REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA



Faculté de **T**echnologie

Mémoire de fin d'études de Master

Filière : Génie des Procédés
Spécialité : Génie des Procédés des Matériaux

Encapsulation d'un antihypertenseur par un bio-polymère

Présenté par :

- **M^{lle} BOUKHERCHEF Fatima**
- **M^{lle} RAHMANI Soumia**

Proposé et Dirigé par :

- **Dr. LAIDI Maamar**
- **M. Zouambia Fouad**
- **M. Hentabli Mohamed**

Promotion 2019-2020

REMERCIMENT

Le travail de ce mémoire s'inscrit dans le cadre d'un projet de fin d'études réalisé à l'université YAHIA FARES de Médéa.

En premier lieu, nous remercions Dieu le tout puissant de nous avoir donné la volonté et le courage pour réaliser ce travail.

Je tiens à adresser mes plus sincères remerciements à mon promoteur Docteur LAIDI Maamar et a mon Co-promoteur Monsieur Zouambia Fouad et Monsieur HANTABLI Mohamed pour leurs temps précieux qu'ils nous ont consacré, qui ont dirigé et suivi nos travaux et qui ont toujours su nous faire confiance et nous apporter l'aide nécessaire, tant sur le plan scientifique que moral.

Nous présentons aussi nos sincères remerciements à tous les enseignants du département du génie des procédés et environnement qui ont contribué à notre formation.

Nos remerciements vont aussi au Dr. Cherif SI-MOUSSA et au Pr. Othmane BENKORTEBI et Pr. Salah HANINI, pour avoir accepté de juger ce travail.

Enfin, à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail trouvent ici l'expression de nos sincères remerciements.

قال تعالى و ما توفيقي إلا بالله عليه توكلت و إليه أنيب

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifie pour me voir réussir, à toi mon père mouhamed abad

A la lumière de mes jours, la source de mes effort , la flamme de mon coeur, ma vie et mon bonheur, maman fatiha que j'adore.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, a tous frères et sours : hamide akila ali mariem lwisa fahima

mes neveux malak et mes nièces mohamed douaa ibtihal abdelrahman abdelali mariem assoum

Et les fammes de mes frères hayat et hala

Je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leur conseils aides, et encouragement fouad zouambia

A mes amies fella et safa

Dédicace spécial

Pour ma soeur , mon amie et mon binome soumia rahmani.

قال تعالى (و ما توفيقي إلا بالله عليه توكلت و إليه أنيب)

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifie pour me voir réussir, à toi mon père ahmed .

A la lumière de mes jours, la source de mes effort , la flamme de mon coeur, ma vie et mon bonheur, maman masouda que j'adore.

Aux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour, a tous frères et sour : mohamed mourad farid benaissa hanan.

Et la famme de mon frère assia

Je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leur conseils aides, et encouragement Zouambia Fouad

A mes amies fella , safa .

Dédicace spécial

Pour ma soeur , mon amie et mon binome fatima boukherchef

Résumé : Encapsulation d'un anti-hypertensif par un polymère biodégradable

Dans ce travail nous sommes intéresses d'atteindre un triple objectif, le premier est d'encapsuler selon le procède d'évaporation de solvant un principe actif (PA) : hydrochlorothiazide dans une matrices polymériques biodégradables d'acide poly-lactique (PLA). Le second est d'étudier l'effet de certains paramètres d'encapsulation {masse de PLA, vitesse d'agitation de l'émulsion et volume de la solution aqueuse} sur le rendement d'encapsulation {taux d'encapsulation des microcapsules et la perte en PA} en utilisant la méthodologie des plans d'expérience intégrée dans le logiciel Modde 6. Le dernier objectif est d'étudier la cinétique de libération du principe actif in vitro dans un milieu simili {milieu gastrique pH=1.2 et milieu intestinal pH=7.4}. Les points suivants résument les résultats de la meilleure formulation :

- Le taux d'encapsulation maximale est obtenu par la formulation N°22
- La libration du PA est mieux favorisée par la formulation N°13 dans les deux milieux après 8 heures de dissolution.

Mots clés : Encapsulation, principe actif, libération, hydrochlorothiazide, acide poly- lactiqu **.**

Summary: Encapsulation of an anti-hypertensive by a biodegradable polymer

In this work we are interested in achieving a triple objective, the first is to encapsulate according to the process of simple coacervation (by solvent evaporation) an active principle (PA): hydrochlorothiazide in a biodegradable polymeric matrices of poly-lactic acid (PLA). The second is to study the effect of certain encapsulation parameters {mass of PLA, stirring speed of the emulsion and volume of the aqueous solution} on the encapsulation yield {encapsulation rate of the microcapsules and the loss in PA} using the methodology of experimental designs integrated in the Modde6 software. The last objective is to study the kinetics of release of the active principle in vitro in a similar medium {gastric medium pH = 1.2 and intestinal medium pH = 7.4}. The following points summarize the results of the best formulation:

- The maximum encapsulation rate is obtained by formulation No. 22
- The release of the AP is better promoted by formulation No. 13 in both media after 8 hours of dissolution.

Key words: Encapsulation, active principle, release, hydrochlorothiazide, polylactic acid

Table de matière

Chapitre 1

I. INTRODUCTION GENERALE 1

IIFORMES A LIBERATION PROLONGEE

II.1 Historique 3

II.2 Définition 3

II.3. Les avantages de la libération contrôlée 4

II.4. Systèmes de libération prolongée 4

II.5. Mécanismes de la libération contrôlée 7

II.5.1. *Systèmes à libération déclenchée* *7*

II.5.2. *Systèmes à libération prolongée* *7*

III. LA MICROENCAPSULATION

III.1. Historique 9

III.2. Définition 9

III.2.1. Les nanoparticules 10

III.2.2. Les liposomes 10

III.2.3. Les microparticules 11

III.3. Intérêts de la micro encapsulation 12

III.4. domaine d'utilisation de la micro-encapsulation 13

III.5. Critères de choix de la formulation et du procédé 14

III.6. Procédés d'encapsulation 14

III.6.1. Procédés physico-chimique 15

III.6.2. Procédés chimiques 17

III.6.3. Procédés mécaniques 19

III.7. Principaux matériaux d'encapsulation 21

IV. Médicament de la cardiologie 22

Chapitre 2

1. Introduction 23

2. Méthode de préparation des microcapsules 23

3. Plan d'expérience 27

4. Calcule de taux d'encapsulation 29

5. Dosage de principe actif par HPLC 37

6. Cinétique de libération modérée du PA 38

a. Milieu gastrique (Hcl : 0.1 M, pH= 1.2) 38

b. Milieu intestinal (milieu tampon pH = 7.4) 38

7. Conclusion 45

Liste des figures

Chapitre 1 :

Figure 1.	Représentation des différents profils de libération	4
Figure 2.	Représentation schématique de la libération d'un PA	5
Figure 3.	Représentation schématique de nanoparticules	10
Figure 4.	Structure d'un liposome	10
Figure 5.	Morphologie des microparticules	11
Figure 6.	Les différentes applications de la micro-encapsulation	13
Figure 7.	Les différents procédés d'encapsulation	15
Figure 8.	Réticulation interraciale des microcapsules par coacervation complexe	16
Figure 9.	Schéma de principe du procédé d'encapsulation par gélification thermique	17
Figure 10.	Mécanisme de la polycondensation interfaciale	18
Figure 11.	Mécanisme de formation des microparticules par polymérisation interfaciale	18
Figure 12.	Schéma de principe de la gélification de gouttes	20
Figure 13.	Schéma de principe de congélation de gouttes	20

Chapitre 2 :

Figure 1.	Agitateur magnétique	24
Figure 2.	Dispositif sous vide	24
Figure 3.	Filtre Whatman de Grade 5	25
Figure 4.	Etuve sous vide employé au niveau de SAIDAL	25
Figure 5.	Microcapsules récupérés après séchage	26
Figure 6.	Microscope employé au niveau de SAIDAL	26
Figure 7.	Spectrophotométrie UV-Visible	30
Figure 8.	Courbe de détermination de λ_{max}	31
Figure 9.	Courbe d'étalonnage à λmax =273.17	31
Figure 10.	Courbes de régression des deux modèles	34
Figure 11.	Evolution du taux d'encapsulation et la perte en fonction	35
Figure 12.	HPLC	37
Figure 13.	pH mètre de marque Methrom pour ajuster le pH de deux milieux	39
Figure 14.	Dissolutest de marque PASOTAX utilisé pour étudier la cinétique libération	41
Figure 15.	Taux de dissolution et d'encapsulation dans les deux milieux	44
Figure 16.	Evolution du taux de dissolution dans les deux milieux	45

Liste des tableaux

Chapitre 1 :

Tableau 1.	Polymères d'origine naturelle	21
Tableau 2.	Polymères cellulosiques	21
Tableau 3.	Polymères de synthèse	22
Tableau 4.	Lipides et cires minérales	22

Chapitre 2 :

Tableau 1.	Caractéristiques de filtre Whatman	25
Tableau 2.	Image microscopique des micocapsules trouvées	26
Tableau 3.	La plage des facteurs contrôlables	28
Tableau 4.	La matrice des expériences planifiées par le plan d'expériences	29
Tableau 5.	Absorbance mesurée après l'extraction du PA pour chaque expérience	32
Tableau 6.	Comparaison entre les valeurs prédites et celles expérimentales	33
Tableau 7.	Résultat de dosage	38
Tableau 8.	Référence USP pour les solutions tampon phosphate	39
Tableau 9.	Concentrations de solutions préparées dans les deux milieux	40
Tableau 10.	Résultats de dissolution des formulations dans un milieu intestinal	43
Tableau 11.	Résultats de dissolution des formulations dans un milieu gastrique	43

Introduction générale

L’administration du principe actif par voie orale a été, généralement la voie la plus commode et la plus utilisée, une fois administré par la bouche, le principe actif passe rapidement à la partie gastro-intestinale. Cette voie présente quelques inconvénients lorsqu’il s’agit d’administrer des principes actifs qui sont caractérisés par une faible biodisponibilité qui sont peu stables en milieu physiologique.

Pour cela ; une nouvelle stratégie thérapeutique a été développée afin d’augmenter la biodisponibilité orale des médicaments de certains principes actifs, il s’agit de l’encapsulation du principe actif dans des matériaux polymères biodégradables. En général, dans l’industrie pharmaceutique, l’encapsulation vise à réduire la toxicité et les effets secondaires d’un principe actif, à augmenter sa solubilité et/ou sa stabilité et à favoriser une libération dans l’organisme. Elle permet surtout de réduire l'irritation du tractus gastro-intestinal due à des médicaments administrés par voie orale.

Comme le poly (acide lactique) et ses dérivés sont bien tolérés et ne présentent aucune toxicité vis-à-vis de l'organisme, ils sont très utilisés dans le domaine médical, en particulier dans le domaine de la vectorisation de principes actifs**.** Grace à ses propriétés de biocompatibilité et biodégradabilité le PLA est largement utilisé dans la libération contrôlée des principes actifs encapsulés.

L'hypertension est une maladie qui, avec le vieillissement de la population, touche de plus en plus de gens. L'hypertension artérielle est généralement bien contrôlée par l'administration d’antihypertenseurs, tel que l’hydrochlorothiazide. Ce médicament est un antihypertenseur qui appartient à la famille des inhibiteurs de l'angiotensine II. Il bloque l'action de l'angiotensine II. Cette substance, naturellement présente dans l'organisme.

Très peu d’études ont été consacrées à l’encapsulation de l’Hydrochlorothiazide par des polyesters comme le PLA, PCL (Poly (ε-caprolactone)), **PLGA** : Poly (lactique-co-glycolique)…, c’est ce qui justifie notre intérêt pour le système PLA/ hydrochlorothiazide.

L’objectif de ce travail est la mise au point des microcapsules du polymère biodégradable qui est le poly acide lactique contenant de l’Hydrochlorothiazide, la préparation des microcapsules est basée sur la méthode d’émulsion-évaporation de solvant. Cette méthode est la plus largement développée sur de nombreux polymères.

Ce manuscrit s’articule autour de deux chapitres :

Le premier chapitre consiste à présenter la définition et le principe de la micro-encapsulation, et les différentes techniques de préparation des microcapsules.

Le quatrième chapitre présente le protocole expérimental et détaillera la méthode d'émulsion évaporation du solvant pour la préparation des microparticules. Ainsi que les différentes techniques utilisées pour la caractérisation des microparticules (UV-Visible, HPLC, Microscope optique et dissolutest). Dans notre étude on a utilisé le plan d'expérience afin d'avoir la formulation optimale, celle qui aura le meilleur taux d'encapsulation. La dernière partie, concerne l'étude de la cinétique de libération des microcapsules de PLA contenant de l'Hydrochlorothiazide, testés in vitro dans deux milieux simulés, le milieu gastrique (PH=1,2) et le milieu intestinal (pH=7.4). Enfin, on terminera par une conclusion générale qui résume les résultats essentiels obtenus lors de la réalisation du travail expérimental.

Chapitre 1

Généralités sur les modes d’encapsulation

II. ENCAPSULATION ET FORMES GALENIQUES A LIBERATION PROLONGEE

II.1 Historique :

Dans son sens le plus général, le concept de libération soutenue ou contrôlée de principes actifs existe depuis des décennies. Les premières applications commerciales de cette technologie dans le domaine pharmaceutique ont débuté dans les années cinquante; il y a près de 30 ans que 1' "US. Food and Drug Administration (FDA)" a publié des réglementations sur les produits à libération contrôlée [1,2].

Le terme "libération soutenue" a été constamment utilisé pour décrire les formes pharmaceutiques formulées pour prolonger la libération d'un agent thérapeutique. D'autre part, le terme "libération contrôlée" implique une prédiction et reproductibilité de la cinétique de libération d'un PA [1]. Le terme "libération contrôlée" a, cependant, été souvent utilisé pour référer à une libération soutenue. Pour cette raison les deux expressions, "libération soutenue" et "libération contrôlée" seront utilisées dans un contexte général tout au long de ce manuscrit.

La fondation d' "Alza Corporation" par Alex Zaffaroni dans la fin des années 60 a donné à la technologie un dynamisme décisif. En effet, Alza s'est consacrée essentiellement au développement de nouveaux systèmes pour la libération contrôlée de médicaments [3]. Les produits qu'Alza a développés dans les quinze années consécutives
Ont stimulé toute l'industrie pharmaceutique.

II.2 Définition :

La libération prolongée d'un principe actif est celle pour laquelle la dose unitaire totale est retenue au sein d'un système contrôlant la vitesse de libération. La rétention du principe actif peut être faite par son inclusion dans un excipient insoluble dans les liquides de l'organisme qui forme ainsi une espèce de matrice à partir de la quelle le principe actif sera libéré lentement. La libération prolongée est basée sur deux principes :

- la vitesse de libération du principe actif à partir de la forme galénique est plus lente que dans le cas de libération conventionnelle. Cette étape est préalable aux étapes de dissolution et d'absorption. Elle correspond donc au facteur limitant qui contrôle la dissolution et l'absorption,
- la durée de cette libération est étalée dans le temps.

La libération contrôlée appelée aussi programmée ou soutenue est une libération prolongée et constante dans le temps ; elle présente un profil qui correspond à une cinétique dite d'ordre zéro [4,5], indépendante du temps. En pratique les frontières ne sont pas bien définies entre libération prolongée, libération soutenue et libération contrôlée [6].

La figure (1) représente les différents profils de libération immédiate, prolongée et contrôlée.

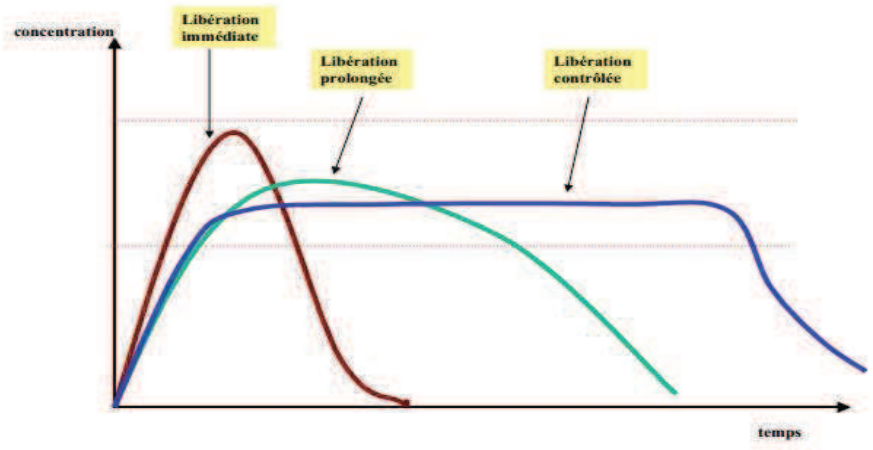


Figure 1. Représentation des différents profils de libération : immédiate, prolongée et contrôlée d'un principe actif.

II.3. Les avantages de la libération contrôlée :

En contrôlant la vitesse de libération du PA à partir de la forme pharmaceutique, les formes à libération prolongée offrent plusieurs avantages par rapport aux autres formes :

- la réduction des prises journalières,
- accroissement du confort du malade,
- amélioration de l'observance du traitement,
- diminution des effets secondaires indésirables par suppression des pics plasmatiques,

II.4. Systèmes de libération prolongée :

Il existe de nombreux types de systèmes à libération prolongée, chacun ayant ses exigences particulières au(x) matériau(x) impliqué(s). A ce jour, quatre technologies permettent d'obtenir une libération prolongée du PA à partir d'une forme pharmaceutique prise par voie orale : les systèmes matriciels [7], les systèmes enrobés, les résines échangeuses d'ions et les pompes osmotiques [8].

II.4.1. Systèmes matriciels :

Les systèmes matriciels peuvent être définis comme étant des dispersions uniformes de PA Dans un support matriciel (polymère solide) [9]. La cinétique de libération obtenue n'est pas d'ordre zéro. Elle est caractéristique d'un mécanisme de dissolution/diffusion où la vitesse de libération diminue avec le temps [10]. Plus la concentration initiale de principe actif est élevée, plus sa libération est grande. La diminution de la vitesse de libération du principe actif en fonction du temps s'explique de la façon suivante [11]:

- Au début, c'est le principe actif proche de la surface qui est libéré avec une courte distance à parcourir pour sortir.
- Ensuite, c'est le principe actif en profondeur qui prend plus de temps pour sortir à cause d'un plus long trajet tortueux à accomplir à travers la matrice polymère.

II.4.1.1. Matrices hydrophiles :

Les matrices hydrophiles sont composées de polymères capables de retenir le PA pendant un laps de temps prolongé en formant une gangue gélatineuse au contact du milieu de dissolution. Le principe actif est dissous ou dispersé au sein de la matrice polymérique sans être capable d'en sortir. Avec l'entrée du solvant, le polymère solide à l'état vitreux, gonfle. Le gonflement de la matrice, issu du phénomène de gélification, se produit par hydratation des chaînes de polymère (ponts hydrogènes entre les molécules d'eau et les chaînes de polymère) [12]. La diffusion de l'eau à l'intérieur de la matrice s'effectue dès contact avec le milieu de dissolution. La présence d'eau entre les chaînes de polymère augmente leur mobilité, facilitant ainsi le transport du PA à l'intérieur de la matrice. Le PA est donc libéré par diffusion à travers la couche visqueuse gélifiée mais également par érosion des chaînes de polymère (Figure

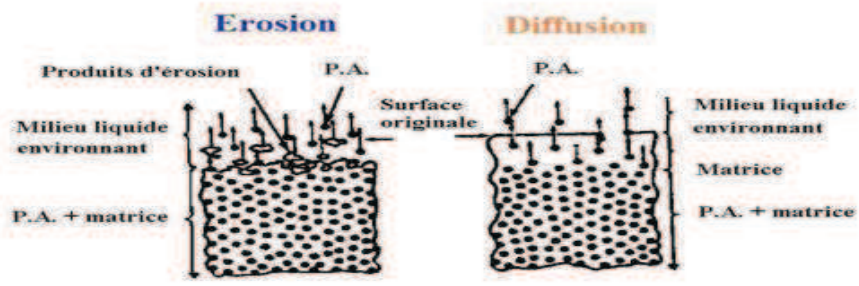


Figure 2. Représentation schématique de la libération d'un PA incorporé dans un système matriciel par les mécanismes d'érosion et de diffusion

II.4.1.2. Matrices lipidiques :

Ce type de matrice libère le PA par diffusion et/ou érosion de la matrice lipidique par les lipases digestives [13]. S'agissant de corps gras, l'érosion de la matrice sera influencée par la présence de tensioactifs et la valeur du pH. La libération du PA dépend alors essentiellement de la diffusion du liquide de dissolution à travers la matrice lipophile.

II.4.1.3. Matrices inertes :

Les matrices inertes, également appelées matrices insolubles, constituent un édifice poreux formé par des particules polymériques inertes non toxiques, non digestibles et insolubles dans les fluides du tractus gastro-intestinal. Ces matrices inertes sont théoriquement indéformables [14]. Le processus d'épuisement graduel de la matrice se produit par pénétration par capillarité du fluide environnant à travers la poudre médicamenteuse dispersée dans le support, suivi d'une dissolution directe dans le liquide présent dans le réseau de canalicules entre les particules polymériques, et enfin diffusion du soluté vers l'extérieur soit à travers le réseau poreux, soit à travers les espaces intermoléculaires [15].

II.4.2. Systèmes enrobés :

Il s'agit de systèmes réservoirs, le principe actif compacté est situé au centre du système (noyau), entouré d'une membrane polymère perméable. La diffusion du principe actif s'effectue à travers les chaînes macromoléculaires du polymère quand la membrane est homogène et non poreuse (majorité des cas), ou à travers les pores quand elle est microporeuse. L'épaisseur et la perméabilité de la membrane contrôlent en partie la vitesse de diffusion du principe actif [10].

Dans les systèmes enrobés, la dissolution du PA est essentiellement dépendante de sa solubilité et des caractéristiques du film d'enrobage (ex. épaisseur, perméabilité et solubilité), impliquant des processus de diffusion et de dissolution [13].

II.4.3. Résines anioniques échangeuses de cations :

Ces systèmes libèrent le PA par échange ionique. La résine, insoluble dans l'eau, est chargée en groupements anioniques ex. COO^-, $SO3^-$, capables de retenir le PA. Lorsqu'elle entre en contact avec une solution ionique de nature et de concentration adéquate, le PA est échangé et libéré [13].

.

II.4.4. Systèmes osmotiques :

Ce système porte le nom de pompe osmotique parce qu'il utilise la pression osmotique comme force mécanique pour libérer un principe actif.

Dans le cas le plus simple, la pompe osmotique est un système réservoir constitué d'un noyau solide comportant le PA souvent mélangé à un agent osmotique (NaCl ou KCI). Une membrane polymérique semi-perméable entourant le noyau permet une diffusion sélective de l'eau vers l'intérieur du système par simple appel osmotique [15].

II.5. Mécanismes de la libération contrôlée [16] :

Les systèmes à libération contrôlée possèdent des exigences particulières au (x) matériau(x) impliquée (s), qui sont de nature polymérique sous forme de matériau plein ou d'une membrane.

II.5.1. Systèmes à libération déclenchée : sont généralement des microcapsules formées d'une membrane de faible perméabilité, qui vont libérer brutalement leur contenu. Les mécanismes de la libération connus dans ce cas sont :

II.5.1.1. Mécanismes de libération par éclatement : sous l'effet d'une pression (mécanique ou osmotique).

II.5.1.2. Mécanismes de libération par fusion : sous l'effet de la température.

II.5.2. Systèmes à libération prolongée : sont majoritairement des microsphères. Les mécanismes mis en jeu sont :

II.5.2.1. Mécanismes de libération par dégradation :

La plupart des polymères biodégradables se dégradent par hydrolyse en composés de taille de plus en plus faibles, biologiquement éliminables. La dégradation peut s'effectuer selon une hydrolyse en masse, il est uniforme dans toute la matrice polymère ou bien se produire uniquement sur la surface du polymère.

II.5.2.2. Mécanisme de libération par diffusion uniquement :

La diffusion se produit quand un principe actif traverse le polymère qui forme le système de libération .La diffusion peut se produire à l'échelle macroscopique à travers les pores dans la matrice ou à l'échelle moléculaire par le passage entre les chaînes de polymères.

II.5.2.3. Mécanismes de libération par gonflement suivi d'une diffusion :

La compréhension des mécanismes de gonflement des polymères dans l'organisme est importante pour permettre de concevoir la système particulier de libération contrôlée et permet d'expliquer les comportements cinétiques libération. Le PA est dissout ou dispersé au sein d'une matrice polymérique capable d'en sortir.

En premier lieu, le polymère ne subit aucune modification chimique, il n'est pas dégradé, l'eau diffuse simplement à l'intérieur du réseau polymère, le gonfle, ce qui permet aux médicaments piégés à l'intérieur de se libérer.

Les systèmes de libération contrôlées par gonflement sont initialement secs et quand ils sont placés dans le corps, ils absorberont l'eau ou autres fluides du corps et gonfleront .Ces système permettant la diffusion du PA à travers le réseau gonflé dans l'environnement externe .La plus part des matières utilisées dans ces système sont les hydrogels (absorbant de l'eau ou autres fluides sans être dissout).

La capacité du gonflement de polymère se manifeste quand le gonflement peut être déclenché par un changement de l'environnement entourant le système de la libération, Dépendant du polymère. le changement environnement peut impliquer le pH, la température, ou la force ionique, et le système peut se rétrécir ou gonfler sur un changement de n'importe lequel de ces facteurs environnementaux.

III. LA MICROENCAPSULATION :

III.1. Historique :

Les premières publications sur la microencapsulation et ses applications possibles dans le domaine pharmaceutique remontent à 1931.De 1931 à 1940, GREEN et son équipe à la NCR (USA) ont établi un processus de microencapsulation basé sur l'utilisation d'une enveloppe de gélatine (coacervation) [17].

Depuis lors, l'industrie pharmaceutique a développé plusieurs autres matériaux de revêtement et beaucoup d'autres méthodes d'encapsulation.

Dans les 30 années, plusieurs brevets ont été enregistrés au sujet de l'encapsulation des PA, médicinaux et non médicinaux, comme des antibiotiques, vitamines, et ainsi de suite.

D'autres industries ont été intéressées, et le sont toujours, par cette technique : l'industrie alimentaire, l'industrie photographique, l'industrie des engrais, l'industrie de pesticides, etc.

En outre, l'industrie chimique avait développé de nouveaux polymères avec des applications potentielles dans la microencapsulation .

III.2. Définition :

La microencapsulation est une des techniques de conservation de la qualité des substances sensibles et une méthode pour la production des matériaux avec de nouvelles propriétés intéressantes constituées d'un matériau enrobant contenant une matière active. La microencapsulation est un procédé qui consiste à enfermer des particules micrométriques dans une coquille de polymère, qui à son tour les isole et les protège de l'environnement extérieur. Le produit obtenu par ce procédé est appelé les microparticules qui sont différenciés par leur morphologie et leur structure.

Les particules obtenues se divisent en 3 groupes: microparticules, nanoparticules et liposomes [18].

III.2.1. Les nanoparticules :

Les nanoparticules sont des systèmes colloïdaux dont la taille est comprise entre 10 et 1000 nm, à base de polymères généralement biodégradables, ou de lipides capables de retenir une ou des molécules actives par séquestration et/ou adsorption.

Les nanoparticules peuvent être de type matriciel, le principe actif est dispersé ou dissous dans la matrice de polymère, ou de lipides, on parle alors de nanosphères. Les nanoparticules peuvent aussi être de type réservoir, il s'agit alors de nanocapsules, constituées d'un cœur généralement liquide entouré d'une fine membrane de polymère généralement dont l'épaisseur ne dépasse pas quelques nanomètres (figure 3) [19].

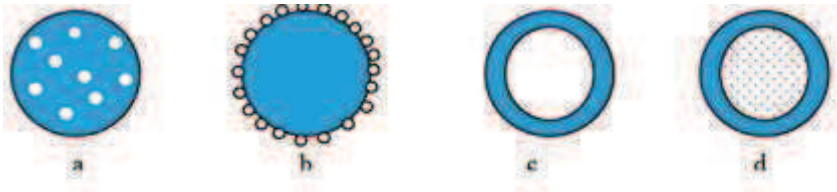


Figure 3. Représentation schématique de nanoparticules. a : nanosphères (NS), b : nanosphères + principe actif adsorbé, c, d : nanocapsules principe actif dissous (c) ou dispersé (d)

III.2.2. Les liposomes :

Les liposomes sont des structures vésiculaires constituées de bicouches de molécules amphiphiles qui délimitent deux compartiments aqueux : un compartiment aqueux interne ou cavité aqueuse et un compartiment aqueux externe dans lequel les vésicules se trouvent en suspension. Les méthodes de préparation des liposomes sont nombreuses et peuvent aboutir à la formation de plusieurs types de vésicules différentes par leur taille, leur structure et leur capacité d'encapsulation. (figure 4) [19].

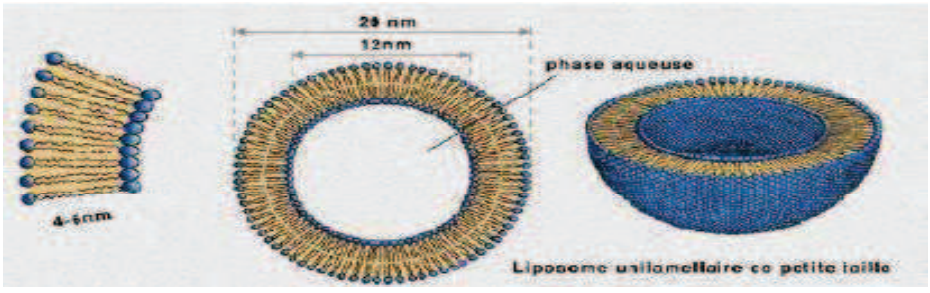


Figure 4. Structure d'un liposome

III.2.3. Les microparticules :

Les microparticules présentent une taille comprise entre environ 1 µm et 1 mm et contiennent typiquement entre 5 et 90 % (en masse) de matière active.
Les matières actives sont d'origines très variées : principes actifs pharmaceutiques, actifs cosmétiques, additifs alimentaires, produits phytosanitaires, essences parfumées, microorganismes, cellules, ou encore catalyseurs de réaction chimique. Les matériaux enrobant sont des polymères d'origine naturelle ou synthétique, ou des lipides. Les microparticules obtenues présentent deux types de morphologies (figure 5) [18].

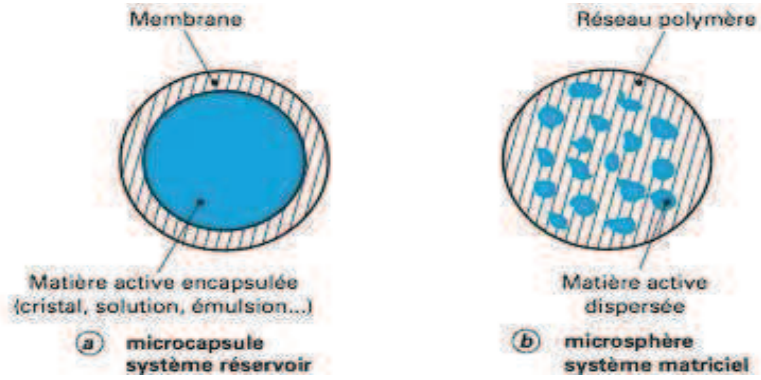


Figure 5. Morphologie des microparticules

Les microcapsules sont des structures réservoirs et sphériques, elles sont constituées d'un cœur généralement huileux entouré par une mince paroi de polymère dont l'épaisseur n'excède pas quelques nanomètres, le principe actif est généralement dissous dans le cœur huileux, mais peut aussi être adsorbé sur la surface des microcapsules .Dans cette géométrie, les taux d'encapsulation peuvent être particulièrement élevées: entre 85% et 90% de masse de matière active par rapport à la masse de microparticules [20].
Les microsphères sont des structures matricielles, de forme sphérique, constituées de polymères de référence (bio) dégradable. Dans le cas de microsphères, le principe actif est soit incorporé à l'intérieur d'un réseau polymères durant la formation des microsphères. Dans ce cas, les teneurs en matière active sont moindres : de l'ordre de 20% à 35% mais parfois ce taux atteindre 50% [20].

III.3. Intérêts de la microencapsulation :

Sur le plan industriel, la microencapsulation est mise en œuvre pour remplir les objectifs suivants : assurer la protection, la compatibilité et la stabilisation d'une matière active dans une formulation, réaliser une mise en forme adaptée, améliorer la présentation d'un produit, masquer un goût ou une odeur, modifier et maîtriser le profil de libération d'une matière active pour obtenir, par exemple, un effet prolongé ou déclenché [18].

La microencapsulation a nombreux avantages, parmi les majeurs avantages de cette technique on trouve :

III.3.1. La microencapsulation garantit une bonne protection de la substance encapsulée :

La microencapsulation est un procédé de fabrication de particules fermées dans lesquelles le contenu a été enveloppé à l'intérieur d'un film.La microencapsulation permet non seulement d'éviter la pollution secondaire du contenu encapsulé, mais permet aussi une fonction d'isolation de matériaux fonctionnels sensibles à la lumière ou à l'oxygène d'un environnement extérieur, ce qui maintient le contenu encapsulé stable sur une durée de vie plus longue [21].

III.3.2. La microencapsulation permet de contrôler la libération de la substance encapsulée

La microencapsulation permet le transfert de masse entre l'intérieur et l'extérieur d'une capsule via le contrôle des propriétés physiques et chimiques de la membrane. Normalement, il y a deux types de processus pour atteindre ce but : soit la diffusion à travers la membrane, soit l'éclatement de la membrane. Au niveau de la diffusion, le contrôle de la taille des pores de la membrane, l'épaisseur de la membrane, et le gradient de concentration des molécules spécifiques, permettent de contrôler la délivrance continue des principes encapsulés Par exemple, un arôme encapsulé fonctionne beaucoup plus longtemps qu'un arôme libre du fait d'une diffusion lente et continue. Au niveau de l'éclatement de la membrane, toute la matière encapsulée est libérée en même temps [21].

III.3.3. La microencapsulation facilite l'utilisation des produits d'origine liquide :

La microencapsulation permet de conditionner des produits liquides sous une forme solide. Ce processus facilite le transport des produits d'origine liquide, qui peuvent fuir ou s'évaporer du récipient. Pour chaque capsule, le dosage est contrôlé par le volume de la capsule. Les capsules pourront donc être apportées séparément selon le dosage dont on a besoin [21].

III.4. Domaine d'utilisation de la micro-encapsulation [22] :

La micro-encapsulation présente un très large champ d'applications puisqu'elle va du domaine pharmaceutique au domaine alimentaire en passant par la cosmétique, la parfumerie, les produits phytosanitaires, la chimie, la construction, et le domaine biomédical…. Une des premières applications de la micro-encapsulation a été le papier autocopiant sans carbone à base de microcapsules d'encre sensibles à la pression. Récemment, le domaine du textile utilise les microparticules pour parfumer les tissus ou déposer sur la peau des actifs cosmétiques. D'autres applications sont à l'étude comme les répulsifs pour insectes, les colorants, les vitamines, les antimicrobiens ou encore les cristaux liquides.

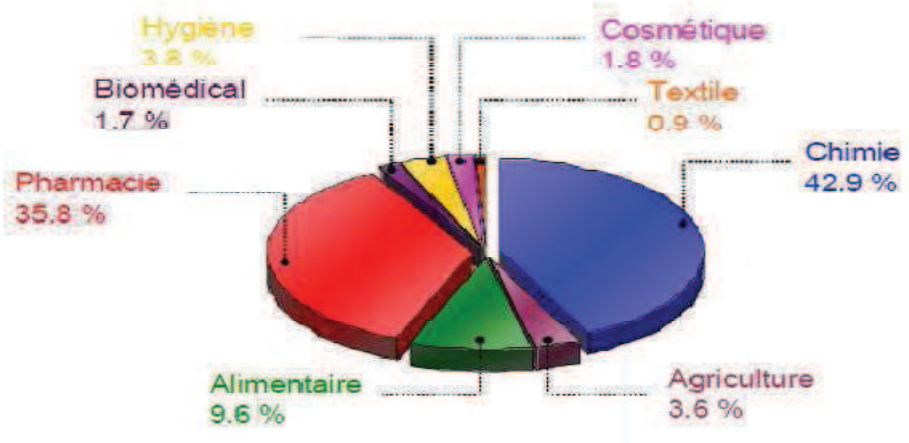


Figure 6. Les différentes applications de la micro-encapsulation

III.4.1. La microencapsulation dans le domaine pharmaceutique :

Dans le domaine pharmaceutique, des microcapsules contenant des médicaments sont utilisées par voie orale ou par injection interne dans le muscle. Les microcapsules sont principalement conçues pour contrôler la durée de la libération du principe actif. Les microcapsules sont véhiculées dans le corps. Puis par la dispersion et l'infiltration du médicament vers l'endroit ciblé, une concentration propre et une durée spécifique de la libération permettent de donner pleinement les effets du médicament.

III.5. Critères de choix de la formulation et du procédé :

Selon le type souhaité de microcapsules, le formulateur devra tenir compte de plusieurs critères [23] :

- La taille moyenne et la largeur de distribution granulométrique.
- La teneur en matière active ou taux d'encapsulation ;
- La forme finale : dispersion de microparticules en phase aqueuse ou en phase solvant, poudre sèche.
- Les contraintes de stabilité au cours du stockage et au cours de la mise en œuvre. La durée de conservation sans libération de matière active devra être précisée ainsi que le milieu dans lequel les particules seront conservées.
- Les conditions de libération et la cinétique de libération. Si l'on souhaite une libération déclenchée, il devra en particulier être précisé quel est le paramètre de déclenchement : pression ou cisaillement mécanique, variation de température, variation de pH, dégradation enzymatique…
- Les contraintes réglementaires liées au domaine d'application (pharmacie, cosmétique, alimentaire) et au mode d'administration (voie orale, topique, parentérale…à), qui sont prescrites dans les réglementations nationales et internationales [18].

III.6. Procédés d'encapsulation :

Les procédés de micro-encapsulation sont variés, et il est nécessaire de les classer pour faire un choix approprié lorsque l'on doit résoudre un problème de formulation dans ce domaine. Plusieurs classifications existent, toutes aussi valables les unes que les autres. Une classification intéressante tenant compte du principe de la Micro-encapsulation, permet de répartir les procédés de microencapsulation en trois groupes [18] :

- procédés physico-chimiques.
- procédés mécaniques.
- procédés chimiques.

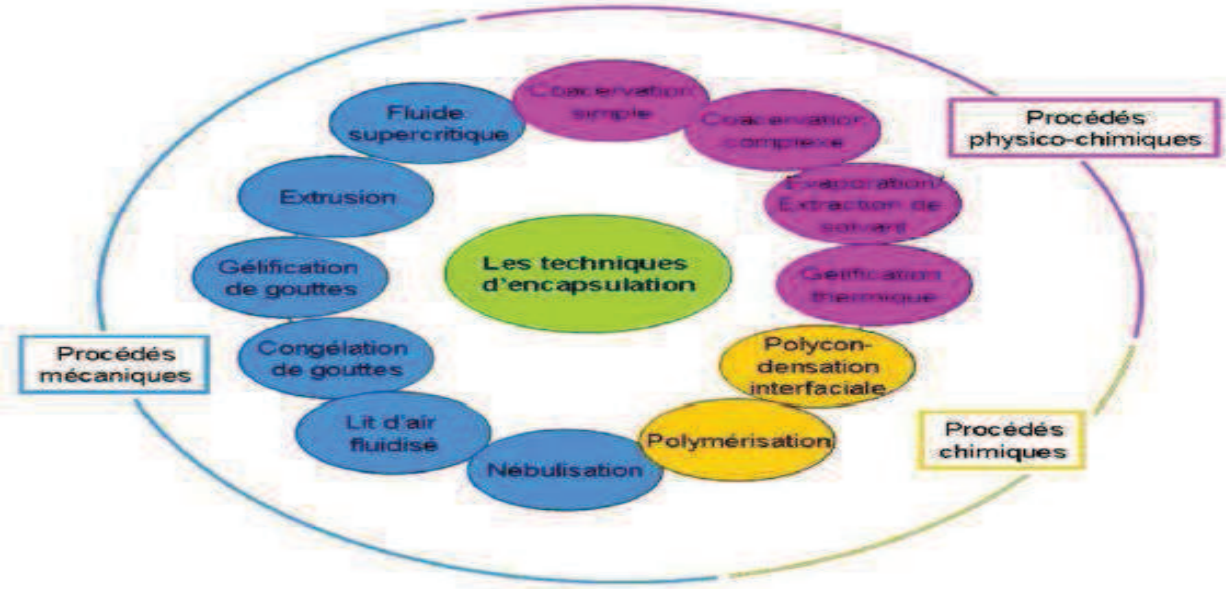


Figure 7. Les différents procédés d'encapsulation

II.6.1. Procédés physico-chimique :

Les procédés physico-chimiques sont basés sur la maîtrise:

- De variations de solubilité et de conditions de précipitation des agents enrobant. Il s'agit, par exemple, de la précipitation contrôlée d'un polymère en solution, par ajout d'un non-solvant ou d'un polymère incompatible (coacervation simple), ou encore par variation de température et de pH de la solution (coacervation complexe).
- De changements d'état (fusion et solidification) des agents enrobants (gélification thermique d'émulsions)[18].

III.6.1.1 Coacervation :

Les processus de coacervation s'opèrent dans des conditions douces (pas de solvant agressif, organique,…) ; par conséquent, ces méthodes sont un bon potentiel pour la micro-encapsulation de cellules vivantes et de molécules labiles, lesquelles ne peuvent pas résister aux conditions dures (chaleur, solvants organiques) qui accompagnent les autres procédés de micro-encapsulation [23].

III.6.1.1.1. Coacervation simple :

Le procédé de coacervation consiste à abaisser la solubilité d'un polymère (coacervation simple) initialement solubilisé dans un solvant organique ou en milieu aqueux, en variant la température ou par ajout d'un électrolyte, d'un non-solvant ou d'un 2ème polymère (agent de coacervation).Il se formera deux phases liquides : l'une riche en polymère (coacervat) et l'autre pauvre en polymère [18].

III.6.1.1.2. Coacervation complexe :

En effet, la structure du coacervat est « complexe » puisqu'elle comprend deux polymères, par opposition à la coacervation simple qui génère des gouttelettes de coacervat constitué d'un seul polymère.

La réticulation des microcapsules obtenues se fait par ajout de glutaraldéhyde ou d'acide tannique, ce qui permet de solidifier les particules [19].

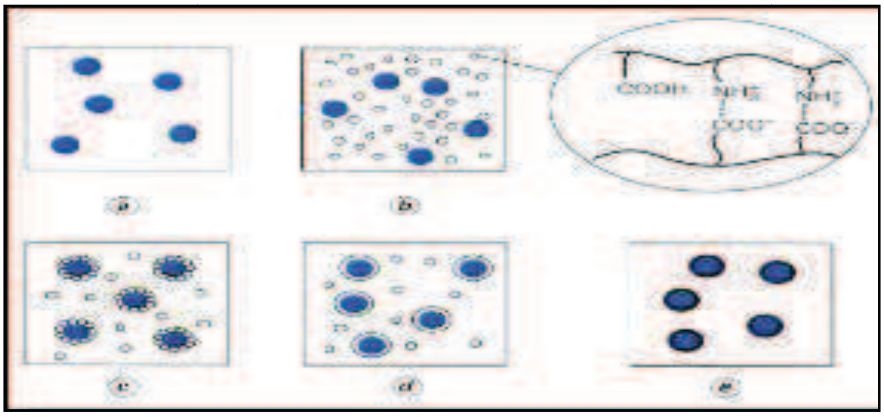


Figure 8. Réticulation interfaciale des microcapsules par coacervation complexe

III.6.1.2 Evaporation-extraction de solvant :

Cette technique est la plus largement développée sur de nombreux polymères. Elle se base sur l'évaporation de la phase interne d'une émulsion sous agitation donnant lieu à la précipitation du polymère d'enrobage préalablement dissous dans cette phase sous forme de Microsphère [18].

III.6.1.3 Gélification thermique « hot melt »:

Ce procédé repose sur la fusion du matériau d'enrobage. La matière active à encapsuler est dissoute ou dispersée dans ce matériau fondu. L'ensemble est émulsionné dans une phase dispersante, dont la température est maintenue supérieure à la température de fusion de l'enrobage (Tf) et pour laquelle la matière active n'a aucune affinité : il s'agit d'eau distillée lorsque la substance à encapsuler est lipophile, et d'huile de silicone, par exemple, lorsqu'elle est hydrosoluble. La solidification des globules dispersés est obtenue en refroidissant brutalement le milieu (figure 9)[18].

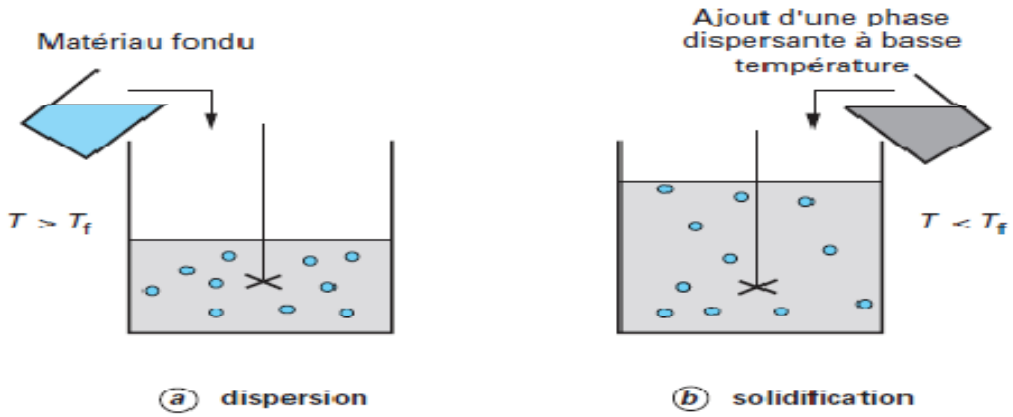


Figure 9. Schéma de principe du procédé d'encapsulation par gélification thermique

III.6.2. Procédés chimiques :

Contrairement aux deux autres classes de techniques qui utilisent des agents enrobant préformés tels que des polymères ou des lipides, les procèdes d'encapsulation ≪ chimiques ≫ reposent sur la formation in situ du matériau enrobant. Les composés de base sont des Monomères [24].

III.6.2.1. Polycondensation interfaciale :

La polycondensation interfaciale met en jeu 2 monomères ayant des groupes fonctionnels complémentaires (A et B) (figure 10), chacun soluble dans une des phases d'un système diphasique. L'encapsulation de principes actifs peut être réalisée par cette méthode via un protocole en deux étapes. Dans un premier temps une émulsion est préparée, la phase dispersée contenant l'espèce à encapsuler ainsi qu'un monomère. Puis cette émulsion est diluée afin d'apporter le second monomère en phase continue. La réaction démarre alors à l'interface des gouttelettes. On obtient en fin de réaction une membrane à l'interface des

gouttelettes qui renferment l'espèce à encapsulé [24].

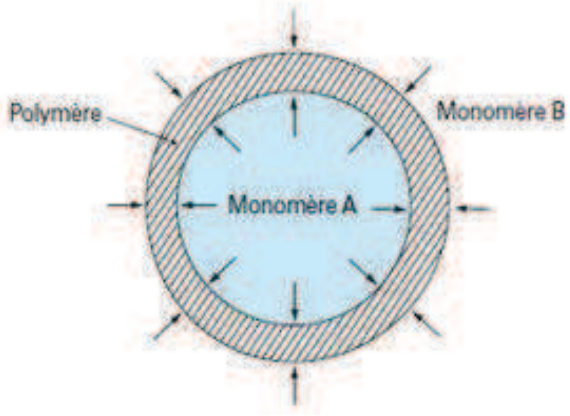


Figure 10. Mécanisme de la polycondensation interfaciale

III.6.2.2. Polymérisation interfaciale :

Cette technique, combine une émulsion eau dans huile (E/H) ou huile dans eau (H/E) et une réaction chimique entre deux réactifs à l'interface de la phase dispersée. La phase disperseé contient un solvant, un principe actif et le monomère A. Elle peut être soit aqueuse, soit organique. La phase continue est constituée d'un solvant et d'un monomère B. Le déroulement d'une polymérisation interfaciale appliquée à la formation de microparticules est schématisé à la figure 11 . Au départ l'émulsion se fait en l'absence du monomère B. Ce dernier n'est introduit qu'a partir du moment où l'émulsion est stabilisée. La réaction de polymérisation peut ensuite débuter (figure 11) [25].

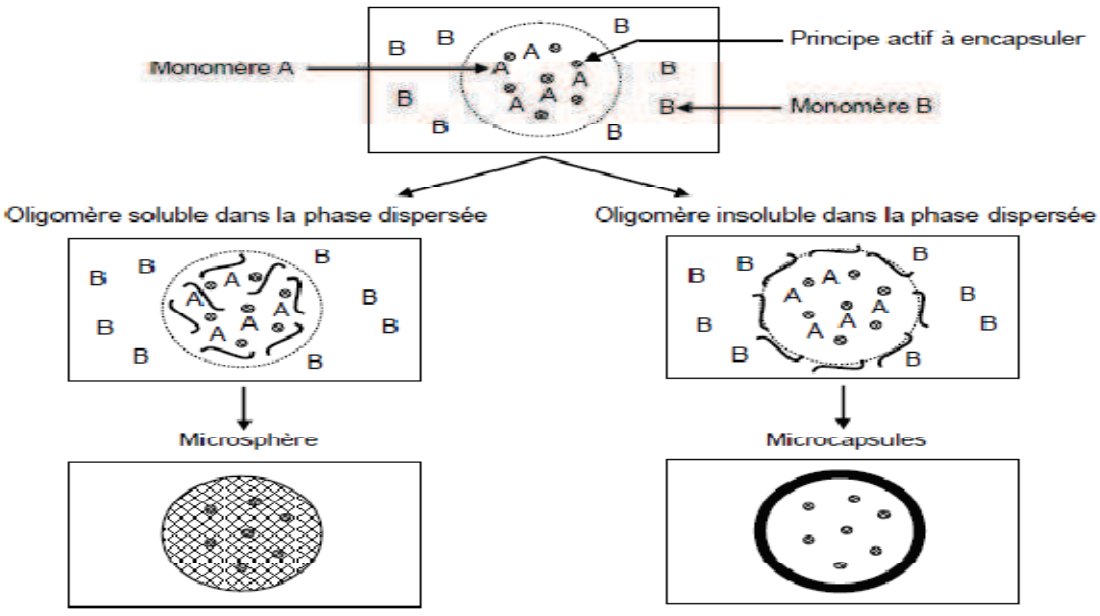


Figure 11. Mécanisme de formation des microparticules par polymérisation interfaciale

III.6.3. Procédés mécaniques :

Le procédé mécanique repose sur la nébulisation de la formulation, ou l'enrobage de microparticules suspendant en lit fluidisé, ou l'extrusion du mélange de matière active et l'agent enrobant. La formulation des matières sera pulvérisée de sorte que la matière active soit encapsulée [21].

III.6.3.1. Procédé de nébulisation-séchage:

Le procédé de nébulisation-séchage est un procédé continu en une seule étape qui permet de transformer une formulation liquide initiale en une forme micro-particulaire sèche.

Ce procédé comprend les 4 étapes séquentielles suivantes :

1. nébulisation de la formulation liquide initiale pour former un aérosol ;
2. mise en contact de l'aérosol avec un flux d'air, porté à une température contrôlée ;
3. séchage rapide de l'aérosol pour former des microparticules solides ;
4. séparation de la poudre de microparticules et de l'air contenant le solvant vaporisé [18].

III. 6.3.2. Procédé d'enrobage en lit fluidisé :

Le procédé d'enrobage en lit fluidisé s'applique exclusivement à des matières actives constituées de particules solides (granulés, cristaux). Des matières actives liquides peuvent néanmoins être encapsulées après absorption par des supports particulaires poreux. Le mouvement aléatoire des particules assure un recouvrement satisfaisant des particules. C'est une méthode qui permet de contrôler la température et l'humidité durant l'encapsulation.

Cependant, un mauvais contrôle de ces paramètres peut entraîner l'enrobage partiel des particules. Parmi les inconvénients de ce procédé on peut citer l'agglomération des particules encapsulées et le temps mis pour l'encapsulation pouvant atteindre plusieurs heures [26].

III.6.3.3. Gélification de gouttes :

La gélification de gouttes est basée sur la formation d'une solution, dispersion ou émulsion de matière active dans une solution aqueuse de polymères capables de former des gels sous une action extérieure, physique ou chimique. Il s'agit, par exemple, de l'alginate de sodium, du chitosane ou de l'agarose (figure 12) [18].

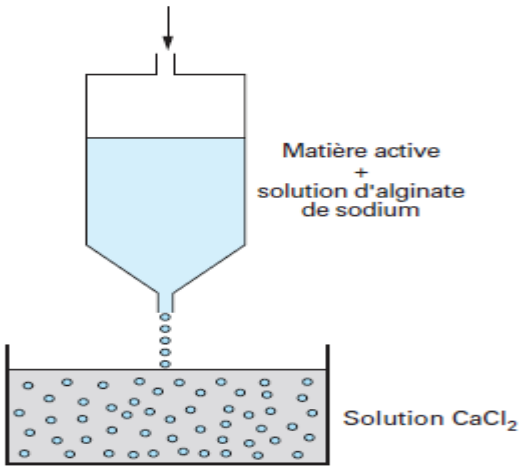


Figure 12. Schéma de principe de la gélification de gouttes

III.6.3.4. Congélation de gouttes (spray-congealing):

Elle Fait intervenir un matériau enrobant de type corps gras, glycéride ou cire à point de fusion relativement bas, compris entre 50 °C et 120 °C. Elle consiste à préparer un fondu de ce matériau enrobant dans lequel la matière active est solubilisée ou dispersée soit sous forme particulaire solide, soit sous forme de microgouttelettes d'émulsion inverse (eau dans huile) (figure 13) [18].

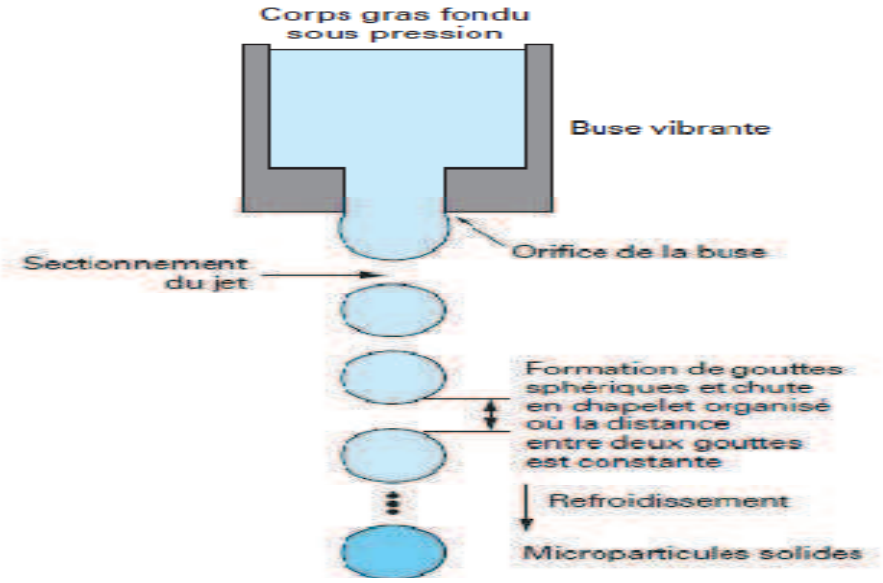


Figure 13. Schéma de principe de congélation de gouttes

III.6.3.5. Extrusion-sphéronisation :

La technique d'extrusion-sphéronisation peut être utilisée pour l'encapsulation de poudres de matières actives dans des polymères thermoplastiques, dont la viscosité à l'état fluide permet de préparer des microcylindres homogènes et réguliers [18].

III.7. Principaux matériaux d'encapsulation [27]:

Tableau 1 : Polymères d'origine naturelle.

Matériaux d'encapsulation	Procédé utilisables	Exemples de domaine d'application
Gélatine	Coacervation simple Coacervation complexe	Arôme, parfum, pharmacie, papeterie
Alginate de sodium	Coacervation complexe Gélification de gouttes	Biomédical, arôme, cosmétique, parfum, pharmacie (libération entérique)…
chitosane	Coacervation complexe Gélification de gouttes Nébulisation Lit d'air fluidisé	Pharmacie (libération gastrique)
amidon	Nébulisation extrusion	alimentaire

Tableau 2 : Polymères cellulosiques.

Matériaux d'encapsulation	Procédés utilisables	Exemples de domaines d'application
Ethylcellulose	Coacervation simple Lit d'air fluidisé Nébulisation Extraction/évaporation de solvant	Pharmacie, biomédical
Hydroxypropylcellulose		
Hydroxypropyl méthylcellulose		
Phtalate d'hydroxypropyl méthylcellulose		

Tableau 3 : Polymères de synthèse.

Matériaux d'encapsulation	Procédés utilisables	Exemples de domaine d'application
Copolymères acryliques et méthacryliques	Lit d'air fluidisé Nébulisation Evaporation de solvant	pharmacie
polyoléfines	Extrusion Evaporation de solvant	Chimie, biomédical, phytosanitaire
Copolymères (acrylo-) vinyliques		
polycaprolactone	Nébulisation Lit d'air fluidisé Extraction/évaporation de solvant Coacervation simple	Pharmacie, vétérinaire
(homo-) et (co-) polymères d'acides lactique et glycolique		

Tableau 4 : Lipides et cires minérales.

Matériaux d'encapsulation	Procédés utilisables	Exemples de domaine d'application
Corps gras solides	Congélation de gouttes Hot-melt Lit d'air fluidisé	Cosmétique, chimie, pharmacie, vétérinaire, alimentaire, textile…
glycérides		
Cires (d'abeille, de carnauba, de candelilla…)		
Cires minérales		

IV. MEDICAMENT DE LA CARDIOLOGIE [28] : Les médicaments de la cardiologie sont nombreux et subdivisé en plusieurs familles dont :

Familles	Exemple
Antihypertenseurs	
Diurétiques	Furosémide
Inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC)	Bénazépril
Inhibiteurs calciques (ICA) ou antagonistes du calcium	Almodipine
Bêtabloquants	Acébutolol
Antiangoreux	Corvasal
Dérivés nitrés	Isosorbide dinitrate
Tonicardiaques	Digoxine
Antiarythmiques	Hydroquinidine

IV.1. Les antihypertenseurs :

L'hypertension artérielle (HTA) est définie par une pression artérielle systolique (PAS) supérieure ou égale à 40 mmHg et/ou une pression artérielle diastolique (PAD) supérieure ou égale à 90 mmHg, confirmée au minimum par deux mesures par consultation, au cours de trois consultations successives sur une période de 3 à 6mois.

L'objectif du traitement antihypertenseur est de maintenir une pression artérielle (PA) inférieur à 140/90 mmHg et même moins, afin de prévenir les risques de complications cardiovasculaires et rénales de l'hypertension artérielle.

Le but d'antihypertenseur est basée sue une monothérapie choisie pour les familles : diurétiques thiazidiques, bêtabloquants, inhibiteurs calciques (ICA),inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) et antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (ARA II) ou sartans en fonction du terrain (sujets âgés, diabétiques, femmes enceinte, insuffisant cardiaque, coronarien, antécédent d'accident vasculaire cérébral, etc..), lorsque la monothérapie est insuffisante, il est possible d'associer plusieurs antihypertenseurs, en privilégiant les spécialités à association fixe.

IV.2. Diurétiques :

Les diurétiques accroissent l'élimination urinaire de l'eau et du sodium (effet natiurétique). Ils sont utilisés dans les situations de surcharge hydrosodée (œdèmes d'origine rénale, cirrhotique ou cardiaque) et dans le traitement de l'hypertension artérielle.

Chapitre 2

Encapsulation d’un antihypertenseur par un polymère biodégradable

1. Introduction

Les formes galéniques orales peuvent être divisées en deux catégories principales formes à libération immédiate, et les technologies des formes (non immédiates) à libération modifiée auxquelles appartiennent les formulations à libération prolongée. La microencapsulation est une technique permettant d'emprisonner des liquides ou des solides dans une enveloppe (membrane) qui les isole dans le but de les protéger de l'environnement extérieur, ou de maitriser leur libération dans un environnement choisi. C'est ainsi qu'on s'est intéresse à l'étude de la microencapsulation par la technique d'évaporation des solvants en vue d'obtenir une forme galénique a libération prolongee et ou contrôlée dans le temps avec comme modèle de principe actif tres peu soluble et a faible dose therapeutique et appartenant a une classe thérapeutiques très importante tels que la famille des antihypertenseurs.

2. Méthode de préparation des microcapsules

Il existe plusieurs méthodes d'encapsulation, parmi ces méthodes en trouve la coacervation (méthode par évaporation de solvant). Elle consiste à préparer deux phases pour former une émulsion (phase organique + phase aqueuse)

a. **Phase organique :**
   - Premièrement, elle consiste à dissoudre une masse (m0) de polymère Poly-lactique Acide (PLA) dans 20 ml de dichlorométhane (CH_2Cl_2) car ce dernier est un meilleur solvant pour le PLA et très volatile.
   - Deuxièmant, dissoudre une masse m1 (40 mg de le PA) dans 10 ml de l'acétone (à condition que CH_2Cl_2 soit miscible dans l'acétone est volatile).
   - En plus, en ajoute 10ml de chloroforme $CHCl_3$ (pour la formation des films de PLA).

b. **Phase aqueuse**
   - Solution 1% PVA (polyvinylalcool : Tension actif) (1% = 1g PVA/100 ml d'eau distillée).

En suite, mettre un volume V1 dans un bécher de PVA 1% sous agitation à vitesse de rotation variable et en versant la phase organique en utilisant une burette graduée goutte à goutte débit constant pendant 10 min de l'agitation (voir figure 1).



Figure 1. Agitateur magnétique

En suite en prenant le bécher et en met le contenu dans un dispositif d'évaporation à pression réduite (sous vide par une pompe) sous agitation en gardant la même vitesse d'agitation utilisée pendant l'émulsion à température ambiante et à pression de 400 mbar jusqu'à une évaporation totale de la phase organique (CH_2Cl_2+Acétone+$CHCl_3$) (voir figure 2).



Figure 2. Dispositif sous vide

En suite en procède à la filtration du reste à travers un filtre Whatman (voir figure 3)



Figure 3. Filtre Whatman de Grade 5

Les caractéristiques de ces filtres sont résumes dans le tableau 1.

Tableau 1. Caractéristiques de filtre Whatman

N°	5
Porosité (µm)	2.5
Épaisseur (µm)	200
Vitesse (/sec)	1420
Débit d'air (s/100 ml)	94
Poids (g/m²)	88
Matière	Cellulose
Filtration	Lente
Type	Disque à plat

Après filtration, on verse sur le retenu (microcapsules), 100 ml de l'eau distillée sur le filtre directement pour enlever les traces de PA non-encapsulé et on récupère les filtres contenant les microcapsules, en suite on sèche ces derniers dans une étuve sous vide à pressions réduite de 400 mbar et à température de 40°C jusqu'à poids constant (maximum 1h30) pour enlever les traces de l'humidité imprégnée dans le solide (voir figure 4).



Figure 4. Etuve sous vide employé au niveau de SAIDAL

La figure 5 montre l'état de microcapsules récupérées après la formulation et le séchage.

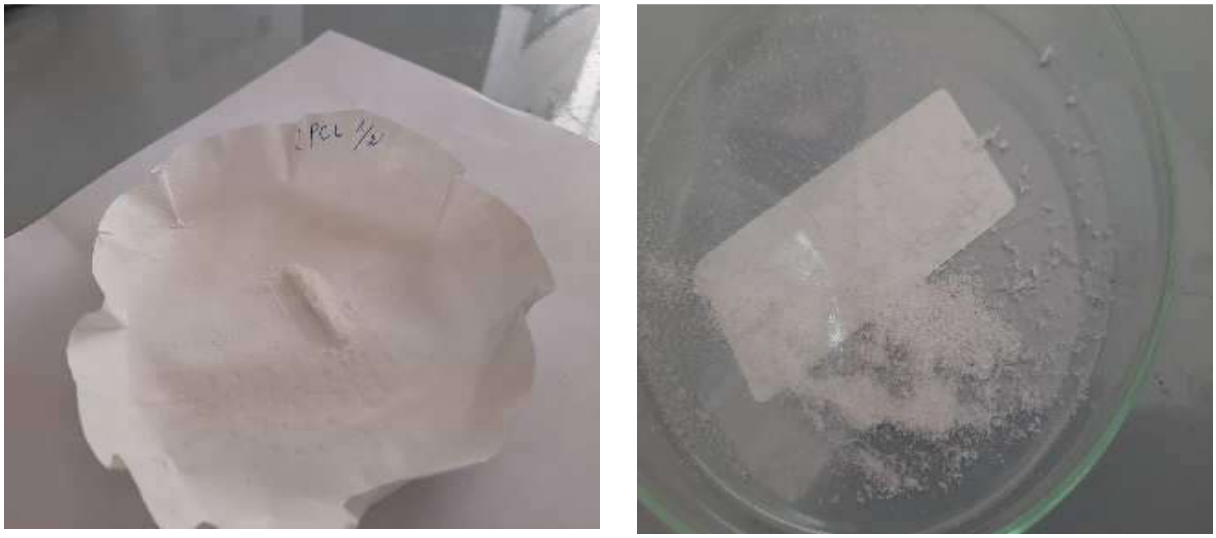


Figure 5. Microcapsules récupérés après séchage

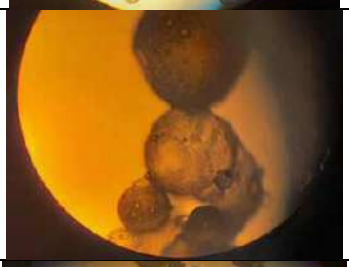
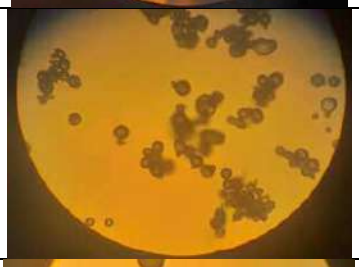
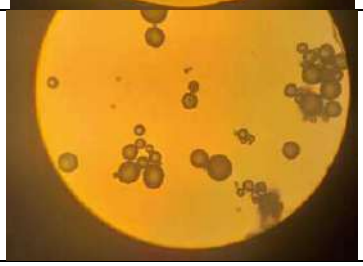
Les résultats de microscope des microcapsules pour chaque rapport sont représentés dans le tableau 2. Les résultats par microscope (figure 6) montrent présence des microparticules se frome sphérique de taille presque homogène de couleur blanche pour les trois derniers rapports.



Figure 6. Microscope employé au niveau de SAIDAL pour voir la forme des microcapsules

Tableau 2. Image microscopique des micocapsules trouvées avec agroundissement de 10 fois pour chque rapport (PA/m0_PLA)

Rapport	Image microscopique	Aspect
1/1		Présence des cristaux de PA+ des microparticules se frome sphérique de taille différents

1/2		Présence des microparticules se frome sphérique de taille différents avec faible pourcentage des cristaux de PA
1/3		Présence des microparticules se frome sphérique de taille différents de couleur blanche
1/4		Présence des microparticules se frome sphérique de taille presque homogène de couleur blanche
1/5		Présence des microparticules se frome sphérique de taille homogène de couleur blanche

3. Plan d'expérience

Dans cette partie, on va étudier expérimentalement l'effet de quelques paramètres opératoires {**masse de PLA (m_0)** , **vitesse d'agitation (Vr)**, **Volume de la phase aqueuse (Vaq)**} sur le **taux d'encapsulation et la perte en principe actif**. La modélisation du taux d'encapsulation et la perte en principe actif repose sur l'utilisation de la méthode de plan d'expériences (Logiciel MODDE) qui permis d'obtenir un modèle empirique quadratique (Régression multilinéaire MLR) en n'effectuant qu'un nombre minimal d'expérimentations. La méthodologie du plan d'expériences repose sur les étapes suivantes:

- Définition des objectifs et des réponses.
- Choix d'une stratégie expérimentale.
- Définition des facteurs.
- Définition du domaine expérimental.
- Expression du modèle.
- Construction du plan d'expériences.
- Expérimentation.

- Analyse globale des résultats d'essais.
- Analyse mathématique des résultats d'essais.
- Analyse statistique du modèle.
- Analyse graphique du modèle.
- Validation du modèle et des informations obtenues

3.1. Définition des objectifs et des réponses

Le but de cette étude est d'estimer l'effet des facteurs identifiés comme potentiellement influent par les physiciens et d'identifier ceux ayant une influence statistiquement significative sur les performances observées. Les interactions seront également observées afin de compléter l'estimation des effets moyens des facteurs.

La réponse de cette étude identifiée comme étant le taux d'encapsulation et la perte en principe actif.

3.2. Définition des facteurs et des domaines

Dans notre cas, nous étudions les facteurs quantitatifs potentiellement influents sur les réponses observées qui sont résumés dans le tableau 2.

Tableau 3. La plage des facteurs contrôlables

Facteurs	Code	Unité	Plage de variation
Masse de PLA (m_0)	X_1	(mg)	[40-200]
Vitesse d'agitation (Vr)	X_2	tr/min	[500- 1000]
Volume de la phase aqueuse (Vaq)	X_3	ml	[40-100]

3.3. Construction du plan d'expériences

Nous avons choisi de réaliser le plan D-optimale pour planifier les expériences à faire. Le plan donne 23 expériences plus 03 expériences pour la reproductibilité. Après réalisation des expériences le modèle peut être généré comme suit :

$$\begin{cases} y_1 = a_0 + \sum_{i=1}^{3} a_i x_i + \sum_{i=1}^{3}\sum_{j=i+1}^{3} a_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^{3} a_{ii} x_i^2 \\ y_2 = a_0 + \sum_{i=1}^{3} a_i x_i + \sum_{i=1}^{3}\sum_{j=i+1}^{3} a_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^{3} a_{ii} x_i^2 \end{cases} \quad (1)$$

Avec $\boldsymbol{X_1}$, $\boldsymbol{X_2}$, $\boldsymbol{X_3}$ sont les facteurs contrôlables et y_1 et y_2 sont les réponses de cette étude. Le tableau 3 nous montre toutes les combinaisons possibles de notre expérience.

Tableau 4. La matrice des expériences planifiées par le plan d'expériences

Exp No	m0-Pla	Vsol-aq	Vr
1	40	40	1000
2	40	100	500
3	40	40	750
4	40	100	750
5	40	70	750
6	80	40	1000
7	80	100	500
8	80	70	750
9	80	70	750
10	80	40	750
11	120	100	1000
12	120	40	500
13	120	100	750
14	120	40	750
15	120	100	750
16	160	70	1000
17	160	100	500
18	160	40	750
19	160	100	750
20	160	40	750
21	200	100	1000
22	200	40	500
23	200	40	750
24	200	100	750
25	200	70	750
26	200	70	750

4. Calcul de taux d'encapsulation (τ)

Dans cette partie on cherche à calculer le taux d'encapsulation et la perte en masse du principe actif dans les microcapsules :

τ= 100*m_1 (masse de PA encapsulé pour chaque préparation parmi les 26)/m_0(40 mg)

Perte = 100-τ

Pour déterminer mi {i=1….26} pour chaque expérience on procède la méthode de dosage décrite comme suit et donnée par la formule suivante [1]:

- Après séchage des microcapsules,
- On dissolve dans une ampoule a décanté de 250 ml une masse de formulation=40 mg dans 20 ml de Dichlorométhane, puis extraire 2 fois avec 40 ml NaOH 0.02M (NAOH : pour faire dissoudre PA sans faire extraire le PLA) (PA encapsulé très soluble dans les solutions bases).

- Réunie la phase aqueux (phase supérieur) dans une fiole jaugé de 100 ml puis complété au trait jauge avec NaOH 0.02M (**S1**).

En assurant que l'absorbance est <1 (pour que la loi de Beer-Lamber soit applicable), on procède à dilué 1 ml de la solution (S1) dans fiole de 20 ml et complété au trait jauge avec NaOH 0.02M (S2). En suite, on mesure l'absorbance de la solution (S2) de chaque expérience par spectrophotomètre UV-visible à la longueur d'onde λ = 273 nm en utilisant NaOH 0.02M comme solution blanc. Par la suite, on calcule la masse en l'hydrochlorothiazide encapsulé m_1 en utilisant la courbe d'étalonnage du standard de référence de l'hydrochlorothiazide selon loi de beer-Lambart suivante :

$A = \xi * C * L$ Avec A : l'absorbance de la solution, ξ est le coefficient d'absorbance molaire et L largeur de la cellule.

- **Coefficient d'absorbance**

L'estimation de ce coefficient est basée sur l'établissement de la courbe d'étalonnage, on prépare plusieurs concentrations tels que {14.898, 12.415, 9.9320, 7,4490, 4.9660, 2,4830 ug/ml }

Exemple d'application :

Sachant que la pureté de PA est égale 99.32%

- D1 : 15 mg PA dans 100ml NAOH 0.02M dans une fiole de 100 ml
- D2 : 1 ml de la solution D1 dans une fiole de 10 ml et compléter par NAOH 0.02M au trait jauge.
- Donc la concentration de la solution finale est de 15*1/100*10=0.015 mg/ml =15ug/ml ×99.32=14,898 ug/ml .
- En suite on détermine λmax de la solution de 14.898 ug/ml en scannant cette solution dans la plage 240-360 nm par UV-Visible. En suite en mesure l'absorbance de chaque solution à λmax déterminé en suite on traçe la courbe d'étalonnage A=f(c).



Figure 7. Spectrophotométrie UV-Visible (marque : PERKINELMER PRECISELY, logiciel : LAMBDA 25)

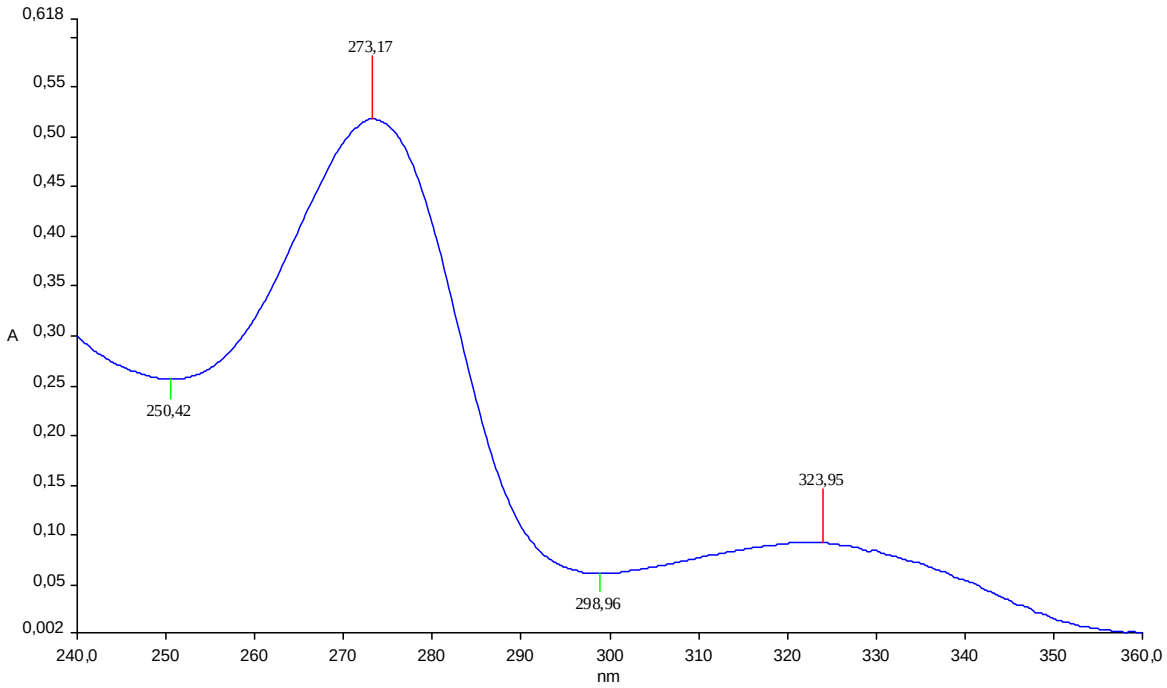


Figure 8. Courbe de détermination de λ_{max}

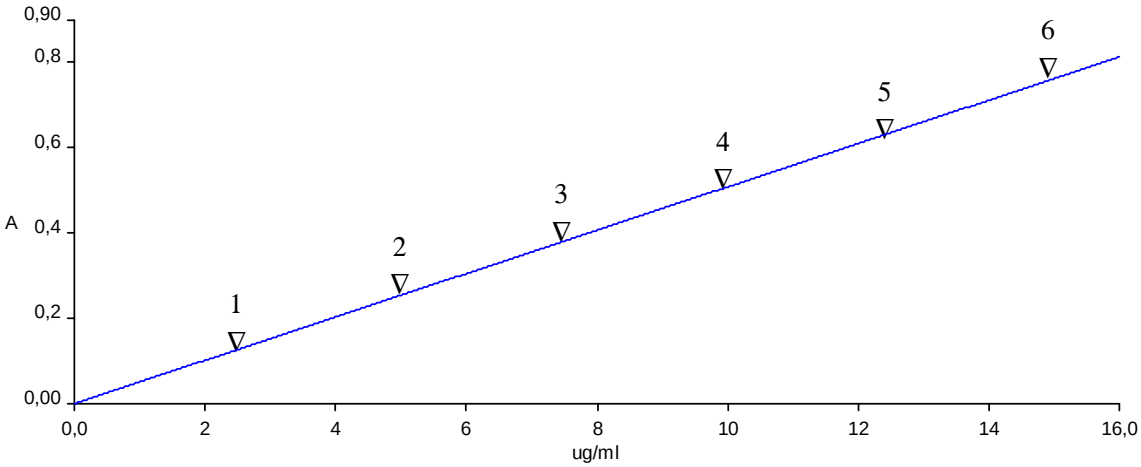


Figure 9. Courbe d'étalonnage à λ_{max} =273.17

Equation: y = 5.087292e-02 * x

Residual error: 0,006492

Corrélation coefficient: 0,999624

$A = 5.087292 \times 10^{-2} * C \quad \Rightarrow \quad A = 5.08729210^{-2} * \frac{m_1}{D}$

D (m1/100*1/20), donc la dilution égale à 2000 (ml).

Donc on sachant A, D en calculant la masse mi de PA dans chaque expérience (voir tableau 4)

Où : L=1cm. m_0 en (µg) , T en (mg/mg) et f est un facteur de dilution (ml)

Tableau 5. Absorbance mesurée après l'extraction du PA pour chaque expérience, la masse de PA encapsulé, le taux d'encapsulation et la perte en PA.

N°	m_{0_PLA} (mg)	Vsaq (ml)	Vr (tr/min)	A à λmax (nm)	$m_{i\ \{i=1:26\}}$ (mg)	τ (%)	Perte en PA (%)	N°	m_{0_PlA} (mg)	Vsaq (ml)	Vr (tr/min)	A à λmax	$m_{i\ \{i=1:26\}}$ (mg)	τ (%)	Perte en PA (%)
1	40	40	1000	0,1909	7,505	18,763	81,238	14	120	40	750	0,4765	18,733	46,833	53,168
2	40	100	500	0,2733	10,744	26,860	73,140	15	120	100	750	0,5505	21,642	54,105	45,895
3	40	40	750	0,2128	8,366	20,915	79,085	16	160	70	1000	0,556	21,858	54,645	45,355
4	40	100	750	0,2644	10,395	25,988	74,013	17	160	100	500	0,7513	29,536	73,840	26,160
5	40	70	750	0,1755	6,900	17,250	82,750	18	160	40	750	0,5647	22,200	55,500	44,500
6	80	40	1000	0,3538	13,909	34,773	65,228	19	160	100	750	0,761	29,918	74,795	25,205
7	80	100	500	0,4016	15,788	39,470	60,530	20	160	40	750	0,6472	25,444	63,610	36,390
8	80	70	750	0,4601	18,088	45,220	54,780	21	200	100	1000	0,5598	22,008	55,020	44,980
9	80	70	750	0,3597	14,141	35,353	64,648	22	200	40	500	0,7843	30,834	77,085	22,915
10	80	40	750	0,4587	18,033	45,083	54,918	23	200	40	750	0,6452	25,365	63,413	36,588
11	120	100	1000	0,6058	23,816	59,540	40,460	24	200	100	750	0,5821	22,884	57,210	42,790
12	120	40	500	0,6998	27,512	68,780	31,220	25	200	70	750	0,7796	30,649	76,623	23,378
13	120	100	750	0,7022	27,606	69,015	30,985	26	200	70	750	0,6368	25,035	62,588	37,413

Les deux modèles multi-non-linéaire régressions issus générés par plan d'expériences pour le taux d'encapsulation et la perte en masse de principe actif sont représentées dans les équations suivantes :

$$T_{encap} = 56.4857 + 7.7804 \times V_0 + 22.5597 \times m_p + 0.0444 \times V_r - 12.7261 \times m_p^2 + 2.9821 \times m_p \times V_r$$

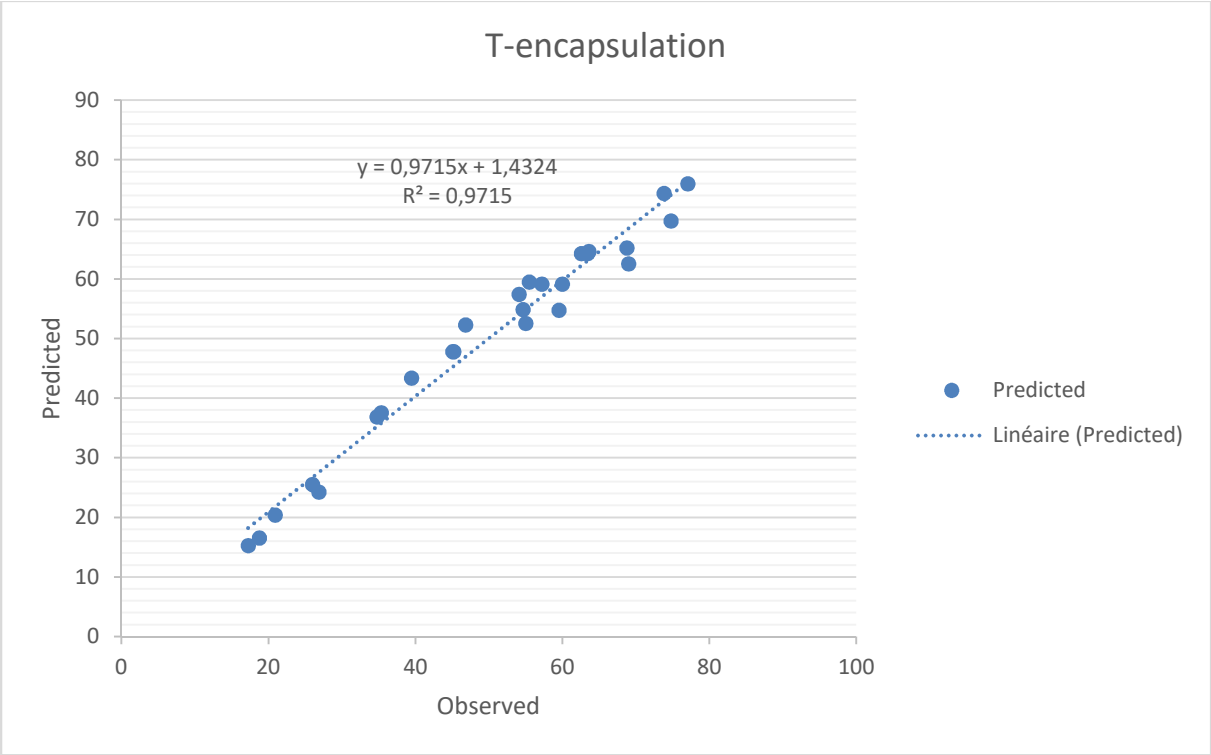
$$T_{encap} = 43.5143 - 7.7804 \times V_0 - 22.5597 \times m_p - 0.0444 \times V_r + 12.7262 \times m_p^2 - 2.9821 \times m_p \times V_r$$

Le tableau 6 représente une comparaison entre les valeurs prédites et celle expérimentales par les deux modèles développés.

Tableau 6. Comparaison entre les valeurs prédites et celles expérimentales de taux d'encapsulation et la perte en masse.

Taux d'encapsulation (%)					**Perte en PA (%)**				
N°	**Observed**	**Predicted**	**Obs - Pred**	**Conf. int()**	**N°**	**Observed**	**Predicted**	**Obs - Pred**	**Conf. int()**
1	18,76	16,446	2,314	3,541	1	81,24	83,554	-2,314	3,541
2	26,86	25,954	0,906	3,489	2	73,14	74,046	-0,906	3,489
3	20,91	21,200	-0,290	2,353	3	79,09	78,800	0,290	2,353
4	25,99	25,998	-0,008	3,320	4	74,01	74,002	0,008	3,320
5	17,25	16,402	0,848	3,308	5	82,75	83,599	-0,848	3,308
6	34,77	35,779	-1,009	2,539	6	65,23	64,221	1,009	2,539
7	39,47	41,980	-2,510	2,784	7	60,53	58,020	2,510	2,784
8	45,22	48,314	-3,094	2,260	8	54,78	51,686	3,094	2,260
9	35,35	35,735	-0,385	2,452	9	64,65	64,265	0,385	2,452
10	45,08	48,314	-3,234	2,260	10	54,92	51,686	3,234	2,260
11	59,54	56,530	3,010	2,715	11	40,46	43,470	-3,010	2,715
12	68,78	64,222	4,558	2,487	12	31,22	35,778	-4,558	2,487
13	69,02	64,266	4,754	2,247	13	30,98	35,734	-4,754	2,247
14	46,83	48,705	-1,875	2,535	14	53,17	51,295	1,875	2,535
15	54,11	56,486	-2,376	1,754	15	45,89	43,514	2,376	1,754
16	54,65	55,357	-0,707	2,438	16	45,35	44,643	0,707	2,438
17	73,84	73,811	0,029	2,558	17	26,16	26,189	-0,029	2,558
18	55,5	55,313	0,187	2,373	18	44,5	44,688	-0,187	2,373
19	74,79	73,856	0,935	2,554	19	25,21	26,145	-0,935	2,554
20	63,61	64,584	-0,974	1,509	20	36,39	35,416	0,974	1,509
21	55,02	55,601	-0,581	3,039	21	44,98	44,399	0,581	3,039
22	77,08	77,037	0,043	3,766	22	22,92	22,963	-0,043	3,766
23	63,41	66,319	-2,909	2,308	23	36,59	33,681	2,909	2,308
24	57,21	55,557	1,653	2,806	24	42,79	44,443	-1,653	2,806
25	60	55,557	4,443	2,806	25	40	44,443	-4,443	2,806
26	62,59	66,319	-3,729	2,308	26	37,41	33,681	3,729	2,308
N = 26, Q^2= 0,972, Cond. no. = 3,3131					N = 26, Q^2 =0,972, Cond. no. =3,3131				
DF = 20, R^2 = 0,982, Y-miss =0					DF = 20, R^2 =0,982, Y-miss =0				
R^2 Adj. = 0,978, RSD =2,6797					R^2 Adj. = 0,978, RSD = 2,6797				
Conf. lev. =0,95					Conf. lev. = 0,95				

Les deux figures suivantes montrent une bonne corrélation linéaire entre les valeurs prédites et celle expérimentales traduite par un coefficient de corrélation proche de l'unité.



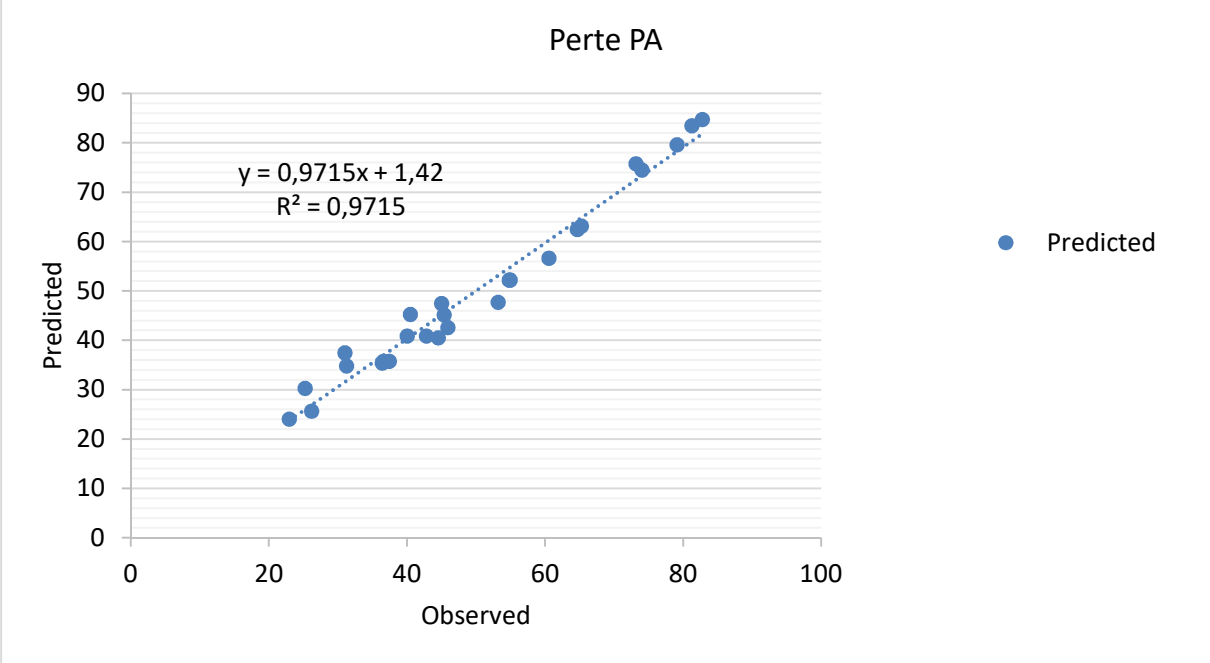


Figure 10. Courbes de régression des deux modèles

Une autre comparaison a été faite dans le but de voir l'effet des facteurs sélectionnés sur les deux sorties. La figure ci-contre montre que le taux d'encapsulation augmente avec l'augmentation de volume de la solution aqueuse et la masse de PLA par contre la vitesse d'agitation n'a pas d'effet remarquable sur le taux d'encapsulation.

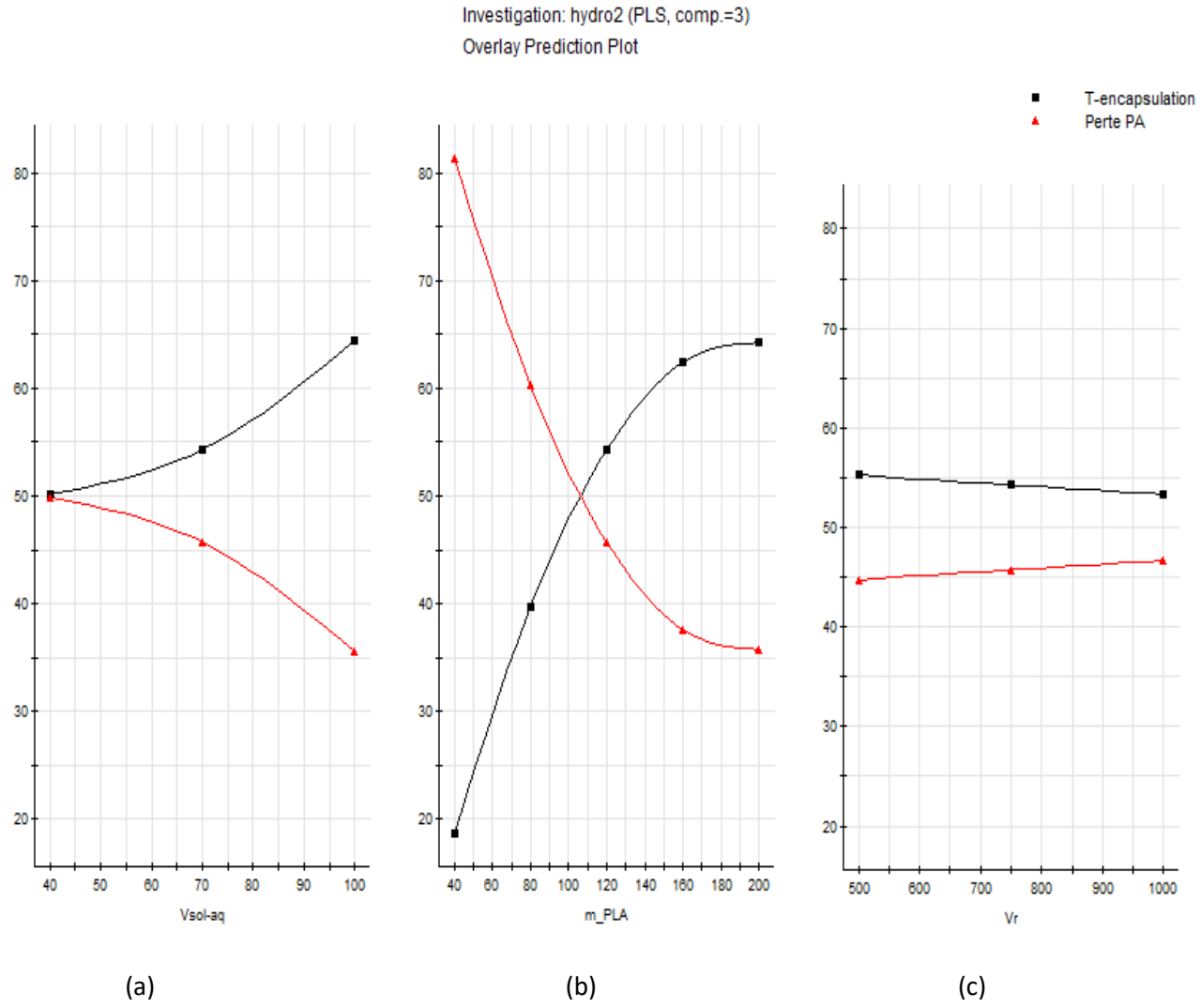


Figure 11 . Evolution du taux d'encapsulation et la perte en foction de (a) Vsol-aq, (b) m_PLA, (c) Vr avec N=26 et DF=19

❖ **Effet du volume de la phase aqueuse sur le taux d'encapsulation du PA**

Afin d'étudier l'influence du volume de la phase aqueuse sur le taux d'encapsulation de l'hydrochlorothiazide, on a fait varier ce paramètre et on a représenté les résultats obtenus sur la figure. D'après cette figure on remarque que l'augmentation du volume de la phase aqueuse a un effet positif sur le taux d'encapsulation. Ce résultat est probablement dû à l'instabilité de l'émulsion et la perte du principe actif dans la phase aqueuse après l'évaporation de phase

organique, de plus l'hydrochlorothiazide est soluble dans une solution aqueuse contenant dans le poly-vinyl alcool (PVA).

❖ **Effet de la quantité du PLA sur le taux d'encapsulation du PA**

D'après la synthèse bibliographique, on a remarqué que la quantité du PLA a un effet significatif sur le taux d'encapsulation du PA. Afin d'étudier l'effet de la quantité de polymère sur le taux d'encapsulation de PA. On a fixé le taux de PA à 40 mg et on a fait varier la quantité du PLA {40, 80, 120, 160, 200mg}, l'influence de la quantité de PLA sur le taux d'encapsulation de L'hydrochlorothiazide est représentée sur la figure .

On remarque que le taux d'encapsulation du principe actif augmente avec l'augmentation de la quantité du PLA dans la phase organique. En effet, la viscosité de la phase organique augmente ce qui favorise la formation de microcapsules de grandes tailles qui peuvent contenir par la suite des quantités plus élevés du principe actif. Ce résultat est similaire aux travaux réalisés par [2] qui ont trouvé que le taux d'encapsulation du PA augmente avec l'augmentation de la concentration du polymere (PLA) dans la phase organique. Ce résultat a été également confirmé par le travail de [3], lors de leur étude portant sur l'encapsulation du Fluconazole par l'éthylecellulose.

❖ **Effet de la vitesse d'agitation**

Pour qu'on puisse connaitre l'effet de la vitesse d'agitation sur le taux d'encapsulation. On a fait varier la vitesse d'agitation de notre solution, les résultats sont représentés sur la figure. Cette dernière, on remarque que le taux d'encapsulation diminue légèrement avec l'augmentation de la vitesse d'agitation, cette diminution est probablement due à l'instabilité de l'émulsion à fort vitesses, ce qui provoque la migration du PA vers la phase aqueuse. si en garde la vitesse d'agitation entre (500 a 750) tr/min l'émulsion sera plus stable et le PA sera retenu par la matrice polymère suite à une évaporation rapide du solvant (dichlorométhane). Des résultats similaires ont été trouvés par [4] lors de l'encapsulation du valsartan [2] (de 400 à 750 tr/min), ces résultats ont été également confirmés par le travail de [5], dans lequel un PA hydrophobe (Nimesulide) a été encapsulé par l'acétate de cellulose, en variant la vitesse d'agitation de 500 à 1000 tr/min où le taux d'encapsulation étais optimal.

5. Dosage de principe actif par HPLC (échantillon 13, 19, 22)

Le dosage a été faite selon la norme USP40 Pharmacopée américaine.



(a)



(b)

Figure 12. HPLC a) WATERS ALIANCE logiciel pour le dosage des microcapsules : EMPOWER 3 b) Shimadzu logiciel : Labsolution pour le dosage de la matière première.

Le tableau suivant montre les résulats de confirmation de taux d'encapsulation en HPLC et confirmation avec UV-Visible.

Tableau 7. Résultat de dosage

Concentration de la solution standard (mg/ml)	0.321	Résultats de τ par l'HPLC (%)	Résultats par UV-visible	ERAM (%)
Surface de la solution standard	10350734.8			
Pureté (%)	99.32			
Concentration de la formulation N°13 (mg/ml)	0.501	**63,17**	**69,015**	**8,46**
Surface de la formulation N°13	10275829			
Concentration de la formulation N°19 (mg/ml)	0.45	70,76	74,795	5,39
Surface de la formulation N°19	10338571			
Concentration de la formulation N°22 (mg/ml)	0.428	74,49	77,085	3,37
Surface de la formulation N°22	10532244.1			

Le tableau montre que la mesure du taux d'encapsulation par HPLC est plus précise que celle de l'UV-visible avec une déviation maximale de 8.46%.

6. Cinétique de libération modérée du PA

Dans cette dernière partie notre but est d'étudier la cinétique de libération in vitro de l'hydrochlorothiazide contenu dans les microcapsules de PLA dans des milieux biologiques simulés, milieu gastrique (pH=1.2) et intestinal(pH=7.4). Pour ce faire, nous allons procédé dans un premier temps a la préparation des milieux physiologique, et la détermination de la courbe d'étalonnage de l'hydrochlorothiazide dans les deux milieux a fin déterminer la quantité de l'hydrochlorothiazide libérée sur la formulation (N13 ,N19 ,N22), dans un second temps nous allons étudier la cinétique (modèle ou l'équation de libération du PA) de chaque formulation dans chaque milieux puis étudier l'influence de pH sur la libération du PA.

7. Méthodologie de travail

7.1. Courbe d'étalonnage de deux milieux physiologiques

Deux milieux de libération sont étudiés : une solution tampon phosphate a pH=7.4 et une solution acide chlorhydrique a pH=1.2 simulant respectivement le milieu intestinal et le milieu gastrique. Ces deux milieux sont préconisés pour l'étude des formes à libération modifiée. Les milieux ont été préparé selon la méthode USP 40 décrite comme suit :

a) Milieu gastrique : Hcl 0.1 M à pH=1.2

Prélever 8.4 ml de Hcl commercialisé (Pureté=37%, densité relative d_4^{20}=1.17, masse molaire M=36.5g/mol) dans une fiole de 1000 ml contenant environ 100 ml d'eau distillé agité doucement et avec précaution puis complété au trait jauge avec l'eau distillé.

b) Milieu intestinal : tampon phosphate PH =7.4

- Préparation de la solution de phosphate de potassium monobasique 0.2 M : dissolvez 27.22 g du phosphate de potassium monobasique (KH_2PO_4) dans l'eau distillée, et diluée à 1000 ml avec le même solvant.
- Placez 50 ml de la solution de phosphate de potassium monobasique 0.2 M dans une fiole de 200ml, ajoutez le volume de NaOH 0.2M spécifie dans le tableau 8 (d'après le tableau le volume de NaOH 0.2M est 39.1 m pour atteindre un PH de 7.4), puis complété au volume avec l'eau distillé.

Tableau 8. Référence 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 de NaOH 0.2 M (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**

Le pH de la solution tampon a été ajusté en utilisant un pH mètre de marque Methrom.

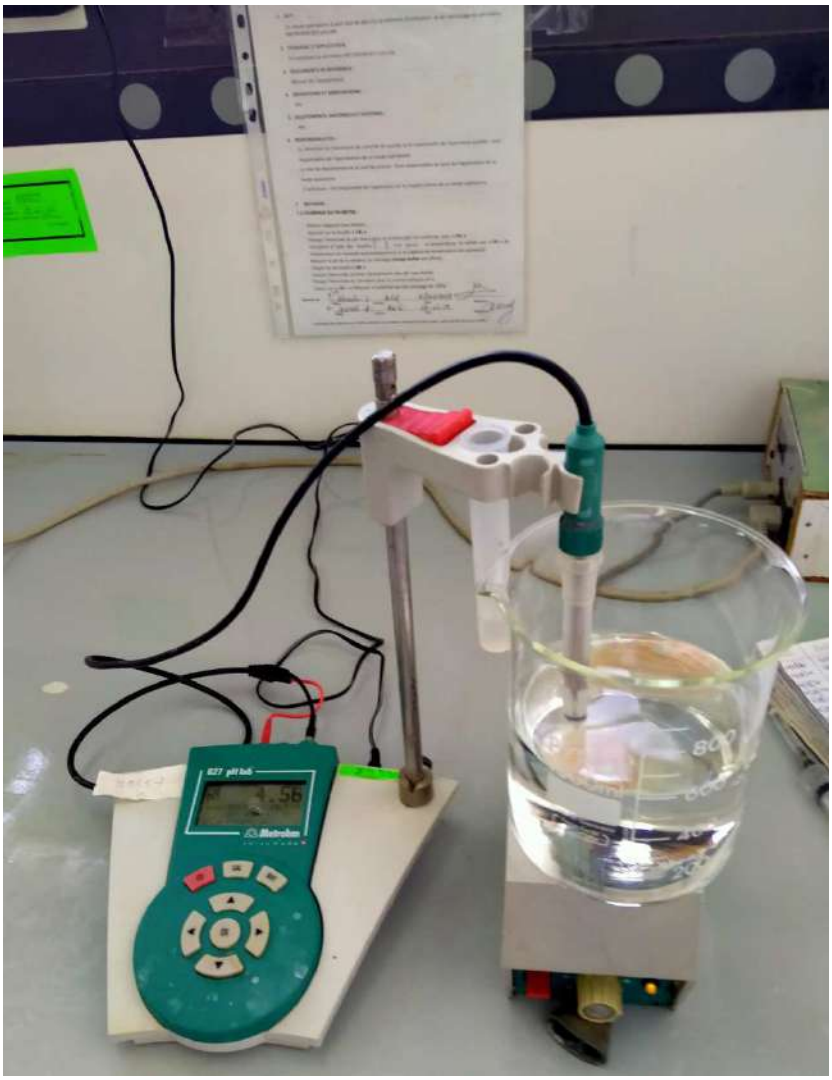


Figure 13. pH mètre de marque Methrom pour ajuster le pH de deux milieux

c) Préparation des solutions pour tracer la courbe d'étalonnage

Selon la méthode d'écrite dans [1] en préparant des solutions dilués pour assuré que l'absorbance soit inferieur a 1 où la lois de Beer-Lambart est applicable. Les concentrations de solutions préparées sont résumés dans le tableau 9.

Tableau 9. Concentrations de solutions préparées dans les deux milieux

Milieu physiologique PH=1.2		Milieu physiologique PH=7.4	
solution	Concentration (µg/ml)	solution	Concentration (µg/ml)
1	2.0460	1	1.9864
2	4.0920	2	3.9728
3	6.1380	3	5.9592
4	8.1840	4	7.9456
5	10.3000	5	9.9320

7.2. Essai de dissolution

Le test de dissolution in vitro de l'hydrochlorothiazide est réalisé selon la recommandation de l'USP 40. L'essai est réalisé dans un bac de 900ml qui est rempli du milieu physiologique (pH=1.2 et 7.4) pendant cet essai, le dissolutest est réglé a une température de 37C° et un vitesse agitation de 100 tr/min. des microcapsule de PLA contenant une quantité correspondant a 50mg de PA (environ 75 mg des micro-capsules contenant le PA) selon le médicament princeps ® 50mg comprimés sécable est introduite les milieux physiologiques.

A l'aide d'une pipete de 1ml jaugé, prélever 1ml de chaque milieu (faire attention prélevé les microcapsules de PLA, prélèvement au repos), 2 prélèvements pour 7.5 min puis un prélèvement après 15min puis toutes les 30min pendant 7heurs. A chaque prélèvement nous remplaçons le volume prélève par le milieu destiné, en suite le 1ml prélevé doit être met dans une fiole de 5ml est complété au volume avec le même milieu où on prélever et à la fin on filtre la solution et lit l'absorbance a λ max du milieu à l'aide d'une spectrophotométrie UV-Visible en utilisant les milieux comme un blanc.



Figure 14. Dissolutest de marque PASOTAX utilisé pour étudier la cinétique libération modérée du PA

7.3. Résultats et discussion de la cinétique de libération du PA

La phase d'absorption des PA s est intimement liée a la phase de libération de sa formulation galénique et de dissolution dans les milieux biologique correspondant au site d'administration. Ainsi la phase de libération et celle de dissolution sont les facteurs limitant la phase d'absorption. Ces facteurs limitant sont les outils de la conception des formes à libération modifiée. La vitesse de libération du PA de la forme galénique peut être accélérée, retardée, ciblée par rapport à la libération immédiate grâce à des formulations, des excipients ou des processus de fabrication différents.

La Pharmacopée Européenne définit les comprimés à libération modifiée comme des « Comprimés, enrobés ou non», qui sont préparés avec des excipients spéciaux, ou par des procédés particuliers, ou les deux, visant à modifier la vitesse, le lieu où le moment de la libération de la ou des substances actives. Les comprimés à libération modifiée comprennent les comprimés à libération prolongée, à libération retardée et à libération séquentielle.

La libération peut être prolongée en retenant le PA au sein d'un système contrôlant sa vitesse de libération. Le PA peut être inclus dans un excipient insoluble dans les liquides de l'organisme qui forme ainsi une matrice à partir de laquelle le PA sera libéré lentement. La libération du PA de la forme galénique peut être simplement plus lente que la libération immédiate ou elle peut être contrôlée, programmée, ou soutenue. Le profil de libération

présente la forme d'une courbe croissante avec une vitesse diminuant au cours de la libération avec un maximum de PA libéré égal à celui obtenu au cours d'une libération immédiate. L'objectif de l'encapsulation est de chercher :

1. la meilleure formulation (rapport $m_{PA}/m_{PLA,}$ Vsolaq, Vagitation) qui correspond à un meilleur taux d'encapsulation avec un taux de libération maximale.
2. Etude de l'effet des milieux (gastrique et intestinal) sur le taux de libération du PA.

1. Effet du taux d'encapsulation sur le taux de libération

Les résultats du taux de dissolution Q (%) du PA dans des microcapsules dans un milieu gastrique et intestinal en fonction du temps sont récapitulés sur les tableaux suivants. Le taux de dissolution du PA est calculé selon USP 40 par la formule suivante :t

$$Q_i = 100 \times \left[\left(\frac{A(t_i)}{\varepsilon} \times F \times 900 + \sum_{i=1}^{26} C_{i-1} \right) / (m_{eq}) \right]$$

Avec C_0=0 µg/ml à t=0 ; Q_i est défini comme le taux de dissolution (%) ; A : l'absorbance à chaque prélèvement ; ε coefficient d'absorbance massique égale à = 6.48×10^{-2} ml.µg^{-1}.cm^{-1} pour le milieu gastrique et égale à 6.4600×10^{-2} ml.µg^{-1}.cm^{-1} pour le milieu intestinal ; F est le facteur de dilution qui égale à 5 ; m_{eq} masse équivalente en hydrochlorothiazide dans les microcapsules qui égale à 50000 µg.

Exemple d'application :

Q_1= (0.0341*5*900/6.48×10^{-2}+0)*100/50000= 4.73%

Q_2= (0,0517*5*900/6.48×10^{-2}+2,63)*100/50000= 7.18%

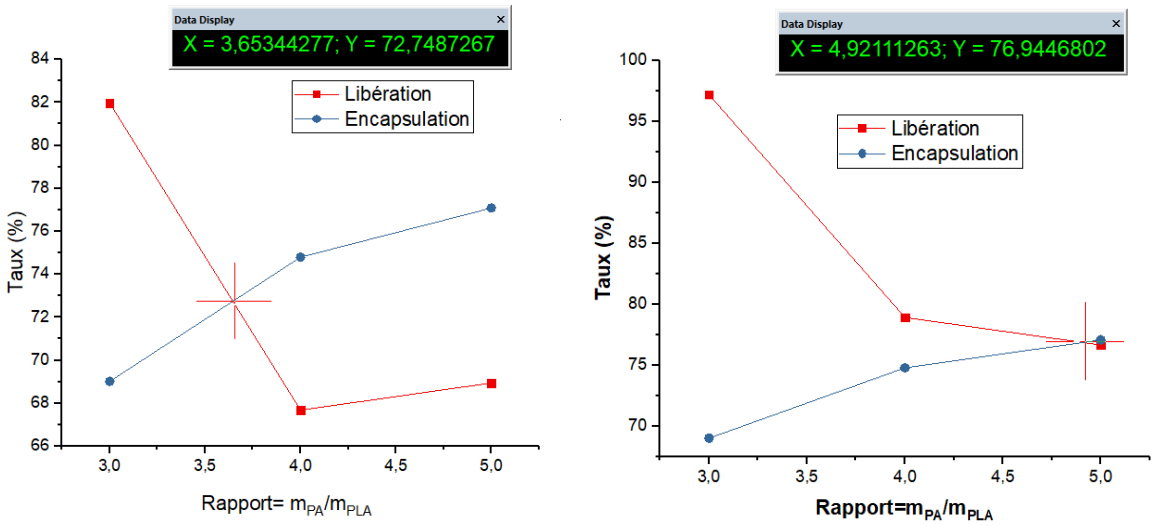
Les tableaux suivants montrent le taux de dissolution Q (%) du PA dans des microcapsules dans un milieu intestinal en fonction du temps. D'après les résultats trouvés, on constate que l'augmentation de la masse du PLA favorise l'encapsulation du PA (augmente le taux d'encapsulation) par contre elle défavorise le taux de libération du PA.

Tableau 10. Résultats de dissolution des formulations dans un milieu intestinal avec l'équation de la courbe d'étalonnage : A = $6.481983\times10^{-2}\times$C (**λ=272nm)**

Temps en heures (h)	**Préparation N13 :** • m_{PLA}=120mg • Vsolaq=40ml • Vagitation=750 tr/min			**Préparation N19 :** • m_{PLA}=160mg • Vsolaq=100ml • Vagitation=750 tr/min			**Préparation N22 :** • m_{PLA}=200mg • Vsolaq=40ml Vagitation=500 tr/min		
	A	**C(µg/ml))**	**Q (%)**	**A**	**C(µg/ml))**	**Q (%)**	**A**	**C(µg/ml))**	**Q (%)**
0,125	0,0341	2,63	4,73	0,0291	2,24	4,04	0,0310	2,39	4,30
0,25	0,0517	3,99	7,18	0,0444	3,42	6,17	0,0398	3,07	5,53
0,5	0,0962	7,42	13,37	0,0595	4,59	8,27	0,0489	3,77	6,80
1	0,1401	10,81	19,48	0,1011	7,80	14,06	0,1105	8,52	15,36
1,5	0,1944	15,00	27,04	0,1708	13,17	23,75	0,1369	10,56	19,04
2	0,2354	18,16	32,76	0,2202	16,99	30,64	0,1587	12,24	22,09
2,5	0,2844	21,94	39,60	0,2588	19,96	36,03	0,1671	12,89	23,28
3	0,3158	24,36	44,01	0,2611	20,14	36,39	0,2058	15,87	28,68
3,5	0,3598	27,75	50,17	0,3426	26,43	47,75	0,2499	19,28	34,84
4	0,3971	30,63	55,40	0,3747	28,90	52,26	0,2804	21,63	39,11
4,5	0,4251	32,79	59,35	0,4011	30,94	55,98	0,3041	23,46	42,44
5	0,4450	34,33	62,18	0,4254	32,81	59,41	0,3247	25,05	45,35
5,5	0,4751	36,65	66,43	0,4262	32,88	59,59	0,3587	27,67	50,12
6	0,4957	38,24	69,36	0,4451	34,33	62,28	0,3741	28,86	52,32
6,5	0,5177	39,93	72,49	0,4502	34,73	63,06	0,4113	31,73	57,54
7	0,5462	42,13	76,53	0,4688	36,16	65,71	0,4477	34,53	62,66
7,5	0,5652	43,60	79,24	0,4782	36,89	67,08	0,4755	36,68	66,58
8	0,5842	45,06	81,96	0,482	37,18	67,68	0,492	37,95	68,94

Tableau 11. Résultats de dissolution des formulations dans un milieu gastrique avec l'équation de la courbe d'étalonnage : A = $6.4600\times10^{-2}\times$C

Temps en heures (h)	**Préparation N13 :** • m_{PLA}=120mg • Vsolaq=40ml • Vagitation=750 tr/min			**Préparation N19 :** • m_{PLA}=160mg • Vsolaq=100ml • Vagitation=750 tr/min			**Préparation N22 :** • m_{PLA}=200mg • Vsolaq=40ml • Vagitation=500 tr/min		
	A	**C(µg/ml))**	**Q (%)**	**A**	**C(µg/ml))**	**Q (%)**	**A**	**C(µg/ml))**	**Q (%)**
0,125	0,0761	5,89	10,60	0,0582	4,50	8,11	0,0617	4,78	8,60
0,25	0,1083	8,38	15,10	0,0921	7,13	12,84	0,0844	6,53	11,77
0,5	0,1316	10,19	18,36	0,1208	9,35	16,85	0,1098	8,50	15,32
1	0,201	15,56	28,05	0,21	16,25	29,30	0,1541	11,93	21,51
1,5	0,2751	21,29	38,41	0,2514	19,46	35,10	0,1851	14,33	25,85
2	0,3102	24,01	43,34	0,2851	22,07	39,83	0,2155	16,68	30,12
2,5	0,3541	27,41	49,50	0,3297	25,52	46,09	0,2691	20,83	37,62
3	0,395	30,57	55,26	0,3708	28,70	51,87	0,2922	22,62	40,88
3,5	0,432	33,44	60,47	0,4011	31,04	56,15	0,3154	24,41	44,15
4	0,4681	36,23	65,57	0,4265	33,01	59,75	0,3365	26,04	47,14
4,5	0,4976	38,51	69,75	0,4423	34,23	62,01	0,3547	27,45	49,73
5	0,5211	40,33	73,10	0,4571	35,38	64,15	0,3691	28,57	51,79
5,5	0,5694	44,07	79,91	0,4766	36,89	66,93	0,4025	31,15	56,50
6	0,6188	47,89	86,88	0,5041	39,02	70,84	0,4321	33,44	60,69
6,5	0,6354	49,18	89,29	0,5301	41,03	74,54	0,4721	36,54	66,33
7	0,6906	53,45	97,08	0,5455	42,22	76,77	0,4993	38,65	70,19
7,5	0,6908	53,47	97,20	0,5565	43,07	78,37	0,5232	40,50	73,59
8	0,6902	53,42	97,21	0,56	43,34	78,93	0,5448	42,17	76,66



(a) (b)

Figure 15. Taux de dissolution et d'encapsulation en fonction du rapport m_{PA}/m_{PLA} dans les deux milieux

La figure 16(a) montre que le rapport optimal de 3.65 donne un taux de libération et d'encapsulation optimale de 72.75 dans un milieu gastrique. La figure 16(b) montre que le rapport optimal de 4.92 donne un taux de libération et d'encapsulation optimale de 76.94 dans un milieu intestinal.

2. Etude de l'effet des milieux (gastrique et intestinal) sur le taux de libération du PA

Selon la monographie d'analyse (Hydrochlorothiazide tablets) USP 40 le taux de dissolution (Q) de l'Hdroclorothiazide dans le milieu acide Hcl 0.1M se libère plus rapidement (Q ≥80% pendant 30 min). Par contre dans notre cas, après 30 minutes de dissolution, on remarque que seulement 13.37 % a été libérée pour la formulation N13, 8.27% a été libérée pour N19 et 6.80% été libérée pour la formulation N22. Ces résultats confirme qu'il ya une libération retardée. Puis on remarque que la vitesse suit l'allure d'une libération progressive et ralentie du PA durant les 8h de dissolution. Les résultats montrent que le taux de dissolution est de 81.96% pour N13, 67.68% pour N19 et 68.94% pour N22.

Pour le milieu intestinal, on remarque que la vitesse suit l'allure d'une libération progressive et ralentie du PA durant les 8h de dissolution. Les résultats montrent que le taux de dissolution est de 97.21% pour N13, 78.93% pour N19 et 76.66% pour N22.

On remarque que, le milieu intestinal favorise légèrement la libération du PA au bous de 8 heures par rapport au milieu gastrique. Cette favorisation est due principalement à la solubilité du PA dans les solutions alcalines que dans les solutions acides et aussi à la stabilité de la forme galénique (microcapsules) dans les milieux de dissolutions.

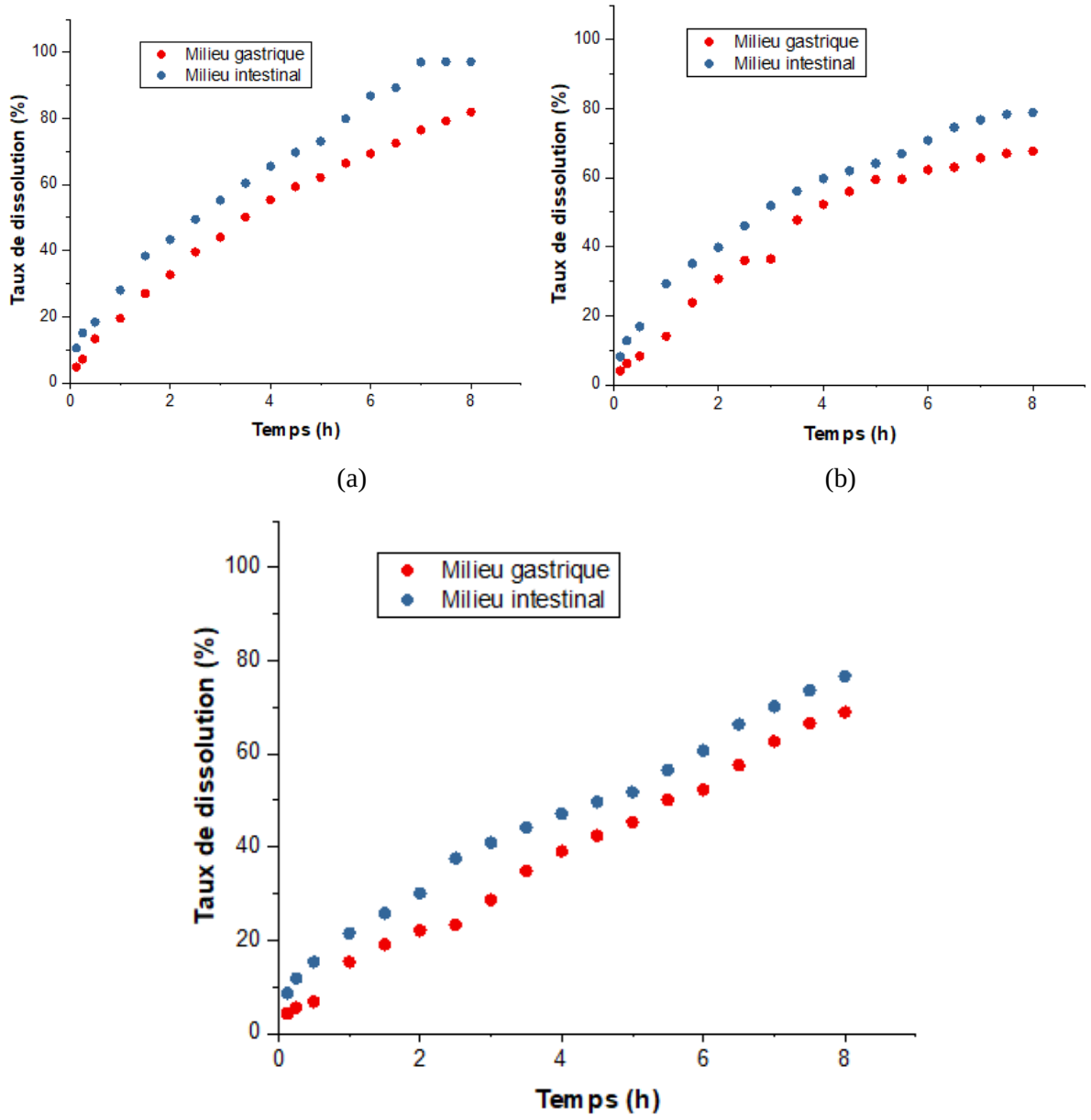


Figure 16. Evolution du taux de dissolution dans les deux milieux, a) formulation N13, b) formulation N19, c) formulation N22.

8. Conclusion

L'objectif essentiel de notre travail est la préparation des microcapsules de PLA contenant un antihypertenseur HCT par la méthode d'émulsion/évaporation par un taux d'encapsulation et taux de libération PA optimale.

- Les microcapsules obtenues ont été caractérisés par différentes techniques microscope optique, UV-Visble et HPLC.

- l'analyse microscopique a montré l'obtention des microcapsules de forme sphérique et de taille relativement homogène dont les formulations où le rapport m_{PA}/m_{PLA} égale à 1/3, 1/4, 1/5.
- Les résultats de l'UV-Visble, HPLC confirment l'incorporation de HCT dans les microcapsules de PLA par équivalence de λmax et le temps de rétention par rapport au Standard de référence et calculer le taux d'encapsulation et libération.
- La méthodologie de plan des expériences a été faite afin de planifier les expériences, présenter les effets des facteurs d'entrées $\{m_{PLA}, V_{ag}, V_{saq}\}$ sur le taux d'encapsulation qui nous amène a conclure que:
- Le volume de la solution aqueuse et la vitesse d'agitation ont un effet négatif sur le taux d'encapsulation du PA , puisque le taux d'encapsulation diminue avec l'augmentation de celle-ci . Par contre l'augmentation de la quantité de PLA conduit à une meilleure micro encapsulation
- En fin, l'étude de libération in-vitro de l'HCT incorporé dans la microcapsule montre que la libération est favorisée dans le milieu intestinal qu'en milieu gastrique

Conclusion générale

L'objectif essentiel de notre travail est la préparation des microcapsules de PLA contenant un antihypertenseur HCT par la méthode d'émulsion/évaporation par un taux d'encapsulation et taux de libération PA optimale.

- Les microcapsules obtenues ont été caractérisés par différentes techniques microscope optique, UV-Visble et HPLC.
- l'analyse microscopique a montré l'obtention des microcapsules de forme sphérique et de taille relativement homogène dont les formulations où le rapport m_{PA}/m_{PLA} égale à 1/3, 1/4, 1/5.
- Les résultats de l'UV-Visble, HPLC confirment l'incorporation de HCT dans les microcapsules de PLA par équivalence de λmax et le temps de rétention par rapport au Standard de référence et calculer le taux d'encapsulation et libération.
- La méthodologie de plan des expériences a été faite afin de planifier les expériences, présenter les effets des facteurs d'entrées $\{m_{PLA}, V_{ag}, V_{saq}\}$ sur le taux d'encapsulation qui nous amène a conclure que:
- Le volume de la solution aqueuse et la vitesse d'agitation ont un effet négatif sur le taux d'encapsulation du PA , puisque le taux d'encapsulation diminue avec l'augmentation de celle-ci . Par contre l'augmentation de la quantité de PLA conduit à une meilleure micro encapsulation
- En fin, l'étude de libération in-vitro de l'HCT incorporé dans la microcapsule montre que la libération est favorisée dans le milieu intestinal qu'en milieu gastrique

Références bibliographiques

Chapitre 1 :

[1] J. Peigne, V. Siranyan, C. Mascret, M. Aulois-Griot, F. Megerlin, Le droit du médicament: évolutions récentes. Dossier, Revue de Droit Sanitaire et Social. (2007) 577–632.

[2] K. Fujinami, R.W. Strauss, I.S. Audo, P.S. Bernstein, D.G. Birch, S.M. Bomotti, A. V Cideciyan, A.-M. Ervin, M.J. Marino, J.-A. Sahel, others, Detailed genetic characteristics of an international large cohort of patients with Stargardt disease: ProgStar study report 8, British Journal of Ophthalmology. 103 (2019) 390–397.

[3] J.P. Buri, F. Puisieux, E. Doelker, J.P. Benoit, Formes pharmaceutiques nouvelles: aspects technologiques, in: Biopharmaceutiques, et Médicaux, Lavoisier Tec and Doc Paris, 1985.

[4] A. Zaffaroni, Applications of polymers in rate-controlled drug delivery, in: Biomedical and Dental Applications of Polymers, Springer, 1981: pp. 293–313.

[5] R.W. Baker, others, Controlled release of biologically active agents., John Wiley & Sons, 1987.

[6] J.A. Uchizono, Application of pharmacokinetics and pharmacodynamics in the design of controlled delivery systems, Design of Controlled Release Drug Delivery Systems. (2006) 1.

[7] Y.W. Chien, others, Fundamentals of rate-controlled drug delivery, Novel Drug Delivery Systems. 2nd Ed. New York, NY: Marcel Dekkar. (1992) 43–137.

[8] J. Hamdani, A.J. Moës, K. Amighi, Development and in vitro evaluation of a novel floating multiple unit dosage form obtained by melt pelletization, International Journal of Pharmaceutics. 322 (2006) 96–103.

[9] F. Veiga, T. Salsa, M.E. Pina, Oral controlled release dosage forms. II. Glassy polymers in hydrophilic matrices, Drug Development and Industrial Pharmacy. 24 (1998) 1–9.

[10] A. Dash, G. Cudworth II, Therapeutic applications of implantable drug delivery systems, Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. 40 (1998) 1–12.

[11] M. Danckwerts, A. Fassihi, Implantable controlled release drug delivery systems: a review, Drug Development and Industrial Pharmacy. 17 (1991) 1465–1502.

[12] S. Kiil, K. Dam-Johansen, Controlled drug delivery from swellable hydroxypropylmethylcellulose matrices: model-based analysis of observed radial front movements, Journal of Controlled Release. 90 (2003) 1–21.

[13] J.R. Robinson, V.H.L. Lee, others, Controlled drug delivery: fundamentals and applications/edited by Joseph R. Robinson, Vincent HL Lee., New York: Dekker, 1987.

[14] H.M. Ingani, J. Timmermans, A.J. Moës, Conception and in vivo investigation of peroral sustained release floating dosage forms with enhanced gastrointestinal transit,

International Journal of Pharmaceutics. 35 (1987) 157–164.

[15] E.L. D.Barthès-Biesel, Conception et réalisation d'un système micro fluidique pour la production de gouttes calibrées et leur encapsulation, Université de Technologie de Compiègne, 2009.

[16] S.Rabeau, Etude d'un procédé continu d'une microencapsulation basée sur un micromélangeur, 2009.

[17] I. Moussa, Diffusion dans les Matrices Hydrophiles à Base d'Amylose Réticulé: Caractérisation et Application à la Libération Contrôlée de Médicaments, Université de Montréal, n.d.

[18] S. Benita, Microencapsulation: methods and industrial applications, Crc Press, 2005.

[19] T.R. Tice, D.H. Lewis, Microencapsulation process, (1983).

[20] R. Dubey, Microencapsulation technology and applications, Defence Science Journal. 59 (2009) 82.

[21] S.S. Bansode, S.K. Banarjee, D.D. Gaikwad, S.L. Jadhav, R.M. Thorat, Microencapsulation: a review, International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. 1 (2010) 38–43.

[22] K.G.H. Desai, H. Jin Park, Recent developments in microencapsulation of food ingredients, Drying Technology. 23 (2005) 1361–1394.

[23] C. Thies, Microencapsulation, Encyclopedia of Polymer Science and Technology. (2002).

[24] M.T. Cook, G. Tzortzis, D. Charalampopoulos, V. V Khutoryanskiy, Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery, Journal of Controlled Release. 162 (2012) 56–67.

[25] A. André-Abrant, J.-L. Taverdet, J. Jay, Microencapsulation par évaporation de solvant, European Polymer Journal. 37 (2001) 955–963.

[26] F. Theron, Conception et mise en œuvre d'un procédé intensifié continu de microencapsulation par polycondensation interfaciale, 2009.

[27] V. Boudy, D. Labarre, A. Laurent, J.-C. Chaumeil, Microencapsulation de microsphères destinées à l'embolisation thérapeutique définitive, Journal de Pharmacie Clinique. 18 (1999) 21–23.

[28] F. Hadria, Etude de la microencapsulation et caracterisation d'une peinture, Université 8 mai 1945 de Guelma, 2010.

Chapitre 2 :

[1] E.G.C. Clarke, A.C. Moffa, Clarke's Isolation and identification of drugs in pharmaceuticals, body fluids, and post-mortem material, Pharmaceutical Society of Great Britain. Dept. of Pharmaceutical Sciences, 1986.

[2] R. Ghaderi, C. Sturesson, J. Carlfors, Effect of preparative parameters on the characteristics of poly d, l-lactide-co-glycolide) microspheres made by the double emulsion method, International Journal of Pharmaceutics. 141 (1996) 205–216.

[3] K. Dashora, S. Saraf, S. Saraf, Effect of processing variables and in-vitro study of microparticulate system of nimesulide, Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. 43 (2007) 555–562.

[4] M. Bharathi, S.C.M. Prasad, R.L. Eswari, S.W. Raja, R.T. Allena, S.B. Raj, K.B. Reddy, Preparation and in vitro & in vivo characterization of valsartan loaded eudragit nanoparticles, Der Pharmacia Sinica. 3 (2012) 516–525.

[5] S. Maiti, P. Dey, S. Kaity, S. Ray, S. Maji, B. Sa, Investigation on processing variables for the preparation of fluconazole-loaded ethyl cellulose microspheres by modified multiple emulsion technique, Aaps Pharmscitech. 10 (2009) 703.