République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique

Université Yahia Fares De Médéa

Faculté de technologie

Département de Génie des Précédés et l'environnement

Filière : Génie des Procédés Pharmaceutiques

Mémoire

Présenté par :

BEN BABA ALI Wissem &**AROUAL** Soumia

Pour l'obtention du diplôme de **Master** en **Génie des Procédés Pharmaceutiques**

Thème:

Encapsulation d'une association de deux antihypertenseurs (Valsartan & candesartan celexetil)par un polymère biodégradable, étude paramétrique et étude cinétique de libération des PAs in vitro

Proposé et dirigé par :

Promoteur **Dr BELAISSA .Y**

Co Promoteur **Dr CHABANE. A**

Année universitaire 2020/2021

REMERCIMENT

Nous tenons tout d'abord à remercier ***ALLAH*** *le tout puissant qui nous a donné la force et la Patience d'accomplir ce modeste travail.*

Nous adressons notre sincère sentiment de gratitude à notre promoteur ***Dr Belaissa.Y*** *pour tout l'aide qu'il nous a apporté, pour ses fructueux conseils, pour sa disponibilité, pour sa patience et pour ses encouragements*

Nous tenons aussi à remercier très vivement notre co-promotreur ***Dr CHABANE.A****, pour toutes les explications que nousavons reçues de sa part, pour le temps qu'il nous a consacré pourcompléter ce travail. Nous lui souhaitons beaucoup de succès et deréussite dans son travail de recherche*

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury, ***Dr HADIDI .N*** *qui a accepté de présider le jury de notre travail et* ***Mme le Dr FARGANi .Z*** *comme examinatrice de ce modeste travail.*

Un grand remerciement au Directeur de l'usine Antibiotical du groupe Saidal à Médéa qui nous a permis d'effectuer notre stage pratique.

*Nos remerciements vont également à toute l'équipe du laboratoire de contrôle et inspection*particulièrement ***Mme Sadouk.F.***

Nos remerciements à ***M r HENTABLI Mohamed****, pour tout l'aide qu'elle nous a apporté,*

Enfin, nous tenons également à remercier nos proches pour leurs soutiens permanents, ettoutes personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

DIDICASE



Du profond de mon cœur, je dédie ce modeste travail :

A ma chère mère *qui a tant sacrifié pour moi et qui a éclairé le chemin de la vie par son grand soutien et ses encouragements. Je la remercie pour tout ce qu'elle m'a fait. Que dieu la préserve et la garde pour moi.*

A mon cher père *qui a toujours dans mon coeur. Que dieu le garde dans son vaste paradis.*

A mon frère *qui m'a accompagné tout au long de mon parcours et qui m'a toujours soutenu et encouragé et ne m'a jamais laissé tomber.*

A *tout ma famille* ***Ben babaali*** *et* ***Gahem****et tout le groupe de* ***la pharmacie Belhadj***

A *Ma meilleure et chère copine* ***RayanTE****t tous mes collages*

A mon binôme et ma sœur

A *tous ceux qui ont participé à l'élaboration de ce modeste travail et tous ceux qui nous sont chers.*

Wissem

DIDICASE



Du profond de mon cœur, je dédie ce modeste travail :

A mon père et ma mère

Aucune dédicace ne serait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être

A mes chers frères et ma sœur :*qui m'ont accompagnées durant tout mon parcours qui m'ont toujours soutenues et encourager et me n'ont jamais laissé tomber***.**

A** tout ma famille **AROUAL** et **OULD CHERCHALI** et tout le groupe de **la pharmacie Douakh

***A** tous mes amis et mes collages*

A mon binôme et ma sœur wissem

***A** tous ceux qui ont participé à l'élaboration de ce modeste travail et tous ceux qui nous sont chers.*

Soumia

Résumé :

Dans cette partie d'étude nous sommes intéresses d'atteindre les objectifs suivants :

Encapsuler une association de deux antihypertenseurs à savoir le Candesartan celixetil (CC) et le valsartan (VAL) selon le procède d'émulsion et d'évaporation dans une matrices polymériques biodégradables tel que l'acide poly-lactique (PLA) en vue d'avoirune formulation a une libération prolongée et pour améliorer la biodisponibilité de ces deux PAs par encapsulation par le PVP K30 ;

L'étude de criblage des paramètres d'encapsulation sur le rendement d'encapsulation en utilisant la méthodologie des plans d'expérience montre un meilleur taux d'encapsulation pour la formulation F2 avec 85,8% pour le candesartan cilexetil et 90,09% pour le valsartan. La libération des Pas est mieux favorisée dans le milieu intestinal après 6 heures de dissolution, un taux de libération de 66,80% pour le candesartan cilexetil et 67,54%.

La caractérisation par FT-IR confirme la présence de (CC) et le VAL, l'analyse par MEB montre des microparticules sphériques avec une taille allant de 5 à 40 µm ;

Enfin, une étude cinétique de libération des principes actifs in vitro dans des milieux similaires {milieu gastrique pH=1.2 et milieu intestinal pH=6.8}.

Mots clés : Encapsulation, Candesartan cilexetil, polyvinylpyrrolidone (PVP K30), acide poly lactique (PLA).

Abstract:

In this part of the study, we are interested in achieving goals

Encapsulate a combination of two antihypertensive namely candesartan celixetil (cc) and valsartan (Val) according to the evaporation emulsion process in a biodegradable polymeric matrix such as poly-lactic acid (PLA) to have a formulation a prolonged release. Then. improved the bioavailability of these two active ingredients by encapsulation with PVP K30.

After that, screening study to have the effect of certain encapsulation parameters (quantity of PLA quantity of PVP K30) on the encapsulation yield (rate of encapsulation of the microparticles) using the methodology of design of experiments integrated into MODDE6 software. Next, the characterization of the formulations: confirmed the presence of cc and the Val by electronic scanning microscope for the best formulation F2 and F6 showed spherical microparticles with size ranging from 5 µm to 40µm.

Finally , kinetic study of the release of active ingredients in vitro in similar media (gastric medium pH=1.2 and intestinal medium pH=6.8) . The obtained results show a better rate of encapsulation for formulation F2 with 85.8% for candesartan cilexetil and 90.09% for valsartan, this formulation which contains a maximum amount for PLA (300mg). The release of the active

ingredients is better promoted by the F6 formulation in the intestinal medium after 6 hours of dissolution, A release rate of 66.8% for condesartan celexetil and 67.54% for valsartan this formula contains a maximum amount of PVP K30.**Mots clés :** Encapsulation, Candesartan cilexetil, polyvinylpyrrolidone (PVP K30), acide poly lactique (PLA).

ملخص:

في هذا الجزء من الدراسة نحن مهتمون بتحقيق الأهداف التالية :

تغليف مزيج من اثنين من الخافضات للضغط وهيكانديسارتان (CC)وفالسارتان (VAL)وفقا لعملية المستحلب والتبخر في المصفوفات البوليمرية القابلة للتحلل مثل متعدد حمض اللاكتيك (PLA)من أجل الحصول على صياغة للإفراج لفترات طويلة وتحسين التوافر البيولوجي لهذين المادتين الفعاليتين عن طريق التغليف معPVP K30 ؛

دراسة معلمات تغليف الفرز على العائد تغليف باستخدام منهجية التصاميم التجريبية يظهر معدل تغليف أفضل لصياغة F2 مع 85.8٪ ل سيسارتان سيليكستيل و90.09٪ لالفالسارتان. ويفضل الإفراج عن باس أفضل في وسط معوي بعد 6 ساعات من الانحلال، ومعدل الإفراج عن 66.80٪ ل سيسارتان سيليكستيل و67.54٪.

ميزة FT-IR يؤكد وجود (CC) وVAL، والتحليل من قبل MEB يظهر جسيمات كروية متناهية الصغر بحجم يتراوح من 5 إلى 40 ميكرومتر ؛

أخيرًا، دراسة حركية لإطلاق المواد الفعالة في المختبر في وسط مماثل {درجة الحموضة المتوسطة المعوية = 1.2 ودرجة الحموضة المتوسطة المعوية = 6.8}.

الكلمات المفتاحية: التغليف ، سيسارتان سيليكستيل)متعدد حمض اللاكتيك (PVP K30)، بوفيدون

-

Sommaire :

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des illustrations

Liste des tableaux

Introduction générale 1

Chapitre I : les antihypertenseurs

I.1.Introduction 3

I.2.Les antihypertenseurs 3

I.3. Classe des antihypertenseurs 3

a- Bêta-bloquants 3

b- Antagonistes du calcium 4

c- Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC) 4

d - Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II 4

I.4. Le candesartan cilexetil 4

I.4.1. Historique 4

I.4.2. Définition 5

I.4.3. Pharmacocinétique 5

I.4.4. Pharmacodynamique 5

I.5. Valsartan 5

I.5.1. Historique 6

I.5.2. Définition 6

I.5.3. Pharmacocinétique 6

I.5.4. Pharmacodynamique 7

I.6. Les Associations des antihypertenseurs 7

Chapitre II : L'encapsulation et les polymères biodégradables

Première partie : encapsulation

II.1. Définition 8

II.2. Historique 8

II.3. Objectifs de l'encapsulation d'un principe actif 8

II.4. Différents types d'encapsulation 9

II.4.1. La micro encapsulation 9

II.4.1.1. Types de microparticules 9

II.4.1.a. Les systèmes réservoirs (microcapsules) 9

II.4.1.b Les systèmes matriciels (microsphères) 9

II.4.2. La nano-encapsulation 10

II.5. Caractéristiques générales des microparticules 10

II.5.1. Structure et taille 10

II.6. Mécanismes de libération du principe actif à partir des microparticules 11

II.7. Les différents procédés de micro encapsulation 11

Deuxième partie : les polymères biodégradables

II.1. Définition 13

II.2. Propriétés des polymères biodégradables 13

II.3. Le poly acide lactique 13

II.3.1. Historique 13

II.3.2. Définition 14

II.3.3. Propriétés 14

II.3.4. Applications du PLA en pharmacologie 14

II.4. Système à libération contrôlée 15

Chapitre III : Matériel et méthode

III.1. Application de la méthode de plan d'expérience 17

III.1.1 Introduction 17

III.1.2 Définition des objectifs et des réponses 17
III.1.3 Définition des facteurs 18
III.1.4 Définition du domaine expérimental 18
III.1.5 Construction du plan d'expériences 19
III.1.6 Expérimentation 20
III.2. Matières premières 20
III.2.1 Principe actif 20
III.2.2 Excipients 22
III.3 Equipements 23
III.4. Méthode 24
III.4.1 Préparations des microcapsules 24
III.4.2. Détermination taux d'encapsulation des microparticules 27
III.4.3 Réalisation du test de dissolution 27
III.4.4 préparation de la courbe d'étalonnage 29
III.5. Caractérisation des formulations 30
III.5.1. Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier(IRTF) 30
III.5.2. Microscopie optique 30
III.5.3. Microscopie Electronique à Balayage (MEB) 30
III.5.4 Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) 30
III.5.5. Le test de dissolution 31

Chapitre IV : résultats et discussion

IV.1. Analyse globale des résultats d'essais 32
IV.1.1 Taux d'encapsulation par HPLC 32
IV.1.2 Analyse mathématique des résultats d'essais 34
IV.1.3. Analyse statistique du modèle 34
IV.1.3.1 Analyse statistiques des coefficients du modèle 35
IV.1.3.2. Analyse statistique globale des modèles 35
IV.1.4. Analyse graphique du modèle 37
IV.1.4.1. Courbe de criblage 37
IV.1.4.2. Résumé de l'ajustement (Les statistiques sommaires) 38

IV.1.4.3. Représentation graphique des surfaces de réponses 39
V.1.4.4. Représentation graphique de l'effet des facteurs sur les réponses 41
V.1.4.5. Courbes iso-réponse 41
IV.2. Etude de la cinétique de libération in vitro des microparticules 42
IV.2.1 Profil de libération dans milieu gastrique (pH 1.2) 42
IV.2.2. Profil de libération dans le milieu intestinal (pH 6.8) 43
IV.3. Caractérisation des microparticules par microscopie optique 45
IV.4 Caractérisation par microscopie électronique à balayage (MEB) 46
IV.5 Caractérisation des microparticules par spectroscopie Infra-Rouge 47

Conclusion générale

Références bibliographiques

Annex

Liste des abréviations

CC : Candesartan cilexetil

DCM : Dichlorométhane

TE : Taux d'encapsulation

FDA : Food and Drug Administration

HTA : L'hypertension artérielle

HPLC : High Performance Liquid Chromatography

IR-TF : Infrarouge à Transformée de Fourier

LP : Libération prolongée

MEB : Microscopie électronique à balayage

PA : Principe Actif

PLA : Poly acide lactique

PVA : Polyalcool vinylique

PVP :Poly vinyle pyrrolidone

Val : valsartan

Liste des figures

Chapitre I : les antihypertenseurs

Figure I.1: Structure chimique du Candesartan cilexetil..... 5

Figure I.2 : Formule chimique du valsartan 6

Chapitre II : L'encapsulation et les polymères biodégradables

Figure II.1 : Représentation schématique des différents systèmes de microparticules 9

Figure II.2: Représentation schématique des différentes formes de nanoparticules 10

Figure II.3 : Morphologie d'une microcapsule 13

Chapitre III : Matériel et méthode

Figure III.1: préparation de la phase aqueuse 25

Figure III.2 : Préparation de la phase organique 26

Figure III.3. Préparation des microparticules..... 26

Figure III.4 : récupération des microparticules. 27

Chapitre IV : résultats et discussion

Figure IV.1 : courbe d'étalonnage du candesartan déterminé par HPLC 32

Figure IV.2 : courbe d'étalonnage du valsartan déterminé par HPLC 32

Figure IV.3 La corrélation entre les valeurs prédites et de l'expérience de TE_CC 38

Figure IV.3 La corrélation entre les valeurs prédites et de l'expérience de TE_VL 38

Figure IV.4: Résumé de l'ajustement de MODDE..... 39

Figure IV.5 : Surface de réponse PLA et PVP en fonction de TECC 40

Figure IV.6 : Surface de réponse PLA et PVP en fonction de TEVL 40

Figure IV.7 : Effets des facteurs sur le taux d'encapsulation 41

Figure IV .8 : courbes iso-répons 42

FigureIV.9 : Profil de libération de cc dans le milieu gastrique..... 42

FigureIV.10 : Profil de libération de valsartan dans le milieu gastrique 43

FigureIV.11 : profile de libération de cc dans le milieu intestinal 43

FigureIV.12 : profil de libération de valsartan au milieu intestinal..... 44

FigureIV.13 :: Image MEB de formulation F2 46
Figure IV.14 :: Image MEB de formulation F6 46
Figure IV.15 : Spectre IR-TF Candesartan Ciléxetil 47
FigureIV.16 : Spectre IR-TF du valsartan 48
FigureIV.17 : Spectre IR-TF du placebo 49
Figure IV.18 : Spectre IR-TF des microparticules 50
Figure IV.19 : chromatogramme de la libération des principes actifs ..... annexIII
Figure IV.20 : chromatogramme de l'encapsulation des principes actifs ..... annexIII

Liste des tableaux

Chapitre II : L'encapsulation et les polymères biodégradables

Tableau II.1 : Classification des techniques d'encapsulation selon la nature du 12

Chapitre III : Matériel et méthode

Tableau III.1 : La nature des différents Facteurs 18

Tableau III.2 Le domaine des facteurs étudiés 19

Tableau III.3 Les paramètres fixe 19

Tableau III.4 La matrice des expériences planifiées par le plan d'expériences..... 20

Tableau III.5 : Caractéristiques physicochimiques du candesartan cilexetil..... 21

Tableau III.6 : Caractéristiques physicochimiques du valsartan 21

Tableau III.7: Caractéristique du poly (acide lactique) 22

Tableau III .8 : Les propriétés de Poly vinyle pyrrolidone. ..... 22.

Tableau III .9 : Les propriétés de Polyalcool vinylique(PVA) 23

Tableau III.10 :Préparation de courbe d'étalonnage 29

Chapitre IV : résultats et discussion

Tableau IV.1: Les résultats des taux d'encapsulations expérimentales..... 33

Tableau IV.2 : Coefficients de modèles TECC et TEVL 34

Tableau IV.3 : Coefficients de modèles TECC et TEVL 35

Tableau IV.4 : Résultat statistique de model TECC..... 36

Tableau IV.4. Résultat statistique de model TEVL..... 36

Tableau IV.5 : La liste de sommaire statistique 37

Tableau IV.6 : Les résultats des taux d'encapsulations expérimentales et théoriques obtenus par modèle empirique..... 37

Tableau IV.7 : Caractérisation par microscopie optique des particules formées 45

Tableau IV.8: Principales bandes d'absorption IR TF du Candesartan Ciléxetil 47

Tableau IV.9 : Principales bandes d'absorption IR TF du valsartan..... 48

Tableau IV.10 : Principales bandes d'absorption IR TF du polymère 49

Tableau IV.11 :libération de valsatrandans le milieu gastrique .....annexe II

Tableau IV.12 :libération de cc dans le milieu gastrique ..... annexeII

Tableau IV.13 : libération de valsartan au milieu intestinal .....annexe II

Tableau IV.14 : libération de candesartan au milieu intestinal..... annexe II

Introduction générale

Le développement et la création des nouvelles préparations médicamenteuses, dépendent des plusieurs paramètres, à savoir ; les propriétés physico-chimiques et pharmacologiques du principe actif ccidat. Par conséquent cette molécule doit conserver ses propriétés thérapeutiques depuis sa mise au point jusqu' à la cible [1].

Parmi toutes les voies d'administration des médicaments, la voie orale a toujours suscité un grand intérêt car elle est la plus confortable et la plus facile pour le patient. Malheureusement un grand nombre de molécules actifs administrés par cette voie ne parviennent pas à la circulation sanguine, par le manque d'absorption et de la faible biodisponibilité ; cette dernière est liée à une libération massive de la molécule active dans les milieux physiologiques et/ou faible résistance enzymatique. L'une des stratégies proposées pour améliorer la biodisponibilité orale des médicaments est l'incorporation de principes actifs dans des matériaux polymères par la micro encapsulation. Cette technique permet de protéger le principe actif et de contrôler sa libération dans l'organisme, ainsi que de diminué la toxicité et les effets secondaires liés à un relargage massif du principe actif et réduire le nombre de prises en prolongeant l'action thérapeutique [2].

L'hypertension artérielle (HTA) représente un problème de santé publique majeur. D'un point de vue épidémiologique, On estime un taux de 46,2% le nombre d'hypertendus actuellement en Algérie. Cette maladie ne peut pas être guérie, mais peut être contrôlée grâce à divers traitements médicamenteux [3].

Les antihypertenseurs sont utilisés pour rétablir une tension artérielle (TA) normale en cas d'hypertension. Cette classe de médicaments regroupe un très grand nombre de substances aux modes d'action variés. Lorsqu'un seul médicament ne suffit pas pour normaliser la tension artérielle, deux antihypertenseurs peuvent être associés**.**

Dans cet ordre d'idées, nous avons envisagé d'entreprendre un travail de recherche portant sur une étude de la micro-encapsulation d'une association de deux antihypertenseurs par la technique d'émulsification et évaporation de solvant à l'aide d'un polymère biodégradable.

A cette fin et pour exposer les résultats trouvés, notre mémoire sera organisée en trois parties :

- Une recherche bibliographique divisée en deux chapitres :

- Premier chapitre, comporte une synthèse bibliographique sur les antihypertenseurs et les principes actifs « candesartan ciléxetil et valsartan »,
- Deuxième chapitre, où nous allons parler sur l'encapsulation de manière générale, les différents types de microparticules ainsi que les différents procédés de la micro encapsulation, les polymères biodégradables en général et nous prendrons connaissance plus en détails du « PLA » : son origine, ses particularités ainsi que ses domaines d'applications seront abordées pour mieux comprendre les conditions de son utilisation dans le domaine pharmaceutique.

- Une partie expérimentale regroupe la méthodologie expérimentale à savoir l'étude de criblage qui est planifié par un logicielspécial de formulation (modde 06) et les méthodes d'analyse et de caractérisation à savoir (HPLC, IR-TF, MEB et dissolutest).

- La 3ème partie sera consacrée au discussion et interprétation des résultats obtenus

Enfin, nous terminerons par une conclusion générale qui résume les principaux résultats obtenus lors de ce travailexpérimental ainsi que quelques perspectives.

Chapitre I :

Les antihypertenseurs

I.1.Introduction :

La tension artérielle mesure la pression exercée par le sang sur les parois des artères. Elle correspond à deux mesures : celle de la pression exercée par le sang sur les artères lors de la phase de contraction et d'éjection des oreillettes et des ventricules (pression artérielle systolique ou PAS) et celle exercée lors de la phase de remplissage des cavités cardiaques (pression artérielle diastolique ou PAD).

L'hypertension artérielle (HTA) correspond à une élévation de la pression artérielle dans les artères. On parle d'hypertension artérielle chez l'adulte lorsque la pression artérielle systolique est supérieure ou égale à 140mm Hg et la pression artérielle diastolique supérieure ou égale à 90mm Hg [4-6].

I.2.Les antihypertenseurs :

Ces médicaments sont des vasodilatateurs musculotropes qui diminuent le tonus vasculaire au niveau des petites artères et des artérioles. Il existe plusieurs types d'antihypertenseurs [7].

I.3.Les Classe D'antihypertenseurs :

Le traitement médicamenteux peut faire appel à plusieurs familles de médicaments. Cinq classes d'antihypertenseurs sont privilégiées : les diurétiques, les bêtabloquants, les inhibiteurs calciques, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion (IEC) et les antagonistes de l'angiotensine II. Ces médicaments ont montré leur efficacité pour prévenir les accidents cardiovasculaires chez les personnes hypertendues.

a- Bêta-bloquants :

Ce sont des produits qui inhibent de façon compétitive l'effet bêta des amines sympathomimétique sur le cœur, ils diminuent la conduction auriculo-ventriculaire. En fait, le degré du ralentissement cardiaque dépend de l'état du système sympathique. Au repos, il y aura peu de changement ; en revanche à l'effort, il y aura prévention de l'accélération cardiaque [8-9].

b- Antagonistes du calcium :

Les antagonistes du calcium, encore désignés par le terme « inhibiteurs calciques » ou bien par le terme « bloqueurs des canaux calcique » sont indiqués dans le traitement d'affections cardiovasculaires majeurs [8].

Les inhibiteurs des canaux calciques dilatent les artères systémiques et les artères coronaires et exercent leur effet anti-ischémique par diminution de la post-charge et augmentation du débit coronaire [10].

c- Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC) :

Ces médicaments permettent de bloquer le système rénine-angiotensine de manière chronique. Ils ont pris une place importante dans le traitement de l'hypertension artérielle et de l'insuffisance cardiaque [8]. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine sont indiqués lors de la dysfonction ventriculaire gauche asymptomatique [11], Ils agissent en s'opposant à l'angiotensine I, inactive sur le plan vasculaire, en angiotensine II [12].

d- Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II

Les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II sont une nouvelle classe de substances qui inhibent le système rénine-angiotensine, mais par un mécanisme différent de celui dès l'inhibiteur de l'enzyme de conversion d'angiotensine. Ils agissent par antagonisme au niveau des récepteurs de l'angiotensine II. Ils inhibent donc l'effet vasoconstricteur de l'angiotensine II exogène et préviennent la sécrétion d'aldostérone induit par ce peptide[13].

I.4. Le candesartan cilexetil :

I.4.1. Historique :

La Food and Drug administration (FDA) a approuvé le Candesartan en juin 1998 pour la prise en charge de l'hypertension chez l'adulte. Sur la base des essais cliniques. La FDA a également approuvé l'utilisation du Candesartan pour traiter l'hypertension chez les adolescents et les enfants âgés d'un an et plus en octobre 2009. En février 2005, la FDA a approuvé l'utilisation du Candesartan chez les adultes souffrant d'insuffisance cardiaque [14].

I.4.2. Définition :

Le candesartan cilexétil, un non peptide,(CC) est un pro médicament antagoniste synthétique des récepteurs de l'angiotensine II. Il est largement utilisé pour le traitement des Hypertensions et insuffisance cardiaque en application clinique [15].

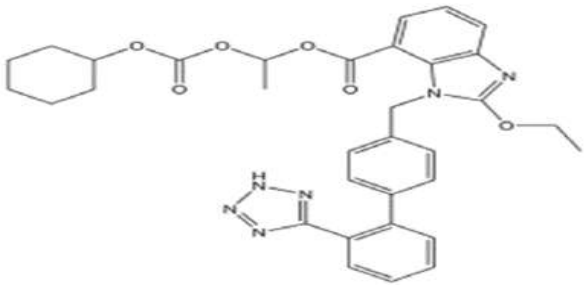


Figure I.1: Structure chimique duCandesartan cilexetil.

I.4.3. Pharmacocinétique :

➢ **Absorption :**Après l'administration du pro médicament au candesartan cilexetil, la biodisponibilité absolue du candesartan a été estimée à 15 %. Les aliments à haute teneur en gras n'ont aucun effet sur la biodisponibilité du candesartan à partir du candesartan cilexetil[16].

➢ **Distribution :**Le volume de distribution du Candesartan est de 0,13 L/kg. Le candesartan est fortement lié aux protéines plasmatiques (plus de 99%) et ne pénètrent pas les globules rouges [16].

➢ **Métabolisme et élimination :**Le candesartan cilexetil de prodrug subit une hydrolyse rapide et complète de l'ester dans la paroi intestinale pour former le médicament actif, le candesartan . Le métabolisme hépatique mineur du candesartan (20 %) pour former un métabolite inactif. Sa demi-vie terminale est d'environ 9 heures. La clairance plasmatique totale de Candesartan est de 0,37 mL/min/kg,avec une clairance rénale de 0,19 ml/min/kg[16].

I.4.4 pharmacodynamique :

Le candesartan bloque sélectivement la liaison de l'angiotensine II à l'AT1 dans de nombreux tissus, y compris les muscles lisses vasculaires et les glandes surrénales. Cela inhibe les effets vasoconstrictifs et aldostéroniques de l'angiotensine II à médiation AT1 et entraîne une diminution globale de la pression artérielle.

I.5. Valsartan :

I.5.1. Historique :

Le valsartan a été développé par Novartis et a été vendu sous le nom de marque DIOVAN. Il détient actuellement la plus grande part du marché pour le médicament de son genre[18].

I.5.2. Définition :

Le valsartan est une substance non peptidique, actif par voie orale et bloqueur des récepteurs de l'angiotensine II spécifiques agissant sur les récepteurs AT1. [19]

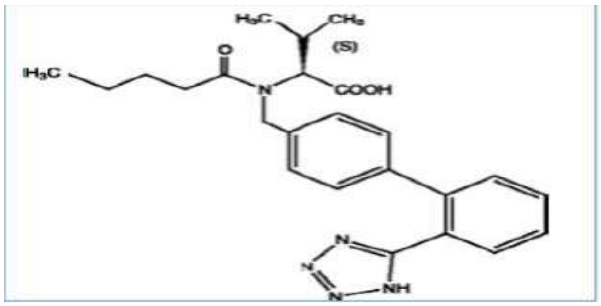


Figure I.2 : Formule chimique du valsartan

I.5.3. Pharmacocinétique :

- **Absorption :** Après administration orale du valsartan seul, les pics de concentration plasmatique de valsartan sont atteints après 2 à 4 heures. La biodisponibilité absolue moyenne est de 23 %. Les concentrations de valsartan dans le sang mesuré par l'aire sous la courbe et les pics plasmatiques (Cmax) diminuent respectivement d'environ 40 % et 50 %[20].

- **Distribution :**Le volume de distribution à l'état d'équilibre du valsartan après administration intraveineuse est d'environ 17 litres, ce qui indique qu'il n'y a pas de distribution importante du valsartan dans les tissus. La liaison du valsartan aux protéines sériques est forte (94 à 97 %) ; il se lie principalement à l'albumine [20].

- **Métabolismes : Le** valsartan n'est pas largement biotransformé puisque seulement 20 % de la dose sont retrouvés sous forme de métabolites.Ce métabolite est inactif sur le plan pharmacologique [20].

➢ **Elimination :**L'excrétion du valsartan se fait principalement par voie biliaire dans les fèces (environ 83 % de la dose) mais également par voie rénale dans les urines (environ 13 % de la dose), essentiellement sous forme inchangée. La demi-vie du valsartan est de 6 heures [20].

I.5.4. Pharmacodynamique :

Le valsartan, en administration orale, est un antagoniste puissant et spécifique du récepteur de l'angiotensine II. Il inhibe de manière sélective le récepteur AT1, responsable des effets connus de l'angiotensine II. L'augmentation des concentrations plasmatiques d'angiotensine II secondaire au blocage du récepteur AT1 pourrait stimuler le récepteur AT2 non bloqué, ce qui semble compenser l'effet du récepteur AT1. Aucune activité agoniste partielle sur le récepteur AT1 n'a été mise en évidence pour le valsartan dont l'affinité pour le récepteur AT1 est beaucoup plus forte (environ 20 000 fois) que pour le récepteur AT2.

I.6. Les Associations D'antihypertenseurs :

Il existe des médicaments qui associent deux antihypertenseurs. En effet, dans certains cas, la prise d’un seul antihypertenseur ne permet pas de contrôler efficacement la tension artérielle, Les antihypertenseurs qui sont utilisés en association ont un mode d’action complémentaire qui permet un effetsynergique sur la baisse de la tension : les bêtabloquants, les inhibiteurs de l’enzyme de conversion et les antagonistes de l’angiotensine [20].

ChapitreII :

Encapsulation et les polymères biodégradables

Première partie : encapsulation

II.1. Définition :

L'encapsulation est considérée comme étant une technologie qui piège des matériaux solides, liquides ou gazeux dans des capsules miniatures, de taille nano-, micro- ou millimétriques, qui peuvent libérer leur contenu à des rythmes contrôlées dans des conditions spécifiques [21].

Grâce à un matériau enrobant, l'encapsulation protège une substance active et/ou sensible. Ce procédé, en plus de protéger des matières actives, permet également de protéger les utilisateurs dans le cas d'actifs irritants ou toxiques, ou encore de mieux contrôler la libération des molécules actives [22].

II.2. Historique :

Dans le domaine pharmaceutique, les premières recherches sur la micro encapsulation datent de 1931, lorsque des microbilles de gélatine encapsulant un actif ont été préparées par le procédé de coacervation. Spansules™ (développée par Smith Kline et French) était la première préparation à libération prolongée commercialisée qui remonte à 1952 et qui consiste en des gélules remplies de microgranules chargés en dextroamphétamine sulfate (Dexedrine®) [23].

II.3. Objectifs de l'encapsulation d'un principe actif :

Les microparticules peuvent avoir différents rôles selon l'application pour laquelleelles sont conçues, elles assurent donc diverses fonctions tels que : [24-26]

- Masquage d'un goût ou d'une odeur.
- Amélioration de la présentation d'un produit.
- Protection et stabilisation d'une matière active dans une formulation.
- Réalisation d'une mise en forme adaptée (dosage plus élevé dans de petits volumes).
- Modification et maîtrise du profil de libération d'une matière active pour obtenir,des microcapsules a libération prolongée ou déclenché

II.4. Différent type d'encapsulation :

II.4.1. La micro encapsulation :

La micro encapsulation 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 micro encapsulation 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 [27].

II.4.1.1. Types de microparticules :

Les procédés de micro encapsulation permettent de préparer des microparticules de deux types :

II.4.1.a. Les systèmes réservoirs (microcapsules) : 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 taux d'encapsulation peuvent être particulièrement élevées : entre 85% et 90% de masse de matière active par rapport à la masse de microparticules [28].

II.5.1.b Les systèmes matriciels (microsphères) : 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% [28].

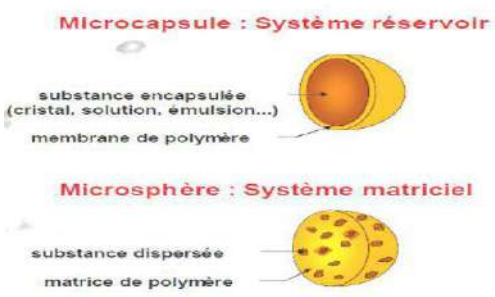


Figure II.1 : Représentation schématique des différents systèmes de microparticules

II.4.2. La nano-encapsulation :

La nano-encapsulation est définie comme une technologie permettant d'encapsuler des substances à l'échelle nanométrique. La distribution de tout composé bioactif à divers sites dans le corps est directement affectée par la taille des particules. Ainsi, la nano-encapsulation a un potentiel plus élevé que la micro-encapsulation d'augmenter la biodisponibilité, d'améliorer la libération contrôlée et de permettre un ciblage précis des composés bioactifs. Les nanoparticules sont des particules de taille colloïdale ayant des diamètres allant de 10 à 1000 nm et sont exprimées à la fois sous forme de nano capsules et de nano sphères. Les nano capsules sont des systèmes vésiculaires dans lesquels le composé bioactif est confiné dans une cavité entourée d'une membrane polymère unique, alors que les nano sphères sont des systèmes matriciels où le composé bioactif est uniformément dispersé (Figure II.2).

La nano-encapsulation d'agents thérapeutiques augmente leur efficacité, leur spécificité et leur capacité de ciblage [29].

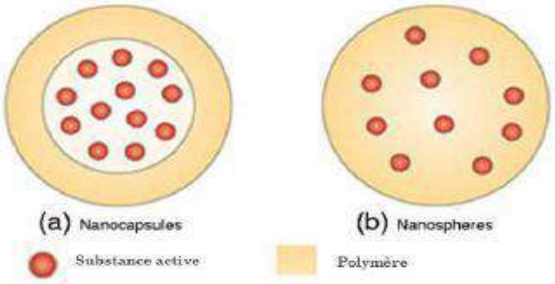


Figure II.2 : Représentation schématique des différentes formes de nanoparticules

II.5. Caractéristiques générales des microparticules :

II.5.1. Structure et taille :

Une microcapsule est constituée d'une enveloppe entourant une substance à transporter (figure II.3). Elle est composée de deux parties : des substances à encapsuler (cristaux, solutions ou émulsions) et une membrane qui protège les substances à encapsuler et contrôle leur libération. Elle présente une taille comprise entre 1 et 1000µm [30, 31]. La morphologie des microparticules peut être observée par microscopie optique ou microscopie électronique à balayage [32].

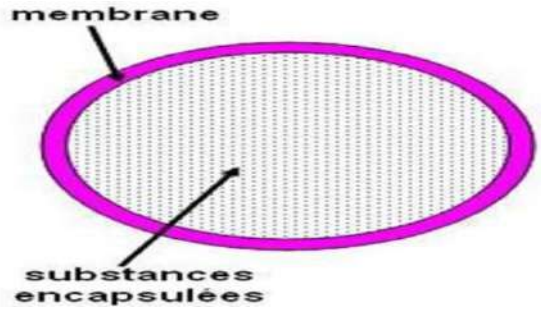


Figure II.3 : Morphologie d'une microcapsule

II.6. Mécanismes de libération du principe actif à partir des microparticules

Le taux de libération dépend des certains paramètres incluant le type du polymère ; la solubilité et la dose du médicament ; le rapport polymère / médicament ; la taille des particules du médicament et du polymère et la structure et porosité de la forme de la matrice.

Le mécanisme de libération du médicament de la matrice polymère est basé sur les caractéristiques et les propriétés physico-chimiques du polymère. Trois mécanismes principaux peuvent être établis [33] :

- Diffusion de médicaments à travers les polymères non dégradables ;
- Gonflement et diffusion du médicament avec un polymère gonflant ;
- Libération du médicament par dégradation et érosion.

II.7. Les différents procédés de micro encapsulation :

Il existe plusieurs méthodes pour encapsuler un principe actif. A chaque technique une gamme de tailles, un taux d'encapsulation et une structure interne différente. Il y a également diverses possibilités concernant la forme physique finale des microparticules qui peuvent être sous forme de poudre ou de dispersion dans un liquide**.**[34,35]

- **Les procédés mécaniques** : basés sur le séchage ou la solidification de gouttelettes contenant tous les constituants de la future particule.
- **Les procédés chimiques** : caractérisés par un déclenchement simultané de la synthèse de la membrane (ou de la matrice) et de l'encapsulation du principe actif. Ce procédé n'utilise donc pas de matrices enrobantes préformées ;
- **Les procédés physico-chimiques** : dépendants de la solubilité des agents enrobants sous l'effet de variations des conditions physiques (température, pH, ajout d'un non

solvant ou d'un polymère incompatible…), et de changements d'état (fusion et solidification) des agents enrobants.

Tableau II.1 : Classification des techniques d'encapsulation selon la nature du procédé [35].

Type de procédé	Mode d'encapsulation	Microparticules
Procédés Physicochimique	Séparation de phases ou Coacervation (simple ou complexe)	Microcapsules Microsphères
	Evaporation – extraction de solvant	Microsphères
	Gélification thermique D'émulsions (hot melt)	Microsphères
Procédés chimiques	Polycondensation interfaciale	Microcapsules
	Polymérisation interfaciale	Microcapsules
Procédés mécaniques	Nébulisation/séchage (Spray drying)	Microsphères
	Gélification ou congélation de gouttes (priling)	Microsphères
	Enrobage en lit fluidisé (spray-coating)	Microcapsules
	Extrusion/Sphronisation	Microsphères

Deuxième partie : les polymères biodégradables

II.1. Définition :

Ce sont des polymères issus d'organismes vivant ou de polymères synthétisés à partir de ressources renouvelables. Ces polymères connaissent depuis quelques années un réel essor du fait de leurs origines biologiques et surtout de leur caractère biodégradable.

De nombreux polymères biodégradables sont répertoriés et peuvent être classés en quatre catégories :[36]

- Les polymères issus d'agro-ressources extraites directement de la biomasse comme les polysaccharides (amidon, cellulose...) ou les protéines (caséine, zéine).
- Les polymères synthétisés à partir de monomère issu de la biomasse à l'aide de réaction chimique classique tels que : le poly acide lactique (PLA).
- Les polymères issus de micro-organismes naturels ou génétiquement modifiés tel que ceux appartenant à la famille des polyhydroxyalcanoates PHA.
- Les polymères issus de ressources non renouvelables tels que le poly Ɛ-caprolactane (PCL)

II.2. Propriétés des polymères biodégradables :

Les polymères biodégradables présentent des propriétés particulières et intéressantes pour des applications pharmaceutiques et médicales. Parmi ces propriétés, on peut citer ; la biodégradabilité, la biocompatibilité et la biorésorbabilité [37].

II.3. Le poly acide lactique :

II.3.1. Historique :

Le PLA est synthétisé par la polymérisation de l'acide lactique, qui a été découvert pour la première fois en 1780 par le chimiste suédois SchTEle en examinant le lait caillé puis commercialisé pour la première fois en 1881.

Le PLA a reçu beaucoup d'attention grâce à ses ressources renouvelables, sa biocompatibilité, sa biodégradation et la transparence du matériau final. Le PLA est alors largement répondu dans le domaine du biomédicale, de l'emballage et du textile [38].

II.3.2. Définition :

Le poly (acide lactique) (PLA) est un polyester aliphatique linéaire issu de ressources renouvelables. Il est très employé dans le domaine médical en vue de ses nombreuses propriétés dont on peut citer les propriétés de biorésorbabilité, de biodégradabilité, de biocompatibilité ainsi que de bonnes propriétés mécaniques bien propres lui conférant un attrait particulier pour de nombreuses applications**.** Le PLA a ainsi conquis le domaine biomédical en entrant dans la composition des systèmes à libération prolongée[39,40].

II.3.3. Propriétés :

Le PLA est un polyester aliphatique, de structure linéaire, biodégradable et thermoplastique. Il possède aussi des propriétés particulières de biocompatibilité.

Cependant, comme tous les polyesters, le PLA est sensible à la conjugaison de l'humidité et de la température. Afin de garder les propriétés intrinsèques du matériau, en particulier en termes de propriétés mécaniques, il est recommandé comme pour le PET (polyéthylène téréphtalate) de sécher le polymère avant utilisation.

Le PLA présente les propriétés applicatives suivantes : [41]

- une rigidité importante ;

- de très bonnes propriétés optiques en termes de transparence et de brillance ;

- de bonnes propriétés barrière aux graisses, aux huiles et aux arômes ;

- un niveau de perméabilité à la vapeur d'eau intermédiaire qui permet d'avoir un niveau de respirabilité qui peut être utilisé dans l'emballage des légumes prêts à consommer ;

- des propriétés de barrière aux gaz (O_2, CO_2) qui lui permet d'être intermédiaire aux différents polymères de grande diffusion ;

- une tension superficielle permettant une impression facile ;

II.3.4. Applications du PLA en pharmacologie :

Le PLA est très largement utilisé dans le domaine de la médecine. En effet, ses applications sont multiples et variées en raison de ses nombreuses propriétés adéquates. En clair, sa non-toxicité, sa biocompatibilité ainsi que sa biodégradabilité en composés naturels facilement assimilables dans l'organisme en font un matériau de choix particulièrement préconisé pour rentrer dans la formulation des médicaments [42].

II.4. Système à libération contrôlée :

Un système de libération prolongée est censé pouvoir reléguer la bonne quantité de principe actif à un moment bien précis et à un endroit bien précis. Le fait de libérer de manière progressive la substance active qu'il renferme avant de se dégrader, contribue considérablement à améliorer l'efficacité du médicament ainsi que sa posologie.

Les systèmes à libération prolongé se subdivisent en deux catégories :

- Les systèmes qui libèrent le principe actif dans tout le corps par le biais du système de circulation sanguine.
- Les systèmes à libération ciblée libérant le médicament directement sur son site d'action ou du moins s'en approcher au maximum tout. Ils sont distingués de l'avantage d'être plus efficaces d'une part en libérant localement une grande concentration de produit et d'une autre part d'amoindrir le risque d'effets secondaires.

Chapitre III : Matériel et méthode

Objectif :

L'objectif principal de notre travail de recherche est de réaliser des formulations à libérationProlongée à base d'une association de deux principes actifs valsartan et lecandesartan ciléxetil et en utilisant la technique d'encapsulation par émulsion évaporation du solvant, à l'aide d'un polymère biodégradable et d'étudier expérimentalement l'effet de quelques paramètres opératoires (quantité de polymère PLA et quantité de PVP K30) sur le taux d'encapsulation et la libération des principes actifs dans le milieux intestinal.

La modélisation le taux d'encapsulation 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, de plus, une comparaison entre la modélisation

Pour réaliser notre travail de recherche, nous avons eu la chance d'avoir 'un stage pratique au niveau l'usine de production Antibiotical du groupe Saidal / Médéa)

La matrice des essais de formulation a été réalisée selon un plan de travail comprenant trois étapes : des essais de formulation, une analyse qualitative et une analyse quantitative.

Les échantillons préparés ont été caractérisés par différentes techniquesd'analyses physicochimiques et biopharmaceutiques à savoir : chromatographie liquide à haute performance (HPL), le spectrophotomètre infra- rouge (FT-IR), microscope à balayage électronique (MEB) et le test de dissolution.

III.1. Application de la méthode de plan d'expérience :

III.1.1 Introduction :

Nous nous servirons des plans d'expérience pour déterminer les influences des variables masse de PLA et la masse de PVP K30, sur le taux d'encapsulation. Toutes les planifications des expériences et l'analyse statistique des résultats sont faites par le logiciel MODDE (version 11).

MODDE est un logiciel fonctionnant sous Windows permettant de définir des plans d'expériences, de les analyser et de les optimiser. Le logiciel est conçu pour les techniciens et les ingénieurs de tous les secteurs de l'industrie.

Une dépendance fondamentale existe entre l'objectif recherché et la définition du plan d'expériences. Cependant, dans les deux cas, les étapes de la démarche se déroulent dans un ordre similaire à savoir :

- 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.

III.1.2 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 la quantité nécessaire de PLApour obtenir un taux d'encapsulation maximum pour les deux principes actifs dans le domaine expérimental

III.1.3 Définition des facteurs : Cette étape définir 10 facteurs potentiellement influents sur la réponse observée, pour deux natures différentes ont été identifiés dans le tableau (III.1).

Tableau III.1. La nature des différents Facteurs

Natures	**Facteurs**
Qualitative	Type de polymère
	Méthode de préparation des microparticules
	Type de solvant organique
	Nature de la phase aqueuse
Quantitative	Quantité des principes actifs
	La masse de PLA
	La masse de PVP K30
	Concentration de PVA
	Volume de PVA
	Vitesse d'agitation

III.1.4 Définition du domaine expérimental :

Le domaine expérimental est constitué de l'ensemble des combinaisons des facteurs qu'il est possible de réaliser. Dans notre cas, nous étudions les facteurs quantitatifs et fixe les facteurs qualitatifs, le tableau (III.2) identifiés le domaine des facteurs variables et le tableau (III.3) résume les facteurs fixés.

Tableau III.2 Le domaine des facteurs étudiés

Facteurs	Code	Unité	Plage de variation
Masse de PLA	X_1	(mg)	[0,300]
Masse de PVP K30	X2	(mg)	[0,75]

Tableau III.3 Les paramètres fixe

Quantité de Valsartan	80mg
Quantité Candesartan Cilexetile	32mg
Concentration de PVA	0.5%
Volume de PVA	50 ml.
Vitesse d'agitation	500tr/min

III.1.5 Construction du plan d'expériences :

Nous avons choisi de réaliser le plan factoriel complet pour déterminer les coefficients des modèles, donc 12 expériences (parce qu'on a deux facteurs (masse de PLA et la masse de PVP K30) et quatre niveaux (les niveaux masse de PLA {100, 150, 200 et 300 mg}, quantité de PVP K30 {0, 37.5, 50 et 75 mg}, plus 2 expériences pour la reproductibilité du modèle

Nous avons vu dans la partie théorique de plan d'expérience que les modèles associés aux études de criblage sont des modèles additifs et le modèle le plus valide s'écrit comme suit :

$$y = a_0 + \sum_{i=1}^{2} a_i x_i + \sum_{i=1}^{2} \sum_{j=i+1}^{2} a_{ij} x_i x_j + \sum_{i=1}^{2} a_{ii} x_i^2$$

Avec**y** le taux d'encapsulation, $\boldsymbol{X_1}$la masse de PLA, $\boldsymbol{X_2}$la masse de PVP K30

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

Exp No	Exp Name	Run Order	Incl/Excl	PLA	PVP
1	F1	9	Incl	100	0
2	F2	8	Incl	300	0
3	F3	10	Incl	100	50
4	F4	2	Incl	200	50
5	F5	3	Incl	300	50
6	F6	11	Incl	100	75
7	F7	1	Incl	200	75
8	F8	4	Incl	300	75
9	F9	12	Incl	0	50
10	F10	5	Incl	0	75
11	F11	7	Incl	150	37.5
12	F12	6	Incl	150	37.5

III.1.6 Expérimentation :

Les essais des formulations ont été réalisés par méthode d'encapsulation émulsion simple évaporation solvant

III.2. Matières premières :

Pour réaliser les différents essais de formulation, plusieurs matières premières ont été utilisées

III.2.1. Principe actif :

*** Candesartan Cilexetil**

Leurs propriétés physico-chimiques sont résumées dans le tableau suivant :

Tableau III.5 : Caractéristiques physicochimiques ducandesartan cilexetil.

Caractérisations	**Spécifications**
Nom UICPA	Cyclohexyloxycarbonyloxy) ethyl-2-ethoxy-1- [[2'-(1H-tetrazol-5- yl) biphenyl-4-yl] methyl] -1H-benzimidazole-7-carboxylate
Formule brute	$C_{33}H_{34}N_6O_6$
Masse molaire	610,66 g/mol
Aspect	Poudre blanche
Solubilité	Solvants organiques : méthanol, éthanol, peu soluble dans l'eau

* valsartan

Tableau III.6 : Caractéristiques physicochimiques du valsartan

Caractérisations	**Spécifications**
Le nom chimique	(S)-N-valeryl-N-{[2'-(1H-tetrazol-5-yl) biphenyl-4- yl] methyl}-valine
Formule chimique	$C_{24}H_{29}N_5O_3$
Masse molaire	435,5 g/mol
Aspect	Poudre fine blanche hygroscopique
Solubilité	Soluble dans le méthanol et l'éthanol. Peu soluble dans l'eau

III.2.2. Les excipients :

* Polymère :

- **Poly acide lactique(PLA) :** Ces caractéristiques physico-chimiques sont représentées dans **le tableau III.7**.

Tableau III.7: Caractéristique du poly (acide lactique)

Nom	Acide poly lactique
Formule brute	(C3H4O2)n
Masse molaire	72,0627 g/mol
Aspect	Sous forme des grains
Solubilité	Tetrahydrofurane, chloroforme, dichlorométhane
Point de fusion	160°C

- **Poly vinyl pyrrolidone K30 (PVP K30):**

Tableau III .8 : Les propriétés de Poly vinyle pyrrolidone (PVA).

Formule brute	$(C_6H_9NO)n$
Masse molaire	2 500 - 2 500 000 g/mol
Solubilité	Dans l'eau chaud, l'acide acétique, l'acide formique, l'éthanol, le chloroforme, le dichlorométhane, le glycérol
Masse volumique	1,2 g/cm³
Aspect	Poudre blanche

➢ Poly alcool vinylique (PVA) :

C'est un polymère obtenu par hydrolyse alcaline d'alcool vinylique, dans notre cas il est utilisé comme tensioactif, son taux d'hydrolyse est 87-90%. Il possédé l'énorme avantage, pour l'utilisation industrielle, d'être non toxique et inodore

Tableau III .9 : Les propriétés de Polyalcool vinylique (PVA)

Formule brute	$(C_2H_4O)\ n$
Masse molaire	44,0526 g/mol
Masse volumique	1,19–1,31 g/cm³
Solubilité	Dans l'eau
Aspect	Sous forme de petits cristaux

❖ Les solvants :

➢ Dichlorométhane (DCM) :

Le dichlorométhane (CH_2Cl_2) est un solvant organique. Il a été choisi dans notre étude pour la préparation des microparticules en raison de son caractère volatil et sa capacité de dissoudre de nombreux composés organiques tels que le PLA.

➢ Méthanol :

C'est un solvant organique à une capacité de dissoudre le candesartan celixtil et le valsartan

III.3. Équipements :

- **Équipements de préparation :**

Les différents équipements utilisés lors de notre préparation sont :

- ✓ Balance ;
- ✓ Plaque chauffante avec une agitation magnétique ;
- ✓ Agitateur vortex ;
- ✓ Centrifugeuse ;

- ✓ pH-mètre ;
- ✓ Montage de filtration sous vide.

- **Equipements de caractérisation :**

Les différents équipements utilisés pour de notre caractérisation physico-chimique et biopharmaceutique sont :

- ✓ Microscope optique ;
- ✓ Chromatographie liquide à haute performance (HPLC)
- ✓ Spectrophotomètre infrarouge IR ;
- ✓ Dissolu test ;
- ✓ Microscopie Electronique à Balayage MEB

- **Verreries :**

- ✓ Béchers de 25 ml, 50ml, 100ml, 1000ml ;
- ✓ Cristallisoirs ;
- ✓ Eprouvettes de 50ml, 100ml ;
- ✓ Seringue
- ✓ Fioles jaugées de 20ml, 25ml ;
- ✓ Tube à essais ;
- ✓ Spatules, pissettes.

III.4. Méthode :

III.4.1 Préparations des microcapsules :

Il existe plusieurs méthodes d'encapsulation, parmi ces méthodes On trouvela méthode émulsion évaporation du solvant, qui est largement utilisée dans le domaine pharmaceutique. Elle consiste à préparer deux phases pour former une émulsion (phase organique + phase aqueuse)

- **Etape I : préparation de la phase aqueuse (PVA 0.5%)**

2,5g de PVA a été dissout dans 500ml d'eau distillée chauffé à 80°C, laissé sous agitation magnétique pendant 1h. Après dissolution totale du PVA, on laisse refroidir la solution.



Figure III.1: préparation de la phase aqueuse.

- **Etape II : préparation de la phase organique**

- Premièrement, elle consiste à dissoudre une masse de PLA dans 20 ml de dichlorométhane (CH_2Cl_2) et laissé sous agitation magnétique jusqu'à la dissolution totale, puis on ajoute une masse de PVP K30 toujours sous agitation (quantités des PLA et PVP K30 varient selon le tableau III.12)
- Deuxièment, Après dissolution totale des polymères on ajoute 32mg de candesartan cilexetil et 80 mg de valsartan toujours sous agitation pendant 15 minutes.

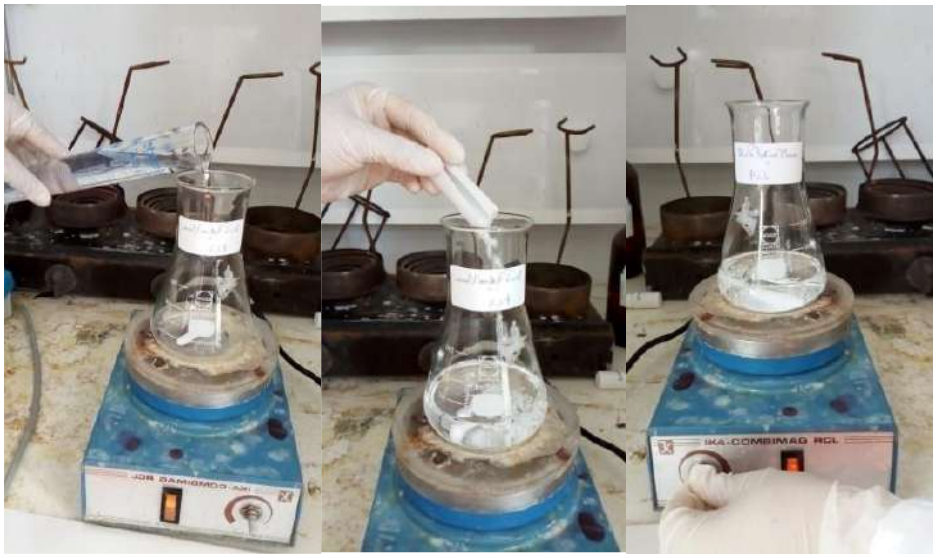


Figure III.2 : Préparation de la phase organique

- **Etape III : préparation des microparticules**

- La solution organique a été ajoutée goutte à goutte a 50ml de la solution aqueuse (PVA 0,5%) sous agitation magnétique à 500 tr/min



Figure III.3. Préparation des microparticules

- Laisser la solution sous agitation jusqu'à l'évaporation total du solvant (DCM) ;
- Les particules sont ensuite récupérées par filtration sous vide
- Puis on sèche les microparticules collectées sur le papier filtre à température ambiante



FigureIII.4 : récupération des microparticules.

III.4.2. Détermination taux d'encapsulation des microparticules :

Pour calculer le taux du PA contenu dans les microparticules de polymère on suit le protocole suivant :

***Préparation des échantillons**

- Peser 10mg des microparticules ajouter 1ml de dichlorométhane ;
- Agiter avec vortex jusqu'à la dissolution (l'éclatement des microparticules) ;
- Ajouter 10 ml de méthanol, agiter avec vortex pendent 5min ;
- Faire centrifuger la solution pendent 15min a (5000 tr/min) ;
- Récupéré le surnagent pour analyser par HPLC

Le taux du PA encapsulé est calculé comme suit

$$TE(\%) = \frac{Q(mg)}{\mathrm{Qi(mg)}} \times 100$$

TE (%) : Taux d'encapsulation

Q : quantité du principe actif encapsulé (mg).

Qi : quantité du principe actif initiale (mg).

III.4.3 Réalisation du test de dissolution : [43]

a) Milieu gastrique : HCl 0,1 M à pH=1,2

Prélever 33,4 ml de HCl commerciale (Pureté=37%, densité relative=1,17, massemolaire M=36,5g/mol) dans 4000 ml d'eau distillé

b) Milieu intestinal : tampon phosphate pH =6,8

- Préparation de la solution de phosphate de potassium monobasique 0,2 M :

- dissolver 40,8 g du phosphate de potassium monobasique (KH_2PO_4) dans 1500 ml d'eau distillée,

- Préparation de la solution NaOH 0,2 M :

- dissolver 8 g du NaOH dans 1000 ml d'eau distillée

- Placer 1250 ml de la solution de phosphate de potassium monobasique 0,2 M dans un cylindre, ajoutez 560 ml de NaOH 0,2M

- Complétez avec l'eau distillée jusqu'au 5000 ml (5 L) puis on ajoute 35 g de Tween 20 (D'après le tableau 9 le volume de NaOH 0,2M est 22.4 ml pour atteindre un PH de6,8 pour 200 ml), puis complété au volume avec l'eau distillé.

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

*** Le protocole opératoire du test de dissolution est comme suit :**

- Allumer le dissolu test ;

- Remplir chaque bac de dissolu-test par 300 ml du milieu de dissolution préalablement, préparé, et la quantité calculée des microparticules

- Régler la température à 37°C puis mettre en marche le système de chauffage et laisser stabiliser ;

- Régler l'agitation à 50 tr/min ; Quand la température atteint 37°C, introduire dans chaque bac les microcapsules (préalablement pesées) et déclencher immédiatement l'agitation ;

-A l'aide d'une pipette de 5ml, effectuer des prélèvements chaque 01 heur pendant 06 heures de dissolution pour le milieu intestinal et après chaque 30 min pendant 2heurs pour le milieu gastrique

-Remplacer après chaque prélèvement, le volume prélevé (5ml) par un même volume du milieu de dissolution

-Lire les solutions prélevées à l'aide d'une chromatographie liquide à haute performance (HPLC) les mêmes conditions chromatographiques utilisé pour la détermination le taux d'encapsulation

III.4.4Préparation de la courbe d'étalonnage :

*** Préparation de la solution mère**

- peser 25 mg de valsartan et 10 mg de candesartan cilexetil

-mettre dans une fiole de 25 ml

- compléter par méthanol jusqu'en trait de jauge

*** Préparation des solutions standards**

- fait des prélèvements (tableau III.10)

- mettre dans des fioles de 25 ml

- compléter par méthanol jusqu'en le trait de juge

On fait l'analyse par chromatographie liquide à haute performance (HPLC)

Conditions chromatographiques :

Volume injection : 20µl

Longueur d'onde (λ) : 254nm

Débit : 2ml/min

Colonne ; C_{18} (10cm, 0.46µm, 5µm)

Phase mobile :

Eau distillée PH 2.8 ajusté par acide orthophosphorique 30% et 70% Acétonitrile filtré par filtre membrane 0.45µm.

Tableau III.10 : Préparation de courbe d'étalonnage

Solution filles	Std1	Std2	Std3	Std4	Std5
Volume(ml)	0,25	0,5	0,75	1	1,25

III.5. Caractérisation des formulations :

Le principe de chaque méthode d'analyses utilisée ainsi que son objectif sont détaillés ci-dessous.

III.5.1. Spectroscopie Infrarougeà Transformée de Fourier(IRTF) :

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet, via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions chimiques présentes dans le matériau. Lorsque la longueur d'onde (l'énergie) apportée par le faisceau lumineux est de l'énergie de vibration de la molécule, cette dernière va absorber le rayonnement et une diminution de l'intensité réfléchie ou transmise est enregistrée. Le domaine infrarouge entre 4000 cm-1 et 400 cm-1 correspond au domaine d'énergie de vibration des molécules [44].

III.5.2. Microscopie optique :

Cette technique permet d'évaluer la taille des microparticules et d'observer leur forme. Des observations au microscope binoculaire au grossissement (x 10) ont été réalisées pour l'ensemble des essais préparés.

III.5.3. Microscopie Electronique à Balayage (MEB) :

La morphologie des microparticules préparées a été déterminée par microscopie électronique à balayage (MEB) afin d'estimer la taille et d'apprécier l'aspect et la forme des microsphères obtenues. L'appareil utilisé pour réaliser cette analyse est de marque « QUANTA 650 MODE DE TRAITEMENT HUV « high vaccum ».

III.5.4 Chromatographie liquide à haute performance (HPLC) :

La chromatographie permet la séparation ou la purification d'un ou de plusieurs composés d'un mélange en vue de leur identification et de leur quantification.

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique. La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du

système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme.

III.5.5. Le test de dissolution :

Le test de dissolution a été réalisé dans deux (02) milieux tampons, l'un intestinal à pH= 6,8 et l'autre gastrique à pH= 1,2 selon la monographie du produit fini comprimé à libération prolongée de l'ouvrage de référence.

CHAPITRE IV : Résultats et Discussion

IV.1. Analyse globale des résultats d'essais :

Chacun des essais a été réalisé 2 fois avec un RSD <2%.Les valeurs relevées lors des lectures étant des valeurs particulières de variables aléatoires, En présence d'une valeur suspecte, l'essai est réalisé de nouveau et la valeur suspecte est écartée. Les résultats des 12 essais de la matrice d'expériences sont présentés dans le tableau (IV.1) et letableau (IV.6) présente les résultats de modèle empirique.

IV.1.1Taux d'encapsulation par HPLC :

Le taux d'encapsulation decandesartan ciléxetil et valsartan a été déterminée à l'aide de l'équation de la courbe d'étalonnage, les solutions standards dosées à l'aide d'unechromatographie liquide à haute performance.

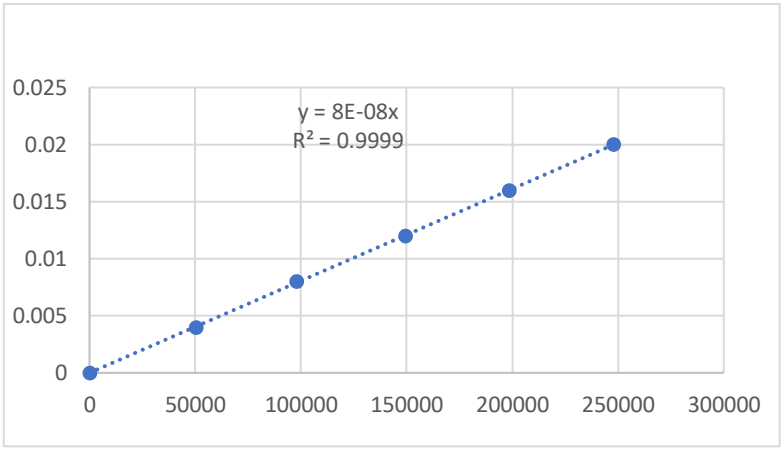


Figure IV.1 : courbe d'étalonnage du candesartan déterminé par HPLC

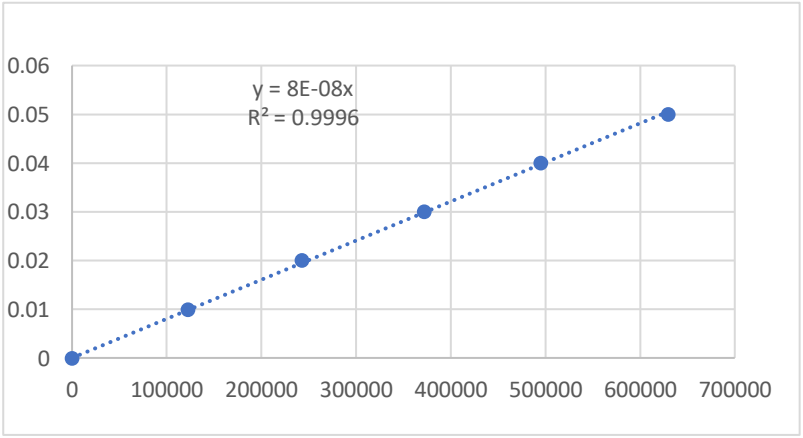


Figure IV.2 : courbe d'étalonnage du valsartandéterminé par HPLC

Tableau IV.1: Les résultats des taux d'encapsulations expérimentales

Numéro de l'Exp	Nom de l'Exp	Ordre de l'lecture	PLA	PVP	TE CC%	TE VL%
1	F1	9	100	0	69,1	72,555
2	F2	8	300	0	85,8	90,09
3	F3	10	100	50	68,83	72,2715
4	F4	2	200	50	76,64	80,472
5	F5	3	300	50	82,25	86,3625
6	F6	11	100	75	66,38	69,699
7	F7	1	200	75	73,43	77,1015
8	F8	4	300	75	80,83	84,8715
9	F9	12	0	50	40,37	42,3885
10	F10	5	0	75	38,25	40,1625
11	F11	7	150	37,5	70,37	73,8885
12	F12	6	150	37,5	69,93	73,4265

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

D'après la synthèse bibliographique, nous avons constatéque la quantité du PLA a un effet significatif sur le taux d'encapsulation du PA. D'après résultats regroupés dans le tableau **IV.1 n**ous remarquons que le taux d'encapsulation des principes actifs augmente avec l'augmentation de la quantité du PLA dans la phase organique, Avec un meilleur taux d'encapsulation 85,5% pour le candesartan et 90,09% pour le valsartan pour la formulation F2 cette formule qui contient une quantité maximum pour le PLA (300mg). 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 élevées des principes actifs.

Ce résultat est similaire aux travaux réalisés ultérieurement qui ont trouvé que le taux d'encapsulation des PA augmente avec l'augmentation de la concentration du polymère (PLA) dans la phase organique.

- **Effet de la quantité du PVP K30 sur le taux d'encapsulation des PA :**

Nous remarquonségalement que le taux d'encapsulation des principes actifs augmente avec diminution dela quantité du PVP K30dans la phase organique donc le PVP K30 influée négativement sur le taux d'encapsulation des PA cet effet négatifde PVP K30 due à l'interférence entre Le PVP K30 et les deux principes actifs.

IV.1.2Analyse mathématique des résultats d'essais :

L'analyse mathématique consiste essentiellement à identifier lescoefficients des modèles à partir des résultats de 12expériences réalisées. L'application de la méthode des moindres carrés sur les résultats d'essais a permis d'obtenir les 5 coefficients de chacun des modèlesfournis en table (IV.2).

Tableau IV.2 : Coefficients de modèles TECC et TEVL.

TE CC	Coeff. SC	Std. Err.	P	Conf. int
Constant	72,4541	1,62249	8,44476e-009	3,97011
PLA	20,0094	1,69716	2,24928e-005	4,15284
PVP	-2,7701	1,50316	0,114923	3,67812
PLA*PLA	-10,7021	2,29019	0,00342071	5,60393
PVP*PVP	1,27216	2,0862	0,564361	5,10478
PLA*PVP	0,175574	2,15885	0,937827	5,28255
N = 12	Q^2 =	0,928	Cond, no, =	4,1457
DF = 6	R^2 =	0,975	Y-miss =	0
	R^2 Adj. =	0,953	RSD =	3,2231
			Conf. lev. =	0,95
TE VL	**Coeff. SC**	**Std. Err.**	**P**	**Conf. int**
Constant	76,0768	1,70361	8,44483e-009	4,16862
PLA	21,0098	1,78202	2,2493e-005	4,36049
PVP	-2,90861	1,57832	0,114922	3,86203
PLA*PLA	-11,2372	2,4047	0,00342074	5,88414
PVP*PVP	1,33576	2,19051	0,564362	5,36002
PLA*PVP	0,184357	2,26679	0,937825	5,54668
N = 12	Q^2 =	0,928	Cond. No. =	4,1457
DF = 6	R^2 =	0,975	Y-miss =	0
	R^2 Adj. =	0,953	RSD =	3,3843
			Conf. lev. =	0,95

IV.1.3. Analyse statistique du modèle :

L'analyse statistique a été réalisée en trois parties. Tout d'abord les modèles ont été analysés dans leur globalité afin de vérifier si l'hypothèse choisie en retenant des modèles de forme quadratique a bien été validée. Ensuite une analyse statistique des éléments des modèles a été menée dans le but d'identifier le meilleur sous modèle pour chacune des réponses. Enfin, nous avons vérifié la normalité de la distribution des résidus pour le modèle retenu.

IV.1.3.1 Analyse statistiques des coefficients du modèle :

A chaque itération, l'analyse de variance permet d'identifier l'élément du modèle dont l'influence est la moins importante c'est-à-dire pour lequel *P* est le plus élevé. Il est alors possible d'éliminer ce terme du modèle. Le tableau (IV.3) représente les coefficients scalaires de notre modèle après le traitement.

Tableau IV.3 : Coefficients de modèles TECC et TEVL

TE CC	***Coeff. SC***	***Std. Err.***	***P***
Constant	72,9901	1,2151	6,55448e-012
PLA	20,1336	1,26292	2,40097e-007
PVP	-2,65314	1,24742	0,0661107
PLA*PLA	-10,4905	1,86417	0,000494206
TE VL	***Coeff. SC***	***Std. Err.***	***P***
Constant	76,6397	1,27585	6,55446e-012
PLA	21,1402	1,32606	2,40096e-007
PVP	-2,78579	1,30979	0,0661109
PLA*PLA	-11,015	1,95738	0,000494205

IV.1.3.2. Analyse statistique globale des modèles :

L'analyse de la variance (ANOVA) permet d'étudier le comportement d'une variable quantitative et à expliquer en fonction d'une ou de plusieurs variables nominales catégorielles, cette analyse donne les résultats présentés en tableau (IV.4).

Nous obtenons pour la réponse une valeur nul de *P* ce qui confirme l'hypothèse de l'utilisation des modèles quadratiques pour modéliser la réponse.

Tableau IV.4 : Résultatstatistique de modelTECC

TE CC	**DF**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SD**
Total	12	58779,5	4898,29			
Constant	1	56331,7	56331,7			
Total Corrected	11	2447,81	222,528			14,9174
Régression	3	2381,61	793,872	95,9451	**0,000**	28,1757
Résiduel	8	66,1938	8,27423			2,8765
Lack of Fit	7	66,097	9,44243	97,5437	**0,078**	3,07285
(Model Error)						
Pure Error	1	0,096802	0,096802			0,31113
(Replicate Error)						
N = 12	Q^2 =	0,952	Cond. no. =	2,9541		
DF = 8	R^2 =	0,973	Y-miss =	0		
	R^2 Adj. =	0,963	RSD =	2,8765		

Tableau IV.4. Résultat statistique de modelTEVL

TE VL	**DF**	**SS**	**MS**	**F**	**p**	**SD**
Total	12	64804,4	5400,36			
Constant	1	62105,7	62105,7			
Total Corrected	11	2698,71	245,337			15,6632
Régression	3	2625,73	875,243	95,9451	**0,000**	29,5845
Résiduel	8	72,9786	9,12233			3,02032
Lack of Fit	7	72,8719	10,4103	97,5461	**0,078**	3,2265
(Model Error)						
Pure Error	1	0,106722	0,106722			0,326683
(Replicate Error)						
N = 12	Q^2 =	0,952	Cond, no, =	2,9541		
DF = 8	R^2 =	0,973	Y-miss =	0		
	R^2 Adj. =	0,963	RSD =	3,0203		

*Avec***DF**dégrée de liberté**. *SS*** (Sum Square) La somme des carrés des écarts *SCE*. ***MS*** (Mean Square) carrédes moyennes ou *CM*. ***F****teste* de fisher,***SD*** écart type.

Les qualités descriptives ($R^2_{ajusté}$) et prédictives (Q^2) ont été calculées pour ces modèles et sont résuméesdans le tableau (IV.5).

Tableau IV.5 : La liste de sommaire statistique

	R^2	R^2 Adj.	Q^2	SDY	RSD	N	Validité du Model	Reproductibilité
TE CC	0,973	0,963	0,952	14,91	2,88	12	0,361	0,999
TE VL	0,973	0,963	0,952	15,66	3,02	12	0,361	0,999

Tableau IV.6 : Les résultats des taux d'encapsulations expérimentales et théoriques obtenus par modèle empirique

TECC_Observé	TECC_Prédit	TEVL_Observé	TEVL_Prédit
69,1	67,7665	72,555	71,1548
85,8	85,2863	90,09	89,5507
68,83	64,229	72,2715	67,4404
76,64	77,6514	80,472	81,5339
82,25	81,7488	86,3625	85,8363
66,38	62,4602	69,699	65,5832
73,43	75,8826	77,1015	79,6767
80,83	79,9801	84,8715	83,9791
40,37	41,4817	42,3885	43,5558
38,25	39,713	40,1625	41,6986
70,37	72,9902	73,8885	76,6397
69,93	72,9902	73,4265	76,6397

IV.1.4. Analyse graphique du modèle :

IV.1.4.1. Courbe de criblage :

La valeur élevée du coefficient de déterminationR²ajusté associée aux modèles de temps se traduit par des graphiques d'adéquation, donné en figure (IV.3), sur lesquels l'alignement des nuages de points est très proche de la première bissectrice**.**Les parcelles avec les points proches d'une droite indiquent de bons modèles.

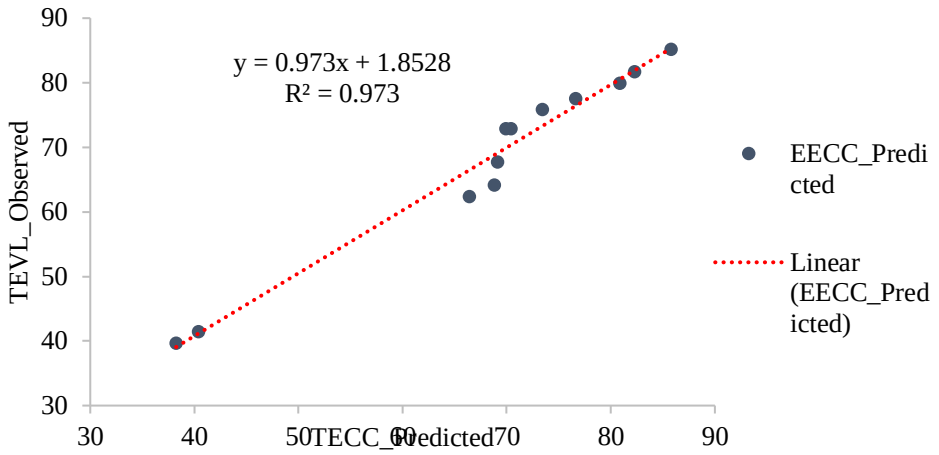


Figure IV.3 La corrélation entre les valeurs prédites et de l'expérience de TE_CC

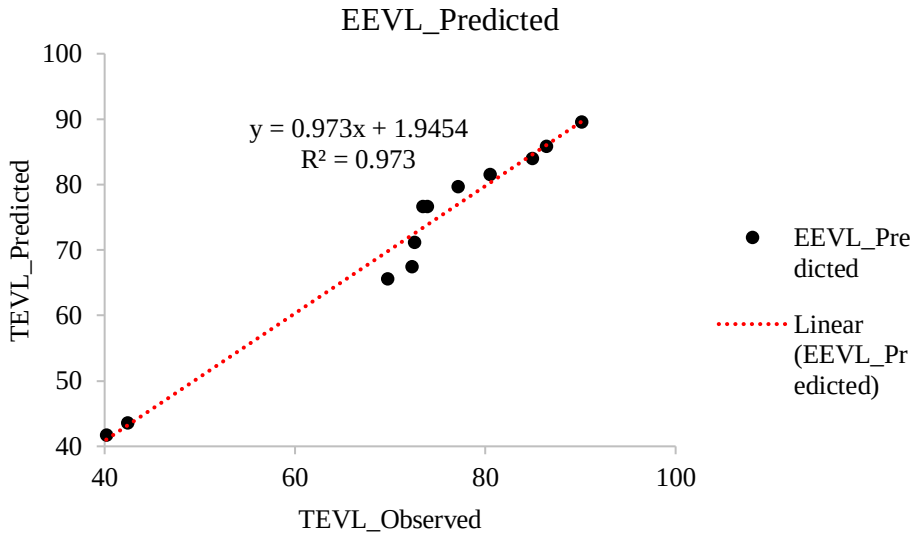


Figure IV.3 La corrélation entre les valeurs prédites et de l'expérience de TE_VL

IV.1.4.2. Résumé de l'ajustement (Les statistiques sommaires) :

Le résumé de l'ajustement page de l'assistant d'analyse fournit un résumé des bases statistiques du modèle, donnée par la figure (IV.4).

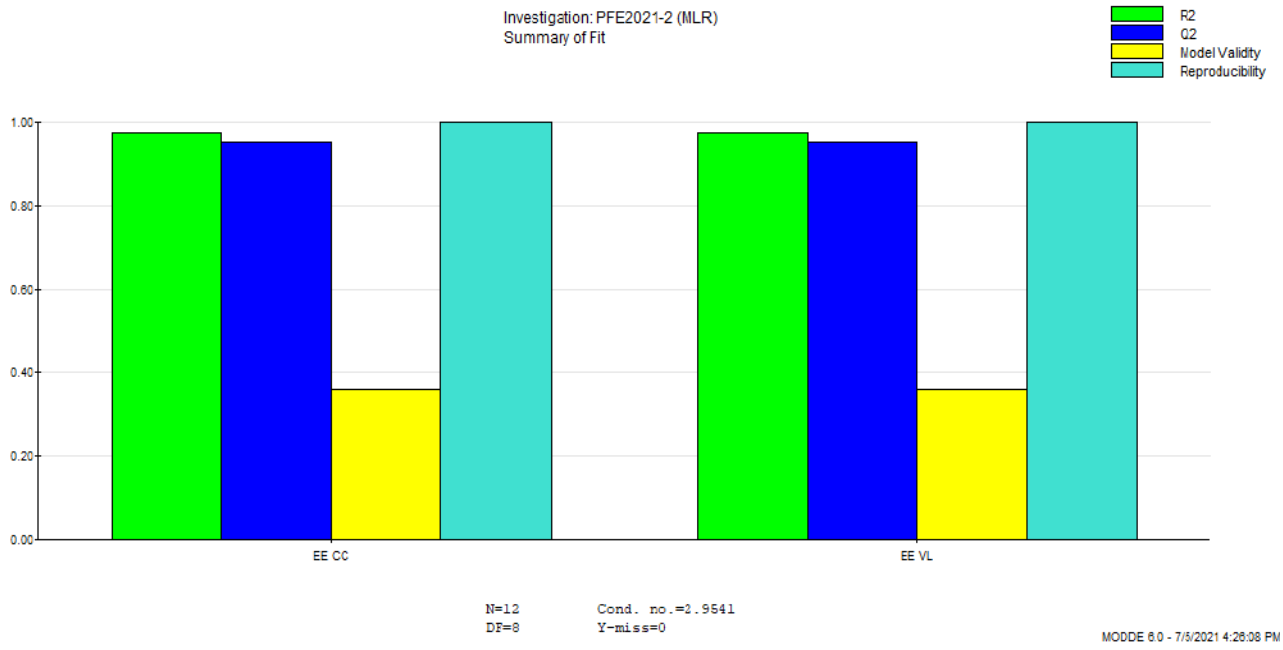


Figure IV.4: Résumé de l'ajustement de MODDE

R^2=0.973 pour les deux principes actifs (proche d'unité) et même Q2=0.952 pour les deux principes actifs toujours proche d'unité, model de validité 0.631pour les deux principes actifs Avec une bonne reproductible égal 0.999 pour les deux principes actifs

IV.1.4.3. Représentation graphique des surfaces de réponse :

Les surfaces de réponses peuvent présenter les variations des réponses en fonction de seulement 2 facteurs à la fois, les autres facteurs étant réglés sur une valeur fixe en notre cas réglés à milieu de domaine, les figure (IV.5 et IV.6) représentent la surface de réponse a différent facteur.

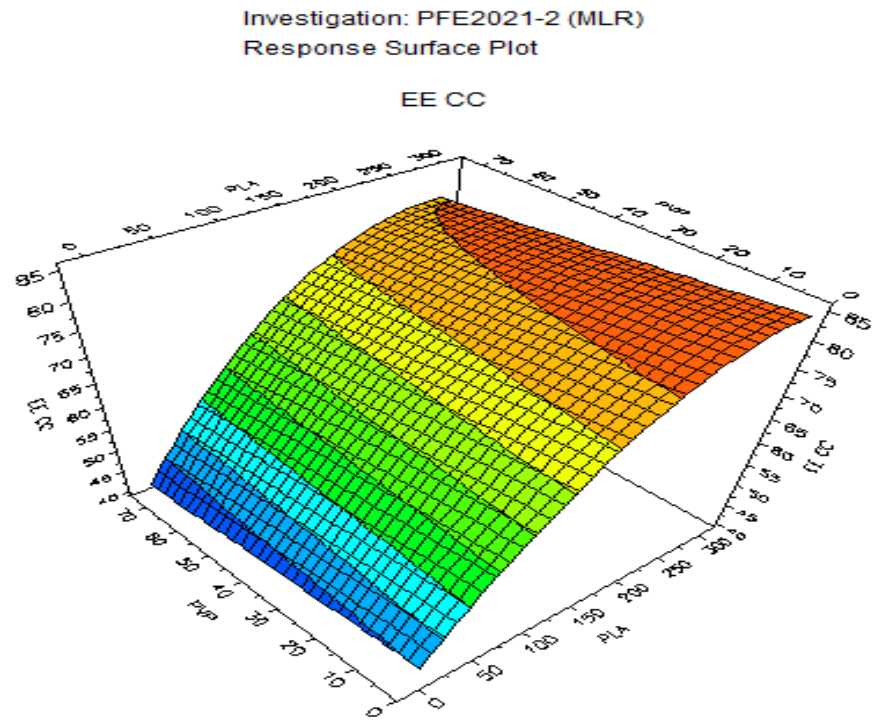


Figure IV.5 Surface de réponse PLA et PVP en fonction de TECC

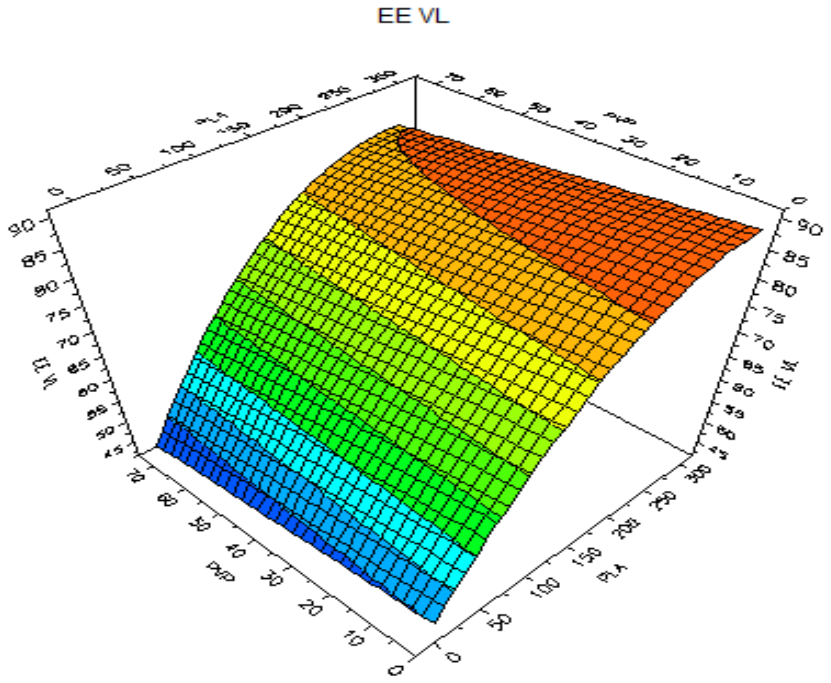


Figure IV.6 : Surface de réponse PLA et PVP en fonction deTEVL

La figure de surface de réponse donne une explication de la variation des deux facteurs dans son domaine de l'étude, ce surface de forme géométrique croissant de deux facteurs PLA et

PVP sur la réponse, Cependant, il est à noter que l'augmentation du le deuxième paramètre a un effet un peu négatif sur la réponse. de notre côté l'augmentation de quantité (PLA) a baise la croissance de la réponse dans certains limite. En d'autres termes, la figure aide à choisir la formule optimale(figure IV.5 ,6)

IV.1.4.4.Représentation graphique de l'effet des facteurssur le taux d'encapsulation :

Le modèle présenté sur l'équation suivante exprimeles taux d'encapsulation de val et cc en fonction de deux facteurs et interaction entre facteurs.

$$TECC = 45.019 + 0.274 \times PLA - 0.071 \times PVP - 0.0005 \times PLA \times PLA$$

$$TEVL = 47.27 + 0.288 \times PLA - 0.0743 \times PVP - 0.0005 \times PLA \times PLA$$

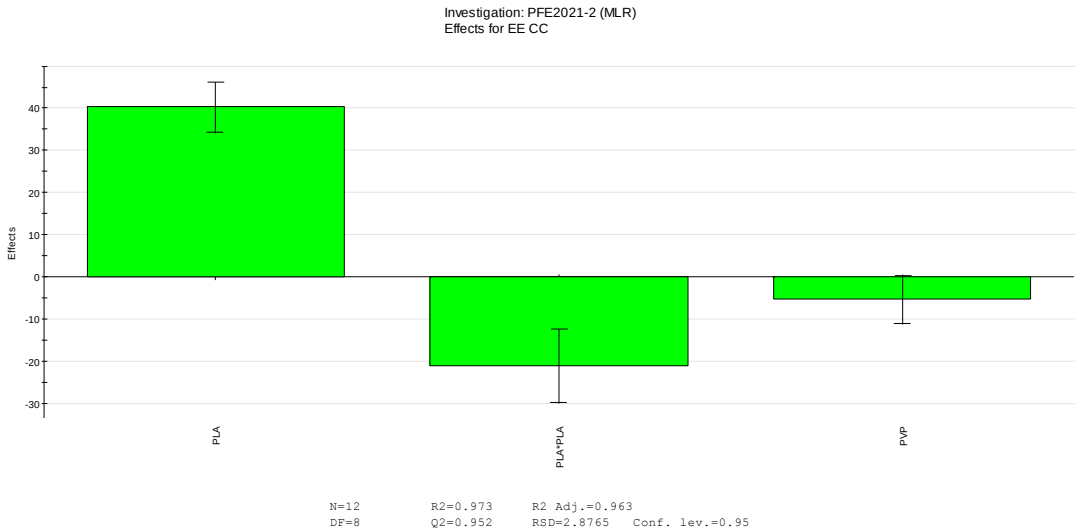
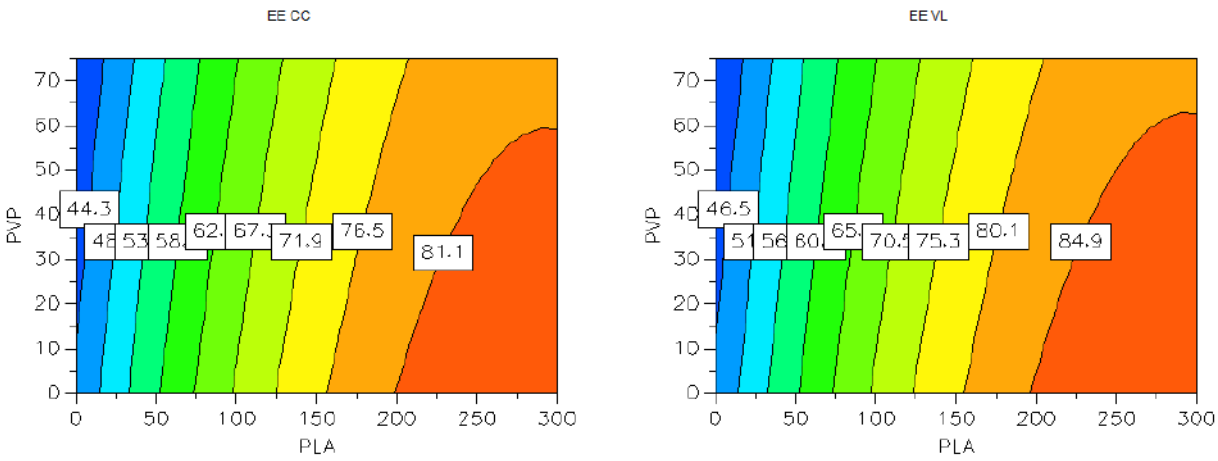


Figure IV.7 Effets des facteurs sur le taux d'encapsulation

- Plus la quantité de PLA augmente le taux encapsulation augmente donc la quantité de PLA influé positivement sur le taux encapsulation des principes actifs
- Les interactions entre PLA×PLA influé négativement sur le taux encapsulation des principes actifs
- Plus la quantité de PVP K30 augmente le taux encapsulation diminue donc la quantité de PVP K30 influé négativement sur le taux encapsulationdes principes actifs

IV.1.4.5.Courbes iso-réponse :

La figure (IV.8) montre les variations des facteurs sur la réponse et monte les minima locaux de chaque répartition.

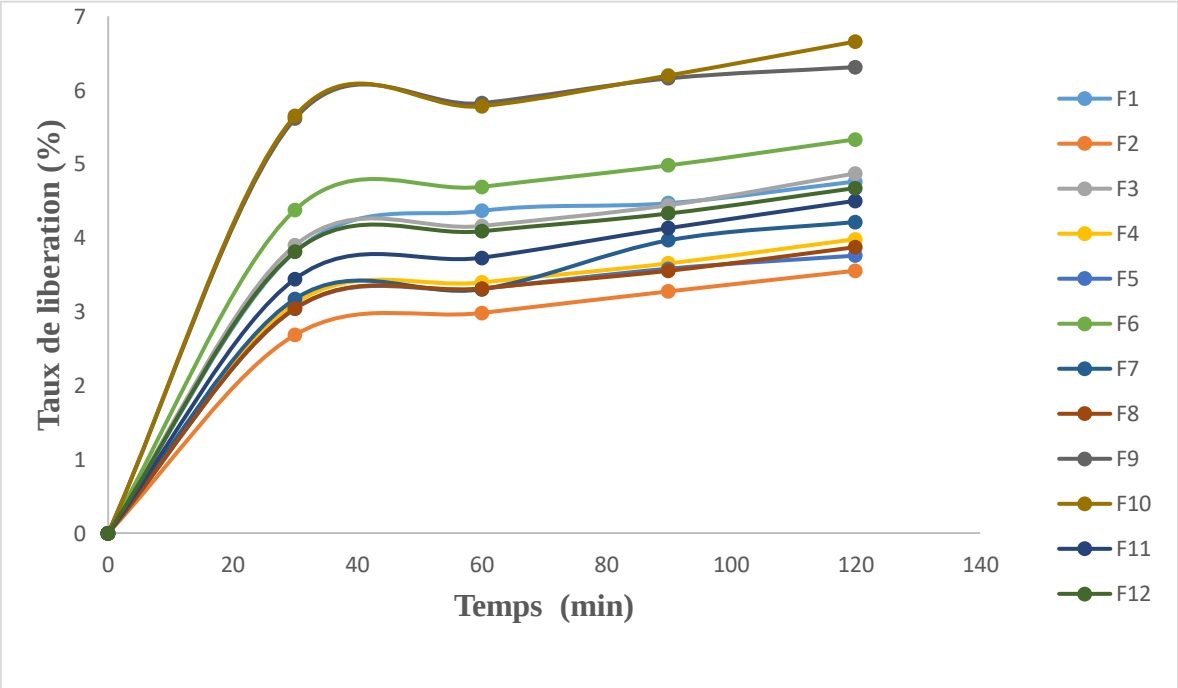


FigureIV .8 : courbes iso-réponse

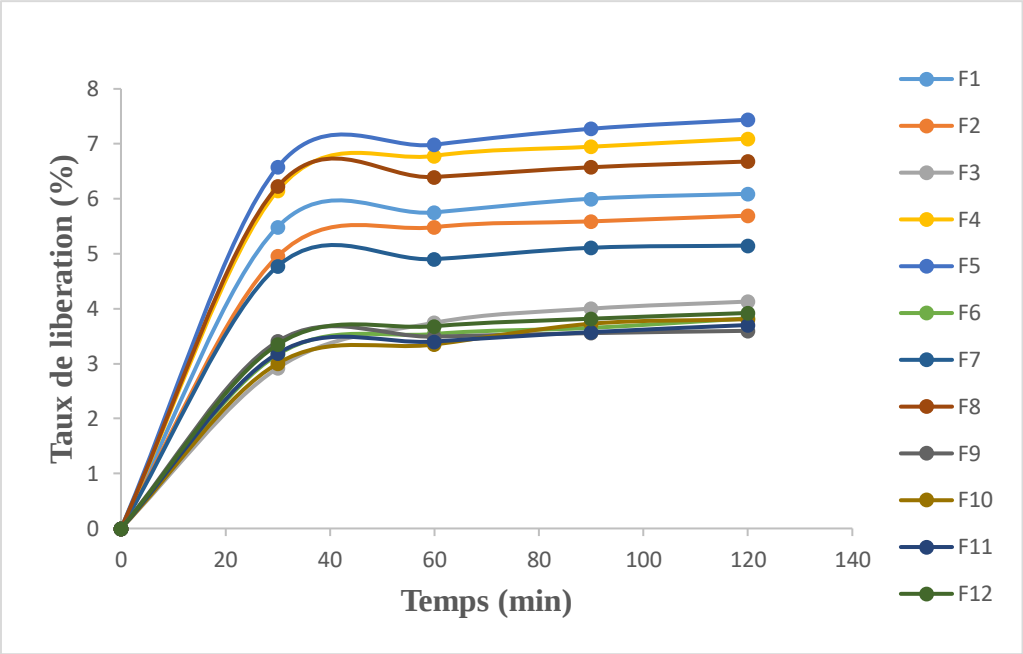
D'après les résultats de courbes iso-réponse nous remarquons qui un meilleur taux encapsulation est 81,1% pour le candesartan avec une quantité de PLA 225 mg et 30mg de PVP K30, Pour le valsartan un meilleur taux encapsulation est 84,9% avec une quantité de PLA 225 mg et 33mg de PVP K30

IV.2. Etude de la cinétique de libération in vitro des microparticules :

IV.2.1Profil de libération dans milieu gastrique (HClpH 1,2) :



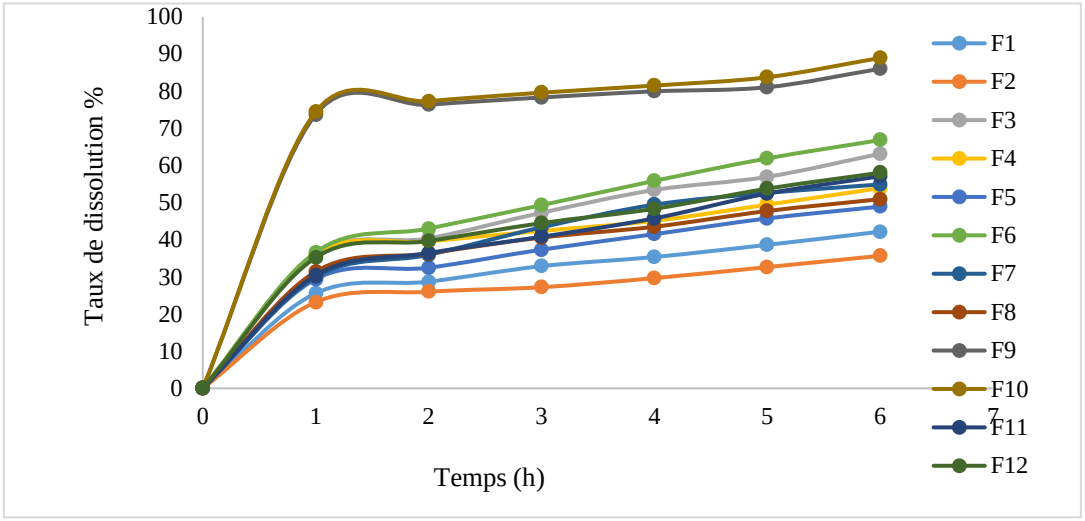
FigureIV.9 : Profil de libération de cc dans le milieu gastrique



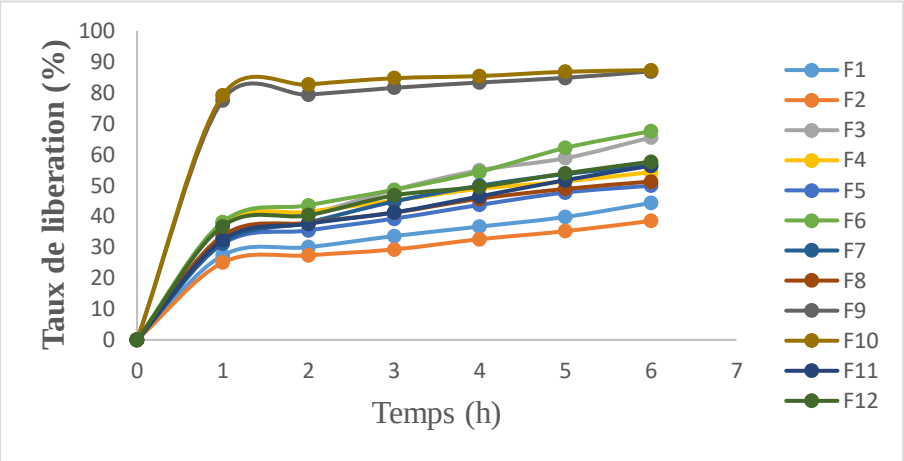
FigureIV.10 : Profil de libération de valsartan dans le milieu gastrique

Nous remarquons une faible libération des principes actifs dans le milieu gastrique ; inférieure à 4,87 % pour le ccesratan et inférieur à 7,43% pour le valsartan) pour tous les essais cette résultatestdue à la faiblesolubilité des principes actifs dans le milieu acide (milieu gastrique) et la protection des principes actifs par le polymère.

IV.2.2. Profil de libérationdans le milieu intestinal (pH 6.8) :



FigureIV.11 :profile de libération de cc dans le milieu intestinal



FigureIV.12 : profil de libération de valsartan au milieu intestinal

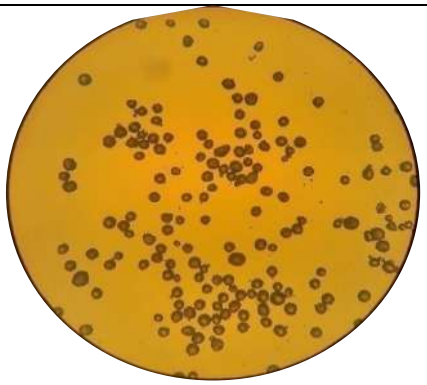
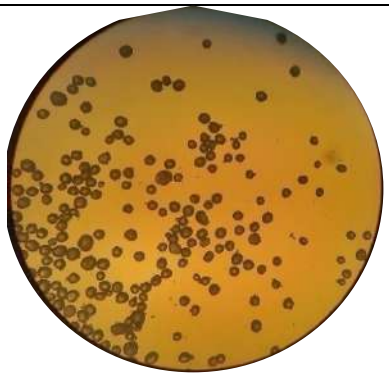
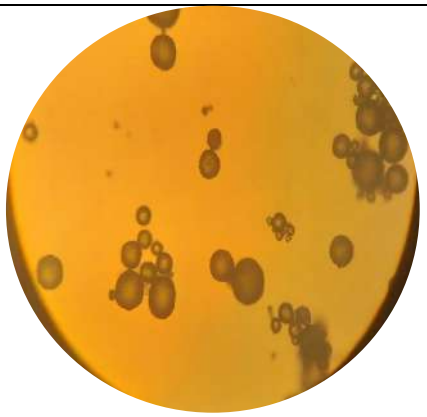
D'après les résultats, il est évident que les microparticules ont montré un schéma de libération prolongée jusqu'à 6 heures, une libération lente a été observé pour les formulations F1 et F2 avec près 40 % de libération, cela est dû à l'absence de PVP qui possédé unenature hydrophile. La libération des principes actifs des formulations F 3, F4, F5, F6, F7 et F8 était de près de 67% Cette amélioration de libération des principes actifs par rapport les formulations F1 et F2 due à la présence de PVP ; Le PVP aide à l'hydratation des microparticules en créant des canaux. Ainsi, en raison de la nature poreuse des microparticules, il y a une pénétration améliorée du milieu de dissolution dans la matrice polymère.

La libération rapide a été observée à partir des formulationsF9 et F10 environ de 80% dans2heures en raison de l'absence de PLA et la présence de PVP.

IV.3. Caractérisation des microparticules par microscopie optique :

Les particules formées lors de notre étude ont subi une caractérisation microscopique avec un grossissement de10fois. Les résultats sont présentés sur le tableau IV.7

Tableau IV.7 : Caractérisation par microscopie optique des particules formées

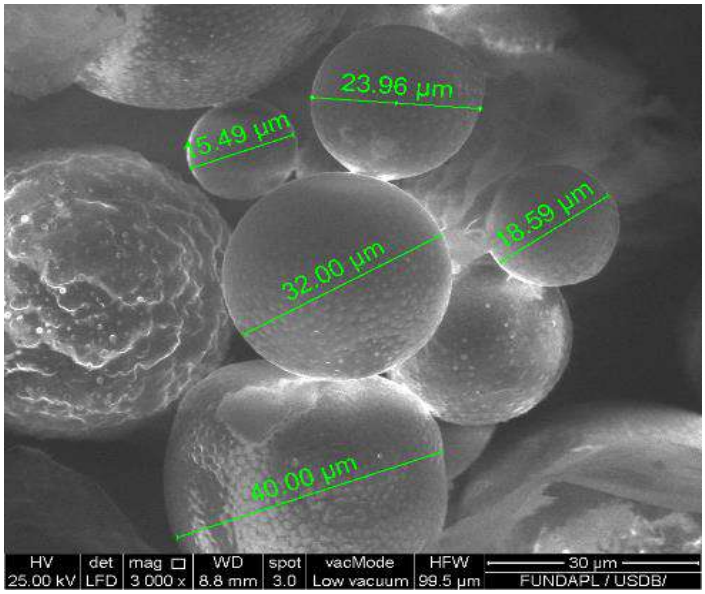
Essai	Aspect microscopique grossissement x10.	Observations
F6		Présence de microparticules sous forme sphérique
F4		Présence de microparticules sous forme sphérique
F2		Présence de microparticules sous forme sphérique et lisse, de taille relativement différente

L'analyse microscopique des échantillons analysés indique que la taille des microparticules augmente avec l'augmentation de la quantité de PLA.

IV.4Caractérisation par microscopie électronique à balayage (MEB) :

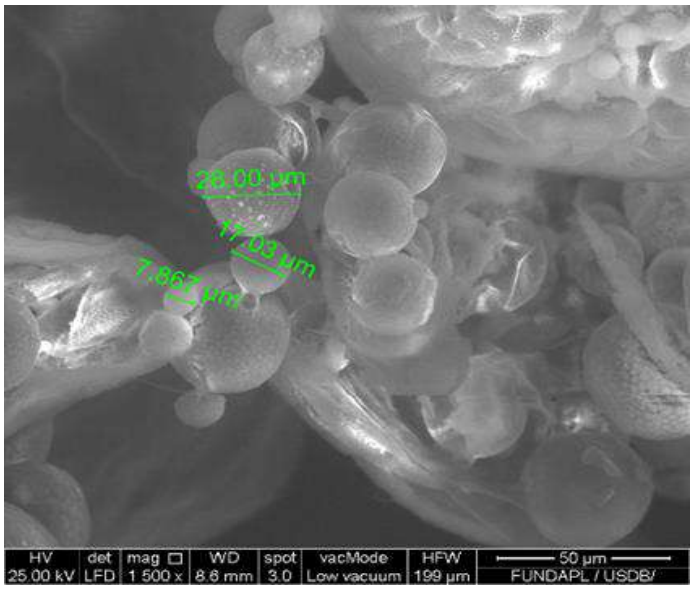
Les meilleures formulationsF6 et F2 de pont de vue.Ont été étudiées en utilisant un microscopeélectronique à balayage, L'image MEB des microparticules est représentée dans

les figures 13 et 14. Les microsphères étaient de forme lisse et sphérique. Les surfaces des microsphères chargées de médicament étaient comparativement grandes. Ce qui est dû à une concentration plus élevée de PLA dans les microsphères



FigureIV.13 : image MEB de formulation F2

Image de MEB montre des microparticules sphériques de taille varie entre 15 et 40 µm



FigureIV.14 : image MEB de formulation F6

Image de MEB montre des microparticules sphériques de taille varie entre 7 et 28 µm

IV.5Caractérisation des microparticules par spectroscopie Infra-Rouge :

Cette analyse nous a permis d'identifier les bandes caractéristiques des microparticules et confirmé la présence les bandes caractéristiques du valsartan et candesartan et d'identifier s'il existe des interactions entre les PA et le polymère.

- **Spectre IR-TF Candesartan Ciléxetil :**

Le spectre IR (figure IV.15) montre des pics caractéristiques du Candesartan Ciléxetil. Ces derniers sont regroupés dans le tableau IV.8

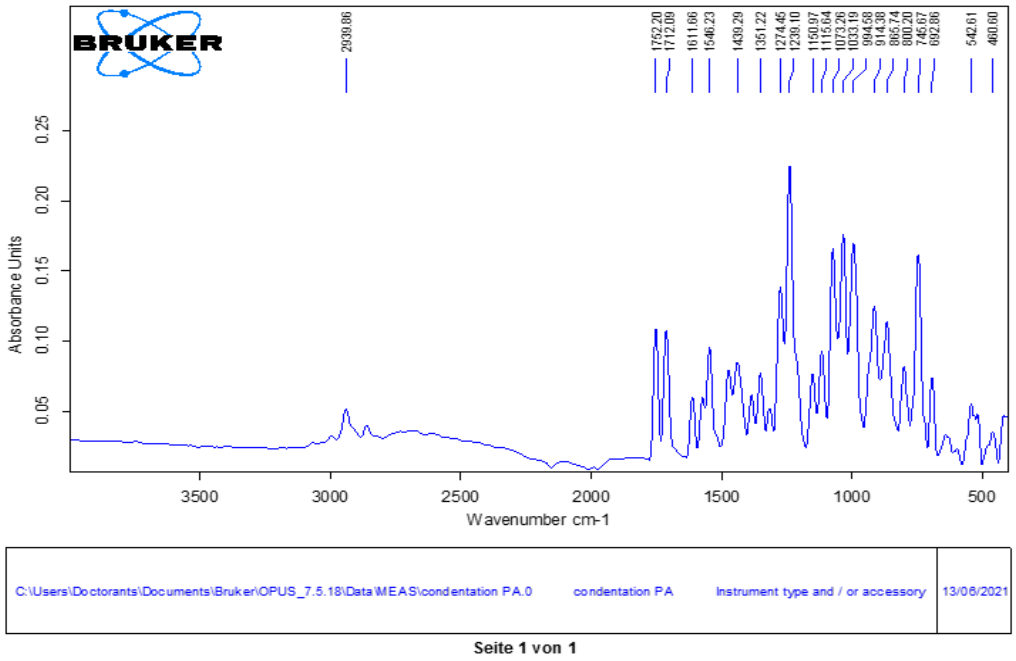


Figure IV.15 : Spectre IR-TF Candesartan Ciléxetil

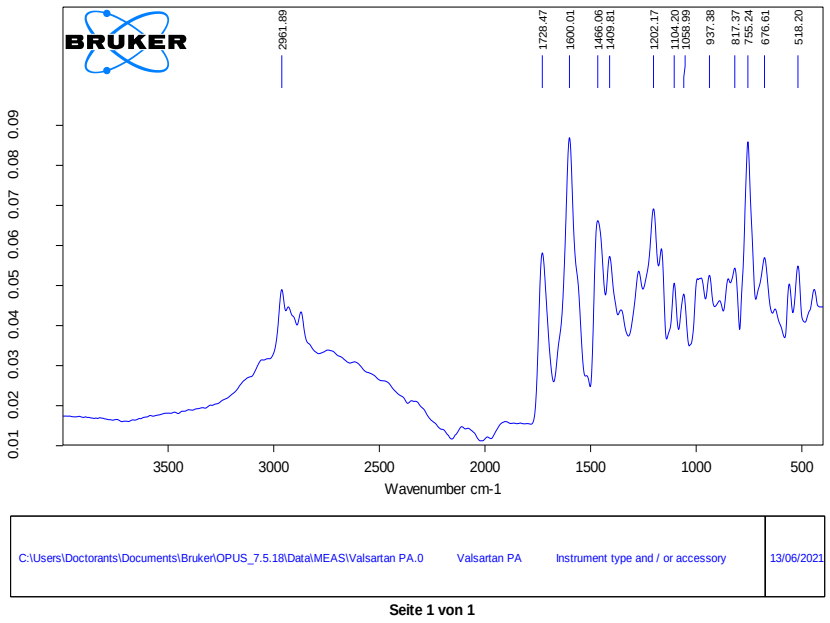
Tableau IV.8: Principales bandes d'absorption IR TF du Candesartan Ciléxetil

Nombre d'onde cm-1	Liaison chimique
2940,21	υ-O-H
1752,09	υC=O
1242,07	υ-C-O
990,74	δ-C-H (vinyle)
750,39	δ-N-H

U= vibration d élongation ;**δ**= vibration de déformations

- **Spectre IR-TF du valsartan :**

  Le spectre IR (figure IV.16) montre des pics caractéristiques du valsartan. Ces derniers sont regroupés dans le tableau (IV.9)



FigureIV.16 : Spectre IR-TF du valsartan

Tableau IV.9 : Principales bandes d'absorption IR TF du valsartan

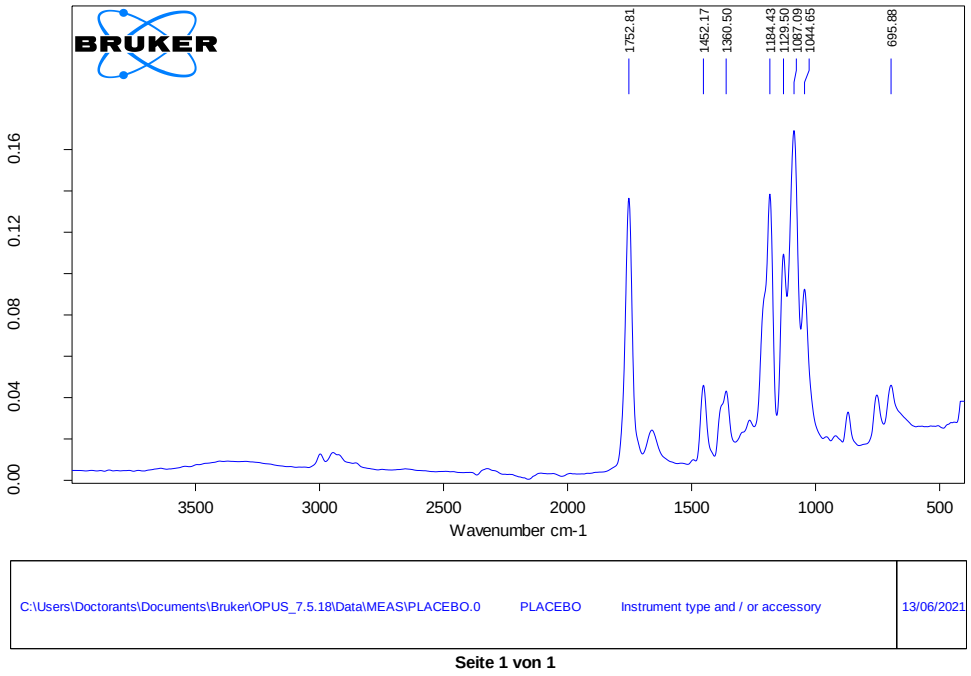
Nombre d'onde cm^{-1}	Liaison chimique
3423,64	υ N-H
2962,66	υC-H de CH_3
2929,87	υ CH_{butyl}+$CH_{isopropyl}$ 2
1730,14	υ C=O acide
1467,82	δ NH+ υ C-$C_{tz\text{-}biph}$
1408,03	υ N=N (tetrazole)
1161,14	υ C-N (tetrazole) + υ N-N
758,02	δ N-H

tz= tétrazole ;

biph= bi phényle

- **Spectre IR-TF du placebo (PLA et PVP) :**

  Le spectre IR (figure IV.17) montre des pics caractéristiques du polymère. Ces derniers sont regroupés dans le tableau IV.10



FigureIV.17 : Spectre IR-TF du placebo

Tableau IV.10 : Principales bandes d'absorption IR TF du polymère

Nombre d'onde cm^{-1}	Liaison chimique
3496,94	υ OH (COOH)
2997,38	υ CH3
1755,22	υ C=O Forte
1452,39	δ CH3
1188,15	υ C-O-C (ester)
1091,70	υ C-O-C
867,96	υ C-COO

- **Spectre IR-TF des microparticules**

  Le spectre IR-TF des microparticules est représenté sur la figure IV.18

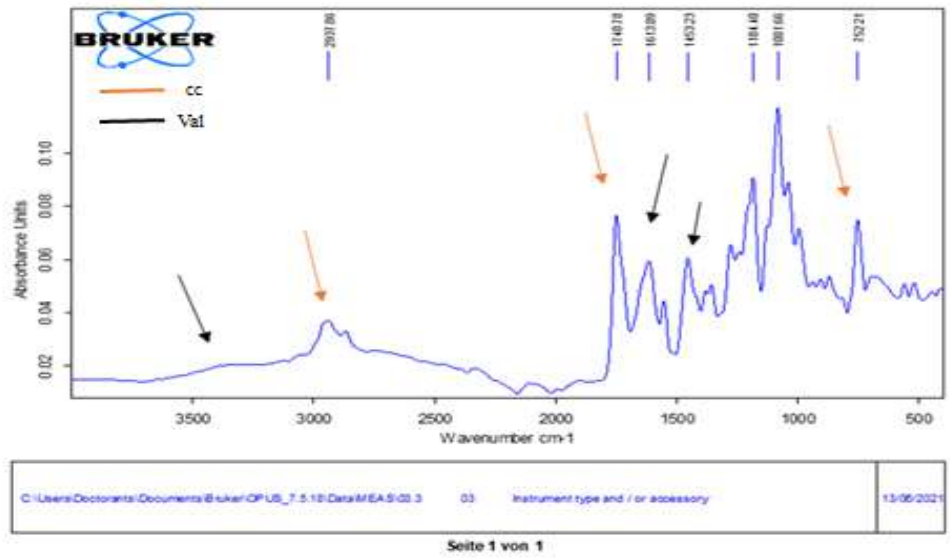


Figure IV.18 : Spectre IR-TF des microparticules

D'après le spectre IR-TF des microparticules de PLA contenant du valsartan et condesartan :nous remarquons également que les bandescaractéristiques devalsartan (1622,82 cm^{-1} et à 3400 cm^{-1}),candesartan (2944.44 cm^{-1} et à 1753.36 cm^{-1} 751.07 cm^{-1}) et placebo (TableauIV.14)**,**Nous n'observons aucune apparitiondes bandes supplémentaires

Au vu de dernier spectre nous constatons la présence des principales fonctions du principe actif en présence de deux polymères ce qui démontre que l'intégrité du principe actif est conservée après le procédé d'encapsulation ce qui nous laisse supposer que le principe actif est resté stable et aucune interaction entre les deux principes actifs et les polymères est observé.

Conclusion générale

L'objectif principal de cette étude consiste à élaborer une forme galénique à libération prolongée, pour cela une matrice des microparticules à base d'un polymère biodégradable a été utilisé comme adjuvant d'une part, et d'autre parts une association de deux hypertenseurs (candesartan ciléxetil et le valsartan) a été incorporé dans le polymère par la méthode d'émulsion et évaporation du solvant.

Pour aboutir à notre objectif, une série d'expériences de formulation ont été mené principalement pour une étude paramétrique, l'organisation des essais a été planifiée par le plan d'expérience,

Dans un premier temps, les microparticules obtenues ont été caractérisées par différentes techniquestel que le MEB, IR-TF, et quantifiées par HPLC.L'analyse par microscopie électronique à balayage a montré des microcapsules de forme sphérique et de tailles variables et diamètre moyen des microcapsules a été trouvéGénéralement compris entre 7 µm et 40 µm, taille conforme à la norme des microsphères.

Les résultats de l'IR-TF révèlent la présence des Candesartan Cilexetil et le valsartan dans les microparticules par l'apparition des bandes d'absorption supplémentairescaractéristiques des Candesartan Cilexetil et de valsartan l'absence des interactions chimiques entre les polymères et les principes actifs.

Les résultats de quantification par HPLC nous ont permis de conclure que c'est la formulation F2 qui présente le meilleur taux d'encapsulation. Par ailleurs l'étude de l'effet de certains paramètres sur l'encapsulation tels que la quantité du PLA, la quantité de PVP K30 nous amène àsignaler quela quantité de PLA a un effet significatif sur plusieurs facteurs notamment sur le taux d'encapsulation, sur la taille des particules et sur le taux de dissolution des principes actifs, le meilleur taux d'encapsulation de Candesartan Cilexetilest de 85,8 % et90.09 % pour le Valsartan

Enfin, l'étude de la libération in vitro des microcapsules, indique que la libération des principes actifs est essentiellement contrôlée par la dégradationhydrolytique du PLA en milieu acide (pH=1,2). Par ailleurs le taux de libération des principes actifs est plus élevé dans le milieu intestinal (pH=6,8) comparé au milieu gastrique (pH=1,2) dû à la faible solubilité des principes actifs dans le milieu acide.

Le PVP K30 a un effet remarquable sur la libération des principes actifs. La libération de médicament augmente avec l'augmentation de la concentration de PVP. Ceci est dû à la formation de pores et donc à une meilleure pénétration du milieu de dissolution. D'après les études ci-dessus, le F6 est sélectionné comme la meilleure formulation car il a une efficacité

de piégeage élevée, une faible polydispersité et libère jusqu'à 66,80% du Candesartan cilexeti et 67,54 du Valsartan en 6heures.

Libération prolongée des principes actifs jusqu'à 12 heures mais nous n'avons pas pu tout faire car nous étions en moins de ramadan mais nous avons fait des efforts et étudions la libération jusqu'à 6 heures

Références bibliographiques

Références bibliographiques

[1] Meryem Mouffok, « Etude de la libération de diverses amines primaires aromatiques et hétérocycliques actives libres et engagées via la fonction azométhine dans des formes galéniques type microsphères. Effets retard. », Thèse de doctorat, Université DjillaliLiabes – Sidi Bel Abbes, 21 janvier 2018.

[2] ISSAADI Kenza « Optimisation par les plans d′expériences, des paramètresd′encapsulation d′un antihypertenseur dans des polymères biodégrables » Université A. MIRA – BEJAIA , 26/06/2016

[3] Houcher Z., 2012. « Facteurs nutritionnels, homocystéine et polymorphisme C677T du gène du méthylène tétrahydrofolate réductase dans la population algérienne », thèse doctoraten biologie, université Sétif.

[4] ANAES. Prise en charge des patients adultes atteints d'hypertension artérielle. Recommandations cliniques et données économiques. Avri12000.

[5] JNC 7 (The Seventh Report of the Joint National CommitTE on Prevention, Detection? Evaluation, and Treatment ofHigh Blood Pressure). JAMA. 2003; 289: 2560-2571.

[6] OMS/ISH Recommandations. J. OfHypertension. 1999; 17: 151-183.

[7] Nair AB, Al-Dhubiab BE, Shah J, Attimarad M, Harsha S. Poly(lactic acid-co-glycolic acid) Nanospheres Improved the Oral Delivery of Candesartan Cilexetil. Indian J of Pharmaceutical Education and Research. 2017;51(4):571-9

[8] Lullmann H., Klaus M., Ziegler A., 1998. « Atlas de poche de pharmacologie », 2eme édition, Paris.

[9] Bobbinec G., Piette M.H., 1993. « Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IECA) », Rôle et utilisation pratique chez carnivores, Prat. Med. Chir. Anim. Comp., 28: 627-650.

[10] Flather M., Yusuf S., Kober L., Pfeffer M., Hall A., Murray G., 2000. « Long-term ACEinhibitor therapy in patients with heart failure or left ventricular dysfunction: a systematic overview of data from individual patients », Lancet, 355:1575-81.

[11] Victor J. Dzau M.D., Andre M. Allen B.Sc., Edward D. Frohliuch M.D., Gabriel Navar L., et Suzanne Oparil M.D., « Le rôle des récepteurs AT1dans les atteintes des organes cibles : Une perspective fonctionnelle », Rapport de la division de cardiologie st. Université de Toronto.

[12] Gazengel J.M., 2001. « Le préparateur en pharmacie-dossier 5 Pharmacologie », Parie.

Références bibliographiques

[13] Leucourtois-Lavigne P., 2002. « L'intérêt de la rééducation cardiaque dans l'insuffisance cardiaque chronique systolique à propos de 58 patients », Thèse de doctorat, Université Henri Poincarf, Nancy I.

[15] http://repository-tnmgrmu.ac.in/1720/1/Varun%20J.pdf

[16] Journal of Applied Pharmaceutical Science 01 (10); 2011: 12-17

[17] Azizi., Michel., Chatellier., Gilles., Guyene., Thanh-Tam., Ménard., Joël. Pharmacokinetic-pharmacodynamic interactions of Candesartan Cilexetil and losartan. J Hypertension 1999; 17: 561-568

[18] Sripriya P., Naga Sowjanya G., Ajitha A., Uma Maheswara Rao V., 2015. « Analytical Techniques forthe Estimation of Valsartanin Bulkand PharmaceuticalDosage Forms », A Review, World J. of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 07, 1847-1858.

[19] Siddiqui N., Husain A., Lakshita C. Shamsher A.M., Mitra M. and Parminder S. Bhasin., 2011. « Pharmacological and Pharmaceutical Profile of Valsartan », A Review, J. of Applied Pharmaceutical Science 01 (04): 12-19.

[20] Dictionnaire Vidal version 2010.

[21] Mishra M, «Handbook of Encapsulation and Controlled Release: Taylor & Francis»,2015

[22] Maria Antoinieta., Anaya Castro, « Optimisation de la pH-sensibilité de protéines végétales en vue d'améliorerleurs capacités d'encapsulation de principes actifs à la voie orale.», Thèse de doctorat, Université de Toulouse, 21 février 2018.

[23] Maderuelo C., Zarzuelo A., Lanao J.M., « Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices. », Journal of Controlled Release,154:2-19, 2011.

[24] Alla Nesterenko, « Étude et fonctionnalisation de protéines végétales en vue de leur application en micro encapsulation », Université de Toulouse, 2012.

[25] : Gildas Komenan Gbassi, « Aspects physico-chimiques de l'encapsulation et de la désencapsulation des probiotiques », Université de Strasbourg, 2010.

[26] : Yahia Nafti, « Contribution à l'étude de la cinétique de libération d'un principe actif : oxacilline sodique encapsulé en vue de déterminer les conditions de conservation », Université Zian Achour de Djelfa, 2008.

[27]. J.Richard, J.Bentoit, Techniques de l'Ingénieur, traité Génie des procédés. S.Rabeau (2009), Etude d'un procédé continu d'une micro encapsulation basée sur un micromélangeur, Mémoire de Doctorat, Université Nancy (France).

[28] S.Rabeau (2009), Etude d'un procédé continu d'une micro encapsulation basée sur un micromélangeur, Mémoire de Doctorat, Université Nancy (France).

Références bibliographiques

[29] : Boh B. Vandamme T.F., Poncelet D., SubraPaternault P.,« Développement et applications industrielles des micro-encapsules, micro-encapsulation des sciences technologies», Editions TEC &DOC, Lavoisier, 2007.

[30]: Marie Socha, Apport des nanotechnologies dans le domaine des peptides et des protéines : Application à l'absorption par voie orale et à la furtivité, thèse, Université Henri Poincaré, 2008.

[31]: Guang Long Zou, Zhi Cheng Tan, Xiao Zheng Lan, Li Xian Sun, Tao Zhang, Preparation and Characterization of Microencapsulated Hexadecane Used for Thermal Energy Storage, Chinese Chemical Letters Vol. 15, No 6, 729-732, 2004.

[32]: Joël Richard, Jean-Pierre Benoît, Microencapsulation, Technique d'ingénieur, J 2210.

[33] Leong K.W., Langer R., « Polymeric controlled Drug Delivery», Advanced Drug Delivery Reviews, 1:199–233, 1987.

[34] Bile Jessica, « Microencapsulation d'agent antimicrobien pour le développement de conditionnements primaires fonctionnalisés », Thèse de doctorat, Université Claude Bernard-Lyon 1, 21 octobre 2015.

[35] Nesterenko A., Francoise S., Vanessa D., « Etude et fonctionnalisation de protéines végétales en vue de leur application en micro encapsulation», Thèse de doctorat, Institut national polytechnique de toulouse, 20-21, (2012).

[36] BoudjemaH. L, « Elaboration De Matériaux Composites Biodégradables Issus De Ressources Renouvelables », Thèse de Doctorat, Université Oran 2, 2016.

[37] Södergård A, Stolt M., « Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition»,Progress in Polymer Science, 27(6):1123-63, 2002.

[38] SchTEl C W., 1742-1786, Biographie, histoirechime.frTE.fr.

[39] Gupta A. P., Kumar V., 2007. New emerging trends in synthetic biodegradable polymers Polylactide, a critique. EuropeanPolymer Journal, 43, 4053-4074.

[40] Zhong-cheng Z., Ruan J. M., Huang B. Y., Li Y.J., Zou J.P., Zhang H. B., 2005. Preparation andcharacterization of poly (D,L-lactide) and its porous biomaterials. J.Cent. South Univ. Technol., 12 (1), 1-4.

[41] Wertz J. L., 2011. L'amidon et le PLA : deux biopolymères sur le marché, DocumentFARR-Wal – Avec le soutien de la Région Wallonne – DGO3/4, Valorisation de la biomasse.

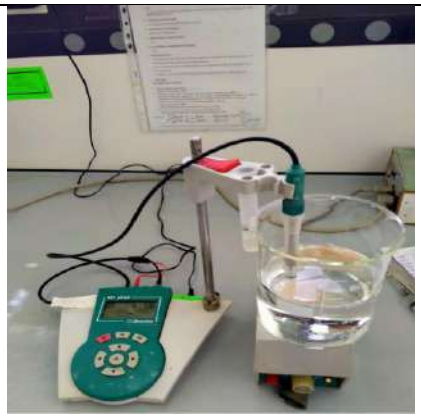
[42] Castan C., 1993. Synthèse, caractérisation et évaluation de copolymères de proline et d'acide glutamique methacryles pour la réalisation de matrices à libération contrôlée injectables, biodégradables et photoreticulables, Thèse : Sci., Univ. Montpellier, 2, 253. 11

[43] : Ouvrage de référence pharmaceutique « USP40-NF35»

[44] Chebil L., thèse « acylation des flavonoïdes par les lipases de ccida antarctica et de pseudomonascepacia: études cinétique, structurale et conformationnelle », institut national polytechnique de lorraine, 2006.

Annexe I

Equipements de préparation :

Désignation	marque	photo
chromatographie liquide à haute performance (HPLC)	perkinelmer série 200	
Dissolutest	SOTAX	
PH-mètre	METROHM	

Annexe II

° Form	%30min VAL	% 1H Val	% 1H30 VAL	% 2H VAL
F1	5,48850072	5,75244169	6,00074852	6,09087471
F2	4,95601831	5,4826678	5,58857803	5,69303743
F3	2,92092459	3,74329413	4,00091491	4,1292669
F4	6,15080752	6,78109712	6,94780945	7,09404833
F5	6,57616292	6,98397227	7,27418079	7,43920132
F6	3,16387249	3,53907116	3,65072198	3,82339126
F7	4,77289156	4,90195636	5,10871066	5,1475554
F8	6,22545374	6,39631538	6,57394381	6,67882917
F9	3,40473139	3,49057807	3,55457287	3,59723607
F10	3,00354161	3,34852288	3,72627439	3,80790208
F11	3,18780904	3,40179099	3,57297654	3,70240952
F12	3,34718466	3,6811586	3,81730084	3,92153474

Tableau IV.11 : libération de val dans le milieu gastrique

N ° Form	%30min CC	% 1H CC	% 1H30 CC	% 2H CC
	3,81	4,36	4,47	4,76
F2	2,68	2,98	3,27	3,55
F3	3,90	4,16	4,44	4,87
F4	3,11	3,39	3,65	3,98
F5	3,04	3,31	3,58	3,76
F6	4,38	4,69	4,98	5,33
F7	3,17	3,30	3,97	4,21
F8	3,04	3,31	3,55	3,87
F9	5,61	5,82	6,16	6,31
F10	5,65	5,78	6,20	6,66
F11	3,44	3,73	4,13	4,50
F12	3,81	4,09	4,33	4,67

Tableau IV.12 : libération de cc dans le milieu gastrique

Annexe II

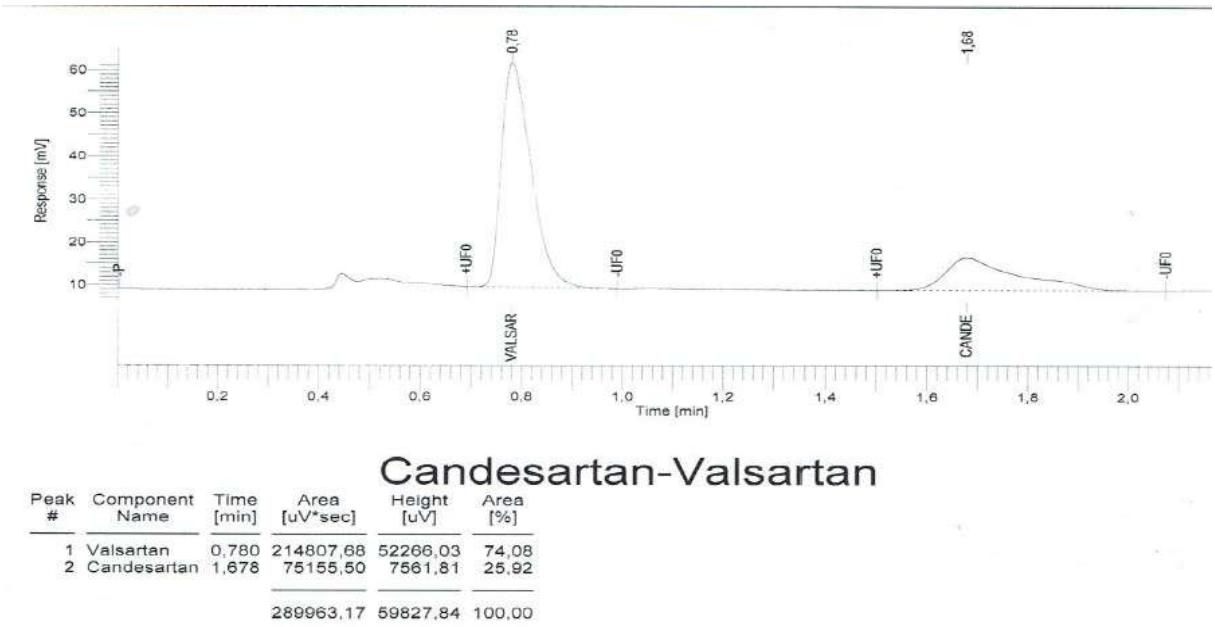
	1h	2h	3h	4h	5h	6h
F1	27,33	29,98	33,58	36,64	39,76	44,28
F2	24,98	27,34	29,26	32,56	35,16	38,47
F3	37,56	40,77	48,55	54,89	58,77	65,45
F4	37,66	41,44	45,05	48,89	51,23	54,29
F5	31,04	35,43	39,22	43,66	47,67	49,89
F6	38,12	43,56	48,56	54,37	62,09	67,54
F7	31,34	37,98	44,76	49,87	53,66	56,33
F8	33,67	37,89	41,17	45,67	48,84	51,25
F9	77,56	79,34	81,54	83,27	84,77	86,87
F10	79,13	82,58	84,65	85,36	86,74	87,28
F11	32,34	37,56	41,23	46,43	51,67	56,34
F12	36,78	40,32	46,73	49,54	53,89	57,66

Tableau IV.13 : libération de valsartan au milieu intestinal

	1h	2h	3h	4h	5h	6h
F1	25,57	28,71	32,88	35,34	38,61	42,14
F2	23,18	25,99	27,21	29,66	32,63	35,66
F3	36,22	40,36	47,24	53,38	56,91	63,10
F4	36,09	39,51	42,37	45,07	49,42	53,86
F5	29,38	32,46	37,31	41,48	45,72	48,90
F6	36,62	42,99	49,28	55,82	61,86	66,80
F7	29,97	35,92	43,32	49,42	52,58	54,88
F8	31,38	36,29	40,57	43,48	47,72	50,90
F9	73,68	76,32	78,28	79,93	81,04	85,98
F10	74,38	77,29	79,57	81,48	83,72	88,90
F11	30,38	36,41	40,79	45,73	52,40	57,06
F12	35,19	39,65	44,46	48,31	53,73	58,01

Tableau IV.14 : libération de candesartan au milieu intestinal

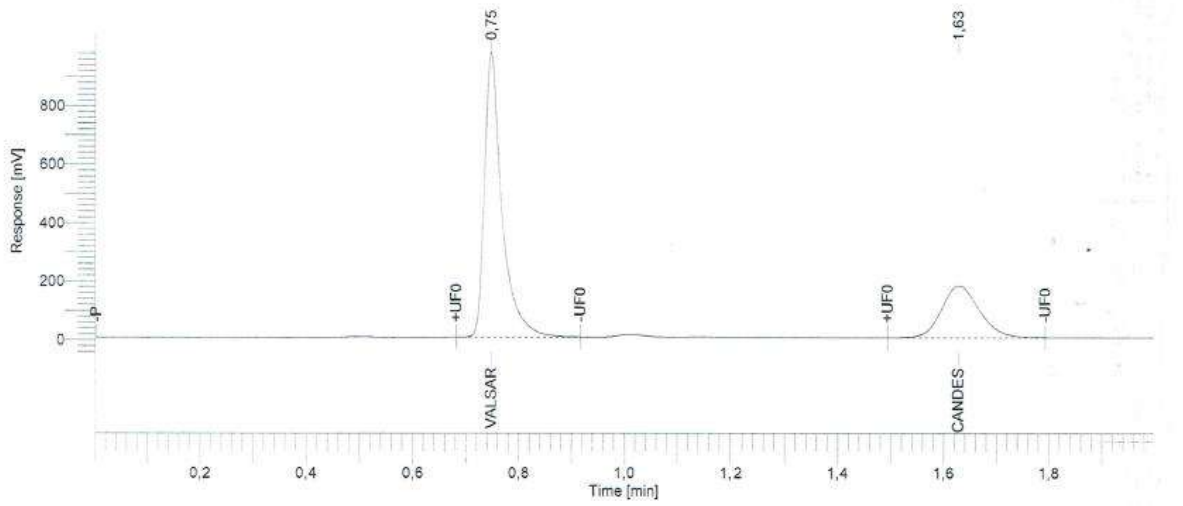
Annexe III



Candesartan-Valsartan

Peak #	Component Name	Time [min]	Area [uV*sec]	Height [uV]	Area [%]
1	Valsartan	0,780	214807,68	52266,03	74,08
2	Candesartan	1,678	75155,50	7561,81	25,92
			289963,17	59827,84	100,00

Figure IV.19 : chromatogramme de la libération des principes actifs



Valsartan-Candesartan

Peak #	Component Name	Time [min]	Area [uV*sec]	Height [uV]	Area [%]	Norm. Area [%]
1	Valsartan	0,748	2217010,57	973753,49	71,97	71,97
2	Candesartan	1,628	863538,74	175076,63	28,03	28,03
			3080549,31	1,15e+06	100,00	100,00

Figure IV.20: chromatogramme de l'encapsulation des principes actifs