

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université A. MIRA – BEJAIA
Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés



Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme de master en Génie des procédés
Option : Science et Technologie du Médicament

Thème

**Optimisation par les plans d'expériences, des paramètres
d'encapsulation d'un antihypertenseur dans des polymères
biodégradables**

Présenté par :

ISSAADI Kenza
NEDJAI Kenza

Commission de jury

Présidente : M^{me} DJERADA Farida
Examineur : Mr. FATMI Sofiane
Encadreurs : Mr. REZGUI Farouk
M^{me} SADOON Ounissa

Soutenu le : 26/06/2016

REMERCEMENT

Nous remercions le bon dieu, qui nous a aidés à élaborer ce travail.

Nos remerciements les plus spéciaux vont à monsieur F. REZGUI qui nous a encadré, guidé et accueilli au sien de son laboratoire.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent à M^{me} O. SADOUN, notre co-promotrice, pour toutes les explications que nous avons reçues de sa part, pour le temps qu'elle nous a consacré pour compléter ce travail. Nous lui souhaitons beaucoup de succès et de réussite dans son travail de recherche.

Nos profonds respects vont à la présidente du jury M^{me} F. DJERADA pour l'honneur qu'elle nous a fait en présidant ce jury.

Nous exprimons aussi nos reconnaissances à monsieur S. FATMI pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Nos remerciements sont aussi adressés au personnel des laboratoires de génie des procédés bloc 11 et tous les membres du laboratoire des matériaux organiques de nous avoir bien accueilli et de nous avoir compté parmi eux.

Dédicace

À ma chère mère et mon cher père,

merci pour tous vos sacrifices.

À mes sœurs Chaima et Imene.

À mon frère Oualid, vous étiez

toujours un soutien pour moi.

À tous mes amies notamment

Hakima, Katia et wissam,

merci pour toute aide.

Kenza

Dédicace

À ma chère mère et mon cher père,

merci pour tous vos sacrifices.

À mes sœurs Hanane et Samira.

À mes deux frères Nabil et Sabri,

vous étiez toujours un soutien pour moi.

À toutes mes amies merci pour toute aide.

Kenza



Sommaire

Sommaire

Liste des abréviations

Les des figures

Liste des tableaux

INTRODUCTION1

Chapitre I : Les maladies cardiovasculaires

I.1. Définition des maladies cardiovasculaires3

I.2. Maladies cardiovasculaires et leurs traitements.....3

I.3. Facteurs de risque des maladies cardiovasculaires.....4

I.4. Symptômes qui doivent alerter.....5

I.5. Médicaments cardiovasculaires.....5

I.5.1. Médicaments de l'insuffisance cardiaque.....5

a- Digitaliques (Glucosides cardiotoniques).....5

b- Inhibiteurs des phosphodiesterases.....5

I.5.2. Antiangoreux.....6

a- Dérivés nitrés.....6

b- Molsidomine.....6

I.5.3. Antiarythmiques.....6

I.5.4. Antihypertenseurs.....	7
a- Bêta-bloquants.....	7
b- Antagonistes du calcium.....	7
c- Inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine (IEC).....	8
d- Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II.....	8
I.6. VALSARTAN.....	9
I.6.1. Historique.....	9
I.6.2. Définition.....	9
I.6.3. Pharmacodynamique du valsartan.....	10
I.6.4. Pharmacocinétique du valsartan.....	11

Chapitre II : La microencapsulation

II.1. Historique de l'encapsulation.....	13
II.2. Définition.....	14
II.3. Morphologie des microparticules.....	14
II.3.1. Les microsphères.....	14
II.3.2. Les microcapsules.....	14
II.4. Intérêts de la microencapsulation.....	15
II.5. Techniques d'encapsulations.....	15
II.5.1. Procédés mécaniques.....	15

II.5.1.1. Nébulisation/séchage.....	15
II.5.1.2. Enrobage en lit fluidisé.....	16
II.5.1.3. Extrusion sphéronisation.....	17
II.5.2. Procédés chimiques.....	17
II.5.2.1. Polymérisation interfaciale (polycondensation).....	17
II.5.2.2. Gélification et congélation.....	18
II.5.3. Procédés physico-chimiques.....	19
II.5.3.1. Séparation de phase ou coacervation.....	19
II.5.3.2. Emulsion-Evaporation de solvant.....	19
a. Emulsion simple.....	20
b. Emulsion double ou complexe.....	21
II.6. Paramètres influençant le taux d'encapsulation du principe actif.....	22
II.6.1. Effet de la concentration du polymère.....	22
II.6.2. Effet de la concentration du tensioactif.....	23
II.6.3. Effet du pH de la phase aqueuse.....	23
II.6.4. Effet de la vitesse d'agitation.....	23
II.7. Cinétique de libération du principe actif encapsulé.....	24
II.7.1. Systèmes à libération déclenchée.....	24
II.7.2. Systèmes à libération prolongée.....	24
II.8. Principaux matériaux d'encapsulation.....	24
❖ . Les polyesters.....	25

a) Polyacide lactique (PLA).....	25
b) Poly- ϵ -caprolactone (PCL).....	26

Chapitre III : Elaboration et caractérisation des microsphères polymériques contenant le valsartan

III.1 .MATERIELS.....	28
III.1.1. Principe actif	28
III.1.2. Polymères.....	29
III.1.2.1. Le poly (acide lactique) (PLA).....	29
III.1.2.2. La poly- ϵ -caprolactone (PCL).....	30
III.1.3. Le tensioactif.....	30
III.1.4. Les solvants.....	30
III.2. METHODES.....	31
III.2.1. Préparation des microcapsules de PLA contenant du valsartan.....	31
III.2.2. Taux du valsartan encapsulé.....	32
III.2.3. Construction du plan d'expériences.....	32
III.2.4. caractérisation des microsphères.....	33
III.2.4.1. Interactions entre le valsartan et les microsphères.....	34
III.2.4.2. Cristallinité du valsartan et les microsphères.....	34
III.2.4.3. Morphologie et taille des microsphères.....	34
III.2.3.4. Microscopie électronique à balayage (MEB).....	34

III.3. RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	35
III.3.1. Taux d'encapsulation	35
III.3.2. Analyse IR-TF.....	36
III.3.3. Taille et morphologie des microsphères.....	40
III.3.4. Analyse de la surface de réponse.....	43
a) Equation du modèle.....	43
b) Validation du modèle.....	44
III.4. Etude des paramètres influençant le taux d'encapsulation.....	46
III.4.1. Effet de la quantité du PLA.....	46
III.4.2. Effet de la concentration du tensioactif.....	47
III.4.3. Effet du volume de la phase aqueuse.....	47
III.4.4. optimisation des paramètres d'encapsulation.....	48
III.5. Effet de la nature du polymère sur le taux d'encapsulation.....	49
III.5.1. Analyse IR-TF de la PCL et des microsphères (F17).....	50
III.5.2. Analyse DRX de la PCL et des microsphères de la PCL.....	51
III.5.3. Analyse par microscopie électronique à balayage.....	52

Chapitre IV : cinétique de libération du valsartan

IV.1. MATERIELS.....	54
IV.1.1. Microsphères de PLA et de PCL contenant du valsartan.....	54
IV.1.2. Le principe actif.....	54
IV.1.3. Dihydrogénophosphate de potassium	54
IV.1.4. Hydroxyde de sodium.....	54
IV.1.5. Acide chlorhydrique.....	55
IV.2. METHODES.....	55
IV.2.1. Préparation du milieu physiologique (milieu gastrique).....	55
IV.2.2. courbe d'étalonnage du valsartan dans le milieu physiologique intestinal pH=6,8.....	55
IV.2.3. Essai de dissolution.....	56
IV.3. RESULTATS ET DISCUSSIONS.....	57
IV.3.1. Etude de la libération <i>in vitro</i> du valsartan dans les microsphères de PLA.....	57
IV.3.2. Etude de la libération <i>in vitro</i> du valsartan dans les microsphères de PLA.....	59
IV.3.3. Effet de la nature du polymère sur la libération <i>in vitro</i> du valsartan contenu dans les microsphères.....	59
CONCLUSION.....	60
Références bibliographiques	

Liste des abréviations

AINS :	Anti-inflammatoire non stéroïdien
C_{max} :	Pic plasmatique
DRX :	Diffraction des Rayons X
EE :	Taux d'encapsulation
FDA:	Food and Drug Administration
HPMC :	Hydroxypropylméthylcellulose
HTA :	Hypertension artérielle
IR-TF :	Infrarouge à Transformée de Fourier
MEB :	Microscopie électronique à balayage
P :	Probabilité
PA :	Principe actif
PCL :	Poly (ϵ -caprolactone)
PLA :	Poly (lactique acide)
PLGA :	Poly (lactique-co-glycolique)
PVA :	Poly (Vinyl Acetate)
RX :	Rayon X
TA :	Tension actif
T_f :	Température de fusion
UV-Visible :	Ultra-violet-Visible

Listes des figures

Figure I.1 : Anatomie du système cardiovasculaire.....	3
Figure I.2 : Formulation chimique des sartans.....	9
Figure. I.3 : Formule développée du valsartan.....	10
Figure II .1: Représentation schématique d'une microcapsule et d'une microsphère.....	14
Figure II.2 : Système de microencapsulation mécanique Nébulisation/Séchage.....	16
Figure II.3 : Trois états différents de la substance active à encapsuler en lit fluidisé.....	17
Figure II.4 : Principe de la microencapsulation par polycondensation interfaciale.....	18
Figure II.5 : Schéma de la gélification de gouttes.....	18
Figure II.6 : Principe de l'encapsulation par coacervation.....	19
Figure II.7 : Représentation de différents types d'émulsions.....	20
Figure II.8 : Microsphères obtenues par évaporation de solvant : émulsion simple.....	21
Figure II.9 : Microsphères obtenues par évaporation de solvant : émulsion double.....	22
Figure II.10 : Structure chimique de la PLA.....	26
Figure II.11 : Structure chimique de la PCL.....	27
Figure III.1 : Structure chimique d'HPMC.....	30
Figure III.2 : Préparation des microsphères par la méthode d'émulsion et évaporation de solvant.....	32
Figure III.3 : Spectre UV – visible du valsartan dans l'éthanol.....	35
Figure III.4 : Courbe d'étalonnage du valsartan dans l'éthanol.....	36
Figure III.5 : Spectre IR du valsartan pur.....	37
Figure III.6 : Spectre IR-TF du PLA.....	38
Figure III.7 : Spectre IR-TF des microsphères de PLA contenant du valsartan.....	40

Figure III.8 : Micrographies par MEB du valsartan pur aux grossissements x400 et x6000...	41
Figure III.9 : Micrographies par MEB des microparticules du PLA sans valsartan aux grossissements x400 et x6000.....	41
Figures III.10 : Micrographies par MEB des microsphères de PLA contenant du valsartan de la formulation F _{opt} (à gauche aux grossissements x1200 et x5000) et F12 (à droite aux grossissements x1000 et x6000).....	42
Figure III.11 : Droite de corrélation entre les taux d'encapsulation expérimentaux et théorique.....	45
Figure III.12 : Effet de la quantité du PLA sur le taux d'encapsulation du valsartan.....	46
Figure III.13 : Effet de la concentration du tensioactif Effet de la concentration du tensioactif sur le taux d'encapsulation du valsartan.....	47
Figure III.14 : Effet du volume de la phase aqueuse sur le taux d'encapsulation du valsartan	48
Figure III.15 : Diagramme de l'optimisation des paramètres d'encapsulation du valsartan...	48
Figure III.16 : Structures chimiques de la PCL et du PLA.....	49
Figure III.17 : Spectres IR-TF de la PCL et des microsphères de la PCL contenant du valsartan (F17).....	50
Figure III.18 : Diffractogramme RX du valsartan.....	52
Figure III.19 : Diffractogrammes RX de la PCL et des microsphères.....	53
Figure III.20 : Micrographie par MEB, des microsphères de la PCL contenant du valsartan au grossissement 50 µm (F17).....	53
Figure IV.1 : Courbe d'étalonnage du valsartan dans le milieu intestinal (pH=6,8).....	56
Figure IV.2 : Profil de libération du valsartan pur et des microsphères de PLA contenant du valsartan (F16) dans le milieu intestinal (pH=6,8).....	58

Figure IV.3 : Profil de libération du valsartan pur et des microsphères de PCL contenant du valsartan (F17) dans le milieu intestinal (pH=6,8).....	57
Figure IV.4 : Profil de libération du valsartan pur et des microsphères de PLA et de PCL contenant du valsartan (F16) et (F17) dans le milieu intestinal (pH=6,8).....	59

Liste des tableaux

Tableau III.1 : Caractéristiques physicochimiques du valsartan.....	29
Tableau III.2 : Caractéristique du poly (acide lactique)	29
Tableau III.3 : Caractéristique du poly- ϵ -caprolactone.....	30
Tableau III.4 : Matrice Box-Behnken codée à trois facteurs avec trois points centraux.....	33
Tableau III.5 : Bandes caractéristiques du valsartan.....	38
Tableau III.6 : Principales bandes caractéristiques du PLA.....	39
Tableau III.7 : Les résultats expérimentaux et théoriques obtenus par JMP.....	45
Tableau III.8 : Paramètres estimés.....	46
Tableau III.9 : Analyse de la variance du modèle.....	47
Tableau III.10 : taux d'encapsulation du valsartan avec deux polymères différents.....	51



Introduction

INTRODUCTION

Les maladies cardiovasculaires représentent la principale cause de mortalité chez les adultes dans l'ensemble des pays membres de l'Organisation Mondiale de la Santé [1].

L'hypertension artérielle (HTA) représente un problème de santé publique majeur. D'un point de vue épidémiologique, l'HTA concernerait plus d'un milliard d'individu à travers le monde. C'est une maladie qui ne peut pas être guérie, mais peut être contrôlée grâce à divers traitements médicamenteux, tels que les diurétiques, les bêta-bloquants, les inhibiteurs calciques, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion et les antagonistes des récepteurs (AT1) de l'angiotensine II [2].

Le valsartan est l'un des antagonistes compétitifs puissant et sélectifs des récepteurs AT1 de l'angiotensine II indiqué dans le traitement de l'hypertension artérielle. En inhibant les récepteurs de l'angiotensine II, le valsartan dilate les vaisseaux sanguins, et ainsi abaisse la pression artérielle et régule la circulation sanguine [3]. Il est aussi indiqué dans le traitement de l'insuffisance cardiaque et post-infarctus du myocarde.

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.

Pour cela, l'une des stratégies proposées pour améliorer la biodisponibilité orale des médicaments est l'incorporation de principes actifs dans des matériaux polymères par la microencapsulation. Cette technique permet de protéger le principe actif et de contrôler sa libération dans l'organisme, ainsi que de diminuer les effets secondaires liés à un relargage massif du principe actif et réduire le nombre de prises en prolongeant l'action thérapeutique.

Comme les polyesters sont bien tolérés et ne présentent aucune toxicité vis-à-vis de l'organisme, ils sont très utilisés dans le domaine médical, en particulier dans le domaine de la vectorisation de principes actifs [4, 5]. Grâce à leurs propriétés de biocompatibilité et biodégradabilité, ils sont largement utilisés dans la libération contrôlée des principes actifs.

Dans le but d'optimiser le nombre des essais, une approche pratique et informatisée a été utilisée, il s'agit des plans d'expériences. Cette méthode permet d'organiser au mieux les essais

qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles. Ils sont applicables à de nombreuses disciplines et à toutes les industries. Avec les plans d'expériences on obtient le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences.

L'objectif de cette étude consiste à optimiser les paramètres d'encapsulation d'un antihypertenseur (le valsartan) dans des polymères biodégradables (le poly (acide lactique) et la poly (ϵ -caprolactone)), en utilisant les plans d'expériences. Une matrice de type Box-Behnken sera réalisée, en étudiant l'effet de trois facteurs indépendants sur le taux d'encapsulation à savoir : la quantité du polymère, la concentration du tensioactif et le volume de la phase aqueuse.

Le manuscrit de ce travail se compose de quatre chapitres principaux :

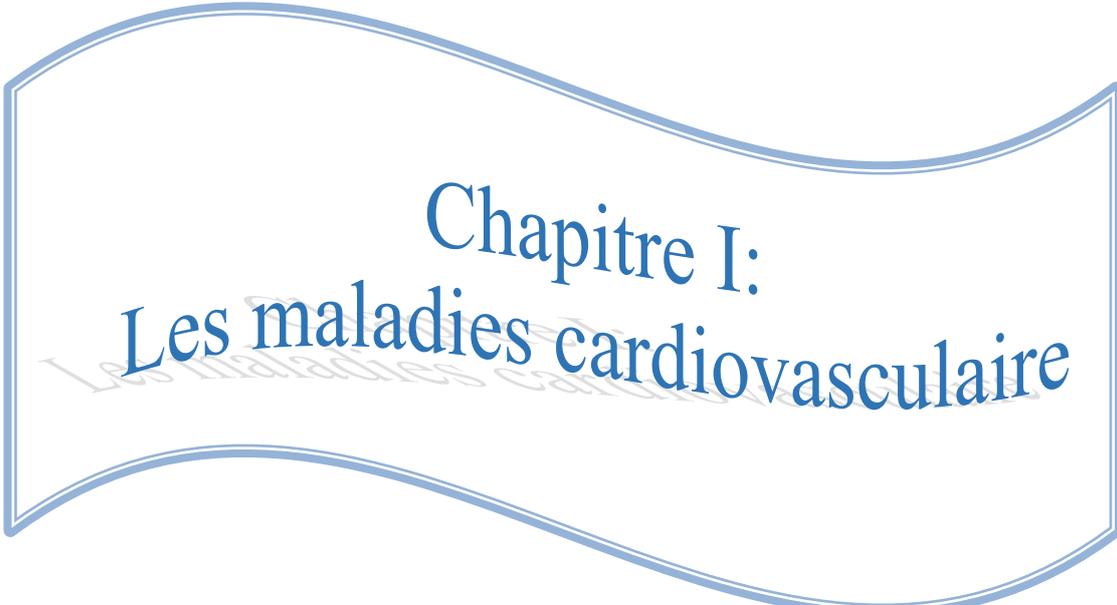
Le premier chapitre consiste à présenter des généralités sur les maladies cardiovasculaires et leurs traitements médicamenteux.

Le second chapitre est consacré à une mise au point bibliographique sur la microencapsulation, plus particulièrement les méthodes d'encapsulation et les facteurs influençant le taux d'encapsulation des principes actifs encapsulés.

Dans le troisième chapitre nous allons décrire la technique de préparation des microsphères de PLA et de PCL contenant du valsartan, la méthode des plans d'expériences appliquée afin d'optimiser les paramètres d'encapsulation, ainsi que les techniques de caractérisation des microsphères (UV-Visible, IR-TF, MEB, DRX). Par la suite, discuter et interpréter les résultats obtenus.

Le quatrième et dernier chapitre est consacré à l'étude de la cinétique de libération des microsphères de PLA, PCL contenant du valsartan, testés *in vitro* dans le milieu intestinal (pH=6,8).

Enfin, on terminera par une conclusion générale qui résume les résultats essentiels obtenus et réalisés lors du travail expérimental.



Chapitre I:
Les maladies cardiovasculaire

Chapitre I : Les maladies cardiovasculaires

En Algérie, les maladies cardiovasculaires atteignent le taux de 46,2% arrivant en tête des maladies non-transmissibles additionnées à l'hypertension artérielle. Ces dernières représentent la première cause de mortalité. La mauvaise hygiène de vie, une alimentation déséquilibrée, le tabagisme, toutes ces mauvaises habitudes impactent fortement sur la santé des algériens [6].

I.1. Définition des maladies cardiovasculaires

Il s'agit de l'ensemble des maladies qui touchent le cœur et les vaisseaux sanguins. Ces maladies ont un impact considérable sur la mortalité, la morbidité et le coût de la santé, partout dans le monde [7, 8]. Toutefois, l'impact varie en fonction de l'âge, du sexe, de la situation économique et de la région géographique [9].

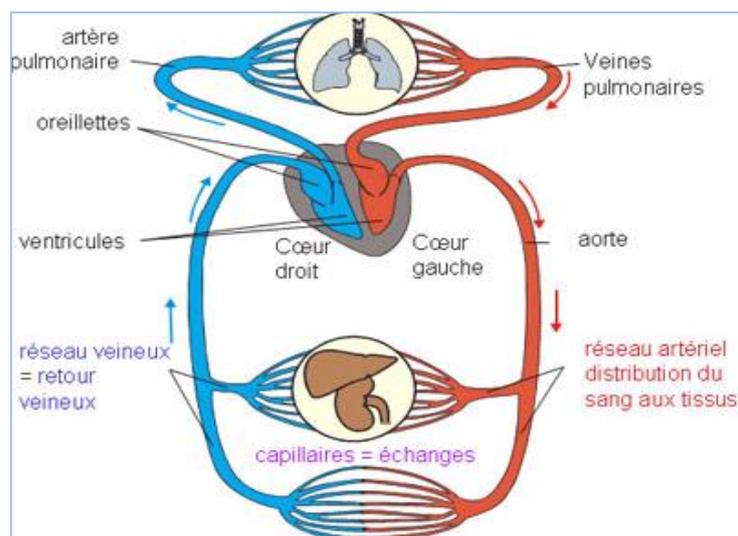


Figure I.1 : Anatomie du système cardiovasculaire.

I.2. Maladies cardiovasculaires et leurs traitements

Les principales maladies de cette catégorie, qui sont recensées dans le monde sont classées comme suit [6] :

- Hypertension artérielle (HTA) : traitée par les antihypertenseurs ;
- L'insuffisance coronaire : traitée par les anti-angineux ;
- Insuffisance cardiaque : traitée par les bêta-bloquants et les vasodilatateurs ;
- Troubles du rythme : traitée par les anti-arythmiques ;
- Pathologie artérielle : traitée par les vasodilatateurs anti-thrombotiques.

I.3. Facteurs de risque des maladies cardiovasculaires

La prévention des maladies cardiovasculaires. Se fait par la prévention de tous les facteurs de risques modifiables responsables de l'apparition et de l'aggravation [10]. Ces facteurs sont représentés par [11] :

➤ Facteurs non modifiables

- L'âge et le sexe : Le risque cardiovasculaire augmente avec l'âge. L'homme est plus exposé aux accidents cardiovasculaires que la femme en période d'activité génitale mais le niveau de risque chez cette dernière rejoint très progressivement celui de l'homme après la ménopause.
- Les antécédents familiaux : La prédisposition familiale est un facteur de risque majeur.

➤ Facteurs modifiables

- L'hypertension artérielle : On parle d'une hypertension artérielle quand la tension artérielle est supérieure ou égale à 140/90 mm Hg.
- Le tabagisme : Les personnes qui fument actuellement présentent un risque accru de développer des maladies cardiovasculaires. Les risques augmentent en fonction de la fréquence et nombre de cigarettes fumées.
- La dyslipidémie et le cholestérol : Des taux anormalement élevés ou faibles de gras dans le sang augmentent le risque de maladies coronariennes.
- La surcharge pondérale ou l'obésité : Elle se définit par un excès de masse grasseuse, en particulier au niveau abdominal.
- Le diabète (type I ou II) : Représente un facteur de risque considérable pour le développement des maladies cardiovasculaires. Il a été montré que les patients diabétiques sont deux fois plus sujets à risque que les non-diabétiques.

Il existe aussi des facteurs qui aggravent les maladies cardiovasculaires tels que :

- Le stress ;
- La sédentarité ou le manque d'exercice physique.

I.4. Symptômes qui doivent alerter

Douleurs ou gênes dans la poitrine, douleurs ou gênes dans le bras, l'épaule, la mâchoire, difficultés à respirer, essoufflements, sensation soudaine de faiblesse au niveau du visage, ou d'un seul côté du corps, vertiges, malaises, maux de tête, troubles de la vision ou de la parole et pertes d'équilibre [12].

I.5. Médicaments cardiovasculaires

I.5.1. Médicaments de l'insuffisance cardiaque

L'insuffisance cardiaque est définie comme étant l'incapacité du cœur à assurer dans des conditions normales le débit sanguin nécessaire aux besoins métaboliques et fonctionnels des différents organes [13].

Différentes classes de médicaments peuvent être associées en cas d'insuffisance cardiaque. Le traitement doit être adapté au cours du temps et en fonction de l'évolution de la maladie et des symptômes. Les médicaments prescrits sont à prendre régulièrement, tout au long de la vie [14].

a- Digitaliques (Glucosides cardiotoniques)

Connus et utilisés depuis très longtemps, les digitaliques (glucosides cardiotoniques) sont des substances d'organes naturels contenues dans diverses plantes (digitale, scille) [15].

Au cours de l'insuffisance cardiaque, l'action des glycosides cardiotonique se traduit par une vasodilatation. Cette action vasodilatatrice entraîne une augmentation importante du retour veineux, améliorant ainsi dans une certaine mesure, le débit cardiaque, et diminuant la résistance à l'éjection [16].

b- Inhibiteurs des phosphodiésterases

Ils associent un effet inotrope positif et un effet vasodilatateur. Ils améliorent l'état thermodynamique en cas d'insuffisance cardiaque aigue sans hypotension importante.

Trois produits sont utilisés et réservés à l'usage hospitalier : l'amrinone, l'émodionne et la milrinone.

I.5.2. Antiangoreux

La crise d'angine de poitrine est due à un déséquilibre entre les besoins en oxygène du myocarde et les apports d'oxygène par la circulation sanguine coronaire.

Afin de prévenir cette crise, il est nécessaire de diminuer les besoins en oxygène et augmenter le débit sanguin.

Certains médicaments sont actifs à titre curatif et préventif sur la crise d'angor. D'autres sont utilisés dans l'insuffisance coronarienne chronique avec un double but : diminuer la gêne fonctionnelle et réduire les risques d'infarctus du myocarde [15].

Parmi les antiangoreux on distingue :

a- Dérivés nitrés

La nitroglycérine et les nitrates organiques exercent une relaxation des muscles lisses et donc une vasodilatation généralisée prédominante sur le système veineux [17].

On utilise sur le plan thérapeutique les conséquences de ces effets vasculaires au niveau du cœur. La diminution de l'apport de sang veineux et de la résistance artérielle soulage le cœur. De ce fait, le bilan en oxygène s'améliore [18].

b- Molsidomine

La molsidomine est un donneur de monoxyde d'azote exerçant l'effet anti-ischémique de la même façon que les dérivés nitrés, par une augmentation de la capacitance veineuse qui induit à son tour une réduction pré-charge, de la tension pariétale et des besoins en oxygène, sans entraîner d'accoutumance [19].

I.5.3. Antiarythmiques

Les antiarythmiques sont des médicaments qui s'opposent à l'arythmie cardiaque et régularisent le fonctionnement du cœur. Ils sont utilisés pour corriger une gêne fonctionnelle : palpitation, malaise ...ou pour prévenir un risque vital prophylaxie des arythmies après un infarctus récent [15].

I.5.4. Antihypertenseurs

Ces médicaments sont directement actifs sur la fibre lisse vasculaire. Ce sont des vasodilatateurs musculotropes qui diminuent le tonus vasculaire au niveau des petites artères et des artérioles. Il existe plusieurs types d'antihypertenseurs :

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 [15].

Les bêta-bloquants représentent une classe majeure au sien de la pharmacopée, de par leur intérêt thérapeutique démontré dans les principaux domaines de la pathologie cardiovasculaires : hypertension, insuffisance coronaire, insuffisance cardiaque [20].

Longtemps contre-indiqués dans l'insuffisance cardiaque, les bétabloquants sont maintenant une thérapie approuvée dans le traitement des patients atteints de dysfonction systolique ventriculaire gauche [6].

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 [15].

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 [21].

Les structures chimiques des inhibiteurs calciques sont très différentes. Les dihydropyridines constituent la classe la plus importante avec la nifédipine, la félodipine et la nicardipine [15].

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 [15].

Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine sont indiqués lors de la dysfonction ventriculaire gauche asymptomatique [22]. Ils agissent en s'opposant à l'angiotensine I, inactive sur le plan vasculaire, en angiotensine II [23]. De plus, la bradykinine est une hormone qui est dégradée par la même enzyme de conversion de l'angiotensine. De ce fait, l'accumulation de bradykinine, qui a des propriétés vasodilatatrice puissantes, participe également à l'effet antihypertenseur des inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine. En revanche, elle induit un effet secondaire néfaste à savoir une toux sèche [15].

d- Antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II

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

Les sartans, molécules de nature non peptidique, font partie des traitements les plus récents de l'hypertension artérielle. Le blocage des récepteurs de l'angiotensine II par les sartans entraîne une augmentation de la concentration d'angiotensine II, sans incidence sur celle de la bradykinine. La baisse de tension artérielle est comparable à celle obtenue avec les autres antihypertenseurs, sans toutefois, nécessiter une stimulation préalable du système rénine-angiotensine [14].

Cinq molécules appartenant à la famille des sartans ont été synthétisées et sont commercialisées depuis 1995 : losartan, valsartan, irbesartan, candesartan et telmisartan.

Ces substances sont indiquées dans le traitement de l'hypertension artérielle essentiellement, ils sont bien tolérés mais dans certaines circonstances leur emploi peut provoquer les mêmes symptômes que les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, notamment en cas de déplétion sodée ou de sténose de l'artère rénale.

En contre partie, comme ils ne participent pas à l'accumulation de bradykinine, ils ne provoquent pas de toux [15].

Les structures chimiques des sartans représentées sur la figure suivante :

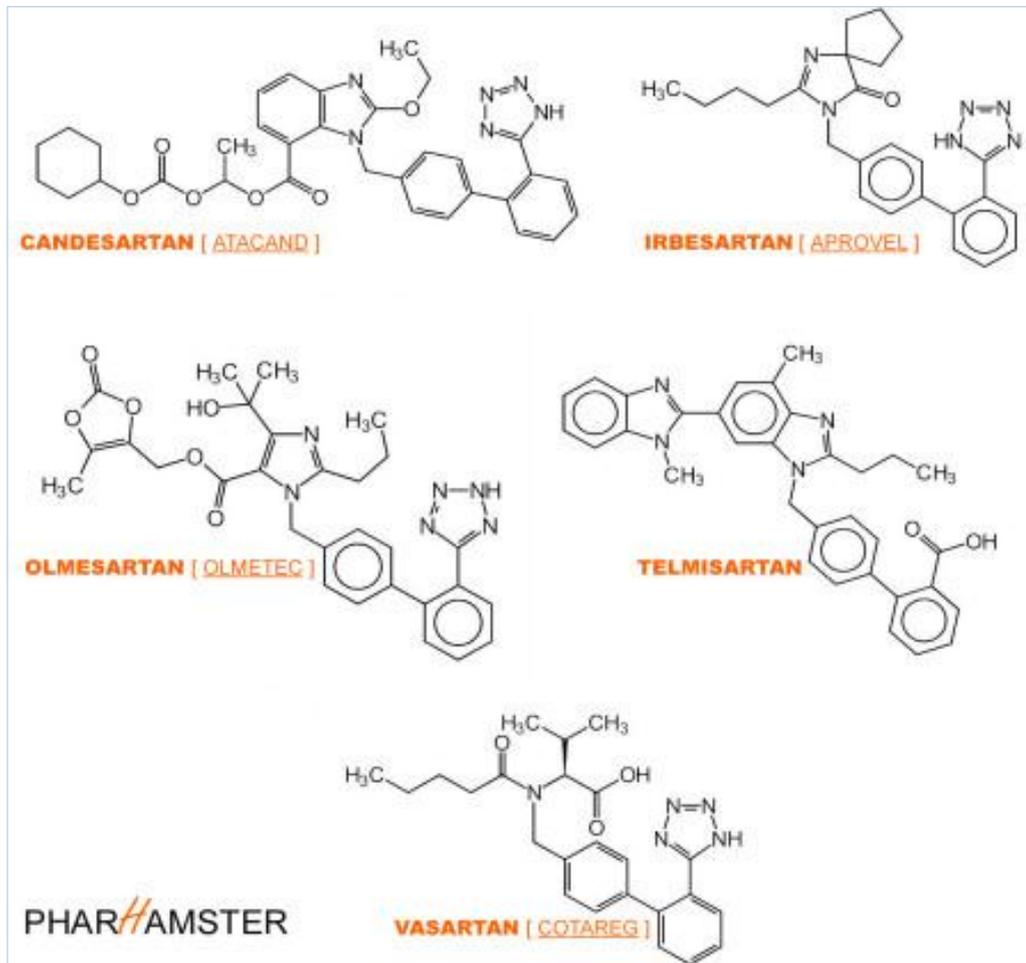


Figure I.2 : Formules chimiques des sartans.

I.6. VALSARTAN

I.6.1. 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.

Aux Etats-Unis, le valsartan est enregistré par la Food and Drug Administration (FDA) pour utilisation dans le traitement de l'hypertension chez les enfants de 6 ans et plus, depuis Décembre 2008 [24].

I.6.2. 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.

Le valsartan est chimiquement décrit comme [(S)-N-Valéryl-N-{[2-(1H-tétrazole-5-yl)-biphényl-4-yl]-méthyl}-valine]. Sa formule brute est $C_{24}H_{29}N_5O_3$, et son poids moléculaire est de 435,519 gr/mol [25].

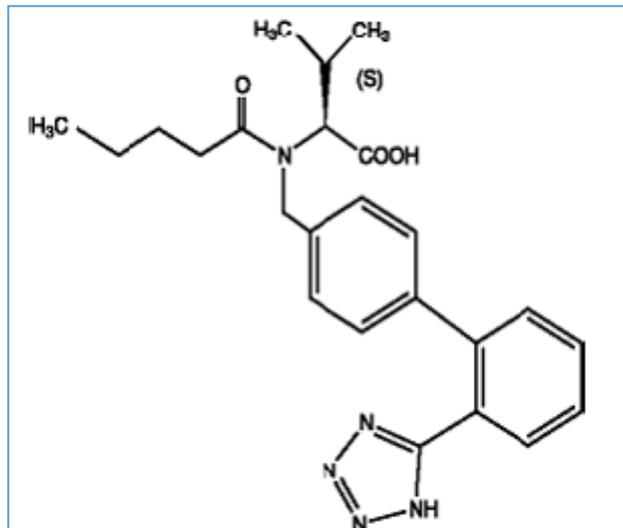


Figure.I.3 : Formule chimique du valsartan.

I.6.3. Pharmacodynamie du valsartan

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. Le valsartan ne se lie à aucun autre récepteur hormonal et ne bloque aucun canal ionique dont l'importance pour la régulation cardiovasculaire soit connue.

Le valsartan n'a pas d'action inhibitrice sur l'inhibiteur de l'enzyme de conversion d'angiotensine (également appelée kinase II) qui convertit l'angiotensine I en angiotensine II et

qui dégrade la bradykinine. Les antagonistes de l'angiotensine II ne devraient pas provoquer de toux, dans la mesure où ils n'agissent pas sur l'enzyme de conversion et ne potentialisent pas l'action de la bradykinine ou de la substance P (hormone neurotransmetteur).

Les études cliniques comparant le valsartan et un inhibiteur de l'enzyme de conversion d'angiotensine ont montré que l'incidence d'une toux sèche était significativement plus faible ($P < 0,05$) sous valsartan que sous inhibiteur de l'enzyme de conversion d'angiotensine (2,6 % contre 7,9 % respectivement).

Au cours d'une étude clinique incluant des patients ayant des antécédents de toux sèche sous l'inhibiteur de l'enzyme de conversion d'angiotensine, cette toux est apparue chez 19,5 % des sujets traités par valsartan et chez 19,0 % de ceux traités par un diurétique thiazidique contre 68,5 % de ceux traités par l'inhibiteur de l'enzyme de conversion d'angiotensine ($P < 0,05$) [26].

L'administration du valsartan à des patients hypertendus diminue la pression artérielle sans toutefois influencer la fréquence cardiaque. Chez la plupart des patients, l'effet antihypertenseur se manifeste dans les 2 heures après administration d'une dose orale unique, la réduction maximale de la pression artérielle étant obtenue dans les 4 à 6 heures. L'effet antihypertenseur persiste pendant 24 heures suivant la prise. Lors de l'administration répétée, l'effet antihypertenseur est nettement perceptible en l'espace de 2 semaines, et l'effet maximum est atteint en 4 semaines et se maintient lors du traitement à long terme [26].

I.6.4. Pharmacocinétique du valsartan

➤ 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 mesurées par l'aire sous la courbe et les pics plasmatiques (C_{\max}) diminuent respectivement d'environ 40 % et 50 % si le valsartan est administré au cours d'un repas, mais les taux plasmatiques sont similaires 8 heures après la prise, que le patient ait été à jeun ou non. Toutefois, cette réduction de l'aire sous la courbe n'est pas associée à une diminution cliniquement significative de l'effet thérapeutique, c'est pourquoi le valsartan peut être pris pendant ou en dehors des repas [26].

➤ **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 [26].

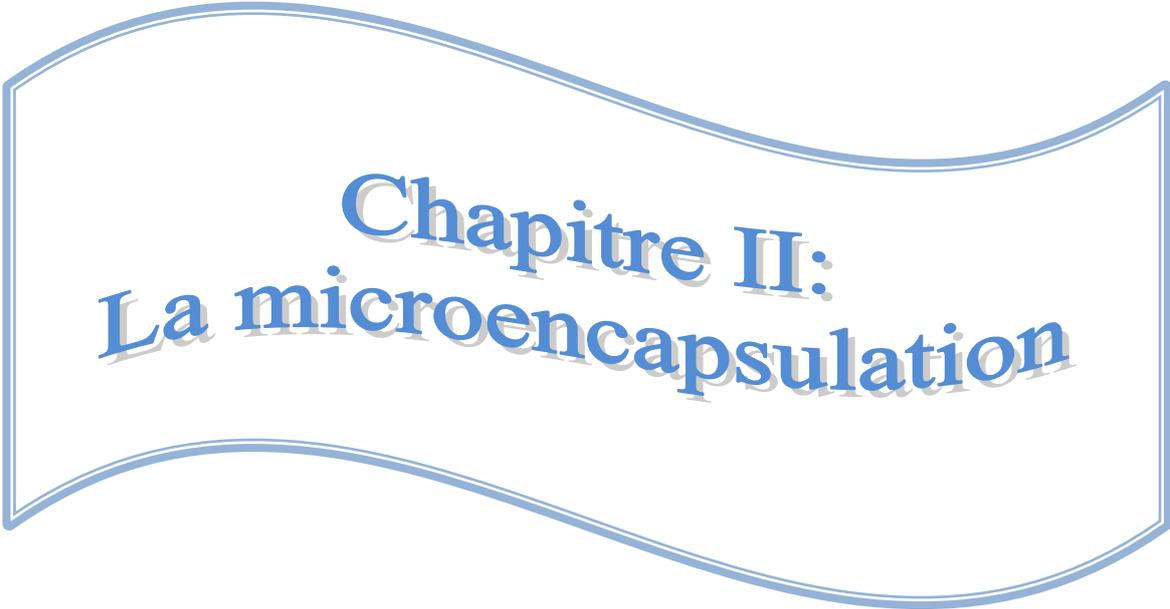
➤ **Métabolisme**

Le valsartan n'est pas largement biotransformé puisque seulement 20 % de la dose sont retrouvés sous forme de métabolites. De faibles concentrations plasmatiques d'un métabolite hydroxy ont été retrouvées (moins de 10 % de l'aire sous la courbe du valsartan). Ce métabolite est inactif sur le plan pharmacologique [26].

➤ **Élimination**

Le valsartan se caractérise par une décroissance cinétique multiexponentielle ($t_{1/2\alpha} < 1$ h et $t_{1/2\beta}$ d'environ 9 heures). 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. Après administration intraveineuse, la clairance plasmatique du valsartan est d'environ 2 l/h et sa clairance rénale de 0,62 l/h (environ 30 % de la clairance totale). La demi-vie du valsartan est de 6 heures.

Chez les patients d'insuffisances cardiaques : les délais moyens pour atteindre le pic de concentration plasmatique et la demi-vie d'élimination du valsartan chez les patients ayant une insuffisance cardiaque ont été semblables à ceux observés chez les volontaires sains. Les valeurs de l'aire sous la courbe et de la C_{\max} du valsartan augmentent de manière linéaire et sont presque proportionnelles à la dose sur l'éventail des doses cliniques (40 à 160 mg deux fois par jour). Le rapport d'accumulation moyen est d'environ 1,7. La clairance apparente du valsartan, après administration orale, est d'environ 4,5 l/h. L'âge n'a pas d'influence sur la clairance apparente chez les patients ayant une insuffisance cardiaque [26].



**Chapitre II:
La microencapsulation**

Chapitre II : La microencapsulation

Aucun médicament ne peut exercer une activité thérapeutique si la molécule biologiquement active qu'il renferme n'est pas capable de franchir les barrières biologiques qui séparent le site d'administration du site d'action. Les barrières à traverser sont des systèmes très complexes faisant intervenir plusieurs éléments (épithélium, endothélium, membrane cellulaire) et plusieurs composantes (barrières mécaniques ou physico-chimiques et barrières enzymatiques). Certaines molécules sont inefficaces car elles diffusent spontanément et intégralement la substance active, ce qui nécessite son encapsulation dans le but de ralentir sa libération (pour prolonger le temps de séjour de la forme posologique) une fois que le site d'application ou d'absorption est atteint).

L'encapsulation de principes actifs afin d'assurer une libération contrôlée, prolongée ou ciblée constitue l'un des enjeux de recherche du début de 21^{ème} siècle [27].

II .1. Historique de l'encapsulation

C'est en 1931 que deux chimistes chercheurs (Bungenburg de Jong et Kaas) découvrirent la coacervation, un phénomène physique permettant de réaliser des systèmes colloïdaux, ce qui a conduit aux premiers essais d'encapsulation. Le développement de cette technique de l'échelle du laboratoire à la production industrielle aura duré une vingtaine d'années. Durant cette époque, la technologie a été constamment améliorée, modifiée et adaptée [28]. Historiquement, l'une des premières applications de la microencapsulation a été le papier autocopiant sans carbone à base de microcapsules d'encre sensibles à la pression, dans les années 1950. Puis les recherches se sont intensifiées, afin de développer de nouvelles technologies d'encapsulation, de vectoriser de nouveaux composés, et de proposer de nouveaux matériaux enveloppants, comme par exemple l'utilisation des polymères biocompatibles dans le domaine médical [29].

La microencapsulation a fait l'objet d'un nombre important de publications dans le monde scientifique depuis environ les années 1970. Ces dernières années, les microcapsules ont fait leur apparition dans de nombreux domaines d'application aussi divers et variés que les cosmétiques, l'agroalimentaire, les encres ou bien encore les engrais [30] ; mais c'est véritablement dans l'industrie pharmaceutique que ce nouveau concept présente un réel intérêt.

II .2. Définition

La microencapsulation est une technique qui regroupe l'ensemble des procédés permettant d'obtenir des microparticules individualisées, constituées d'un matériau polymère enrobant, contenant une matière active. La matrice enrobante représente une barrière permettant la protection du principe actif ainsi que le contrôle de sa libération [31, 32].

II .3. Morphologie des microparticules

Les microparticules sont composées d'une matière active enrobée par un matériau constitué de polymères ou de lipides [33]. Leur distribution granulométrique est de type gaussien, varie avec le procédé de fabrication choisi et est déterminée par granulométrie à variation de résistance électrique ou diffraction laser. La morphologie des microparticules peut être observée par microscopie optique ou électronique. Deux structures peuvent exister [34] :

II.3.1. Les microsphères : Ce sont des particules constituées d'un réseau macromoléculaire ou lipidique continu formant une matrice dans laquelle se trouve finement dispersée la matière active aléatoirement. Cette dernière peut se présenter sous forme de fines particules solides ou encore de gouttelettes de solutions.

II.3.2. Les microcapsules : Ce sont des particules réservoirs constituées d'un cœur de matière active liquide ou solide, entourées d'une enveloppe solide continue de matériau enrobant [32].

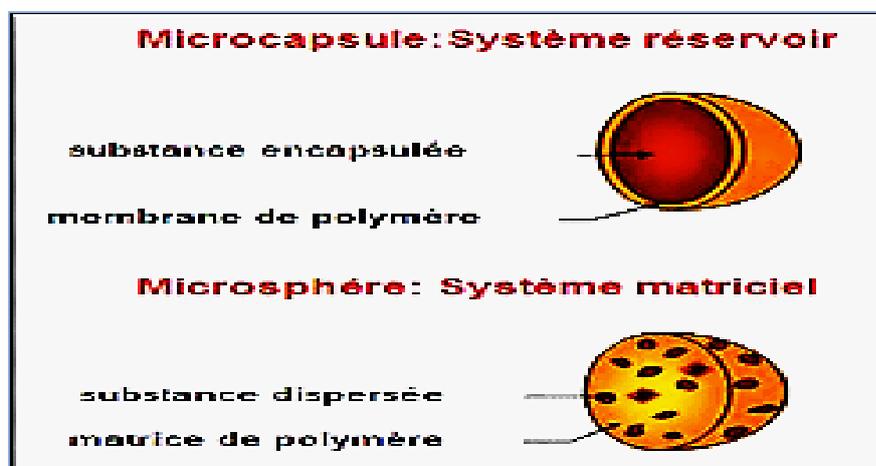


Figure II .1: Représentation schématique d'une microcapsule et d'une microsphère [35].

II.4. Intérêts de la microencapsulation

Les microparticules peuvent avoir différents rôles selon l'application pour laquelle elles sont conçues, elles assurent donc diverses fonctions tels que :

- 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, par exemple, un effet prolongé ou déclenché [32].

II.5. Techniques d'encapsulations

Les procédés d'encapsulation sont généralement catégorisés dans trois classes :

- procédés mécaniques ;
- procédés chimiques ;
- procédés physico-chimiques

II.5.1. Procédés mécaniques

Le procédé mécanique de l'encapsulation repose sur la nébulisation de la formulation, ou l'enrobage des microparticules en lit fluidisé, ou l'extrusion du mélange de la matière active et de l'agent enrobant.

II.5.1.1. Nébulisation/séchage

Le procédé nébulisation/séchage permet de transformer une formulation liquide initiale en microparticules sèches. La formulation liquide est composée d'une phase de matière active sous formes différentes (solution, émulsion, dispersion de particules solides) et une autre phase de la solution de l'agent enrobant. Il y a généralement quatre étapes essentielles dans ce procédé :

- diffusion de la phase liquide (nébulisation) pour former un aérosol ;
- mise en contact de l'aérosol avec un flux d'air, porté à une température contrôlée ;
- séchage rapide de l'aérosol pour former des microparticules solides ;
- séparation et collection de la poudre de microparticules et de l'air contenant le solvant vaporisé [27].

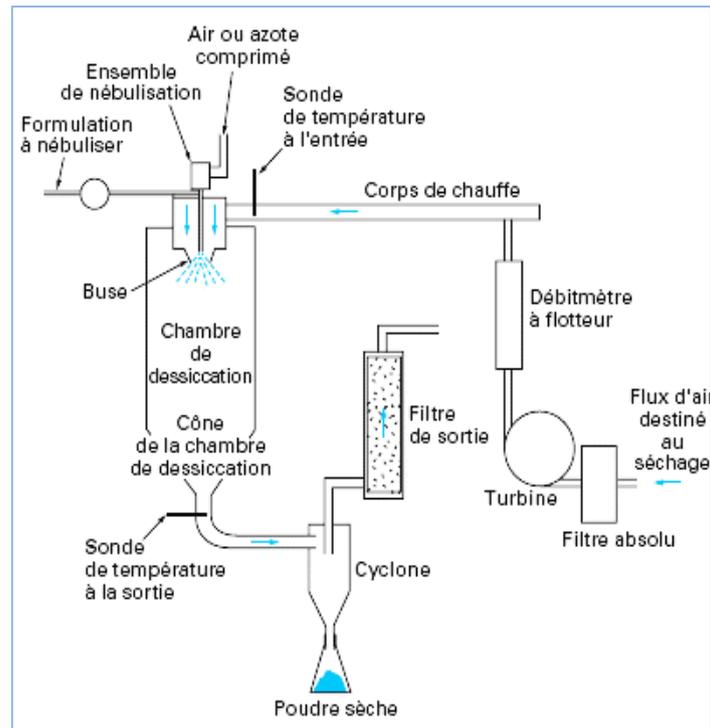


Figure II.2 : Système de microencapsulation mécanique Nébulisation/Séchage [17].

Ce procédé a été appliqué par **Li et al.** pour encapsuler l'ibuprofène, une matière active non-hydrosoluble, dans une microcapsule en gélatine [36]. Le valsartan a été également encapsulé par cette technique. En effet, **Dong Xun Li et al.** [37], ont préparé des microcapsules de gélatine, en utilisant l'HPMC comme stabilisant, pour améliorer la dissolution et la stabilité physique du valsartan.

II.5.1.2. Enrobage en lit fluidisé

Le procédé de l'enrobage permet de réaliser la production de microcapsules en lit fluidisé. L'enrobage comprend trois étapes. D'abord, la poudre de particules est pulvérisée et fluidisée par l'air. Ensuite, le matériau enrobant est pulvérisé sur les particules suspendues. Enfin, le séchage et l'enrobage par film sont effectués [38].

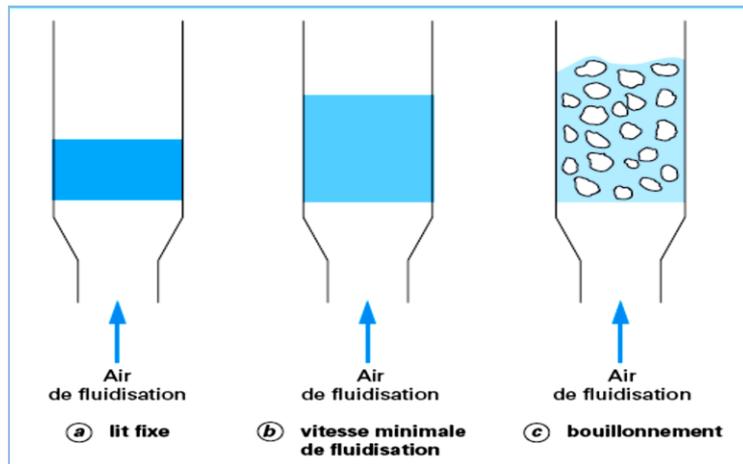


Figure II.3 : Trois états différents de la substance active à encapsuler en lit fluidisé [32].

La technique d'enrobage en lit fluidisé a été très appliquée pour encapsuler des molécules actives telles que le diclofenac sodique (AINS) [39], l'acide ascorbique [40] et l'ibuprofène [41].

II.5.1.3. Extrusion sphéronisation

L'extrusion permet de disperser de manière homogène un principe actif dans une matrice polymère, et a pour but de convertir un matériau brut en un produit de forme définie et de densité uniforme, en le forçant à passer à travers une filière sous des conditions de température contrôlée (entre 70 et 150°C). Elle peut s'appliquer à des produits en fusion ainsi qu'à des produits semi-solides (dispersions contenant une forte proportion de produit solide et une phase liquide). Les polymères utilisés doivent être thermoplastiques et posséder une température de transition vitreuse suffisamment basse. Le filament obtenu après extrusion est refroidi et sectionné de manière régulière. Le broyage des microcylindres obtenus va permettre d'obtenir des microparticules [42].

II.5.2. Procédés chimiques

II.5.2.1. Polymérisation interfaciale (polycondensation)

La polycondensation interfaciale met en jeu 2 monomères ayant des groupements fonctionnels complémentaires (A et B), chacun soluble dans une des phases d'un système diphasique. L'encapsulation de principes actifs peut être réalisée par cette méthode via un protocole en deux étapes (Figure II.4) :

Dans un premier temps une émulsion est préparée, la phase dispersée contenant l'espèce à encapsuler ainsi qu'un monomère. Puis cette émulsion est diluée afin d'apporter le second monomère en phase continue. La réaction démarre alors à l'interface des gouttelettes. On obtient en fin de réaction une membrane qui renferme l'espèce à encapsuler [43].

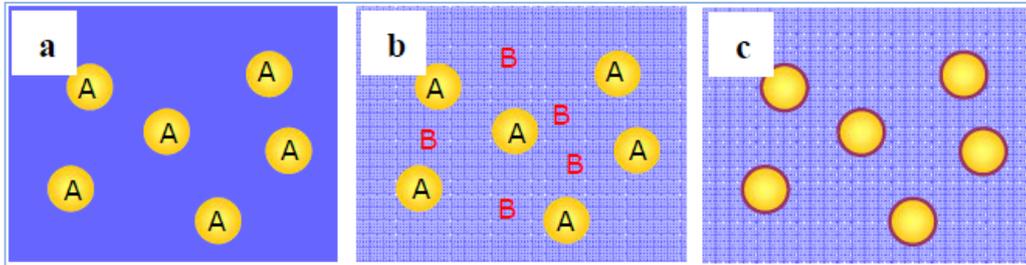


Figure II.4 : Principe de la microencapsulation par polycondensation interfaciale [43] :

(a) Obtention d'une émulsion avec un monomère A dans les gouttelettes ; (b) Dilution de l'émulsion avec un monomère B dans la phase continue ; (c) Polycondensation des monomères A et B à l'interface des gouttelettes pour former la membrane des microcapsules.

II.5.2.2. Gélification et congélation

La gélification de gouttes est basée sur la formation d'une solution, dispersion ou émulsion de matière active dans une solution aqueuse de polymères capables de former des gels sous une action extérieure, physique ou chimique (Figure II.5). Les matières actives (protéine, cellule) sont encapsulées dans ce dispositif [44].

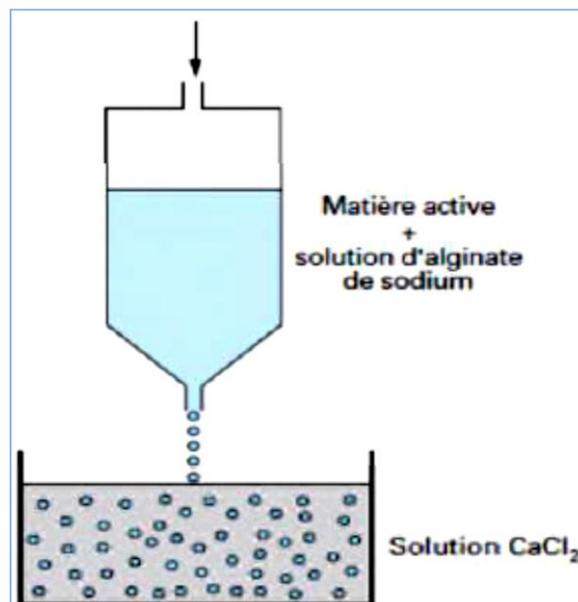


Figure II.5 : Schéma de la gélification de gouttes [45].

II.5.3. Procédés physico-chimiques

II.5.3.1. Séparation de phase ou coacervation

La séparation de phase ou coacervation est largement utilisée pour la préparation des microcapsules de gélatine, des dérivés cellulosiques ou des polymères synthétiques [46].

Le procédé de coacervation consiste à abaisser la solubilité d'un polymère initialement solubilisé dans un solvant approprié, en variant la température ou le pH du milieu ou par ajout d'un électrolyte, d'un non-solvant ou d'un deuxième polymère (agent de coacervation). Il se forme alors deux phases liquides : l'une riche en polymère appelée coacervat et l'autre pauvre en polymère [31]. Le principe actif dispersé dans la solution initiale de polymère se retrouvera au sein des gouttelettes de coacervat, qui sont ensuite durcies ou réticulées par un agent de solidification (figure II.6) [47].

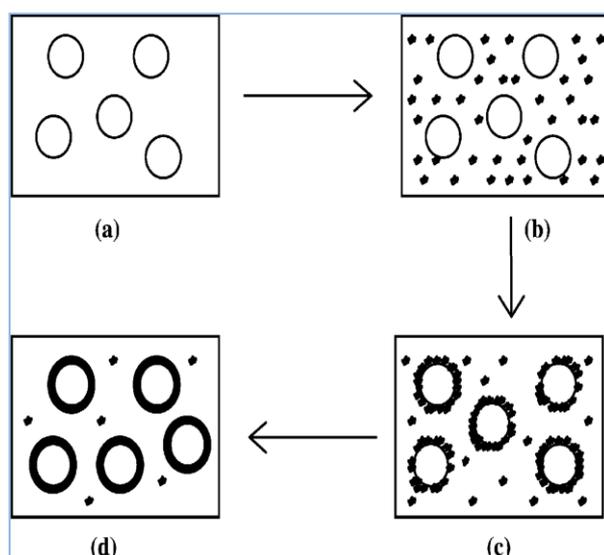


Figure II.6 : Principe de l'encapsulation par coacervation : (a) dispersion du principe actif dans la solution de polymère ; (b) formation du coacervat ou séparation de phase ; (c) dépôt du coacervat et formation d'un enrobage ; (d) renforcement de l'enveloppe.

II.5.3.2. Emulsion-Evaporation de solvant

Nous allons nous intéresser dans notre étude à la technique d'émulsion-évaporation de solvant, car c'est un procédé facile à mettre en œuvre, nécessitant un équipement très simple. Des rendements élevés peuvent être obtenus et la phase évaporée peut être recyclée. De plus, le principe actif étudié (le valsartan) n'a pas été déjà encapsulé par cette technique.

La microencapsulation par émulsion-évaporation du solvant a été développée à la fin des années 1970 [48]. Cette technique est largement appliquée dans les industries pharmaceutiques afin d'obtenir la libération contrôlée des principes actifs [49].

Selon le nombre d'émulsions produites pendant la préparation des microparticules, l'émulsion-évaporation de solvant peut être divisée en deux méthodes : émulsion simple et double :

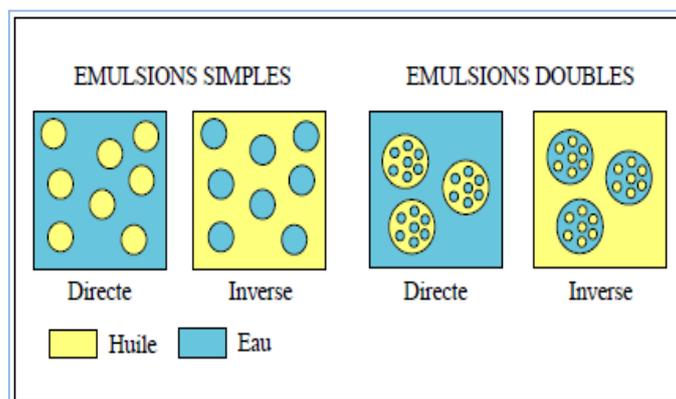


Figure II.7 : Représentation de différents types d'émulsions [50].

a. Emulsion simple : huile dans huile (h/h) ou huile dans eau (h/e)

Cette méthode a été essentiellement utilisée pour encapsuler des principes actifs hydrophobes. Le principe de cette technique consiste à dissoudre le polymère dans un solvant organique volatil et non miscible à l'eau tel que le dichlorométhane ou l'acétate d'éthyle, le principe actif est dispersé ou solubilisé dans la solution du polymère. La solution ou suspension de principe actif, est émulsifiée dans une phase continue, pouvant être une huile minérale (h/h) ou une solution aqueuse (h/e) contenant des tensioactifs. L'étape d'émulsification est effectuée par agitation ou par sonication [47, 51].

Le solvant organique, constituant la phase dispersée, est éliminé par évaporation ou extraction. Au cours du processus d'évaporation, le durcissement des gouttelettes de l'émulsion se produit lorsque le solvant organique s'évapore de la phase dispersée à pression atmosphérique. L'utilisation du vide ou une augmentation de température peut accélérer l'évaporation du solvant.

Dans le processus d'extraction de solvant, l'émulsion est transférée dans une grande quantité d'eau (ou d'autres milieux) et l'extraction du solvant se produit plus rapidement que dans le cas de l'évaporation. Les microcapsules préparées sont récupérées par centrifugation ou filtration suivie d'un séchage (Figure II.8) [47].

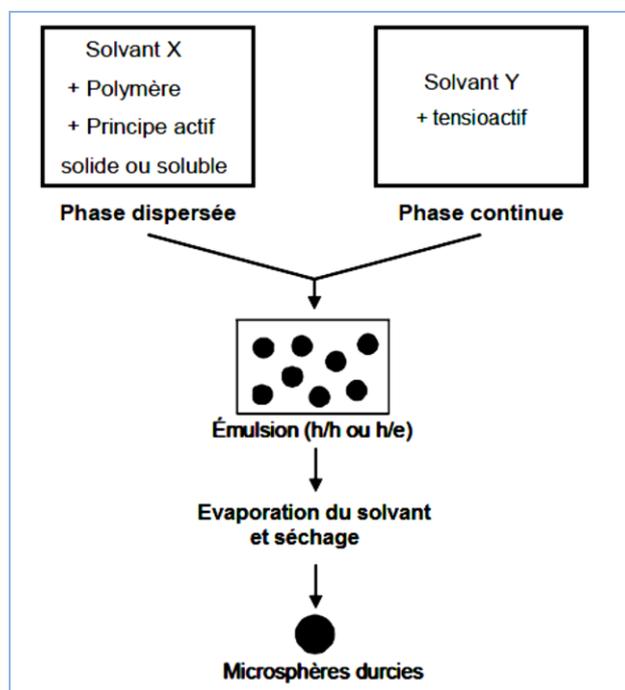


Figure II.8 : Microsphères obtenues par évaporation de solvant : émulsion simple [47].

b. Emulsion double ou complexe : eau dans huile dans eau (e/h/e)

Les émulsions doubles ou multiples, par leur structure compartimentée, ont depuis longtemps été envisagées pour encapsuler des composés hydrosolubles dans les gouttelettes internes [34]. En effet, la méthode d'émulsion huile/eau est peu appliquée pour encapsuler les molécules hydrophiles, du fait de leur insolubilité dans les solvants organiques et de leur diffusion vers la phase continue durant l'étape d'émulsification conduisant à de faibles taux d'encapsulation [52].

Dans le cas des émulsions doubles, une solution aqueuse contenant le principe actif est d'abord émulsionnée dans un solvant organique contenant le polymère solubilisé, sous une agitation ultrason pour obtenir une émulsion submicronique du type eau/huile (e/h). Cette émulsion est ensuite utilisée comme phase dispersée dans la troisième solution aqueuse contenant l'agent tensioactif, permettant d'obtenir une double émulsion (e/h/e). Enfin, les particules obtenues sont lavées, puis séchées et récupérées [34].

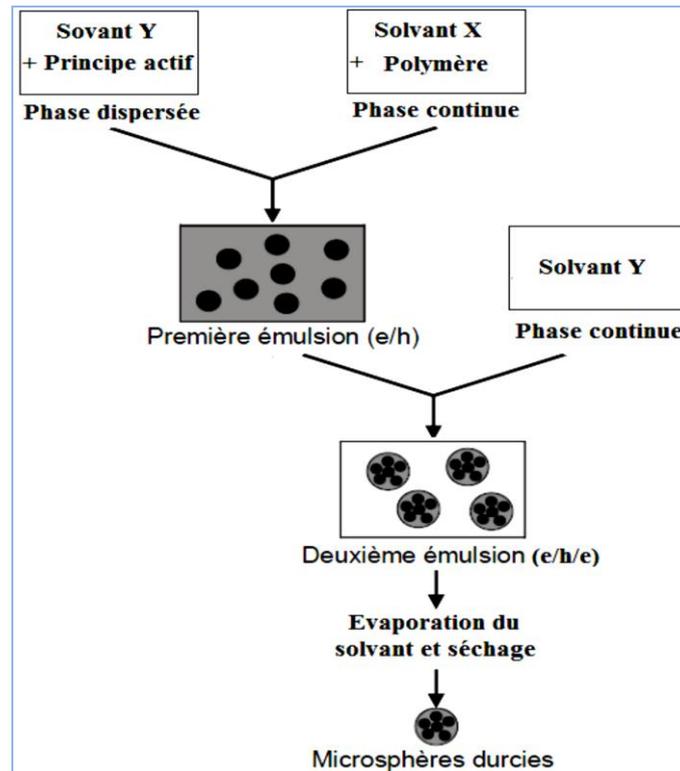


Figure II.9 : Microsphères obtenues par évaporation de solvant : émulsion double [45].

II.6. Paramètres influençant le taux d'encapsulation du principe actif

II.6.1. Effet de la concentration du polymère

Une modification de la masse du polymère a un impact important sur l'efficacité d'encapsulation. **Behera et al.** [53], ont montré que le taux d'encapsulation du Fluorouracile (antimétabolite) augmente avec l'augmentation de la concentration d'éthylcellulose. Ils ont suggéré que l'augmentation de la concentration du polymère entraîne une réticulation de ses chaînes, conduisant à l'augmentation de sa capacité à emprisonner le principe actif.

Benoit et al. [54], ont aussi démontré que le taux d'encapsulation de l'albumine de sérum bovin augmente d'un facteur de deux lorsque la concentration en polymère passe de 0,5% à 6%. En effet, l'augmentation de la quantité du polymère entraîne une augmentation de la viscosité de la phase organique qui restreint la migration du principe actif au sein de la phase aqueuse externe [55, 56] conduisant en un taux d'encapsulation plus élevé [57].

II.6.2. Effet de la concentration du tensioactif

Un tensioactif est une molécule amphiphile utilisée pour stabiliser l'émulsion. Certaines études [58] ont montré que la quantité du tensioactif dans la phase aqueuse influe considérablement le taux d'encapsulation du principe actif.

Samati et al. [59], qui ont encapsulé le flubiprofène sodique dans le PLGA ont montré que le taux d'encapsulation augmente avec l'augmentation de la concentration du tensioactif (PVA) dans la phase aqueuse. Par contre, **Khoe et Yaghobian** [60] qui ont encapsulé la pénicilline dans le poly (butyladipate) par la méthode de double émulsion ont trouvé que l'augmentation de la concentration du tensioactif entraîne une augmentation de la viscosité de la phase aqueuse, et par conséquent retarde la diffusion du principe actif, de la phase interne vers la phase externe, ce qui explique un taux d'encapsulation élevé.

II.6.3. Effet du pH de la phase aqueuse

De nombreuses études ont montré que le taux d'encapsulation est influencé par la solubilité du principe actif dans la phase continue, qui est liée directement au pH du milieu [58, 61]. Si la solubilité du PA dans la phase continue est plus élevée que dans la phase dispersée, ce dernier diffuse facilement dans la phase continue, causant des pertes lors du procédé d'encapsulation. En effet, il a été rapporté [61] que l'efficacité d'encapsulation du sulfate de quinidine (antiarythmique) est 40 fois plus élevée dans une phase continue basique (pH 12), que neutre (pH 7), car ce PA est insoluble à pH basique, alors qu'il est très soluble à pH neutre. D'autre part, **Hombreiro P. et al.** [58], ont montré que l'augmentation du pH de la phase aqueuse au-dessus du pKa du PA, cause une diminution de sa solubilité, et entraîne une augmentation du taux d'encapsulation. Il a été montré que le taux d'encapsulation de chlorhydrate de propranolol (pKa 9,5) est seulement 2% à pH 5, et augmente à 50% à pH 12.

II.6.4. Effet de la vitesse d'agitation

La vitesse d'agitation affecte directement le taux d'encapsulation d'un PA. **Yang et al.** [62], ont réalisé l'encapsulation d'une protéine et ont montré que le taux d'encapsulation diminue avec l'augmentation de la vitesse d'agitation. Même résultat a été observé par **André-Abrant et al.** [63], qui ont encapsulé le benzoate d'éthyle dans l'éthyle cellulose.

La diminution du taux d'encapsulation est expliquée par la diminution de la taille des gouttelettes qui favorise le transfert du PA de la phase continue vers la phase dispersée.

II.7. Cinétique de libération du principe actif encapsulé

Selon les interactions entre le principe actif et le milieu extérieur, deux types de microparticules peuvent être formés celles qui ne doivent pas libérer leur contenu telles que les microparticules qui contiennent des enzymes ou des bactéries et celles qui sont formulées de façon à libérer le principe actif. Nous distinguons les systèmes à libération déclenchée et les systèmes à libération prolongée [64].

II.7.1. Systèmes à libération déclenchée

Ce sont généralement des microcapsules formées d'une membrane de faible perméabilité, qui vont libérer brutalement leur contenu par éclatement de cette membrane. La rupture est déclenchée, soit par une pression (mécanique ou osmotique), une variation de température, une variation de pH ou encore une dégradation enzymatique de la membrane [43, 65].

II.7.2. Systèmes à libération prolongée

Ce sont des microsphères, ce type de système est caractérisé par les mécanismes de libération mis en jeu au cours de la dissolution de la forme (diffusion passive, dégradation/dissolution du matériau enrobant, échange d'ions...). Il s'en suit que la libération dépendra des structures de ces systèmes (microcapsules ou microsphères) [66].

II.8. Principaux matériaux d'encapsulation

Les matériaux utilisés pour obtenir les microparticules sont nombreux et variés. Ils peuvent être de nature hydrophile, hydrophobe ou une combinaison des deux, et doivent être capables de former un film stable et compatible avec la molécule à encapsuler [67].

Un certain nombre de matériaux ont été utilisés, nous pouvons distinguer :

- Les polymères d'origine naturelle animale ou végétale, tels que la gélatine, le chitosane, l'alginate de sodium, l'amidon et les amidons modifiés...
- Les polymères synthétiques, tels que les copolymères acryliques et métacryliques, le polycaprolactone, les polymères d'acides lactiques et glycoliques...
- Les polymères semi-synthétiques (dérivés cellulosiques), tels que l'éthylcellulose, l'hydroxypropylméthylcellulose, la carboxyméthylcellulose, l'acétate-phtalate de cellulose...
- Les lipides et les cires minérales : corps gras solides, glycérides, cires (d'abeille, decarnauba...), cires minérales [31, 32].

❖ Les polyesters

La nature des polymères utilisés dans le domaine pharmaceutique pour l'encapsulation, est essentiellement liée à leurs caractères biodégradable et biocompatible ; le terme biocompatible signifie que les matériaux devraient être tolérés par l'organisme et ne pas causer d'effets indésirables locaux ou systémiques après leur administration [68].

Parmi les polymères biodégradables, la famille des polyesters est devenue majeure et représentative de la révolution écologique qui a eu lieu dans le domaine de la chimie des matériaux [69]. Les polyesters sont fortement développés dans les applications biomédicales notamment comme biomatériau ou matériau biocompatible mais ils sont aussi utilisés comme thermoplastiques dans de nombreuses applications de commodité [70]. La famille des polyesters comprend tous les polymères qui possèdent un squelette carboné composé de fonctions esters. Ces fonctions délimitent et connectent des unités monomères qui peuvent être très variées. Les polyesters sont historiquement les premiers polymères qui ont pu être obtenus par voie chimique. Les travaux qui décrivent pour la première fois leurs synthèses datent des années 30 [71].

a) Polyacide lactique (PLA)

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

Le poly (acide lactique) est un polyester aliphatique thermoplastique dérivé 100% de ressources renouvelables tel que le maïs. Grâce à sa durabilité, sa biodégradabilité, sa transparence et ses propriétés mécaniques, la production du PLA n'a cessé de croître [72].

Cependant, il faudra tout de même attendre la fin des années 1990 pour que les industriels tirent réellement profit des propriétés de ce polymère [73].

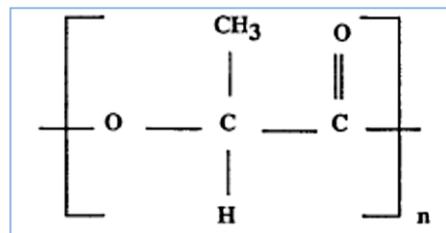


Figure II.10 : Structure chimique du PLA [74].

La dégradation normale de ce polymère résulte d'une simple hydrolyse à pH neutre, sans avoir recours à des enzymes. Selon la composition du polymère, la taille et l'épaisseur de l'échantillon, l'hydrolyse peut être terminée en quelques mois à quelques années. Le taux d'hydrolyse dépend bien sûr de la température, de la quantité de monomère résiduel et d'acide présents. Cette vitesse de dégradation est d'un grand intérêt pour les applications biomédicales et pharmaceutiques [75].

Par thermodégradation, en présence de micro-organismes, dans des conditions d'humidité et de températures adéquates (définies par des normes internationales), le polymère est en partie dégradé (généralement à plus de 60% en moins de six mois) [73].

b) Poly-ε-caprolactone (PCL)

La poly-ε-caprolactone est un polyester aliphatique (Figure II.11) biodégradable dont l'intérêt ne cesse de croître dans l'industrie pharmaceutique pour la mise en forme des principes actifs. Synthétisée en 1930 [76], ses propriétés biodégradables sont découvertes en 1973. Le processus de biodégradation du polymère est lent et se déroule sur une période de plus d'un an. Par sa bonne perméabilité au principe actif, la PCL se révèle être un polymère de choix pour la modulation de la cinétique de libération des molécules d'intérêt biologique.

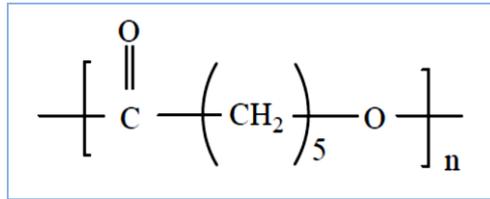


Figure II.11 : Structure chimique de la PCL [74].

La PCL est un polymère de nature cristalline dont le point de fusion se situe entre 59 et 64°C. Son poids moléculaire varie entre 10 et 43 kilodaltons. La PCL est soluble dans les solvants organiques tels le dichlorométhane, l'acétone, l'acétonitrile et l'éthylacétate. Elle est insoluble dans l'éthanol [77].

Chapitre III:
Elaboration et caractérisation des microsphères
polymériques contenant le valsartan

Chapitre III : Elaboration et caractérisation des microsphères polymériques contenant le valsartan

Ce chapitre est consacré à la préparation des microsphères à base d'un polymère biodégradable (PLA ou PCL) contenant le valsartan, et à l'optimisation des paramètres influençant le taux d'encapsulation tels que : la quantité du polymère utilisé (X_1), la concentration du tensioactif (X_2) et le volume de la phase aqueuse (X_3).

Il est divisé en deux parties principales, la première consiste à la présentation des matières premières qui ont servies à la préparation des microsphères tels que le principe actif, les polymères, le tensioactif et les solvants ; suivie de la description du mode opératoire utilisé et des méthodes de caractérisation des microsphères (UV Visible, IR-TF, DRX, MEB). La deuxième partie consiste à la discussion des résultats obtenus.

La planification expérimentale sera utilisée pour étudier l'influence des différents paramètres de production sur le taux d'encapsulation du valsartan dans le PLA, tout en limitant le nombre d'expériences à réaliser. Contrairement à la méthode classique qui consiste à étudier un seul facteur à la fois en fixant les autres à un niveau déterminé. La méthodologie des plans d'expériences permet de faire varier tous les facteurs simultanément à chaque expérience mais de manière programmée et raisonnée. Leur succès dans la recherche et l'industrie est lié au besoin de compétitivité des entreprises, ils permettent une amélioration de la qualité et une réduction des coûts [78].

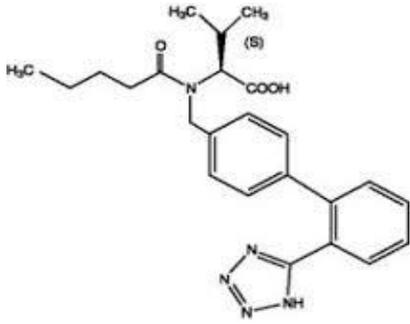
Les avantages de cette méthode sont notamment une diminution du nombre d'essais, un nombre plus important de facteurs étudiés, une détection des interactions entre facteurs, une détection des optimums ainsi qu'une optimisation et une modélisation des résultats [79].

III.1. MATERIELS

III.1.1. Principe actif : le valsartan

Le valsartan a été gracieusement fourni par l'unité pharmaceutique SAIDAL (Alger).

Tableau III.1 : Caractéristiques physicochimiques du valsartan [11].

Le nom chimique	S)-N-Valéryl-N-{{[2-(1H-tétrazole-5-yl)-biphényl-4-yl]-méthyl}-valine.
Poids moléculaire	435,5 g/mol
Structure chimique	
Formule chimique	C ₂₄ H ₂₉ N ₅ O ₃
Aspect	Poudre fine blanche hygroscopique.
Solubilité	Soluble dans le méthanol et l'éthanol. Peu soluble dans l'eau.
Constante d'acidité (pka)	4,73

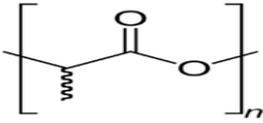
III.1.2. Polymères

III.1.2.1. Le poly (acide lactique) (PLA)

Le PLA utilisé dans notre travail est commercialisé par la société NaturPlast sous le nom commercial « PLE 005».

Les caractéristiques principales du PLA sont résumées sur le tableau suivant :

Tableau III.2 : Caractéristique du poly (acide lactique)

Formule brute	(C ₃ H ₄ O ₂) _n
Structure chimique	
Densité	1,26 g / cm ³
Température de fusion	170 – 180°C
Indice de fluidité à chaud (190°C ; 2,16 kg)	5– 9 g / 10min

III.1.2.2. La poly-ε-caprolactone (PCL)

La PCL utilisée dans notre travail est commercialisée par la société Solvay sous le nom commercial de « Capa 680 » (Belgique).

Les caractéristiques principales du PCL sont résumées sur le tableau suivant :

Tableau III.3 : Caractéristique du poly-ε-caprolactone.

Formule brute	$(C_6H_{10}O_2)_n$
Structure chimique	$\left[\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} - (\text{CH}_2)_5 - \text{O} \end{array} \right]_n$
Densité	1,2 g / cm ³
Température de fusion	60°C
Indice de fluidité à chaud (190°C ; 2,16 kg)	7,3 g / 10min

III.1.3. Le tensioactif : L'hydroxypropylméthylcellulose (HPMC)

L'HPMC a été utilisé comme tensioactif dans notre étude en raison de son caractère non toxique. Il est constitué de 29% de groupements de méthyles, et de 10% de groupements hydroxypropyles. Ce produit a été gracieusement fourni par l'unité pharmaceutique SAIDAL (Alger) [80].

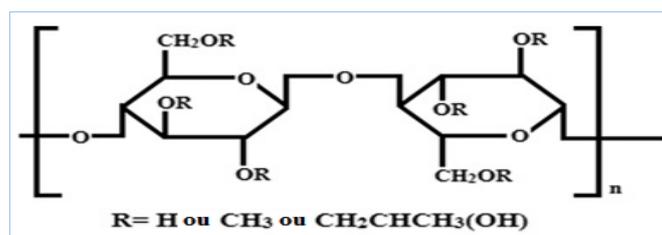


Figure III.1 : Structure chimique d'HPMC.

III.1.4. Les solvants

- **Le dichlorométhane**

Le dichlorométhane (CH₂Cl₂) est un solvant organique fourni par BiochemChemopharma (Québec). Il a été choisi dans notre étude pour la préparation des microsphères en raison de son caractère volatil (T_f = 39,6°C) et sa capacité à dissoudre de nombreux composés organiques tels que le PLA et la PCL.

- **L'éthanol**

L'éthanol ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$) pur à 96% en volume a été fourni par SIGMA-ALDRICH® (Brésil).

III.2. METHODES

III.2.1. Préparation des microsphères de PLA contenant du valsartan

La microencapsulation est réalisée par la technique d'émulsion et évaporation de solvant selon le mode opératoire repris de la littérature [81, 82]

- Dans un premier temps, une solution organique a été préparée en faisant dissoudre une quantité du polymère (PLA), et 40 mg du valsartan dans 10 ml de dichlorométhane.
- Dans un deuxième temps, la phase organique est dispersée dans une solution aqueuse contenant une quantité du tensioactif (HPMC), sous une vitesse d'agitation magnétique égale à 1200 tr/min.
- Une agitation magnétique moyenne est maintenue pendant une nuit, à température ambiante, afin que le dichlorométhane soit totalement éliminé [83].
- La solution obtenue est centrifugée à 6000 tr/min pour récupérer des microsphères, qui sont lavées à l'eau distillée puis centrifugées une seconde fois, et séchées dans un dessiccateur sous vide.

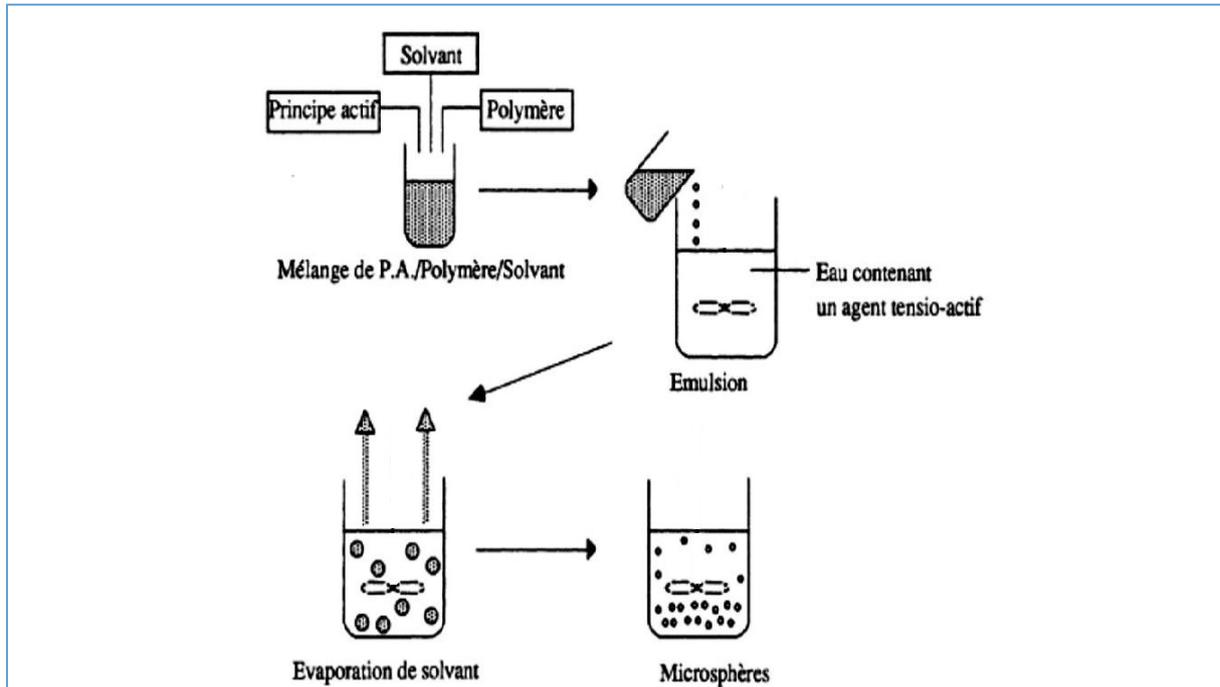


Figure III.2 : Préparation des microsphères par la méthode d'émulsion et évaporation de solvant [84].

III.2.2. Taux du valsartan encapsulé

Pour qu'on puisse déterminer le taux du principe actif présent dans les microsphères de PLA, on a procédé comme suit [58] :

Après séchage des microsphères, 10 mg sont dissous dans environ 0,1 ml de dichlorométhane, puis 10 ml d'éthanol sont ajoutés, en agitant pendant environ 5 min dans un vortex. 1 ml du surnageant est ensuite dilué dans 10 ml d'éthanol et la concentration du principe actif est dosée par spectrophotomètre UV – visible à la longueur d'onde $\lambda_{\max} = 249$ nm.

Le taux du valsartan encapsulé est calculé par la formule suivante [86, 87, 88] :

$$EE (\%) = \frac{Q(mg)}{Q_i(mg)} * 100 \quad ;$$

EE : taux d'encapsulation ;

Q : quantité du principe actif encapsulée (en mg) ;

Qi : quantité du principe actif initiale (en mg).

III.2.3. Construction du plan d'expériences

Afin d'élucider l'effet des conditions expérimentales sur le taux d'encapsulation du valsartan dans les microsphères de PLA, nous avons utilisé un plan d'expérience de type Box-Behnken à trois facteurs et trois niveaux. Les logiciels Minitab 17 et JMP 7 (Institut de SAS à

Cary, NC, Etats Unis) ont été appliqués pour l'analyse de tous les résultats et l'optimisation des paramètres expérimentaux étudiés.

Les plans de Box-Behnken sont de mise en œuvre aisée car tous les facteurs ne prennent que trois niveaux : - 1, 0 et + 1, en variables codées [84]. Ce plan comporte douze essais auxquels on peut ajouter un ou plusieurs points centraux. Dans la pratique on réalise souvent 3 ou 4 points au centre [85]. Le tableau III.3 montre la matrice de Box-Behnken en unités codées, réalisée avec le logiciel JMP 7.

Tableau III.4 : Matrice Box-Behnken codée à trois facteurs avec trois points centraux.

Expérience	Formulation	X1	X2	X3
1	F1	-1	-1	0
2	F2	-1	0	-1
3	F3	-1	0	1
4	F4	-1	1	0
5	F5	0	-1	-1
6	F6	0	-1	1
7	F7	0	0	0
8	F8	0	0	0
9	F9	0	0	0
10	F10	0	1	-1
11	F11	0	1	1
12	F12	1	-1	0
13	F13	1	0	-1
14	F14	1	0	1
15	F15	1	1	0

-1 : valeur minimale ; **+1** : valeur maximale ; **0** : valeur centrale.

III.2.4. Caractérisation des microsphères

Pour caractériser les microsphères de PLA contenant du valsartan on a fait appel aux techniques expérimentales suivantes :

III.2.4.1. Interactions entre le valsartan et les microsphères

L'analyse par spectrophotométrie infrarouge permet de distinguer les bandes caractéristiques des principales fonctions chimiques du PLA, PCL et valsartan ; il s'agit d'un outil indispensable au suivi des modifications chimiques induites au cours de l'encapsulation et les interactions entre les différents composants des microsphères.

Les spectres infrarouges des différentes formulations sont enregistrés à la température ambiante, dans la plage de 400-4000 cm^{-1} , sur des pastilles de KBr renfermant 2% de l'échantillon préparée à l'aide d'une presse hydraulique sous une pression de 90 KN pendant 1 minute.

Nous avons utilisé le spectromètre infrarouge à transformée de Fourier de marque SHIMADZU (Kyoto, Japon).

III.2.4.2. Cristallinité du valsartan et les microsphères

La structure cristallographique du principe actif et celles des polymères, avant et après encapsulation, ont été étudiées par diffraction des rayons X.

L'analyse DRX du PA, du polymère et des microsphères a été réalisée à l'aide d'un appareil de type Panalyticalen. La raie $K\alpha$ du cuivre a été utilisée comme source des rayons ($K\alpha_1=1,540598 \text{ \AA}$). Les diffractogrammes RX des échantillons ont été enregistrés entre 0° et 70° , sous un potentiel de 40 kV et une intensité du courant de 30 mA.

III.2.4.3. Morphologie et taille des microsphères

La taille et la forme des microsphères ont été étudiées à l'aide d'un microscope électronique à balayage. Son principe ressemble à celui de la microscopie optique à la lumière directe. Lorsque le faisceau d'électrons est focalisé sur l'échantillon, une partie des électrons le traverse et le reste est réémis. Le résultat est une représentation en pseudo tridimensionnel de la surface de l'objet étudié.

III.3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.3.1. Taux d'encapsulation

➤ Courbe d'étalonnage

Une courbe d'étalonnage du valsartan est réalisée afin de déterminer le taux d'encapsulation du principe actif. Le spectrophotomètre utilisé est de marque EVOLUTION600.

Pour déterminer la bande caractéristique du valsartan (λ_{\max}), un balayage de longueurs d'onde est effectué sur une solution d'éthanol contenant le valsartan entre 200 nm et 400 nm.

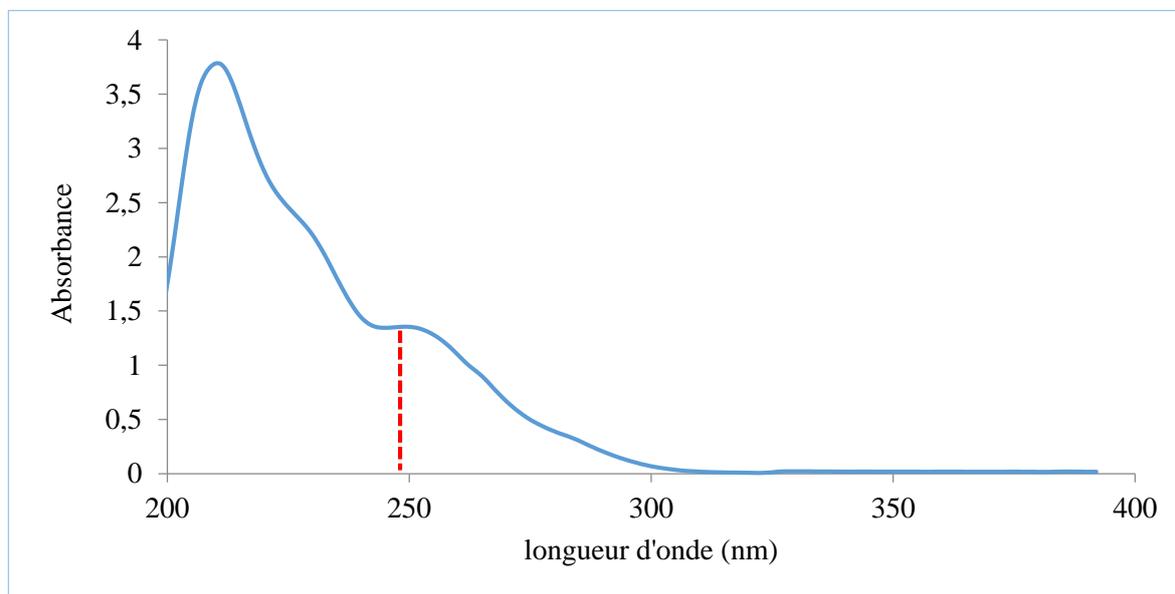


Figure III.3 : Spectre UV – visible du valsartan dans l'éthanol.

Le valsartan présente une absorbance maximale à une longueur d'onde : $\lambda_{\max}= 249$ nm.

La courbe d'étalonnage a été réalisée à l'aide de huit étalons standards dont les absorbances sont mesurées à la longueur d'onde maximale $\lambda_{\max}= 249$ nm. Les résultats sont présentés sur la figure III.4.

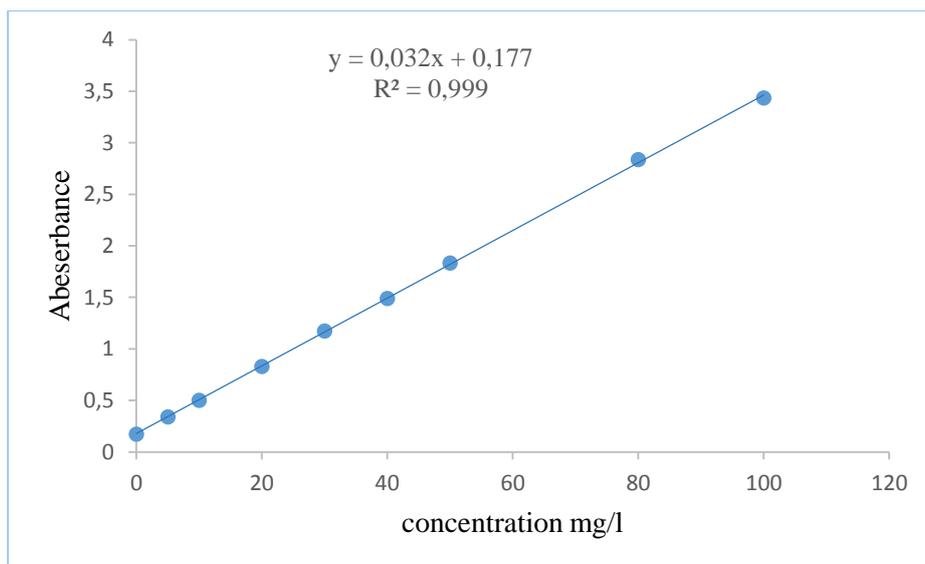


Figure III.4 : Courbe d'étalonnage du valsartan dans l'éthanol.

III.3.2. Analyse IR-TF

L'analyse IR-TF est utilisée afin de confirmer la présence du valsartan dans les microsphères de PLA et d'étudier d'éventuelles interactions entre le PA et le PLA. Les spectres IR-TF du valsartan, du PLA vierge, et des microsphères du PLA contenant le valsartan ont été enregistrés entre 400 et 4000 cm^{-1} .

a) Spectre IR-TF du valsartan

Le spectre IR-TF du valsartan est représenté sur la figure ci-dessous :

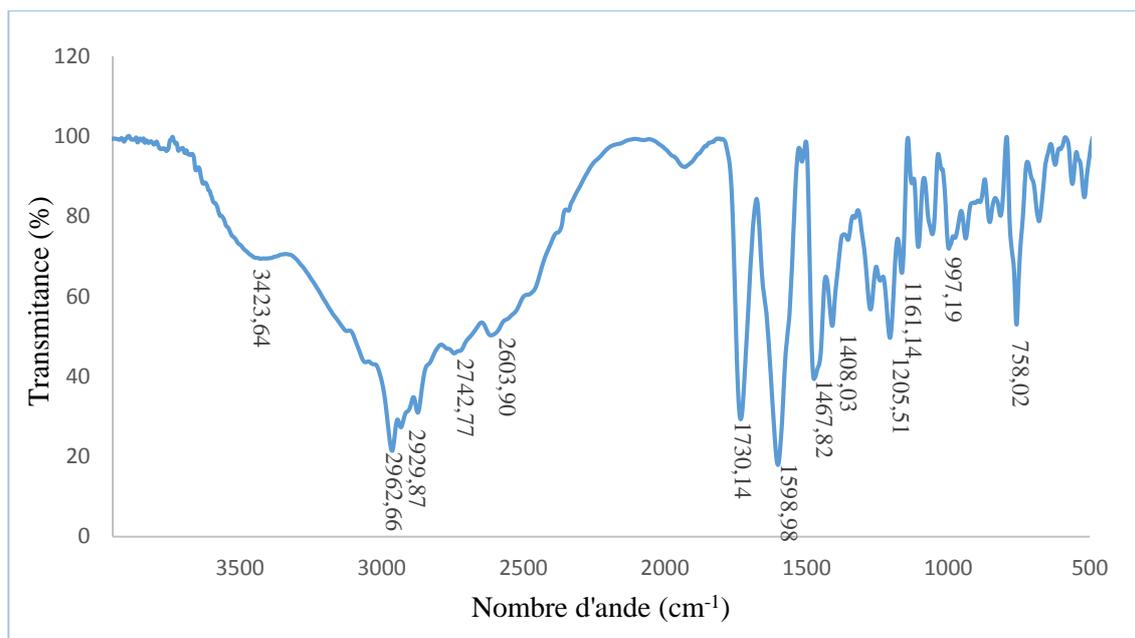


Figure III.5 : Spectre IR du valsartan pur.

Le spectre IR-TF du valsartan montre une bande large à $3423,64\text{ cm}^{-1}$, cette bande correspond, selon **Raja R. et al. [90]**, à l'élongation de la liaison (N-H). Une bande est apparue à $2962,66\text{ cm}^{-1}$ qui correspond, selon **Etcheverry et al. [91]**, à l'élongation de la liaison (–CH) du cycle aromatique.

Deux bandes intenses sont observées à $1730,14$ et $1598,98\text{ cm}^{-1}$ qui correspondent, respectivement, à l'élongation du (C=O) du groupement carboxyle [91, 92], et à l'élongation du groupement carbonyle (C=O) de la fonction amide, selon **Brito Raja et al. [93]**, même attribution a été donnée par **Pravin et al. [94]**.

Par contre **Islas et al. [92]**, ont attribué cette bande à l'élongation de la liaison (C=C) du noyau aromatique. Ces bandes sont susceptibles d'être déplacées si des interactions entre le PA et le polymère sont établies [95].

Les principales bandes caractéristiques du valsartan ainsi que les types de vibrations des liaisons correspondantes, sont donnés sur le tableau III.6.

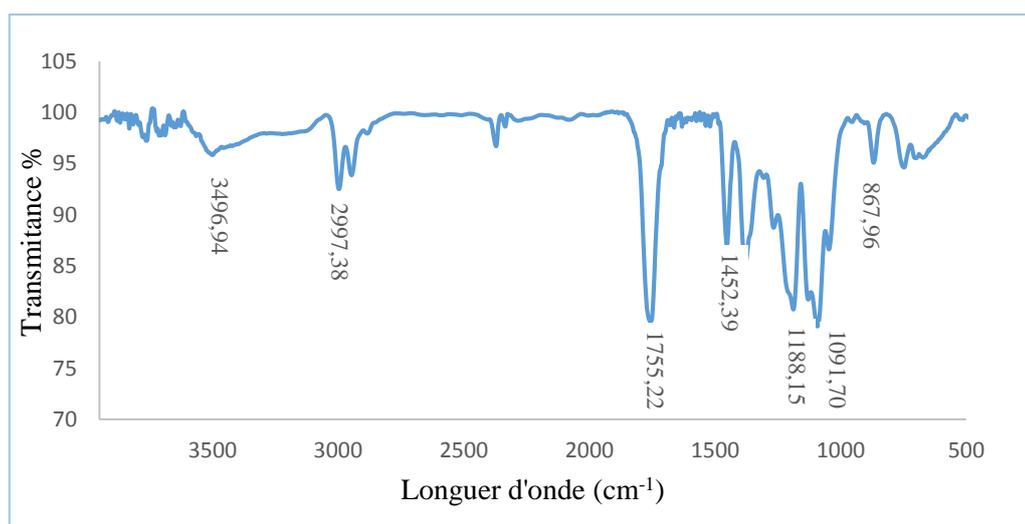
Tableau III.5 : Bandes caractéristiques du valsartan [92, 94]

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Attribution
3423,64	ν N-H
2962,66	ν_{as} C-H de CH ₃
2929,87	ν CH _{butyl} +CH _{isopropyl 2}
2742,77; 2603,90	ν_s C-H de CH ₂
1730,14	ν C=O acide
1598,98	ν C=O amide
1467,82	δ NNH+ ν C-C _{tz-biph}
1408,03	ν N=N (tetrazole)
1205,51	ν CO (COH) + ν_{as} NR ₂ (amide)
1161,14	ν C-N (tetrazole) + ν N-N
758,02	δ N-H

s= symétrique ; as= asymétrique ; ν = vibration ; δ = vibration de déformations ; tz= tetrazole ; **biph**= biphényle

b) Spectre IR-TF du PLA

Le spectre IR du PLA est représenté sur la figure III.6 :

**Figure III.6** : Spectre IR-TF du PLA.

Le spectre IR du PLA révèle l'existence de plusieurs groupements fonctionnels. Une bande étroite et intense, est détectée à $1755,22\text{ cm}^{-1}$ correspond à la vibration d'élongation de la liaison du groupement carbonyle (C=O) de la fonction ester.

La bande située à $2997,38\text{ cm}^{-1}$ est attribuée à l'élongation de la liaison (C-H) du groupement (CH₃) [45, 23], l'ensemble des bandes d'absorption ainsi que leurs modes de vibration figurent dans le tableau suivant :

Tableau III.6 : Principales bandes caractéristiques du PLA [96, 97]

Nombre d'onde (cm ⁻¹)	Attribution
3496,94	ν_{as} OH (COOH)
2997,38	ν_{as} CH ₃
1755,22	ν C=O Forte
1452,39	δ_{as} CH ₃
1188,15	ν_{as} C-O-C (ester)
1091,70	ν_{s} C-O-C
867,96	ν C-COO

s= symétrique ; as= asymétrique ; ν = vibration ; δ = vibration de déformations.

c) Spectre IR-TF des microsphères de PLA contenant du valsartan

Le spectre IR-TF des microsphères de PLA contenant du valsartan est représenté sur la figure III.7 :

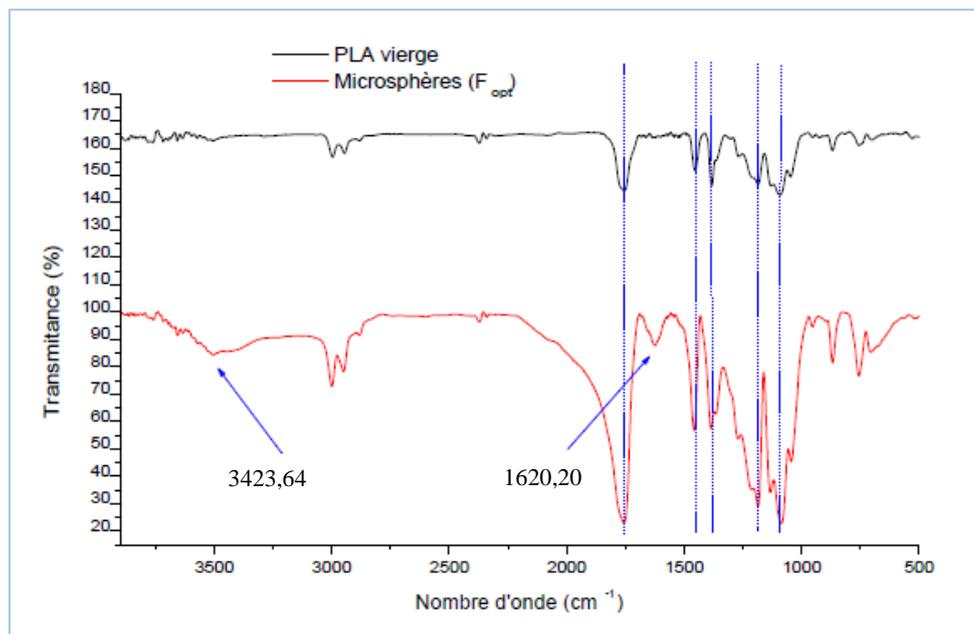


Figure III.7 : Spectre IR-TF des microsphères de PLA contenant du valsartan.

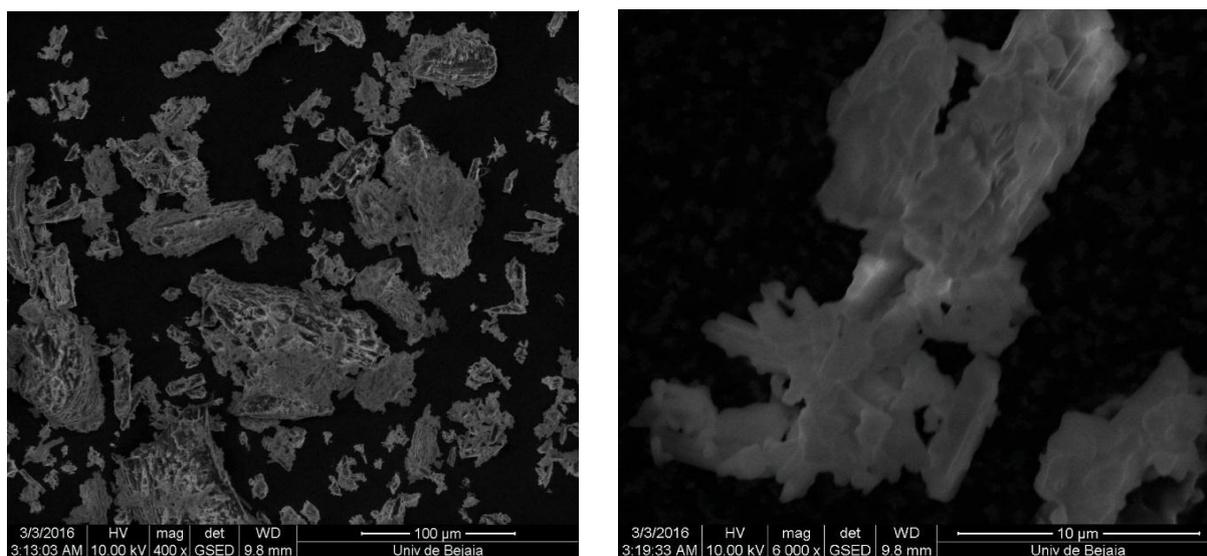
D'après le spectre IR-TF des microsphères de PLA contenant du valsartan, on remarque l'apparition de deux bandes supplémentaires situées à $1620,20 \text{ cm}^{-1}$ et à $3423,64 \text{ cm}^{-1}$ caractéristiques du valsartan, qui révèlent sa présence dans les microparticules.

On remarque également que toutes les bandes du PLA apparaissent dans le spectre des microparticules sans aucun changement dans le nombre d'onde, ce qui indique l'absence d'interactions entre le PLA et le valsartan.

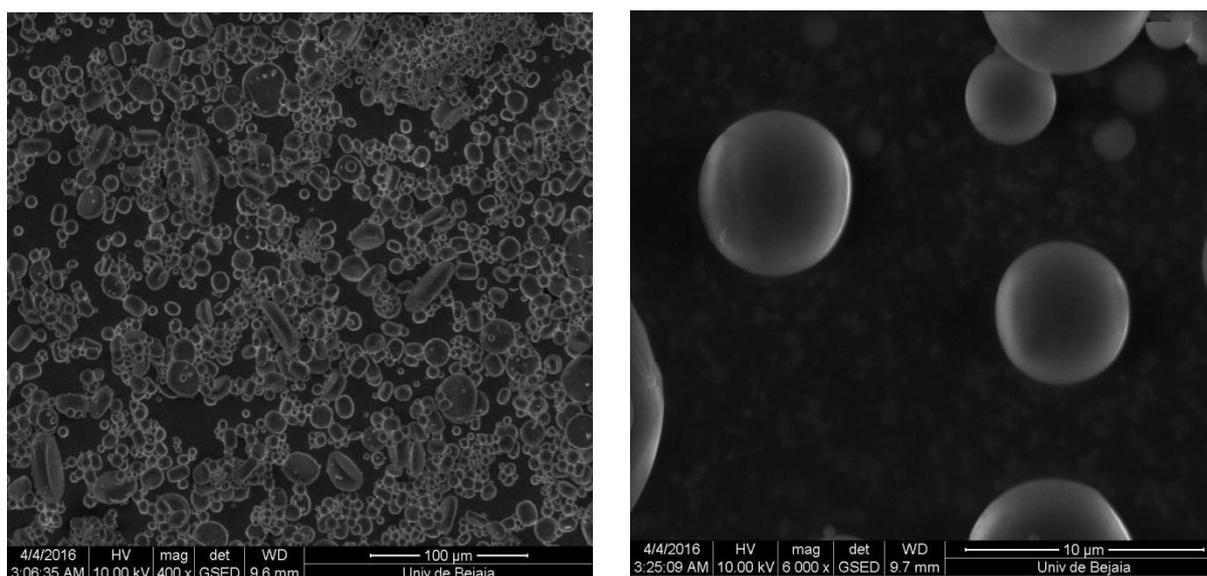
III.3.3. Taille et morphologie des microsphères

La taille des microsphères est importante, car elle permet de contrôler la cinétique de libération du PA. D'après la littérature, plus la taille est faible plus la libération du principe actif est rapide. Pour cela il est intéressant d'obtenir des microsphères de faible taille avec un meilleur taux d'encapsulation, sachant que la taille des microcapsules administrées par voie orale est comprise entre 1 et $1000 \mu\text{m}$ [32].

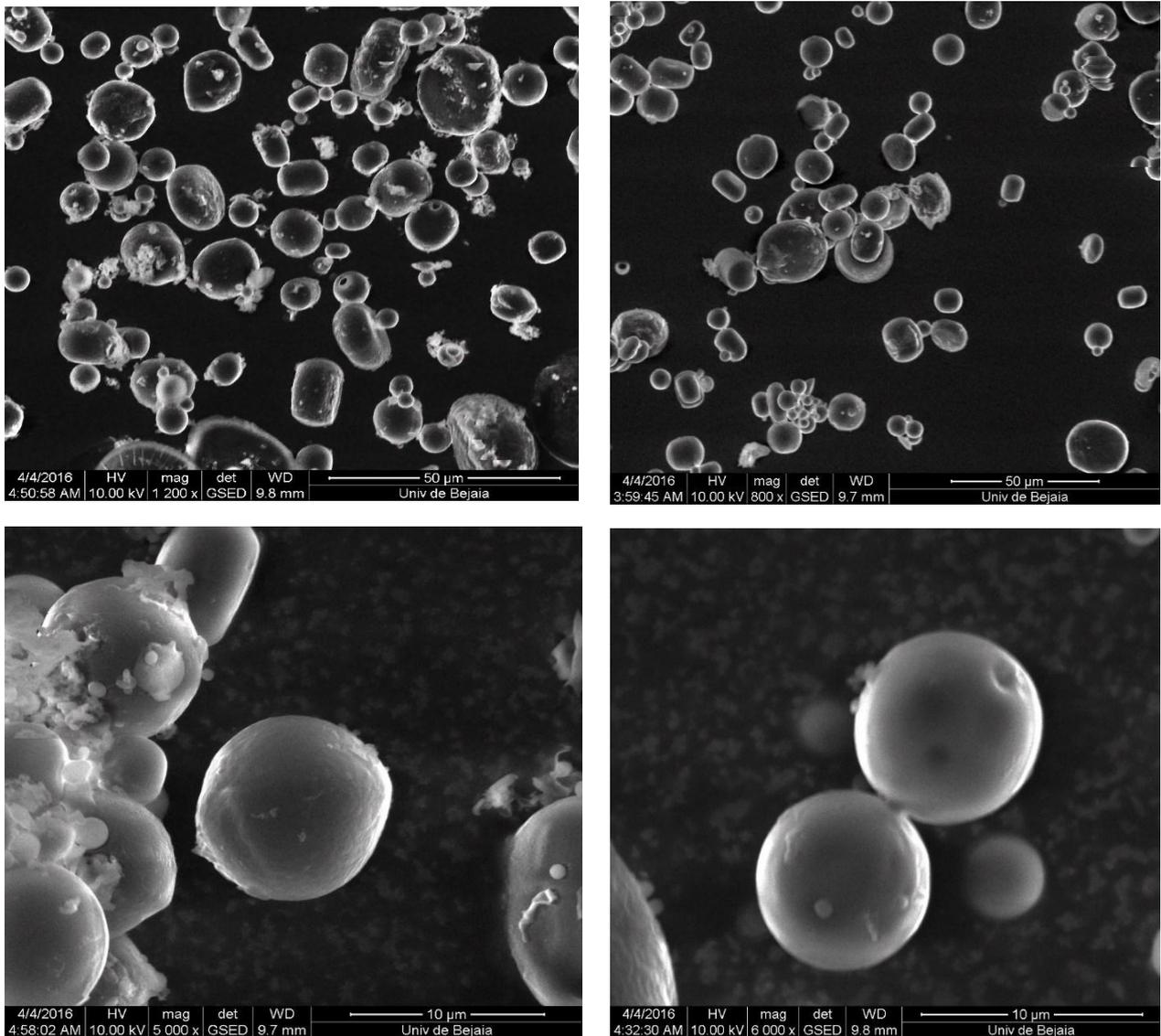
Afin d'étudier la morphologie et la taille des microsphères, l'analyse par microscopie électronique à balayage a été réalisée sur le valsartan pur, les microsphères de PLA vierge et les formulations préparées. Les images obtenues sont représentées sur les figures suivantes :



Figures III.8 : Micrographies par MEB du valsartan pur aux grossissements x400 et x6000.



Figures III.9 : Micrographies par MEB des microparticules du PLA sans valsartan aux grossissements x400 et x6000.



Figures III.10 : Micrographies par MEB des microsphères de PLA contenant du valsartan de la formulation F_{opt} (à gauche aux grossissements x1200 et x5000) et F12 (à droite aux grossissements x1000 et x6000)

Concernant la morphologie, l'analyse MEB a indiqué que les particules ont une structure globalement sphérique, et possédant une membrane lisse. La taille moyenne des particules a été trouvée comprise entre 2 μm et 44 μm.

III.3.4. Analyse de la surface de réponse

Les résultats expérimentaux et théoriques obtenus par JMP figurent sur le tableau ci-dessous :

Tableau III.7 : Les résultats expérimentaux et théoriques obtenus par JMP

Expérience	Formulation				EE expérimentale(%)	EE théorique(%)
		X1	X2	X3		
1	F1	-1	-1	0	34,95 ±0,580	35,15
2	F2	-1	0	-1	44,26±1,613	41,85
3	F3	-1	0	1	28,29±0,064	28,86
4	F4	-1	1	0	34,41±0,838	33,87
5	F5	0	-1	-1	57,90±3,871	56,11
6	F6	0	-1	1	38,60±0,387	37,12
7	F7	0	0	0	35,18±0,096	34,66
8	F8	0	0	0	35,04±0,387	34,66
9	F9	0	0	0	34,22±0,193	34,66
10	F10	0	1	-1	34,08±0,290	35,10
11	F11	0	1	1	28,61±0,290	27,74
12	F12	1	-1	0	51,65±3,742	48,95
13	F13	1	0	-1	42,89±0,516	41,92
14	F14	1	0	1	27,74±0,645	28,56
15	F15	1	1	0	21,36±1,290	19,81

Les résultats sont donnés en : moyenne ±l'écart-type (nombre d'essais = 3).

X1 : Quantité du PLA ; X2 : Concentration du tensioactif ; X3 : Volume de la phase aqueuse.

a) Equation du modèle

Le modèle de notre étude peut être représenté sous forme de l'équation suivante :

$$EE = 34,660 - 0,055 X1 - 7,597 X2 - 6,587 X3 - 1,962 X1 * X1 + 1,757 X2 * X2 + 2,601 X3 * X3 - 6,958 X1 * X2 - 0,091 X1 * X3 + 2,909 X2 * X3$$

Tableau III.8 : Paramètres estimés

Terme	Valeur estimée	Std Error	t Ratio	Probabilité (p)
Intercept	34,659808	0,651073	53,23	<0,0001*
X1	-0,054618	0,398699	-0,14	0,8924
X2	-7,596646	0,398699	-19,05	<0,0001*
X3	-6,587182	0,398699	-16,52	<0,0001*
X1*X2	-6,957889	0,563846	-12,34	<0,0001*
X1*X3	-0,091251	0,563846	-0,16	0,8731
X2*X3	2,9086256	0,563846	5,16	<0,0001*
X1*X1	-1,961897	0,586869	-3,34	0,0032*
X2*X2	1,7565817	0,586869	2,99	0,0072*
X3*X3	2,6006535	0,586869	4,43	0,0003*

*: valeur significative

En tenant compte juste des paramètres significatifs, l'équation du modèle peut être réduite :

$$EE = 34,660 - 7,597 X_2 - 6,587 X_3 - 1,962 X_1 * X_1 + 1,757 X_2 * X_2 + 2,601 X_3 * X_3 - 6,958 X_1 * X_2 + 2,909 X_2 * X_3$$

b) Validation du modèle

Afin de valider le modèle, l'étude de la variance (ANOVA) a été effectuée. Les résultats donnés par le logiciel JMP 7, sont représentés sur le tableau III.9.

Tableau III.9 : Analyse de la variance du modèle

Source	Degré de liberté	Somme des carrés	carré Moyen	F	P
Modèle	9	2179,2167	242,135	95,2022	<0,0001
Erreur	20	50,8676	2,543		
Total	29	2230,0843			

On remarque que la probabilité p donnée par le modèle est inférieure à 0,0001, ce qui implique que le modèle en question est significatif.

Pour confirmer la validation du modèle, une droite de corrélations entre les taux d'encapsulation expérimentaux et théoriques (figure III.11) a été réalisée. Il s'agit d'un nuage de points qui matérialise en abscisses les valeurs théoriques (calculées à partir du modèle) et en ordonnées les valeurs expérimentales.

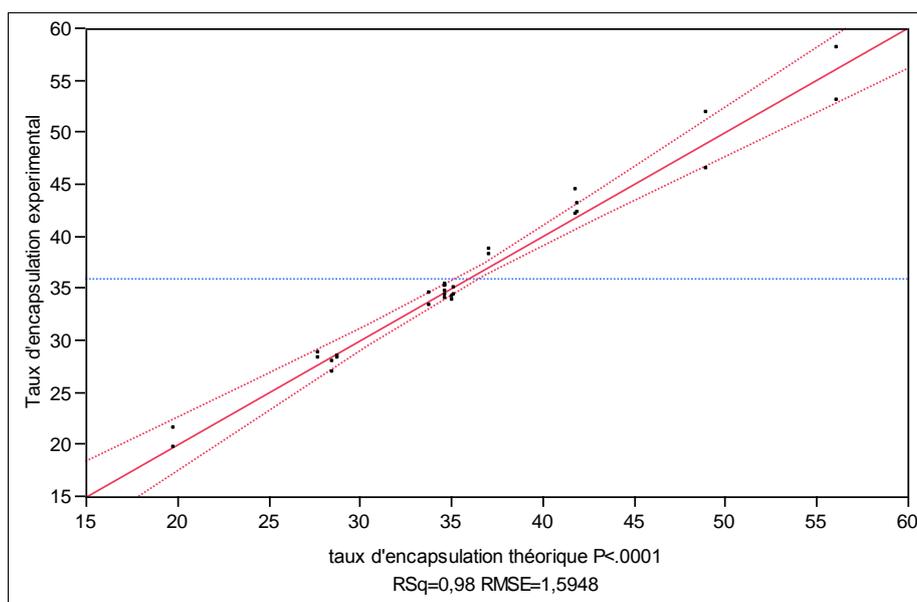


Figure III.11 : Droite de corrélation entre les taux d'encapsulation expérimentaux et théorique.

On voit que le coefficient de corrélation atteint les 98 %, ce qui implique qu'il y a une bonne corrélation entre les valeurs expérimentales et théoriques d'où le modèle appliquée est correcte.

III.4. Etude des paramètres influençant le taux d'encapsulation

III.4.1. Effet de la quantité du PLA

Afin d'étudier l'effet de la quantité de polymère sur le taux d'encapsulation de PA. On a fixé le taux de PA à 40 mg et on a fait varier la quantité du PLA, l'influence de la quantité de PLA sur le taux d'encapsulation du valsartan est représentée sur la figure III.12 :

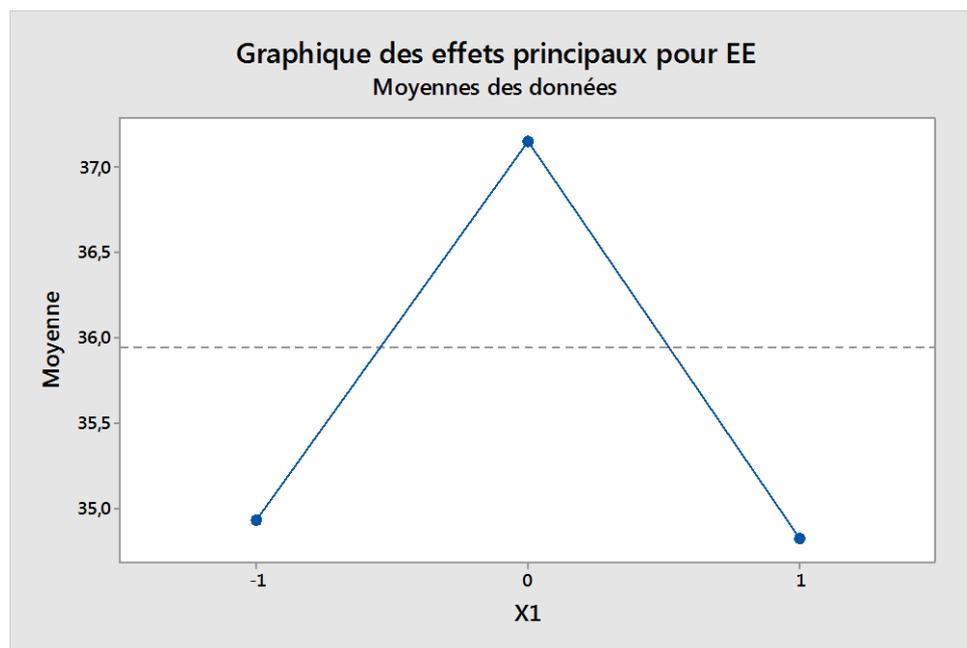


Figure III.12 : Effet de la quantité du PLA sur le taux d'encapsulation du valsartan

On remarque que le taux d'encapsulation du valsartan augmente avec l'augmentation de la quantité du PLA jusqu'à la valeur centrale (0) puis ça diminue. En effet, en augmentant la quantité du polymère la viscosité de la phase organique augmente ce qui favorise la formation de microsphères de grandes tailles qui peuvent contenir par la suite des quantités plus élevées du principe actif. Ce résultat est similaire aux travaux réalisés par **Yang et al. [98]**, une concentration en polymère élevée (éthyle cellulose) a comme conséquence une efficacité d'encapsulation plus élevée du PA (aspirine). Ce résultat a été également confirmé par le travail de **Sabyasachi M. et al. [99]**, lors de leur étude portant sur l'encapsulation du Fluconazole par l'éthylcellulose.

Au-delà de la valeur centrale le taux d'encapsulation diminue ce qui indique probablement que la totalité du PA a été encapsulée.

III.4.2. Effet de la concentration du tensioactif

Pour connaître l'effet de la concentration du tensioactif sur le taux d'encapsulation du valsartan on a fait varier la concentration de l'HPMC, les résultats sont représentés sur la figure III.13 :

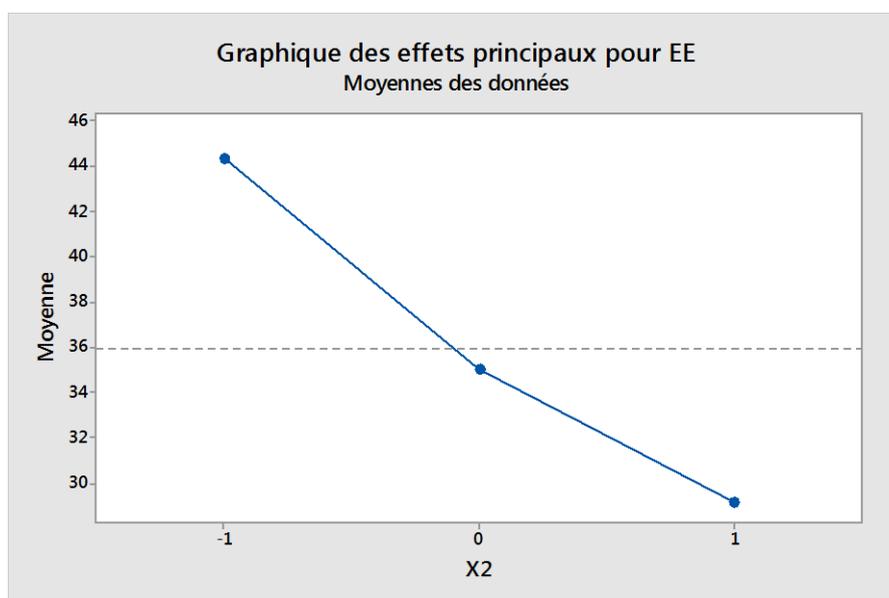


Figure III.13 : Effet de la concentration du tensioactif sur le taux d'encapsulation du valsartan.

On remarque que le taux d'encapsulation du valsartan diminue avec l'augmentation de la concentration du tensioactif. Cette diminution est probablement due à l'augmentation de la solubilité du valsartan dans la phase aqueuse. En effet, **Saravan et al. [100]**, ont trouvé que, l'augmentation de la concentration du tensioactif a un effet négatif sur le taux d'encapsulation. Considérant que, dans le procédé d'émulsion évaporation du solvant, l'efficacité d'encapsulation du principe actif se traduit par le partage de ce dernier entre la phase organique dispersée et la phase aqueuse continue. L'augmentation de la concentration du tensioactif entraîne une augmentation de la solubilité du PA dans la phase continue, et par conséquent une faible quantité du PA est encapsulée.

III.4.3. Effet du volume de la phase aqueuse

Afin d'étudier d'influence du volume de la phase aqueuse sur le taux d'encapsulation du valsartan, on a fait varier ce paramètre et on a représenté les résultats obtenus sur la figure III.14 :

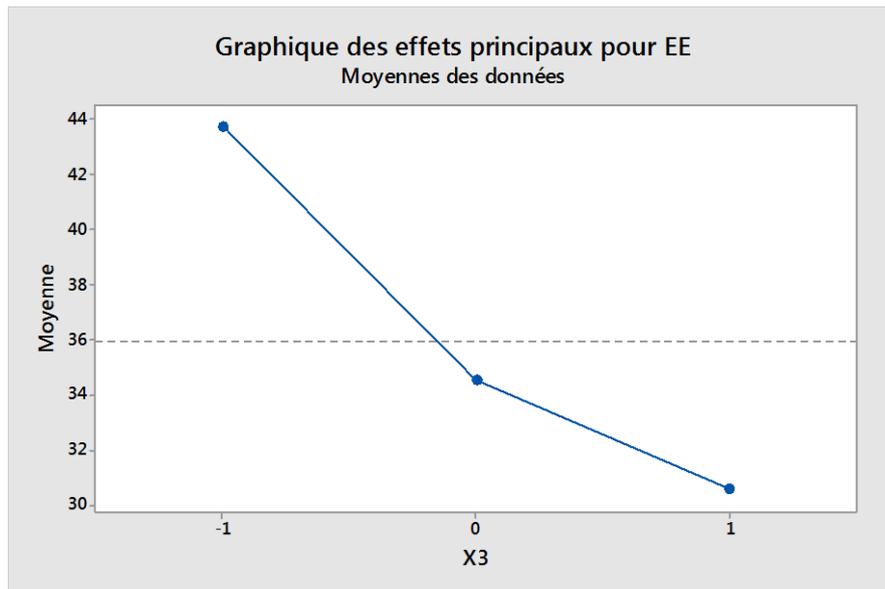


Figure III.14 : Effet du volume de la phase aqueuse sur le taux d'encapsulation du valsartan.

D'après le graphe on remarque que l'augmentation du volume de la phase aqueuse a un effet négatif sur le taux d'encapsulation, car plus le volume augmente, le taux d'encapsulation diminue. Ce résultat est probablement dû à la perte du principe actif (valsartan) dans la phase aqueuse. Puisque le valsartan est plus soluble dans une solution aqueuse contenant l'HPMC, donc une quantité plus élevée du PA aura tendance à diffuser vers la phase continue plus le volume de celle-ci est grand.

III.4.4. Optimisation des paramètres d'encapsulation

Les conditions optimales obtenues par le logiciel JMP 7 sont représentés sur le diagramme suivant :

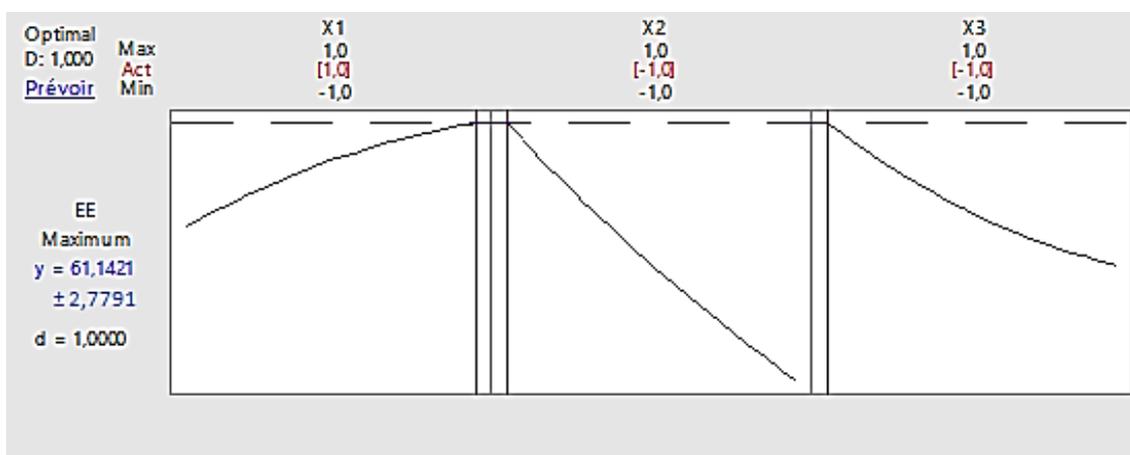


Figure III.15 : Diagramme de l'optimisation des paramètres d'encapsulation du valsartan.

La figure III.16 montre les conditions optimales obtenues par JMP en unités codées :

- La quantité du PLA (X1) = +1
- La concentration du tensioactif (X2) = -1
- Le volume de la phase aqueuse (X3) = -1

Le taux d'encapsulation prédit par le modèle aux conditions optimales est de $61,14 \pm 2,79\%$. L'expérience réalisée dans les mêmes conditions a montré un taux d'encapsulation de $55,75 \pm 0,39\%$ (formulation optimale).

III.5. Effet de la nature du polymère sur le taux d'encapsulation

Pour étudier l'effet de la nature du polymère sur le taux d'encapsulation du valsartan, nous avons fixé les paramètres optimums trouvés précédemment et nous avons fait varier le type du polymère (PLA ou PCL), les résultats obtenus sont représentés sur le tableau ci-dessous :

Tableau III.10 : taux d'encapsulation du valsartan avec deux polymères différents.

Formulation	Type du polymère	Taux d'encapsulation (%)
F16 (F _{opt})	PLA	$55,75 \pm 0,387$
F17	PCL	$69,82 \pm 0,645$

D'après les résultats du tableau, on remarque que le taux d'encapsulation du valsartan est plus élevé dans les microsphères du PCL que dans celles du PLA, ce résultat est probablement dû à différence d'affinité du valsartan avec la PCL et le PLA. En effet, la PCL présente une longue chaîne hydrophobe, comparé au PLA, le principe actif hydrophobe aura donc plus d'affinité pour la PCL que pour le PLA, ce qui explique son taux d'encapsulation élevé dans la PCL.

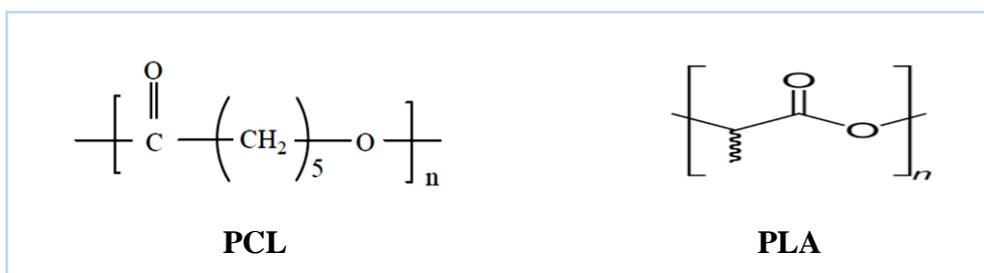


Figure III.16 : Structures chimiques de la PCL et du PLA

III.5.1. Analyse IR-TF de la PCL et des microsphères (F17)

La figure ci-dessous montre le spectre IR-TF de la PCL et des microparticules de la PCL contenant le valsartan :

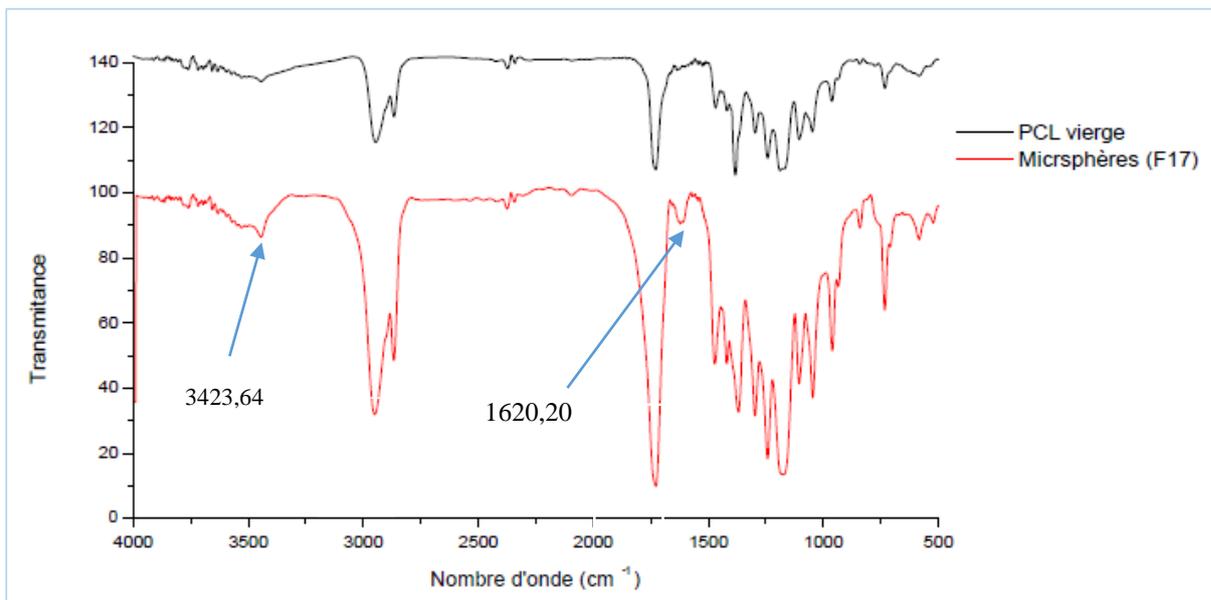


Figure III.17 : Spectres IR-TF de la PCL et des microsphères de la PCL contenant du valsartan (F17).

D'après le spectre IR-TF de PCL, on remarque une bande d'absorption large située à $1620,20\text{ cm}^{-1}$, qui est due à la vibration d'élongation de la liaison du groupement carbonyle (C=O) de la fonction ester. Les bandes situées à $2943,37$ et $2864,29\text{ cm}^{-1}$ sont attribuées à la vibration d'élongation de la liaison (C-H) du groupement CH₃. La bande d'absorption située à $3423,64\text{ cm}^{-1}$ est attribuée aux hydroxyles (O-H) [101, 102].

D'après le spectre IR-TF des microparticules, on remarque que toutes les bandes de la PCL apparaissent dans le spectre des microsphères sans aucun changement dans le nombre d'onde, ce qui traduit l'absence d'interaction entre le valsartan et la PCL. Les bandes supplémentaires situées à 3423 et à 1620 cm^{-1} , confirment la présence du valsartan dans les microsphères.

III.5.2. Analyse DRX de la PCL et des microsphères (F17)

La diffraction des rayons X est une méthode d'analyse physicochimique qui permet d'observer d'éventuels changements du réseau cristallin du valsartan, du PLA, et des microsphères contenant le valsartan. En général, on observe la disparition ou la diminution des pics de diffraction du principe actif synonyme, d'une perte de cristallinité.

a) Analyse DRX du valsartan

Le spectre DRX du valsartan pur est représenté sur la figure suivante :

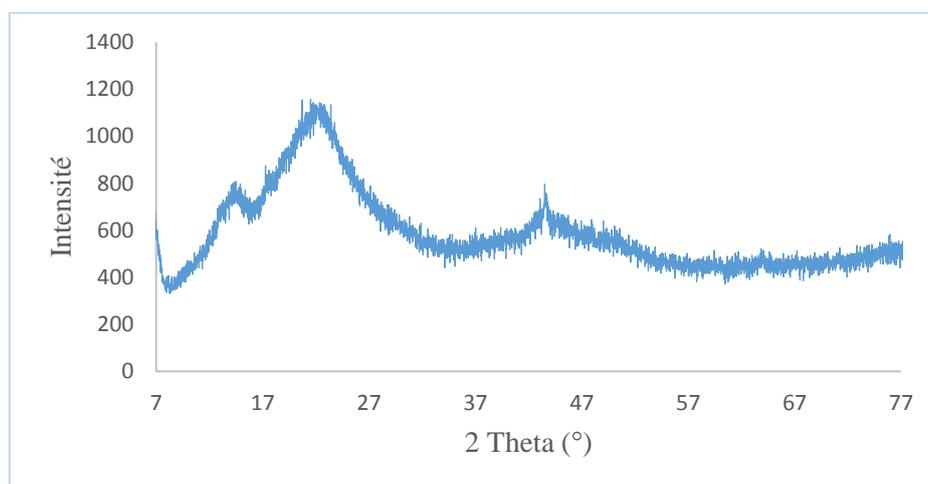


Figure III.18 : Diffractogramme RX du valsartan.

On remarque d'après le diffractogramme RX que le valsartan ne présente aucun pic distinct, ce qui veut dire que notre principe actif est sous une forme amorphe. **Dinda et al. [103]**, **Shrivastava et al. [94]**, et **Y.S. Youn et al. [104]**, ont aussi remarqué une structure amorphe du valsartan pur.

b) Analyse DRX de la PCL et des microsphères (17).

La figure ci-dessous montre le diffractogramme RX de la PCL et des microparticules de la PCL contenant le valsartan :

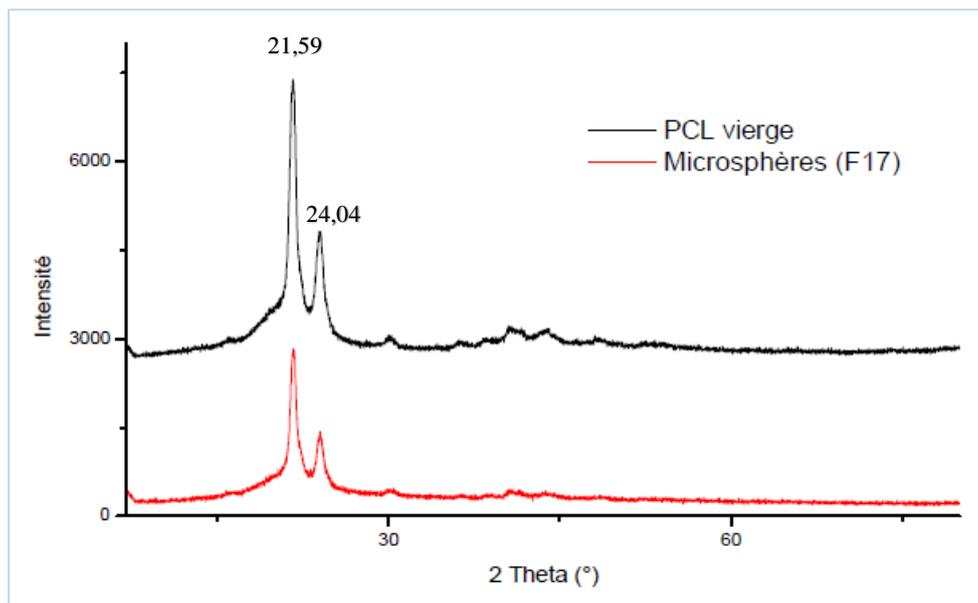


Figure III.19 : Diffractogrammes RX du PCL et des microsphères.

D'après le diffractogramme RX enregistré en figure III.19, on observe que la PCL présente deux pics cristallin, apparus aux angles $2\theta = 21,59^\circ$ et $2\theta = 24,04^\circ$, attribués au plans de diffraction (101) et (200) correspondant à la maille orthorhombique.

D'après le diffractogramme RX, on remarque que les microparticules présentent les mêmes pics caractéristiques de la PCL, moins intenses que ceux de la PCL vierge, probablement dû à une diminution de sa cristallinité. Ce qui indique que la préparation des microsphères par la méthode d'émulsion-évaporation de solvant, conduit à une diminution de la cristallinité de la matrice polymère (PCL).

III.5.3. Analyse par microscopie électronique à balayage

La morphologie des microsphères de PCL contenant du valsartan est observée grâce à des analyses MEB. La figure III.20 représente les microsphères de PCL contenant du valsartan.

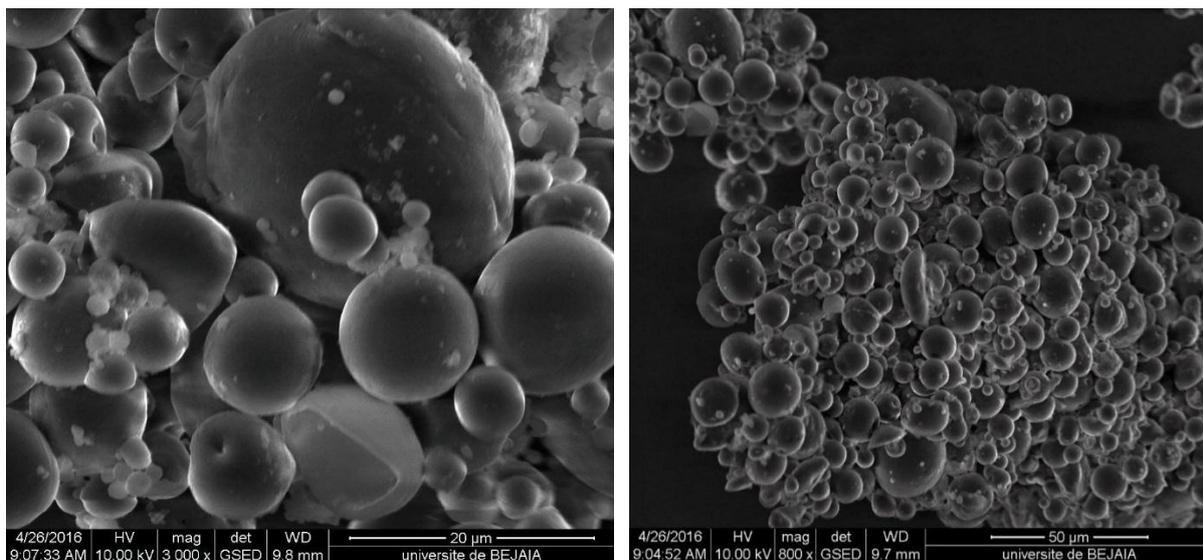


Figure III.20 : Micrographie par MEB, des microsphères de la PCL contenant du valsartan au grossissement (x3000, x800) (F17).

La micrographie MEB figure III.20, réalisée sur les microparticules de la PCL chargées du valsartan, permettent de visualiser des microsphères de forme sphérique, de surface lisse et de taille variant entre 2 et 20 μm .



**Chapitre IV:
Cinétique de libération du valsartan**

Chapitre IV : Cinétique de libération du valsartan

Le dernier chapitre consiste à étudier la cinétique de libération, *in vitro*, du valsartan contenu dans les microsphères de PLA et de PCL, dans un milieu simulé intestinal (pH=6,8). Pour ce faire, nous allons procéder dans un premier temps à la préparation du milieu physiologique et à la détermination de la courbe d'étalonnage du valsartan dans ce milieu (pH=6,8), afin de déterminer la quantité du valsartan libérée. Dans un deuxième temps nous allons comparer la cinétique de libération *in vitro* du valsartan contenu dans les microsphères de PLA et de PCL à celle du PA seul. Puis étudier l'effet de la nature du polymère sur la cinétique de libération du PA.

IV.1. MATÉRIELS

IV.1.1. Microsphères de PLA et de PCL contenant du valsartan

Les formulations utilisées dans cette partie sont celles préparées avec les conditions optimales en utilisant le PLA (F16) et la PCL (F17).

IV.1.2. Principe actif

Poudre de valsartan pur utilisé comme témoin, a été gracieusement fourni par la compagnie SAIDAL (Alger).

IV.1.3. Dihydrogénophosphate de potassium

Le dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4), pur à 99,50%, utilisé pour préparer les milieux physiologiques, a été fourni par Biochem Chemopharma (Montréal, Québec).

IV.1.4. Hydroxyde de sodium

L'hydroxyde de sodium (NaOH), pur à 98% a été fourni par Biochem Chemopharma.

IV.1.5. Acide chlorhydrique L'acide chlorhydrique (HCl) (37%), utilisé dans cette étude, a été fourni par le laboratoire « Prolabo » (France).

IV.2. METHODES

IV.2.1. Préparation du milieu physiologique (pH = 6,8)

Le milieu physiologique a été préparé selon la pharmacopée européenne (édition 2008).

Une solution aqueuse de 250 ml contenant 6,8 g de phosphate monopotassique a été mélangée, dans une fiole de 1 litre, avec 77 ml d'hydroxyde de sodium (NaOH) à 0,2 M et complété avec l'eau distillée jusqu'au trait de jauge.

La solution obtenue est ajustée au pH=6,8, avec une solution d'acide chlorhydrique à 2 N ou d'hydroxyde de sodium à 2 N, en ajoutant quelques gouttes de celles-ci et en contrôlant la valeur du pH à l'aide d'un pH-mètre [105].

IV.2.2. Courbe d'étalonnage du valsartan dans le milieu physiologique (pH =6,8)

La courbe d'étalonnage du valsartan dans le milieu physiologique a été obtenue en préparant une solution mère de 20 mg/l, des dilutions sont ensuite préparées pour obtenir des solutions filles de différentes concentrations. Les absorbances des étalons sont mesurées à une longueur d'onde de 250 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible de marque EVOLUTION600.

➤ Courbe d'étalonnage du valsartan dans le milieu intestinal (pH=6,8)

La courbe d'étalonnage du valsartan est représentée dans la figure IV.1 :

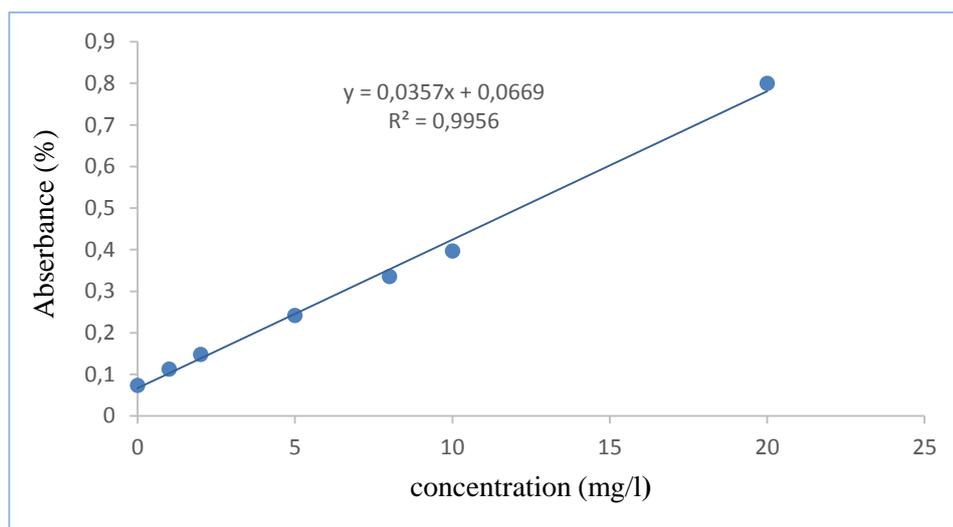


Figure IV.1 : courbe d'étalonnage du valsartan dans le milieu intestinal (pH=6,8)

IV.2.3. Essai de dissolution

Les tests de dissolution *in vitro* du valsartan sont réalisés dans un réacteur agité fermé, rempli avec de 900 ml du milieu physiologique (pH=6,8). Pendant ces essais, le réacteur est réglé à une température de 37°C sous une agitation de 100 tours/min. Les microsphères de PLA et PCL contenant une quantité du valsartan sont introduites dans le milieu physiologique.

A l'aide d'une seringue, des prélèvements de 5 ml sont effectués, dans le réacteur, toutes les 5 minutes pendant les premières 15 minutes, puis toutes les 15 minutes pendant 2 heures, puis chaque heure jusqu'à atteindre huit heures. A chaque prélèvement, le volume du milieu de dissolution est réajusté. Les échantillons obtenus sont ensuite dosés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible.

IV.3. RESULTATS ET DISCUSSIONS

IV.3.1. Etude de la libération *in vitro* du valsartan dans les microsphères de PLA

La libération *in vitro* du valsartan contenu dans les microsphères de PLA (F16) et du valsartan pur a été étudiée dans le milieu intestinal (pH=6,8). Les profils de libérations sont représentés sur la figure IV.2 :

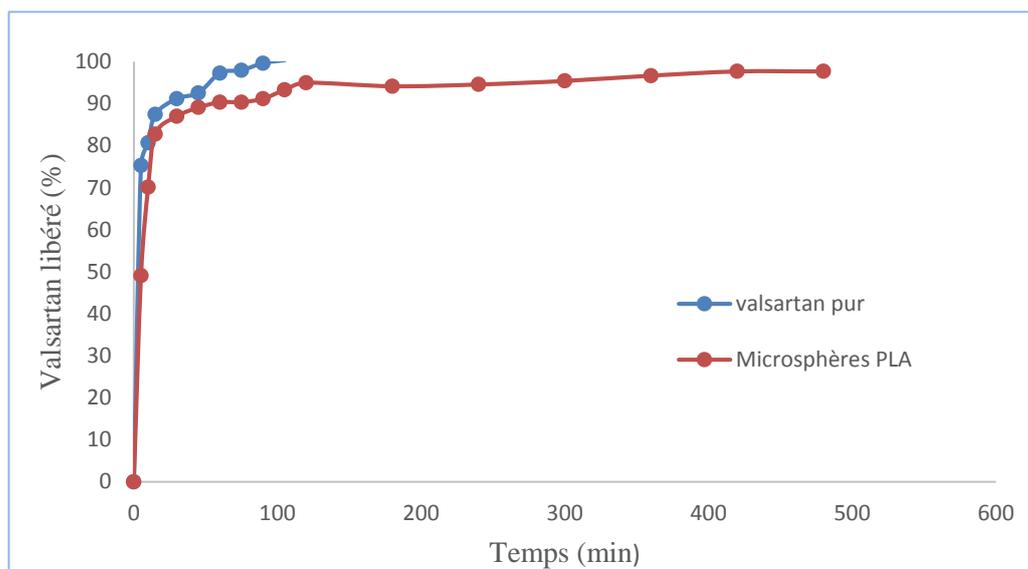


Figure IV.2 : Profil de libération du valsartan pur et celui contenu dans les microsphères de PLA (F16) dans le milieu intestinal (pH=6,8).

Le profil de libération du valsartan pur montre un effet burst, c'est-à-dire une libération rapide du PA qui atteint 100%, pendant 105 minutes. Ceci est dû à la dissolution rapide du valsartan dans le milieu intestinal. En effet, la littérature rapporte que la dissolution du valsartan est plus rapide dans les milieux dont le pH est égal ou supérieur à 5 [106].

Dans le cas des microsphères de PLA on remarque une libération rapide suivie d'une libération progressive et ralentie du PA. Cette libération rapide pourrait être due au valsartan qui s'est adsorbé sur la surface des microsphères, à partir de 60 min on a eu une libération progressive du valsartan encapsulé jusqu'à 8h.

IV.3.2. Etude de la libération *in vitro* du valsartan dans les microsphères de PCL

La libération *in vitro* du valsartan contenu dans les microsphères de PCL (F17) et du valsartan pur a été étudiée dans le milieu intestinal (pH=6,8). Les profils de libérations sont représentés sur la (figure IV.3) :

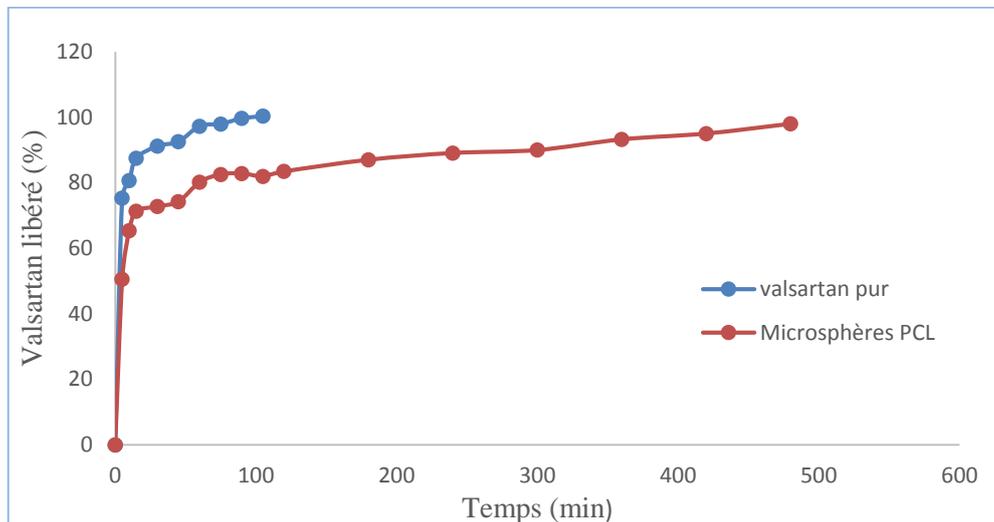


Figure IV.3 : Profil de libération du valsartan pur et celui contenu dans les microsphères de PCL (F17) dans le milieu intestinal (pH=6,8).

L'étude de libération *in vitro* effectuée dans le milieu intestinal, montre que le valsartan est totalement libéré au bout de 105 minutes, par contre dans le cas des microsphères de PCL contenant du valsartan, on remarque une libération rapide du PA qui atteint 71% au bout de 15 minutes suivie d'une libération progressive du valsartan encapsulé jusqu'à 8h.

D'après ces résultats on peut constater que les microsphères de PCL libèrent le valsartan encapsulé progressivement dans le temps à partir de 15 minutes.

IV.3.3. Effet de la nature du polymère sur la libération *in vitro* du valsartan contenu dans les microsphères

La libération *in vitro* du valsartan contenu dans les microsphères de PLA et de PCL a été étudiée dans le milieu intestinal (pH=6,8). Les profils de libérations sont représentés sur la figure IV.4 :

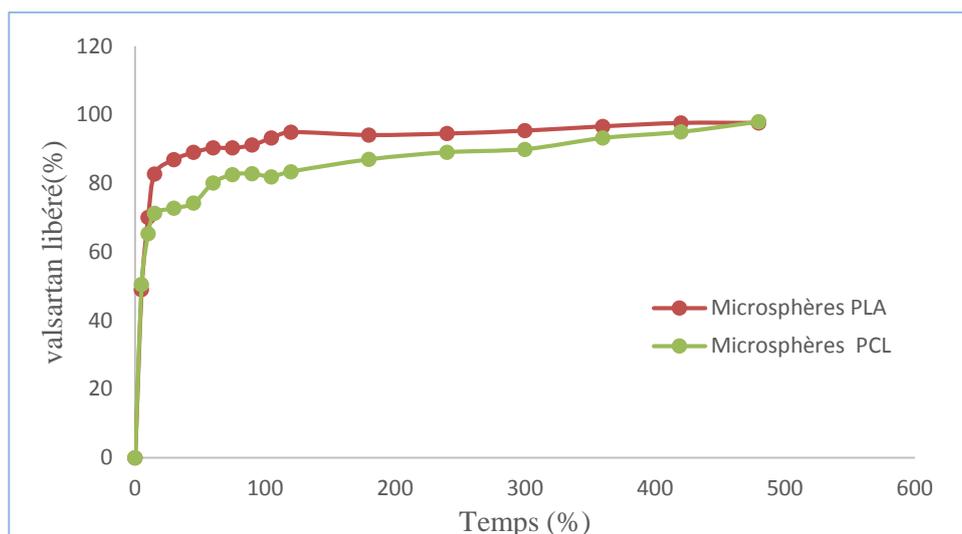
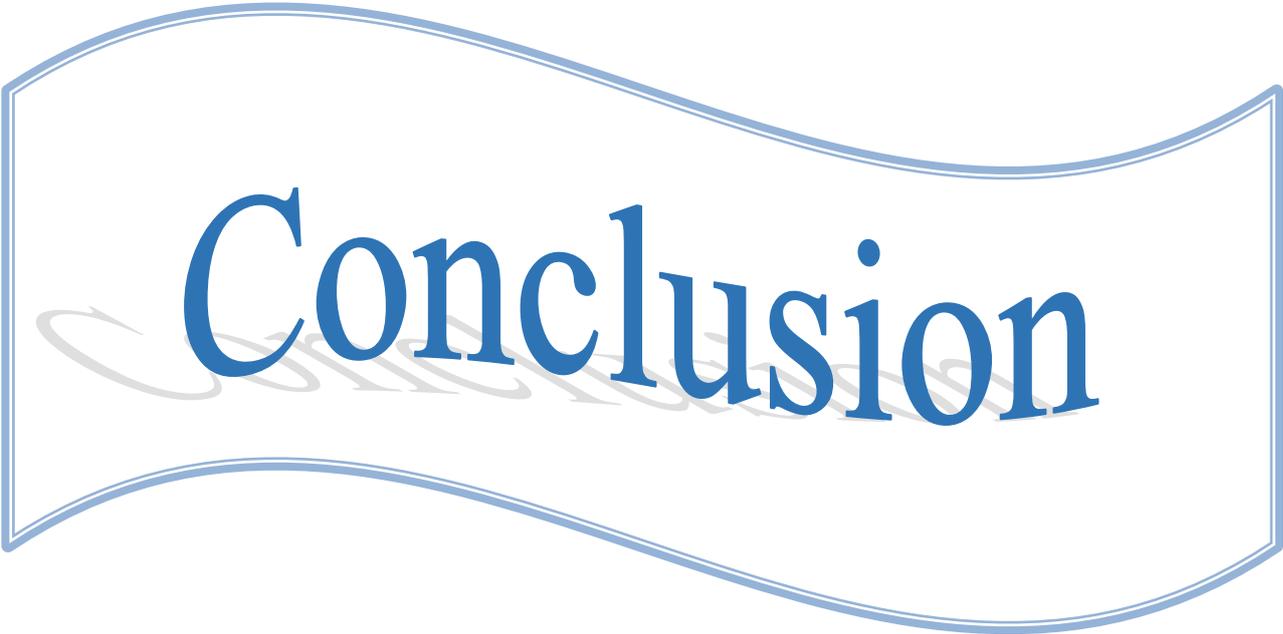


Figure IV.4 : Profil de libération du valsartan contenu dans les microsphères de PLA (F16) et de PCL (F17) dans le milieu intestinal (pH=6,8).

On remarque que la cinétique de libération *in vitro* du valsartan est influencée par la nature du polymère. En effet, la cinétique de libération du valsartan contenu dans les microsphères de PLA est plus élevée que celui contenu dans les microsphères de PCL. Au bout de 30 minutes la libération du valsartan atteints 87%, dans les microsphères du PLA, alors qu'elle ne dépasse pas 73% dans les microsphères de la PCL.



Conclusion

CONCLUSION

L'objectif de cette étude était de préparer des microsphères d'un antihypertenseur, le valsartan par la technique d'émulsion et évaporation du solvant en utilisant deux polymères biodégradables, le poly (acide-lactique) et la poly (ϵ -caprolactone).

Au cours de ce travail, nous avons utilisé un plans d'expérience de type Box-Behnken, afin d'optimiser les paramètres d'encapsulation à savoir : la quantité du PLA, la concentration du tensioactif et le volume de la phase aqueuse.

Dans la première partie du travail, nous avons optimisé les paramètres d'encapsulation du valsartan dans les microsphères de PLA. La formulation optimale est ensuite préparée avec la PCL afin d'étudier l'effet de la nature du polymère sur le taux d'encapsulation.

Les microsphères obtenues sont caractérisées par différentes techniques (UV-Visible, IR-TF, DRX et MEB).

L'analyse IR-TF a montré la présence du valsartan dans les microsphères de PLA et de PCL, et a mis en évidence l'absence des interactions chimiques entre les polymères et le valsartan. L'analyse DRX a confirmé l'incorporation du PA dans la matrice polymères.

L'analyse par microscopie électronique à balayage a montré des microsphères de forme sphérique et de taille variable. Le diamètre moyen des microsphères de PLA a été trouvé généralement compris entre 2 et 44 μm , et celles de la PCL est compris entre 2 et 20 μm .

L'étude de l'effet de certains paramètres conditionnant l'encapsulation, analysé grâce aux plans d'expériences, nous amène à conclure que :

La concentration du tensioactif et le volume de la phase aqueuse ont un effet négatif sur le taux d'encapsulation du principe actif puisque le taux d'encapsulation diminue avec l'augmentation de ceux-ci.

Par contre la quantité du polymère n'a pas eu un effet significatif sur le taux d'encapsulation.

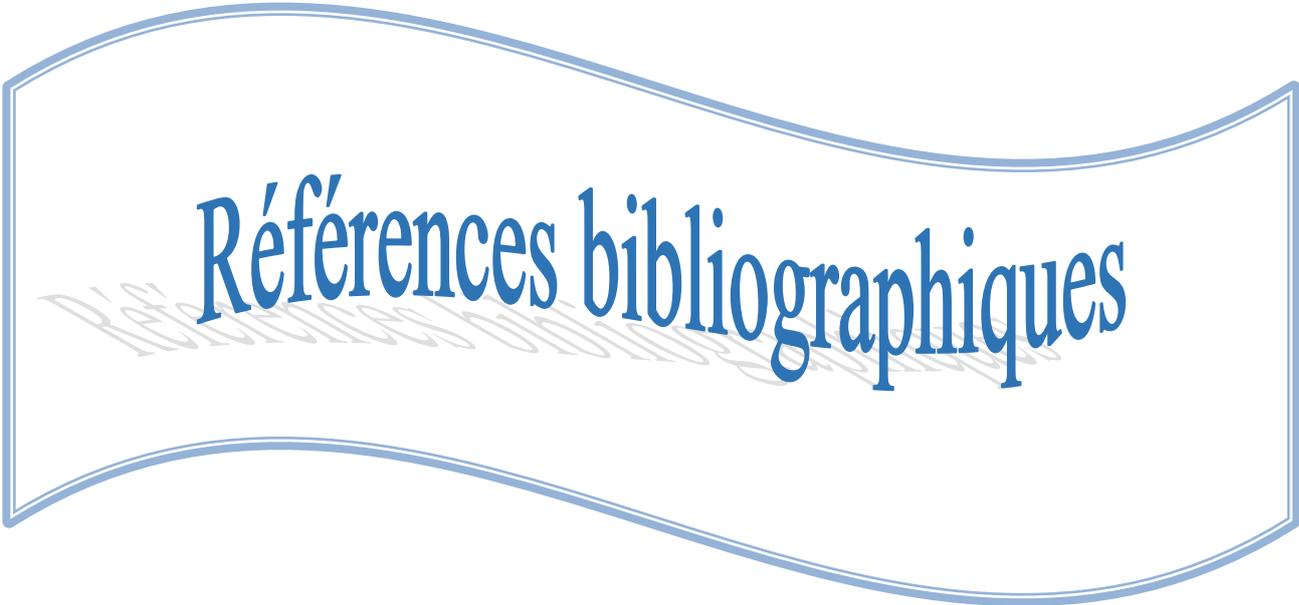
L'étude de l'effet de la nature du polymère a montré que la PCL a donné un meilleur taux d'encapsulation ($69,82 \pm 0,645$) comparée au PLA ($55,75 \pm 0,387$).

Dans la deuxième partie, nous avons étudié la cinétique de libération *in vitro* du valsartan contenu dans les formulations optimales (F16 et F17), dans le milieu intestinal (pH=6,8). Les

résultats de cette étude ont montré que la PCL a permis d'obtenir un meilleur contrôle de la libération du PA par rapport au PLA.

Après cette étude, nous envisageons les perspectives suivantes :

- Améliorer l'encapsulation du valsartan en effectuant des modifications aux polymères utilisés afin d'obtenir un meilleur contrôle de la libération ;
- Etudier la stabilité des microsphères obtenues ;
- S'intéresser à d'autres méthodes de la microencapsulation surtout qui ne nécessitent pas l'utilisation de solvant toxique.



Références bibliographiques

- [1] Rolle V., 2006. « Modélisation multi formalisme du système cardiovasculaire associant bond graph, équations différentielles et modèles discrets », thèse de Doctorat à l'université de Rennes 1.
- [2] De Matos Jensen C.E., Souza dos Santos R.A., Leite Denadai A. M., Ferreira Santos C. F., Gonçalves Braga A. N., Sinisterra R. D., 2010. « Pharmaceutical Composition of Valsartan: β -Cyclodextrin: Physico-Chemical Characterization and Anti-Hypertensive Evaluation, *Molecules* », 15, 4067-4084.
- [3] Saydam M., Takka S., 2007. « Bioavailability file: valsartan », *Fabad. J. Pharm. Sci.*, 32, 185-196.
- [4] Gupta A.P, Kumar V., 2007. « New emerging trends in synthetic biodegradable polymers-Polylactide a critique », *European Polymer Journal* 43, 4053-4074.
- [5] Rabetafika H.N, Paquot M, Dubois P., 2006. « Les polymères issus du végétal : matériaux à propriétés spécifiques pour des applications ciblées en industrie plastique », *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 10(3) 185-196.
- [6] Houcher Z., 2012. « Facteurs nutritionnels, homocystéine et polymorphisme C677T du gène du méthylène tétrahydrofolate réductase dans la population algérienne », thèse doctorat en biologie, université Sétif.
- [7] Philippe L., 2006. « Pharmacologie », Université Pierre et Marie Curie.
- [8] McGill H.C.Jr., McMahan C.A., Gidding S.S., 2008. « Preventing heart disease in the 21st century: implications of the Pathobiological Determinants of Atherosclerosis in Youth (PDAY) study *Circulation* », Mar 4, 117(9):1216-27.
- [9] Dangoumau J., « Pharmacie générale », édition 2006, Bourdeaux.
- [10] Teffaha D., 2006. « Modification des réglages des fonctions cardiovasculaires après réadaptation de patients cardiaques incluant des exercices en immersion », Thèse de doctorat de l'université de Poitiers, France.

- [11] Gosse P., 1999. « Evaluation thérapeutique : SARTANS : antagonistes de l'angiotensine », Dossier du Centre National Hospitalier d'Information sur le Médicament CNHIM, Revue d'évaluation sur le médicament Publication bimestrielle, XX, 4
- [12] Organisation mondiale de la santé, Rapport sur la santé dans le monde, 2012 « Les principaux repères sur les maladies cardiovasculaires ».
- [13] Yao Datte J., 1999. « Effets pharmacologiques de l'extrait de *parquetina nigrescens* (periplocaceae) sur la contractilité du muscle cardiaque et de muscles lisses isolés de mammifères », Thèse de doctorat de l'université de Paris. XII.
- [14] 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 Poincaré, Nancy I.
- [15] Lullmann H., Klaus M., Ziegler A., 1998. « Atlas de poche de pharmacologie », 2^{ème} édition, Paris.
- [16] Maeder T., Engel P., Ricklin H., 2010. « Traitement médicamenteux de l'angine de poitrine stable, du classique et du nouveau », Form Med. Suisse.
- [17] L'article L 115 du Code de Santé Publique.
- [18] Hjalmarson A., 2000. « Bêta-bloquants : fin d'une controverse », A.M.C Pratique, (n°spe) : 6-7.
- [19] Fox K., Garcia M., Ardissino D., Buszman P., Camici P., Crea F., 2006. « Guidelines on the management of stable angina pectoris: executive summary: The Task Force on the Management of stable Angina Pectoris of the European Society of Cardiology », J. Eur Heart. 27:1341 – 81.
- [20] 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.

- [21] Flather M., Yusuf S., Kober L., Pfeffer M., Hall A., Murray G., 2000. « Long-term ACE-inhibitor therapy in patients with heart failure or left ventricular dysfunction: a systematic overview of data from individual patients », *Lancet*, 355:1575-81.
- [22] Victor J. Dzau M.D., Andre M. Allen B.Sc., Edward D. Frohlich M.D., Gabriel Navar L., et Suzanne Oparil M.D., « Le rôle des récepteurs AT1 dans les atteintes des organes cibles : Une perspective fonctionnelle », Rapport de la division de cardiologie st. Université de Toronto.
- [23] Gazengel J.M., 2001. « Le préparateur en pharmacie-dossier 5 Pharmacologie », Parie.
- [24] Sripriya P., Naga Sowjanya G., Ajitha A., Uma Maheswara Rao V., 2015. « Analytical Techniques for the Estimation of Valsartan in Bulk and Pharmaceutical Dosage Forms », A Review, *World J. of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 07, 1847-1858.
- [25] Siddiqui N., Husain A., Lakshita C. Shamsheer 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.
- [26] Dictionnaire Vidal version 2010.
- [27] Dejeu J., 2007. « Films de deux polymères auto-assemblés : Chlorhydrate de polyallylamine (PAH) et polystyrène sulfonate de sodium (PSS) ; mécanisme de croissance et stabilité », Thèse de Doctorat à l'université de Franche-comte.
- [28] Gbassi G K., 2010. « Aspects physicochimiques de l'encapsulation et de la désencapsulation des probiotiques », Thèse de Doctorat à l'université de Strasbourg.
- [29] Vandamme T., Poncelet D., Subra-Paternault, 2007, « Microencapsulation : des sciences aux technologies », Tech et Doc, Paris ;
- [30] Gibbs B.F., Kermasha S., Alli I., Mulligan C.N., 1999. « Encapsulation in the food Industry », A Review. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 50, 213–224.
- [31] Agnihotri N., Mishra R., Goda C., Arora M., 2012. « Microencapsulation – A Novel Approach in Drug Delivery », A Review, *Indo Glob. J. Pharm. Sci.*, 2(1), 1-20.

- [32] Richard J., Benoit J.P., 2000. « Microencapsulation, Techniques de l'Ingénieur », J. 2210,1 –20.
- [33] Yannick L., 2007. « Déformation et convection d'une ou plusieurs capsules en écoulement dans un tube cylindrique », Thèse de Doctorat en Biomécanique, université de Technologie Compiègne.
- [34] Benoît J.P., Briançon S., Fattal E., Fessi H., Legrand P., Passirani C., « Sphéroïdes et formes vectorisées », Hal-00385473, version1.
- [35] Ifourah N., 2015. « Préparation des polymères amphiphiles par modification sélective d'un dérive cellulosique. Application aux biomatériaux micro-structurés », Thèse de Magistère, université de Bejaia.
- [36] Li D., Oh Y.K., Lim S.J., *et al.* 2008. « Novel gelatin microcapsule with bioavailability enhancement of ibuprofen using spray-drying technique » *Int. J. of Pharmaceutics.* 355, 277–284.
- [37] Li D.X., Yan Y.D., Hoon Oh D., Yang K.Y., Seo Y.G., Kim J.O., Kim Y.I., Chu Soon Y., Choi H.G., 2010. « Development of valsartan- loaded gelatin microcapsule without crystal change using hydroxypropylmethylcellulose as a stabilizer » *Drug deliv.* 17(5), 322-329.
- [38] He P., 2009. « Conception et réalisation d'un système microfluidique pour la production de gouttes calibrées et leur encapsulation », Sciences de l'ingénieur [physics]. Université de Technologie de Compiègne. Français.
- [39] Sun Y.M., Chang C.C., Huang W.F., Liang H.C., 1997. « Fluidized-bed spray coated porous hydrogel beads for sustained release of diclofenac sodium », *J. Controlled Release*, 47, 247–260.
- [40] Knezevic Z., Gosak D., Hraste M., Jalsenjak I., 1998, « Fluid-bed microencapsulation of ascorbic acid », *J. Microencapsulation*, 15(2), 237-52.
- [41] Ehlers H., Raikkonen H., Antikainen O., Heinamaki J., Yliruusi J., 2009. « Improving flow properties of ibuprofen by fluidized bed particle thin-coating », *Int. J. Pharm.*, 368, 165–170.

- [42] Philippe L., Benoit J.P., 2007. « Sphéroïdes et formes vectorielles pharmacie galénique formulation et technologie pharmaceutique », Maloine PP 221-250.
- [43] Félicie T., 2009. « Conception et mise en œuvre d'un procédé intensifié continu de microencapsulation par polycondensation interfaciale » Thèse de doctorat, Université de toulouse France.
- [44] Gautier A., 2008. « Etude des écoulements et des transferts de masse dans différentes géométries de foie bioartificiel », Thèse, UTC.
- [45] Gautier A., Carpentier B., Dufresne M., *et al.* 2008. « Impact of alginate type and bead diameter on mass transfers and metabolic activities of encapsulated C3A cells for bioartificial liver applications », *Biomaterials*. In press.
- [46] Dubey R., Shami T.C., Bhasker Rao K.U., 2009. « Microencapsulation Technology and Applications », *J. Defence Sci.*, 59 (1), 82-95.
- [47] Yeo Y., Baek N., and Park K., 2001. «Microencapsulation methods for delivery of protein drugs », *Biotechnol. Bioprocess. Eng.*, 6(4), 213-230.
- [48] Kumar Das S., Nakka David S.R., Rajabalaya R., Mukhopadhyay H.K., Halder T., Palanisamy M., Khanam J., Nanda A., 2011. « Microencapsulation techniques and its practice » *Int. J. Pharm. Sci. Technol.*, 6 (2), 1-23.
- [49] Li M., Rouaud O., Poncelet D., 2008« Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches » *Int. J. Pharm.*, 363, 26–39.
- [50] Guery J., 2006. « Emulsions doubles cristallisables : stabilité, encapsulation et relargage», Thèse de doctorat à l'université de Paris VI,
- [51] Park J.H., Ye M., Park K., 2005. « Biodegradable Polymers for Microencapsulation of Drugs, Molecules », 10, 146-161.
- [52] Roland K., 2008. « Contacteurs à membrane pour la précipitation du sulfate de baryum : Simulations numériques et résultats expérimentaux », Thèse Claude Bernard – Lyon.

- [53] Behera A.L., Patil S.V., Sahoo S.K., 2011. « Formulation and characteristics of 5-fluorouracil Microspheres by solvent Evaporation method », *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 3 (1), 32-35.
- [54] Benoit M.A., Baras B., Gillbard J., 1999. « Preparation and characterization of protein loaded poly (ϵ -caprolactone) microparticles for oral vaccine delivery », *Int. J. Pharm.*, 184, 73–84.
- [55] Rafati H., Coombes A.G., Adler J., Holland J., Davis S.S., 1997. « Protein-loaded poly (dl-lactide-co-glycolide) microparticles for oral administration: formulation, structural and release characteristics», *J. Control. Release*, 43, 89–102.
- [56] Jeong J.C., Lee J., Cho K., 2003. « Effects of crystalline microstructure on drug release behavior of poly (ϵ -caprolactone) microspheres », *J. Control. Rel.*, 92, 249–258.
- [57] Yang C.Y., Tsay S.Y., Tsiang R.C.C., 2000. « An enhanced process for encapsulating aspirin in ethylcellulose microcapsules by solvent evaporation in an O/W emulsion », *J. Microencapsul.*, 17, 269–277.
- [58] Hombreiro Pérez M., Zinutti C., Lamprecht A., Ubrich N., Astier A., Hoffman M., Bodmeier R., Maincent P., 2000. « The preparation and evaluation of poly (ϵ -caprolactone) microparticles containing both a lipophilic and a hydrophilic drug », *J. Controlled Release*, 65, 429-438.
- [59] Samati Y, Yu'ksel N, Tarimci N., 2006. « Preparation and characterization of poly (D,Llactic- co- glycolic acid) microspheres containing furbiprofen sodium », *Drug Deliv.*, 13, 105–111.
- [60] Khoee S., Yaghoobian M., 2009. « An investigation into the role of surfactants in controlling particle size of polymeric nanocapsules containing penicillin-G in double emulsion », *Eur. J. Med. Chem.*, 44, 2392–2399.
- [61] Tiwari S., Verma P., 2011. « Microencapsulation technique by solvent evaporation method » (Study of effect of process variables), *Int. J. Pharm. Life Sc.*, 2(8), 998-1005.

- [62] Yang Y.Y., T.S. Chung, Ping Ng N., 2001. « Morphology, drug distribution, and in vitro release profiles of biodegradable polymeric microspheres containing protein fabricated by double-emulsion solvent extraction/evaporation method », *Biomaterials*, 22, 231-241.
- [63] André-Abrant A., Taverdet J.-L., Jay J., 2001. « Microencapsulation par évaporation de solvant » *Eur. Polym. J.*, 37, 955-963.
- [64] Joel R., Jean-pierre B., 2013. « Microencapsulation, technique de l'ingénieur », *J. 2211*, pp 2-20.
- [65] Shah S.S., Cha Y., Pitt C.G., 1992. « Poly (glycolic acid-co-D,L-lactic acid): diffusion or degradation controlled drug delivery », *J. Controlled Release*, 18, 261-270.
- [66] Joly N., 2003. « Synthèses et caractérisation de nouveaux Films plastique obtenus par acylation et Réticulation de la cellulose », thèse de doctorat de l'université de Limoges.
- [67] Patel K.R., Patel M. R., Mehta T. J., Patel A. D., Patel N. M., 2011. « Microencapsulation » Review on novel approaches, *Int. J. Pharm. Technol.*, 3 (1), 894-911.
- [68] Bouriche S., 2013. « Encapsulation de la metformine dans des polymères biodégradables » Mémoire de magister en génie des Procèdes, option Génie des polymères, Université Abderrahmane Mira, Bejaia.
- [69] Vert M., 2005. « Biomacromolécules », 6, 538.
- [70] a) Kricheldorf H.R., *Chemospheres*, 2001, 43, 49. b) *Degradable Aliphatic Polyesters: Advances in Polymer Science 157*, Albertsson A.C., Ed: Springer-Verlag: New-York 2002. c) Edlund U., Albertsson A.C., *Adv. Polym. Sci.*, 2002, 157, 67. d) Naira L.S., Laurencin C.T., *Prog. Polym. Sci.*, 2007, 32, 762.
- [71] a) Carothers W.H., *J. Am. Chem. Soc.*, 1929, 2548. b) Carothers W.H., Arvin G.A., *J. Am. Chem. Soc.*, 1929, 2560.
- [72] Azouz H., 2011 « Etude des interactions de mélanges (polymères biodégradables/principe actif) obtenus par différentes méthodes de préparations » Mémoire de Magister en Chimie, Option : Chimie de l'environnement, Université de Bejaia.

- [73] Alba A., 2009. « Catalyse organique de polymérisation par ouverture de cycle : synthèse de polymères biodégradables à visée pharmacologique », Thèse Doctorat Université de Toulouse, Ecole doctorale : Science de la Matière, Spécialité : Chimie moléculaire.
- [74] Cyril D., 2002. « Développement d'un implant solide biodégradable à base d'amidon réticulé à teneur élevée en amylose, pour la libération contrôlée d'un principe actif », Thèse de Doctorat à l'université de Montréal.
- [75] Caillol S., 2002. « Synthèse et caractérisation de nouveaux copolymères potentiellement auto-associatifs », Materialchemistry, Université sciences et technologie – Bordeaux I, France
- [76] Chang R.K., Price, J.C., Whitworth, C.W., 1986. « Dissolution characteristics of poly (epsilon-caprolactone) - polylactide microspheres of chlorpromazine », Drug Dev Ind Pharm. 12(14), 2355-2380.
- [77] Van Natta F.J., Hill J.W., Carruthers W.H., 1934. « Polymerization and ring formation, epsilon-caprolactone and its polymers », J Am Chem Soc. 56, 455-459.
- [78] Goupy J., Greighton L., 2005. « Introduction au plan d'expérience », Dunod.
- [79] Lim J.H., Lee J.S., 2008. « A statistical design and analysis illustrating the interactions between key experimental factors for the synthesis of silver nanoparticules », Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 322 155-163.
- [80] Sadoun.O., 2013 « Encapsulation d'un antihypertenseur (valsartan) par la technique d'émulsion et évaporation de solvant » Mémoire de magister en génie des Procèdes, option Génie des polymères, Université Abderrahmane Mira, Bejaia
- [81] Gibaud S., Al Awwadi N.J., Ducki C., Astier A., 2004. « Poly (ϵ -caprolactone) and Eudragit® microparticles containing fludrocortisone acetate », Int. J. Pharm., 269,491–508.
- [82] Mukerjee A., Sinha V.R., Pruthi V., 2007. « Preparation and Characterization of Poly- ϵ -caprolactone Particles for Controlled Insulin Delivery », J. Biomed. Pharm. Eng. 1 (1), 40-44.
- [83] Jeong J.C., Lee J., Cho K., 2003. « Effects of crystalline microstructure on drug release behavior of poly (ϵ -caprolactone) microspheres », J. Controlled Release, 92, 249– 258.

- [84] Young I.K., 1996. « Mise au Point et évaluation de forme à libération modifiée de nifédipine », Thèse de Doctorat Université de Nancy I Mention pharmacologie.
- [85] Mimi N., Belkacemi H., Sadoun T., Kerroche D., Karboua N., Rouba N., 2010. « Préparation de microcapsules de polymères par le procédé d'évaporation de solvant », *Ann.Chim.Sci.Mat*, 35(3), pp.137-150.
- [86] Sandhya Raj.S., Sundramoorthy K., Vetrchelvan T., 2010. « Formulation, Development and *in vitro* evaluation of valsartan mucoadhesive microparticules », *Int. J. Of Pharmacy et Technology*, 1315-1327.
- [87] Feczko T., Tóth J., Dósa G.Y., Gyenis J., 2011. « Optimization of protein encapsulation in PLGA nanoparticles », *Chemical Engineering and Processing* 50 757– 765.
- [88] Kamoun A., Chaabouni M.M., Ayedi H.F., « Plans d'expériences et traitements de surface (MSR) », *Techniques de l'ingénieur*, Doc. M 1429, 1-24.
- [89] Goupy J., 2006. « Les plans d'expériences », *A revue Modulad*, 34, 74-116.
- [90] Raja Rajeswaril K., Abbulu K., Sudhakar M., Karki Roopa. B., 2012. « Development and characterization of valsartan loaded hydrogel beads », *Der Pharmacia Lettre*, 4 (4):1044-1053.
- [91] Etcheverry S.B., Di Virgilio A.L., Nascimento O.R., Williams P.A.M., 2012. « Dinuclearcopper (II) complexes with valsartan. Synthesis, characterization and cytotoxicity », *J.Inorg. Biochem.* 107, 25–33.
- [92] Islas M.S., Franca C.A., Etcheverry S.B., Ferrer E.G., Williams P.A.M., 2012. « Computational study and spectroscopic investigations of antihypertensive drugs », *Vib. Spectrosc.* 62, 143– 151.
- [93] Bharathia M., Sarat Chandra Prasad Mb., Latha Eswaria R., Wasim RajadS., Ravi Teja Allenab., Brito Raj*c.S., Bhaskar ReddyK., 2012. « Preparation and *in vitro* & *in vivo* characterization of valsartan loaded eudragit nanoparticles », *Der Pharmacia Sinica.* 3(5):516-525

- [94] Pravin N., Babasaheb A., Neha D., Vilasrao K., Rajashree H., 2009 « Solid state characterization of the inclusion complex of valsartan with methyl β -cyclodextrin », *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, 65, 377–383.
- [95] Shrivastava A.R., Ursekar B., Kapadia C., 2009. « Design, Optimization, Preparation and Evaluation of Dispersion Granules of Valsartan and Formulation into Tablets », *J. Curr. Drug Deliv.* 6, 28-37
- [96] Nugraha Edhi.S., 2006. « DEVELOPPEMENT DE FILMS BIODEGRADABLES A BASE DE CHITOSANE: Etudes du Mélange Chitosane/PLA, de la Plastification et de la Compatibilisation », Thèse de Doctorat, Université de Reims.
- [97] Zhong-cheng.Z, Ruan.J-M, Huang.B-Y, Li.Y-J, Zou.J-P, Zhang H-B., 2005. « Preparation and characterization of poly (D,L-lactide) and its porous biomaterials ». *J. Cent. South Univ. Technol.* 12 (1) 1-4.
- [98] Yang C.Y., Tsay S.Y., Tsiang R.C.C., 2000. « An enhanced process for encapsulating aspirin in ethylcellulose microcapsules by solvent evaporation in an O/W emulsion », *J. Microencapsul.*, 17, 269–277.
- [99] Sabyasachi M., Paramita D., Santanu K., Somasree R., Sushomasri M., and Biswanath S., 2009. « Investigation on Processing Variables for the Preparation of Fluconazole-Loaded Ethyl Cellulose Microspheres by Modified Multiple Emulsion Technique », *AAPS Pharm Sci Tech*, Vol. 10, No. 3.
- [100] Saravana Kumar K., Jayachandra Reddy P., Chandra Sekhar K.B., Design 2011. « Development and Characterisation of Mucoadhesive Microsphere of Naproxen Sodium by HPMC K15M as Polymer », *J. Pharm. Res.*, 4(11), 3943-3947.
- [101] Kumar K., Sawant K., 2013. « Encapsulation of exemestane in polycaprolactone nanoparticles: optimization, characterization, and release Kinetics ».
- [102] Zhou, S., Deng, X., Yang.H, 2003. *Biomaterials* 24, 3563-3570.
- [103] Dinda S.C., Pattanayak D.P., Narayan U.L., 2011. « Design and evaluation of a fixed dose combination formulation of valsartan and metformin hcl for biphasic drug release: a novel approach to increase therapeutic efficacy », *Int. J. Pharm. Sci. Technol.*, 6 (1), 44-63.

[104] Yong-Suk Y., Jin Hee O., Ki Ho A., Min soo K., Youn Woo L., 2011. « Dissolution Rate improvement of valsartan by low temperature recrystallization in compressed CO₂: Prevention of excessive agglomeration », J. of supercritical Fluids, 59,117-123.

[105] pharmacopée européenne 6^{ème} édition publiée le 16 juillet 2007 remplace la 5^{ème} Edition à dater du 1er janvier 2008.

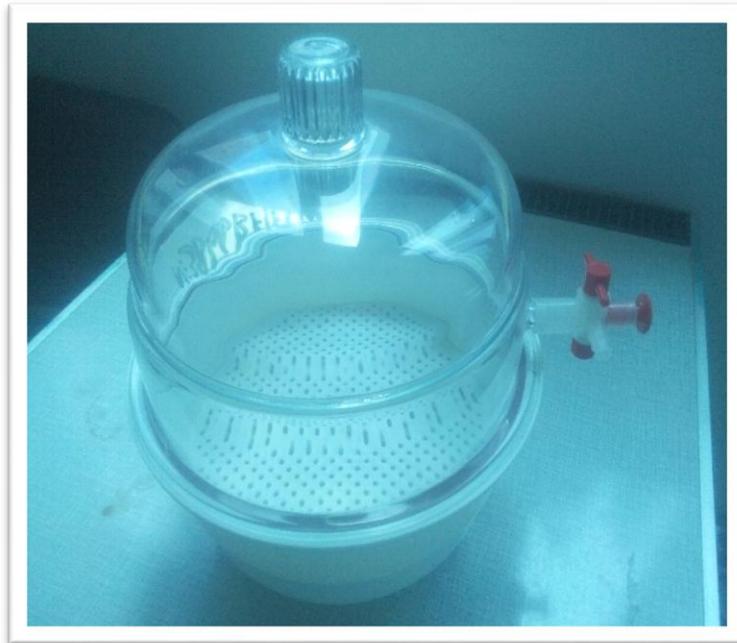
[106] Park Y.J., Lee H.K., Bin Im Y., Lee W., and Han H.K., 2010. « Improved pH Independent Dissolution and Oral Absorption of Valsartan via the Preparation of Solid Dispersion », Arch. Pharm. Res., 33(8), 1235-1240.



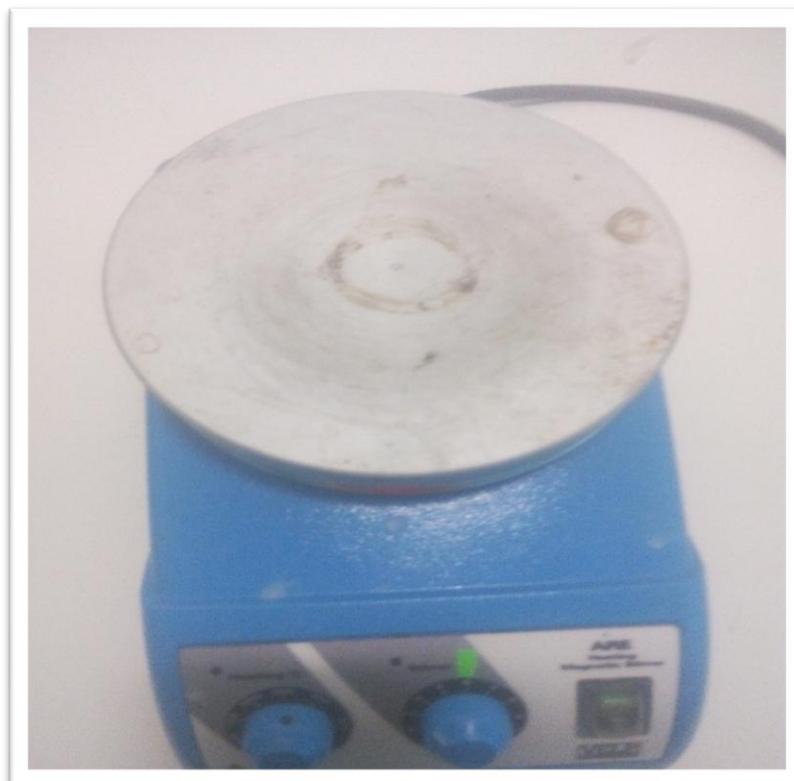
La centrifugeuse de marque HETTICH



La balance de marque OHAUS



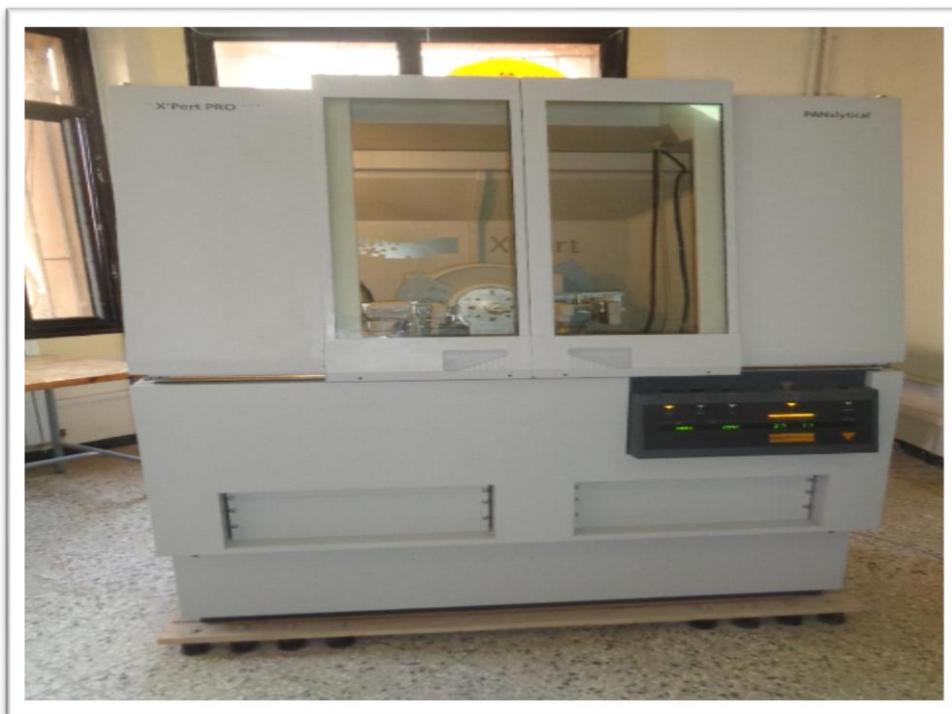
Le dessiccateur de marque POLYLAB



Agitateur Magnétique de marque VELP Scientifica



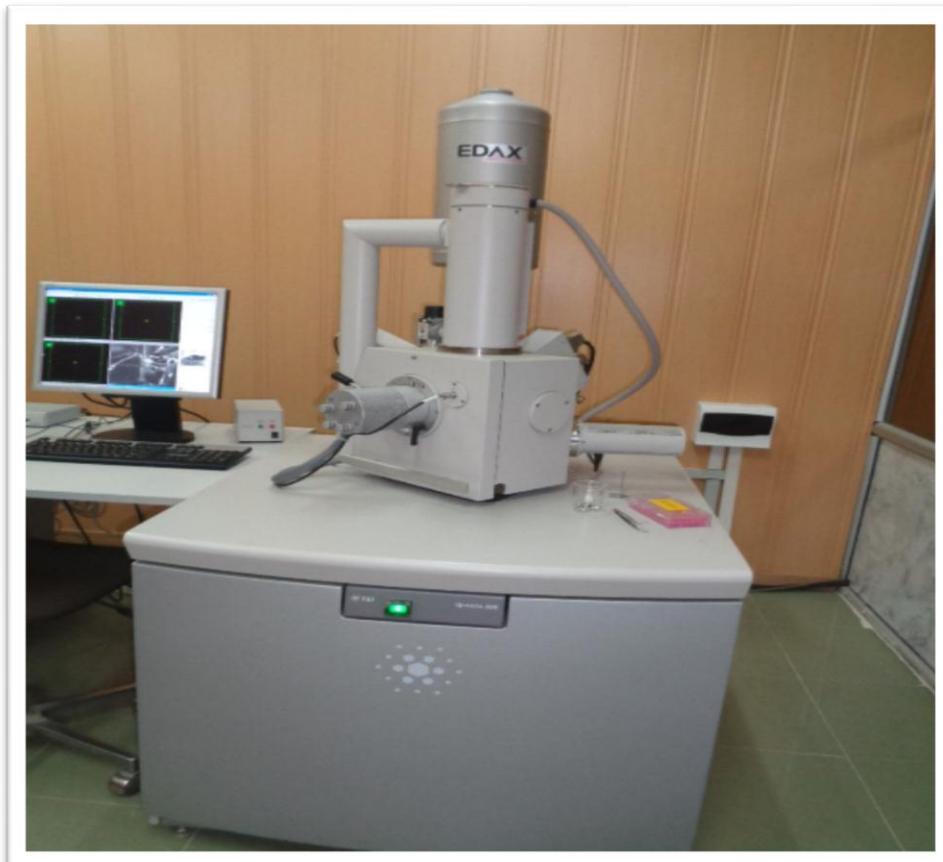
UV -visible de marque EVOLUTION 600



Diffractomètre de poudre de marque : PAN analytical



Spectrophotomètre IR de marque SHIMADZU



Appareil MEB



pH-mètre de marque HANNA



Conductimètre de marque WTW



Les microsphères de PLA contenant du valsartan



Les microsphères de la PCL contenant du valsartan

Résumé

L'objectif de cette étude consiste à préparer des microsphères à base des polymères biodégradables (le poly (acide lactique), poly- ϵ -caprolactone), contenant un antihypertenseur (le valsartan), en utilisant la technique d'émulsion-évaporation du solvant. Afin d'optimiser les paramètres d'encapsulation nous avons fait appel aux plans d'expériences, pour cela une matrice de type Box Behnken a été réalisée avec trois variables indépendantes (la concentration du tensioactif, la quantité du polymère et le volume de la phase aqueuse). La formulation optimale est ensuite préparée avec la PCL afin d'étudier l'effet de la nature du polymère sur le taux d'encapsulation. Les résultats obtenus ont montré que la formulation optimale préparée avec le PLA présente un taux d'encapsulation de 55%, par contre celle obtenue avec la PCL présente un taux de 69%. L'analyse MEB réalisée sur les différentes formulations a montré que les microsphères sont de forme sphérique et de taille variant entre 2 et 44 μm . L'étude de la libération *in vitro*, réalisée dans le milieu physiologique (pH=6,8), a montré que la PCL a permis d'obtenir un meilleur contrôle de la libération du valsartan par rapport au PLA.

Mots clés: Microencapsulation, Valsartan, Poly (acide lactique), poly- ϵ -caprolactone, Plans d'expériences, Emulsion, Evaporation de solvant.

Abstract

The objective of this study is to prepare microspheres with biodegradable polymers (poly (lactic acid), poly- ϵ -caprolactone), containing an antihypertensive drug (valsartan), and using emulsion solvent evaporation method. In order to optimize the encapsulation parameters, design of experiments is applied, for this a box Behnken matrix has been carried out with three independent variables (concentration of the surfactant, quantity of the polymer and volume of the aqueous phase). The optimum formulation is then prepared with the PCL in order to study the effect of the polymer nature on the encapsulation Efficiency. The results obtained showed that the optimum formulation prepared with the PLA presents an encapsulation Efficiency of 55%, by against, that obtained with the PCL presents encapsulation Efficiency of 69%. The SEM analysis carried out on the different formulations showed that the microspheres are spherical in shape and size ranging between 2 and 44 μm . The study of the *in vitro* release, realized in the physiological environment (pH=6.8), has shown that the PCL allowed to obtain a better control of valsartan liberation compared to the PLA.

Key words: Microencapsulation, Valsartan, Poly (lactic acid), poly- ϵ -caprolactone, Experimental design, Emulsion, Solvent evaporation