des polymères », édition Dunod, Paris (2002).
- [2]: Note de Synthèse II. Matériaux polymères biodégradables et applications, Direction des Energies Renouvelables, des Réseaux et des Marchés Energétiques Hilaire BEWA.
- [3] : Saadi Z,« Etude de la dégradation fongique des polymères : cinétique de dégradation des polymères et caractérisation des sous-produits de dégradation Etude de l'écotoxicité de ces polymères », Thèse de doctorat, Université du Maine, (2008).
- [4]: Kaplan D.L, Mayer J.M, Ball D , Mac Cassie J, Allen A.L, Stenhouse P,«Fundamentals of biodegradable polymers». (eds), Biodegradable polymers and packing, Technomic publishing, Inc., Lankaster, Pennsylvanie, 1-42, (1993).
- [5] : Van der Zee M, «Structure-Biodegradability relation chips of polymeric materials thèse de doctorat, university de Twente, Pays-Bas, (1997).
- [6]: BoudjemaH L, « Elaboration De Matériaux Composites Biodégradables Issus De Ressources Renouvelables », Thèse de Doctorat, Université Oran 2, (2016).
- [7]: Saadi Z, « Etude de la dégradation fongique des polymères : cinétique de dégradation des polymères et caractérisation des sous-produits de dégradation-Etude de l'écotoxicité de ces polymères », thèse doctorat, université du Maine,(2008).
- [8]: David K.P, «Biodegradable Polymers», Smithers Rapra Limited Shrewsbury,United Kingdom, (2006).
- [9]: Cerclé C, «optimisation du phénomène d'émulsion dans les mélanges amidon thermoplastique/polyéthylène», mémoire de maitrise et sciences appliquées, université de Montréal, (2009).
- [10]: Démé F, Peuvrel-Disdier E et Vergnes B, Rhéologie, 19, 31-39, (2011).
- [11]: Fodil S, les biomatériaux, Pôle Européen Plasturgie, (29 octobre 2008).

[12]: Hakkarainen, M., S. Karlsson, and A.C. Albertsson, Rapid biodegradation of poly lactide by mixed culture of compost microorganisms - low molecular weight products and matrix changes. *Polymer*, 2000. 41(7): p. 2331-2338.

[13] : www.vbm.fr, 2006.

[14] : Pillai O., Panchagnula (2001). *Polymers in drug delivery*. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 5, p. 447–451

[15]: Chiellini E., Chiellini F., Cinelli P., Ilieva VI. (2003). Bio-based polymeric materials for agriculture applications. In Chiellini E., Solaro R. *Biodegradable polymers and plastics*. New-York, USA: Kluwer Academic/Plenum Publishers, p. 185–220.

[16]: Asrar, Gruys KJ. (2002). *Biodegradable Polymer (Biopol)*, In Doi Y., Steinbüchel A. (ed). *Biopolymers*. Vol. 4, Polyesters III. Applications and Commercial Products. Weinheim, Germany: Wiley-VCH, p 53–81.

[17]: Davis G. (2003). Characterization and characteristics of degradable polymer sacks. *Mater. Charact.* 51, p. 147–157.

[18]: MOULER S, « PHBV nanocomposites based on organo modified montmorillonite and halloysite: the effect of clay type on thermal and mechanical properties » composites.

[19]: Z. Dahmani, H. Touati, 2013, « Etude du vieillissement naturel d'un film d'acide lactique destiné pour l'emballage alimentaire », Mémoire fin d'études Polymères et Composites.

[20]: J.L. Wertz, 2011, « L'amidon et le PLA : deux biopolymères sur le marché », Document Val Biom – Gembloux Agro-Bio Tech, Document FARR-Wal – avec le soutien de la Région Wallonne.

[21]: L. Sambha, 2011, « Contribution à l'étude de la structure et de la texture du PLA : Effet de la dégradation hydrothermale », Université de Haute Alsace-Mulhouse, France.

[22]: L. Gélinas, 2013, « Plastiques biosourcés : étude de leur performance environnemental comparativement aux plastiques pétrochimiques », maîtrise en environnement, Université de Sherbrooke.

[23]: H. Azouz, 2011, « Étude des interactions de mélanges (polymères biodégradables/principe actif) obtenus par différentes méthodes de préparations », Mémoire de Magister en Chimie, Option : Chimie de l'environnement.

[24]: A. Alba, 2009, « Catalyse organique de polymérisation par ouverture de cycle : synthèse de polymères biodégradables a visée pharmacologique », Thèse Doctorat Université de Toulouse, Ecole doctorale : Science de la Matière, Spécialité : Chimie moléculaire.

[25]: J.M. Julien, 2011, « Développement de polymères et composites alvéolaires biosourcés à base de poly (acide lactique) », Thèse de Doctorat en Molécules et Matières Condensées, Université de Lille 1-Sciences et Technologies.

[26]: C. Ducamp, N. Herve, 2011, « Agro ressources », Physique-chimie, Cours Polymères N166 p83-93.

[27]: S. Caillol, 2002, « Synthèse et caractérisation de nouveaux copolymères potentiellement auto-Associatifs », Materialchemistry, Université Sciences et Technologies - Bordeaux I, France.

[28]: D. Rutot, P. Dubois, 2004, « Les (bio)polymères biodégradables : l'enjeu de demain? », Chimie des matières renouvelables, Service des Matériaux Polymères et Composites, Centre de Recherche Materia Nova, Université de Mons-Hainaut.

[29]: S. Bouriche, 2013, « Encapsulation de la metformine dans des polymères biodégradables », thèse de Magister en Génie des Procédés, option Génie des polymères, Université Abderrahmane Mira, Bejaïa.

III.1. Introduction

L'encapsulation est une technique très vaste et répandue dans divers domaines grâce à ses avantages comme la protection des matériaux encapsulés contre la lumière, l'humidité ; le masquage de goût des médicaments ; la conversion des liquide aux solides ; le contrôle des caractéristiques de libération et la disponibilité des matériaux revêtus. L'encapsulation consiste à appliquer des revêtements relativement minces sur de petites particules de solides, de gouttelettes de liquides et de dispersions [1].

III.2. Historique de l'encapsulation

Suite à la découverte de la coacervation par les deux chimistes chercheurs (Bingenburg de Jong et Kaas), en 1931, les premiers essais d'encapsulation ont été faits, ce phénomène physique permet de réaliser des systèmes colloïdaux. Le développement de cette technique de l'échelle du laboratoire à la production industrielle aura duré une vingtaine d'années [2, 3, 4].

L'une des premières et plus importante application remonte à 1953 lorsque B. Green et L. Schleicher ont fabriqué des microcapsules colorantes par coacervation de gélatine et la gomme arabique pour la fabrication de papier autocopiant sans carbone. Les technologies développées pour ce dernier ont conduit au développement de divers produits de microcapsules dans les années ultérieures [4,5].

C'est en 1970 que la première utilisation de microparticules dans l'industrie pharmaceutique a été réalisée par W. M. Holliday, comme une composition à libération prolongée administrée par voie orale comprenant de l'acide acétylsalicylique encapsulé dans un revêtement mince continu d'éthyle cellulose. Cette nouvelle composition pharmaceutique a servi en tant que stratégie visant à réduire l'effet irritant de l'acide acétylsalicylique sur la muqueuse gastrique, afin de réduire la fréquence de l'administration et d'améliorer l'observance de patient [5,6].

III.3. Définition de l'encapsulation

L'encapsulation regroupe l'ensemble des technologies qui permettent la réparation de particules dispersées, constituées d'un matériau enrobant contenant une matière active, elle consiste à enfermer ou bien emprisonner des particules solides des gouttelettes de liquides ou gaz inerte dans une coquille, ce qui les isole afin de les protéger de l'environnement extérieur ou de maîtriser leur libération dans des conditions précises (pH, température,...) [2, 4, 7,8].

La microencapsulation est l'un des domaines les plus prometteurs de la technologie pharmaceutique. Aujourd'hui, elle est largement étudiée à l'intérieur de grandes entreprises pharmaceutiques ainsi que des instituts de recherche pour ses énormes intérêts [9,10].

III.4. Objectifs de la micro encapsulation

La micro encapsulation est utilisée à cause de nombreux raisons tels que [11,12] :

- ✓ Réaliser une diffusion ciblé ou soutenu par le développement des formes posologiques à libération modifiée.
- ✓ Masquer le gout des principes actifs pour faciliter leur manipulation pratique.
- ✓ Protection des médicaments contre les risques environnementaux tels que l'humidité, la lumière, l'oxygène ou la chaleur et la biodégradation gastro-intestinale.
- ✓ Amélioration de la compatibilité entre les différents médicaments et les excipients de la formulation.
- ✓ Une manipulation facile des substances hygroscopiques et toxiques tels que les herbicides, les insecticides et les pesticides.
- ✓ Préparer des cellules immobilisées ou des enzymes.

III.5. Types de structures des microparticules

Les microparticules sont les particules formées d'une membrane de polymères qui contiennent des principes actifs dont la taille varie entre 1µm et 1 mm. Ces particules présentent deux types de morphologies soit une microcapsule soit une microsphère (**Figure III.1**) [13].

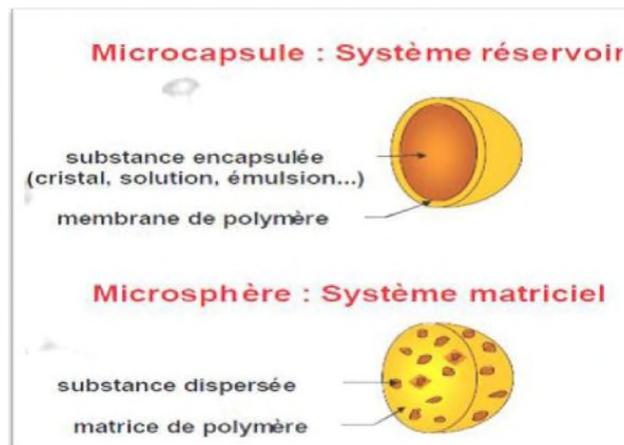


Figure III.1 : Représentation schématique des différents types de microparticules [13]

III.5.1. Systèmes vésiculaires (Microcapsules) :

Les microcapsules sont des systèmes réservoirs composés d'une écorce polymérique piégeant un cœur liquide, solide ou gazeux. C'est-à-dire une particule réservoir constituée d'un cœur de matière active liquide (plus ou moins visqueux) ou solide, entouré d'une membrane solide continue de matériau enrobant [14].

III.5.2. Systèmes matriciels (Microsphères) :

Les microsphères sont des systèmes sphériques constitués d'une matrice (polymère, cire) dans laquelle est dispersé ou adsorbé un principe actif. C'est-à-dire une particule constituée d'un réseau macromoléculaire ou lipidique continu formant une matrice dans laquelle se trouve finement dispersée la matière active, à l'état de molécules, de fines particules solides ou encore de gouttelettes de solution. Le type de microparticules dépendra en partie de l'utilisation souhaitée d'où la différence principale est basée sur la durée de libération de la substance active, ce qui déterminera donc le choix entre la microcapsule et la microsphère [14].

III .6. Préparation de microparticules :

Diverses méthodes de préparation des microparticules à partir de polymères préformés existantes et largement décrites dans la littérature. Parmi les techniques les plus utilisées on peut citer la nano précipitation, émulsion/évaporation de solvants, le séchage par pulvérisation, le système d'électro-spray coaxial, la coacervation, l'enrobage en lit d'aire fluidisé [15]

Choisir la méthode adéquate pour une application donnée est une étape très importante, car elle détermine les caractéristiques des particules résultantes (la taille, l'efficacité d'encapsulation). Pour une encapsulation efficace, le choix et la sélection du procédé sont basés essentiellement sur les caractéristiques physico-chimiques du principe actif utilisé notamment de sa solubilité [16], mais aussi la nature du polymère, l'utilisation prévue et la durée du traitement. La méthode de micro-encapsulation utilisée doit répondre aux exigences suivantes [17] :

- La stabilité et l'activité biologique de la substance active ne doivent pas être affectées au cours du procédé d'encapsulation ou dans les microparticules (produit final).
- Le rendement de fabrication des microparticules dans la gamme de taille souhaitée et l'efficacité d'encapsulation doivent être élevés.
- La qualité des microparticules et les profils de libération de la substance active doivent être reproductibles.

III .7. Techniques de la micro encapsulation :

Selon la nature du procédé, les différentes techniques de la microencapsulation sont regroupées dans le **tableau I.1** suivant [18, 19] :

Tableau I.1 : Classification des techniques d'encapsulation selon la nature du procédé [18,19]

Type de procédé	Mode d'encapsulation	Taille des microparticules	Type de microparticule obtenue
Procédés Physico-chimiques	Séparation de phase ou coacervation	2 - 1200µm	Microsphères Microcapsules
	Evaporation-extraction de solvant	0,5 -200µm	Microsphères
	Gélification thermique d'émulsions		Microsphères
Procédés Mécanique	Nébulisation /séchage	1-200µm	Microsphères
	Gélification ou congélation gouttes	200-800µm	Microsphères
	Enrobage en lit fluidisé	35-5000µm	Microcapsules
	Extrusion/Sphéronisation	>200µm	Microsphères
	Lyophilisation (Freeze drying)	-	Microcapsules
Procédés chimiques	Polymérisation interfaciale	2-2000µm	Microcapsules
	Polymérisation en milieux dispersés par voie radicalaire ou anionique	-	Microsphères
	Nébulisation/séchage	1-200µm	Microsphères

III.8. Emulsions

Les émulsions font partie de notre vie quotidienne, soit sous la forme de produits consommables dans le domaine alimentaire, de la santé, l'hygiène, les cosmétiques ...etc., soit comme un intermédiaire pour l'obtention d'autres produits tels que les polymères [20].

III.8.1. Définition d'une émulsion

Le terme émulsion désigne un système hétérogène comprenant au moins un liquide immiscible dispersé dans un autre sous la forme de gouttelettes dont les diamètres sont en général supérieurs à 0,1 μm . Un tel système se caractérise par une stabilité minimale qui peut être accrue par l'ajout d'additifs tel que des tensioactifs, permettant d'éviter la séparation des phases. Les deux liquides ou phases formant l'émulsion sont appelées symboliquement eau (E ou W) et huile (H ou O) [20, 21,22].

III.8.2. Différents types d'émulsion

Il est possible de décrire une émulsion suivant plusieurs paramètres : type, qualité de la dispersion, stabilité, rhéologie et éventuellement propriétés organoleptiques. Parmi les critères de classification les plus utilisées dans la littérature, le sens des émulsions et la solubilité de principe actif dans l'eau [20, 21,23].

- Selon leur sens :
 - Emulsion directe ou hydrophile ou bien huile dans l'eau (H/E) si la phase continue est la phase aqueuse ;
 - Emulsion indirecte ou lipophile ou bien eau dans huile (E/H) si la phase continue est la phase huileuse ;
- Selon la solubilité du PA dans l'eau :
 - Emulsion simple, eau dans huile(E/H) ou huile dans l'eau (H/E) ;
 - Emulsion double ou complexe, eau dans huile dans eau(E/H/E) ;

Ces différents types d'émulsion sont regroupés dans la **figure I.6**.

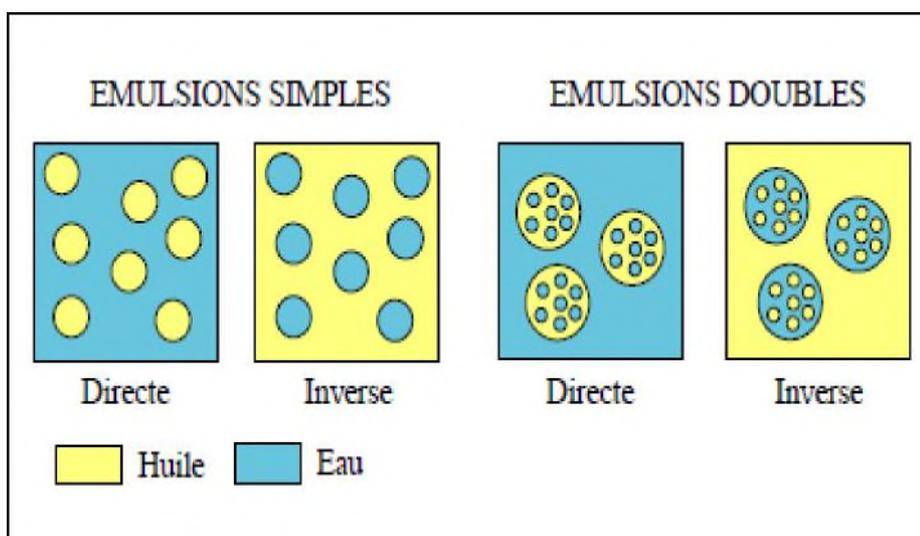


Figure. III.2 : Représentation des différents types d'émulsions [23]

Emulsions simples :

Les émulsions simples sont formées de gouttes liquides dispersées dans une phase continue. Ce type d'émulsion, direct ou inverse, est fixé au premier ordre par la solubilité préférentielle du tensioactif dans l'une des phases, en accord avec la règle empirique de Bancroft (Bancroft, 1913) : le recours à un tensioactif hydrosoluble permet de former préférentiellement une émulsion directe, alors qu'un tensioactif liposoluble favorise une émulsion inverse [20,23].

Cette méthode est la plus simple, elle s'effectue en préparant la phase dispersée par dissolution du PA et le polymère dans un solvant organique X, puis en réalisant l'émulsification (la mise en suspension) qui consiste à introduire la phase hydrophile dans la phase lipophile. Cette étape est suivie par l'évaporation du solvant organique qui engendre la solidification des gouttelettes de la phase dispersée. Enfin les particules obtenues sont lavées pour éliminer le solvant résiduel, puis séchées et récupérées [21,24]. Le protocole est schématisé sur **la figure III.3**.

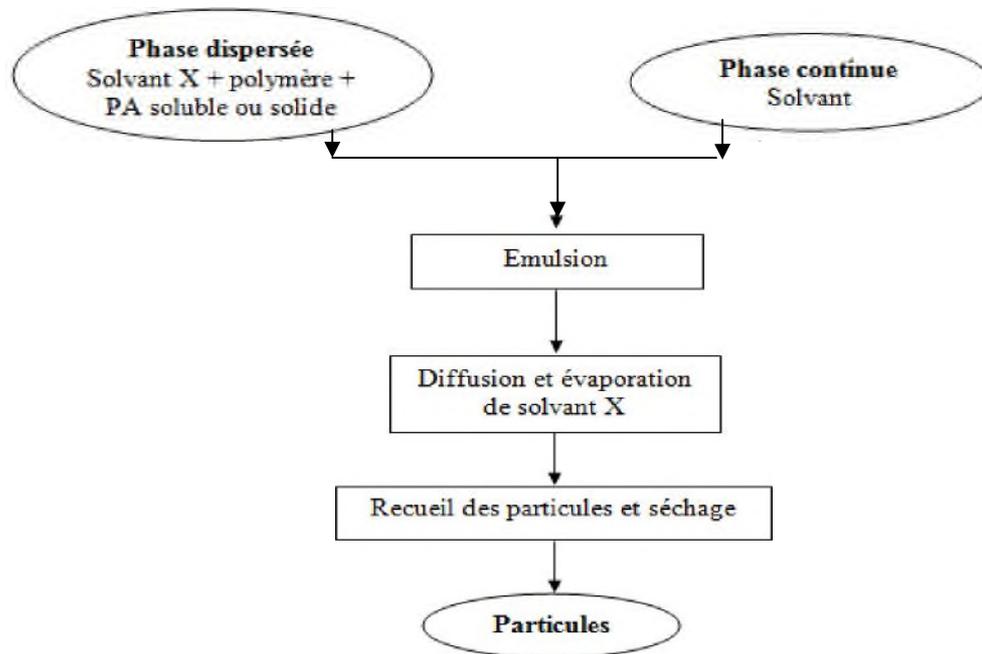


Figure. III. 3 : Représentation schématique de processus d'émulsion

III.9. Applications de la microencapsulation :

La fabrication de capsules renfermant des colorants pour la préparation de papiers permet la duplication sous faible pression, à la fin des années 1950, est la première application industrielle de la microencapsulation. Puis les recherches dans le domaine de l'encapsulation se sont intensifiées, afin de développer de nouvelles technologie d'encapsulation, d'encapsuler de nouveaux composés, et de proposer de nouveaux matériaux enveloppants, comme par exemple des polymères biocompatibles pour le domaine médical [25].

On trouve désormais des applications de la microencapsulation dans de nombreux domaines industriels, listés dans le tableau suivant, dans lequel sont également précisés des exemple de composés encapsulés [25, 26,27 ,28].

Le **tableau III.2** regroupe les différentes applications de la microencapsulation dans l'industrie.

Tableau III.2 : application de la microencapsulation dans l'industrie [25, 26,27 ,28]

Domaine industriel	Exemples de composés encapsulés
Pharmacie et médical	Antibiotiques, contraceptifs, enzymes, vaccins, bactéries, vitamines, minéraux, antigènes, anticorps....
Cosmétique	Parfums, huiles essentielles, anti transpirants, agents bronzants, crèmes solaires, colorants capillaires, baumes démêlants, mousses à raser...
Alimentaire	Huiles essentielles, graisses, épices, arômes, vitamines, minéraux, colorants, enzymes, levures, micro organismes...
Agriculture	Herbicides, insecticides, engrais, répulsifs, hormones végétales...
Biotechnologie	Enzymes immobilisées, microorganismes, cellules vivantes, cellules artificielles, cultures tissulaires, composés nutritionnels...
Chimie	Catalyseurs, enzymes, additifs pour plastique, eau (plâtre et béton), inhibiteurs de corrosion, retardateurs d'incendie, colorants et pigments, agents UV protecteurs, parfums, huiles essentielles, agents lubrifiants...
Détergents	Adoucissants, antistatique, agents déclarants, agents moussants, silicones, cires, détachants...
Textile	Colorants, parfums, pigments, bactéricides, fongicides, répulsifs d'insectes, agents antistatique, retardateurs d'incendie, agents imperméabilisants, adhésifs, composés bioactifs médicaux, composés bioactifs cosmétiques

Photographie Graphisme et impression	Colorants, pigments, parfums, révélateurs, cristaux liquides, toners, composés photosensibles...
Photographie	Halogénures d'argent, pigments, colorants, composés photo polymérisables, révélateurs pour photographies couleur, plastifiants...
Electronique	Cristaux liquides, matériaux semi-conducteurs, adhésifs, agents de séchage, retardateurs de flammes, antistatiques...
Traitement des déchets	Microorganismes, substrats, détoxifiants, déchets liquides (solidification), déchets industriels à risques, déchets radioactifs...

III.10. Mécanisme de libération du principe actif à partir des microcapsules

Une particule se caractérise par sa taille et sa distribution de taille, sa forme, sa porosité, ses propriétés mécaniques et thermiques, sa tension de surface, sa mouillabilité, son potentiel zêta, son degré de gonflement de la surface [29].

Les propriétés dépendent du procédé d'encapsulation. Nous reviendrons sur l'influence de ces différents paramètres gouvernant les propriétés de ces systèmes sont [30, 31, 32, 33] :

- les paramètres du milieu extérieur : la température, le pH, l'humidité ;
- les paramètres intrinsèque que sa la phase encapsulée : la solubilité, la température d'ébullition et de fusion ;
- les paramètres intrinsèques a la membrane (ou matrice) : la structure chimique du polymère, a masse molaire et sa cristallinité ainsi que l'épaisseur et la porosité de la membrane.

D'autre part, selon le procédé d'encapsulation et la morphologie de la particule, le taux d'encapsulation varie entre 20 et 35% pour les sphères et peut être supérieure à 85% dans le cas de capsules [34]. Le taux d'encapsulation (loading) est défini comme ci-dessous :

$$L(\%) = \frac{m_{\text{principe actif encapsulé}}}{m_{\text{particule}}}$$

En fonction de leur application, il est possible de classer les particules en deux catégories : les systèmes à libération provoquée et les systèmes à libération contrôlée et prolongée (**figure III.4**).

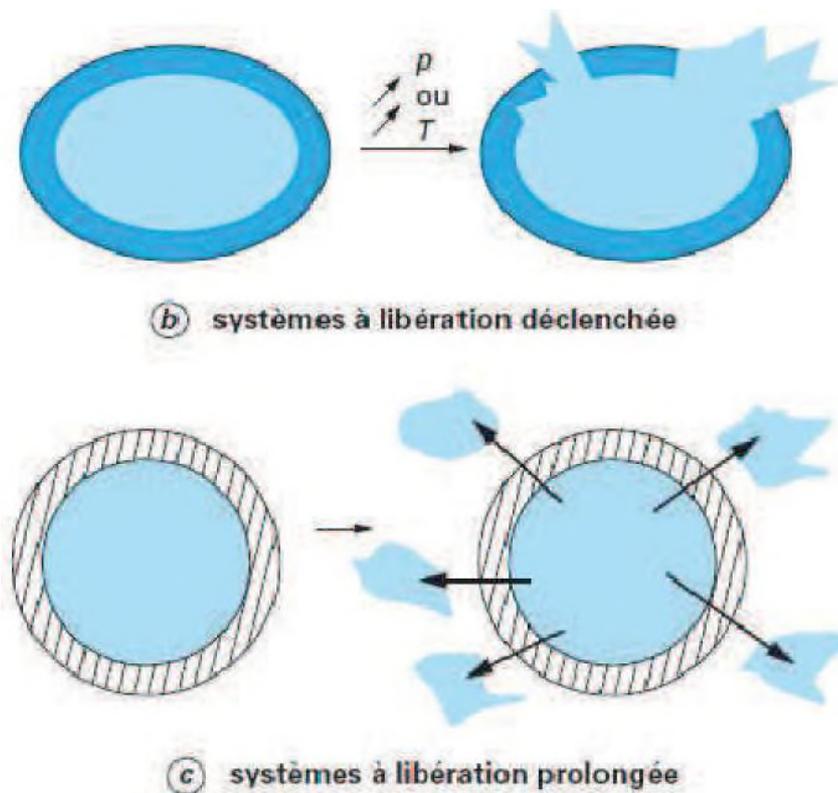


Figure III.4 : Schéma des deux différents types de libération pour les microparticules [35]

Les systèmes à libération provoquée sont généralement des capsules dont le contenu est libéré brutalement par rupture de la membrane ayant une faible perméabilité. La rupture est déclenchée par une variation de température, de pH, une dégradation enzymatique de la membrane ou une pression mécanique ou osmotique [36].

Dans les systèmes à libération contrôlé et prolongée, le principe actif est libéré par diffusion à travers la membrane en suivant les lois de Fick. Dans ce cas-la, la matrice ou la membrane est perméable [37] ou elle se dégrade, se dissout au cours du temps [38] (érosion, gonflement).

Les profils de libération peuvent être très différents selon les caractéristiques de la particule telles que la morphologie (capsule ou sphère), la taille, la structure et l'épaisseur de la membrane ou de la matrice, la localisation du principe actif. Ils dépendent aussi du milieu environnant.

Références bibliographiques

- [1]: Mr Adade casimire, <<bioéquivalence des médicaments générique : excipients réglementaire et revue des pratiques>>, thèse de doctorat en pharmacie, 2019
- [2]: Dj. Kissoum, H. Dahdah, 2011, <<Encapsulation de chlorhydrate de metformine par double emulsion et etude de sa cinétique de liberation>>, Mémoire d'ingénieur, Université de bejaia.
- [3]: K. Ankit, S. P. Kumar, B. Arunabha, 2011 , <<Microencapsulation as a novel drug delivery system>>, Internationale Pharmaceutique Scientia Vol. 1, Issue 1.
- [4]: N. Agnihotri, R. Mishra, C. Goda, M. Arora, 2012 <<Microencapsulation- A Novel Approach in Drug Delivery>>, Indo Global Journal of pharmaceutical Sciences, ISSN 2249-1023, India.
- [5]: E. Campos, J. Branquinho, A.S. Carreira, A. Carreira, A. Carvalho, P. Coimbra, P. Ferreira, M.H.Gil, 2013, <<Designing polymeric microparticules for biomedical and industrial applications>>, European Polymer Journal 49 2005-2021, Elsevier.
- [6]: R. Dubey, T.C. Shami, K.U. Bhasker Rao, January 2009, <<Microencapsulation Technology and Applications >>, Defence Science Journal, Vol. 59, No. 1, pp. 82-95.
- [7]: N.V.Naga Jyothi, P.M. prasanna, S.N. Sakarkar, K.S. Prabha, P.S. Ramaiah, G.Y. Srawan, 2010, <<Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency>>, Journal of Microencapsulation 27(3): 187-197.
- [8]: P. kaushik, k. Dowling, C.J. Barrow, B. Adhikari, 2014, <<Microencapsulation of omega-3 fatty acids: A review of microencapsulation and characterization methods>>, journal of functional foods 1-14. Australia.
- [9]: M. Jadupati, D. Tanmay, G. Souvik, 2012, <<Microencapsulation : an indispensable technology for drug delivery system>>, International journal Pharmacy ISSN, India.
- [10]: H. Dumer, H. Nigam, A.M. Tamboli, M.S.M. Nainar, 2011, <<Microencapsulation : Process, Techniques and Applications>>, International Journal of Research in pharmaceutical and Biomedical Sciences ISSN: 2229-3701, Vol.2 (2).
- [11]: Bansode S., Banarjee S.K., Gaikwad D.D., et al.(2010). Microencapsulation. A Review. Int J Pharm Sc Rev Res. 1, 38-43.
- [12]: James S. (2006). Encyclopedia of pharmaceutical Technology (3Ed). 1325-1333.

- [13]: (http://static.wixstatic.com/media/3bb817_26eb610c5d2e42efba155ac5c5a4bc48.png/v1/fill/w_462,h_290,al_c,q_85/3bb817_26eb610c5d2e42efba155ac5c5a4bc48.webp).
- [14]: Qv X-Y, Zeng Z-P, Jiang J-G, Food Hydrocolloids, 25, 1596-1603, (2011).
- [15]: Lee, B. K., Yun, Y., park, K. (2016).PLA micro-and nano-particles. Advanced drug delivery reviews, 107-191.
- [16]: Iqbal, M., ZAFAR, N., Fessi, H., Elaissari, A. (2015). Double emulsion solvent evaporation techniques used for drug encapsulation. International journal of pharmaceutics, 496(2) , 173-190.
- [17]: Jain, R. A., Rhodes, C. T., Railkar, A. M., Mailick, A. W., Shah, N. H. (2000). Controlled delivery of drugs from a novel injectable in situ formed biodegradable PLGA microsphere system. Journal of microencapsulation, 17(3), 343-362.
- [18]: Finch C.A., Bodmeier R. (2005). Microencapsulation, Wiley-VCH Verlage GmbH & Co.KGaA. Weinheim ,10.1002/14356007.a16-575.
- [19]: Madene A. (2006). Etude des Transferts d'Aromes Encapsulés dans une Matrice Alimentaire type Génoise, Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de Lorraine.
- [20]: M.P. Rodriguez Rojas, 2007, «Emulsification en cuve agitée : rôle du protocole opératoire sur l'inversion de phase catastrophique», Thèse de Doctorat, Université de Los Andes Mérida-Venezuela.
- [21]: A.H. Boudendouna, 2010, « Méthodologie de la formulation d'une forme orale solide à libération prolongée », Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, Science Génie Matériaux.
- [22]: A.L Hir, J.C. Chaumeil, D. Brossard, 2009, « Pharmacie galénique : Bonnes pratiques de fabrication des médicaments », 9^{ème} édition, MASSON, Paris.
- [23]: J.Guery, 2006, « Emulsions doubles cristallisables : stabilité, encapsulation et relargage », Thèse de Doctorat, Université Paris VI.
- [24]: R.Kieffer, 2008, « Contacteurs à membrane pour la précipitation du sulfate de baryum : simulations numériques et résultats expérimentaux », Thèse de Doctorat, Lyon.
- [25]: Vandamme T-, Poncelet D., Subra-Paternault, (2007): Microencapsulation : des sciences aux technologies, Tech et Doc, Paris.
- [26]: Finch C.A, Bodmeier R : (2000) : Microencapsulation, in : Ullman's Encyclopedia of Industrial Chemistry, Electronic Release, 6th ed, Wiley-VCH, Weinheim7.
- [27]: Bernard F.G., Selim K.,Inteaz A., et al, (1999) :Encapsulation in the food industry : a review. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 50, 213-217.

- [28]: Madene A., Jacquot M., Scher J., Desorby S., (2006) : Flavour encapsulation and controlled release- a review, *International Journal of Food Science and Technology*, Vol. 41,1- 21.
- [29]: Guo H.L., Zhao X.P., and Xang J.P., (2005): Synthesis of functional microcapsules containing suspensions responsive to electric fields. *Journal of Colloid and Interface Science*, 284 (2): p. 646-651.
- [30]: Gao C.Y., Mohwald H. and Shen J.C, (2005) : Thermosensitive poly (allylamine)-g-poly(Nisopropylacrylamide): synthesis, phase separation and particle formation. *Polymer*. 46(12):p. 4088-4097.
- [31]: Lamprecht A., Yamamoto H., Takeuchi H., and Kawashima Y., (2004) : pH-sensitive microsphere delivery increases oral bioavailability of calcitonin. *Journal of Controlled Release*. 98(1): p. 1-9.
- [32]: Braunecker J., Baba M., Miloy G.E. and Cameron R.E., (2004): The effects of molecular weight and porosity on the degradation and drug release from polyglycolide, *International Journal of Pharmaceutics*. 282:p. 19-34.
- [33]: Klose D., Siepmann F., Elkharraz K., Krenzlin S., and Siepmann J., (2006): How porosity and size affect the drug release mechanisms from PLGA-based microparticles. *International Journal of pharmaceutics*. 314(2): p. 198-206.
- [34]: Pinto Reis C., Neufeld R.J., Ribeiro A.J. and Veiga F., (2006): Nanoencapsulation Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine: nanotechnology, biology and medicine*. 2(1): p. 8-21.
- [35]: Richard J., Benoit J.P., (2000), *Microencapsulation, Technique de l'Ingenieur*. J 2210, p1-20.
- [36]: Bartkowiak A., and Hunkeler D.,(1999): Alginate-oligochitosan microcapsules: A mechanistic study relating membrane and capsule properties to reaction conditions. *Chemistry of Materials*, 11(9): p. 2486-2492.
- [37]: Yang Y.Y. , Chung T.S. and Ng N.P., (2001): Morphology, drug distribution, and in vitro release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method. *Biomaterials*,.22(3):p. 231-241.
- [38]: Shah S.S., Cha Y., and Pitt C.G, (1992): Poly (Glycolic Acid-Co-Dl-Lactic Acid)-Diffusion or Degradation Controlled Drug Delivery. *Journal of Controlled Release*. 18(3): p. 261-270.

IV.1.Introduction

Les laboratoires de contrôle qualité et d'assurance qualité disposent de techniques analytiques de pointe et d'outils performants pour la caractérisation et l'interprétation des données brutes.

IV.2.Techniques de caractérisation physico-chimique des microparticules

De nombreux processus physico-chimiques interviennent dans la caractérisation des microparticules ou chaque technique met en évidence un aspect particulier.

IV.2.1. Haute Performance Liquide Chromatographie (HPLC)

La Haute Performance Liquide Chromatographie (HPLC) est une technique chromatographique similaire qui implique la migration d'un mélange de lipides à travers une colonne contenant une phase stationnaire. Cependant, dans la HPLC, la phase mobile est un liquide et non un gaz. L'analyse d'un extrait lipidique par HPLC implique généralement l'injection d'un échantillon (20-200 μ l) dans une colonne HPLC pendant qu'une phase mobile (solvant) circule dans la colonne. La phase mobile peut avoir de nombreuses combinaisons de solvant, mais elle contient généralement de l'eau et un composant organique. La colonne HPLC est généralement un tube en acier inoxydable de 50 à 250 mm de long et de 1 à 4,6 mm de diamètre, garni de particules de silice chimiquement modifiées (<1-5 μ m de diamètre) ayant la consistance d'un sable très fin. Il existe de nombreuses phases stationnaires disponibles pour la HPLC, la plus courante étant les particules de silice modifiées avec des groupes C18. En raison des nombreux choix de diamètre, de longueur et de taille des colonnes [1].

Principe de HPLC

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme [2] (**Figure IV.1**).

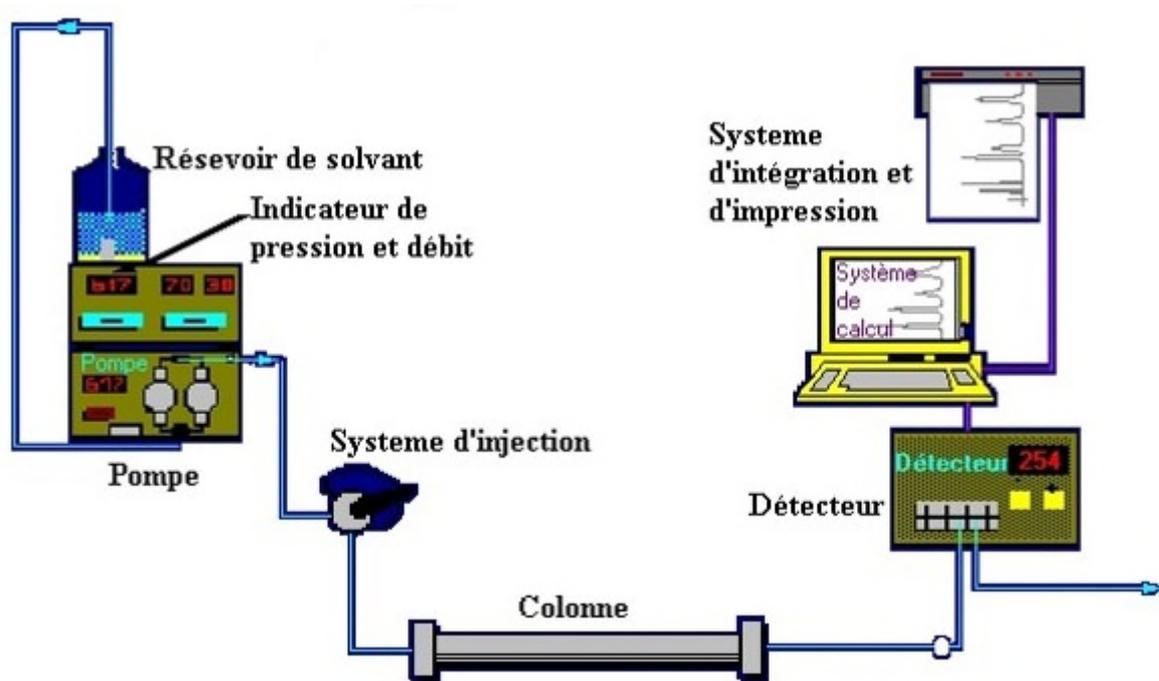


Figure IV.1. Schéma de Principe de HPLC [2]

IV.2.2. Microscopie optique

Avec l'apparition des microscopes modernes, cette méthode est devenue la plus précise car elle permet de visualiser clairement une particule et donc de pouvoir déterminer sa forme et sa taille. Des particules de taille proche du nanomètre peuvent ainsi être mesurées avec cette technique. En utilisant de plus une caméra rapide, cette technique offre la possibilité de caractériser des objets en mouvement, par exemple des gouttelettes circulant dans un canal.

De plus, l'utilisation du microscope en combinaison avec une technique de fluorescence permet non seulement de caractériser la particule in-situ mais également de visualiser des changements d'état de la particule dus à des interactions physico-chimique entre la particule et le milieu ou des réactions biologiques ayant lieu sur la particule [3,4].

Principe de la microscopie optique

Le microscope dans sa forme la plus réduite est constitué d'un simple objectif et d'un oculaire, c'est-à-dire de deux lentilles convergentes. Ces deux lentilles forment une image très agrandie de l'objet et permettent d'observer des détails fins dans l'échantillon, Nous allons voir ici la construction de l'image étape par étape en utilisant les lois de l'optique géométrique pour le trajet de rayons lumineux à travers des lentilles convergentes (**Figure IV.2**).

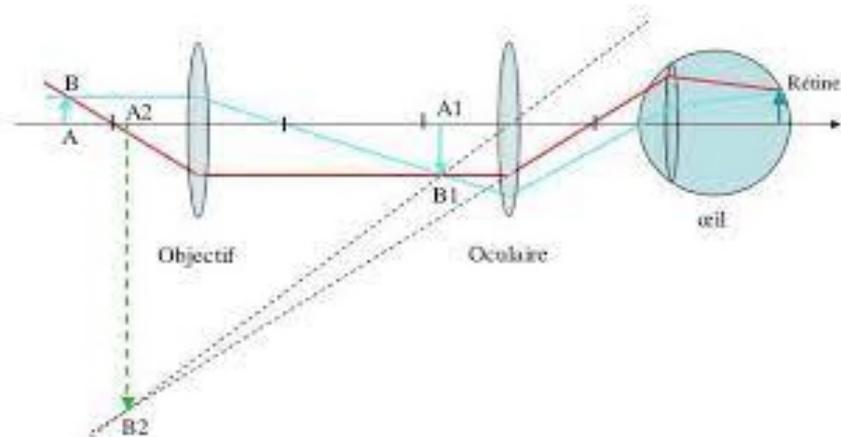


Figure IV.2 : Principe de microscopie optique [5]

Dans ce schéma simplifié, l'objectif donne de l'objet AB observé une image réelle A1B1 renversée et très agrandie qui joue pour l'oculaire le rôle d'objet réel. L'oculaire donne de cet objet une image virtuelle A2B2 agrandie, vue par l'observateur : l'oculaire est utilisé comme une loupe. Enfin, l'œil forme une image de l'objet A2B2 sur la rétine [5].

IV.2.3. Spectroscopie UV-Visible

La spectroscopie UV-Visible correspond à l'étude des variations de grandeurs photométriques spectrales ou leur équivalent énergétique résultant de l'interaction du rayonnement avec une substance placée sur le faisceau. Le domaine de longueur d'onde de l'UV se situe entre 10 nm à 400nm, celui du visible se situe entre 400 nm à 800 nm [6].

Principe spectroscopie UV-Visible

Le spectrophotomètre fait passer une radiation (lumière) monochromatique (une seule longueur d'onde) à travers une longueur L (longueur de la cuve) de solution et mesure l'absorbance A (grandeur liée à la quantité de lumière absorbée par la solution). (Figure IV.3)

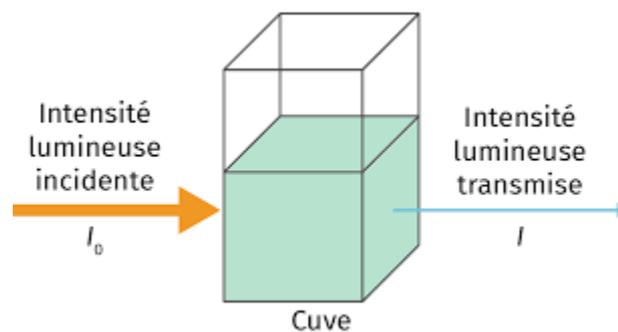


Figure IV. 3. Schéma représentant d'une radiation a travers la cuve [7].

Pour déterminer la concentration d'une entité chimique en solution en utilisant la loi de Beer-Lambert suivante [8]:

$$A = \epsilon \cdot L \cdot C$$

A : L'absorbance optique à une longueur d'onde.

ϵ : Le coefficient d'extinction molaire ($L \cdot mol^{-1} \cdot Cm^{-1}$).

L : La longueur du trajet optique dans la solution traversée (Cm).

C : La concentration molaire de la solution ($mol \cdot L^{-1}$).

Cette équation est utile pour la chimie analytique. En effet, si L et ϵ sont connus, la concentration d'une substance peut être déduite d'une simple mesure d'absorbance à cette longueur d'onde.

La loi de Beer-Lambert, utile pour caractériser de nombreux composés, ne doit pas être considérée comme une relation universelle pour caractériser la concentration et l'absorption de toutes les substances.

Un spectrophotomètre mesure l'absorbance d'une solution à une longueur d'onde donnée. Un dispositif monochromateur permet de générer, à partir d'une source de lumière visible ou ultraviolette, une lumière monochromatique, dont la longueur d'onde est choisie par l'utilisateur. La lumière monochromatique incidente d'intensité I_0 traverse alors une cuve contenant la solution étudiée, l'appareil mesure l'intensité de la lumière transmise I [9]. (Figure IV.4).

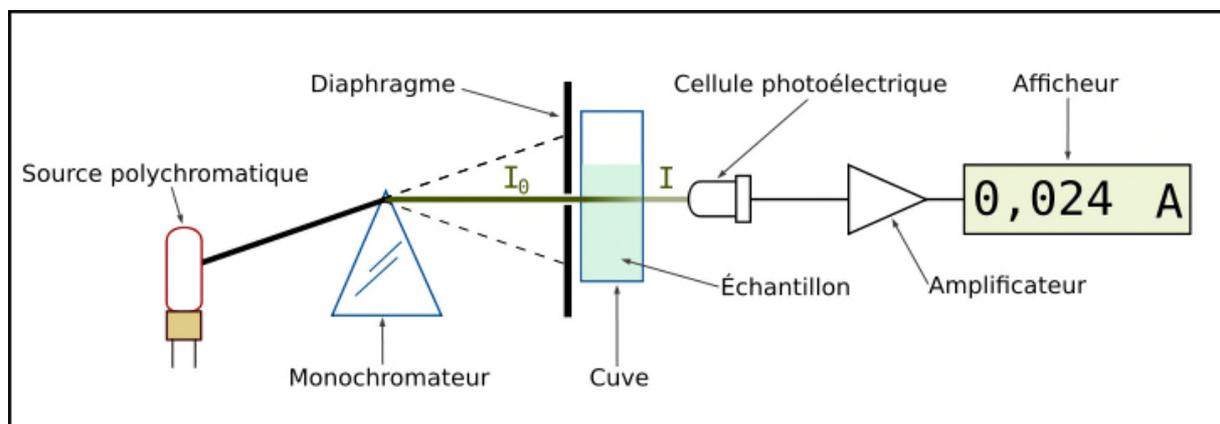


Figure IV.4. Schéma de principe du spectromètre UV-Visible [10].

IV.2.4. Spectrométrie infrarouge IR-TF

La spectroscopie IR est une méthode analytique, s'utilise principalement pour identifier et quantifier un grand nombre d'espèces chimiques de façon non ambiguë. Elle permet de mettre en évidence la présence d'une liaison particulière entre les molécules.

En raison de sa spécificité, l'IR a été souvent employé comme une « norme » pour les études d'inter comparaison de différentes mesures [9,6].

Principe de l'IR-TF

Le principe fonctionnel de la spectrométrie IR-TF est le suivant : Une source de lumière IR émet un rayonnement qui est affaibli en fonction des fréquences qui traverse l'échantillon. Le rayonnement résultant est enregistré et transformé électroniquement en un spectre. Il est impératif que la source de rayonnement émette continuellement dans l'ensemble de la zone des fréquences présentant un intérêt. Le détecteur a la charge de saisir le rayonnement sortant et de transformer les signaux optiques en signaux électriques. Le plus utilisé est le détecteur dit DTGS (sulfate de tri glycine deutérié). Tandis que la source lumineuse et le détecteur sont identiques dans les deux types d'appareils, la mesure de l'absorption du rayonnement dépend de la fréquence ainsi que le traitement si le signal est fondamentalement différent. Le schéma de principe d'un spectrophotomètre IR à double faisceau (**Figure IV.5**) [9].

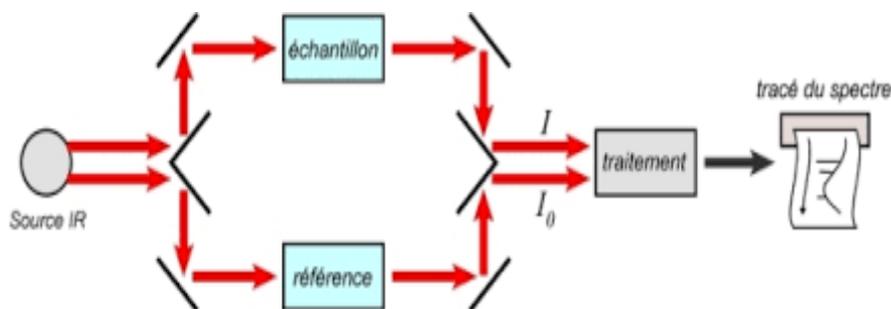


Figure IV.5. Schéma de principe de spectrophotomètre IR-TF [6].

Les spectres infrarouges de différentes formulations sont enregistrés à la température ambiante dans la plage de $400-4000\text{cm}^{-1}$.

IVI.2.5. Microscopie électronique à balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage (MEB) est une technique traditionnellement utilisée dans l'analyse des surfaces. Elle permet d'analyser la morphologie de la surface et la composition chimique de la plupart des matériaux solides. Cette technique a la particularité d'offrir une très grande profondeur de champ (plusieurs centaines de microns) et donne des vues qualitatives des surfaces d'une grande utilité [10].

Principe de l'analyse MEB

Cet appareil repose sur le même principe que celui de la microscopie optique à la différence qu'il s'agit d'une source d'électrons et non d'une source de lumière visible. Le faisceau d'électrons est focalisé via un jeu de lentilles sur la surface de l'échantillon en un support très fin. Un jeu de bobines permet de déplacer le faisceau de façon à balayer toute la surface de l'échantillon. Pour faire de l'imagerie électronique, l'échantillon est balayé ligne par ligne selon une matrice rectangulaire. L'interaction entre le faisceau d'électrons et la surface de l'échantillon produit trois types de signaux secondaires : des électrons secondaires, des électrons rétrodiffusés et des rayons X. La détection des deux types d'électrons permet de reconstituer simultanément des images électroniques différentes. La détection des électrons secondaires permettra d'obtenir des informations sur la topographie (relief) de l'échantillon.

La détection des électrons rétrodiffusés permettra quant à elle d'obtenir des informations sur la variabilité qualitative (contraste de densité) de l'échantillon. Le couplage du MEB avec un détecteur de rayons X permet également de fournir des informations sur la composition élémentaire. La détection des photons X peut se faire soit par dispersion de longueur d'onde (ou WDS –Wavelength Dispersive Spectroscopy) soit par dispersion d'énergie (ou EDS–Energy Dispersive Spectroscopy) [11]. La **figure IV.6** schématise le principe de la Microscopie Electronique à Balayage (MEB).

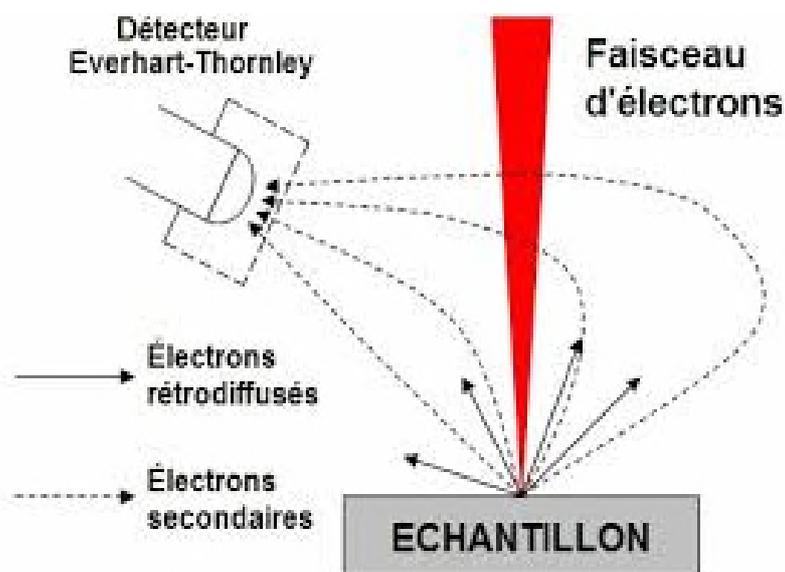


Figure VI.6 : Principe de la Microscopie Electronique à Balayage [12]

IV.3. Caractérisation biopharmaceutique des microparticules

La caractérisation biopharmaceutique des microparticules est réalisée par un test de dissolution *in vitro*. La dissolution consiste à séparer des substances à l'état moléculaire dans un liquide. Le résultat de l'opération s'appelle une solution (phase homogène unique) et se compose donc de soluté (toutes les substances dissoutes) et de solvant [11].

La dissolution joue un rôle très important dans la préparation de nombreuses formes pharmaceutiques, et quelle que soit la voie de pénétration dans l'organisme, elle est essentielle à la biodisponibilité du médicament [11].

Ce test de dissolution *in vitro* est destiné à déterminer la plus ou moins grande aptitude des formes galéniques à laisser passer en solution, dans un milieu, le ou les principes actifs qu'elles contiennent [12].

L'essai de dissolution est destiné au contrôle de la qualité des formes pharmaceutiques solides. Il a démontré la reproductibilité du procédé de production et la conformité du produit fini aux spécifications du dossier de fabrication [12].

L'essai de dissolution est demandé à plusieurs stades du développement du médicament; en préformulation, en développement ainsi qu'en contrôle de routine [13, 14, 15].

Plusieurs propriétés fondamentales sont étudiées en pré formulation ; à savoir la solubilité du PA, la constante d'ionisation, le coefficient de partage, la vitesse de dissolution et la stabilité.

En développement, au stade de la formulation galénique, des études comparatives de dissolution de plusieurs formes permettent d'optimiser la formulation et de s'assurer que la libération de principe actif est complète à partir de la forme galénique.

En contrôle de routine, il sert à démontrer la reproductibilité du procédé de fabrication et la conformité du produit fini avec les lots précédents. Après fixation de normes de dissolution strictes, il permet d'assurer la reproductibilité inter lot. Ce contrôle de qualité prend un intérêt prédictif supplémentaire lorsque des corrélations *in vitro* / *in vitro* ont été établies, c'est à dire lorsque les variations de dissolution ont une répercussion définie sur la biodisponibilité.

Les facteurs interférant dans une détermination de la vitesse de dissolution peuvent être classés en [16,17].

➤ **Facteurs dépendants du médicament [18, 19, 20] :**

- Les propriétés physico-chimiques du principe actif : solubilité, granulométrie, polymorphisme [18].
- Les excipients : Liants, délitant, lubrifiants, tensioactifs, diluants [19].
- La forme pharmaceutique : Nature de la forme galénique, procédé de fabrication, conditions de conservation, interactions principe actif /excipients [20].

➤ **Facteurs dépendants de la méthode de dissolution [21] :**

- L'appareillage : agitation, méthode de prélèvement, filtration, vibrations ;
- Les paramètres de dissolution : nature, pH et volume de milieu de dissolution, vitesse de rotation, temps de prélèvement température, gaz dissous.

Références bibliographiques

- [1]: Jeff G. McDonald, H.Alex Brown, in Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes (Sixth Edition), **2016**.
- [2]: Rcp.
- [3]: L.S.Goldner, A.M.Jofre, J. Tang, droplet confinement and fluorescence measurement of single molecules, Methods in Enzymology Single Molecule Tools, Pt a : Fluorescence Based Approaches 472(2010) 61-88.
- [4]: F.S.O.Fritzsh, C.Dusny, O. Frick, A. Schmid, Single-Cell Analysis in Biotechnology, Systems Biology, and Biocatalysis, Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering, Vol 3 3 (2012) 129-155.
- [5]: <http://fr.encyclopedia.yahoo.com/articles/kh/kh796p0.html#kh796.9>
- [6] : A. Camut, « Mise en place du contrôle terminal des préparations d'anticancéreux injectable par spectroscopie UV-Visible_IRTF, multis pec à l'unité de pharmacie clinique té cancérologique de l'Hôpital Bonsecours de Metz : Aspects analytiques et organisationnels », Thèse de doctorat, **2009**.
- [7] : M. Dames, « Approche anthropologique pour analyser les connaissances de chimie mises en jeu lorsque des étudiants conçoivent un protocole avec le logiciel copex-chimie », thèse de doctorat, Université Joseph Fourier, **2011**.
- [8] : N. Kerboua, k. Chebli., N Gharzouli, « Des rapports sur les méthodes spectrales », présentés par les post- gradués de Sétif, **1998**.
- [9]: Mariana M, Palumbo F, Agostino, P Fayet R. plasma deposition of SiO₂-like films: plasma phase diagnostics and gas barrier film properties optimisation, Surface and Coating Technology. pp. 142-144. **2001**.
- [10] : S. Hamri, « Etude thermo physique de la diffusion de molécule de bas poids moléculaire dans réseaux de polymères acryliques », Thèse de doctorat, **2013**.
- [11] : A. Gratien, « Spectroscopie ultraviolet-Visible et infrarouge de molécules clé atmosphériques », thèse de doctorat, Université de paris 12-Val de marne, **2008**.
- [12] : le Hir A, Brossard D, Chaumeil J.C, « bonnes Pratiques de fabrication des médicaments ». Pharmacie galénique, 9ème édition, (2009).

- [13] : BEYSSAC E, BILLON-CHABAUD A, GAUTIER H. « Gélules, Capsules molles et contrôle biopharmaceutique des formes orales solides ». In : Wehrlé P, Formulation et technologie pharmaceutique. Pharmacie galénique : Paris : Maloine ;; p71-106 ,(2007).
- [14] : ABELLI C, BECART A et al, « Test de Dissolution appliqué aux formes orales à libération immédiate », STP pharma Prat, 9 (4) : 287-293, (1999).
- [15] : BROSSARD D, « L'essai de vitesse de dissolution pourquoi ? Comment ? STP Pharma Prat », 2 (19) : 719-722, (1986).
- [16] : TALI M.L, « Contrôle qualité de principes et génériques de comprimés de métformine A Propos de 7 spécialités », Thèse de Doctorat en pharmacie, faculté de Médecine et de pharmacie de Rabat, Université Mohammed V, n°10, (2006).
- [17] : LE HIR A, CHAUMEIL J. C, BROSSARD D, « Pharmacie galénique Bonnes pratiques de fabrication des médicaments », 9ème édition, Parie Masson, (2009).
- [18] : TALI M.L, « Contrôle qualité de princeps et génériques de comprimés de métformine A propos de 7 spécialités », Thèse de Doctorat en pharmacie, Faculté de médecine et de pharmacie de Rabat, Université Mohamed V, n°10, (2006).
- [19] : BAUER M, COUTEAU A, MONJANEL F, PAGES M, VIDEAU J.Y, YAMEOGO O, « Influence des caractéristiques physiques du furosémide sur sa libération à partir de comprimés génériques ». STP Pharma Prat .12 (2) : 76-84, (2002).
- [20] : LAMALMI F, DRAOUI M, BENRAMDANE L, CHERRAH Y, IDRISSE M O B, ZAHIDI A, IMBENOTTE M, « Etude de la cinétique de libération de la théophylline à partir d'une matrice phosphatée élaborée par voie sous-gel ». Biologie et santé, 4 (2) : 1-16, (2004).
- [21] : BA A, BAUER M, HAMDANI H, DE LA TORRE N, VIDEAU J.Y, YAMEOGO O, « Etude du comportement en dissolution de différents comprimés génériques de Glibenclamide Comparativement au produit princeps ». STP Pharma Prat. ; 15 (3): 213-230, (2005).

V.1. Objectif

L'objectif principal de notre travail de recherche est de réaliser des formulations à libération prolongée à base d'Hydrochlorothiazide et d'un polymère biodégradable en utilisant la technique d'encapsulation par évaporation de solvant. Pour cela, une étude de l'effet de quelques paramètres (quantité de polymère PLA et quantité de PVP K30) sur le taux d'encapsulation et la cinétique de libération a été réalisée.

Les échantillons ont été préparés selon une matrice d'essais de formulation puis caractérisés par diverses techniques d'analyses physicochimiques et biopharmaceutiques à savoir; la spectrophotométrie UV-visible, la Spectrophotométrie Infra –Rouge (FT-IR), Microscopie Electronique à Balayage (MEB) ; la Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC), l'analyse microscopie optique et le test de dissolution.

Notre partie expérimentale a été réalisée dans un laboratoire contrôle de qualité au site de production Antibiotical du groupe saidal/Médéa lors d'un stage pratique.

V.1.Matières premières et matériels utilisés :

V.1.1. Matières premières :

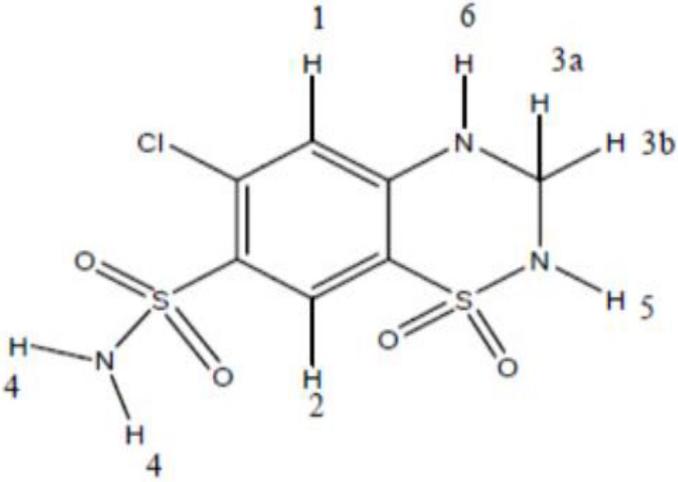
Les matières premières utilisées sont comme suit :

- *Hydrochlorothiazide (HCTZ) ;
- *Polyacide lactique (PLA) ;
- * Poly vinyl pyrrolidone (PVP k₃₀);
- *Poly Alcool vinylique (PVA) ;
- *Dichlorométhane (DCM) ;
- *Méthanol.

Principe actif:

L'hydrochlorothiazide a été fourni par Le groupe SAIDAL(Médéa). Les propriétés physico-chimiques sont résumées dans le **tableau V.1. [1, 2]**:

Tableau. V.1 : Propriétés physicochimiques d'hydrochlorothiazide [1,2]

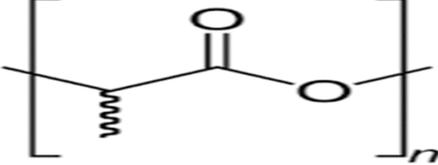
Hydrochlorothiazide HCTZ	
Nom IUPAC	6-chloro-3,4-dihydro-2H-1,2,4-benzothiadiazine-7-sulfonamide 1,1-dioxyde
Formule chimique	
Formule brute	$C_7H_8ClN_3O_4S_2$
Masse molaire	297,739+/- 0,02 g/mol
Solubilité	Légèrement soluble dans l'eau, facilement soluble dans les solutions d'hydroxyde de sodium, la n-butylamine et le diméthylformamide
Température de fusion	274°C
Aspect	Poudre cristalline blanche ou pratiquement blanche
Classe thérapeutique	Diurétiques thiazidique, antihypertenseurs
pKa	7.9

Polymères

* Poly acide lactique(PLA)

Quelques propriétés caractéristiques du Poly acide lactique sont données dans le **tableau V.2** ci-dessous [3].

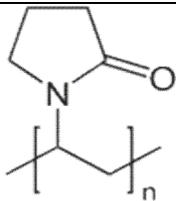
Tableau V.2 : Propriétés physicochimiques du Poly acide lactique [3]

Propriétés	Specifications
Nom	Acide poly lactique
Formule chimique	
Formule brute	$(C_3H_4O_2)_n$
Masse molaire	72,0627 g/mol
Densité	1,21 g/cm ³
Aspect	Sous forme des grains
Solubilité	Soluble dans le tétrahydrofurane, dans le chloroforme et dans dichlorométhane
Point de fusion	160°C
Température de transition vitreuse	60°C

* Poly vinyle pyrrolidone (PVP)

Quelques propriétés caractéristiques du Poly vinyle pyrrolidone sont données dans le **Tableau V.3** ci-dessous [3].

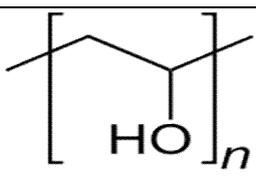
Tableau V.3 : Propriétés physicochimiques du Poly vinyle pyrrolidone [3]

Propriétés	Specifications
Formule brute	$(C_6H_9NO)_n$
Formule chimique	
Masse molaire	2 500 - 2 500 000 g/mol
Température de transition vitreuse	110 à 180 °C
Solubilité	Soluble dans l'eau, l'acide acétique, l'acide formique, l'éthanol, Le chloroforme, le Dichlorométhane et le glycérol
Masse volumique	1,2 g/cm ³
Aspect	Poudre blanche

* Poly alcool vinylique(PVA)

Le PVA est un polymère obtenu par hydrolyse d'alcool vinylique. Son taux d'hydrolyse est 87,90%. Quelques propriétés caractéristiques du Poly alcool vinylique sont données dans le **tableau V.4** ci-dessous [4].

Tableau V.4 : Propriétés physicochimiques du Poly alcool vinylique [4]

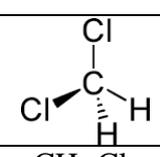
Propriétés	Specifications
Formule brute	$(C_2H_4O)_n$
Formule chimique	
Masse molaire	44,0526 g/mol
Solubilité	Soluble dans l'eau
Masse volumique	1,19 – 1,31 g/cm ³
Point d'éclair	80°C
Aspect	Sous forme de petits cristaux

- **Solvants**

* Dichlorométhane (DCM)

Quelques propriétés caractéristiques du Dichlorométhane sont données dans le **tableau V.5** ci-dessous [3].

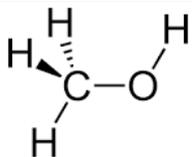
Tableau V.5 : Propriétés physicochimiques du dichlorométhane [3]

Propriétés	Spécifications
Formule chimique	
Formule brute	CH ₂ Cl ₂
Densité	1,33 g/cm ³
Point d'ébullition	40°C
Masse molaire	84,93 g/mol
Odeur	Odeur disagreeable, toxique
Aspect	Liquide incolore
Solubilité	Avec l'eau : peu soluble (13 à 20 g/l à 20°C) Miscible avec la plupart des solvants organiques

* Méthanol

Quelques propriétés caractéristiques du méthanol sont données dans le **tableau V.6** ci-dessous [2].

Tableau V.6 : Propriétés physicochimiques du méthanol [3]

Propriétés	Specifications
Formule chimique	
Formule brute	CH ₃ OH
Masse molaire	32,04 g/mol
Point d'ébullition	64,7°C
Masse volumique	792 kg/m ³
Pression de vapeur	13,02 KPa
Densité	0,79 g/cm ³
Point de fusion	-97,6°C
Couleur/forme	Liquide incolore
Odeur	Légère odeur alcoolique à l'état pur, odeur répulsive et acre d'état brut

V.1.2. Appareillage

L'appareillage utilisé pour notre expérimentation est comme suit :

- * Balance analytique ;
- * Agitateur Vortex ;
- * Plaque chauffante agitatrice ;
- * Montage de filtration sous vide ;
- * pH-mètre ;
- * Centrifugeuse ;
- * Dissolu test ;
- * Microscope optique ;
- * Spectrophotomètre UV visible ;
- * Spectrophotomètre infrarouge (IR) ;
- * Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) ;
- * Microscopie électronique à balayage (MEB).

V.1.3. Verrerie et petit matériel de laboratoire

La verrerie et les accessoires utilisés pour notre expérimentation sont comme suit :

- * Bécher 20ml 25ml 50ml 1000ml ;
- * Eprouvettes 50 ml 100ml 500ml 1000ml ;
- * Burette graduée 25ml ;
- * Fioles jaugées de 20 ml 50ml ;
- * Pipettes 1ml ,2ml, 10ml ;
- * Seringues de 5ml ;
- * Tubes à essais ;
- * Thermomètre ;
- * Flacons d'injection HPLC (vials) ;
- * Spatules, pissettes, papier filtre, barreaux magnétiques, para film, papier absorbant et papier huilé.

V.2. Méthode de préparation des microparticules

Afin de préparer des microparticules à base de l'hydrochlorothiazide, Nous avons procédé comme suit: utilisé la technique d'encapsulation par évaporation de solvant (émulsion simple) qui est largement utilisée dans le domaine pharmaceutique. Cette technique consiste à préparer deux (2) phases : une phase aqueuse et une phase organique, suivi d'une évaporation de solvant

Préparation de la phase aqueuse :**Préparation de PVA (1%) :**

- Préparer une solution de PVA à 1 % ;
- Agiter jusqu'à dissolution complète ;

Préparation de la phase organique :

- Dissoudre une masse de PLA dans 20 ml de dichlorométhane (CH_2Cl_2) et laisser sous agitation magnétique jusqu'à dissolution totale, puis ajouter une masse de PVP K30 toujours sous agitation (les quantités des PLA et PVP K30 varient selon le **tableau V.7**);
- Dissoudre 75mg de l'hydrochlorothiazide dans un 1ml de méthanol en utilisant le vortex jusqu'à dissolution totale.
- Mélanger les deux solutions et laissez sous agitation pendant quelques minutes.

Préparation des microparticules :

- Verser la phase organique goutte à goutte dans 50 ml de la phase aqueuse PVA (1%) avec une vitesse d'agitation de 700tr/min ;
- Laisser la solution sous agitation jusqu'à l'évaporation totale de DCM puis filtrer la solution obtenue sur papier filtre ;
- Récupérer les microparticules et laisser sécher à température ambiante.

La composition qualitative et quantitative des essais de formulation est donnée dans le **tableau V.7** dessous

Tableau V.7 : Matrice des essais de formulation

N° essai	PA (mg)	PLA (mg)	PVPk30 (mg)	PVA (ml)	Vitesse (Tr/min)	Quantité totale (mg)
H1	75	150	0	50	700	225
H2		150	50			275
H3		300	0			375
H4		100	0			175
H5		200	0			275
H6		75	0			150
H7		300	50			425
H8		75	25			175
H9		200	75			350
H10		250	25			350
H11		200	25			300

V.3. Caractérisation des microparticules :

Les microparticules préparées ont été caractérisées à l'aide de plusieurs techniques, à savoir ; La Microscopie optique, la Spectrophotométrie infrarouge, la Chromatographie liquide à haute performance, Spectrophotomètre UV-Visible, la dissolution *in vitro* et le Microscopie Electronique a Balayage.

V.3.1. Microscopie optique:

Pour cette analyse, nous avons étalé avec précaution les microparticules préparées sur une lame de verre. Des observations au microscope binoculaire muni d'une échelle micrométrique ont été réalisées pour l'ensemble des essais de formulation et ce en utilisant un grossissement de (×10).

V.3.2. Spectrophotométrie infrarouge (IR-TF)

Le spectrophotomètre Infrarouge (IR) est essentiellement utilisé pour l'identification des espèces chimiques, la caractérisation et la mise en évidence des différents types de liaisons présentes dans les molécules des échantillons qui sont balayés en fréquence et c'est pour cela qu'on peut dire que c'est un instrument qualitatif.

Dans notre cas, nous avons utilisé le spectrophotomètre IR pour prouver la présence du PA dans les microparticules et étudier les différentes interactions entre les différents constituants mis en jeu dans notre formulation (PLA, PVP K30 et PA). Pour cela nous avons enregistré les spectres IR des matières premières PLA, PVP K30, PA et ceux des différentes formulations entre 400-4000 cm^{-1} à température ambiante sur des pastilles contenant 80% de KBr et (2%) de chaque échantillon préparé à l'aide d'une presse hydraulique sous une pression de 75KN pendant deux minutes.

V.3.3. Chromatographie liquide à haute performance(HPLC)

La chromatographie est une méthode de séparation des constituants d'un mélange même très complexe. L'appareil est constitué des éléments suivants:

- a) **Un réservoir de solvant (éluant)** qui contient la phase mobile en quantité suffisante. Plusieurs flacons des éluant (solvants de polarités différentes) sont disponibles pour pouvoir réaliser des gradients d'éluion (mélange de plusieurs solvants à des concentrations variables) à l'aide de la pompe doseuse.
- b) **La pompe** munie d'un système de gradient permettant d'effectuer une programmation de la nature du solvant.
- c) **Auto-injecteur** : c'est un injecteur à boucles d'échantillonnage, généralement piloté par une vanne généralement électronique (électrovanne) qui permet de changer la circulation des fluides dans le système d'injection pour pouvoir tour à tour remplir la boucle d'injection et injecter son contenu dans la colonne. Le choix du volume d'injection se fait en fonction de la taille de la colonne et de la concentration supposée des produits à analyser.

d) La colonne

Une colonne est un tube construit dans un matériau le plus possible inerte aux produits chimiques, souvent en inox ou en verre. Sa section est constante, de diamètre compris entre 4 et 20 mm pour des longueurs généralement de 15 à 30 cm. Au delà, les importantes pertes de charges exigeraient des pressions de liquide beaucoup trop élevées.

e) La phase stationnaire

- **La phase normale:**

La phase normale est constituée de gel de silice. Ce matériau est très polaire. Il faut donc utiliser un éluant apolaire. Ainsi lors de l'injection d'une solution, les produits polaires sont retenus dans la colonne, contrairement aux produits apolaire qui sortent en tête.

L'inconvénient d'une telle phase, c'est une détérioration rapide au cours du temps du gel de silice, ce qui entraîne un manque de reproductibilité des séparations.

- **La phase inverse :**

La phase inverse est majoritairement composée de silice **greffée par des chaînes** linéaires de 8 ou 18 atomes de carbones (C8 et C18). Cette phase est apolaire et nécessite donc un éluant polaire (ACN, MeOH, H₂O). Dans ce cas, ce sont les composés polaires qui seront élués en premier. Contrairement à une phase normale, il n'y a pas d'évolution de la phase stationnaire au cours du temps, et la qualité de la séparation est donc maintenue constante.

f) La phase mobile :

L'interaction plus ou moins forte entre la phase mobile et la phase stationnaire normale ou à polarité inversée se répercute sur les temps de rétention des solutés. La polarité de la phase stationnaire permet de distinguer deux situations de principe :

- si la phase stationnaire est polaire, on utilisera une phase mobile peu polaire la chromatographie est dite en phase normale ;
- si la phase stationnaire est très peu polaire, on choisira une phase mobile polaire (le plus souvent des mélanges de méthanol ou d'acétonitrile avec de l'eau), c'est la chromatographie en phase inverse.

g) Détecteurs

Détecteur UV-visible (celui que nous utilisons) : il mesure l'absorption de la lumière par le produit à la sortie de la colonne. On opère à longueur d'onde constante, celle-ci ayant été fixée par l'utilisateur. La lampe Deutérium est utilisée pour des longueurs d'ondes variant de 190-350 nm et la lampe à vapeur de mercure est utilisée à la longueur d'onde non variable de 254 nm. Pour que ce type de détecteur soit utilisable, il faut que le produit à détecter absorbe la lumière à une longueur d'onde accessible à l'appareil, et que son coefficient d'absorption ϵ soit suffisamment grand; la phase mobile n'absorbe pas la lumière à la longueur d'onde choisie. [5,6] (cf. appareil de la HPLC en **Annexe 1**).

La détermination du taux d'encapsulation des microparticules préparées lors de notre expérimentation a été réalisée par HPLC. Une courbe d'étalonnage a été établie comme suit :

Préparation de la solution mère

STDm: 10mg de hydrochlorothiazide est dissous dans 50ml de méthanol.

Préparation des solutions standards

- Faire des prélèvements à partir de la solution mère selon le tableau V.8 ci-dessous ;
- Mettre dans des fioles de 20ml,
- Compléter avec NaOH 0.02N jusqu'au trait de jauge ;
- Réaliser l'analyse par chromatographie liquide à haut performance HPLC.

Conditions opératoires de l'analyse chromatographique

- Volume injection: 20 μ l ;
- Longueur d'onde (λ): 273nm ;
- Débit : 2ml /min ;
- Colonne ; C18 (10cm, 0.46 μ m, 5 μ m);
- Phase mobile :
 - ✓ Introduire 150ml d'eau distillé dans un bécher ;
 - ✓ Ajuster à PH a 2,8 par l'acide ortho phosphorique ;
 - ✓ Ajouter 350ml d'acetonitrile ;
 - ✓ Filtrer la solution avec un filtre membrane de 0,22 μ m

Tableau V.8 Préparation des solutions standards filles

Solution standard	Volume (ml)
Std1	1.8
Std2	1.4
Std3	1
Std4	0.6
Std5	0.2

Afin de déterminer le taux du principe actif encapsulé, on suit le protocole suivant :

- Introduire 5 mg de microparticules dans 1 ml de DCM ;
- Agiter avec vortex jusqu'à la dissolution ;
- Ajouter 10 ml de NaOH (0,02N) et continuer l'agitation pendant 5 min ;
- Centrifuger la solution pendant 15 min à 5000 tr/min ;
- Prélever 2 ml de surnageant dans 20 ml de NaOH (0,02N) ;
- Réaliser l'analyse de l'échantillon préparé par HPLC.

Le taux du PA encapsulé est calculé comme suit :

$$TE(\%) = \frac{Q(\text{piégé})(\text{mg})}{Q(\text{initiale})(\text{mg})} \times 100\%$$

- TE (%) : Taux d'encapsulation
- Q : Quantité du principe actif encapsulé (mg)
- Q_i : Quantité initiale du principe actif à encapsuler (mg)

V.3.4. Spectrophotométrie UV-Visible

Le principe de la spectroscopie UV Visible repose sur la transition d'un électron d'un Etat fondamental vers un état excité par excitation grâce à une interaction avec une onde électromagnétique. Le passage un état électronique à un autre état électronique d'énergie plus élevée nécessite l'absorption d'énergie sous forme de photons. Le principe du spectromètre UV Visible consiste en une source munie de deux lampes qui permettent un continuum d'émission sur toute la gamme de longueur d'onde UV Visible :

- Lampe au deutérium qui émet des longueurs d'ondes de 180 à 400 nm (UV) ;
- Lampe au tungstène qui émet des longueurs d'ondes de 400 à 800 nm (Visible).

Un monochromateur permet de sélectionner les longueurs d'ondes donc balayer la gamme en déplaçant ce monochromateur. Le faisceau de photons à la longueur d'onde sélectionnée traverse un miroir qui synchronise le mouvement du monochromateur puis le faisceau traverse l'échantillon et/ou la référence. Puis un amplificateur permet de comparer l'intensité en sortie par rapport à l'intensité d'émission [7].

Détermination de la longueur d'onde maximale d'absorption d'hydrochlorothiazide :

Pour déterminer λ_{\max} d'hydrochlorothiazide, un balayage de longueur d'onde entre 220 nm et 400 nm est effectué sur une solution contenant l'hydrochlorothiazide de concentration de 0,02 mg/ ml dans le méthanol.

Etablissement de la courbe D'étalonnage UV-visible :

Une courbe d'étalonnage à l'aide de 05 standards a été établie comme suit:

- Faire des prélèvements à partir de la solution mère selon le **tableau V.8** ci-dessus ;
- Mettre dans des fioles de 20ml ;
- Compléter avec la solution pH=6,8 jusqu'au trait de jauge ;
- Réaliser l'analyse par spectrophotométrie UV-visible.

V.3.5. Réalisation du test de dissolution:

Le test de dissolution *in vitro* appliqué aux microparticules, permet de s'assurer, qu'une fois administrés, ces derniers libèreront le PA qu'ils contiennent, pour le mettre à la disposition de l'organisme, et ceci dans les limites de concentration et de vitesse déterminées, afin de garantir l'effet thérapeutique désiré [8].

Il est donc destiné à déterminer leur plus ou moins grande aptitude à laisser passer en solution dans un milieu déterminé, le ou les PA qu'ils contiennent le passage en solution est apprécié par dosage du PA dans des échantillons prélevés dans le milieu de dissolution à intervalles de temps différents [8, 9].

Le test de dissolution *in vitro* a été réalisé dans un milieu biologique intestinal (pH=6,8) selon l'ouvrage de référence pharmaceutique «USP40-NF35» [10].

Milieu intestinal: Tampon phosphate pH=6.8

Echantillon à analyser: Microparticules de PLA contenant le Pa.

Réactifs:

- Dihydrogénophosphate de potassium monobasique(KH_2PO_4);
- Hydroxyde de sodium (NaOH);
- L'eau distillée.

Préparation du milieu :

- ❖ **KH_2PO_4 0.2N:** Dissoudre 27,22 g du phosphate de potassium monobasique (KH_2PO_4) dissoudre dans 1litre de l'eau distillée;
- ❖ **NaOH 0.2N :** Dissoudre 4g de NaOH dans 500ml d'eau distillée;
- ❖ Placez 50 ml de la solution de phosphate de potassium monobasique 0.2N dans une fiole de 200ml, ajoutez le volume de NaOH 0.2M spécifié dans le **tableau V.9**.

Tableau 9: Données USP pour les solutions tampon phosphate

Solution tampon phosphate												
pH	5.8	6	6.2	6.4	6.6	6.8	7	7.2	7.4	7.6	7.8	8
Volume NaOH 0.2M (ml)	3.6	5.6	8.1	11.6	16.4	22.4	29.1	34.7	39.1	42.4	44.5	46.1

Protocole opératoire du test de dissolution:

- ✓ Allumer le dissolu test ;
- ✓ Remplir chaque bac de dissolu-test par 500ml du milieu de dissolution préalablement préparé ;
- ✓ Régler la température à 37°C puis mettre en marche le système de chauffage et laisser stabiliser ;
- ✓ Régler l'agitation à 50tr/min ;
- ✓ Quand la température atteint 37°C ± 0,5°C, introduire dans chaque bac les microcapsules (préalablement pesées) et déclencher immédiatement l'agitation ;
- ✓ A l'aide d'une seringue de 5ml, effectuer des prélèvements chaque 30min pendant 2heures et chaque 1heures pendant 2heures ;
- ✓ Remplacer après chaque prélèvement, le volume prélève (5ml) par le même volume du milieu de dissolution ;
- ✓ Analyser les solutions par Spectrophotométrie UV-Visible à $\lambda_{\max}=273\text{nm}$.

V.3.6. Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

La microscopie électronique à balayage (MEB ou « Scanning Electron Microscopy » SEM) est une technique puissante d'observation de la topographie des surfaces. Elle est fondée principalement sur la détection des électrons secondaires émergents de la surface sous l'impact d'un très fin pinceau d'électrons primaires qui balaye la surface observée et permet d'obtenir des images avec un pouvoir séparateur souvent inférieur à 5 nm et une grande profondeur de champ [11].

Le principe du MEB est de donc de balayer un échantillon avec un faisceau d'électrons d'énergie E_0 appelés électrons primaires. Les électrons primaires pénètrent dans l'échantillon et interagissent avec la matière de façon à réémettre des électrons. Ces interactions sont de deux types : élastiques soit sans perte d'énergie ; et inélastique, avec perte de d'énergie. Ces différentes interactions conduisent les électrons sur des trajectoires aléatoires qui sont comprise dans un volume limité appelé poire d'interaction [12].

Références bibliographiques

- [1]: facts, fads, fiction, and follies. Am. J .Med. 124, pp: 986-899. **2011**.
- [2]: Carter BL, Ernst ME, Cohen J D, Hydrochlorothiazide versus chlorthalidone: evidence supporting their interchangeability, Hypertension. 43, pp: 4-9, **2004**.
- [3]: Pharmacopée européenne; 2018.
- [4]: Ouvrage de référence pharmaceutique <<USP40-NF 38>>.
- [5]: Nevin Erk., “Simultaneous Determination of Irbesartan and Hydrochlorothiazide Human Plasma by Liquid Chromatography”, J. Chromatogr. B, 2003, 784(1) 195-201.
- [6]: Sachin Bhagwate and N. J. Gaikwad., Stability Indicating hplc Method for the determination of Hydrochlorothiazide in Pharmaceutical Dosage form. J App Pharm Sci. 2013; 3 (02): 088-092.
- [7]: GROSS.J. (2011). «Caractérisation de surfaces bio fonctionnalisées pour l'étude de protéines de la chaîne respiratoire par spectroscopie infrarouge couplée à l'électrochimie ». Thèse Doctorat. Université de Strasbourg.
- [8]: A.Le Hir. Biodisponibilité des formes orales. In : Abrégés de pharmacie galénique, Bonnes pratiques de fabrication des médicaments, 8ème édition. Masson, 2001. p: 290-304.
- [9]: BEYSSAC E, BILLON-CHABAUD A, GAUTIER H. Gélules, Capsules molles et contrôle biopharmaceutique des formes orales solides. In: Wehrlé P, Pharmacie galénique: Formulation et technologie pharmaceutique. Paris : Maloine; 2007: 71-106.
- [10]: Ouvrage de référence pharmaceutique <<USP 40-NF 35>>.
- [11]: H. PAQUETON, J. RUSTE, Microscopie électronique à balayage. Principe et équipement. Techniques de l'Ingénieur, P 865v2 (2006).
- [12]: DELVALLEE .A .(2014) «Métrologie dimensionnelle de nanoparticules mesurées par AFM et par MEB» . Thèse Doctorat –école polytechnique, université de paris-Saclay).

VI.1 Taux d'encapsulation

La détermination du taux d'encapsulation d'Hydrochlorothiazide est réalisée à l'aide de l'équation de la courbe d'étalonnage des solutions standards dosées par Chromatographie Liquide à Haut Performance (HPLC) (**Figure VI.1**).

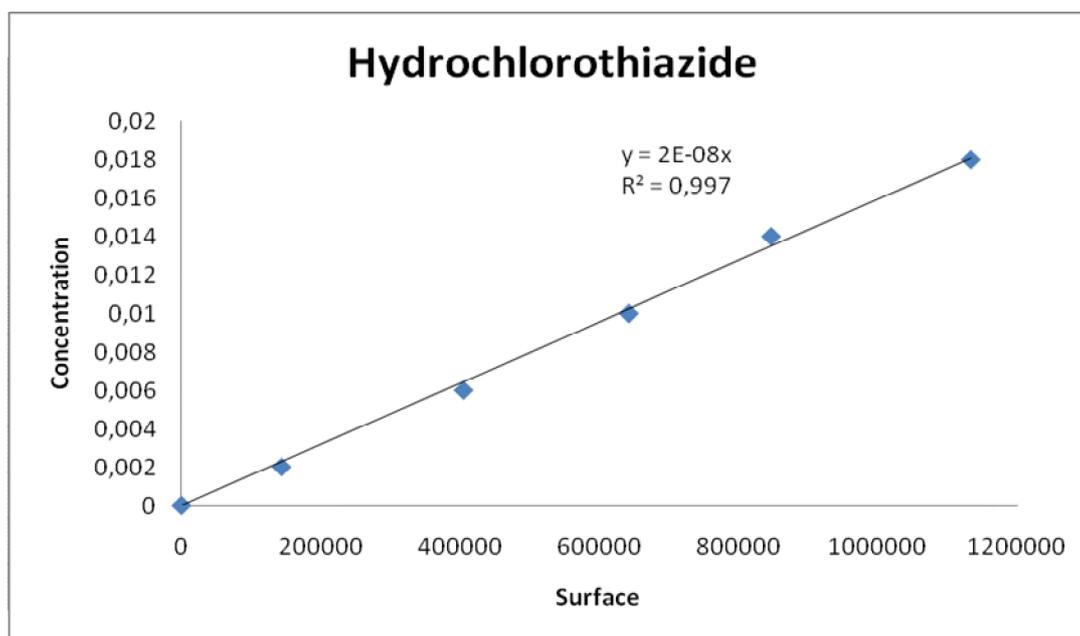


Figure VI.1 : Courbe d'étalonnage d'Hydrochlorothiazide (HPLC)

Les résultats expérimentaux du taux d'encapsulation des différentes formulations sont donnés par le **tableau VI.1** suivant :

Tableau VI.1: Résultats expérimentaux du taux d'encapsulation d'HCTZ

Nom de l'essai	PLA (mg)	PVPK30 (mg)	TE HCTZ(%)
H1	150	0	13,26
H2	150	50	58,93
H3	300	0	60,38
H4	100	0	17,31
H5	200	0	24,10
H6	75	0	72,01
H7	300	50	85,35
H8	75	25	75,88
H9	200	75	55,33
H10	250	25	12,56
H11	200	25	11,44

Observation et interprétation des résultats relatifs au taux d'encapsulation du PA par HPLC :

- **Effet de la quantité du PLA sur le taux d'encapsulation :**

D'après les résultats regroupés dans le **tableau VI.1** ci-dessus, nous constatons que pour les formulations exemptes de PVPK30 (H1, H4 et H6), le taux d'encapsulation du principe actif est inversement proportionnel à la quantité du PLA. Autrement dit, plus la masse du PLA augmente, plus le taux d'encapsulation décroît à l'exception des 02 essais H5 (200mg PLA) et H3 (300mg PLA) qui font améliorer nettement le taux d'encapsulation par rapport aux essais H1 et H4 avec l'augmentation de la quantité du PLA utilisée particulièrement pour l'essai H3 présentant un taux d'encapsulation de 60,38 %.

Pour les autres formulations contenant de PVPK30 (H2, H8, H9, H10 et H11) le taux d'encapsulation du principe actif est inversement proportionnel à la quantité du PLA. Autrement dit, plus la masse du PLA augmente, plus le taux d'encapsulation décroît à l'exception de la formulation H7 contenant la quantité la plus élevée en PLA (300mg) et 50mg de PVPK30 qui correspond au taux maximal d'encapsulation d'Hydrochlorothiazide obtenu par notre matrice des essais réalisés lors de notre expérimentation (85,35 %).

- **Effet de la quantité du PVPK30 sur le taux d'encapsulation :**

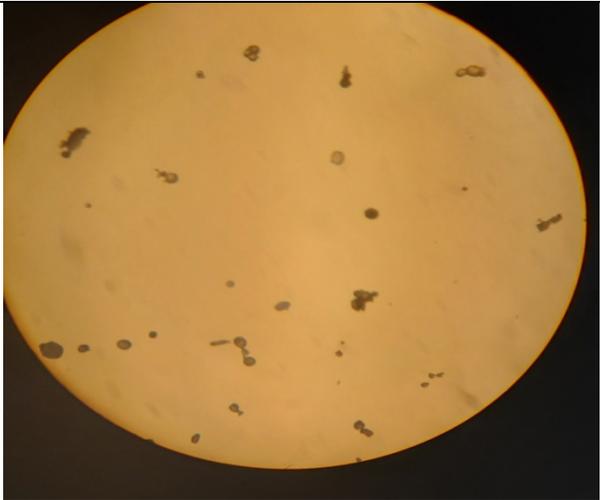
D'après les résultats regroupés dans le **tableau VI.1** ci-dessus, nous constatons que le meilleur taux d'encapsulation du principe actif étudié est obtenu pour la formulation H7 contenant 50mg de PVPK30 (85,35%) correspondant à la quantité maximale de PLA (300mg) dans la formulation. En revanche, avec la quantité minimale du PVP utilisée (25mg), le taux d'encapsulation atteint la valeur de 75,88 % (H8) correspondant à la quantité minimale de PLA (75mg) dans la formulation. En effet, l'augmentation de la quantité du PVP jusqu'à 75mg n'a pas amélioré le taux d'encapsulation de la formulation (H9) contenant une quantité moyenne de PLA 200 mg.

VI.2. Caractérisation par Microscopie Optique des microparticules formées

Les microparticules formées lors de notre étude ont été caractérisées par microscopie optique avec un grossissement de 10 fois. Les résultats obtenus sont présentés dans le **tableau VI.2** Ci-dessous.

Tableau VI.2 : Caractérisation des microparticules par microscopie optique

Essai	Aspect microscopique × 10	Observations
<p>H3</p>		<p>Présence de microparticules sous forme sphérique</p>
<p>H5</p>		<p>Présence de microparticules sous forme sphérique</p>

<p>H6</p>		<p>Présence de microparticules sous forme sphérique de taille différente</p>
<p>H8</p>		<p>Présence de microparticules sous forme sphérique</p>
<p>H11</p>		<p>Présence de microparticules sous forme sphérique</p>

L'analyse par Microscopie Optique des échantillons préparés par microencapsulation indique la présence de microparticules sous forme sphérique, de taille relativement différente.

VI.3. Etude de la cinétique de libération *in vitro* des microparticules

L'analyse par UV-Visible du principe actif Hydrochlorothiazide nous a permis de déterminer son absorbance maximale à une longueur d'onde de 273nm (λ_{max}), comme s'est présenté sur la **figure VI.2 (Annexe III)**. L'équation de la courbe d'étalonnage des solutions standards dosées par UV-Visible est présentée sur la **figure VI.3 (Annexe III)**. Les profils de dissolution *in vitro* à pH 6,8 des microparticules obtenues par les différentes formulations sont présentés graphiquement sur les **figures VI.4 et VI.5**.

*Formulations sans PVPK30 :

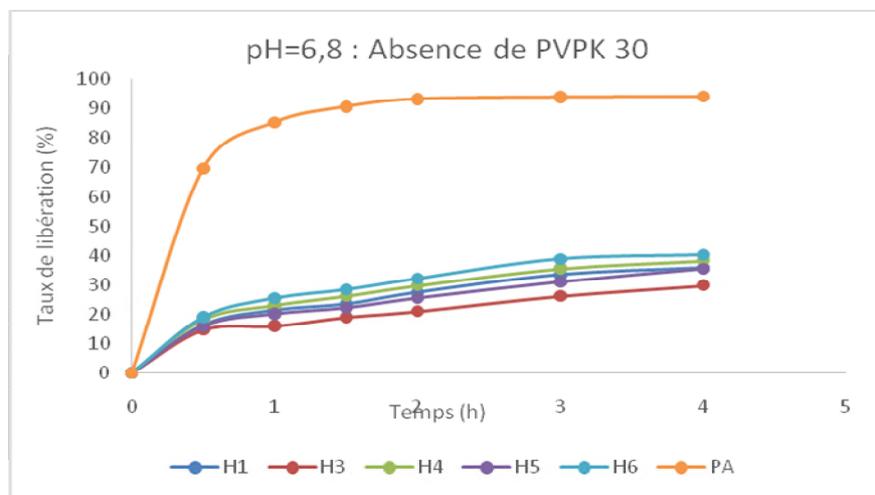


Figure VI.4 : Profils de libération en absence de PVPK30

*Formulations de PVPK30 :

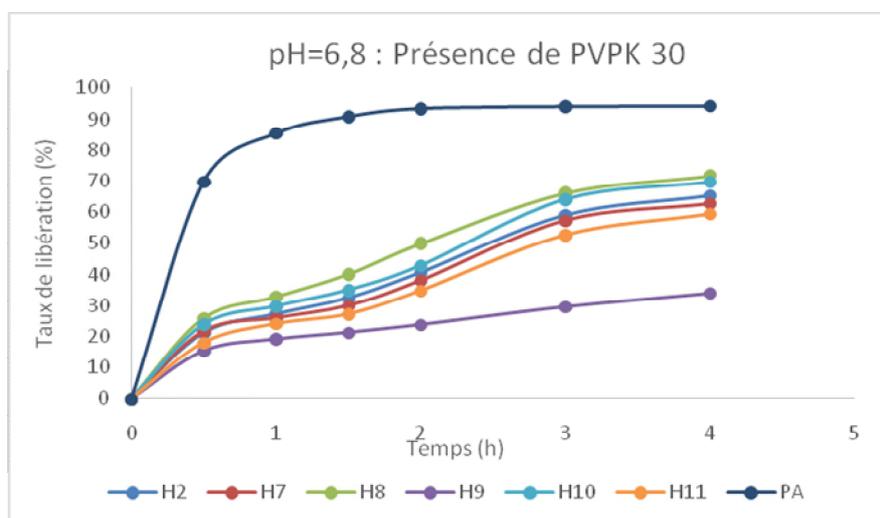


Figure IV.5 : Profils de libération en présence de PVPK30

Interprétation des résultats obtenus:

D'après les résultats de la cinétique de libération des différents essais de formulation, représentés sur les **Figure VI.4 VI.5**, les microparticules montrent un profil de libération prolongée jusqu'à 04 heures de dissolution *in vitro* avec un taux de dissolution variant entre 30% et 70%.

Parmi les formulations sans PVPK30, une libération plus lente à été observée pour la formulation de (H3), contenant la quantité maximale de PLA (300mg). En effet la dissolution de cette formulation ne dépasse pas 30% après 04 heures. A noter que la formulation H3 montre un profil de libération similaire à celui de H9 même si cette dernière contient une quantité maximale de PVPK30 (75mg) et 200mg de PLA. Ceci rejoint l'interprétation émise au sous-chapitre VI.1 où l'augmentation de la quantité du PVP jusqu'à 75mg n'a pas amélioré le taux d'encapsulation de la formulation (H9).

Une meilleure dissolution à été observée pour les formulations (H8, H10, H2, H7 et H11) dans le milieu intestinal. Ceci est probablement due à la présence du polymère PVPK30 qui a fait en sorte d'améliorer l'hydratation des microparticules par la création de canaux, Ceci concorde parfaitement avec les travaux réalisés antérieurement par Costa et al. 2013 [1] prouvant l'effet du PVP sur l'amélioration de la biodisponibilité du principe actif.

Il est important donc de souligner que le taux de dissolution d'hydrochlorothiazide a été amélioré pour les formulations contenant du PVPK30 jusqu'à 70% par rapport à celles ne contenant pas ce polymère où le taux de dissolution d'hydrochlorothiazide ne dépasse pas 40%.

VI.4. Caractérisation par microscopie électronique à balayage (MEB)

La **figure VI.6** montre la forme d'hydrochlorothiazide avant l'encapsulation, La figure **VI.7** montre les microparticules formées après l'encapsulation d'hydrochlorothiazide par le PLA (H3) en utilisant la technique d'évaporation de solvant.

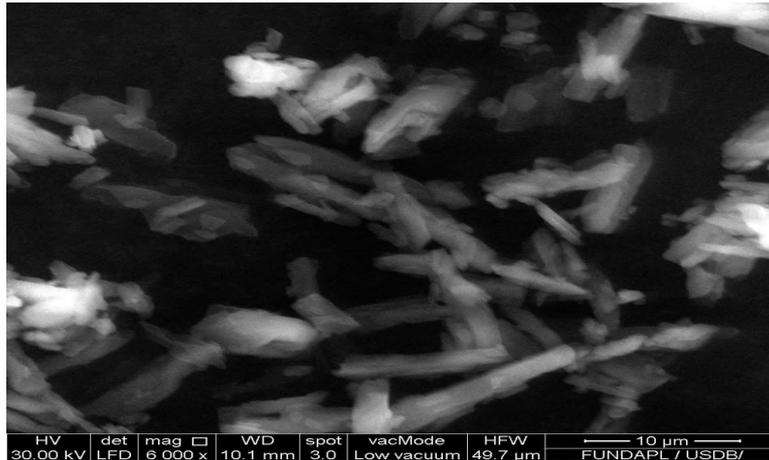


Figure VI.6: Micrographie par MEB d'hydrochlorothiazide

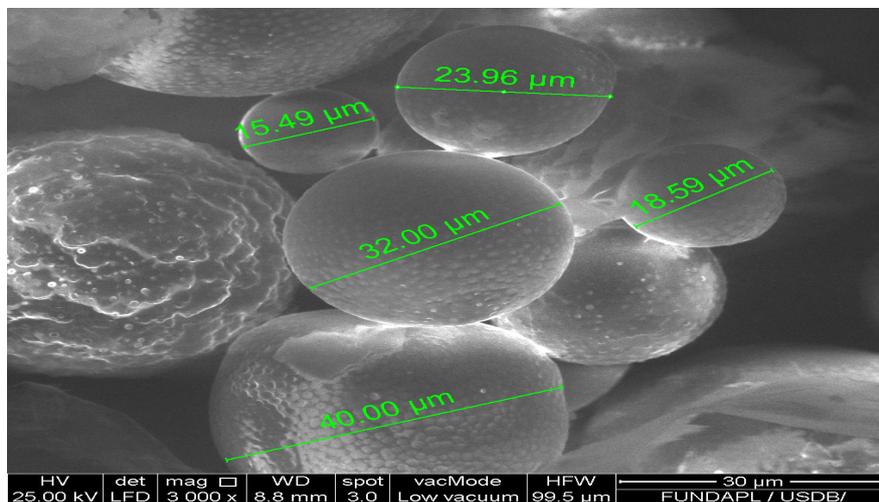


Figure VI.7 : Micrographie par MEB des microsphères de la formulation H3

Interprétation des résultats obtenus

Les microparticules obtenues par la formulation H3 (**Figure VI.7**) ont une forme sphérique avec une taille variant entre 15µm et 40µm.

VI.5. Caractérisation des microparticules par spectroscopie infrarouge

L'analyse IR-TF a été utilisée pour confirmer la présence des bandes caractéristiques d'Hydrochlorothiazide dans les microsphères ainsi que pour étudier les éventuelles interactions entre les différents constituants de la formulation. Les spectres IR-TF des matières premières Hydrochlorothiazide, PLA et PVPK30 et celui de la formulation H3 ont été enregistrés entre 400 et 4000 cm.

Spectre IR-TF d'Hydrochlorothiazide :

Le spectre d'Hydrochlorothiazide est représenté sur la **figure VI.8** ci-dessous.

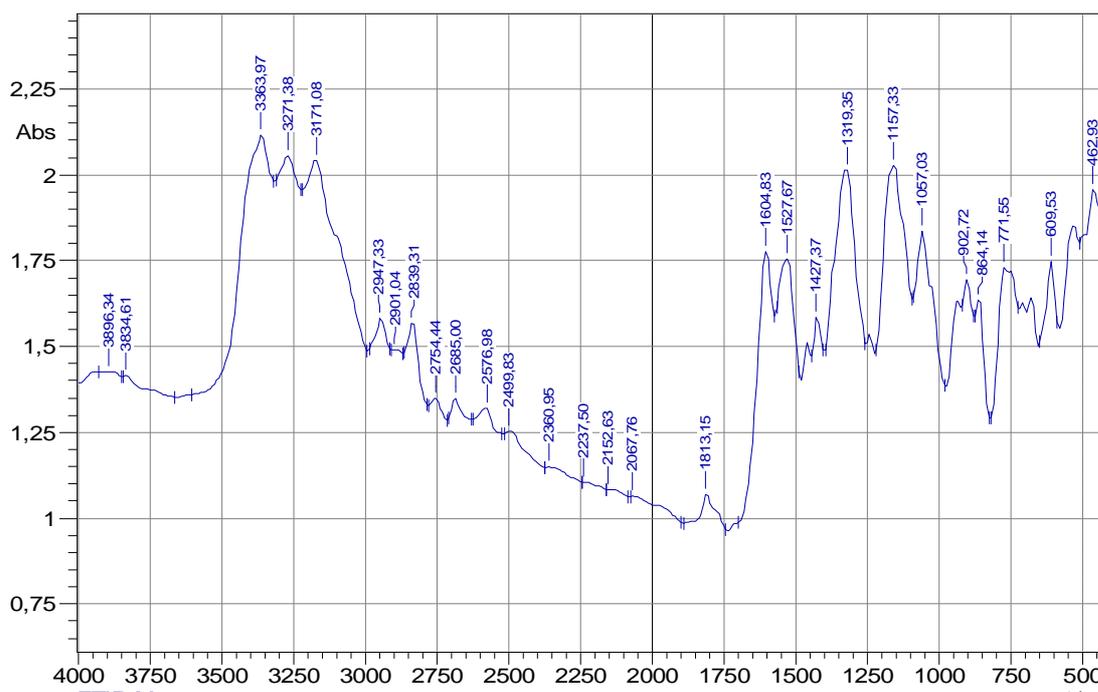


Figure VI.8 : Spectre IR-TF d'Hydrochlorothiazide

Le **tableau VI.3** rassemble les principales bandes caractéristiques d'Hydrochlorothiazide [2].

Tableau VI.3: Principales bandes caractéristiques d'Hydrochlorothiazide [2]

Nombre d'onde cm^{-1}	Attribution
3363	N—H
3171	C—H
2947	=CH ₂
1527-1604	C=C (aromatique)
1319	Asy S=O
1157	SyS=O
1057	C—N
771	C—Cl
609	C—H

Sy=symétrique, Asy= asymétrique

Spectre IR-TF du PVP K30 :

Le spectre du PVPK30 est représenté sur la **figure VI.9** ci-dessous.

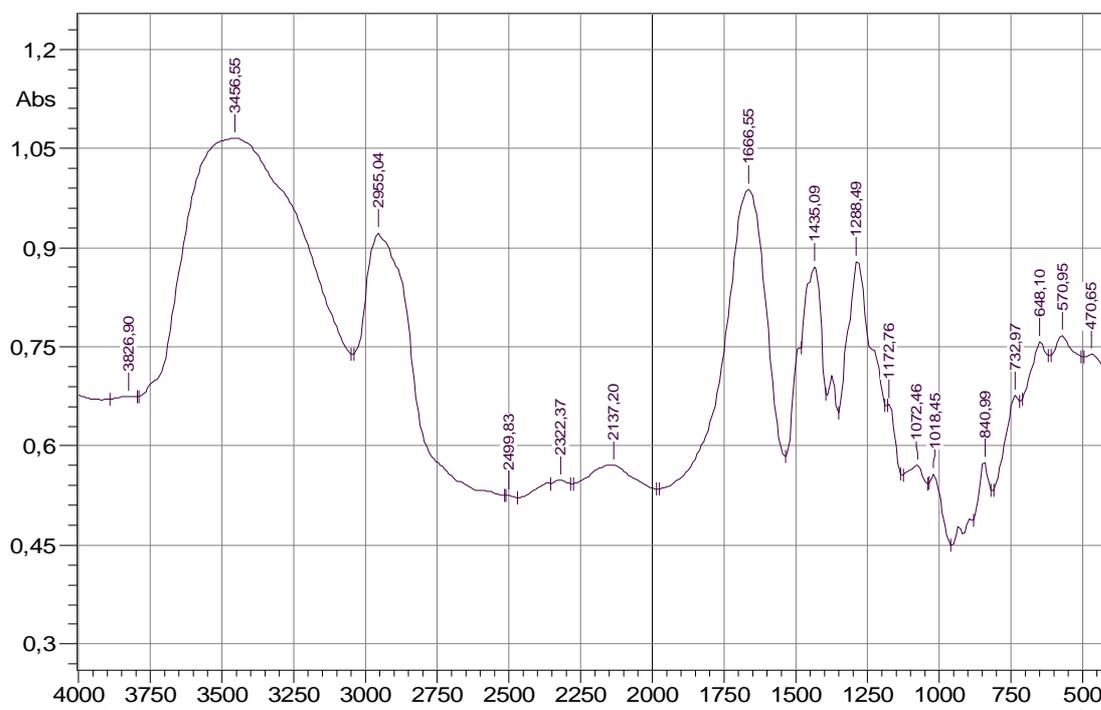


Figure VI.9 : Spectre IR-TF PVP K30

Le **tableau VI.4** donne les principales bandes caractéristiques du PVP K30 [3].

Tableau VI.4 : Principales bandes caractéristiques du PVP K30 [3]

Nombre d'onde cm^{-1}	Attribution
3456,55	ν OH (COOH)
2955,04	ν CH ₃
1666,55	ν C=O Forte
1435.09	δ CH ₃
1172.76	ν C-O-C (ester)
1072.46	ν C-O-C
840.99	ν C-COO

ν = vibration ; δ = vibration de déformation

Spectre IR-TF du PLA:

Le spectre IR du PLA est représenté sur la **figure VI.10**.ci-dessous.

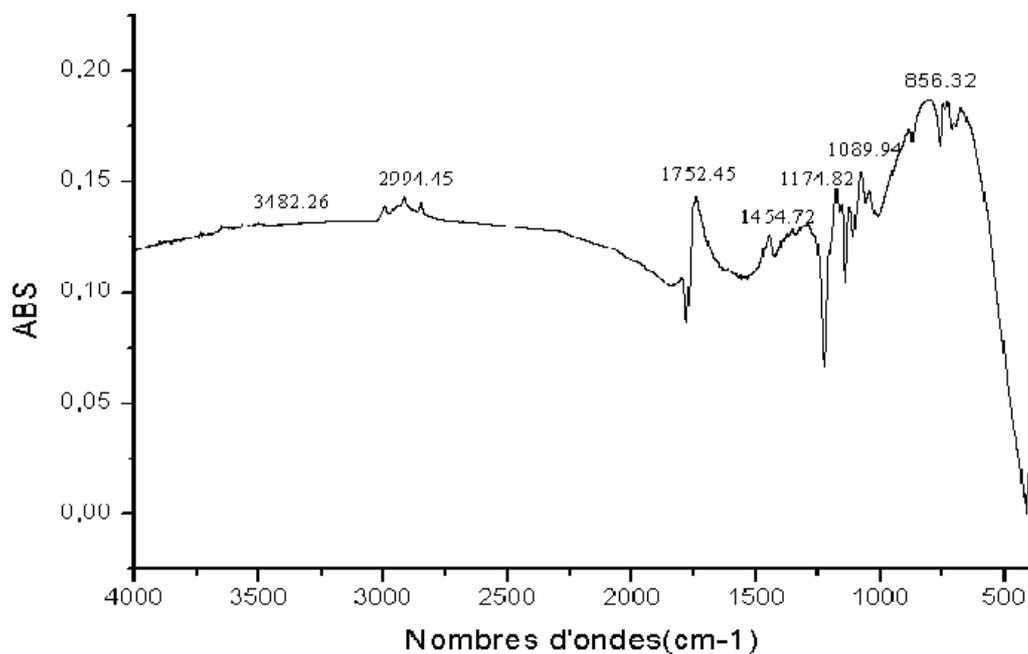


Figure VI.10 : Spectre IR-TF du PLA

Le tableau VI.5 donne les principales bandes caractéristiques du PLA [4, 5].

Tableau VI.5 : Principales bandes caractéristiques du PLA [4, 5].

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Attribution
3482,26	vas OH (COOH)
2994.45	vas CH3
1752,45	v C=O Forte
1454,72	δas CH3
1174,82	vas C-O-C (ester)
1089,94	vs C-O-C
856,32	v C-COO

s= symétrique ; as= asymétrique ; v= vibration ; δ= vibration de déformation

Spectre IR-TF des microparticules de la formulation H3

Le spectre IR des microparticules de la formulation H3 est représenté sur la **figure VI.11**.

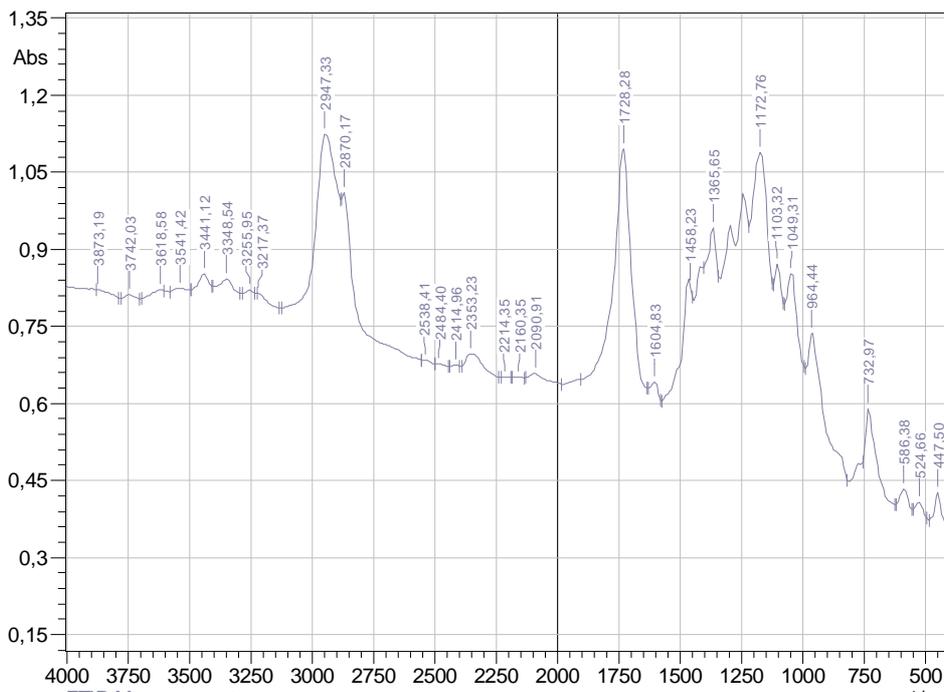


Figure VI.11 : Spectre IR-TF de la formulation H3

Interprétation des résultats :

D'après le spectre IR des microsphères de la formulation H3, nous remarquons l'apparition des bandes caractéristiques d'Hydrochlorothiazide (3356 cm^{-1} (N-H) ; 3178 cm^{-1} (C-H) ; 2947 cm^{-1} (=CH₂) ; 1604 cm^{-1} (C=C) ; 1365 cm^{-1} (S=O) ; 1049 cm^{-1} (C-N) ; 732 cm^{-1} (C-Cl)) révélant la présence de ce principe actif dans les microsphères préparées par la technique d'évaporation par solvant.

Nous remarquons également que les principales bandes des polymères apparaissent dans le spectre IR de la formulation H3 ($3000\text{-}3600\text{ cm}^{-1}$ (COOH) ; 2994.45 cm^{-1} (CH₃), 1755 cm^{-1} (C=O) Forte-1, 1454 cm^{-1} (CH₃), $1089,94\text{ cm}^{-1}$ C-O-C).

Enfin, nous pouvons conclure que l'absence de décalage des pics caractéristiques des différents constituants de la formulation laisse supposer l'absence d'interactions chimiques entre les polymères utilisés et le principe actif Hydrochlorothiazide étudié.

Références bibliographiques

- [1] : da Costa, M.A., Seiceira, R.C., Rodrigues, C.R., Hoffmeister, C.R.D., Cabral, L.M., Rocha, H.V.A., 2013. Efavirenz Dissolution Enhancement I: Co-Micronization. *Pharmaceutics* 5, 1– 22. doi:10.3390/pharmaceutics5010001
- [2] :Gudapa Reddy Rajareddy et al. *Int. Res. J. Pharm.* 2013, 4 (6).
- [3] :A. GADIRI.2018 « synthèse et caractérisation du polyvinylpyrrolidone application a la rétention des métaux ».Thèse . UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEN.
- [4]: Nugraha Edhi.S., 2006. « DEVELOPPEMENT DE FILMS BIODEGRADABLES A BASE DE CHITOSANE: Etudes du Mélange Chitosane/PLA, de la Plastification et de la Compatibilisation », Thèse de Doctorat, Université de Reims.
- [5]: Zhong-cheng.Z, Ruan.J-M, Huang.B-Y, Li.Y-J, Zou.J-P, Zhang H-B., 2005. « Preparation and characterization of poly (D,L-lactide) and its porous biomaterials ». *J. Cent. South Univ. Technol.* 12 (1) 1-4.

L'objectif principal de cette étude consiste à élaborer une forme galénique à libération prolongée et à améliorer la biodisponibilité d'Hydrochlorothiazide. Pour cette étude, nous avons préparé une série de formulations à base de cet antihypertenseur encapsulé par un polymère biodégradable ; l'acide poly lactique (PLA). Ce principe actif a été incorporé dans une matrice polymérique par la méthode d'émulsion simple et d'évaporation du solvant. Les microsphères obtenues ont été caractérisées par différentes techniques tels que la microscopie optique, l'analyse par microscopie électronique à balayage (MEB), l'analyse IR-TF, la spectroscopie UV-Visible et le test de dissolution *in vitro*.

L'analyse par microscopie électronique à balayage (MEB) a montré des microsphères de forme sphérique et de taille variable. Le diamètre moyen des microsphères est compris entre 15µm et 40µm, taille conforme à la norme des microsphères.

Les résultats du taux d'encapsulation obtenus par la technique d'analyse HPLC nous ont permis de conclure que le taux d'encapsulation d'Hydrochlorothiazide est inversement proportionnel à la quantité du PLA introduite. Le meilleur taux d'encapsulation est obtenu pour la formulation H7(85,35%).

L'étude de cinétique de dissolution *in vitro* des microsphères préparées, réalisée à pH 6,8 montre un profil de libération prolongée jusqu'à 04 heures pour l'hydrochlorothiazide. De plus, l'utilisation du PVPK30 améliore la dissolution de ce principe actif.

Enfin, les résultats de l'IR-TF révèlent l'absence probable d'interactions entre le principe actif étudié et le polymère utilisé.

Comme perspectives à cette étude expérimentale, il serait intéressant de réaliser des tests de dissolution *in vitro* dans un milieu gastrique pour les microsphères d'Hydrochlorothiazide et aussi s'intéresser à d'autres méthodes de microencapsulation et de caractérisation physicochimique.

Annexe I

Equipements de préparation



Balance analytique de marque (SCALTEC)



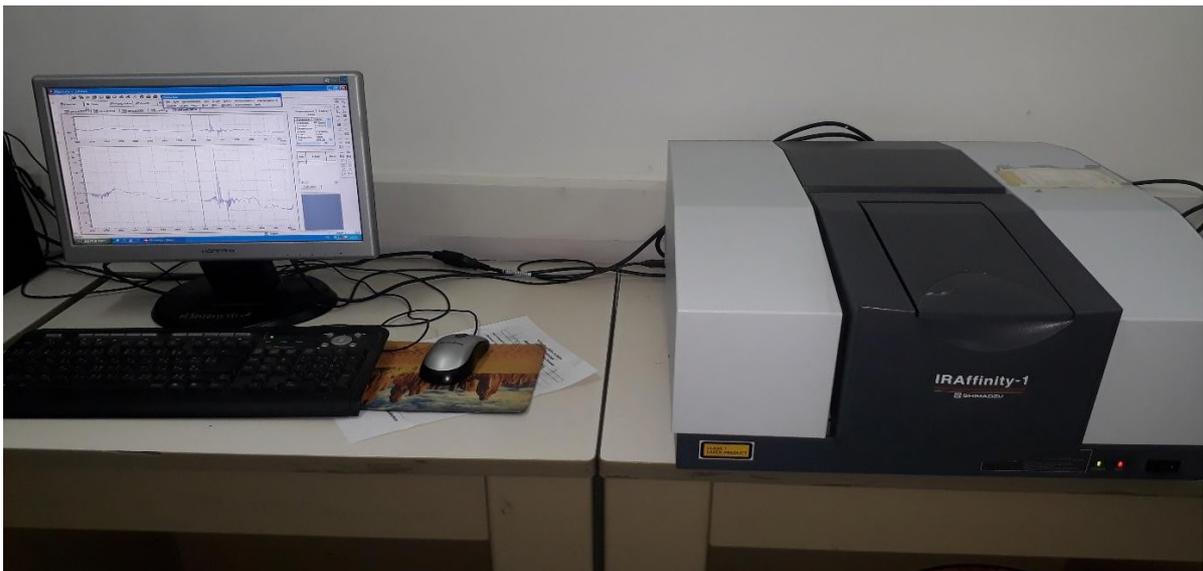
Dispositif de filtration sous vide

Annexe I

Equipements de contrôle



pH –mètre de marque (METROHM)



Appareil IR AFFINITY-1 de marque (SHIMADZU)

Annexe I

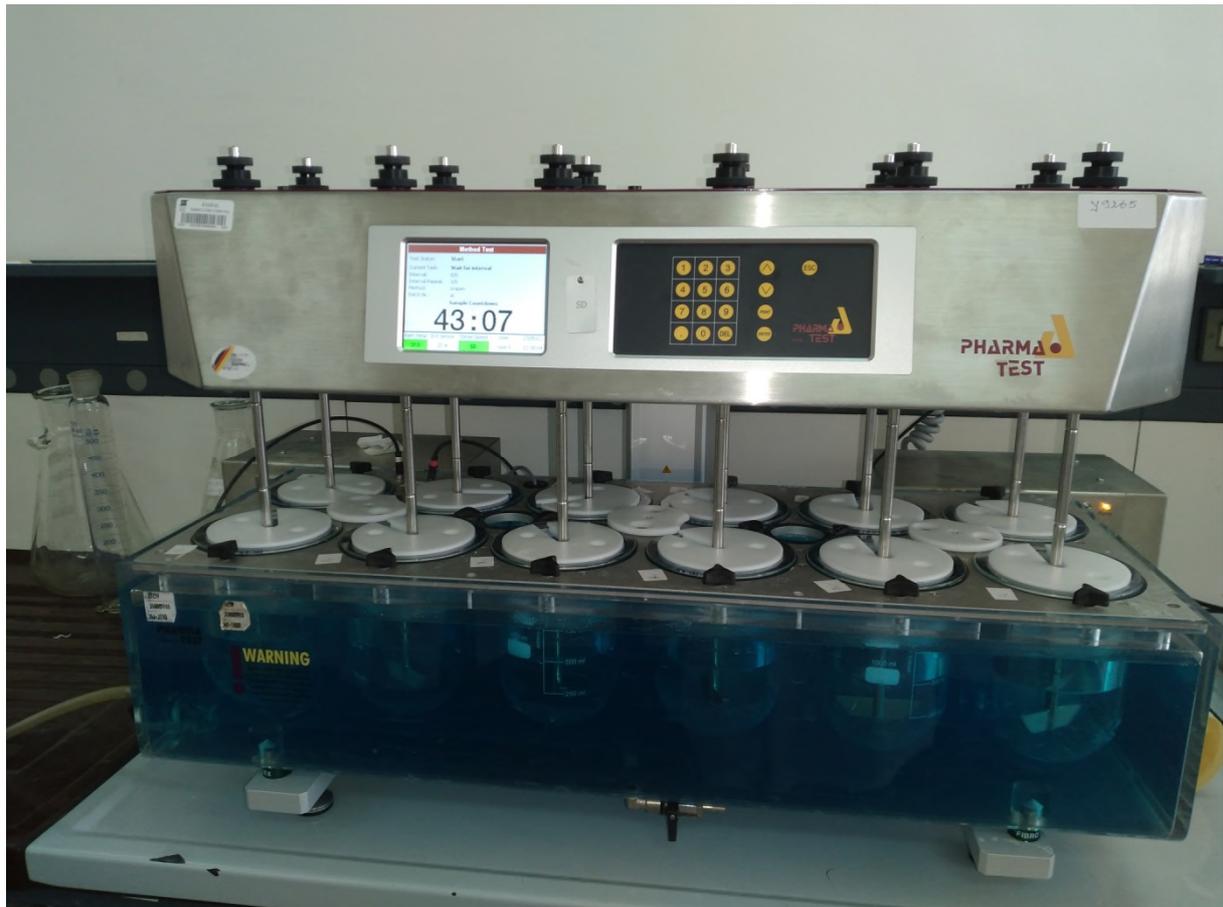


Chromatographie liquide à haute performance (HPLC), de marque Perkin Elmer série 200



Microscope optique de marque (OLYMPUS)

Annexe I



Dissolu test, marque PHARMA TEST

Annexe II

Taux de Libération d'hydrochlorothiazide dans le milieu intestinal (pH =6.8)

Taux(%) Formulation	30min	1H	1H30	2H	3H	4H
H1	16.46%	21.54%	23.65%	27.67%	33.76%	36.08%
H2	21.18%	27.31%	32.53%	40.66%	59.02%	65.29%
H3	14.73%	16.01%	19.03%	21.05%	26.27%	29.83%
H4	18.25%	23.12%	26.30%	29.85%	35.66%	38.37%
H5	16.00%	20.14%	22.20%	25.52%	31.05%	35.50%
H6	19.04%	25.50%	28.44%	32.18%	38.92%	40.32%
H7	21.73%	26.01%	30.03%	38.05%	57.25%	62.63%
H8	25.90%	32.85%	40.07%	49.83%	66.04%	71.62%
H9	15.32%	19.12%	21.30%	23.85%	29.66%	33.97%
H10	23.90%	29.85%	35.07%	42.83%	64.04%	69.62%
H11	18.00%	24.12%	27.30%	34.85%	52.66%	59.37%
PA	69.67%	85.25%	90.63%	93.25%	93.89%	94.05%

Annexe III

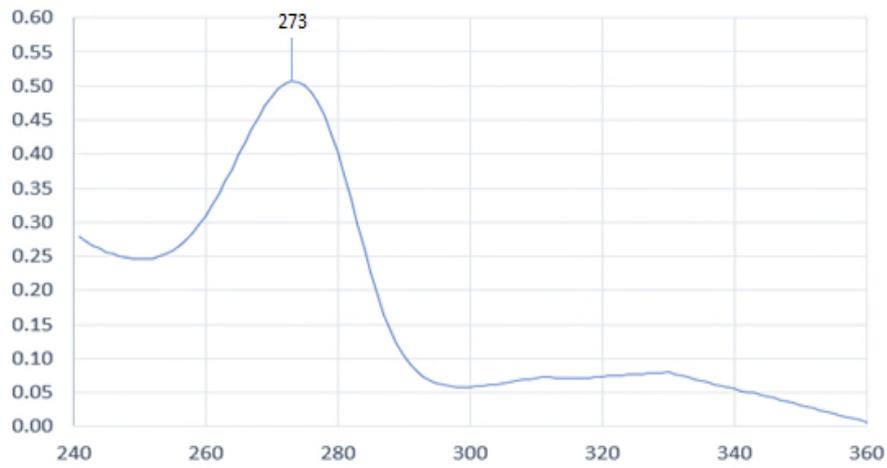


Figure VI.2: Longueur d'onde maximale d'absorption d'hydrochlorothiazide

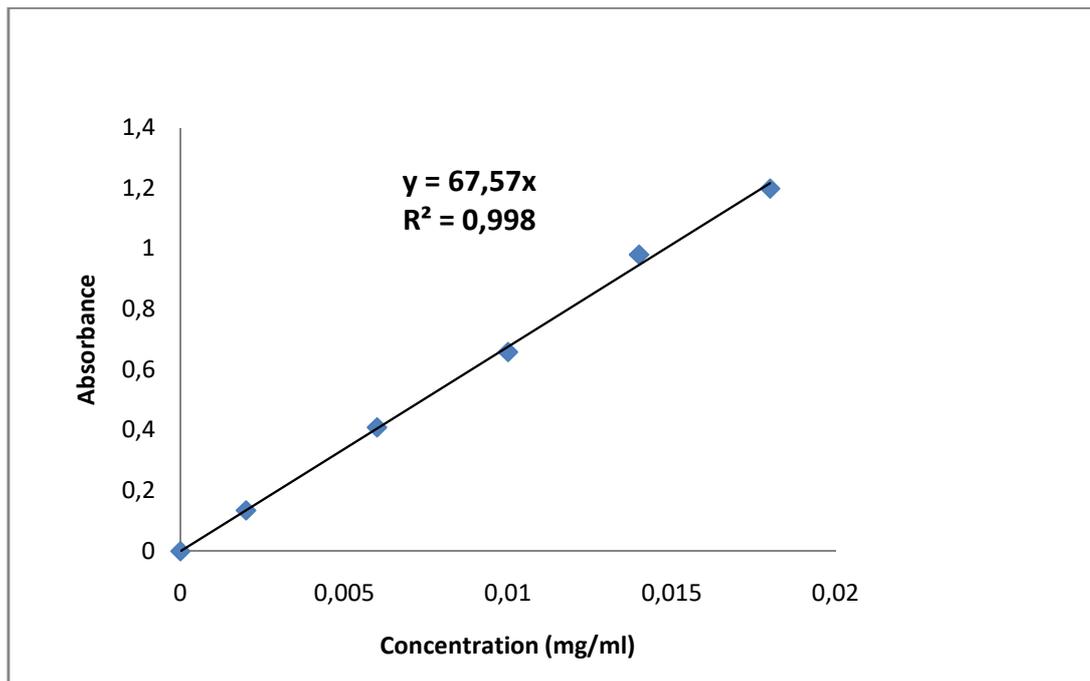


Figure IV.3 : Courbe d'étalonnage de solutions standards dosées par UV-Visible

Résumé

La maladie de l'hypertension artérielle nécessite des prises répétées de médicaments antihypertenseurs par différentes voies, entre autres la voie orale qui est une mode d'administration traumatisant mais qui peut aussi poser un problème d'observance du traitement chez le patient. Dans le but de pallier à ces difficultés, nous avons envisagé le développement d'une nouvelle forme galénique susceptible de faciliter la mise au point d'un système thérapeutique (Microparticules) par voie orale à libération prolongée. Ces microparticules sont chargées d'un antihypertenseur, l'Hydrochlorothiazide, préparée par la technique d'évaporation du solvant en utilisant un polymère biodégradable ; le Poly acide lactique (PLA). Les microsphères obtenues ont été caractérisées et quantifiées par différentes techniques d'analyse. Les résultats de l'étude quantitative par HPLC montre que le taux d'encapsulation de l'Hydrochlorothiazide est inversement proportionnel à la quantité du PLA utilisée. L'analyse par Microscopie Electronique à Balayage (MEB) a montré des microsphères de forme sphérique et de taille comprise entre 15 μ m et 40 μ m. L'étude cinétique de la dissolution *in vitro* des microsphères préparées, réalisée à pH=6,8 montre que l'utilisation du PVPK30 améliore la dissolution du principe actif étudié.

Mots clés : Encapsulation, Hydrochlorothiazide, Poly acide lactique(PLA), Poly vinyl pyrrolidone (PVP), Dissolution, antihypertenseurs