

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

BADJI MOKHTAR-ANNABA UNIVERSITY
UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR-ANNABA



جامعة باجي مختار - عنابة

Faculté des Sciences de l'Ingénieur
Département de Génie des Procédés

Année 2016

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de
DOCTORAT EN SCIENCES

**Valorisation des paramètres hydrophiles des molécules
médicamenteuses par inclusion dans les cyclodextrines
et formation de dispersions solides**

Option : Génie des Procédés

Par

BOUCHAL FATIHA

DIRECTEUR DE THÈSE : CHAFFAI Nacéra

Professeur UBM Annaba

CO-DIRECTEUR DE THÈSE : SKIBA Mohamed

Maitre de conférences HDR Université Rouen

DEVANT LE JURY

PRÉSIDENT : TIFOUTI Lakhdar

Professeur

UBM Annaba

EXAMINATEURS :

DAOUD Kamel

Professeur

Université USTHB Alger

IGUER-OUADA Mokrane

Professeur

Université de Bejaia

HADJSADOK Abdelkader

Maitre de conférences

Université de Blida

MEMBRES INVITES :

SKIBA Malika

Maitre de conférences HDR

Université de Rouen

REZGUI Farouk

Professeur

Université de Bejaia

Remerciements

Au terme de cette thèse, je voudrais remercier toutes les personnes qui de près ou de loin ont contribué à son aboutissement.

Mes vifs remerciements s'adressent à Madame **CHAFFAI** Nacéra, Professeur Chef de Service de Pharmacie Galénique à la Faculté de Médecine de l'Université Badji Mokhtar Annaba, qui a bien voulu accepter de diriger ce travail. Je lui témoigne ma profonde reconnaissance pour le suivi de mes travaux de thèse et la bienveillance dont elle a fait preuve, pour la confiance qu'elle m'a accordée en toutes circonstances et pour les nombreux conseils avisés qu'elle m'a donnés pour mener à bien et finaliser ce travail de recherche. Veuillez considérer ce travail comme le témoignage de ma profonde gratitude.

A Monsieur **SKIBA** Mohamed, Directeur du Laboratoire de Pharmacie Galénique, Maître de Conférences (HDR) à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de l'Université de Rouen/France : Vous avez très gentiment accepté de m'ouvrir les portes de votre laboratoire de recherche et de Co-diriger ce travail. Recevez mes plus sincères remerciements pour tous les moyens mis à ma disposition durant ces années passées au sein de votre équipe. Votre regard d'expert sur tous ces travaux, vos grandes compétences et vos précieux conseils ont permis l'accomplissement de ce travail. Ce fut un immense plaisir et une grande chance pour moi de pouvoir travailler avec vous.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur **TIFOUTI** Lakhdar, Professeur à la Faculté des Sciences de l'Ingénieur, Directeur du Laboratoire Génie de l'Environnement de l'Université Badji Mokhtar Annaba, pour l'intérêt qu'il a accordé à ce travail en acceptant de le juger et de présider le jury. Nous sommes particulièrement honorés de votre présence dans ce jury. Nous tenons à vous exprimer notre profonde gratitude et notre respectueuse reconnaissance.

A Monsieur **DAOUD** Kamel, Professeur à la Faculté de Technologie de l'Université USTHB Alger : Je suis très sensible à l'honneur que vous me faites en acceptant d'examiner ce travail. Trouvez ici l'expression de ma respectueuse reconnaissance. J'apprécie tout particulièrement vos qualités humaines, votre dynamisme communicatif et votre sérénité.

A Monsieur **IGUER-OUADA** Mokrane, Professeur à la Faculté de Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Bejaia : Je tiens à vous exprimer ma vive et profonde reconnaissance pour avoir accepté de juger ce travail. Votre participation au jury est pour moi un grand honneur et un réel plaisir. Trouvez ici le témoignage de mon profond respect et de mes remerciements les plus sincères.

Remerciements

A Monsieur **HADJSADOK** Abdelkader, Maître de Conférences à la Faculté de Technologie de l'Université de Blida : Je suis très sensible à l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce travail. J'apprécie beaucoup votre esprit d'équipe et votre enthousiasme scientifique. Recevez mes remerciements les plus sincères.

A Madame **SKIBA** Malika, Chercheur au Laboratoire de Pharmacie Galénique, Maître de Conférences (HDR) à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de l'Université de Rouen/France : Recevez mes plus vifs remerciements pour vos précieux conseils et vos encouragements chaleureux qui ont permis la réalisation de ce travail. Que ce travail soit pour vous l'expression de la profonde estime que je vous témoigne.

A Monsieur **REZGUI** Farouk, Professeur à la Faculté de Technologie de l'Université de Bejaia : Votre présence en tant qu'invité du jury s'inscrit dans une continuité logique puisque vous m'avez prodiguée tout au long de mon projet un soutien sans faille. Merci pour toutes les collaborations, les discussions et les conseils prodigués. Trouvez ici l'expression de ma respectueuse reconnaissance.

A Monsieur **BOUNOURE** Frédéric, Chercheur au Laboratoire de Pharmacie Galénique, Maître de Conférences à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de l'Université de Rouen/France : Trouvez ici le témoignage de mon profond respect et de mes remerciements les plus sincères.

A Monsieur **HALLOUARD** François, Chercheur au Laboratoire de Pharmacie Galénique, Maître de Conférences à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de l'Université de Rouen/France : Je tiens à vous adresser mes remerciements les plus sincères pour votre contribution à la révision et à l'enrichissement de ma 3^{ème} publication.

A Monsieur **MILON** Nicolas, Ingénieur au Laboratoire de Pharmacie Galénique à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de l'Université de Rouen/France : Mes remerciements les plus chaleureux pour votre aide technique dans le déroulement des expériences de mes travaux de recherche ainsi que pour votre disponibilité permanente, votre patience et votre sympathie. Ce fut un véritable plaisir de travailler avec vous. Merci pour tout.

Ces quelques lignes sont aussi l'occasion pour moi de remercier le personnel du Centre de Recherche et de Développement (CRD) et celui de la filiale Antibiotical du groupe Sidal pour m'avoir gracieusement et généreusement fourni la majorité des matières premières utilisées tout au long de ce travail.

Remerciements

Mes remerciements s'adressent particulièrement à M^r HAMOUCHE, Président Directeur Général du groupe Sidal, M^r KERRACHE Zoubir, ex-Directeur de la filiale Antibiotical, M^r HABOUCHE, ex-Directeur du Laboratoire de Contrôle Qualité, M^{me} KERRACHE Sonia, ex-Directrice du Laboratoire de Physico-chimie, M^r MISSOUM Raouf, Directeur de l'usine de production , M^{me} GUEMANA Nacéra, Directrice du développement des médicaments génériques, M^{me} BAKHTI Farida, Directrice du Laboratoire de Contrôle Qualité, M^{me} BENKHELFA Naima, Chef de Département à l'usine de production à la filiale Antibiotical et M^r BOUDA Rezki, Directeur du CRD/Sidal.

Je voudrais aussi remercier tous mes ami(e)s et collègues de travail de disciplines variées pour les collaborations, les discussions, les conseils, l'aide et les encouragements prodigués tout au long de mon parcours de chercheur, particulièrement à M^{lle} ABERBACHE Nefissa, Consultante/Formatrice TSPP, M^{me} AYACHI Nabila, Maître Assistante Hospitalo-Universitaire à l'Université de Blida et M^{me} BENAZIZ Ouarda, Maître Assistante Hospitalo-Universitaire à l'Université de Blida, M^{me} BOUALI Fizia, Responsable du Contrôle Qualité au laboratoire de Pharmacie galénique / CRD-Sidal, M^{lle} DAHMANI Ghania, Cadre Chercheur au laboratoire de Pharmacie galénique / CRD-Sidal, M^r LAMARA Samir, Cadre Chercheur au Pharmacie galénique / CRD-Sidal, M^{me} HAMDY Nassima, Directrice d'un Laboratoire de Contrôle Qualité des médicaments/Présidente A3P, M^{me} HANK Samira, Directrice Technique Contrôle Qualité, M^{lle} HAFDALLAH Hadjfa, Secrétaire du PDG / groupe Sidal, M^{me} HAMMOUCHE Sonia, Chef de Service à la Direction de l'Environnement Minier, M^r DJEBBAR Mohamed, Maître Assistant à la Faculté de Pharmacie/Université d'Annaba, M^r MERAH, Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie/Université d'Annaba, M^r RAMDHANI Nasser, Enseignant-Chercheur à la Faculté de Biologie /Université de Bejaia, M^{me} MOULAHCENE Lamia, M^r BEJAOUI Fares, M^{me} FONTAINE Sonia, M^r FONTAINE David ainsi qu'à tous mes collègues du CRD/Sidal,.

De même, je tiens à remercier le personnel administratif du Département de Génie des Procédés de la Faculté des Sciences de l'Ingénieur de l'Université Badji Mokhtar Annaba pour tous ses services, sa sympathie et son soutien continuel, en particulier Lynda, la secrétaire du département de Génie des Procédés : Merci pour ta disponibilité, ta gentillesse, ton grand cœur, ta patience et le suivi à distance de tous mes dossiers administratifs.

Mes remerciements s'adressent également à tout le personnel technique et pédagogique du Département de Génie des Procédés de la Faculté de technologie de l'Université de Bejaia, particulièrement, M^{me} BRADAI Fatima, Responsable des laboratoires d'analyse, M^{me} BENAMEUR Amel, M^r MAMAS, M^{me} AMRANI Yasmina, M^{me} RABHI Wahiba et M^{me} OUALAH Nora.

Dédicaces

*Je dédie fortement ce travail à la mémoire de mon très cher père
qui nous a subitement quitté l'année passée :
A tout ce que tu m'as laissé en héritage de plus noble et de plus
précieux ; ton Amour, ta Fierté et ta Modestie !
Un grand merci pour avoir su me soutenir jusqu'au bout dans tout
mon cursus universitaire et professionnel !*

*Je dédie aussi fortement ce travail à ma très chère maman :
Merci pour tout ce que tu m'as donné depuis ma naissance
et pour ce que tu continue à me donner !
Merci pour ton soutien moral continuel !
Merci pour tes encouragements au cours de toutes ces années !*

A tous mes proches qui m'ont toujours soutenue :

*Ma sœur Yamina et son mari Nacer Eddine
Mes frères (Lahlal, Mehenni, Madjid, Kaci et Younes)
Mes nièces (Lamia, Kahina, Sylia, Roza, Amira, Sarah et Imene)
Mes neveux (Yacine, Mohamed, Sofiane, Ghiles, Massi, Mehdi et Wanis)
Mes belles sœurs (Btitra, Samira, Marianella, Sabrina et Nabila)*

SOMMAIRE

Liste des abréviations et symboles.....	XIII
Liste des tableaux.....	XIX
Liste des figures.....	XXI
Liste des équations.....	XXVIII
Introduction générale.....	1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Propriétés pharmacocinétiques d'un médicament	10
Introduction.....	11
1. Pharmacocinétique descriptive.....	12
1.1. Eléments de la pharmacologie médicale.....	12
1.1.1. Mécanismes d'action des médicaments.....	13
1.1.2. Description de l'itinéraire du médicament dans l'organisme.....	13
1.2. Devenir du médicament dans l'organisme.....	15
1.2.1. Absorption.....	15
1.2.1.1. Facteurs de passage du médicament à travers les membranes.....	16
1.2.1.2. Types de transport des médicaments à travers les membranes.....	17
1.2.1.3. Facteurs modifiant l'absorption.....	17
1.2.2. Distribution.....	18
1.2.3. Métabolisme.....	20
1.2.4. Elimination.....	23
2. Pharmacocinétique analytique.....	25
2.1. Outils et concepts.....	25
2.1.1. Intérêt des paramètres pharmacocinétiques pour la prescription.....	25
2.1.2. Principe de calcul des paramètres pharmacocinétiques.....	26
2.2. Quantification des concentrations plasmatiques.....	26
2.2.1. Volume de distribution.....	27
2.2.1.1. Modalités de calcul	27
2.2.1.2. Intérêt	28
2.2.2. Clairances.....	28
2.2.2.1. Notion de clairance.....	28
2.2.2.2. Notion du coefficient d'extraction.....	29
2.2.2.3. Clairances proprement dites.....	31

SOMMAIRE

2.2.3. Demi-vie.....	34
2.2.4. Biodisponibilité.....	34
2.2.4.1. Définition.....	34
2.2.4.2. Modalités de détermination.....	35
Conclusion.....	36
Références bibliographiques.....	37
Chapitre II : Solubilité et dissolution des médicaments	38
Introduction.....	39
1. Temps du transit dans le tractus gastro-intestinal.....	39
2. Variations du pH dans le tractus gastro-intestinal.....	41
3. Système de Classification Biopharmaceutique (SCB).....	41
4. Solubilité des médicaments.....	42
4.1. Définition.....	42
4.2. Méthodes d'étude de la solubilité.....	43
4.3. Facteurs influençant la solubilité.....	43
5. Dissolution des médicaments.....	45
5.1. Définition	45
5.2. Place de l'essai de dissolution.....	45
5.3. Théorie de la dissolution.....	46
5.4. Appareils de dissolution.....	48
5.5. Facteurs influençant la dissolution des médicaments.....	49
6. Amélioration de la solubilité et de la dissolution des médicaments.....	49
6.1. Amélioration de la solubilité des médicaments au niveau moléculaire.....	50
6.1.1. Complexation aux cyclodextrines.....	50
6.1.2. Utilisation des co – solvants.....	51
6.1.3. Formation des sels.....	51
6.2. Amélioration de la solubilité des médicaments au niveau colloïdal.....	52
6.3. Amélioration de la solubilité des médicaments au niveau particulaire.....	52
Conclusion.....	53
Références bibliographiques.....	54

SOMMAIRE

Chapitre III : Dispersions solides	56
Introduction	57
1. Généralités	57
1.1. Définition.....	57
1.2. Polymères utilisés.....	58
2. Classification physico-chimique	60
2.1. Mélanges eutectiques simples.....	60
2.2. Solutions solides.....	61
2.2.1. Solutions solides continues.....	62
2.2.2. Solutions solides discontinues.....	62
2.2.3. Solutions solides de substitution.....	63
2.2.4. Solutions solides interstitielles.....	63
2.3. Solutions vitreuses.....	64
3. Avantages	65
4. Préparation	66
4.1. Méthode de fusion.....	67
4.2. Méthode d'évaporation.....	68
5. Analyse des dispersions solides	68
5.1. Caractérisation physicochimique.....	68
5.2. Etude biopharmaceutique.....	71
Conclusion	73
Références bibliographiques	74
Chapitre IV: Complexes d'inclusion	76
Introduction	77
1. Cyclodextrines	78
1.1. Caractéristiques structurales.....	78
1.2. Propriétés physico-chimiques.....	80
1.3. Cyclodextrines modifiées et degré de substitution.....	82
1.4. Toxicité.....	84
1.5. Avantages.....	84

SOMMAIRE

2. Complexes d'inclusion.....	87
2.1. Définition.....	87
2.2. Formation.....	87
2.3. Méthodes de préparation.....	89
2.3.1. Kneading.....	89
2.3.2. Evaporation.....	89
2.3.3. Co-précipitation.....	89
2.3.4. Lyophilisation (Freeze drying).....	89
2.3.5. Séchage par pulvérisation (Spray drying).....	90
2.3.6. Mélange physique.....	90
3. Etude des diagrammes de solubilité Higuchi	90
4. Facteurs influençant la formation des complexes d'inclusion.....	92
4.1. Nature de la molécule invitée.....	92
4.2. Caractéristiques des cyclodextrines.....	94
4.3. Contexte chimique.....	94
4.4. Procédé de préparation.....	95
5. Applications des complexes d'inclusion.....	95
Conclusion.....	97
Références bibliographiques.....	98

Chapitre V: Anti-inflammatoires	105
Introduction.....	106
1. Généralités.....	106
1.1. Réaction inflammatoire.....	106
1.2. Physiopathologie de la réaction inflammatoire.....	107
2. Anti-inflammatoires.....	108
2.1. Groupes de médicaments anti-inflammatoires.....	108
2.2. Mécanismes d'action	109
3. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).....	110
3.1. Classification chimique.....	110
3.2. Pharmacocinétique.....	111
3.3. Principales caractéristiques.....	111

SOMMAIRE

4. Piroxicam.....	113
4.1. Propriétés pharmacocinétiques.....	113
4.2. Propriétés physico-chimiques.....	114
4.3. Effets indésirables.....	116
Conclusion.....	116
Références bibliographiques.....	117

Expérimentation

Introduction et objectifs du projet.....	122
---	------------

Chapitre I : Matériel et méthodes 124

1. Choix des matières premières.....	125
2. Etudes préliminaires.....	127
3. Courbes d'étalonnage.....	127
4. Diagrammes de solubilité de phase Higuchi.....	127
5. Préparation des complexes d'inclusion solides.....	129
6. Préparation des dispersions solides binaires et ternaires.....	133
6.1. Dispersions solides à faible concentration en PEG 6000.....	133
6.2. Dispersions solides à forte concentration en PEG 6000.....	134
7. Dissolution <i>in vitro</i>	136
7.1. Milieu de l'essai.....	136
7.2. Méthode de dosage du Piroxicam.....	136
7.3. Conditions opératoires.....	136
7.4. Traitement statistique	137
8. Caractérisation physico chimique	138
8.1. Spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (IR-TF).....	138
8.2. Calorimétrie différentielle à balayage (DSC).....	138
8.3. Analyse thermogravimétrique (ATG).....	139
8.4. Diffraction des rayons X (DRX).....	140
9. Biodisponibilité du complexe d'inclusion Px - β-CD.....	141
Références bibliographiques.....	143

SOMMAIRE

Chapitre II: Résultats et Discussions	145
Partie 1 : Influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - CD)	146
1. Objectif de l'étude.....	147
2. Résultats et discussion.....	147
2.1. Etudes préliminaires.....	147
2.2. Diagrammes de solubilité de phase.....	148
2.3. Dissolution des complexes d'inclusion.....	150
2.4. Caractérisation physicochimique des complexes d'inclusion solides.....	158
2.4.1. Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IR-TF).....	158
2.4.2. Calorimétrie différentielle à balayage (DSC) et analyse thermogravimétrique (ATG).....	159
2.4.3. Diffraction des rayons X (DRX).....	160
3. Conclusion.....	160
4. Références bibliographiques.....	161
Partie 2 : Influence de la nature du solvant sur les propriétés de dissolution d'une dispersion solide préparée par la méthode d'évaporation	163
1. Objectif de l'étude.....	164
2. Résultats et discussion.....	164
2.1. Système Px - β -CD.....	164
2.2. Système Px – PEG 6000.....	165
2.3. Système Px – PEG 6000 - β -CD.....	166
3. Conclusion.....	167
4. Références bibliographiques.....	168

SOMMAIRE

Partie 3 : Etude de l'effet du PEG 6000 sur la complexation et la dissolution des complexes d'inclusion Px - β-CD et Px - HP-β-CD	169
1. Objectif de l'étude.....	170
2. Résultats et discussion.....	170
2.1. Caractérisation physicochimique.....	170
2.1.1. Diffraction des rayons X (DRX).....	170
2.1.2. Calorimétrie à balayage différentiel (DSC).....	172
2.1.3. Spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (IR-TF).....	173
2.2. Dissolution.....	174
2.2.1. Profils de dissolution des systèmes β -CD.....	174
2.2.2. Profils de dissolution des systèmes HP- β -CD.....	176
3. Conclusion.....	179
4. Références bibliographiques.....	179
Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD	180
1. Objectif de l'étude.....	181
2. Résultats et discussion.....	181
2.1. Dissolution in vitro.....	181
2.1.1. Dispersions solides binaires.....	181
2.1.2. Dispersions solides ternaires.....	184
2.1.3. Etude comparative.....	185
2.2. Caractérisation physicochimique.....	191
2.2.1. Calorimétrie différentielle à balayage (DSC).....	191
2.2.2. Analyse thermogravimétrique (ATG).....	195
2.2.3. Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IR-TF).....	198
3. Conclusion.....	200
4. Références bibliographiques.....	200

SOMMAIRE

Partie 5 : Etude pharmacocinétique d'une formulation orale du Piroxicam contenant différents ratios molaires de la β-CD	202
1. Objectif de l'étude.....	203
2. Résultats et discussion.....	203
3. Conclusion.....	205
4. Références bibliographiques.....	206
Conclusion Générale et perspectives.....	208
Annexe 1 : Courbes d'étalonnage	212
Annexe 2 : Illustrations des échantillons de complexes d'inclusion.....	215
Annexe 3 : Caractérisation physico-chimiques des complexes d'inclusion.....	218
Annexe 4 : Caractérisation physico-chimiques des dispersions solides ternaires.....	230
Annexe 5 : Illustrations des échantillons de dispersions solides.....	235
Annexe 6 : Caractérisation physico-chimiques des dispersions solides binaires et ternaires	247
Annexe 7 : Glossaire de pharmacologie générale.....	260
Annexe 8 : Liste des publications et communications (orales et posters).....	272
Résumés (Arabe, Français et Anglais).....	273

Liste des abréviations et symboles

ADME :	Absorption, Distribution, Métabolisme, Elimination
ADN :	Acide désoxyribonucléique
AIS :	Anti-inflammatoire stéroïdien
AINS :	Anti-inflammatoire non stéroïdien
α :	Pente de la portion linéaire de la courbe
α-CD :	Alpha-cyclodextrine
ARN :	Acide ribonucléique
ASC :	Aire sous la courbe
(ASC)_{IV} :	Aire sous la courbe obtenue après administration du principe actif par voie intraveineuse
ASC_{forme 1} :	Aire sous la courbe correspondant à une forme galénique donnée
ASC_{forme réf.} :	Aire sous la courbe correspondant à la forme injectable (référence)
ATG:	Analyse thermogravimétrique
ATPase :	Enzyme d'hydrolyse ou de synthèse des molécules d'adénosine-triphosphate
AVK :	Anti vitamines K
β-CD :	Béta-cyclodextrine
B :	Binaire (Px – PEG 6000)
B10 :	Binaire à 10% en PEG 6000
B30 :	Binaire à 30% en PEG 6000
B50 :	Binaire à 50% en PEG 6000
B70 :	Binaire à 70% en PEG 6000
B90 :	Binaire à 90% en PEG 6000
B95 :	Binaire à 95% en PEG 6000
C_A :	Concentration de la substance à l'entrée dans l'organe
CD :	Cyclodextrine
CDs :	Cyclodextrines
CE :	Efficacité de complexation
Cl⁻ :	Ion chlorure
Cl :	Clairance d'un organe
Cl_H :	Clairance hépatique
Cl_M :	Clairance hépatique métabolique

Liste des abréviations et symboles

Cl_B :	Clairance de sécrétion biliaire
Cl_{Rénale} :	Clairance rénale
Cl_{Filtration} :	Clairance de filtration
Cl_{Réabsorption} :	Clairance de réabsorption
Cl_{int} :	Capacité métabolique intrinsèque du foie
Cl_{totale} :	Clairance totale
C_{max} :	Concentration plasmatique maximale
C_{min} :	Concentration plasmatique minimale
C_{moy} :	Concentration plasmatique moyenne
Cl_{partielles} :	Clairances partielles
C_s :	Concentration à saturation du produit à dissoudre
C_t :	Concentration de la solution à l'instant t
C_v :	Concentration de la substance à la sortie de l'organe
d :	Espacement entre les plans dans le réseau atomique
D :	Coefficient de diffusion
DCI :	Dénomination Commune Internationale
DCM :	Dichlorométhane
DM- :	Diméthyl-
DM-β-CD :	Diméthyl-β-cyclodextrine (Dimeb)
DP :	« Dissolved percentage » (Pourcentage de dissolution)
DP₁₀ :	Pourcentage de dissolution à 10 min
DP₃₀ :	Pourcentage de dissolution à 30 min
DP₆₀ :	Pourcentage de dissolution à 60 min
DRX :	Diffraction des rayons X
DS :	Dispersion solide
D.S. :	Degré de substitution (moyen)
DSC :	« Differential Scanning Calorimetry » (Calorimétrie à balayage différentiel)
ΔH :	Variation d'enthalpie
ΔS :	Variation d'entropie
E :	Coefficient d'extraction du médicament par l'organe

Liste des abréviations et symboles

E_H :	Coefficient d'extraction hépatique
F :	Biodisponibilité absolue
FaSIF :	« Fasted Simulated Intestinal Fluid » (Fluide intestinal simulé à Jeûn)
FeSIF :	« Fed Simulated Intestinal Fluid » (Fluide intestinal simulé avec nourriture)
Fr :	Lyophilisat
γ-CD :	Gamma-cyclodextrine
h :	Epaisseur
HP- :	Hydroxypropyl-
HPLC :	Chromatographie en phase Liquide à Haute Performance
HP-β-CD :	Hydroxypropyl-β-cyclodextrine
HP-γ-CD :	Hydroxypropyl-γ- cyclodextrine
IAEC :	« Institutional Animals Ethics Committee » (Comité d'éthique animale institutionnel)
ICDD :	Centre international des données de la diffraction
IM :	Intra-musculaire
IR-TF :	Infrarouge à transformée de Fourier
IV :	Intra-veineuse
K :	Constante de dissolution
K⁺ :	Ion potassium
K_a :	Constante de vitesse d'absorption
K_d :	Constante de dissociation d'un complexe d'inclusion
K_{el} :	Constante d'élimination
K_f :	Constante de formation ou d'association d'un complexe d'inclusion
K_s :	Constante de stabilité apparente d'un complexe d'inclusion
λ :	Longueur d'onde des rayons X
LPP :	Liaison aux protéines plasmatique
LT :	Leucotriènes

Liste des abréviations et symboles

M :	Quantité de produit dissous
M-β-CD :	Methyl- β -CD
Na⁺ :	Ion sodium
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
ORL :	Oto-Rhino-Larynologie
p :	Degré de signification
PEG :	Polyéthylène glycol
PEGs :	Polyéthylène glycols
PG :	Prostaglandines
pH :	Potentiel hydrogène
PM :	Poids moléculaire
PVP :	Polyvinylpyrrolidone
Px :	Piroxicam
Q :	Débit sanguin
Q_H :	Débit sanguin hépatique
Rameb :	« Randomyl méthyated β -cyclodextrine » (β -cyclodextrine méthyée de façon aléatoire)
RMN :	Résonance magnétique nucléaire
RS :	« Rapid solidification » (solidification rapide)
S :	Surface de contact solide-liquide ou surface d'échange
S₀ :	Solubilité intrinsèque du principe actif
SBE- :	Sulfobutyléther-
SBE-β-CD :	Sulfobutyléther- β -cyclodextrine
SC :	Sous cutanée
SCB :	Système de Classification Biopharmaceutique
SCF :	« Supercritical Fluid »
SD:	« Standard deviation » (Ecart-type)

Liste des abréviations et symboles

Σ :	Somme
Sp :	« Spray-dried »
SS :	« Slow solidification » (solidification lente)
T :	Ternaire
T_{βCD} :	Ternaire contenant la β -CD
T_{βCD 70%} :	Ternaire contenant la β -CD à 70% en PEG 6000
T_{βCD 90%} :	Ternaire contenant la β -CD à 90% en PEG 6000
T_{βCD 95%} :	Ternaire contenant la β -CD à 95% en PEG 6000
T_{βCD 70% Fr} :	Ternaire contenant la β -CD à 70% en PEG 6000 dont le complexe a été préparé par lyophilisation
T_{βCD 70% Sp} :	Ternaire contenant la β -CD à 70% en PEG 6000 dont le complexe a été préparé par spray-drying
T_{βCD 90% Fr (SS)} :	Ternaire contenant la β -CD à 90% en PEG 6000 dont le complexe a été préparé par lyophilisation avec solidification lente de la DS
T_{βCD 90% Fr (RS)} :	Ternaire contenant la β -CD à 90% en PEG 6000 dont le complexe a été préparé par lyophilisation avec solidification rapide de la DS
T_{βCD 70% Sp (SS)} :	Ternaire contenant la β -CD à 70% en PEG 6000 dont le complexe a été préparé par spray-drying avec solidification lente de la DS
T_{HPβCD} :	Ternaire contenant HP- β -CD
T_{HPβCD 50%} :	Ternaire contenant HP- β -CD à 50% en PEG 6000
T_{HPβCD 70%} :	Ternaire contenant HP- β -CD à 70% en PEG 6000
T_{HPβCD 90%} :	Ternaire contenant HP- β -CD à 90% en PEG 6000
T_{HPβCD 95%} :	Ternaire contenant HP- β -CD à 95% en PEG 6000
T_{HPβCD 70% Fr (SS)} :	Ternaire contenant HP- β -CD à 70% en PEG 6000 dont le complexe a été préparé par lyophilisation avec solidification lente de la DS
T_{HPβCD 70% Fr (RS)} :	Ternaire contenant HP- β -CD à 70% en PEG 6000 dont le complexe a été préparé par lyophilisation avec solidification rapide de la DS
T_{HPβCD 70% Sp (SS)} :	Ternaire contenant HP- β -CD e à 70% en PEG 6000 dont le complexe a été préparé par spray-drying avec solidification lente de la DS

Liste des abréviations et symboles

$t_{1/2}$:	Demi-vie plasmatique
$t_{50\%}$:	Demi-vie de la dissolution
Θ :	Angle entre le rayon X incident et les plans de diffusion
T_g :	Température de transition vitreuse
T_{max} :	Temps nécessaire pour atteindre la concentration plasmatique maximale
Trimeb :	Triméthyl- β -cyclodextrine
USP :	United States Pharmacopeia (Pharmacopée des Etats Unis)
UV:	Ultra Violet
V_d :	Volume de distribution

Liste des tableaux

Synthèse bibliographique

Liste des tableaux du chapitre I

- Tableau I.1 :** Principales réactions de conjugaison (p. 22)
- Tableau I.2 :** Volumes apparents de distribution de quelques médicaments (p. 28)
- Tableau I.3 :** Principaux éléments susceptibles de modifier le débit hépatique (p. 33)

Liste des tableaux du chapitre II

- Tableau II.1 :** Temps du transit et pH du tractus gastro-intestinal (p. 41)
- Tableau II.2 :** Pourcentage de distribution des médicaments administrés par voie orale selon les classes du SCB (p. 42)
- Tableau II.3 :** Mesure de la solubilité (p. 43)
- Tableau II.4 :** Facteurs influençant la dissolution des médicaments dans le tractus gastro-intestinal (p. 49)

Liste des tableaux du chapitre III

- Tableau III.1 :** Exemples de véhicules utilisés dans la préparation des dispersions solides (p. 58)

Liste des tableaux du chapitre IV

- Tableau VI.1 :** Propriétés structurales des cyclodextrines naturelles (α -CD, β -CD et γ -CD) (p. 80)
- Tableau IV.2 :** Caractéristiques physico-chimiques des CDs naturelles (α -CD, β -CD et γ -CD) (p. 80)
- Tableau IV.3 :** Structures chimiques de dérivés de la β -CD (p. 83)
- Tableau IV.4 :** Caractéristiques de quelques cyclodextrines naturelles et de leurs dérivés (p. 83)
- Tableau IV.5 :** Exemples d'applications des cyclodextrines pour la voie orale (p. 96)

Liste des tableaux du chapitre V

- Tableau V.1 :** Principaux anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) (p. 111)
- Tableau V.2 :** Principales caractéristiques des différentes classes d'AINS (p. 112)
- Tableau V.3 :** Propriétés physico-chimiques du piroxicam (p. 115)

Liste des tableaux

Expérimentation

Liste des tableaux de la partie 1

- Tableau 1 :** DP₅ (%), DP₃₀ (%), DP₆₀ (%) du Px seul et du Px sans CD, traité par le kneading, la co-précipitation et l'évaporation dans le tampon citrate sodium (pH = 6,8) à 37 ± 0,5°C (p. 151)
- Tableau 2A :** DP₅ (%), DP₃₀ (%), DP₆₀ (%) et t_{50%} (min) du Px seul et des systèmes (Px – β-CD) dans le tampon citrate sodium pH = 6,8 à 37 ± 0,5°C (p. 153)
- Tableau 2B :** DP₅ (%), DP₃₀ (%), DP₆₀ (%) et t_{50%} (min) du Px seul et des systèmes (Px – HP-βCD) dans le tampon citrate sodium pH = 6,8 à 37 ± 0,5°C (p. 154)
- Tableau 3 :** Données de la DSC des complexes d'inclusion Px – βCD (A) et Px – HP-βCD (B) (cf. Annexe 3) (p. 227)

Liste des tableaux de la partie 4

- Tableau 1 :** Données de la dissolution in vitro du Px des dispersions solides binaires préparées par évaporation dans l'eau distillée à 37 ± 0,5°C (p. 183)
- Tableau 2 :** Données de la dissolution in vitro du Px des dispersions solides binaires préparées par fusion - solidification dans l'eau distillée à 37 ± 0,5°C (p. 183)
- Tableau 3 :** Caractéristiques thermiques de la dispersion solide binaire (Px – PEG 6000) à différentes proportions du PEG 6000 (p. 194)
- Tableau 4 :** DSC de la dispersion solide binaire préparée par évaporation ou par fusion à différentes proportions du PEG 6000 (p. 194)

Liste des tableaux de la partie 5

- Tableau 1 :** Paramètres pharmacocinétiques du Px chez le lapin après administration orale d'une dose de Px égale à 10 mg/Kg (Px seul ou complexe Px - β-CD aux différents rapports molaires) (p. 204)

Synthèse bibliographique

Liste des figures du chapitre I

- Figure I.1 :** Les différentes phases de la pharmacologie (p. 12)
- Figure I.2 :** Schéma décrivant les voies d'administration et le cheminement du principe actif (p. 14)
- Figure I.3:** Courbes de concentration plasmatique d'un médicament administré par voie orale (influence des aliments) (p. 18)
- Figure I.4 :** Intervalle thérapeutique d'un médicament (p. 25)
- Figure I.5 :** Illustration de la clairance d'un médicament dans un organe (p. 30)

Liste des figures du chapitre II

- Figure II.1 :** Anatomie des voies digestives (p. 40)
- Figure II.2 :** Schéma illustrant la dissolution d'une particule selon la théorie de la couche de diffusion (p. 47)

Liste des figures du chapitre III

- Figure III.1 :** Schéma illustrant les trois modes d'incorporation du principe actif dans une dispersion solide (p. 57)
- Figure III.2 :** Diagramme de phase d'un mélange eutectique simple (p. 61)
- Figure III.3 :** Diagramme de phase hypothétique d'une solution solide continue (p. 62)
- Figure III.4 :** Diagramme de phase hypothétique d'une solution solide discontinue (p. 62)
- Figure III.5 :** Schéma d'une solution solide de substitution (p. 63)
- Figure III.6 :** Schéma d'une solution solide interstitielle (p. 64)
- Figure III.7 :** Schéma d'un système DSC (a) et d'un thermogramme typique (b) (p. 69)
- Figure III.8 :** Schéma d'un diffractomètre des rayons X sur les poudres (p. 71)

Liste des figures du chapitre IV

- Figure IV.1 :** Représentation de la structure chimique d'une cyclodextrine naturelle (p. 79)

Liste des figures

- Figure IV.2 :** Structure chimique et forme conique de la molécule β -CD (p. 82)
- Figure IV.3:** Schéma illustrant la formation d'un modèle conventionnel d'un complexe d'inclusion (acide salicylique / β -CD) (p. 88)
- Figure IV.4:** Diagramme de solubilité de phase (p. 91)
- Figure IV.5:** Représentations schématiques de complexes d'inclusion de stœchiométries différentes (p. 93)

Liste des figures du chapitre V

- Figure V.1 :** Principaux phénomènes de l'inflammation (p. 108)
- Figure V.2 :** Mécanismes d'action des anti-inflammatoires (p. 110)

Expérimentation

Liste des figures du chapitre « Matériel et Méthodes »

- Figure 1 :** Dispositif expérimental pour la réalisation du diagramme de solubilité de phase Higuchi (p. 128)
- Figure 2 :** Centrifugeuse (p. 128)
- Figure 3 :** Courbe d'étalonnage du Px dissout dans l'eau distillée (**Annexe 1**) (p. 212)
- Figure 4 :** Agitateur à hélice (p. 130)
- Figure 5 :** Dispositif de filtration sous vide (p. 130)
- Figure 6 :** Evaporateur rotatif (p. 130)
- Figure 7 :** Lyophilisateur (p. 131)
- Figure 8 :** Appareil de séchage par pulvérisation (Spray dryer) (p. 132)
- Figure 9 :** Appareillage de la méthode de préparation des échantillons par fusion (A : Fusion du mélange, B : Solidification du mélange) (p. 135)
- Figure 10 :** Courbe d'étalonnage du Px dissout dans le tampon citrate de sodium à pH = 6,8 (Dosage par UV-Visible) (**Annexe 1**) (p. 212)
- Figure 11 :** Appareil de dissolution (p. 137)
- Figure 12 :** Spectrophotomètre UV-Visible (p. 137)

Liste des figures

Figure 13 :	Spectromètre Infra Rouge à Transformée de Fourier (IR-TF)	(p. 138)
Figure 14 :	Appareil de Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)	(p. 139)
Figure 15 :	Appareil de l'Analyse Thermogravimétrique (ATG)	(p. 139)
Figure 16 :	Appareil de Diffraction des rayons X (DRX)	(p. 140)
Figure 17 :	Appareil de Chromatographie en phase liquide (HPLC)	(p. 142)
Figure 18 :	Courbe d'étalonnage du Px dissout dans le plasma du lapin (Dosage par HPLC) (Annexe 1)	(p. 213)

Liste des figures de la partie 1

Figure 1A :	Effet du pH sur la solubilité du Px seul et du complexe d'inclusion Px - β -CD	(p. 148)
Figure 1B :	Effet de la vitesse d'agitation sur la solubilité du complexe d'inclusion Px - β -CD	(p. 148)
Figure 2 :	Diagramme de solubilité de phase des systèmes Px - β -CD et Px - HP- β -CD dans l'eau distillée à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$	(p. 149)
Figure 3 :	Profils de dissolution du Px seul et du Px sans CD, traité par l'évaporation, la co-précipitation et le kneading dans le tampon citrate sodium (pH = 6,8) à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$	(p. 150)
Figure 4A :	Profils de dissolution du Px seul et du système (Px - β -CD) dans le tampon citrate sodium (pH = 6,8) à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$	(p. 151)
Figure 4B :	Profils de dissolution du Px seul et du système (Px - HP- β -CD) dans le tampon citrate sodium (pH = 6,8) à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$	(p. 152)
Figure 5A :	Effet du pH de la formulation du complexe d'inclusion Px - β -CD sur la dissolution du lyophilisat dans le tampon citrate sodium (pH = 6,8) à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$	(p. 155)
Figure 5B :	Effet du pH de la formulation du complexe d'inclusion (Px - HP- β -CD) sur la dissolution du lyophilisat dans le tampon citrate sodium (pH = 6,8) à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$	(p. 155)
Figure 6 :	Spectres IR-TF des substances pures (Px, β -CD et HP- β -CD) (Annexe 3)	(p. 218)
Figure 7:	Spectres IR-TF des complexes d'inclusion Px - β -CD et du produit Brexin® (Annexe 3)	(p. 219)

Liste des figures

- Figure 8 :** Spectres IR-TF des complexes d'inclusion Px – HP – β -CD (Annexe 3) (p. 220)
- Figure 9 :** Spectres IR-TF du Px traité (Annexe 3) (p. 221)
- Figure 10 :** Courbes TGA des substances pures (Px, β CD et HP – β -CD) (Annexe 3) (p. 222)
- Figure 11 :** Courbes TGA des complexes d'inclusion Px – β CD et du produit Brexin® (Annexe 3) (p. 223)
- Figure 12 :** Courbes TGA des complexes d'inclusion Px – HP- β CD (Annexe 3) (p. 224)
- Figure 13 :** Courbes DSC des substances pures (Px, β CD et HP- β CD) (Annexe 3) (p. 225)
- Figure 14 :** Courbes DSC des complexes d'inclusion Px – β CD et du produit Brexin® (Annexe 3) (p. 226)
- Figure 15 :** Courbes DSC des complexes d'inclusion Px – HP- β CD (Annexe 3) (p. 227)
- Figure 16 :** Spectres DRX des constituants (Px, β -CD et HP- β -CD) et complexes d'inclusion (Px – β -CD et Px – HP- β -CD) préparés par mélange physique et kneading (Annexe 3) (p. 228)

Liste des figures de la partie 2

- Figure 1 :** Cinétique de dissolution du complexe d'inclusion Px- β -CD préparé par méthode d'évaporation du solvant (p. 164)
- Figure 2 :** Cinétique de dissolution de la dispersion solide Px – PEG 6000 préparée par la méthode d'évaporation du solvant (p. 165)
- Figure 3 :** Cinétique de dissolution de la dispersion solide Px – PEG 6000 - β -CD préparée par la méthode d'évaporation du solvant (p. 166)

Liste des figures de la partie 3

- Figure 1 :** DRX des systèmes à base de β -CD préparés par mélange physique (p. 171)
- Figure 2 :** DRX des systèmes à base de β -CD préparés par Kneading (p. 171)
- Figure 3 :** DRX des systèmes à base de HP β -CD préparés par mélange physique (p. 171)
- Figure 4 :** DRX des systèmes à base de HP β -CD préparés par Kneading (p. 171)

Liste des figures

- Figure 5 :** Spectres DSC du binaire Px - β CD et des ternaires Px- β CD – PEG 6000 à 1%, 2,5% et 5% en PEG 6000 préparés par mélange physique (p. 172)
- Figure 6 :** Spectres DSC du binaire Px - β CD et des ternaires Px - β CD – PEG 6000 à 1%, 2,5% et 5% en PEG 6000 préparés par Kneading (p. 173)
- Figure 7 :** Spectres IR-TF du binaire Px - β -CD et des ternaires Px - β -CD-PEG 6000 (1%, 2.5%, 5% et 10%) préparés par Mélange physique. (Annexe 4) (p. 230)
- Figure 8 :** Spectres IR-TF du binaire Px - β -CD et des ternaires Px - β -CD-PEG 6000 (1%, 2.5%, 5% et 10%) préparés par Kneading. (Annexe 4) (p. 231)
- Figure 9 :** Spectres IR-TF du binaire Px - HP β -CD et des ternaires Px - HP β -CD - PEG 6000 (1%, 2.5%, 5% et 10%) préparés par Mélange physique. (Annexe 4) (p. 232)
- Figure 10 :** Spectres IR-TF du binaire Px - HP β -CD et des ternaires Px - HP β -CD -PEG 6000 (1%, 2.5%, 5% et 10%) préparés par Kneading. (Annexe 4) (p. 233)
- Figure 11 :** Cinétique de dissolution du complexe d'inclusion Px- β -CD et des systèmes ternaires Px - β -CD - PEG 6000 préparés par mélange physique (p. 175)
- Figure 12 :** Cinétique de dissolution du complexe d'inclusion Px- β -CD et des systèmes ternaires Px - β -CD - PEG 6000 préparés par kneading (p. 176)
- Figure 13 :** Cinétique de dissolution du complexe d'inclusion Px-HP β -CD et des systèmes ternaires Px - HP β -CD - PEG 6000 préparés par mélange physique (p. 177)
- Figure 14 :** Cinétique de dissolution du complexe d'inclusion Px-HP β -CD et des systèmes ternaires Px - HP β -CD - PEG 6000 préparés par kneading (p. 178)

Liste des figures de la partie 4

- Figure 1 :** Dispersions solides binaires préparées par la méthode d'évaporation (p. 187)
- Figure 2 :** Dispersions solides binaires préparées par la méthode de fusion (SS : solidification lente) (p. 187)
- Figure 3 :** Dispersions solides binaires préparées par la méthode de fusion (RS : solidification rapide) (p. 187)

Liste des figures

- Figure 4 :** Dispersions solides ternaires préparées par la méthode d'évaporation du solvant (Fr : lyophilisat, Sp : spray-dried) (p. 188)
- Figure 5 :** Dispersions solides ternaires préparées par la méthode de fusion (SS : solidification lente, Fr : lyophilisat, Sp : spray-dried) (p. 188)
- Figure 6 :** Dispersions solides ternaires préparées par la méthode de fusion (solidification rapide : RS, Fr : lyophilisat, Sp : spray-dried) (p. 188)
- Figure 7 :** Dispersions solides de l'évaporé binaire et des évaporés ternaires à 70% de PEG 6000 (p. 189)
- Figure 8 :** Dispersions solides de l'évaporé binaire et des évaporés ternaires à 90% de PEG 6000 (p. 189)
- Figure 9 :** Dispersions solides de l'évaporé binaire et des évaporés ternaires à 95% de PEG 6000 (p. 189)
- Figure 10 :** Dispersions solides du Co-fondu binaire et des Co-fondus ternaires à 50% de PEG 6000 (p. 190)
- Figure 11 :** Dispersions solides du Co-fondu binaire et des Co-fondus ternaires à 70% de PEG 6000 (p. 190)
- Figure 12 :** Dispersions solides du Co-fondu binaire et des Co-fondus ternaires à 90% de PEG 6000 (p. 191)
- Figure 13 :** Dispersions solides du Co-fondu binaire et des Co-fondus ternaires à 95% de PEG 6000 (p. 191)
- Figure 14 :** Courbes DSC du Px, du PEG 6000, de la β -CD et de la HP- β -CD (p. 193)
- Figure 15 :** Courbes DSC des évaporés binaires à 10%, 30%, 50%, 70%, 90% et 95% en PEG 6000 (**Annexe 6**) (p. 247)
- Figure 16 :** Courbes DSC des Co-fondus binaires à 50%, 70%, 90 et 95% en PEG 6000 (SS): solidification lente, (RS): solidification rapide (**Annexe 6**). (p. 248)
- Figure 17 :** Courbes DSC des évaporés ternaires à 70%, 90% and 95% en PEG 600 (Fr): lyophilisat Px - β CD, (Sp): spray-dried Px - β CD (**Annexe 6**) (p. 249)
- Figure 18 :** Courbes DSC des Co-fondus ternaires à 70%, 90% and 95% en PEG 6000 (Fr): Lyophilisat Px - β CD, (Sp): Spray-dried Px - β CD, (SS): solidification lente, (RS): solidification rapide (**Annexe 6**) (p. 250)
- Figure 19 :** Courbes DSC des évaporés ternaires à 70%, 90% and 95% en PEG 6000 (Fr): Lyophilisat Px - HP β CD, (Sp): Spray-dried Px - HP β CD (**Annexe 6**) (p. 251)

Liste des figures

- Figure 20 :** Courbes DSC des Co-fondus ternaires à 70%, 90% and 95% en PEG 6000 (Fr): Lyophilisat Px - HP β CD, (Sp): Spray-dried Px – HP β CD, (SS): solidification lente, (RS): solidification rapide (**Annexe 6**) (p. 252)
- Figure 21 :** Courbes TGA du Px, du PEG 6000, de la β -CD et de la HP- β -CD (p. 196)
- Figure 22 :** Courbes TGA des dispersions solides binaires (A et B) et ternaires (A1, A2, B1 et B2) du Px à différentes proportions du PEG 6000 (p. 197)
- Figure 23 :** Spectres IR-TF du Px, du PEG 6000, de la β -CD et de la HP- β -CD (p. 199)
- Figure 24 :** Spectres IR-TF des évaporés binaires à 10%, 30%, 50%, 70%, 90% et 95% en PEG 6000 (**Annexe 6**) (p. 253)
- Figure 25 :** Spectres IR-TF des Co-fondus binaires à 50%, 70%, 90% et 95% en PEG 6000, SS : Solidification lente, RS : Solidification rapide (**Annexe 6**) (p. 254)
- Figure 26 :** Spectres IR-TF des évaporés ternaires à base de β -CD et du PEG 6000 à 70%, 90% et 95%, Fr : Lyophilisat, Sp : Spray-dried (**Annexe 6**) (p. 255)
- Figure 27 :** Spectres IR-TF des évaporés ternaires à base de HP - β -CD et du PEG 6000 à 70%, 90% et 95%, Fr : Lyophilisat, Sp : Spray-dried (**Annexe 6**) (p. 256)
- Figure 28 :** Spectres IR-TF des Co-fondus ternaires à base de β -CD et du PEG 6000 à 70%, 90% et 95%, Fr : Lyophilisat, Sp : Spray-dried, (Solidification lente) (**Annexe 6**) (p. 257)
- Figure 29 :** Spectres IR-TF des Co-fondus ternaires à base de HP - β -CD et du PEG 6000 à 70%, 90% et 95%, Fr : Lyophilisat, Sp : Spray-dried, (Solidification lente) (**Annexe 6**) (p. 258)

Liste des figures de la partie 5

- Figure 1 :** Profil de la concentration plasmatique moyenne du Px seul (p. 204)
- Figure 2 :** Profils de la concentration plasmatique moyenne du Px – β -CD aux différents rapports molaires (1 : 1 ; 1 : 2,5 ; 1 : 3 et 1 : 4) (p. 205)

Liste des équations

Liste des équations du Chapitre I « Propriétés pharmacocinétiques des médicaments » :

$$V_d = \frac{\text{Quantité de médicament dans l'organe}}{\text{Concentration du médicament}} \quad \text{Eq. I.1 (p. 27)}$$

V_d : Volume de distribution

$$Cl = Q \times E \quad \text{Eq. I.2 (p. 29)}$$

Cl : Clairance d'un organe ;

Q : Débit sanguin irrigant l'organe ;

E : Coefficient d'extraction du médicament par l'organe.

$$Cl_{\text{totale}} = Cl_{\text{hépatique}} + Cl_{\text{rénale}} + \dots = \sum Cl_{\text{partielles}} \quad \text{Eq. I.3 (p. 29)}$$

$$\text{Vitesse d'apport} = Q \times C_A \quad \text{Eq. I.4 (p. 29)}$$

$$\text{Vitesse de sortie} = Q \times C_V \quad \text{Eq. I.5 (p. 29)}$$

$$\text{Vitesse d'extraction} = Q \times (C_A - C_V) \quad \text{Eq. I.6 (p. 29)}$$

$$E = \frac{C_A - C_V}{C_A} \quad \text{Eq. I.7 (p. 29)}$$

$$Q \times E = \frac{Q (C_A - C_V)}{C_A} \quad \text{Eq. I.8 (p. 30)}$$

Q : Débit

C_A : Concentration de la substance à l'entrée dans l'organe :

C_V : Concentration de la substance la sortie de l'organe

E : Coefficient d'extraction

$$\text{Clairance} = \frac{\text{Vitesse d'élimination}}{\text{Concentration}} \quad \text{Eq. I.9 (p. 30)}$$

Liste des équations

$$Cl_H = Cl_M + Cl_B \quad \text{Eq. I.10 (p. 31)}$$

- Cl_H : Clairance hépatique
 Cl_M : Clairance hépatique métabolique
 Cl_B : Clairance de sécrétion biliaire

$$Cl_H = Q_H \times E_H = Q_H \frac{f_B \times Cl_{int}}{Q_H + (f_B \times Cl_{int})} \quad \text{Eq. I.11 (p. 32)}$$

- Q_H : Débit sanguin hépatique ;
 E_H : Coefficient d'extraction hépatique ;
 Cl_{int} : Capacité métabolique intrinsèque du foie, pour le système enzymatique donné.

$$Cl_B = \frac{\text{Débit biliaire} \times \text{Concentration biliaire}}{\text{Concentration plasmatique}} \quad \text{Eq. I.12 (p. 32)}$$

$$Cl_{Rénale} = Cl_{Filtration} - Cl_{Réabsorption} \quad \text{Eq. I.13 (p. 33)}$$

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{K_{el}} \quad \text{Eq. I.14 (p. 34)}$$

$$K_{el} = \frac{\text{Log}(C_1/C_2)}{t_2 - t_1} \quad \text{Eq. I.15 (p. 34)}$$

$$t_{1/2} = \frac{0.693 \times V_d}{Cl} \quad \text{Eq. I.16 (p. 34)}$$

- K_{el} : Constante d'élimination ;
 C_1 : Concentration au temps t_1 ;
 C_2 : Concentration au temps t_2 ;
 $t_{1/2}$: Demi- vie plasmatique

Liste des équations

$$\text{Biodisponibilité relative} = \frac{\text{ASC}_{\text{forme 1}} \times 100}{\text{ASC}_{\text{forme réf.}}} \quad \text{Eq. I.17 (p. 36)}$$

$\text{ASC}_{\text{forme 1}}$: Aire sous la courbe correspondant à une forme donnée (orale, rectale, ...etc.) ;

$\text{ASC}_{\text{forme réf.}}$: Aire sous la courbe correspondant à la forme de référence (injectable).

Liste des équations du Chapitre II « Solubilité et dissolution des médicaments » :

$$\text{Taux de dissolution} = (dM/dt) = KS (C_s - C_t) \quad \text{Eq. II.1 (p. 46)}$$

M : Quantité de produit dissous ;

K : Constante de dissolution ;

S : Surface de contact solide-liquide ou surface d'échange ;

C_s : Concentration à saturation du produit à dissoudre ;

C_t : Concentration de la solution à l'instant t.

$$(dC/dt) = \frac{DS (C_s - C_t)}{Vh} \quad \text{Eq. II.2 (p. 47)}$$

h : Epaisseur;

D : Coefficient de diffusion.

Liste des équations du Chapitre III « Dispersions solides » :

$$n \lambda = 2d \sin \theta \quad \text{Eq. III.1 (p. 70)}$$

n : Nombre entier ;

λ : Longueur d'onde des rayons X ;

d : Espacement entre les plans dans le réseau atomique ;

θ : Angle entre le rayon incident et les plans de diffusion.

Liste des équations

Liste des équations du Chapitre IV « Complexes d'inclusion » :

$$K_f = \frac{[CD : A]}{[CD][A]} = \frac{1}{K_d} \quad \text{Eq. VI. 1 (p. 87)}$$

K_f : Constante de formation ou d'association du complexe d'inclusion;

K_d : Constante de dissociation du complexe d'inclusion.

$$K_s = \frac{\alpha}{S_0(1 - \alpha)} \quad \text{Eq. VI. 2 (p. 92)}$$

K_s : Constante de stabilité du complexe d'inclusion;

α : Pente de la portion linéaire de la courbe ;

S₀ : Solubilité intrinsèque du principe actif.

Introduction générale

Introduction Générale

Dans le domaine du développement des médicaments, il est estimé que 40% des nouvelles entités chimiques actuellement découvertes sont peu solubles dans l'eau [1, 2]. Malheureusement, beaucoup de ces molécules potentielles sont abandonnées dans les premiers stades de développement en raison d'une solubilité aqueuse insuffisante. Il devient donc important de mettre en place des stratégies pour palier à ce problème de solubilité limitante et de les appliquer dans le domaine de l'industrie pharmaceutique afin d'exploiter au mieux ces molécules [3]. Ainsi, la mise en place de stratégies permettant de surmonter cet obstacle représente l'un des grands défis pour les scientifiques dans la recherche pharmaceutique [4]. Ces stratégies comprennent la complexation avec les cyclodextrines (CDs), la formation des dispersions solides, la solubilisation à l'aide des agents tensio-actifs, la réduction de la taille des particules, l'utilisation de co-solvants, l'hydrootropie et l'utilisation de dérivés ou de sels hydrosolubles [5 - 7]. Aussi, précisons que parmi celles-ci, la complexation avec des CDs et la dispersion solide sont les méthodes les plus fréquemment utilisées.

Le mode d'administration d'un médicament dans l'organisme joue très souvent un rôle déterminant dans la réponse thérapeutique. L'administration des médicaments dans l'organisme est effectuée le plus souvent soit par voie orale, soit par voie parentérale (voie d'urgence) où la voie orale représente la voie d'administration la plus utilisée. Par ailleurs, signalons que l'absorption du médicament à partir des formes galéniques orales solides dépend de la libération de la substance médicamenteuse, de sa dissolution dans les conditions physiologiques et de sa perméabilité à travers le tractus gastro-intestinal [8]. L'augmentation de la solubilité du médicament contribue donc d'une manière significative à l'amélioration de l'absorption et, par conséquent, de la biodisponibilité de celui-ci.

Dans notre étude, dont l'objectif principal est d'améliorer la dissolution des médicaments par inclusion dans les cyclodextrines et formation de dispersions solides, le médicament modèle choisi est le Piroxicam (Px) ; anti-inflammatoire non-stéroïdien (AINS) appartenant à la famille des oxicams (N-hétérocycles carboxamic dérivés de la benzothiazine-1,2-dioxyde-1,1) doué d'une rapidité d'action de l'analgésie [9, 10]. Ce médicament recommandé pour le traitement des troubles rhumatismaux et les autres symptômes arthritiques chroniques appartient à la classe II du Système de Classification Biopharmaceutique répondant par une faible solubilité gastro-intestinale et une perméabilité élevée. Cependant, sa très faible solubilité dans l'eau et sa mauvaise dissolution entraînent des problèmes de formulation et limitent son application thérapeutique [4]. Pour pallier à cet inconvénient, nous avons d'abord envisagé la complexation du Px avec les CDs, puis, la formation de dispersions solides dans ce travail de recherche.

Introduction Générale

Les CDs sont des molécules en forme de tore-cycliques avec une surface extérieure hydrophile et une cavité centrale lipophile qui peut recevoir une grande variété de médicaments lipophiles [11]. Actuellement, le nombre de médicaments à base de cyclodextrines, augmente de plus en plus sur le marché pharmaceutique [12-16]. Il en résulte généralement des changements favorables dans les propriétés physico-chimiques de la molécule invitée, telles que la solubilité, la vitesse de dissolution, la stabilité et le masquage du goût [16, 17]. Plusieurs études expérimentales [18-21] ont montré que la formation de complexes d'inclusion peut augmenter d'une manière significative la vitesse de dissolution *in vitro* des médicaments peu solubles.

Des études antérieures décrivent quelques recherches sur l'interaction de l'inclusion du piroxicam avec le β -CD et ses dérivés (β -CD, HP- β -CD, CM- β -CD) [22-25]. La détermination quantitative du Px dans la formulation du complexe d'inclusion par des méthodes spectrophotométriques et chromatographiques a été également réalisée [26-28]. C. Cavallari et al. [25] ont montré dans leur étude que les granulés contenant du Px et de la β -CD permettent d'améliorer la vitesse de dissolution *in vitro* du Px.

Il convient de noter que plusieurs auteurs ont décrit le complexe d'inclusion du Px avec la CD, où l'influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du Px n'a pas été envisagée aussi bien avec la β -CD qu'avec la HP- β -CD. En effet, la méthode de complexation peut jouer un rôle important dans la solubilisation du médicament. Pour cela, dans une 1^{ère} partie de ce travail, il nous a semblé intéressant de mener des recherches sur la possibilité de complexation du Px avec la β -CD et la HP- β -CD selon différentes techniques d'inclusion afin d'améliorer la solubilité et la vitesse de dissolution de ce principe actif.

Aussi et dans le but d'améliorer la dissolution du Px, plusieurs études ont été réalisées utilisant des dispersions solides binaires à l'aide des véhicules hydrophiles tels que la chitosane [29], la nicotinamide [30], l'Eudragit E100, le Myrj 52 et le mannitol [31], les polymères des microsphères [32], la polyvinylpyrrolidone (PVP) [33-35], l'Eudragit S100 [36] et le PEG [37, 38]. Dans les dispersions solides, l'état physique du médicament est souvent modifié de l'état cristallin vers l'état amorphe. La présence de l'état amorphe conduit à l'amélioration des propriétés de dissolution en raison de l'absence du réseau cristallin, cependant l'inconvénient de cet état de haute énergie réside dans sa métastabilité physique inhérente.

Introduction Générale

Sachant que la littérature ne rapporte que peu d'études sur la dispersion solide du Px avec le PEG, nous avons donc, dans une 2^{ème} partie, poursuivi nos expériences par la préparation d'une dispersion solide binaire Px - PEG 6000, où l'influence de la nature du solvant sur les propriétés de dissolution du système préparé par la méthode d'évaporation a été déterminée.

Par ailleurs, notons que le nombre des applications des cyclodextrines dans les formulations pharmaceutiques a augmenté au cours des dernières années en raison de leur approbation par divers organismes de réglementation [11]. Cependant, pour diverses raisons tels que l'utilisation des cyclodextrines dans les formes galéniques orales solides à faible dose thérapeutique, le coût, les capacités de production et la toxicologie, la quantité de cyclodextrine à utiliser dans les formulations de médicaments est limitée [39, 40]. Il a été rapporté que l'addition de petites quantités de polymères hydrophiles améliore l'efficacité de complexation et de solubilisation des cyclodextrines dans les complexes d'inclusion, ce qui réduit les quantités de la cyclodextrine dans la formulation [11, 41, 42].

Ainsi, dans une 3^{ème} partie et à l'issue des résultats obtenus (1^{ère} Partie) où il a été clairement montré que la solubilité du piroxicam peut être améliorée par complexation avec les deux (02) cyclodextrines β -CD et HP β -CD [43], il nous a semblé intéressant de poursuivre nos investigations par l'étude de l'effet combiné du polymère hydrophile (PEG 6000) et de la CD (β -CD ou la HP β -CD) dans les systèmes ternaires sur la solubilité aqueuse du piroxicam.

Bien que le piroxicam soit bien absorbé après administration orale [44], sa biodisponibilité est limitée par un effet hépatique de premier passage important, ce qui en fait une candidature potentielle pour l'administration sublinguale. Cependant, la faible solubilité aqueuse du piroxicam ne peut qu'entraver son administration sublinguale.

En se basant sur des études antérieures dont les résultats montrent une augmentation de la biodisponibilité des médicaments administrés par voie sublinguale, sous forme de formulations contenant les cyclodextrines [45-48], nous avons dans une 4^{ème} partie, poursuivi notre travail de recherche par l'étude de l'effet de la cyclodextrine (β CD ou HP β CD) sur la dissolution de la dispersion solide du Px dans le PEG 6000 et ce, dans le but d'améliorer l'absorption de cet anti-inflammatoire pratiquement insoluble dans l'eau et prévoir ainsi son application pour la voie sublinguale.

Enfin, dans une 5^{ème} partie et afin de confirmer l'amélioration de la biodisponibilité de ce médicament par les méthodes mentionnées antérieurement, nous avons finalisé notre recherche par une étude *in vivo* sur le lapin, réalisée à l'aide du complexe d'inclusion (Px - β -CD).

Références bibliographiques

- [1] : K. Dhirendra, S. Lewis, N. Udupa & K. Atin, « Solid dispersions : A Review », Pak. J. Pharm. Sci., Vol. 22, N° 2, 234 – 246 April (2009).
- [2] : Bo Tang, Gang Cheng, Jian-Chun Gu & Cai-Hong Xu, Review: « Development of solid self-emulsifying drug delivery systems : preparation techniques and dosage forms », Drug Discovery Today, Vol. 13, Numbers 13/14, July (2008).
- [3] : Teófilo Vasconcelos, Bruno Sarmiento & Paulo Costa, Review : « Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs », Drug Discovery Today, Vol. 12, Numbers 23/24, December (2007).
- [4] : Fu Tingming, Guo Liwei, Le Kang, Wang Tianyao, Lu Jin, Template occluded SBA-15: an effective dissolution enhance for poorly water-soluble drug, Applied Surface Science; 2010.
- [5] : G. Prajapati Bhupendra and M. Madhabhai Patel, Conventional and alternative pharmaceutical methods to improve oral bioavailability of lipophilic drugs, Asian Journal of Pharmaceutics, Volume 1, Issue 1, April-June, 2007.
- [6] : Thorstein Loftsson, Dagný Hreinsdóttir & Már Másson, Review : « Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs », International Journal of Pharmaceutics, Vol. 302, 18 – 28 (2005).
- [7] : Thorsteinn Loftsson, Pekka Jarho, Már Másson & Tomi Järvinen, Review : « Cyclodextrins in drug delivery », Expert Opinion on Drug Delivery, 2, 335 – 351 (2005).
- [8] : Sébastien Faure, Mathieu Guerriaud et Nicolas Clère, « Bases fondamentales en pharmacologie », éditions Elsevier Masson (2014).
- [9] : L. Brunton, B.A. Chabner, B. Knollman, « Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of therapeutics », 12th edit., Mc Graw Hill Medical, New York, 2011.
- [10] : A.C. Moffat, M.D. Osselton, B. Widdop, « Clarke's. Analysis of drugs and poisons », Vol. 2, 3rd edit., p.1463, Pharmaceutical Press, London (2004).

- [11] : Kora Pattabhi, Ramaiah Chowdary & Sekuboyina Vijaya Srinivas, « Influence of hydrophilic polymers on celecoxib complexation with hydroxypropyl β -cyclodextrin », *AAPS Pharm. Sci. Tech.*; 7 (3) Article 79 (2006) (<http://www.aapspharmscitech.org>).
- [12]: Thorstein Loftsson, Marcus E. Brewster and Már Masson, « Role of cyclodextrins in Improving oral drug delivery », *American Journal Drug Delivery*, 2 (4) 1 – 15 (2004).
- [13]: Jozsef Szejtli, « Past, Present and future of cyclodextrins research », *Pure Appl. Chem. Vol. 76*; N° 10, 1825 – 1845 (2004).
- [14]: Marcus E. Brewster, Thorsteinn Loftsson, Review : « Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers », *Advanced Drug Delivery Review*, Vol. 59, 645 – 666 (2007).
- [15] : Sergey V. Kurkov, Thorsteinn Loftsson, Review : « Poorly Soluble Drugs : Cyclodextrins », *International Journal of Pharmaceutics*, Volume 453, Issue 1: 167 – 180 (2013).
- [16] : Shyam Shimpi, Bhask Chauhan, Prajakta Shimpi, Review : « Cyclodextrins : application in different routes of drug administration », *Acta Pharma. Vol. 55*, 139 - 156 (2005).
- [17] : Már Másson, Birna Vigdis Sigurdardóttir, Kristján Matthisson & Thorsteinn Loftsson, «Investigation of drug – cyclodextrin complexes by a phase – distribution method : some theoretical and practical considerations », *Chem. Pharm. Bull. Vol. 53 (8)*, 958 – 964 (2005).
- [18] : M. Fukuda, D.A. Miller, N.A. Peppas, J.W. McGinity, « Influence of sulfobutyl ether β -cyclodextrin (Captisol®) on the dissolution properties of a poorly drug from extrudates prepared by hot-melt extrusion », *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 350, 188 - 196 (2008).
- [19] : H. M. Patel, B. N. Suhagia, S. A. Shah, I. S. Rathod, V. K. Parmar, « Preparation and characterization of etoricoxib - β -cyclodextrin complexes prepared by kneading method », *Acta Pharm.*, Vol. 57, 351 – 359 (2007).
- [20] : P. Mura, E. Adragna, A. M. Rabasco, J. R. Moyano, J. I. Pérez-Martinez, M. J. Arias, J.M. Ginés, « Effects of the host cavity size and the preparation method on the physicochemical properties of ibuprofen-cyclodextrin Systems », *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 25(3), 279 - 287 (1999).

- [21] : M. L. Manca, M. Zaru, G. Ennas, D. Valenti, C. Sinico, G. Loy, A. M. Fadda, « Diclofenac- β -cyclodextrin binary Systems: physicochemical characterization and in vitro dissolution and diffusion studies », *AAPSPham. Sci. Tech.*, 6(3), 464 - 472 (2005).
- [22] : Guo. Xiliang, Yang. Yu, Zhao Guoyan, Zhang Guomei, Chao Jianbin, Shuang Shaomin, « Study on inclusion interaction of piroxicam with β -CD derivatives », *Spectrochimica Acta Part A*, Vol. 59 3379 – 3386 (2003).
- [23] : P. O. Osadebe, L. E. Onugwu and A. A. Attama, « Energetic of the interactions between piroxicam and β -cyclodextrin in inclusion complexes », *Scientific Research and Essay*, 3 (3), 86 – 93 (2008).
- [24]: M. Banchemo, L. Manna, « Investigation of the piroxicam / hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complexation by means of a supercritical solvent in the presence of auxiliary agents », *J. Supercrit. Fluids.*, Vol. 57, 259 - 266 (2011).
- [25] : C. Cavallari, B. Abertini, M. L. Gonzalez-Rodriguez, L. Rodriguez, « Improved dissolution behaviour of steam-granulated Piroxicam », *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, Vol. 54, 65 – 73 (2002).
- [26] : S. Rozou, A. Voulgari, E. Antoniadou-Vyza, « The effect of pH dependent molecular conformation and dimerization phenomena of piroxicam on the drug: cyclodextrin complex stoichiometry and its chromatographic behavior. A new specific HPLC method for piroxicam: cyclodextrin formulations », *Eur. J. Pharm. Sci.* Vol. 21, 661 - 669 (2004).
- [27] : T. Van Hees, G. Piel, S. Henry de Hassonville, B. Evrard, L. Delattre, « Determination of the free/included piroxicam ratio in CD complexes: comparison between UV spectrophotometry and differential scanning calorimetry », *Eur. J. Pharm. Sci.* Vol. 15, 347 - 353 (2002).
- [28]: H. Basan, N. G. Göger, N. Ertas, M. T. Orbey, « Quantitative determination of Piroxicam in a new formulation (piroxicam- β -cyclodextrin) by derivative UV spectrophotometric method and HPLC », *J. Pharm. Biomed Anal.*, Vol. 26, 271 – 178 (2001).
- [29] : IK-Bae Koh, Sang-Chui Shin and Yong-Bok Lee, « Enhanced dissolution rates of piroxicam from the ground mixtures with chitin or chitosan », *Art. Pham. Res.*, 9 (1), 55 – 61 (1986).

[30] : M. M. Verma, M. T. Kumar, J. Balasubramaniam, J. K. Pandit, « Dissolution, bioavailability and ulcerogenic studies on piroxicam-nicotinamide solid dispersion formulations », *Bull. Chim. Farm.*, 742 (3), 119 – 124 (2003).

[31] : H. Valizadeh, P. Zakeri-Milani, M. Barzegar-Jalali, G. Mohammadi, M.A. Danesh-Bahreini, K. Adibkia, A. Nokhodchi, « Preparation and characterization of solid dispersions of piroxicam with hydrophilic carriers », *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 33 (1), 45 – 56 (2007).

[32] : A. Galia, O. Scialdone, G. Filardo, T. Spanò, « A one-pot method to enhance dissolution rate of low solubility drug molecules using dispersion polymerization in supercritical carbon dioxide », *Int. J. Pharm.*, Vol. 377, 60 – 69 (2009).

[33]: V. Tantishaiyakul, N. Kaewnopparat, S. Ingkatawornwong, « Properties of solid dispersions of piroxicam in polyvinylpyrrolidone », *Int. J. Pharm.*, 30, 181 (2) 143 - 151 (1999).

[34]: K. Wu, J. Li, W. Wang, D.A. Winstead, « Formation and characterization of solid dispersions of piroxicam and polyvinylpyrrolidone using spray drying and precipitation with compressed antisolvent », *J. Pharm. Sci.*, 98 (1), 2422 - 2431 (2009).

[35]: M. Banchemo, L. Manna, S. Ronchetti, P. Campanelli, A. Ferri, « Supercritical solvent impregnation of piroxicam on PVP at various polymer molecular weights », *J. Supercrit. Fluids.*, Vol. 49, 271 – 278 (2009).

[36]: M. Maghsoodi, F. Sadeghpour, « Preparation and evaluation of solid dispersions of piroxicam and Eudragit S100 by spherical crystallization technique », *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 36 (8), 917 – 925 (2010).

[37] : R. N. Pan, J. H. Chen, R. R. Chen, « Enhancement of dissolution and bioavailability of piroxicam in solid dispersion Systems », *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 26 (9), 989 – 994 (2000).

[38] : H. Valizadeh, Gh. Mohhamadi, Kh. Adibkia, P. Zakeri-Miliani, A. Nokhodchi, « Effect of PEG molecular weight in the physico-chemical properties of piroxicam solid dispersions prepared by melting method », *Pharmaceutical Sci.*, Vol. 2, 33 – 39 (2005).

[39] : R. A. Rajewski, V. J. Stella, « Pharmaceutical applications of cyclodextrins, II: in vivo drug delivery », *Journal of Pharmaceutics Science*, Vol. 85, 1142 – 1169 (1998).

Introduction Générale

[40] : Francisca Palmores-Alonso, Cesar Rivas González, Ma. Josefa Bernard-Bernard, María Dolores Castillo Montiel, Guadalupe Palencia Hernández, Illiana González- Heráñdes, Nelly Castro-Torres, Enrique Pinzón Estrada, Helgi Jung-Cook, « The two novel ternary albendazole-cyclodextrin-polymer systems : Dissolution, bioavailability and efficacy against *Taenia crassiceps* cysts », *Acta Tropica*, Vol. 113, 56 -60 (2010).

[41] : T. Loftsson, H. Friðriksdóttir, A. M. Sigurðadottir, H. Ueda, « The effect of water-soluble polymers on drug-cyclodextrin complexation », *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 110, 169 – 177 (1994).

[42] : T. Loftsson, H. Friðriksdóttir, « The effect of water-soluble polymers on the aqueous solubility and complexing abilities of β -cyclodextrin », *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 163, 115 – 121 (1998).

[43] : F. Bouchal, M. Skiba, S. Fatmi, N. Chaffai, & M. Lahiani-Skiba, « Influence of the preparation method on the dissolution properties of piroxicam - cyclodextrins systems », *Letters in Drug Design and Discovery*, Vol. 11, N°6, 786-808 (2014).

[44] : E. Kummura, C.A. Bersani-Amado, L. S. Sudo, S. R. Santos & S. Oga, « Pharmacokinetic profile of piroxcam- β -CD in rat plasma and lymph », *Gen. Pharmacol.* 28 (5), 695 - 698, (1997).

[45] : S.I. Farag Badawy, M. M. Ghorab, C. M. Adeyeye, « Bioavailability of danazol-hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex by different routes of administration », *Int. J. Pharm.*, Vol. 145, 137 - 143, 1996.

[46] : A.C. Jain, B. J. Aungst, M. C. Adeyeye, « Development and in vivo evaluation of buccal tablets prepared using danazol-sulfobutylether β -cyclodextrin (SBE 7) complexes », *J. Pharm. Sci.*, Vol. 91 1659 - 1668 (2002).

[47] : J. Mannila, T. Järvinen, K. Järvinen, M. Tarvainen, P. Jarho, « Effects of RM- β -cyclodextrin on sublingual bioavaibility of delta9-tetrahydrocannabinol in rabbits », *Eur. J. Pharm. Sci.*, Vol. 26, 71 - 77 (2005).

[48] : S. D. You, B. M. Yoon, H. S. Lee & K. C. Lee, « Increased bioavaibility of clomipramine after sublingual administration in rats », *J. Pharm. Sci.*, Vol. 88, 1119 - 1121, (1999).

*Synthèse
bibliographique*

Chapitre I
Propriétés pharmacocinétiques
d'un médicament

Introduction

La pharmacologie est la science qui étudie les interactions des médicaments avec l'organisme. Son objectif est d'étudier le devenir du médicament dans l'organisme depuis sa prise par le malade jusqu'à son effet thérapeutique puis son élimination. L'étude de la pharmacologie comprend trois phases : la phase pharmaceutique (phase galénique), la phase pharmacocinétique (processus physiologique : système ADME) et la phase pharmacodynamique (relation dose- efficacité) [1].

La pharmacologie est associée à toutes les étapes de développement du médicament depuis sa conception et pendant toute sa vie en recherchant et interprétant les effets secondaires et interactions médicamenteuses qui peuvent apparaître lorsqu'il est administré à un très grand nombre d'individus dans les conditions normales, et qui sont impossibles à prévoir avant sa mise sur le marché à partir des données expérimentales de pharmacodynamie et pharmacocinétique [2].

La pharmacocinétique quant à elle est une discipline qui a pour objet l'étude descriptive et quantitative du devenir du médicament dans l'organisme auquel il est administré [1, 2]. Une étude pharmacocinétique consiste à recueillir des échantillons biologiques (sang, urine, salive, bile, etc.) à divers intervalles de temps après administration, à y doser le médicament, et éventuellement ses métabolites, et à utiliser les données ainsi obtenues pour établir un modèle mathématique qui est une représentation du devenir du médicament dans l'organisme très simplifiée par rapport à la réalité physiologique.

Ce modèle permet de simuler les variations de concentration du médicament dans des parties de l'organisme inaccessibles à l'expérimentation, de réduire un grand nombre de données expérimentales à un petit nombre de paramètres standardisés, de prédire les résultats d'expériences futures et de calculer des schémas thérapeutiques ou des posologies en fonction des caractéristiques du malade. La pharmacocinétique est donc un outil essentiel de la pharmacologie clinique.

1. Pharmacocinétique descriptive

1.1. Eléments de la pharmacologie médicale

La pharmacologie est la science de la connaissance du médicament, elle est indispensable à la bonne compréhension des mécanismes d'action des médicaments, des effets secondaires et des interactions médicamenteuses [1]. La pharmacologie générale décrit les résultats des recherches systématiques d'effets sur les différents organes et appareils. La pharmacologie orientée concerne les investigations beaucoup plus poussées, orientées dans le sens de la future utilisation du principe actif thérapeutique [3]. Elle étudie l'action des médicaments qui est un processus complexe dans lequel on peut distinguer trois 03 phases (**Figure I.1**) [1] :

- Phase **pharmaceutique**, correspondant au passage du principe actif en solution ;
- Phase **pharmacocinétique**, c'est le devenir du médicament dans l'organisme dans laquelle interviennent plusieurs phénomènes : l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination du principe actif ;
- Phase **pharmacodynamique** ; c'est l'étude de l'effet des médicaments dans l'organisme qu'il soit bénéfique ou indésirable. Elle rend compte du mode d'action du médicament au niveau des cellules cibles et en particulier des interactions médicament – récepteur.

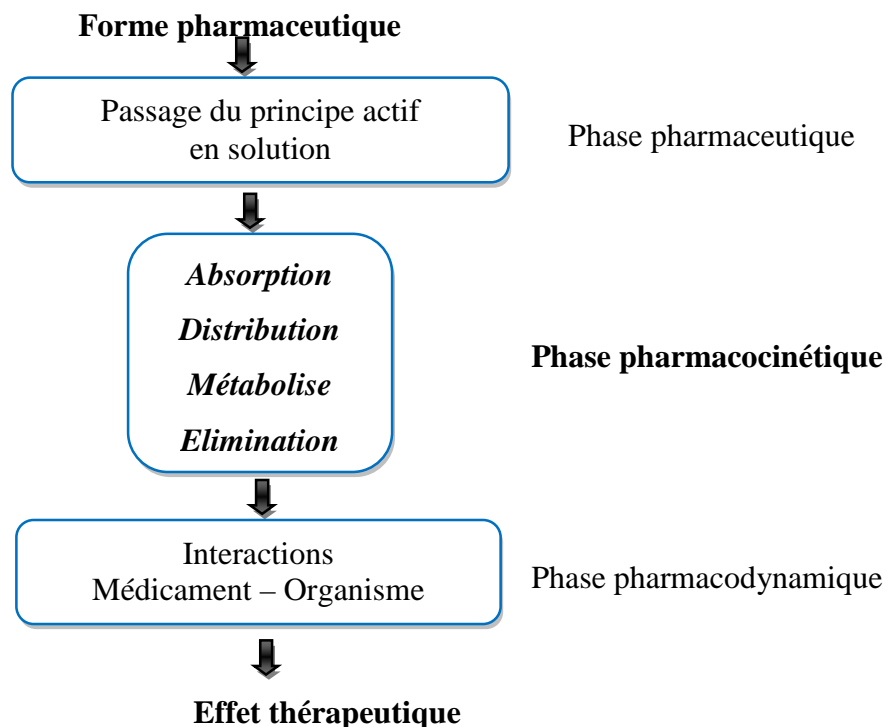


Figure I.1 : Les différentes phases de la pharmacologie

1.1.1. Mécanismes d'action des médicaments

La pharmacodynamie correspond à l'étude des effets des médicaments sur l'organisme. C'est la science qui étudie l'interaction entre le médicament et l'organisme sur le plan moléculaire. Elle permet de définir le site d'action, c'est-à-dire la cible du médicament : là où le principe actif se fixe sur l'organisme, pour provoquer l'effet thérapeutique recherché [1].

Un principe actif après avoir été absorbé puis distribué dans le sang et les tissus, doit agir sur un ou plusieurs sites. Pour ce faire, il doit être dans sa forme libre (la forme liée restant dans le sang). Un médicament peut exercer son action par différents mécanismes [1, 3, 4] :

- Au niveau des récepteurs ;
- Sur des enzymes ;
- Sur un phénomène de transport ionique ;
- Sur des synthèses de macromolécules (ADN, ARN et protéines) ;
- Physicochimique.

1.1.2. Description de l'itinéraire du médicament dans l'organisme

Lors de la prise orale d'un médicament, suivie d'une absorption gastro-intestinale, la substance active est d'abord transportée par la veine porte vers le foie avant d'atteindre la circulation générale, et donc avant d'atteindre les sites d'action au niveau des organes. La substance active peut ainsi subir une métabolisation hépatique pré systémique avant d'atteindre la circulation générale : c'est l'effet de premier passage hépatique. C'est en général le plus important quantitativement, mais il existe également un premier passage digestif et un premier passage pulmonaire. L'importance de chacun est différente selon les caractéristiques physico-chimiques et biologiques de la substance en question [5].

L'organisation du système vasculaire permet d'éviter en grande partie l'effet du premier passage hépatique. En cas d'administration par la voie rectale (suppositoires) : un tiers seulement du sang circulant dans les veines rectales passe par le foie avant d'atteindre la circulation générale. Ce premier passage est totalement évité par administration sublinguale (médicament à faire fondre sous la langue) : la substance active est absorbée et déversée dans les veines jugulaires, aboutissant directement dans la circulation au niveau de l'arc aortique [5].

Chapitre I : Propriétés pharmacocinétiques des médicaments

Cette caractéristique fait une grande partie de l'intérêt de ce mode d'administration en cas d'urgence relative. La voie inhalée et la voie transdermique évitent aussi en partie l'effet de premier passage hépatique. Enfin, l'administration d'un principe actif par injection intraveineuse permet un passage direct dans la circulation, sans avoir à se soucier des problèmes liés à l'absorption évoqués ci-dessus. Ce qui fait de celle-ci la voie d'administration privilégiée dans les cas d'urgence [5].

Le cheminement des principes actifs depuis le lieu d'administration jusqu'à la circulation générale est représenté sur la figure I.2 [1].

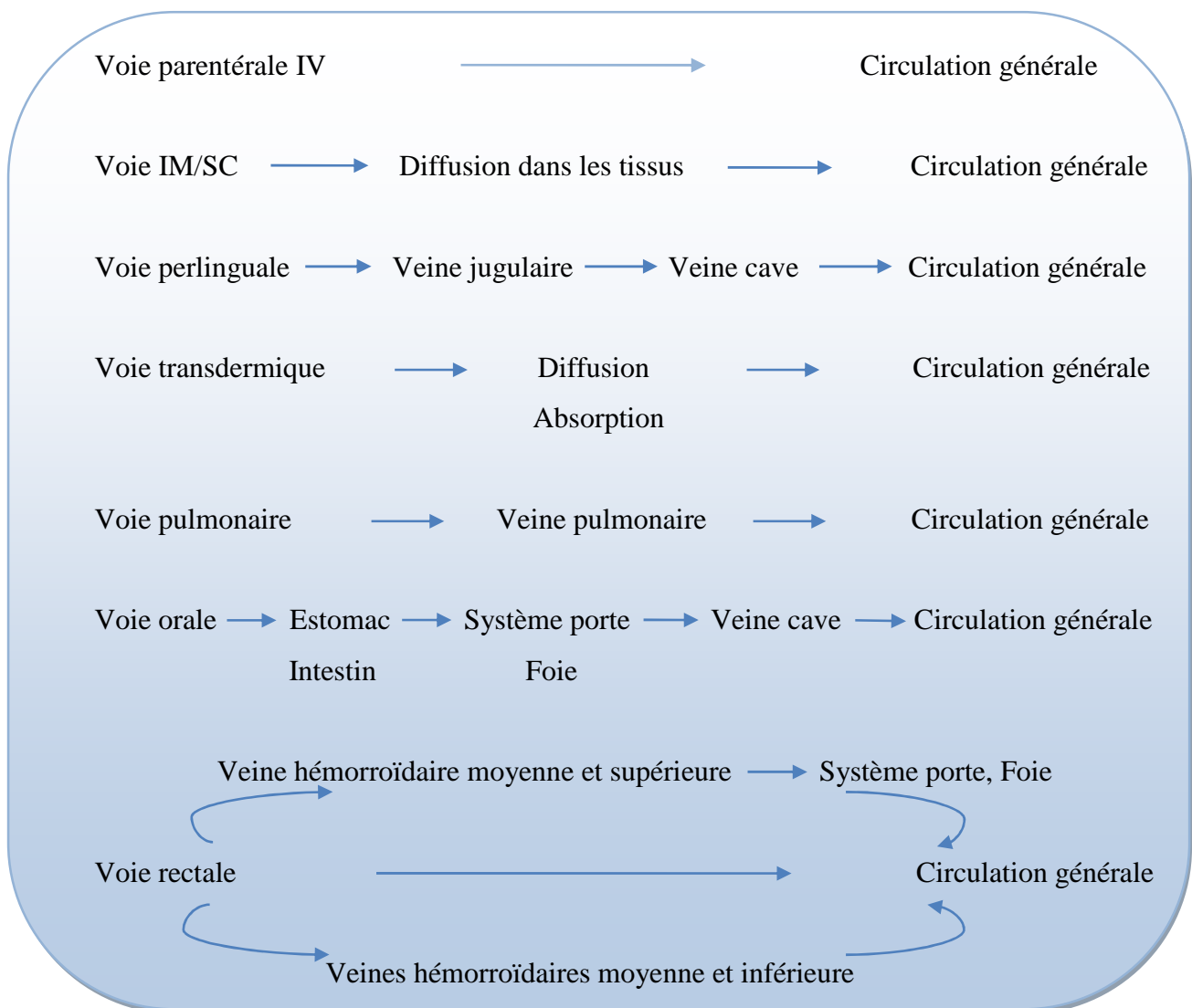


Figure I.2 : Schéma décrivant les voies d'administration et le cheminement du principe actif

1.2. Devenir du médicament dans l'organisme

La pharmacocinétique est une sous discipline de la pharmacologie. C'est l'étude en fonction du temps, des différents aspects du devenir du médicament dans l'organisme. Elle permet de définir la posologie utile en thérapeutique, c'est-à-dire le rythme d'administration et la durée du traitement. Elle comporte successivement les étapes suivantes [1] : Absorption, Distribution, Métabolisme et Elimination (ADME).

1.2.1. Absorption

L'absorption est l'ensemble des phénomènes qui permet à une substance de passer dans le plasma sanguin, quel que soit son lieu d'administration [1]. Ce processus d'absorption dépend beaucoup de la voie d'administration choisie qui est fonction [3] :

- **de la cible que l'on désire atteindre** : effet local (application dermique, inhalation) ou systémique (administration intraveineuse ou par voie orale) ;
- **de la rapidité de l'effet souhaité** : l'administration sublinguale de trinitrine permet d'avoir un effet vasodilatateur en 2 à 3 minutes car le produit passe très rapidement dans le réseau vasculaire situé sous la langue et de là dans la circulation générale. Une administration sous forme de patch dermique permet au contraire d'obtenir un effet de longue durée mais très lent ;
- **des propriétés physicochimiques du principe actif** : les composés dégradés en milieu acide ou ceux présentant une faible absorption gastrique ou intestinale devront être administrés par voie intraveineuse (insuline, antibiotiques) ;
- **du métabolisme du principe actif** : l'administration par voie orale conduit à une absorption au niveau de l'intestin grêle et donc au passage de la molécule absorbée dans le système porte conduisant directement au foie. La molécule peut ainsi être métabolisée avant même d'avoir atteint la circulation générale. Cet effet peut par exemple être évité par une administration sublinguale, intraveineuse ou rectale.

Par ailleurs, notons que le choix de la voie d'administration doit aussi prendre en considération les inconvénients propres à chaque voie.

1.2.1.1. Facteurs de passage du médicament à travers les membranes

Deux facteurs conditionnent le passage du médicament dans le sang [1] :

- La structure particulière de la membrane plasmique ;
- Les caractéristiques physico-chimiques du médicament.

✚ *Structure particulière de la membrane plasmique*

La membrane plasmique est une bicouche phospholipidique qui entoure toutes les cellules. Elle comprend :

- Une double couche lipidique, formée d'acides gras. La partie hydrophile est à l'extérieur ;
- Des structures protéiques à l'état dynamique insérées dans la bicouche ;
- Une trentaine d'enzymes dont l'ATPase, qui fournit de l'énergie nécessaire aux échanges.

La fonction de la membrane plasmique est de contrôler les échanges cellulaires. Elle permet le transport d'ions (Na^+ , K^+ , Cl^- , ...).

✚ *Caractéristiques physico-chimiques du médicament*

Seuls trois (03) critères physicochimiques intéressent notre étude : la molécule médicamenteuse est-elle hydrophile, lipophile, ionisable ?

- **Hydrophile** : soluble dans l'eau, elle suit l'eau dans l'organisme. Si sa masse moléculaire le lui permet, elle pénétrera dans les cellules, par les pores. Elle sera rapidement éliminée par l'organisme ;
- **Lipophile** : elle peut franchir librement une membrane cellulaire au travers de la bicouche phospholipidique ;
- **Ionisable** : il s'agit de la capacité de la molécule à se transformer en ion. Cette propriété est très importante. Un ion est pratiquement toujours plus hydrophile que son équivalent neutre.

Seules les substances lipophiles peuvent traverser librement (transport passif) les membranes cellulaires. Par exemple, pour limiter le franchissement de la barrière hémato-encéphalique, on privilégiera les molécules ionisées. Pour accélérer l'élimination rénale, le pH urinaire est modifié, afin d'ioniser les molécules. Piégées dans l'urine, elles seront éliminées de l'organisme plus rapidement.

1.2.1.2. Types de transport des médicaments à travers les membranes

On distingue trois modes de transport [1] :

- **Diffusion passive**

C'est le mode de transport le plus fréquent pour les drogues. Il existe un gradient de concentration de part et d'autre de la membrane plasmique. Ce transport suit la loi de Fick (passage du milieu le plus concentré vers le moins concentré) ; plus la différence du gradient est importante, plus la quantité de substance transportée par unité de temps sera forte [1]. Il dépend donc de la taille de la molécule et de son caractère hydrophile ou lipophile [3]. Ce système de transport est non saturable [1] et ne présente pas de phénomènes d'inhibition compétitive [2]. Il ne nécessite ni de l'énergie ni d'un transporteur [1].

- **Diffusion facilitée**

Grâce à un transporteur membranaire, ce mode de transport passif a lieu dans le sens du gradient de concentration ; et présente un caractère sélectif : seules les molécules reconnues par le transporteur et fixées par lui seront transportées. Il s'agit d'un processus saturable dont la vitesse est limitée par le nombre de transporteurs disponibles [3].

- **Transport actif**

Les molécules sont également prises en charge par un transporteur spécifié mais le transport s'effectue en sens inverse de celui du gradient de concentration, et réclame donc une dépense d'énergie. Ce mode de transport est spécifique et saturable [3].

1.2.1.3. Facteurs modifiant l'absorption

Les principaux facteurs sont [1, 2] :

- Acidité gastrique : en fonction du pH, les molécules sont ionisées ou non selon leur pKa et il est souvent favorable à l'absorption ; le pH évolue en fonction de l'âge (plus faible chez le nourrisson et le sujet âgé) et de la présence de médicaments antiacides ;
- Vidange gastrique : elle détermine le passage du principe actif vers l'intestin grêle qui est le lieu essentiel de l'absorption en regard du processus gastrique en raison de la surface très importante ; elle est modifiée par la présence des aliments (**Figure I.3**), la faim, exercice physique, ou les pathologies : douleurs, ulcères gastriques et duodénaux ;
- Sécrétions digestives notamment biliaires : augmentées par les aliments riches en graisse qui favorisent la résorption des médicaments lipophiles.

- Association de médicaments : ils gênent l'absorption par des phénomènes de complexation donnant des dérivées insolubles ; ex : phosphate et calcium, antibiotiques de la famille de tétracyclines et calcium, cholestyramine, topiques gastroduodénaux.

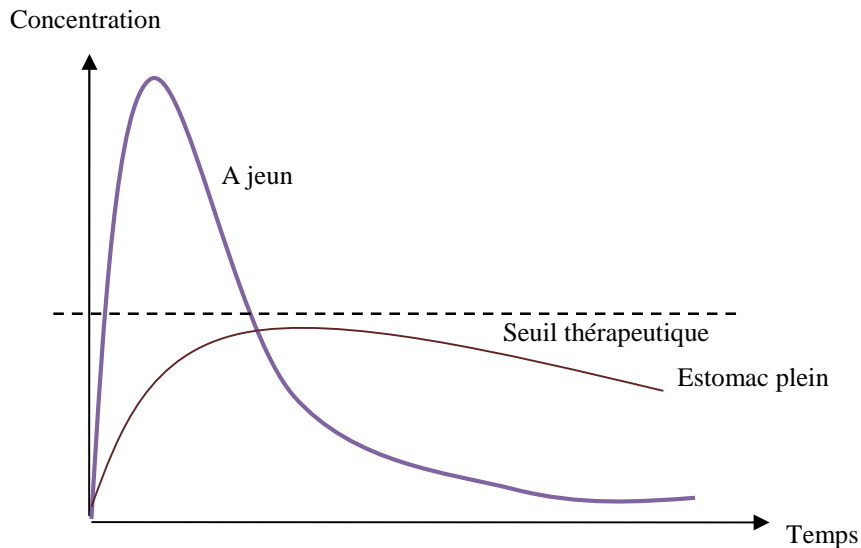


Figure I.3: Courbes de concentration plasmatique d'un médicament administré par voie orale (influence des aliments)

1.2.2. Distribution

L'absorption a permis l'entrée du principe actif dans le compartiment sanguin central. C'est le sang qui assure le cheminement du principe actif vers l'organe cible [1]. La distribution est l'étape correspondante à la diffusion du médicament dans l'organisme au niveau plasmatique et tissulaire. Le volume de distribution est un volume théorique exprimé en litre qui traduit la répartition du médicament dans l'ensemble des tissus et organes, en particulier dans ceux où il peut atteindre ces récepteurs et donc exercer son action pharmacologique [4].

Le médicament une fois résorbé parvient dans le plasma où il se trouve sous deux formes [3] :

- Forme liée aux protéines ;
- Forme libre, active, diffusible pouvant exercer son rôle pharmacologique.

Deux étapes sont ainsi définies dans la phase de distribution [1] :

- Distribution plasmatique ;
- Distribution tissulaire.

+ Distribution plasmatique ou transport plasmatique

La plupart des principes actifs se trouvent à l'état dissous dans le plasma. Ils sont dits sous forme libre. Une partie se fixe aux protéines plasmatiques présentes dans le sang en grande quantité pour former des complexes. Une telle association est appelée forme liée. Complexé à des protéines plasmatiques de poids moléculaire élevé telles que l'albumine ou les immunoglobulines, le principe actif ne peut en aucun cas traverser les membranes et quitter le compartiment sanguin. Cette liaison est rapide et réversible. Cela signifie que chaque modification de la concentration de la forme libre correspond à un changement proportionnel de la concentration de la forme liée. Ces deux formes, libre et liée sont en équilibre dynamique [1].

+ Diffusion tissulaire

La fraction libre du médicament diffuse vers les tissus et passe ainsi du « compartiment » plasmatique ou central vers le « compartiment » tissulaire ou périphérique, après la traversée des membranes tissulaires, par les mêmes mécanismes que ceux qui ont été décrits pour l'absorption. Cette diffusion dépend de l'importance de la vascularisation (cœur, cerveau, foie,...), alors que d'autres le sont beaucoup moins, (os, dents, phanères,...) et seront difficilement atteints par les médicaments. Après diffusion tissulaire, le médicament est susceptible de se fixer sur son récepteur spécifique et d'exercer ainsi son action pharmacologique. Il peut aussi y être stocké (dans les tissus de natures lipidiques en particulier) ou être transformé par des mécanismes enzymatiques (biotransformation) [4].

Enfin, les principaux facteurs induisant des variations de la distribution sont [2] :

- **Âge** : chez le nouveau-né et la personne âgée, la liaison aux protéines plasmatiques est inférieure et cela augmente la fraction libre pouvant diffuser ;
- **Sexe** : la femme présente une masse adipeuse plus importante que l'homme pour assurer la gestation et la lactation ;
- **Grossesse** : le volume plasmatique et le débit cardiaque sont augmentés pendant cette période alors que le taux d'albumine est diminué d'où la difficulté à extrapoler entre femme enceinte et non enceinte, la fraction active pouvant être identique ou augmentée ;
- **Pathologies** où le taux des protéines plasmatiques est altéré : insuffisance hépatique et rénale.

1.2.3. Métabolisme

L'intérêt de cette phase est de faciliter l'élimination du principe actif de l'organisme. Pour cela, il faut augmenter l'hydrophilie du principe actif, par des réactions biochimiques. En effet, les molécules hydrophiles ont un temps de séjour bref dans l'organisme et sont fréquemment excrétées intactes. Les substances lipophiles qui se fixent au niveau des graisses ou des membranes, sont métabolisées lentement et demeurent plus longtemps dans l'organisme. L'ensemble de ces réactions qui impliquent une molécule active est nommé métabolisme. La molécule résultante est appelée métabolite. Trois catégories de métabolite apparaissent [1] :

- **Métabolite actif** : la majorité des métabolites formés conservent une activité pharmacologique. On en tient compte pour déterminer la posologie. Dans certains cas, le principe actif contenu dans le médicament n'est pas la molécule qui agit sur le site d'action. Pour améliorer l'absorbance des drogues, on administre un précurseur qui, transformé par le métabolisme, le plus souvent hépatique donne le métabolite réellement actif ;
- **Métabolite inactif** : celui-ci ne participe plus à l'activité thérapeutique ;
- **Métabolite toxique** : la toxicité du médicament est étudiée lors des essais cliniques effectués sur les principes actifs avant leur commercialisation. Si un des métabolites formés présente une toxicité importante, cela mène au rejet de la molécule.

Principaux organes du métabolisme

Tous les organes participent à la dégradation des principes actifs. Les principaux sont détaillés ci-dessous. Il ne faut cependant pas négliger les réactions de biotransformation qui ont lieu dans le sang et les tissus. Au niveau subcellulaire, ces réactions ont lieu principalement dans le réticulum, mais aussi au niveau des mitochondries ou du cytoplasme [1].

- **Tube digestif** :

Après administration par voie orale, les médicaments vont subir des transformations par l'action des sucs digestifs. Au niveau de [1] :

- **L'estomac** : l'acidité des sécrétions gastriques provoque la décomposition des molécules.

Chapitre I : Propriétés pharmacocinétiques des médicaments

- **la muqueuse intestinale** : les réactions enzymatiques transforment le principe actif en un métabolite plus hydrosoluble, et plus facilement éliminable dans les urines. Certaines réactions sont réalisées par les micro-organismes de la flore intestinale.
- **le pancréas** : les sucs pancréatiques poursuivent l'hydrolyse des protéines.

Dès cette étape, la quantité du principe actif disponible peut être diminuée. Après le passage de la muqueuse intestinale, le médicament est directement déversé dans la veine porte direction du foie.

- **Foie :**

Le foie, très riche en enzyme, est un obstacle majeur pour une substance sur le chemin de son site d'action. C'est l'organe principal du métabolisme des médicaments. Les biotransformations subies par la molécule correspondent à une perte importante du principe actif. Quand cette dégradation se fait avant que la molécule ne soit distribuée dans l'organisme, on parle de « premier passage hépatique ». Un bon nombre de médicaments essentiels subissent ce premier passage hépatique : cortisone, morphine, aspirine, etc.

Les cytochromes P₄₅₀ sont les enzymes hépatiques les plus fréquemment citées dans le métabolisme des substances endogènes ou exogènes. Environ la moitié des médicaments métabolisés par le foie le sont par ces intermédiaires.

Après son passage hépatique, le médicament se trouve déversé au niveau des veines sus-hépatiques en direction du cœur et des poumons [1].

- **Poumons :**

Les poumons sont le dernier organe à franchir avant d'atteindre la circulation générale. Les enzymes pulmonaires sont responsables essentiellement de réaction d'oxydation, d'intensité moindre à celles du foie. Après passage des poumons, le principe actif parvient au cœur puis à la circulation générale puis rejoint enfin ses sites d'action [1].

Réactions du métabolisme

Les transformations d'un médicament sont classées en deux (02) phases de nature et de signification différentes. On distingue alors deux (02) types de réactions du métabolisme [1] :

- **Réactions de phase I** : elles permettent la formation du métabolite plus polaire (hydrophile), ce qui favorise l'élimination rénale.
- **Réactions de phase II** : correspondent à la formation d'une molécule conjuguée éliminée dans les urines ou la bile.

Réaction de phase I

Il s'agit principalement de trois réactions chimiques.

- **Oxydation** : réactions très fréquentes, la plupart sont réalisées essentiellement au niveau hépatique par les cytochromes P₄₅₀. L'activité de ces enzymes varie d'un individu à l'autre. Cette variabilité provient de facteurs génétiques, mais aussi environnementaux (médicament, alimentation).
- **Réduction** : plus rares que les précédentes, elles ont majoritairement lieu dans les tissus ou sont le fait des bactéries intestinales.
- **Hydrolyse** : réalisée dans le tube digestif, le foie et le pancréas et le plasma. L'hydrolyse peut également avoir lieu dans le milieu acide de l'estomac. (Exemple : hydrolyse de l'aspirine en acide salicylique).

Principales réactions de conjugaison (phase II)

L'addition sur une molécule d'un groupement conjugué augmente son caractère polaire (hydrophile) et favorise son élimination. Les principaux groupements pouvant être fixés et les réactions chimiques correspondantes sont mentionnés au tableau I.1 [1].

Tableau I.1: Principales réactions de conjugaison

Groupement chimique	Réactions de conjugaison
Méthyle	Méthylation
Acétyle	Acétylation
Sulfate	Sulfatation
Acide glucuronique	Glucuronidation

✚ Facteurs pouvant modifier la transformation du médicament

Les principaux facteurs influençant la concentration plasmatique d'un principe actif en fonction de son métabolisme sont [2] :

- Voie d'administration ;
- Posologie ;
- Facteurs génétiques ;
- Âge ;
- Introduction enzymatique ;
- Inhibition enzymatique ;
- Insuffisance hépatique.

1.2.4. Elimination

L'élimination est la dernière étape de la phase pharmacocinétique. C'est le processus aboutissant à la sortie de l'organisme, du principe actif et de ses métabolites. Les substances sont éliminées principalement par le rein, mais aussi par la bile, plus rarement par les poumons, la salive, la peau ou les glandes sudoripares [1]. Les différentes voies d'élimination sont résumées comme suit [2] :

- L'élimination directe sous forme inchangée :
 - Par excrétion dans l'urine avec ou sans réabsorption partielle au niveau du tubule proximal des néphrons ;
 - Et/ou excrétion par voie biliaire dans le tube digestif où le principe actif peut être soit réabsorbé et réaliser un cycle dit entéro-hépatique soit être éliminé dans les fèces.
- L'élimination après biotransformation hépatique en dérivés hydrosolubles par voie rénale pour les molécules de petite taille et par voie biliaire pour les plus grandes.
- L'élimination en fonction de l'affinité des principes actifs pour certains organes et de leurs caractères physico-chimiques.

Elimination rénale

Les substances dissoutes dans le plasma peuvent être éliminées au niveau urinaire [1]. L'élimination des médicaments par le rein est la résultante de phénomènes complexes au niveau du néphron, unité fonctionnelle du rein [4]. Trois mécanismes interviennent [1] :

- **Filtration glomérulaire**

Elle concerne les molécules de faible masse moléculaire. Seule la fraction libre du métabolite est filtrée. La liaison aux protéines plasmatiques, en empêchant la filtration, ralentit l'élimination des substances.

- **Sécrétion tubulaire**

C'est un mécanisme actif nécessitant un transporteur spécifique saturable. Il a lieu au niveau du tube contourné proximal pour le transport de molécules ionisées endogènes (acide urique) ou exogènes (pénicillines, acide acétylsalicylique, sulfamides...).

- **Réabsorption tubulaire**

Au cours du passage à travers le néphron, le volume urinaire est réduit par réabsorption de l'eau. Cela modifie le gradient de concentration entre l'urine et le sang et provoque la réabsorption, essentiellement passive, de certaines substances (acides aminés, urée, vitamine C, glucose). Ce phénomène concerne les substances liposolubles et de faible masse moléculaire.

Chapitre I : Propriétés pharmacocinétiques des médicaments

Une molécule non ionisée a une meilleure liposolubilité. L'état ionique d'une substance dépend de ses propriétés physico-chimiques et du pH du milieu où elle se trouve. Une modification du pH urinaire peut donc modifier la vitesse d'élimination rénale.

✚ Elimination biliaire

Après passage hépatique, la fraction du médicament non métabolisé peut retourner dans la circulation générale ou être excrétée par la bile. Il peut s'exercer dans ce dernier cas un cycle entéro-hépatique : le médicament excrété dans la bile arrive dans l'intestin et peut à nouveau être absorbé, repasser dans le sang et revenir au foie [4].

✚ Voies secondaires d'élimination

○ *Elimination pulmonaire*

Elle se fait par un phénomène passif, dans le sens du gradient de concentration entre le sang et les alvéoles pulmonaires. Ce sont des produits volatils ou gazeux qui seront ainsi éliminés [1].

○ *Elimination sudorale*

Certaines substances comme le brome, l'iode, le plomb, les sulfamides, l'acide salicylique ou la thiamine s'éliminent par la sueur [1].

○ *Elimination dans le lait maternel*

Les quantités de médicaments excrétés dans le lait maternel peuvent être importantes : caféine, alcool, hormones et benzodiazépines [1].

✚ Facteurs pouvant modifier l'élimination

Les principaux facteurs faisant varier l'élimination sont [2] :

- La fonction rénale où interviennent :
 - Le pH urinaire déterminant la fraction ionisée en fonction du pKa ;
 - La liaison aux protéines plasmatiques (LPP) et leurs taux plasmatiques ;
 - La clairance rénale liée au bon état physiologique : insuffisance rénale, diurèse, âge (immaturité du nouveau né et insuffisance rénale du sujet âgé par accumulation de toxique) ;
- La métabolisation hépatique qui participe à la formation de métabolites solubles ;
- La compétition entre produits au niveau des systèmes de transport actif ; par exemple, l'acide urique et acide salicylique à faible dose.

2. Pharmacocinétique analytique

2.1. Outils et concepts

La pharmacocinétique étudie le devenir des médicaments dans l'organisme en fonction du temps. Ce devenir résulte des différents processus précédemment décrits : Absorption, Distribution, Transformation et Elimination. La pharmacocinétique repose sur la détermination expérimentale des quantités ou des concentrations de médicaments (ou de métabolites) présents dans le sang et les tissus. A partir de ces mesures et d'hypothèses adaptées, peuvent être élaborés des modèles mathématiques décrivant la destinée du médicament dans l'organisme [6].

2.1.1. Intérêt des paramètres pharmacocinétiques pour la prescription

Le but d'un schéma posologique choisi pour un médicament est de maintenir les concentrations sanguines dans l'intervalle thérapeutique c'est-à-dire dans la zone de concentration assurant l'effet thérapeutique optimal tout en minimisant le risque d'effets indésirables (**Figure I.4**) [5].

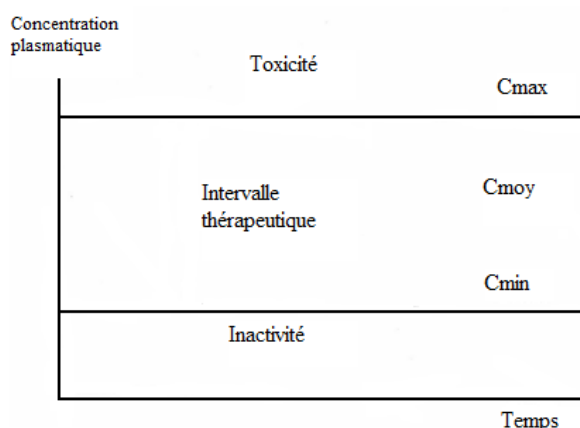


Figure I.4 : Intervalle thérapeutique d'un médicament

Après administration d'un médicament, l'évolution des concentrations sanguines dépend [5] :

- des modalités d'administration (voie d'administration, forme galénique, posologie...)
- des paramètres pharmacocinétiques qui décrivent, sur un plan quantitatif, le devenir du médicament dans l'organisme.

Les paramètres pharmacocinétiques sont déterminés lors du développement clinique des médicaments dans des groupes homogènes de sujets. Ils doivent également être définis dans des groupes de sujets ayant des caractéristiques physiopathologiques variables (sujets âgés, patients insuffisants rénaux...) afin de quantifier l'impact de ces facteurs individuels sur les valeurs des paramètres [5].

2.1.2. Principe de calcul des paramètres pharmacocinétiques

Le calcul des paramètres pharmacocinétiques s'effectue à partir de données expérimentales obtenues chez l'homme suite à l'administration d'un médicament. Il s'agit le plus souvent de l'évolution des concentrations sanguines du médicament au cours du temps mais les données urinaires peuvent également être utilisées. Après administration d'une dose de médicament, les variations de concentration sanguine au cours du temps sont la résultante de l'ensemble des transferts entre le milieu extérieur, le sang et les tissus. Elles dépendent donc des vitesses de transfert propres à chacune des étapes pharmacocinétiques (absorption, distribution, métabolisme et élimination). Les paramètres pharmacocinétiques peuvent être calculés selon une approche compartimentale ou non compartimentale [5] :

L'approche non-compartimentale : les paramètres pharmacocinétiques sont directement déduits des points expérimentaux (C_{max} , T_{max}) ou obtenus par l'intermédiaire de formules simples à partir de la surface sous la courbe (calcul par la méthode des trapèzes) et de la pente d'élimination.

L'approche compartimentale : les variations dans lesquels l'organisme est représenté par un ou plusieurs compartiments :

- Si l'organisme se comporte comme un ensemble homogène, la cinétique du médicament sera représentée par un modèle monocompartimental ;
- Si l'organisme se comporte comme plusieurs ensembles homogènes, la cinétique du médicament sera représentée par un modèle bi ou pluricompartimental avec un compartiment central et un ou plusieurs compartiments périphériques.

Avec cette notion de modèle, l'évolution des concentrations sanguines au cours du temps peut être décrite par des équations mathématiques simples. La résolution de ces équations permettra de calculer les paramètres pharmacocinétiques.

2.2. Quantification des concentrations plasmatiques

Les principaux paramètres pharmacocinétiques d'un médicament sont le volume de distribution, les clairances, le temps de demi-vie et le facteur de biodisponibilité.

2.2.1. Volume de distribution

Le volume de distribution (V_d) représente l'espace de dilution du médicament. C'est le volume fictif qui serait nécessaire pour dissoudre la quantité totale de médicament résorbé ; ceci afin d'obtenir une concentration égale à celle déterminée dans le plasma. Ce volume peut être plus grand que le volume corporel réel. Il s'exprime en l ou l/Kg [7].

2.2.1.1. Modalités de calcul

Le volume de distribution est défini à l'état d'équilibre comme étant une constante de proportionnalité entre la quantité de médicament dans l'organisme et la concentration mesurée dans le milieu de référence choisi. Il s'écrit donc :

$$V_d = \frac{\text{Quantité de médicament dans l'organe}}{\text{Concentration du médicament}} \quad \text{Eq. I.1}$$

Cette relation montre que le concept de volume apparent de distribution repose sur le principe de dilution d'une molécule dans l'organisme [8]. Le volume de distribution de certaines substances peut correspondre soit [9] :

- Au volume du plasma $V_d = 0,06$ l/Kg (héparine) ;
- Au volume du liquide extracellulaire $V_d = 0,2$ l/kg (insuline, mannitol) ;
- A l'eau totale du corps $V_d = 0,6$ l/Kg (éthanol, phénazone).

Si V_d est supérieure à 2 l/Kg, il y a stockage dans les tissus. Les cas extrêmes sont : si le médicament est hydrosoluble et de poids moléculaire élevé, il restera confiné dans le seul compartiment vasculaire. Le volume de distribution sera égal au volume plasmatique ; il vaudra 0,06 l/Kg. Si, à l'inverse, le médicament est fortement lipophile ou s'il s'accumule fortement dans un tissu particulier, sa concentration plasmatique sera très faible. En conséquence, son volume de distribution très élevé pourra atteindre jusqu'à 500 l/Kg [6]. Le tableau I.2 donne les volumes apparents de quelques médicaments [8].

Tableau I.2: Volumes apparents de distribution de quelques médicaments

Substances médicamenteuses	V _d (l/70 Kg)	V _d (l/Kg)
Acide salicylique	12	0,17
Gentamicine	18	0,25
Diazepam	77	1,1
Imipramine	1050	15
Chloroquine	18450	235

2.2.1.2. Intérêt

En pratique, le volume de distribution sera utilisé par le prescripteur pour déterminer la dose permettant d'obtenir une concentration plasmatique donnée en administration intraveineuse directe. Par exemple, si l'on veut obtenir une concentration de 8 mg/l immédiatement après l'injection d'une dose de gentamicine à un patient de 70 Kg, la dose devra être de 144 mg. Le volume de distribution d'un médicament varie selon les caractéristiques physiopathologiques du sujet ; ainsi toute situation associée à une réduction du volume de distribution s'accompagnera d'une augmentation de la concentration du médicament, alors qu'une augmentation du volume de distribution aura la conséquence inverse. L'adaptation de posologie devra donc prendre en compte les modifications attendues du volume de distribution. Celles-ci sont différentes selon les caractéristiques physico-chimiques du médicament. Ainsi, un médicament hydrosoluble, dont le volume de distribution est faible, verra sa concentration diminuée dans les situations associées à une augmentation du compartiment aqueux (exemple : aminosides chez le sujet insuffisant cardiaque). Pour certains médicaments, la modification des conditions de fixation aux protéines plasmatiques peut s'accompagner d'une modification du volume de distribution [5].

2.2.2. Clairances

2.2.2.1. Notion de clairance

Les principaux mécanismes d'épuration sont l'élimination directe du médicament par les voies classiques (rénale, hépatique, etc.) et la biotransformation du composé parent en métabolites dans les différents organes (foie, intestin, peau, etc.) contenant des enzymes qui dégradent le médicament. Cette autoépuration de l'organisme se quantifie par le paramètre de clairance [10].

Chapitre I : Propriétés pharmacocinétiques des médicaments

La clairance sanguine totale représente la capacité de l'organisme à épurer une substance (composé endogène ou médicament) de la circulation générale. Elle est définie par le volume sanguin totalement débarrassé d'un médicament par unité de temps et s'exprime généralement en l/h ou en ml/min. On peut aussi définir la clairance d'un organe par la capacité de cet organe à extraire un médicament d'un volume sanguin par unité de temps. Celle-ci répond à la formule générale [10] :

$$Cl = Q \times E \quad \text{Eq. I.2}$$

Cl : Clairance d'un organe ;

Q : Débit sanguin irrigant l'organe ;

E : Coefficient d'extraction du médicament par l'organe.

Comme l'épuration de l'organisme ne résulte pas d'un seul mode d'action au niveau d'un seul organe d'élimination, la clairance totale est la résultante de plusieurs clairances partielles (clairance rénale et clairances extrarénales). Ces dernières sont hépatique, intestinale, sudorale, salivaire, pulmonaire, etc. [10]. On peut donc écrire :

$$Cl_{\text{totale}} = Cl_{\text{hépatique}} + Cl_{\text{rénale}} + \dots = \sum Cl_{\text{partielles}} \quad \text{Eq. I.3}$$

2.2.2.2. Notion du coefficient d'extraction

On peut considérer un organe (**Figure I.5**) capable d'éliminer une substance à partir du flot sanguin qui le traverse (à un débit Q). Le mécanisme d'épuration peut être quelconque (filtration, métabolisme, sécrétion...) mais il entraîne une diminution de la concentration de la substance entre l'entrée dans l'organe (C_A) et la sortie de l'organe (C_V). Ainsi, puisque l'organe est « épurateur », on peut écrire à tout moment [8] : $C_V < C_A$

A partir de ce schéma simplifié (**Figure I.5**), on peut calculer :

$$\text{Vitesse d'apport} = Q \times C_A \quad \text{Eq. I.4}$$

$$\text{Vitesse de sortie} = Q \times C_V \quad \text{Eq. I.5}$$

$$\text{Vitesse d'extraction} = Q \times (C_A - C_V) \quad \text{Eq. I.6}$$

Puisque l'organe est épurateur, on peut calculer un coefficient d'extraction E :

$$E = \frac{C_A - C_V}{C_A} \quad \text{Eq. I.7}$$

Chapitre I : Propriétés pharmacocinétiques des médicaments

Ce coefficient n'a pas d'unité, il varie entre 0 et 1 et exprime la capacité de l'organe considéré à capter le produit à partir du fluide qui le perfuse.

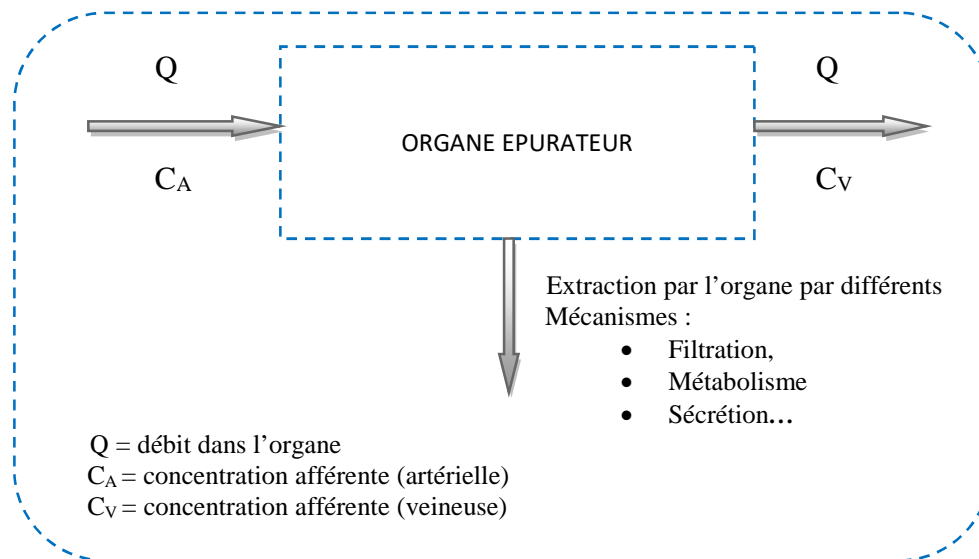


Figure I.5 : Illustration de la clairance d'un médicament dans un organe

Enfin, si l'on tient compte du volume de fluide traversant l'organe par unité de temps (notion de débit), on obtient une nouvelle valeur :

$$Q \times E = \frac{Q (C_A - C_v)}{C_A} \quad \text{Eq. I.8}$$

Qui peut aussi, à partir des équations (2), (6) et (8), s'écrire :

$$\text{Clairance} = \frac{\text{Vitesse d'élimination}}{\text{Concentration}} \quad \text{Eq. I.9}$$

Les médicaments peuvent être divisés en plusieurs classes selon leur comportement au niveau de l'organe. La classification pharmacocinétique des médicaments est basée sur trois éléments [11] :

↳ **1^{er} élément de classification :** Valeur du coefficient d'extraction

- $E \leq 0,3$: Faible (Médicament faiblement extrait) ;
- $0,3 < E < 0,7$: Intermédiaire (Médicament moyennement extrait) ;
- $E \geq 0,7$: Elevée (Médicament fortement extrait).

↳ 2^{ème} élément de classification : Nature du coefficient d'extraction

- Coefficient d'extraction Rénale ;
- Coefficient d'extraction Hépatique ;
- Coefficient d'extraction d'autres organes.

↳ 3^{ème} élément de classification : Nature de l'élimination

- Elimination restreinte : $E \leq f_B$
- Elimination non restreinte : $E > f_B$

f_B étant la fraction libre sanguine. Un médicament subit une élimination restreinte lorsque seule la fraction libre est extraite, par contre cette élimination est non restreinte lorsque les fractions libre et liée se trouvent extraites.

2.2.2.3. Clairances proprement dites

✚ Clairance hépatique

Une substance captée par le foie peut être soit excrétée inchangée dans la bile, soit soumise au métabolisme. Ainsi, la clairance hépatique résulte de deux clairances particulières, la clairance hépatique métabolique et la clairance de sécrétion biliaire [8].

$$Cl_H = Cl_M + Cl_B$$

Eq. I.10

✚ Clairance métabolique hépatique

Les médicaments ont des coefficients d'extraction très différents d'une molécule à l'autre, fonction de leur affinité pour l'hépatocyte, ce qui entraîne une très grande variabilité de la clairance hépatique. En bref, pour les médicaments présentant une forte clairance hépatique, le flux sanguin hépatique est le paramètre déterminant ; en revanche, pour les médicaments présentant une faible clairance hépatique, la fixation aux protéines sanguines et l'activité enzymatique hépatique conditionnent l'élimination.

La clairance métabolique dépend d'une part de la clairance intrinsèque ; et d'autre part de la fraction libre plasmatique du médicament. Elle s'exprime par la relation [8] :

$$Cl_H = Q_H \times E_H = Q_H \frac{f_B \times Cl_{int}}{Q_H + (f_B \times Cl_{int})} \quad \text{Eq. I.11}$$

Avec :

Q_H : Débit sanguin hépatique ;

E_H : Coefficient d'extraction hépatique ;

Cl_{int} : Capacité métabolique intrinsèque du foie, pour le système enzymatique donné.

La clairance intrinsèque exprime la capacité des hépatocytes à éliminer irréversiblement une substance véhiculée par le sang, en dehors de toute influence du débit sanguin hépatique [11].

Clairance biliaire

Ce paramètre, par analogie avec la relation des clairances rénales physiologiques est estimé d'après l'équation [11] :

$$Cl_B = \frac{\text{Débit biliaire} \times \text{Concentration biliaire}}{\text{Concentration plasmatique}} \quad \text{Eq. I.12}$$

Lorsque la concentration biliaire du médicament égale la concentration plasmatique, la clairance biliaire correspond au débit biliaire et s'avère, en conséquence, faible. Une substance présente une clairance biliaire importante lorsque sa concentration dans la bile surpasse très largement sa concentration plasmatique.

Les facteurs principaux influençant la clairance hépatique sont comme suit [11] :

- Modification de la sécrétion biliaire : les principales variations sont le fait de l'insuffisance hépatique ou rénale ;
- Modification du métabolisme : le métabolisme hépatique est influencé par certaines caractéristiques physiologiques de l'individu lié à l'âge ou à des facteurs génétiques, en présence d'états pathologiques ou au cours d'interactions médicamenteuses.
- Modification du débit sanguin hépatique (Q_H) (**Tableau I.3**).

Tableau I.3 : Principaux éléments susceptibles de modifier le débit hépatique

Principaux éléments susceptibles de modifier le débit Q_H	$Q_H \nearrow$	$Q_H \searrow$
Physiologique	Position couchée Prise de nourriture Digestion	Position debout Activité physique Modification brutale de température
Pathologique	-	Insuffisance cardiaque Cirrhose hépatique Hypertension rénale
Pharmacologique	Glucagon Hydralazine Isoprénaline	Propranolol Anesthésiques généraux Noradrénaline

Clairance rénale

Le rein est, avec le foie, un organe épurateur majeur de l'organisme. Rappelons les trois (03) mécanismes possibles au niveau rénal [8] :

- Filtration glomérulaire ;
- Sécrétion tubulaire ;
- Réabsorption tubulaire.

Deux de ces trois (03) mécanismes concourent à l'élimination de la substance tandis que la troisième «réduit» la clairance rénale. Par le principe de l'additivité des clairances, on peut écrire que la clairance rénale dépend de ces trois mécanismes selon l'équation suivante :

$$Cl_{\text{Rénale}} = Cl_{\text{Filtration}} - Cl_{\text{Réabsorption}} \quad \text{Eq. I.13}$$

Enfin, la clairance rénale d'un médicament dépend essentiellement des points suivants [11] :

- Physiologie rénale ;
- pH urinaire ;
- Fixation du produit aux protéines plasmatiques.

Et peut être modifiée par les facteurs suivants [11] :

- Âge (nouveau-né et personne âgée) ;
- Insuffisance rénale aiguë chronique ;
- Insuffisance cardiaque ou atteinte hépatique.

2.2.3. Demi-vie

Un paramètre synthétique est largement utilisé pour exprimer l'élimination d'un médicament de l'organisme : **la demi-vie ($t_{1/2}$)**.

La $t_{1/2}$ correspond au temps nécessaire pour passer d'une concentration plasmatique à sa moitié, quel que soit le niveau de cette concentration. Le facteur de proportionnalité, entre la dose administrée et la concentration plasmatique, est le volume de distribution. Une autre manière d'exprimer la même notion est de considérer la $t_{1/2}$ comme le temps mis pour diminuer de moitié la quantité totale de la molécule contenue dans l'organisme quelle que soit la dose. Généralement la demi-vie est calculée à partir de la concentration plasmatique mesurée durant la phase d'élimination [5, 7].

$$t_{1/2} = \frac{0,693}{K_{el}} \quad \text{Eq. I.14}$$

$$K_{el} = \frac{\text{Log}(C_1/C_2)}{t_2 - t_1} \quad \text{Eq. I.15}$$

K_{el} : Constante d'élimination ;

C₁ : Concentration au temps t_1 ;

C₂ : Concentration au temps t_2 .

L'élimination de la molécule inchangée ne peut se faire qu'à partir des organes d'élimination, en contact avec le sang ou le plasma. Comme par ailleurs la quantité de médicament dans le sang ou le plasma à tout moment dépend du volume de distribution, la vitesse de disparition du médicament dépendra à la fois de la clairance et du volume de distribution [7]. D'où :

$$t_{1/2} = \frac{0,693 \times V_d}{Cl} \quad \text{Eq. I.16}$$

2.2.4. Biodisponibilité

2.2.4.1. Définition

La biodisponibilité est définie à la fois par la quantité de principe actif, absorbée à partir d'une forme pharmaceutique, qui arrive dans la circulation générale et par la vitesse à laquelle se produit ce phénomène. Elle sera parfaitement déterminée par la connaissance de deux paramètres [8] :

↪ *Le premier paramètre* reflète l'aspect quantitatif et donc l'intensité de l'absorption, c'est la fraction effectivement absorbée ou coefficient d'absorption (F) ou encore le pourcentage de la dose administrée qui est effectivement absorbé. Cette fraction absorbée est évaluée soit à partir de la surface sous la courbe représentant la cinétique plasmatique, soit à partir des quantités éliminées sous forme de principe actif inchangé

↪ *Le deuxième paramètre* reflète l'aspect cinétique et donc la vitesse de cette absorption et peut être : soit le temps du pic plasmatique t_{\max} (inversement proportionnel à la vitesse), soit la constante de vitesse d'absorption K_a , dans le cas d'une vitesse d'absorption d'ordre un.

2.2.4.2. Modalités de détermination

La biodisponibilité est généralement déterminée en évaluant les concentrations de principe actif dans le sang total, le plasma, le sérum, la salive, les urines ou dans tout autre liquide biologique dans lequel le principe actif peut être dosé précisément. On obtiendra une courbe des concentrations de principe actif en fonction du temps dont les caractéristiques serviront à la détermination de la biodisponibilité, comme par exemple ; la concentration plasmatique maximale (C_{\max}), le temps du pic plasmatique (T_{\max}) et l'aire sous la courbe (ASC) [12].

✚ Biodisponibilité absolue

La biodisponibilité absolue notée **F** représente la fraction ou le pourcentage d'un médicament en solution qui, après administration, atteint la circulation générale. Elle est destinée à évaluer l'intérêt d'une voie d'administration par rapport à la voie intraveineuse, qui est considérée comme la référence. Elle est déterminée par le rapport de l'aire sous la courbe (ASC) des taux sanguins, plasmatiques ou salivaires, obtenus après administration du principe actif par la voie choisie sur l'aire sous la courbe (ASC)_{IV} obtenue après administration du principe actif par voie intraveineuse [12].

✚ Biodisponibilité relative

Elle permet d'apprécier la bioéquivalence de deux formes semblables ou non par l'égalité de leurs biodisponibilités. Contrairement à la détermination de la biodisponibilité absolue, l'évolution de la biodisponibilité relative repose sur la comparaison non seulement des aires sous la courbe ASC des concentrations dans le milieu choisi obtenues du temps zéro à l'infini, mais aussi de la vitesse d'absorption. La biodisponibilité relative est donnée par la formule suivante [12] :

$$\text{Biodisponibilité relative} = \frac{\text{ASC}_{\text{forme 1}} \times 100}{\text{ASC}_{\text{forme réf.}}} \quad \text{Eq. I.17}$$

Avec :

$\text{ASC}_{\text{forme 1}}$: Aire sous la courbe correspondant à une forme donnée (orale, rectale, etc.) ;

$\text{ASC}_{\text{forme réf.}}$: Aire sous la courbe correspondant à la forme de référence (injectable).

Conclusion

La pharmacocinétique est l'étude de la distribution dans le temps d'un médicament et de ses métabolites dans les différents compartiments de l'organisme ; ainsi que son absorption, son métabolisme et son élimination. La détermination expérimentale des paramètres pharmacocinétiques d'un médicament apporte les informations nécessaires dans le choix d'une voie d'administration et permet aussi d'adapter les posologies pour son utilisation future.

Chez l'animal, l'étude de la pharmacocinétique des médicaments permet de prévoir ce qui se produira chez l'homme avant les essais cliniques. Chez l'homme, les modèles pharmacocinétiques permettent d'une part, de déterminer les conditions d'utilisation du médicament, les précautions à prendre, l'incidence des associations et, d'autre part, d'adapter les posologies chez un patient donné.

Références bibliographiques

- [1] : I. Claverie, H. Hedde, « Pharmacie générale Toxicologie, mécanismes fondamentaux », 2^{ème} édition Porphyre, France (2008).
- [2] : B. Charpentier et collaborateurs, « Guide du préparateur en pharmacie », édition Masson, Paris (1998).
- [3] : Jean-Marie Gazengel, « Le préparateur en pharmacie, Dossier 5, pharmacologie », édition Tec & Doc, Paris (2001).
- [4] : M. Talbert, G. Willoquet, R. Gervais, « Guide Pharmaco », 6^{ème} édition Lamarre (2006).
- [5] : Sébastien Faure, Mathieu Guerriaud et Nicolas Clère, « Bases fondamentales en pharmacologie », éditions Elsevier Masson (2014).
- [6] : J. Dangoumau, « Pharmacie générale », édition Bourdeaux (2006).
- [7] : P. Lechat, « Pharmacologie », DCEM1, (2007).
- [8] : Pr. G. Houin, « Pharmacocinétique », édition ellipse (1990).
- [9] : Paul Lechat, « Pharmacie médicale », 5^{ème} édition Masson, Paris (1990).
- [10] : M. Bourin, P. Jolliet, « Pharmacie générale et pratique », 3^{ème} édition Ellipses, Paris (1999).
- [11] : J.P. Labaune, « Pharmacocinétique, Principes fondamentaux », 2^{ème} édition Masson, Paris (1988).
- [12] : J.M. Aiache, J.G. Besner, « Traite de biopharmacie et pharmacocinétique », 2^{ème} édition Vigot, Paris (1995).

Chapitre II
Solubilité et dissolution
des médicaments

Introduction

L'objectif majeur de la chimie de formulation d'un médicament est d'améliorer la biodisponibilité, la stabilité et de s'assurer du confort du patient. Parmi les différentes voies d'administration à savoir : orale, transdermique, parentérale, intra nasale, intraveineuse, intramusculaire, sous-cutanée et intraoculaire ; l'administration par voie orale reste la plus populaire car elle offre une meilleure commodité (simple et indolore) pour le patient [1].

A l'exception de l'administration par voie parentérale et de l'administration orale de solutions, toutes les formes pharmaceutiques doivent se dissoudre ou libérer le principe actif dans le milieu environnant le site d'administration, afin qu'il soit absorbé [2]. Les étapes de la mise en solution peuvent être résumées par la libération à partir de la forme galénique puis la dissolution du principe actif. Cette phase biopharmaceutique, première étape entre le moment de l'administration du principe actif et celui de l'obtention de l'effet, est primordial car elle précède l'absorption et peut la limiter si elle est insuffisante. La concentration du principe actif étant, dans la majorité des cas, le reflet de l'activité thérapeutique. L'étape biopharmaceutique contrôle la biodisponibilité et donc l'efficacité du médicament puisque seule la partie dissoute atteint l'organe cible et est pharmacologiquement active [2].

De nombreuses études ont mis en évidence que des différences importantes de biodisponibilité existaient entre des formes pharmaceutiques d'un même principe actif alors que les contrôles physico-chimiques et pharmaco-techniques effectués allaient dans le sens d'une équivalence. La détermination de la dissolution *in vitro* est donc un facteur important dans le développement et le contrôle des formes pharmaceutiques [2].

1. Temps du transit dans le tractus gastro-intestinal

Après administration d'une forme orale solide, le temps de transit dans le tractus gastro-intestinal peut varier considérablement [3] :

- entre les patients et chez le même patient, dont le temps de séjour gastrique est le plus variable ;
- avec l'état de la forme de dosage (formes galéniques liquides sont vidées de l'estomac plus rapidement que les formes galéniques solides) ;
- avec le jeun ou la prise de nourriture du patient.

Chapitre II : Solubilité et dissolution des médicaments

Après administration orale, les produits pharmaceutiques atteignent rapidement l'estomac, en passant par l'œsophage (**Figure II.1**) [4]. Ayant peu de temps de transit, l'absorption du médicament ne se produit pas normalement dans ces segments. L'estomac a relativement une grande surface épithéliale, mais en raison de sa couche de mucus épaisse, et le temps de séjour relativement court, l'absorption est limitée. Le temps de transit gastrique dépend de la taille des particules, de la densité des particules, de la vitesse de la vidange gastrique et de l'état prandial [5].

Il a été observé que les particules lourdes et/ou grandes sont plus retenues dans l'estomac [6, 7]. Le taux de vidange gastrique est affecté par plusieurs facteurs, notamment l'âge et le poids du patient, le volume de consommation de liquide, le volume de la prise de nourriture solide et sa teneur en matières grasses, la prise d'autres médicaments, le pH de l'estomac, etc. La variabilité observée dans l'absorption des médicaments administrés par voie orale est principalement due aux différents taux de vidange gastrique. Contrairement au transit gastrique, le temps de séjour intestinal n'est pas influencé ni par la taille des particules, ni par l'état prandial. En outre l'absorption de la quasi-totalité des médicaments est plus rapide dans l'intestin grêle que dans l'estomac. L'intestin grêle et plus particulièrement, son premier segment du duodénum a la plus grande surface pour l'absorption du médicament dans le tractus gastro-intestinal. Malgré le temps de passage court, la plupart des éléments nutritifs, des vitamines, et des médicaments sont absorbés dans ce segment de vingt (20) centimètres de long (**Figure II.1**) [4].

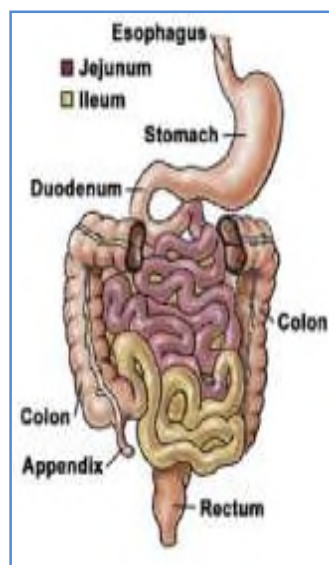


Figure II.1 : Anatomie des voies digestives

2. Variations du pH dans le tractus gastro-intestinal

Les conditions du pH dans le tractus gastro-intestinal varient aussi considérablement, d'un pH faible dans l'estomac à un pH plus élevé dans le petit et le gros intestin [5, 8 – 10] (Tableau II.1). Cela peut affecter la stabilité et provoque une influence sur le degré d'ionisation des médicaments ionisables, qui à son tour peut influencer leur solubilité et leur absorption [3].

Tableau II.1 : Temps du transit et pH du tractus gastro-intestinal

Segment gastro-intestinal	Temps du transit	pH
Estomac	2 h	3,1 ± 1,9
Duodenum	10 min	6,6 ± 0,5
Jéjunum	2 h	7,4 ± 0,4
Iléon	1 h	7,5 ± 0,4
Côlon	36- 72 h	7,0 ± 0,7

3. Système de Classification Biopharmaceutique (SCB)

La biodisponibilité d'un médicament administré par voie orale dépend de sa solubilité dans les milieux aqueux avec un intervalle de pH allant de 1,0 à 7,5 et de sa perméabilité à travers les membranes des cellules épithéliales dans le tractus gastro-intestinal [11]. Sur la base de ces facteurs, Amidon et al. ont introduit le Système de Classification Biopharmaceutique (SCB) qui divise les substances actives en quatre (04) classes [12]. La classe I comprend les médicaments solubles dans l'eau qui sont bien absorbés par le tractus gastro-intestinal et ont une biodisponibilité élevée après l'administration orale. Les médicaments de la classe II sont des principes actifs insolubles dans l'eau ou ayant une dissolution lente. L'absorption de ces médicaments est limitée par le taux de dissolution. En revanche, les médicaments de la classe III se dissolvent facilement, mais ne peuvent pas pénétrer dans les membranes biologiques du tractus gastro-intestinal. Dans le cas des médicaments de la classe IV (faible solubilité dans l'eau et faible perméabilité), l'administration orale n'est pas recommandée. Lindenberg et al. ont sélectionné 61 des 130 médicaments administrés par voie orale énumérés dans la liste modèle OMS des médicaments essentiels à des classes de SCB [13, 14]. Les pourcentages de distribution des 61 principes actifs considérés dans les classes SCB sont représentés au tableau II.2.

Tableau II.2 : Pourcentage de distribution des médicaments administrés par voie orale selon les classes du SCB

Classe	Solubilité	Perméabilité	Distribution
I	Elevée	Elevée	84 %
II	Faible	Elevée	17 %
III	Elevée	Faible	39 %
IV	Faible	Faible	10 %

4. Solubilité des médicaments

La solubilité d'un principe actif est un facteur clé dans le domaine de la formulation du médicament [3]. D'un point de vue pharmaceutique, une solution est souvent formée par un ou plusieurs liquides miscibles entre eux appelés solvants, en proportion majoritaire et par une ou plusieurs substances à l'état dissous appelées solutés. Le solvant est généralement aqueux, mais peut être également huileux ou alcoolique. La notion de solubilité du principe actif dans un solvant adéquat est capitale pour la réalisation des solutions pharmaceutiques [2].

4.1. Définition

La solubilité est la capacité d'un soluté (le médicament) à se dissoudre dans un solvant (ça peut être de l'eau, une solution tampon ou tout autre solvant, y compris les dits supports biologiquement pertinents « biorelevant media » qui sont conçus pour mimer les conditions *in vivo* dans le tractus gastro-intestinal). La solubilité de saturation est la solubilité maximale du soluté dans le solvant, en particulier à des conditions d'équilibre. La solubilité de saturation dépend de la température et de la pression. Pour les substances ionisables, elle est également affectée par le pH du solvant [3].

Au sein d'un groupe de molécules ou d'atomes, il existe une variété de liaisons intra- et inter-moléculaires (ex : forces de Van der Waals, forces de London, lien hydrophobe, etc). Ce sont ces forces qui sont impliquées dans la solubilité d'une substance car elles gouvernent les interactions solvant/solvant, soluté/soluté, et solvant/soluté. Plus les interactions solvant/soluté seront importantes, plus le soluté sera soluble dans le solvant [2].

4.2. Méthodes d'étude de la solubilité

Pendant de nombreuses années, la prévision de la solubilité est restée fondée sur des règles empiriques reposant uniquement sur l'observation. Cependant les théories sur la solubilité sont d'une grande utilité pour le pharmacien. Le galéniste en particulier, se doit de les connaître pour aborder aussi bien les problèmes technologiques que biopharmaceutiques. Lorsque les molécules à dissoudre sont difficilement solubles, les principales voies d'étude de la solubilité sont soit une approche par la polarité (certains principes actifs présentent une solubilité maximale lorsque les solvants utilisés ont une polarité identique à ces molécules) soit une approche par la thermodynamique (pour se dissoudre, un corps à l'état solide, doit se séparer de son environnement cristallin, l'énergie pour rompre le réseau est identique à celle nécessaire pour provoquer la fusion de ce corps). La solubilité peut être exprimée de diverses façons. La Pharmacopée Européenne exprime la solubilité en matière de volume du solvant nécessaire pour dissoudre 1 g de substance (**Tableau II.3**) [3].

Tableau II.3 : Mesure de la solubilité

Solubilité	Volumes approximatifs de solvant en millilitres par gramme de substance
Très soluble	moins de 1
Facilement soluble	de 1 à 10
Soluble	de 10 à 30
Assez soluble	de 30 à 100
Peu soluble	de 100 à 1 000
Très peu soluble	de 1000 à 10 000
Pratiquement insoluble	plus de 10 000

4.3. Facteurs influençant la solubilité

La solubilité dépend de plusieurs facteurs à savoir : la constitution chimique du milieu, le pH, la température, la pression, le polymorphisme, la taille des particules, la taille moléculaire et les substances additives [15, 16].

- **Constitution chimique**

La solubilité est fonction de la nature chimique du corps à dissoudre et de celle du solvant [15]. Alors que seulement un seul gramme de plomb (II) chlorure peut être dissous dans 100 g d'eau à température ambiante, 200 g de chlorure de zinc peuvent être dissous sous les mêmes conditions opératoires. La grande différence dans la solubilité de ces deux substances est le résultat des différences dans leur nature chimique [16]. On distingue la solubilité par ionisation (dissociation en ions) et la solubilité par polarité (affinités entre groupements fonctionnels du solvant et ceux du corps à dissoudre). Les substances riches en groupements hydrophiles se dissolvent surtout dans les solvants polaires et les substances hydrophobes dans les solvants apolaires [15].

- **pH**

Le pH peut aussi fortement influencer la solubilité de certains produits. Dans le cas de la solubilité par ionisation, le pH du milieu est très important (alcaloïdes, phénols, substances amphotères...). Aussi, précisons que dans le cas où les ions d'un composé ionique possèdent des propriétés acides ou basiques, le fait d'imposer (utilisation de solution tampon) le pH du milieu dans lequel sera dissout ce composé va modifier sa solubilité. Cela explique la redissolution de certains précipités quand une petite quantité d'acide ou de base est ajoutée au milieu dans lequel ils se trouvent [15].

- **Température**

Si la mise en solution absorbe de l'énergie, la solubilité augmente avec la température. Par contre si la mise en solution libère de l'énergie, la solubilité diminue avec l'augmentation de la température [16]. Dans la plupart des cas, la solubilité d'un solide (ou d'un liquide) dans un liquide augmente avec la température mais il y a des exceptions (glycérophosphate de calcium, citrate de calcium, méthylcellulose...). L'élévation de température est évidemment contre indiquée pour les produits volatils ou thermolabiles (NaHCO_3) [15]. Pour tous les gaz, la solubilité diminue à mesure que la température de la solution augmente [16].

- **Pression**

Pour les solutés gazeux, une augmentation de la pression fait augmenter la solubilité et la diminution de la pression fait diminuer la solubilité. Pour les solutés solides et liquides, les changements de pression n'ont pratiquement aucun effet sur la solubilité [16].

- **Polymorphisme**

A une température donnée, c'est la forme cristalline la moins stable qui est plus soluble. Un produit est plus soluble à l'état amorphe qu'à l'état cristallisé [15].

- **Taille des particules**

La taille de la particule solide influe sur la solubilité, car quand une particule devient plus petite, le rapport aire de surface/volume augmente. Une surface plus grande permet une plus grande interaction avec le solvant [16].

- **Taille moléculaire**

Plus la molécule est grosse ou plus son poids moléculaire est élevé moins la substance est soluble [16].

- **Substances additives**

Les substances ajoutées à un solvant peuvent modifier la solubilité de certains produits. Par exemple, la solubilisation dans l'eau des substances hydrophobes par des tensioactifs n'est pas une véritable dissolution, elle conduit à des pseudo-solutions [15].

5. Dissolution des médicaments

La première référence concernant la dissolution provient d'un article de Noyes et Withney en 1897. De nombreux travaux ont été réalisés depuis, permettant de relier et/ou corréler dissolution et vitesse d'absorption. Ainsi, l'étude de la dissolution *in vitro* est devenue un paramètre clé pour le contrôle qualité des formes pharmaceutiques [2].

5.1. Définition

Alors que la solubilité est une propriété thermodynamique, la dissolution est une propriété cinétique. Le taux de dissolution décrit la vitesse à laquelle un médicament se dissout dans un solvant. Le taux de dissolution dépend non seulement de la nature du solvant et de la température, mais aussi de nombreux autres facteurs comme la taille et la surface d'échange du solide, des conditions de mélange ou d'agitation et du volume de solvant [3].

5.2. Place de l'essai de dissolution

L'étude de la dissolution est importante pour contrôler une formulation mais aussi pour expliquer son comportement biopharmaceutique. L'étude de la dissolution permettra de valider les choix de formulation : la forme est-elle à libération immédiate, à libération modifiée ou contrôlée, gastro-résistante, etc. L'essai de dissolution est réalisé à plusieurs stades du développement des médicaments.

En préformulation, plusieurs propriétés fondamentales sont étudiées comme la constante d'ionisation, le coefficient de partage, la vitesse de dissolution, la stabilité, l'hygroscopicité et le polymorphisme. Il est important de connaître la vitesse de dissolution des principes actifs très faiblement solubles pour envisager des solutions permettant de la modifier.

Au stade de la formulation galénique, des études comparatives de dissolution de plusieurs formes permettent d'optimiser la formulation et de s'assurer que la libération du principe actif est complète à partir de la forme galénique. L'établissement de profils de dissolution est indispensable comme guide de la formulation des formes solides et pour la mise en évidence du degré de pertinence de l'essai de dissolution.

En contrôle de routine, l'essai de dissolution est destiné au contrôle de qualité des formes pharmaceutiques solides. Il sert à démontrer la reproductibilité du procédé de production et la conformité du produit fini avec les lots précédents [2].

5.3. Théorie de la dissolution

La dissolution d'un soluté provient d'un procédé à multiples étapes engageant des réactions/interactions hétérogènes entre le milieu et le soluté. Différentes théories permettent d'interpréter le processus complet. L'équation classique de Noyes – Whitney (1897) décrit la variation de la quantité de produit dissous à partir d'une particule solide en fonction du temps [2] :

$$\text{Taux de dissolution} = (dM/dt) = KS (C_s - C_t) \quad \text{Eq. II.1}$$

- **M** : Quantité de produit dissous ;
- **K** : Constante de dissolution ;
- **S** : Surface de contact solide-liquide ou surface d'échange ;
- **C_s** : Concentration à saturation du produit à dissoudre ;
- **C_t** : Concentration de la solution à l'instant t.

Nernst et Bruner (1904) ont proposé la théorie de la couche de diffusion pour laquelle l'hypothèse est qu'il se forme à la surface du solide immergé un film d'épaisseur **h** dont la concentration passe de la saturation **C_s** à la surface du solide à la concentration moyenne au sein du liquide **C_t**. Dans ces conditions, la force d'entraînement pour la dissolution est le gradient de concentration entre **C_s** et **C_t** [2] (**Figure II.2**).

Chapitre II : Solubilité et dissolution des médicaments

En appliquant la loi de diffusion de Fick, ils ont introduit le facteur de coefficient de diffusion **D**, l'épaisseur de la couche de diffusion **h** et le volume du solvant **V**.

$$(dC/dt) = \frac{DS (C_s - C_t)}{Vh} \quad \text{Eq. II.2}$$

L'étude de l'équation de dissolution met en évidence que :

- l'épaisseur **h** sera dépendante de la vitesse d'agitation ou du débit ;
- le coefficient de diffusion **D** est dépendant de la température.

Cette théorie s'applique à l'ensemble des phénomènes de dissolution *in vitro* et *in vivo* et permet d'expliquer et de comprendre l'importance relative des différents paramètres de la dissolution. Cette équation montre que le principe actif se dissout instantanément dans une couche très fine de solvant situé autour de la particule jusqu'à obtention d'une solution saturée. La diffusion du principe actif au sein du liquide permet la poursuite de la dissolution. Cette dissolution peut avoir lieu tant que le milieu liquide ambiant ne sera pas lui-même saturé [2].

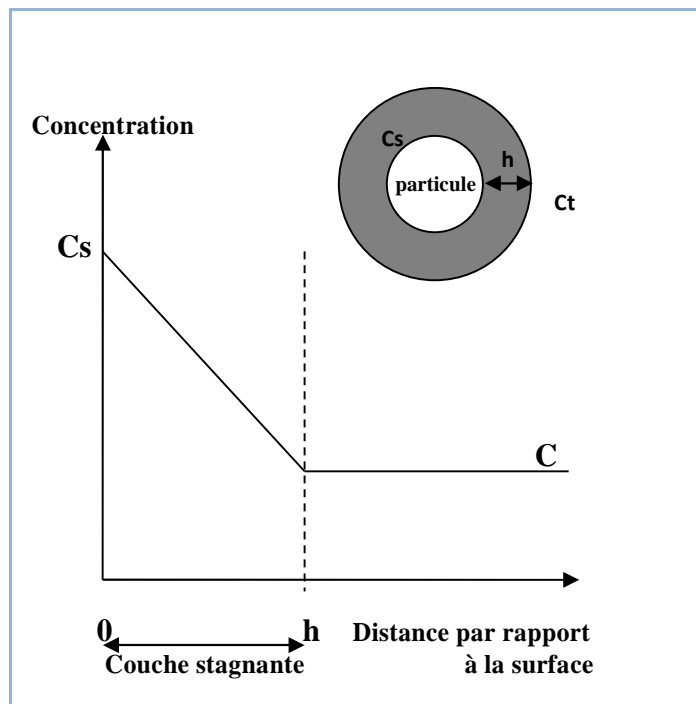


Figure II.2 : Schéma illustrant la dissolution d'une particule selon la théorie de la couche de diffusion

Les études biologiques ont montré que le tractus gastro-intestinal agit comme un réservoir naturel : le principe actif est absorbé au fur et à mesure de sa dissolution. Dans les conditions *in vivo*, la concentration au niveau de la solution est très faible par rapport à la concentration de saturation et la dissolution est réalisée dans des conditions *sink*.

Il est impératif que les méthodes d'étude *in vitro* permettent de maintenir les conditions *sink*, à savoir que la concentration C_t au sein du liquide ne doit pas dépasser 30% environ de la concentration à saturation C_s . La vitesse d'agitation, la température du milieu de dissolution et sa viscosité (fonction de la température) doivent être parfaitement définies et contrôlées *in vitro*. De plus, la présence d'électrolytes et les variations de pH peuvent influencer la diffusion des molécules en modifiant leur ionisation. Pour limiter ce phénomène, le milieu de dissolution *in vitro* devrait être aussi simple que possible [2].

5.4. Appareils de dissolution

Les différentes Pharmacopées décrivent les appareils et méthodes utilisables et une harmonisation des appareils dans le cadre de l'ICH a été entreprise pour l'étude de dissolution *in vitro* [17, 18]. Compte tenu de la diversité des formes pharmaceutiques solides orales et des propriétés physico-chimiques des principes actifs, il n'est pas possible de concevoir un appareil unique pour toutes les formes. Quatre (04) appareils ont été standardisés selon les Pharmacopées (Américaines, Européennes et Japonaises) pour les essais de dissolution des formes orales [2] :

- Appareil à panier tournant ;
- Appareil à palette tournante ;
- Appareil à cylindre réciproque ;
- Cellule à flux continu.

Notons que l'appareil à palette tournante est souvent le mieux adapté dans le cas des formes orales solides.

5.5. Facteurs influençant la dissolution des médicaments

Dans le cas des médicaments de la classe II du système de classification biopharmaceutique (SCB), le taux de dissolution est influencée à la fois par les propriétés physico-chimiques de la substance et les conditions physiologiques qui règnent dans le tractus gastro-intestinal. Ces paramètres sont mentionnés au tableau II.4 [19].

Tableau II.4 : Facteurs influençant la dissolution des médicaments dans le tractus gastro-intestinal

Paramètre	Facteurs physico-chimiques	Facteurs physiologiques
Surface d'échange	Taille de la Particule	Tensio-actifs dans le suc gastrique et dans la bile
Coefficient de diffusion	Taille Moléculaire	La viscosité du contenu luminal
Epaisseur de la couche stagnante		Modèles de la motilité et débit
Solubilité	Caractère hydrophile et structure cristalline	pH, capacité tampon, bile et composants alimentaires
Concentration du médicament dans la solution		Perméabilité
Volume du contenu du tractus gastro-intestinal		Sécrétion et administration des fluides

6. Amélioration de la solubilité et de la dissolution des médicaments

Rappelons que la biodisponibilité d'un médicament dépend de sa solubilité et de sa capacité à traverser les membranes biologiques (perméabilité). Malheureusement, de nombreux médicaments modernes présentent une faible solubilité aqueuse. Lorsqu'il est administré par voie orale, le médicament doit passer en solution dans le tractus gastro-intestinal pour être en mesure de traverser la membrane de la muqueuse et pénétrer dans le corps [3].

Le mécanisme pour traverser la barrière de la muqueuse peut se faire soit par diffusion passive ou par transport actif à travers les interactions avec les protéines de transport (cf. chapitre I). Les procédés se déroulent à l'échelle moléculaire, il est donc essentiel que le médicament soit dissous. Cela signifie que le médicament dans la forme galénique doit également avoir une vitesse de dissolution suffisamment élevée. Par exemple, dans une forme orale, si un médicament a une solubilité relativement élevée mais se dissout lentement, des concentrations suffisantes du médicament ne peuvent pas être atteintes au moment où la forme galénique est présente dans le tractus gastro-intestinal [3].

Par ailleurs, parmi les facteurs favorisant la faible solubilité des nouvelles entités chimiques nous mentionnons deux (2) facteurs importants : la lipophilie et la cristallinité [3] :

- **Lipophilie**

De nombreux médicaments modernes sont lipophiles. Ces molécules sont parfois appelés « *grease ball molecules* ». Ils ont souvent des points de fusion bas et une faible solubilité dans l'eau, mais montrent une assez grande solubilité dans les milieux lipophiles.

- **Cristallinité**

Les médicaments ont tendance à contenir des groupements fonctionnels et donc capables de se cristalliser en cristaux très stables ayant des points de fusion élevés (souvent plus de 200°C) avec une basse énergie libre. Pour ces médicaments, une grande quantité d'énergie est nécessaire pour libérer les molécules de la maille cristalline. Ces médicaments sont souvent pas particulièrement lipophiles, et par conséquent, ne se dissolvent ni dans l'eau ni dans les huiles. Parfois, ces molécules sont appelées « *brick dust molecules* ». Ces médicaments peuvent être qualifiés de « *solvophobic* », pour les différencier des médicaments lipophiles mentionnés ci-dessus.

Pour améliorer la solubilité, la vitesse de dissolution et par conséquent la biodisponibilité des médicaments, diverses stratégies ont été mises au point à savoir : la modification des propriétés du médicament au niveau moléculaire, l'utilisation des systèmes colloïdaux ou la modification des propriétés du médicament au niveau particulaire.

6.1. Amélioration de la solubilité des médicaments au niveau moléculaire

La complexation à l'aide des cyclodextrines, l'utilisation des co-solvants et la formation des sels représentent les principales stratégies pour améliorer la solubilité, la vitesse de dissolution et ultérieurement la biodisponibilité des médicaments au niveau moléculaire.

6.1.1. Complexation aux cyclodextrines

Une technique de plus en plus utilisée dans l'industrie pharmaceutique pour améliorer la solubilité des principes actifs hydrophobes est la formation de complexes d'inclusion avec les cyclodextrines [2]. Outre l'utilisation de cyclodextrines naturelles, plusieurs dérivés de ces molécules ont été également synthétisés, tels que les dérivés d'hydroxypropyle et de sulfobutylether. La raison de ces modifications est que ces dérivés présentent une solubilité aqueuse plus élevée que les cyclodextrines naturelles, en particulier la β -cyclodextrine.

La complexation des principes actifs dans la cavité des cyclodextrines conduit non seulement à une augmentation de la solubilité apparente du médicament mais également à l'augmentation de la vitesse de dissolution. Le taux de dissolution d'un médicament peut être décrit par l'équation de Noyes – Whitney. Etant donné que la vitesse de dissolution est proportionnelle à la solubilité de saturation, la vitesse de dissolution est également améliorée par l'effet de la complexation à l'aide des cyclodextrines. Ainsi, les complexes d'inclusion peuvent être utilisés pour formuler des médicaments peu solubles dans l'eau sous forme de solutions (ex. les solutions orales, les solutions parentérales intraveineuse et intramusculaire, et les gouttes oculaires) mais également des formes orales solides (ex. comprimés et capsules). Plus de trente formulations contenant des complexes d'inclusion ont été introduites avec succès sur les marchés en Europe, aux Etats-Unis et au Japon [3].

6.1.2. Utilisation des co-solvants

La solubilité dans l'eau d'une substance faiblement ionisée ou apolaire peut être améliorée par la diminution de la polarité de l'eau. Ceci peut être réalisé par l'addition d'un autre solvant miscible à l'eau et dans lequel la substance est soluble. Ces véhicules utilisés en vue d'augmenter la solubilité des principes actifs sont appelés co-solvants [2]. Généralement, les solvants contenant un groupe hydroxyle tels que l'éthanol, le propylène glycol et les poly (éthylène glycols) de poids moléculaires variables sont utilisés. Cette approche est souvent utilisée dans la formulation des solutions pharmaceutiques orales. Cependant, pour atteindre une solubilité du médicament suffisamment élevée dans un mélange eau - co-solvant, la concentration du co-solvant doit être assez élevée. Par conséquent, si le co-solvant miscible à l'eau est dilué (par exemple, pour une forme orale dans des fluides gastro-intestinaux), le pouvoir de solubilisation du mélange eau – co-solvant peut être rapidement perdu et une précipitation du médicament peut avoir lieu. En outre, les concentrations élevées du co-solvant peuvent être inacceptables pour les formulations parentérales pour des raisons toxicologiques [3].

6.1.3. Formation des sels

La formulation d'un médicament sous forme d'un sel au lieu de son utilisation dans sa forme acide ou de base est la méthode la plus couramment utilisée pour améliorer la solubilité aqueuse et la vitesse de dissolution. Plus de 50% des monographies de médicaments aux États-Unis (USP 2006) sont des formes sels. Il a été démontré que dans de nombreux cas, la solubilité d'un sel est augmentée par rapport à la forme de l'acide ou de la base libre du médicament. L'ampleur de cette augmentation est fonction du type du sel formé [3].

6.2. Amélioration de la solubilité des médicaments au niveau colloïdal

Il est également possible d'améliorer la dissolution et la solubilité des médicaments au niveau colloïdal par la solubilisation du médicament dans des systèmes colloïdaux, tels que les émulsions et les microémulsions.

6.3. Amélioration de la solubilité des médicaments au niveau particulaire

Il est également possible de modifier les propriétés des molécules de type « grease ball » ou « brick dust » au niveau particulaire, et ce par cristallisation du médicament sous une forme polymorphe métastable, en convertissant la structure cristalline des particules du médicament vers une forme amorphe ou par la réduction de la taille des particules.

- **Utilisation des polymorphes métastables**

De nombreux composés pharmaceutiques peuvent se cristalliser sous différentes formes cristallographiques. Celles-ci sont appelées polymorphes. Les formes polymorphes d'un médicament sont chimiquement identiques, mais leurs propriétés physiques, telles que la densité et la solubilité, peuvent être différentes. Différentes formes polymorphes peuvent être préparés en modifiant les conditions de cristallisation [3].

- **Réduction de la taille des particules**

L'équation de Noyes – Whitney relie la dissolution d'un médicament à sa solubilité de saturation et à la surface des particules du médicament. A partir de cette équation, on peut voir que, si un processus de formulation améliore la solubilité de saturation du médicament (C_s), la vitesse de dissolution sera aussi améliorée. Cependant, l'augmentation de la surface spécifique des particules de médicament améliore également la vitesse de dissolution.

La surface totale d'une masse ou d'un volume de particules donné augmente lorsque la taille des particules est réduite. Par conséquent, la réduction de la taille des particules d'une poudre de médicament (par exemple, dans un procédé de broyage) augmente le taux de dissolution du médicament. Dans la situation dynamique du tractus gastro-intestinal, un taux de dissolution élevé devrait conduire à une biodisponibilité plus élevée si la solubilité et non pas l'absorption du médicament est l'étape limitant le taux de dissolution.

Chapitre II : Solubilité et dissolution des médicaments

La réduction de la taille des particules diminue également l'épaisseur de la couche limite effective autour des particules de dissolution, ce qui améliore en outre le taux de dissolution. Dans le cas de très petites particules (basse gamme du nanomètre), non seulement la vitesse de dissolution mais également la solubilité de saturation peut être augmentée [3].

Enfin, notons que d'autres approches sont disponibles pour améliorer la solubilité des substances actives peu solubles dans l'eau, tel que l'ajustement de pH. La plupart des substances actives sont généralement des acides ou des bases faibles. La solubilité et la stabilité de ces substances peuvent être influencées par le pH du milieu dans lequel elles se trouvent. En effet, la solubilité d'un acide faible peut être améliorée avec l'augmentation du pH, alors que la solubilité d'une base faible est améliorée avec la diminution du pH. Pour les acides et bases fortes le problème ne se pose pas car ce sont des substances toujours ionisées en milieu aqueux [2].

Conclusion

La solubilité et la dissolution sont deux paramètres importants pour l'étude de la biodisponibilité orale des formes pharmaceutiques solides. Actuellement, seulement 8% des nouveaux médicaments « candidats » ont à la fois une solubilité et une perméabilité élevées [16]. En raison des problèmes de solubilité, la biodisponibilité de nombreux médicaments se trouve alors affectée. Par conséquent, l'amélioration de la solubilité devient nécessaire. Enfin, il est maintenant possible d'améliorer celle-ci et certainement la dissolution des médicaments peu solubles dans l'eau à l'aide des différentes techniques clairement présentées dans ce chapitre (complexation aux CDs...).

Références bibliographiques

[1] : Thorsteinn Loftsson, Marcus E. Brewster and Mar Masson, review article « Role of cyclodextrins in improving oral drug delivery », American Journal Drug Delivery, 2 (4), 1 – 15 (2004).

[2] : Pascal Wehrlé, « Pharmacie galénique : formulation et technologie pharmaceutique », édition Maloine, p. 96 – 111 (2007).

[3] : Yvonne Perrie, Thomas Rades, « Pharmaceuticals: Drug Delivery and Targeting », 2^{ème} édition Pharmaceutical Press, p. 6 – 7 et p. 25 -52 (2012).

[4] : Laurent Beaugerie, Harry Sokol, CDU-HGE (Collégiale des universitaires en hépato-gastro-entérologie), « Les fondamentaux de la pathologie digestive. Enseignement intégré : appareil digestif », éditions Elsevier Masson (2014).

[5] : M. Martinez, G. Amidon, L. Clarke, W.W. Jones, A. Mitra, J. Riviere, « Applying the biopharmaceutical classification system to veterinary pharmaceutical products. Part II. Physiological considerations », Advanced Drug Delivery Review, Vol. 54, 825 – 850 (2002).

[6] : J.E. Devereux, J.M. Newton, M.B. Short, « The influence of density on the gastrointestinal transit of pellets », Journal Pharm. Pharmacol., Vol. 7, 500 – 501 (1990).

[7] : P. Mason, « Drug – food interaction, Food and medicines I », The Pharmaceutical Journal, Vol. 269, 571 – 573 (2002).

[8] : J. Fallingborg, « Intraluminal pH of the human gastrointestinal tract », Dan. Med. Bull., Vol. 46, 183 – 196 (1999).

[9] : T.L. Russell, R.R. Berardi, J.L. Bamett, « Upper gastrointestinal pH in seventy-nine healthy, elderly, North American men and women », Pharm. Res., Vol. 10, 187 – 196 (1993).

Chapitre II : Solubilité et dissolution des médicaments

[10] : H. Song, T. Guo, R. Zhang, C. Zheng, Y. Ma, X. Li, K. Bi, X. Tang, « Preparation of the traditional chinese medicine compound recipe heart – protecting musk pH-dependent gradient release pellets », Drug Development Industry Pharmaceutical, Vol. 28, 1261 – 1273 (2002).

[11] : FDA, Draft – Guidance for Industry : Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administred Drug Products », U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), July 2002.

[12] : G.L. Amidon, H. Lunnernas, V. P. Shah, J.R. Crison, « A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification : the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability », Pharm. Res. Vol. 12, 413 – 420 (1995).

[13] : M. Lindenberg, S. Kopp, J.B. Dressman, « Classification of orally administred drugs on the World Health Organisation Model list of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system », European Journal Pharm. Biopharm., 58 (2), 265 – 278 (2004).

[14] : World Health Organization, the 12th Model List of Essential Medicines, [www.who.int/medicines/] (2002).

[15] : A. Lehir, J.P. Chaumeil, «Abrégé de pharmacie galénique», 9^{ème} Edition Masson p. 127 – 128 (2008).

[16] : Anil J Shinde, «Solubilization of Poorly Soluble Drugs: A Review», Latest Reviews, Vol. 5, issue 6 (2007).

[17] : The United State Pharmacopoeia, Rockville USA, (724) Drug release, 26th edition (2003).

[18] : Pharmacopée Européenne, Conseil de l'Europe, Strasbourg, France, 2.9.3 « Essai de dissolution des formes solides », 5^{ème} édition (2005).

[19] : J. B. Dressman et C. Reppas, « In vitro - in vivo correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs », European Journal Pharmaceutical Science, 11 (2), 73 – 80 (2000).

Chapitre III
Dispersions solides

Introduction

La réalisation des dispersions solides est l'une des stratégies les plus prometteuses pour améliorer la biodisponibilité orale des principes actifs peu solubles dans l'eau [1].

En 1961, Sekiguchi et Obi [2] ont développé la première dispersion solide, par le procédé de fusion, comme une méthode pratique pour réduire la taille des particules dans le but d'améliorer la dissolution et l'absorption des principes actifs. Cette méthode, qui a été plus tard appelée « dispersion solide » a impliqué la formation de mélanges eutectiques de principes actifs avec des véhicules hydrosolubles par la fusion de leurs mélanges physiques.

La méthode d'évaporation de solvant a été rapportée la première fois par Tachibana et Nakamura en 1965 [3]. Ils ont préparé des dispersions colloïdales aqueuses du β -carotène en utilisant des polymères hydrosolubles tels que la polyvinylpyrrolidone (PVP). Le principe actif et le polymère sont dissous dans un solvant commun qui a été ensuite éliminé par évaporation. L'exposition du co-précipité à l'eau conduit à une dispersion colloïdale du médicament.

En 1966, Goldberg et al. [4, 5] ont prouvé que le principe actif dans une dispersion solide peut être présent dans un état microcristallin et/ou dispersé à l'échelle moléculaire dans la matrice, formant ainsi une solution solide.

1. Généralités

1.1. Définition

Le terme « dispersion solide » se réfère à un groupe de produits solides constitués d'au moins de deux composants différents, en général une matrice hydrophile et un médicament hydrophobe. La matrice peut être soit cristalline ou amorphe. Le principe actif peut être dispersé à l'échelle moléculaire, sous forme de particules amorphes ou de particules cristallines [6]. La figure III.1 schématise les trois (03) modes d'incorporation du principe actif dans une dispersion solide [7].

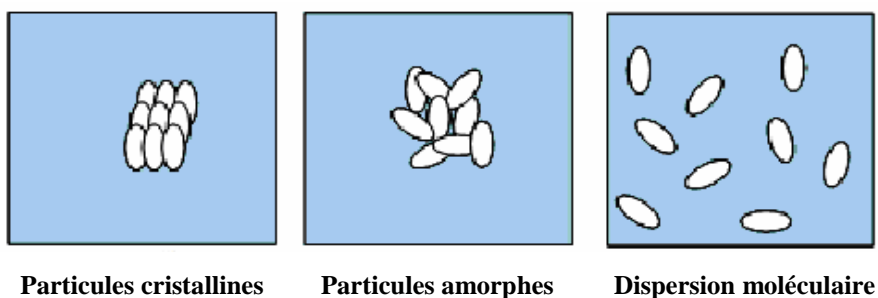


Figure III.1 : Schéma illustrant les trois modes d'incorporation du principe actif dans une dispersion solide

1.2. Polymères utilisés

Les principaux matériaux, aussi dénommés polymères, utilisés comme véhicules dans la préparation des dispersions solides sont regroupés dans le tableau III.1 [8].

Tableau III.1 : Exemples de véhicules utilisés dans la préparation des dispersions solides

Sucres	Dextrose, Saccharose, Galactose, Sorbitol, Maltose, Xylitol, Mannitol, Lactose
Acides	Acide citrique, Acide succinique
Polymères	Polyvinylpyrrolidone (PVP), Polyéthylène glycol (PEG), Hydroxypropyl-méthylcellulose, Méthylcellulose, Hydroxyéthylcellulose, Hydroxypropyl cellulose, Cyclodextrines, Galactomannane, Pectine
Polymères insolubles ou entériques	Phtalate d'hydroxypropylméthylcellulose, Eudragit L-100, Eudragit S-100, Eudragit RL, Eudragit RS
Tensioactifs	Stéarate de polyoxyéthylène, Poloxamère 188, Tweens, Spans
Divers	Pentaérythritol, Pentaerythrityl tétra acétate, Urée, Uréthane, Hydroxyalkyle xanthines

Aussi, précisons que pour la réalisation de notre étude, nous avons utilisé comme véhicules le polyéthylène glycol (PEG) et les cyclodextrines.

Polyéthylène glycols (PEGs)

Les polyéthylène glycols (PEGs) sont des polymères synthétiques hydrosolubles avec la structure chimique générale $H(-O-CH_2-CH_2)_n-OH$ où n est le nombre de motifs répétitifs d'oxyéthylène [9]. Les PEGs sont disponibles dans une large gamme de poids moléculaire (PM). A température ambiante et en fonction du poids moléculaire, les PEGs se trouvent sous les formes suivantes [10] :

- Liquides (PM : 200 - 600) ;
- Semi-solides avec une consistance de vaseline (PM : 800 - 1500) ;
- Cireuse (PM : 2000 - 6000) ;
- Cristaux durs et fragiles au-dessus de 20 000.

Les PEGs sont largement utilisés dans diverses formulations pharmaceutiques, telles que les préparations pour application locale, parentérales, ophtalmiques, orales et rectales. Ils ont été aussi utilisés expérimentalement dans des matrices polymères biodégradables pour les systèmes à libération contrôlée [9].

Des mélanges de PEGs peuvent être utilisés dans la formulation des suppositoires, présentant ainsi de nombreux avantages par rapport aux graisses. Par exemple, le point de fusion du suppositoire peut être rendu supérieur pour résister à une exposition de climats plus chauds ; la libération du médicament ne dépend pas du point de fusion ; la stabilité physique au stockage est meilleure ; et les suppositoires sont facilement miscibles avec les liquides rectaux [9].

Le PEG 6000 est un polymère de haut poids moléculaire, constitué d'un mélange de polymères ayant des degrés de polymérisation différents. Il est très soluble dans l'eau. Il montre également une bonne solubilité dans plusieurs solvants non aqueux, qui est un avantage pour la préparation des dispersions solides par la méthode d'évaporation [10].

Aussi, l'une des caractéristiques intéressantes de ce polymère, est l'amélioration de la solubilité des substances médicamenteuses, par sa capacité à améliorer le mouillage et à réduire l'agglomération de ces substances. Le point de fusion du PEG 6000 est de 55 à 63 °C [10]. Ces températures de fusion relativement basses sont avantageuses pour la préparation des dispersions solides par la méthode de fusion.

✚ Cyclodextrines (CDs)

Les CDs dérivent d'une hydrolyse enzymatique de l'amidon sous l'action de la cycloglycosyl transférase [11]. Ce sont des oligosaccharides cycliques, dénommés α , β , ou γ -CD, contenant respectivement 6, 7 ou 8 unités de glucopyranose. Chaque unité de glucose contient deux alcools secondaires en C-2 et C-3 et un alcool primaire à la position C-6, fournissant 18 à 24 sites pour la modification chimique et la dérivation [12]. Les molécules de sucre se disposent en anneaux concentriques hydrophiles à l'extérieur et relativement hydrophobes à l'intérieur.

Il existe des formes différentes de par le nombre d'unités de glycopyranose constitutives, ainsi que par leur solubilité aqueuse [11]. La nomenclature des CDs doit inclure au minimum, la CD native (α , β , ou γ -CD) ainsi que le type et le nombre de substituants. Les substituants sont généralement indiqués par une abréviation placée devant la CD native [12].

Les propriétés physico-chimiques des CDs facilitent la formulation des principes actifs insolubles, qui généralement, sont difficiles à formuler à l'aide des excipients conventionnels. L'encapsulation des principes actifs hydrophobes à l'intérieur de la cavité de la CD peut améliorer de façon significative la solubilité aqueuse, la stabilité, la vitesse de dissolution et la biodisponibilité du médicament complexé [12]. Les caractéristiques des CDs seront détaillées ultérieurement dans le chapitre des complexes d'inclusion.

2. Classification physico-chimique

Selon leurs caractéristiques physicochimiques, trois (03) classes principales de dispersions solides peuvent être distinguées : les mélanges eutectiques simples, les solutions solides et les solutions vitreuses.

2.1. Mélanges eutectiques simples

Un mélange eutectique simple peut être décrit comme un mélange physique intime de deux composants cristallins, qui sont totalement miscibles à l'état liquide, mais pas à l'état solide. Sur la figure III.2, les températures de fusion de deux matières (A et B) sont tracées en fonction de la composition du mélange. Seulement A pur, B pur et la composition eutectique se caractérisent par une seule fusion endothermique dans une expérience de calorimétrie à balayage différentiel. A et B ont leurs propres points de fusion. Lors de l'addition de B à A, ou de A à B, les points de fusion sont réduits [10].

A une composition particulière (la composition du mélange eutectique), le point eutectique est atteint, représentant le point de fusion le plus bas de tout mélange de A et de B. Le point E, appelé point eutectique est un mélange de deux composés qui cristallise sous forme de très fines particules ayant le point de fusion le plus bas des deux composés. En dessous de la température eutectique, aucune phase liquide n'existe [10].

Dans les systèmes binaires avec d'autres compositions que la composition eutectique, un des composants commence à cristalliser avant l'autre. Quand un mélange eutectique, composé d'un principe actif faiblement soluble et d'un véhicule très soluble, est exposé à l'eau ou aux fluides gastro-intestinaux, le véhicule soluble se dissout en laissant le principe actif dans un état cristallin très fin qui ira rapidement en solution. En raison de l'augmentation de la surface d'échange du composé insoluble, une vitesse de dissolution améliorée et par conséquent une absorption orale accrue est obtenue [10].

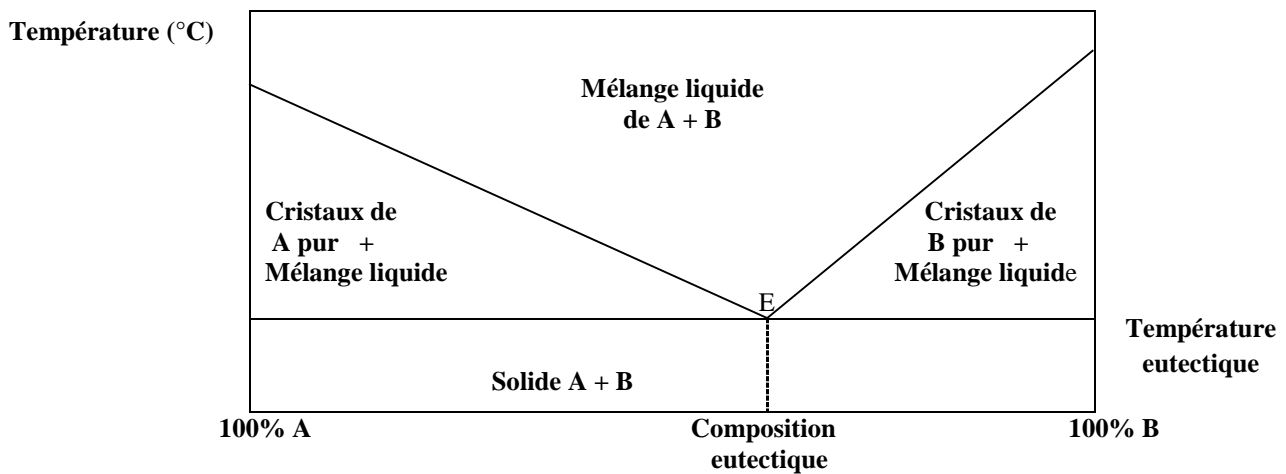


Figure III.2 : Diagramme de phase d'un mélange eutectique simple

2.2. Solutions solides

Une solution solide peut être décrite comme une solution à l'état solide, qui se compose d'une seule phase avec plusieurs composés présents dans le mélange. Elle peut être considérée comme un soluté solide dissout dans un solvant solide. Il a été rapporté qu'une solution solide d'un principe actif hydrophobe dans un véhicule hydrophile permet d'obtenir une vitesse de dissolution plus rapide que celle d'un mélange eutectique, car dans une solution solide, la taille des particules du principe actif est réduite à son strict minimum puisqu'il est dispersé à l'échelle moléculaire dans le véhicule [13, 14, 15].

Le composé peu soluble est totalement dissous dans un véhicule solide très soluble dans l'eau et par conséquent la taille des particules du principe actif est réduite. De cette façon le véhicule détermine la vitesse de dissolution du principe actif sachant que ce dernier est déjà dissous à l'état solide, avant même qu'il soit en contact avec le milieu de dissolution. Les solutions solides sont souvent classées selon deux aspects :

↳ Selon la mesure de leur miscibilité, nous distinguons les solutions solides continues et les solutions solides discontinues.

↳ Suivant la distribution des molécules dans le véhicule, les solutions solides peuvent être classées en solutions solides de substitution et solutions solides interstitielles.

2.2.1. Solutions solides continues

Dans une solution solide continue les composants sont totalement miscibles entre eux en toutes proportions aussi bien à l'état liquide qu'à l'état solide. L'énergie du réseau de la solution solide continue pour toutes les compositions est supérieure à celle des composants purs respectifs à l'état solide. La figure III.3 montre le diagramme de phase hypothétique d'une solution solide continue [10].

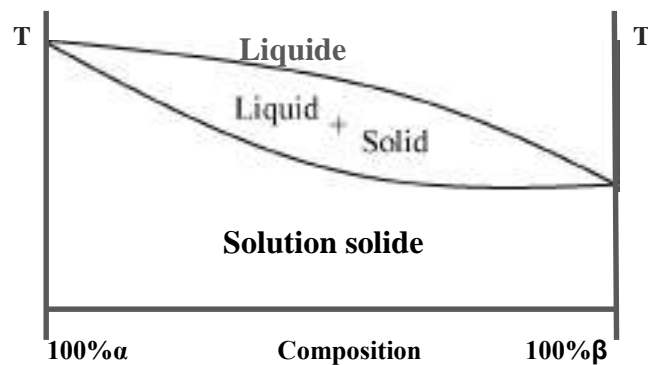


Figure III.3 : Diagramme de phase hypothétique d'une solution solide continue

2.2.2. Solutions solides discontinues

Dans les solutions solides discontinues, la solubilité ou la miscibilité d'un composant dans l'autre est limitée. La figure III.4, montre un diagramme de phase typique d'une solution solide discontinue. La région marquée α est une solution solide de B dans A. Dans ce cas, le composant A serait considéré comme le solvant et B comme soluté. De même, la région marquée β est une solution solide de A dans B. Dans ces régions (α , β) un composant solide est complètement dissous dans l'autre composant solide, de sorte que chaque composant est capable de dissoudre partiellement l'autre composant [10].

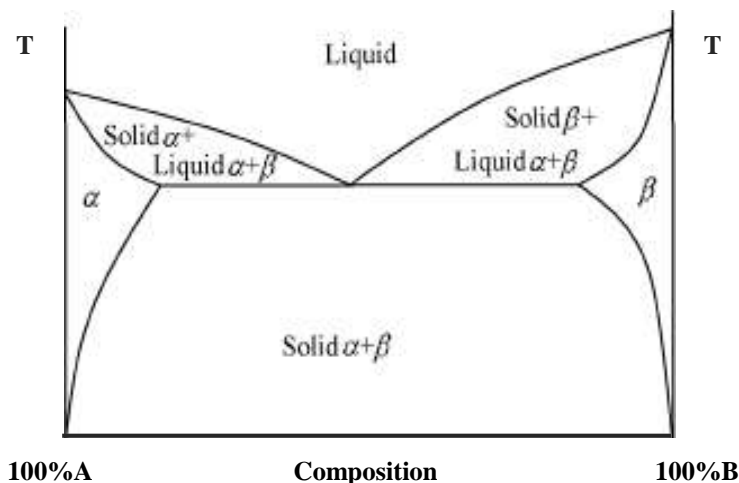


Figure III.4 : Diagramme de phase hypothétique d'une solution solide discontinue

2.2.3. Solutions solides de substitution

Dans les solutions solides de substitution, les molécules du soluté remplacent celles du solvant dans le réseau cristallin du solide solvant. Dans ce cas, le soluté et le solvant sont sensiblement isomorphes (forme de taille voisine). Les solutions solides de substitution peuvent être continues ou discontinues. Selon la règle de Hume Rothery, la formation d'une solution solide de substitution n'est possible que si la différence entre le diamètre effectif des molécules dissoutes et celui des molécules du solvant est inférieur à 15%. La figure III.5 montre schématiquement l'aspect d'une solution solide de substitution.

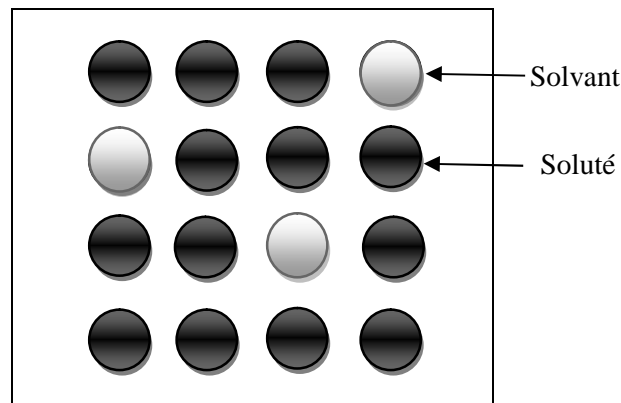


Figure III.5 : Schéma d'une solution solide de substitution

2.2.4. Solutions solides interstitielles

Contrairement aux précédentes, les solutions solides interstitielles se forment lorsque les molécules des deux produits ont une taille très différente. Dans les solutions solides interstitielles, les molécules d'un soluté dissous occupent les espaces interstitiels entre les molécules du solvant dans le réseau cristallin du solvant. Afin de s'adapter dans les interstices, la taille des molécules du soluté est critique. Le diamètre des molécules du soluté doit être inférieur à 59% du diamètre des molécules du solvant [16]. En outre, le volume des molécules du soluté doit être inférieur à 20% environ de celui des molécules du solvant. La figure III.6 montre l'arrangement des molécules dans une solution solide interstitielle.

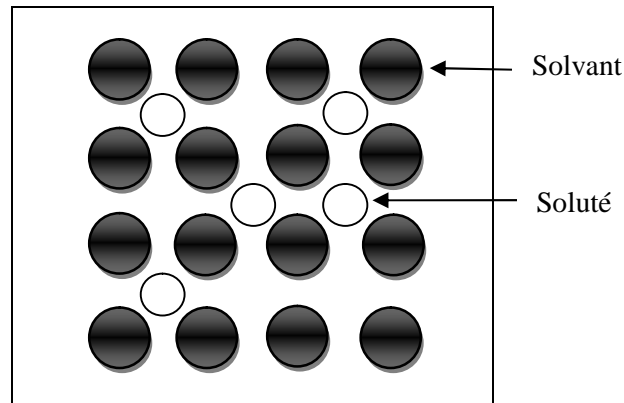


Figure III.6 : Schéma d'une solution solide interstitielle

Enfin, signalons que dans la pratique, seules les *solutions solides discontinues* sont formées.

2.3. Solutions vitreuses

Une solution vitreuse, également connue en tant que solution amorphe, est un système homogène vitreux dans lequel un soluté est dissous dans un solvant vitreux solide. L'état vitreux est caractérisé par la transparence et la fragilité à une température inférieure à la température de transition vitreuse (T_g). La transition vitreuse n'est pas une transition nette, mais une transition progressive. Chiou et Riegelman (1969) [17] ont été les premiers à introduire le concept de formation d'une solution vitreuse comme une méthode pour améliorer la dissolution et l'absorption orale.

En cas d'échauffement, les verres se ramollissent progressivement et continuellement à partir d'un état dur, vitreux ou cassant à un état souple ou en élastomère avec un changement de capacité thermique à la température de transition vitreuse (T_g). Ceci est dû au fait que les liaisons chimiques dans un verre diffèrent considérablement en longueur et en force. T_g est définie comme étant la température moyenne de la région de la température de transition entre cassant et mou. Bien en dessous de la T_g , les solutions vitreuses sont des matériaux vitreux durs, rigides.

A une température bien au-dessus de la T_g , les matériaux sont caoutchouteux. Le volume spécifique, la chaleur spécifique, la viscosité, l'indice de réfraction, la conductivité thermique ainsi que d'autres propriétés physico-chimiques du verre montrent des changements lorsqu'il est refroidi ou chauffé dans la région de transition vitreuse [18]. Le principal avantage des solutions vitreuses par rapport aux solutions solides, est qu'elles ne possèdent pas un fort réseau comme les véritables solutions solides. Un inconvénient important des solutions vitreuses est que l'état vitreux est métastable par rapport à l'état cristallin, et en fonction de ses propriétés physico-chimiques et les conditions de stockage, un verre peut se transformer en un solide cristallin.

3. Avantages

Rappelons que l'amélioration de la biodisponibilité d'un principe actif par la modification de sa solubilité dans l'eau peut être obtenue par des approches chimiques ou des approches de formulation. Les approches chimiques sont obtenues par la formation de sels ou par l'incorporation de groupes polaires ou ionisables dans la structure principale du principe actif, conduisant à la formation d'un « pro-médicament » (« pro-drug »).

Les dispersions solides semblent être la meilleure approche pour améliorer la solubilité des médicaments par rapport aux techniques mentionnées antérieurement, parce qu'elles sont plus faciles à préparer et plus applicables [1]. Par exemple, la formation d'un sel ne peut être utilisée que pour les principes actifs faiblement acides ou basiques et non pas pour les substances neutres. En outre, il est fréquent que la formation du sel ne permette pas d'obtenir une meilleure biodisponibilité du fait de sa conversion *in vivo* en formes acides ou basiques.

Aussi, notons que les approches de formulation comprennent les dispersions solides, la solubilisation et les techniques de réduction de la taille des particules entre autres. En comparaison avec les produits liquides obtenus par solubilisation, les dispersions solides conviennent mieux aux patients car elles permettent aisément la formulation des formes galéniques orales solides.

La micronisation permet aussi d'améliorer la solubilité par la réduction de la taille des particules. La dispersion solide quant à elle, est plus efficace que la technique de micronisation, car cette dernière présente une limite dans la réduction de la taille de la particule (autour de 2-5 μm) qui est souvent pas assez pour améliorer considérablement la solubilité du principe actif ou sa libération dans l'intestin grêle et, par conséquent sa biodisponibilité. En outre, les poudres solides avec une très faible granulométrie ont de mauvaises propriétés mécaniques, tels que le faible débit, une adhérence élevée, et sont extrêmement difficiles à manipuler [1].

Par ailleurs, la gestion du profil de libération d'un principe actif hydrophilisé est basée sur la manipulation du véhicule utilisé et les propriétés des particules de la dispersion solide préparée. Les paramètres, tels que le poids moléculaire et la composition du véhicule, la cristallinité du principe actif, la taille des particules, la porosité et la mouillabilité des particules peuvent conduire à une amélioration de la biodisponibilité lorsqu'ils sont bien maîtrisés [1].

Enfin, parmi les propriétés avantageuses des dispersions solides dans l'industrie pharmaceutique, nous pouvons mentionner :

- ***Granulométrie réduite des particules***

Les dispersions moléculaires, comme les dispersions solides, correspondent à la plus faible réduction de la taille des particules. Après dissolution du véhicule, le principe actif est dispersé à l'échelle moléculaire dans le milieu de dissolution. La grande surface d'échange formée conduit à un taux de dissolution accru et, par conséquent, à l'amélioration de la biodisponibilité [1].

- ***Meilleure mouillabilité des particules***

Une forte contribution à l'augmentation de la solubilité du médicament est liée à l'amélioration de sa mouillabilité vérifiée dans les dispersions solides. Récemment, l'introduction des tensioactifs dans la troisième génération des dispersions solides a renforcé l'importance de cette propriété [1].

- ***Porosité élevée des particules***

Les particules des dispersions solides ont un degré de porosité élevé. L'augmentation de la porosité dépend aussi des propriétés du véhicule, par exemple, les dispersions solides contenant des polymères linéaires produisent des particules plus grosses et plus poreuses que celles contenant des polymères réticulaires et, par conséquent, entraînent une augmentation du taux de dissolution. La porosité accrue des particules des dispersions solides accélère également le profil de libération du médicament [1].

- ***Etat amorphe du principe actif***

A l'état amorphe, les principes actifs cristallins peu solubles dans l'eau, ont tendance à avoir une plus grande solubilité. Généralement, l'amélioration de la libération d'un principe actif peut être obtenue en l'utilisant dans son état amorphe, car aucune énergie n'est nécessaire pour briser le réseau cristallin pendant le processus de dissolution [1].

4. Préparation

Pour la préparation des dispersions solides différentes méthodes ont été rapportées dans la littérature. Parmi celles-ci, la fusion et l'évaporation représentent les deux principales méthodes de préparation des dispersions solides.

4.1. Méthode de fusion

Dans cette méthode, un mélange physique composé d'un principe actif et d'un véhicule est chauffé jusqu'à ce qu'il soit fondu. La masse fondue est ensuite refroidie, et la dispersion solide résultante est pulvérisée et tamisée [8]. Pour refroidir et solidifier le mélange fondu, plusieurs procédés sont utilisés tels que le bain de glace sous agitation, l'épandage sur couche mince en acier inoxydable suivi par un courant d'air froid, la solidification dans des boîtes de Pétri à température ambiante dans un dessiccateur et l'immersion dans l'azote liquide.

Cependant, l'utilisation des températures élevées dans ce procédé peut provoquer la dégradation de certains principes actifs. Ce qui constitue une limitation pour cette méthode. Aussi, en raison de la viscosité élevée de la matrice polymère à l'état fondu, une miscibilité incomplète entre le principe actif et le véhicule peut avoir lieu. Pour y remédier aux limites de cette méthode, plusieurs modifications ont été introduites à la méthode « fusion » d'origine, comme *l'extrusion à chaud*, *le Meltrex™* ou *l'agglomération à l'état fondu* [1].

L'extrusion à chaud (« Hot-stage extrusion ») consiste en l'extrusion, à grande vitesse de rotation, du principe actif et du véhicule, préalablement mélangés, à la température de fusion pendant une petite période de temps. Après refroidissement à la température ambiante, le produit résultant est ensuite recueilli puis broyé [1].

Le Meltrex™ est un procédé de fabrication de dispersion solide breveté. Les éléments essentiels dans la technologie Meltrex™ est l'utilisation d'une extrudeuse à double vis spéciale et la présence de deux trémies indépendantes dont la température peut varier sur une large plage de température. Ce procédé permet un temps de séjour réduit du médicament dans l'extrudeuse, ce qui permet d'avoir un écoulement continu de la masse et d'éviter les contraintes thermiques au principe actif et aux excipients. L'application de cette technique peut protéger les médicaments sensibles à l'oxydation et à l'hydrolyse par l'élimination complète de l'oxygène et de l'humidité du mélange [1].

L'agglomération à l'état fondu (« Melt agglomeration ») permet de préparer des dispersions solides, dans des mélangeurs classiques à haut cisaillement. Elle est obtenue par addition du véhicule fondu contenant le principe actif aux excipients chauffés, en ajoutant le véhicule fondu à un mélange de principe actif et d'excipients, chauffés au préalable, ou par chauffage d'un mélange de principe actif, de véhicule et d'excipients à une température comprise dans la plage de fusion du véhicule ou au-dessus de celle-ci [1].

4.2. Méthode d'évaporation

La méthode d'évaporation consiste en la solubilisation du principe actif et du véhicule dans un solvant volatil qui est ensuite évaporé. Dans cette méthode, la décomposition thermique des médicaments ou des véhicules peut être évitée, étant donné que l'évaporation du solvant organique se produit à basse température. Un procédé classique de préparation de ces dispersions solides consiste à dissoudre le principe actif et le véhicule polymère dans un solvant commun, tel que l'éthanol, le chloroforme, ou un mélange d'éthanol et de dichlorométhane. Les films obtenus sont pulvérisés et broyés. Les différences dans les procédés d'évaporation de solvant sont liées à la procédure d'évaporation du solvant, qui comprend généralement le séchage sous vide, le chauffage du mélange sur une plaque chaude, l'évaporation lente du solvant à basse température, l'utilisation d'un évaporateur rotatif, un courant d'azote, le séchage par pulvérisation, la lyophilisation et l'utilisation des fluides supercritiques (SCF) [1].

5. Analyse des dispersions solides

Pour la caractérisation des dispersions solides, nous avons fait appel d'une part, aux méthodes d'analyse physicochimique telles que la calorimétrie à balayage différentiel (DSC), la diffraction des rayons X (DRX) et la spectroscopie infrarouge (IR) et, d'autre part, à l'étude biopharmaceutique basée essentiellement sur le test de dissolution.

5.1. Caractérisation physicochimique

Les méthodes thermiques et spectrales (DSC, DRX et IR) sont d'un intérêt particulier. L'objectif principal de l'utilisation de ces méthodes est de faire la différence entre la structure cristalline et non cristalline des dispersions solides.

- *Calorimétrie à balayage différentiel (DSC)*

Lorsqu'un matériau est chauffé ou refroidi, il se produit une modification dans sa structure (par exemple, la fusion ou la cristallisation), ou dans sa composition (par exemple l'oxydation). Ces modifications sont liées à l'échange de la chaleur. Certains de ces changements sont endothermiques (c'est-à-dire processus de consommation de la chaleur telle que la fusion), et d'autres sont exothermiques (c.-à-d processus de production de la chaleur tels que la cristallisation) [8].

L'Analyse calorimétrique à balayage différentiel (DSC) est utilisée pour mesurer les différences de flux de chaleur entre un échantillon et une référence lors d'un changement de température contrôlée. L'analyse DSC permet d'obtenir des informations quantitatives et qualitatives sur les changements physiques et chimiques qui se produisent dans l'échantillon. La DSC est largement utilisée dans l'industrie pharmaceutique afin de déterminer les points de fusion, la pureté et la température de transition vitreuse des matériaux [8].

Pour la dispersion solide, la DSC est un outil puissant pour évaluer les interactions principe actif-véhicule, déterminer la solubilité d'un principe actif dans un véhicule polymère, détecter les modifications polymorphes et contrôler les changements induits par l'âge [8]. L'absence de pic de fusion du principe actif dans le profil thermique DSC d'une dispersion solide indique que le principe actif est dispersé au niveau moléculaire, où il est sous forme amorphe.

Aussi, étant donné que les polymorphes ont généralement des points de fusion différents, la DSC peut être utilisée pour détecter le polymorphisme. Cette propriété est extrêmement importante lorsque des composés organiques à longue chaîne sont étudiés, parce que presque tous ces composés présentent un polymorphisme [8]. La figure III.7 représente un schéma d'un système de DSC, et un profil de température typique d'un matériau qui subit une transition vitreuse, une cristallisation et une fusion.

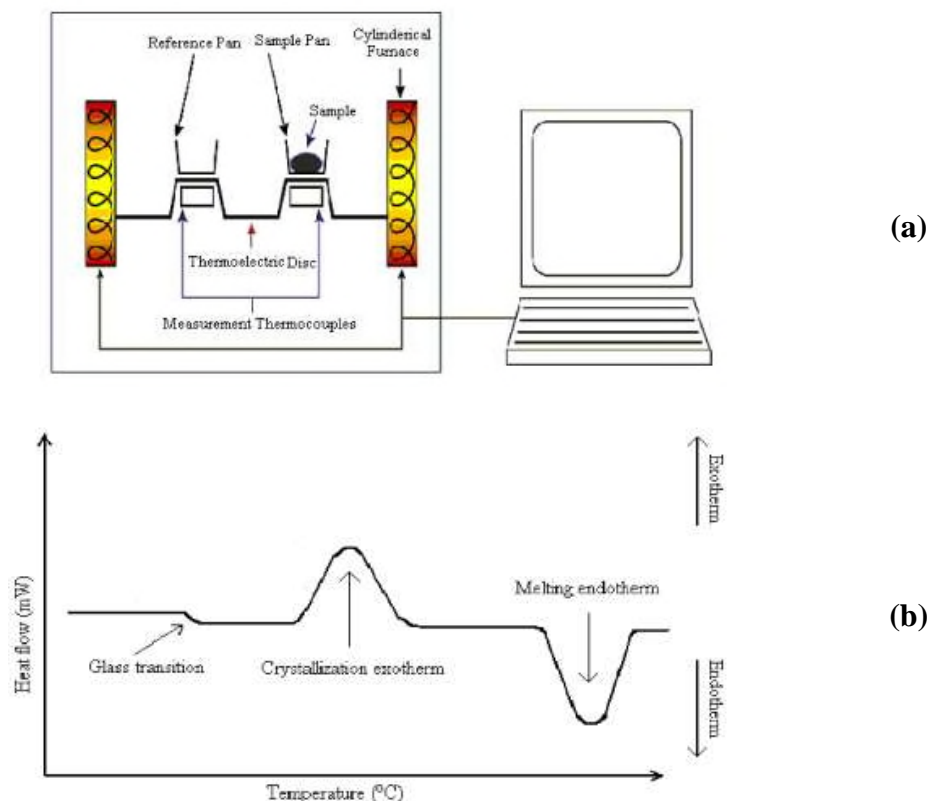


Figure III.7 : Schéma d'un système DSC (a) et d'un thermogramme typique (b)

- *Diffraction des rayons X (DRX)*

La diffraction des rayons X est la technique de base pour obtenir des informations sur la structure atomique des solides cristallins. Le phénomène de diffraction des rayons X par les cristaux résulte d'un processus de diffusion dans lequel les rayons X sont dispersés par les électrons des atomes sans changement de longueur d'onde [8]. La cristallinité dans un échantillon se traduit par une zone d'empreinte caractéristique dans le diagramme de diffraction.

Dans une dispersion solide, la cristallinité dans le principe actif peut être identifiée séparément de la cristallinité dans le véhicule à l'aide de la diffraction des rayons X. Par conséquent, il est possible de différencier les dispersions solides, dans lesquelles le principe actif est dispersé au niveau moléculaire, et les dispersions solides dans lesquelles le principe actif est présent sous forme cristalline. Toutefois, les cristallinités en dessous de 5 à 10% ne peuvent pas en général être détectées par la diffraction des rayons X [8].

La loi de Bragg est utilisée pour mesurer les distances entre les plans des atomes qui forment un réseau cristallin [10] :

$$n \lambda = 2d \sin \theta \quad \text{Eq. III.1}$$

Où

- n est un nombre entier ;
- λ est la longueur d'onde des rayons X ;
- d est l'espacement entre les plans dans le réseau atomique ;
- θ est l'angle entre le rayon incident et les plans de diffusion.

L'espacement entre les plans dans le réseau atomique (d) est une caractéristique unique pour chaque solide cristallin, qui peut être interprétée dans un balayage de rayons X. Par comparaison avec les modèles standards de référence et les mesures (pics et intensités relatives), le matériau et ses polymorphes peuvent être identifiés.

Le Centre international des données de la diffraction (ICDD) offre un large éventail de données « standard », qui contiennent plus de 150.000 modèles de diffraction des rayons X, à la fois expérimentaux (environ 94 000) et calculés (environ 59 000), de presque toutes les substances cristallines inorganiques connues et de nombreuses substances organiques.

L'appareil de diffraction des rayons X (**Figure III.8**) est composé d'une source de rayons X et d'un détecteur pour récupérer les rayons X diffractés. L'attaque d'une anode d'un métal particulier avec des électrons de haute énergie dans un tube scellé sous vide génère des rayons X qui peuvent être utilisés pour la diffraction des rayons X. Le tube le plus couramment utilisé est le tube de cuivre (Cu) à rayons X, dont la longueur d'onde de la radiation la plus forte est d'environ 1,5418 angströms (Å). D'autres anodes couramment utilisées dans les tubes de générateurs de rayons X sont le Cr (2,29 Å), le Fe (1,94 Å), le Co (1,79 Å) et le Mo (0,71 Å).

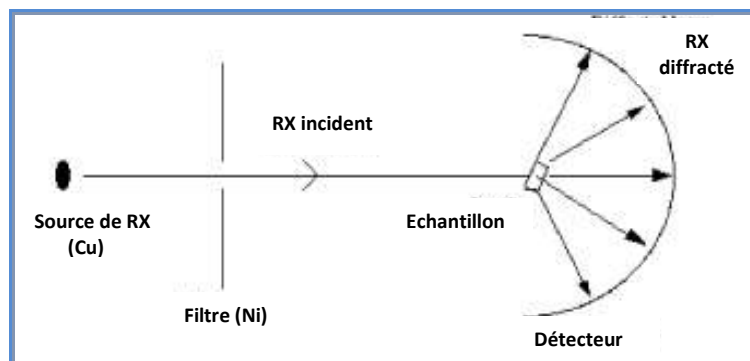


Figure III.8 : Schéma d'un diffractomètre des rayons X sur les poudres

- **Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier**

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier est largement utilisée en raison de sa fourniture rapide de spectres à haute résolution avec des échantillons dans la gamme du nanogramme [8]. Les changements structuraux et l'absence de structure cristalline peuvent conduire à des changements dans la liaison entre les groupes fonctionnels qui peuvent être détectés par la spectroscopie infrarouge. Etant donné que les pics dans le spectre IR ne sont pas tous sensibles à des modifications cristallines, il est possible de faire la différence entre ceux qui sont sensibles à l'évolution de la cristallinité et ceux qui ne le sont pas [8].

5.2. Etude biopharmaceutique

L'essai de dissolution *in vitro* est important pour contrôler une formulation pharmaceutique et expliquer son comportement biopharmaceutique [19]. L'étude des cinétiques de dissolution des dispersions solides permet de mettre en évidence l'évolution de la solubilité et de la vitesse de passage en solution des principes actifs.

Chapitre III : Dispersions solides

L'essai de dissolution *in vitro* est effectué à l'aide d'un appareil standardisé appelé « dissolu test ». Celui-ci est composé de six à huit récipients cylindriques à fond hémisphérique, dans lesquels est introduit le milieu de dissolution. Ces récipients sont placés dans un bain d'eau thermostatée et chacun d'eux est muni d'un agitateur, généralement à palette ou à panier. La partie supérieure de la tige de l'agitateur est reliée à un moteur muni d'un régulateur de vitesse. Les prélèvements des échantillons peuvent être effectués en mode manuel ou en mode automatique [20]. Les paramètres de dissolution liés aux conditions opératoires spécifiques au produit à étudier devront être bien définis et contrôlés selon les Pharmacopées [19] :

- Nombre de formes testées ;
- Température de l'essai réglée à $37,0 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, correspondante à la température corporelle ;
- Vitesse d'agitation selon la méthode utilisée ;
 - Vitesse de rotation (paniers, palettes)
 - Vitesse d'amplitude (cylindres)
 - Débit (cellule)
- Volume du milieu de dissolution ;
- Milieu de dissolution (composition) ; il doit permettre la dissolution du principe actif et le maintien des conditions *sink*.

En règle générale, on utilise un milieu de dissolution aqueux. La composition du milieu de dissolution est choisie en fonction des caractéristiques physico-chimiques du ou (des) principe(s) actif(s) et excipient(s), en restant dans les limites des conditions auxquelles un médicament ou une forme pharmaceutique sont susceptibles d'être exposés après administration. Ceci s'applique notamment au pH et à la force ionique du milieu de dissolution. Le pH du milieu de dissolution est habituellement compris entre 1 et 7,6.

Les solutions tampons sont largement utilisées, en partant des solutions acides (pH 1,2) préparées au moyen d'acide chlorhydrique dilué additionné de chlorure de sodium pour simuler le milieu gastrique, jusqu'aux solutions alcalines (pH compris entre 6,5 et 8) utilisées pour simuler le milieu intestinal, en passant par des solutions tampons de pH intermédiaires (entre 4 et 6) qui correspondent au pH duodéal [19].

Les milieux gastrique et intestinal artificiels, FaSIF (Fasted Simulated Intestinal Fluid) et FeSIF (Fed Simulated Intestinal Fluid), sont des solutions qui sont plus conformes aux sucs digestifs par addition d'enzymes (pepsine et pancréatine) et éventuellement de sels biliaires ou de lécithine. Ils sont utilisés pour simuler les conditions physiologiques ou l'influence d'une alimentation [21]. Les différents milieux utilisables et leurs compositions détaillées sont décrits dans les Pharmacopées.

Enfin, les cinétiques de dissolution conduisent à la détermination du pourcentage de principe actif dissous en fonction du temps. Les résultats de l'essai de dissolution sont exprimés en % cumulés en fonction du temps et tendent vers 100% [19].

Conclusion

La plupart des nouvelles entités chimiques prometteuses sont des principes actifs peu solubles dans l'eau, pouvant présenter un manque d'effet thérapeutique, en raison de leur faible biodisponibilité. La réalisation des dispersions solides est l'une des approches les plus intéressantes pour améliorer les performances de ces substances médicamenteuses par l'augmentation de leur solubilité, leur vitesse de dissolution et leur stabilité.

Références bibliographiques

- [1] : Teófilo Vasconcelos, Bruno Sarmiento and Paulo Costa, « Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs », *Drug Discovery Today*, Vol. 12, Numbers 23/24 December **2007**.
- [2] : Sekiguchi K., Obi N., « Studies on absorption of eutectic mixtures. I. A comparison of the behaviour of eutectic mixtures of sulphathiazole and that of ordinary sulphathiazole in man », *Chem. Pharm. Bull.*, 9 : 866 - 872 (**1961**).
- [3] : Tachibana T., Nakamura A., « A method for preparing an aqueous colloidal dispersion of organic materials by using water-soluble polymers : dispersion of beta-carotene by polyvinylpyrrolidone », *Kolloid-Z. Polym.*, 203 : 130 - 133 (**1965**).
- [4] : Goldberg A.H., Gibaldi M., Kanig J.L., « Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solutions and eutectic mixtures. **II**: Experimental evaluation of eutectic mixture: urea-acetaminophen system », *J. Pharm. Sci.* 55 : 482 - 487 (**1966**).
- [5] : Goldberg A.H., Gibaldi M., Kanig J.L., « Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solutions and eutectic mixtures. **III**: Experimental evaluation of griseofulvin - succinic acid solution », *J. Pharm. Sci.* 55 : 487- 492 (**1966**).
- [6] : W.L. Chiou, S. Riegelman, « Pharmaceutical applications of solid dispersion systems », *J. Pharm. Sci.*, 60 : 1281-1302 (**1971**).
- [7] : K. Dhirendra, S. Lewis, N. Udupa and K. Atin, « Solid dispersions : A review », *Pak. J. Pharm. Sci.*, Vol. 22, No. 2, 234-246 April (**2009**).
- [8] : Samer Al-Dhalli, , thèse de doctorat intitulée « Preparation and evaluation of fenofibrate – gelucire 44/14 solid dispersions » , p. 3 – 10, Mars (**2007**).
- [9] : Hand book of Pharmaceutical Excipients 5^{ème} édition PhP (Pharmaceutical Press), p.545 - 550 (**2006**).

Chapitre III : Dispersions solides

[10] : Xin Wang, thèse de doctorat intitulée « Physico-chemical characterization of binary and ternary solid dispersions of itraconazole and indomethacin », Faculté de Pharmacie, Université de Leuven, p. 5 – 15 (2007).

[11] : Brigitte Charpentier, Florence Hamon – Lorléach, Alain Harlay, Alain Huard, Lionel Ridoux et Serge Chansellé, « Guide du préparateur en pharmacie », 2^{ème} édition Masson, p. 773 (2008).

[12] : James Swarbrick, James C. Boylan, « Encyclopedia of pharmaceutical technology », Volume 19 (supplement 2), édition Marcel Dekker, Inc. (2000).

[13] : G. Levy, « Effect of particle size on dissolution and gastrointestinal absorption rates of pharmaceuticals », Amer. J. Pharm. 135 : 78-92 (1963).

[14] : J.L. Kanig, « Properties of fused mannitol in compressed tablets », J. Pharm. Sci., 53 : 188-192 (1964).

[15] : A.H. Goldberg, M. Gibaldi, J.L. Kanig, « Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solutions and eutectic mixtures I. Theoretical considerations and discussion of the literature », J. Pharm. Sci., 54 : 1145-1148 (1965).

[16] : R. E. Reed-Hill, « Physical Metallurgy Principles », D. Van Nostrand Co. Inc (1964).

[17] : Chiou W.L., Riegelman S., « Preparation and dissolution characteristics of several fast-release solid dispersions of griseofulvin », J. Pharm. Sci., 58 : 1505 - 1510 (1969).

[18] : P.A. Sopade, S.B. Lee, E.T. White, P.J. Halley, « Glass transition phenomena in molasses », LWT, 40 : 1117 - 1122 (2007).

[19] : Pascal Wehrlé, « Pharmacie galénique : formulation et technologie pharmaceutique », édition Maloine, p. 96 – 102 (2007).

[20] : A. Lehir, J.P. Chaumeil, « Abrégé de pharmacie galénique », 9^{ème} Edition Masson (2008).

[21] : J.B. Dressman, H.M. Lennernäs, « Oral drug and absorption prediction and assessment», New York, Marcel Dekker Inc., (2000).

Chapitre IV
Complexes d'inclusion

Introduction

Le système d'administration d'un médicament prévoit de libérer la quantité requise du principe actif au site de la cible pour la période de temps nécessaire, à la fois efficace et précise. Différentes matières de véhicules sont constamment développées pour surmonter les propriétés indésirables des molécules médicamenteuses. Parmi celles-ci, les cyclodextrines sont considérées comme des candidats potentiels en raison de leur capacité à modifier les propriétés physiques, chimiques et biologiques des molécules invitées par la formation de complexes d'inclusion [1].

Les CDs ont été isolées pour la première fois par Villiers en 1891, grâce à l'expérience de la dégradation enzymatique de l'amidon par une souche de micro-organismes (l'amylase de *Bacillus macerans* : cyclodextrinase). Villiers met en évidence deux produits (probablement l' α -cyclodextrine et la β -cyclodextrine) à propriétés physico-chimiques proches de celles de la cellulose [2].

Les cyclodextrines ont été caractérisées en 1903 par Schardinger en tant qu'oligosaccharides cycliques, c'est pour cette raison qu'elles sont nommées dextrans de Schardinger dans les premières publications traitant les cyclodextrines. En 1938, Freudenberg et al. ont mis en évidence que les cyclodextrines sont construites à partir d'unités de D-glucoses liées entre elles par des liaisons α -1,4 glucosidiques [2].

Freudenberg et al. ont découvert que les cyclodextrines étaient capables de former des complexes d'inclusion et déterminent entièrement la structure de la γ -cyclodextrine. Dans les années 1950, l'équipe de French et de Cramer ont intensément travaillé sur la synthèse et la purification de complexes de cyclodextrines. Le premier brevet concernant l'application des cyclodextrines pour la mise en forme d'un composé à activité biologique sera déposé par Freudenberg en 1953 [2].

A partir des années 70, et après plusieurs études prouvant qu'il n'y a pas de toxicité inhérente à la cyclodextrine empêchant son utilisation, les cyclodextrines sont produites et utilisées dans l'industrie. Actuellement, la production de la β -CD est supérieure à 1000 T/an et son prix continue de baisser. D'autres cyclodextrines naturelles ou modifiées sont produites industriellement. Enfin, le nombre de publications et de brevets n'a cessé d'augmenter de façon exponentielle au cours du 20^{ème} siècle [2].

En 2007, CD-NEWS a recensé 39 679 publications, dont une part significative est dédiée pour l'utilisation de ces matières comme agents de solubilisation dans le domaine pharmaceutique. Le premier produit pharmaceutique contenant une CD est la prostaglandine E2/ β CD (Prostarmon E™ comprimé sublingual) commercialisé au Japon en 1976. Douze ans après, le premier produit pharmaceutique à base d'une CD commercialisé en Europe est le piroxicam/ β CD (Brexin®, comprimé) et en 1997, l'itraconazole/2-hydroxypropyl- β CD (Sporanox®, solution orale) était le premier produit approuvé aux Etats Unis [2]. Actuellement, au minimum trente cinq médicaments à base de complexes d'inclusion sont commercialisés à l'échelle mondiale [3].

1. Cyclodextrines

Les cyclodextrines (CDs) naturelles ou chimiquement modifiées font partie de la famille des molécules « cages ». En raison de leur structure et de leurs propriétés physico-chimiques, les CDs, en tant que véhicules de médicaments, offrent un certain nombre d'avantages [1] :

- elles fournissent un certain nombre de sites potentiels pour la modification chimique ;
- à l'aide des différentes tailles de cavité des CDs, il est possible de piéger des médicaments de différentes dimensions moléculaires ;
- le microenvironnement dans leur cavité est relativement non polaire et lipophile ;
- elles possèdent une faible toxicité et une faible activité pharmacologique ;
- elles ont une bonne solubilité aqueuse ;
- elles sont plutôt résistantes à l'hydrolyse par des acides organiques et de nombreuses alpha-amylases et complètement résistantes à la fermentation de la levure et les bêta –amylases ;
- elles ne sont pas décomposées par un alcalin chaud ;
- elles présentent une stabilité thermique élevée, avec une température de décomposition approchant 300 °C ;
- elles protègent les médicaments inclus / conjugués de la biodégradation ;
- elles peuvent être utilisées comme adjuvants de traitement pour éliminer des composants spécifiques dans un mélange.

1.1. Caractéristiques structurales

Les CDs sont des oligosaccharides cycliques non-réducteurs obtenus industriellement par dégradation enzymatique de l'amylose (forme linéaire de l'amidon) à l'aide d'une enzyme, la cyclodextrine glucosyltransférase (CGTase). Les trois types de CDs les plus couramment rencontrés sont l' α -CD, la β -CD et la γ -CD dites naturelles. Ces dernières sont constituées respectivement de 6, 7 et 8 unités D-glucopyranosiques liées en α -1,4 [2, 4-6].

Chapitre IV : Complexes d'inclusion

Les structures tridimensionnelles des CDs ont pu être obtenues à partir de l'étude de leurs monocristaux par diffraction des rayons X (et même de quelques monocristaux de complexes CD), ce qui a permis de mettre en évidence la structure tronconique des CDs et de déterminer ainsi les dimensions des cavités de chacune d'elles. Ces études ont permis de montrer que l'extérieur des CDs est tapissé par les fonctions hydroxyles des unités glucose tandis que les atomes de carbone et d'hydrogène tapissent l'intérieur de la cavité [7].

La structure des cyclodextrines, alliée à l'orientation particulière adoptée par les diverses fonctions hydroxyles des unités glucopyranose donnent aux CDs leur caractère amphiphile caractéristique du à un extérieur relativement hydrophile (surface de contact avec le solvant) et à un cœur relativement hydrophobe (surface de contact avec la molécule invitée) [2, 8].

Les CDs présentent une forme torique, le côté le plus étroit étant appelé face primaire (les hydroxyles primaires en C₆ y sont situés) et le côté le plus large ; face secondaire (les deux groupes hydroxyles secondaires portés par les carbones C₂ et C₃ de chaque unité y sont localisés). La libre rotation des hydroxyles primaires diminue le diamètre effectif de la cavité du côté où ils se trouvent, alors que, les hydroxyles secondaires sont en position plus figée. L'intérieur de la cavité est constituée par des atomes d'hydrogène portés par les carbones C₃ et C₅ ainsi que par les atomes d'oxygène participant à la liaison glycosidique ce qui lui confère un caractère apolaire [9, 10]. De plus, les hydroxyles primaires et secondaires forment un réseau dense de liaisons hydrogène contribuant ainsi à la rigidité du macrocycle et stabilisant la forme tronconique des molécules. Cette structure spatiale des CDs (**Figure IV.1**) est aussi responsable de certaines de leurs caractéristiques physico-chimiques [8]. Le tableau **IV.1** résume quelques propriétés structurales des cyclodextrines naturelles notamment celles de α -CD, β -CD et γ -CD [2, 8, 11, 12].

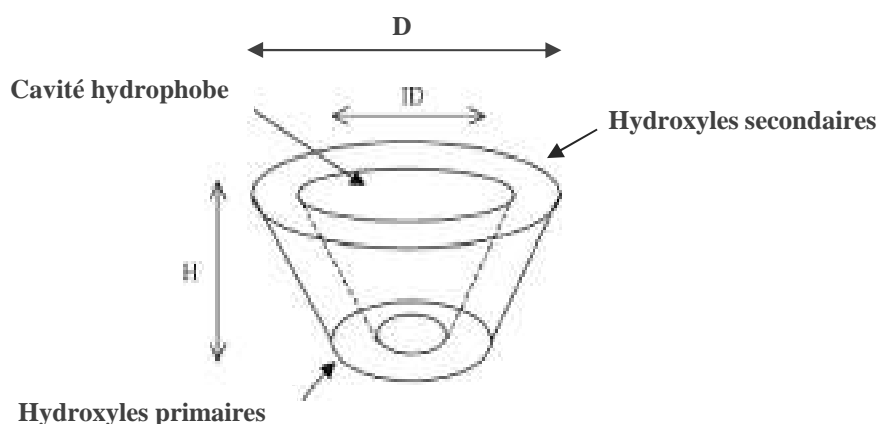


Figure IV.1 : Structure chimique d'une cyclodextrine naturelle

Tableau VI.1 : Propriétés structurales des cyclodextrines naturelles (α -CD, β -CD et γ -CD)

CD	Nombre d'unités glucoses	Dimensions (nm)			Volume de la cavité (nm ³)	Constante de stabilité $K_{1:1}^a$ (M ⁻¹)
		Hauteur (nm)	Diamètre extérieur (nm)	Diamètre intérieur (nm)		
α -CD	6	0,78	1,37	0,57	0,174	130 \pm 8
β -CD	7	0,78	1,53	0,78	0,262	490 \pm 8
γ -CD	8	0,78	1,69	0,95	0,472	350 \pm 8

a : constante de stabilité moyenne des complexes invitée/CD 1:1 en solution aqueuse à 25°C.

1.2. Propriétés physico-chimiques

Nous nous sommes intéressés essentiellement aux cyclodextrines naturelles α -CD, β -CD et γ -CD dont les principales caractéristiques physicochimiques sont regroupées dans le tableau IV.2 [8, 11-13].

Tableau IV.2 : Caractéristiques physico-chimiques des CDs naturelles (α -CD, β -CD et γ -CD)

Caractéristique	α -CD	β -CD	γ -CD
Formule brute	C ₃₆ H ₆₀ O ₃₀	C ₄₂ H ₇₀ O ₃₅	C ₄₈ H ₈₀ O ₄₀
Masse molaire (g/mol)	972	1135	1297
Solubilité dans l'eau à 25°C (g/l)	145	18,5	232
Solubilité dans l'eau à 25°C (mol/l)	0,1211	0,0163	0,168
pKa	12,33	12,20	12,08
Hydratation (CD, nH ₂ O)	n = 6 à 7	n = 10 à 12	n = 7 à 13
ΔH° (solution), kcal/mol	7,67	8,31	7,73
ΔS° (solution) kcal. mol ⁻¹ .K ⁻¹	13,8	11,7	14,7

Les valeurs de solubilité reportées au tableau IV.2 montrent que malgré une forte similitude structurale, les cyclodextrines n'ont pas un comportement comparable vis-à-vis des molécules d'eau. La solubilité limitée de la β -CD peut être attribuée à l'influence de liaisons hydrogènes qui s'établissent entre les atomes d'hydrogène et d'oxygène des fonctions alcools secondaires [14]. Cette faible solubilité a aussi été attribuée à la formation d'agrégats de β -CD [15].

Chapitre IV : Complexes d'inclusion

Une étude systématique sur l'influence d'un environnement ionique a montré que la solubilité augmente dans des solutions de cations métalliques avec la concentration [16]. Fenyvesi et al. [17] ont étudié la solubilité de la β -CD dans des solutions aqueuses de différents acides organiques. Ils ont montré que les acides hydroxyliques tels que les acides citrique et tartrique augmentent la solubilité de la β -CD dans l'eau tandis que les acides carboxyliques la diminuent.

Lors des synthèses de β -CD modifiées, mono- ou poly-modifications, les solubilités obtenues sont alors très largement augmentées par rapport à la CD naturelle y compris après greffage de groupements relativement hydrophobes renforçant l'hypothèse du réseau stabilisant. C'est le caractère amphiphile lié à leur structure tridimensionnelle qui donne aux CDs la propriété la plus intéressante, celle de former des complexes supramoléculaires en solution aqueuse avec une (des) molécule(s) invitée(s) [18].

Les études concernant les interactions entre les cyclodextrines naturelles (α , β , γ) et l'eau ont permis de mieux comprendre les différences de solubilité constatées. Les cyclodextrines cristallisent sous forme d'hydrates non définis (CD, $n\text{H}_2\text{O}$) et leur taux d'hydratation est largement dépendant de la pression de vapeur d'eau du milieu environnant [19]. D'un point de vue énergétique les mesures des enthalpies de dissolution des cyclodextrines anhydres et hydratées ont permis de calculer les enthalpies de déshydratation [20]. Les résultats montrent que les énergies de liaison $\text{H}_2\text{O}/\text{CD}$ sont de l'ordre d'une dizaine de kJ par molécule d'eau, c'est-à-dire cohérentes avec les énergies mises en jeu dans les liaisons hydrogène.

Certaines études s'accordent pour montrer qu'il existe un échange permanent des molécules d'eau intra- et intermoléculaire dans la β -CD [21]. Les différences de comportement des CDs par rapport à l'eau, en particulier, en terme de solubilité, ont été reliées à la possibilité (ou non) d'établir des liaisons hydrogène inter glucose et intramoléculaires qui dans le cas de la β -CD stabilise le macrocycle. Cette possibilité dépend de la distance moyenne entre les atomes d'hydrogène et d'oxygène (OH en C_2 et C_3) qui est fonction du nombre d'unité glucose de la CD [22].

La stabilité des CDs en solution est relativement peu influencée par les conditions de pH et de température. Selon Stella et Rajewski [23], l'hydrolyse des cyclodextrines peut avoir lieu dans certaines conditions de pH très acide (< 1) et à 80 °C. En milieu très basique ($\text{pH} > \text{pKa}$) il y a possibilité de former des ions alcoolates plus solubles que les CDs neutres.

1.3. Cyclodextrines modifiées et degré de substitution

De nombreux dérivés de cyclodextrines sont décrits dans la littérature [24]. Ceux-ci sont synthétisés par greffage de différents groupements sur les fonctions alcooliques des cyclodextrines naturelles (α , β et γ). Cependant, ces dernières présentant de nombreux hydroxyles réactionnels (respectivement 18, 21 et 24) et la différence de réactivité entre ces sites étant faible (les hydroxyles primaires sont légèrement plus réactionnels que les secondaires), une substitution sélective n'est pas aisée à réaliser. Les produits commercialisés seront donc fréquemment composés d'un mélange de substances. Le système se complique si le radical greffé présente également une fonction réactionnelle. Les cyclodextrines modifiées fréquemment rencontrées dans le domaine pharmaceutique sont les hydroxypropyl- (HP-), sulfobutylether (SBE-) et méthyl-cyclodextrines [25]. Ces molécules sont obtenues par substitution de certains hydroxyles par des groupements hydroxypropyl ($-\text{C}_3\text{H}_7\text{O}$), sulfobutylether ($-\text{C}_4\text{H}_8\text{OSO}_3\text{Na}$) et méthyl ($-\text{CH}_3$). La β -CD, la CD naturelle la plus communément utilisée possède 21 groupements hydroxyles dont 07 sont des groupements primaires et 14 sont des groupements secondaires (**Figure IV.2**) [4, 5, 26].

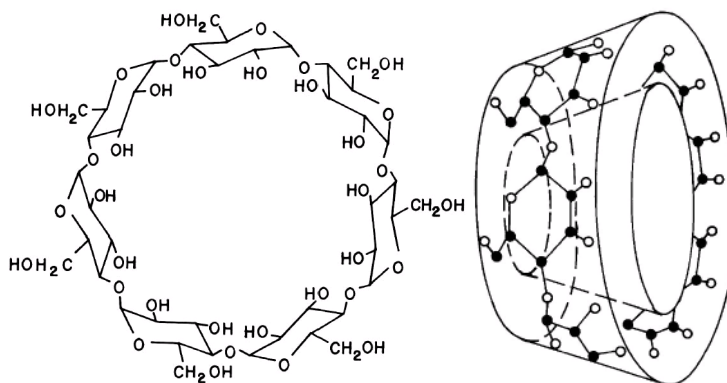


Figure IV.2 : Structure chimique et forme conique de la molécule β -CD

Les cyclodextrines modifiées sont le plus généralement caractérisées par leur degré de substitution moyen (D.S.), c'est-à-dire par le nombre moyen d'hydroxyles substitués par unité de glucopyranose d'une CD (de 0 à 3) [24, 27]. Par conséquent, le D.S. pourra varier d'un lot à l'autre ce qui aura aussi pour incidence de faire varier les masses moléculaires. Les CDs modifiées possèdent une spécificité et une solubilité aqueuse relativement importante qui peut être de l'ordre de 100 à 1000 g/l [28, 29]. Les structures chimiques des dérivés de la β -CD sont regroupées dans le tableau IV.3 [4, 6, 26].

Chapitre IV : Complexes d'inclusion

Tableau IV.3 : Structures chimiques des dérivés de la β -CD

Type de dérivés	Structures chimiques des dérivés de la β -CD
Dérivés méthylés	Diméthylée (Dimeb) : $R_2 = R_6 = -CH_3$; $R_3 = H$
	Triméthylée (Trimeb) : $R_2 = R_3 = R_6 = -CH_3$
	Méthylée de façon aléatoire (Rameb) : R_2 et/ou R_3 et/ou $R_6 = H$ ou $-CH_3$
Dérivés hydroxypropylés	HP- β -CD : R_2 et/ou R_3 et/ou $R_6 = -[CH_2-CH(CH_3)-O]-H$
Dérivés sulfatés	Sulfobutyléther- β -CD (SBE- β -CD) : R_2 et/ou R_3 et/ou $R_6 = -CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-OSO_3Na$
	β -CD sulfatée: R_2 et/ou R_3 et/ou $R_6 = H$ ou $-SO_3Na$

Au tableau **IV.4** sont mentionnées les caractéristiques de quelques cyclodextrines naturelles (α -CD, β -CD et γ -CD) et de leurs dérivés les plus couramment utilisés dans l'industrie pharmaceutique [5, 25, 30, 31].

Tableau IV.4 : Caractéristiques de quelques cyclodextrines naturelles et de leurs dérivés

Cyclodextrine	Substitution (DS)	Poids moléculaire (Da)	Solubilité dans l'eau à 25°C (mg/ml)	Applications
α -CD	-	972	145	Orale, parentérale, locale
β -CD	-	1135	18,5	Orale, locale
Diméthyl - β -CD (Dimeb)	2	1331	570	Orale
Triméthyl - β -CD (Trimeb)	3	1429	310	-
2-hydroxypropyl - β -CD (HP- β -CD)	0,65	1400	>600	Orale, parentérale, locale
Randomly méthylated - β -CD (Rameb)	1,8	1312	>500	Orale, locale
Sulfobutylether - β -CD (SBE- β -CD)	0,9	2163	>500	Orale, parentérale, locale
γ -CD	-	1297	232	Orale, parentérale, locale
2-hydroxypropyl γ -CD (HP- γ -CD)	0,6	1576	>500	Orale, parentérale, locale

Dans le cas de la substitution des CDs, même quand il s'agit de substituants hydrophobes tels que les groupements méthoxy, l'un des objectifs recherchés est de synthétiser des composés dont la solubilité aqueuse (**Tableau IV.4**) est supérieure à celle des composés parents (surtout la β -CD) [30]. Dans le cas de la β -CD, l'augmentation du degré de méthylation favorise la solubilisation, ceci est valable jusqu'à ce que les 2/3 de tous les groupements hydroxyles soient substitués, au-delà, elle diminue [9]. Dans le cadre de cette thèse, nous avons utilisé un dérivé hydroxypropylé de la β -CD commercialisé sous le nom « 2-hydroxypropyl β -CD » (HP- β -CD) (D.S. = 0,65).

1.4. Toxicité

En général, les cyclodextrines naturelles et leurs dérivés plus hydrophiles sont seulement capables de passer à travers les membranes biologiques lipophiles telles que la cornée, les muqueuses ou la peau avec de grandes difficultés. Même la β -CD méthylée, appelée aussi randomly-méthyl β -cyclodextrine (RAMEB) qui est plus ou moins lipophile ne passe pas facilement les membranes biologiques lipophiles, bien qu'elle interagisse de manière plus efficace avec les membranes que les dérivés hydrophiles. Gerloczy et coll. [32] ont ainsi montré que seule une très faible quantité de diméthyl- β -CD radio marquée est absorbée transdermiquement. On peut supposer que le haut poids moléculaire des CDs est une des causes limitant ce passage [2].

Toutes les études de toxicité ont démontré que l'administration orale de cyclodextrines est non-toxique, ceci étant dû à leur très faible absorption gastro-intestinale (0,1 à 3%). Le caractère hémolytique des cyclodextrines est bien connu mais n'apparaît en fait qu'à forte concentration. En effet à faible concentration (5mmol pour l' α -CD et 10mmol pour la β -CD) les cyclodextrines protègent les globules rouges contre l'hémolyse osmotique et l'hémolyse induite par la chaleur alors qu'à forte concentration, elles provoquent l'hémolyse en complexant et relarguant le cholestérol des membranes cellulaires. Cette action hémolytique est faible avec la γ -CD mais plus forte avec l' α -CD et la β -CD et cette propriété conditionne les effets des CDs par voie intraveineuse ou intramusculaire [2].

Un certain nombre d'études toxicologiques ont montré que la γ -CD, la 2-hydroxypropyl- β -CD, la sulfobutyléther- β -CD et la maltosyl- β -CD sont sans danger même pour l'administration parentérale. Par contre, l' α -CD, la β -CD et les β -CD méthylées ne sont pas acceptables pour l'administration parentérale (irritation à l'injection pour les trois et très forte néphrotoxicité pour α et β) [2, 33].

1.5. Avantages

Nous nous sommes intéressés particulièrement aux avantages de la complexation à l'aide des cyclodextrines dans le domaine de la pharmacie. En effet, pour les produits pharmaceutiques, les CDs sont principalement utilisées comme des agents complexants pour augmenter la solubilité en milieu aqueux des médicaments peu solubles dans l'eau ainsi que pour augmenter leur biodisponibilité et leur stabilité [1, 2, 34].

Aussi, les CDs peuvent être utilisées pour réduire ou prévenir l'irritation gastro-intestinale ou oculaire, réduire ou éliminer les odeurs ou les goûts désagréables, éviter les interactions médicament-médicament ou médicament-additif, ou même pour convertir les huiles et les médicaments liquides en poudres microcristallines ou amorphes [1, 2, 34]. Les avantages des CDs sont donc nombreux et peuvent être illustrés de la façon suivante :

✚ *Amélioration de la solubilité*

Les CDs augmentent la solubilité aqueuse de nombreux médicaments peu solubles en formant des complexes d'inclusion avec leurs molécules polaires ou leurs groupes fonctionnels. Le complexe résultant cache la plupart des fonctionnalités hydrophobes dans la cavité intérieure de la CD alors que les groupes hydroxyles hydrophiles sur la surface externe restent exposés à l'environnement. Le résultat est qu'un complexe CD-médicament soluble dans l'eau est formé [1].

✚ *Amélioration de la biodisponibilité*

Les CDs jouent un rôle primordial lorsque la faible biodisponibilité est due à une faible solubilité. Les conditions préalables à l'absorption d'un médicament administré par voie orale est sa libération de la formulation sous forme dissoute. Lorsque le médicament est complexé avec la CD, la vitesse de dissolution et par conséquent l'absorption sont améliorées. Réduire l'hydrophobie des médicaments par l'inclusion dans les CDs améliore également leur absorption percutanée ou rectale. En plus de l'amélioration de la solubilité, les CDs empêchent également la cristallisation des substances actives par complexation des molécules individuelles de médicaments de sorte qu'elles ne peuvent plus s'auto-assembler pour former un réseau cristallin [1].

✚ *Amélioration de la stabilité*

La complexation à l'aide des CDs est d'une immense application dans l'amélioration de la stabilité chimique, physique et thermique des médicaments. La dégradation d'une molécule active lors de son exposition à l'oxygène, à l'eau, au rayonnement ou à la chaleur, découle à partir d'un ensemble de réactions chimiques. Quand une molécule est piégée à l'intérieur de la cavité d'une CD, il est difficile pour les réactifs de se diffuser dans la cavité et de réagir avec la molécule invitée protégée.

Dans le cas de la dégradation thermique ou induite par un rayonnement, l'actif doit subir des réarrangements moléculaires. Là encore, en raison des contraintes stériques sur la molécule invitée à l'intérieur de la cavité, il est difficile pour la molécule piégée de se fragmenter lors de l'exposition à la chaleur ou à la lumière ou si elle se fragmente, les fragments n'ont pas la mobilité nécessaire pour se séparer et réagir avant qu'une simple recombinaison ait lieu [1].

Les composants volatils peuvent être stabilisés contre la perte en réduisant la volatilité dans le cas des liquides et en réduisant la tendance de certains produits solides à sublimer. Le problème des substances hygroscopiques est également réduit par complexation avec les CDs. Les changements physiques tels que la sédimentation et la prise en masse en suspension ou la recristallisation des médicaments en formes cristallines polymorphes moins solubles mais thermodynamiquement plus stables, etc, peuvent également être évités ou réduits par la complexation avec les CDs [1].

Réduction de l'irritation

Les substances médicamenteuses qui irritent l'estomac, la peau ou les yeux peuvent être encapsulées dans une cavité de CD pour réduire leur irritation. La complexation à l'aide des CDs réduit la concentration locale du médicament libre en dessous du seuil d'irritation. Comme le complexe se dissocie progressivement et le médicament libre est libéré, il est absorbé dans le corps et sa concentration libre locale reste toujours en dessous des niveaux qui pourraient être irritants pour la muqueuse [1].

Prévention de l'incompatibilité

Les médicaments sont souvent incompatibles les uns avec les autres ou avec d'autres ingrédients inactifs présents dans une formulation. Encapsuler un des ingrédients incompatibles au sein d'une molécule de CD stabilise la formulation en séparant physiquement les composants afin d'éviter les interactions médicament-médicament ou médicament-additif [1].

Masquage de l'odeur et du goût

L'odeur désagréable et le goût amer des médicaments peuvent être masqués par complexation à l'aide des CDs. Les molécules ou les groupes fonctionnels qui causent des goûts ou des odeurs désagréables peuvent être masqués à partir des récepteurs sensoriels en les encapsulant dans la cavité de la CD. Les complexes résultants sont beaucoup plus acceptables par le patient [1].

Manutention de la matière

En formulation galénique et à température ambiante, les substances huileuses / liquides peuvent être difficiles à manipuler et à mettre sous forme de préparations pharmaceutiques solides stables. La Complexation avec les CDs peut convertir ces substances en poudres microcristallines ou amorphes. Ce qui facilite leur manipulation et leur mise au point sous forme de dosages solides par des procédés et des équipements de production classiques [1].

Enfin, ces nombreuses propriétés des CD montrent l'intérêt des complexes d'inclusion CD-Médicament dans l'industrie pharmaceutique.

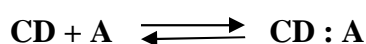
2. Complexes d'inclusion

2.1. Définition

Un complexe d'inclusion est une association moléculaire entre une ou plusieurs molécules dont l'une est l'hôte (le récepteur) et l'autre l'invitée (le substrat). La molécule « invitée » est alors encapsulée de façon totale ou partielle dans le récepteur. Les liens entre la molécule invitée et la molécule hôte sont des interactions faibles ce qui permet une dissociation aisée et douce. Cette inclusion n'est en général pas accompagnée de la formation d'une liaison covalente ou de coordination. La nature du complexe formé peut être définie par la proportion des molécules hôte-invitée dans le complexe, la position de la molécule invitée dans la cavité de la cyclodextrine, l'enchaînement des unités de complexe et la nature des forces maintenant en place la molécule invitée [1, 2, 34].

2.2. Formation

La formation du complexe d'inclusion entre la molécule invitée A et la CD ainsi que la dissociation sont gouvernées par des lois thermodynamiques selon la réaction suivante :



Cet équilibre thermodynamique est caractérisé par la constante de formation ou d'association (K_f) et la constante de dissociation (K_d) du complexe, mesures très importantes pour connaître la stabilité du complexe [35, 36] :

$$K_f = \frac{[\text{CD} : \text{A}]}{[\text{CD}] [\text{A}]} = \frac{1}{K_d} \quad \text{Eq. VI. 1}$$

De nombreuses techniques d'analyse physico-chimique telles que la spectroscopie UV-visible, la spectroscopie de fluorescence, l'analyse cristallographique, la spectrométrie de masse ou bien encore des méthodes électrochimiques permettent de mettre en évidence, de caractériser et de déterminer les constantes d'association de ces complexes [5].

Chapitre IV : Complexes d'inclusion

La formation d'un complexe d'inclusion entre une CD et une molécule invitée confère à ce complexe des propriétés physicochimiques et biologiques différentes de celles de la CD et de la molécule invitée prises séparément à savoir [2, 34] :

- ✚ Modification de la solubilité dans l'eau ;
- ✚ Modification des propriétés spectrales ;
- ✚ Modification de la réactivité chimique due à la molécule hôte (protection à l'oxydation, réduction chirale...) et à la molécule invitée (orientation de la régiosélectivité) ;
- ✚ Diminution de la diffusion et de la volatilité (dans le cas de substances volatiles) ;
- ✚ Modification des propriétés chirales ;
- ✚ Modification des propriétés biologiques.

L'exploitation des capacités d'inclusion et la biocompatibilité des CDs ont entraîné un accroissement du nombre et de la diversité des applications scientifiques et industrielles. La figure IV.3 représente schématiquement la formation d'un modèle conventionnel d'un complexe d'inclusion (acide salicylique / β -CD) [37].

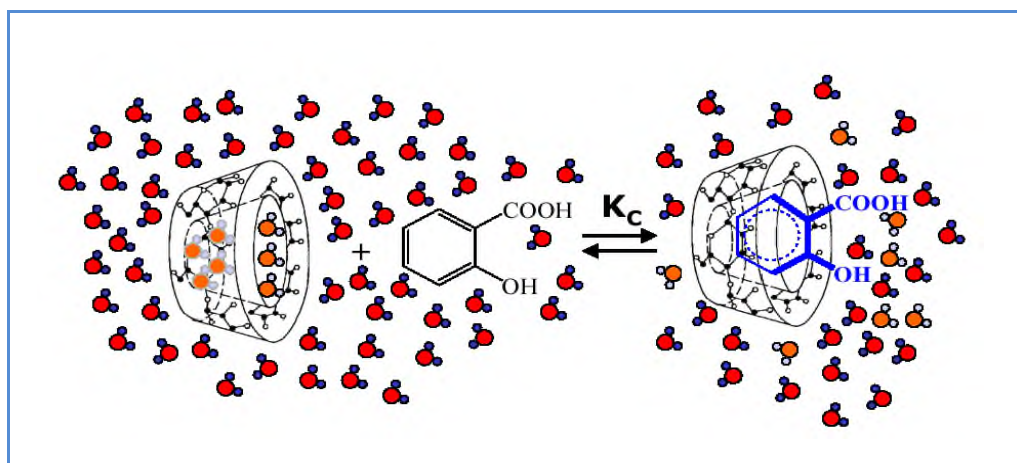


Figure IV.3 : Schéma illustrant la formation d'un modèle conventionnel d'un complexe d'inclusion (acide salicylique / β -CD)

Rappelons qu'aucun lien covalent n'est formé ou rompu durant la complexation. La principale force provoquant la formation des complexes est la stabilisation énergétique du système par le remplacement dans la cavité, des molécules d'eau à haute enthalpie par des molécules hydrophobes qui créent des associations apolaires-apolaires [38]. Ce processus réversible (les molécules complexées sont en équilibre avec les molécules libres en solution) peut être quantifié par une constante d'équilibre appelée constante de stabilité [2, 5].

2.3. Méthodes de préparation

Plusieurs techniques sont employées pour former des complexes d'inclusions telles que le kneading, l'évaporation par solvant, la co-précipitation, la lyophilisation (freeze drying) et le spray drying. Aussi, signalons que pour toutes ces méthodes, les quantités utilisées sont régies par le rapport d'inclusion [36].

2.3.1 *Kneading*

Une petite quantité de solvant (eau, eau-alcool...) est ajoutée à la molécule invitée pour obtenir une pâte. Cette dernière est mélangée à la CD en utilisant un mortier et un pilon. Le complexe formé est séché puis pulvérisé [34, 39-44].

2.3.2. *Evaporation*

Cette méthode consiste à faire dissoudre le principe actif et la CD dans un solvant (aqueux ou organique). La solution obtenue après agitation du mélange pendant une certaine durée (ex. 24 heures) subit une évaporation sous vide dans un évaporateur rotatif jusqu'à obtention d'un résidu solide. Ce dernier sera par la suite desséché totalement dans un dessiccateur sous vide à température ambiante ou dans une étuve à 40°C pendant une certaine durée (ex. 48 heures) [41, 42].

2.3.3. *Co-précipitation*

Une quantité de principe actif est ajoutée à la quantité équivalente de CD dissoute préalablement dans l'eau ou dans un solvant organique. La suspension formée est mélangée à température ambiante pendant quelques jours. Le précipité est séparé soit par décantation, soit par centrifugation, soit par filtration sous vide puis lavé avec quelques ml de solvant organique à froid (ex. méthanol) pour enlever le principe actif non complexé [34, 39, 40, 44].

2.3.4. *Lyophilisation (Freeze drying)*

La lyophilisation est une dessiccation sous vide à basse température de produits liquides préalablement congelés. La molécule invitée est ajoutée à la solution aqueuse de CD. Après mélange sous agitation la suspension obtenue est congelée puis lyophilisée dans un lyophilisateur [39, 42, 45, 46].

2.3.5. Séchage par pulvérisation (*Spray drying*)

La CD et le principe actif sont dissous dans un solvant ou un mélange de solvants organiques adéquats. La solution finale obtenue après agitation du mélange est pulvérisée dans l'air chaud, transformée en gouttelettes puis en particules sèches [39–41, 47].

2.3.6. Mélange physique

C'est le mélange de deux substances pulvérulentes la CD et la molécule invitée préalablement tamisées, afin d'avoir la même granulométrie pour le principe actif et la CD [34, 39-47].

3. Etude des diagrammes de solubilité Higuchi

L'étude des diagrammes de solubilité telle que développée par Higuchi et Connors, est très couramment utilisée pour l'évaluation de l'utilisation potentielle des CDs dans l'amélioration de la solubilité des composés hydrophobes en milieu aqueux. Elle permet en effet d'obtenir le profil de la courbe de solubilité de la molécule invitée en fonction de la concentration des CDs et donc de prouver l'augmentation de la solubilité en présence de CDs.

Le principe de cette méthode consiste à ajouter le composé invité en quantité excédentaire à des solutions de CDs de concentrations croissantes, puis à doser la quantité du composé invité dissous, généralement par UV ou par HPLC. Un diagramme de solubilité de l'invité en fonction des concentrations de CDs peut ainsi être établi.

Higuchi et Connors ont classé les différents types de diagrammes caractérisant les interactions substrat-ligand auxquelles peuvent être assimilées les interactions CD-molécule invitée. Deux types de diagrammes sont généralement observés : types **A** et **B** (**Figure IV.4**) [4]. Les courbes de type A indiquent la formation de complexes d'inclusions solubles tandis que celles de type B indiquent la formation de complexes peu solubles.

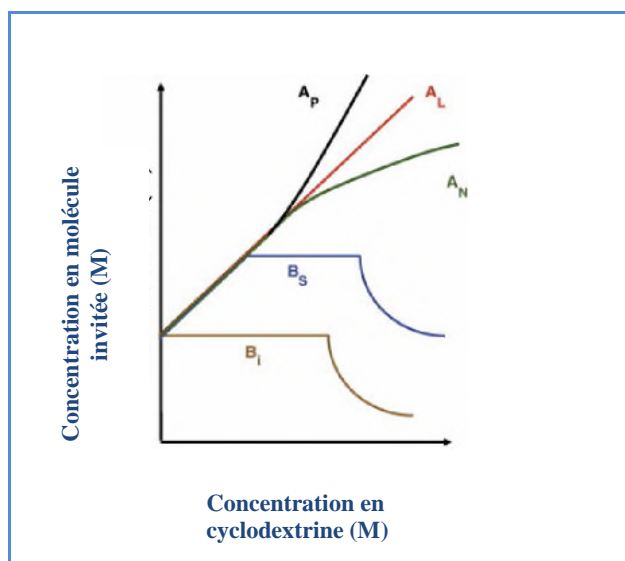


Figure IV.4 : Diagrammes de solubilité de phase

Dans le diagramme de **type A**, la solubilité de la molécule invitée augmente avec la concentration en CDs. Il y a formation d'un ou plusieurs complexes solubles. Les courbes de type A sont subdivisées en trois (03) sous types **A_L**, **A_P** et **A_N** :

- **A_L** : représente une augmentation linéaire de la solubilité du principe actif en fonction de la CD. Elle correspond à la formation d'un composé d'inclusion dont la stœchiométrie est équimolaire (1 : 1 ou 2 : 2 ou 3 : 3).
- **A_P** : cette courbe est dite « positive » c'est-à-dire incurvée vers le haut. Dans ce cas, le rapport est non équimolaire, il faut plusieurs molécules « ligand » pour une molécule de CD.
- **A_N** : cette courbe est dite « négative » c'est-à-dire incurvée vers le bas. Cependant, son origine reste incertaine, elle pourrait être due à un changement de la constante de formation du complexe, à l'altération du solvant ou bien encore à l'association de molécules de ligands entre elles à de fortes concentrations.

Dans le diagramme de **type B**, la solubilité du composé d'inclusion est inférieure à celle de la CD pure : la solubilité de l'invité augmente dans la 1^{ère} partie de la courbe à cause de la formation du composé d'inclusion, mais quand la limite de solubilité est atteinte, la formation accrue de composé d'inclusion provoque sa précipitation représentée par un plateau. Lorsque l'excès de principe actif est consommé, on observe une décroissance qui serait liée à l'inclusion du principe actif dissout et à sa précipitation concomitante. Ce diagramme est subdivisé en deux (02) sous types **B_S** et **B_I** :

- **B_S** : caractérise la formation des complexes à solubilité limitée ;
- **B_I** : indique la formation des complexes insolubles.

Dans le cas des complexes de rapport molaire 1:1, la constante d'association (ou constante de stabilité) peut être calculée de la manière suivante [4] :

$$K_s = \frac{\alpha}{S_0(1-\alpha)} \quad \text{Eq. VI. 2}$$

Avec :

K_s : Constante de stabilité ;

α : Pente de la portion linéaire de la courbe ;

S_0 : Solubilité intrinsèque du principe actif.

4. Facteurs influençant la formation des complexes d'inclusion

Plusieurs facteurs influencent la formation des complexes d'inclusion. Parmi ceux-ci, nous distinguons les facteurs liés à la nature de la molécule invitée, ceux en relation avec les caractéristiques des cyclodextrines et, enfin, les paramètres inhérents au contexte chimique et au procédé de préparation.

4.1. Nature de la molécule invitée

Taille et forme

Un des paramètres importants pour la complexation des molécules est leur taille par rapport à celle de la cavité de la cyclodextrine [48]. Les tailles relatives de la cavité de la cyclodextrine et du substrat conditionnent aussi souvent la stœchiométrie du complexe. Plus la taille de la molécule invitée est ajustée par rapport à celle de la cavité, plus le complexe formé sera stable (plus de contact avec la cavité de CD, plus d'interactions de Van der Waal's) [49].

Dans l'ensemble, la plupart des complexes décrits sont de type 1 : 1, c'est-à-dire équimolaire, ou encore, à une molécule de CD correspond une molécule de principe actif. Cependant, dans de nombreux cas, le rapport est très différent 1 : 2, 1 : 3, 2 : 1 ou encore 3 : 2. En fait, tout dépend de la taille de la molécule invitée par rapport à la cavité de la CD. En effet, la molécule invitée doit pouvoir pénétrer au moins partiellement dans la cavité de la CD. Les petites molécules insolubles ont plus la possibilité de former des complexes que les grosses molécules, qui peuvent cependant créer des interactions différentes de l'inclusion comme, par exemple, des liaisons hydrogènes avec les hydroxyles primaires ou secondaires.

Toutefois, la complexation peut aussi dépendre d'autres facteurs comme la surface moléculaire de la molécule invitée ainsi que son orientation dans la cavité : la façon dont la molécule invitée se place dans la cavité de la CD n'est pas sans influence sur les caractéristiques du produit obtenu. Plus le substrat est polaire et moins sa tendance à aller vers la cavité de la CD est grande [50]. La figure IV.5 présente trois possibilités d'inclusion d'un principe actif par les CDs [51].

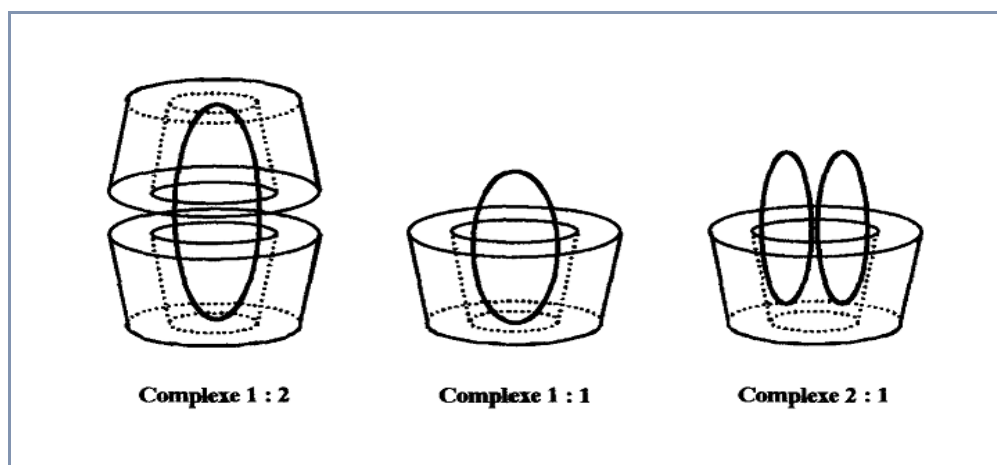


Figure IV.5 : Représentation schématique de complexes d'inclusion de stoechiométries différentes

✚ *Hydrophobicité et hydrosolubilité*

Les ponts glycosidiques donnent à la cavité de la CD une polarité proche de celle de l'éthanol [52]. Grâce à cet environnement relativement apolaire de la cavité, les CDs sont capables d'accueillir des molécules hydrophobes. Ces molécules ont plus d'affinité pour la cavité de la CD que pour la phase aqueuse [53]. En résumé, plus la molécule est hydrophobe, plus le complexe formé est stable.

✚ *Etat d'ionisation*

Selon le pH, les acides faibles ou les bases faibles existent sous plusieurs formes ioniques en solution. Ces différentes formes du soluté ne présentent pas les mêmes caractéristiques physico-chimiques (solubilité, hydrophobicité) [54]. Par conséquent, l'affinité de la CD ne sera pas la même pour chacune des formes. La complexation des CDs avec les molécules ionisables devra nécessairement prendre en compte l'influence du pH [55, 56].

4.2. Caractéristiques des cyclodextrines

Le type de CD peut influencer la formation du complexe d'inclusion ainsi que les performances de celui-ci [4]. En général, les CDs modifiées montrent une capacité à solubiliser les composés organiques plus importante que les formes natives et présentent une meilleure constante de stabilité [57]. Par ailleurs, rappelons que la taille de la cavité de la CD doit être adaptée à la taille de la molécule invitée.

4.3. Contexte chimique

Force ionique

La présence de cations ou d'anions en solution peut affecter la solubilité aqueuse de certaines molécules [58] et par conséquent leur affinité pour la cavité des CDs. L'effet de la force ionique sur la solubilité aqueuse des molécules ainsi que sur leur complexation par les CDs est différent selon leur nature (molécules ionisables ou non-ionisables). Pour de nombreux médicaments acides formant des anions, la cationique (2-hydroxy-3- [triméthylammonio propyl) - β -CD agit comme un excellent agent solubilisant. En général, les formes ioniques des médicaments sont des agents formant des complexes plus faibles que ceux de leurs formes non ioniques [4].

pH

La complexation par les CDs des différentes formes ioniques d'un soluté ne résultent pas du même type d'interactions [55]. Dans le cas des médicaments ionisables, la présence de la charge peut jouer un rôle important dans la complexation du médicament / CD et le changement de pH d'une solution peut donc faire varier la constante complexe. A titre d'exemple, lors de la complexation du levemopamil HCl avec la HP- β -CD, l'amélioration de la solubilité de ce médicament à pH 10,6 est de loin meilleure que celle obtenue à pH 4. Aussi, la complexation du piroxicam avec la β -CD est efficace à faible pH [4].

Présence d'un solvant organique

L'influence d'un co-solvant sur la complexation d'une molécule organique par une CD dépend de la nature et de la concentration du solvant organique présent. Par exemple, la présence d'éthanol (< 30 %) diminue la formation de complexe d'inclusion dans la phase aqueuse. Bien que les cyclodextrines puissent former des composés d'inclusion dans certains solvants organiques comme les alcools, le diméthylsulfoxyde, ou le diméthylformamide, l'association est en général plus faible que celle observée pour le même composé en milieu aqueux [59].

L'addition d'un solvant organique peut donc permettre de déplacer les équilibres CD/soluté et de modifier la solubilité du complexant et du soluté.

4.4. Procédé de préparation

Température

La température a un double effet sur le complexe formé : elle augmente généralement sa solubilité mais, parallèlement, elle modifie sa stabilité. L'effet de la température dépend de la nature du substrat et aussi de celle de la CD [60]. Globalement, il apparaît qu'une élévation de la température est souvent défavorable à la formation des complexes CD/molécules organiques. En effet, l'augmentation de la température peut diminuer la constante de stabilité apparente du complexe d'inclusion. Ce phénomène est probablement dû à la réduction des forces d'interactions médicament/CD telles que les forces de Van der Waals [4].

Méthode de préparation

Les méthodes de préparation des complexes d'inclusion telles que le kneading, l'évaporation du solvant, la co-précipitation, le séchage par pulvérisation (spray drying) et la lyophilisation (freeze drying) peuvent affecter l'inclusion du principe actif/CD. L'efficacité de la méthode dépend de la nature du principe actif et de la CD. Dans la plupart des cas, le séchage par pulvérisation et la lyophilisation sont les méthodes les plus efficaces pour l'inclusion des principes actifs [4].

5. Applications des complexes d'inclusion

De nombreuses et diverses applications technologiques des CDs sont décrites dans la littérature ainsi que dans les registres de brevets. Ces applications découlent de l'observation suivante : à l'issue de la formation du complexe d'inclusion, la stabilité, la solubilité, la biodisponibilité, la toxicité et l'odeur de la molécule invitée se trouvent favorablement modifiées [1].

En effet, les caractéristiques multifonctionnelles des CDs ont permis de les utiliser presque dans tous les systèmes d'administration de médicaments à savoir la voie orale, la voie transdermique, la voie oculaire et la voie nasale. Plusieurs revues de synthèse ont été publiées dans la littérature au cours des dernières années décrivant les applications des CDs dans divers systèmes d'administration de médicaments [1-6, 8, 61]. Dans le cas de la voie orale, les CDs ont été utilisées comme excipients pour améliorer la cinétique de dissolution des principes actifs peu solubles dans l'eau.

Chapitre IV : Complexes d'inclusion

Des complexes de dissolution rapide avec des CDs ont été également formulés pour l'administration buccale et sublinguale. Cette voie d'administration permet d'avoir une augmentation rapide de la concentration du médicament et d'éviter le métabolisme du premier passage hépatique [1]. Le tableau IV.5 donne quelques exemples de médicaments formulés sous forme de complexes d'inclusion destinés à la voie orale et précise l'amélioration apportée par cette complexation [4].

Tableau IV.5 : Exemples d'applications des cyclodextrines pour la voie orale

Principes actifs	Cyclodextrines	Effets
Kétoprofène, Griseofulvine, Terfenadine	β -CD	Amélioration de la biodisponibilité par augmentation de la solubilité et du taux de dissolution
Albendazole, Ketoprofène, Phénytoïne, Gliclazide	HP β -CD	
Spiranolactone	SBE- β -CD	
Tacrolimus	DM- β -CD	
Terfenadine, Tolbutamide	β -CD	Augmentation de l'intensité de l'activité thérapeutique
Tolbutamide, Amylobarbitone	HP β -CD	
Flutamide	HP β -CD	Amélioration de la perméabilité
Digoxine	γ -CD	Amélioration de la stabilité gastro-intestinale
Rutine	HP β -CD	
Clomipramine, Testostérone	HP β -CD	Amélioration de la biodisponibilité sublinguale
Danazole	SBE- β -CD HP β -CD	Amélioration de la biodisponibilité buccale

Les cyclodextrines sont aussi employées comme vecteur [62] pour le ciblage de médicaments. Quelques tentatives d'emploi des cyclodextrines dans un but de vectorisation de principes actifs ont été réalisées. Le schéma employé est identique dans toutes les approches relevées : on part de la structure de base des CDs sur laquelle on greffe chimiquement une « antenne » destinée à assurer la fonction de ciblage. L'originalité des différentes approches réside essentiellement dans la pertinence du choix de cette antenne ainsi que dans l'approche synthétique employée lors de la réalisation de ces conjugués [63].

Chapitre IV : Complexes d'inclusion

En plus de la sélectivité des complexes hôte-invitée, les CDs possèdent des propriétés catalytiques proches de celles des enzymes. Les CDs ont été largement étudiées en tant que modèle enzymatique de l' α -chymotrypsine, de l'anhydrase carbonique et des ribonucléases ainsi que comme inducteur de chiralité dans diverses réactions (halogénéation, oxydation de sulfures...) [64-66].

Enfin, les CDs sont aussi utilisées en séparation énantiomérique par électrophorèse capillaire, chromatographie en phase gazeuse ou chromatographie liquide haute performance. Ce sont, cependant, les applications en séparation chirale (colonnes CLHP, CPG), dans le domaine de la formulation galénique de médicaments et de l'industrie agro-alimentaire qui ont donné lieu aux plus nombreuses applications des CDs. Les CDs ont aussi été utilisées en RMN comme auxiliaires chiraux pour la détermination d'excès énantiomériques [67].

Conclusion

En raison de leur capacité de complexation et de leurs caractéristiques polyvalentes, les cyclodextrines continuent à avoir des applications dans différents domaines de l'administration du médicament et de l'industrie pharmaceutique. Cependant, il est nécessaire de déterminer toute interaction possible entre les cyclodextrines et les autres additifs de formulation, car une éventuelle interaction peut affecter défavorablement leurs performances.

Il est également important de maîtriser les différents facteurs pouvant influencer la formation d'un complexe ; médicament / CD possédant les propriétés recherchées.

Enfin, tant que les CDs continuent à trouver plusieurs nouvelles applications dans le domaine du médicament, l'utilisation de ces polymères dans l'industrie pharmaceutique peut contribuer à la résolution de nombreux problèmes liés à la formulation galénique (solubilité, dissolution, stabilité...).

Références bibliographiques

[1] : S. Baboota, R. Khanna, S. P. Agarwal, J. Ali and A. Ahuja, Review : « Cyclodextrins in Drug Delivery Systems : An update », Pharmainfo.net, Vol. 1 (2003).

[2] : Marcus E. Brewster, Thorsteinn Loftsson, Review : « Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers », Advanced Drug Delivery Review, Vol. 59, 645 – 666 (2007).

[3] : Sergey V. Kurkov, Thorsteinn Loftsson, Review : « Poorly Soluble Drugs : Cyclodextrins », International Journal of Pharmaceutics, Volume 453, Issue 1: 167 – 180 (2013).

[4] : Rajeswari Challa, Alka Ahuja, Javed Ali and R.K. Khar, Review : « Cyclodextrins in Drug Delivery: An Up dated Review », AAPS Pharma. Sci. Tech., 6 (2) Article 43 E329 – E357 (2005).

[5] : Thorsteinn Loftsson, Pekka Jarho, Már Másson and Tomi Järvinen, Review : « Cyclodextrins in drug delivery », Expert Opinion on Drug Delivery, 2, 335 – 351 (2005).

[6] : Thorsteinn Loftsson, Marcus E. Brewster and Már Másson, Review : « Role of cyclodextrins in improving Oral Drug Delivery », American Journal Drug Delivery, 2 (4), 1 – 15 (2004).

[7] : W.Saenger, « Inclusion compounds », Atwood, J. L., Davies, J. E. D. & MacNichol, D., eds., Vol. 2, pp. 231 – 259, Academic. Press., London. (1984).

[8] : Kaneto Uekama, Review : « Design and evaluation of cyclodextrin-based drug formulation », Chem. Pharm. Bull. 52 (8), 900 – 915 (2004).

[9] : K. H. Frômring, J. Szejtli, « Cyclodextrins in Pharmacy », Davies, J. E .D. (Ed.), Kluwer Académie Publishers, Dordrecht, p. 224 (1994).

[10] : D. Armspach, G. Gattuso, R. Kôniger, J. F. Stoddart, « Cyclodextrins », Bioorganic Chemistry : Carbohydrates , Hecht, S.M. (Ed.), Oxford University Press, Oxford, 458 - 488 (1999).

Chapitre IV : Complexes d'inclusion

[11] : R. Challa, A. Ahuja, J. Ali, R. K. Khar, « Cyclodextrins in drug delivery : An updated review », *APPS Pharm. Sci. Tech*, 6, E329 - E357 (2005).

[12] : K. Cal, K. Centkowska, « Use of cyclodextrins in topical formulations: Practical aspects », *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, Vol. 68, 467 – 478 (2008).

[13] : J. Szejtli, « Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry », *Chem. Rev.* Vol. 98, 1743 - 1753 (1998).

[14] : J.S. Paginton, « Béta-cyclodextrin : the success of molecular inclusion », *Chemistry in Britain*, Vol. 23, n° 5, 455 - 458 (1987).

[15] : J. Szejtli, « Cyclodextrins and their Inclusion Complexes », Budapest, Hungary : Akademiai Kiado, p. 100 - 109 (1982).

[16] : M. J. Jozwiakowski and K. A. Connors, « Aqueous solubility behavior of three cyclodextrins », *Carbohydr. Res.* Vol. 143, 51 - 59 (1985).

[17] : E. Fenyvesi, M. Vikmon, J. Szeman, E. Redenti, M. Delcanale, P. Ventura and J. Szejtli, « Interaction of hydroxy acids with β -cyclodextrin », *Journal of Inclusion Phenomena and Macroc. Chem.*, Vol. 33, 339 - 344 (1999)

[18] : Sandrine Weisse, thèse de doctorat intitulée : « Complexes cyclodextrines / ester de vitamine A : stabilisation, solubilisation et promotion de l'absorption cutanée », Université Paris XI, Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry (2002) p. 28 - 29.

[19] : M. Bilal, C. De Brauer, P. Claudy, P. Germain, J. M. Létoffé, « Béta-Cyclodextrin hydration : a calorimetric and gravimetric study », *Thermochimica Acta*, Vol. 249, 63 - 73 (1995).

[20] : M. P. Merlin, thèse de doctorat intitulée : « Energétique des interactions moléculaires eau / cyclodextrines », LAEPSI. Lyon : INSA de Lyon, p. 250 (1998).

Chapitre IV : Complexes d'inclusion

[21] : P. Claudy, P. Germain, J. M. Létoffé, A. Bayol, B. Gonzales, « Etude thermodynamique de la réaction d'hydratation de la β -cyclodextrine », *Thermochimica Acta*, Vol. 161, 75 - 84 (1990).

[22] : C. De Brauer , M. P. Merlin, P. Germain, T. Guerandel, « Thermal behaviour of anhydrous α -, β and γ -cyclodextrin at low temperature », *Journal of Incl. Phenom.*, Vol. 37, n° 1, 75 - 82 (2000).

[23] : V. Stella and R. A. Rajewski, « Cyclodextrins: their future in drug formulation and delivery », *Pharm. Res.* Vol. 14, 556 - 557 (1997).

[24] : Lajos Szente and József Szejtli, « Highly soluble cyclodextrin derivatives : chemistry, properties and trends in development », *Advanced Drug Delivery Reviews* 36, 17 – 28 (1999).

[25] : G. Mosher, D.O. Thompson, « Complexation and Cyclodextrins », *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, Vol. 19, Swarbrick, J. and Boylan, J.C.E. (Eds.), Marcel Dekker, New York, 49 - 88 (2000).

[26] : F. Hirayama, K. Uekama, Review : « Cyclodextrines - based controlled release system », *Advanced Drug Reviews*, Vol. 36, 125 - 141 (1999).

[27] : Thorsteinn Loftsson and Robert O'Fee, Review : « Cyclodextrins in solid dosage forms », *Drug Delivery Oral*, 176 - 180 (2003).

[28] : Eastburn, D. Tao, « Applications of modified cyclodextrins », *Biotechnol. Adv.*, Vol. 12, 325 - 339 (1994).

[29] : M. Singh, R. Sharma, UC. Banerjee, « Biotechnological applications of cyclodextrins », *Biotechnol. Adv.*, Vol. 20, 341 - 359 (2002).

[30] : T. Loftsson and D. Duchêne, « Cyclodextrins and their pharmaceutical applications », *International Journal of Pharmaceutics*, 329, 1 – 11 (2007).

[31] : Roquette Frères, « Technical Brochure : Kleptose® Crysmeb exp. Methyl Beta-cyclodextrin from Roquette », p. 14 (2006).

[32] : A. Gerlocsy, S. Antal & J. Szejtli, Int. Symp. on cyclodextrins, Munich (1988).

[33] : Sergey V. Kurkov, Donna E. Madden, Daniel Carr and Thorsteinn Loftsson « The effect of parenterally administered cyclodextrins on the pharmacokinetics of coadministered drugs », Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol 101, Issue 12, 4402 – 4408 (2012).

[34] : Shyam Shimpi, Bhask Chauhan, Prajakta Shimpi, Review : « Cyclodextrins : application in different routes of drug administration », Acta Pharma. Vol. 55, 139 - 156 (2005).

[35] : James Swarbrick, James C. Boylan, « Encyclopedia of pharmaceutical technology », Volume 19 (supplement 2), edition Marcel Dekker, Inc. (2000).

[36] : Már Másson, Birna Vigdis Sigurdardóttir, Kristján Matthisson and Thorsteinn Loftsson, « Investigation of drug – cyclodextrin complexes by a phase – distribution method : some theoretical and practical considerations », Chem. Pharm. Bull., Vol. 53(8), 958 – 964 (2005).

[37] : A. Magnúsdóttir, M. Másson and T. Loftsson, « Cyclodextrins », J. Incl. Phenom. Macroc. Chem., 44 : 213 – 218 (2002).

[38] : E.M.M. Del Valle, « Cyclodextrins and their uses : A review », Process Biochemistry, Vol. 39, 1033 – 1046 (2004).

[39] : M. J. Arias, J. R. Moyana, P. Muñoz, J.M. Ginès, A. Justo and F. Giordana, « Study of omeprazole - gamma-cyclodextrin complexation in the solid state », Drug Development and Industrial Pharmacy, 26(3), 253 – 259 (2000).

[40] : Francisco Veiga, Catarina Fernandes and Philippe Maincent, « Influence of the preparation method on the physicochemical properties of tolbutamide / cyclodextrin binary systems », Drug Development and Industrial Pharmacy, 27 (6), 523 – 532 (2001).

[41] : Catarina M. Fernandes, M. Teresa Vieira, Francisco J. B. Veiga, « Physicochemical characterization and in vitro dissolution behavior of nicardipine – cyclodextrins inclusion compounds », European Journal of Pharmaceutical Sciences 15, 79 – 88 (2002).

Chapitre IV : Complexes d'inclusion

[42] : M. Narender Reddy, Tasneem Rehana, S. Ramakrishna, K. P. R. Chowdary and Prakash V. Diwan, « β -cyclodextrin complexes of celecoxib : Molecular-Modeling, characterization and dissolution studies », AAPS Pharm. Sci. 6 (1) 1 - 9, Article 7 (<http://www.aapspharmsci.org>) (2004).

[43] : Haresh M. Patel, Bhanubhai .N. Suhagia, Shailesh A. Shah, Ishwar Sinh Rathod, Vijay K. Parmar, « Preparation and characterization of etoricoxib - β -cyclodextrin complexes prepared by kneading method », Acta Pharm., 57, 351 - 359 (2007).

[44] : P.O. Osadebe, L. E. Onugwu and A. A. Attama, « Energies of the interactions between piroxicam and β -cyclodextrin in inclusion complexes », Scientific Research and Essay, Vol. 3 (3), 86 - 93 (2008).

[45] : Maria Letizia Manca, Marco Zaru, Guido Ennas, Donatella Valenti, Chiara Sinico, Giuseppe Loy, Anna Maria Fadda, « Diclofenac - β -cyclodextrin binary Systems: physicochemical characterization and in vitro dissolution and diffusion studies », AAPS Pharm. Sci. Tech., 6 (3), 464 - 472 (2005).

[46] : Luciana M. A. Pinto, Leonardo Fernandes Fraceto, Maria Helena A. Santana, Thelma A. Pertinhez, Sérgio Oyama Junior, Eneida de Paula, « Physico-chemical characterization of benzocaine - β -cyclodextrin inclusion complexes », Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 39, 956 - 963 (2005).

[47] : Sanjula Baboota, Mona Dhaliwal and Kanchan Kohli, « Physicochemical characterization, in vitro dissolution behavior and pharmacodynamic studies of rofecoxib – cyclodextrin inclusion compounds. Preparation and properties of rofecoxib hydroxypropyl β -cyclodextrin inclusion complex : A technical note », AAPS Pharm. Sci. Tech., 6 (1), E83 – E90 Article 14 (<http://www.aapspharmscitech.org>) (2005).

[48] : X. Wang, M.L. Brusseau, « Solubilization of some low-polarity organic compounds by Hydroxypropyl- β -cycodextrin », Environ. Sci. Technol., Vol. 27, 2821 - 2825 (1993).

[49] : J. Cao, C. Zhao, L. Huang, Y. Ding, L. Wang, S. Han, « Solubilization of substituted indole compounds by β -Cyclodextrin in water », Chemosphere, Vol. 40, 1411 - 1416 (2000).

[50] : T Loftsson, A. Magnúsdóttir, M. Másson, J.F. Sigurjónsdóttir, « Self association and cyclodextrin solubilisation of drugs », *J. Pharm. T. Sci.* 91, 2307 – 2316 (2002).

[51]: Delphine Castagne, Thèse de doctorat en Sciences Biomédicales et Pharmaceutique, intitulée « Etude des interactions entre les cyclodextrines et les membranes liposomales ou biologiques », Université de Liège, Faculté de Médecine, Laboratoire de Technologie Pharmaceutique (2010) p.28.

[52] : B. A. Demian, « Corrélation of the solubility of several aromatics and terpenes in aqueous hydroxypropyl- β -Cyclodextrin with steric and hydrophobicity parameters », *Carbohydr. Res.*, Vol. 328, 635 - 639 (2000).

[53] : S. Tanada, T. Nakamura, N. Kawasaki, Y. Tori, S. Kitayama, « Removal of aromatic hydrocarbon compounds by hydroxypropyl- cyclodextrin », *J. of Coll. Inter. Sci.*, Vol. 217, 417 - 419 (1999).

[54] : K. T. Valsaraji, « Elements of Environmental engineering, thermodynamics and kinetics », Florida : CRC Lewis publishers, 97 - 100 (1995).

[55] : Liu L., K.E-S. Song, X-S. Li, Q-X Guo, « Charge-transfer interaction: A driving force for cyclodextrin inclusion complexation », *J. of Incl. Phenom.*, Vol. 40, 35 - 45 (2001).

[56] : L. Liu, Q-X. Guo, « The driving forces in the inclusion complexation of cyclodextrins », *J. of Incl. Phenom.*, Vol. 42, 1 - 8 (2002).

[57] : S. Gao, L. Wang, Q. Huang, S. Han, « Solubilization of polycyclic aromatic hydrocarbons by β -Cyclodextrin and carboxymethyl- β -cyclodextrin », *Chemosphere*, Vol. 37, 129 - 1305 (1998).

[58]: P. Wightman, J. B. Fein, « Experimental study of 2, 4, 6-trichlorophenol and pentachlorophenol solubilities in aqueous solution : derivation of a speciation-based chlorophenol solubility model », *Appl. Geochem.*, Vol. 14, 319 - 325 (1999).

[59] : L. A. Blyshak, T. M. Rossi, G. Patonay, I. M. Warner, « Cyclodextrin-modified solvent extraction for polynuclear aromatic hydrocarbons », *Anal. Chem.*, Vol. 60, 2127 - 2131 (1988).

Chapitre IV : Complexes d'inclusion

[60] : E. Simer, S. C. Kurvits, « Calorimetric studies of benzoic acid-cyclodextrin inclusion complexes », *Thermochimica Acta*, Vol. 140, 161 - 168 (1998).

[61] : Thorsteinn Loftsson, Mar Masson, « Cyclodextrins in topical drug formulations : theory and practice », *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 225, 15 - 30 (2001).

[62] : K. Uekama, F. Hirayama, & T. Irie, « Cyclodextrin drug carrier system », *Chem. Rev.* 98, 2045 - 2075 (1998).

[63] : C. Péan, Thèse de doctorat en chimie organique, intitulée : « Synthèse, analyse conformationnelle et évaluation des propriétés biologiques de vecteurs à base de cyclodextrines portant une antenne peptidique », Université Paris Sud (1998).

[64] : K. Takahashi, « Organic reactions mediated by cyclodextrins », *Chem. Rev.* 98, 2013 - 2034 (1998).

[65] : R. Breslow, & B. Chang, « Very fast hydrolysis by a cyclodextrin dimer with a catalytic linking group », *J. Am. Chem. Soc.* 114, 5882 - 5883 (1992).

[66] : R. Breslow, & S. D Dong, « Biomimetic reactions catalysed by cyclodextrins and their derivatives », *Chem. Rev.* 98, 1997 - 2012 (1998).

[67] : M. Gosnat, Thèse de doctorat, intitulée : « Relations entre paramètres thermodynamiques et géométriques dans la résolution chirale par des cyclodextrines modifiées », Université Paris XII (2000).

Chapitre V
Anti-inflammatoires

Introduction

Ce dernier chapitre, rapportant les données de la littérature a été consacré tout d'abord à la réaction inflammatoire et à sa physiopathologie, puis aux groupes des anti-inflammatoires d'un point de vue général et à leurs mécanismes d'action et, enfin, aux anti-inflammatoires non stéroïdiens pour lesquels nous avons montré un intérêt particulier.

1. Généralités

1.1. Réaction inflammatoire

Les phospholipides des membranes cellulaires peuvent donner naissance en particulier, sous l'action d'une phospho-lipase A₂ à des eicosanoïdes, substances impliquées dans l'inflammation. Les eicosanoïdes sont des composés chimiques à 20 atomes de carbone, comme l'acide arachidonique [1] :

- les uns ont une structure linéaire : les **leucotriènes** ;
- les autres ont une structure cyclique : les **prostaglandines**, les **prostacyclines** et **thromboxanes**.

En réponse à une perturbation physique ou chimique (ou à un signal par hormone) il se produit une activation de la phospho-lipase A₂, qui hydrolyse les liaisons esters des phospholipides membranaires, et libère des dérivés de l'acide arachidonique. Cet acide arachidonique, à son tour, est métabolisé selon deux voies possibles [1] :

- celle de la **lipo-oxygénase**, qui le transforme en leucotriènes (**LT**) ;
- celle de la **cyclo-oxygénase**, qui le transforme en prostaglandines (**PG**).

Pour l'essentiel, les rôles de ces eicosanoïdes dans la réaction inflammatoire sont les suivants [1] :

- les leucotriènes augmentent la perméabilité capillaire et exercent une chimio-attractivité sur les polynucléaires (leucotriène B₄) ;
- les prostaglandines produisent une vasodilatation locale, favorisent l'œdème et l'afflux leucocytaire, potentialisent les effets algogènes de la bradykinine ; en outre, elles dépriment certains mécanismes immunitaires.

1.2. Physiopathologie de la réaction inflammatoire

La réaction inflammatoire est la réponse normale de l'organisme vivant face à une agression. Elle permet de neutraliser l'agent pathogène (traumatisme, brûlure, infection, antigènes) et de réparer les tissus lésés. Sur le plan clinique, les quatre symptômes classiques (douleur, rougeur, chaleur, œdème) correspondent à une succession de phénomènes classés en trois phases [2, 3, 4] :

- **Phase initiale vasculaire** où les cellules irritées ou lésées libèrent des médiateurs de l'inflammation (histamine, sérotonine, kinines, prostaglandines, leucotriènes, facteurs du système complément, etc.) et des protéases ce qui provoquent la douleur, une vasodilatation des capillaires sanguins (d'où rougeur et chaleur) et une augmentation de leur perméabilité (d'où œdème).
- **Phase cellulaire** marquant l'arrivée des polynucléaires neutrophiles, macrophages, lymphocytes qui traversent la paroi des vaisseaux et vont encercler le foyer inflammatoire pour phagocyter l'agent irritant et les cellules lésées.
- **Phase tissulaire** évoluant vers la réparation ou cicatrisation avec prolifération de fibroblastes, formation de tissu conjonctif et de fibres de collagène. Parfois apparaissent un granulome, une fibrose et une chronicité.

Aussi, précisons que les mécanismes responsables des réactions inflammatoires sont complexes et sous la dépendance de médiateurs de l'inflammation libérés à la suite d'une agression (cf. figure V.1). Parmi ces médiateurs, les prostaglandines (PG) interviennent de façon très importante dans des phénomènes vasculaires et douloureux, ainsi que dans l'apparition de la fièvre. Par contre, les PG ne semblent pas intervenir de façon notable dans les phénomènes cellulaires, qui sont sous la dépendance d'autres médiateurs, en particulier les leucotriènes (LT) [4].

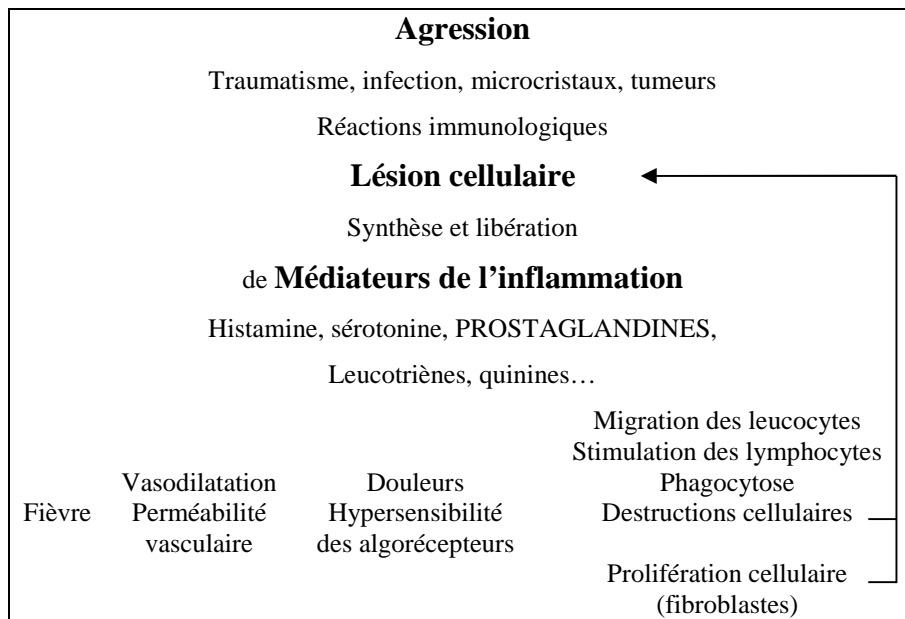


Figure V.1 : Principaux phénomènes de l'inflammation

2. Anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires sont des médicaments de structures très diverses utilisés pour suspendre ou ralentir le processus inflammatoire. Celui-ci peut être localisé ou généralisé, devenu exagéré, chronique ou associé à des phénomènes immunologiques quel qu'en soit la cause [2, 3].

2.1. Groupes de médicaments anti-inflammatoires

On distingue deux grandes catégories d'anti-inflammatoires [3, 4] :

- ✚ Anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) ;
- ✚ Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).

Les anti-inflammatoires stéroïdiens (AIS) comprennent les glucocorticoïdes endogènes (cortisol ou hydrocortisone et cortisone) doués de propriétés métaboliques et leurs dérivés synthétiques [2, 4].

Les glucocorticoïdes sont utilisés dans trois indications principales [3] :

- Traitement de substitution en cas d'insuffisance surrénalienne ;
- Traitement anti-inflammatoire ;
- Traitement immunosuppresseur.

Chapitre V : Anti-inflammatoires

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) forment un groupe de médicaments destinés à traiter la réaction inflammatoire et les maladies rhumatismales. Tous les AINS possèdent à des degrés divers les propriétés anti-inflammatoires, antalgiques et antipyrétiques quelle que soit la voie d'administration [2]. Les AINS sont indiqués pour [2] :

- Traitement de longue durée et symptomatique des rhumatismes inflammatoires chroniques comme la polyarthrite rhumatoïde, la spondylarthrite ankylosante et des arthroses douloureuses ;
- Traitement de courte durée et symptomatique des manifestations inflammatoires en traumatologie, gynécologie (dysménorrhées), des phases aiguës en rhumatologie et des pathologies du rachis ;
- Traitement adjuvant des douleurs diverses rhumatismales en ORL et en stomatologie ;
- Activité antiagrégante plaquettaire ; celle-ci est rapidement réversible dans le cas du flurbiprofène à faible posologie pendant les périodes préopératoires et post-infarctus du myocarde où l'aspirine est contre indiquée.

2.2. Mécanismes d'action

Les glucocorticoïdes inhibent la phospho-lipase A₂ et bloquent ainsi la libération de l'acide arachidonique à partir des fractions phospholipidiques des membranes cellulaires. La synthèse des prostaglandines et des leucotriènes est interrompue.

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) agissent sur la phase vasculaire de l'inflammation en inhibant la transformation de l'acide arachidonique en endopéroxydes, point de départ des prostaglandines, prostacyclines et thromboxanes. Les AINS inhibent donc la cyclo-oxygénase [1]. Les AINS réduisent la vasodilatation, la perméabilité capillaire mais aussi la migration des leucocytes et perturbent les réactions énergétiques nécessaires au processus inflammatoire [2, 3].

La figure V.2 montre les mécanismes d'action des anti-inflammatoires [1] :

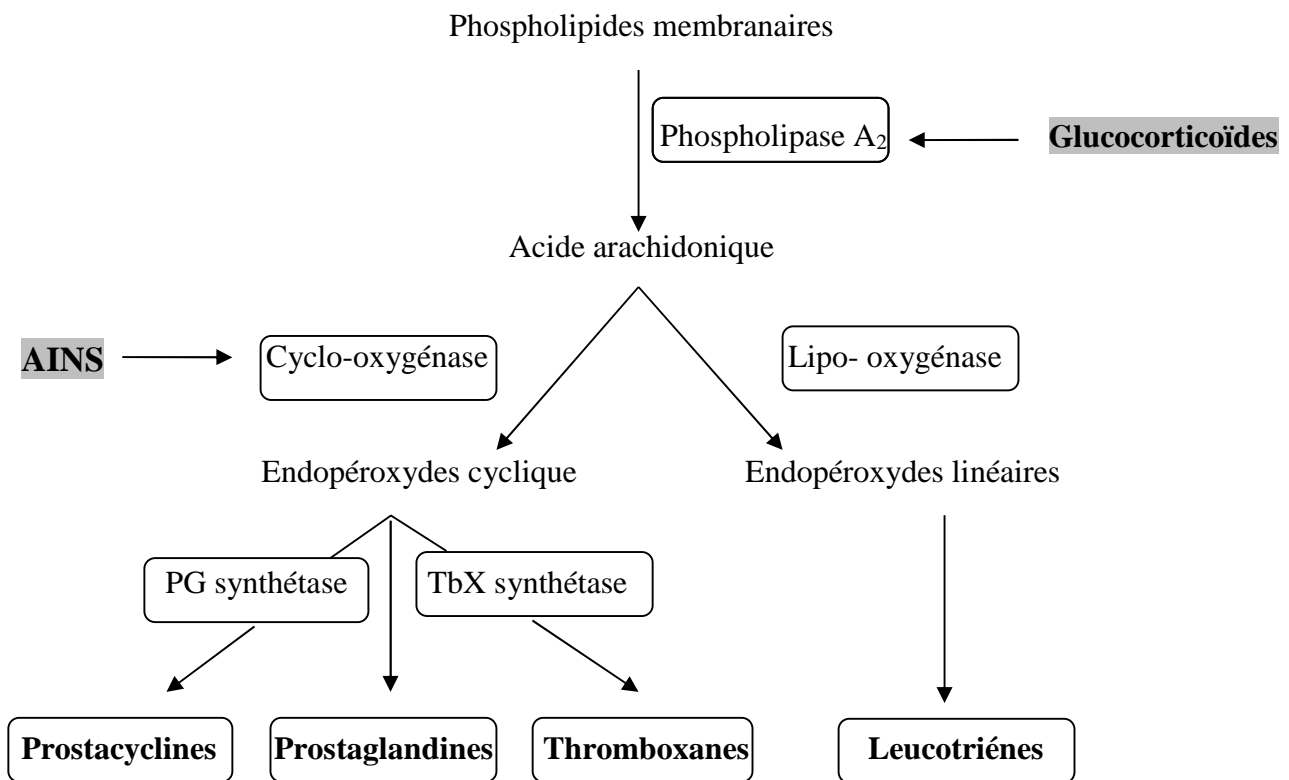


Figure V.2 : Mécanismes d'action des anti-inflammatoires

Par ailleurs, signalons que pour la réalisation de notre étude nous nous sommes intéressés essentiellement aux anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS).

3. Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

3.1. Classification chimique

Il existe une classification chimique des molécules AINS appartenant à différentes familles (**Tableau V.1**) [2, 3, 4] :

- Dérivés pyrazolés ;
- Dérivés indoliques ;
- *Dérivés oxicams* ;
- Dérivés arylcarboxyliques (salicylés, acides arylacétiques, acides arylpropioniques, acides anthraniliques).

Chapitre V : Anti-inflammatoires

Tableau V.1 : Principaux anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)

Classe chimique	DCI	Spécialités	Liste
<i>Pyrazolés</i>	Phénylbutazone	Butazolidine®	1
<i>Indoliques</i>	Indométacine	Indocid®	1
	Oxamétacine	Dinulcid®	1
	Sulindac	Arthrocine®	1
Oxicams	Méloxicam	Mobic®	1
	Piroxicam	Feldène®, Proxalyoc®,	1
	Piroxicam+cylodextrine	Brexin®, Cycladol®	1
	Ténoxicam	Tilcotil®	1
<i>Salicylés</i>	Acide acétylsalicylique	Aspirine®	-
<i>Acides arylacétiques</i>	Diclofénac	Voltaire®®, Voldal®, Xénid®	1
	Diclofénac + Misoprostol	Arotec®	1
	Etodolac	Lodine®	1
<i>Acides arylpropioniques</i>	Acide tiaprofénique	Surgam®, Doltaque®	2
	Alminoprofène	Minalfène®	2
	Fenbufène	Cinopal®	-
	Flurbiprofène	Cebutid®, Antady®	2
	Kétoprofène	Profenid®, Topféna®	2
	Naproxène	Apranax®, Naprosyne®	2
	Ibuprofène	Brufen®, Nureflex®	2
<i>Acides anthraniliques</i>	Acide niflumique	Nifluril®	2
	Acide méfénamique	Ponstyl®	2

3.2. Pharmacocinétique

Les AINS sont des acides faibles résorbés dès l'estomac se fixant de façon importante sur l'albumine plasmatique (d'où les interactions). Ils sont métabolisés par le foie et éliminés par le rein sous forme de métabolites. Les différences entre les AINS sont relatives à leur pharmacocinétique et aux effets secondaires engendrés [2].

3.3. Principales Caractéristiques

Les principales caractéristiques des différentes classes d'AINS sont représentées au tableau V.2 [4] :

Chapitre V : Anti-inflammatoires

Tableau V.2 : Principales caractéristiques des différentes classes d'AINS

Salicylés
<ul style="list-style-type: none">- <i>Mécanisme d'action</i> : acétylation irréversible de la cyclo-oxygénase.- <i>Effets indésirables spécifiques</i> : manifestations allergiques et neurologiques.- <i>Interactions médicamenteuses</i> : augmentation de la fraction plasmatique libre des antivitamines K (AVK), du méthotrexate, de la phénytoïne, des sulfamides hypoglycémiants. Dans le cas des AVK, l'effet antiagrégant plaquettaire augmente le risque hémorragique.
Pyrazolés
<ul style="list-style-type: none">- <i>Mécanisme d'action</i> : diminution de la production d'endoperoxydes (effet anti-oxydant).- <i>Effets indésirables spécifiques</i> : troubles hématologiques rares mais graves (anémie aplastique, agranulocytose), manifestations allergiques, rétention hydrosodée.- <i>Interactions médicamenteuses</i> : augmentation de la fraction plasmatique libre des AVK, de la phénytoïne, des sulfamides hypoglycémiants. Induction enzymatique.
Indoliques
<ul style="list-style-type: none">- <i>Mécanisme d'action</i> : inhibition compétitive (réversible) de la cyclo-oxygénase.- <i>Effets indésirables spécifiques</i> : troubles neuropsychiques, manifestations allergiques, troubles hépatiques.- <i>Interactions médicamenteuses</i> : diminution des effets tensionnels des diurétiques et d'autres antihypertenseurs. Les taux plasmatiques d'indométhasine sont augmentés (20 à 30%) par le diflunisal (Dolobis®) et diminués par l'aspirine.
Propioniques
<ul style="list-style-type: none">- <i>Mécanisme d'action</i> : inhibition compétitive (réversible) de la cyclo-oxygénase.- <i>Effets indésirables spécifiques</i> : troubles cutanés peu fréquents.
Anthraniliques
<ul style="list-style-type: none">- <i>Mécanisme d'action</i> : inhibition compétitive (réversible) de la cyclo-oxygénase.- <i>Effets indésirables spécifiques</i> : manifestations allergiques.- <i>Interactions médicamenteuses</i> : le ponstyl® augmente la fraction libre des AVK.
Oxicams
<ul style="list-style-type: none">- <i>Mécanisme d'action</i> : inhibition compétitive (réversible) de la cyclo-oxygénase.- <i>Effets indésirables spécifiques</i> : troubles cutanés parfois graves, manifestations allergiques.- <i>Interactions médicamenteuses</i> : l'aspirine diminue le taux plasmatique du Feldène®.

Enfin, rappelons que nous avons montré un intérêt certain pour les AINS et plus particulièrement pour la famille des oxicams à laquelle appartient le piroxicam ; molécule candidate pour la réalisation de cette recherche.

4. Piroxicam

Le principe actif sélectionné donc pour nos expériences est le piroxicam. C'est un AINS appartenant à la famille des oxicams [5, 6, 7, 8]. Il exerce son action anti-inflammatoire, analgésique et antipyrétique en inhibant la synthèse des prostaglandines [9, 10, 11, 12]. Il est utilisé pour le traitement de diverses maladies inflammatoires et arthropathies telles que l'arthrose, les polyarthrites rhumatoïdes et les ostéo-arthrites, les contusions traumatiques et les rhumatismes articulaires [5, 6, 7, 10, 11, 13].

Il fait partie des médicaments les plus prescrits au monde, ce qui représente un chiffre d'affaire de plusieurs milliards de dollars dans l'industrie pharmaceutique. Le piroxicam est commercialisé sous plusieurs formes pharmaceutiques, tels que les comprimés, les capsules, les suppositoires, les gouttes buvables, les gels, les pommades et les injectables [8, 12].

Parmi les spécialités de référence contenant le piroxicam, on peut citer : Feldène®, Geldene®, Feldoral®, Proxalyoc®, Brexin®, Cycladol®, Brexidol®, Erazon®, Exipon®, etc [14, 15, 16]. Selon le système de classification biopharmaceutique, le piroxicam est caractérisé par une faible solubilité aqueuse et une forte perméabilité membranaire [5, 7]. C'est un acide faible fortement lipophile [12].

4.1. Propriétés pharmacocinétiques

Les principales propriétés pharmacocinétiques du piroxicam sont comme suit :

↳ **Absorption** : résorption rapide par le tractus gastro-intestinal après administration orale ou rectale [6, 11, 13, 17]. Après administration répétée d'une dose de 20 mg par jour, au bout d'une semaine le taux plasmatique à l'état stable est proche de 05 microgrammes par ml.

Chapitre V : Anti-inflammatoires

↳ **Répartition** : forte fixation aux protéines plasmatiques (99,3%), existence probable d'un cycle entéro-hépatique [18, 19, 20]. Très faible passage dans le lait maternel, rapport lait/plasma : 0,01, non détectable dans le sérum du nourrisson.

↳ **Demi-vie** : longue demi-vie (54 heures) autorisant une prise quotidienne unique. Importantes variations inter et intra individuelles [11, 14].

↳ **Métabolisme** : voie hépatique ; il subit une hydroxylation du cycle pyridinique au niveau hépatique [21]. Son métabolisme s'effectue principalement par l'enzyme hépatique « cytochrome P450 ». Chez l'être humain, le principal métabolite est le dérivé hydroxylé. Il a été observé que l'hydroxylation prédominante a lieu à la position C-5 du noyau pyridine du piroxicam suivie d'une glucuronidation pour générer le 5-hydroxypiroxicam glucuronide [6].

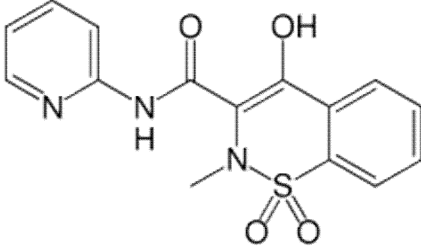
↳ **Elimination** : voie rénale ; les 2/3 du produit administré sont éliminés par les urines, dont moins de 5% sous forme inchangée. La clairance rénale ne représente pas plus de 10% de la clairance corporelle totale. L'insuffisance rénale ne semble pas avoir de répercussion majeure sur la pharmacocinétique [22].

4.2. Propriétés physico-chimiques

Les principales propriétés physico-chimiques du piroxicam sont indiquées au tableau V.3 :

Chapitre V : Anti-inflammatoires

Tableau V.3 : Propriétés physico-chimiques du piroxicam

Désignation	Propriétés physico-chimiques	Références bibliographiques
Formule brute	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₄ S	[23]
Formule chimique	4-hydroxy-2-méthyl-N-2-pyridinyl-2H-1,2-benzothiazine-3-carboxamide 1,1-dioxyde	[5, 23]
Formule développée		[6, 8]
Poids moléculaire (g/mol)	331.4	[23]
Point de fusion	198 à 200 °C	[24]
Classe chimique	Oxicams	[5, 6, 7, 8]
Classe thérapeutique	AINS	[5, 6, 7, 8]
Solubilité	Pratiquement insoluble dans l'eau (0,003% à pH = 5, à 37°C), soluble dans le chlorure de méthylène, peu soluble dans l'éthanol	[23, 24]
pKa	4,5 (a), 3,6 (b)	[25]
Caractères organoleptiques	Poudre cristalline, blanche à tendance jaunâtre	[23]
Autres caractères	Présente le phénomène du polymorphisme	[23]
Conservation et stockage	En récipient étanche à l'abri de la lumière et de l'humidité	[23]

(a) : solution acide

(b) : solution basique

4.3. Effets indésirables

Le principal effet secondaire associé au piroxicam est l'irritation gastro-intestinale [10, 13, 24]. Les autres réactions indésirables comprennent les vertiges, les bourdonnements d'oreille, les céphalées et les éruptions cutanées. La fréquence des ulcères est observée quand le piroxicam est utilisé à des doses supérieures à 20 mg/j [22].

Conclusion

Selon les données physicochimiques, le piroxicam, principe actif pratiquement insoluble dans l'eau, s'avère être une molécule intéressante pour la préparation de complexes d'inclusion et/ou de dispersions solides à l'aide de polymères hydrophiles en vue d'une formulation galénique stable, efficace et répondant par une cinétique de dissolution rapide.

Références bibliographiques

[1] : M. Moulin, A. Coquerel, « Pharmacologie », 2^{ème} édition Masson p. 393 (2002).

[2] : Brigitte Charpentier, Florence Hamon – Lorléach, Alain Harlay, Alain Huard, Lionel Ridoux et Serge Chansellé, « Guide du préparateur en pharmacie », 2^{ème} édition Masson, p. 889 (2004).

[3] : Jean-Marie Gazengel et Anne-Marie Orecchioni, « Le préparateur en Pharmacie. Dossier 5 : Pharmacologie », éditions Technique et Documentation, p. 50 – 51 (2001).

[4] : M. Bourin, Michel Lièvre, Hervé Allain, « Cours de pharmacologie », 3^{ème} édition Ellipses, p. 133 (1993).

[5] : Ayşegül Karataş, Nilüfer Yüksel, Tamer Baykara, « Improved solubility and dissolution rate of piroxicam using gelucire 44/14 and labrasol », Journal of Farmaco, Vol. 60, 777 – 782 (2005).

[6] : Sarbani Pal, P. Bindu, P.K. Dubey, Santu Chakraborty, Alok Kumar Mukherjee, « Synthesis and structure analysis of cyclodehydration product of piroxicam: A metabolite detected in dogs and monkeys », European Journal of Medicinal Chemistry, Vol. 44, 3368 – 3371 (2009).

[7] : Nilüfer Yüksel, Aysegül Karataş, Yalçın Özkan, Ayhan Savaşer Sibel A. Özkan, Tamer Baykara, « Enhanced bioavailability of piroxicam using Gelucire 44/14 and Labrasol: in vito and in vivo evaluation, European Journal of OPharmaceutics and Biopharmaceutics, Vol. 56, 453 – 459 (2003).

[8] : Guo Xiliang, Yang Yu, Zhao Guoyan, Zhang Guomei, Chao Jianbin, Shuang Shaomin, « Study on inclusion interaction of piroxicam with β -cyclodextrin derivatives », Spectrochimica Acta Part A, Vol. 59, 3379 – 3386 (2003).

[9] : Thierry Van Hees, Geraldine Piel, Sandrine Henry de Hassonville, Brigitte Evrard, Luc Delattre, « Determination of the free/included piroxicam ratio in cyclodextrin complexes : comparaison between UV spectrophotometry and differential scanning calorimetry », European Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 15, 347 – 353 (2002).

Chapitre V : Anti-inflammatoires

[10] : M.E. Dalmora, S.L. Dalmora, A.G. Oliveira, « Inclusion complex of piroxicam with β -cyclodextrin and incorporation in cationic micro emulsion. In vitro drug release and in vivo topical anti-inflammatory effect », *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 222, 45 – 55 (2001).

[11] : Jose Antonio Palma-Aguire, Mireya Lopez-Gamboa, Lizbeth Carino, Victoria Burke-Fraga, and Mario González-de la Parra, « Relative bioavailability of two oral formulations of piroxicam 20 mg: a single-dose, randomizer-sequence, open-label, two-period crossover comparison in healthy Mexican adult volunteers », *Clin. Ther.* 32 (2), 357 – 364 (2010).

[12] : Eskandar Moghimipour, Mohammad Ali Dabbagh, Fatemeh Zarif, « Characterization and in vitro evaluation of piroxicam suppositories », *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, Vol. 2, Issue 3, July-September (2009).

[13] : Mario Jug, Mira Bećirević – Laćan, Ana Kwokal, Biserka Cetina – čizmek, « Influence of cyclodextrin complexation on piroxicam gel formulations », *Acta Pharm.*, Vol. 55, 223 – 236 (2005).

[14] : D. Vital Durand et C. Le Jeune, « Guide pratique des médicaments » Dorosz, 29^{ème} édition Maloine, p. 51 (2010).

[15] : G. Bhupendra, G. Prajapati and M. Patel Madhabhai, Review: « Conventional and alternative pharmaceutical methods to improve oral bioavailability of lipophilic drugs », *Asian Journal of Pharmaceutics*, Vol. 1, Issue 1, April – June (2007).

[16] : Thorsteinn Loftsson, Pekka Jarho, Már Másson and Tomi Järvinen, Review : « Cyclodextrins in drug delivery », *Expert Opinion on Drug Delivery*, 2, 335 – 351 (2005).

[17] : E. Kumura, C.A. Bersani – Amado, L.S. Sudo, S.R.J. Santos and S. Oga, « Pharmacokinetic profile of piroxicam β -CD in rat plasma and lymph », *Gen. Pharmac.* 28 (5), 695 – 698 (1997).

[18] : E.H. Wiseman, D.C. Hobbs, « Review of pharmacokinetic studies of piroxicam », *Journal Am. Med.*, Vol. 72, 9 -12 (1982).

Chapitre V : Anti-inflammatoires

[19] : R.N. Brogden, R.C. Heel, T.M. Speight et al., « Piroxicam: a review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy », *Drug*, Vol. 22, 165 – 187 (1981).

[20] : D.C. Hobbs, T.M. Twomey, « Piroxicam pharmacokinetics in man: aspirin and antacid interaction studies », *Journal Clin. Pharmacol.*, Vol. 19, 270 – 281 (1979).

[21] : P. Schiantarelli, S. Cadel, « Piroxicam pharmacologic activity and gastrointestinal damage by oral and rectal route », *Arzneim. Forsch*, Vol. 31, 87 – 92 (1981).

[22] : Sébastien Faure, Mathieu Guerriaud et Nicolas Clère, « Bases fondamentales en pharmacologie », éditions Elsevier Masson (2014).

[23] : Pharmacopée Européenne (2008).

[24] : Chiesi Farmaceutici S.p.A, « Procédé de préparation d'inclusion de piroxicam avec de la bêta-cyclodextrine », Brevet européen 07/16 (18/04/2007).

[25] : Rebecca L. Carrier, Lee A. Miller, Imran Ahmed, « The utility of cyclodextrins for enhancing oral bioavailability », *Journal of Controlled Release*, Vol. 123, 87 – 99 (2007).

Expérimentation

Introduction
et objectifs du projet

Introduction et Objectifs du projet

L'efficacité thérapeutique d'un médicament dépend de la biodisponibilité qui elle-même dépend de la solubilité du principe actif. En effet, la solubilité d'une molécule est l'un des paramètres clé pour que celle-ci atteigne la concentration désirée dans la circulation systémique en vue d'une réponse pharmacologique. Actuellement, seulement 8% des nouveaux candidats médicaments ont à la fois une solubilité élevée et une perméabilité élevée [1].

Il a été estimé qu'actuellement environ un tiers des nouvelles entités chimiques provenant de la recherche et développement du médicament ont une solubilité dans l'eau inférieure à 10 µg/ml. Un autre tiers se situe entre 10 et 100 µg/ml et le reste a une solubilité dans l'eau supérieure à 100 µg/ml [2].

Même si l'activité des médicaments modernes est généralement très élevée, et seulement des concentrations plasmatiques relativement faibles sont nécessaires pour atteindre les effets pharmacologiques souhaités, la faible solubilité dans l'eau est considérée comme un obstacle majeur au développement des systèmes efficaces d'administration des médicaments, en particulier, pour les formes de dosage à libération immédiate [2].

Les polymères hydrophiles sont des molécules intéressantes dans le domaine de la technologie pharmaceutique vu leur capacité à former des dispersions solides avec des molécules peu hydrosolubles. Ils sont notamment utilisés pour favoriser la solubilité des substances actives insolubles en milieu aqueux, et augmenter ainsi leur biodisponibilité, pour améliorer dans certains cas la stabilité (Molécules ou Formulations), pour diminuer les effets indésirables et enfin, pour leurs propriétés promotrices d'absorption.

Dans le cadre de ce travail de recherche portant sur la valorisation des paramètres hydrophiles des molécules médicamenteuses par inclusion dans les cyclodextrines et la formation de dispersions solides, nous avons envisagé dans un premier temps, la résolution des problèmes liés à la solubilisation et à la dissolution des principes actifs peu solubles dans l'eau tel que le piroxicam ; molécule candidate, puis, dans un deuxième temps, la formulation d'une nouvelle forme galénique orale (Formulation ultra soluble / Voie sublinguale) à base d'un complexe d'inclusion du Px dispersé dans une matrice hydrophile. Pour ce faire, nous avons adopté la démarche suivante :

Introduction et Objectifs du projet

- ✚ Dans une première partie, nous avons étudié l'influence de la méthode de préparation des complexes d'inclusion Piroxicam – Cyclodextrines sur les propriétés de dissolution du système préparé selon deux (02) types de cyclodextrines ; la β -CD et son dérivé la HP- β -CD.
- ✚ Dans une deuxième partie, nous avons évalué l'influence de la nature du solvant ; solvant aqueux et solvants organiques (citrate de sodium, dichlorométhane et méthanol) sur les propriétés de dissolution d'une dispersion solide de piroxicam en présence de β -CD et/ou PEG 6000) préparée par la méthode d'évaporation.
- ✚ Dans une troisième partie, nous avons évalué l'effet d'un polymère hydrophile (PEG 6000) à basse concentration sur la complexation et la dissolution des complexes d'inclusion Px - β CD et Px – HP β -CD préparés par mélange physique et kneading.
- ✚ Dans une quatrième partie, dont l'objectif est de préparer une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Piroxicam (Px-CD-PEG 6000), nous avons tout d'abord évalué l'effet des cyclodextrines (β -CD ou HP β -CD) et du procédé d'inclusion (*spray drying* ou *lyophilisation*) sur la cinétique de dissolution des dispersions solides du Px dans le PEG 6000, puis, déterminé l'influence de la méthode de dispersion solide (*évaporation* ou *fusion*) dans le polymère hydrophile ; PEG 6000, sur la cinétique de dissolution du Px.
- ✚ Enfin, dans une cinquième partie, nous avons réalisé une étude pharmacocinétique d'une formulation d'un complexe d'inclusion Px - β -CD à différents rapports molaires 1 : 1, 1 : 2,5, 1 : 3 et 1 : 4 après une administration par voie orale chez le lapin.

Références bibliographiques

- [1] : Anil J Shinde, «Solubilization of Poorly Soluble Drugs: A Review», Latest Reviews, volume 5, issue 6 (2007).
- [2] : Yvonne Perrie and Thomas Rades, «Pharmaceutics - Drug Delivery and targeting», Second edition (2012) Pharmaceutical Press p. 26.

Chapitre I
Matériel et Méthodes

1. Choix des matières premières

1.1. Principe actif

Pour la réalisation de notre étude, nous avons choisi comme molécule candidate, le Piroxicam, pour les critères suivants :

- Faible solubilité dans l'eau et une forte perméabilité membranaire (médicament de la classe 2 selon le SCB des médicaments) ;
- Demi-vie longue ;
- Anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS) ;
- Substance active figurant dans plusieurs monographies (Pharmacopées et USP).

Le piroxicam est un anti-inflammatoire très puissant qui possède également des propriétés analgésiques et antipyrétiques, appartenant à la famille des « Oxicams ». Il est commercialisé sous plusieurs formes pharmaceutiques, telles que les comprimés, les capsules, les suppositoires, les gouttes buvables et les injectables. Il est fortement utilisé dans le traitement de polyarthrites rhumatoïdes, arthrose et variété, et d'autres désordres de l'inflammation tels que les douleurs du muscle. Il fait partie des médicaments les plus prescrits au monde, ce qui représente un chiffre d'affaire de plusieurs milliards de dollars dans l'industrie pharmaceutique.

1.2. Véhicules

Afin de résoudre la problématique de la solubilité du piroxicam et selon la recherche bibliographique réalisée dans le domaine de l'hydrophilisation des principes actifs peu solubles dans l'eau à l'aide des matrices hydrophiles, nous avons sélectionné deux types de véhicules : les *cyclodextrines* et le *polyéthylène glycol* (PEG).

En raison de leurs structures moléculaires, leurs formes et leurs propriétés physico-chimiques, les CDs possèdent une capacité unique d'agir comme des conteneurs moléculaires en piégeant des molécules hôtes dans leurs cavités internes [1]. Par la formation de complexes d'inclusion, la stabilité, la solubilité, la biodisponibilité ainsi que d'autres propriétés physico-chimiques de la molécule invitée se trouvent favorablement modifiées [2 - 5]. Pour notre étude, deux types de CDs ont été sélectionnés : une CD naturelle ; la β -CD et une CD modifiée ; la HP- β -CD. Pour ces deux CDs, nous avons relevé un certain nombre de particularités très intéressantes à savoir :

- La taille de la cavité de la CD joue un rôle important dans la formation d'un complexe d'inclusion. A titre d'exemple, l' α -CD a une cavité de taille insuffisante pour de nombreux médicaments. Par contre, la β -CD possède une cavité convenable pour une large gamme de molécules invitées. Pour cette raison, la faible solubilité de la β -CD ne restreint pas ses applications pharmaceutiques. A cet effet, les types des CDs les plus utilisées dans le domaine pharmaceutique sont la β -CD et ses dérivés tels que la HP- β -CD [6 - 9] ;
- Toutes les études de toxicité ont démontré que l'administration orale de la β -CD et de la HP- β -CD est non-toxique, ceci étant du à leur très faible absorption gastro-intestinale [10 - 11]. Un certain nombre d'études toxicologiques ont montré que la HP- β -CD est sans danger même pour l'administration parentérale. Par contre, l' α -CD, la β -CD et les β -CD méthylées ne sont pas acceptables pour l'administration parentérale [10] ;
- La HP- β -CD présente une meilleure solubilité par rapport aux autres CDs natives. Elle est environ 32 fois plus soluble que la β -CD [12] ;
- Le caractère économique n'est pas à négliger notamment dans le secteur industriel où chaque dépense doit être rentabilisée. En effet, la β -CD est la moins coûteuse par rapport aux autres CDs. Par ailleurs, notons que la γ -CD qui est très soluble dans l'eau est relativement chère par rapport aux autres CDs naturelles.

De même, un intérêt particulier a été porté sur un autre véhicule hydrophile très utilisé pour la dispersion solide. Il s'agit du PEG 6000. Le choix de ce polymère pour notre expérimentation a été réalisé sur la base des critères suivants :

- Sa bonne solubilité dans l'eau (500 g/l à 20°C) et dans plusieurs solvants organiques (éthanol, chloroforme, acétone, dichlorométhane et méthanol), ce qui est un avantage pour la préparation des dispersions solides par la méthode d'évaporation [7, 13] ;
- Sa parfaite innocuité physiologique et son pouvoir de dispersion [14, 16] ;
- Sa stabilité à la chaleur (jusqu'à 180 – 200°C) [17];
- Son faible point de fusion (55 à 63°C) et une vitesse de solidification rapide donc possibilité de réaliser des fusions [7, 13] ;
- Sa capacité d'améliorer le mouillage et de réduire l'agglomération de plusieurs principes actifs [7, 13] ;
- Les PEGs n'absorbent pas dans l'UV-Visible ;
- Le PEG présente un gain économique qui n'est pas à négliger en comparaison avec les autres polymères.

2. Etudes préliminaires

Dans le cadre des essais préliminaires et avant de procéder à la préparation des complexes d'inclusion solides et des dispersions solides binaires et ternaires, nous avons étudié l'influence du pH sur la solubilité du Px. Trois pH ont été étudiés ; 4, 6 et 8.

L'influence du pH sur la solubilité du Px a été donc évaluée en ajoutant sous agitation une quantité en excès de ce principe actif à 100 ml d'une solution tampon de β -CD (16 mM, citrate de sodium 0,01 M). Les solutions ont été agitées à 500, 850 et à 1200 tours/min pendant trois (03) jours à température ambiante. L'échantillon obtenu a été ensuite filtré sur un filtre de 0,22 μ m puis dosé par spectrophotométrie UV à 355 nm. Aussi, notons que pour exclure tout effet de la préparation de l'échantillon, des solutions tampons de Px seul ont été également préparées aux différents pH étudiés (4, 6 et 8) selon le même protocole expérimental. Enfin, précisons que chaque expérience a été répétée trois fois.

3. Courbes d'étalonnage

Une quantité de Px, exactement pesée a été dissoute dans du méthanol pour obtenir une solution mère à 500 mg/l. Les solutions standards ont été préparées par dilution de la solution mère avec différents milieux (eau distillée, tampon citrate) dans lesquels des études préliminaires, des diagrammes de solubilité de phase et des tests de dissolution ont été effectués. L'absorption UV-Visible des solutions standards a été déterminée à la longueur d'onde de l'absorbance maximale 355 nm à l'aide d'un spectrophotomètre à double faisceaux (UV-Vis Beckman UV 24).

4. Diagrammes de solubilité de phase Higuchi

Les études de solubilité ont été réalisées selon la méthode décrite par Higuchi et Connors [18]. Une quantité en excès de Px a été ajoutée à 10 ml d'une solution aqueuse contenant diverses concentrations de cyclodextrines ; (0 - 16 mM) pour la β -CD et (0 - 300 mM) pour la HP β -CD. Les flacons contenant les suspensions, ont été scellés et agités rigoureusement à 37 °C à une vitesse d'agitation constante pendant une semaine afin d'atteindre un état d'équilibre (cf. **Figure 1**).

Chapitre I : Matériel et méthodes

A la fin de l'expérience, les échantillons obtenus sont centrifugés (cf. **Figure 2**). Le surnageant a été dilué d'une manière appropriée et analysé par spectrophotométrie à $\lambda = 355 \text{ nm}$ à l'aide d'un spectrophotomètre à double faisceaux (UV-Vis Beckman UV 24) pour déterminer la teneur totale du principe actif (cf. Courbes d'étalonnage du Px représentée par la **Figure 3** en **Annexe 1**). Chaque expérience a été répétée trois fois.

La constante de stabilité apparente des complexes d'inclusion Px - β -CD et Px - HP β -CD a été calculée à partir de la pente de la partie linéaire de la courbe de solubilité en supposant une stœchiométrie Px : CD = 1 : 1 et en utilisant l'équation ci-dessous [18] où So est la solubilité du Px en l'absence de la β -CD ou de la HP- β -CD (interception).

$$K_s = \text{Pente} / \text{So} (1 - \text{pente}) \quad (\text{Eq.1.1})$$

En outre, l'efficacité de solubilisation qui est considérée comme l'efficacité de complexation (CE) [19] a été déterminée par le rapport de la concentration du complexe (Px - β -CD ou Px - HP β -CD) sur la concentration du Px seul.

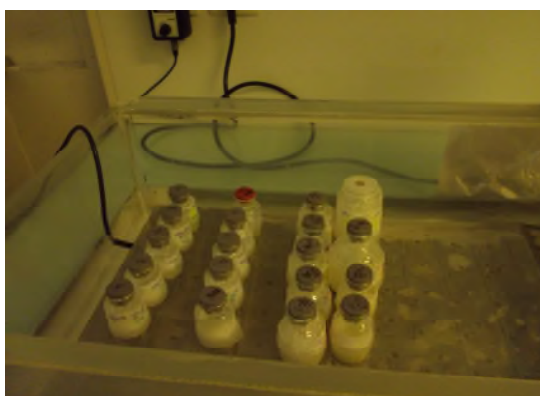


Figure 1 : Dispositif expérimental pour la réalisation du diagramme de solubilité de phase Higuchi



Figure 2 : Centrifugeuse

5. Préparation des complexes d'inclusion solides

La préparation des complexes d'inclusion solides du Px avec la β -CD ou la HP β -CD a été réalisée par différentes méthodes à savoir ; le mélange physique, le kneading, la co-précipitation, l'évaporation par solvant, la lyophilisation et le séchage par pulvérisation (spray drying). Aussi, signalons qu'à partir des résultats des études de solubilité, le rapport molaire a été fixé à 1 : 1 pour le complexe d'inclusion (Px - β -CD ou Px - HP β -CD). Par ailleurs, notons que pour toutes les méthodes, les matières premières utilisées ont été tamisées sur un tamis de 0,5 mm d'ouverture de maille.

5.1. Mélange physique (Procédé P₀)

Les quantités requises et précisément pesées de Px et de CD (β -CD ou HP β -CD) ont été soigneusement mélangées à l'aide d'une spatule dans un mortier en verre pendant 15 minutes. L'échantillon obtenu est séché sous vide à température ambiante, broyé, tamisé sur 0,5 mm puis conservé dans un dessiccateur jusqu'à son évaluation.

5.2. kneading (Procédé P₁)

Le complexe d'inclusion (Px - β -CD ou Px - HP β -CD) a été préparé par trituration du mélange physique à l'aide d'un pilon dans un mortier en verre en utilisant un volume minimum du tampon citrate de sodium (pH = 4) pendant 30 minutes jusqu'à obtention d'une pâte homogène. Cette dernière a été ensuite séchée sous vide à température ambiante, broyée, tamisée à travers un tamis de 0,5 mm puis stockée dans un dessiccateur jusqu'à son évaluation.

5.3. Co-précipitation (Procédé P₂)

La quantité requise du Px est dissoute dans 10 ml de méthanol. La quantité équivalente de la β -CD a été dissoute dans 50 ml de tampon citrate de sodium (pH = 4). Le mélange des deux solutions a été placé sous agitation pendant 24 heures à température ambiante, puis refroidi à environ 4 °C dans un réfrigérateur pendant 72 heures. Le mélange final a été filtré sur un filtre de 0,22 μ m puis séché sous vide à température ambiante (cf. **Figures 4 et 5**). Les préparations des complexes d'inclusion solides séchées ont été broyées, passées à travers un tamis de 0,5 mm puis stockées dans un dessiccateur jusqu'à leur évaluation.

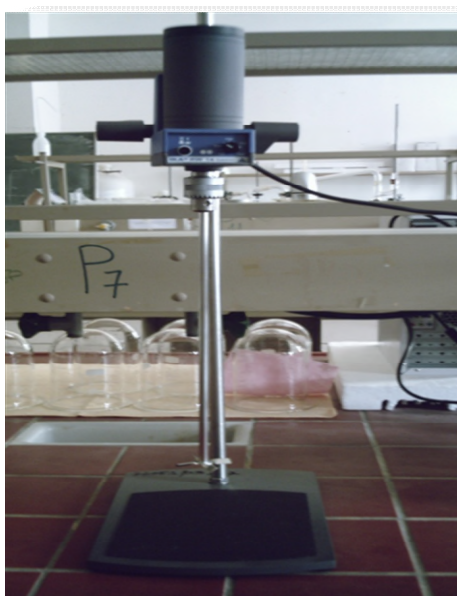


Figure 4 : Agitateur à hélice



Figure 5 : Dispositif de filtration sous vide

5.4. Evaporation par solvant

(Procédé P₃)

Après dissolution de la CD (β -CD ou HP β -CD) dans le tampon citrate de sodium (pH = 4), la proportion molaire requise du Px a été ajoutée. La suspension préparée a été maintenue sous agitation pendant 24 heures à température ambiante. La solution ainsi obtenue a été évaporée sous vide à une température de 45 °C dans un évaporateur rotatif « Laborota 4010 (Heidolph) » jusqu'à obtention d'un résidu sec (cf. **Figure 6**). La masse séchée a été broyée, tamisée à travers un tamis de 0,5 mm puis stockée dans un dessiccateur jusqu'à son évaluation.



Figure 6 : Evaporateur rotatif

5.5. Lyophilisation (Procédés P₄)

Pour étudier l'effet du pH de la formulation du complexe d'inclusion sur les propriétés de dissolution du produit lyophilisé, deux (02) types de procédés de lyophilisation ont été adoptés :

Lyophilisation (Procédé P_{4.1})

La quantité stœchiométrique nécessaire de Px a été ajoutée sous agitation à une solution aqueuse du tampon citrate de sodium (pH = 4) contenant la CD (β -CD ou HP β -CD). Après 30 heures d'agitation à 850 tours par minute, la solution obtenue a été congelée à -70 °C puis lyophilisée dans un lyophilisateur « Labconco (FreeZone®) » pendant 48 heures (cf. **Figure 7**). Les préparations des complexes solides sont stockées dans un dessiccateur jusqu'à leur évaluation.

Lyophilisation (Procédé P_{4.2})

Le Px a été ajouté à 400 ml d'une solution aqueuse de β -CD ou à 40 ml d'une solution aqueuse de HP β -CD. Le mélange est mis sous agitation à 850 tours/min jusqu'à obtention d'une suspension stable. La dissolution du Px a été réalisée par l'addition d'une petite quantité d'hydroxyde de sodium (1 N). La solution obtenue (pH = 10) a été agitée pendant 24 heures à température ambiante afin d'atteindre un état d'équilibre. La solution finale préparée a été congelée puis lyophilisée dans un lyophilisateur « Labconco (FreeZone®) » pendant 48 heures (cf. **Figure 7**). Les préparations des complexes solides sont stockées dans un dessiccateur jusqu'à leur évaluation.



Figure 7 : Lyophilisateur

5.6. Séchage par pulvérisation (Spray-drying) (Procédé P5)

Le Px a été ajouté à 400 ml d'une solution aqueuse de β -CD ou à 40 ml d'une solution aqueuse de HP β -CD. Le mélange est mis sous agitation à 850 tours/min jusqu'à obtention d'une suspension stable. La dissolution du Px est réalisée par addition d'une petite quantité d'hydroxyde de sodium (1N). La solution obtenue (pH = 10) est agitée pendant 24 heures à température ambiante afin d'atteindre un état d'équilibre. La solution finale préparée a été séchée par pulvérisation dans l'appareil «Buchi Mini Spray Dryer B-290» selon les conditions opératoires suivantes : température d'entrée 150 °C, température de sortie 80 °C, alimentation de la pompe à 20% et taux d'écoulement de la buse d'air à 50 m³/h (cf. **Figure 8**). Les préparations des complexes d'inclusion solides sont stockées dans un dessiccateur jusqu'à leur évaluation.



Figure 8 : Appareil de séchage par pulvérisation (Spray Dryer)

6. Préparation des dispersions solides binaires et ternaires

La préparation des dispersions solides à base du Px, de la cyclodextrine (β -CD ou HP- β -CD) et/ou du PEG 6000 a été réalisée selon les méthodes suivantes : le mélange physique, le kneading, l'évaporation par solvant et la fusion-solidification. Comme pour les complexes d'inclusion, le rapport molaire (Px : CD) a été fixé à 1 : 1 lors de la préparation des dispersions solides. Aussi, signalons que pour toutes les méthodes de préparation, les matières premières utilisées ont été tamisées à travers un tamis de 0,5 mm.

Par ailleurs, précisons que lors de la préparation des dispersions solides, l'influence du PEG 6000 sur la complexation et les propriétés de dissolution du Px a été étudiée à deux (02) concentrations ; une faible concentration en PEG 6000 (rapport massique PEG/Pa = 1%, 2,5%, 5% et 10%) et une forte concentration en PEG 6000 (rapport massique PEG/Pa = 10%, 30%, 50%, 70%, 90% et 95%).

6.1. Dispersions solides à faible concentration en PEG 6000

6.1.1. Mélange physique

Dans un mortier en verre bien sec, la quantité requise du mélange physique du système binaire (Px- β -CD ou Px- HP- β -CD) est ajoutée à la quantité de PEG 6000 correspondante au pourcentage désiré. L'ensemble est mélangé soigneusement à l'aide d'une spatule pendant 15 minutes. Le système ternaire préparé est séché à température ambiante dans un dessiccateur sous vide, broyé et tamisé à travers un tamis de 0,5 mm. L'échantillon obtenu est conservé dans un pilulier en verre ambré hermétiquement fermé.

6.1.2. Kneading

Dans un mortier en verre bien sec, un petit volume de la solution tampon citrate de sodium à pH = 4 est ajouté goutte à goutte au mélange physique du système ternaire (Px- β -CD-PEG 6000 ou Px – HP- β -CD - PEG 6000) aux pourcentages retenus de PEG 6000, tout en malaxant délicatement à l'aide d'un pilon jusqu'à obtention d'une pâte homogène.

Le mélange obtenu est séché à température ambiante dans un dessiccateur sous vide, broyé et tamisé à travers un tamis de 0,5 mm. L'échantillon obtenu est conservé dans un pilulier en verre ambré hermétiquement fermé.

6.2. Dispersions solides à forte concentration en PEG 6000

6.2.1. Mélange physique du système binaire (Px – PEG 6000)

Dans un mortier en verre bien sec, une quantité exacte de Px est ajoutée petit à petit à la quantité nécessaire du PEG 6000 tout en mélangeant délicatement à l'aide d'une spatule pendant 15 min. Le système binaire (Px – PEG 6000) obtenu est séché à température ambiante dans un dessiccateur sous vide, broyé et tamisé à travers un tamis de 0,5 mm. L'échantillon obtenu est conservé dans un pilulier en verre ambré hermétiquement fermé.

6.2.2. Mélange physique du système ternaire (Px - CD – PEG 6000)

Dans un mortier en verre bien sec, une quantité exacte du complexe d'inclusion (Px- β -CD ou Px- HP- β -CD) préparée préalablement par lyophilisation ou par spray drying (séchage par pulvérisation), est ajoutée par petites fractions à la quantité nécessaire de PEG 6000, tout en mélangeant l'ensemble soigneusement avec une spatule pendant 15 minutes. Le système ternaire (Px- CD- PEG 6000) obtenu est séché à température ambiante dans un dessiccateur sous vide, broyé et tamisé à travers un tamis de 0,5 mm. L'échantillon obtenu est conservé dans un pilulier en verre ambré hermétiquement fermé.

6.2.3. Evaporation par solvant

Les produits évaporés ont été préparés à partir du mélange physique binaire ou ternaire [(Px ; PEG 6000) ou (complexe d'inclusion ; PEG 6000)]. Les quantités exactement pesées du Px ou du complexe d'inclusion (lyophilisé ou séché par pulvérisation) et du PEG 6000 pour obtenir une masse totale de cinq (05) grammes ont été mélangées et dissoutes dans 50 ml de méthanol.

Les mélanges à différents pourcentages massiques polymère/principe actif (10%, 30%, 50%, 70%, 90%, 95% pour les systèmes binaires et 50%, 70%, 90%, 95% pour les systèmes ternaires) ont été agités pendant 30 min puis évaporés sous vide à sec à 40 °C dans un évaporateur rotatif « Laborota 4010 (Heidolph) ». La masse séchée a été broyée, tamisée à travers un tamis de 0,5 mm et stockée dans un dessiccateur jusqu'à son utilisation ultérieure.

6.2.4. Fusion-solidification

Les dispersions solides binaires du Px à différents rapports polymère/principe actif (10%, 30%, 50%, 70%, 90%, 95%) ont été préparées par mélange d'une quantité totale équivalente à cinq (05) g (Px et PEG 6000) puis, chauffage jusqu'à fusion du mélange dans une cuve en verre immergée dans un bain d'huile régulé au point de fusion du Px (cf. **Figure 9A**).

Chapitre I : Matériel et méthodes

Dès l'obtention d'un liquide homogène, le chauffage est interrompu et la solution est laissée refroidir lentement (à une vitesse moyenne de 1°C/min). Après solidification à température ambiante, le produit est introduit dans un dessiccateur sous vide. Les échantillons ainsi préparés sont ensuite broyés, tamisés et stockés dans des flacons en verre ambré.

Par ailleurs, notons que pour les dispersions solides à 90% et 95% de PEG 6000, une solidification rapide a été également effectuée par refroidissement de la solution obtenue dans un bain de glace (cf. **Figure 9B**).

Dans la préparation des systèmes ternaires (Px, β -CD ou HP β -CD, PEG 6000), le polymère à différentes concentrations (50%, 70%, 90%, 95%) a été placé dans un réservoir en verre et laissé fondre par chauffage dans un bain d'huile. A la masse fondue, une quantité appropriée du complexe d'inclusion (lyophilisé ou séché par fluidisation) a été ajoutée sous agitation jusqu'à obtention d'une dispersion homogène. La solution finale obtenue a été refroidie à température ambiante ou dans un bain de glace puis stockée dans un dessiccateur pendant 48 heures. Les échantillons obtenus ont été broyés, tamisés à travers un tamis de 0,5 mm puis stockés dans un dessiccateur jusqu'à utilisation ultérieure.

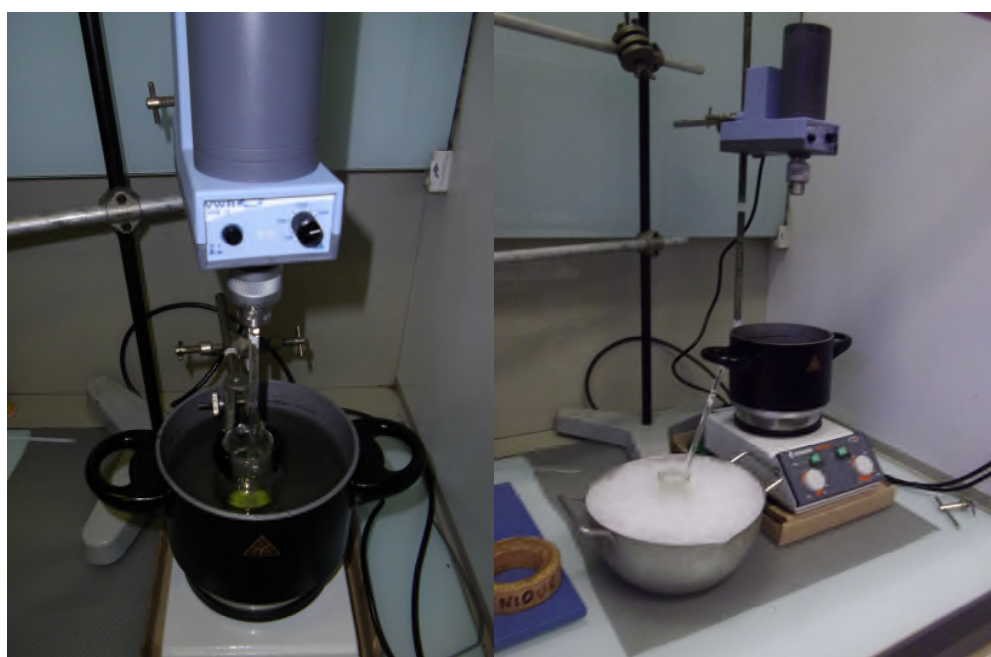


Figure 9 : Appareillage de la méthode de préparation des échantillons par fusion
(A : Fusion du mélange B : Solidification du mélange)

7. Dissolution *in vitro*

Les différents systèmes préparés ainsi que le Px (PA seul) ont fait l'objet d'un essai de dissolution normalisé selon la méthode décrite à l'USP 32-NF 27 [20].

7.1. Milieu de l'essai

Tenant compte des caractéristiques physico-chimiques du principe actif étudié ainsi que des excipients utilisés pour les différentes formulations, le milieu de dissolution choisi est simulé à un milieu intestinal de pH = 6,8, préparé à base d'une solution aqueuse citrate de sodium di hydraté à 0,01M dont le pH a été ajusté à l'aide d'une solution d'acide chlorhydrique 2N. Aussi, rappelons que la solution citrate de sodium n'absorbe pratiquement pas dans le domaine UV- Visible.

7.2. Méthode de dosage du Piroxicam

Le dosage de notre principe actif le Px a été réalisé par Spectrophotométrie UV-Visible. La longueur d'onde maximale du Px a été déterminée par un balayage de spectre (Survey Scan) (200 – 500 nm) à l'aide d'une solution étalon à concentration en Px égale à 20 mg/l ; soit un maximum d'absorption $\lambda_{\max} = 355$ nm. La courbe d'étalonnage du Px a été réalisée à l'aide de huit (08) standards (2,5 à 22,5 mg/l) préparés par dilutions successives à l'aide du milieu de dissolution, à partir d'une solution mère de Px à 500 mg/l. La représentation graphique des absorbances obtenues après dosage des standards par spectrophotométrie UV-Visible est donnée par la **figure 10** en **Annexe 1**.

7.3. Conditions opératoires

Les études de dissolution *in vitro* du principe actif seul, des complexes d'inclusion et des dispersions solides binaires ou ternaires préparés par les différentes méthodes ont été évaluées par un test de dissolution en utilisant l'appareil de dissolution « Vankel VK7000® » (Varian Inc, Palo Alto, CA, USA) (cf. **Figure 11**). La vitesse de rotation a été fixée à 100 tours par minute et la température du milieu de dissolution à $37 \text{ °C} \pm 0,5\text{°C}$. Les échantillons de poudre contenant 20 mg de Px ou sa quantité équivalente de complexe d'inclusion ou de dispersion solide ont été introduits dans 900 ml de milieu de l'essai de dissolution (tampon citrate de sodium à pH = 6,8 ou eau distillée) pendant deux (02) heures. Pour chaque expérience, 5 ml d'échantillon ont été prélevés à 5, 10, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 et 120 min puis remplacés par un volume égal de milieu de dissolution frais pour maintenir un volume total constant. Les échantillons ont été filtrés à travers un filtre de 0,45 μm et analysés par spectrophotométrie UV-visible à la longueur d'onde $\lambda = 355$ nm pour déterminer la teneur en Px dissous (cf. **Figure 12**).

Les pourcentages cumulés du principe actif dissous ont été calculés en utilisant les équations d'étalonnage. Les résultats de la dissolution *in vitro* des systèmes préparés représentent la moyenne de trois essais.



Figure 11 : Appareil de dissolution



Figure 12 : Spectrophotomètre UV-Visible

7.4. Traitement statistique

Les résultats de l'étude de dissolution *in vitro* du Px ont été traités statistiquement à l'aide d'un logiciel informatique utilisant le test de Fisher pour comparer le pourcentage du Px dissous à 05min, 30 min et 60 min (DP5, DP30 et DP60) des formulations préparées soit, entre différentes méthodes d'inclusion pour chaque CD, soit, entre les systèmes préparés (complexes d'inclusion ou dispersions solides). Les analyses statistiques ont été effectuées par l'analyse de variance (ANOVA) à un ou à deux facteurs. Les différences ont été considérées significatives à $p < 0,0001$ dans un intervalle de confiance de 95%.

8. Caractérisation physicochimique

Les complexes d'inclusion et les dispersions solides préparés ont fait l'objet d'une caractérisation physicochimique (Infrarouge, DSC, ATG et DRX).

8.1. Spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (IR-TF)

Les mesures à réflexion totale atténuée (ATR) – IR-TF ont été effectuées sur les poudres des différentes préparations. Les échantillons ont été placés dans le système de mesure (cristal de Ge-ATR) et pressés avec une force de 80 N. Les spectres ont été enregistrés en utilisant l'appareil « Spectrum One® » (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) (cf. **Figure 13**). Un cristal fraîchement nettoyé a été utilisé comme référence. Chaque analyse a été réalisée avec 20 balayages dans la gamme de fréquence comprise entre 600 cm^{-1} et 4000 cm^{-1} à une résolution de 8 cm^{-1} . Pour chaque échantillon, l'analyse a été répétée trois fois.



Figure 13 : Spectromètre Infra Rouge à Transformée de Fourier (IR-TF)

8.2. Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

La DSC a été effectuée à l'aide de l'appareil « DSC 6® » (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) (cf. **Figure 14**). L'indium (99,98%, point de fusion 157 °C) a été utilisé pour l'étalonnage de l'appareil. Des échantillons de 5 mg ont été pesés avec précision dans des capsules en aluminium puis scellés. Les thermogrammes des échantillons ont été obtenus à une vitesse de balayage de 10 °C/min réalisée sur une plage de température de $30\text{ à }255\text{ °C}$ (complexes d'inclusion) ou de $30\text{ à }240\text{ °C}$ (dispersions solides) sous un flux de gaz azote à 20 ml/min . L'appareil est régi par le logiciel Pyris® (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA). Pour chaque échantillon, les mesures ont été répétées trois fois.



Figure 14 : Appareil de Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

8.3. Analyse thermogravimétrique (ATG)

Les pertes de masse ont été enregistrées à l'aide de l'appareil « TGA 4000® » (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) sur des échantillons de 5 mg placés dans une capsule ouverte (cf. **Figure 15**). Les analyses ont été réalisées dans la gamme de température de 30 à 600 °C à l'aide d'un pas de chauffage de 10 °C sous un flux d'azote gazeux (20 ml/min). Toutes les mesures ont été effectuées en triple.

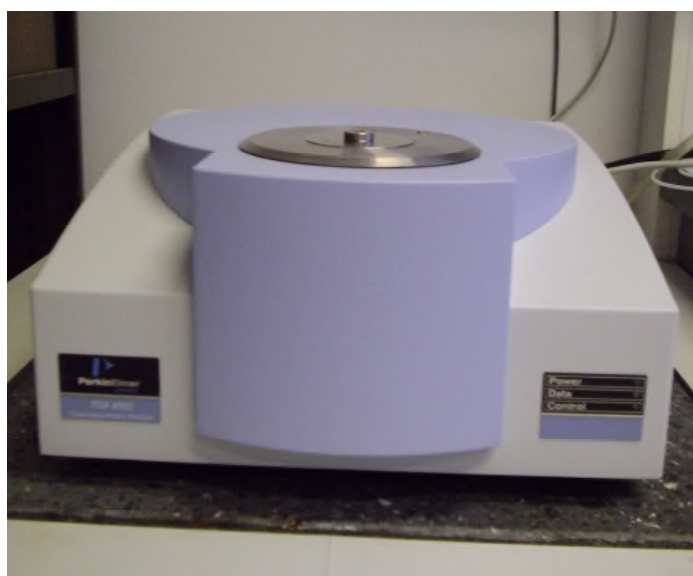


Figure 15 : Appareil de l'Analyse Thermogravimétrique (ATG)

8.4. Diffraction des rayons X (DRX)

Les spectres de la diffraction des rayons X ont été enregistrés à l'aide d'un diffractomètre « X'Pert Pro PANalytical » (Système vertical Θ/Θ MPd, RTMS excellerator detector) (cf. **Figure 16**). Les échantillons ont été analysés dans la plage d'angle 2Θ de 5° à 65° , et les paramètres du procédé ont été fixés comme suit : vitesse de balayage à $0,30^\circ/\text{s}$, taille de pas à $0,0167^\circ$ (2Θ) et le temps de l'étape de balayage à 1,9 secondes. Les données de l'analyse ont été traitées par le logiciel X'Pert HighScore.



Figure 16 : Appareil de Diffraction des rayons X (DRX)

9. Biodisponibilité du complexe d'inclusion Px - β -CD

9.1. Préparation des complexes d'inclusion (Px – β -CD)

Des complexes d'inclusion Px – β -CD ont été préparés à différents rapports molaires (1 : 1, 1 : 2,5, 1 : 3 et 1 : 4). Pour ce faire, une quantité requise de Px a été mise en suspension dans 10 ml d'une solution aqueuse de β -CD. Pour solubiliser le principe actif, une solution de NaOH à 0,1 N a été ajoutée au mélange. Après dissolution du Px, une solution jaunâtre de pH supérieur à 10 a été obtenue. Les solutions ainsi obtenues ont été lyophilisées dans les conditions opératoires suivantes : vide < 200 mTorr, température du condenseur < - 40 ° C et température du plateau égale à + 30° C.

9.2. Etude sur l'animal

Des lapins blancs de sexe masculin (Nouvelle-Zélande) de poids corporel de 2,5 à 2,8 kg ont été utilisés. Les lapins ont été mis à jeun pendant la nuit avec autorisation de l'administration d'une quantité d'eau à volonté. Le Px et le complexe Px - β -CD ont été administrés sous forme de suspension de méthylcellulose à 2%. Le principe actif Px (10 mg / kg) ou le complexe Px - β -CD (équivalent à 10 mg / kg de Px) a été administré par voie orale à l'aide du tube de Ryle (tube d'intubation). Après administration du médicament, 02 ml d'échantillon de sang ont été prélevés à partir de la veine marginale de l'oreille dans un tube à essai contenant de l'héparine et ce à différents intervalles de temps : 0 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 4 ; 8 ; 12 et 24 heures. Les échantillons ont été ensuite centrifugés à 3000 tours/min pendant 15 min afin de recueillir un volume de 0,12 à 0,15 ml de plasma.

9.3. Méthode de dosage du Piroxicam dans le Plasma du lapin

La concentration du Px dans le plasma a été déterminée par chromatographie à l'aide de l'appareil HPLC « Hewlett-Packard 1050 » (cf. **Figure 17**) dans les conditions opératoires suivantes :

- Phase mobile composée d'un mélange acétonitrile / tampon phosphate 35/65 (v/v) à pH 3,5 ;
- Colonne utilisée « NUCLEOSIL 120-10 (C18, 10 mm) » (fournisseur Merck) ;
- Débit 0,8 ml/min ;
- Temps de rétention 3,5 min ;
- Longueur d'onde 356 nm ;
- Température de la colonne 40 °C ;

- Echantillon ; 200 μ l de méthanol contenant de l'acide perchlorique à 0,2% ont été ajoutés à 100 μ l de plasma refroidi dans un bain de glace. La solution obtenue a été mélangée pendant une minute et centrifugée à 3000 tours/min pendant 5 min, puis 50 μ l du surnageant ont été injectés dans le système HPLC.

La courbe d'étalonnage du Px dans le plasma du lapin a été réalisée à l'aide de dix (10) standards (0,1 à 5 μ g/ml). La représentation graphique est donnée par la **figure 18** en **Annexe 1**.



Figure 17 : Appareil de Chromatographie en phase liquide

9.4. Analyse statistique

L'analyse pharmacocinétique des données de la concentration plasmatique a été réalisée en utilisant le modèle des procédés indépendants. L'aire sous la courbe de concentration plasmatique - temps (ASC) a été calculée. La concentration plasmatique maximale (C_{max}) et le temps nécessaire pour atteindre la concentration maximale (T_{max}) ont été déterminés à partir de la courbe de la concentration plasmatique en fonction du temps pour chaque rapport molaire Px : β -CD étudié. Les comparaisons statistiques des paramètres pharmacocinétiques ont été effectuées en utilisant une analyse de variance à un facteur, et lorsque des différences significatives ont été trouvées, le test F de Scheffe a été appliqué.

Références bibliographiques

- [1] : S. Baboota, R. Khanna, S. P. Agarwal, J. Ali and A. Ahuja, « Cyclodextrins in Drug Delivery Systems : An update », *Pharmainfo.net* vol.1 (2003).
- [2] : Mar Masson, Birna Vigdis Sigurdardóttir, Kristjan Matthisson and Thorsteinn Loftsson, « Investigation of drug – cyclodextrin complexes by a phase – distribution method : some theoretical and practical considerations », *Chem. Pharm. Bull.* 53(8) (2005) 958 – 964.
- [3] : Shyam Shimpi, Bhask Chauhan, Prajakta Shimpi, « Cyclodextrins : application in different routes of drug administration », *Acta Pharma.* 55 (2005) 139-156.
- [4] : Rebecca L. Carrier, Lee A. Miller, Imran Ahmed, « The utility of cyclodextrins for enhancing oral bioavailability », *Journal of Controlled Release* 123 (2007) 87 – 99.
- [5] : Marcus E. Brewster, Thorsteinn Loftsson, « Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers », *Advanced Drug Delivery Reviews* 59 (2007) 645 – 666.
- [6] : Rajeswari Challa, Alka Ahuja, Javed Ali and R.K. Khar, « Cyclodextrins in Drug Delivery: An Up dated Review », *AAPS PharmaSciTech*, 6 (2) Article 43 (2005) E329 – E357.
- [7] : Bhupendra G. Prajapati and Madhabhai M. Patel, « Conventional and alternative pharmaceutical methods to improve oral bioavailability of lipophilic drugs », *Asian Journal of Pharmaceutics*. Volume 1, Issue 1, April – June (2007) 1 – 8.
- [8] : Lajos Szente, József Szejtli, «Highly soluble cyclodextrin derivatives : chemistry, properties and trends in development», *Advanced Drug Delivery Review* 36 (1999) 17-28.
- [9] : Thorsteinn Loftsson, Mar Masson, « Cyclodextrins in topical drug formulations : theory and practice », *International Journal of Pharmaceutics* 225 (2001) 15-30.
- [10] : Marcus E. Brewster, Thorsteinn Loftsson, « Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers », *Advanced Drug Delivery Review* 59 (2007) 645 – 666.

[11] : Weisse S., thèse de doctorat intitulée « Complexes cyclodextrines / ester de vitamine A: stabilisation, solubilisation et promotion de l'absorption cutanée », Faculté de Pharmacie de Châtenay - Malabry, Université Paris XI (2002) p.236.

[12] : Castagne D., thèse de doctorat intitulée « Etude des interactions entre les cyclodextrines et les membranes liposomales ou biologiques », Faculté de Médecine, Université de Liège (2010) p.141.

[13] : Xin Wang, thèse de doctorat intitulée « Physico-chemical characterization of binary and ternary solid dispersions of itraconazole and indomethacin », Faculté de Pharmacie, Université de Leuven (2007) p.15.

[14] : Sengodan Gurusamy, Vijaya Kumar and Dina Nath Mishra, « Preparation, characterization and *in vitro* dissolution studies of solid dispersion of meloxicam with PEG 6000 », the Pharmaceutical Society of Japan 126 (8) (2006) 657 - 664.

[15] : Zerrouk Naima, Chemtob Chautal, Arnaud Philippe, Toscani Siro, Dugue Jerome, « *In vitro* and *in vivo* evaluation of carbamazepine - PEG 6000 solid dispersion », International Journal of Pharmaceutic, 225 (2001) 49 – 62.

[16] : Zerrouk Naima, Toscani Siro, Vines-Dorado Juan-Manuel, Chemtob Chautal, Colin René, Dugué Jerome, « Interaction between carbamazepine and PEG 6000, caracterisation of the physical, solid dispersion and eutectic mixtures », European Journal of Pharmaceutical Sciences 12 (2001) 395–404.

[17] : A. Lehir, J.P. Chaumeil, « Abrégé de pharmacie galénique », 9^{ème} Edition Masson (2008).

[18] : T. Higuchi and K.A. Connors, « Phase solubility techniques », Adv. Anal. Chem. Instrum., Vol. 4 (1965) 117 - 212.

[19] : Thorseinn Loftsson, Mår Måsson, J.F. Sigurjonsdottir, « Methods to enhance the complexation efficiency of cyclodextrins », STP. Pharma. Sci, Vol. 9 (1999) 237-242.

[20] : The United States Pharmacopeial Convention USP 32 – NF 27 (2008).

Partie 1

Influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - CD)

Partie 1 : Influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - CD)

1. Objectif de l'étude

Dans le but d'améliorer la solubilité et la vitesse de dissolution du Piroxicam, nous avons réalisé dans cette étude des recherches sur la possibilité de complexation du Px avec les CDs, dans notre cas, la β -CD et la HP- β -CD. Ainsi, nous avons tout d'abord évalué en solution, l'interaction entre Px et chaque CD (β -CD ou HP- β -CD) en utilisant les diagrammes de solubilité de phase. Ensuite, nous avons préparé les complexes d'inclusion du Px par diverses méthodes ; mélange physique, kneading, co-précipitation, évaporation par solvant, lyophilisation et séchage par pulvérisation (spray drying). Tout ceci, afin de mettre en évidence l'influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - β -CD) ou (Px - HP- β -CD).

2. Résultats et discussion

2.1. Etudes préliminaires

L'étude de l'effet du pH sur la solubilité du Px (**Figure 1A**) montre une influence positive avec l'augmentation de la valeur du pH aussi bien pour le Px seul que pour le Px inclus dans la β -CD. La solubilité la plus élevée du Px a été obtenue au pH 8. En effet, celle-ci est 3 fois meilleure que la solubilité du Px au pH 6 et 12 fois meilleure que celle du complexe d'inclusion au pH 4.

Par conséquent, la présence de cyclodextrine en solution tampon a amélioré d'une manière significative la solubilité du principe actif, en particulier, au pH 4 où nous avons obtenu la meilleure amélioration de la solubilité (7 fois meilleure que celle du Px seul). La solubilité du Px dépend non seulement du pH du milieu mais aussi de la vitesse d'agitation du mélange lors de la préparation du complexe d'inclusion. En effet, elle augmente proportionnellement avec la vitesse d'agitation pour tous les pH étudiés (**Figure 1B**). L'augmentation de la solubilité du Px avec l'augmentation de la vitesse d'agitation peut être expliquée par l'équation Noyes – Whitney [1] où la vitesse de dissolution est inversement proportionnelle à l'épaisseur de la couche limite (h) qui est réduite par agitation dans le récipient de préparation. Enfin, précisons que la solubilité la plus faible a été obtenue au **pH 4**, valeur de pH retenue pour la plupart de nos travaux de recherche.

Partie 1 : Influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - CD)

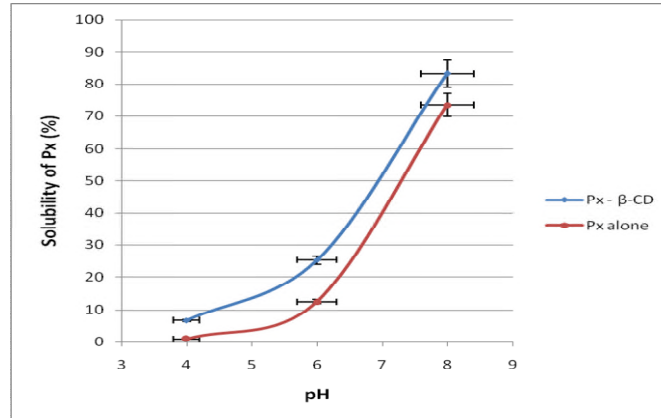


Figure 1A : Effet du pH sur la solubilité du Px seul et du complexe d'inclusion Px - β-CD

*Chaque point représente la moyenne ± SD

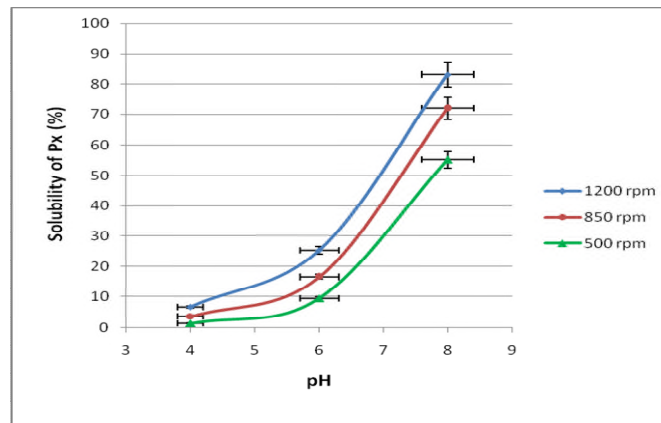


Figure 1B : Effet de la vitesse d'agitation sur la solubilité du complexe d'inclusion Px - β-CD

*Chaque point représente la moyenne ± SD

2.2. Diagrammes de solubilité de phase

Les diagrammes de solubilité de phase du Px dans les solutions aqueuses de β-CD et de HP-β-CD à 37 °C sont illustrés par la **figure 2**. Selon la classification Higuchi et Connors [2], les tracés montrent que les diagrammes de solubilité obtenus sont de type A_L, révélant une augmentation linéaire de la solubilité du principe actif en fonction de l'augmentation de la concentration de CD (β-CD ou HP-β-CD) et indiquant la formation des complexes solubles. La corrélation linéaire hôte-invité avec une pente inférieure à 1 suppose la formation de complexes d'inclusion dont la stœchiométrie équimolaire est égale à 1 : 1 pour Px - β-CD et Px - HP-β-CD.

Les constantes de stabilité apparente (K_s) obtenues à partir de la pente du diagramme de solubilité de phase linéaire sont égales à 0.082 mM⁻¹ pour la β-CD et à 0.124 mM⁻¹ pour la HP-β-CD. Ces résultats indiquent que les complexes Px - CD à 1 : 1 sont suffisamment stables [2]. La valeur de la constante de stabilité observée pour la HP-β-CD indique que le Px interagit plus fortement avec la HP-β-CD qu'avec la β-CD.

Partie 1 : Influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - CD)

Pour évaluer l'effet des cyclodextrines, l'efficacité de solubilisation de la β -CD ou de la HP- β -CD a été déterminée par le rapport de la solubilité du principe actif dans une solution aqueuse de cyclodextrine [16 mM (β -CD) ou 300 mM (HP- β -CD)] sur la solubilité du principe actif dans l'eau distillée. La présence de la HP- β -CD a permis de multiplier par 38 fois la solubilité du piroxicam seul, tandis qu'avec la β -CD, l'augmentation de la solubilité du Px est seulement égale à 2,4 fois.

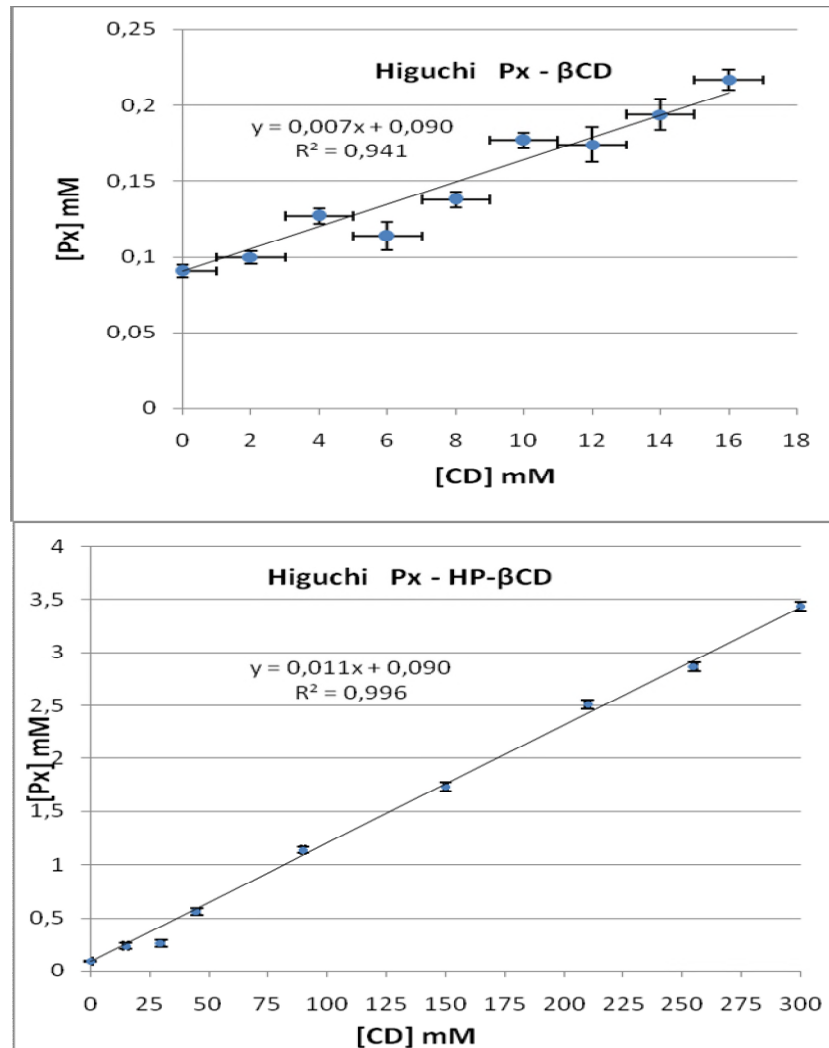


Figure 2 : Diagramme de solubilité de phase des systèmes Px - β -CD et Px - HP- β -CD dans l'eau distillée à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$

*Chaque point représente la moyenne \pm SD

Partie 1 : Influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - CD)

2.3. Dissolution des complexes d'inclusion

Dans la présente étude, les profils de dissolution des complexes d'inclusion solides préparés par différentes méthodes (cf. Photos des échantillons de complexes d'inclusion en **Annexe 2**) ont été évalués au moyen de deux paramètres : le pourcentage du principe actif dissous après 5 min, 30 min et 60 min (DP₅, DP₃₀ et DP₆₀) et le temps de demi-vie de la dissolution (t_{50%}). Les profils et les paramètres de dissolution du Px seul et du Px traité par kneading, par co-précipitation et par évaporation sont illustrés et rapportés dans la **figure 3** et le **tableau 1** respectivement. La DP₅ du produit préparé par évaporation est nettement plus élevée que celles des produits préparés par co-précipitation et par kneading, mais après 30 min, la DP du produit évaporé devient la plus faible, de sorte qu'elle ne dépasse pas celle du Px seul à la fin du test de dissolution. Le traitement du principe actif seul par co-précipitation et par kneading aboutit à une variation positive et significative de ses propriétés de dissolution : 17% pour le co-précipité et 12% pour le produit traité par kneading aux 5 premières minutes de l'essai, puis, 27% pour le co-précipité et 29% pour celui préparé par kneading après une heure de cinétique. Aussi, notons qu'au début de la dissolution, les cinétiques du co-précipité et du produit préparé par kneading (kneaded) sont très proches mais à partir de 60 min d'essai, le kneaded dépasse légèrement le co-précipité.

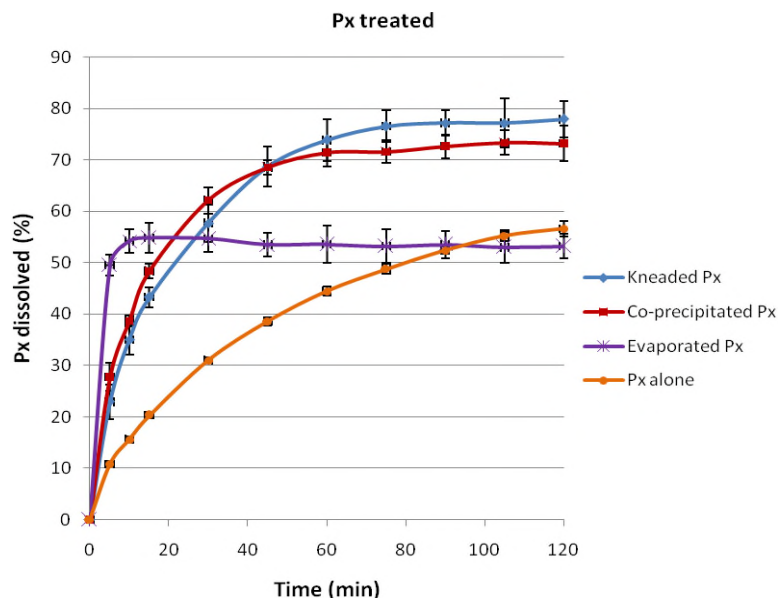


Figure 3 : Profils de dissolution du Px seul et du Px sans CD traité par l'évaporation, la co-précipitation et le kneading dans le tampon citrate sodium (pH = 6,8) à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$

*Chaque point représente la moyenne \pm SD

Partie 1 : Influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - CD)

Tableau 1 : DP₅ (%), DP₃₀ (%), DP₆₀ (%) du Px seul et du Px sans CD traité par le kneading, La co-précipitation et l'évaporation dans le tampon citrate sodium (pH = 6,8) à 37 ± 0,5°C

Echantillon	DP ₅ (%) ¹	DP ₃₀ (%) ¹	DP ₆₀ (%) ¹
Px seul	10,81 ± 0,60	31,01 ± 0,53	44,43 ± 0,41
Kneaded du Px : K	22,91 ^a ± 0,15	57,69 ^a ± 0,13	73,81 ^a ± 0,12
Co-précipité du Px : C	27,74 ^{a,b} ± 0,11	62,11 ^{a,b} ± 0,19	71,40 ^{a,b} ± 0,10
Évaporé du Px : E	49,51 ^{a,b,c} ± 0,23	54,5 ^{a,b,c} ± 0,20	53,50 ^{a,b,c} ± 0,16
Analyse statistique Test ANOVA à un facteur (Intervalle de confiance : 95%)	a : significativement différent du Px seul b : significativement différent de K c : significativement différent de C (p < 0.0001)		

¹ Chaque point représente la moyenne ± SD

Les profils et les paramètres de dissolution du Px seul et des systèmes binaires (Px - β-CD) et (Px - HPβ-CD) sont respectivement représentés sur les **figures (4A et 4B)** et aux **tableaux (2A et 2B)**. Il apparaît clairement que tous les systèmes (Px - β-CD) et (Px - HPβ-CD) préparés présentent un taux de dissolution plus élevé (p < 0,0001) que celui du Px seul. Le temps de demi-vie de la dissolution (t_{50%}) des complexes d'inclusion préparés est nettement plus rapide (t_{50%} < 3 min) que celui du Px seul à l'exception du mélange physique Px - β-CD qui manifeste une valeur intermédiaire (t_{50%} = 29 min).

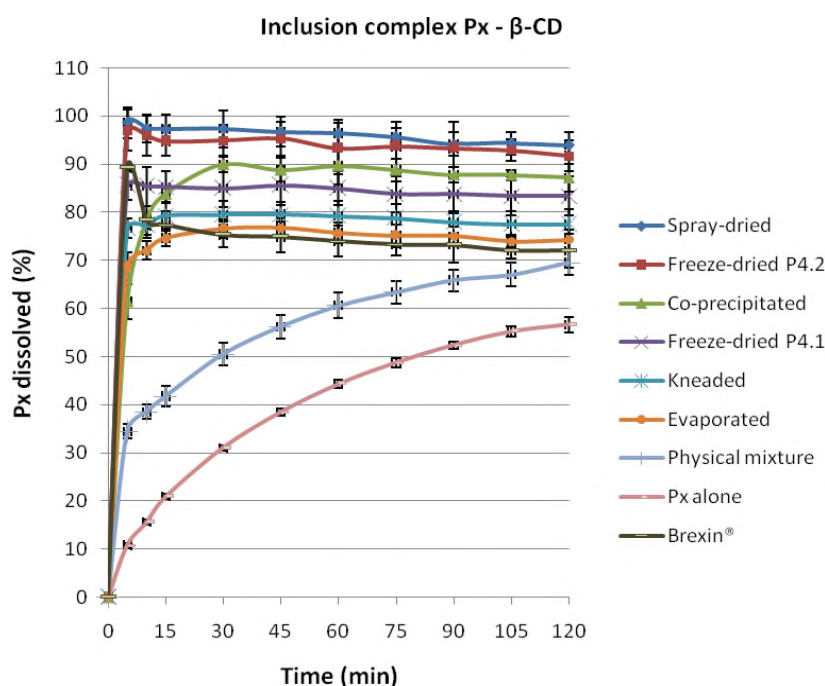


Figure 4A : Profils de dissolution du Px seul et du système (Px – β-CD) dans le tampon citrate sodium (pH = 6,8) à 37 ± 0,5°C

*Chaque point représente la moyenne ± SD

Partie 1 : Influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - CD)

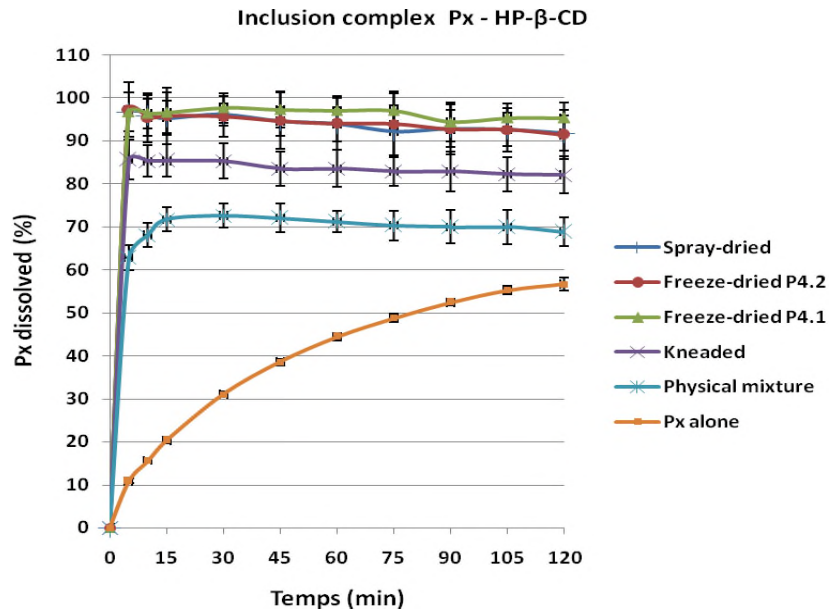


Figure 4B : Profils de dissolution du Px seul et du système (Px – HPβ-CD) dans le tampon citrate sodium (pH = 6,8) à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$

*Chaque point représente la moyenne \pm SD

Compte tenu des valeurs de la DP_5 (**Tableau 2**), le taux de dissolution du Px a été amélioré de 6 à 9 fois dans les complexes d'inclusion et de 3 à 6 fois dans les mélanges physiques préparés avec la β -CD et la HP β -CD. D'après les valeurs de la DP_5 des complexes d'inclusion Px - β -CD (**Tableau 2A**), la meilleure vitesse de dissolution du principe actif a été obtenue par les produits préparés par spray drying (spray-dried) (P5) et par lyophilisation (P4.2) suivis des produits préparés respectivement par lyophilisation (P4.1), kneading, évaporation et co-précipitation. Cependant, après 30 min, le co-précipité devient meilleur que le lyophilisat (P4.1). Par conséquent, après 30 min, l'ordre de classement du pourcentage de principe actif dissout est comme suit ($p < 0,0001$) :

Spray dried > Lyophilisat (P4.2) > Co-précipité > Lyophilisat (P4.1) > Kneaded > Evaporé > Mélange physique

Il convient de noter que le produit commercial Brexin® est plus proche de l'évaporé. Aussi et d'après les données de la dissolution des complexes d'inclusion Px - HP β -CD (**Tableau 2B**), la meilleure vitesse de dissolution a été obtenue pour les produits préparés par spray drying et par lyophilisation. L'ordre de classement du pourcentage du principe actif dissout pendant toute la période de l'essai de dissolution est comme suit ($p < 0,0001$) :

Lyophilisat (P4.1) > Spray dried \approx Lyophilisat (P4.2) > Kneaded > Mélange physique

Partie 1 : Influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - CD)

Il est à souligner que, dans les quinze premières minutes de l'essai de dissolution, le lyophilisat (P4.2) est plus proche aussi bien du produit préparé par spray drying que du lyophilisat (P4.1). Aucune différence significative n'a été trouvée entre le produit préparé par spray drying et le lyophilisat (P4.1) pour la DP₅ ainsi qu'entre le produit préparé par spray drying et le lyophilisat (P4.2) pour la DP₆₀ (cf. **Figure 4B** et **Tableau 2B**).

Tableau 2A : DP₅ (%), DP₃₀ (%), DP₆₀ (%) et t_{50%} (min) du Px seul et des systèmes (Px – β-CD) dans le tampon citrate sodium pH = 6,8 à 37 ± 0,5°C

Echantillon	DP ₅ (%) ¹	DP ₃₀ (%) ¹	DP ₆₀ (%) ¹	t _{50%} (min) ¹
Px seul	10,81 ± 0,60	31,01 ± 0,53	44,43 ± 0,41	80 min
Mélange physique Px-βCD P ₀	34,44 ^a ± 0,55	50,50 ^a ± 0,35	60,63 ^a ± 0,48	29 min
Evaporé Px – βCD P3	68,74 ^{a,b,c,d} ± 0,13	76,59 ^{a,b,c,d} ± 0,18	75,69 ^{a,b,c,d} ± 0,17	< 3 min
kneaded Px – βCD P1	76,67 ^{a,b} ± 0,12	79,46 ^{a,b} ± 0,15	79,23 ^{a,b} ± 0,12	< 3 min
Lyophilisat Px – βCD P4.1	85,55 ^{a,b,c,d,e} ± 0,05	85,00 ^{a,b,c,d,e} ± 0,03	85,00 ^{a,b,c,d,e} ± 0,06	< 3 min
co-precipité Px – βCD P2	61,42 ^{a,b,c} ± 0,13	89,92 ^{a,b,c} ± 0,14	89,68 ^{a,b,c} ± 0,11	< 3 min
Lyophilisat Px – βCD P4.2	96,97 ^{a,b,c,d,e,f} ± 0,05	94,87 ^{a,b,c,d,e,f} ± 0,03	93,28 ^{a,b,c,d,e,f} ± 0,01	< 3 min
spray-dried Px – βCD P5	98,59 ^{a,b,c,d,e,f,g} ± 0,07	97,33 ^{a,b,c,d,e,f,g} ± 0,09	96,40 ^{a,b,c,d,e,f,g} ± 0,04	< 3 min
Brexin®	89,20 ± 0,19	75,30 ^h ± 0,23	74,00 ± 0,21	< 3 min
Analyse statistique Test ANOVA à deux facteurs (Intervalle de confiance : 95%)	a : significativement différent du Px seul b : significativement différent de P ₀ c : significativement différent de P1 d : significativement différent de P2 e : significativement différent de P3 f : significativement différent de P4.1 g : significativement différent de P4.2 h : non- significativement différent de P3 (p < 0.0001)			

¹ Chaque point représente la moyenne ± SD

Partie 1 : Influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - CD)

Tableau 2B : DP₅ (%), DP₃₀ (%), DP₆₀ (%) et t_{50%} (min) du Px seul et des systèmes (Px – HP-βCD) dans le tampon citrate sodium pH = 6,8 à 37 ± 0,5°C

Echantillon	DP ₅ (%) ¹	DP ₃₀ (%) ¹	DP ₆₀ (%) ¹	t _{50%} (min) ¹
Px seul	10,81 ± 0,60	31,01 ± 0,53	44,43 ± 0,41	80 min
Mélange physique Px – HP-βCD P ₀	62,77 ^a ± 0,45	72,57 ^a ± 0,25	71,16 ^a ± 0,27	< 3 min
kneaded Px – HP-βCD P1	85,60 ^{a,b} ± 0,13	85,27 ^{a,b} ± 0,08	83,5 ^{a,b} ± 0,11	< 3 min
Lyophilisat Px – HP-βCD P4.1	96,65 ^{a,b,c} ± 0,09	97,61 ^{a,b,c} ± 0,09	97,00 ^{a,b,c} ± 0,05	< 3 min
Lyophilisat Px – HP-βCD P4.2	97,32 ^{a,b,c} ± 0,06	95,63 ^{a,b,c} ± 0,03	94,01 ^{a,b,c} ± 0,02	< 3 min
spray-dried Px – HP-βCD P5	96,70 ^{a,b,c,d} ± 0,04	96,07 ^{a,b,c} ± 0,07	93,85 ^{a,b,c,e} ± 0,05	< 3 min
Analyse statistique Test ANOVA à deux facteurs (Intervalle de confiance : 95%)	a : significativement différent de Px seul b : significativement différent de P ₀ c : significativement différent de P1 d : non- significativement différent de P4.1 e : non- significativement différent de P4.2 (p < 0.0001)			

¹ Chaque point représente la moyenne ± SD

D'après la **figure 4** et le **tableau 2**, nous pouvons constater que tous les complexes (Px - HPβ-CD) présentent une dissolution plus élevée que celle des complexes (Px - β-CD) à l'exception du lyophilisat (P4.2) et du produit préparé par spray drying. Aucune différence significative n'a été trouvée entre le lyophilisat (P4.2, β-CD) et le lyophilisat (P4.2, HPβ-CD) pour la DP₅, tandis que la quantité dissoute du spray-dried contenant la β-CD est significativement différente du spray-dried contenant la HPβ-CD (p < 0,0001) : le spray-dried (Px - β-CD) est meilleur que le spray-dried (Px - HPβ-CD). Par conséquent, l'ordre de classement global de la vitesse de dissolution des complexes d'inclusion à base de la β-CD et de la HPβ-CD est comme suit (p < 0,0001) :

Spray-dried (β-CD) > Lyophilisat (P4.1, HPβ-CD) > Spray-dried (HP-β-CD) > Lyophilisat (P4.1, β-CD) >
 Kneaded (HPβ- CD) > Kneaded (β-CD) > Mélange physique (HP-β-CD) > Mélange physique (β-CD)

Ces résultats permettent de conclure que le taux de dissolution du Px est dépendant de la méthode de préparation des complexes d'inclusion et du type de CD utilisé puisque le spray-dried et le lyophilisat présentent les taux de dissolution les plus élevés.

L'effet du pH de la formulation du complexe d'inclusion sur les propriétés de dissolution du lyophilisat contenant la β-CD ou la HP-β-CD est respectivement illustré sur les **figures 5A** et **5B**. Il convient de noter que le système (Px - β-CD) préparé au pH 10 a montré une meilleure dissolution du principe actif par rapport à celui préparé au pH 4. Ceci rejoint le résultat de l'étude de l'effet du pH (cf. sous chapitre 2.1) où la solubilité du Px augmente proportionnellement avec la valeur du pH.

Partie 1 : Influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - CD)

Cependant, le complexe d'inclusion à base de la HP- β -CD ne reflète pas les mêmes résultats de la dissolution du Px sachant que la variation du pH n'a pas eu d'effet sur la dissolution du système Px - HP- β -CD, en particulier, **au cours de la première demi-heure de l'essai de dissolution.**

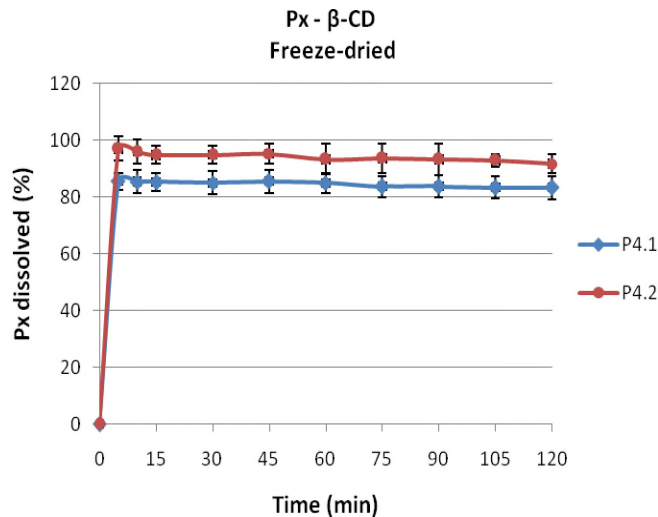


Figure 5A : Effet du pH de la formulation du complexe d'inclusion Px - β -CD sur la dissolution du lyophilisat dans le tampon citrate sodium (pH = 6,8) à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$

*Chaque point représente la moyenne \pm SD

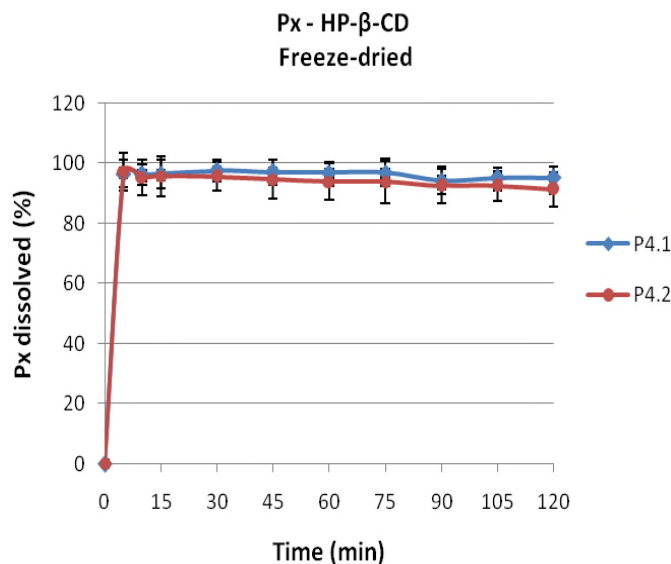


Figure 5B : Effet du pH de la formulation du complexe d'inclusion (Px - HP- β -CD) sur la dissolution du lyophilisat dans le tampon citrate sodium (pH = 6,8) à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$

*Chaque point représente la moyenne \pm SD

Partie 1 : Influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - CD)

Il convient de noter que RC Doijad, MM Kanakal et FV Manvi [3] ont étudié l'effet des variables du procédé sur la dissolution du complexe d'inclusion Px - HP β -CD préparé par co-grinding, kneading (avec de l'éthanol aqueux ou avec une solution aqueuse de l'ammoniac), lyophilisation (solvant utilisé : eau/éthanol 50/50 v/v) et co-évaporation (par l'éthanol ou par l'ammoniaque). Les différentes techniques de préparation du complexe ont révélé avoir une influence sur la vitesse de dissolution. La dissolution du complexe préparé par le procédé de co-évaporation utilisant l'ammoniaque aqueux est meilleure au pH 7,2. Sa DP atteint 97% après deux heures (02), tandis que le produit préparé par lyophilisation aboutit seulement à 93,5% de DP. Prenant en compte le fait que les préparations de nos complexes ont été effectuées dans une solution aqueuse tampon citrate de sodium (pH = 4) et que les profils de dissolution sont obtenus à un pH de 6,8, les résultats rapportés par Doijad RC et al. sont différents par rapport à ceux obtenus dans notre travail, en particulier pour le lyophilisat (P4.1 ou P4.2) et le kneaded.

Dans notre étude, les lyophilisats (P4.1 et P4.2) présentent respectivement 96,65% et 97,32% juste après cinq (05) minutes de dissolution (**Tableau 2B**). Le lyophilisat préparé par Doijad RC et al. atteint seulement 85,1% après 15 min de dissolution. La différence observée dans la DP Px peut être due à la nature du solvant utilisé dans chaque formulation du complexe d'inclusion. Leur étude a montré un effet significatif du solvant de formulation du complexe d'inclusion sur les propriétés de dissolution du Px sachant que le co-évaporé (Px-HP β -CD) dans de l'éthanol n'a pas atteint 52% de DP à 120 min de dissolution.

Une conclusion similaire a été observée pour les produits préparés par kneading avec de l'éthanol ou de l'ammoniaque ; la DP₁₂₀ du produit kneaded avec l'ammoniaque est de 80,33% contre 71,33% pour le produit kneaded avec l'éthanol [3]. La DP du complexe préparé par kneading avec un tampon citrate de sodium (pH = 4) est beaucoup plus élevée (DP₅ = 85,60%, **Tableau 2B**) par rapport à ceux préparés par Doijad RC et al. utilisant le même procédé avec de l'éthanol ou de l'ammoniac aqueux.

En outre, les travaux de recherche de S. Mangal et Jyotsna M Musale [4] ont révélé que les formulations du complexe d'inclusion Px - HP β -CD préparés par kneading, co-évaporation et lyophilisation montrent une augmentation du taux de dissolution par rapport au principe actif seul. Une différence marquée des caractéristiques du complexe solide en termes de la DSC, de la spectroscopie IR et de la chromatographie en couche mince, a été observée pour les différents procédés de préparation.

Partie 1 : Influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - CD)

Dans notre étude et quel que soit la méthode de préparation des complexes d'inclusion solides, l'amélioration significative des caractéristiques de dissolution de ces derniers peut être justifiée par le concours de plusieurs facteurs [5 à 9] :

- Formation d'un complexe d'inclusion facilement soluble dans le milieu de dissolution ;
- Réduction de la tension interfaciale entre le principe actif peu soluble dans l'eau et le milieu de dissolution ;
- Mouillabilité accrue des particules du principe actif ;
- Réduction du degré de cristallinité du produit ;
- Diffusion et dissociation du complexe dans le milieu de dissolution.

L'augmentation de la vitesse de dissolution pour le mélange physique à base de la β -CD ou de la HP β -CD peut être expliquée par la solubilité du principe actif dans les solutions aqueuses de CD. Étant donné que les CDs se dissolvent plus rapidement que le principe actif seul dans le milieu de dissolution, nous pouvons supposer que, dans les premières étapes du processus de dissolution, les molécules de CD sont susceptibles de fonctionner localement sur l'hydrodynamique entourant par la suite les particules du principe actif. Cette action entraîne un processus d'inclusion in situ, ce qui a pour conséquence une dissolution rapide du principe actif [10].

Les meilleures propriétés de dissolution observées pour le système kneaded par rapport au système évaporé peut être due à une meilleure interaction du Px avec la β -CD lors du procédé kneading. Pour le spray-dried et le lyophilisat, la dissolution complète et rapide en présence de la CD (β -CD ou HP β -CD) pourrait également être attribuée à l'état amorphe de haute énergie [11] comme une conséquence des interactions spécifiques (Px - CD) produites par le procédé de préparation. Enfin, la meilleure performance de la HP β -CD par rapport à la β -CD est due à sa solubilité supérieure à celle de la β -CD qui lui offre une plus grande capacité de solubilisation du Piroxicam.

2.4. Caractérisation physicochimique des complexes d'inclusion solides

2.4.1. Spectroscopie Infrarouge à transformée de Fourier (IR-TF)

Les spectres IR-TF des composés purs, des différents complexes (mélange physique, kneaded, co-précipité, évaporé, lyophilisat et spray-dried), le comprimé commercial Brexin® et les échantillons du Px traité sont illustrés sur les **figures 6 à 9** (cf. **Annexe 3**). Le spectre infrarouge du Px (**Fig. 6**) présente des bandes à différentes fréquences. Le premier pic apparaît à **3339 cm⁻¹** représentant les bandes d'élongations des groupes -NH et -OH du Px. Cela nous permet de conclure que la forme du principe actif utilisé dans cette étude est la forme polymorphe cubique sachant que le Px existe sous deux formes cristallines polymorphiques différentes inter convertibles. Leurs spectres IR-TF ne diffèrent que légèrement dans la région de l'empreinte digitale, mais les élongations des groupes -NH et -OH apparaissent à **3338 cm⁻¹** pour la forme cubique et à **3393 cm⁻¹** pour la forme aiguille [12]. En outre, une bande bien définie a été observée à **1630 cm⁻¹** attribuée à la présence de l'élongation de la double liaison du carbonyle d'amide (C = O). D'autres bandes caractéristiques du Px ont été identifiées et attribuées aux élongations de différents groupes tels que l'élongation du groupe SO₂-N à 1150 cm⁻¹ et l'élongation du groupe phényle ortho-di substitué à 773 cm⁻¹ [13].

Les spectres de la β-CD et de la HP-β-CD (**Fig. 6**) montrent de larges bandes dans la région 3600 cm⁻¹ à 3000 cm⁻¹ appartenant aux groupes hydroxyles ainsi que d'autres pics à différentes fréquences : à environ 2900 cm⁻¹ relatifs aux élongations du groupe -CH, à 1636 - 1645 cm⁻¹ représentant les élongations de la double liaison C = C et à 1154 cm⁻¹ appartenant probablement au C-O. Les mélanges physiques du Px avec la CD (β-CD ou HP-β-CD) (**Fig.7** et **Fig.8**) montrent pratiquement une superposition des deux spectres relatifs au principe actif seul et à la CD révélant ainsi l'absence d'une forte interaction chimique entre les deux composés mis en jeu.

En revanche, les spectres IR-TF des complexes Px - β-CD (**Fig. 7**) et Px - HP-β-CD (**Fig. 8**) préparés par différentes techniques d'inclusion (kneading, co-précipitation, évaporation, lyophilisation et spray-drying), présentent des absorptions différentes avec élargissement et décalage de bandes. Notons que les élongations des groupes -NH et -OH du Px ont complètement disparu. Aussi, une diminution significative de l'absorption du groupe carbonyle d'amide (C = O) a été observée. Il a été précédemment décrit que le Px forme des liaisons hydrogène intramoléculaires très stables, reliant le groupe énolique -OH avec le carbonyle d'oxygène, formant ainsi un cycle à six chaînons [14]. Compte tenu de ces fortes interactions intra-moléculaires, il y a tout lieu de penser à la formation de liaisons hydrogène entre le groupe carbonyle du Px et le groupe hydroxyle de la cavité de la molécule hôte ; la β-CD ou la HPβ-CD.

Partie 1 : Influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - CD)

2.4.2. Calorimétrie différentielle à balayage (DSC) et Analyse thermogravimétrique (ATG)

Les résultats de l'analyse thermogravimétrique (ATG) du Px, de la β -CD, de la HP- β -CD, du Brexin® et des complexes d'inclusion préparés par différents procédés sont présentés sur les **figures 10 - 12** (cf. **Annexe 3**). Les pertes de masse de la ATG à l'intervalle 30°C - 100 °C sont presque égales à 12% (w / w) pour la β -CD et à 5% pour la HP- β -CD (cf. **Fig. 10**). Celles-ci sont dues à l'évaporation de l'eau faiblement liée, tandis qu'aux températures plus élevées, la perte de masse provient de la décomposition de l'échantillon [15].

La **Figure 13** illustre les courbes DSC de tous les composés purs utilisés dans notre travail (Px, β -CD et HP- β -CD). Le profil de la DSC des CDs montre un large pic endothermique à environ **170-175 °C**, qui est probablement dû à une transition vitreuse pour la cyclodextrine cristalline (β -CD). Un pic endothermique fin correspondant au point de fusion du Px cristallin a été observé à **205,54°C** (Onset = 201,56 °C, $\Delta H = 133,67$ j/g) (**Fig.13**, cf. **Annexe 3**), accompagné de 89% de perte en masse (**Fig. 10**). Le profil DSC du Px indique la présence d'une forme cristalline polymorphe cubique [9]. Ce qui est compatible avec les observations obtenues par FTIR (voir sections 2.4.1).

Les courbes DSC du Brexin® (**Fig. 14**, cf. **Annexe 3**) et des systèmes Px -CD (**Fig. 14 et 15**, cf. **Annexe 3**) préparés par **mélange physique, kneading, co-précipitation, évaporation et lyophilisation (P 4.1)** affichent un large pic endothermique de la CD autour de **170-180 °C**, suivi d'un pic de fusion endothermique à **199-201 °C** typique du Px cristallin. L'intégration de ce pic donne l'enthalpie de fusion du Px cristallin présent dans l'échantillon et par comparaison avec la fusion du principe actif seul, nous déterminons la teneur en Px libre. Les résultats sont mentionnés au **tableau 3** (cf. **Annexe 3**). Ils représentent la moyenne de trois essais.

Le pic endothermique du Px dans ces complexes peut encore supposer la présence de quelques cristaux du principe actif dans la préparation. Cependant, cet effet thermique apparaît plus élargi et réduit en intensité, ce qui suggère une certaine interaction Px – CD [16]. La fusion du Px a été observée à **199-201 °C** pour tous les complexes. Ce décalage mineur du Px de 205,54 °C à 199 - 201 °C et les changements de l'élargissement des pics de la CD pourraient être dus à la formation de complexes d'inclusion. Cependant, les méthodes kneading, co-précipitation, évaporation et lyophilisation (P4.1) ne permettent pas l'encapsulation complète et le Px a été dispersé à l'état libre entre les complexes d'inclusion. La disparition totale de l'effet endothermique du Px pur a été observée pour les complexes préparés par la lyophilisation (P4.2) et le spray-drying aussi bien avec la β -CD qu'avec la HP β -CD. Ceci peut être attribué à la formation d'un produit solide amorphe, ou à l'encapsulation du Px à l'intérieur de la cavité de la CD, ou les deux en même temps [17, 18].

Partie 1 : Influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - CD)

2.4.3. Diffraction des rayons X (DRX)

Les spectres de la DRX obtenus pour les différents constituants Px, β -CD et HP- β -CD ainsi que leurs complexes d'inclusion préparés par mélange physique et kneading sont représentés sur les **figures 16A** et **16B** (cf. **Annexe 3**). Le spectre de diffraction du Px montre une série de pics intenses, indicatifs de sa cristallinité. Approximativement, les spectres de diffraction des mélanges physiques sont la superposition de ceux correspondants aux composés purs, à l'exception du pic à $2\Phi = 8,7^\circ$. Ce comportement a également été observé pour le produit Px - HP- β -CD préparé par kneading (à l'exception du pic à $2\Phi = 44^\circ$). Cependant, le spectre du système Px- β -CD préparé par kneading diffère de celui de son mélange physique et les pics observés sont moins intenses que ceux du principe actif seul.

3. Conclusion

En solution aqueuse, les profils du diagramme de solubilité de phase montrent la formation d'un complexe d'inclusion avec le Px en présence de la β -CD ou de la HP- β -CD. De plus, la solubilité du Px et la constante de stabilité apparente sont significativement augmentées en présence des deux CDs utilisées. En outre, au rapport molaire Px : CD = 1 : 1, la solubilité aqueuse du Px en présence de la β -CD révèle être dépendante du pH dans la plage des valeurs de pH étudiées.

Les cinq (05) techniques d'inclusion utilisées pour la préparation des complexes solides (spray-drying, lyophilisation, co-précipitation, kneading et évaporation) supposent la formation d'un complexe d'inclusion entre Px et β -CD ou Px et HP- β -CD au rapport molaire 1 : 1 avec des propriétés caractéristiques en termes de DSC, TGA, Spectroscopie IR-TF et DRX.

La dissolution du Px est significativement améliorée par la formation du complexe d'inclusion. De plus, l'amélioration du taux de dissolution est dépendante de la méthode utilisée pour la préparation des complexes d'inclusion. Les meilleurs complexes d'inclusion solides ont été obtenus par les procédés de lyophilisation et du spray-drying. Exception faite pour la lyophilisation (P4.2) et le spray drying, les résultats de la cinétique de dissolution montrent que la HP- β -CD a donné lieu à une meilleure amélioration de la dissolution du Px par rapport à la β -CD pour toutes les méthodes de préparation. La lyophilisation (P4.2) manifeste une amélioration de la dissolution semblable avec les deux CDs utilisées et le spray drying donne une cinétique meilleure avec la β -CD.

Partie 1 : Influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - CD)

Enfin et à l'issue de ces résultats qui montrent clairement que la complexation du Px à l'aide de la β -CD ou de la HP- β -CD a conduit à une amélioration du taux de dissolution du médicament, nous pouvons conclure que la formation de complexe d'inclusion PA – CD, dans notre cas, Px- β -CD ou Px- HP- β -CD peut être envisagée dans l'amélioration de la biodisponibilité orale du Px.

4. Références bibliographiques

[1] : Yvonne Perrie and Thomas Rades, «Pharmaceutics - Drug Delivery and targeting», Second edition (2012) Pharmaceutical Press.

[2] : T. Higuchi and K.A. Connors, «Phase solubility techniques», Adv. Anal. Chem. Instrum. 4 (1965) 117 - 212.

[3] : RC Doijad, MM Kanakal, FV Manvi, «Effect of processing variables on dissolution and solubility of piroxicam: Hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complexes», Indian Journal of Pharmaceutical Sciences 69 (2) (2007) 323 - 326.

[4] : S. Mangal, Jyotsna M Musale, «Influence of hydroxypropyl b-Cyclodextrin on dissolution of piroxicam and on irritation to stomach of rats upon oral administration», Indian Journal of Pharmaceutical Sciences 59 (4) (1997) 174 - 180.

[5] : S. Ismail, «Interaction of Anti-convulsant drugs with alpha- and beta-cyclodextrins. I: Methsumide», STP Pharm. Sci. 1 (1991) 321 - 325.

[6] : A.H. Goldberg, M. Gribaldi, J.L. Kanig, M. Myersohn, «Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs. IV: chloramphenicol - urea system», Journal of Pharmaceutical Sciences 55 (1966) 1205 - 1211.

[7] : M. Donbrow, E. Touitou, «Estimation of dissolution rate of salicyclamide in complexing media using a theoretical diffusion models», Journal of Pharmaceutical Sciences 67 (1978) 95 - 98.

[8] : K. Uekama, S. Narisawa, F. Hiriyama, M. Otagiri, «Improvement of dissolution and absorption characteristics of benzodiazepines by cyclodextrin complexation», Int. J. Pharm. 6 (1983) 327 -338.

Partie 1 : Influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du complexe d'inclusion (Px - CD)

- [9]: RB. Gandhi, AH. Karara, «Characterization, dissolution and diffusion properties of tolbutamide- β -cyclodextrin complex system», *Drug Dev. Ind. Pharm.* 14 (1988) 657 - 682.
- [10]: OI. Corrigan, T. Stanley, «Mechanism of drug dissolution rate enhancement from β -cyclodextrin drug systems», *J Pharm Pharmacol* 34 (1982) 621 - 626.
- [11]: N. Erden, N. Celebi, «A study of inclusion complex of naproxen with β -cyclodextrin», *Int. J. Pharm.* 48 (1988) 83-89.
- [12]: Mauro Banchero, Luigi Manna, «Investigation of the piroxicam/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complexation by means of a supercritical solvent in the presence of auxiliary agents», *Journal of Supercritical Fluids* 57 (2011) 259 - 266.
- [13]: M. Jug, M. Becirevic-Lacan, A. Kwokal, B. Cetina-Cizmec, «Influence of cyclodextrin complexation on piroxicam: gel formulations», *Acta Pharm.* 55 (2005) 223-236.
- [14]: F. Vrečer, M. Vrbinc, A. Meden, «Characterization of piroxicam crystal modifications», *Int. J. Pharm.* 256 (2003) 3 - 15.
- [15]: G.P. Bettinetti, M. Sorrenti, S. Rossi, F. Ferrari, P. Mura, M.T. Faucci, «Assessment of solid-state interactions of naproxen with amorphous cyclodextrins derivatives by DSC», *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 30 (2002) 1173 - 1179.
- [16]: K. Kim, M. Frank, N. Henderson, «Application of differential scanning calorimetry to the study of solid drug dispersions», *J. Pharm. Sci.* 74 (1985) 283 - 289.
- [17]: H.M. Cabral-Marques, J. Hadgraft, I.W. Kellaway, «Studies of cyclodextrins inclusion complexes. I. The salbutamol-cyclodextrin complex as studied by phase solubility and DSC», *Int. J. Pharm.* 63 (1990) 259 - 266.
- [18]: M. Kurozumi, N. Nambu, T. Nagai, «Inclusion compounds of non-steroidal anti-inflammatory and other slightly water soluble drugs with α and β -cyclodextrins in powdered form», *Chem. Pharm. Bull.* 23 (1975) 3062 - 3068.

Partie 2

***Influence de la nature du solvant
sur les propriétés de dissolution
d'une dispersion solide préparée
par la méthode d'évaporation***

Partie 2 : Influence de la nature du solvant sur les propriétés de dissolution d'une dispersion solide préparée par la méthode d'évaporation

1. Objectif de l'étude

L'objectif de cette étude est de déterminer l'influence de la nature du solvant sur les propriétés de dissolution d'une dispersion solide à base de Px préparée par la méthode d'évaporation. Pour ce faire, deux solvants organiques ; le méthanol et le dichlorométhane et un solvant aqueux ; le tampon citrate de sodium à pH = 4 ont été utilisés en présence d'une matrice hydrophile (β -CD et /ou PEG 6000).

2. Résultats et discussion

Les profils de dissolution des systèmes (Px - β -CD, Px – PEG 6000 et Px - β -CD – PEG 6000) préparés par la méthode d'évaporation du solvant en utilisant un pourcentage massique du PEG 6000 égal à 90% sont respectivement représentés sur les **figures 1, 2 et 3**

2.1. Système Px - β -CD

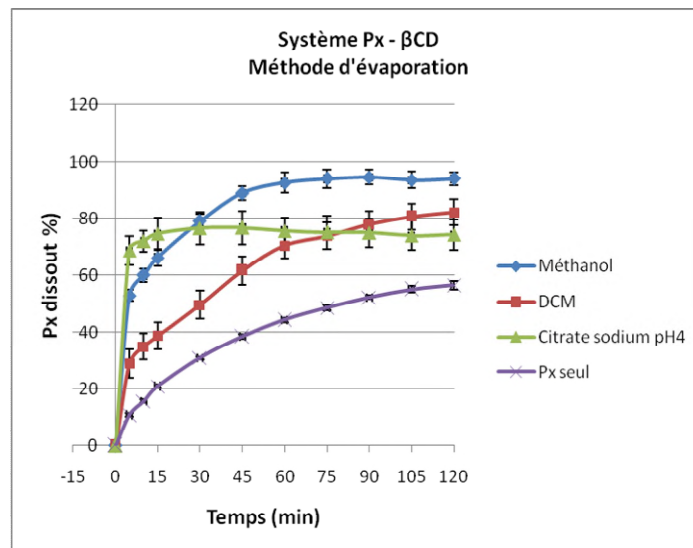


Figure 1 : Cinétique de dissolution du complexe d'inclusion Px- β -CD préparé par la méthode d'évaporation du solvant

D'après les profils de dissolution, le plus élevé pourcentage en Px dissout est obtenu avec le méthanol. Ceci peut être expliqué par l'affinité que manifeste le Px en vers le solvant utilisé. Comme la meilleure affinité notée entre le Px et les différents solvants utilisés est celle du DCM [1, 2], le meilleur pourcentage du Px dissout est donc obtenu avec le solvant organique qui présente le moins d'affinité avec le Px, résultat clairement illustré par les cinétiques de dissolution (**Fig. 1**).

Partie 2 : Influence de la nature du solvant sur les propriétés de dissolution d'une dispersion solide préparée par la méthode d'évaporation

Concernant le complexe d'inclusion préparé à l'aide du solvant aqueux, son taux de dissolution est nettement meilleur par rapport à celui obtenu à l'aide du solvant DCM durant la 1^{ère} heure du test de dissolution. Par contre, à 75 min, ces deux profils de dissolution se rejoignent puis, à partir de 90 min, un effet inverse se produit. Ainsi, l'ordre de solubilisation du système Px-β-CD devient comme suit :

$$(Px - \beta\text{-CD})_{\text{Méthanol}} > (Px - \beta\text{-CD})_{\text{DCM}} > (Px - \beta\text{-CD})_{\text{Citrates de sodium à pH = 4}}$$

La faible solubilité du Px dans le solvant aqueux à base de citrate de sodium à pH 4 [3] a probablement engendré une faible interaction entre les deux constituants du mélange puisque un palier de dissolution vers 75% est atteint dès 15 minutes de cinétique entraînant ainsi une dissolution moins performante par rapport aux autres préparations.

2.2. Système Px – PEG 6000

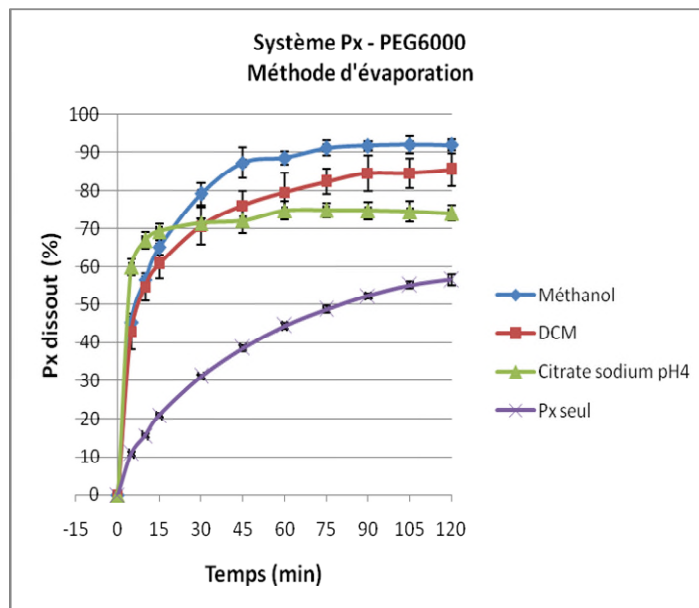


Figure 2 : Cinétique de dissolution de la dispersion solide Px – PEG 6000 préparée par la méthode d'évaporation du solvant

Comme dans le cas du complexe d'inclusion Px-β-CD, les observations relatives à l'allure des courbes du système Px – PEG 6000 montrent que le plus élevé pourcentage du Px dissout est obtenu avec le même solvant (méthanol). L'ordre global de solubilisation du système Px - PEG 6000 est le suivant :

$$(Px - \text{PEG 6000})_{\text{Méthanol}} > (Px - \text{PEG 6000})_{\text{DCM}} > (Px - \text{PEG 6000})_{\text{Citrates de sodium à pH = 4}}$$

Partie 2 : Influence de la nature du solvant sur les propriétés de dissolution d'une dispersion solide préparée par la méthode d'évaporation

Dans le cas du DCM, considéré comme le solvant approprié pour la solubilisation du Px [1], ce dernier montre une affinité le rendant stable en solution lors de sa préparation dans ce solvant. Ce qui entraîne un effet négatif en présence du PEG 6000, autrement dit, une faible interaction entre le Px et le PEG 6000. Par contre, dans le cas du méthanol qui n'est pas le solvant préférentiel du Px, les interactions entre celui-ci et le PEG 6000 permettent l'obtention d'une bonne dispersion solide.

La faible solubilité du Px dans le solvant aqueux à base de citrate de sodium à pH 4 [3] a probablement engendré une interaction négative entre les deux constituants du mélange d'où l'obtention d'une dispersion solide (Px – PEG 6000) moins performante par rapport aux autres préparations.

2.3. Système Px – PEG 6000 - β -CD

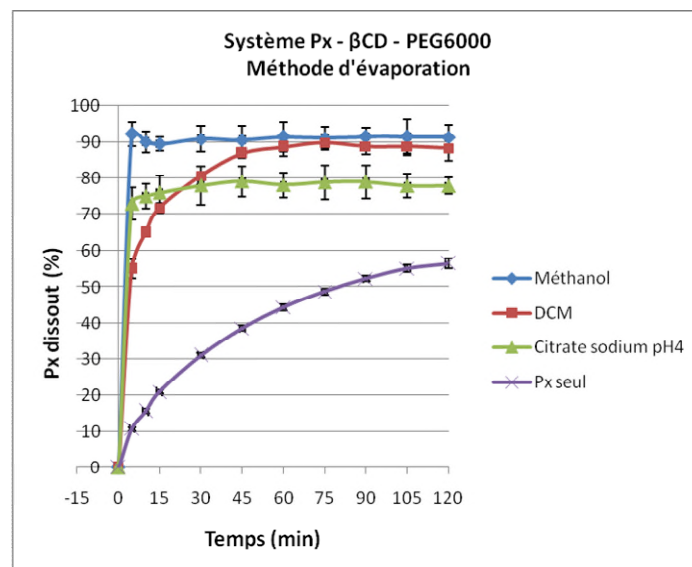


Figure 3 : Cinétique de dissolution de la dispersion solide Px – PEG 6000 - β -CD préparée par la méthode d'évaporation du solvant

Dans le cas du méthanol, la dissolution est instantanée car elle atteint dès les premières cinq (05) minutes 92% en Px dissout. Par contre, pour le DCM, la dissolution augmente progressivement pour atteindre son maximum vers 90 % après 75 minutes de cinétique. L'ordre global de solubilisation du système Px - β -CD – PEG 6000 est comme suit :

(Px - β -CD – PEG 6000) Méthanol > (Px - β -CD – PEG 6000) DCM > (Px - β -CD – PEG 6000) Citrate de sodium à pH = 4

Partie 2 : Influence de la nature du solvant sur les propriétés de dissolution d'une dispersion solide préparée par la méthode d'évaporation

De la même façon que dans le cas des systèmes binaires (Px - β -CD et Px – PEG 6000), les résultats obtenus à l'aide du ternaire Px - β -CD – PEG 6000 peuvent être aussi expliqués par l'affinité du Px pour les différents solvants utilisés. Sachant que le Px est plus soluble dans le DCM que dans le méthanol [1, 2], cela constitue un avantage pour le Px dans le méthanol en présence de la β -CD et du PEG 6000.

D'après Marcus [4], la β -CD ne peut pas former un complexe d'inclusion avec le PEG 6000 car la taille de la cavité de cette CD est relativement large (7Å) pour retenir d'une manière stable la molécule de ce polymère. Ceci donne lieu alors, dans le cas du ternaire, à deux combinaisons possibles : une partie du Px (seul ou mélangé physiquement avec la β -CD) serait dispersée dans le PEG 6000 et l'autre partie se trouverait complexée par la β -CD par l'effet du méthanol et le tout aboutit à un rendement élevé.

Dans le cas du solvant aqueux (citrate tampon pH 4) où le Px est pratiquement insoluble [3], les interactions entre les trois (03) constituants mis en jeu semblent être relativement faibles d'où l'obtention d'une dispersion solide moins performante que celles préparées dans les deux solvants organiques ; le méthanol et le DCM.

3. Conclusion

Les profils de dissolution du Px obtenus à partir des différents systèmes préparés laissent apparaître clairement que la dissolution du Px a été améliorée par la présence de la β -CD ou du PEG 6000, aussi bien dans les systèmes binaires que dans le système ternaire contenant simultanément les deux polymères hydrophiles (teneur massique 90% en PEG 6000). De plus, l'étude montre que le méthanol est le solvant approprié pour la préparation d'une dispersion solide binaire ou ternaire par la méthode d'évaporation.

Partie 2 : Influence de la nature du solvant sur les propriétés de dissolution d'une dispersion solide préparée par la méthode d'évaporation

4. Références bibliographiques

[1] : Pharmacopée Européenne 7^{ème} Edition (2011).

[2] : The United States Pharmacopeial Convention USP 32 – NF 27 (2008).

[3] : Bouchal F., Skiba M., Chaffai N., Fatmi S., Lahiani-Skiba M., «Influence of the preparation method on the dissolution properties of piroxicam-cyclodextrins systems», Letters Drug Design and Discovery, volume 11, N°6 (2014) 786 – 808.

[4] : Marcus A. Hunt, thèse de doctorat intitulée «The role of water in the formation and structure of oligomer / alpha-cyclodextrin inclusion complexes», North Carolina States University (2007) p. 35.

Partie 3

***Etude de l'effet du PEG 6000
sur la complexation et la dissolution
des complexes d'inclusion
Px - β -CD et Px - HP- β -CD***

1. Objectif de l'étude

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'effet du PEG 6000 à faible concentration sur la complexation et la dissolution des complexes d'inclusion Px - β -CD et Px - HP- β -CD préparés par mélange physique et kneading.

2. Résultats et discussion

L'ensemble des complexes d'inclusion préparés ont fait l'objet d'une caractérisation physico-chimique et d'une étude biopharmaceutique.

2.1. Caractérisation physicochimique

2.1.1. Diffraction des rayons X (DRX)

Les spectres de la DRX des différents constituants à savoir : Px, β -CD, HP- β -CD et PEG 6000 ainsi que ceux de leurs systèmes binaires et ternaires préparés par mélange physique et kneading sont représentés sur les **figures 1 à 4**. Notons qu'à l'exception du ternaire mélange physique Px - HP β -CD - PEG (10%), tous les autres spectres correspondants aux systèmes ternaires de chaque CD ne diffèrent pas entre eux aussi bien pour le mélange physique que pour le kneading.

Les spectres DRX des systèmes ternaires à base de β -CD préparés par mélange physique et kneading (cf. **Fig. 1** et **Fig. 2**) se rapprochent de celui du binaire Px- β -CD respectif, d'où la présence probable d'un effet neutre du PEG 6000 à 1%, 2,5%, 5% et 10% sur la cristallinité du Px dans ces systèmes.

Concernant les mélanges physiques à base de HP β -CD (cf. **Fig. 3**), le spectre DRX du ternaire Px - HP β -CD - PEG 6000 à 2,5% est pratiquement similaire à celui du binaire Px - HP β -CD. Par contre le ternaire à 10% présente des pics plus intenses que ceux du binaire et ce dans l'intervalle $2\theta = [19 - 23]$ et à $2\theta = 44$ d'où l'effet négatif probable du PEG 6000 dans ce système ternaire.

Enfin, les spectres DRX des systèmes ternaires à base de HP β -CD préparés par kneading (cf. **Fig.4**) sont similaires à celui du complexe d'inclusion Px - HP β -CD préparé par la même méthode d'où l'effet neutre du PEG 6000 à 2,5%, 5% et 10% dans ces systèmes ternaires.

Partie 3 : Etude de l'effet du PEG 6000 sur la complexation et la dissolution des complexes d'inclusion Px - β -CD et Px - HP- β -CD

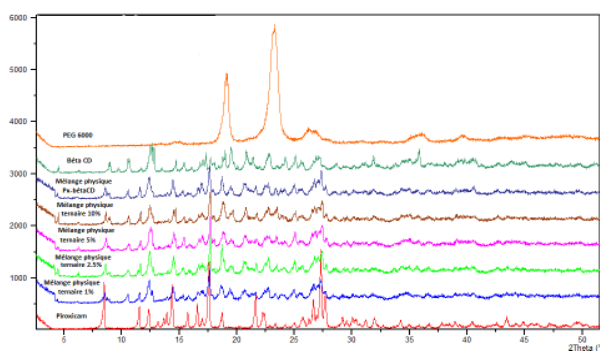


Figure 1 : DRX des systèmes à base de β -CD préparés par mélange physique

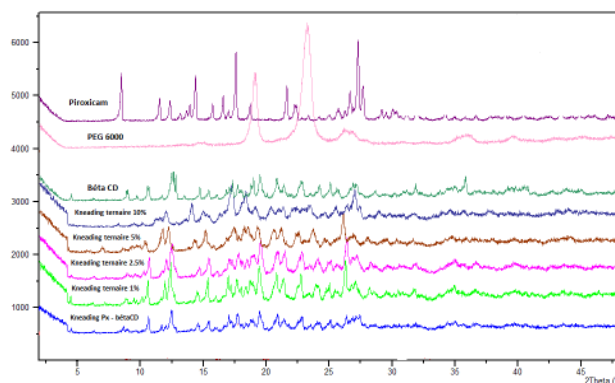


Figure 2 : DRX des systèmes à base de β -CD préparés par Kneading

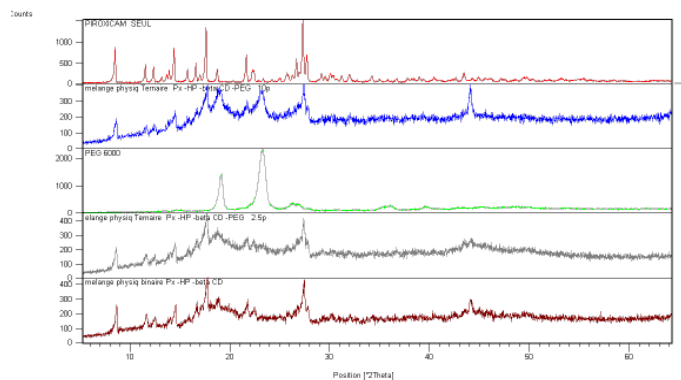


Figure 3 : DRX des systèmes à base de HP β -CD préparés par mélange physique

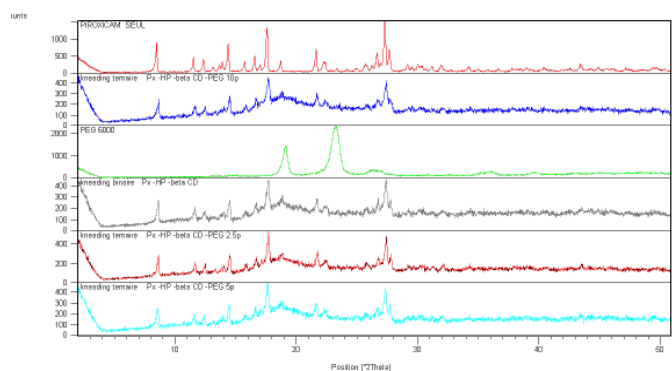


Figure 4 : DRX des systèmes à base de HP β -CD préparés par Kneading

Partie 3 : Etude de l'effet du PEG 6000 sur la complexation et la dissolution des complexes d'inclusion Px - β -CD et Px - HP- β -CD

2.1.2. Calorimétrie à balayage différentiel (DSC)

Les résultats de la caractérisation par la DSC des systèmes (Px - β -CD et Px - β -CD - PEG 6000) préparés par mélange physique et kneading sont représentés sur les figures (5 à 6). Les spectres montrent un pic endothermique de la CD à 170-180°C, suivi du pic de fusion endothermique du Px à 199 – 201°C et d'un pic vers 60°C correspondant au PEG 6000 dans le cas des ternaires. Dans ces systèmes, le pic du Px reflète toujours la présence de l'état cristallin dans les préparations.

Aussi, les spectres DSC montrent que dans le cas des ternaires préparés par mélange physique (**Fig.5**), l'effet thermique du Px apparaît plus réduit en intensité que celui du binaire Px - β -CD. Ceci peut être expliqué par l'effet plus ou moins positif du PEG 6000 dans les mélanges physiques ternaires à 1%, 2.5% et 5% par rapport au binaire. Par contre, dans le cas des systèmes ternaires préparés par kneading (**Fig. 6**), les spectres DSC des ternaires à 1%, 2.5% et 5% sont similaires à celui du binaire Px - β -CD. Ceci permet de conclure un effet neutre du PEG 6000 dans les systèmes ternaires préparés par kneading.

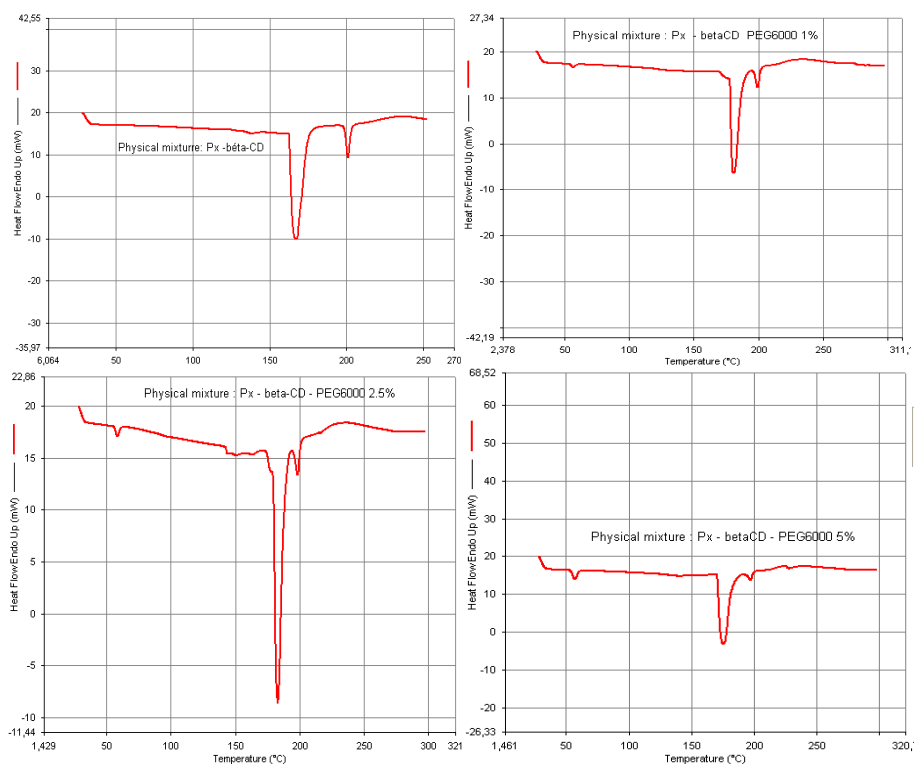


Figure 5 : Spectres DSC du binaire Px - β CD et des ternaires Px- β CD – PEG 6000 à 1%, 2,5% et 5% en PEG 6000 préparés par mélange physique

Partie 3 : Etude de l'effet du PEG 6000 sur la complexation et la dissolution des complexes d'inclusion Px - β -CD et Px - HP- β -CD

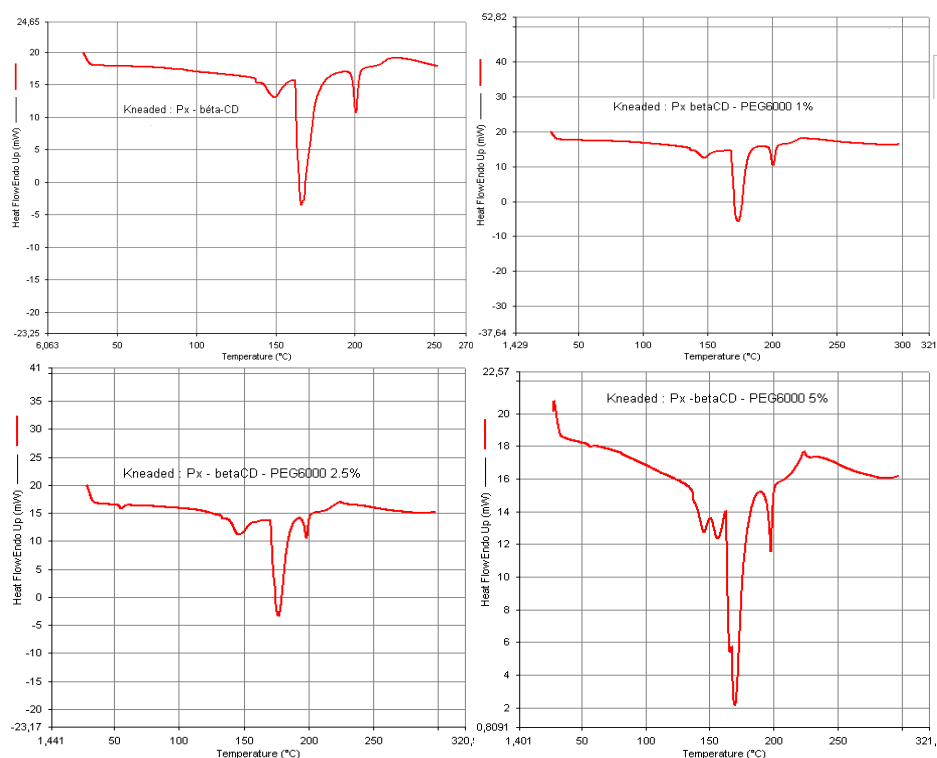


Figure 6 : Spectres DSC du binaire Px - β CD et des ternaires Px - β CD – PEG 6000 à 1%, 2,5% et 5% en PEG 6000 préparés par Kneading

2.1.3. Spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (IR-TF)

L'ensemble des spectres IR-TF des systèmes préparés par mélange physique et kneading est donné par les **figures 7 à 10 (Annexe 4)**. Une similitude des spectres IR-TF entre les systèmes ternaires et le binaire correspondant à chaque CD a été observée aussi bien pour les préparations formulées à l'aide de la β -CD que pour celles formulées avec la HP β -CD. Ceci montre qu'après caractérisation à l'aide de IR-TF et aux concentrations du PEG 6000 utilisées (1%, 2,5%, 5% et 10%), aucune différence significative entre les systèmes binaires et ternaires préparés n'a pu être décelée.

2.2. Dissolution

2.2.1. Profils de dissolution des systèmes β -CD

2.2.1.1. Mélange physique

Les profils de dissolution de la première heure de l'essai (cf. **Fig. 11**) des systèmes ternaires Px - β -CD - PEG 6000 préparés par mélange physique aux différentes concentrations en PEG 6000 (1%, 2,5%, 5% et 10%), laissent apparaître une meilleure cinétique de dissolution du Px par rapport au système binaire Px- β -CD.

Les cinétiques de dissolution des systèmes ternaires à 2,5% et à 5% sont quasi-instantanées puisqu'elles atteignent dès les cinq (05) premières minutes une valeur du Px dissout de l'ordre de 70%. Par contre, les systèmes ternaires à 1% et à 10% ne dépassent les 72% du Px dissout qu'au bout de 60 minutes. Ceci montre, que dans les systèmes ternaires, le taux de dissolution du Px n'est pas directement proportionnel à la concentration du PEG utilisée.

L'interprétation des résultats obtenus pour la première tranche du test de dissolution rejoint celle donnée par la DSC sachant qu'une légère réduction en intensité de l'effet thermique du Px a été observée dans ces systèmes (cf. sous chapitre 2.1.2). Cette amélioration reste tout de même insuffisante puisqu'elle ne dépasse pas les 7% de Px dissout au bout de 60 minutes de dissolution pour le meilleur système ternaire.

A partir de 75 minutes, les profils de dissolution de l'ensemble des systèmes ternaires et binaire se trouvent superposés. Ces résultats sont en accord avec ceux de l'analyse physicochimique (FTIR et DRX) sachant qu'un effet neutre du PEG sur la cristallinité du Px a été observé pour les systèmes ternaires Px - β -CD - PEG 6000 (1%, 2,5%, 5% et 10%) préparés par mélange physique (cf. sous chapitres 2.1.1 et 2.1.3). L'ordre de solubilisation est comme suit :

$\text{Px-}\beta\text{-CD-PEG (5\%)} \geq \text{Px-}\beta\text{-CD-PEG (2,5\%)} \geq \text{Px-}\beta\text{-CD-PEG (10\%)} \geq \text{Px-}\beta\text{-CD-PEG (1\%)} \geq \text{Px-}\beta\text{-CD}$

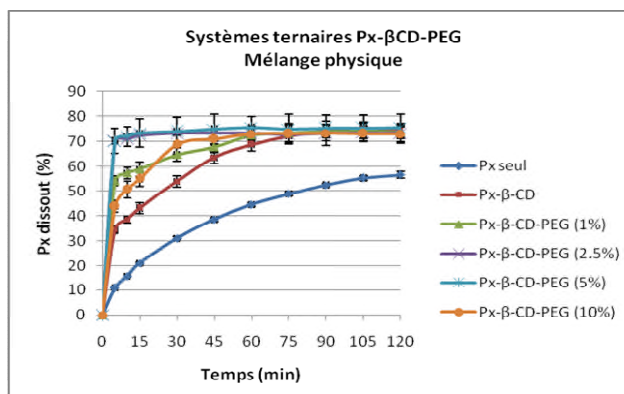


Figure 11 : Cinétique de dissolution du complexe d'inclusion Px- β -CD et des systèmes ternaires Px - β -CD - PEG 6000 préparés par mélange physique

2.2.1.2. Kneading

La cinétique de dissolution des systèmes ternaires Px - β -CD – PEG 6000 préparés par la méthode kneading est instantanée puis qu'elle atteint dès les cinq (05) premières minutes environ 80% en Px dissout pour les systèmes ternaires à 1%, 2,5% et 5% en PEG 6000 et une valeur de 95.74 % pour le système ternaire à 10% en PEG (cf. **Fig. 12**).

Les profils de dissolution de ces systèmes sont similaires à celui du système binaire Px- β -CD d'où l'absence de l'effet du PEG 6000 sur l'amélioration de la cinétique de dissolution dans les systèmes ternaires préparés par la méthode kneading. Résultat clairement illustré par la caractérisation physicochimique DRX, DSC et FTIR cf. sous chapitres 2.1.1, 2.1.2 et 2.1.3). L'ordre de solubilisation est comme suit :

$$\text{Px-}\beta\text{-CD-PEG (1\%)} \approx \text{Px-}\beta\text{-CD-PEG (2,5\%)} \approx \text{Px-}\beta\text{-CD-PEG (5\%)} \approx \text{Px-}\beta\text{-CD-PEG (10\%)} \approx \text{Px-}\beta\text{-CD}$$

L'effet neutre du PEG 6000 aux concentrations 1%, 2,5%, 5% et 10% dans les systèmes ternaires Px - β -CD - PEG 6000 préparés par Kneading peut être expliqué par la présence d'interactions entre le polymère PEG 6000 et la β -CD pouvant conduire à une compétition entre les molécules hôtes pour former des complexes d'inclusion avec la molécule invitée ; le piroxicam.

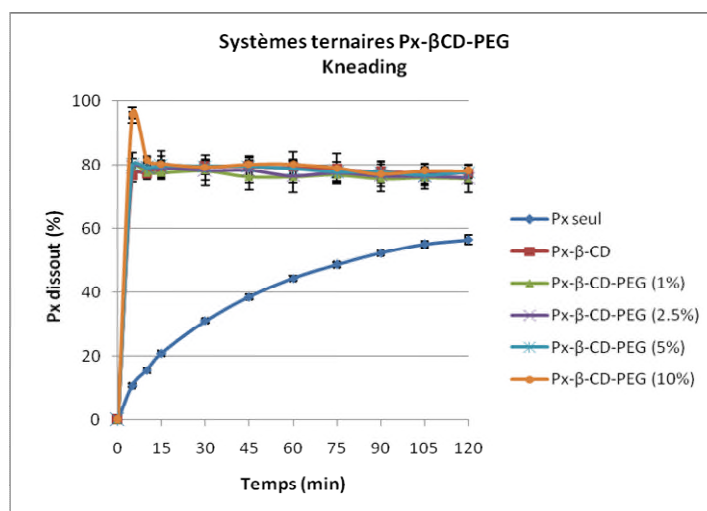


Figure 12 : Cinétique de dissolution du complexe d'inclusion Px - β -CD et des systèmes ternaires Px - β -CD - PEG 6000 préparés par Kneading

2.2.2. Profils de dissolution des systèmes HP- β -CD

2.2.2.1. Mélange physique

L'étude comparative des profils de dissolution des systèmes ternaires Px - HP- β -CD - PEG 6000 et celui du système binaire Px-HP- β -CD (cf. **Fig. 13**) montre que l'utilisation d'une matrice hydrophile (PEG 6000) n'a pas amélioré la cinétique de dissolution du complexe d'inclusion Px-HP- β -CD. En effet, un effet neutre a été observé en présence du PEG 6000 à 2,5% et à 5% (courbes presque superposées) et un effet négatif a été constaté en présence du PEG à 10%. Ces résultats rejoignent parfaitement ceux de la DRX (cf. sous chapitre 2.1.1). L'ordre de solubilisation des différents systèmes préparés par mélange physique est comme suit :

$$\text{Px-HP-}\beta\text{-CD-PEG (5\%)} \geq \text{Px-HP-}\beta\text{-CD-PEG (2,5\%)} \approx \text{Px-HP-}\beta\text{-CD} > \text{Px-HP-}\beta\text{-CD-PEG (10\%)}$$

Partie 3 : Etude de l'effet du PEG 6000 sur la complexation et la dissolution des complexes d'inclusion Px - β -CD et Px - HP- β -CD

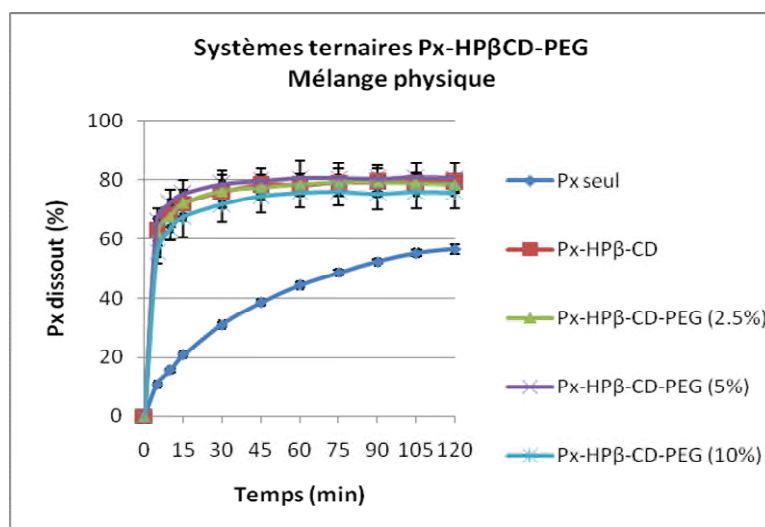


Figure 13 : Cinétique de dissolution du complexe d'inclusion Px - HP β -CD et des systèmes ternaires Px - HP β -CD - PEG 6000 préparés par mélange physique

L'effet négatif du PEG 6000 dans le système ternaire Px-HP- β -CD-PEG (10%) peut s'expliquer de la manière suivante :

- Lixiviation du véhicule à forte proportion lors de la dissolution. Ceci peut entraîner la formation d'une couche concentrée de solution autour des particules du principe actif, réduisant ainsi leur migration dans le milieu de dissolution [1] ;
- Présence d'interactions entre le polymère (PEG 6000) et la HP β -CD pouvant provoquer la formation de polyrotaxanes où plusieurs molécules de CD sont dispersées en polymère linéaire, ce qui réduit la capacité de la HP β -CD à former des complexes d'inclusion avec le Px [2, 3].

Des résultats similaires ont été obtenus par Dutet [4] avec la dispersion solide (Nimésulide - β -CD / HP β -CD - PEG 6000) préparée par la méthode de fusion et par Ammar [5] avec le ternaire (Glimépiride - DM- β -CD - HPMC) préparé par kneading, en utilisant une concentration en polymère égale à 5%, 10% et 20%.

2.2.2.2. Méthode Kneading

L'allure des courbes (cf. **Fig. 14**) montre que la dissolution des différents systèmes préparés par la méthode Kneading est quasi-instantanée, car elle atteint dès les premières 10 minutes un pourcentage du Px dissout variant de 83 à 85 % selon le système préparé. Aussi, les profils de dissolution des systèmes ternaires sont similaires à celui du système binaire Px - HP β -CD. Ceci permet de conclure que l'ajout du PEG 6000 à 2,5%, 5% et 10% n'a pas amélioré la cinétique de dissolution des systèmes ternaires Px - HP β -CD - PEG 6000 préparés par la méthode kneading. Enfin, ces résultats confirment ceux de l'analyse physicochimique DRX et FTIR (cf. sous chapitres 2.1.1 et 2.1.3). L'ordre de solubilisation de ces systèmes est comme suit :

$$\text{Px-HP-}\beta\text{-CD-PEG (5\%)} \approx \text{Px-HP-}\beta\text{-CD-PEG (2,5\%)} \approx \text{Px-HP-}\beta\text{-CD-PEG (10\%)} \approx \text{Px-HP-}\beta\text{-CD}$$

L'absence de l'amélioration de la dissolution des systèmes ternaires Px-HP- β -CD-PEG par rapport au complexe d'inclusion Px-HP- β -CD peut aussi être expliquée par la présence d'interactions entre le polymère PEG 6000 et la HP- β -CD de la même manière que dans le cas des systèmes ternaires Px - β -CD - PEG 6000 préparés par la même méthode.

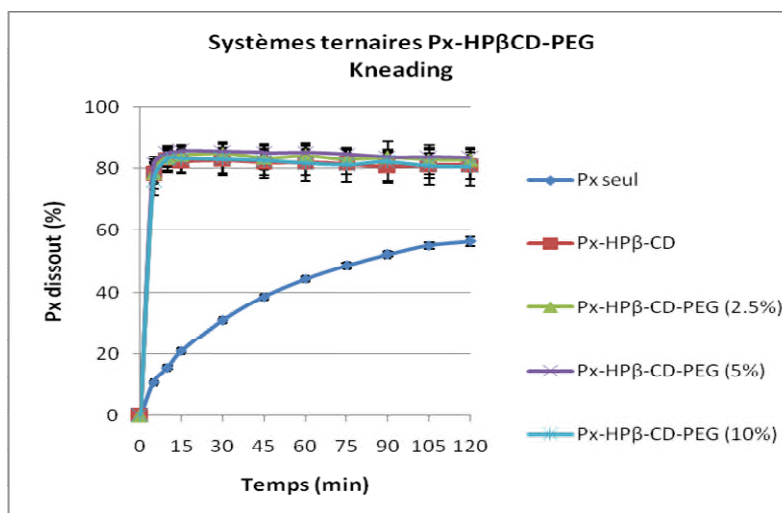


Figure 14 : Cinétique de dissolution du complexe d'inclusion Px - HP β -CD et des systèmes ternaires Px - HP β -CD - PEG 6000 préparés par Kneading

3. Conclusion

En conclusion, les résultats de l'analyse physicochimique (DRX, DSC et IR-TF) et les profils de dissolution des systèmes binaires et ternaires préparés montrent que le PEG 6000 introduit à des concentrations de 1%, 2,5%, 5% et 10% dans les préparations ternaires n'a pas eu d'effet significatif ni sur la complexation ni sur la cinétique de dissolution des complexes d'inclusion Px - β -CD et Px - HP- β -CD. Notons que ce phénomène affecte plus les systèmes contenant la HP β -CD où même un effet négatif a été observé pour le mélange physique ternaire contenant 10% en PEG 6000.

4. Références bibliographiques

[1] : Vikas A Saharan, Vipin Kukkar, Mahesh Kataria, Manoj Gera and Pratim K Choudhury, «Dissolution enhancement of drugs. Part I: Technologies and effect of carriers», International Journal of Health Research, 2(2) (2009) 107 -124.

[2] : H. Fujita, T Ooya, M. Kurisawa, et al. «Thermally switchable polyrotaxane as a model of stimuli-responsive supramolecules for nano-scale devices», Macromol. Rapid Commun., 17 (1996) 509 – 515.

[3] : T. Loftsson, M. E. Brewster, «Cyclodextrins as pharmaceutical excipients », Pharm. Technol. Eu. 9 (1997) 26 -34.

[4] : Julie Dutet, Malika Lahiani-Skiba, Ludovic Didier, Soizic Jezequel, Frederic Bounoure, Cécile Barbot, Philippe Arnaud et Mohamed Skiba, «Nimesulide / cyclodextrin / PEG 6000 ternary complexes : physico-chemical characterization, dissolution studies and bioavailability in rats», Journal Inclusion Phenom. Macrocycl. Chem. 57 (2007) 203 - 209.

[5] : H. O. Ammar, H. A. Salama, M. Ghorab, A. A. Mahmoud, «Inclusion complexation of glimepiride in dimethyl-beta-cyclodextrin», Asian Journal of Pharmaceutical Sciences 2(2) (2007) 44 – 55.

Partie 4

***Préparation d'une dispersion solide
ternaire ultra-soluble à base de Px
dispersé dans un polymère hydrophile
en présence d'une CD***

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

1. Objectif de l'étude

Dans cette partie de notre recherche dont l'objectif est de réaliser selon un procédé simple, rapide et reproductible une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px, nous avons d'une part, évalué l'effet des cyclodextrines (β -CD ou HP β -CD) et du procédé d'inclusion (*spray drying* ou *lyophilisation*) sur la cinétique de dissolution des dispersions solides du Px dans le PEG 6000 et, d'autre part, déterminé l'influence de la méthode de dispersion solide (*évaporation* ou *fusion*) dans le polymère hydrophile ; PEG 6000, sur la cinétique de dissolution du Px. Tout ceci, afin de préparer une formulation en vue d'une administration sublinguale d'un médicament peu soluble dans l'eau tel que le piroxicam.

2. Résultats et discussion

Les dispersions solides binaires et ternaires préparées ont fait l'objet d'une étude biopharmaceutique et d'une caractérisation physicochimique (cf. Photos des échantillons en **Annexe 5**).

2.1. Dissolution in vitro

Les essais de dissolution de tous les systèmes de dispersions solides binaires et ternaires ont été réalisés à différents rapports massiques polymère/Pa (10%, 30%, 50%, 70%, 90% et 95%) et polymère/Pa - CD (50%, 70%, 90% et 95%). Toutefois, il faut souligner que les conditions utilisées pour la dissolution sont très différentes de celles utilisées dans le cas de l'administration sublinguale où le volume de salive est plutôt limité (quelques millilitres). Cette différence de volume est justifiée par la nécessité du maintien des conditions *sink* permettant l'étude de la libération *in vitro* du médicament. Le but de cette étude est de sélectionner une formulation optimale pour une évaluation *in vivo* ultérieure.

Dans notre étude de dissolution *in vitro*, le Px a montré une cinétique lente. Ceci laisse supposer que cette dernière pourrait être une étape limitante pour l'absorption *in vivo*. Les dispersions solides par contre, ont montré une amélioration marquée de la dissolution.

2.1.1. Dispersions solides binaires

Les données de la dissolution ont été évaluées sur la base de pourcentage cumulatif de la libération *in vitro* du principe actif au moyen de deux (02) paramètres : pourcentage du principe actif dissout à 10 min, 30 min et 60 min (DP₁₀, DP₃₀ et DP₆₀) et la demi-vie de la dissolution (t_{50%}).

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

Les données et les profils de dissolution du Px seul et des systèmes binaires préparés par évaporation et par fusion (solidification lente ou rapide) à différents rapports polymère/Pa (10%, 30%, 50%, 70%, 90% et 95%) sont respectivement représentés aux **tableaux 1 et 2** et les **figures 1, 2 et 3**.

Il est clair que la DS binaire affiche des taux de dissolution plus élevés que le principe actif (Px seul). La valeur de $t_{50\%}$ du système binaire solide est beaucoup plus rapide (06 min à 47 min) que celle du Px seul (> 120 min), à l'exception de la DS à 30% de PEG (> 120 min). Le pourcentage moyen de la libération du Pa des *évaporés* à 30 min est de 3,28 (B10), 1,89 (B30), 4,46 (B50), 6,23 (B70), 6,29 (B90), 4,39 (B95) fois plus élevé que celui du Px seul (**Tableau 1**). Le pourcentage moyen de la libération du Pa des *Co-fondus* à 30 min est de 4,74 (B50 / SS), 5,23 (B70 / SS), 6,07 (B90 / SS), 5,64 (B95 / SS), 5,92 (B90 / RS) et 6.00 (B95 / RS) fois plus élevé que celui du Px seul (**Tableau 2**). Compte tenu des valeurs de la DP_{10} (**Tableaux 1 et 2**), l'ordre de classement du pourcentage du Pa dissous est comme suit :

Evaporés	: B90 = B70 > B95 > B50 > B10 > B30 > Px seul
Co-fondus (SS)	: B95/SS > B90/SS > B70/SS > B50/SS > Px seul
Co-fondus (RS)	: B95/RS > B90/RS > Px seul

Il convient de noter que les Co-fondus à 95% de PEG avec solidification lente (B95/SS) et rapide (B95/RS) présentent un profil de dissolution *in vitro* instantané (**Figures 2 et 3**). Pour B95/SS, un maximum du Px dissous a été obtenu au début du test de dissolution (environ 75% à 05 min), mais une diminution allant jusqu'à 67% du taux de dissolution a été observée après 120 min de cinétique. Par conséquent, dans la deuxième heure de l'essai de dissolution, cette DS (B95/SS) est devenue la plus faible (**Fig. 2**).

L'amélioration de la dissolution observée dans ces dispersions solides binaires par rapport au Px seul pourrait être due à la dispersion colloïdale moléculaire du médicament dans la matrice hydrophile du véhicule PEG 6000 et le mélange au niveau moléculaire entre le Px et le polymère [1]. La dissolution du Px de la DS binaire se trouve dépendante de la proportion du polymère/Pa. Une amélioration optimale de celle-ci a été observée à une concentration en polymère de 90% pour les deux méthodes. Cependant, la dissolution de la DS à 70% est tout à fait similaire à celle de la DS à 90% dans le cas du procédé de préparation par évaporation du solvant.

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

Tableau 1 : Données de la dissolution *in vitro* du Px des dispersions solides binaires préparées par évaporation dans l'eau distillée à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$

Echantillon	DP ₁₀ (%) ¹	DP ₃₀ (%) ¹	DP ₆₀ (%) ¹	t ₅₀ (min) ^a
Px seul	8,31 ± 0,60	12,57 ± 0,19	16,23 ± 0,14	> 120 min
Px – PEG 10% : B10	26,71 ^a ± 0,55	41,29 ^a ± 0,35	54,41 ^a ± 0,48	47 min
Px – PEG 30% : B30	14,72 ^{a,b} ± 0,03	23,83 ^{a,b} ± 0,18	33,48 ^{a,b} ± 0,17	> 120 min
Px – PEG 50% : B50	35,68 ^{a,b,c} ± 0,12	56,09 ^{a,b,c} ± 0,15	69,25 ^{a,b,c} ± 0,12	24 min
Px – PEG 70% : B70	57,00 ^{a,b,c,d} ± 0,05	78,31 ^{a,b,c,d} ± 0,03	87,82 ^{a,b,c,d} ± 0,06	06 min
Px – PEG 90% : B90	56,54 ^{a,b,c,d,e} ± 0,13	79,04 ^{a,b,c,d,f} ± 0,14	88,58 ^{a,b,c,d,f} ± 0,11	06 min
Px – PEG 95% : B95	40,88 ^{a,b,c,d,f,g} ± 0,05	55,77 ^{a,b,c,f,g,h} ± 0,03	66,39 ^{a,b,c,d,f,g} ± 0,01	22 min
Analyse statistique Test ANOVA à 2 facteurs (Intervalle de confiance : 95%) ($p < 0.0001$)	a : significativement différent du Px seul b : significativement différent de B10 c : significativement différent de B30 d : significativement différent de B50 e : non- significativement différent de B70 f : significativement différent de B70 g : significativement différent de B90 h : non- significativement différent de B50			

¹ Chaque point représente la moyenne (n = 3)

Tableau 2 : Données de la dissolution *in vitro* du Px des dispersions solides binaires préparées par fusion - solidification dans l'eau distillée à $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$

Echantillon	DP ₁₀ (%) ¹	DP ₃₀ (%) ¹	DP ₆₀ (%) ¹	t ₅₀ (min) ^a
Px seul	8,31 ± 0,60	12,57 ± 0,19	16,23 ± 0,14	> 120 min
Px – PEG 50% : B50/SS	36,95 ^a ± 0,12	59,58 ^a ± 0,15	65,93 ^a ± 0,12	18 min
Px – PEG 70% : B70/SS	47,97 ^{a,b} ± 0,05	65,75 ^{a,b} ± 0,03	73,36 ^{a,b} ± 0,06	11 min
Px – PEG 90% : B90/SS	63,01 ^{a,b,c} ± 0,13	76,37 ^{a,b,c} ± 0,14	75,16 ^{a,b,c} ± 0,11	3 min
Px – PEG 95% : B95/SS	69,80 ^{a,b,c,d} ± 0,05	70,97 ^{a,b,c,d} ± 0,03	68,50 ^{a,b,c,d} ± 0,01	2.5 min
Px – PEG 90% : B90/RS	51,53 ± 0,07	74,48 ± 0,09	76,78 ± 0,04	09 min
Px – PEG 95% : B95/RS	71,74 ^e ± 0,19	75,52 ^h ± 0,23	74,12 ^e ± 0,21	04 min
Analyse statistique Test ANOVA à 2 facteurs (Intervalle de confiance : 95%) ($p < 0.0001$)	a : significativement différent du Px seul b : significativement différent de B50/SS c : significativement différent de B70/SS d : significativement différent de B90/SS e : significativement différent de B90/RS h : non- significativement différent de B90/RS			

¹ Chaque point représente la moyenne (n = 3)

(SS) : solidification lente, (RS) : solidification rapide

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

2.1.2. Dispersions solides ternaires

Les profils de dissolution des systèmes ternaires préparés par évaporation et par fusion (solidification lente ou rapide) à différentes concentrations du PEG (50%, 70%, 90% et 95%) sont respectivement représentés dans les **figures 4, 5 et 6**. Les profils *in vitro* des évaporés ternaires sont tout à fait instantanés pour toutes les concentrations du PEG étudiées (**Fig. 4**), tandis que les Co-fondus ternaires montrent une différence dans leurs profils de dissolution par rapport à ceux des évaporés. La **figure 5** montre pour tous les co-fondus ternaires aux concentrations, 70%, 90% et 95% de PEG, un maximum de Px dissout au bout de 05 min d'essai puis une diminution de la vitesse de dissolution avant d'atteindre le plateau de la courbe, à l'exception des co-fondus ternaires (solidification lente) formulés à l'aide du complexe spray-dried Px - HPβ-CD à 90% et 95% de PEG [T_{HPβCD} 90% Sp (SS) et T_{HPβCD} 95% Sp (SS)] où la dissolution du médicament est incomplète même après 120 min de cinétique.

De même, une diminution très intense a été observée après 05 min de dissolution pour le Co-fondu ternaire (solidification rapide) formulé à l'aide du lyophilisat Px - HPβ-CD à 90% et 95% de PEG [T_{HPβCD} 90% Fr (RS) et T_{HPβCD} 95% Fr (RS)] où le taux de dissolution du Px ne dépasse pas 49% après 120 min de dissolution dans les milieux étudiés (**Fig. 6**).

Cependant, le système Co-fondu ternaire préparé par dispersion du lyophilisat (Px - HPβCD) dans le PEG à 50% [50% T_{HPβCD} Fr (SS)] présente un profil *in vitro* instantané. Ainsi, une dissolution proche de 80% a été enregistrée avec cette dispersion solide (**Fig. 5**).

En outre, les profils de dissolution des dispersions solides ternaires à différents rapports de mélange (50%, 70%, 90% et 95%) montrent une variabilité en fonction du rapport polymère/Pa. Les meilleurs résultats ont été obtenus à 70% et 90% pour le procédé d'évaporation et à 70% pour le procédé de fusion. L'augmentation du taux de dissolution de ces systèmes est selon les **figures 4, 5 et 6** comme suit :

- ✚ Evaporés (βCD, Fr) : $T_{\beta CD} 90\% Fr > T_{\beta CD} 70\% Fr \geq T_{\beta CD} 95\% Fr$
- ✚ Evaporés (βCD, Sp) : $T_{\beta CD} 90\% Sp > T_{\beta CD} 70\% Sp \approx T_{\beta CD} 95\% Sp$
- ✚ Evaporés (HPβCD, Fr) : $T_{HP\beta CD} 90\% Fr \geq T_{HP\beta CD} 70\% Fr > T_{HP\beta CD} 95\% Fr$
- ✚ Evaporés (HPβCD, Sp) : $T_{HP\beta CD} 90\% Sp \approx T_{HP\beta CD} 70\% Sp \approx T_{HP\beta CD} 95\% Sp$
- ✚ Co-fondus (βCD, Fr/SS) : $T_{\beta CD} 70\% Fr (SS) > T_{\beta CD} 90\% Fr (SS) > T_{\beta CD} 95\% Fr (SS)$
- ✚ Co-fondus (βCD, Sp/SS) : $T_{\beta CD} 70\% Sp (SS) > T_{\beta CD} 90\% Sp (SS) > T_{\beta CD} 95\% Sp (SS)$
- ✚ Co-fondus (HPβCD, Fr/SS) : $T_{HP\beta CD} 50\% Fr(SS) > T_{HP\beta CD} 70\% Fr(SS) > T_{HP\beta CD} 90\% Fr(SS) > T_{HP\beta CD} 95\% Fr(SS)$
- ✚ Co-fondus (HPβCD, Sp/SS) : $T_{HP\beta CD} 70\% Sp (SS) > > > T_{HP\beta CD} 90\% Sp (SS) > T_{HP\beta CD} 95\% Sp (SS)$
- ✚ Co-fondus (βCD, Fr/RS) : $T_{\beta CD} 90\% Fr (RS) > T_{\beta CD} 95\% Fr (RS)$
- ✚ Co-fondus (HPβCD, Fr/RS) : $T_{HP\beta CD} 70\% Fr (RS) > > T_{HP\beta CD} 95\% Fr (RS) \geq T_{HP\beta CD} 90\% Fr (RS)$

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

Aussi, notons que pour tous les rapports polymère/Pa étudiés dans les systèmes ternaires (70%, 90% et 95%) contenant le lyophilisat (Px - β CD ou Px - HP- β CD), les Co-fondus avec une solidification lente sont de loin meilleurs que ceux réalisés avec une solidification rapide.

2.1.3. Etude comparative

Afin d'orienter notre recherche vers une formulation pour une administration sublinguale optimale, il nous a semblé intéressant de réaliser une étude comparative du comportement des différents systèmes préparés lors de la dissolution *in vitro*. Pour ce faire, nous avons adopté la démarche suivante :

- Etude comparative des systèmes binaires et ternaires ;
- Etude comparative des méthodes de préparation des dispersions solides (évaporation et fusion) ;
- Etude comparative selon la cyclodextrine (CD) utilisée ; β CD ou HP- β CD.

✚ Etude comparative des systèmes binaires et ternaires

Outre la cinétique du Px seul, pour chaque concentration de PEG 6000 et selon la méthode de préparation des dispersions solides, nous avons représenté sur les **figures 7, 8, 9, 10, 11, 12 et 13** les profils de dissolution des systèmes ternaires (β CD ou la HP- β CD) et celui du binaire correspondant.

- **Méthode d'évaporation** : Les profils de dissolution des systèmes binaires et ternaires préparés par évaporation du solvant sont illustrés par les **figures 7, 8 et 9** correspondantes respectivement au rapport polymère/Pa 70%, 90% et 95%. Les résultats indiquent que la dissolution du Px a été considérablement améliorée dans tous les systèmes évaporés ternaires.

- **Méthode de Fusion** : Les profils de dissolution des systèmes binaires et ternaires préparés par la méthode de fusion sont représentés sur les **figures 10, 11, 12 et 13** correspondantes respectivement au rapport polymère/Pa 50%, 70%, 90% et 95%. Pour le Co-fondu ternaire à 50% et 70% de PEG, l'augmentation de la vitesse de dissolution est plus élevée que les compositions binaires respectives. Cependant, un effet neutre ($T_{\beta CD}$, Sp) ou négatif ($T_{HP\beta CD}$) a été observé pour le Co-fondu ternaire à 90% et 95% de PEG, à l'exception du système Co-fondu ternaire contenant le lyophilisat (Px - β CD). Par conséquent, plus la proportion du polymère (PEG 6000) dans la dispersion solide augmente, plus la vitesse de dissolution diminue, en particulier pour le Co-fondu ternaire contenant la HP- β CD. Cela pourrait être dû au phénomène de recristallisation du PEG 6000 dans les systèmes ternaires quand celui-ci est présent dans la formulation à forte proportion. Ce résultat est l'inverse de celui observé chez le système binaire à l'exclusion du Co-fondu B 95%.

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

✚ Etude comparative des méthodes de préparation des dispersions solides (évaporation et fusion)

L'étude comparative des profils *in vitro* des différents procédés utilisés pour la préparation des systèmes de dispersion solide montrent clairement que le taux de dissolution du Px des dispersions solides binaires et ternaires préparées par la méthode d'évaporation (**Fig. 1 et 4**) est plus élevé que celui des systèmes binaires et ternaires préparés par la méthode de fusion (**Fig. 2-3 et 5-6**). Aussi, il convient de noter que les dispersions solides ternaires produites par la fusion présentent un rendement de dissolution de médicament limité au maximum à 80 - 90% (**Fig. 5 et 6**). Par contre, avec les systèmes ternaires des dispersions solides produites par la méthode d'évaporation, le rendement de dissolution du médicament semble ne pas être limité (meilleure dissolution) (**Fig. 4**).

✚ Etude comparative entre les deux CDs

La comparaison entre les dispersions solides contenant la β -CD ou la HP β -CD a montré un comportement différent entre les deux cyclodextrines dans les systèmes Co-fondus ternaires où, une influence négative de la HP β -CD a été observée à forte proportion en polymère hydrophile (90 et 95%), notamment lorsque le complexe Pa - CD est préparé par spray drying (**Fig. 12 et 13**). La différence observée entre ces deux cyclodextrines pourrait être la conséquence de la constante de stabilité apparente du complexe Px - CD. En effet, cette constante K_s , a été déterminée dans l'un de nos travaux antérieurs ($K_s = 0.082 \text{ mM}^{-1}$ pour la β -CD et $K_s = 0.124 \text{ mM}^{-1}$ pour la HP β -CD) [2].

Dans l'ensemble, pour les dispersions solides ternaires obtenues par la méthode d'évaporation, aucune différence significative n'a été détectée entre les cyclodextrines étudiées ou entre les méthodes d'inclusion (spray drying ou lyophilisation). Pour tous les évaporés ternaires (**Fig. 4**), la totalité du Pa a été dissoute en quelques minutes.

Enfin, les meilleurs résultats de l'étude de dissolution *in vitro* ont été obtenus avec les dispersions solides ternaires préparées par la méthode d'évaporation avec un rapport massique polymère/complexe d'inclusion égal à 70 ou 90% (**Fig. 4**). Pour une administration sublinguale optimale, il est recommandé d'utiliser le PEG 6000 en dispersion solide à la quantité minimale possible autrement dit, dans notre cas, à 70% (m/m) car le PEG à forte proportion présente un effet laxatif.

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

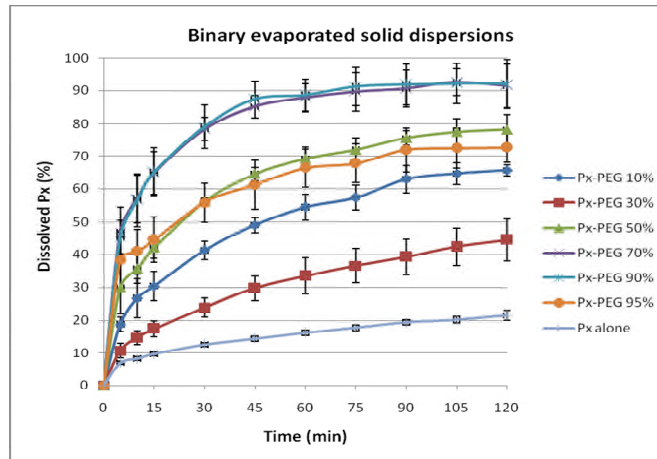


Figure 1 : Dispersions solides binaires préparées par la méthode d'évaporation du solvant

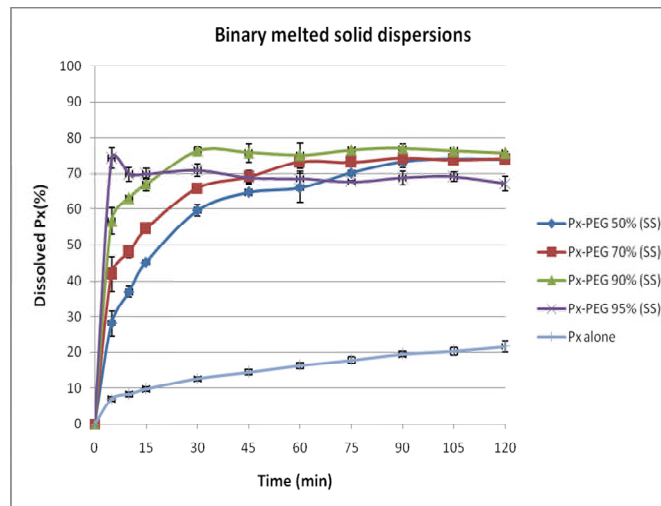


Figure 2 : Dispersions solides binaires préparées par la méthode de fusion
(solidification lente : SS)

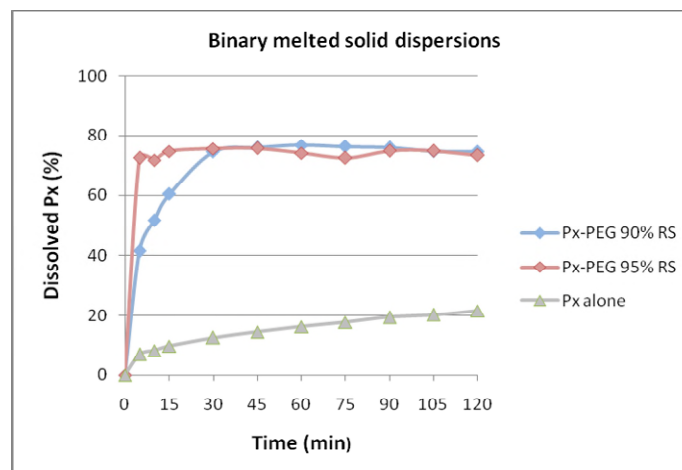


Figure 3 : Dispersions solides binaires préparées par la méthode de fusion
(solidification rapide : RS)

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

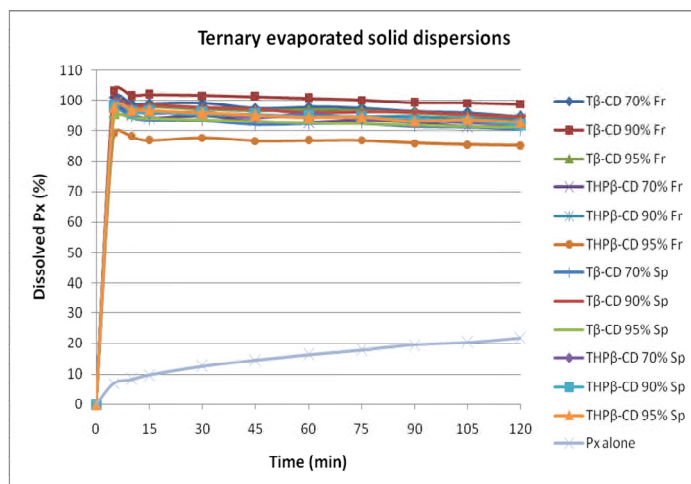


Figure 4 : Dispersions solides ternaires préparées par la méthode d'évaporation du solvant
Fr : lyophilisat, Sp : spray-dried

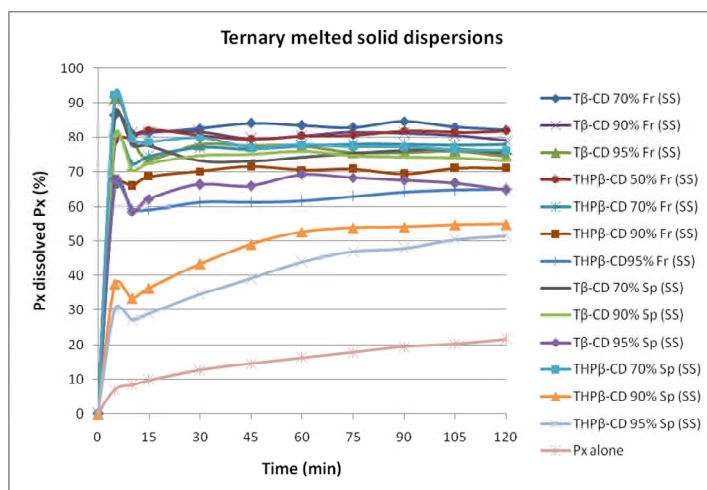


Figure 5 : Dispersions solides ternaires préparées par la méthode de fusion (solidification lente : SS), Fr : lyophilisat, Sp : spray-dried

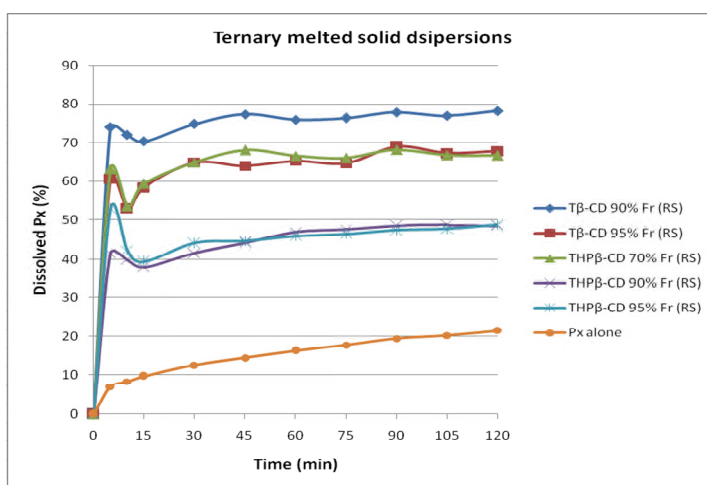


Figure 6 : Dispersions solides ternaires préparées par la méthode de fusion (solidification rapide : RS), Fr : lyophilisat, Sp : spray-dried

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

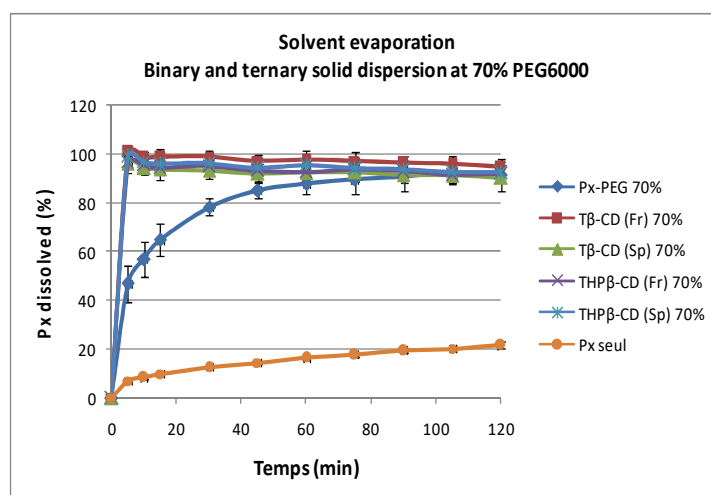


Figure 7 : Dispersions solides de l'évaporé binaire et des évaporés ternaires à 70% de PEG 6000

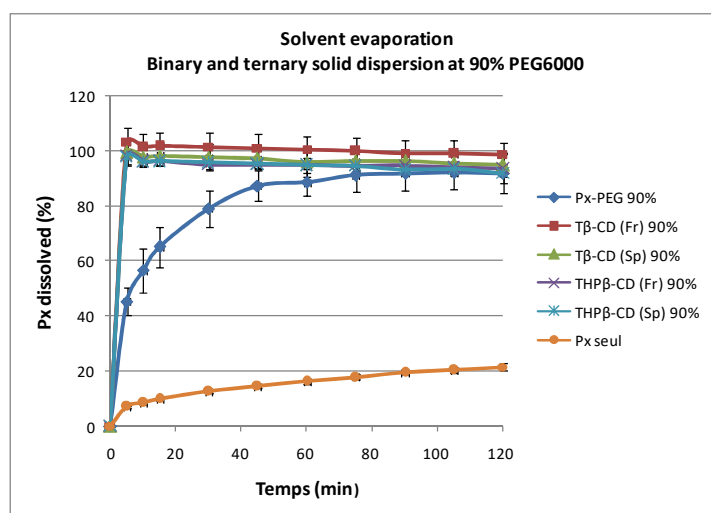


Figure 8 : Dispersions solides de l'évaporé binaire et des évaporés ternaires à 90% de PEG 6000

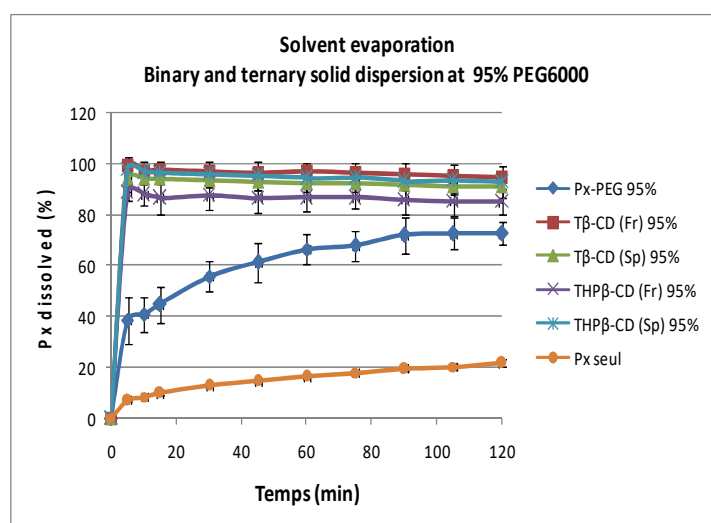


Figure 9 : Dispersions solides de l'évaporé binaire et des évaporés ternaires à 95% de PEG 6000

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

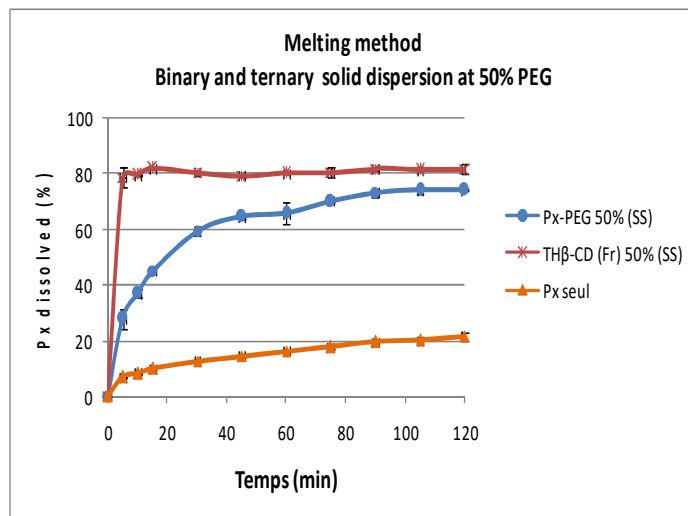


Figure 10 : Dispersions solides du Co-fondu binaire et des Co-fondus ternaires à 50% de PEG 6000

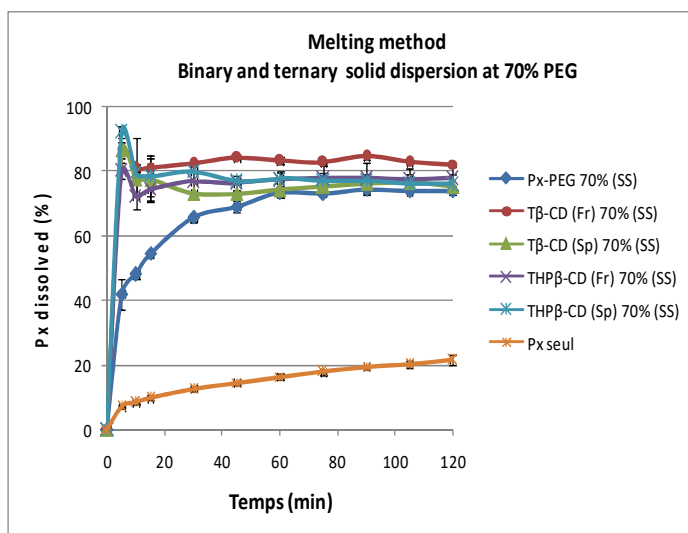


Figure 11 : Dispersions solides du Co-fondu binaire et des Co-fondus ternaires à 70% de PEG 6000

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

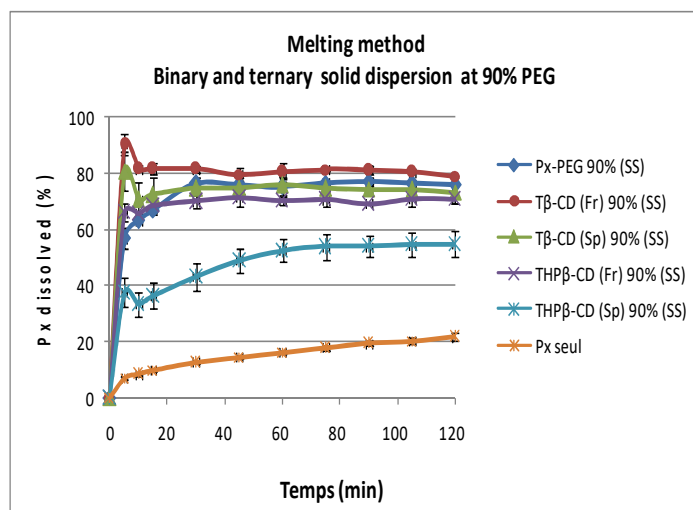


Figure 12 : Dispersions solides du Co-fondu binaire et des Co-fondus ternaires à 90% de PEG 6000

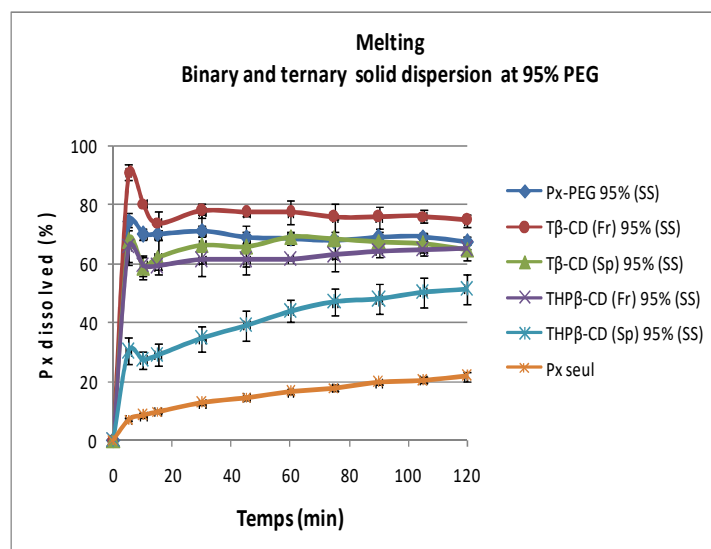


Figure 13 : Dispersions solides du Co-fondu binaire et des Co-fondus ternaires à 95% de PEG 6000

2.2. Caractérisation physicochimique

Les dispersions solides binaires et ternaires préparées ainsi que les substances pures ont fait l'objet d'une caractérisation physicochimique (DSC, TGA et IR-TF).

2.2.1. Calorimétrie différentielle à balayage (DSC)

Les résultats de la DSC des substances pures (Figure 14) et des dispersions solides binaires et ternaires (Figures 15 à 20 en Annexe 6) montrent clairement le pic endothermique spécifique du Px à 205,5 °C en raison de son point de fusion. Le profil DSC du Px indique une forme polymorphe cristalline cubique, qui peut être confirmée par une analyse IR-TF [3].

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

Les courbes de la DSC des dispersions solides binaires préparées par évaporation au rapport massique polymère/Pa 10%, 30%, 50% et 70% (**Fig. 15** en **Annexe 6**) affichent le pic du PEG décalé à 56-67 °C (shift), suivi du pic endothermique de fusion du Px décalé à 176-201 °C (shift). Ces résultats ont été aussi obtenus avec le Co-fondu binaire contenant 50% de PEG 6000 (**Fig. 16** en **Annexe 6**).

Aussi, il a été constaté que plus la proportion du PEG 6000 dans la dispersion solide augmente, plus le shift du pic Px augmente avec une réduction de son intensité (**Tableau 3**). Au contraire, dans le cas du pic de fusion endothermique du PEG 6000, plus la proportion de ce polymère augmente, plus le décalage du pic PEG 6000 diminue avec une augmentation de son intensité (**Tableau 3**).

Comme dans le cas de l'itraconazole, les décalages observés pour les pics du Px et du PEG 6000 sont dus probablement aux interactions entre le principe actif et le polymère [4]. En effet, aux fortes proportions du PEG 6000, nous avons observé une disparition du pic de fusion endothermique du Px dû à son amorphisation, conséquence, des interactions Px – PEG 6000 dans les dispersions solides [5].

Par ailleurs, notons que la quantité du Px sous forme cristalline en fonction de la proportion du PEG 6000 dans les systèmes des dispersions solides binaires a été déterminée par la comparaison de l'enthalpie de fusion du principe actif seul avec chaque échantillon (**Tableau 4**). La valeur de l'enthalpie de fusion a été obtenue pour chaque échantillon par intégration du pic du Px.

Les études de la DSC montrent ainsi l'influence du procédé de la dispersion solide sur la quantité du principe actif sous forme cristalline. Pan et al. [6] ont utilisé dans leur travaux de recherche, le PEG 4000 comme véhicule et n'ont trouvé aucune diminution de la forme cristalline du médicament jusqu' au rapport polymère/Pa égal à 75% (m/m). Ceci indique une influence du degré de polymérisation sur l'interaction véhicule/médicament. Il semble que, plus le degré de polymérisation du véhicule est élevé, plus la probabilité de présence du phénomène d'amorphisation est élevée.

La réduction de la proportion de la forme cristalline du médicament est favorable pour notre application sublinguale, facilitant théoriquement la dissolution du médicament. Cela préconise l'intérêt de l'utilisation du PEG avec un haut degré de polymérisation.

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

Ensuite et afin d'analyser l'influence de la cyclodextrine sur les caractéristiques de la dispersion solide, nous avons comparé les courbes DSC de la dispersion solide binaire avec celles des systèmes ternaires. Les courbes DSC des systèmes ternaires (**Fig. 17 à 20 en Annexe 6**) montrent clairement que le pic de fusion endothermique du Px a complètement disparu. Ce résultat est valable même pour la dispersion solide à 50% de PEG 6000.

En outre, les systèmes de dispersions solides ternaires contenant les cyclodextrines (β -CD et HP- β -CD) ne présentent aucun pic endothermique à environ 170 - 175 ° C correspondant à la transition vitreuse de la β -CD. Ceci montre la formation complète d'un produit solide amorphe unique avec un pic endothermique de fusion proche de celui du PEG 6000 [7, 8]. Enfin et concernant les cyclodextrines, aucune influence du type de la CD (β -CD ou HP- β -CD) ou des méthodes d'inclusion (spray drying ou lyophilisation) n'a été détectée par l'étude DSC.

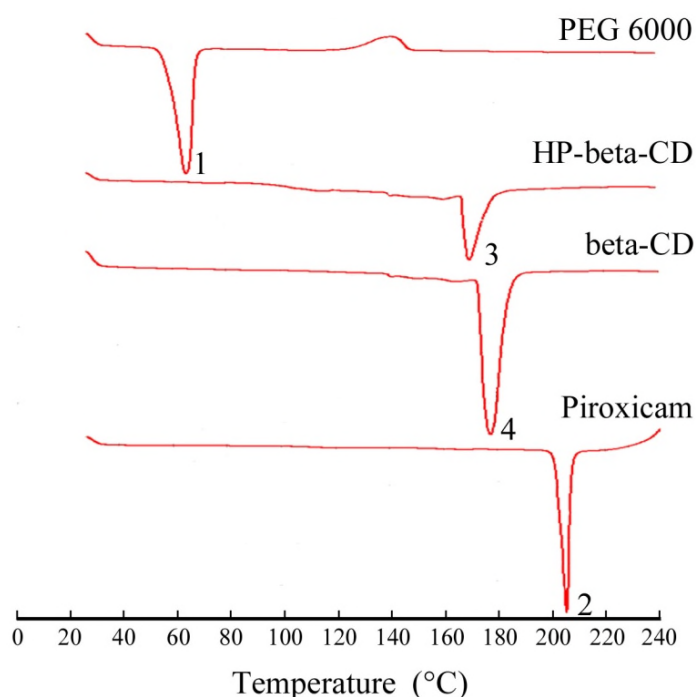


Figure 14 : Courbes DSC du Px, du PEG 6000, de la β -CD et de la HP- β -CD

**Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble
à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD**

Tableau 3 : Caractéristiques thermiques de la dispersion solide binaire (Px – PEG 6000)
à différentes proportions du PEG 6000

PEG % (m/m)	Méthode de préparation de la dispersion solide	T ₁ (PEG 6000)		T ₂ (Px)	
		°C	(%)	°C	(%)
10	Evaporation	60	0,18	201,4	0,82
30	Evaporation	65	0,44	194,7	0,56
50	Evaporation	65	0,77	187,1	0,23
50	Fusion SS	56	0,99	179,6	0,01
70	Evaporation	67	0,99	176,4	0,01
70	Fusion SS	62	100	-	-
90	Evaporation	67	100	-	-
90	Fusion SS	65	100	-	-
90	Fusion RS	65	100	-	-
95	Evaporation	67	100	-	-
95	Fusion SS	65	100	-	-
95	Fusion RS	65	100	-	-

(SS) : solidification lente, (RS) : solidification rapide

Tableau 4 : DSC de la dispersion solide binaire préparée par évaporation ou par fusion
à différentes proportions du PEG 6000

Sample	T onset (°C)	T peak (°C)	ΔH (j/g)	Quantité du Px sous forme cristalline (%)
Piroxicam	201,56	205,54	133,67	100,00
Evaporé B10	196,76	201,36	84,63	63,31
Evaporé B30	184,23	194,68	57,57	43,07
Evaporé B50	183,58	187,09	16,60	12,42
Evaporé B70	171,37	176,42	2,23	1,67
Co-fondu B50 (SS)	179,10	179,60	13,45	10,06

(SS) : solidification lente

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

2.2.2. Analyse thermogravimétrique (« TGA »)

Les résultats de la TGA des composés purs (Px, β -CD, HP- β -CD et de PEG 6000), des dispersions solides binaires et ternaires préparées par évaporation et par fusion à différents rapports polymère/Pa ont montré des pertes de masse TGA dans la gamme 30 - 100 °C, d'environ 12% (m/m) pour la β -CD et d'environ 5% (m/m) pour la HP β -CD (**Fig. 21**). Celles-ci sont dues à l'évaporation de l'eau faiblement liée, ou à la décomposition de l'échantillon aux températures plus élevées [9]. De plus, selon l'analyse TGA, le PEG 6000 et le Px sont les composés de la dispersion solide qui présentent la thermo sensibilité la plus élevée. En effet, ces éléments semblent se déshydrater ou se dégrader à une température supérieure à 250 °C.

Les dispersions solides binaires présentent au début une perte de masse d'environ 10 à 70 % en poids au-dessus de 250 °C, suivie de leur dégradation à une température plus élevée (**Fig. 22**). Cette perte de masse a été réduite avec la proportion du PEG 6000 dans la dispersion solide. Ces résultats indiquent probablement une déshydratation/dégradation du médicament dans les dispersions solides, suivie par celle du polymère plus lente.

Concernant les dispersions solides ternaires, chacune d'elles présente des profils TGA significativement différents de leurs composés démontrant l'acquisition d'une nouvelle substance par ces formulations (**Fig. 22**). Ces formulations semblent donc éviter la déshydratation/dégradation du médicament à 250 °C. Les dispersions solides ternaires empêchent aussi la perte de masse des cyclodextrines à basse température (entre 75 et 100 °C). Cette observation pourrait être le résultat de l'absence du phénomène d'évaporation dû à l'inclusion du Px dans ces cyclodextrines. En effet, l'inclusion de la molécule invitée dans les cyclodextrines induit des molécules d'eau soufflant des cyclodextrines natives.

Pour les complexes Px/ β -CD dispersés dans le PEG 6000, nous n'avons pas relevé de différence significative entre les procédés d'inclusion réalisés par spray drying et par lyophilisation. Avec les complexes Px - HP β -CD, des différences significatives dans les profils de la TGA ont été détectées en particulier, pour les dispersions solides préparées par le procédé de fusion. Aussi, notons que les dispersions solides à base de lyophilisat présentent une perte en masse à plus basse température.

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

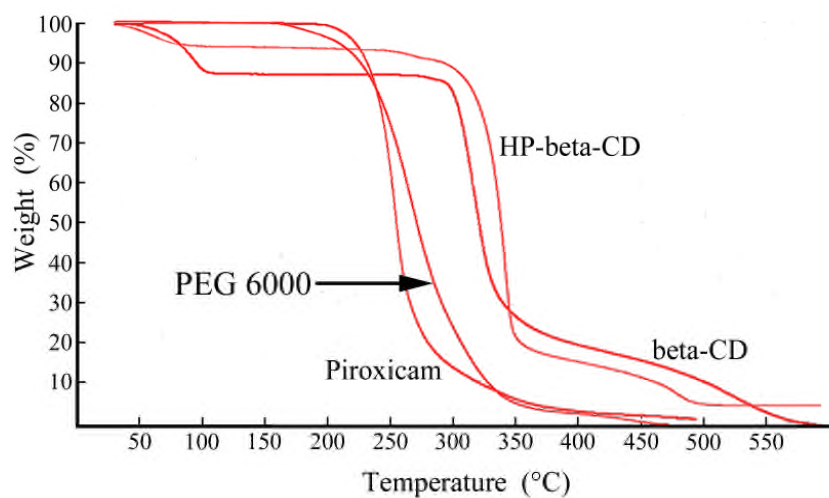


Figure 21 : Courbes TGA du Px, du PEG 6000, de la β -CD et de la HP- β -CD

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

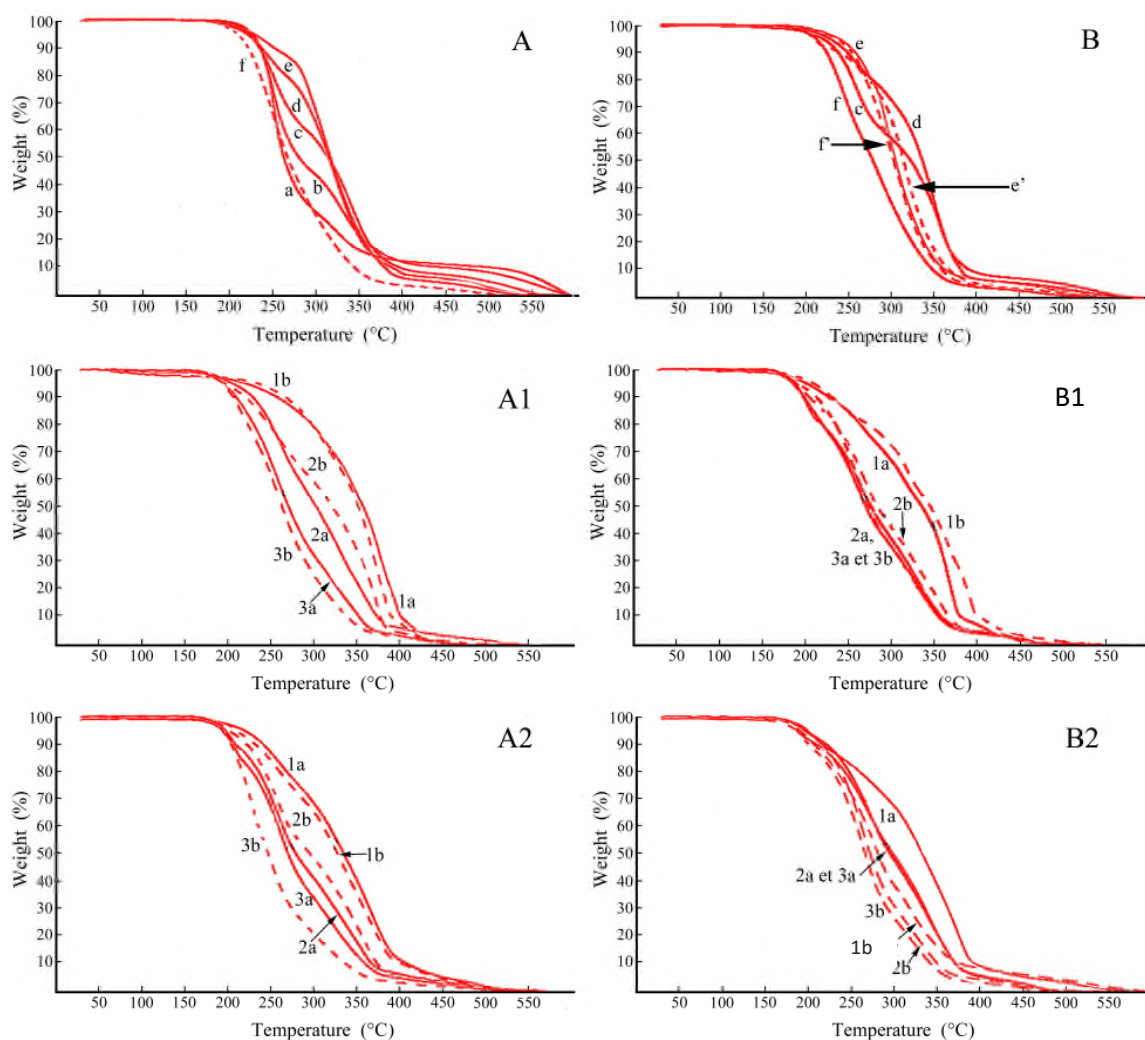


Figure 22 : Courbes TGA des dispersions solides binaires (A et B) et ternaires (A1, A2, B1 et B2) du Px à différentes proportions du PEG 6000

*Systèmes binaires PEG 6000 à [10 (a), 30 (b), 50 (c), 70 (d), 90 (e) et 95 (f) % (m/m)] ;

*Systèmes ternaires PEG 6000 à [70 (1), 90 (2) et 95 (3) % (m/m)].

Par ailleurs et afin de faciliter l'interprétation de la figure 22, précisons les points suivants :

- Ces dispersions sont préparées par la méthode d'évaporation du solvant (A, A1 et A2) ou par la méthode de fusion (B, B1 et B2).
- Dans les systèmes ternaires, avant de procéder à la dispersion dans le polymère, les CD utilisées sont la β -CD (A1 ou B1) ou la HP β -CD (A2 ou B2).
- Le complexe d'inclusion du Px avec les CD est préparé soit par spray-drying (lignes pleines A1, A2, B1 et B2) soit par lyophilisation (pointillés A1, A2, B1 et B2).
- Les Co-fondus binaires sont préparés avec une solidification lente ou rapide (lignes pleines e' et f').
- Toutes les mesures sont réalisées en triple.

2.2.3. Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IR-TF)

Afin de détecter une éventuelle interaction du PEG 6000 avec le Px ou avec les complexes d'inclusion (Px/ β -CD ou Px/HP β -CD), une analyse IR-TF a été réalisée pour les substances pures ainsi que pour les systèmes binaires et ternaires de la dispersion solide. Le spectre IR-TF du Px présente des pics caractéristiques du groupe amide à 3338,94 cm^{-1} et à 1629,94 cm^{-1} dus respectivement aux élongations N-H et C = O (**Fig. 23**). Ce résultat confirme la forme polymorphe cristalline cubique supposée précédemment selon l'analyse DSC du principe actif [10].

Aussi, en augmentant les proportions du PEG 6000 dans la dispersion solide, les spectres IR-TF des systèmes binaires (**Fig. 24** et **Fig. 25** en **Annexe 6**) montrent une réduction progressive de l'intensité du pic du Px accompagnée d'une augmentation de l'intensité de celui du polymère. De plus, aucun décalage des pics caractéristiques du principe actif et du polymère n'a été observé avec la variation de la proportion du polymère de 10%, 30%, 50% et 70% (m/m) dans les évaporés et les Co-fondus. Les résultats obtenus pour ces dispersions solides révèlent l'absence d'une forte interaction entre le principe actif et le polymère.

Néanmoins, il est intéressant de noter deux phénomènes avec les Co-fondus binaires à concentration en PEG 6000 égale à 90% (m/m). Le premier phénomène est la persistance de certains pics caractéristiques dans les spectres de IR-TF des Co-fondus à 90% (m/m) de PEG 6000 par rapport à ceux des évaporés (**Fig. 24** et **Fig. 25** en **Annexe 6**). De plus, l'analyse de la DSC montre l'absence de la forme cristalline du Px dans ces dispersions solides. Ceci suppose que ces Co-fondus présentent une hétérogénéité. Cette dernière semble être la conséquence de la sédimentation du Px lors de la solidification de la dispersion par le procédé de fusion. Un refroidissement rapide du Co fondu du mélange Pa - polymère n'a pas empêché cette hétérogénéité.

Le second phénomène est un léger décalage (shift) du pic du Px de 3338,94 à 3339,76 et à 3342,66 dans les spectres respectifs de ces dispersions solidifiées lentement ou rapidement. Ceci révèle la présence d'interactions entre les composés. Cependant, nous ne pouvons pas conclure pour les évaporés [(90 et 95% (m/m))] et les Co-fondus [(95% (m/m))], parce que les élongations -NH et C = O du Px ont complètement disparu.

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

Enfin, les spectres IR-TF des systèmes ternaires avec la CD (β -CD ou HP- β -CD) préparés par évaporation et par fusion correspondent nettement à celui du composé principal du mélange, c'est-à-dire le PEG 6000 (**Fig. 26 à 29 en Annexe 6**). Par conséquent, les spectres des systèmes ternaires ont été comparés avec ceux des systèmes binaires correspondants. Dans les spectres IR-TF de tous les systèmes ternaires, l'élongation du groupe amide N-H a complètement disparu indiquant une interaction complète entre les CDs et le Px. L'analyse des spectres IR-TF a confirmé l'absence de l'influence de la nature de la CD ou de la méthode d'inclusion (lyophilisation ou spray drying).

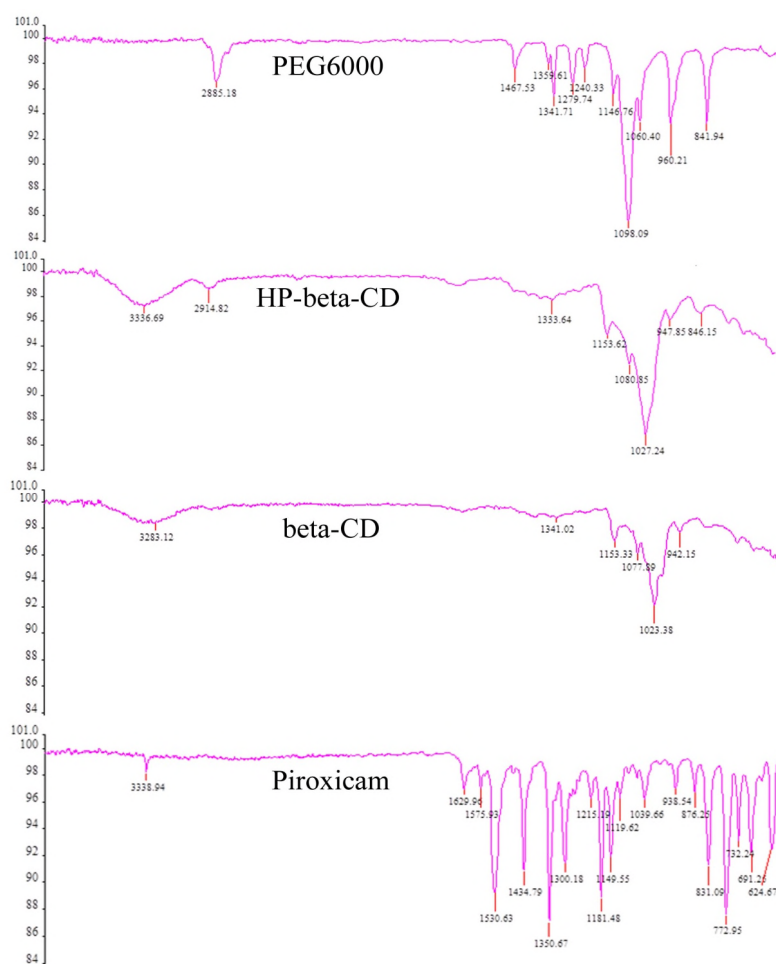


Figure 23 : Spectres IR-TF du Px, du PEG 6000, de la β -CD et de la HP- β -CD

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

3. Conclusion

Rappelons que dans l'administration des médicaments par voie sublinguale, le médicament doit se dissoudre rapidement dans un petit volume de salive. Les résultats de notre recherche ont démontré le fort potentiel et l'intérêt de la préparation de la dispersion solide obtenue avec l'inclusion du principe actif dans des cyclodextrines suivie de sa dispersion dans le PEG 6000, pour la l'administration sublinguale des médicaments hydrophobes.

Cette étude montre également, dans cette application, l'avantage de la méthode d'évaporation par rapport à la méthode par fusion lors de l'étape de dispersion du médicament (Px) dans le polymère hydrophile ; le PEG 6000. En effet, les dispersions solides produites par le procédé d'évaporation sont plus poreuses et la complexation du Pa avec des cyclodextrines empêche la présence du Pa sous forme cristalline dans de telles formulations. Le Pa se trouve donc rapidement et complètement dissous dans un milieu aqueux dans le cas des dispersions solides de complexes d'inclusion du Px que dans celui du Px seul.

Enfin, dans une prochaine étape expérimentale de ce travail et dans le cadre d'études précliniques nous envisageons la réalisation de profils pharmacocinétiques et toxicologiques de ces systèmes d'administration de médicaments.

4. Références bibliographiques

[1] : Bhanubhai N. Suhagia, Hareesh M. Patel, Shailesh A. Shah, Ishwarsinh Rathod, Vijay K. Parmar, Preparation and characterization of etoricoxib-polyethyleneglycol 4000 plus polyvinylpyrrolidone K30 solid dispersions. *Aca. Pharm.* 56 (2006) 285-298.

[2] : Bouchal F., Skiba M., Fatmi S., Chaffai N. & Lahiani-Skiba M., «Influence of the preparation method on the dissolution properties of piroxicam-cyclodextrins systems», *Letters Drug Design and Discovery*, volume 11, N°6 (2014) 786 – 808.

[3] : Vrecer F., Vrbinc M., Meden A., «Characterization of piroxicam crystal modifications», *International Journal Pharm.* 256 (2003) 3 – 15.

Partie 4 : Préparation d'une dispersion solide ternaire ultra-soluble à base de Px dispersé dans un polymère hydrophile en présence d'une CD

[4] : Wang X., Micho A., Van den Mooter G. «Study of the phase behavior of polyethylene glycol 6000 – itraconazole solid dispersions using DSC», *International Journal Pharma.* 272 (2004) 181 – 187.

[5] : Kim K.H., Frank M.J., Henderson N.L. «Application of differential scanning calorimetry to the study of solid drug dispersions», *Journal Pharmaceutical Science* 74 (1985) 283 – 289.

[6] : Pan R.N., Chen J.H., Chen R.R., «Enhancement of dissolution and bioavailability of piroxicam in solid dispersion systems», *Drug Delivery Ind. Pharm.* 26 (2000) 989 – 994.

[7] : Kurozumi M., Nambu N., Nagai T., «Inclusion compounds of non-steroidal anti-inflammatory and other slightly water soluble drugs with alpha- and beta-cyclodextrins in powdered form», *Chem. Pharm. Bull.* 23 (1975) 3062 – 3068.

[8] : Marques H.M.C., Hadgraft J., Kellaway I.W., «Studies of cyclodextrin inclusion complexes I. The salbutamol-cyclodextrin complex as studied by phase solubility and DSC», *International Journal Pharm.* 63 (1990) 259 – 266.

[9] : Bettinetti G.P., Sorrenti M., Rossi S., Ferrari F. Mura P., Faucci M.T., «Assessment of solid-state interactions of naproxen with amorphous cyclodextrin derivatives by DSC», *Journal Pharm. Biomed. Anal.* 30 (2002) 1173 – 1179.

[10] : Banchemo M., Manna L., «Investigation of the piroxicam / hydroxypropyl – beta-cyclodextrin inclusion complexation by means of a supercritical solvent in the presence of auxiliary agents», *Journal Supercritical Fluids* 57 (2011) 259 – 266.

Partie 5

***Etude pharmacocinétique
d'une formulation orale du Piroxicam
contenant différents ratios molaires
de la β -CD***

Partie 5 : Etude pharmacocinétique d'une formulation orale du Piroxicam contenant différents rapports molaires de la β -CD

1. Objectif de l'étude

L'objectif de cette dernière partie de notre travail est de comparer les paramètres pharmacocinétiques du complexe d'inclusion Px - β -CD aux rapports molaires de 1 : 1, 1 : 2,5, 1 : 3 et 1 : 4 après une administration par voie orale chez le lapin et de vérifier aussi la théorie de Haborn et al. [1] qui précise que la concentration plasmatique maximale (C_{max}) du Px augmente avec l'augmentation de la concentration de la β -CD.

2. Résultats et discussion

La biodisponibilité orale des formulations des complexes d'inclusion Px - β -CD aux différents rapports molaires (1 : 1, 1 : 2,5, 1 : 3, et 1 : 4) a été étudiée sur des lapins. Cette étude a permis de déterminer les paramètres pharmacocinétiques suivants : la concentration plasmatique maximale (C_{max}), le temps du pic plasmatique (T_{max}) et l'aire sous la courbe (ASC) (**Tableau 1**). Les **figures 1** et **2** illustrent les profils respectifs de la concentration plasmatique moyenne du Px obtenue après administration orale du Px seul et des différentes formulations Px- β -CD.

Les valeurs de la concentration plasmatique maximale (C_{max}) ont été améliorées avec l'augmentation de la concentration en cyclodextrine dans le complexe d'inclusion jusqu'au rapport molaire 1 : 2,5. Par la suite celles-ci se trouvent diminuées. Les valeurs de la C_{max} sont de $11 \pm 1,7$, $13,3 \pm 6,17$ et $17,2 \pm 2,03$ $\mu\text{g/ml}$ pour le Px seul, Px - CD 1 : 1 et Px - CD 1 : 2,5, respectivement. Toutefois, les valeurs de C_{max} pour Px - CD 1 : 3 et Px - CD 1 : 4 sont de $15,5 \pm 2,4$ et $11,2 \pm 2,3$ $\mu\text{g/ml}$, respectivement.

En ce qui concerne le temps du pic plasmatique (T_{max}), une absorption plus rapide du médicament a été observée car T_{max} est devenu plus court. En effet, nous avons noté un T_{max} de seulement 0,5 h en présence de la cyclodextrine au lieu d'un T_{max} équivalent à 2 h pour le Px seul.

Les niveaux du Px dans le plasma (**Figures 1 et 2**) ne présentent aucune différence significative entre la valeur de C_{max} du groupe traité par Px - β -CD au rapport molaire 1 : 4 et celle du groupe traité avec du Px seul. Cependant, dans le groupe complexe, la C_{max} a été atteinte plus tôt. Aucune différence significative entre les valeurs de l'ASC n'a été trouvée pour les complexes comparés au Px seul. En outre, la plus grande valeur de l'ASC a été obtenue pour le complexe Px - β -CD 1 : 2,5, qui présente également la valeur optimale pour la C_{max} (**Tableau 1**).

Partie 5 : Etude pharmacocinétique d'une formulation orale du Piroxicam contenant différents rapports molaires de la β -CD

Dans la présente étude, l'évaluation pharmacocinétique du Px réalisée sur des lapins montre que la complexation du Px avec la β -CD modifie certains paramètres liés aux phases d'absorption et d'élimination. La β -CD améliore la biodisponibilité du Px jusqu'au rapport molaire 1 : 2,5, mais l'excès en cyclodextrine provoque un impact négatif sur la perméabilité du médicament à travers la membrane biologique [2]. Avec les rapports molaires 1 : 1 et 1 : 2,5, la β -CD affecte la perméabilité de la membrane gastro-intestinale en augmentant le partitionnement du médicament à travers la barrière intestinale [3]. Pour les autres rapports molaires (1 : 3 et 1 : 4), l'effet négatif est vraisemblablement dû à la diminution de la solubilité aqueuse du Px en milieu gastrique provoquant sa précipitation [4].

Des résultats similaires ont été trouvés avec l'administration orale du tolbutamide au lapin [5] où la concentration moyenne C_{max} du principe actif seul est plus élevée que celles de la dispersion solide et des complexes d'inclusion. Par contre, nos résultats ne sont pas en accord avec ceux rapportés par Haborn et al. [1] qui précise que la C_{max} du Px augmente avec l'augmentation de la concentration de β -CD.

Tableau 1 : Paramètres pharmacocinétiques du Px chez le lapin après administration orale d'une dose de Px égale à 10 mg/Kg (Px seul ou complexe Px - β -CD aux différents rapports molaires)

Echantillon administré	C_{max} (μ g/ml)	T_{max} (h)	ASC (μ g/ml)
Px seul	11,0 \pm 1,70	2	122
Px- β -CD 1: 1	13,3 \pm 6,17	0,5	99
Px- β -CD 1: 2,5	17,2 \pm 2,03	0,5	128
Px- β -CD 1: 3	15,5 \pm 2,40	0,5	102
Px- β -CD 1: 4	11,2 \pm 2,30	1	70

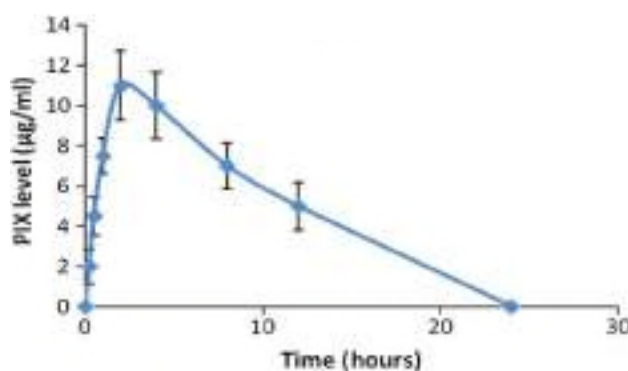


Figure 1 : Profil de la concentration plasmatique moyenne du Px seul

*Chaque valeur représente la moyenne \pm SD de 03 lapins

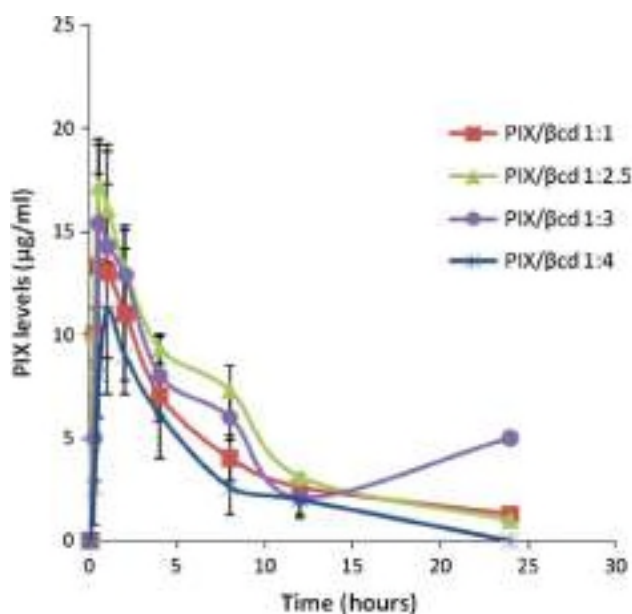


Figure 2 : Profils de la concentration plasmatique moyenne du Px – β -CD aux différents rapports molaires (1 : 1, 1 : 2,5, 1 : 3 et 1 : 4)

*Chaque valeur représente la moyenne \pm SD de 03 lapins

3. Conclusion

En conclusion, l'étude de la biodisponibilité des complexes d'inclusion Px – β -CD aux différents rapports molaires (1 : 1, 1 : 2,5, 1 : 3, et 1 : 4) montre une meilleure concentration plasmatique C_{max} par rapport au principe actif seul à l'exclusion de la formulation avec le rapport molaire 1 : 4 qui ne varie pas significativement par rapport au Px seul. Les résultats de la disponibilité in vivo montrent que le complexe Px - β -CD présente une absorption plus rapide que celle du Px seul pour tous les rapports molaires étudiés. Les meilleures valeurs de C_{max} et de T_{max} ont été obtenues avec un rapport molaire de 1 : 2,5 (Px- β -CD). Enfin, la théorie de Haborn I et al. [1] n'est pas valable puisque dans notre cas, l'augmentation de la valeur de C_{max} n'est pas proportionnelle à la concentration de la β -CD.

4. Références bibliographiques

[1] : Haborn I., Ricketts D., Szejtli J., «Simulation of pharmacokinetic behavior of drug-cyclodextrin complexes», *Pharmazie* 39 (1984) 830-834.

[2] : Loftsson Thorsteinn, Masson Mar. «Cyclodextrins in topical drug formulations: theory and practice», *Int. J. Pharm.* 225 (2001) 15 - 30.

[3] : Palomares-Alonso, Francisca, Gonzalez Cesar Rivas, Bernard-Bernard Ma. Josefa et al. «Two ternary albendazole-cyclodextrin-polymer systems: dissolution, bioavailability and efficacy against *Taenia crassiceps* cysts», *Acta Trop.* 113 (2010) 56 - 60.

[4] : Fawaz F., Bonini F., Guyot M., Bildet J., Maury M., Lagueny A.M., «Bioavailability of norfloxacin from PEG 6000 solid dispersion and cyclodextrin inclusion complexes in rabbits», *International Journal of Pharmaceutics* 132 (1996) 271 - 275.

[5] : Kedzierewicz, F., et al. «Bioavailability study of tolbutamide β -CD inclusion compounds, solid dispersions and bulk powder», *Int. J. Pharm.* 94 (1993) 69 - 74.

Conclusion Générale

Conclusion générale

Il est bien connu que la dissolution du médicament plus que la perméabilité à travers l'épithélium du tractus gastro-intestinale est l'étape limitante du processus d'absorption pour la voie orale. En effet, le principe actif devra se dissoudre dans le fluide gastrique et, ce n'est que sous forme soluble, que celui-ci pourra franchir la membrane (paroi de l'estomac, de l'intestin, membrane cellulaire...). La solubilité aqueuse du médicament favorise donc sa résorption et devient de ce fait un paramètre important dans le développement des médicaments.

Ce travail de recherche dont l'objectif principal est d'améliorer par hydrophilisation, la dissolution et, par conséquent, la biodisponibilité orale d'un anti-inflammatoire ; le piroxicam ; principe actif appartenant à la classe II du Système de Classification Biopharmaceutique (faible solubilité gastro-intestinale et perméabilité élevée), propose un procédé efficace permettant de surmonter les problèmes liés à la faible solubilité de cette molécule, qui repose essentiellement sur la préparation des dispersions solides utilisant des matrices hydrophiles.

Aussi, précisons que l'efficacité d'une méthode d'hydrophilisation dépend du type des agents solubilisant et du type de la molécule à solubiliser. Une bonne connaissance des interactions prépondérantes dans ces systèmes complexes principe actif / excipient(s) est un préalable indispensable pour une adéquation d'un mode de remède au contexte.

Ce travail a été donc consacré à l'évaluation de la capacité de solubilisation de trois polymères (β -CD, HP- β -CD et PEG 6000). Pour cela, plusieurs techniques d'inclusion et de préparation des dispersions solides sous forme binaire et ternaire ont été envisagées.

Aussi et afin d'étudier l'influence de la méthode de préparation sur les propriétés de dissolution du Px, des complexes d'inclusion à l'aide de deux types de CDs ; la β -CD et la HP- β -CD ont été formulés par différentes méthodes d'inclusion à savoir : mélange physique, kneading, évaporation, co-précipitation, lyophilisation et spray-drying.

Les résultats obtenus dans la 1^{ère} partie de notre travail ont montré que la dissolution du Px est significativement améliorée par la formation du complexe d'inclusion Px - CD. La complexation du Px avec la β -CD ou la HP- β -CD a été confirmée par les techniques de caractérisation physico-chimique : DSC, TGA, IR- FT et DRX, qui laissent apparaître clairement que la méthode de préparation de ce complexe d'inclusion joue un rôle prépondérant puisque les meilleurs taux de dissolution ont été obtenus pour les complexes d'inclusion solides préparés par les procédés de lyophilisation et du spray-drying. En effet, le taux de dissolution du Px a atteint des valeurs allant de 95% à 97% pour les lyophilisats et les spray-dried.

Conclusion générale

Dans le but d'explorer l'effet d'un autre polymère hydrophile sur la solubilité aqueuse du piroxicam, notre recherche a été poursuivie par la réalisation d'une dispersion solide à base de PEG 6000 par la méthode d'évaporation, selon une démarche expérimentale définie. Les résultats du contrôle pharmacotechnique (dissolution) montrent, dans ce cas, une nette influence de la nature du solvant sur les propriétés de dissolution de la dispersion solide.

Aussi, l'étude des profils de dissolution des différents systèmes préparés montre clairement que la dissolution du Px a été améliorée par la présence du PEG et que le méthanol est le solvant approprié pour la préparation d'une dispersion solide par la méthode d'évaporation.

A l'issue de ces résultats et afin d'étudier le comportement du PEG 6000 dans les systèmes ternaires (Px – CD – PEG 6000) contenant une faible concentration en polymère (PEG), nous avons poursuivi notre travail par l'étude de l'effet combiné du PEG 6000 avec la CD (β -CD ou HP β -CD) sur la solubilité aqueuse du piroxicam.

La caractérisation physico-chimique et l'étude biopharmaceutique des différents systèmes binaires et ternaires préparés par mélange physique et kneading montrent que l'ajout d'une petite quantité de PEG 6000 (1% , 2.5%, 5% et 10%) dans les préparations ternaires n'a pas d'effet significatif ni sur la complexation ni sur la cinétique de dissolution des complexes d'inclusion Px - CD, particulièrement, les systèmes contenant la HP β -CD, où un effet négatif a été observé pour le mélange physique ternaire contenant 10% en PEG 6000.

Au terme de ces expériences à base de PEG 6000 à faible concentration, dans lesquelles la solubilité aqueuse du Px n'a pas été améliorée dans les systèmes ternaires, nous avons formulé différemment ces systèmes et ce par la dispersion d'un complexe d'inclusion (Px – CD) préparé par lyophilisation ou spray-drying dans du PEG 6000 à des concentrations supérieures à 10% pour les deux méthodes utilisées ; la fusion - solidification et l'évaporation par solvant.

Les résultats obtenus dans cette étude expérimentale montrent que la dissolution du Px a été significativement améliorée dans les dispersions solides ternaires, particulièrement, celles préparées par la méthode d'évaporation avec les teneurs de 70% et 90% en PEG 6000. En effet, dans les systèmes ternaires, la dissolution du Px est quasi-instantanée. Ce résultat reflète bien le rôle de la CD qui a la capacité de modifier le profil de dissolution de la dispersion solide binaire (Px –PEG 6000). Ceci montre clairement le fort potentiel et l'intérêt de la préparation de la dispersion solide selon le protocole : inclusion du principe actif dans des cyclodextrines, suivie de sa dispersion dans un polymère hydrophile. Protocole expérimental intéressant en vue d'une éventuelle administration sublinguale à base de médicament hydrophobe, où la molécule doit être ultra soluble.

Conclusion générale

D'où l'intérêt de l'application de ce type de formulation à savoir : dispersions solides ternaires à forte teneur en PEG préparées selon un protocole expérimental défini : méthode d'évaporation, pour la voie sublinguale afin d'améliorer la performance biologique du piroxicam.

Enfin, nos expériences finales consacrées à l'étude *in vivo* sur le lapin d'un complexe d'inclusion (Px - β -CD) montrent une amélioration de la biodisponibilité orale de ce médicament.

Aussi et dans le cadre d'une étude préclinique la réalisation de profils pharmacocinétiques et toxicologiques pourrait être envisagée dans le cas des dispersions solides ternaires (Px – CD – PEG 6000) à forte concentration en PEG 6000 (70%). Ceci peut s'avérer intéressant pour la recherche et contribuera certainement à constituer une base de données scientifiques utiles pour le développement d'une nouvelle forme galénique à base de piroxicam destinée à la voie sublinguale.

En conclusion, il ressort de cette étude l'intérêt de l'utilisation des complexes d'inclusion Pa – CDs et des dispersions solides binaires et ternaires (Pa – CDs – PEG 6000) dans le processus de formulation de médicament peu soluble dans l'eau. En effet et selon les résultats obtenus à l'issue de nos expériences, ces systèmes aboutissent à l'amélioration de la solubilité et par conséquent de la dissolution du principe actif, garantissant ainsi une meilleure biodisponibilité et certainement une efficacité thérapeutique.

ANNEXE 1

Annexe 1 : Courbes d'étalonnage (Matériels et Méthodes)

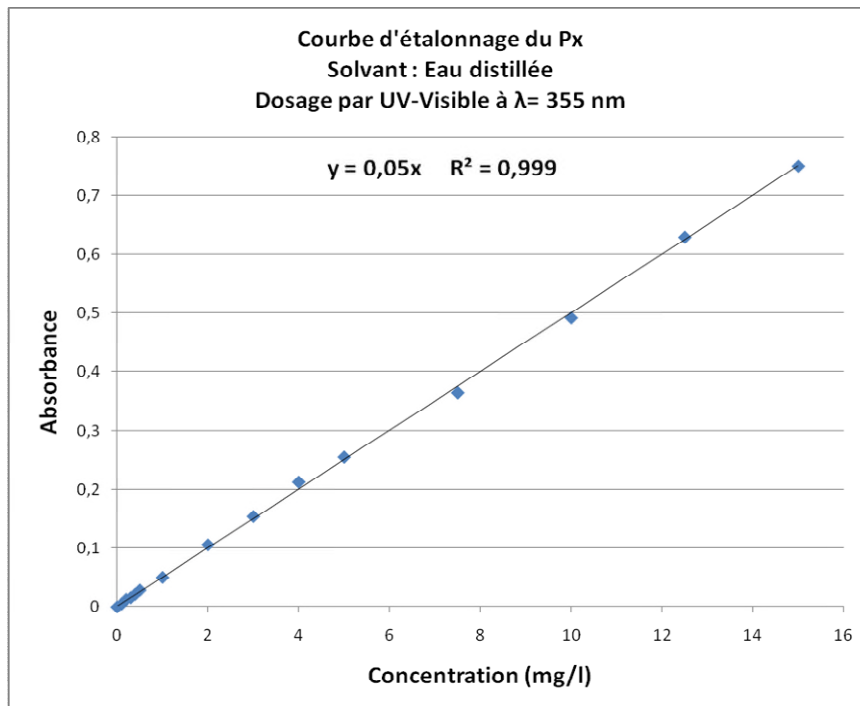


Figure 3 : Courbe d'étalonnage du Px dissout dans l'eau distillée

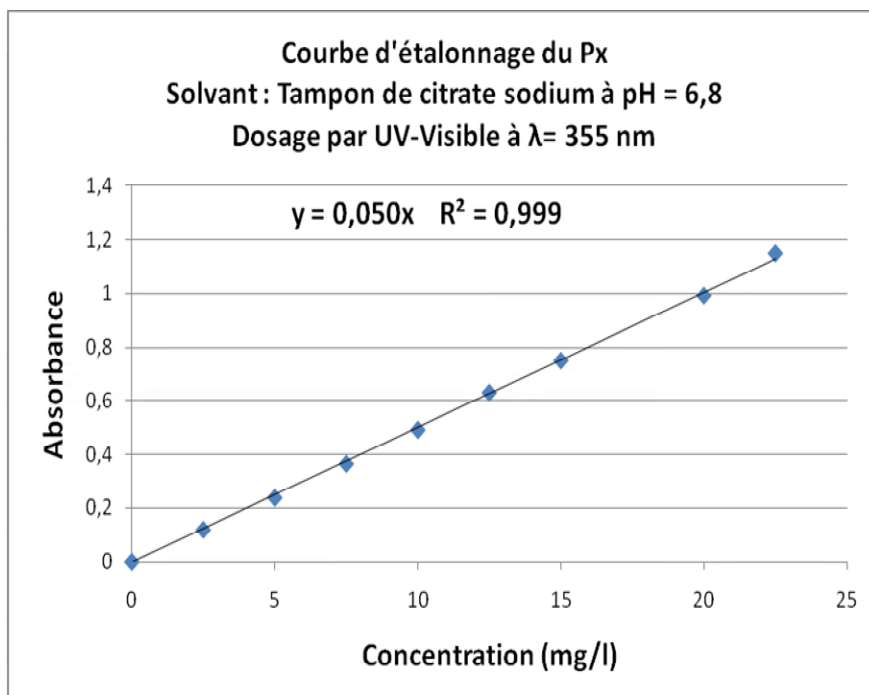


Figure 10 : Courbe d'étalonnage du Px dissout dans le tampon citrate de sodium à pH = 6,8
(Dosage par UV-Visible)

Annexe 1 : Courbes d'étalonnage (Matériels et Méthodes)

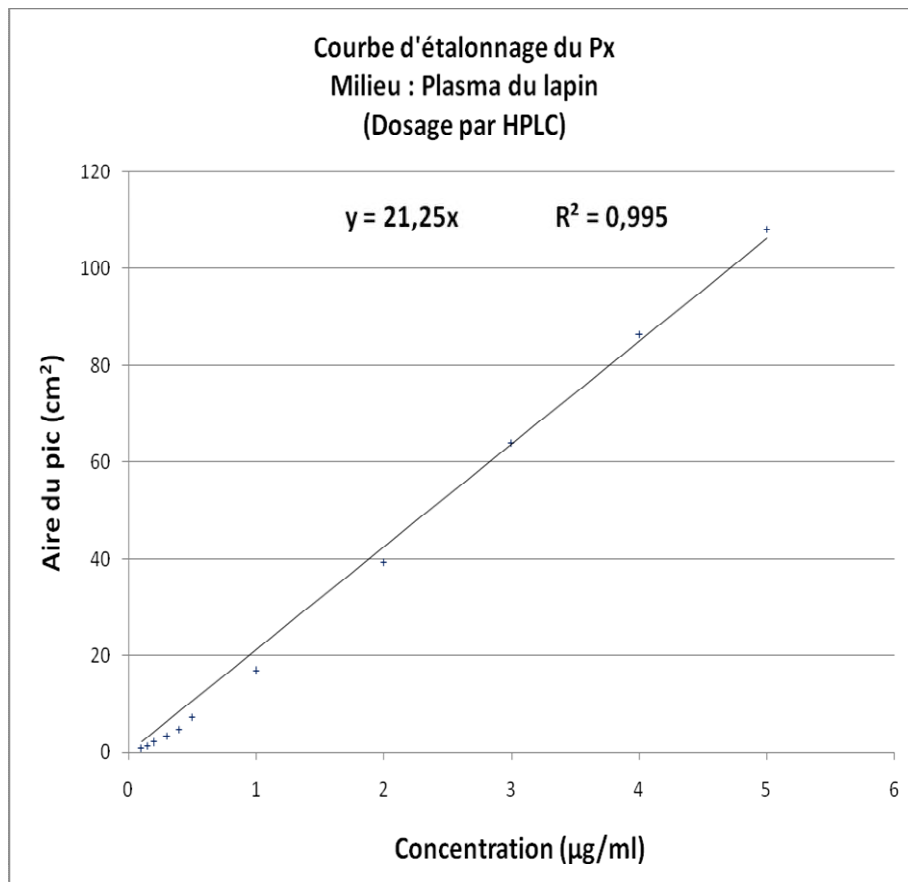


Figure 18 : Courbe d'étalonnage du Px dissout dans le plasma du lapin (Dosage par HPLC)

ANNEXE 2

Annexe 2 : Illustrations des échantillons de complexes d'inclusion (Partie 1)

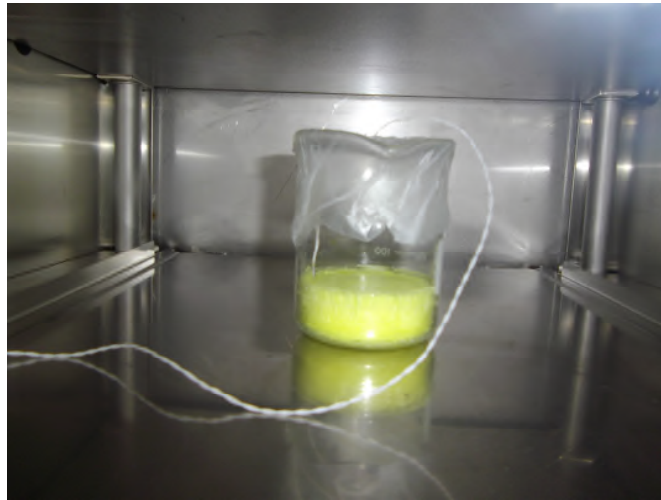


Illustration d'un échantillon de **complexe d'inclusion (Px – HP- β -CD)**
au cours de sa **lyophilisation**

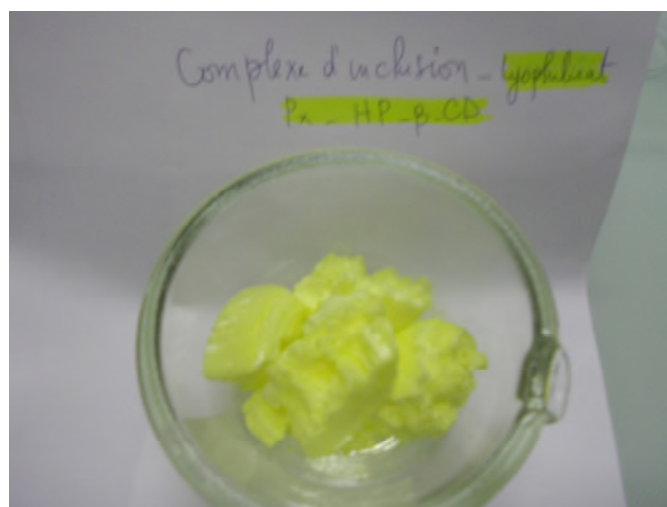


Illustration d'un échantillon de **complexe d'inclusion (Px – HP- β -CD)**
préparé par **lyophilisation**

Annexe 2 : Illustrations des échantillons de complexes d'inclusion (Partie 1)

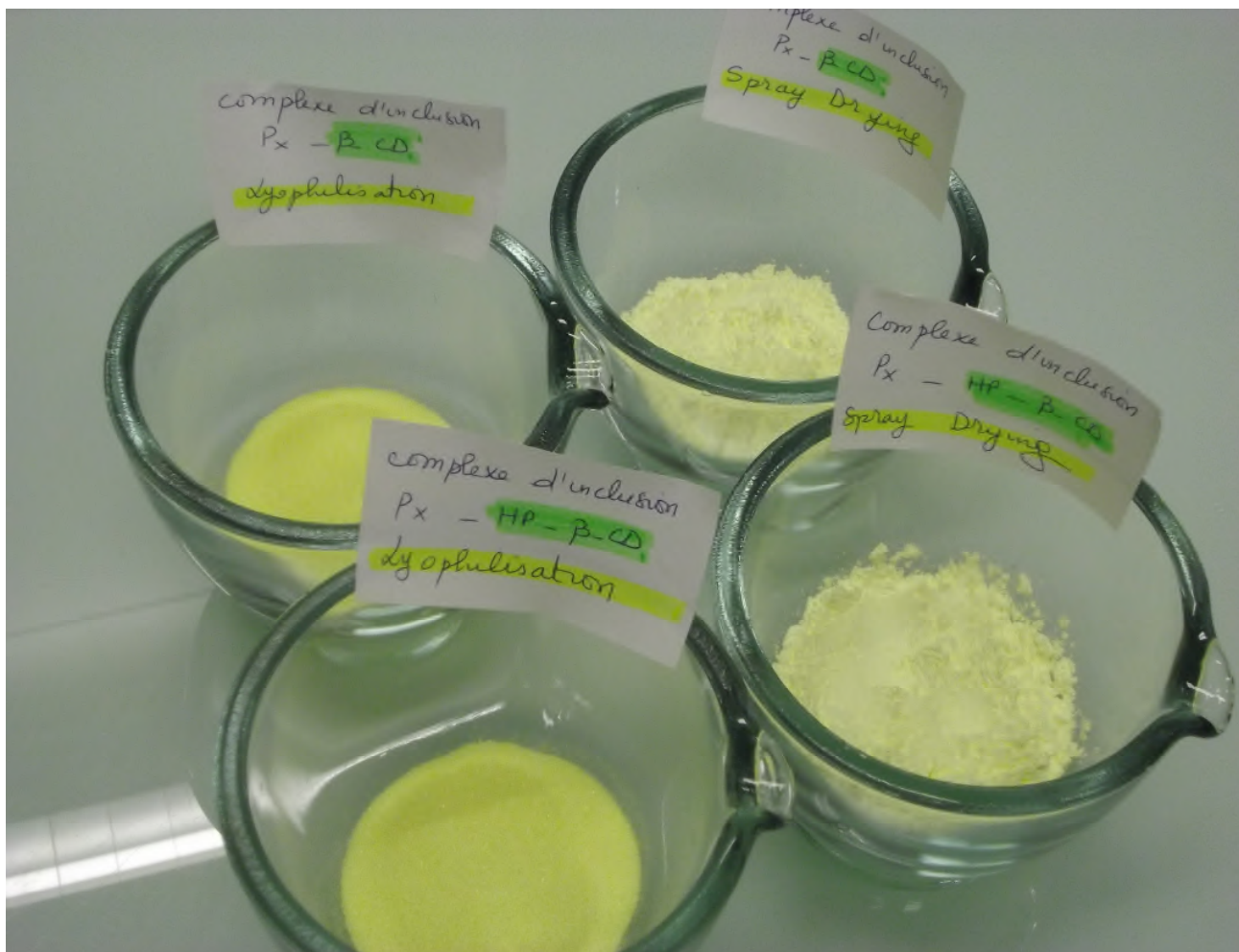


Illustration des échantillons de **complexes d'inclusion (Px – β-CD et Px – HP-β-CD)** préparés par **lyophilisation** (à gauche) et par **spray-drying** (à droite)

ANNEXE 3

Annexe 3 : Caractérisation physico-chimique des complexes d'inclusion (Partie 1)

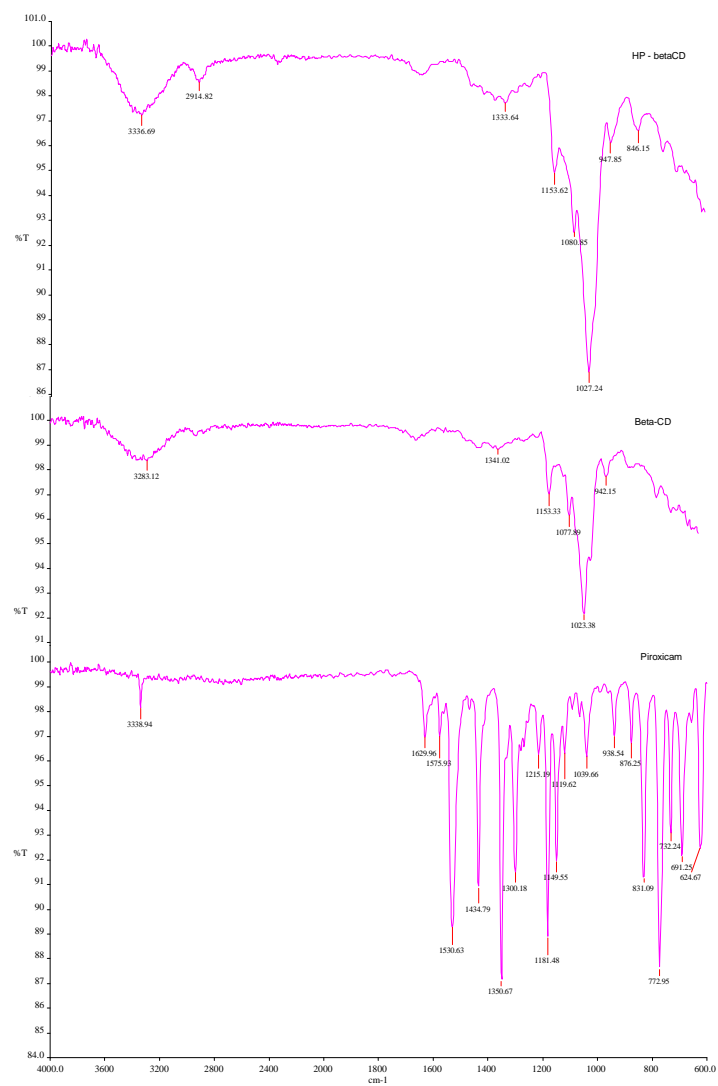


Figure 6 : Spectres IR-TF des substances pures (Px, β-CD et HP- β-CD)

Annexe 3 : Caractérisation physico-chimique des complexes d'inclusion (Partie 1)

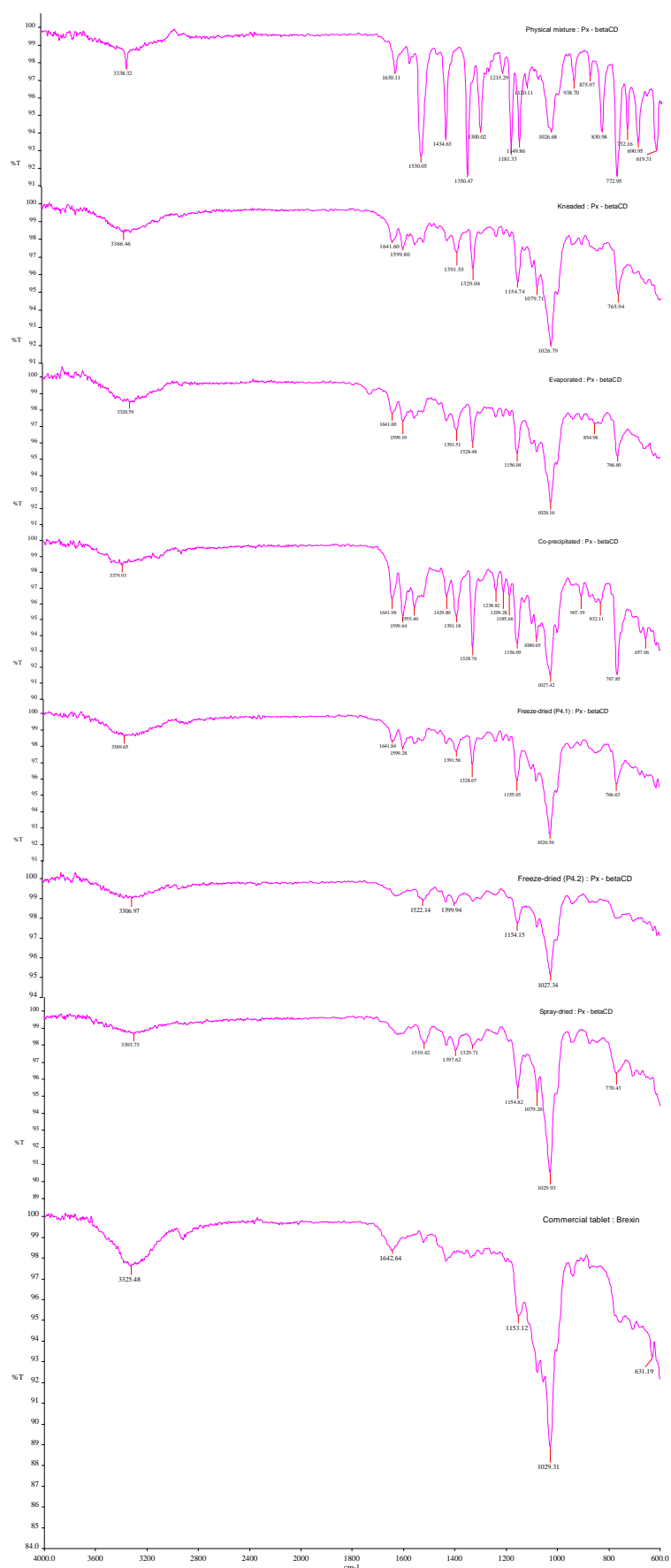


Figure 7: Spectres IR-TF des complexes d'inclusion Px - β -CD et du produit Brexin®

Annexe 3 : Caractérisation physico-chimique des complexes d'inclusion (Partie 1)

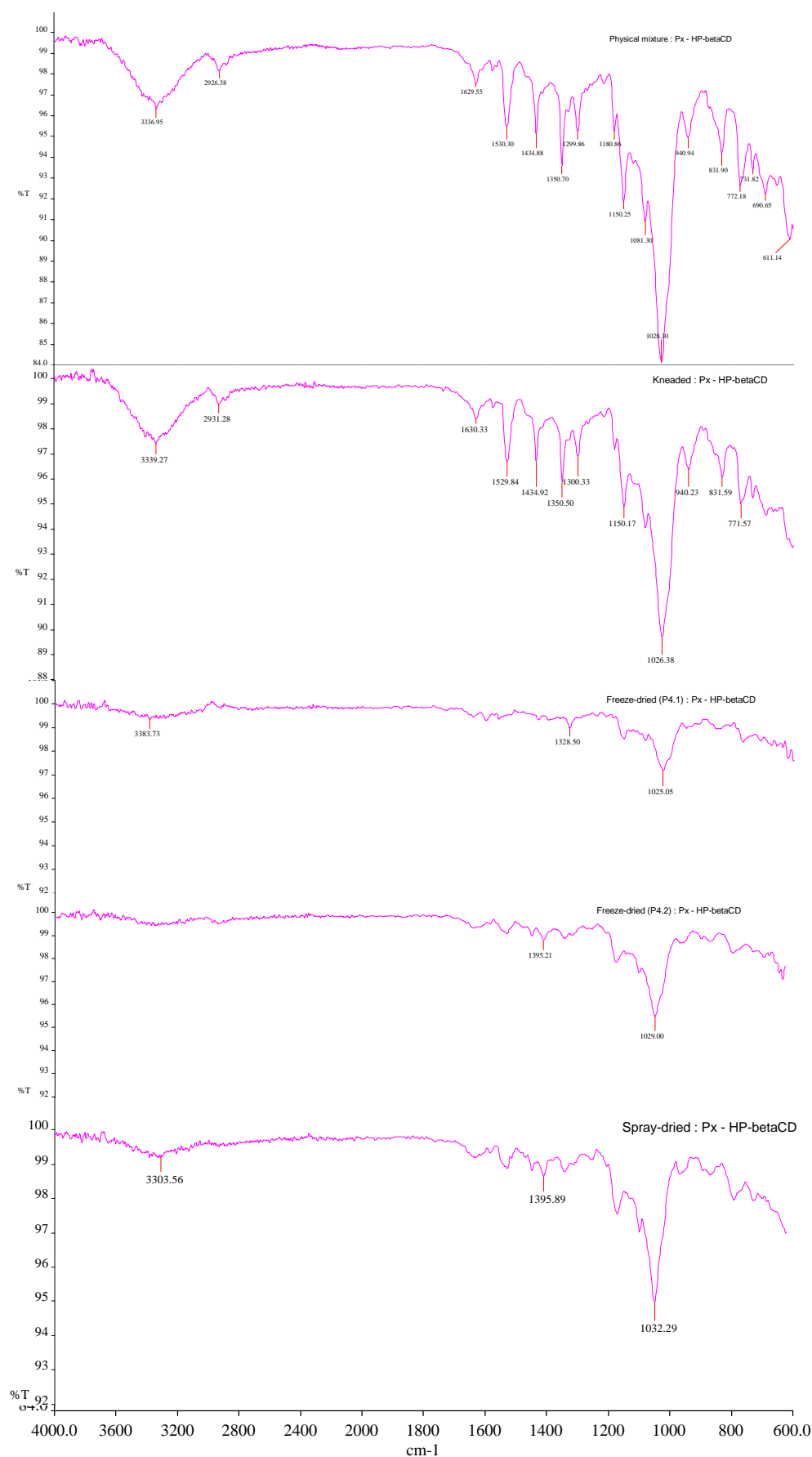


Figure 8 : Spectres IR-TF des complexes d'inclusion Px – HP – β -CD

Annexe 3 : Caractérisation physico-chimique des complexes d'inclusion (Partie 1)

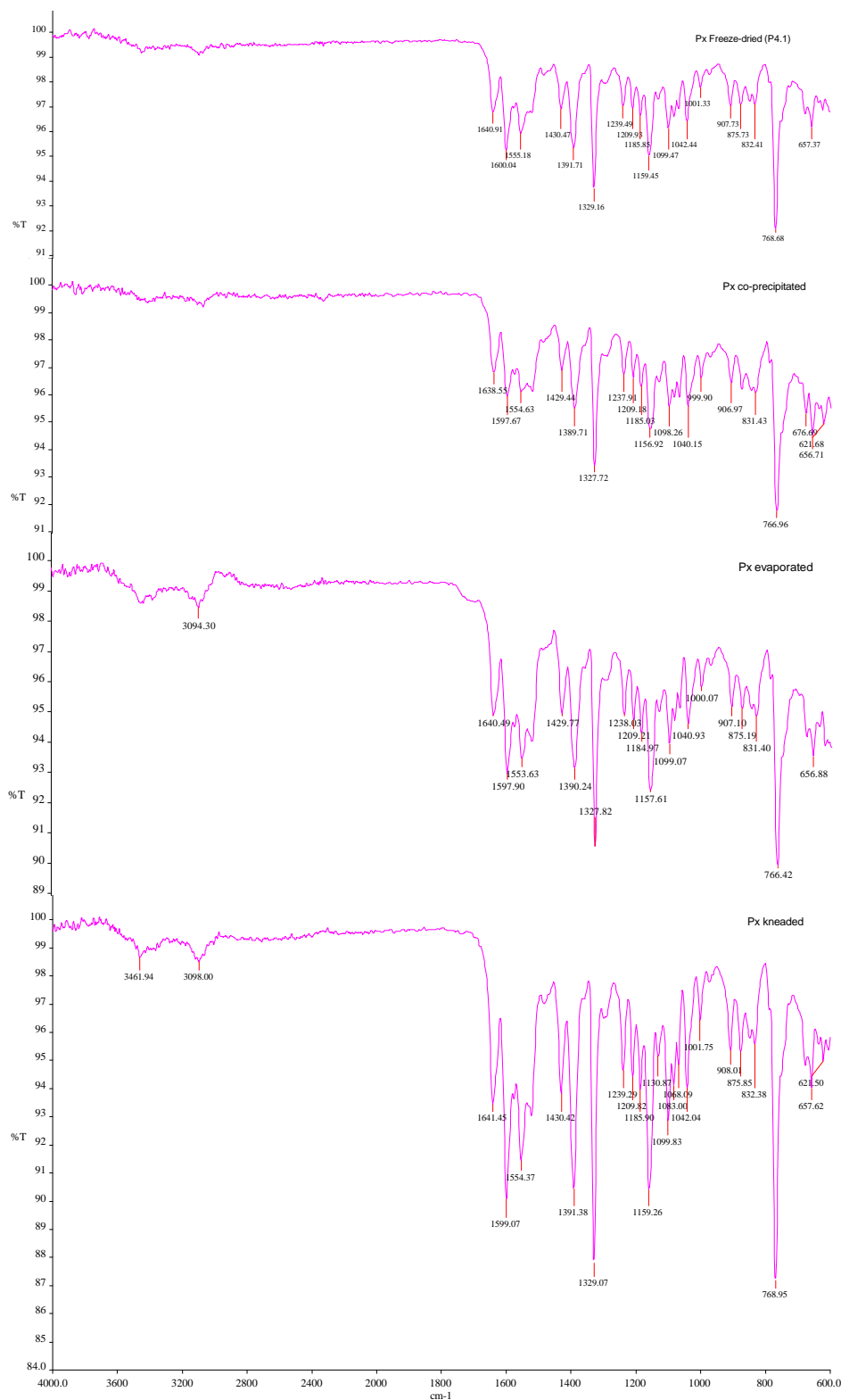


Figure 9 : Spectres IR-TF du Px traité

Annexe 3 : Caractérisation physico-chimique des complexes d'inclusion (Partie 1)

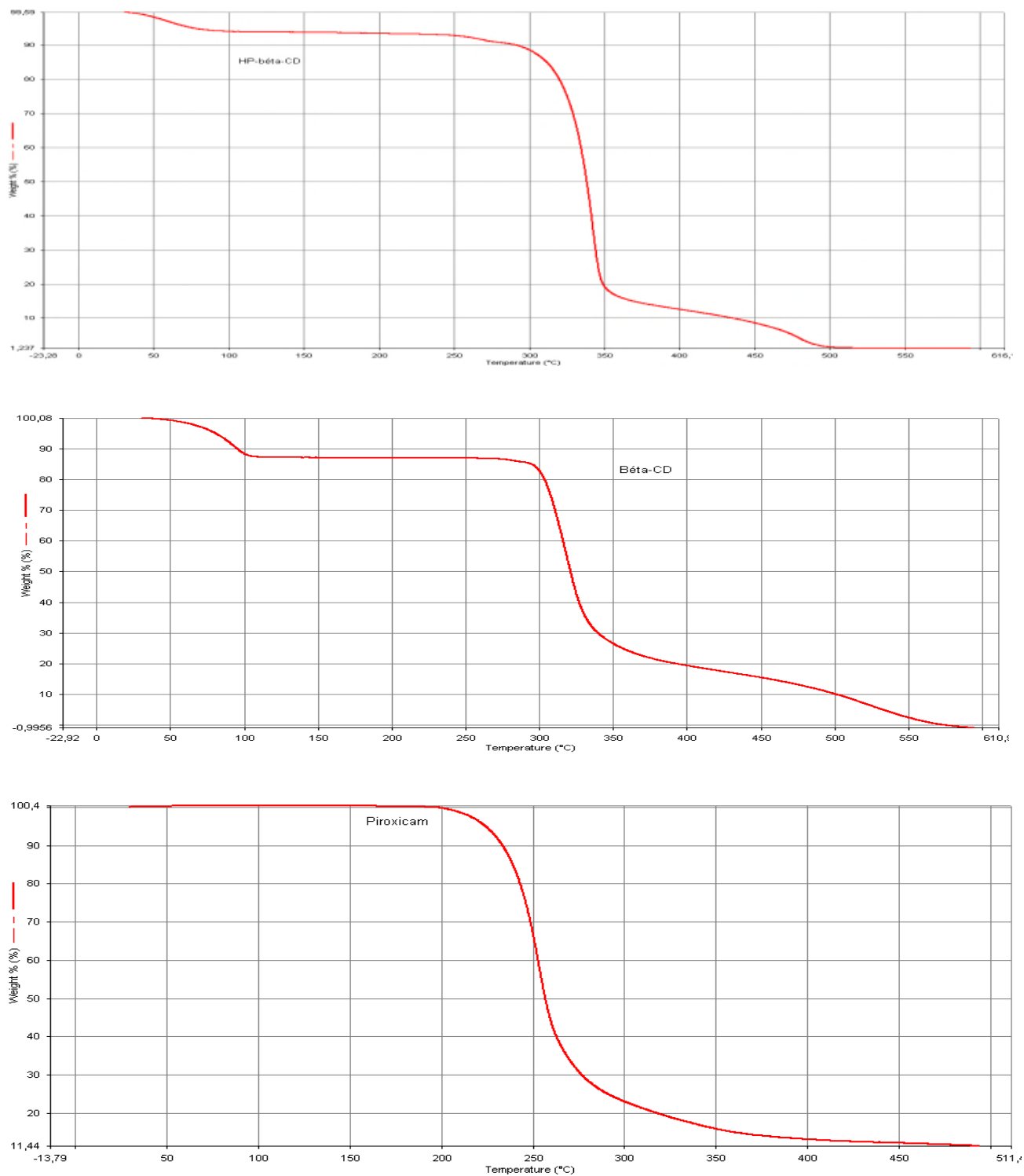


Figure 10 : Courbes TGA des substances pures (Px, β CD et HP – β -CD)

Annexe 3 : Caractérisation physico-chimique des complexes d'inclusion (Partie 1)

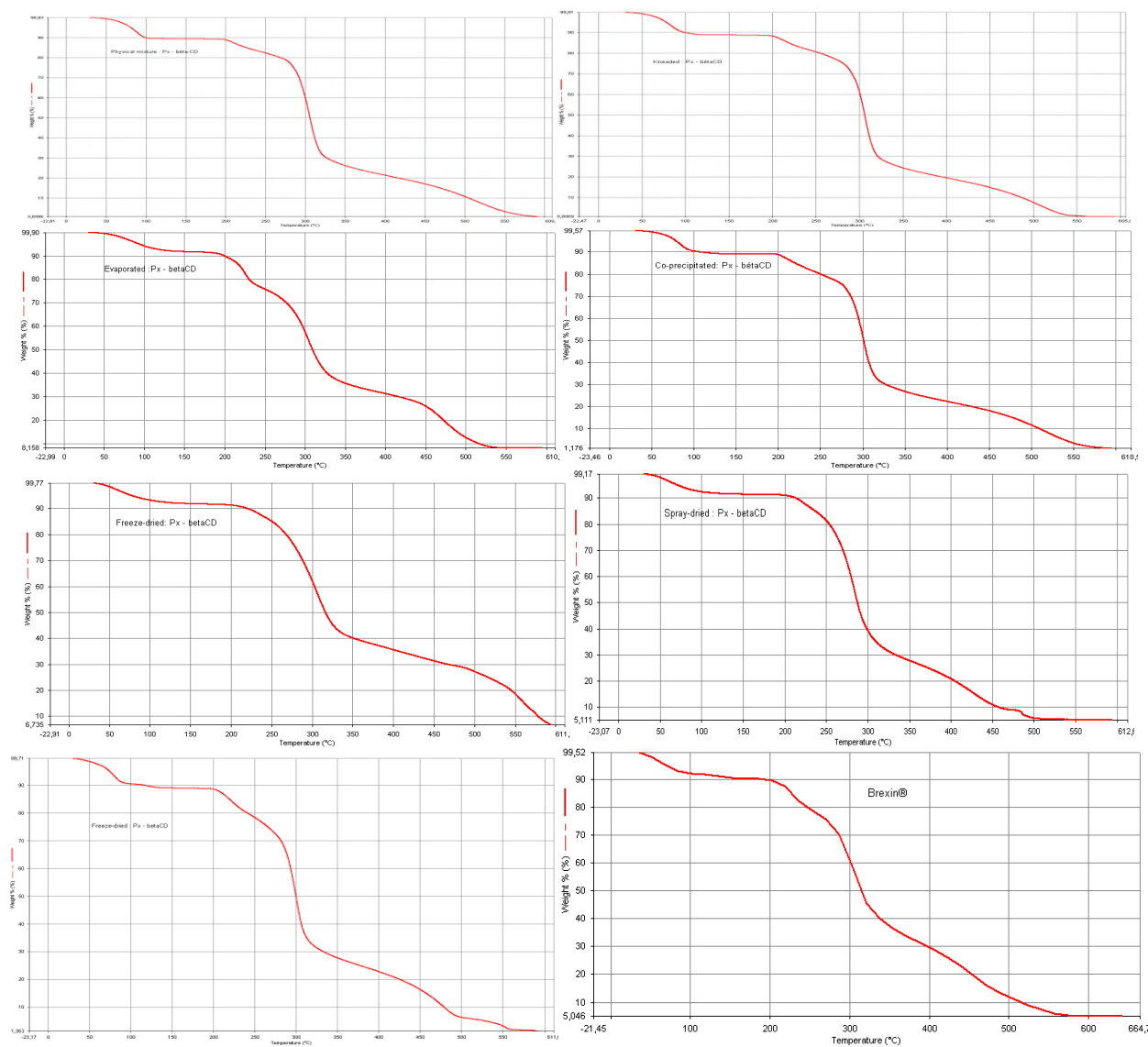


Figure 11 : Courbes TGA des complexes d'inclusion Px – β CD et du produit Brexin®

Annexe 3 : Caractérisation physico-chimique des complexes d'inclusion (Partie 1)

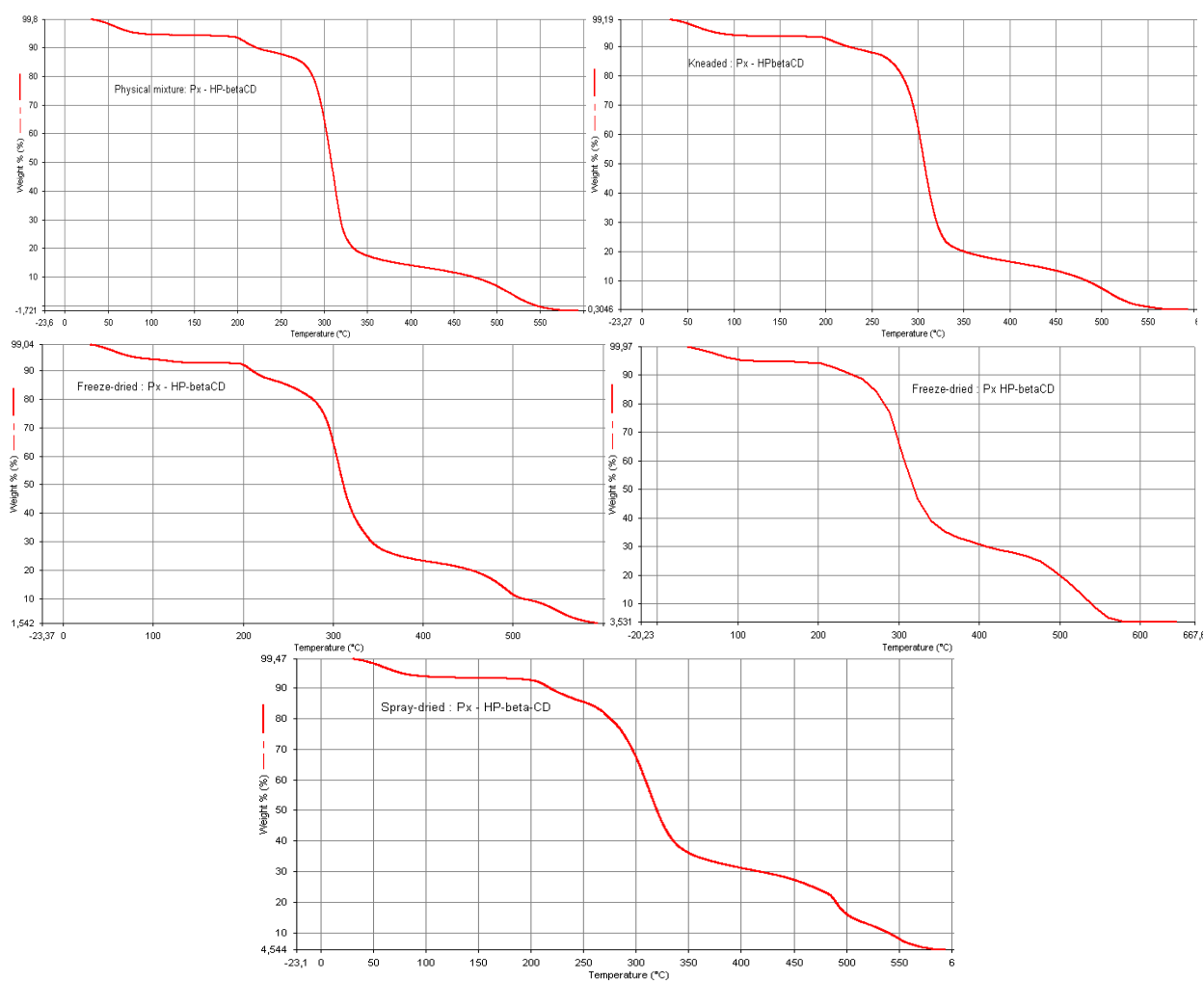


Figure 12 : Courbes TGA des complexes d'inclusion Px – HP-βCD

Annexe 3 : Caractérisation physico-chimique des complexes d'inclusion (Partie 1)

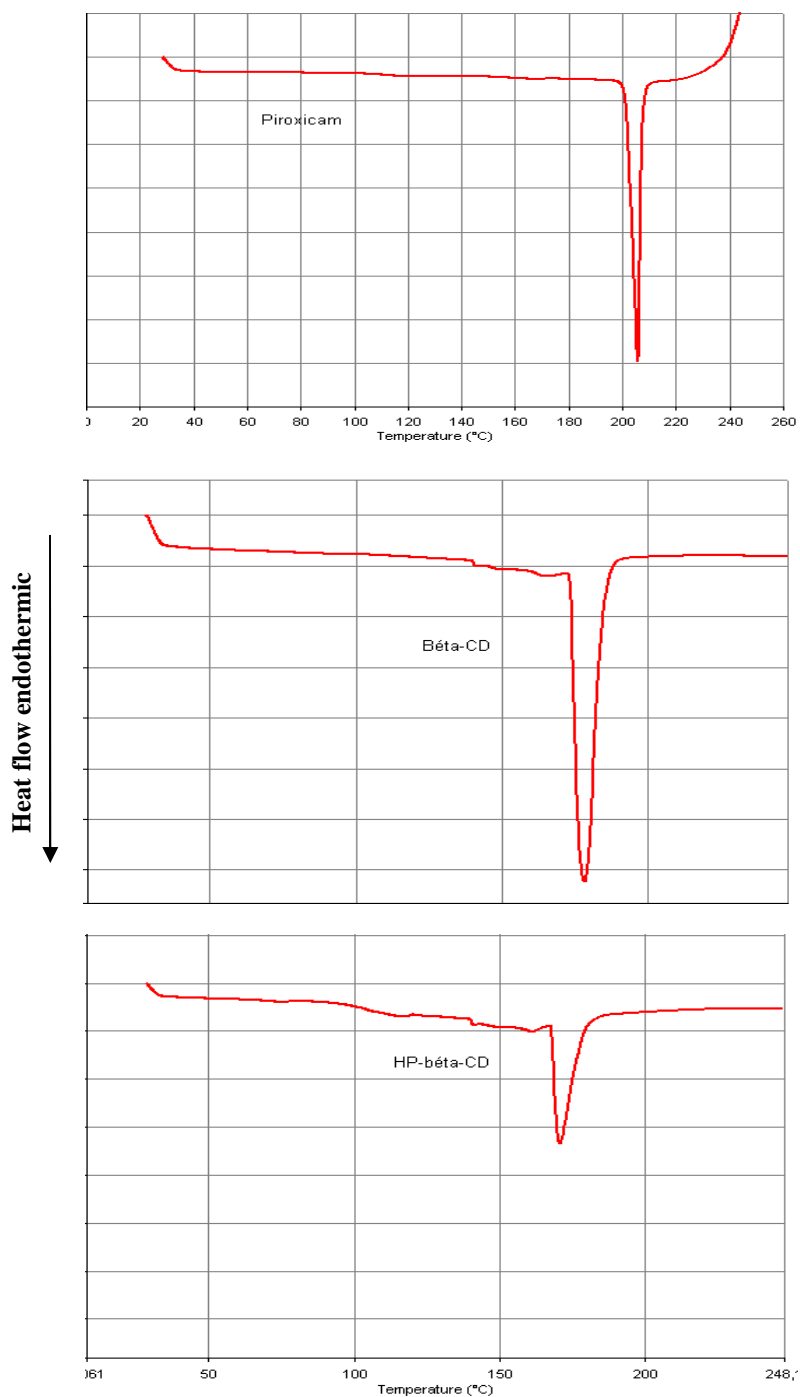


Figure 13 : Courbes DSC des substances pures (Px, β CD et HP- β CD)

Annexe 3 : Caractérisation physico-chimique des complexes d'inclusion (Partie 1)

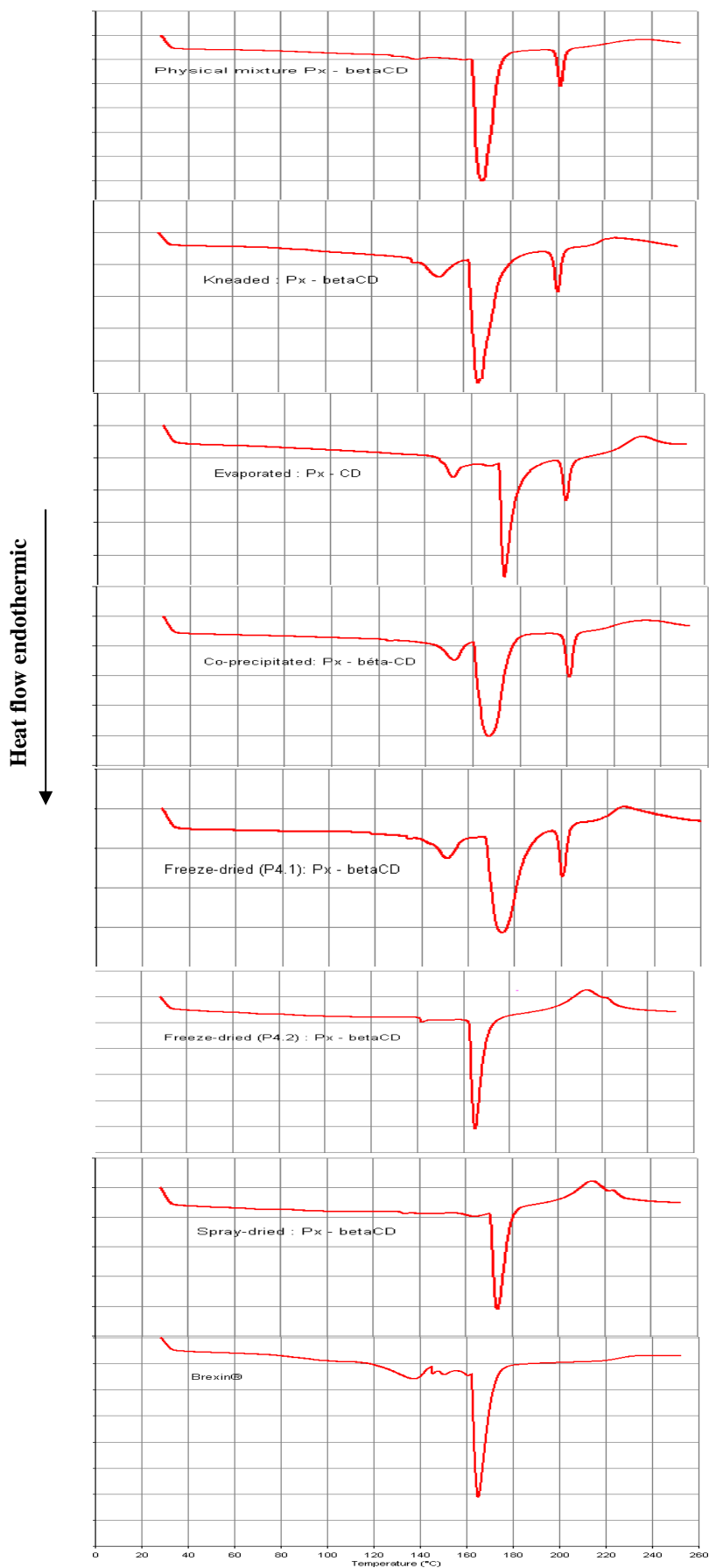


Figure 14 : Courbes DSC des complexes d'inclusion Px – β CD et du produit Brexin®

Annexe 3 : Caractérisation physico-chimique des complexes d'inclusion (Partie 1)

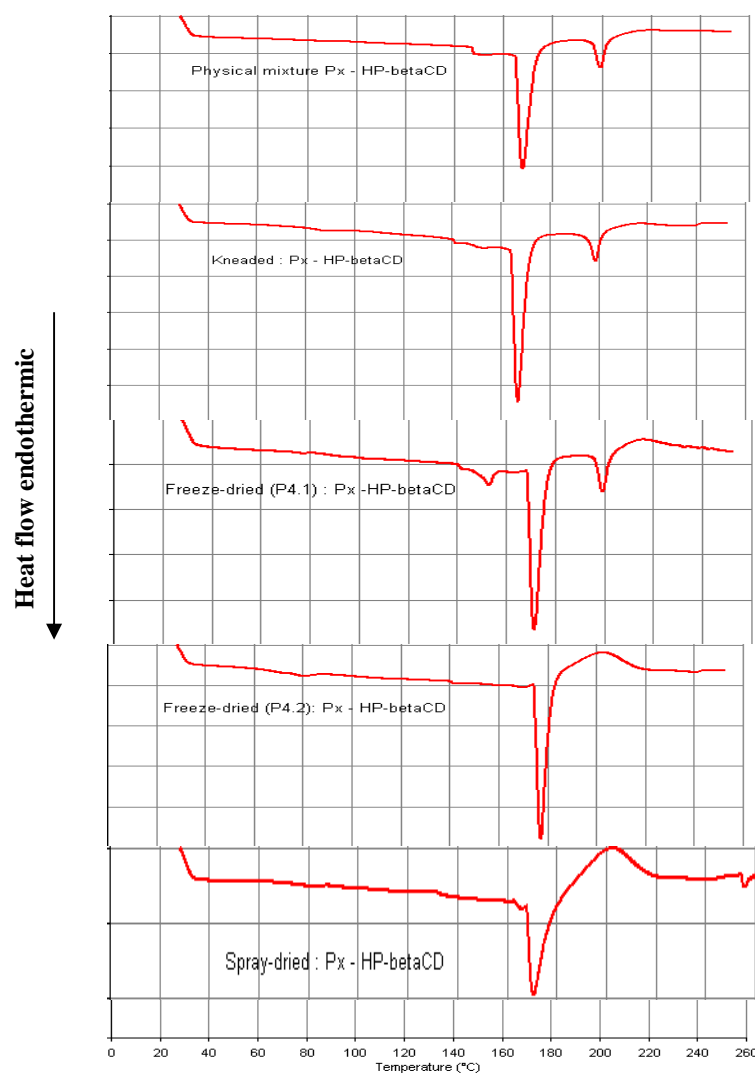


Figure 15 : Courbes DSC des complexes d'inclusion Px – HP-βCD

Tableau 3 : Données de la DSC des complexes d'inclusion Px – βCD (A) et Px – HP-βCD (B)

Echantillon (A)	T onset (°C)(n=3)	T pic (°C)(n=3)	ΔH (j/g)(n=3)	Teneur en Px libre (% , n=3)
Piroxicam	201.56 ± 0.05	205.54 ± 0.01	133.67 ± 0.07	100.00± 0.06
Mélange physique	198.85 ± 0.02	201.06 ± 0.02	26.37 ± 0.14	19.73± 0.12
Kneaded	198.42 ±0.03	200.70 ± 0.01	20.31 ± 0.18	15.19± 0.15
Evaporé	198.72 ± 0.01	200.91 ± 0.05	21.10 ± 0.13	15.78± 0.11
Co-precipité	198.94 ± 0.04	201.23 ± 0.03	24.18 ± 0.16	18.09± 0.15
Lyophilisat (P 4.1)	198.58 ± 0.11	200.68 ± 0.09	19.41 ± 0.19	14.52± 0.17
Lyophilisat (P4.2)	-	-	-	-
Spray-dried	-	-	-	-

Echantillon (B)	T onset (°C) (n=3)	T pic (°C) (n=3)	ΔH (j/g) (n=3)	Teneur en Px libre (% , n=3)
Piroxicam	201.56 ± 0.05	205.54 ± 0.01	133.67 ± 0.07	100.00± 0.06
Mélange physique	196.69± 0.06	199.50± 0.06	16.12± 0.15	12.06± 0.14
Kneaded	196.28± 0.12	199.00±0.08	12.65± 0.13	9.46± 0.11
Lyophilisat (P 4.1)	197.00± 0.07	199.27± 0.02	11.51± 0.10	8.61± 0.09
Lyophilisat (P4.2)	-	-	-	-
Spray-dried	-	-	-	-

Annexe 3 : Caractérisation physico-chimique des complexes d'inclusion (Partie 1)

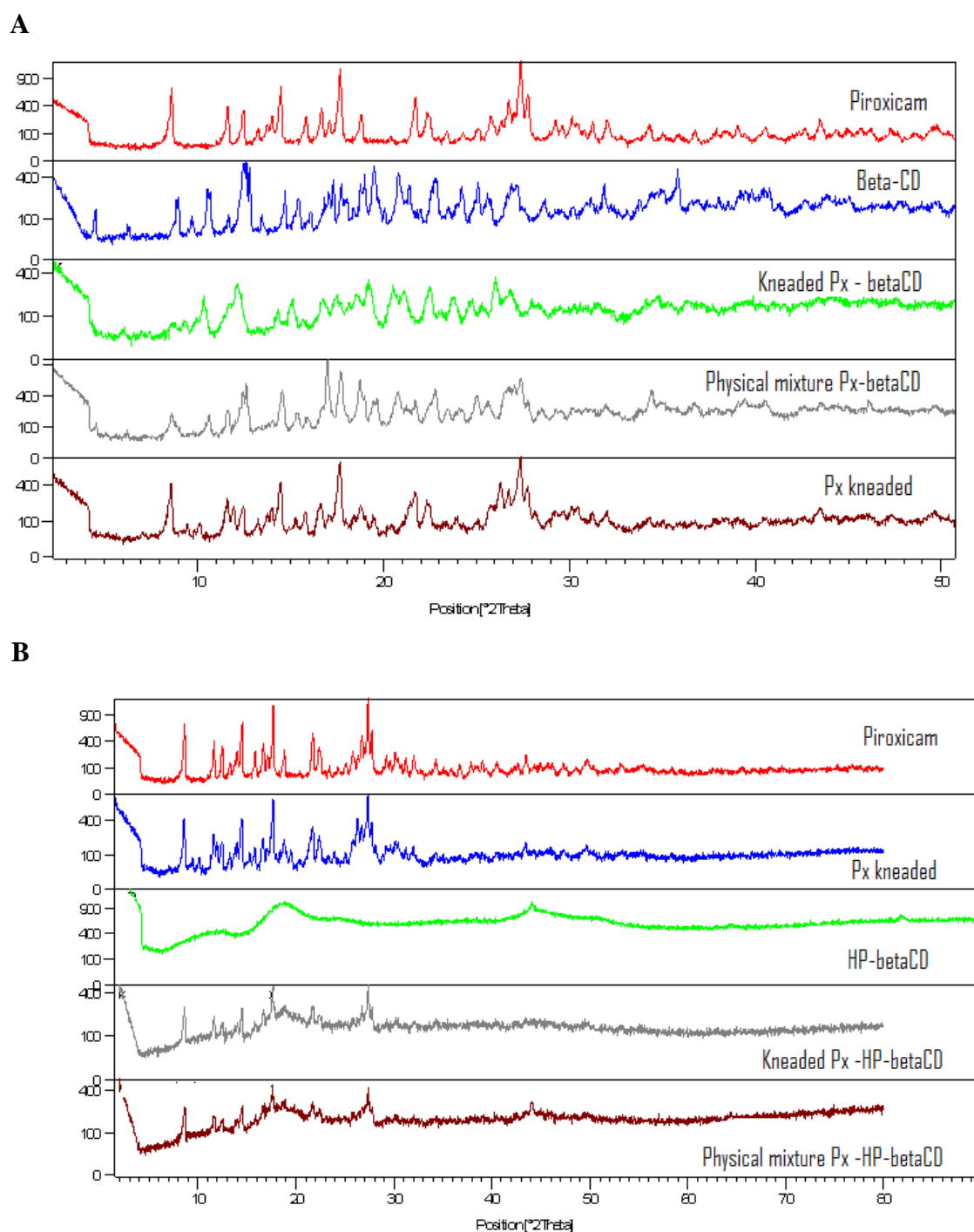


Figure 16 : Spectres DRX des constituants (Px, β -CD et HP- β -CD) et des complexes d'inclusion (Px - β -CD et Px - HP β -CD) préparés par mélange physique et kneading

ANNEXE 4

Annexe 4 : Caractérisation physico-chimique des dispersions solides ternaires (Partie 3)

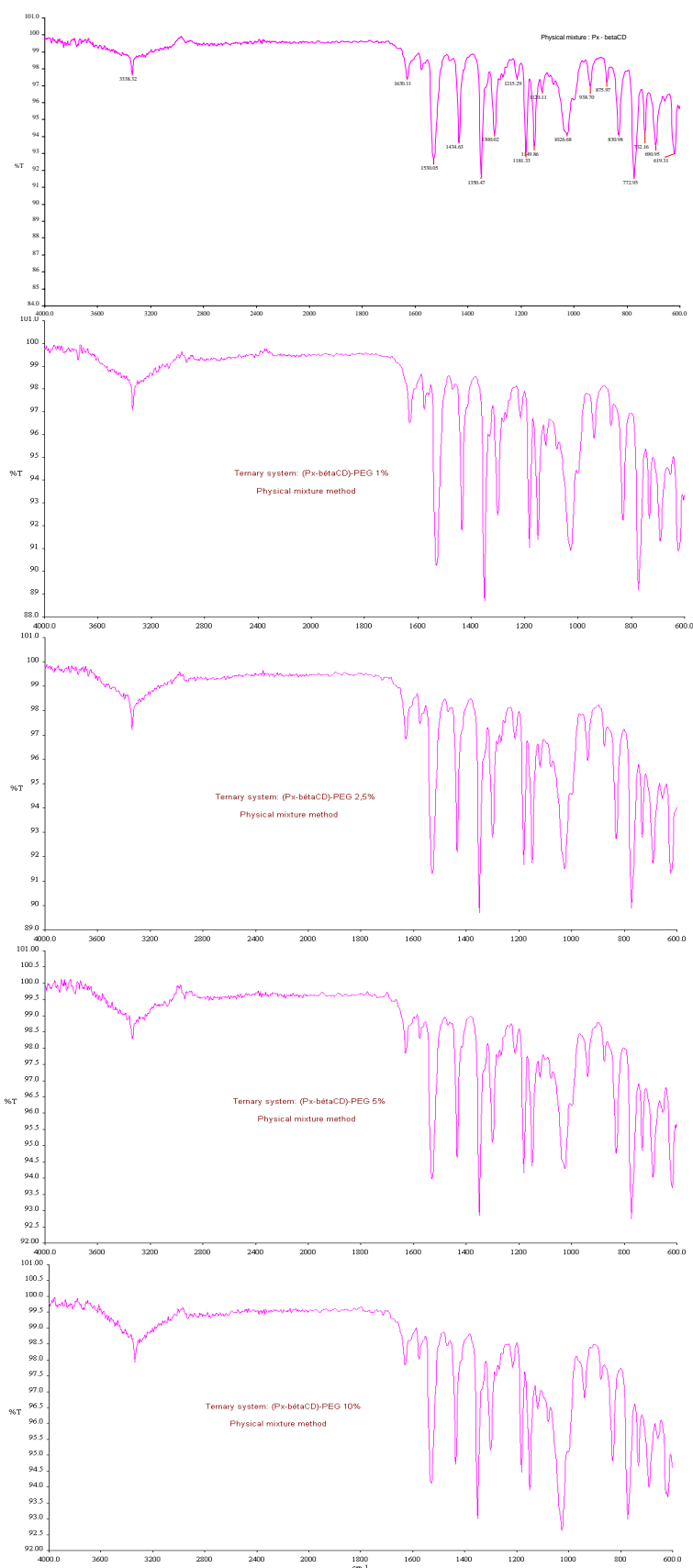


Figure 7: Spectres IR-TF du binaire Px - β -CD et des ternaires Px - β -CD- PEG 6000 (1%, 2,5%, 5% et 10%) préparés par Mélange physique

Annexe 4 : Caractérisation physico-chimique des dispersions solides ternaires (Partie 3)

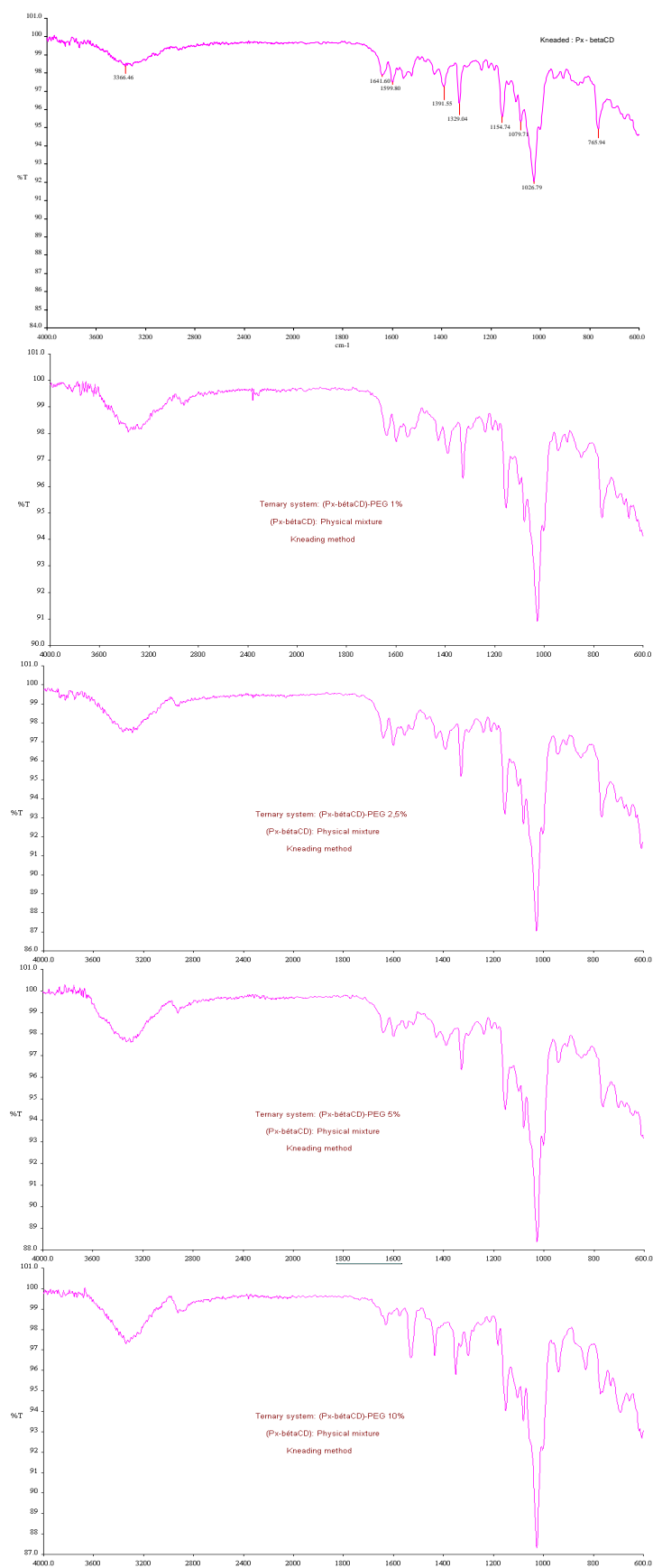


Figure 8: Spectres IR-TF du binaire Px - β -CD et des ternaires Px - β -CD- PEG 6000 (1%, 2,5%, 5% et 10%) préparés par Kneading

Annexe 4 : Caractérisation physico-chimique des dispersions solides ternaires (Partie 3)

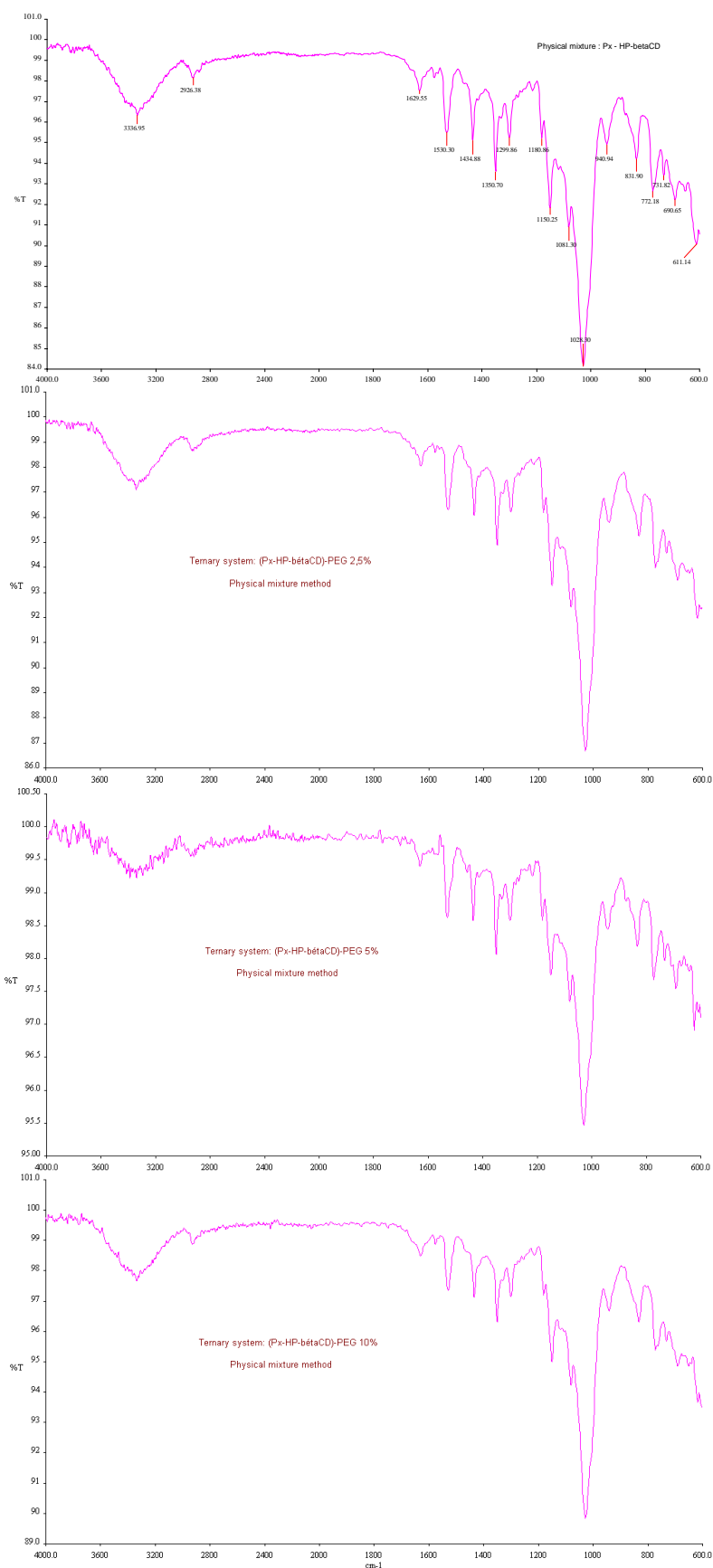


Figure 9: Spectres IR-TF du binaire Px – HP – β-CD et des ternaires Px – HP – β-CD- PEG 6000 (1%, 2,5%, 5% et 10%) préparés par Mélange physique

Annexe 4 : Caractérisation physico-chimique des dispersions solides ternaires (Partie 3)

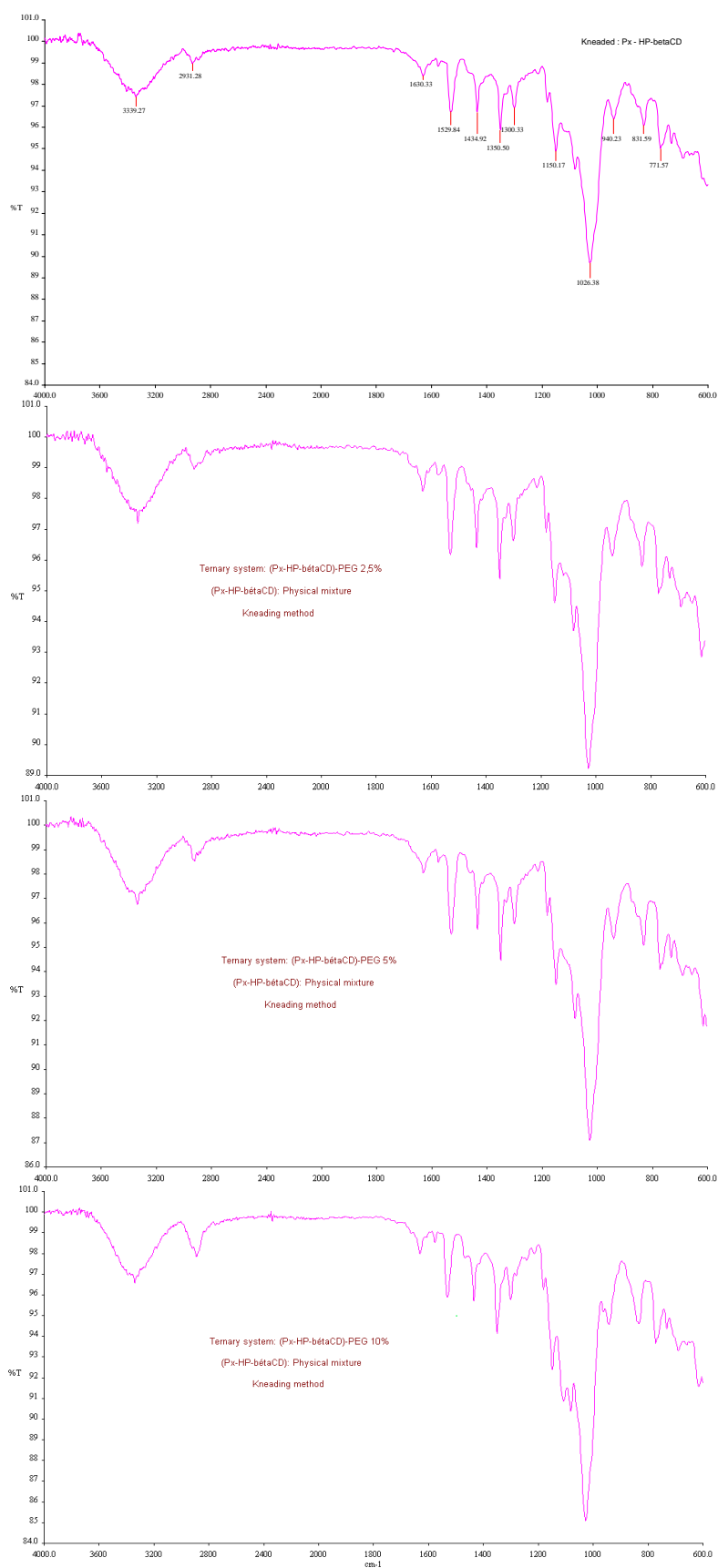


Figure 10: Spectres IR-TF du binaire Px – HP - β -CD et des ternaires Px – HP - β -CD- PEG 6000 (1%, 2,5%, 5% et 10%) préparés par Kneading

ANNEXE 5

Annexe 5 : Illustrations des échantillons de dispersions solides (Partie 4)

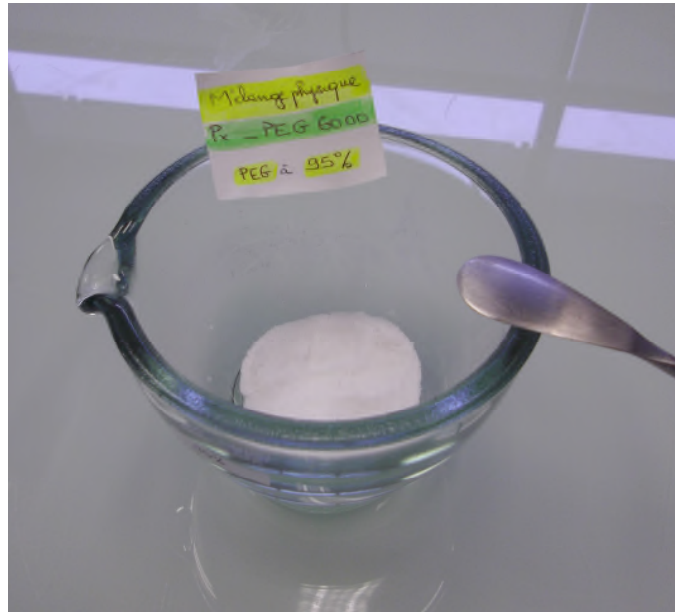


Illustration d'un échantillon d'une **dispersion solide binaire** (Px – PEG 6000) à 95% préparée par **mélange physique**

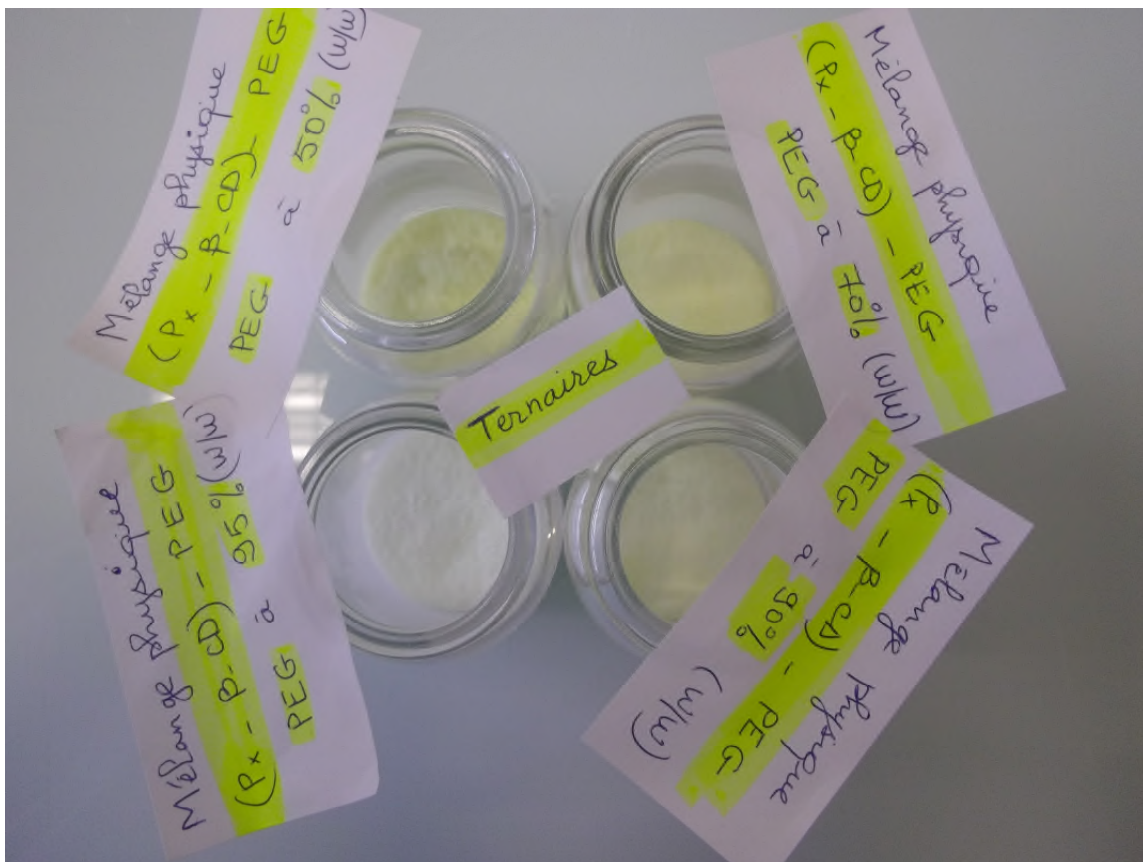


Illustration des échantillons de **dispersions solides ternaires** (Px - β CD - PEG 6000) à 50%, 70%, 90% et 95% préparées par **mélange physique**

Annexe 5 : Illustrations des échantillons de dispersions solides (Partie 4)

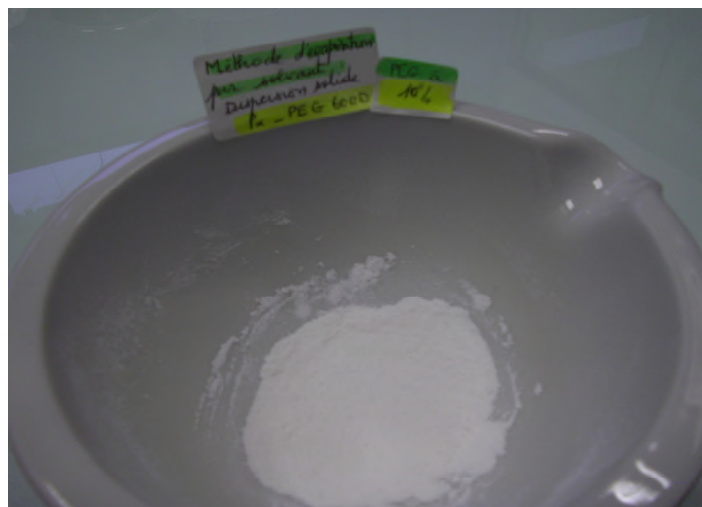


Illustration des échantillons de **dispersions solides binaires (Px - PEG 6000)** à 10%, 30% et 50% préparées par **évaporation**

Annexe 5 : Illustrations des échantillons de dispersions solides (Partie 4)

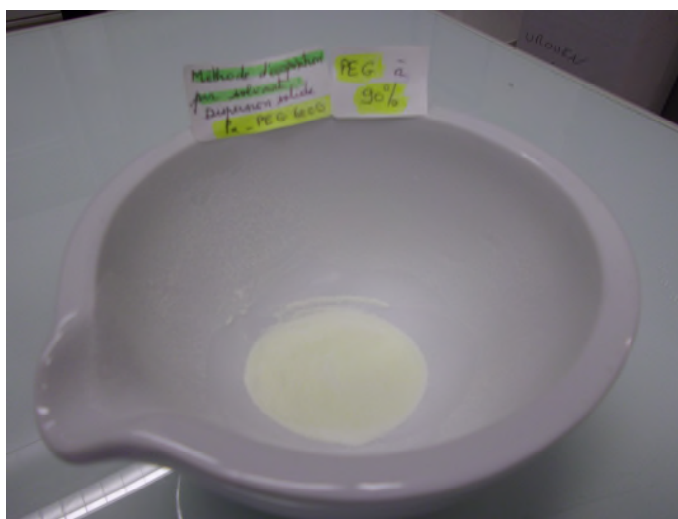
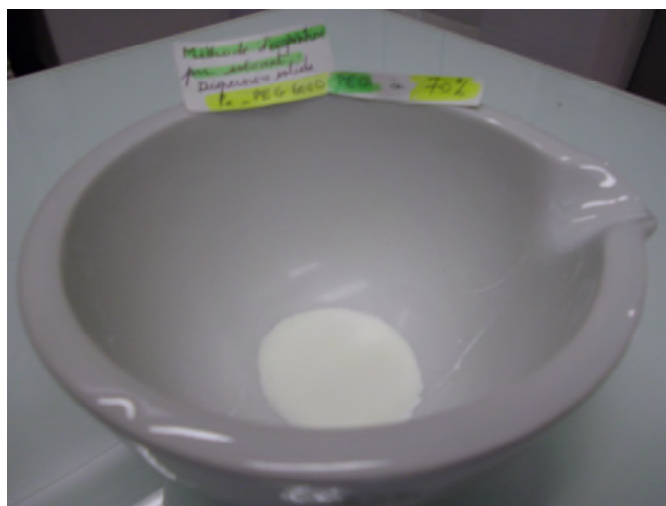


Illustration des échantillons de **dispersions solides binaires (Px - PEG 6000)** à 70%, 90% et 95% préparées par évaporation

Annexe 5 : Illustrations des échantillons de dispersions solides (Partie 4)

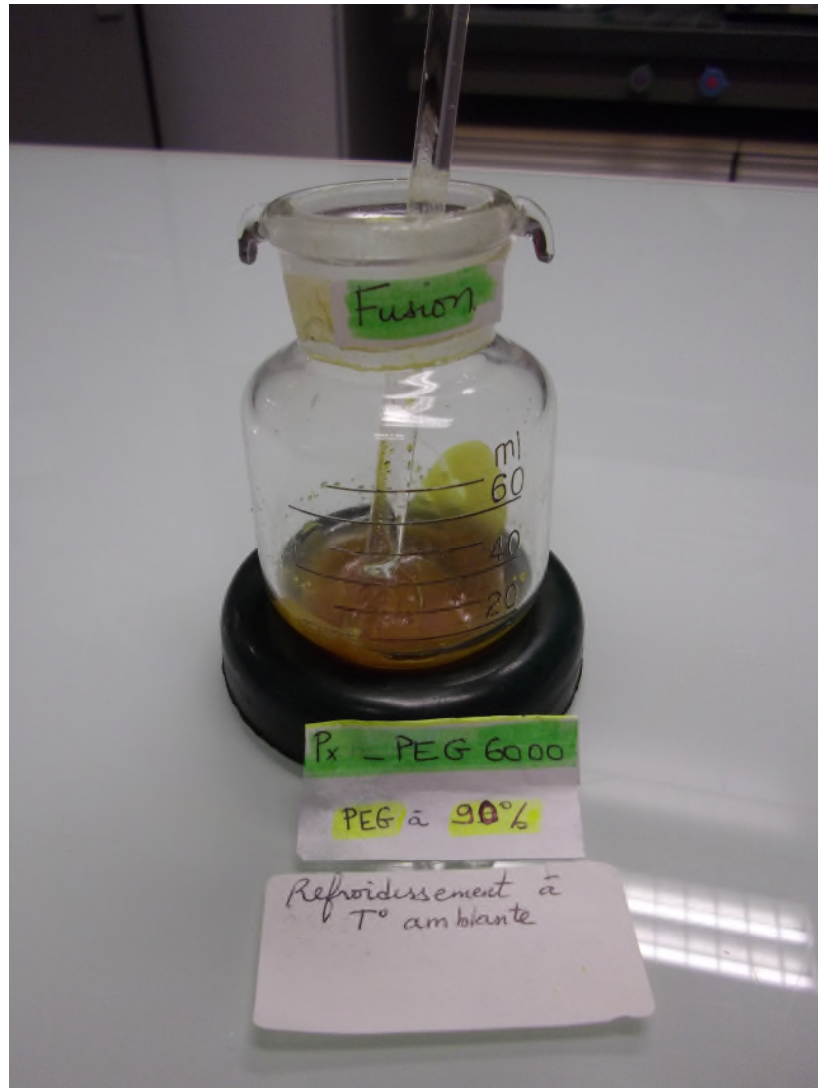
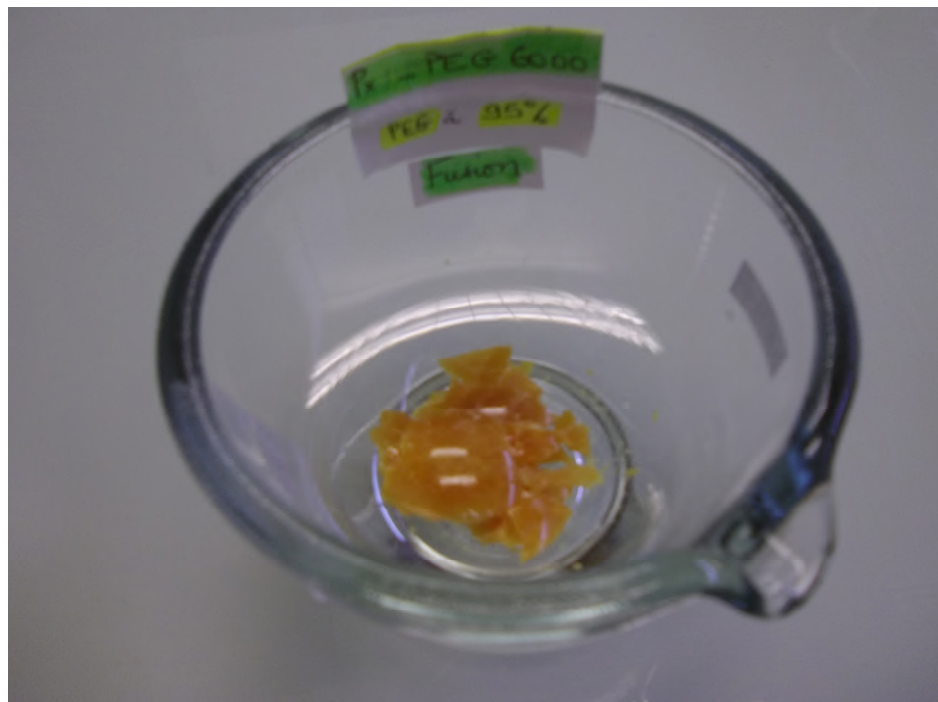
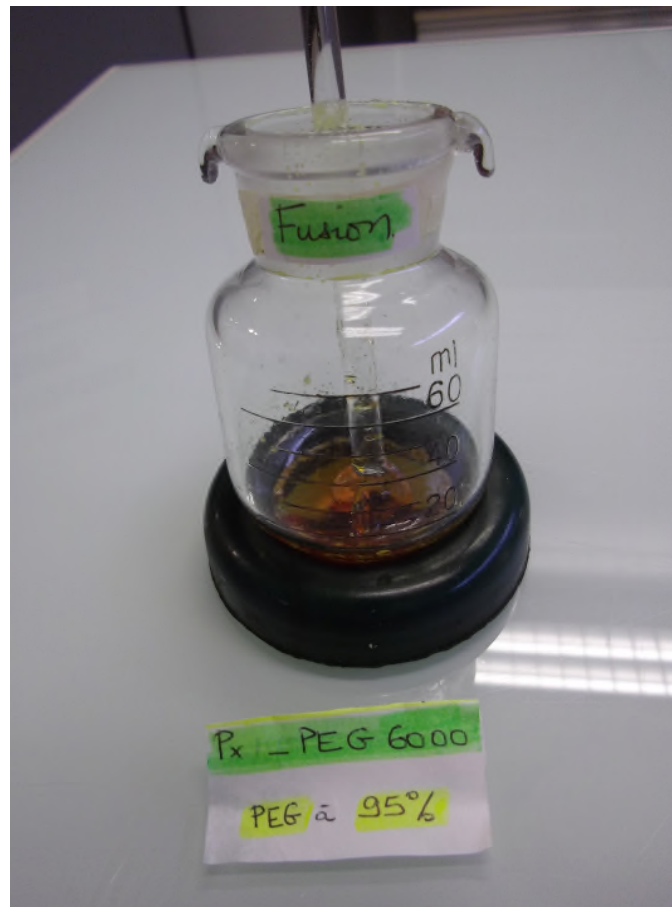


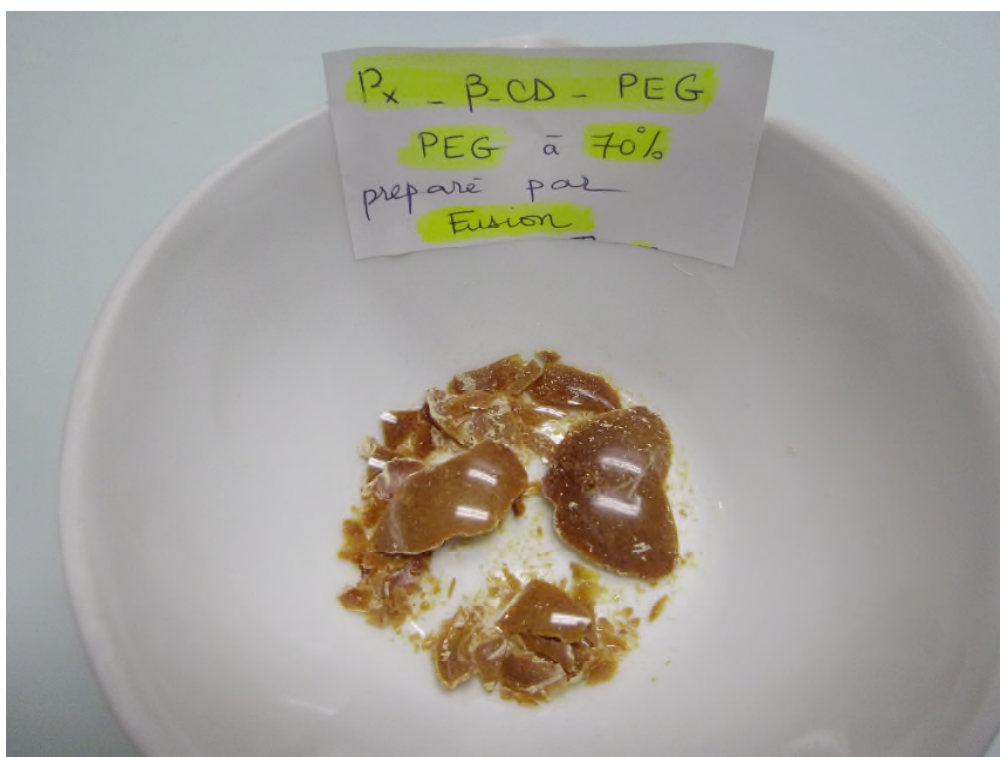
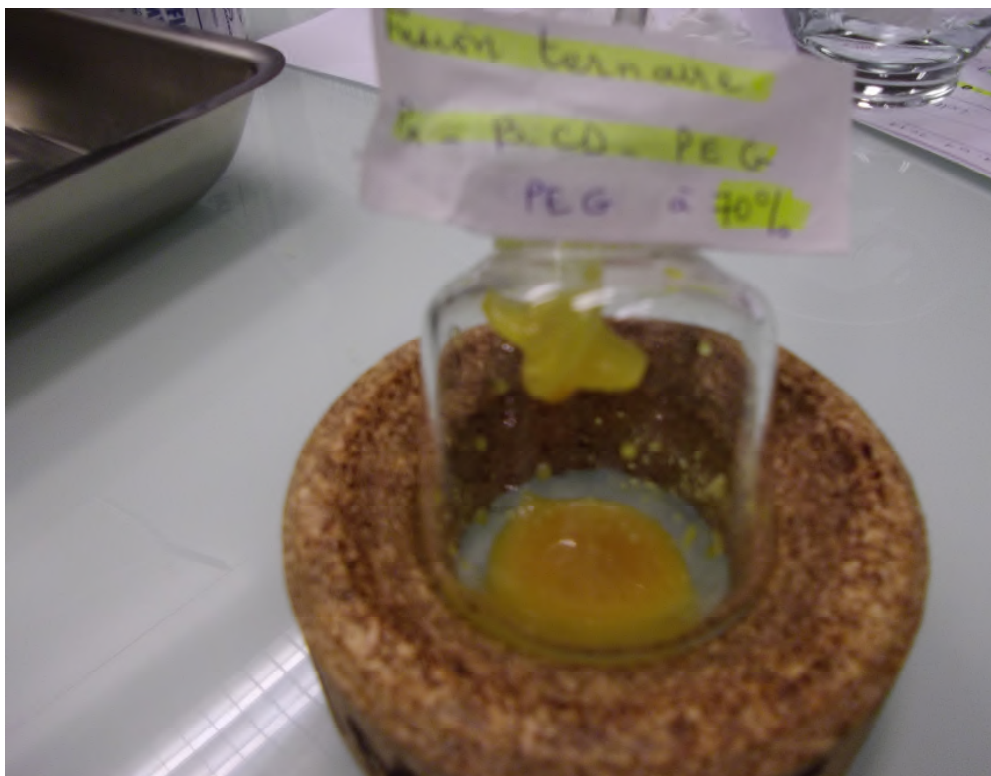
Illustration d'un échantillon d'une **dispersion solide binaire (Px - PEG 6000)** à 90% préparée par **fusion - solidification** (refroidissement à température ambiante)

Annexe 5 : Illustrations des échantillons de dispersions solides (Partie 4)



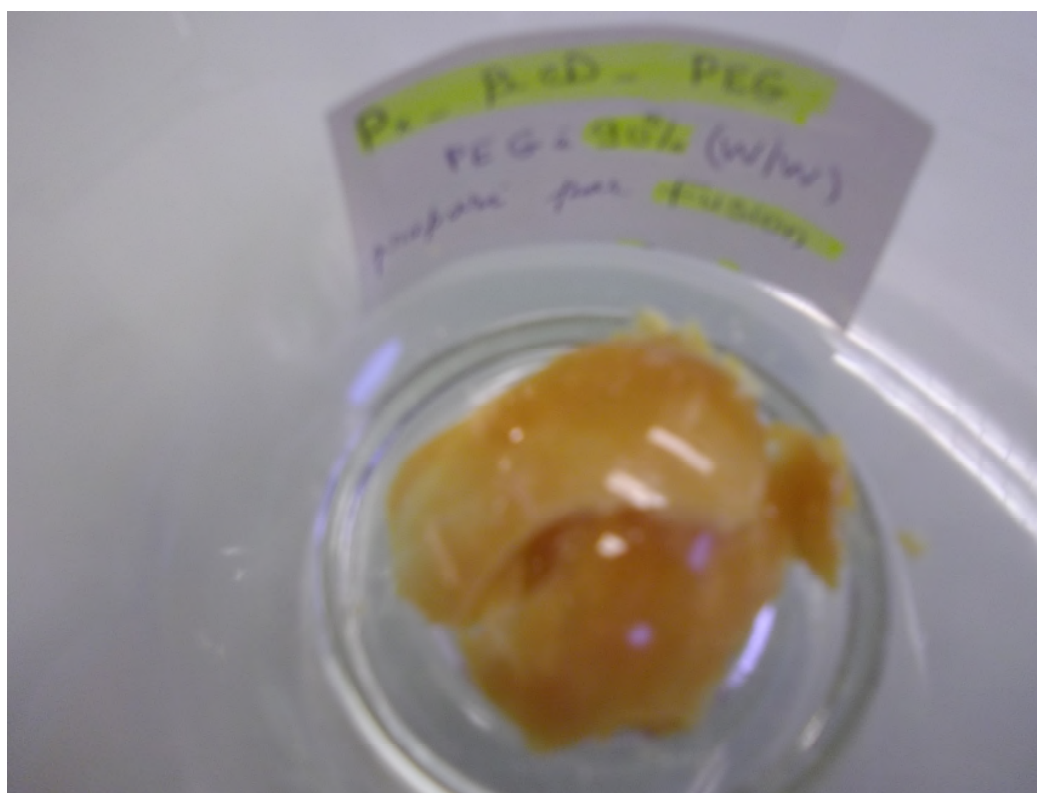
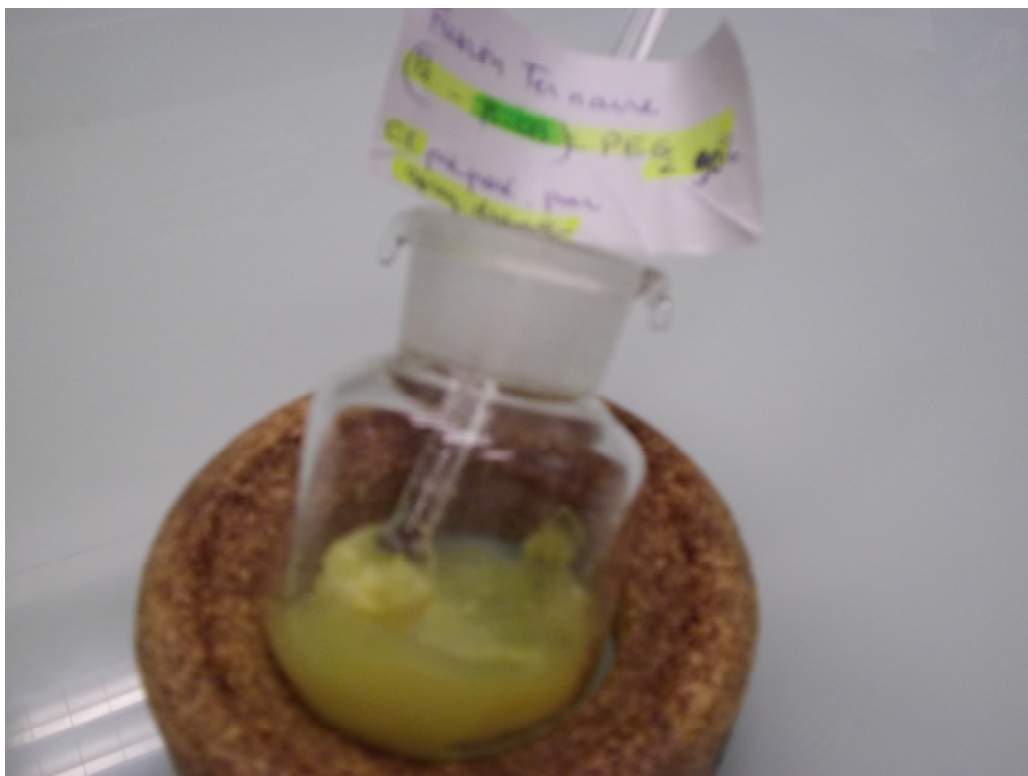
Illustrations d'un échantillon d'une **dispersion solide binaire (Px - PEG 6000)** à 95% préparée par **fusion - solidification** (refroidissement à température ambiante)

Annexe 5 : Illustrations des échantillons de dispersions solides (Partie 4)



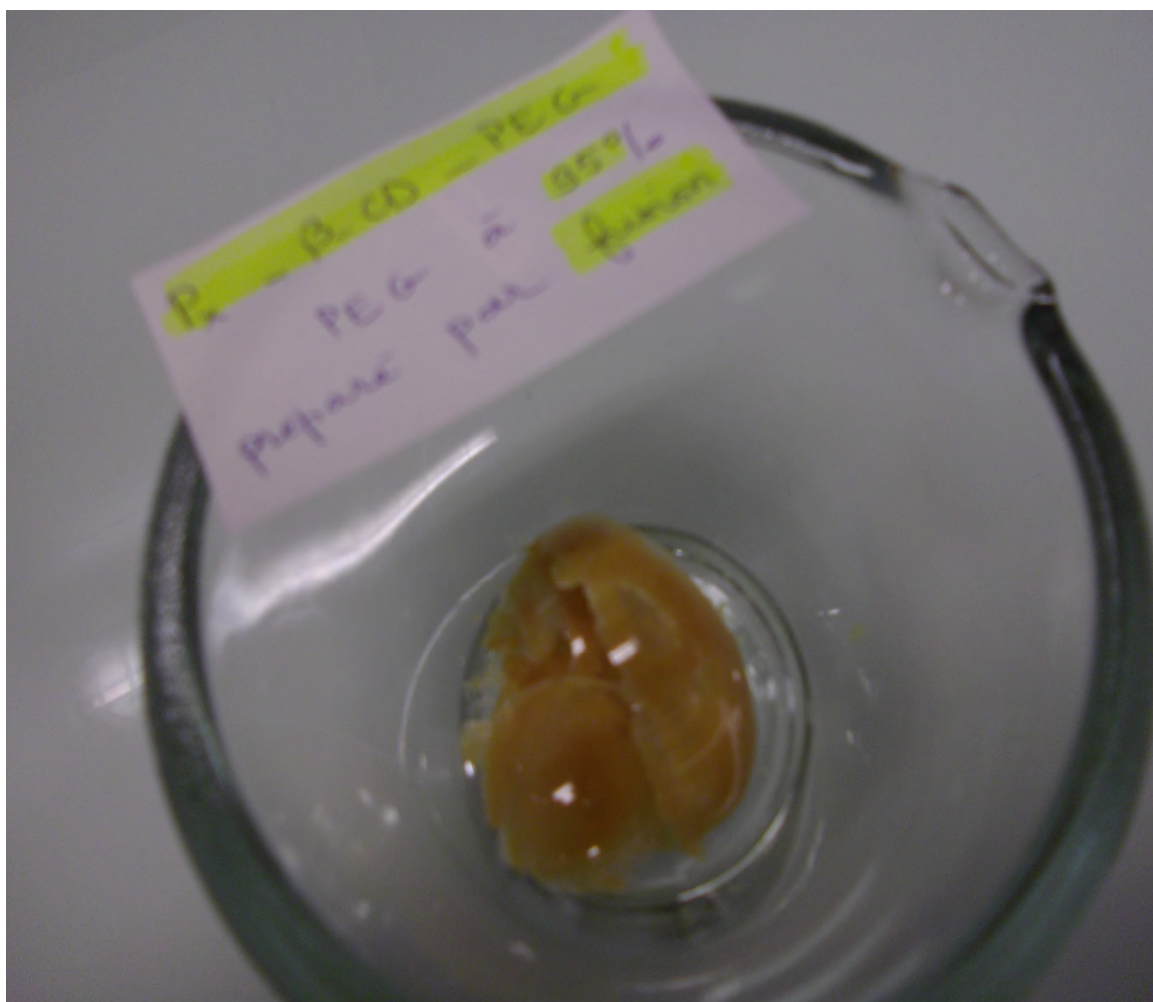
Illustrations d'un échantillon d'une **dispersion solide ternaire (Px - βCD - PEG 6000)** à 70% préparée par **fusion - solidification** (refroidissement à température ambiante)

Annexe 5 : Illustrations des échantillons de dispersions solides (Partie 4)



Illustrations d'un échantillon d'une **dispersion solide ternaire (Px - β CD - PEG 6000)** à 90% préparée par **fusion - solidification** (refroidissement à température ambiante)

Annexe 5 : Illustrations des échantillons de dispersions solides (Partie 4)



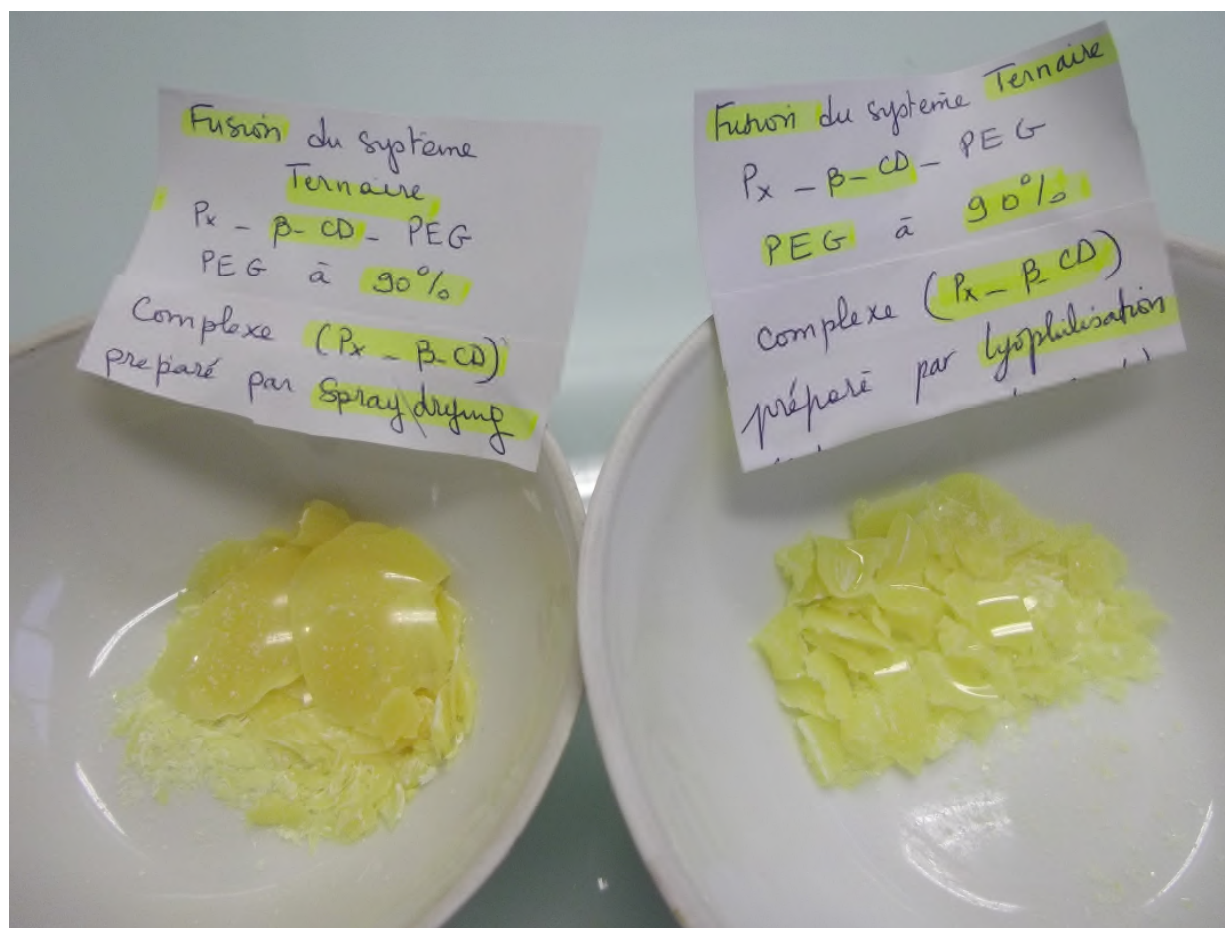
Illustrations d'un échantillon d'une **dispersion solide ternaire (Px - β CD - PEG 6000)** à 95% préparée par **fusion - solidification** (refroidissement à température ambiante)

Annexe 5 : Illustrations des échantillons de dispersions solides (Partie 4)



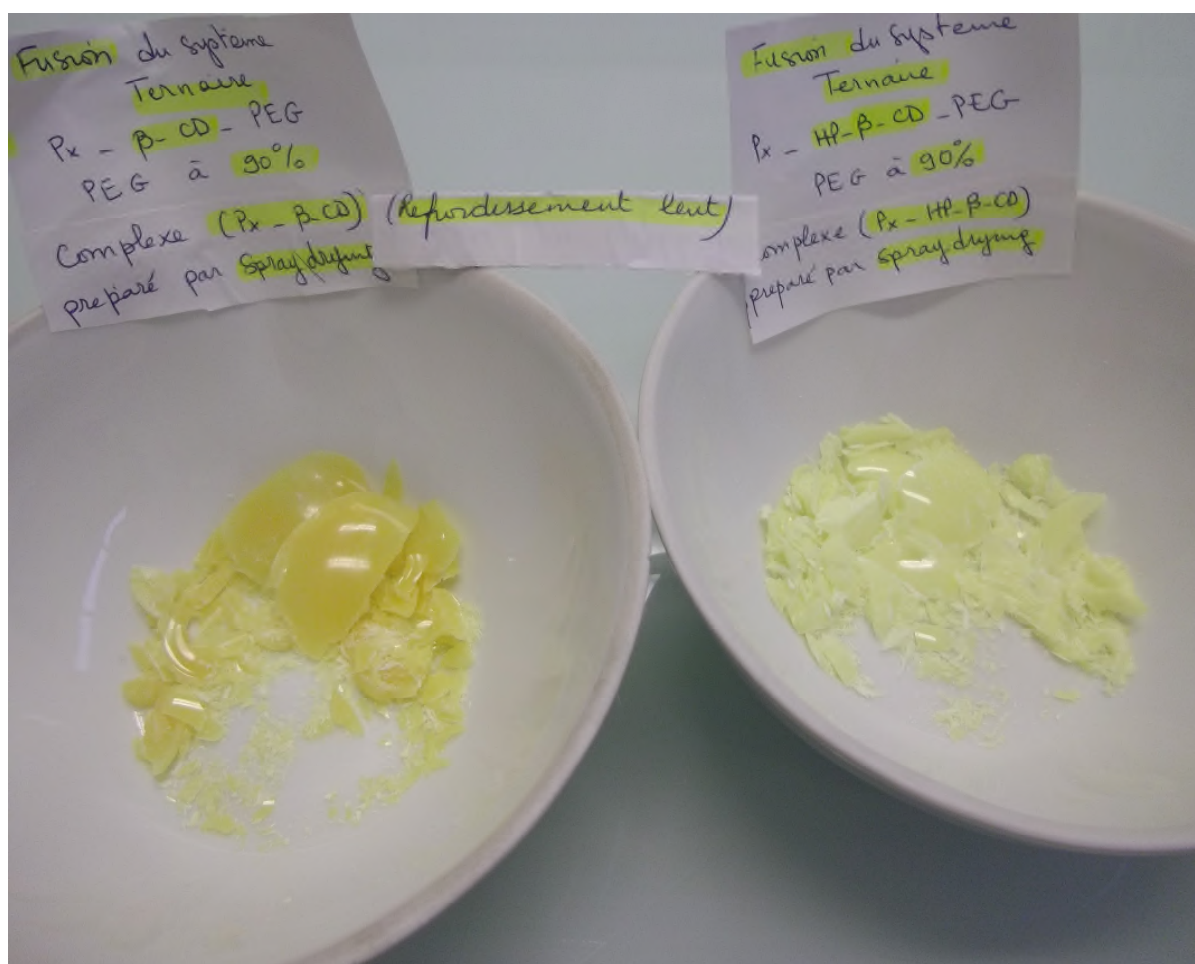
Illustrations des échantillons de **dispersions solides ternaires (Px - β CD - PEG 6000)** à 70%, 90% et 95% préparées par **fusion - solidification** (Refroidissement à température ambiante)

Annexe 5 : Illustrations des échantillons de dispersions solides (Partie 4)



Illustrations de deux (02) échantillons de **dispersions solides ternaires (Px - βCD - PEG 6000) à 90%** préparées par **fusion – solidification** (Refroidissement à température ambiante)
Comparaison entre la méthode de préparation du complexe d'inclusion :
Lyophilisation et Spray-drying

Annexe 5 : Illustrations des échantillons de dispersions solides (Partie 4)



Illustrations de deux (02) échantillons de **dispersions solides ternaires (Px - βCD - PEG 6000 et Px - HP-βCD - PEG 6000) à 90%** préparées par **fusion – solidification**
Comparaison entre les deux cyclodextrines utilisées pour la préparation du complexe d'inclusion par spray-drying : **βCD** et **HP-βCD**

ANNEXE 6

Annexe 6 : Caractérisation physico-chimique des dispersions solides binaires et ternaires (Partie 4)

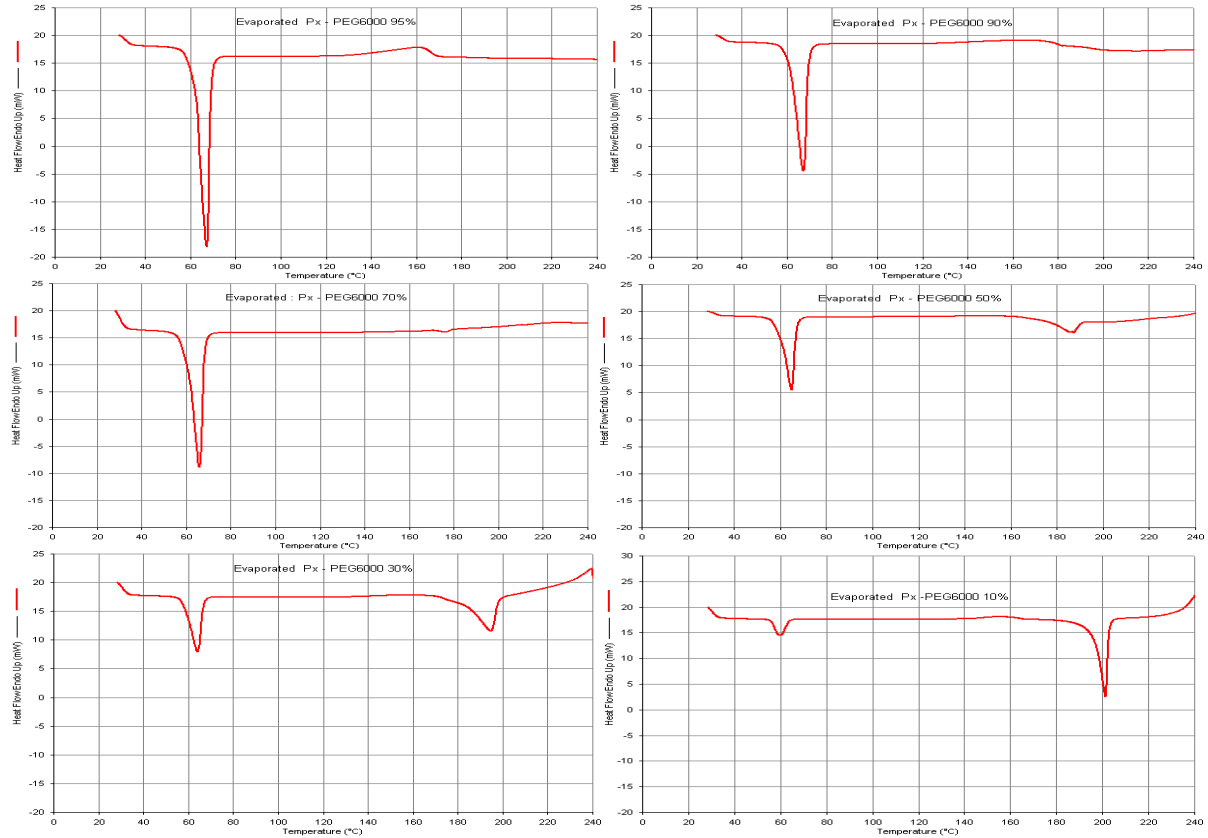


Figure 15 : Courbes DSC des évaporés binaires à 10%, 30%, 50%, 70%, 90% et 95% en PEG 6000

Annexe 6 : Caractérisation physico-chimique des dispersions solides binaires et ternaires (Partie 4)

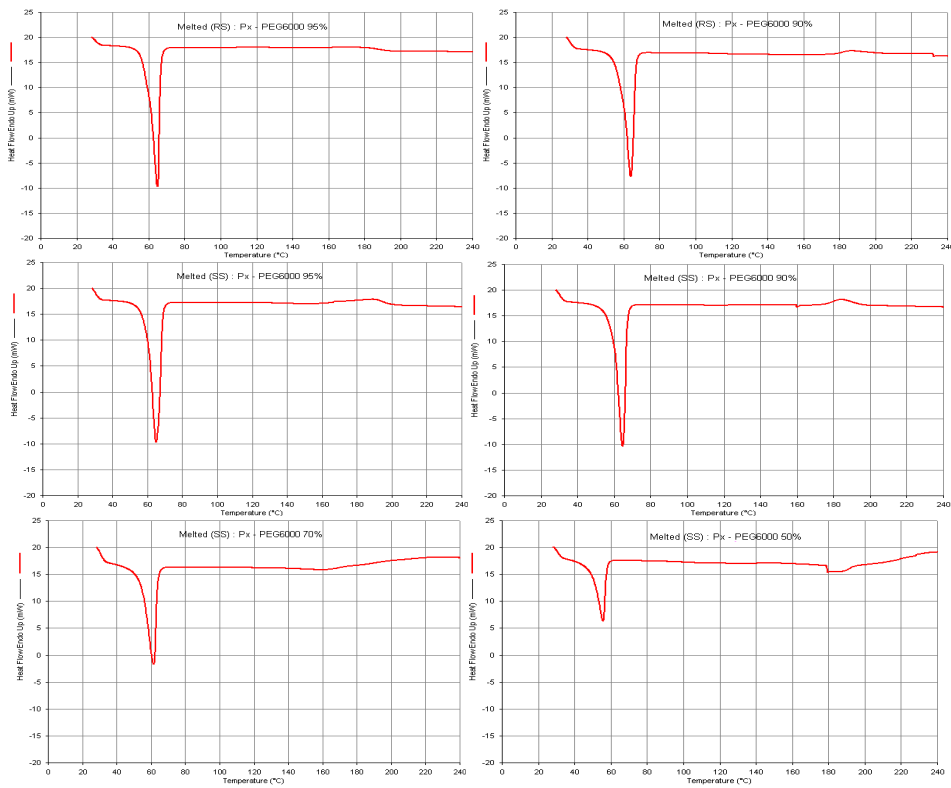


Figure 16 : Courbes DSC des Co-fondus binaires à 50%, 70%, 90 et 95% en PEG 6000 (SS) : Solidification lente, (RS) : Solidification rapide

Annexe 6 : Caractérisation physico-chimique des dispersions solides binaires et ternaires (Partie 4)

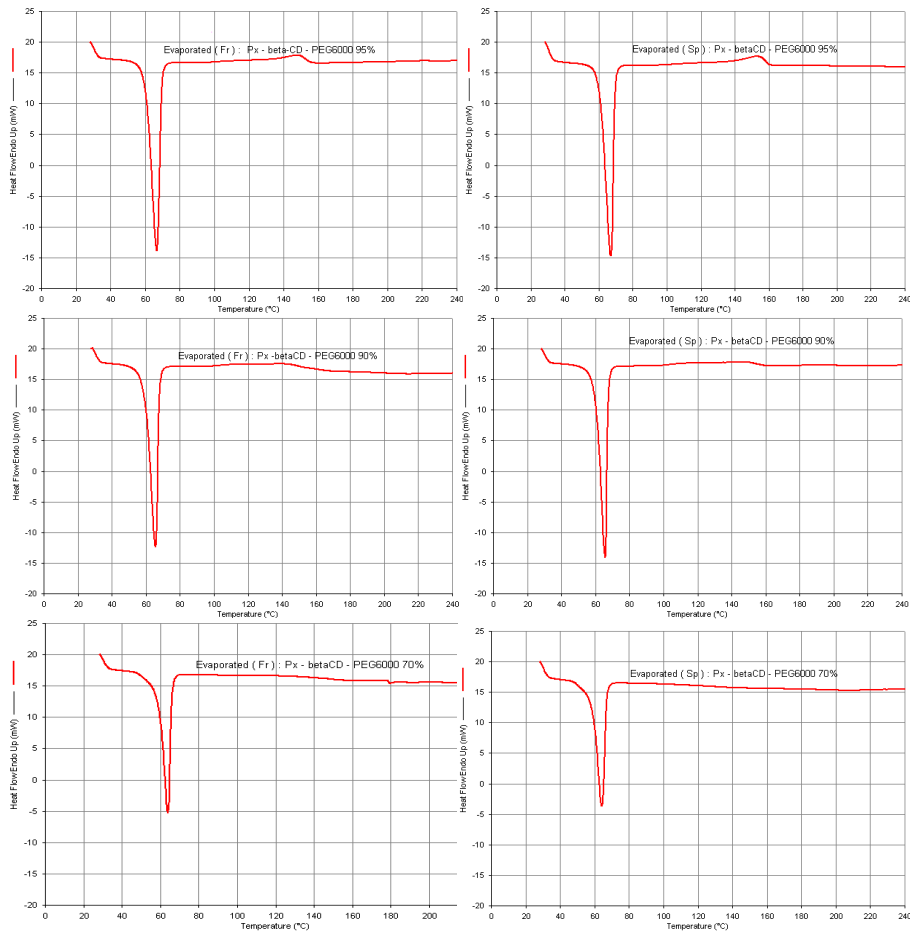


Figure 17 : Courbes DSC des évaporés ternaires à 70%, 90% and 95% en PEG 6000 (Fr): Lyophilisat Px - β CD, (Sp): Spray-dried Px - β CD

Annexe 6 : Caractérisation physico-chimique des dispersions solides binaires et ternaires (Partie 4)

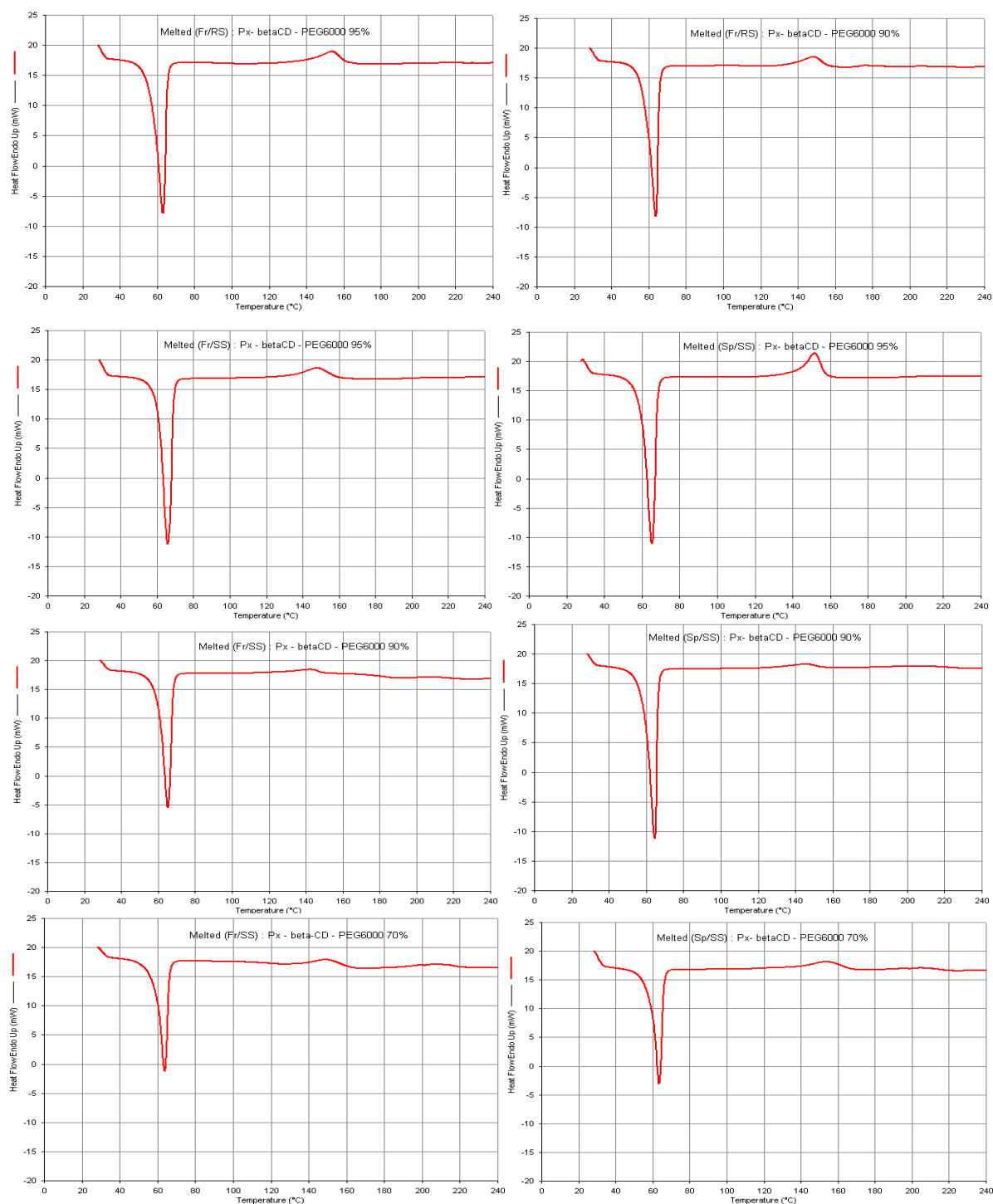


Figure 18 : Courbes DSC des Co-fondus ternaires à 70%, 90% and 95% en PEG 6000
(Fr): Lyophilisat Px - β CD, (Sp): Spray-dried Px - β CD
(SS): solidification lente, (RS): solidification rapide

Annexe 6 : Caractérisation physico-chimique des dispersions solides binaires et ternaires (Partie 4)

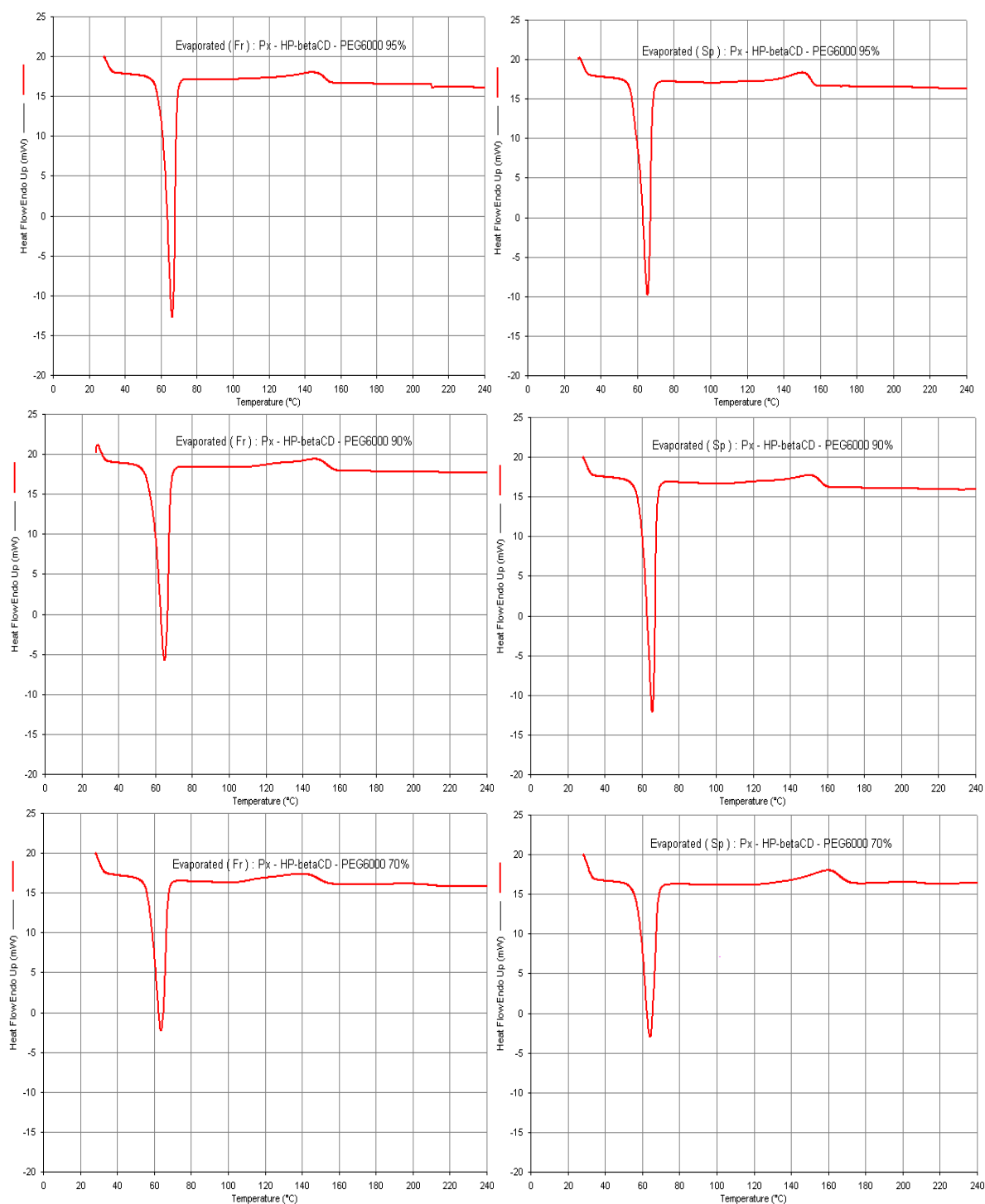


Figure 19 : Courbes DSC des évaporés ternaires à 70%, 90% and 95% en PEG 6000
(Fr): Lyophilisat Px - HPβCD, (Sp): Spray-dried Px - HPβCD

Annexe 6 : Caractérisation physico-chimique des dispersions solides binaires et ternaires (Partie 4)

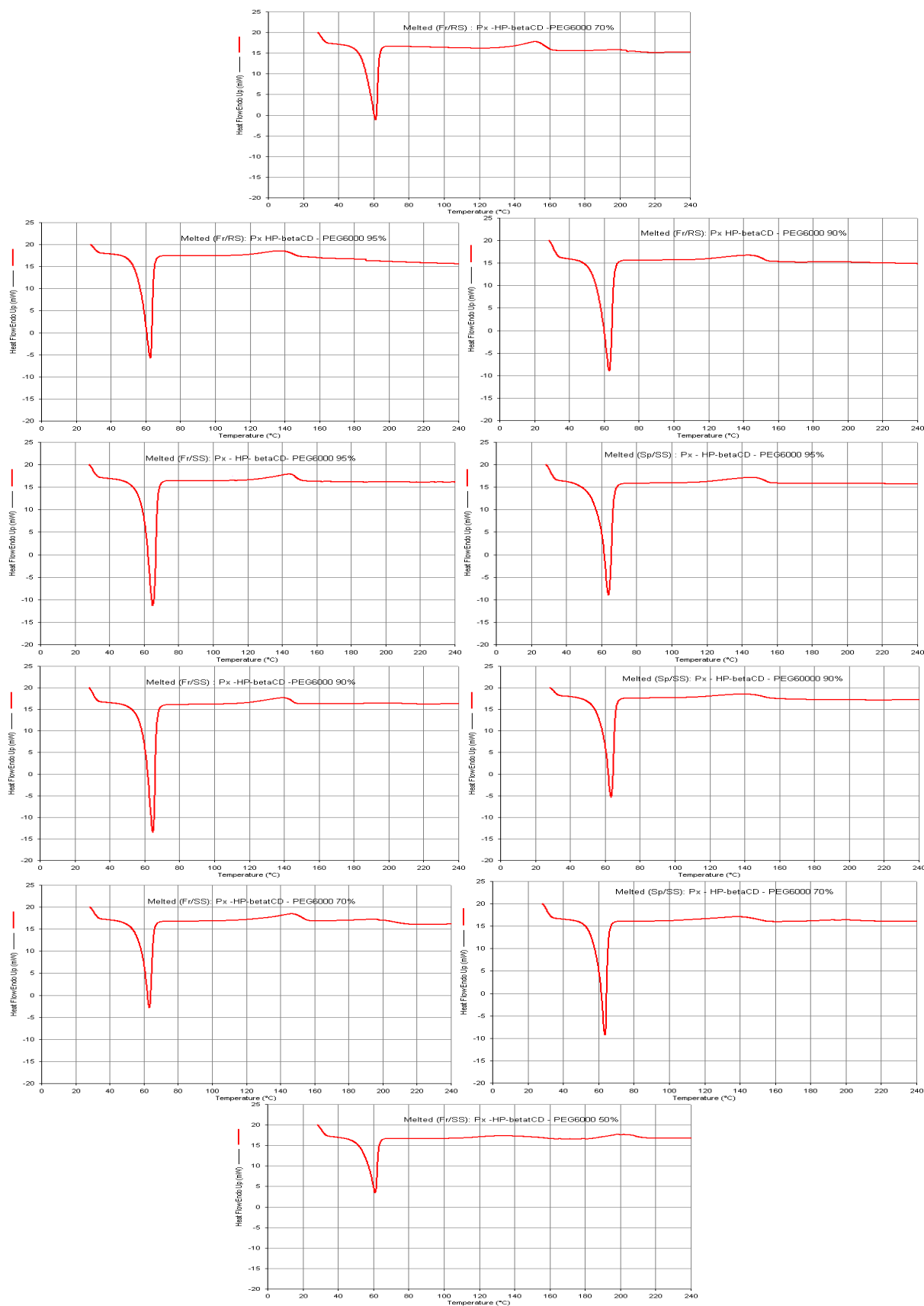


Figure 20 : Courbes DSC des Co-fondus ternaires à 70%, 90% and 95% en PEG 6000
 (Fr): Lyophilisat Px - HP β CD, (Sp): Spray-dried Px - HP β CD
 (SS): solidification lente, (RS): solidification rapide

Annexe 6 : Caractérisation physico-chimique des dispersions solides binaires et ternaires (Partie 4)

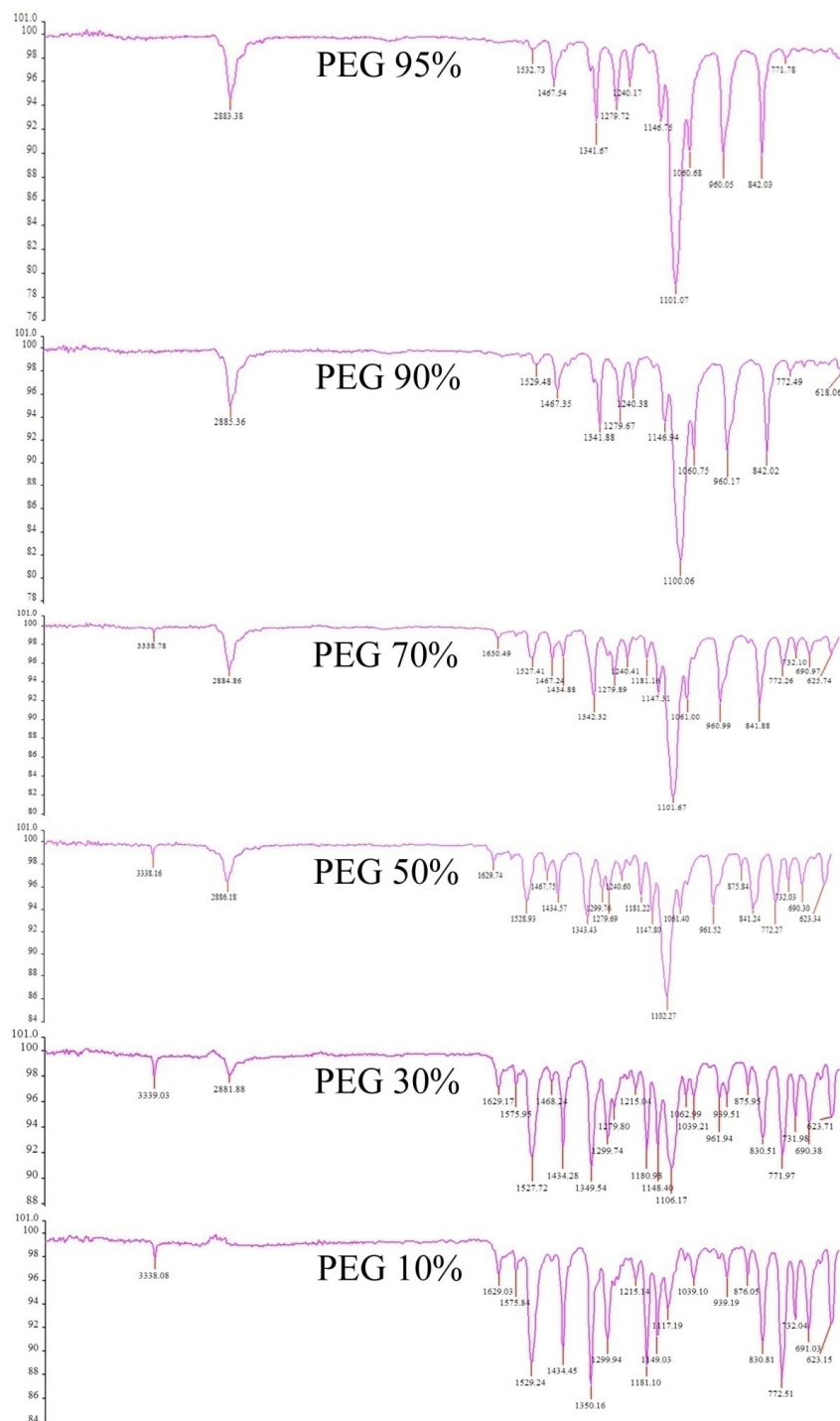


Figure 24 : Spectres IR-TF des évaporés binaires à 10%, 30%, 50%, 70%, 90% et 95% en PEG 6000

Annexe 6 : Caractérisation physico-chimique des dispersions solides binaires et ternaires (Partie 4)

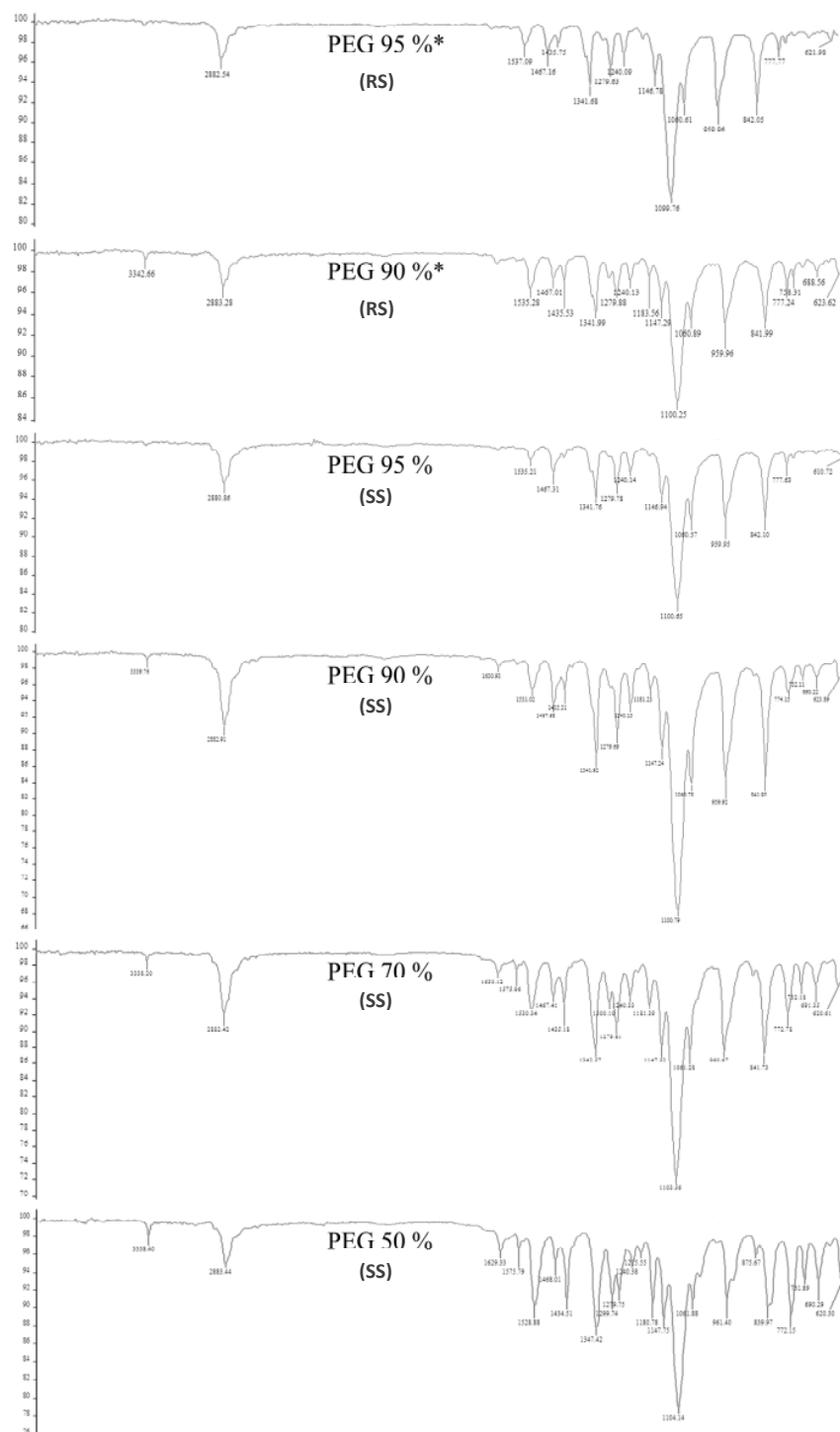


Figure 25 : Spectres IR-TF des Co-fondus binaires à 50%, 70%, 90% et 95% en PEG 6000 (SS) : Solidification lente, (RS) : Solidification rapide

Annexe 6 : Caractérisation physico-chimique des dispersions solides binaires et ternaires (Partie 4)

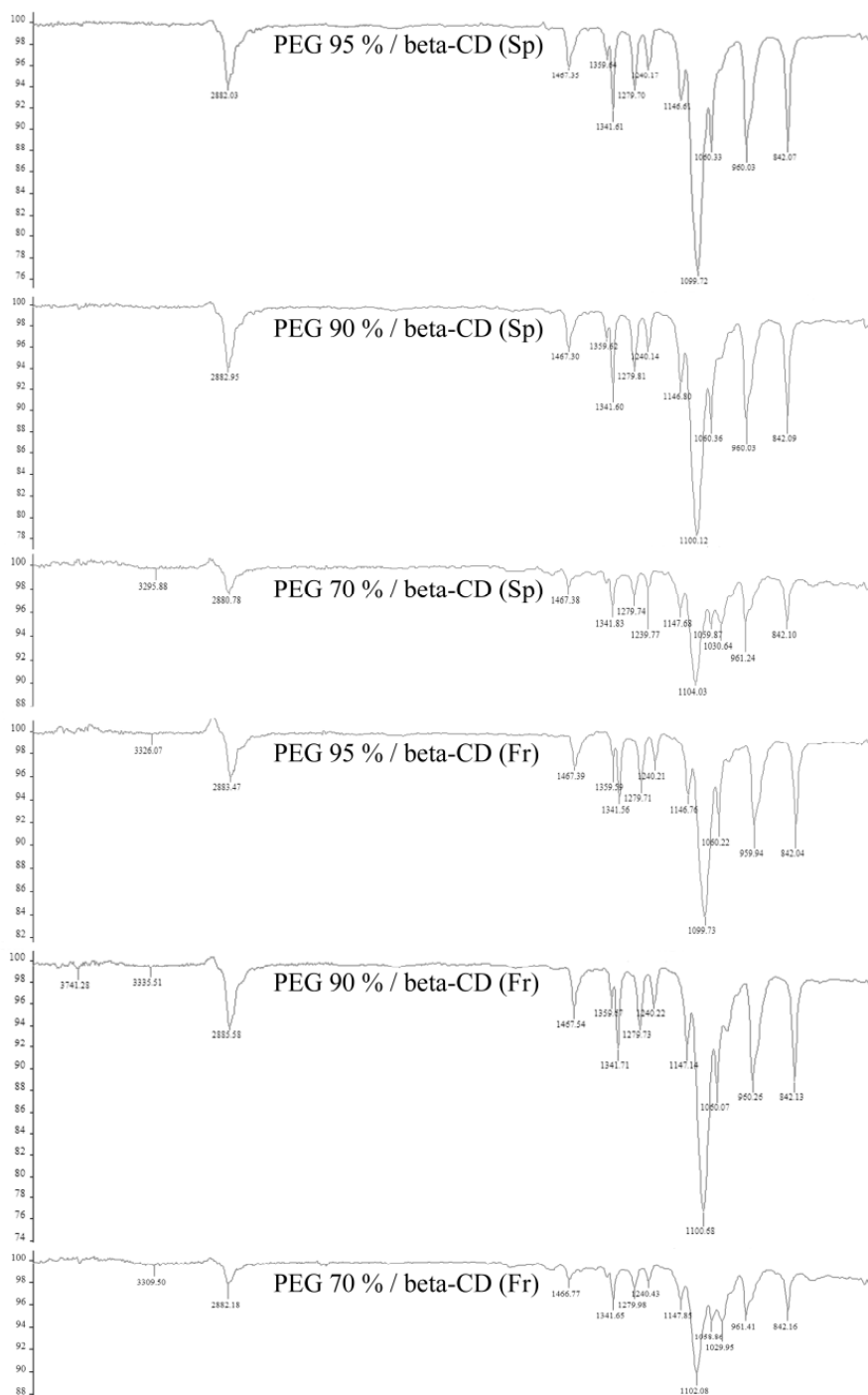


Figure 26 : Spectres IR-TF des évaporés ternaires à base de β -CD et du PEG 6000 à 70%, 90% et 95%, (Fr) : Lyophilisat, (Sp) : Spray-dried

Annexe 6 : Caractérisation physico-chimique des dispersions solides binaires et ternaires (Partie 4)

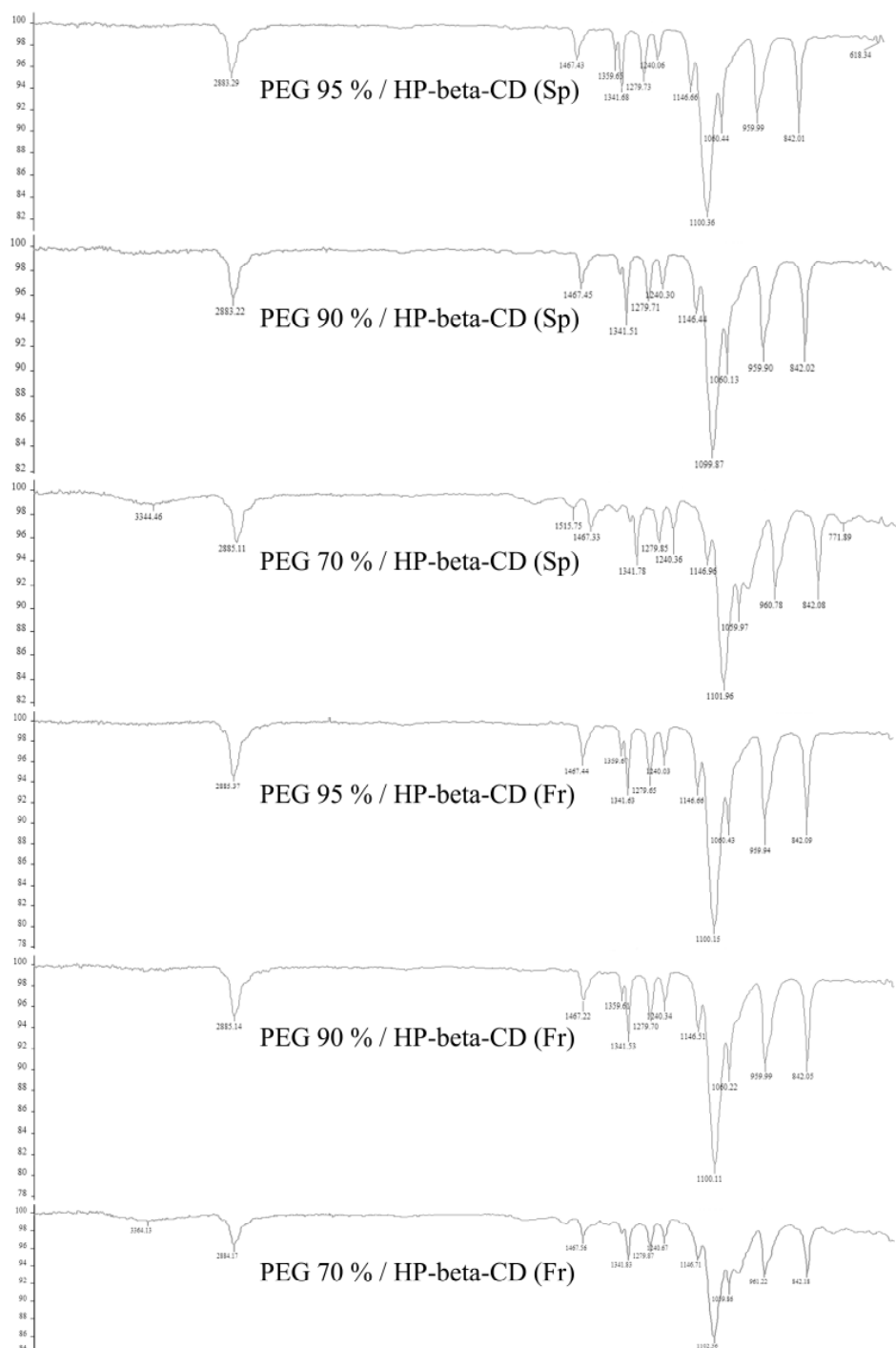


Figure 27 : Spectres IR-TF des évaporés ternaires à base de HP - β -CD et du PEG 6000 à 70%, 90% et 95%, (Fr) : Lyophilisat, (Sp) : Spray-dried

Annexe 6 : Caractérisation physico-chimique des dispersions solides binaires et ternaires (Partie 4)

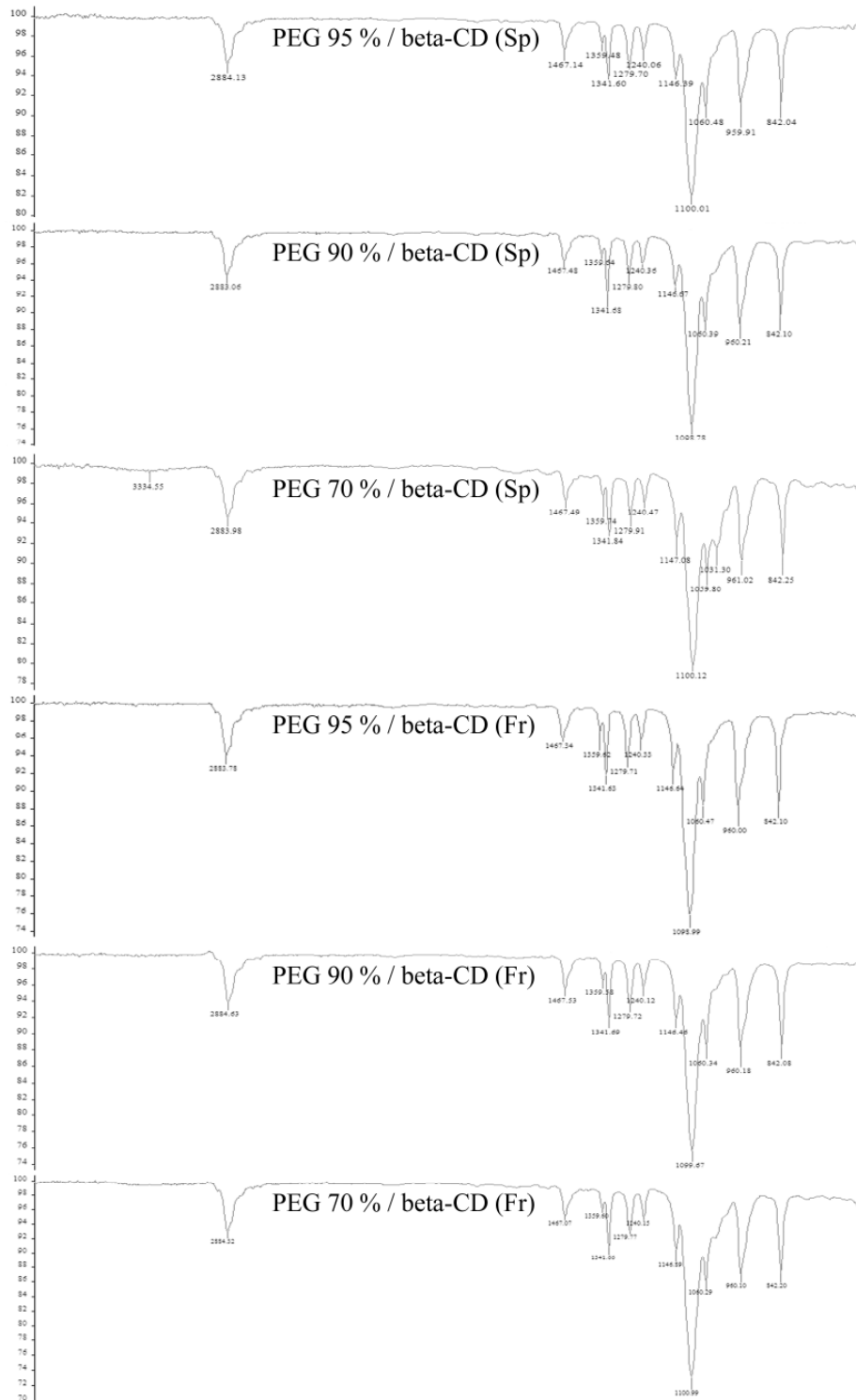


Figure 28 : Spectres IR-TF des Co-fondues ternaires à base de β -CD et du PEG 6000 à 70%, 90% et 95%, (Fr) : Lyophilisat, (Sp) : Spray-dried (Solidification lente)

Annexe 6 : Caractérisation physico-chimique des dispersions solides binaires et ternaires (Partie 4)

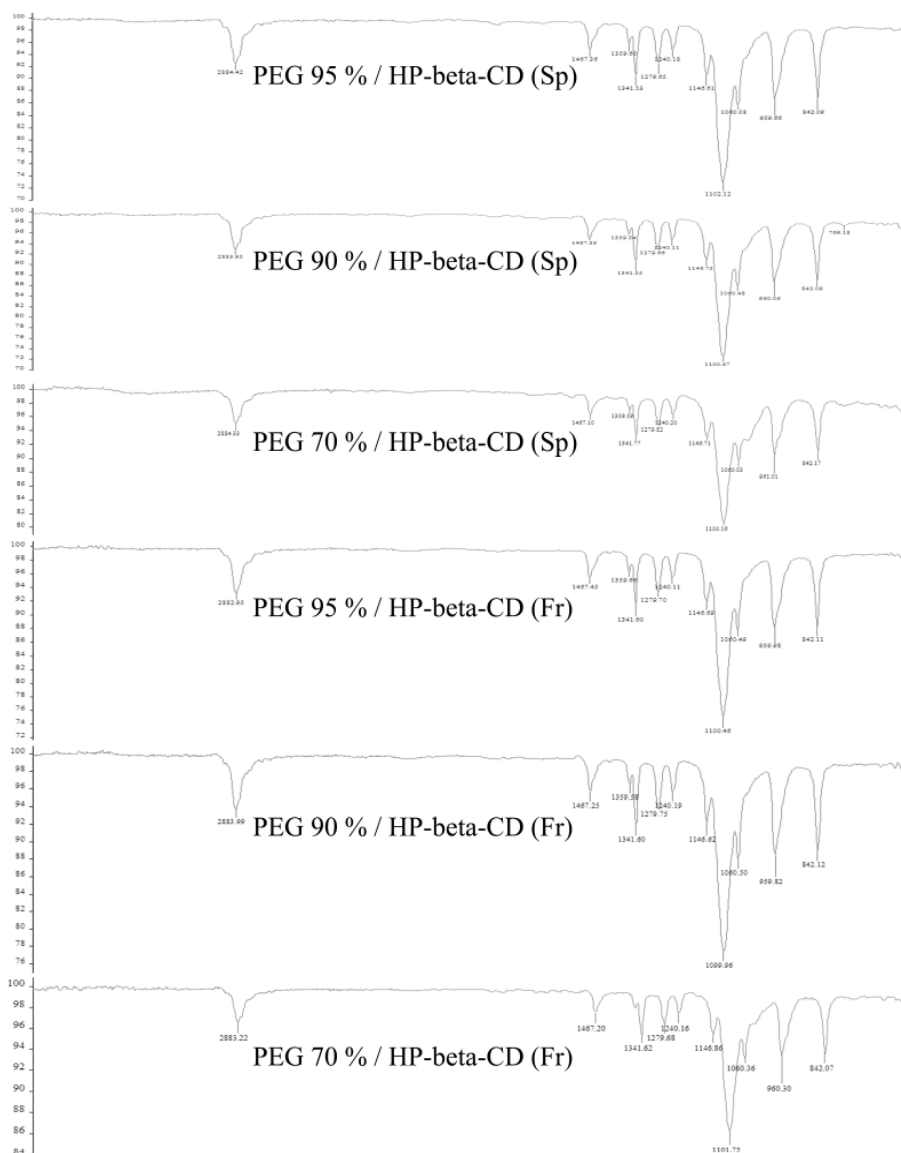


Figure 29 : Spectres IR-TF des Co-fondues ternaires à base de HP - β -CD et du PEG 6000 à 70%, 90% et 95%, (Fr) : Lyophilisat, (Sp) : Spray-dried (Solidification lente)

ANNEXE 7

Annexe 7 : Glossaire de pharmacologie générale

Absorption : Processus par lequel le médicament passe de son milieu d'administration dans le sang. Synonyme : résorption. La quantité de produit absorbé se caractérise par un coefficient de résorption.

Un médicament est d'autant mieux absorbé qu'il est faiblement ionisé. Les acides faibles sont absorbés dans le milieu gastriques (milieu acide) et les bases faibles dans le milieu intestinal (milieu alcalin). Quatre types de transport permettent l'absorption :

- Transport passif (diffusion simple) ;
- Diffusion facilitée ;
- Transport actif (nécessite de l'énergie A.T.P.) ;
- Endocytose / Exocytose.

Aire sous la courbe (A.S.C.) ou « **Area Under Curve (A.U.C.)** » : L'aire sous la courbe trace la concentration par rapport au temps. Elle correspond à l'intégrale de la concentration plasmatique sur un intervalle de temps défini. Elle correspond à la biodisponibilité. Dans le cas de la voie intraveineuse, le médicament est directement dans le sang et donc, l'aire sous la courbe représente 100% de biodisponibilité.

A.T.P. (Adénosine Tri-Phosphate) : Molécule énergétique produite per les cellules permettant des réactions enzymatiques au sein de l'organisme.

AVK (Anti vitamines K) : Les anti vitamines K font partie de la famille des anticoagulants oraux. Un anticoagulant est un médicament qui empêche le sang de coaguler, et donc empêche la formation de caillots dans les vaisseaux sanguins.

Biodisponibilité : Quantité de médicament qui atteint le tissu sanguin à partir de sa voie d'administration. La biodisponibilité s'exprime en pourcentage. On l'obtient en comparant les aires sous la courbe (A.S.C.) obtenues après administration du même médicament par voie intraveineuse (I.V.) et par une autre voie (le plus souvent orale). Par définition, la biodisponibilité par la voie intraveineuse est de 100%. La biodisponibilité d'un médicament peut être modifiée (réduite ou augmentée) par les aliments. Exemples : Réduite (captopril, tétracyclines), Augmentée (propranolol) et Inchangée (amoxicilline).

Annexe 7 : Glossaire de pharmacologie générale

Biotransformation (voir aussi « Cytochrome P450 ») : Un médicament subit dans l'organisme plusieurs transformations chimiques. Elle aboutit à la création d'une molécule active ou inactive. Parfois, certains médicaments ne subissent pas de biotransformation et sont éliminés tels quels. Il existe deux grands types de biotransformation appelés « Phase I » et « Phase II » :

- Phase I : réactions d'oxydation (nécessite de l'oxygène) très souvent dépendantes du Cytochrome P450 hépatique.
- Phase II : réactions de conjugaisons. On distingue la glucuroconjugaison (acide glucuronique ; mécanisme principal), la glycoconjugaison (glycine), la sulfoconjugaison (sulfate)....

Cible des médicaments : Les médicaments agissent sur environ 500 cibles répertoriés à ce jour. Ces cibles se répartissent de la manière suivante :

- Récepteurs membranaires (217 cibles) ;
- Enzymes (135 cibles) ;
- Hormones et facteurs de croissance (53 cibles) ;
- Cibles non déterminées (34 cibles) ;
- Canaux ioniques (24 cibles) ;
- ADN (10 cibles).

Dans l'avenir, les recherches montrent que les futurs médicaments pourraient agir sur d'autres nouvelles cibles encore inconnues. Ils n'existerait plus de 6500.

Clairance rénale : Quantité virtuelle de sang totalement épurée d'une substance donnée par minute. La clairance de la créatinine est de 120 ml/min (c'est-à-dire que 120 ml de sang sont totalement débarrassés de la protéine musculaire créatinine à chaque minute sur un volume sanguin total d'environ cinq litres).

La fonction rénale est évaluée par la clairance de la créatinine selon la formule de Cockcroft et Gault :

$$\text{Cl créatinine (ml/min)} = \frac{(140 - \text{âge}) \times \text{poids (Kg)}}{0,81 \times \text{créatinine (micromole/l)}} \\ (0,96 \text{ pour la femme})$$

La clairance est aussi reliée au volume de distribution V_d et à la demi-vie :

$$\text{Cl} = \frac{0,693 \times V_d}{t_{1/2}}$$

Annexe 7 : Glossaire de pharmacologie générale

Coefficient d'extraction hépatique : Coefficient variant de 0 (extraction nulle) à 1 (extraction totale) permettant de quantifier la quantité de médicament « perdu » au niveau hépatique (effet de premier passage hépatique) après son absorption intestinale.

Coefficient d'extraction intestinale : Coefficient variant de 0 (extraction nulle) à 1 (extraction totale) permettant de quantifier la quantité de médicament absorbé au niveau intestinal.

Coefficient d'extraction pulmonaire : Coefficient variant de 0 (extraction nulle) à 1 (extraction totale) permettant de quantifier la quantité de médicament « perdu » au niveau pulmonaire après son absorption intestinale puis son éventuel premier passage hépatique.

Coefficient de partage : Coefficient reflétant la liposolubilité d'une molécule. Il s'obtient en faisant le rapport entre les concentrations d'une molécule dissoute dans deux solvants non miscibles.

Compartiment : Espace biologique (tissu) où le médicament est distribué d'une manière homogène. En pharmacocinétique, le compartiment est un volume virtuel dans lequel le médicament se distribuerait. Le volume sanguin est appelé premier compartiment. Le reste de l'organisme est appelé deuxième compartiment.

Concentration maximale (C_{max}) : Exprime la concentration plasmatique maximale obtenue après une prise d'un médicament donné.

Constante d'élimination (K_{el}) : Fraction du médicament présente à chaque moment qui sera éliminée par unité de temps.

Cycle entéro-hépatique : Après une prise orale, le médicament est absorbé au niveau des intestins pour parvenir (via la veine porte) au foie. Il peut alors subir une transformation (« conjugaison »). Les métabolites obtenus peuvent être éliminés par les voies biliaires dans les intestins pour être de nouveau absorbés. Le cycle entéro-hépatique est alors bouclé. A noter qu'un médicament qui subit ce cycle est éliminé lentement.

Annexe 7 : Glossaire de pharmacologie générale

Cytochrome P450 : Les cytochromes P450 sont des enzymes hépatiques responsables de la biotransformation de composés exogènes ou endogènes. La principale fonction des enzymes du Cytochrome P450 est de catalyser (accélérer, favoriser) la première réaction chimique de la métabolisation des médicaments appelée « réaction d'oxygénation ». Il existe plusieurs iso-enzymes du Cytochrome P450. C'est-à-dire qu'il y a plusieurs variantes de cette enzyme différentes les unes des autres par des détails de structure moléculaire. Les P450 métabolisant les médicaments sont réunis en 4 familles : CYP 1, CYP 2, CYP 3 et CYP 4.

Demi-vie plasmatique ($t_{1/2}$) : Temps nécessaire pour que 50% de la concentration plasmatique d'une substance donnée soient éliminés. Elle est d'autant plus faible que le volume de distribution est petit ou que la clairance totale est importante. Elle permet de définir le nombre de prise(s) journalière(s) d'un médicament pour obtenir une concentration plasmatique recherchée.

Distribution : Après avoir été absorbé, un médicament se distribue d'abord dans le volume sanguin (distribution plasmatique) puis dans les tissus (distribution tissulaire). La distribution se caractérise par le volume de distribution (V_d). La distribution dépend de :

- Fixation du principe actif sur les protéines sanguines (albumine, alphaglycoprotéine, orosomucoïde, des lipoprotéines, les gammaglobulines.) ;
- Caractères physico-chimiques du médicament ;
- Vascularisation des tissus ;
- Affinité des tissus pour le médicament ;

Dosage : Quantité de principe actif contenu dans une forme galénique.

Dose thérapeutique : Appelée également dose usuelle. C'est la dose de principe actif nécessaire pour obtenir un effet thérapeutique recherché.

Dose toxique : Appelée également dose maximale. C'est la dose de principe actif nécessaire pour faire apparaître des effets toxiques.

Effet de premier passage hépatique : Après absorption intestinale, le produit actif rejoint le foie par la circulation portale (veine porte). Il peut éventuellement subir un effet de premier passage hépatique : une certaine quantité du produit est métabolisé par les enzymes hépatiques (notamment les protéines du Cytochrome P450) en métabolites actifs et/ou inactifs.

Annexe 7 : Glossaire de pharmacologie générale

Élimination : C'est la sortie d'un médicament de l'organisme soit sous forme d'origine, soit sous forme de métabolite(s) actif(s) et/ou inactif(s). Après avoir été métabolisé, un médicament sera éliminé essentiellement par les voies hépatique (bile pour les médicaments liposolubles) et/ou rénale (urines pour les médicaments hydrosolubles). Un médicament volatil (ex : anesthésiants..) sera plutôt éliminé par la voie pulmonaire. D'autres voies d'élimination existent (voies secondaires) : la sueur, les larmes, le lait maternel et l'air expiré.

Élimination hépatique : L'élimination hépatique se fait via la bile principalement pour les métabolites liposolubles.

Élimination rénale : Les reins doivent être fonctionnels pour assurer l'élimination des médicaments. En cas d'insuffisance rénale, tous ceux qui sont éliminés par cette voie auront leurs concentrations plasmatiques augmentées avec des risques toxiques. Le fonctionnement rénal repose sur les néphrons (unité élémentaire rénale) au nombre de 1 million par rein. Le néphron fonctionne selon trois mécanismes : filtration glomérulaire, sécrétion et réabsorption tubulaire. La sécrétion tubulaire d'un médicament sous forme libre et ionisée n'a lieu qu'au niveau des tubes contournés proximaux. La réabsorption n'intervient que pour les médicaments liposolubles et non ionisés au niveau des tubes contournés proximaux et distaux. Elle dépend du débit et du pH urinaires.

Endocytose : L'endocytose est un processus au cours duquel la membrane d'une cellule enveloppe et absorbe une particule (voir passage membranaire).

Endogène : Origine de l'intérieur de l'organisme.

Enzyme : Protéine catalytique qui stimule des réactions chimiques.

Excipient : Substance sans action pharmacologique, qui mélangée au principe actif, donne la forme pharmaceutique du médicament. Les excipients facilitent l'administration, l'efficacité, la stabilité, la conservation du principe actif.

Exocytose : L'exocytose est le phénomène durant lequel une cellule de l'organisme rejette une partie de son contenu dans le reste du corps. Techniquement, une cellule contient divers éléments dans son cytoplasme (substance entourant le noyau de la cellule). Lors de l'exocytose, certains de ces éléments cytoplasmiques vont migrer vers la membrane de la cellule. La membrane va alors les englober puis les rejeter à l'extérieur de la cellule. L'exocytose peut avoir différents objectifs, entre autres celui d'expulser les déchets cellulaires.

Exogène : Origine extérieure à l'organisme

Fibroblastes : Le terme « fibroblaste » désigne un type de cellule. Elle est souvent surnommée « cellule de soutien ». Les fibroblastes sont présents dans les nombreux tissus conjonctifs de l'organisme. On trouve ainsi des fibroblastes dans la peau, les tendons, le cartilage, etc. Les fibroblastes jouent des rôles importants dans l'organisme. Elles sont en particulier chargées de synthétiser les autres cellules formant les tissus conjonctifs. Elles sécrètent aussi des substances luttant contre certains virus et bactéries. Le rôle des fibroblastes est essentiel dans la réparation des lésions traumatiques, inflammatoires ou autres ; devenant alors mobiles et contractiles (myofibroblastes), ils permettent la cicatrisation des plaies.

Forme libre : Dans le sang, un principe actif circulant seul (fraction libre), c'est-à-dire non lié à une protéine plasmatique, peut atteindre sa cible et agir ; Seule cette fraction libre peut diffuser dans les tissus.

Forme liée aux protéines : Dans le sang, un principe actif lié (fraction liée) à une protéine plasmatique, ne peut pas agir. Cette fraction ne peut donc pas passer du milieu sanguin (trop grosse pour passer la paroi vasculaire) vers les tissus.

Hydrophile : Substance ayant une forte affinité pour les molécules d'eau.

Hydrosoluble : Propriété d'une molécule à se mélanger facilement dans l'eau en raison d'une forte affinité pour les molécules d'eau.

Inhibiteur : Se dit d'un médicament ayant la propriété de diminuer l'activité enzymatique du métabolisme.

Annexe 7 : Glossaire de pharmacologie générale

Inhibiteur enzymatique (voir aussi « Cytochrome P450 ») : La prise d'un médicament peut modifier l'activité enzymatique, soit en faveur d'une inhibition soit d'une induction. En cas de prise d'un médicament inhibiteur enzymatique, la biotransformation d'un autre principe actif est ralentie entraînant alors une augmentation de la concentration plasmatique de celui-ci et un risque d'apparition d'effets indésirables plus conséquente. Exemple de médicament inhibiteur : cimétidine (anti-H₂).

Interaction médicamenteuse : L'association de plusieurs médicaments conduit à de possibles interactions. Elles peuvent survenir au niveau sanguin (compétitivité sur les liaisons aux protéines plasmatiques), au niveau des sites d'actions (agonisme, antagonisme), au niveau de la métabolisation (foie : Cytochrome P450). Ces interactions peuvent induire une baisse d'efficacité d'un des médicaments associés, ou au contraire une augmentation sérieuse des effets secondaires, voire une toxicité.

Ion : Particule chimique comportant soit une charge positive (cation avec un électron en moins) soit négative (anion avec un électron en plus). A l'état ionisé, un produit est hydrosoluble, alors qu'à l'état non ionisé, il est liposoluble.

Liaison plasmatique : Elle s'exprime en pourcentage (de 0 à 100%). Elle est réversible et dépend de nombreux facteurs tels que :

- Affinité du principe actif pour les sites de liaisons sur les protéines ;
- Quantité de protéines plasmatiques (variable selon l'état pathologique du patient) ;
- Concentration plasmatique du principe actif ;
- Compétition entre le principe actif et d'autres molécules ayant également une affinité pour les mêmes protéines sanguines.

A noter qu'un médicament fortement lié aux protéines plasmatiques (> 75%) n'est pas dialysable. Ainsi en cas d'intoxication avec ce genre de médicament, il n'est pas possible d'utiliser la dialyse comme moyen d'épuration sanguine.

Ligand : Substance chimique (agoniste ou antagoniste) capable de se fixer sur un récepteur donné sans préjuger des conséquences de cette liaison. Tout médicament est donc un ligand de sa cible moléculaire.

Annexe 7 : Glossaire de pharmacologie générale

Lipophile : Substance ayant une forte affinité pour les molécules de graisse.

Liposoluble : Propriété d'un produit à se mélanger avec les graisses en raison d'une forte affinité pour les molécules grasses.

Mécanisme d'action : Manière dont un principe actif agit dans l'organisme pour avoir un effet thérapeutique.

Médiateur chimique : Terme désignant l'ensemble des substances de l'organisme sécrétées par un type de cellule et capable de se lier à un récepteur cellulaire, de la membrane plasmique ou intracellulaire, pour entraîner une réponse de cette cellule : neuromédiateurs (ou neurotransmetteurs), hormones, hormones locales, facteurs de croissance, cytokines et La plupart des médiateurs sont des agonistes endogènes des récepteurs. Quelques médiateurs ont une propriété antagoniste.

Métabolisme : C'est la transformation d'un produit grâce à des enzymes aboutissant soit à un métabolite actif, soit un métabolite inactif. Le principal organe de métabolisation est le foie. Dans une moindre mesure, les reins, les poumons et les intestins ont un rôle à jouer.

Métabolisme de premier passage : Après administration par voie orale, le médicament est absorbé habituellement au niveau de l'intestin grêle. Il rejoint alors la circulation portale (veine porte : 1,1 litre de sang par minute) pour rejoindre le foie où il sera métabolisé.

Métabolite : « Déchet » obtenu par biotransformation (métabolisation enzymatique le plus souvent hépatique) d'un principe actif dans l'organisme. Un métabolite peut avoir une action proche ou identique du principe actif d'origine (métabolite actif) ou non (métabolite inactif) ou peut avoir des effets toxiques. Un métabolite a ses propres caractéristiques pharmacocinétiques susceptibles de modifier celles du principe actif d'origine.

Passage membranaire : Une molécule peut traverser la membrane cellulaire (constituée de deux couches phospholipidiques) de trois façons distinctes :

- Diffusion (passive et facilitée) ;
- Transport actif (ex : pompe à sodium/potassium) ;
- Endocytose et exocytose

Annexe 7 : Glossaire de pharmacologie générale

pH : Logarithme inverse décimal de la quantité d'ions hydrogène dans une solution (ex : le sang). Le pH est acide lorsque cette quantité est importante, et basique lorsqu'elle est faible.

Phagocytose : La phagocytose est un processus naturel de l'organisme humain. Grâce à la phagocytose, les microbes et les cellules nuisibles sont détruits par les phagocytes, des cellules communément appelées éboueurs. La phagocytose se déroule en trois étapes l'adhésion, l'ingestion et la digestion. La phagocytose assure le bon fonctionnement de l'organisme et surtout du système immunitaire. Elle est rendue possible grâce aux globules blancs, aux macrophages et aux cellules dendritiques.

Pharmacocinétique : La pharmacocinétique est l'étude, en fonction du temps, des différents aspects du devenir d'un principe actif dans l'organisme. Elle se déroule en 4 phases :

- Absorption ;
- Distribution ;
- Métabolisme ;
- Elimination urinaire et/ou biliaire.

Pharmacodynamie : La pharmacodynamie est l'étude des propriétés thérapeutiques du principe actif et de son mécanisme d'action. C'est l'effet du médicament sur l'organisme. C'est donc l'étude de la relation effet-dose pour un médicament.

- La pharmacodynamie spécifique est l'étude de la molécule sur le système ou l'organe où elle produit ses effets thérapeutiques (indications potentielles chez l'homme).
- La pharmacodynamie générale est l'étude sur les organes ou les systèmes autres que ceux étudiés au cours des études de pharmacodynamie spécifique. Elle permet de découvrir d'autres indications potentielles ou de prévoir des effets secondaires.

Pharmacologie : C'est l'étude de l'action des médicaments. Elle se divise en deux branches :

- **Pharmacocinétique :** devenir du médicament dans l'organisme divisé en 4 phases (Absorption, Distribution, Métabolisme et Elimination) ;
- **Pharmacodynamique :** action du médicament sur l'organisme, recherche de son effet thérapeutique et recherche de son éventuelle toxicité.

Pic plasmatique : Concentration plasmatique maximale obtenue après une administration d'un médicament.

pKa : Définit le degré d'ionisation d'une molécule dans un milieu donné.

Premier passage hépatique : Après une administration digestive, le principe actif passe obligatoirement dans la circulation veineuse porte vers le foie. Dans ce dernier, le médicament peut parfois subir des transformations métaboliques avant d'être déversé dans la circulation générale. On parle de « premier passage hépatique » quand un médicament est éliminé à plus de 50%. Les conséquences sont :

- Posologie plus élevée par voie orale par rapport à la voie intraveineuse ;
- Diminution de la biodisponibilité. Celle-ci n'entraîne pas toujours une diminution des effets thérapeutiques car la métabolisation hépatique peut parfois aboutir (selon les médicaments) à des métabolites actifs (ayant aussi des effets recherchés et/ou indésirables).

Prolifération cellulaire : La prolifération cellulaire désigne le développement de cellules. Elle s'effectue par mitose, un phénomène dans lequel la cellule de base se divise et donne naissance à deux cellules filles identiques. La prolifération cellulaire est normale dans un organisme en développement (chez le fœtus par exemple) ou dans le processus de cicatrisation. Cependant, il peut aussi être excessif et donc pathologique en cas de cancer. Cette fois, la prolifération cellulaire est incontrôlée et donne naissance à une tumeur.

Réaction de conjugaison : Action se déroulant dans le foie qui consiste à lier le principe actif et/ou son métabolite à une molécule d'acide glucuronique (glucuroconjugaison).

Récepteur : Protéine ou groupe de protéines situées sur la membrane cellulaire sur laquelle ou lesquels se fixe un médiateur chimique afin de freiner ou d'augmenter ou de réguler son fonctionnement. Les récepteurs membranaires se divisent schématiquement en trois variétés :

- Récepteurs couplés à la protéine G ;
- Récepteurs canaux ioniques (permettant les entrées et les sorties d'ions) ;
- Récepteurs enzymatiques.

Systemique : Se rapporte à la grande circulation (sang artériel).

Annexe 7 : Glossaire de pharmacologie générale

T_{max} : Temps nécessaire pour atteindre la C_{max} (concentration maximale).

Toxicité : Ensemble des effets indésirables faisant suite à la prise d'un médicament. Il en existe deux variétés : toxicité aiguë et toxicité chronique.

Transport actif : Le transport actif d'un médicament dans l'organisme, notamment dans le sang, consomme de l'énergie (A.T.P.) au contraire du transport passif car il se fait le plus souvent du gradient de concentration le plus faible vers le plus élevé.

Transport passif : Le transport passif d'un médicament dans l'organisme ne nécessite pas d'énergie. Il se fait selon le gradient de concentration (du plus élevé vers le moins élevé).

Voie sublinguale : Sub : sous. Voie d'administration d'un médicament en le plaçant sous la langue pour un passage sanguin rapide du médicament (ex : les lyocs...).

Volume de distribution : Volume (virtuel) apparent de l'organisme contenant le médicament. C'est le volume de liquide nécessaire dans lequel le produit actif serait dissout pour obtenir la même concentration plasmatique mesurée. Plus la distribution tissulaire est importante, plus le volume de distribution est important.

$$Vd (l) = \frac{\text{Quantité administrée (g)}}{\text{Concentration plasmatique (g/l)}}$$

- Un volume de distribution inférieur à 5 litres indique que le principe actif est retenu dans le sang.
- Un volume de distribution inférieur à 15 litres indique que le principe actif est limité au secteur extracellulaire.
- Un volume de distribution supérieur à 15 litres indique une large distribution dans les secteurs aqueux de l'organisme ou une concentration dans certains tissus.

Zone toxique : Zone de concentration plasmatique située au-dessus de la zone thérapeutique ayant un risque toxique pour le patient.

ANNEXE 8

1. Publications :

- ✚ F. **Bouchal**, M. Skiba, N. Chaffai, F. Hallouard, S. Fatmi, M. Lahiani-Skiba, « Fast dissolving cyclodextrin complex of piroxicam in solid dispersion Part I: Influence of β -CD and HP- β -CD on the dissolution rate of piroxicam », International Journal of Pharmaceutics, 478 (2015) 625 – 632. (Impact Factor: **3,785** Thomson Reuters).
- ✚ F. **Bouchal**, M. Skiba, S. Fatmi, N. Chaffai and M. Lahiani-Skiba, « Influence of the preparation method on the dissolution properties of piroxicam-cyclodextrins systems », Letters Drug Design and Discovery, volume 11 N° 6 (2014) 786 – 808. (Impact Factor : **0,961**)
- ✚ M. Skiba, F. **Bouchal**, T. Boukhris, F. Bounoure, H. Fessi, S. Fatmi, N. Chaffai and M. Lahiani-Skiba, « Pharmacokinetic study of an oral piroxicam formulation containing different molar ratios of beta-cyclodextrins », Journal of Inclusion Phenomena Macrocyclic Chemistry, Volume 75 (2013) 311-314. (Impact Factor:**1,49** Thomson Reuters)
- ✚ Sofiane Fatmi, Lamine Bournine, Mokrane Iguer-ouada, Malika Lahiani-Skiba, Fatiha **Bouchal** and Mohamed Skiba, « Amorphous solid dispersion studies of camptothecin-cyclodextrin inclusion complexes in PEG », Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research, Vol. 72 N° 1 (2015) 179-192 (Impact Factor:**1,465**).

2. Communications :

- ✚ **Poster** au Séminaire International **Seha 2013** (First Seminar in Engineering, Health and Analysis) 05th May 2013, Algiers, **Algeria** :
F. **Bouchal**, M. Skiba, N. Chaffai, S. Fatmi, M. Lahiani-Skiba, « Fast dissolving sublingual cyclodextrin complex of piroxicam in solid dispersion Part I: Influence of β -CD and HP- β -CD on the dissolution rate of piroxicam ».
(Obtention du **1^{er} prix** de la meilleure communication au séminaire)
- ✚ **Poster** au Séminaire 2nd European Conference on Cyclodextrins, 02-04 Octobre **2011**, Asti-**Italy** :
M. Skiba, T. Boukhris, F. Bounoure, H. Fessi and M. Lahiani-Skiba, F. **Bouchal** and S. Fatmi; « Pharmacokinetic study of an oral Piroxicam formulation containing molar ratios of beta-cyclodextrines ».



Fast dissolving cyclodextrin complex of *piroxicam* in solid dispersion Part I: Influence of β -CD and HP β -CD on the dissolution rate of *piroxicam*



F. Bouchal^{a,b}, M. Skiba^{a,*}, N. Chaffai^c, F. Hallouard^a, S. Fatmi^b, M. Lahiani-Skiba^a

^a Galenic Pharmaceutical Laboratory, UFR Medecine and Pharmacy, Rouen University, 22 Bd Gambetta, F-76183 Rouen, France

^b Pharmaceutical Laboratory, Department of Engineering Processes, Faculty of Technology, Abderrahmane-Mira University, Route de Targua Ouzemmour, DZ-06000 Bejaia, Algeria

^c Galenic Pharmaceutical Laboratory, Medecine Faculty, Badji Mokhtar University, DZ-23000 Annaba, Algeria

ARTICLE INFO

Article history:

Received 4 November 2014

Received in revised form 9 December 2014

Accepted 11 December 2014

Available online 15 December 2014

Chemical compounds studied in this article:

Piroxicam (PubChem CID: 54676228)

Keywords:

β -Cyclodextrin

Hydroxypropyl- β -cyclodextrin

PEG6000

Piroxicam

Sublingual administration

Ternary complex

ABSTRACT

Sublingual drug delivery is an interesting route for drug having significant hepatic first-pass metabolism or requiring rapid pharmacological effect as for patients suffering from swallowing difficulties, nausea or vomiting. Sublingual absorption could however be limited by the kinetic of drug dissolution. This study evaluated influences of cyclodextrins (β -CD or HP- β -CD) and their different inclusion process (spray-drying or freeze-drying) on the drug dissolution kinetic of solid dispersions in poly(ethylene glycol) (PEG, M_w 6000 Da) of piroxicam, used as poor hydrosoluble drug model. A secondary objective was to determine influences of drug dispersion process in PEG (evaporation or melting methods) on the drug dissolution kinetic of piroxicam. Piroxicam solid dispersions containing or not cyclodextrins were characterized by different scanning calorimetry (DSC), Thermogravimetry analyser (TGA) and Fourier transform-infrared spectroscopy (FT-IR) spectroscopy. *In vitro* drug dissolution study of these solid dispersions was then performed. The results demonstrated the high potential and interest of solid dispersions of drug previously included in cyclodextrins for sublingual delivery of hydrophobic drugs. This study also showed the advantages of evaporation method on the melting ones during drug dispersion in PEG. Indeed, drug complexation with cyclodextrins as dispersion by melting prevented the presence in solid dispersions of drug in crystalline form which can represent up to 63%. Moreover, dispersion in PEG by evaporation method gave more porous drug delivery system than with melting methods. This allowed complete (limited at most at 80–90% with melting methods) and quick drug dissolution without rebound effect like with melting ones.

© 2014 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

A marketed drug with poor water solubility can still show performance limitations, such as incomplete or erratic absorption, poor bioavailability and slow onset of action (Bhupendra and Patel, 2007). Developing strategies to overcome this hurdle is one of the great challenges for scientists active in pharmaceutical research (Tingming et al., 2010). These strategies include the complexation with cyclodextrins, the formation of solid drug solutions/dispersions, the solubilization with surfactants, the reduction of drug

particle size and the use of different polymorphic/amorphous drug forms (Bhupendra and Patel, 2007). Formulation of drugs as solid dispersion offers a variety of processing and excipient options that allow a flexibility when formulating oral delivery systems for poorly water soluble drugs (Ozkan et al., 2000). The oral cavity is a promising route of administration for drugs that are susceptible to important hepatic first-pass metabolism (Goswami et al., 2008; Mathias and Hussain, 2010). In addition to the possibility of avoiding the first-pass effect, sublingual administration often provides a rapid onset of drug action since the oral mucosa is highly vascularized. Sublingual drug delivery is also well accepted by patients, and it offers an easy and convenient way to administer drugs to individuals suffering from swallowing difficulties, nausea or vomiting (Song et al., 2004). However, sublingual absorption of many drugs is limited, as to pass through the sublingual and buccal membranes; the drug has first to dissolve quickly in small volume

* Corresponding author at: Université de Rouen – Faculté de Pharmacie/ Médecine, Laboratoire de galénique, 22, Boulevard Gambetta, F-76183 Rouen, France. Tel.: +33 235 148 488.

E-mail address: mohamed.skiba@univ-rouen.fr (M. Skiba).

of saliva before it is removed from the site of absorption by swallowing (Mathias and Hussain, 2010). This represents a challenge to the sublingual administration of hydrophobic drugs, slowly dissolving drugs or drugs with high therapeutic doses.

Piroxicam being a potent non-steroidal anti-inflammatory drug endowed with more rapid onset of analgesia activity (Brunton et al., 2011; Moffat et al., 2004), will be used as drug model for the design of sublingual drug delivery systems for hydrophobic drugs. Indeed, despite a good oral absorption (Kimura et al., 1997), this drug presents both: poor aqueous solubility (30 µg/ml at pH 5, 37 °C) (Pighi and Fjordgaard, 2011) and limited bioavailability by a significant hepatic first-pass effect, making it a potential candidate for sublingual delivery.

For sublingual piroxicam delivery, several studies have been performed using solid dispersions of this drug in some hydrophilic carriers such as acrylic polymers (Pignatello et al., 2002), nicotinamide (Verma et al., 2003), poly(ethylene glycol) (PEG) (Pan et al., 2000; Valizadeh et al., 2005), poly(vinyl-pyrrolidone) (PVP) (Banchemo et al., 2009; Tantishaiyakul et al., 1999) and anionic polymer mix (Eudragit S100[®]) (Maghsoodi and Sadeghpour, 2010). Piroxicam solid dispersions were also achieved with polymers microspheres (Galia et al., 2009) or polymer mix composed of mannitol, cationic polymer mix (Eudragit E100[®]), and polyoxyethylene (40) stearate (Myrj 52[®]) (Valizadeh et al., 2007). In these studies, piroxicam solid dispersions were prepared by different techniques such as melting method, solvent method, spray-drying and supercritical solvent dioxide. A significant increase in the dissolution rate of piroxicam was found, excepted for the solid dispersion prepared by co-evaporation in acrylic polymers (Pignatello et al., 2002). Besides, some earlier studies have reported increased bioavailability for drugs that are administered sublingually as cyclodextrin- containing formulations (Farag Badawy et al., 1996; Yoo et al., 1999; Jain et al., 2002; Mannila et al., 2005). For piroxicam, we proved, in our previous works, the increase of its water solubility by inclusion either in β -cyclodextrin (β -CD) or in hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) (Bouchal et al., 2014; Skiba et al., 2013). Therefore, the combination of these both strategies (solid dispersion and cyclodextrin inclusion) could be interesting for the design of more efficient piroxicam sublingual delivery systems.

The main aim of this work was to evaluate the influence of cyclodextrins (β -CD or HP- β -CD) and their different inclusion process (spray-drying or freeze-drying) on the drug dissolution kinetic of piroxicam solid dispersions. These solid dispersions were made in PEG having a molecular mass of 6000 Da (PEG6000) due to its safety since it is commonly used as additive in the pharmaceutical industry. A secondary objective was to determine the influence of drug dispersion process in PEG (evaporation or melting methods) on the drug dissolution kinetic of piroxicam. To fulfill these challenges, piroxicam solid dispersions containing or not cyclodextrins were characterized by different scanning calorimetry (DSC), Thermogravimetry analyser (TGA) and Fourier transform-infrared spectroscopy (FT-IR). *In vitro* drug dissolution study of these solid dispersions was then performed.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Micronized piroxicam was procured as a gift sample from Saïdal (Alger, Algeria) which was purchased from Andenex-Chemie GmbH (Hamburg, Germany). PEG6000 was obtained from BASF (Ludwigshafen, Germany). β -cyclodextrin (β -CD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) were obtained from Roquette (Lestrem, France). All others reagents and solvents were of analytical grade.

2.2. Preparation of drug/PEG or drug/cyclodextrin/PEG solid systems

Binary solid systems (drug/PEG) were prepared alternatively by evaporation or melting method. For ternary solid systems (drug/cyclodextrin/PEG), a previous step was added. This last one consisted to prepare solid inclusion complexes of piroxicam in β -CD or HP- β -CD by freeze drying or by spray drying.

2.2.1. Preparation of solid inclusion complexes

Solid inclusion complexes were prepared by freeze drying or by spray drying. For both methods, piroxicam was firstly included in cyclodextrins (β -CD or HP- β -CD) at 1:1 molar ratio. Briefly, 400 ml of β -CD or 40 ml of HP- β -CD water solution at 15 mg/ml was stirred with equal molar amount of piroxicam at 750 rpm for the next 24 h at ambient temperature to obtain complexation equilibrium. Small amount of sodium hydroxide (1 N) was added to dissolve piroxicam in water. Then, the obtained solution was alternatively freeze-dried or spray-dried. By freeze drying method, the obtained solution was lyophilized for 48 h in FreeZone[®] freeze-dryer (Labconco, Kansas City, MO, USA). Lyophilization parameters, validated by preliminary work, were: vacuum <200 mTorr, condenser <-40 °C and shelf at +30 °C. By spray-drying method, the inclusion complexes solution was spray-dried in B-290 apparatus (Büchi, Flawil, Switzerland) under the following conditions: inlet temperature 150 °C; outlet temperature 85 °C, feeding pump at 20% and air nozzle flow rate at 50 m³/h. At the end, the solid inclusion complexes obtained by both methods were stored in a desiccator for evaluation.

2.2.2. Preparation of binary and ternary solid dispersions

Binary or ternary solid dispersions (5 g) were prepared alternatively by evaporation or melting method. For both methods, polymer (PEG 6000)/drug (piroxicam) ratios were 50%, 70%, 90% and 95% for binary systems and the same for polymer (PEG 6000)/freeze-dried or spray-dried solid inclusion complexes (piroxicam- β -CD or piroxicam-HP- β -CD) ternary systems. By evaporation method, products were prepared from different ratio mixtures (5 g), dissolved in 50 ml of methanol and stirred for 30 min and then evaporated to dryness at 40 °C under vacuum until dry in a rotary evaporator Laborota 4010[®] (Heidolph, Schwabach, Germany). The dried mass was pulverized, sieved and stored in brown glass bottles for the following tests. By melting method, products were prepared by mixing and heating different ratios of PEG6000 and piroxicam (or piroxicam solid inclusion complexes) until melting in a glass tank immersed in an oil bath regulated at the melting point of piroxicam. As soon as a homogenous liquid was obtained, mixtures were cooled in room temperature (slowly at an average rate of 1 °C/min) or in ice bath (rapid solidification). For binary solid dispersions, a rapid solidification was performed only on mixtures having 90% and 95% of PEG 6000. After solidification at room temperature, obtained products were introduced in desiccators for 48 h. Samples were crushed, sifted and stored in brown glass bottles.

2.3. *In vitro* dissolution studies

In vitro dissolution studies of pure drug, inclusion complexes, binary and ternary SDs prepared by the different methods were evaluated using Vankel VK 7000[®] dissolution system (Varian Inc., Palo Alto, CA, USA). The rotation speed was 100 rpm, and the temperature was adjusted at 37 °C \pm 0.5 °C. Powder samples containing 2 mg of piroxicam or its equivalent amount of inclusion complexes or SDs form were placed in 900 ml of the dissolution medium (desionized water) for 2 h. In all experiments, 5 ml of dissolution sample was withdrawn at 5, 10, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 and 120 min and replaced with an equal volume of the fresh

medium to maintain a constant total volume. Samples were filtered through 0.45 μm and assayed for drug content at 355 nm by UV spectrophotometry. The dissolution tests were conducted at least in triplicate. Cumulative percentages of the drug dissolved from the preparations were calculated using calibration equations.

2.4. Characterization of inclusion complexes and solid dispersions

2.4.1. Fourier transform infrared spectroscopy

Attenuated Total Reflection (ATR)–FT-IR measurements were performed on powders. Samples were placed on a wedged (Ge-ATR crystal), pressed with a force of 80 N and spectra were then recorded using a Spectrum One[®] (PerkinElmer, Waltham, MA, USA). A freshly cleaned crystal was used as a reference. Each analysis has been conducted in frequency range between 4000 cm^{-1} and 600 cm^{-1} , at a resolution of 8 cm^{-1} and with 20 scans. All measurements were performed in triplicate.

2.4.2. Differential scanning calorimetry

DSC was performed using DSC6[®] (PerkinElmer, Waltham, MA, USA). Indium (99.98%, melting point 157 °C) was used to calibrate the apparatus. Samples (5 mg) were accurately weighed into aluminum pans and sealed. Sample thermograms were obtained at a scanning rate of 10 °C/min conducted over a temperature range of 30–240 °C under a nitrogen gas (20 ml/min). The apparatus was controlled by the Pyris[®] software (PerkinElmer, Waltham, MA, USA). Measurements were repeated three times.

2.4.3. Thermogravimetric analysis

Mass losses were recorded with TGA 4000[®] (PerkinElmer, Waltham, MA, USA) on 5 mg samples in open pans at the heating rate of 10 °C in the 30–600 °C temperature range under a nitrogen gas flow (20 ml/min). All measurements were performed in triplicate.

2.4.4. Statistical analysis

Statistical analyses used two-way analysis of variance (ANOVA) test with a confidence interval of 95% ($p < 0.0001$).

3. Results and discussion

The aim of our works is to achieve simple, quick and reproducible process to prepare a sublingual formulation of drugs having poor water solubility. These formulations should preferably have high drug content in order to reduce the size of sublingual preparations. In additions, drug should be released and dissolved so rapidly as possible. Indeed, completed drug dissolution in mouth in few minutes can prevent altered bioavailability by preparation swallowing. Finally, these formulations should use only pharmaceutical and compatible excipients and/or solvents for an oral administration.

3.1. Characterization of binary and ternary solid dispersions

3.1.1. Differential scanning calorimetry and thermogravimetric analysis

DSC curves were analyzed for pure substances, binary and ternary solid dispersion systems. Fig. 1 clearly showed the specific and sharp endothermic peak of piroxicam at 205.5 °C due to its melting point. The DSC profile of piroxicam may indicates a cubic crystal polymorph form which can be confirmed by FT-IR analysis (Vrečer et al., 2003).

DSC curves of binary solid dispersions prepared by evaporation method with 10%, 30%, 50% and 70% (w/w) polymer/drug ratio displayed a shifted peak of PEG at 56–65 °C, followed by the shifted endothermic melting peak of piroxicam at 176–201 °C. This was the

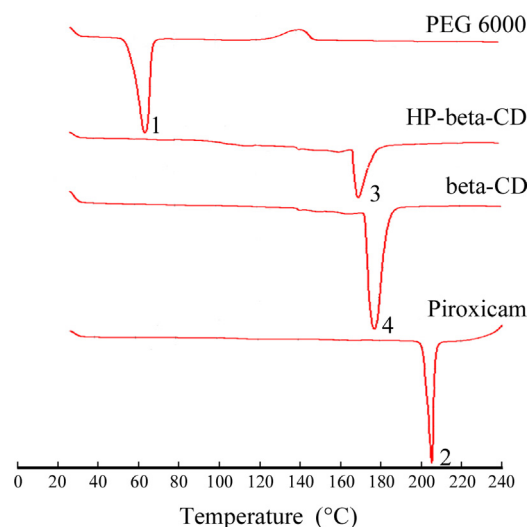


Fig. 1. DSC curves of piroxicam, PEG6000, β -cyclodextrin (beta-CD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP-beta-CD).

same with binary melted solid dispersion containing 50% (w/w) of PEG6000. Piroxicam peak shifting increased and peak intensity was reduced with PEG6000 proportion in solid dispersions (Table 1). On the contrary, the endothermic melting peak of PEG6000 shift was reduced and peak intensity rose with PEG6000 proportion in solid dispersions. Like with itraconazol, these observed peak shifts were due probably by interactions between drug and polymer (Wang et al., 2004). At higher proportion of PEG6000, we observed a disappearance of melting endothermic peak of piroxicam as consequence of drug amorphization due to piroxicam–PEG6000 interactions in solid dispersions (Kim et al., 1985). The content of piroxicam in crystalline form in function of PEG6000 proportion in binary solid dispersion systems was determined by comparison of the melting enthalpy of pure drug with sample one (Table 2). This last value was obtained for each sample by piroxicam peak integration. DSC studies demonstrated therefore an influence of solid dispersion process on crystallized drug content. Pan et al. work used PEG4000 as carrier and found no decrease of drug crystalline form up to 75% (w/w) of polymer/drug ratio (Pan et al., 2000). This indicated an influence of the polymerization degree on carrier/drug interaction. It seems that higher the polymeric degree of dispersing carrier, higher is the probability of drug amorphization phenomenon. The reduction of the proportion of drug crystalline form should favorable for our

Table 1

Thermal characteristics of Piroxicam–PEG 6000 solid dispersions with different proportions of polymer (PEG 6000). Endothermic peak numbering was made according to them of Fig. 1. By melting method, we used slow solidification (Melting SS) or rapid one (Melting RS).

PEG % (w/w)	Dispersion method	T1 (PEG 6000)		T2 (Px)	
		°C	(%)	°C	(%)
10	Evaporation	60	0.18	201.4	0.82
30	Evaporation	65	0.44	194.7	0.56
50	Evaporation	65	0.77	187.1	0.23
50	Melting SS	56	0.99	179.6	0.01
70	Evaporation	67	0.99	176.4	0.01
70	Melting SS	62	100	–	–
90	Evaporation	67	100	–	–
90	Melting SS	65	100	–	–
90	Melting RS	65	100	–	–
95	Evaporation	67	100	–	–
95	Melting SS	65	100	–	–
95	Melting RS	65	100	–	–

Table 2

Differential scanning calorimetric data of binary solid dispersion systems. Piroxicam (drug) was dispersed in a polymer (PEG6000) by evaporation method or by melting method followed by slow solidification. Polymer proportion in solid dispersion varied from 10 to 70% (w/w). Measurements were made in triplicate.

Sample	T onset (°C)	T peak (°C)	ΔH (J/g)	Crystalline drug content (%)
Piroxicam	201.56	205.54	133.67	100.00
Evaporated PEG10	196.76	201.36	84.63	63.31
Evaporated PEG30	184.23	194.68	57.57	43.07
Evaporated PEG50	183.58	187.09	16.60	12.42
Evaporated PEG70	171.37	176.42	2.23	1.67
Melted PEG50	179.10	179.60	13.45	10.06

sublingual application by theoretically facilitating drug dissolution. This suggests the interest of the use of PEG with high polymerization degree.

DSC curves of binary solid dispersion were then compared with ones of ternary solid dispersions systems to analyze cyclodextrin influence on solid dispersion characteristics. DSC curves clearly showed that endothermic melting peak of drug was completely disappeared in ternary systems even for solid dispersion having 50% (w/w) of PEG6000 (Supplement data). In additions, ternary solid dispersions systems containing cyclodextrins (β -CD and HP- β -CD) showed no endothermic peak at around 170–175 °C corresponding to β -cyclodextrin glass transition. This indicated the complete formation of a unique amorphous solid product having a melting endothermic peak close to that of PEG6000 (Kurozumi et al., 1975; Marques et al., 1990). Concerning the cyclodextrins, no influence of the type (β -CD or HP- β -CD) or inclusion methods (spray-drying or freeze-drying) was detected by DSC study (Supplement data).

The results of TGA analysis of pure components (piroxicam, β -CD, HP- β -CD and PEG6000), binary and ternary SDs prepared by solvent evaporation and melting methods at different polymer/drug ratio showed that TGA mass loosed over the 30–100 °C range of about 12% (w/w) for β -CD and of about 5% (w/w) for HP- β -CD (Fig. 2). These were due to evaporation of loosely bound water, whereas at higher temperatures to sample decomposition (Bettinetti et al., 2002). Moreover, PEG6000 and piroxicam were according to TGA analysis, the solid dispersion components which present the highest thermostability. Indeed, these components seemed to deshydrate/degrade over 250 °C. Binary solid dispersions presented firstly a mass loose from about 70–10 wt% over 250 °C followed by their degradation at higher temperature (Fig. 3). This mass loose was reduced with PEG6000 proportion in solid dispersion. These results indicated a probably drug deshydration/degradation in solid dispersions followed by a slower polymer one. Concerning ternary solid dispersions, all of them presented TGA profiles significantly different from their component

demonstrating the acquisition of a new substance by such formulations (Fig. 3). These formulations seemed therefore to prevent drug deshydration/degradation at 250 °C. Ternary solid dispersions prevented also mass loose of cyclodextrins at low temperature (between 75 and 100 °C). This observation could be the result of the absence of evaporation phenomena due to piroxicam inclusion in these cyclodextrins. Indeed, invited molecule inclusion in cyclodextrins induces water molecules blowing from native cyclodextrins. For piroxicam/ β -CD complexes dispersed in PEG6000, there is no significant difference between inclusion processes by spray-drying or freeze-drying. With piroxicam/HP- β -CD complexes, significant differences of TGA profiles were detected particularly for solid dispersions produced par melting method. Solid dispersions of freeze-dried drug-cyclodextrin complexes presented a mass loose at lower temperature.

3.1.2. Fourier transform infrared spectroscopy

FT-IR spectra were analyzed for pure substances, binary and ternary solid dispersion systems to detect possible interaction between polymer (PEG6000) with piroxicam or drug-cyclodextrins inclusion complexes (piroxicam/ β -CD or piroxicam/HP- β -CD). Concerning pure crystal form of piroxicam, FT-IR spectrum exhibited characteristic peaks for amide group at 3338.94 cm^{-1} and 1629.94 cm^{-1} due to N–H and C=O stretching respectively (Fig. 4). This result confirmed the cubic crystal polymorph form supposed above according drug DSC curve (Banchero and Manna, 2011).

By increasing PEG6000 proportions in solid dispersions, FT-IR spectra showed a progressive reduction of intensity to disappear of piroxicam corresponding peaks accompanied by an increase of intensity of polymer ones in binary solid dispersion systems (Supplement data). Moreover, characteristic peaks of drug and polymer did not shifted by varying polymer proportion from 10%, 30%, 50% and 70% in melted or evaporated solid dispersions. These results revealed a mass effect and a lack of strong interaction between drug and polymer in such solid dispersion allowing us to expect no pharmacological alteration of piroxicam by dispersing it in PEG6000. Nevertheless, it is worth to note two phenomena with melted binary solid dispersion systems having proportion of PEG6000 of 90% (w/w). The first phenomenon is a persistence of some drug characteristic peaks in FT-IR spectra of melted binary solid dispersion systems having 90% (w/w) of PEG6000 compared to evaporate one. Besides DSC studies showed the absence of piroxicam in crystalline form in these solid dispersions. This supposed that these melted solid dispersions presented drug heterogeneity. This last seemed to be the consequence of piroxicam sedimentation during dispersion solidification by melting process. A rapid cooling of the melted drug-polymer mix did not prevent this heterogeneity. The second phenomenon was a slight shift of piroxicam peak from 3338.94 to 3339.76 and to 3342.66 in the spectra of these slow or rapid solidified dispersions respectively. This revealed some interactions between the components. However, we could not conclude for the evaporated solid dispersions (90 and 95% (w/w)) and the melted ones (95% (w/

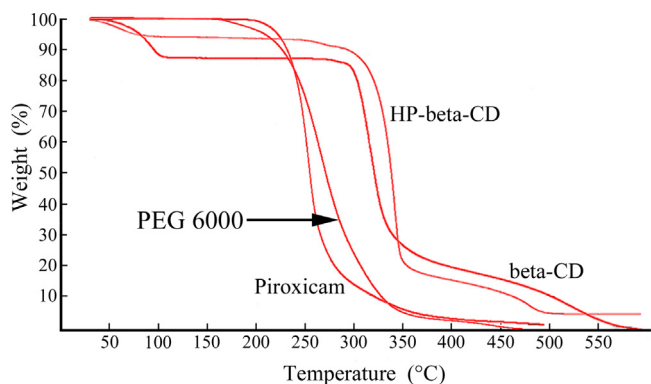


Fig. 2. TGA curves of piroxicam (drug), PEG6000, β -cyclodextrin (β -CD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD).

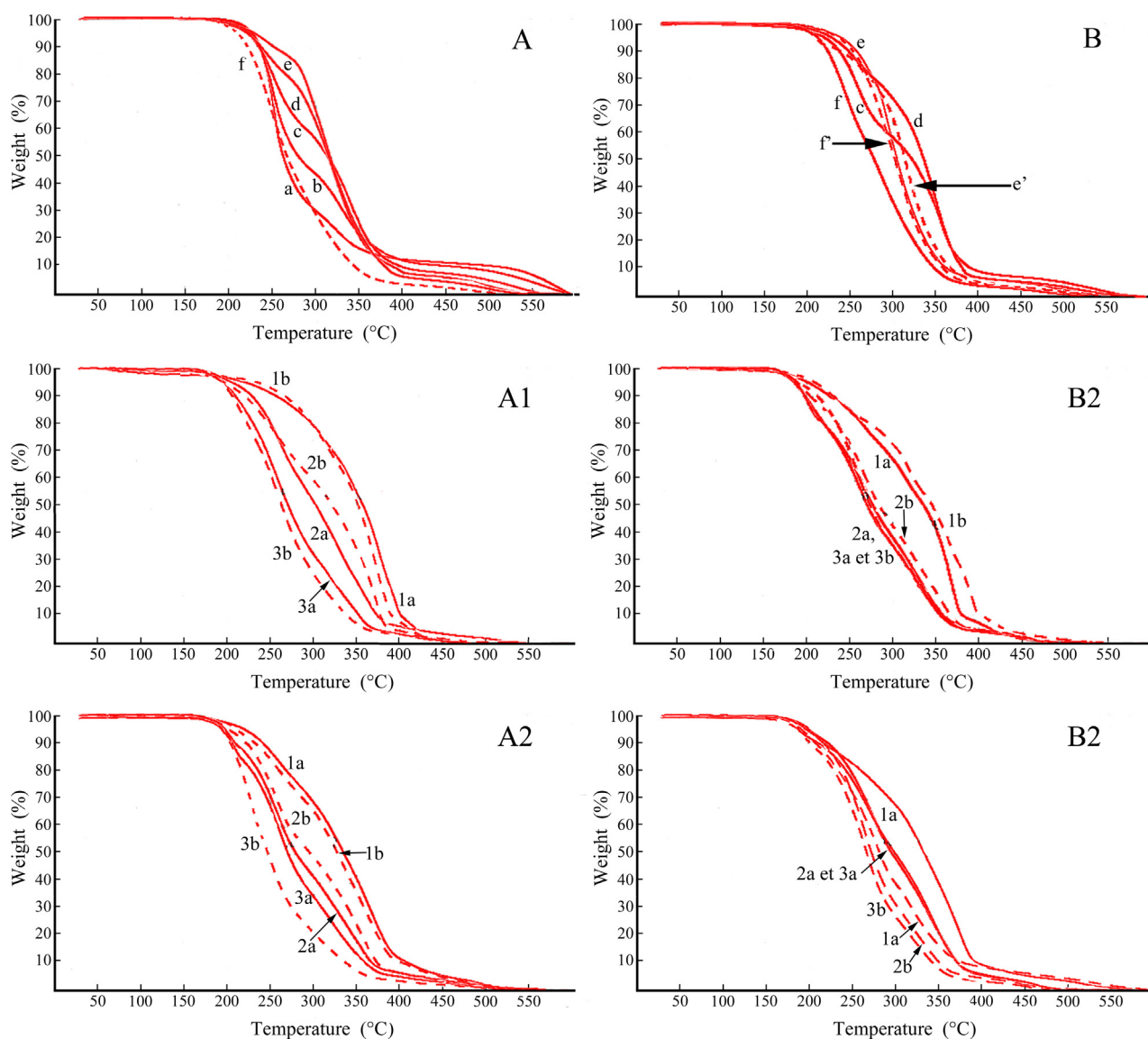


Fig. 3. TGA curves of binary (A and B) and ternary solid dispersion systems (A1, A2, B1 and B2) of piroxicam. PEG6000 was used as hydrophilic polymer for the solid dispersions. Its proportion varied at 10 (a), 30 (b), 50 (c), 70 (d), 90 (e) and 95 (f) % (w/w) in binary systems and at 70 (1), 90 (2) and 95 (3) % (w/w) in ternary ones. These dispersions were prepared by an evaporation method (A, A1 and A2) or by melting methods (B, B1 and B2). Concerning melting methods, there was a slow solidification for binary and ternary system and rapid solidification only for binary systems (e' and f' in hashed lines). In ternary systems before dispersion in polymer, cyclodextrins used were β -cyclodextrin (A1 or B1) or hydroxypropyl- β -cyclodextrin (A2 or B2). Inclusion complex of piroxicam with cyclodextrins was followed either by spray-drying (full lines in A1, A2, B1 and B2) or freeze-drying (hashed lines in A1, A2, B1 and B2). All measurements were in triplicate.

w)) because the —NH and C=O stretching vibrations of piroxicam were completely lost.

The FT-IR spectra of ternary systems with cyclodextrins (β -CD or HP- β -CD) prepared by evaporation and melting methods clearly corresponded to that of the major component of the mixture, i.e., PEG6000 (spectra in Supplement data). Therefore, the spectra of ternary systems were compared with the corresponding ones of the binary systems. In the FT-IR spectra of all ternary systems, it was observed that N–H stretching of amide group of the drug was completely disappeared indicating complete interaction between cyclodextrins and piroxicam. Concerning this interaction, FT-IR spectra analysis confirmed the lack of influence of the cyclodextrin nature or inclusion method (freeze-drying or spray-drying).

3.2. In vitro dissolution studies

A dissolution study on all solid binary and ternary solid dispersion systems were achieved at different polymer/drug

ratios (10%, 30%, 50%, 70%, 90% and 95%) and polymer/drug-CD ratios (50%, 70%, 90% and 95%). It is however worth to note that the dissolution conditions used are quite different from drug dissolution from the sublingual administration where the volume of saliva is rather limited (few milliliters). This volume difference is justified by the necessity of sink condition allowing *in vitro* drug release study. In addition, the *in vitro* model did not take account of the drug permeability and therefore drug extraction from dissolution medium. The aim of this release study is to select an optimal formulation to test later on *in vivo* model. This is to limit the number of sacrificed animals.

Compared to pure piroxicam, all solid dispersion systems showed clearly and significant enhanced drug dissolution yield and speed increasing with the polymer/drug (or drug-CD) ratio (Figs. 5 and 6). This confirmed the works of Valisadeh et al. who revealed a marked increase in the solubility of piroxicam with an increase of PEG molecular weight (between 2000 and 20,000 Da) as well as concentration (Valisadeh et al., 2005). These

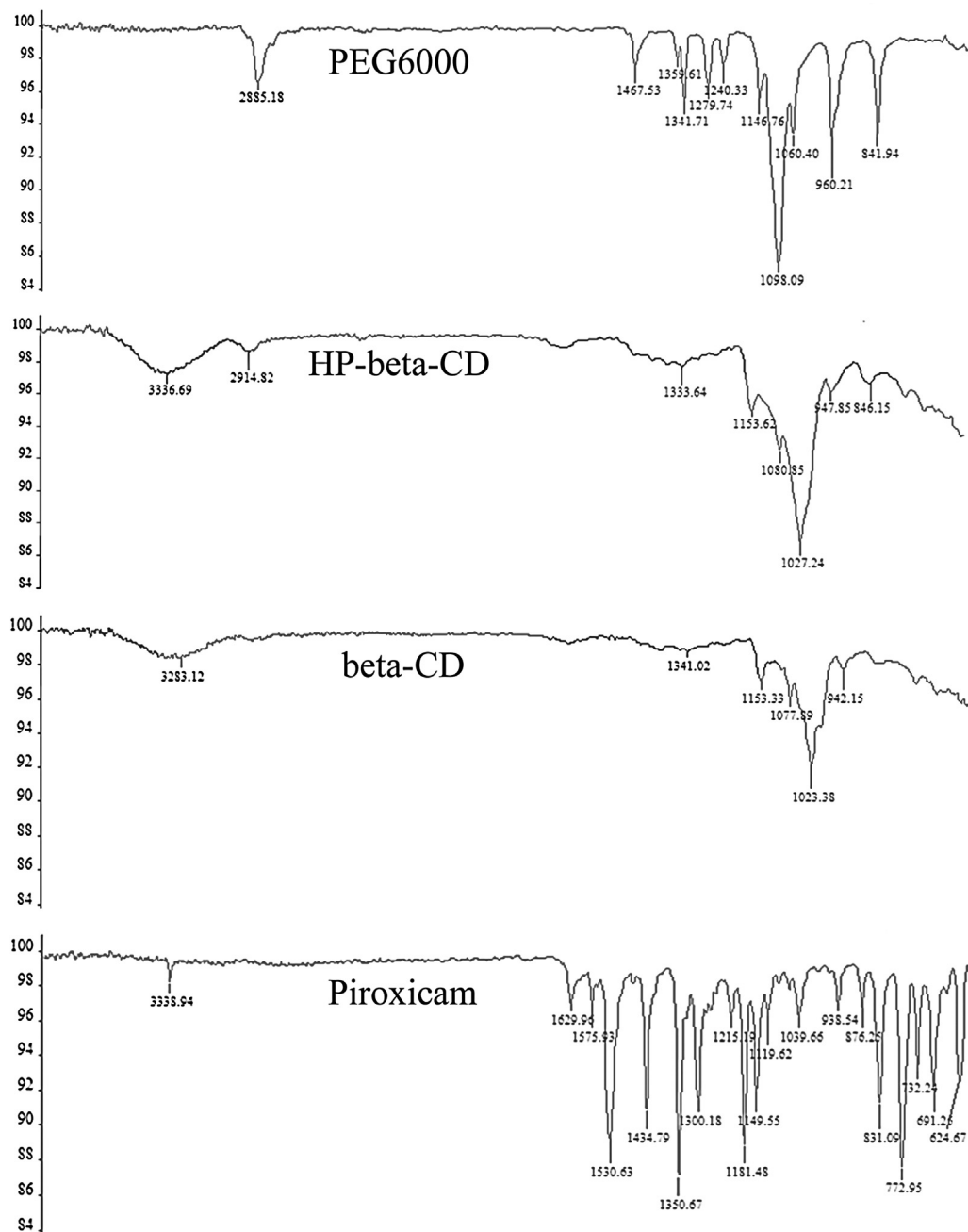


Fig. 4. FTIR spectra of piroxicam, PEG6000, β -cyclodextrin (β -CD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD).

results also confirmed the expected favorable influence of PEG6000 allowing the reduction of drug content in crystalline form. This enhanced drug dissolution rate might be also due to the molecular colloidal dispersion of drug in hydrophilic carrier matrix of PEG6000 and the molecular level mixing between piroxicam and the polymer (Suhagia et al., 2006). Nevertheless, it is worth to note that high proportion of PEG6000 in solid dispersion had reduced impact on drug dissolution profile especially for ternary systems produced by melting method and containing HP- β -CD. These results were in contrast to the behavior observed with binary melted system except with 95% of this polymer. This may be due to the recrystallization phenomena of PEG6000 in ternary systems at high concentration of this polymer. By comparing *in vitro* profiles of different processes used for the preparation of solid dispersion systems, we can observe that solid dispersion systems produced by melting method present drug dissolution yield limited at most

at 80–90%. In additions, it was observed specially by ternary systems, that maximum of piroxicam dissolution was obtained at 5 min of the test followed by a decreased of dissolution rate reaching the curve's plateau. With solid dispersion systems produced by evaporation method, drug dissolution yield seemed not to be limited. This phenomenon, very deleterious for the design of sublingual formulation, could be the consequence of melting process producing less porous solid dispersion systems than with evaporation process preventing a rapid PEG6000 dissolution. In consequence, solid PEG6000 mater dissolving slower there is still solid dispersing polymeric carrier where drug could re-absorb. As expected after solid dispersion characterization, unlike ternary solid dispersion systems, evaporated binary solid dispersion systems showed reduced drug dissolution rate compared to melted ones. This was the consequence of the presence of varied proportions of crystallized form of piroxicam in such evaporated

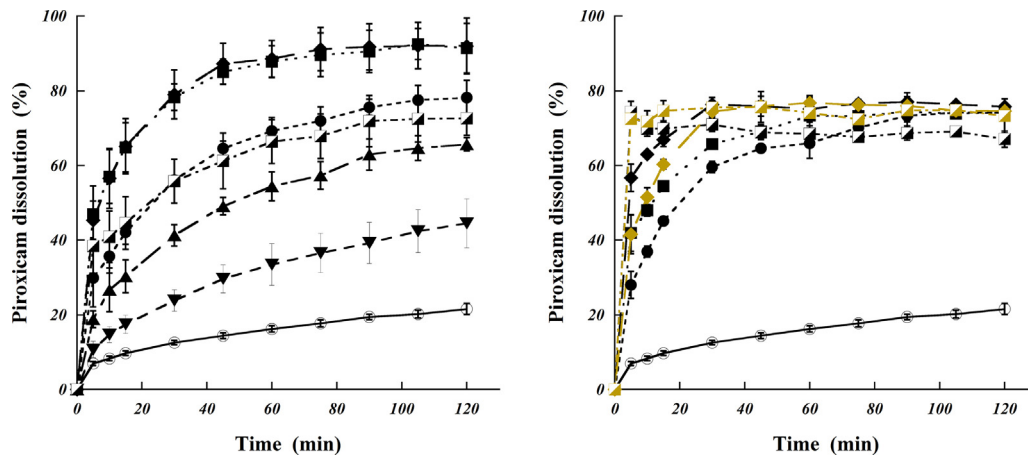


Fig. 5. Dissolution profiles of binary solid dispersions of piroxicam dispersed in PEG6000 (hydrophile polymer). PEG6000 was in various proportions in binary solid dispersions: 10 (inverted filled triangles), 30 (filled triangles), 50 (filled circles), 70 (filled squares), 90 (filled lozenges) and 95 (hashed squares) wt%. Binary solid dispersions were prepared by evaporation (left) or melting (right) method. For melting method, a slow (black) or rapid (gold) process was used. These dissolution profiles were compared to pure crystalline powder piroxicam one (open circles). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

binary systems. This therefore demonstrates the positive influence for sublingual formulations of cyclodextrins (β -CD or HP- β -CD) before drug dispersion in PEG6000 by forming drug inclusion complexes and so preventing drug crystallization and sedimentation.

Compared to solid dispersion containing β -CD, solid dispersion prepared by melting method showed also at high proportion of hydrophile polymer (≥ 90 wt%) a negative influence of HP- β -CD

particularly when this drug–cyclodextrin complex was spray-dried. The observed difference between these cyclodextrins could be a consequence in piroxicam–cyclodextrin apparent stability constant. Indeed, this constant, K_s , were found in one of our previous works to be 0.082 mM^{-1} for β -CD and 0.124 mM^{-1} for HP- β -CD (Bouchal et al., 2014). No significant difference was however detected between studied cyclodextrins or inclusion methods (spray-drying or freeze-drying) for solid dispersions obtained by

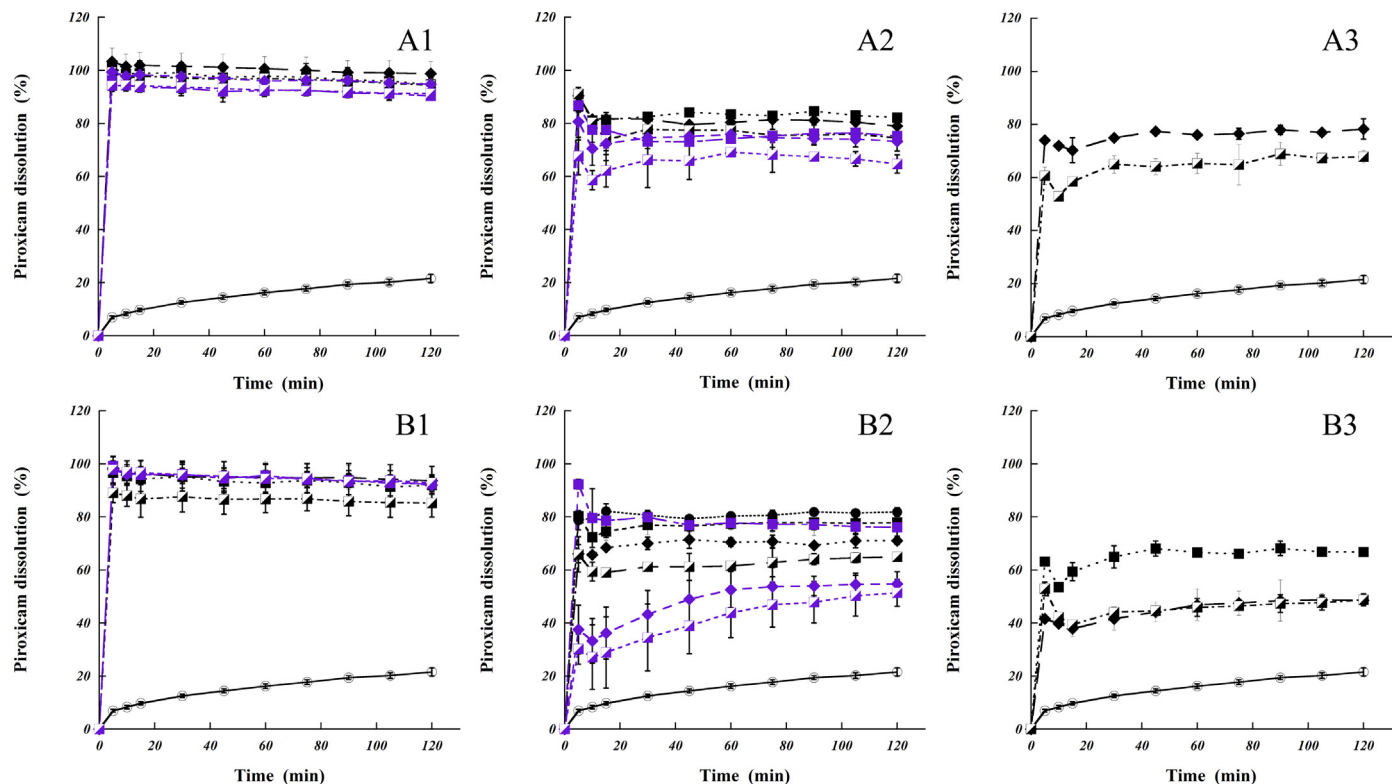


Fig. 6. Dissolution profiles of ternary solid dispersions of piroxicam–cyclodextrins complexes dispersed in PEG6000 (hydrophile polymer). β -cyclodextrins (A1, A2 and A3) and HP- β -cyclodextrins (B1, B2 and B3) were used to complex piroxicam before dispersion in polymer. These complexations were performed by freeze-drying (black) or spray-drying (mauve) process. PEG6000 was in various proportions in ternary solid dispersions: 50 (filled circles), 70 (filled squares), 90 (filled lozenges) and 95 (hashed squares) wt%. Binary solid dispersions were prepared by evaporation (A1 and B1) or melting (A2, A3, B2 and B3) method. For melting method, a slow (A2 and B2) or rapid (A3 and B3) process was used. These dissolution profiles were compared to pure crystalline powder piroxicam one (open circles). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

evaporation process. For all of these last solid dispersions, complete drug was released in few minutes.

Regarding the *in vitro* dissolution study, the best results were obtained with ternary solid dispersion systems obtained by evaporation method and having a polymer/inclusion complexes ratio at 70 or 90% (w/w). For an optimum sublingual administration, it is recommended PEG6000 content in solid dispersion as low as possible meaning in our case 70% (w/w). Indeed, PEG at high quantity presents laxative effect.

4. Conclusion

In sublingual drug delivery, drug needs to dissolve rapidly in a small volume of saliva. The results demonstrated the high potential and interest of solid dispersion preparations achieved with drug inclusion in cyclodextrins followed by PEG6000 dispersion for sublingual delivery of hydrophobic drugs. This study also showed the advantage in this application of evaporation method on the melting ones during the step of drug dispersion in hydrophilic polymer. Indeed, solid dispersions produced by evaporation method were more porous and drug complexation with cyclodextrins prevented the presence of drug in crystalline form in such formulations. Drug was therefore faster and completely dissolved in aqueous medium with solid dispersions of piroxicam inclusion complexes than free form of this drug. Next step will be the pharmacokinetic and toxicological profiles of such drug delivery systems by preclinical studies.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.019>.

References

- Banchero, M., Manna, L., 2011. Investigation of the piroxicam/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complexation by means of a supercritical solvent in the presence of auxiliary agents. *J. Supercrit. Fluids* 57, 259–266.
- Banchero, M., Manna, L., Ronchetti, S., Campanelli, P., Ferri, A., 2009. Supercritical solvent impregnation of piroxicam on PVP at various polymer molecular weights. *J. Supercrit. Fluids* 49, 271–278.
- Bettinetti, G.P., Sorrenti, M., Rossi, S., Ferrari, F., Mura, P., Faucci, M.T., 2002. Assessment of solid-state interactions of naproxen with amorphous cyclodextrin derivatives by DSC. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 30, 1173–1179.
- Bhupendra, P.G., Patel, M.M., 2007. Conventional and alternative pharmaceutical methods to improve oral bioavailability of lipophilic drugs. *Asian J. Pharm.* 1.
- Bouchal, F., Skiba, M., Fatmi, S., Chaffai, N., Lahiani-Skiba, M., 2014. Influence of the preparation method on the dissolution properties of piroxicam-cyclodextrin systems. *Lett. Drug Des. Discov.* 11, 786–808.
- Brunton, L., Chabner, B.A., Knollman, B., 2011. *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 12th ed. McGraw-Hill Medical, New York.
- Farag Badawy, S.I., Ghorab, M.M., Adeyeye, C.M., 1996. Bioavailability of danazol-hydroxypropyl- β -cyclodextrin complex by different routes of administration. *Int. J. Pharm.* 145, 137–143. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173\(96\)04763-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173(96)04763-1).
- Galia, A., Scialdone, O., Filardo, G., Spanò, T., 2009. A one-pot method to enhance dissolution rate of low solubility drug molecules using dispersion polymerization in supercritical carbon dioxide. *Int. J. Pharm.* 377, 60–69.
- Goswami, T., Jasti, B., Li, X., 2008. Sublingual drug delivery. *Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst.* 25, 449–484.
- Jain, A.C., Aungst, B.J., Adeyeye, M.C., 2002. Development and *in vivo* evaluation of buccal tablets prepared using danazol-sulfolbutylether 7 beta-cyclodextrin (SBE 7) complexes. *J. Pharm. Sci.* 91, 1659–1668.
- Kim, K.H., Frank, M.J., Henderson, N.L., 1985. Application of differential scanning calorimetry to the study of solid drug dispersions. *J. Pharm. Sci.* 74, 283–289.
- Kimura, E., Bersani-Amado, C.A., Sudo, L.S., Santos, S.R., Oga, S., 1997. Pharmacokinetic profile of piroxicam beta-cyclodextrin, in rat plasma and lymph. *Gen. Pharmacol.* 28, 695–698.
- Kurozumi, M., Nambu, N., Nagai, T., 1975. Inclusion compounds of non-steroidal antiinflammatory and other slightly water soluble drugs with alpha- and beta-cyclodextrins in powdered form. *Chem. Pharm. Bull.* 23, 3062–3068.
- Maghsoodi, M., Sadeghpour, F., 2010. Preparation and evaluation of solid dispersions of piroxicam and Eudragit S100 by spherical crystallization technique. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 36, 917–925.
- Mannila, J., Järvinen, T., Järvinen, K., Tarvainen, M., Jarho, P., 2005. Effects of RM-beta-CD on sublingual bioavailability of delta9-tetrahydrocannabinol in rabbits. *Eur. J. Pharm. Sci.* 26, 71–77.
- Marques, H.M.C., Hadgraft, J., Kellaway, I.W., 1990. Studies of cyclodextrin inclusion complexes I. The salbutamol-cyclodextrin complex as studied by phase solubility and DSC. *Int. J. Pharm.* 63, 259–266.
- Mathias, N.R., Hussain, M.A., 2010. Non-invasive systemic drug delivery: development considerations for alternate routes of administration. *J. Pharm. Sci.* 99, 1–20.
- Moffat, A.C., Osselton, M.D., Widdop, B., 2004. *Clarke's Analysis Of Drugs And Poisons*, 3rd ed. Pharmaceutical Press.
- Ozkan, Y., Doganay, N., Dikmen, N., Isimer, A., 2000. Enhanced release of solid dispersions of etodolac in polyethylene glycol. *Farmaco* 55, 433–438.
- Pan, R.N., Chen, J.H., Chen, R.R., 2000. Enhancement of dissolution and bioavailability of piroxicam in solid dispersion systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 26, 989–994.
- Pighi, R., Fjordgaard, A., 2011. A Process for the Preparation of a Piroxicam: Betacyclodextrin Inclusion Compound. HK1116054 (A1) Abstract of corresponding document: WO2006013039 (A2).
- Pignatello, R., Ferro, M., Puglisi, G., 2002. Preparation of solid dispersions of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with acrylic polymers and studies on mechanisms of drug-polymer interactions. *AAPS PharmSciTech* 3, E10.
- Skiba, M., Bouchal, F., Boukhris, T., Bounoure, F., Fessi, H., Fatmi, S., Chaffai, N., Lahiani-Skiba, M., 2013. Pharmacokinetic study of an oral piroxicam formulation containing different molar ratios of β -cyclodextrins. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.* 75, 311–314.
- Song, Y., Wang, Y., Thakur, R., Meidan, V.M., Michniak, B., 2004. Mucosal drug delivery: membranes, methodologies, and applications. *Crit. Rev. Ther. Drug Carr. Syst.* 21, 195–256.
- Suhagia, B.N., Patel, H.M., Shah, S.A., Rathod, I., Parmar, V.K., 2006. Preparation and characterization of etoricoxib-polyethylene glycol 4000 plus polyvinylpyrrolidone K30 solid dispersions. *Acta Pharm.* 56, 285–298.
- Tantishaiyakul, V., Kaewnopparat, N., Ingkatawornwong, S., 1999. Properties of solid dispersions of piroxicam in polyvinylpyrrolidone. *Int. J. Pharm.* 181, 143–151.
- Tingming, F., Liwei, G., Kang, L., Tianyao, W., Jin, L., 2010. Template occluded SBA-15: an effective dissolution enhancer for poorly water-soluble drug. *Appl. Surf. Sci.* 256, 6963–6968. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.apsusc.2010.05.007>.
- Valizadeh, H., Mohammadi, G., Adibkia, K., Zakeri-Milani, P., Nokhodchi, A., 2005. Effect of PEG molecular weight in the physicochemical properties of piroxicam solid dispersions prepared by melting method. *Pharm. Sci.* 33–39.
- Valizadeh, H., Zakeri-Milani, P., Barzegar-Jalali, M., Mohammadi, G., Danesh-Bahreini, M.-A., Adibkia, K., Nokhodchi, A., 2007. Preparation and characterization of solid dispersions of piroxicam with hydrophilic carriers. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 33, 45–56.
- Verma, M.M., Kumar, M.T., Balasubramaniam, J., Pandit, J.K., 2003. Dissolution, bioavailability and ulcerogenic studies on piroxicam-nicotinamide solid dispersion formulations. *Boll. Chim. Farm.* 142, 119–124.
- Vrečer, F., Vrbinč, M., Meden, A., 2003. Characterization of piroxicam crystal modifications. *Int. J. Pharm.* 256, 3–15.
- Wang, X., Michael, A., Van den Mooter, G., 2004. Study of the phase behavior of polyethylene glycol 6000-itraconazole solid dispersions using DSC. *Int. J. Pharm.* 272, 181–187.
- Yoo, S.D., Yoon, B.M., Lee, H.S., Lee, K.C., 1999. Increased bioavailability of clomipramine after sublingual administration in rats. *J. Pharm. Sci.* 88, 1119–1121.

Influence of the Preparation Method on the Dissolution Properties of Piroxicam - Cyclodextrins Systems

F. Bouchal^{1,2}, M. Skiba^{1,*}, S. Fatmi^{1,2}, N. Chaffai³ and M. Lahiani-Skiba¹

¹Galenic Pharmaceutical Laboratory, UFR Medecine and Pharmacy, Rouen University, 22 Bd Gambetta, 76183 Rouen, France

²Pharmaceutical Laboratory, Department of Engineering Processes, Faculty of Technology, Abderrahmane-Mira University, route de Targua Ouzemmour, 06000 Bejaia, Algeria

³Galenic Pharmaceutical Laboratory, Medecine Faculty, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria

Abstract: The rationale of this study was to investigate the effect of cyclodextrins (β -CD or HP β -CD) on the dissolution of a poorly water soluble drug: Piroxicam (Px). Interactions of piroxicam (Px) and β -CD or hydroxypropyl- β -CD (HP β -CD) have been investigated in solution and in the solid state. The phase solubility of inclusion complex for each CD was studied according to Higuchi and Connors method. Equimolecular (Px - β -CD) or (Px - HP β -CD) solid systems were prepared using different techniques. Solubility studies demonstrated the formation of the (Px - β -CD) and (Px - HP β -CD) inclusion complexes with 1:1 stoichiometry. In all cases, a significant increase in the dissolution rate with respect to the drug alone was evidenced, which was attributed to the formation of an inclusion compound. The dissolution performance of the complexes appeared to be related to both the preparation method of the solid system and the type of CD used. Among the solid complexes obtained either with β -CD or HP β -CD, the freeze-dried and the spray-dried systems were the most effective in achieving the enhancement of the Px dissolution rate. The enhancement was better from HP β -CD than β -CD except for the freeze-drying (P4.2) and the spray-drying methods. The characterization (DSC, TGA, FT-IR and PDRX) showed differences between the complexes and their corresponding physical mixture and individual components.

Keywords: Piroxicam, β -CD, HP β -CD, Solid complex, Anti-inflammatory.

INTRODUCTION

Piroxicam (Px) is a derivative of the oxycam group of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAID), known as cyclooxygenase-1 selective inhibitor. It is a 4-hydroxy-2-methyl-N-(2-pyridyl)-H-1,2-benzothiazine-3-carboxamide-1,1-di-oxide, a white slightly yellow and crystalline powder, which is practically insoluble in water, with a molecular weight of 331.35 (C₁₅H₁₃N₃O₄S) [1]. It is recommended for the treatment of rheumatic disorders and other chronic arthritic symptoms. However, its significantly low aqueous solubility and poor dissolution can cause formulation problems and limit its therapeutic application by delaying the rate of absorption and the onset of action [2]. For improving dissolution of Px, several studies have been performed using solid dispersions with some carriers and polymers such as chitosan [3], nicotinamide [4], Eudragit E100, myrj 52 and mannitol [5], polymers microspheres [6], polyvinylpyrrolidone (PVP) [7-9], Eudragit S100 [10] and PEG [11, 12]. The complexation with cyclodextrins (CDs) has been extensively used in drug formulations to improve the solubility of a number of poorly soluble drug molecules [13-20]. Various anti-inflammatory drugs have been complexed with CDs, thus obtaining such further advantages as enhanced bioavail-

ability, dose lowering, toxicity and side effects reduction, improved chemical stability, reduced volatility, and taste or odor masking. These actions have positioned cyclodextrins as important enabling and functional excipients [21]. M. Fukuda *et al.* have investigated the influence of sulfobutyl ether β -CD (SBE γ - β -CD) on the dissolution properties of ketoprofen from extrudates prepared by hot-melt extrusion [22], Haresh M. Patel *et al.* have reported the preparation and the characterization of etoricoxib - β -CD complexes prepared by kneading method [23], P. Mura *et al.* have explored the effect of α -, β -, and γ -cyclodextrins complexation on ibuprofen dissolution properties [24] and M. L. Manca *et al.* have evaluated the influence of β -CD on the biopharmaceutical properties of diclofenac [25].

Earlier studies describe some investigations on inclusion interaction of piroxicam with β -CD and its derivatives (β -CD, HP- β -CD, CM- β -CD) [26-28]. Quantitative determination of Px in complex inclusion formulation by spectrophotometric and chromatographic methods has also been performed [29-31]. C. Cavallari *et al.* [32] showed in their study that the granulates containing Px and β -CD, prepared by steam aided granulation improve the *in vitro* dissolution rate of Px. Bioavailability of Px formulation with β -CD was evaluated in rats by K. Kimura *et al.* [33] and in rabbits by M. Skiba *et al.* [34]. In our pharmacokinetic study, we have reported that the inclusion complex (Px - β -CD) which was prepared by freeze-drying at different drug/CD molar ratios and administered orally to rabbits, gave rise to an improvement in the drug bioavailability.

*Address correspondence to this author at the Galenic Pharmaceutical Laboratory, UFR Medecine and Pharmacy, Rouen University, 22 Bd Gambetta, 76183 Rouen, France; Tel: 02 35 14 84 88/85 96; E-mail: mohamed.skiba@univ-rouen.fr

Finally, it should be noted that several authors have described the inclusion complexes of Px with CDs but the influence of the preparation method on the dissolution properties of Px is not reported yet neither with β -CD nor with HP- β -CD. The method of complexation may play an important role in drug solubilization. Therefore, it seemed of interest to perform investigations on the possibility of complexation of Px with β -CD and HP- β -CD for improving the solubility and the dissolution rate of this drug by different techniques of inclusion. In solution state, the interaction between Px and each CD (β -CD or HP- β -CD) was evaluated using the phase solubility diagrams according to Higuchi and Connors [35]. The complexes in solid state were prepared using different methods: physical mixture, kneading, co-precipitation, solvent evaporation, freeze drying and spray drying at 1:1 drug molar ratio. In vitro dissolution profiles of the complexes were performed for all samples. Selective physicochemical determination based on IR, DSC, TGA and PRXD was used to characterize the complexes.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Micronized Piroxicam (Px) was procured as a gift sample from Algerian pharmaceutical group (Saidal) which was purchased from Andenex-Chemie GmbH. β -cyclodextrin (β -CD) and hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP β -CD) were obtained from Roquette, France. All other reagents and solvents (sodium citrate, sodium hydroxide, hydrochloric acid, and methanol) were of analytical grade.

Methods

Preliminary Studies

The influence of pH on the solubility of Px was evaluated by adding an excess amount of this drug to 100 ml of β -CD solution buffered (16 mM, citrate sodium 0.01 M) at different pHs 4, 6 and 8 while mixing. The solution was agitated (500 rpm, 850 rpm and 1200 rpm) for 3 days at room temperature to ensure equilibrium. The resulting sample was filtered through 0.22 μ m and analyzed by UV spectrophotometry at 355 nm. To exclude any effect of sample preparation, buffered Px solutions were also prepared for all pH studied using the same experimental protocol. Each experiment was carried out in triplicate.

Preparation of Calibration Curves

A suitable, accurately weighed quantity of Px was dissolved in methanol to obtain a stock solution [1]. Standard solutions were prepared by dilution of the stock solution with different media (water, citrate buffer at pH=4, 6, 8 and 6.8) in which preliminary studies, phase solubility diagrams and dissolution tests were performed. Ultraviolet absorbance of the solutions was determined at the wavelength of maximum absorbance at 355 nm (UV-Vis Beckman UV 24 double beam spectrophotometer).

Phase Solubility Diagrams

Solubility studies were carried out according to the method reported by Higuchi and Connors [35]. Excess

amount of Px was added to 10 ml of aqueous solutions containing various concentrations of cyclodextrin; (0 – 16mM) for β -CD and (0 – 300mM) for HP β -CD. The flasks containing the suspensions were sealed and vigorously shaken at 37°C under a constant agitation rate for one week to ensure equilibrium. After setting, the aliquots were withdrawn and subsequently centrifuged. The supernatant was appropriately diluted and analyzed spectrophotometrically at $\lambda=355$ nm (UV-Vis Beckman UV 24 double beam spectrophotometer) to determine the total drug content. Each experiment was carried out in triplicate. The apparent stability constant of the Px/ β -CD and Px/HP β -CD complexes, assuming 1/1 stoichiometry, was calculated from the slope of the straight line portion of the solubility diagram using the equation below [35] where S_0 is Px solubility in the absence of β -CD or HP β -CD (intercept).

$$K_s = \text{slope}/S_0 \text{ (1-slope)} \quad (1)$$

Also, the solubilizing efficiency which is referred to as the complexation efficiency (CE) [36] was determined for Px/ β -CD and Px/HP β -CD systems by the complex to free cyclodextrin concentration ratio.

Preparation of Solid Inclusion Complexes

The preparation of solid complexes of Px with either β -CD or HP β -CD was performed by different methods including physical mixture, kneading, co-precipitation, evaporation, spray drying and freeze drying. Based on the results of the solubility studies, the molar ratio was kept at 1:1 (Px - β -CD) or (Px - HP β -CD). These methods are described below in detail.

Physical Mixture (Process P₀)

The required and accurately weighed amounts of Px and CD (β -CD or HP β -CD) were sieved through a 0.5mm mesh sieve and thoroughly mixed in a mortar at 1:1 drug: CD molar ratio for 15 minutes.

Kneading Method (Process P₁)

The inclusion complex of Px with β -CD or HP β -CD was prepared at a 1:1 molar ratio by triturating thoroughly the physical mixture in a mortar with a minimum volume of citrate buffer (pH=4) with a pestle within 30 minutes to obtain a homogeneous paste, which was then dried under vacuum at room temperature, pulverized, sieved through a 0.5mm mesh sieve and stored in a dessicator until further evaluation.

Co-precipitation Method (Process P₂)

Amounts of Px and CD (β -CD or HP β -CD) to give 1:1 molar ratio were accurately weighed. Px was dissolved in 10ml of methanol and β -CD was dissolved in 50 ml of citrate buffer (pH=4). The two solutions were mixed, agitated for 24 hours at room temperature and then cooled to about 4°C in a refrigerator for 72 hours. The resulting mixture was filtered (0.22 μ m) and dried under vacuum at room temperature. The solid complex preparations were pulverized, passed through 0.5mm mesh sieve and stored in a dessicator for evaluation.

Evaporation Method (Process P3)

After dissolution of CD (β -CD or HP β -CD) in citrate buffer (pH=4), the 1:1 molar proportion of Px was added. This suspension was further kept under stirring for 24 hours at room temperature. The obtained solution was evaporated under vacuum at a temperature of 45°C until getting dry in a rotary evaporator Laborota 4010 (Heidolph). The dried mass was pulverized and sieved through a 0.5mm mesh sieve and then stored in a dessicator until its evaluation.

Freeze Drying (Process P4)

To study the pH effect of inclusion complex formulation on the dissolution properties of the freeze-dried product, two (02) different processes were carried out for the freeze-drying method.

Freeze Drying (Process: P4.1)

The required 1:1 stoichiometric quantity of Px was added to an aqueous citrate buffer solution (pH=4) containing CD (β -CD or HP β -CD) while mixing with a propeller stirring. After 30 hours of agitation at 850 rpm, the resulting solution was frozen at -70°C and was lyophilized in a freeze-dryer Labconco (Freezone®) for 48 hours. The solid complex preparations were stored in a dessicator for evaluation.

Freeze Drying (Process: P4.2)

In drug: CD 1:1 molar ratio, Px was added to 400 ml of β -CD or 40 ml of HP β -CD water solution and stirred at 750 rpm until a stabile suspension was formed. Px was then dissolved by addition of a small amount of sodium hydroxide (1N) and the obtained solution (pH=10) was stirred for the next 24 hours at ambient temperature to obtain complexation equilibrium. The prepared solution was frozen and lyophilized in a freeze-dryer Labconco (Freezone®) for 48 hours. The solid complex preparations were stored in a dessicator for evaluation.

Spray Drying (Process P5)

In drug: CD 1:1 molar ratio, Px was added to 400ml of β -CD or 40ml of HP β -CD water solution and stirred at 750 rpm until a stabile suspension was formed. Px was then dissolved by addition of a small amount of sodium hydroxide (1N) and the solution was stirred for the next 24 hours at ambient temperature to obtain complexation equilibrium. The final solution (pH=10) was spray-dried in a Büchi Mini Spray Dryer B-290 apparatus, under the following conditions: inlet temperature 150°C; outlet temperature 85°C, feeding pump at 20% and air nozzle flow rate at 50 m³/h. The solid complex preparations were stored in a dessicator for evaluation.

In Vitro Dissolution Studies

In vitro dissolution studies of pure drug, physical mixtures and inclusion complexes prepared by the different methods were evaluated using USP XXIII apparatus (Vankel VK 7000). The rotation speed was 100 rpm, and the temperature was adjusted at 37°C±0.5°C. Powder samples containing 20mg of Px or its equivalent amount of inclusion

complexes or physical mixture form were placed in 900 ml of the dissolution medium (citrate buffer, pH=6.8) for 2 hours. In all experiments, 5 ml of dissolution sample was withdrawn at 5, 10, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 and 120 min and replaced with an equal volume of the fresh medium to maintain a constant total volume. Samples were filtered through 0.45 μ m and assayed for drug content at 355 nm by UV spectrophotometry. The dissolution tests were conducted at least in triplicate. Cumulative percentages of the drug dissolved from the preparations were calculated using calibration equations.

Characterization of Solid Inclusion Complexes

Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)

Attenuated Total Reflection (ATR) - FT-IR measurements were performed on the powders. The samples were placed on a wedged (Ge-ATR crystal), pressed with a force of 80 N and spectra were then recorded using a Spectrum One (Perkin-Elmer, USA). A freshly cleaned crystal was used as a reference. Each analysis has been conducted in frequency range between 4000 cm⁻¹ and 600 cm⁻¹, at a resolution of 8cm⁻¹ and with 20 scans. All measurements were performed in triplicate.

Differential Scanning Calorimetry (DSC)

The DSC was performed using Perkin-Elmer Differential Scanning Calorimetry (Model DSC 6). Indium (99.98%, melting point 157°C) was used to calibrate the apparatus. Samples (5 mg) were accurately weighed into aluminum pans and sealed. The curves of the samples were obtained at a scanning rate of 10°C/min conducted over a temperature range of 30-255°C under a nitrogen gas (20ml/min). The apparatus was controlled by the Pyris software (Perkin-Elmer, USA). Measurements were carried out in triplicate.

Thermogravimetric Analysis (TGA)

Mass losses were recorded with a TGA 4000 Perkin-Elmer apparatus on 5 mg samples in open pans at the heating rate of 10°C in the 30°C - 600°C temperature range under a nitrogen gas flow (20ml/min). All measurements were performed in triplicate.

X-Ray Powder Diffraction (XRPD)

X-Ray Powder Diffraction patterns were recorded on an "X'Pert Pro PANalytical" diffractometer (vertical system Φ / Φ MPd, RTMS excellerator detector). The samples were analyzed in the 2 Φ angle range of 5° to 65° and the process parameters were set as follow: scan speed (°/s) of 0.30, step size of 0.0167° (2 Φ) and scanning step time of 1.9 seconds. Data were analyzed using the software X'Pert HighScore.

Statistical Treatment of Dissolution Data

The results of Px dissolution study were analyzed using a computer program by the Fisher test to compare the percentage of Px dissolved at 5min, 30min and 60min (DP5, DP30 and DP60) among the formulations either between different inclusion methods for each CD or between β -CD and HP β -

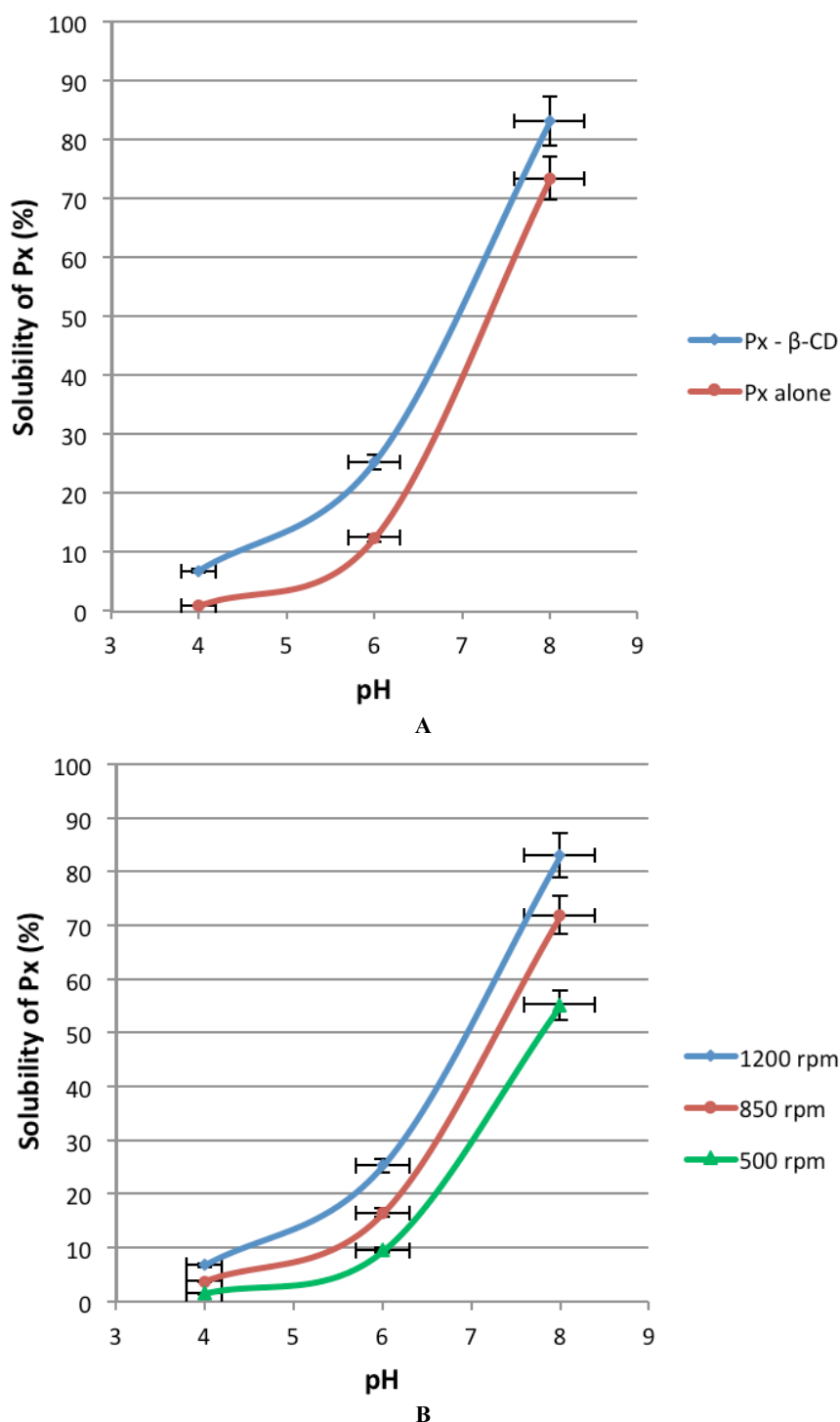


Fig. (1). pH and Stirring speed effect on the solubility of Px alone and in aqueous solution of β -CD Each point represents the mean \pm SD.

CD complexes. Statistical analyses were carried out using one way or two way analysis of variance (ANOVA) test and the differences were considered significant at $p < 0.0001$.

RESULTS AND DISCUSSION

Preliminary Studies

The effect's study of pH on the solubility of Px (Fig. 1A) showed a positive influence while the pH value increased

either for Px alone or Px included in β -CD. The higher solubility of Px was obtained at pH= 8 which represented a 3-fold improvement in solubility than pH=6 and a 12-fold increase when the inclusion complex was tested at pH=4. Therefore, the presence of cyclodextrin in buffered solution significantly improved the solubility of the drug, particularly at pH=4 which presented the best enhancement with 7 fold compared to Px alone. The solubility of Px depends not only on medium pH but also on the stirring speed of the mixture during the preparation of the inclusion complex. Indeed, it

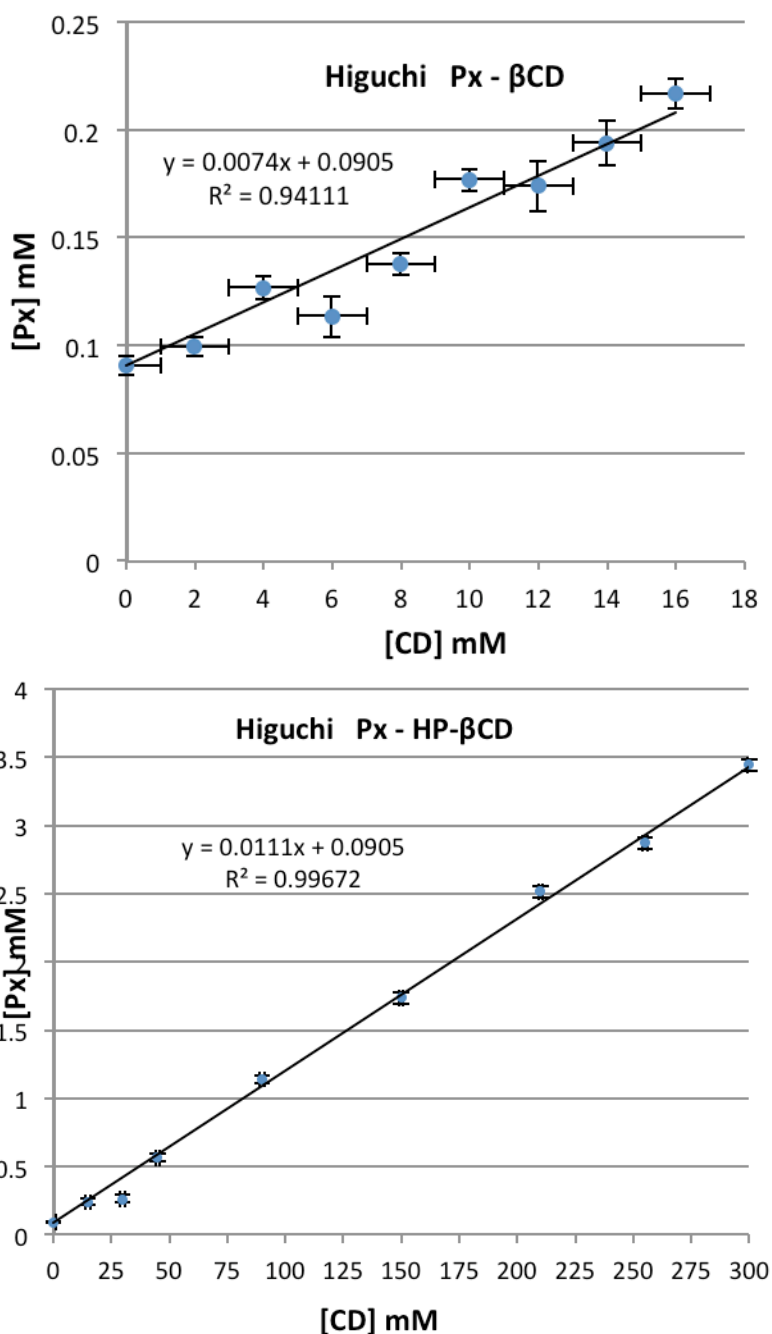


Fig. (2). Phase solubility diagram of Px - β-CD and Px - HP-β-CD systems in water at 37°C Each point represents the mean ±SD.

increases proportionately as the level of stirring speed increases in any pH (Fig. 1B). The increase of Px solubility with the increase of the stirring speed can be explained by the Noyes Whitney equation [37]; the dissolution rate is inversely proportional to the thickness of the boundary layer (h) which is reduced by agitation in the vessel. Taking in account that lower solubility was obtained at pH=4, most of investigations were carried out by using this value of pH.

Phase Solubility Diagrams

Phase solubility diagrams of Px in aqueous solutions of β-CD and HP-β-CD at 37°C are illustrated in Fig. (2). These plots show that the solubility diagrams exhibit A₁ type according to the Higuchi and Connors classification [35],

showing a linear increase of drug solubility upon increasing CD (β-CD or HP-β-CD) concentration and indicating the formation of soluble complexes. The linear host-guest correlation with slope of less than 1 suggested the formation of 1:1 (Px - β-CD) and 1:1 (Px - HP-β-CD) complexes with respect to β-CD and HP-β-CD concentrations respectively. The apparent stability constants, K_s , obtained from the slope of the linear phase solubility diagram were found to be 0.082 mM⁻¹ for β-CD and 0.124 mM⁻¹ for HP-β-CD, which indicate that the Px - CD complexes at 1:1 are adequately stable [35]. The stability constant value observed for HP-β-CD indicates that Px interacts more strongly with HP-β-CD than with β-CD. To evaluate the effect of cyclodextrins, the solubilizing efficiency of β-CD or HP-β-CD was calculated as

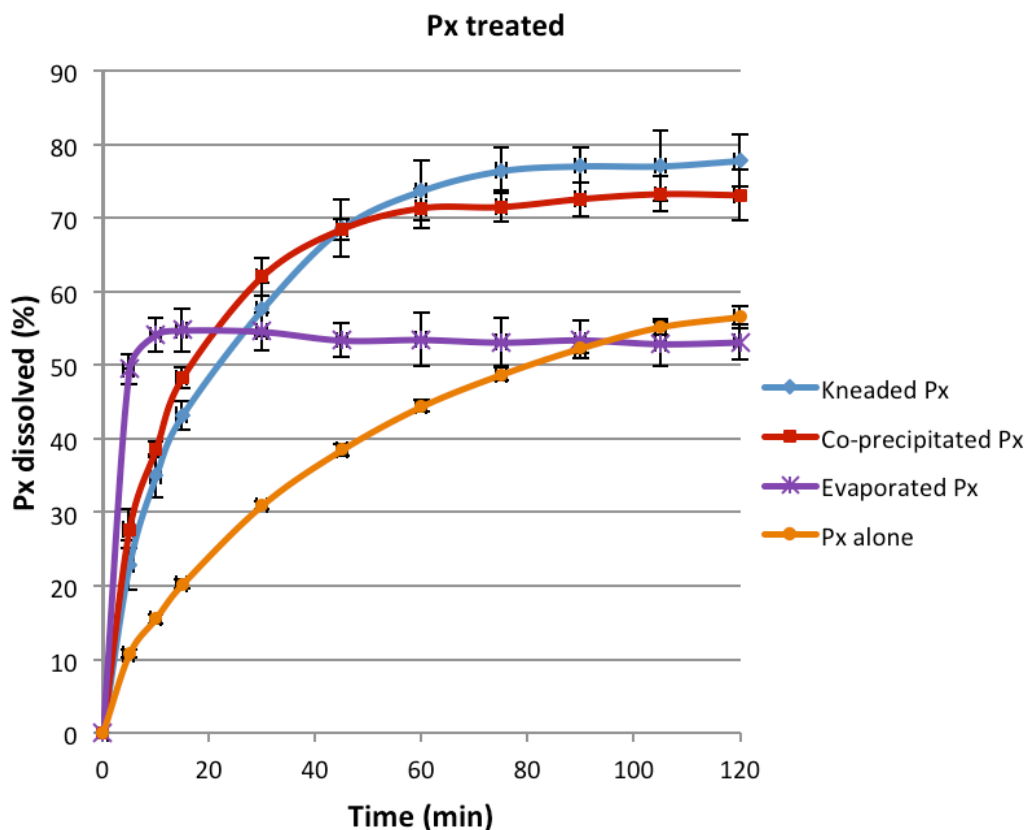


Fig. (3). Dissolution profiles of evaporated, co-precipitated and kneaded Px and Px alone in pH=6.8 buffer at 37°C±0.5°C. Each point represents the mean ±SD.

Table 1. DP₅ (%); DP₃₀ (%), DP₆₀ (%) of Px alone and evaporated, kneaded and co-precipitated Px in pH=6.8 buffer at 37°C±0.5 °C.

Sample (Px Treated)	DP ₅ (%) ¹	DP ₃₀ (%) ¹	DP ₆₀ (%) ¹
Px alone	10.81 ± 0.60	31.01 ± 0.53	44.43 ± 0.41
Kneaded Px : K	22.91 ^a ± 0.15	57.69 ^a ± 0.13	73.81 ^a ± 0.12
Co-precipitated Px : C	27.74 ^{a,b} ± 0.11	62.11 ^{a,b} ± 0.19	71.40 ^{a,b} ± 0.10
Evaporated Px : E	49.51 ^{a,b,c} ± 0.23	54.5 ^{a,b,c} ± 0.20	53.50 ^{a,b,c} ± 0.16
Statistical analyses One- way ANOVA test (95% confidence interval)	a: significantly different from Px alone b : significantly different from K c: significantly different from C (p < 0.0001)		

¹Each point represents the mean (n=3)

the ratio of the drug solubility in aqueous solution of cyclodextrin (16 mM or 300 mM respectively) to the drug solubility in water. HP-β-CD yielded a 38-fold increase in the solubility of piroxicam, whereas β-CD yielded only a 2.4-fold increase.

Dissolution Behavior of Complexes

In the present investigation, the dissolution profiles were evaluated by means of two parameters: percentage of active ingredient dissolved after 5 min, 30 min and 60 min (DP₅, DP₃₀ and DP₆₀) and dissolution half life time (t_{50%}).

The dissolution rate profiles and dissolution parameters of Px alone and Px treated by kneading, evaporation and co-precipitation are reported in Fig. (3) and Table 1 respectively. The DP₅ value of evaporation is considerably higher when compared to co-precipitated and kneaded products but after 30 min, it becomes low so that it does not exceed Px alone at the end of dissolution test. The treatment of pure drug by co-precipitation and kneading produced a significant positive variation of its dissolution properties: **17%** for co-precipitated and **12%** for kneaded in the first 5 min and **27%** for co-precipitated and **29%** for kneaded after one hour. The co-precipitated and kneaded products were quite similar in

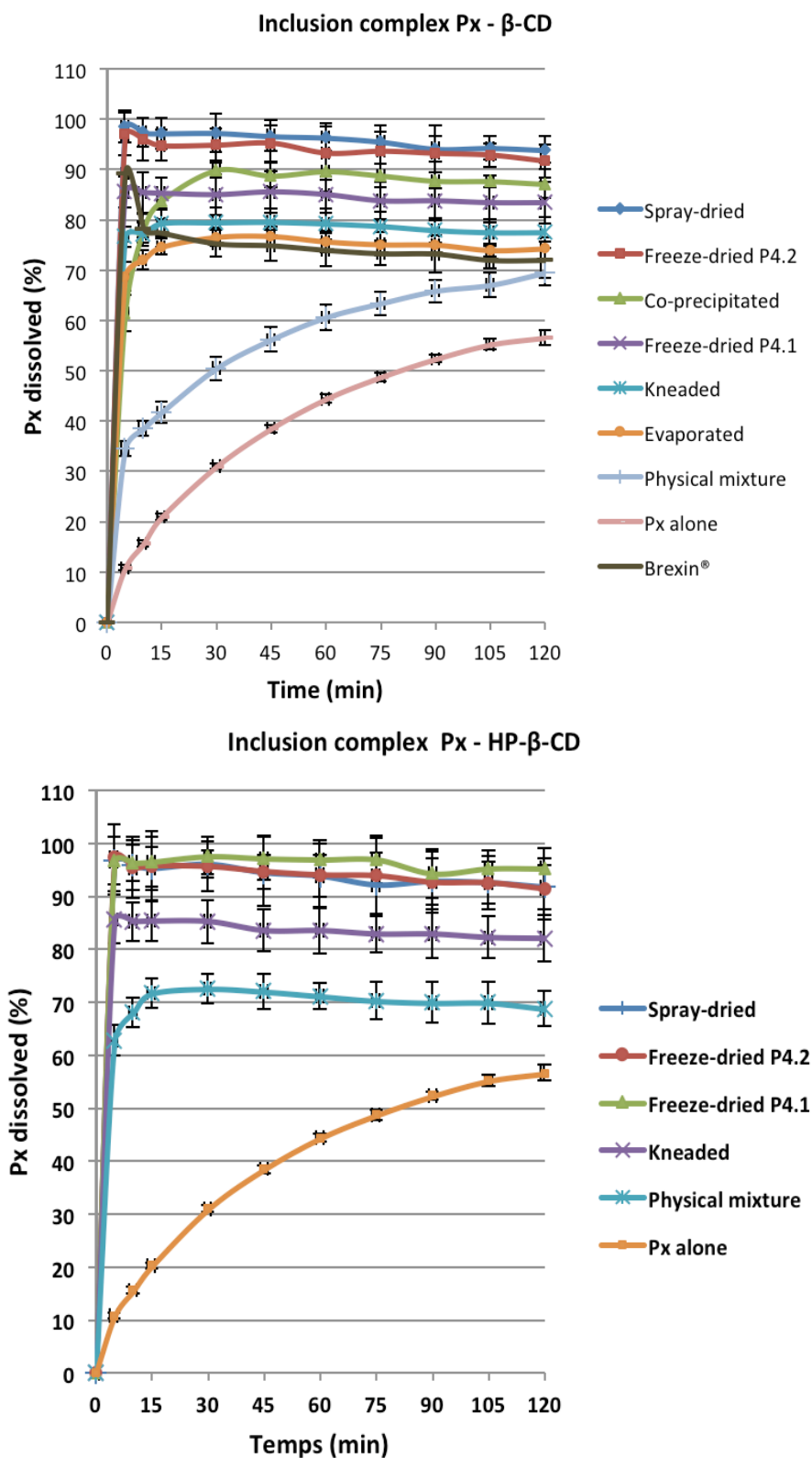


Fig. (4). Dissolution profiles of Px alone, (Px - β -CD) and (Px - HP β -CD) systems in pH=6.8 buffer at 37°C±0.5°C. Each point represents the mean ±SD.

the beginning of the dissolution but in the second hour of the test; the kneaded Px exceeded slightly the co-precipitated Px.

The dissolution rate profiles and dissolution parameters of Px alone and from binary systems with CDs (Px - β -CD)

and (Px - HP β -CD) are presented in Fig. (4), Table 2 respectively. It was clear that all (Px - β -CD) and (Px - HP β -CD) systems exhibited a higher dissolution rate ($p < 0.0001$) compared with Px alone. The dissolution rate, expressed by

Table 2. DP₅ (%); DP₃₀ (%), DP₆₀ (%) and t_{50%} (min) of Px alone, (Px – βCD) and (Px – HP-βCD) systems in pH=6.8 buffer at 37°C±0.5°C.

A

Sample	DP ₅ (%) ¹	DP ₃₀ (%) ¹	DP ₆₀ (%) ¹	t _{50%} (min) ¹
Px alone	10.81 ± 0.60	31.01 ± 0.53	44.43 ± 0.41	80 min
Px-βCD physical mixture P ₀	34.44 ^a ± 0.55	50.50 ^a ± 0.35	60.63 ^a ± 0.48	29 min
Px – βCD evaporated P3	68.74 ^{a,b,c,d} ± 0.13	76.59 ^{a,b,c,d} ± 0.18	75.69 ^{a,b,c,d} ± 0.17	< 3 min
Px – βCD kneaded P1	76.67 ^{a,b} ± 0.12	79.46 ^{a,b} ± 0.15	79.23 ^{a,b} ± 0.12	< 3 min
Px – βCD freeze-drying P4.1	85.55 ^{a,b,c,d,e} ± 0.05	85.00 ^{a,b,c,d,e} ± 0.03	85.00 ^{a,b,c,d,e} ± 0.06	< 3 min
Px – βCD co-precipitated P2	61.42 ^{a,b,c} ± 0.13	89.92 ^{a,b,c} ± 0.14	89.68 ^{a,b,c} ± 0.11	< 3 min
Px – βCD freeze-drying P4.2	96.97 ^{a,b,c,d,e,f} ± 0.05	94.87 ^{a,b,c,d,e,f} ± 0.03	93.28 ^{a,b,c,d,e,f} ± 0.01	< 3 min
Px – βCD spray-drying P5	98.59 ^{a,b,c,d,e,f,g} ± 0.07	97.33 ^{a,b,c,d,e,f,g} ± 0.09	96.40 ^{a,b,c,d,e,f,g} ± 0.04	< 3 min
Brexin®	89.20 ± 0.19	75.30 ^h ± 0.23	74.00 ± 0.21	< 3 min
Statistical analyses Two- way ANOVA test (95% confidence interval)	a: significantly different from Px alone b : significantly different from P ₀ c: significantly different from P1 d: significantly different from P2 e: significantly different from P3 f: significantly different from P4.1 g: significantly different from P4.2 h: non-significantly different from P3 (p < 0.0001)			

¹ Each point represents the mean (n=3)

B

Sample	DP ₅ (%) ¹	DP ₃₀ (%) ¹	DP ₆₀ (%) ¹	t _{50%} (min) ¹
Px alone	10.81 ± 0.60	31.01 ± 0.53	44.43 ± 0.41	80 min
Px – HP-βCD physical mixture P ₀	62.77 ^a ± 0.45	72.57 ^a ± 0.25	71.16 ^a ± 0.27	< 3 min
Px – HP-βCD kneaded P1	85.60 ^{a,b} ± 0.13	85.27 ^{a,b} ± 0.08	83.5 ^{a,b} ± 0.11	< 3 min
Px – HP-βCD freeze-drying P4.1	96.65 ^{a,b,c} ± 0.09	97.61 ^{a,b,c} ± 0.09	97.00 ^{a,b,c} ± 0.05	< 3 min
Px – HP-βCD freeze-drying P4.2	97.32 ^{a,b,c} ± 0.06	95.63 ^{a,b,c} ± 0.03	94.01 ^{a,b,c} ± 0.02	< 3 min
Px – HP-βCD spray-drying P5	96.70 ^{a,b,c,d} ± 0.04	96.07 ^{a,b,c} ± 0.07	93.85 ^{a,b,c,e} ± 0.05	< 3 min
Statistical analyses Two- way ANOVA test (95% confidence interval)	a: significantly different from Px alone b : significantly different from P ₀ c: significantly different from P1 d: non-significantly different from P4.1 e: non-significantly different from P4.2 (p < 0.0001)			

¹ Each point represents the mean (n=3)

t_{50%} of complexes was much faster (t_{50%} < 3 min) than for Px alone (t_{50%} = 80 min) except for the physical mixture with β-CD which presented an intermediate value (t_{50%} = 29 min).

Considering the DP₅ values (Table 2), the dissolution rate of Px was increased from 6 to 9 times as inclusion com-

plexes and from 3 to 6 times as physical mixture with β-CD and HPβ-CD. Taking into account the DP₅ values for the inclusion complexes with β-CD (Table 2A), higher drug dissolution was achieved by the spray-dried and the freeze-dried (P4.2) products followed by freeze-dried (P4.1), kneaded, evaporated and co-precipitated products, respec-

tively. However, after 30 min, the co-precipitated complex became better than the freeze-dried (P4.1). Therefore, after 30 min the rank order of the percentage of dissolved drug is as follows ($p < 0.0001$): **Spray-dried > Freeze-dried (P4.2) > Co-precipitated > Freeze-dried (P4.1) > Kneaded > Evaporated > Physical mixture**. It should be noted that the commercial product Brexin® is more close to the evaporated one. For inclusion complexes with HP β -CD, based on dissolution data (Table 2B), higher dissolution was also achieved by the spray-dried and the freeze-dried products. The rank order of the percentage of dissolved drug throughout the testing period of dissolution is as follows ($p < 0.0001$): **Freeze-dried (P4.1) > Spray-dried \approx Freeze-dried (P4.2) > Kneaded > Physical mixture**. It must be pointed out that in the first fifteen minutes of the dissolution test, the freeze-dried (P4.2) was closer either to the spray-dried or to the freeze-dried (P4.1). No significant differences were found between the spray-dried and the freeze-dried (P4.1) for DP₅ and between the spray-dried and the freeze-dried (P4.2) for DP₆₀ (cf. Fig. (4) and Table 2B).

As can be seen in Fig. (4), all (Px – HP β -CD) complexes exhibited higher dissolution than those of (Px – β -CD) excluding the freeze-dried (P4.2) and the spray-dried. No significant differences were found between the freeze-dried (P4.2, β -CD) and the freeze-dried (P4.2, HP β -CD) for DP₅, whereas the dissolved amount of the spray-dried with β -CD was significantly different from the spray-dried with HP β -CD ($p < 0.0001$): spray-dried (Px – β -CD) were found better than spray-dried (Px – HP β -CD). Therefore, the overall rank order of the increased dissolution rate including β -CD and HP β -CD complexes was in the following manner ($p < 0.0001$):

Spray-dried (β -CD) > Freeze-dried (P4.1, HP β -CD) > Spray-dried (HP- β -CD) > Freeze-dried (P4.1, β -CD) > Kneading (HP β -CD) > Kneading (β -CD) > Physical mixture (HP- β -CD) > Physical mixture (HP- β -CD)

These results allow us to conclude that the extent of the dissolution rate was found to be dependent on the preparation method of inclusion complexes and the type of CD used since the spray-dried and the freeze-dried products exhibited the highest dissolution rates.

The pH effect of inclusion complex formulation on the dissolution properties of the freeze-dried product with β -CD and HP- β -CD is illustrated in Fig. (5A) and Fig. (5B) respectively. It should be noted that the system (Px - β -CD) prepared in pH=10 showed improved drug dissolution compared to one prepared in pH=4. This followed the result found in effect's study of pH where the solubility of Px increased proportionately as the value of pH increased. However, inclusion complex with HP- β -CD did not reflect similar results in dissolution rate of Px as there is no effect of pH on the dissolution of Px – HP- β -CD system, particularly before a half hour of dissolution. The differences of DP observed between the freeze-dried (P4.1) and the freeze-dried (P4.2) after 30min of dissolution were probably due to a dilution effect in the assay.

It should be noted that RC Doijad, MM Kanakal and FV Manvi [38] have studied the effect of processing variables on dissolution of Px- HP β -CD inclusion complex prepared by

co-grinding, kneading (with aqueous ethanol or with aqueous ammonia), freeze-drying (solvent used: water/ethanol 50/50 v/v) and co-evaporation (from ethanol or from aqueous ammonia). The different techniques of preparation of the complex were found to have an influence on the dissolution rate. The complex prepared by co-evaporation method from aqueous ammonia was found to yield better dissolution rate at pH=7.2 which achieved 97% of DP after two (02) hours, whereas the freeze-dried, it yielded only 93.5%. Taking in account that our complexes preparations were carried out in aqueous citrate buffer solution (pH=4) and that our dissolution profiles were obtained at pH=6.8, the results reported by RC Doijad et al. were different compared with those obtained in our work, particularly for the freeze-dried (P4.1 or P4.2) and the kneaded products.

In our study, the freeze-dried (P4.1 or P4.2) products were 96.65% and 97.32% respectively just after five (05) minutes of dissolution (cf. Table 2B). The freeze-dried product prepared by RC Doijad et al. was only 85.1 % after 15 min of dissolution. The difference observed in DP of Px might be due to the nature of solvent used in each inclusion complex formulation. Their investigation showed a significant solvent effect of inclusion complex formulation on the dissolution properties of Px because the co-evaporated (Px-HP β -CD) from ethanol did not reach 52% of DP at 120 min of dissolution. A similar conclusion was found for the kneaded products prepared with ethanol or with aqueous ammonia; the DP₁₂₀ of the kneaded product with aqueous ammonia was 80.33% against 71.33% for the kneaded product with ethanol [38]. The complex prepared by kneading with citrate buffer (pH=4) was found to be much higher (DP₅=85.60%, cf. Table 2B) when compared with those prepared by RC Doijad et al. using the same method with ethanol or with aqueous ammonia.

Also, the work of S. Mangal and Jyotsna M Musale [39] revealed that the formulations of Px- HP β -CD inclusion complex prepared by kneading, co-evaporation and freeze-drying showed an increased rate of dissolution compared to the drug alone. A marked difference in characteristics of the solid complex in terms of DSC, IR-spectral and thin layer chromatography, was observed due to their methods of preparation.

For all preparation methods used in our study, the significant improvement in dissolution characteristics of the complexes was justified through the concurrence of several factors [40-44]:

- Formation of a readily soluble inclusion complex in the dissolution medium;
- Reduction of interfacial tension between poorly water soluble drug and the dissolution medium;
- Increased drug particle wettability;
- Reduction of crystallinity degree of the product;
- Diffusion and dissociation of the complex in the dissolution medium.

The increase in dissolution rate for the **physical mixture** with either β -CD or HP β -CD may be explained on the basis of the solubility of the drug in aqueous CD solutions. Since the CDs dissolve more rapidly in the dissolution medium

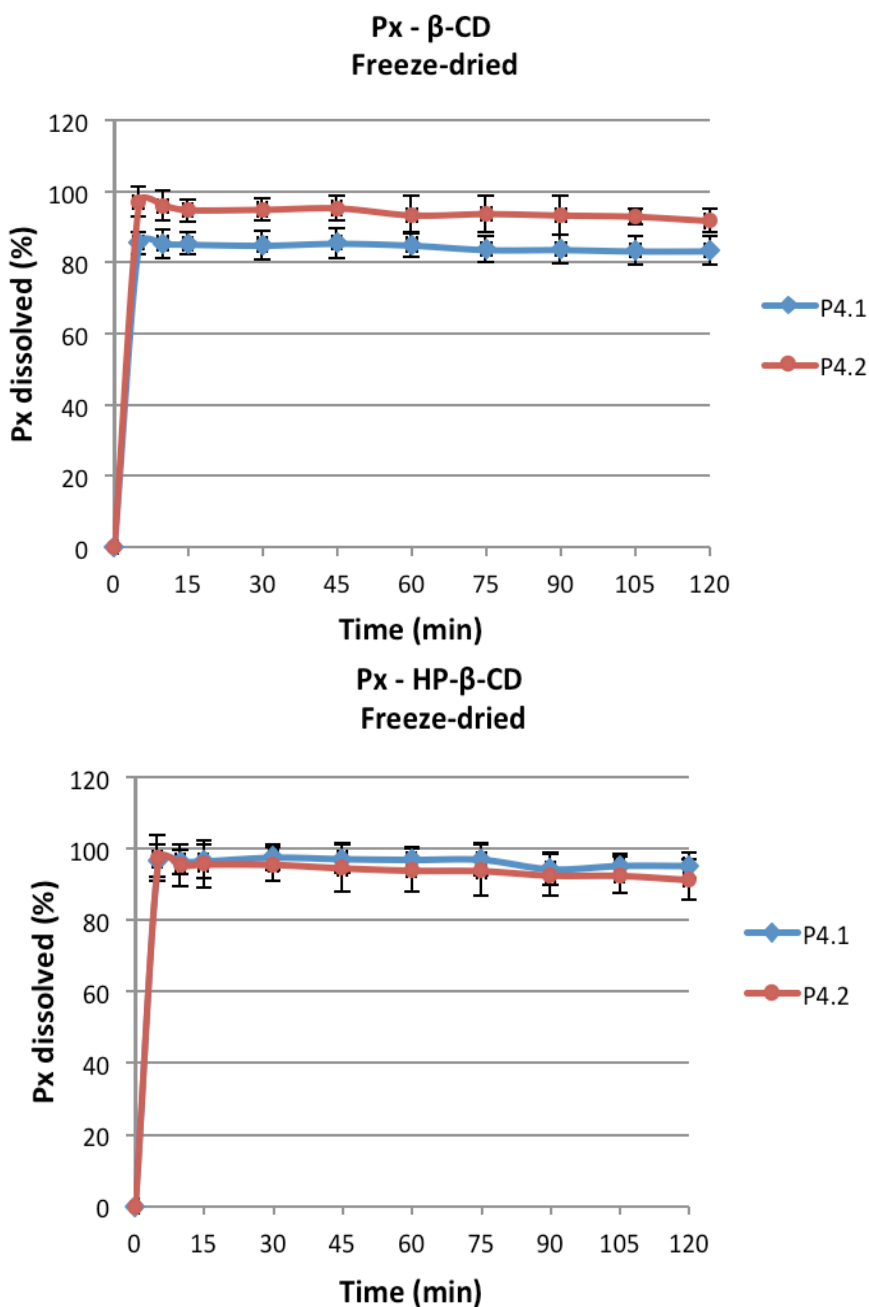


Fig. (5). pH effect of inclusion complex formulation on the dissolution properties of the freeze-dried product with β -CD and HP- β -CD in pH=6.8 buffer at $37^{\circ}\text{C}\pm 0.5^{\circ}\text{C}$. Each point represents the mean \pm SD.

than the drug alone, it can be assumed that, in early stages of the dissolution process, the CD molecules are likely to operate locally on the hydrodynamic layer surrounding the particles of the drug. This action results in an in situ inclusion process, which produces a rapid of the amount of the dissolution drug [45]. The superior dissolution properties observed with **kneaded** system over **evaporated** system may due to the better interaction of Px with β -CD during the kneading process. For **spray-dried** and **freeze-dried** products, the rapid complete dissolution in presence of CD (β -CD or HP β -CD) might also be ascribed to the high energy amorphous state [46] as a consequence of the specific (Px – CD) interactions produced by the preparation method. This was demonstrated by the physicochemical characteriza-

tion of the freeze dried product. The better performance of HP β -CD than β -CD is due to its higher solubility than β -CD which resulted in more extensive solubilization ability toward Piroxicam.

Characterization of Solid Inclusion Complexes

Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy

The FTIR spectra of the pure components, the different complexes (physical mixture, kneaded, co-precipitated, evaporated, freeze-dried and spray-dried), a commercial tablet Brexin[®] and some treated Px samples are reported in Fig. (6) to Fig. (9). The infrared spectrum of Px (Fig. 6) showed

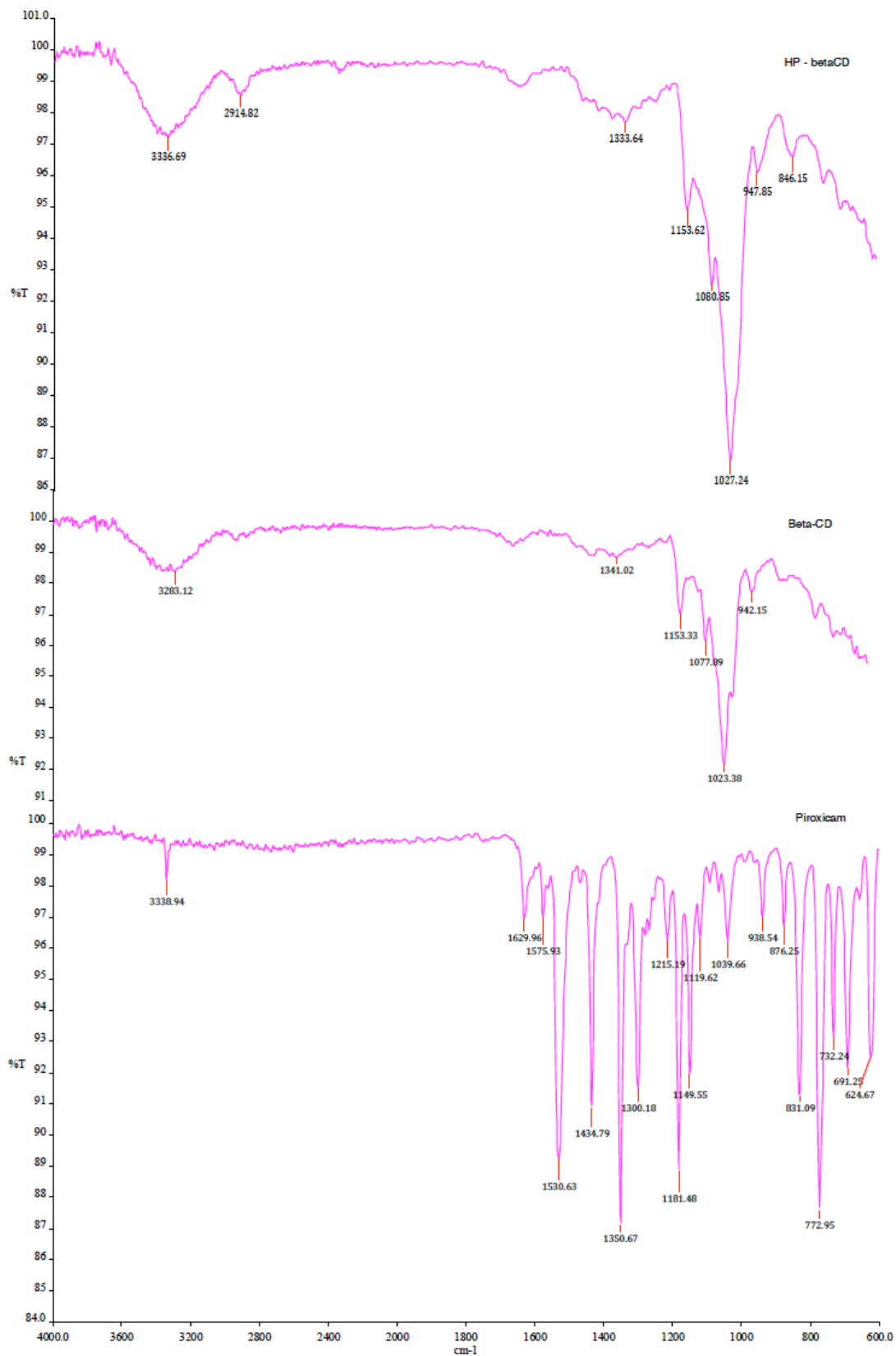


Fig. (6). FTIR spectra of pure components (Px, β -CD and HP- β -CD).

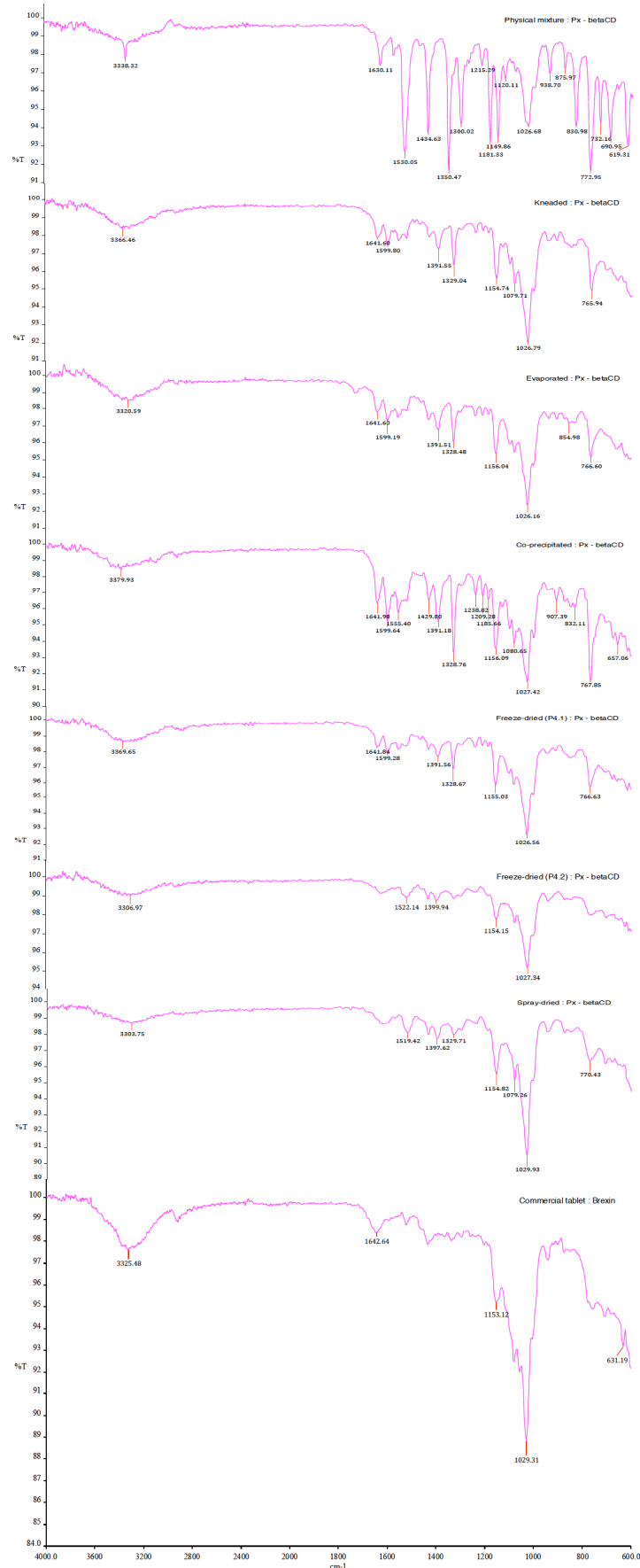


Fig. (7). FTIR spectra of Px - β -CD complexes and Brexin[®].

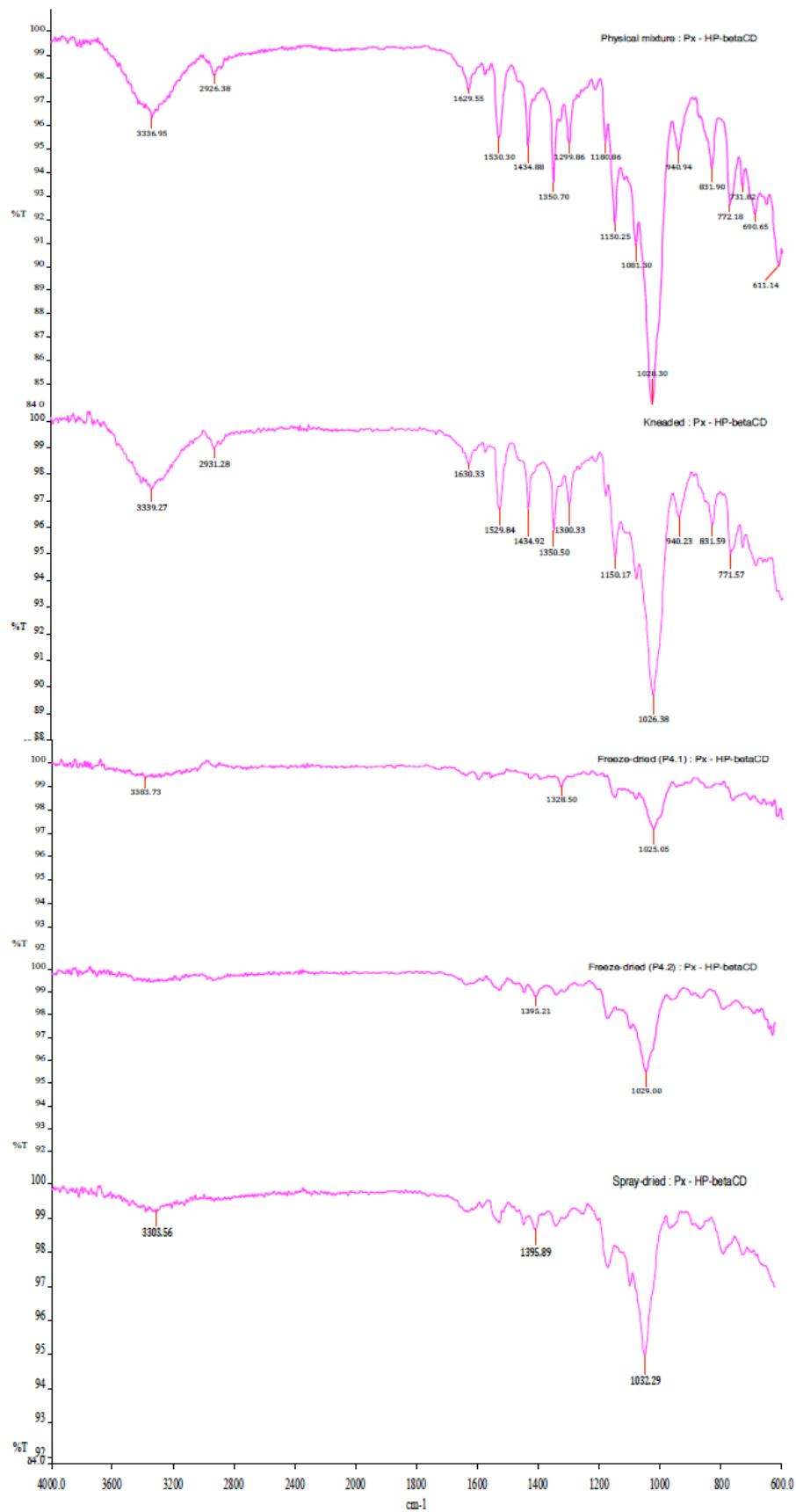


Fig. (8). FTIR spectra of Px – HP-βCD complexes.

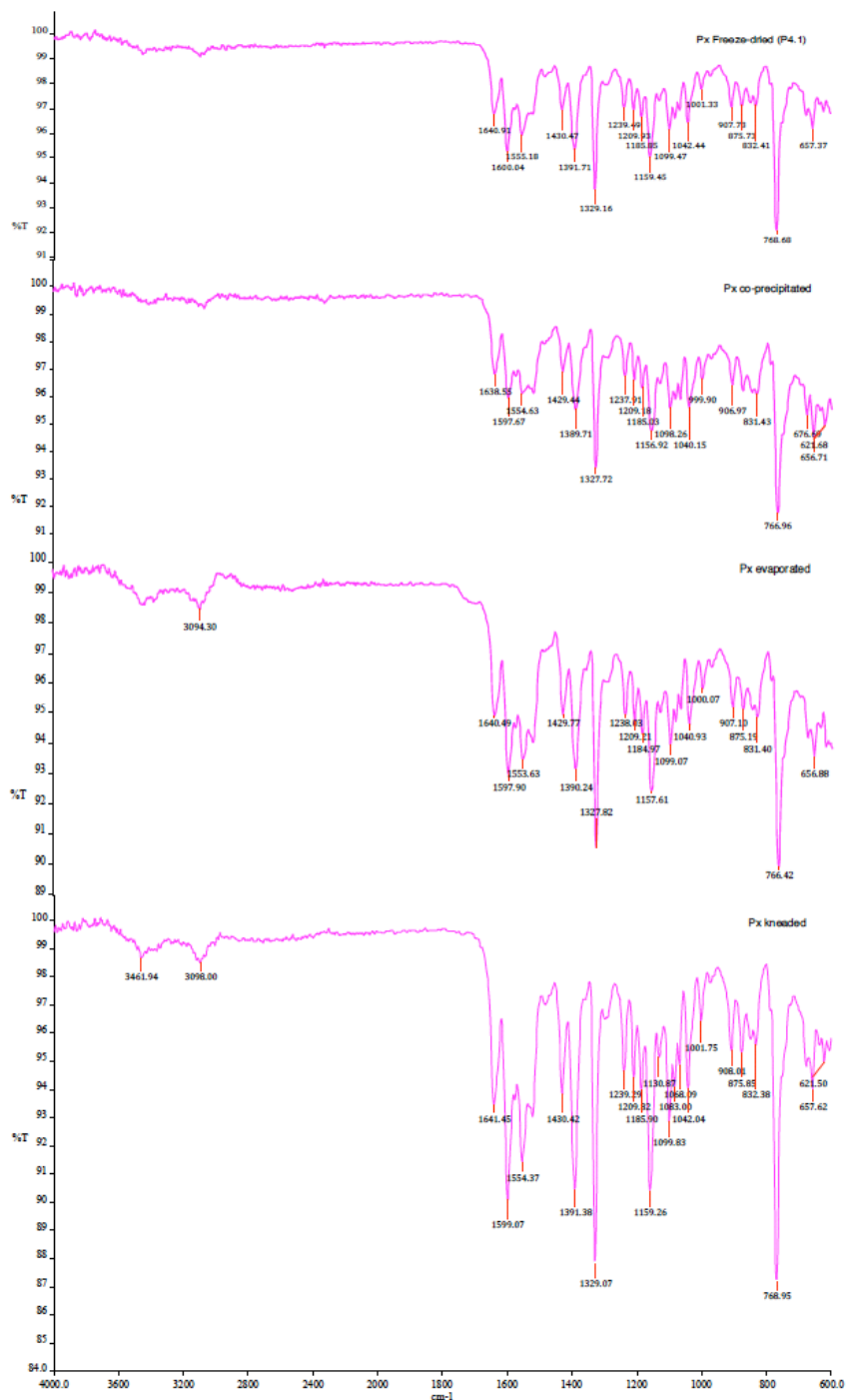


Fig. (9). FTIR spectra of Px treated.

bands at different frequencies. The first one appears in 3339cm^{-1} which represents the stretching vibration of the $-\text{NH}$ and $-\text{OH}$ groups of Px. This allows us to conclude that the drug form used in this study was the cubic-shaped polymorphic form because Px exists in two different inter convertible crystal polymorphs. Their IR spectra differ only slightly in the finger print region, but the band of $-\text{NH}$ and $-\text{OH}$ stretching lies at 3338 cm^{-1} in the cubic form and at 3393 cm^{-1} in the needle form [28]. Also, a well defined band was observed in 1630 cm^{-1} assigned to the presence of an amide carbonyl stretching vibration ($\text{C}=\text{O}$). Other character-

istics-bands of Px [47] were identified and attributed to the stretching vibrations of different groups such as the SO_2-N group stretching at 1150 cm^{-1} and the ortho-disubstituted phenyl group at 773 cm^{-1} .

The spectra of $\beta\text{-CD}$ and $\text{HP-}\beta\text{-CD}$ (Fig. 6), show wide bands in the region at $3600\text{ cm}^{-1} - 3000\text{ cm}^{-1}$ belonging to hydroxyl groups and other bands at different frequency at around 2900 cm^{-1} related to the stretching vibrations of $-\text{CH}$ group, $1636 - 1645\text{ cm}^{-1}$ representing the stretching vibrations of the double bond $\text{C}=\text{C}$, and 1154 cm^{-1} which probably belongs to $\text{C}-\text{O}$.

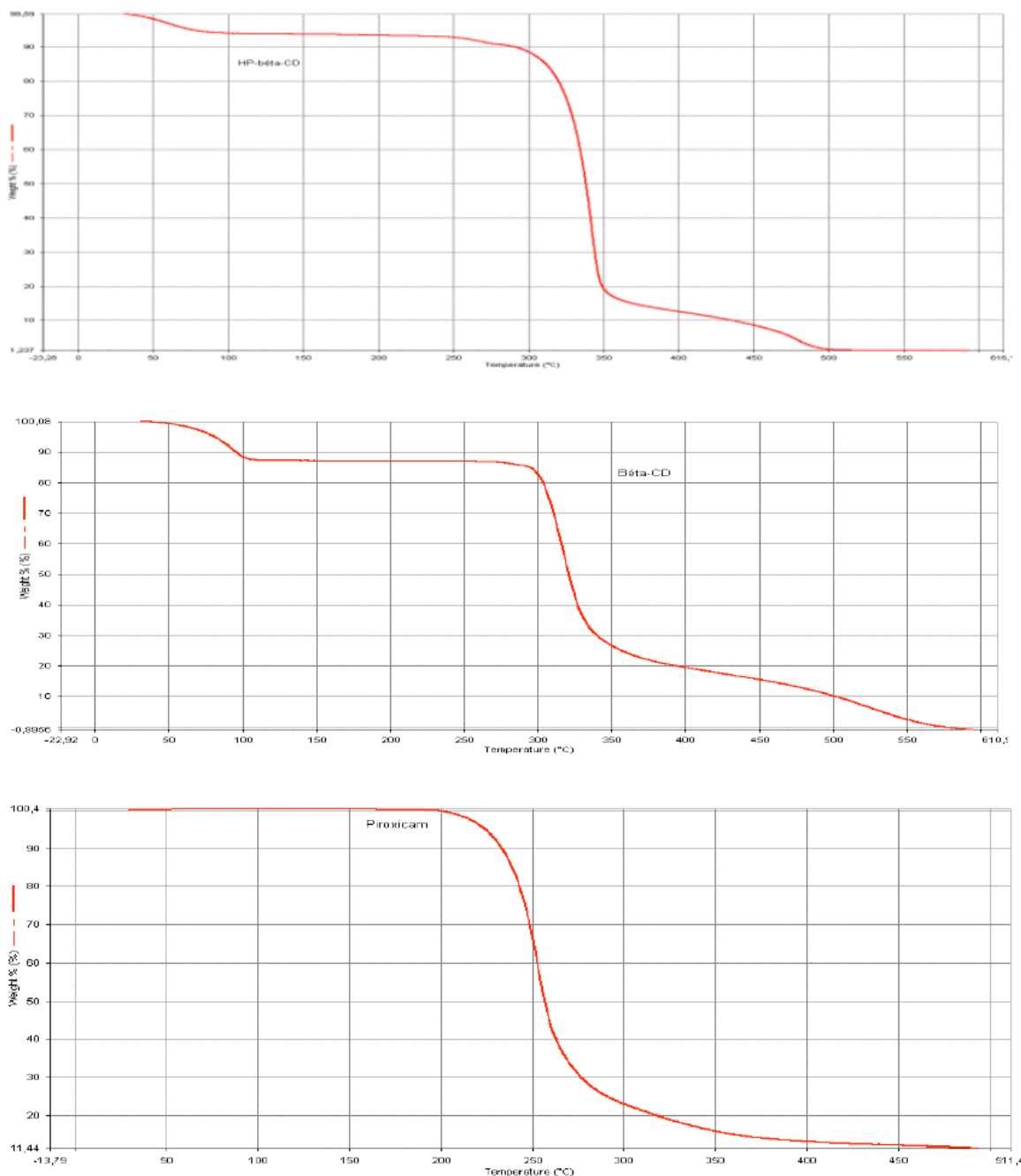


Fig. (10). TGA curves of Px, β CD and HP- β CD.

Physical mixtures of Px and both cyclodextrins (Fig. 7 and Fig. 8) showed approximately a superposition of pure drug and CD spectra revealing no strong chemical interaction between the two components.

In contrast, FTIR spectra of Px - β -CD (Fig. 7) and Px - HP- β -CD (Fig. 8) **kneaded, co-precipitated, evaporated, freeze-dried and spray-dried** samples display different absorption with broader and shifted bands. The -NH and -OH stretching vibration of Px was completely lost. Also a significant decrease in absorption for the amide carbonyl stretching vibration (C=O) can be observed. It was previously described that Px makes very stable intramolecular

hydrogen bonds, connecting the enol OH group with carbonyl oxygen, forming a six-membered ring [48]. Taking into account these strong intramolecular interactions, we suggest the formation of hydrogen bonds between the carbonyl group of Px and the hydroxyl group of the host cavity either with β -CD or HP- β -CD molecule.

Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Thermogravimetric Analysis (TGA)

The results of TGA analysis of Px, β -CD, HP- β -CD, Brexin[®] and inclusion complexes prepared by different methods are presented in Fig. (10-12). TGA mass losses over

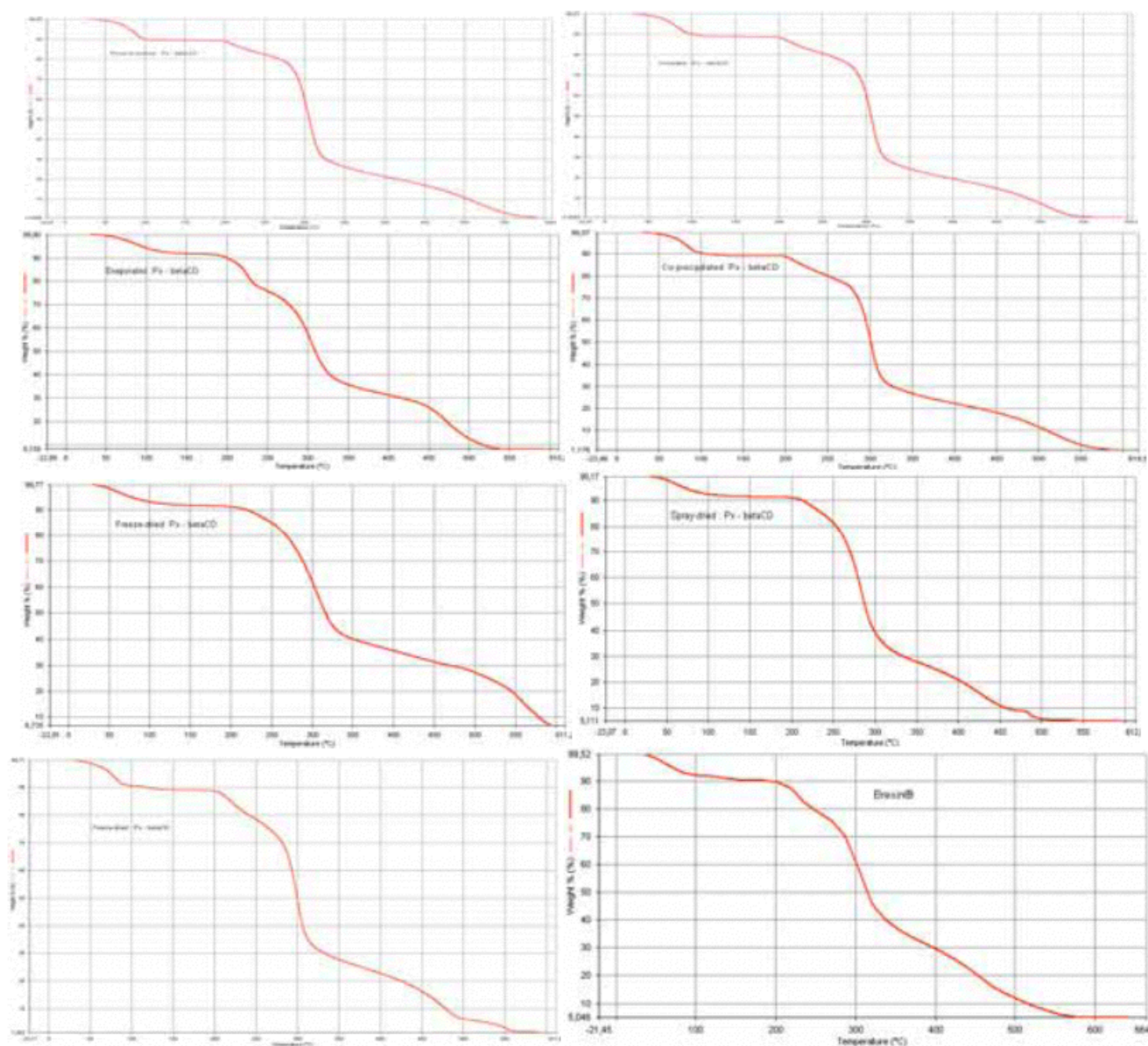


Fig. (11). TGA curves of Px – βCD complexes and Brexin®.

Table 3. Differential Scanning Calorimetric data of the examined samples (Px –βCD) and (Px –HP-βCD).

A

Sample	T onset (°C)(n=3)	T peak (°C)(n=3)	ΔH (j/g)(n=3)	Free Px content (% , n=3)
Piroxicam	201.56 ± 0.05	205.54 ± 0.01	133.67 ± 0.07	100.00± 0.06
Physical mixture	198.85 ± 0.02	201.06 ± 0.02	26.37 ± 0.14	19.73± 0.12
Kneaded	198.42 ± 0.03	200.70 ± 0.01	20.31 ± 0.18	15.19± 0.15
Evaporated	198.72 ± 0.01	200.91 ± 0.05	21.10 ± 0.13	15.78± 0.11
Co-precipitated	198.94 ± 0.04	201.23 ± 0.03	24.18 ± 0.16	18.09± 0.15
Freeze-drying (P 4.1)	198.58 ± 0.11	200.68 ± 0.09	19.41 ± 0.19	14.52± 0.17
Freeze-drying (P4.2)	-	-	-	-
Spray-dried	-	-	-	-

Table 3. contd...

B

Sample	T onset (°C) (n=3)	T peak (°C) (n=3)	ΔH (j/g) (n=3)	Free Px content (% , n=3)
Piroxicam	201.56 ± 0.05	205.54 ± 0.01	133.67 ± 0.07	100.00± 0.06
Physical mixture	196.69± 0.06	199.50± 0.06	16.12± 0.15	12.06± 0.14
Kneaded	196.28± 0.12	199.00±0.08	12.65± 0.13	9.46± 0.11
Freeze-dried (P 4.1)	197.00± 0.07	199.27± 0.02	11.51± 0.10	8.61± 0.09
Freeze-dried (P4.2)	-	-	-	-
Spray-dried	-	-	-	-

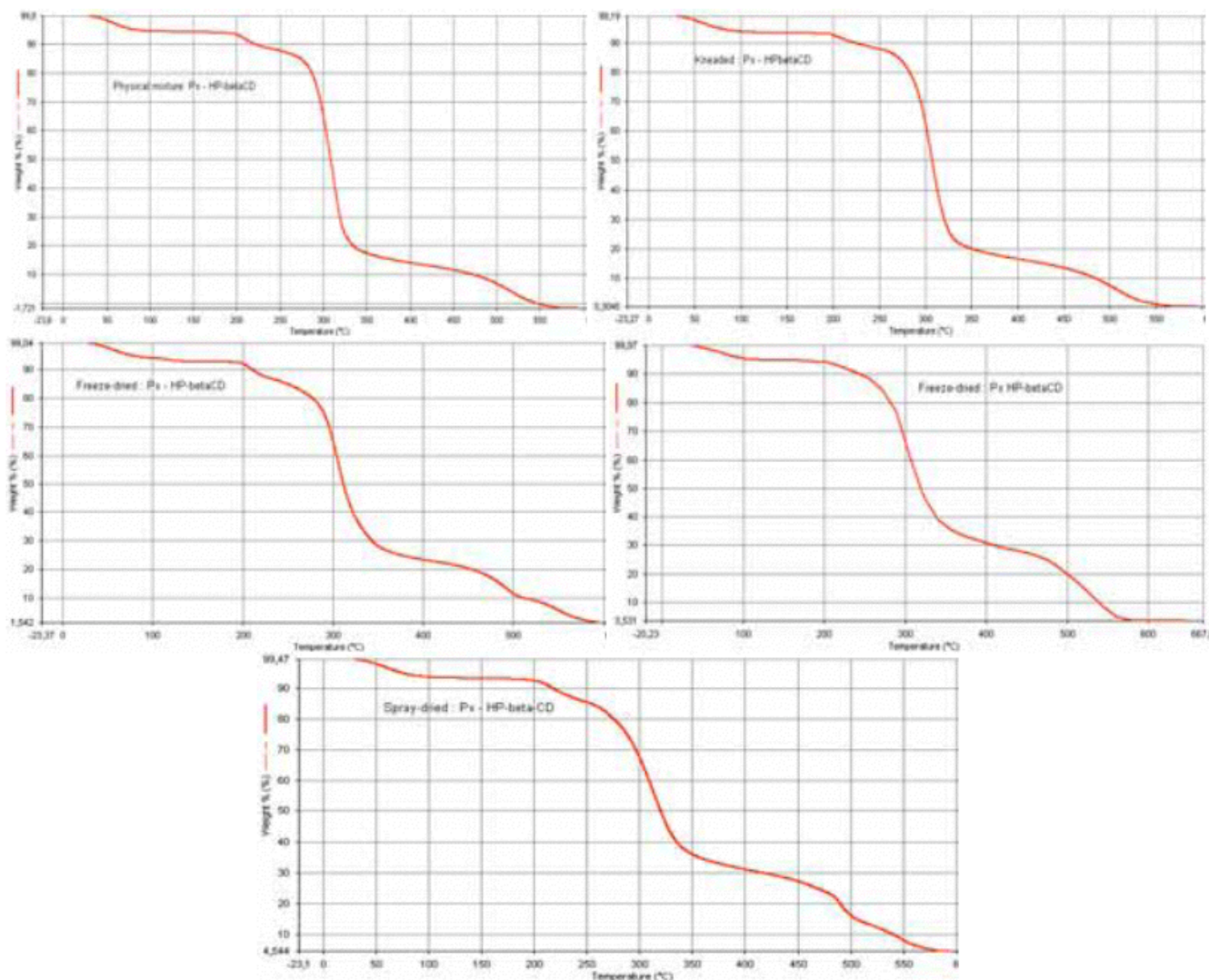


Fig. (12). TGA curves of Px – HP-βCD complexes.

the 30 – 100 °C range of ≈12% (w/w) for β-CD and of ≈5% for HP-β-CD (see Fig. 10) were due to evaporation of loosely bound water, whereas at higher temperatures to sample decomposition [49]. Fig. (13) reports the DSC curves of all the pure components employed in this work (β-CD, HP-β-

CD and Px). DSC profile of the CDs, shows a broad endothermic peak at around 170-175 °C, which is probably due to a glass transition for the crystalline cyclodextrin (β-CD). A sharp endothermic peak corresponding to the melting point of crystalline drug was found at 205.54 °C (onset =

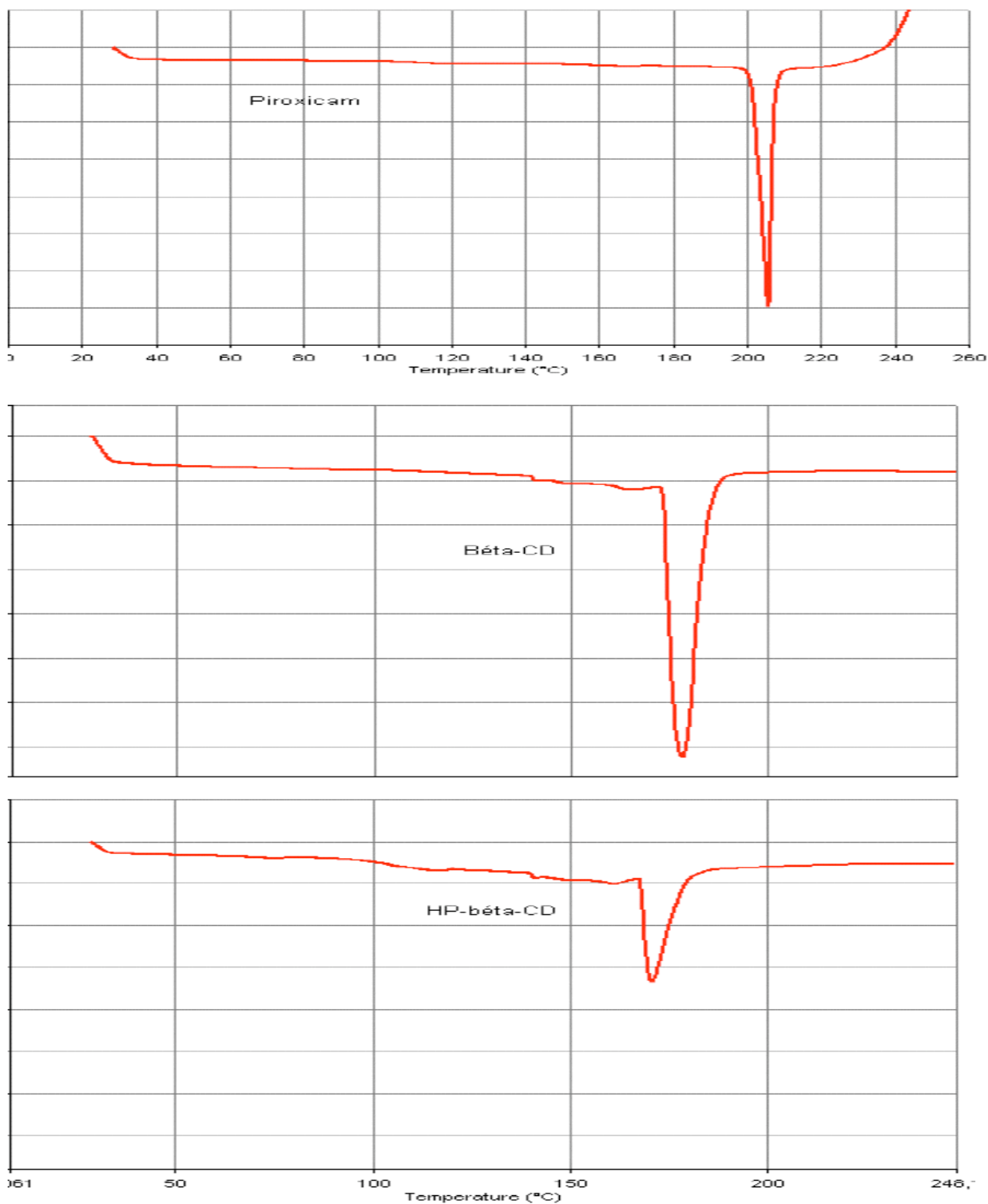


Fig. (13). DSC curves of Px, β CD and HP- β CD.

201.56°C, $\Delta H = 133.67$ j/g) (Fig. 13), accompanied with 89% weight loss (Fig. 10). The DSC profile of Px indicates a cubic crystal polymorph form [44] which is compatible with the FT-IR and RX observations (see sections 3.4.1 and 3.4.2).

DSC curves of Brexin® (Fig. 14) and Px-CD (Fig. 14-15) systems prepared by physical mixture, kneading, co-

precipitation, evaporation and freeze-drying (P 4.1) displayed a broad endothermic peak of CD around 170-180°C, followed by the endothermic melting peak at 199-201°C typical of crystalline Px. The integration of this peak gives the melting enthalpy of the crystalline Px present in the sample and by comparison with the melting of the pure drug, the free Px content. All analyses were made in triplicate and results are presented in Table 3.

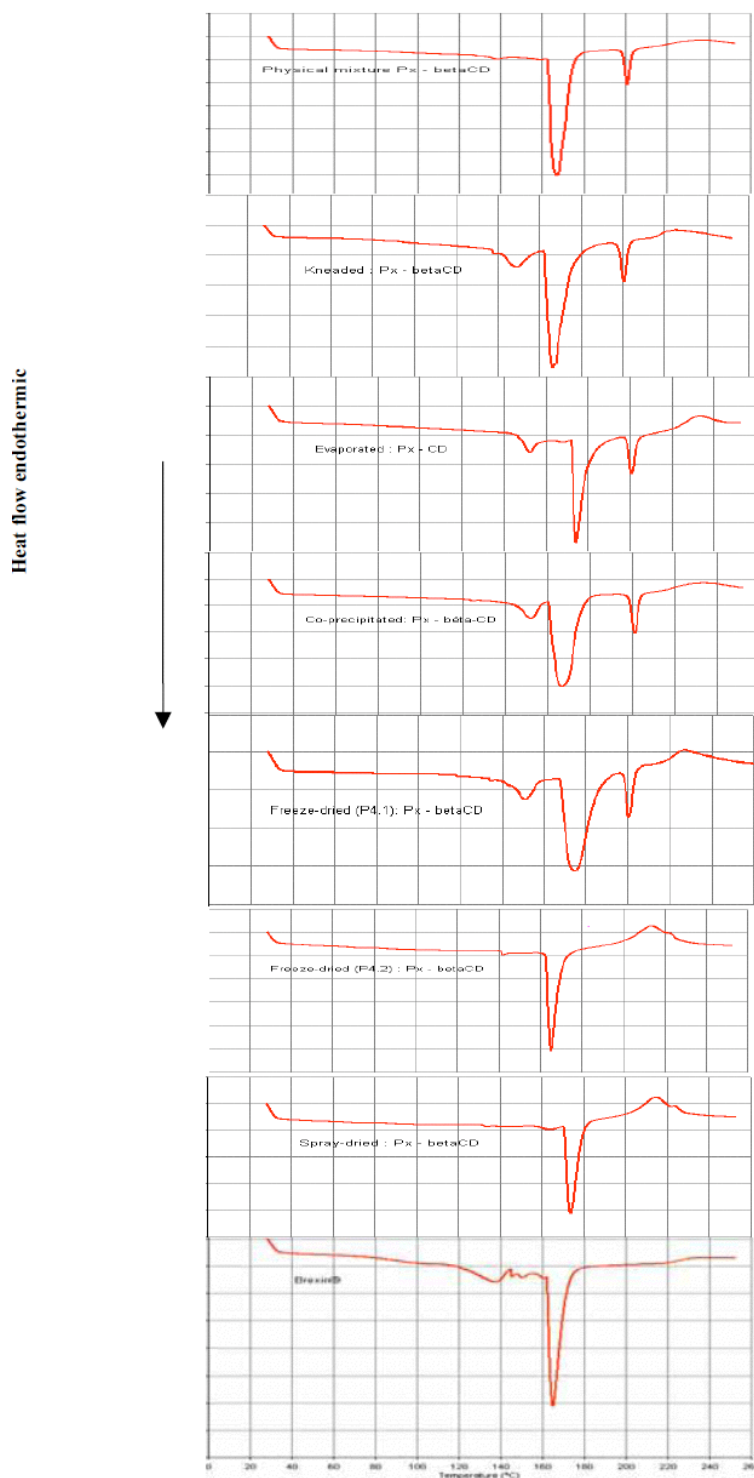


Fig. (14). DSC curves of Px – β CD complexes and Brexin[®].

The endothermic peak of Px in these complexes can still reflect the presence of a few drug crystals in the preparation. However, this thermal effect appeared more broadened and reduced in intensity, which suggests some drug-CD interaction [50]. Melting of Px was observed at **199 – 201°C** with all the complexes. This minor shift of Px from **205.54°C** to **199 – 201°C** and the changes in the broad peak of CDs could be due to the formation of inclusion complexes. However, the kneading, the co-precipitation, the evaporation and the

freeze-drying (P4.1) methods did not provide complete encapsulation, and Px was dispersed in the free state between inclusion complexes. The complete disappearance of the endothermic effect of pure Px was instead observed for freeze-drying (P4.2) and spray-drying complexes for both the CDs used and it is attributed to the formation of an amorphous solid product, the encapsulation of the drug inside the CD cavity, or both [51, 52].

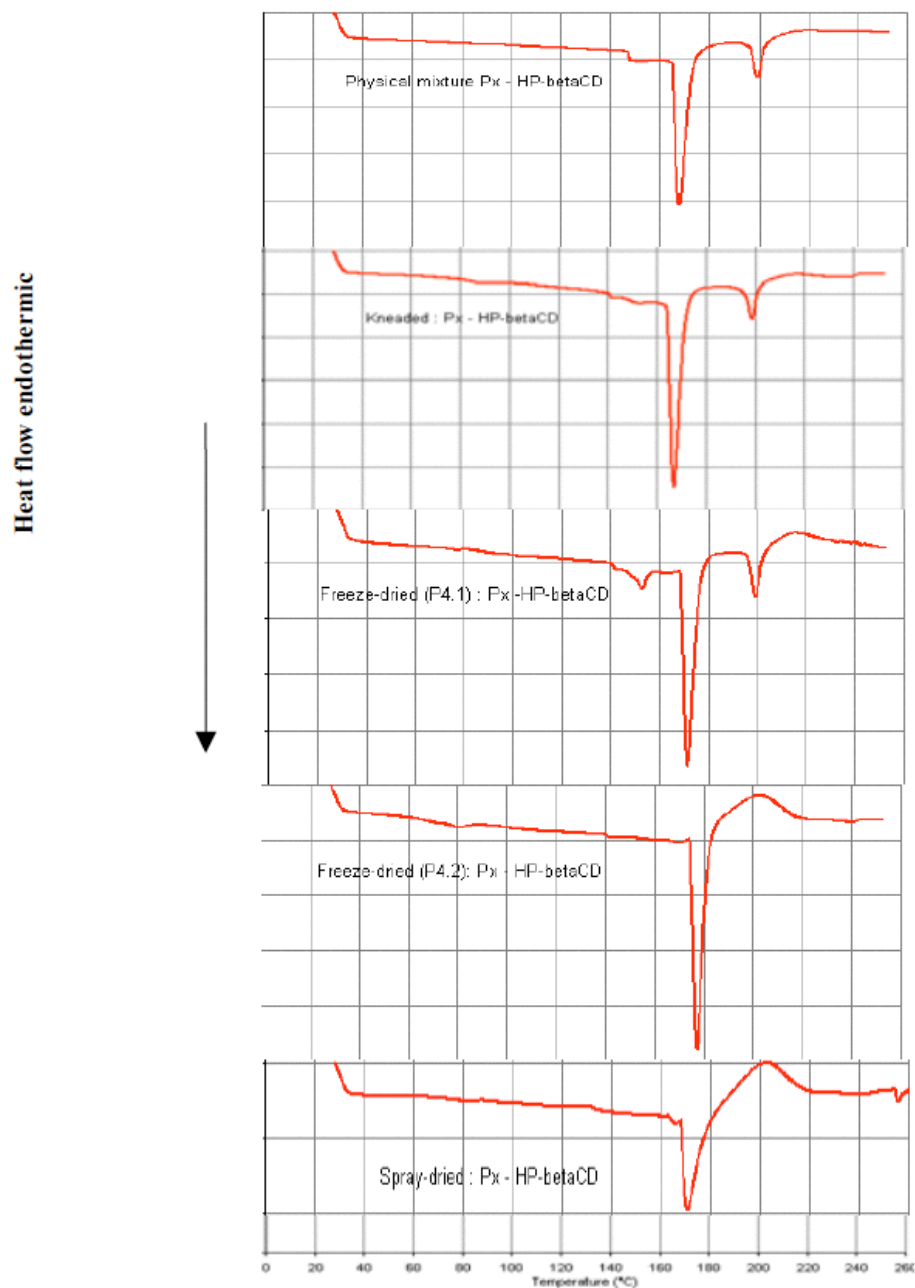


Fig. (15). DSC curves of Px – HP- β CD complexes.

X-Ray Powder Diffraction (XRPD)

The X-ray diffraction patterns of Px, β -CD, HP- β -CD and their physical mixtures and kneaded inclusion complexes are represented in Fig. (16A) and Fig. (16B). The diffractogram of Px exhibited a series of intense peaks, which are indicative of its crystallinity. Excluding the Px peak at $2\theta = 8.7^\circ$, the diffraction patterns of the physical mixture systems are approximately the superposition of those corresponding to pure components. This behavior was also observed in the kneaded product of HP- β -CD except for the peak at $2\theta = 44^\circ$. However, the pattern for the kneaded with β -CD differed from that of the corresponding physical mixture and the peaks observed were less intense than those of the drug.

CONCLUSION

Either β -CD or HP- β -CD formed an inclusion complex with Px in aqueous solution. Phase solubility profiles indicated that the solubility of Px and apparent stability constant were significantly increased in the presence of β -CD or HP- β -CD. Furthermore, the aqueous solubility of Px in presence of β -CD at 1:1 molar ratio was found to be pH dependent in the pH range studied.

The five (05) techniques used for the preparation of solid complexes (spray-drying, freeze-drying, co-precipitation, kneading, and evaporation) suggested a formation of an inclusion complex between Px and β -CD or Px and HP- β -CD at 1:1 molar ratio with characteristic properties in terms of DSC, TGA, FT-IR spectra and PRXD patterns.

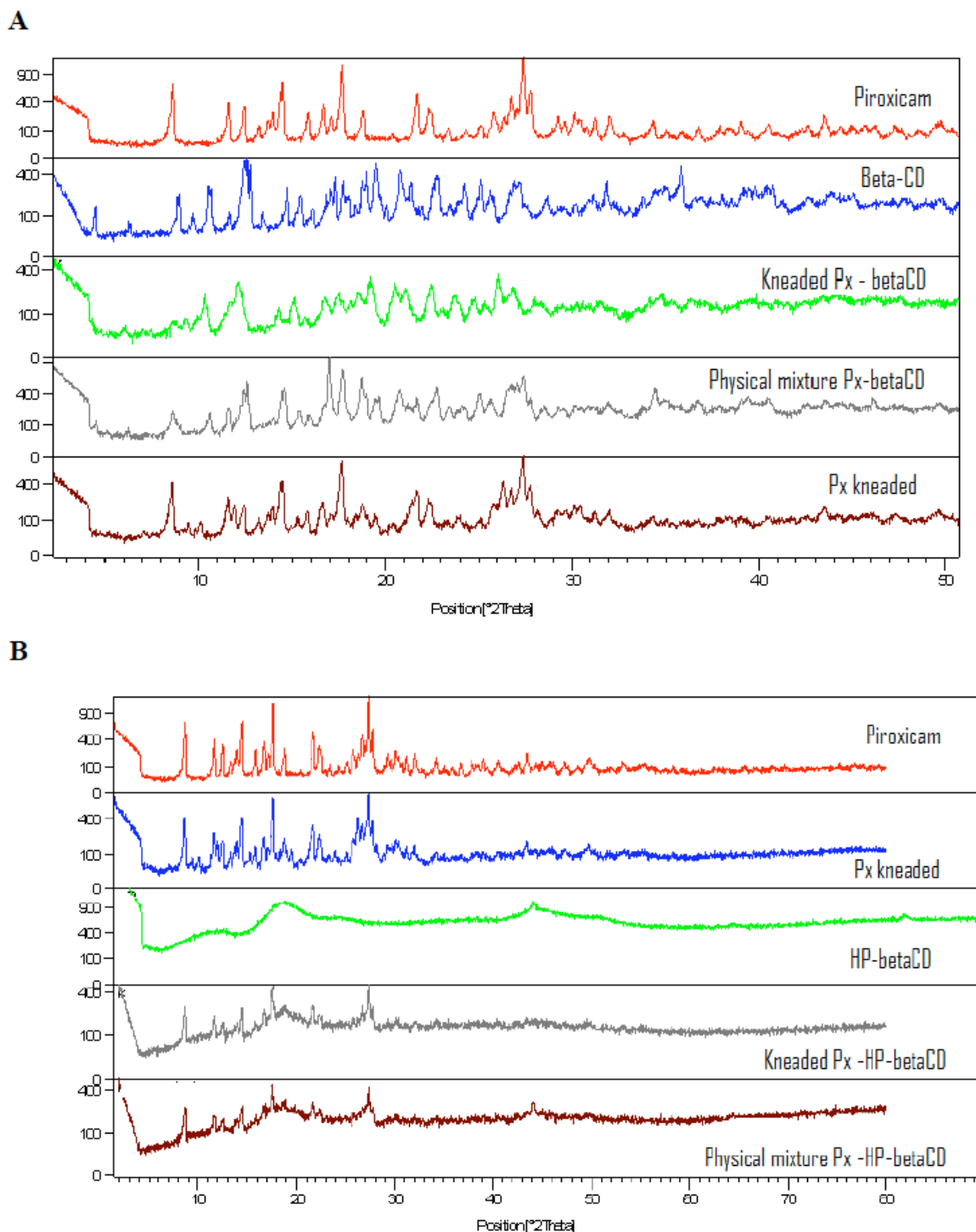


Fig. (16). X-ray diffraction patterns of Px, β -CD, HP- β -CD, Px kneaded, physical mixture and kneading of Px, β -CD and HP- β -CD.

The dissolution of Px was significantly enhanced by complex formation. In addition, the extent of the dissolution rate enhancing effect was found to be dependent on the method used for the preparation of inclusion complexes. The best solid inclusion complexes were obtained by freeze-drying and spray-drying methods compared to coprecipitation, kneading, evaporation and physical mixtures systems. According to our results from dissolution rate studies, HP- β -CD gave rise to better improvement of drug dissolution than that with β -CD except for the freeze-dried (P4.2)

and the spray-dried methods where the enhancement was similar with the two CDs used.

The freeze-drying and spray-drying methods are of particular interest for industrial-scale preparations because they can offer an improvement in the solid pharmaceutical formulations of the drug, which makes it sufficiently soluble for clinical application.

As a result of this study, it may be concluded that (Px - β -CD) or (Px - HP- β -CD) inclusion complexation led to an

improvement of drug dissolution rate, which suggests possible enhancement of Px oral bioavailability. Hence, in vivo studies in rabbits are in progress to evaluate the effect of freeze-drying and/or spray-drying of (Px - HP- β -CD) inclusion complex on the bioavailability and pharmacological activity of Px.

CONFLICT OF INTEREST

The authors confirm that this article content has no conflicts of interest

ACKNOWLEDGEMENTS

Declared none.

REFERENCES

- [1] 7^{eme} European pharmacopeia (2011).
- [2] European Patent 07/16 (18/04/07) Cheisi Farmaceutici, A process for the preparation of piroxicam: beta-cyclodextrin inclusion components.
- [3] IK-Bae Koh, Sang-Chul Shin and Yong-Bok Lee, Enhanced dissolution rates of piroxicam from the ground mixtures with chitin or chitosan, *Art. Pham. Res.*, **1986**, 9(1), 55 – 61.
- [4] Verma MM, Kumar MT, Balasubramaniam J, Pandit JK, Dissolution, bioavailability and ulcerogenic studies on piroxicam-nicotinamide solid dispersion formulations, *Boll Chim Farm.* Apr., **2003**, 142(3):119-24.
- [5] Valizadeh H, Zakeri-Milani P, Barzegar-Jalali M, Mohammadi G, Danesh-Bahreini MA, Adibkia K, Nokhodchi A, Preparation and characterization of solid dispersions of piroxicam with hydrophilic carriers, *Drug Dev Ind Pharm.*, **2007**, 33(1), 45-56.
- [6] Alessandro Galia, Onofrio Scialdone, Giuseppe Filardo, Tiziana Spano, A one-pot method to enhance dissolution rate of low solubility drug molecules using dispersion polymerization in supercritical carbon dioxide, *International Journal of Pharmaceutics*, **2009**, 377, 60-69.
- [7] Tantishaiyakul V, Kaewnopparat N, Ingkawatwong S, Properties of solid dispersions of piroxicam in polyvinylpyrrolidone, *Int. J Pharm.*, **1999**, 30;181(2):143-51.
- [8] Ke Wu, Jing Li, Wayne Wang, Denita A. Winstead, Formation and characterization of solid dispersions of piroxicam and polyvinylpyrrolidone using spray drying and precipitation with compressed antisolvent, *Journal of Pharmaceutical Sciences* Vol. , **2009**, 98(7),2422-2431.
- [9] Mauro Banchero, Luigi Manna, Silvia Ronchetti, Pasquale Campanelli, Ada Ferri, Supercritical solvent impregnation of piroxicam on PVP at various polymer molecular weights, *Journal of Supercritical Fluids*, **2009**, 49, 271-278.
- [10] Maghsoodi M, Sadeghpour F, Preparation and evaluation of solid dispersions of piroxicam and Eudragit S100 by spherical crystallization technique, *Drug Dev Ind. Pharm.*, **2010**, 36(8):917-25.
- [11] Pan RN, Chen JH, Chen RR, Enhancement of dissolution and bioavailability of piroxicam in solid dispersion systems, *Drug Dev Ind. Pharm.*, 2000, 26(9):989-94.
- [12] Valizadeh H., Mohhamadi Gh., Adibkia Kh., Zakeri-Miliani P., Nokhodchi A., Effect of PEG molecular weight in the physicochemical properties of piroxicam solid dispersions prepared by melting method, *Pharmaceutical Sciences*, **2005**, (2);33-39.
- [13] M.K. Manolikar, M.R. Sawant, Study of solubility of isoproturon with β -cyclodextrin, *Chemosphere*, **2003**, 51, 811-816.
- [14] Kale Rajendrakumar, Saraf Madhusudan, Tayade Pralhald, Cyclodextrin complexes of Valdecixib: properties and anti-inflammatory, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **2005**, 60, 39-46.
- [15] Adriana Trapani, Angela Lopedota, Nunzio Denora, Valentino Laquintana, Massimo Franco, Andrea Latrofa, Giuseppe Trapani, Gaetano Liso, A rapid screening tool for estimating the potential of 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin complexation for solubilization purposes, *International Journal of Pharmaceutics*, **2005**, 295, 163-175.
- [16] Sushma Talegaonkar, Azhar Yakoob Khan, Roop Kishan Khar, Farhan Jalees Ahmad and Zeenat I. Khan, Development and characterization of paracetamol complexes with hydroxypropyl- β -cyclodextrin, *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, **2007**, 6 (2): 95-99.
- [17] Cristina Trandafirescu, Arpad Gyeresi, Mihaly Kata, Zoltan Aigner, Investigation of the binary systems of albendazole with hydroxyl propyl-beta-cyclodextrin, *TMJ* , **2007**, 1 (57) 73-77.
- [18] Shaimaa M. Badr-Eldin, Seham A. Elkheshan, Mahmoud M. Ghorab, Inclusion complexes of Tadalafil with natural and chemically modified β -cyclodextrins. I: Preparation and in vitro evaluation, *European Journal of Pharmaceutics*, **2008**, 70, 819-827.
- [19] Sang-Yun Lee, In-II Jung, Jeong-Kyu Kim, Gio-Bin Lim, Jong-Hoon Ryu, Preparation of Itraconazol/HP- β -cyclodextrin inclusion complexes using supercritical solvent extraction system and their dissolution characteristics, *Journal of Supercritical Fluid*, **2008**, 44, 400-408.
- [20] Jinxia Li, Min Zhang, Jianbin Chao, Shaomin Shuang, Preparation and characterization of the inclusion complex of Baicalin (BG) with β -CD and HP β -CD in solution: An antioxidant ability study, *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, **2009** .15;73(4):752-6.
- [21] Thorsteinn Loftsson, Marcus E. Brewster and Mar Masson, Role of cyclodextrins in improving oral drug delivery, *Am. J. Drug Deliv.*, **2004**, 2 (4):1, 261-275
- [22] Mamoru Fukuda, Dave A. Miller, Nicholas A. Peppas, James W. McGinity, Influence of sulfobutyl ether β -cyclodextrin (Captisol®) on the dissolution properties of a poorly drug from extrudates prepared by hot-melt extrusion, *International Journal of Pharmaceutics*, **2008**, 350, 188-196.
- [23] Hareesh M. Patel, Bhanubhai N. Suhagia, Shilesh A. Shah, Ishwar Singh Rathod, Vijay k. Parmar, Preparation and characterization of etoricoxib - β -cyclodextrin complexes prepared by kneading method, *Acta Pharm.* , **2007**,57, 351-359.
- [24] P. Mura, E. Adragna, A. M. Rabasco, J.R. Moyano, J. I. Pérez-Martinez, M. J. Arias, and J. M. Ginés, Effects of theost cavity size and the preparation method on the physicochemical properties of ibuproxam-cyclodextrin systems, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, **1999**, 25(3), 279-287.
- [25] Maria Letizia Manca, Marco Zaru, Guido Ennas, Donatella Valentina, Chiara Sinico, Giuseppe Loy and Anna Maria Fadda, Diclofenac- β -cyclodextrin binary systems: physicochemical characterization and in vitro dissolution and diffusion studies, *AAPS PhamSciTech* , **2005**, 6 (3), 464-472.
- [26] Guo Xiliang, Yang Yu, Zhao Guoyan, Zhang Guomei, Chao Jianbin, Shuang Shaomin, Study on inclusion interaction of Piroxicam with β -cyclodextrin derivatives, *Spectrochimica Acta Part A*, **2003**, 59, 3379-3386.
- [27] Osadebe P.O, Onugwu L.E and Attama A.A, Energics of the interactions between piroxicam and β -cyclodextrin in inclusion complexes, *Scientific Research and Essay*, **2008**, 3 (3), 86-93.
- [28] Mauro Banchero, Luigi Manna, Investigation of the piroxicam/hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complexation by means of a supercritical solvent in the presence of auxiliary agents, *Journal of Supercritical Fluids*, **2011**, 57, 259-266.
- [29] Hasan Basan, Nilgün Günden Göger, Nusret Ertas, M. Tevfik Orbey, Quantitative determination of Piroxicam in a new formulation (piroxicam- β -cyclodextrin) by derivative UV spectrophotometric method and HPLC, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2001**, 26,271-178.
- [30] Theyry Van Hees, Geradine Piel, Sandrine Henry de Hassonville, Brigitte Evrard, Luc Delattre, Determination of the free/included Piroxicam ratio in cyclodextrin complexes,: comparison between UV spectrophotometry and differential scanning calorimetry, *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2002**, 15, 347-353.
- [31] Stravoula Rozou, Afrodite Voulgari, Ekaterini Antoniadou-Vyza, The effect of pH dependent molecular conformation and dimerization phenomena of Piroxicam on the drug: cyclodextrin complex stoichiometry and its chromatographic behaviour. A new specific HPLC method of Piroxicam: cyclodextrin formulations, *European Journal of Pharmaceutics*, **2004**, 21, 661-669.
- [32] Cristina Cavallari, Beatrice Abertini, Marisa L. Gonzalez-Rodriguez, Lorenzo Rodriguez, Improved dissolution behaviour of steam-granulated Piroxicam, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **2002**, 54, 65-73.
- [33] E. Kimura, C. A. Bersani-Amado, L.S. Sudo, S.R.J. Santos and S. Oga, Pharmacokinetic profile of Piroxicam β -cyclodextrin, in rat

- plasma and lymph, *Gen. Pharmac.*, **1997**, Vol. 28, N°. 5, pp. 695-698.
- [34] M. Skiba, F. Bouchal, T. Boukhris, F. Bounoure, H. Fessi, S. Fatmi, N. Chaffai and M. Lahiani-Skiba, Pharmacokinetic study of an oral Piroxicam formulation containing different molar ratios of β -cyclodextrins, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, **2013**, 75 (3-4), 311-314.
- [35] T. Higuchi and K.A. Connors, Phase solubility techniques, *Adv. Anal. Chem. Instrum.*, **1965**, 4, 117 - 212.
- [36] Thorseinn Loftsson, Mår Måsson, J.F. Sigurjonsdottir, Methods to enhance the complexation efficiency of cyclodextrins, *STP. Pharma. Sci.*, 1999; 9:237-242.
- [37] Yvonne Perrie and Thomas Rades, *Pharmaceutics - Drug Delivery and Targeting*, Second edition 2012 Pharmaceutical Press.
- [38] RC Doijad, MM Kanakal, FV Manvi, Effect of processing variables on dissolution and solubility of piroxicam: Hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion complexes, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2007**; 69 (2): 323-326.
- [39] S. Mangal, Jyotsna M Musale, Influence of hydroxypropyl β -Cyclodextrin on dissolution of piroxicam and on irritation to stomach of rats upon oral administration. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1997**; 59 (4): 174-180.
- [40] S. Ismail, Interaction of Anti-convulsant drugs with alpha- and beta-cyclodextrins. I: Methsumide. *STP Pharm. Sci.*, **1991**, 1, 321-325.
- [41] A.H. Goldberg, M. Gribaldi, J.L. Kanig, M. Myersohn, Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs. IV: Chloramphenicol-urea system, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1966**, 55, 1205-1211.
- [42] M. Donbrow, E. Toutitou, Estimation of dissolution rate of salicyclamide in complexing media using a theoretical diffusion models, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **1978**, 67, 95-98.
- [43] K. Uekama, S. Narisawa, F. Hiriyama, M. Otagiri, Improvement of dissolution and absorption characteristics of benzodiazepines by cyclodextrin complexation. *Int. J. Pharm.*, **1983**, 6:327-338.
- [44] RB. Gandhi, AH. Karara, Characterization, dissolution and diffusion properties of tolbutamide- β -cyclodextrin complex system. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **1988**, 14:657-682.
- [45] OI. Corrigan, T. Stanley, Mechanism of drug dissolution rate enhancement from β -cyclodextrin drug systems. *J Pharm Pharmacol.* **1982**; 34:621-626.
- [46] N. Erden, N. Celebi, A study of inclusion complex of naproxen with β -cyclodextrin. *Int. J. Pharm.*, **1988**, 48, 83-89.
- [47] M. Jug, M. Becirevic-Lacan, A. Kwokal, B. Cetina-Cizmec, Influence of cyclodextrin complexation on piroxicam: gel formulations, *Acta Pharm.*, **2005**, 55, 223-236.
- [48] F. Vrecer, M. Vrbinc, A. Meden, Characterization of piroxicam crystal modifications. *Int. J. Pharm.*, **2003**, 256, 3-15.
- [49] G.P. Bettinetti, M. Sorrenti, S. Rossi, F. Ferrari, P. Mura, M.T. Faucci, Assessment of solid-state interactions of naproxen with amorphous cyclodextrins derivatives by DSC, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2002**, 30, 1173 -1179.
- [50] K. Kim, M. Frank, N. Henderson, Application of differential scanning calorimetry to the study of solid drug dispersions. *J. Pharm. Sci.*, **1985**, 74, 283-289.
- [51] H.M. Cabral-Marques, J. Hadgraft, I.W. Kellaway, Studies of cyclodextrins inclusion complexes. I. The salbutamol-cyclodextrin complex as studied by phase solubility and DSC. *Int. J. Pharm.*, **1990**, 63, 259-266.
- [52] M. Kurozumi, N. Nambu, T. Nagai, Inclusion compounds of non-steroidal anti-inflammatory and other slightly water soluble drugs with α and β -cyclodextrins in powdered form. *Chem. Pharm. Bull.*, **1975**, 23, 3062-3068.

Pharmacokinetic study of an oral piroxicam formulation containing different molar ratios of β -cyclodextrins

M. Skiba · F. Bouchal · T. Boukhris ·
F. Bounoure · H. Fessi · S. Fatmi · N. Chaffai ·
M. Lahiani-Skiba

Received: 10 November 2011 / Accepted: 3 May 2012 / Published online: 9 June 2012
© Springer Science+Business Media B.V. 2012

Abstract The objective of this work was to compare the pharmacokinetic parameters of piroxicam- β -cyclodextrin (PIX-CD) complex at molar ratio of 1:1, 1:2.5, 1:3, and 1:4 after an oral administration in rabbits and either to prove or not the Haborn et al. theory which states that the peak plasma concentration (C_{\max}) of piroxicam increases with an increase of β -cyclodextrin concentration. The results showed an increase in C_{\max} from 11 ± 1.7 , 13.3 ± 6.17 to 17 ± 2.03 $\mu\text{g/ml}$ for piroxicam alone, 1:1 (PIX-CD) and 1:2.5 (PIX-CD), respectively, and declined starting at molar ratio of 1:3 (PIX-CD). However, more rapid drug absorption was observed where the time of peak plasma concentration (T_{\max}) became shorter and changed from 2 h (Piroxicam alone) to 0.5 h in the presence of cyclodextrin.

Keywords Piroxicam · Inclusion complex · Bioavailability · Molar ratio

Introduction

All drugs must possess some degree of aqueous solubility to be pharmacologically active, and most drugs need to be lipophilic to be able to permeate biological membranes via passive diffusion. Oral absorption of drugs with solubilities <0.1 mg/ml is likely to be dissolution limited [1]. Various techniques have been used in attempt to improve solubility and dissolution rates of poorly soluble drugs which include complexation, particle size reduction, salt formation, solid dispersion, and liposomes [2, 3]. The use of cyclodextrins is an important subject in pharmaceutical field since this system can bind drug compounds which modify the undesirable physicochemical properties, including low aqueous solubility, poor dissolution rate and limited drug stability [4].

Piroxicam (PIX) is a potent non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) of the oxicam family, carboxamic *N*-heterocycles derived from the benzothiazine-1,2-diox-*yde*-1,1, endowed with more rapid onset of analgesia activity (Fig. 1) [5, 6].

PIX is practically insoluble in water (0.003 % at pH 5, 37 °C) [7]. After single-dose oral administration, PIX is well absorbed (100 %) [8], with a peak plasma concentration (C_{\max}) usually attained within 1–6 h and a plasma half-life of 54 h [9]. The long life time of PIX in the organism is due to an intense enterohepatic recycling and to strong plasma proteins binding (99.3 %) [10–12]. PIX is almost entirely metabolized and the main metabolites in human are 5-hydroxy-piroxicam and its glucuronide [13]. This drug is associated with gastrointestinal side effects during the therapy [14, 15].

Cyclodextrins are group of structurally related natural products formed during bacterial digestion of cellulose. These cyclic oligosaccharides consist of (α -1,4)-linked

M. Skiba (✉) · T. Boukhris · F. Bounoure · M. Lahiani-Skiba
Galenic Pharmaceutical Laboratory, UFR Medicine and
Pharmacy, Rouen University, 22 Blvd Gambetta, 76183
Rouen, France
e-mail: mohamed.skiba@univ-rouen.fr

M. Skiba · F. Bounoure · H. Fessi · M. Lahiani-Skiba
LAGEP, UMR, CNRS 5007, Villeurbanne, France

F. Bouchal · S. Fatmi
Pharmaceutical Laboratory, Department of Engineering
Processes, Abderrahmane-Mira-University, Route de Targua
Ouzemmour, 06000 Bejaia, Algeria

N. Chaffai
Galenic Pharmaceutical Laboratory, Medicine Faculty, Badji
Mokhtar University, Annaba, Algeria

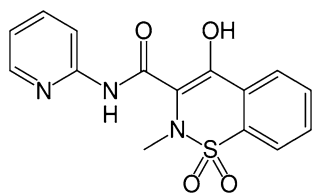


Fig. 1 Chemical structure of PIX

α -D-glucopyranose units and contain a somewhat lipophilic central cavity and a hydrophilic outer surface. The natural cyclodextrins improved the solubility of poorly water soluble active pharmaceutical ingredients and hence might increase their bioavailability [16–21]. Some papers demonstrated the interaction of PIX with β -CD [22–26]. According to Acerbi [27], the binding of PIX with β -CD molecules accelerates absorption and increases the drug's bioavailability.

Piroxicam is formulated in many dosage forms such as tablets, capsules and suppositories. Additionally it is marketed in many countries as Brexin[®] or Cycladol[®] under inclusion complex with β -CD [17, 28] where the later led to bioavailability and water solubility improvement as compared to PIX alone [27].

In this short note, we tried to study the effect of increasing concentration of β -CD on the absorption rate and extent to which the PIX is absorbed from the inclusion complex formulation and becomes available at the site of action by changing the molar ratios of PIX- β -CD as follows: 1:1, 1:2.5, 1:3, and 1:4 after an oral administration in rabbits and either to prove or not the Haborn et al. [29] theory which states that the peak plasma concentration (C_{max}) of PIX increases with an increase of β -cyclodextrin concentration.

Experimental

Material

β -CD was obtained from Roquette, France. PIX was purchased from Molecula, UK and Sidal (Algeria). Sodium heptanesulfonate monohydrate was purchased from Fluka. Acetonitrile, Ortho-phosphoric acid 85 %, sodium hydroxide and diethyl ether were obtained from Merck. Pure water was produced by UHQ system (Millipore).

Preparation of PIX- β -CD inclusion complexes

Piroxicam and β -CD at different molar ratios (1:1, 1:2.5, 1:3, and 1:4) were suspended in 10 ml of distilled water and 0.1 N NaOH solution was added to solubilize the drug where a yellow solution of pH above 10 was obtained.

Solutions were freeze-dried at -50 °C for 3 h at least. Lyophilization parameters were validated by preliminary works and the parameters were as follows: vacuum <200 m Torr, condenser <-40 °C, shelf at $+30$ °C.

Animal study

New Zealand white male rabbits were used (2.5–2.8 kg body weight). The protocol for a cross-over study was approved by the IAEC. Rabbits were fasted overnight but water was allowed ad libitum. The PIX and PIX- β -CD were given in suspension form (2 % methylcellulose). The drug PIX (10 mg/Kg) and molar equivalent of PIX/ β -CD (equivalent to 10 mg/Kg PIX) were administered orally via Ryle's tube (intubation tube). After drug administration, 2 ml of blood sample were collected from marginal ear vein at time intervals (0, 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12, and 24 h) in the test tube containing heparin. The samples were centrifuged at 3,000 rpm for 15 min and plasma of 0.12–0.15 ml was collected.

Determination of PIX in rabbit plasma by HPLC

The concentration of PIX in plasma was determined using Hewlett-Packard 1050 as HPLC system. The mobile phase was acetonitrile/Phosphate buffer (35/65 %, V/V) at pH 3.5. Column was NUCLEOSIL 120-10 (C18, 10-mm) from Merck. The flow rate, retention time, wavelength, and temperature of the column were 0.8 ml/min, 3.5 min, 356 nm, and 40 °C, respectively. 200 μ l of methanol containing 0.2 % perchloric acid was added to 100 μ l of plasma cooled in an ice-bath. The mixture was mixed for 1 min and centrifuged at 3,000 rpm for 5 min then 50 μ l of the supernatant was injected into the HPLC system.

Static or Statistical analysis

Pharmacokinetic analysis of plasma concentration data was performed using model independent methods. The area under the plasma concentration–time curve (AUC) and the cumulative AUC were calculated. The peak plasma concentration (C_{max}) and the time taken for attaining the peak concentration (T_{max}) were determined from individual plasma concentration–time curves. Statistical comparisons of pharmacokinetic parameters were made using one-way analysis of variance, and when significant differences were found, Scheffe's *F* test was applied.

Results and discussion

The oral bioavailability of complex inclusion formulations of PIX with β -CD was studied on rabbits at different molar

ratios (1:1, 1:2.5, 1:3, and 1:4). The following pharmacokinetic parameters were determined: C_{max} , T_{max} , and AUC; they are shown in Table 1. Figures (2, 3) illustrate the mean plasma concentration of PIX obtained after the oral administration of the different formulations.

The C_{max} values were improved with increase of the cyclodextrin concentration loading in the inclusion complex up to molar ratios (1:2.5) and declined thereafter. The C_{max} values were 11 ± 1.7 , $13.3 \pm$ and $17.2 \pm 2.03 \mu\text{g/ml}$ for PIX alone, 1:1 (PIX-CD) and 1:2.5 (PIX-CD), respectively. However, C_{max} values for 1:3 (PIX-CD) and 1:4 (PIX-CD) were 15.5 ± 2.4 and 11.2 ± 2.3 , respectively. In regards to T_{max} , more rapid drug absorption was observed where T_{max} became shorter and changed from 2 h (PIX alone) to 0.5 h in the presence of cyclodextrin.

Levels of PIX in the plasma (Figs. 2, 3) showed no significant in C_{max} values between the group treated with PIX- β -CD at 1:4 molar ratio and that treated with free PIX. However, in the complex group, C_{max} was reached sooner. No significant differences among AUC values were found for complexes compared with free drug. Furthermore, the highest value of AUC was obtained for the complex PIX- β -CD 1: 2.5 which also represents the optimum for C_{max} (Table 1).

The pharmacokinetic evaluation of PIX carried on rabbits in the present study shows that complexing PIX with β -CD modifies some parameters related to phases of absorption and elimination. β -CD improved the bioavailability of PIX up to molar ratio of 1: 2.5 but the excess of cyclodextrin has a negative impact on the permeability of the drug through the biologic membrane [20]. With 1:1 and 1:2.5 molar ratios, β -CD affected the permeability of the gastro-intestinal membrane increasing the drug partitioning process across intestinal barrier [30]. For the others molar ratio (1:3 and 1:4), the negative effect is presumably due to the decrease in aqueous solubility of PIX in gastric medium allowing its precipitation [31]. Similar results were found with oral administration of tolbutamide to rabbit [32] where mean C_{max} was higher with powder of pure drug with solution, solid dispersion, and CD complexes. Our results are not in agreement with those reported from Haborn et al. [29] which states that C_{max} of PIX increases with an increase of β -CD concentration.

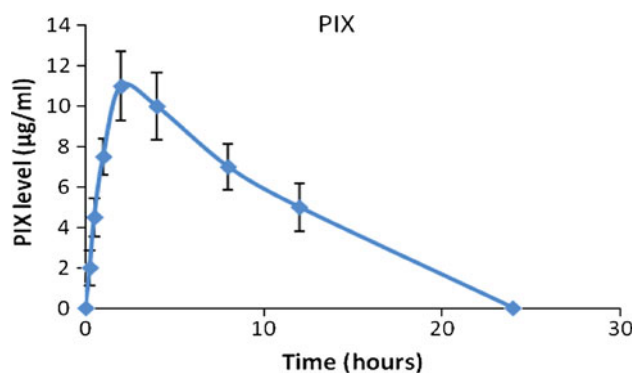


Fig. 2 Mean plasma concentration time profile of PIX. Each value represents the mean \pm SD of three rabbits

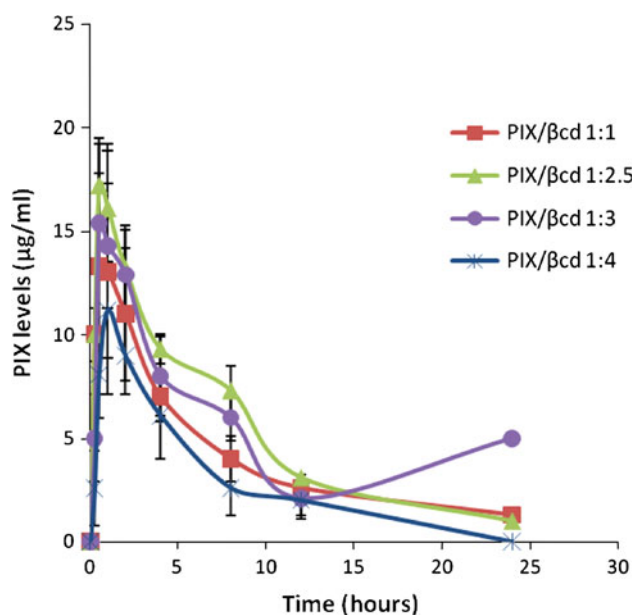


Fig. 3 Mean plasma concentration time profile of PIX/ β -CD at different molar ratios (1:1, 1:2.5, 1:3, and 1:4). Each value represents the mean \pm SD of three rabbits

Conclusion

In summary, it was concluded that complex inclusion formulations in different ratios (1:1, 1:2.5, 1:3, and 1:4) of PIX with β -CD showed better C_{max} as compared to pure drug exceptionally for 1:4 molar ratio which did not vary

Table 1 PIX pharmacokinetic parameters in the rabbit after oral administration of equal doses (10 mg/Kg as PIX) of PIX and PIX- β -CD at different molar ratios

Samples administered	C_{max} ($\mu\text{g/ml}$)	T_{max} (h)	AUC ($\mu\text{g h/ml}$)
PIX	11 ± 1.7	2	122
PIX/ β -CD 1 : 1	13.3 ± 6.17	0.5	99
PIX/ β -CD 1 : 2.5	17.2 ± 2.03	0.5	128
PIX/ β -CD 1 : 3	15.5 ± 2.4	0.5	102
PIX/ β -CD 1 : 4	11.2 ± 2.3	1	70

significantly with PIX alone. The bioavailability results show that PIX- β -CD complex had faster absorption than the free drug for all molar ratio studied. The highest values of C_{\max} and T_{\max} were obtained with a molar ratio of 1:2.5 (PIX- β -CD). Haborn I et al. [29] theory is not valid since the increase of C_{\max} value is not linear with an increase of β -CD concentration.

References

- Loftsson, Thorsteinn, Jarho, Pekka, Masson, Mar, Järvinen, Tomi: Cyclodextrins in drug delivery. Expert opinion. *Drug Deliv.* **2**, 335–351 (2005)
- Saharan, Vikas A., Kukkar, Vipin, Kataria, Mahesh, Gera, Manoj, Choudhury, Pratim k: Dissolution Enhancement of drugs. Part I: technologies and effect of carriers. *Int. J. Health* **2**(2), 107–124 (2009)
- Bhupendra, G., Prajapati, M., Patel, M.: Conventional and alternative pharmaceutical methods to improve oral bioavailability of lipophilic drugs. *Asian J. Pharm.* **1**(1), 1–8 (2007)
- Loftsson, Thorsteinn, Brewster, Marcus E., Måsson, Mår: Role of cyclodextrins in improving oral drug delivery. *Am. J. Drug Deliv.* **2**(4), 261–275 (2004)
- Hardman, J.G., Limbird, L.E.: Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th edn, p. 713. Mc Graw Hill, New York (2001)
- Moffat, A.C., Osselton, M.D., Widdop, B. Clarckes: Analysis of Drugs and Poisons, vol. 2, 3rd edn, p. 1463. Pharmaceutical Press, London (2004)
- European Patent 07/16 (18/04/2007): CHIESI FARMACEUTICI S.p.a. Procédé de préparation de composés d'inclusion de piroxicam avec de la b β -cyclodextrine
- Kummura, E., Bersani-Amado, C.A.: Pharmacokinetic profile of piroxicam β -CD in rat plasma and lymph. *Gen. Pharmac.* **28**(5), 695–698 (1997)
- Palma-Aguirre, Jose Antonio, Lopez-Gamboa, Mireya, Carino, Lizbeth, Burke-Fraga, Victoria, Gonzalez-de la Parra, Mario: Relative bioavailability of two oral formulations of piroxicam 20 mg: a single-dose, Randomized-sequence, open-label, two-period crossover comparison in healthy Mexican adult volunteers. *Clin. Ther.* **32**(2), 357–364 (2010)
- Wiseman, E.H., Hobbs, D.C.: Review of pharmacokinetic studies of piroxicam. *J. Am. Med.* **72**, 9–17 (1982)
- Brogden, R.N., Heel, R.C., Speight, T.M., et al.: Piroxicam: a review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy. *Drug* **22**, 165–187 (1981)
- Hobbs, D.C., Twomey, T.M.: Piroxicam pharmacokinetics in man: aspirin and antacid interaction studies. *J. Clin. Pharmacol* **19**, 270–281 (1979)
- Schiantarelli, P., Cadel, S.: Piroxicam pharmacologic activity and gastrointestinal damage by oral and rectal route. *Arzneim. Forsch* **31**, 87–92 (1981)
- Dalmora, M.E., Dalmora, S.L., Oliveira, A.G.: Inclusion complex of piroxicam with β -cyclodextrin and incorporation in cationic micro emulsion. In vitro drug release and in vivo topical anti-inflammatory effect. *Int. J. Pharm.* **22**, 45–55 (2001)
- Damiani, P.C., Bearzotti, M., Cabezon, M., Olivieri, A.C.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* **17**, 233–236 (1998)
- Carrier, Rebecca L.: The utility of cyclodextrins for enhancing oral bioavailability. *J. Controlled Release* **123**, 78–79 (2007)
- Brewster, Marcus E.: Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **59**, 645–666 (2007)
- Rajeswari, Challa.: Cyclodextrins in drug delivery: an updated review *AAPS Pharm Sci Tech*, 6 (2) article 43 (2005)
- Shimpi, Shyam, Chauhan, Bhaskar, Shimpi, Prajakta: Cyclodextrins: application in different routes of drug administration. *Acta Pharm.* **55**, 139–156 (2005)
- Loftsson, Thorsteinn, Masson, Mar: Cyclodextrins in topical drug formulations: theory and practice. *Int. J. Pharm.* **225**, 15–30 (2001)
- Oda, Masako, Saitoh, Hiroshi, Kobayashi, Michiya, Aungst, Bruce J.: β -CD as a suitable solubilizing agent for in situ absorption study of poorly water soluble drugs. *Int. J. Pharm.* **280**, 95–102 (2004)
- Osadebe, P.O.: Energetic of the interaction between piroxicam and β -CD in inclusion complexes. *Sci. Res. Essays* **3**(3), 86–93 (2008)
- Xiliang, Guo., Yu, Yang.: Study on inclusion interaction of piroxicam with β -CD derivatives. *Spectrochimica Acta Part A* **59** (2003)
- Cavallari, Cristina: Improved dissolution behavior steam-granulated piroxicam. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **54**, 65–73 (2002)
- Rozou, Stavroula: The effect of pH dependent molecular conformation and dimerization phenomena of piroxicam on the drug: cyclodextrin complex stoichiometry and its chromatographic behavior. A new specific HPLC method for piroxicam: cyclodextrin formulations. *Eur. J. Pharm. Sci.* **21**, 661–669 (2004)
- Vanhees, Thierry: Determination of the free/included piroxicam ratio in CD complexes: comparison between UV spectrophotometry and differential scanning calorimetry. *Eur. J. Pharm. Sci.* **15**, 347–353 (2002)
- Acerbi, D.: Pharmacokinetic profile of piroxicam β -CD. *Drug Invest.* **2**, 42–49 (1990)
- Szejtli, Jozset: Past, present and future of cyclodextrin research. *Pure Appl. Chem.* **76**(10), 1825–1845 (2004)
- Haborn, I., Ricketts, D., Szejtli, J.: Simulation of pharmacokinetic behavior of drug-cyclodextrin complexes. *Pharmazie* **39**, 830–834 (1984)
- Palomares-Alonso, Francisca, et al.: Two ternary albendazole-cyclodextrin-polymer systems: dissolution, bioavailability and efficacy against *Taenia crassiceps* cysts. *Acta Trop.* **113**, 56–60 (2010)
- Fawaz, F., et al.: Bioavailability of norfloxacin from PEG6000 solid dispersion and cyclodextrin inclusion complexes in rabbits. *Int. J. Pharm.* **132**, 271–275 (1996)
- Kedzierewicz, F., et al.: Bioavailability study of tolbutamide β -CD inclusion compounds, solid dispersions and bulk powder. *Int. J. Pharm.* **94**, 69–74 (1993)

Fast dissolving Sublingual Cyclodextrin Complex of Piroxicam in Solid Dispersion

Part I: Influence of β -CD and HP β -CD on the dissolution rate of Piroxicam

F. BOUCHAL^{1,*}, N. CHAFFAI², M. LAHIANI-SKIBA³, S. FATMI¹ and M. SKIBA³

¹ Pharmaceutical Laboratory, Department of Engineering Processes, Faculty of Technology, A-Mira University, 06000 Bejaia, Algeria.

² Galenic Pharmaceutical Laboratory, Medicine Faculty, Badji Mokhtar University, Annaba, Algeria.

³ Galenic Pharmaceutical Laboratory, UFR Medecine and Pharmacy, UFR Rouen, 22 Bd Gambetta, 76183 Rouen, France

Email: bouchalf@yahoo.fr

Problematic and objective

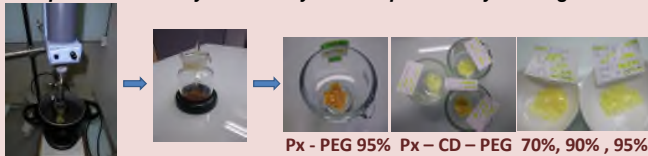
- ❖ The oral cavity is a promising route of administration for drugs that are susceptible to hepatic first-pass metabolism [1]-[2];
- ❖ The sublingual absorption of many drugs is limited, as to pass through the sublingual and buccal membranes; the drug has first to dissolve rapidly in the small volume of saliva present in the mouth before it is removed from the site of absorption by swallowing [2];
- ❖ The model drug used in this study was Piroxicam (Px), a potent non-steroidal anti-inflammatory (NSAID). Although Px is well absorbed after oral administration [3], its bioavailability is limited by a substantial hepatic first-pass effect, making it a potential candidature for sublingual delivery;
- ❖ Some earlier studies have reported increased bioavailability for drugs that are administered sublingually as CD-containing formulations [4]-[5];
- ❖ Considering this approach, the aim of this work was to evaluate the effect of β -CD or HP β -CD on the dissolution of Px solid dispersion (SD) in PEG6000 (PEG) as a way for improving the absorption of this poorly water soluble drug.

Investigations of the study

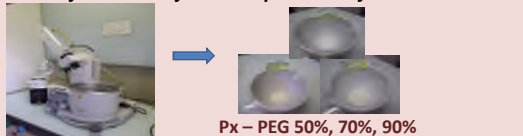
- ❖ Preparation of binary solid dispersions (SD) at 10%, 30%, 50%, 70%, 90% and 95% w/w polymer/drug ratios using solvent evaporation and melting methods
- ❖ Preparation of ternary solid dispersions at 50%, 70%, 90% and 95% w/w polymer/inclusion complex ratios using the same methods as the binary SDs.
- ❖ Evaluation of SDs by dissolution test, FT-IR spectroscopy, TGA and DSC.

Materials and methods

Preparation of binary and ternary solid dispersions by Melting method



Preparation of binary and ternary solid dispersions by Solvent method



Preparation of Inclusions Complexes by Freeze-drying and Spray-drying



In vitro dissolution studies



USP XXIII apparatus
Dissolution medium = 900 ml
T = 37°C \pm 0.5°C, 100 rpm, λ = 355 nm

Characterization of solid dispersions

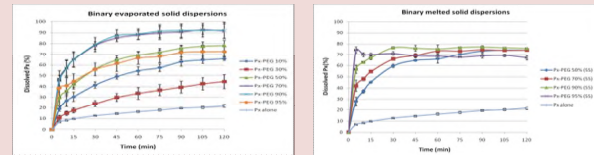
FTIR: 4000 cm⁻¹ - 600 cm⁻¹ at a resolution of 8cm⁻¹ with 20 scans (Perkin-Elmer)

DSC: 30°C - 240°C under N₂ gas 20ml/min (Perkin-Elmer, Model DSC 6)

TGA: 30°C - 600°C at heating rate of 10°C under N₂ gas flow 20ml/min with 5 mg of sample, using TGA 4000 Perkin-Elmer apparatus

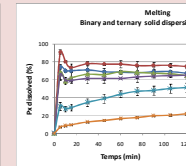
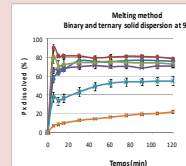
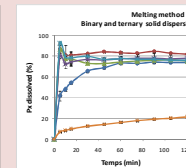
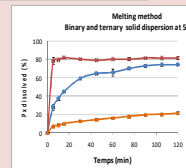
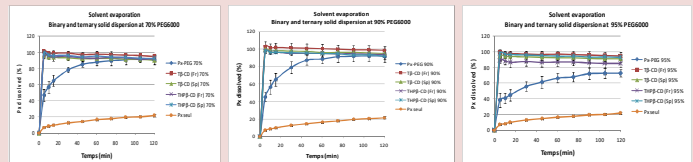
Results and discussion

Dissolution behavior of binary solid dispersions



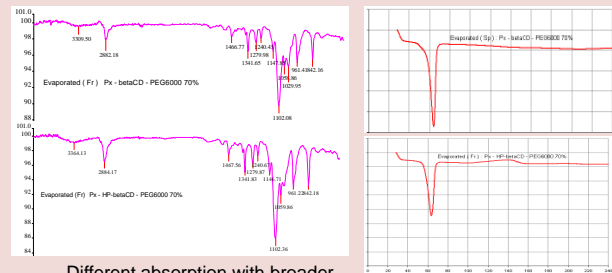
- ❖ The dissolution of Px was found to be dependent on the polymer/drug ratio.
- ❖ An optimum increase at 90% was observed for the evaporated method.
- ❖ The melted SD at 95% was the best one in the beginning of the dissolution but it became the lower one in the second hour of the dissolution test.

Dissolution behavior of ternary solid dispersions: comparison with binary SDs



The dissolution rate of Px was considerably enhanced in ternary evaporated SDs compared to the respective binary systems

Characterization of solid dispersions: FTIR, DSC



Different absorption with broader and shifted bands.
-NH and -OH stretching vibration of Px completely lost.

Complete disappearance of the endothermic effect of Px

Conclusion

- ❖ The results revealed that it is possible to enhance the dissolution rate of Piroxicam by increasing the surface area of the drug by solid dispersion method.
- ❖ The dissolution rate of Piroxicam in ternary systems was considerably enhanced particularly those prepared by solvent method at 70% and 90% PEG6000.
- ❖ The ternary solid dispersion preparation should be a suitable formulation technique for the sublingual delivery of Piroxicam.

References

1. T. Goswami et al., Sublingual drug delivery, Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst.; 25: 449-484, 2008.
2. NR. Mathias, MA. Hussain, Non-invasive systemic drug delivery developability considerations for alternate routes of administration, Journal Pharmaceutical Sciences; 99: 1-20, 2010.
3. E. Kummura, C.A. Bersani-Amado, Pharmaceutic profile of piroxicam- β -CD in rat plasma and lymph, Gen. Pharmac. 28(5), 695-698, 1997.
4. A.C. Jain et al., Development and in vivo evaluation of buccal tablets prepared using danazol-sulfobutylether β -cyclodextrin (SBE 7) complexes. J Pharm Sci; 91: 1659-1668, 2002.
5. J. Manilla et al., Effects of RM- β -cyclodextrin on sublingual bioavailability of Δ 9-tetrahydrocannabinol in rabbits. Eur. J. Pharm. Sci.; 26: 71-77, 2005.

ملخص:

لتحسين انحلال، وبالتالي التوافر الحيوي لدواء قليل الذوبان في الماء : البيروكسيكام؛ مضاد للالتهابات، تم تقييم الجمع بين استراتيجيتين : إدراج في السيكلوديكسترين وتشكيل التشتت الصلبة. تحسن انحلال البيروكسيكام بشكل ملحوظ من تشكيل المنتج باستخدام السيكلوديكسترين (β -CD أو HP- β -CD) ، ولا سيما المنتجات التي تم الحصول عليها بالتجفيد والتجفيف بالرش. تم أيضا تحسين انحلال البيروكسيكام باستخدام البولي ايثلين جلايكول (PEG 6000) في تشتت الصلبة. كذلك تمت دراسة التأثير المشترك لهذا البوليمر مع السيكلوديكسترين على الذوبان المائي للبيروكسيكام. إضافة كمية صغيرة من البولي ايثلين جليكول PEG 6000 (1% إلى 10% وزن/وزن) في التحضيرات الثلاثية لم يكن لها تأثير كبير على انحلال المنتجات المصنعة في هذه الدراسة. لهذا، تم تقييم طريقة أخرى لصياغة هذه النظم الثلاثية وهي تتألف في تشتت المنتج بالتجفيد أو التجفيف بالرش، أعدت في PEG 6000 بتركيزات أكبر من 10% (وزن/وزن). يتم تحضير هذا التشتت الصلبة إما عن طريق ذوبان أو عن طريق تبخر المذيب. أظهرت النتائج أن انحلال البيروكسيكام في النظم الثلاثية تحسنت بشكل ملحوظ لا سيما تلك التي أعدت بطريقة التبخر. هذا يسمح لنا للنظر في تطبيق هذه الصياغة للشكل الصيدلاني تحت اللسان لتحسين أداء البيولوجي من هذا الدواء. أخيرا، أكدت الدراسة التجريبية لمشروعنا تحسن التوافر البيولوجي عن طريق الفم للبيروكسيكام في دراسة الجسم الحي (الأرنب) ، التي أجريت للمنتج الذي يحتوي على β -CD

كلمات المفاتيح: بيروكسيكام، β -CD ، PEG6000 HP- β -CD ، مضاد للالتهابات ، إدراج في السيكلوديكسترين، تشتت الصلبة الثلاثية، شكل الصيدلاني تحت اللسان، التوافر البيولوجي.

Résumé

Afin d'améliorer la dissolution et par conséquent la biodisponibilité d'un médicament peu soluble dans l'eau ; le Piroxicam, anti-inflammatoire non stéroïdien, la combinaison de deux stratégies a été évaluée. Il s'agit de la complexation avec les CDs et la formation des dispersions solides. La dissolution du Px est significativement améliorée par la formation du complexe d'inclusion à l'aide d'une CD (β -CD ou HP- β -CD), en particulier celle des produits préparés par les procédés de la lyophilisation et du spray-drying. La dissolution du Px est aussi améliorée par la présence du PEG 6000 dans une dispersion solide. L'effet combiné de ce polymère avec la CD sur la solubilité aqueuse du Px a été aussi étudié. L'ajout d'une petite quantité de PEG [1% à 10% (m/m)] dans les préparations ternaires n'a pas eu d'effet significatif sur la dissolution des systèmes étudiés. Pour cela, un autre procédé de formulation de ces systèmes ternaires a été évalué. Il consiste à réaliser une dispersion du complexe d'inclusion préparé par lyophilisation ou spray-drying (séchage par pulvérisation) dans du PEG 6000 à des concentrations supérieures à 10% (m/m). Cette dispersion solide est réalisée soit par fusion soit par évaporation du solvant. Les résultats obtenus montrent que la dissolution du Px des systèmes ternaires a été significativement améliorée particulièrement ceux préparés par la méthode d'évaporation. L'application de cette technique de formulation peut être envisagée pour la voie sublinguale afin d'améliorer la performance biologique de ce médicament. Enfin, la dernière partie de notre projet a bien confirmé l'amélioration de la biodisponibilité orale du Px par une étude in vivo chez le lapin, réalisée pour le complexe d'inclusion contenant la β -CD.

Mots clés : Piroxicam, β -CD, HP β -CD, PEG6000, Anti-inflammatoire, Complexe d'inclusion, Dispersion solide ternaire, Administration sublinguale, Biodisponibilité.

Abstract :

To improve the dissolution and then the bioavailability of a poorly water soluble drug: Px, an anti-inflammatory, the combination of two strategies was evaluated. These are the complexation with CDs and the formation of solid dispersions. The dissolution of Px is significantly improved by forming the inclusion complex using a CD (β -CD or HP- β -CD), in particular that of the products prepared by the processes of freeze-drying and spray-drying. The dissolution of Px is also improved by the presence of PEG 6000 in a solid dispersion. The combined effect of this polymer with the CD on the aqueous solubility of Px was also studied. Adding a small amount of PEG [1% to 10% (w/w)] in ternary preparations had no significant effect on the dissolution of the systems studied. For this, another method of formulation of these ternary systems was evaluated. It consists in the dispersion of the inclusion complex prepared by freeze-drying or spray-drying in PEG 6000 at concentrations greater than 10% (w/w). This solid dispersion is prepared either by melting or by solvent evaporation. The results show that the dissolution of Px ternary systems has been significantly improved especially those prepared by the evaporation method. This allowed us to consider the application of this formulation process for sublingual administration to improve the biological performance of this drug. Finally, the last part of our project has confirmed the oral bioavailability improvement of Px by in vivo rabbit study, conducted for the inclusion complex with β -CD.

Keywords : Piroxicam, β -CD, HP β -CD, PEG6000, Anti-inflammatory, Inclusion complex, Ternary solid dispersion, Sublingual administration, Bioavailability.