

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE SAAD DAHLEB BLIDA 01

FACULTE DE TECHNOLOGIE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE : pour l'obtention du diplôme de :
MASTER EN GENIE DES PROCEDES

SPECIALITE : PHARMACIE INDUSTRIELLE

Thème :

**Amélioration de la solubilité de l'acide niflumique
par le procédé de dispersion solide**

Présenté par :

-Mr Talbi Chems Eddine

-Mlle Abir Chahrazed

Encadré par :

-Mme Hadjziane Amel

-Mlle Makaoui Nassima

Année universitaire : 2020/2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu

De nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation de master et pouvoir réaliser ce travail.

Nous adressons tout d'abord nos remerciements à **Mme Hadj-ziane Amel** notre chère promotrice qui nous a toujours soutenu par ses conseils et ses encouragements

Nous tenons à remercier Mlle **Makaoui Nassima** notre Co-promotrice pour tous les efforts qu'elle consenti tout au long de l'élaboration de ce modeste travail. Ses encouragements et ses conseils

A tous les enseignants de notre département qui n'ont cessé à aucun moment de nous faire savourer le goût du savoir, de nous avoir bénéficié de leurs conseils, de leurs orientations et nous ont formé dans un domaine aussi stratégique qu'est la pharmacie industrielle.

Enfin, nous adressons nos remerciements les plus sincères tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de ce travail notamment Groupe CRD SAIDAL qui nous a prêté main forte pour l'accomplissement de ce thème

Dédicaces

Chems eddine :

Je dédie ce modeste travail :

A ma chère maman qui est ma source d'inspiration et qui ne cesse de m'encourager et de me pousser de l'avant

A mon père qui a été toujours là et qui m'a toujours poussé d'aller plus loin dans la vie et malheureusement qui nous a quitté y'a 2 ans, mais j'en suis sûr qu'il est fier de moi comme je le suis aussi d'y avoir un meilleur papa au monde. ALLAH YERHMEK PAPA

A mes frères et ma sœur que je porte dans mon cœur :
Hichem et sa petite famille Amina, Amira Aussi Chakib et Chahrazed

A mes tantes Mansoura, Naima et Poupée

A ma chère tante Lynda et sa petite famille, oncles Hamid et Taher

A tous mes amis :
Abderrahmen et toute sa famille chacun par son nom , Anis , abderraouf, Imadeddine ,
Mohamed ,Fayçal , Billel et fella

A toute ma famille qui m'a toujours encouragé

A mon binôme Chahrazed a qui je dédie particulièrement ce travail qu'on a partagé ensemble

durant tout notre stage pratique

Et à tous ceux qui me connaissent de près ou de loin

Chahrazed :

Je dédie fortement ce modeste travail à ma très chère maman :

Merci pour tout ce que tu m'as donné depuis ma naissance et pour ce que tu continues à me donner !

Merci pour ton soutien moral continu !

Merci pour tes encouragements au cours de toutes ces années !

A tous mes proches qui m'ont toujours soutenue :

A mes sœurs et surtout ma chère Karima

A mon binôme Chems Eddine et toute sa famille

A tous mes autres proches

Et à tous mes amis

A tous mes camarades de la promotion 2021

تالخيص

الهدف من هذا العمل الحالي هو المساهمة في حل مشكلة عدم قابلية حمض النفلوميك للذوبان. مبدأ فعال يستخدم على نطاق واسع في صناعة الأدوية لخصائصه الرائعة المضادة للالتهابات.

تم تبني تقنية مذيب تبخير المشتتات الصلبة مع اختيار أفضل لكميات المركبات المختلفة؛ المادة الفعالة والسواغ البوليفينيل بيرودون تم إجراء التوصيفات الفيزيائية والكيميائية والطيفية لحمض النفلوميك قبل وبعد التشتت عن طريق قياسات الذوبان، والفحص المجهر الإلكتروني، والتحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء، وانحراف الأشعة السينية، والتشتت الديناميكي للضوء.

أظهرت النتائج تحسناً ملحوظاً في قابلية ذوبان المكون النشط، والذي يبرره تقليل حجم جزيئات حمض النفلوميك من 4490.1 نانومتر إلى التغيير في تعدد الأشكال للجزيء، والذي *DRX* والمسح المجهر الإلكتروني. من بين أمور أخرى، أكد *DLS* 187.63 نانومتر. أكدته تحليل يمكن أن يكون بالتأكيد عاملاً آخر وراء هذا التحسن.

كما أظهرت اختبارات الذوبان في الماء للمشتتات الصلبة التي تمت صياغتها هذا التحسن في قابلية الذوبان بمعدل **70% عند 60 دقيقة** مقارنة بـ **7.0% عند 60 دقيقة** التي تم الحصول عليها بالمنتج المرجعي المستخدم على المستوى الصناعي. أثبتت الصيغة المقدمة في هذا العمل أنها حل فعال لمشكلة قابلية الذوبان لحمض النفلوميك.

Abstract :

The objective of this present work is to contribute in solving the problem of insolubility of niflumic acid; an active principle widely used in the manufacture of drugs for its remarkable anti-inflammatory properties.

The technology of solid dispersions evaporating solvent was adopted with a better choice of the amounts of different compounds; active ingredient and excipient polyvinylpyrrolidone

The physico-chemical and spectroscopic characterizations of niflumic acid before and after dispersion were carried out by measurements of solubilities, scanning electron microscopy, infrared spectroscopy, X-ray diffraction, dynamic light scattering

The results revealed a marked improvement in the solubility of the active ingredient, justified by the reduction in the particle size of niflumic acid from 4490.1nm to 187.63nm; confirmed by DLS analysis and scanning electron microscopy. Among other things, the XRD confirmed the change in the polymorphism of the molecule, which can certainly be another factor behind this improvement.

The tests of dissolution in water of the solid dispersions formulated also demonstrated this improvement in solubility with a rate of **70 % at 60 min** compared to **7,0 % at 60 min** obtained with the reference product used at the industrial level. The formula presented in this work has proven to be an effective solution to the solubility problem of niflumic acid.

Résumé :

L'objectif de ce présent travail est la contribution dans la résolution du problème d'insolubilité de l'acide niflumique ; un principe actif très utilisé dans la fabrication des médicaments pour ses propriétés anti-inflammatoires remarquables.

La technologie des dispersions solides évaporation de solvant a été adoptée avec un meilleur choix des quantités en différents composés ; principe actif et excipient le polyvinylpyrrolidone

Les caractérisations physico-chimique et spectroscopique de l'acide niflumique avant et après dispersion ont été réalisées par mesures des solubilités, microscopie électronique à balayage, spectroscopie infra-rouge, diffraction des rayons X, la diffusion dynamique de la lumière

Les résultats ont révélé une nette amélioration de la solubilité du principe actif, justifiée par la réduction de la taille des particules de l'acide niflumique de **4490.1nm** à **187.63nm**; confirmée par l'analyse DLS et la microscopie électronique à balayage. La DRX a entre autres confirmé le changement du polymorphisme de la molécule qui peut être certainement un autre facteur à l'origine de cette amélioration.

Les tests de dissolution dans l'eau des dispersions solides formulées ont aussi mis en évidence cette amélioration de la solubilité avec un taux de **70% à 60 min** par rapport à **7,0 % à 60 min** obtenue avec le produit de référence utilisé au niveau industriel. La formule présentée dans ce travail s'est avérée comme une solution effective au problème de solubilité de l'acide niflumique.

Liste des abréviations

AINS : Anti-inflammatoires non stéroïdiens

DS : Dispersion solide

DRX : Diffraction des rayons X

DLS : Dynamic Light Scattering (Diffusion Dynamique de la lumière)

HPLC : Chromatographie en phase Liquide à Haute Performance

IR : Infrarouge

MEB : Microscopie électronique à balayage

UV/VIS : ultraviolet-visible

SCB : Système de Classification Biopharmaceutique

PVP : polyvinylpyrrolidone

FTIR : La spectroscopie infrarouge a transformation de fourrier

T_m : température de fusion

pH : potentiel hydrogène

T_g : Glass Temperature, « température de transition vitreuse »

Liste des figures :

1.1. Structure de la formule de l'acide niflumique.....	05
1.2. Synthèse de l'acide niflumique.....	08
1.3. Images MEB du NIF brut et des différents produits NIF.....	09
1.4. Illustration schématique montrant la formulation de la forme posologique solide. Des nanofibres de NIF ont été mélangées avec l'agent de remplissage de cellulose microcristalline (Vitacel) dans un mélangeur Turbula.....	10
1.5. Images SEM (AC) (des trois nanofibres préparées et leurs histogrammes respectifs de distribution de diamètre de nanofibres (DF). Leurs concentrations respectives d'acide niflumique (c) et la distance de travail (WD) sont affichées sur l'axe entre les graphiques et les images.....	11
1.6. Structure de acide niflumique (Hnif), 1, 4, 8, 11-Tetraazacyclotetradecane (cyclam) et N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine (tmen).....	12
2.1. Schéma illustrant les trois modes d'incorporation du principe actif dans une dispersion.....	17
2.2. Les mélanges formant des DS à l'échelle macroscopique.....	19
3.1. Montage expérimental utilisé pour la dispersion solide.....	29
4.1. Spectre UV de l'acide niflumique dans l'éthanol à 96%.....	32
4.2. Spectre UV de l'acide niflumique dans NaOH 0,01 N.....	33
4.3. Spectre IR de l'acide niflumique (matière première)	35
4.4. Spectre IR de l'acide niflumique SCR.....	35
4.5. Présentation de l'acide niflumique et la dispersion solide par DLS.....	37
4.6. Dfractogramme de la matière Acide niflumique.....	38
4.7. Dfractogramme de la dispersion solide de l'acide niflumique.....	38
4.8. Acide niflumique par MEB.....	39
4.9. Dispersion solide de l'acide niflumique par MEB.....	40
4.10. Acide niflumique et la dispersion solide par MEB-EDX.....	40
4.11. Aspect de l'acide niflumique.....	41
4.12. Aspects des solutions d'acide niflumique.....	42
4.13. Dosage de l'acide niflumique par potentiometrie	42
4.14 : représentation de notre test de dissolution.....	44
4.15. Profil de dissolution comparatif entre la dispersion solide et un produit commercial....	44

Liste des tableaux :

1.1. Propriétés physico-chimiques de l'acide niflumique.....	06
1.2. Solubilité de l'acide niflumique à partir des différents matériaux.....	09
2.1. Pourcentage de distribution des médicaments administrés par voie orale selon les classes du SCB.....	15
2.2. Exemples de véhicules utilisés dans la préparation des dispersions solides.....	18
2.3. Classification des DS par génération.....	19
3.1. Equipements utilisés pour la formulation, caractérisation et contrôle.....	24
3.1. Solubilité selon la Ph. Eur. 10 ^{ème} édition.....	28
3.3. Conditions Opératoires du test de dissolution.....	32
4.1. Taille des particules de la matière première « Acide niflumique ».....	36
4.2. Taille des particules de la « Dispersion solide d'acide niflumique ».....	36

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste d'abréviation

Introduction

Partie bibliographique

Chapitre 1 : Généralité sur l'acide niflumique

1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens.....	3
1.1. Classification des AINS.....	3
1.1.1. Anti-inflammatoires indiques.....	3
1.1.2. Anti-inflammatoires oxicams	3
1.1.3. Anti-inflammatoires arylcarboxyliques	4
1.1.4. Anti-inflammatoires anthraniliques (fénamates).....	4
1.1.5. Anti-inflammatoires pyrazolés.....	4
1.1.6. Anti-inflammatoires salicylés.....	4
1.1.7. Anti-inflammatoires propioniques.....	4
1.1.8. Groupe dit des coxibls.....	5
1.2. L'acide niflumique.....	5
1.2.1. Cas d'usage et mécanisme d'action.....	5
1.2.2. Propriétés Physico-chimiques.....	6
1.2.3. Relation entre les activités de structure.....	7
1.2.4. Synthèse de l'acide niflumique.....	7
1.3. Quelques travaux de recherche effectués à base d'acide niflumique	8

Chapitre 2 : Solubilité et Dispersions Solides

2- Solubilité des médicaments.....	13
2.1. Définition.....	13
2.2. Facteurs influençant la solubilité.....	13
2.3. Système de Classification Biopharmaceutique (SCB).....	14
2.4. Amélioration de la solubilité.....	15
2.4.1. Amélioration de la solubilité des médicaments au niveau moléculaire.....	15
2.4.1.1. Complexation aux cyclodextrines.....	15
2.4.1.2. Utilisation des co-solvants.....	15

2.4.1.3. Formation des sels.....	15
2.4.2. Amélioration de la solubilité des médicaments au niveau colloïdal.....	16
2.4.3. Amélioration de la solubilité des médicaments au niveau particulaire.....	16
2.4.3.1. Utilisation des polymorphes métastables.....	16
2.4.3.2. Réduction de la taille des particules.....	16
2.4.3.3. Dispersions solides.....	16
2.4.3.3.1. Historique de la dispersion solide.....	17
2.4.3.3.2. Polymères utilisés.....	18
2.4.3.3.3. Classification des dispersions solides.....	18
2.4.3.3.4 Méthodes de fabrication de DS.....	19
➤ Méthode de co-fusion.....	20
➤ Méthode de fusion.....	20
➤ Méthode de coprécipitation.....	20
➤ Méthode de malaxage.....	20
➤ Méthode de Co-broyage.....	20
➤ Méthode d'évaporation du solvant.....	20
2.4.3.3.5. Avantages et inconvénients des dispersions solides.....	21
1 - Avantages.....	21
2 – Inconvénients.....	22

Partie expérimentale :

Chapitre 3 : Matériels et Méthodes

3.1. Matériel et équipements.....	23
3.1.1. Réactifs.....	23
3.1.2. Equipements.....	24
3.2. Méthodes.....	24
3.2.1. Caractérisation et contrôle physico-chimie de l'acide niflumique.....	24
3.2.1.1. Caractérisation de l'acide niflumique.....	24
a.1) Analyse par UV/VIS.....	24
a.2) Analyse par IR.....	25
a.3) Analyse par DLS.....	26
a.4) Analyse par DRX.....	27
a.5) Observations par MEB-EDX.....	27
3.2.1.2. Contrôle physico-chimique de l'acide niflumique.....	28

b.1)Aspect.....	28
b.2) Solubilité.....	28
b.3)Dosage par potentiomètre.....	29
3. 3.Formulation de la dispersion solide par évaporation de solvant.....	29
3. 4 Caractérisation et contrôle physico-chimie de la dispersion solide.....	30
3.4.1.1.Caractérisation de la dispersion solide.....	30
a) Analyse par DLS	30
b) Analyse par DRX.....	30
c) Observation par MEB.....	30
3.4.1.2. Contrôle physico-chimique de la dispersion solide.....	30
a) Solubilité.....	30
b) Dosage par HPLC.....	30
3.5.Mise en évidence de l'amélioration de la dissolution de la dispersion solide.....	31

Chapitre 4 : Résultat et Discussions

4.1. Caractérisation de l'acide niflumique et de la dispersion solide d'acide niflumique...	33
4.1.1. Analyse par UV.....	33
4.1.2. Analys par IR.....	35
4.1.3.Analyse par DLS.....	36
4.1.4. Analyse par DRX.....	38
4.1.5.Analyse par MEB-EDX.....	39
4.2. Contrôle physico-chimie de l'acide niflumique et de la dispersion solide d'acide niflumique.....	41
4.2.1. Aspec de l'acide niflumique.....	41
4.2.2. Solubilité de l'acide niflumique et de la dispersion solide d'acide niflumique.....	41
4.2.3. Dosage par potentiométrie de l'acide niflumique.....	42
4.2.4. Dosage de l'acide niflumique dans la dispersion solide.....	43
4.3. Mise en évidence de l'amélioration de la dissolution de la dispersion solide.....	43

Conclusion générale :

Références Bibliographiques

ANNEX

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'hydrotropie 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. Elle est effectuée le plus souvent soit par voie orale ou parentérale (voie d'urgence).

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 solubilité des médicaments par formation de dispersions solides, le médicament modèle choisi est l'acide niflumique qui est un dérivé de l'acide 2- (phénylamino) -benzoïque, et classé aussi comme un dérivé de l'acide N-phénylanthranilique, son mécanisme ressemble à celui des fénamates et à d'autres AINS, et sa nature chimique appartient aux acides méfénamique, flufénamique et tolfénamique [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 choisis la formation de dispersions solides dans ce travail de recherche. En revanche la technique de dispersion solide (SD) a été largement utilisée pour améliorer la vitesse de dissolution, la solubilité et l'absorption orale des médicaments faiblement solubles dans l'eau [11-12]. Le terme dispersions solides a été utilisé pour décrire une famille de formes posologiques dans lesquelles le médicament est dispersé dans une matrice biologiquement inerte, habituellement en vue d'améliorer la biodisponibilité orale.

Le manuscrit a été structuré comme suit : une partie bibliographique qui comporte deux chapitres, le premier sur les anti-inflammatoires non stéroïdiens et des généralités sur l'acide niflumique et le 2^{ème} sur la solubilité et la dispersion solide. La partie expérimentale décrit le matériel et les méthodes avec les résultats et une discussion.

Enfin, cette étude est achevée par une conclusion générale qui mettra l'accent sur les points forts des résultats obtenus et des recommandations pour la poursuite et la continuité de cet axe de travail très passionnant aussi bien pour les chercheurs que les industriels.

Introduction :

Les médicaments anti-inflammatoires sont utilisés dans le traitement local ou général de l'inflammation. Ils sont symptomatiques, et n'agissent pas sur l'étiologie de l'inflammation, ils sont indiqués quand le processus physiologique devient gênant, notamment à cause de la douleur qu'il provoque [13].

1. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens :

Le traitement anti inflammatoire est destiné à contrôler l'excès de réaction aspécifique des tissus et à éviter la transformation de la phase aiguë de l'inflammation en phase chronique. [14]

La famille des AINS comporte de nombreuses substances appartenant à plusieurs familles chimiques, dont le point commun est leur faible acidité [15]. Ils n'agissent que sur une partie de la composante inflammatoire. Ils bloquent la dégradation de l'acide arachidonique par la voie de la cyclooxygénase, ils s'opposent donc à la production des prostaglandines et du thromboxanes A2. Les AINS peuvent agir également sur la composante cellulaire de l'inflammation en bloquant la mobilité des cellules [16].

1.1. Classification des AINS :

Les AINS sont regroupés en plusieurs familles chimiques qui possèdent certaines particularités [17]

1.1.1. Anti-inflammatoires indiqués ;

Le chef de file est l'indométacine, introduite en thérapeutique en 1963, pour le traitement chronique des affections rhumatismales [18]. L'indométacine est un dérivé du 5-hydroxyindole doué de puissantes propriétés anti-inflammatoires [19]. Elle empêche la synthèse des prostaglandines et antagonise leur action sur les fibres lisses [20].

1.1.2. Anti-inflammatoires oxicams :

Les OXICAMS sont caractérisés par un système hétérocyclique hexagonal à la fois soufré et azoté. Contrairement aux AINS classiques, ces composés sont dépourvus de groupement carboxylique [21].

Les OXICAMS se distinguent par un motif **énolique** sur les positions 3 et 4 du cycle, conférant à ces molécules un **caractère acide** comparable à celui des AINS arylpropioniques ($pK_a \approx 4,5$) [21].

1.1.3. Anti-inflammatoires arylcarboxyliques :

L'exemple de cette classe est le diclofénac (*VOLTARENE*) ; c'est un dérivé proche chimiquement à la fois des cétones et des anthraniliques, possède l'indication « traitement des manifestations fonctionnelles de l'arthrose » [18].

1.1.4. Anti-inflammatoires anthraniliques (fénamates)

L'exemple de cette classe est l'acide niflumique (*NIFLURIL*) : ces dérivés constituent toute une série de substances analgésiques et antipyrétiques douées de propriétés antiinflammatoires. Les indications sont celles de la phénylbutazone, mais ces corps sont moins actifs [19]. C'est une classe d'AINS peu différente des précédentes, donnant plutôt d'avantage d'incidents et d'accidents digestifs [18]

1.1.5. Anti-inflammatoires pyrazolés :

L'exemple de cette classe est la phénylbutazone (*BUTAZOLIDINE*). Ce groupe d'AINS est, après l'aspirine, le plus ancien utilisé (la phénylbutazone a été introduite en thérapeutique en 1949, en raison des accidents très sévères notamment sanguine (agranulocytoses, aplasies médullaires) observés lors de leur emploi. Les principaux sont l'antipyrine et l'amidopyrine, ce sont des antipyrétiques et des analgésiques dont le mode d'action est analogue à celui des salicylates [19].

1.1.6. Anti-inflammatoires salicylés :

L'exemple de cette classe est l'acide acétylsalicylique (*ASPIRINE*). L'aspirine est probablement le médicament le plus utilisé et le plus vendu dans le monde. Il est le chef de file des anti-inflammatoires non stéroïdiens. Le point est bien établi de son mode d'action et de son effet inhibiteur de la synthèse des prostaglandines [18].

1.1.7. Anti-inflammatoires propioniques :

Cette classe d'anti- inflammatoires est d'efficacité probablement moindre que les précédentes, mais, incontestablement sa tolérance est meilleure : ce fait explique la concurrence existante entre les diverses spécialités de ce groupe et aussi l'effort promotionnel intense que leur est consacré sur un marché de très grande vente [18]. Les dérivés de l'acide propionique ont montré des propriétés anti- inflammatoires et sont utilisés dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde [19].

1.1.8. Groupe dit des coxibls :

Récemment en 2001 ont été mis sur le marché de nouveaux AINS « coxibls » dont l'original est une action inhibitrice prédominante sur la cylo- oxygénase 2 qui est inductible des phénomènes inflammatoires [18].

Ces médicaments, en agissant seulement sur l'enzyme qui n'est pas impliquée dans les effets secondaires, gardant la même efficacité mais entraîneraient moins de troubles digestifs que les AINS classiques [22].

1.2. L'acide niflumique :

Parmi les AINS, on trouve l'acide niflumique qui est un dérivé de l'acide 2- (phénylamino) –benzoïque, il est classé aussi comme un dérivé de l'acide N-phénylanthranilique, son mécanisme ressemble à celui des fénamates et à d'autres AINS, et sa nature chimique appartient aux acides méfénamique, flufénamique et tolfénamique [23,24].

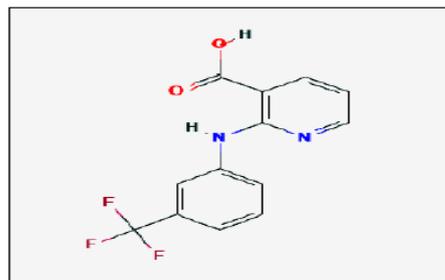


Figure 1.1. Structure de la formule de l'acide niflumique [23].

La molécule de l'acide niflumique possède de bonnes propriétés pharmacocinétiques, une absorption et distribution rapide suivi d'un métabolisme important [25]. Selon la classification biopharmaceutique cette molécule peut être considérée comme un composé de classe II, c.-à-d. un composé insoluble dans l'eau, lipophile et hautement perméable [26].

1.2.1. Cas d'usage et mécanisme d'action :

L'acide niflumique est un anti inflammatoire non stéroïdien de la classe des acides fénamiques. [27].

Par voie locale, il possède une activité anti-inflammatoire et antalgique. Il est utilisé dans la prise en charge des :

- Entorses et contusions en traumatologie bénigne,
- Tendinites superficielles.

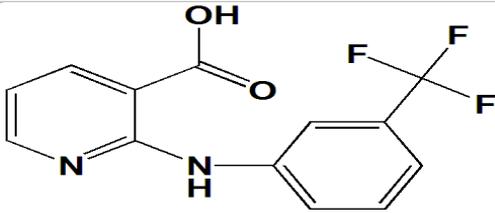
Par voie systémique, il possède les propriétés antalgiques, antipyrétiques, anti-inflammatoires, et d'inhibition de courte durée des fonctions plaquettaires. Il est utilisé dans la prise en charge de :

- Arthroses,
- Douleurs otorhinolaryngologiques et stomatologiques,
- Rhumatismes abarticulaires,
- Rhumatismes inflammatoires chroniques.

1.2.2. Propriétés Physico-chimique :

Les propriétés physico-chimiques de l'acide niflumique sont illustrés dans le tableau suivant : [28].

Tableau 1.1 : propriétés physico-chimiques de l'acide niflumique

Formule brute	<u>$C_{13}H_9F_3N_2O_2$</u>
Formule chimique	Acide 2 - {[3- (trifluorométhyl) phényl] amino} nicotinique
Formule développer	 <p style="text-align: center;">Niflumic acid</p>
Classe chimique	<ul style="list-style-type: none"> • Dérivés d'acide anthranyle
Classe thérapeutique	Anti inflammatoire non stéroïdien
Poids moléculaire	282,22g/mol
Point de fusion	203°C
Caractère organoleptique	Solide
Solubilité	Insoluble dans l'eau
Stockage	En récipient étanche à l'abri de la lumière et de l'humidité

1.2.3. Relation entre les activités de structure :

Le DAS général pour les dérivés d'acide anthranilique peut être résumé comme suit :

- L'activité diminue lors de la substitution sur l'anneau d'acide anthranilique.
- Les activités dues à la substitution sur le cycle N-aryle suivent l'ordre général m > o > p.
- Pour les produits de disubstitution, l'activité s'est avérée être maximale lorsque les positions o et m sont substituées près l'une de l'autre sur le cycle N-aryle.
- Les substitutions sur le cycle N-aryle avec de tels groupes qui amènent le cycle à être non coplanaire avec le cycle acide anthranilique augmentent la liaison du médicament et, par conséquent, augmentent l'activité (l'acide méclofénamique étant plus actif que l'acide flufénamique).
- Le groupement NH du noyau anthranilique est important pour l'activité du médicament, et le remplacement du groupement NH- par des groupes O, CH₃, S, SO₂, N-CH₃ ou N-COCH₃ diminue l'activité du médicament.
- La position de la fonction acide est importante pour l'activité et non pour la nature de la fonction acide.
- Le remplacement de la fonction acide carboxylique par la fonction tétrazole isostérique n'a pas d'effet significatif sur l'activité du composé. [28].

1.2.4. Synthèse de l'acide niflumique :

La matière première est l'acide pyridine-3-carboxylique : la présence de l'atome d'azote rend très difficiles les substitutions électrophiles sur le cycle [29].

- **1^{er} temps** : oxydation de l'azote par l'eau oxygénée → activation du sommet 2
- **2^e temps** : action du trichlorure de phosphore → permet l'halogénéation en 2, mais transforme aussi le COOH en chlorure d'acide.
- **3^e temps** : hydrolyse du chlorure d'acide, puis déplacement de l'halogène par une amine aromatique.

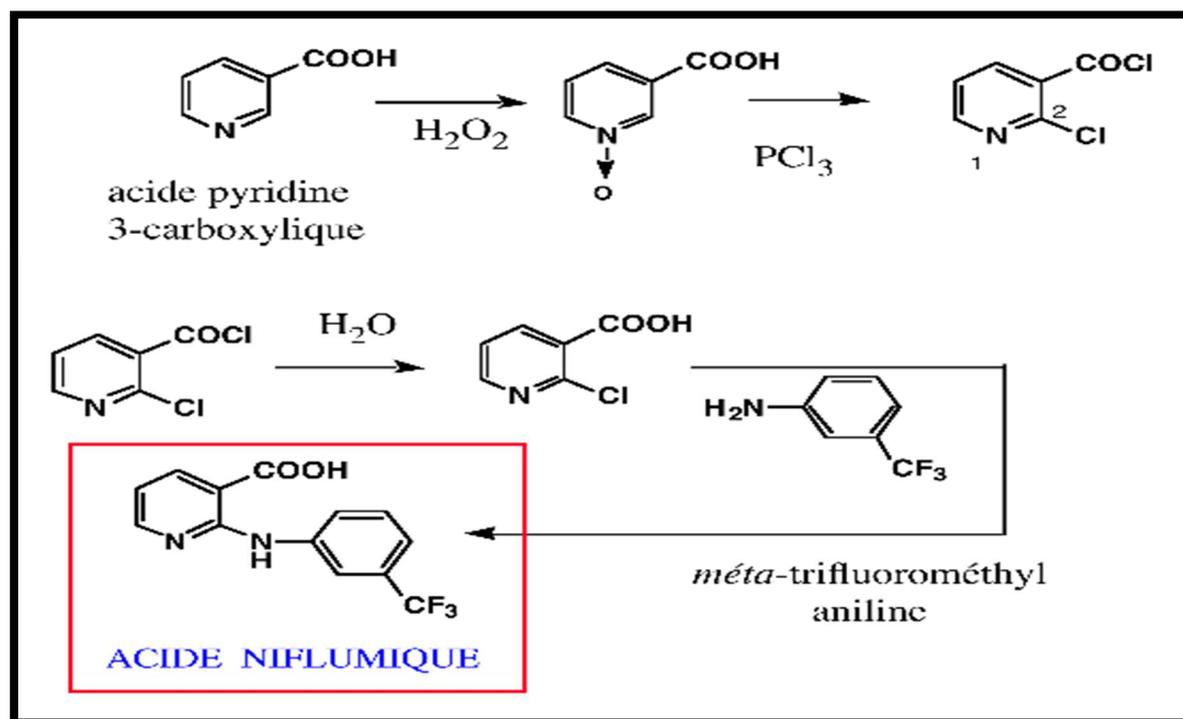


Figure 1.2 : synthèse de l'acide niflumique

1.3. Quelques travaux de recherche effectués à base d'acide niflumique :

Iervolino et al. [30], ont fait une étude dans le but de réduire la toxicité gastrique de l'acide niflumique en l'associant à la cyclodextrine, cette molécule qui a fait l'objet d'une étude très large en l'associant à des anti-inflammatoires et qui a prouvé son rôle important dans l'augmentation de la tolérance gastrique [31-32].

Cette étude repose sur la préparation et caractérisation des systèmes binaires solides incluant l'acide niflumique avec la β -cyclodextrine et l'acide niflumique avec l'hydroxypropyl β -cyclodextrine, par différentes méthodes (mélange physique, lyophilisation, séchage par pulvérisation), afin de tester leur pouvoir de dissolution [30].

Les résultats ont montré que la solubilité de l'acide niflumique était proportionnelle à l'augmentation de la concentration molaire de la cyclodextrine et la capacité de complexation était affectée par l'ionisation du médicament [30].

Szunyogh et al. [33] ont publié une étude dont l'objectif est de démontrer l'influence et l'effet de la réduction de la taille des particules dans un médicament sur ses propriétés de solubilité et de dissolution.

Deux types de méthodes de cristallisation, la diffusion par solvant et l'évaporation par solvant, ont été utilisées pour diminuer la taille des particules du médicament, les propriétés

physicochimiques ont été examinées au moyen d'un essai de mouillabilité (angle de contact) et d'un essai de solubilité et de dissolution à partir de milieux simulés.

Les résultats concernant la taille des particules montrent que les cristaux de l'acide niflumique (NIF) dans les produits obtenus étaient considérablement plus petits que les cristaux du principe actif brut, avec des réductions de plus de 10 fois, alors que les surfaces spécifiques dans les produits étaient par conséquent 10 fois supérieures à celles de l'acide niflumique pur [33]

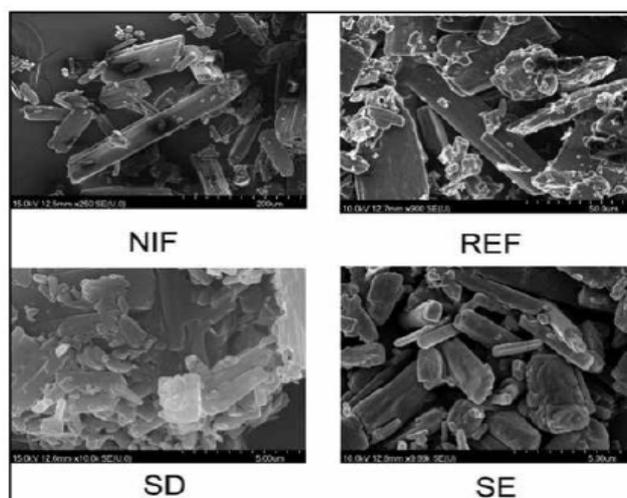


Figure 1.3. Images MEB du NIF brut et des différents produits NIF [20].

La solubilité dans le jus intestinal est meilleure pour le NIF brut que dans le suc gastrique et ne diffèrent pas tellement pour les autres produits, sauf différence de solubilité dans l'eau [33]. L'analyse de mouillabilité montre un caractère hydrophile supérieur à celui du NIF brut [33]. La solubilité des échantillons est reportée dans le tableau 2.

Tableau 1.2 : Solubilité de l'acide niflumique à partir des différents matériaux [33].

Echantillon	Solubilité dans l'eau [mg/mL]	Solubilité dans le suc gastrique [mg/mL]	Solubilité dans le jus intestinal [mg/mL]
NIF	0.0389	0.2351	1.9600
SE	0.1134	0.2385	1.9800
SD	0.1003	0.2595	2.1800
REF	0.0536	0.2355	1.9500

Dans les deux processus : La vitesse de dissolution a été augmentée suite à l'accroissement de la surface spécifique des particules, conséquence de la diminution de leur taille dans la gamme micrométrique dans le suc gastrique ainsi qu'au niveau de l'intestin.

Norbert Radacsiet al. [34] ont travaillé pour améliorer la solubilité et la dissolution de l'acide niflumique par une technique moderne de formulation qui est l'électro filage sans buse. Cette technique était appliquée pour la préparation des tapis de nanofibres à partir de l'acide niflumique et l'excipient (polyvinylpyrrolidone) afin d'évaluer le potentiel d'administration médicamenteuse de substances peu solubles dans l'eau [34].

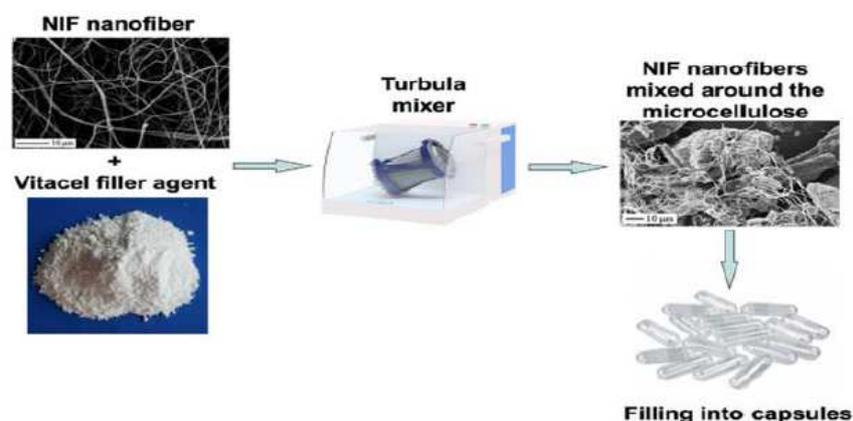


Figure 1.4. Illustration schématique montrant la formulation de la forme posologique solide.

Des nanofibres de NIF ont été mélangées avec l'agent de remplissage de cellulose microcristalline (Vitacel) dans un mélangeur Turbula.

Les résultats obtenus suite aux observations par microscopie électronique à balayage (SEM) ont montré que la taille des nanofibres obtenus variait entre 160 et 1800 nm avec la possibilité d'optimisation d'avoir un diamètre moyen de 265 nm. Les échantillons avec un rapport NIF:PVP 1:1 ont des tailles plus petites que l'échantillon préparé avec un rapport NIF:PVP 2:1 [34].

Après le stockage des échantillons pendant un an et leur analyse, la morphologie, la taille, et la nanostructure n'ont subi aucune altération.[34].

Ce procédé a démontré son efficacité dans l'amélioration des propriétés physicochimiques de l'acide niflumique, ainsi que l'obtention d'une taille de l'ordre du nano, avec conséquence une libération de la substance active de près de 100% grâce à la formulation de capsules et donc l'amélioration de la biodisponibilité, ce qui mène à la diminution de la posologie et les effets secondaires indésirables [34]

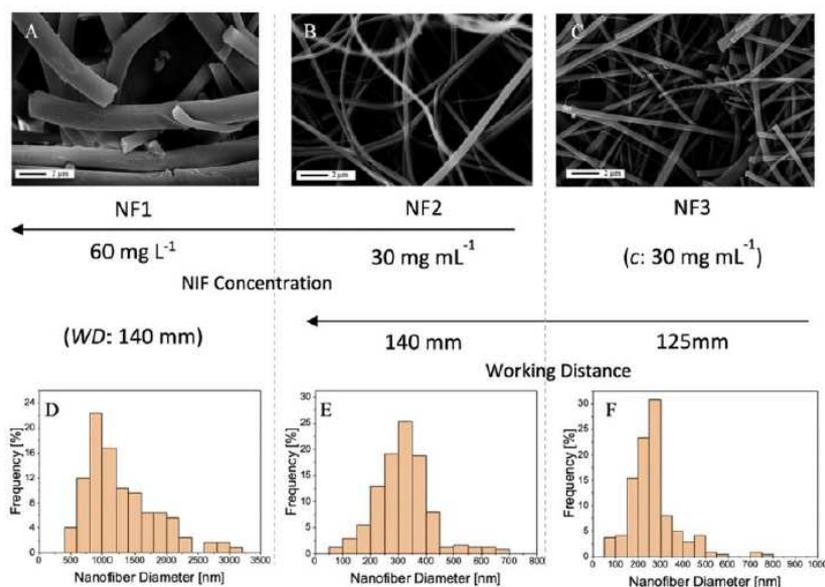


Figure 1.5. Images SEM (AC) (des trois nanofibres préparées et leurs histogrammes respectifs de distribution de diamètre de nanofibres (DF). Leurs concentrations respectives d'acide niflumique (c) et la distance de travail (WD) sont affichées sur l'axe entre les graphiques et les images [34].

Banti et Hadjikakou [35] se sont orientés vers les complexes des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) qui constituent un grand groupe de médicaments qui offrent des avantages dans la prévention des cancers [36].

Les ions métalliques complexés avec les AINS offrent des avantages par rapport aux médicaments eux-mêmes.

L'étude a montré que les masses moléculaires des complexes métalliques contenant le même l'AINS acide niflumique de formules $[\text{Cu}(\text{nifl})_2\text{H}_2\text{O}]$, $\{\text{Cu}(\text{nifl})_2(\text{DMSO})\}_2$ et $[\text{Cu}(\text{nifl})_2\text{DMF}]$ sont linéairement liés à leurs valeurs IC_{50} par rapport aux cellules MCF-7. De plus, les composés à faible poids moléculaire se lient fortement à l'ADN, ces complexes étaient des agents inhibiteurs plus puissants que le médicament d'origine [37,38].

Une autre étude sur la complexation de l'acide niflumique (HNif) réalisée par **Romana et al. [39]** sur trois nouveaux complexes de Zn(II) de l'acide niflumique. Des AINS ont été préparés et étudiés, à savoir : $[\text{Zn}(\text{Meoh})_4(\text{nif})_2]$ (1), $[\text{Zn}(\text{cyclam})(\text{nif})_2]$ (2) et $[\text{Zn}(\text{nif})_2(\text{tmen})]$ (3), où nif est du niflumic déprotoné, cyclam est 1,4,8,11-tétraazacyclotétradécane et tmen est N,N,N',N'-tétraméthyléthylènediamine

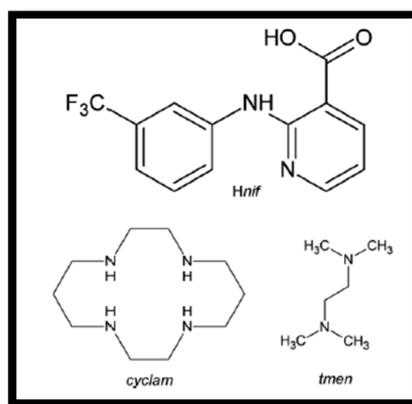


Figure 1.6. Structure de acide niflumique (Hnif), 1, 4, 8, 11-Tetraazacyclotetradecane (cyclam) et N,N,N',N'-Tetramethylethylenediamine (tmen) [39].

En outre, des études des composés préparés à partir d'ADN-EB (bromure d'éthidium) génome humain sont capables de se lier à l'ADN par intercalation. Les résultats obtenus montrent que les complexes 2 et 3 se lient à l'ADN du tissu avec un anévrisme aortique et le contrôle avec une force différente par contre les complexes 1 et 3 montrent une bonne affinité de liaison à l'albumine du sérum humain avec une constante de liaison élevée [39].

Assas et al. [40] ont élaboré des nouvelles formulations avec la technique de la micro-encapsulation [41-42] pour préparer des microparticules chargées d'acide niflumique avec différentes matrices polymériques ; ethylcellulose (EC) [43] pur et un mélange de matrices d'EC et hydroxy-propyl-methyl-cellulose (HPMC) [43].

Le procédé qui a été utilisé est l'évaporation de solvant en émulsion simple et le séchage par atomisation. Le but de ce travail était d'utiliser les plans d'expérience afin de préparer de nouvelles formulations solides avec une large gamme de tailles pour l'amélioration de la dissolution du médicament.

Les résultats ont montré que la taille des microparticules obtenues variait de 196 à 796 μm , et l'encapsulation du médicament atteignait 45 % dans certaines formulations. Les cinétiques de libération du médicament ont été améliorées avec l'augmentation de la concentration en HPMC et ont suivi le modèle mathématique d'Higuchi [40].

On peut conclure que toutes les méthodes et techniques ont présenté des avantages et des inconvénients qui nécessitent d'autres études plus approfondies.

Introduction

Le comportement de la solubilité d'un médicament est un déterminant clé de sa biodisponibilité orale. Il y a toujours eu certains médicaments pour lesquels la solubilité a présenté un défi pour le développement d'une formulation pour une administration orale, car il entraîne une mauvaise absorption et une mauvaise biodisponibilité. [44].

La réalisation des dispersions solides est l'une des stratégies les plus prometteuses afin d'améliorer la biodisponibilité orale des principes actifs peu solubles dans l'eau [45].

2 - Solubilité des médicaments :**2.1. 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). [46].

2.2. 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 [47, 48]

- **Constitution chimique :** La solubilité est fonction de la nature chimique du corps à dissoudre et de celle du solvant. Les substances riches en groupements hydrophiles se dissolvent surtout dans les solvants polaires et les substances hydrophobes dans les solvants apolaires [47].
- **Le 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 [47].
- **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 [48]
- **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 [47].

- **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 [48].

- **Taille moléculaire** : Plus la molécule est grosse ou plus son poids moléculaire est élevé moins la substance est soluble [48].

- **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 [47].

2.3. 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 [49].

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 [50].

- **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 [51, 52]

Les pourcentages de distribution des 61 principes actifs considérés dans les classes SCB sont représentés au tableau suivant :

Tableau 2.1: 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 %

2.4. Amélioration de la solubilité :

2.4.1. 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. [46].

2.4.1.1. Complexation aux cyclodextrines :

Les cyclodextrines sont des oligosaccharides cycliques non réducteurs obtenus industriellement par dégradation enzymatique de l'amylose (structure linéaire de l'amidon) à l'aide d'une enzyme, la cyclodextrine glucosyltransférase (CGTase). [53].

2.4.1.2. 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 [46].

2.4.1.3. 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. [46].

2.4.2. 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. [46].

2.4.3. 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 [46].

2.4.3.1. 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 [46].

2.4.3.2. Réduction de la taille des particules :

La solubilité du médicament est souvent intrinsèquement liée à la taille des particules du médicament ; lorsqu'une particule devient plus petite, le rapport surface / volume augmente. La plus grande surface permet une plus grande interaction avec le solvant, ce qui entraîne une augmentation de la solubilité. [46].

2.4.3.3. Dispersions solides :

Le terme « dispersion solide » se réfère à un groupe de produits solides constitués d'au moins 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 [54]. La figure 7 schématise les trois (03) modes d'incorporation du principe actif dans une dispersion solide [55].

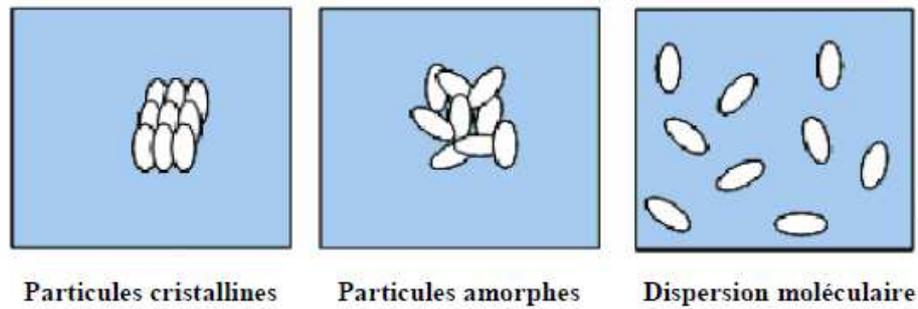


Figure 2.1 : Schéma illustrant les trois modes d'incorporation du principe actif dans une dispersion solide

2.4.3.3.1. Historique de la dispersion solide :

En 1961, Sekiguchi et Obi [56] 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 [57]. 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 copécipité à l'eau conduit à une dispersion colloïdale du médicament.

En 1966, Goldberg et al. [58, 59] 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.

2.4.3.3.2. Polymères utilisés :

Les principaux matériaux, aussi dénommés polymères, utilisés comme véhicules dans la préparation des dispersions solides sont regroupés dans le tableau ci-dessous [60].

Tableau 2.2 : 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, Pentaerythryl tétra acétate, Urée, Uréthane, Hydroxyalkyle xanthines

2.4.3.3.3. Classification des dispersions solides :

Les dispersions solides peuvent être classées en première, deuxième ou troisième génération [61]. Brièvement, la première génération produit des dispersions solides cristallines où une molécule d'un support cristallin remplace une molécule de médicament dans sa structure cristalline. La deuxième génération produit des dispersions solides amorphes et utilise des 14 supports polymères. La troisième génération comprend une dispersion solide amorphe composée d'une combinaison de supports amorphes et le plus préférablement une combinaison de supports amorphes et de tensioactifs, présentant une libération améliorée de médicament, une stabilité à long terme et une biodisponibilité supérieure [61].

Le tableau 6 résume la classification par génération des DS : [62, 63]

Tableau 2.3 : classification des DS par génération

Génération	1 ^{ère}	2 ^{ème}	3 ^{ème}	4 ^{ème}
Type de DS	cristalline	amorphe	amorphe	amorphe
PA	amorphe ou cristallin			amorphe
Matrice	cristalline (urée ou sucre)	amorphe (polymères)	amorphe (polymères et TA)	amorphe (plusieurs excipients possibles tels que des polymères insolubles ou gonflant dans l'eau, TA, excipients inorganiques)

Dans la pratique aujourd'hui, les types de mélanges obtenus sont des suspensions ou des solutions (Figure 8).

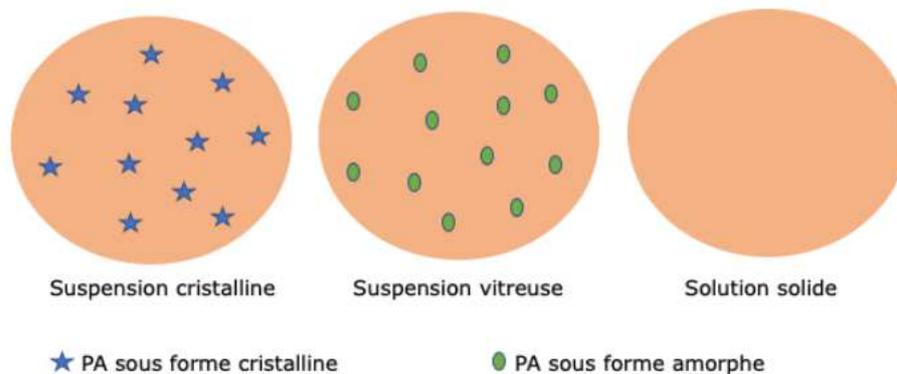


Figure 2.2. Les mélanges formant des DS à l'échelle macroscopique

2.4.3.3.4 Méthodes de fabrication de DS :

Il existe plusieurs méthodes pour préparer des dispersions solides. Elles ont été développées soit à partir de procédures manuelles simples ou par des techniques avancées nécessitant des équipements spéciaux pour répondre aux besoins de l'industrie pharmaceutique moderne. Certaines de ces diverses techniques sont brièvement énumérées ci-dessous [64].

- **Méthode de co-fusion** : Cette méthode consiste à préparer le mélange physique d'un médicament et d'un support soluble dans l'eau et à le chauffer directement jusqu'à la fusion. Le mélange fondu est ensuite solidifié rapidement. La masse solide finale est broyée, pulvérisée et tamisée. Ce procédé de co-fusion présente l'avantage d'être un procédé économique et sans solvant, cependant cette méthode ne convient pas aux médicaments ou supports qui sont sensibles à la température de fusion ou qui s'évaporent à une température élevée [64].
- **Méthode de fusion** : Il s'agit d'une modification de la méthode de co-fusion. Le support est chauffé jusqu'à la fusion. La quantité de médicament est dispersée progressivement dans le support fondu. Cette méthode est utile pour réduire la décomposition thermique des médicaments [65].
- **Méthode de coprécipitation** : Elle consiste à dissoudre le PA et le vecteur dans un solvant organique dont ils sont très solubles, le mélange est ensuite rajouté goutte à goutte à un anti solvant dans lequel les composants sont insolubles et se précipitent. Les solvants sont éliminés par évaporation sous vide ou par filtration de sorte qu'il ne reste aucune trace de solvant dans la dispersion formée. [66]
- **Méthode de malaxage** : Dans cette méthode, le support est imprégné d'eau et transformé en pâte. Le PA est ensuite ajouté et pétrié pour un temps particulier. Le mélange malaxé est ensuite séché et passé au tamis si nécessaire. Cette méthode convient aux médicaments thermolabiles, mais elle ne convient pas aux médicaments sensibles à l'humidité [66].
- **Méthode de Co-broyage** : Le mélange physique de médicament et de support est mélangé pendant un certain temps en employant un mélangeur à une vitesse particulière. Le mélange est ensuite chargé dans la chambre d'un broyeur. La poudre est pulvérisée [66].
- **Méthode d'évaporation du solvant** : Le médicament et le support sont dissous dans un solvant volatil commun qui est ensuite éliminé par évaporation ou filtration. La dispersion solide formée est pulvérisée et tamisée [65]. Les DS sont obtenues par évaporation du solvant utilisé pour dissoudre le PA et le support. Ce type de

fabrication ne nécessite pas obligatoirement de chauffage, ce qui présente l'intérêt d'éviter la décomposition du produit final. La condition importante est la solubilité entre le solvant et les constituants [67].

- En dépit de cet avantage, il peut être difficile de trouver un solvant solubilisant un PA hydrophobe et une matrice hydrophile. Afin de minimiser cet inconvénient, l'utilisation d'un mélange de solvants est possible. Mais, si du solvant résiduel se retrouve après l'évaporation, il peut agir comme un plastifiant provoquant une séparation de phase au sein des DS, et diminuer ainsi la Tg du produit final. Ces méthodes ont d'autres désavantages touchant par exemple la chimie verte. Les déchets de solvant potentiellement toxiques engendrent des risques environnementaux et le coût de production est plus élevé que d'autres types de fabrication du fait des mesures de protection requises pour la manipulation des solvants ou des équipements pour éliminer le solvant résiduel [67, 68].
- Un exemple de méthode de fabrication par l'évaporation de solvant est l'atomisation ou « spray drying ». C'est une technique qui entraîne, par une pompe à débit fixé, la solution ou suspension PA/matrice/solvant à pulvériser, vers une buse. La pulvérisation de la préparation engendre de fines gouttelettes de large surface spécifique qui entrent au contact d'un air chaud permettant l'évaporation rapide du solvant dans la colonne d'atomisation. Les DS sont créées en quelques secondes. Leur taille peut être modulée par le type de buse utilisé. Cette technique a pour avantage d'être un procédé continu, facilement transposable à l'échelle industrielle [67].

2.4.3.3.5. Avantages et inconvénients des dispersions solides :

1 - Avantages : Les dispersions solides présentent plusieurs avantages et même des inconvénients dont on peut citer [69] :

- La préparation des dispersions solides engendre des particules de taille réduite et par conséquent une surface et une vitesse de dissolution améliorée et accrue est atteinte.
- Le résultat final est une biodisponibilité améliorée
- La mouillabilité est améliorée pendant la production de la dispersion solide. La mouillabilité améliorée entraîne une augmentation de la solubilité. Ici, les transporteurs jouent un rôle majeur pour améliorer la mouillabilité des particules.
- Les particules dans les dispersions solides présentent des degrés de porosité plus élevés.

- La porosité accrue des particules solides de dispersions accélère le profil de libération du médicament. La porosité accrue dépend également du transporteur
- Dans les dispersions solides, les médicaments sont présentés comme des solutions sursaturées qui sont considérées comme étant plus ou moins stables.
- Taux de dissolution rapide entraîne une nécessité de prise plus faible du médicament

2 - Inconvénients [70-72]:

- Instabilité des dispersions solides.
- Les propriétés physiques des dispersions solides sont affectées par l'humidité et la température.
- La propriété de collant des dispersions solides le rend difficile à manipuler.
- Difficile de préparer des dispersions solides dans une forme posologique.
- Problèmes de stabilité du véhicule et de la drogue.
- Reproductibilité des propriétés physicochimiques faible.
- Pour obtenir une bonne dissolution, une grande quantité de support est requise.
- Pendant le stockage de la dispersion solide, on rencontre de nombreux problèmes qui sont la séparation de phases, la conversion de la forme amorphe en cristalline et la croissance cristalline ; la raison de laquelle la solubilité, la dissolution et la biodisponibilité diminuent.
- On utilise divers polymères synthétiques tels que la polyvinylpyrrolidone, le polyéthylèneglycol, le mannitol qui sont hydrosolubles et qui présentent un point de fusion bas et sont utilisés en grande quantité mais qui présentent moins d'amélioration de la dissolution.
- La méthode de préparation est onéreuse.

Introduction

Le but de notre travail est d'améliorer la solubilité de l'acide niflumique par dispersion solide par le procédé d'évaporation par solvant.

La molécule candidate, l'acide niflumique a été choisie pour sa faible solubilité dans l'eau et sa forte perméabilité membranaire (Substance médicamenteuse de la classe II selon le SCB des médicaments). Pour atteindre l'objectif visé, on a procédé aux étapes suivantes :

- ✓ Caractérisation et contrôle de la substance active « Acide niflumique » par différentes techniques : UV-Vis, IR, DLS, DRX, MEB-EDX.
- ✓ Formulation des dispersions solides par le procédé « Evaporation de solvant »
- ✓ Caractérisation et contrôle de la dispersion solide « Acide niflumique » par différentes techniques : DLS, DRX, MEB-EDX, HPLC.
- ✓ Mise en évidence de l'amélioration de la dissolution de l'acide niflumique sous forme de dispersion solide en le comparant à un produit commercialisé.

3.1. Matériels et équipements

3.1.1. Réactifs

Au cours de notre travail expérimental, on a utilisé les réactifs suivants qui n'ont subi aucune purification préalable. Ce sont les réactifs et les matières premières disponibles au niveau du Centre de recherche et Développement du GROUPE SAIDAL ; lieu de réalisation notre stage pratique.

- Acide niflumique.
- Polyvinylpyrrolidone PVP 30: polymère (véhicule).
- Ethanol 96% : solvant, grade réactif.
- NaOH > 99% : sous forme de pastille, grade réactif.

3.1.2. Equipements

Tableau 3.1 : Equipements utilisés pour la formulation, caractérisation et contrôle

Désignation	Marque
Balance analytique	METTLER TOLEDO
Agitateur magnétique	VELP
Titreur automatique « Potentiomètre »	METTLER TOLEDO
Spectrophotomètre UV-Vis	Perkin Elmer
Spectrophotomètre d'absorption dans l'infrarouge	Perkin Elmer
Diffusion Dynamique de la lumière (DLS)	Horiba Nano particaanalyzer SZ-100 séries
Diffractomètre des rayons X (DRX)	BRUKER AXS D8 ADVANCE
Microscope électronique à balayage (MEB)	FEI QUANTA 650
Evaporateur rotatif (Rotavap)	BUCHI
Etuve sous vide	MEMMERT
HPLC	WATERS
Dissolutest à panier	SOTAX

3.2. Méthodes

3.2.1. Caractérisation et contrôle physico-chimie de l'acide niflumique

La caractérisation et le contrôle physico-chimie la matière première « Acide niflumique » ont été réalisés par différentes techniques, à savoir : UV-Vis, IR, DLS, DRX, MED et ce, afin de pouvoir identifier la structure de cette substance et s'assurer de sa qualité pour usage pharmaceutique.

3.2.1.1. Caractérisation de l'acide niflumique

a.1) Analyse par UV/VIS

Principe

La Spectrophotométrie UV-Vis utilise la radiation électromagnétique entre l'UV (200-400 nm) et le visible (400-750 nm) comme source de lumière pour promouvoir énergétiquement les électrons dans une molécule en solution à un niveau énergétique plus élevé. Le spectrophotomètre UV-Vis mesure la quantité d'énergie absorbée.

La quantité de radiation électromagnétique absorbée par une espèce en solution (**A**) dépend de sa concentration (**c**) et de la longueur du parcours de la radiation électromagnétique (**b**) ainsi que de l'absorption spécifique (**ϵ**) des espèces à analyser. [73]

Mode opératoire

Le but est de déterminer l'absorbance maximale (λ max) de l'acide niflumique dans deux milieux différents.

- ❖ **Milieu 1** : on prépare une solution de 0,01 mg/ml d'acide nifumique dans l'éthanol 96%. Le scanning est réalisé entre (200_400 nm). L'éthanol 96% est le blanc.
- ❖ **Milieu 2** : on prépare une solution de 0,01 mg/ml d'acide niflumique, le diluent est une solution NaOH 0,01N. Le scanning est réalisé entre (200_400 nm). NaOH 0,01N est le blanc.

Les résultats sont présentés sous forme de spectres UV.

a.2) Analyse par IR

Principe

Le principe de la spectroscopie IR repose sur l'absorption de la lumière par la plupart des molécules dans la région de l'infrarouge du spectre électromagnétique en convertissant cette absorption en vibration moléculaire, cette adsorption correspond spécifiquement aux liaisons présentes dans la molécule. Avec un spectromètre, cette absorption du rayonnement infrarouge par le matériau de l'échantillon est mesurée en fonction de la longueur d'onde (sous forme de nombres d'ondes typiquement de 4000 à 600 cm^{-1}). [74]

Le résultat est un spectre qui donne une empreinte chimique distinctive des échantillons organiques et inorganiques

Mode opératoire

Le but est l'identification des groupements fonctionnels présents dans notre substance médicamenteuse et donc sa structure chimique.

Pour se faire, on dépose une quantité de la matière acide Niflumique dans le porte-échantillon de l'équipement et on lance l'analyse sans aucun traitement de l'échantillon en utilisant le mode ATR de l'équipement IR.

Les résultats sont présentés sous forme de spectres IR.

a.3) Analyse par DLS

La diffusion dynamique de la lumière ou Dynamic Light Scattering est une technique d'analyse en solution permettant de déterminer le diamètre hydrodynamique de particules ainsi que la distribution des tailles des particules dissoutes dans un solvant. [75]

Principe

Le principe repose sur la mesure, à un angle donné, de l'intensité de la lumière diffusée par les particules dispersées dans un liquide, soumises au seul mouvement Brownien. La taille de la particule obtenue est le diamètre de la sphère qui diffuse à la même vitesse que celle de la particule que l'on mesure. [76]

Mode opératoire

Le but est de déterminer la taille des particules de la substance médicamenteuse « Acide niflumique » utilisée par la suite pour la préparation de la dispersion solide.

On dissout une quantité d'acide niflumique dans l'eau distillée. Après une bonne agitation, on met la suspension dans un bain à ultrasons pendant 30 min afin d'homogénéiser la solution. On prélève une quantité avec une seringue et on l'injecte dans la cellule en quartz de l'appareil DLS.

Conditions opératoires :

Angle de diffusion : 90°

Température du support : 25.0 °C

Viscosité moyenne de dispersion : 0.894 mPa.s.

a.4) Analyse par DRX

La Diffraction par rayons X est une technique d'analyse qui permet d'étudier les différentes phases de matières et matériaux cristallins. [77]

La DRX permet d'accéder à de nombreuses informations sur l'arrangement des éléments au sein d'un matériau. Elle permet ainsi d'identifier le ou les composés et leurs formes cristallographiques. Elle consiste à faire diffracter les rayons X sur un échantillon solide plat ou sous forme de poudre. [78]

Mode opératoire

Le but est de déterminer la forme cristalline de l'acide niflumique.

Pour réaliser l'analyse, on dépose une quantité de l'échantillon dans le porte-échantillon de l'équipement et on lance l'analyse sans traitement particulier. Le rayonnement utilisé est $K\alpha$ du cuivre à la longueur d'onde λ de 1,5406 Å. Le balayage a été fait dans le domaine $10^\circ \leq 2\theta \leq 80^\circ$. Le résultat est présenté sous forme de diffractogramme.

a.5) Observations par MEB-EDX

Le microscope électronique à balayage permet d'obtenir des images de surfaces de pratiquement tous les matériaux solides, à des échelles allant de (x10) à (x500.000 ou plus). Ces images frappent en premier par le rendu très parlant du relief et la grande profondeur de champ.

L'image MEB est reconstituée : le faisceau d'électrons, balaye la surface de l'échantillon, un détecteur récupère de manière synchrone un signal induit par cette sonde pour en former une image, cartographie de l'intensité de ce signal. [79]

Le MEB est constitué d'une source d'électrons, un jeu de lentilles "condenseur" focalisé sur un diaphragme. Une deuxième lentille "objectif" refocalise ce faisceau sur l'échantillon en un spot très fin (< 15 à 200 Å).

Mode opératoire

Le but est de vérifier la morphologie de l'acide niflumique qui sera utilisée pour la préparation de la dispersion solide.

On prélève une quantité de la poudre qu'on introduit sur un support en aluminium fermé par un papier de carbone pour éviter la chute de la poudre puis on le place dans la chambre d'échantillon sous vide et on commence les observations sur un écran qui fait apparaître les images.

3.2.1.2. Contrôle physico-chimique de l'acide niflumique

b.1) Aspect

L'aspect de la poudre de la matière « Acide niflumique » est examiner à l'œil nu.

Selon la Pharmacopée Européenne 10^{ème} édition 2020, l'acide nifmiquie se présent sous forme de poudre cristalline jaune pâle.

b.2) Solubilité

Le test de solubilité a été réalisé conformément aux exigences de la Pharmacopée Européenne 10^{ème} édition 2020.

Tableau 3.2 : Solubilité selon la Ph. Eur. 10^{ème} édition.

Termes descriptifs	Volumes approximatifs de solvants en ml par gramme de substance
Très soluble	Inférieur à 1
Facilement soluble	1 à 10
Soluble	10 à 30
Assez soluble	30 à 100
Peu soluble	100 à 1 000
Très peu soluble	1 000 à 10 000
Pratiquement insoluble	Plus de 10 000

L'acide niflumique est pratiquement insoluble dans l'eau, facilement soluble dans l'acétone, soluble dans le méthanol et l'éthanol à 96%.

b.3) Dosage par potentiomètre

Un titrage potentiométrique est une méthode de titrage par potentiométrie durant laquelle on mesure le potentiel électrique d'une solution entre deux électrodes (électrode indicatrice et électrode de référence) en fonction du volume de titrant ajouté dans le but de déterminer la concentration d'une espèce chimique dans cette solution. [80]

Selon le protocole qui est décrit dans la pharmacopée Européenne 10^{ème} édition 2020, le titre de l'acide niflumique est déterminé comme suit :

On dissout 0.200g d'acide niflumique dans un mélange de 10 ml d'eau et de 40 ml d'éthanol à 96%, puis on titre la solution par NaOH (0.1M) et on détermine le volume de fin de titrage par le potentiomètre.

3.3. Formulation de la dispersion solide par évaporation de solvant

On dissout une quantité X de mélange « Acide niflumique / PVP 30 » avec des rapports optimisés dans 15ml d'éthanol 96%. On mélange à l'aide d'un agitateur jusqu'à l'obtention d'une solution homogène. On place la solution dans un ballon du Rotavap à une température bien précis et à une vitesse de 75 tours par minute. On le laisse jusqu'à l'évaporation complète du solvant. On place ensuite le ballon dans un dessiccateur afin de le refroidir et éviter l'absorption de l'humidité. Par la suite on le mettre dans une étuve sous vide dans des conditions de température et de vide bien définis. La poudre récupérée est broyée dans un mortier pour être finalement conservé dans un flacon étanche.

La figure ci-dessous illustre le montage expérimental (en photo et en schéma annoté).



Figure 3.1 : Montage expérimental utilisé pour la formulation de la dispersion solide.

3. 4. Caractérisation et contrôle physico-chimie de la dispersion solide

La poudre de la dispersion solide obtenue a été contrôlée et caractérisée par différentes méthodes et techniques d'analyses.

3.4.1.1. Caractérisation de la dispersion solide

- a) Analyse par DLS
- b) Analyse par DRX
- c) Observations par MEB

Les protocoles d'analyses sont les mêmes que ceux utilisés pour la caractérisation de la matière « Acide niflumique ».

3.4.1.2. Contrôle physico-chimique de la dispersion solide

a) Solubilité

On dissout une quantité X de la dispersion solide dans un volume d'eau distillée et on agite par agitateur magnétique pendant un temps bien déterminé

b) Dosage par HPLC

La chromatographie est l'une des techniques les plus employées dans les laboratoires d'analyse. Elle permet l'identification, la séparation et le dosage de composés chimiques dans un mélange [81].

Principe

Les composés à séparer (solutés) sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus ou moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique. La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Le mélange à analyser est injecté puis transporté au travers du système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne grâce à un détecteur approprié les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme [81].

Mode opératoire

La teneur de l'acide niflumique dans la dispersion solide a été contrôlée par une technique chromatographique HPLC. Afin de s'assurer de la qualité de la dispersion solide obtenue on a utilisé une méthode d'analyse qui a été validée par le laboratoire de chimie analytique du CRD SAIDAL.

Conditions chromatographiques

- Phase mobile : acétonitrile : eau acidifiée. Filtrer la phase mobile sur un filtre membrane de 0,45µm ensuite dégazer pendant 10 min.
- Colonne pour HPLC : gel de silice, octylsilylé C8 (0,125m×4,0mm×5µm)
- Longueur d'onde : 267 nm.
- Débit : 1,0 ml/min.
- Témoin : Acide niflumique
- Solution à examiner : Dispersion solide

Une solution placebo a été injectée afin de s'assurer qu'il n'y a pas d'interférence lors du dosage de l'acide niflumique.

Les résultats sont présentés sous forme de chromatogrammes.

Critère d'acceptation : 90,0% à 110,0% teneur d'acide niflumique dans le mélange.

3.5. Mise en évidence de l'amélioration de la dissolution de la dispersion solide

Afin de mettre en évidence l'amélioration de la solubilité et la dissolution de l'acide niflumique, en utilisant la technique de formulation « Dispersion solide » ; on a fait une étude comparative entre le profil de dissolution de notre produit avec le produit commercialisé. Pour se faire :

- On a procédé à la mise en gélule de notre produit étant donné que le produit commercialisé se présente sous forme de gélules.
- On a utilisé comme milieu de dissolution l'eau distillée, sachant que selon la littérature et le SCB l'acide niflumique est faiblement soluble dans l'eau.

Conditions opératoires

Les conditions opératoires du test de dissolution sont regroupées dans le tableau suivant :

Tableau 3.3 : Conditions Opératoires du test de dissolution

Type d'agitation	A panier
Milieu de dissolution	Eau distillée
Agitation	75 tr/min
Volume du milieu	250 ml
Temps de prélèvement	10 min, 15 min, 20 min, 30 min, 45 min et 60 min

La technique utilisée pour le dosage de la quantité libérée de l'acide niflumique dans notre produit et dans le produit commercialisé est celle décrite ci-dessus dans la partie « Dosage par HPLC ».

Les résultats sont présentés sous forme de chromatogrammes.

Dans ce chapitre seront exposés les principaux résultats obtenus avec les interprétations.

Pour rappel, il s'agissait d'améliorer la solubilité et la dissolution de l'acide niflumique dans l'eau, par le procédé de « Dispersion solide ».

Les résultats sont structurés selon l'ordre suivant :

- ✓ Caractérisation de la substance active « Acide niflumique » et de la dispersion solide « Acide niflumique ».
- ✓ Contrôle physico-chimique de la substance active « Acide niflumique » comme matière première et de la dispersion solide.

4.1. Caractérisation de l'acide niflumique et de la dispersion solide d'acide niflumique

4.1.1. Analyse par UV

Les spectres ci-dessous illustrent les absorptions maximales de l'acide niflumique dans l'éthanol et dans NaOH respectivement.

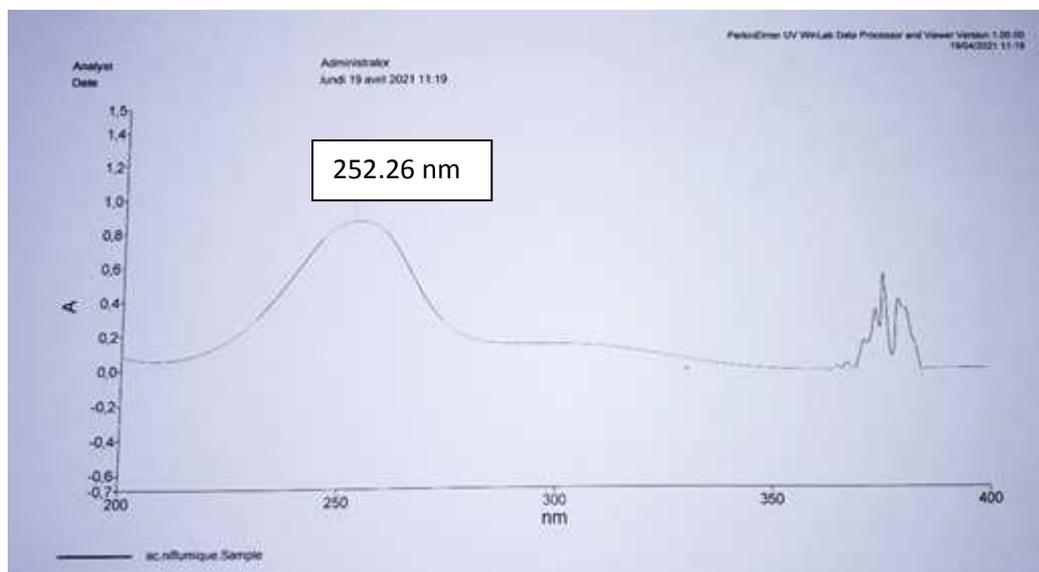


Figure 4.1 : Spectre UV de l'acide niflumique dans l'éthanol à 96%

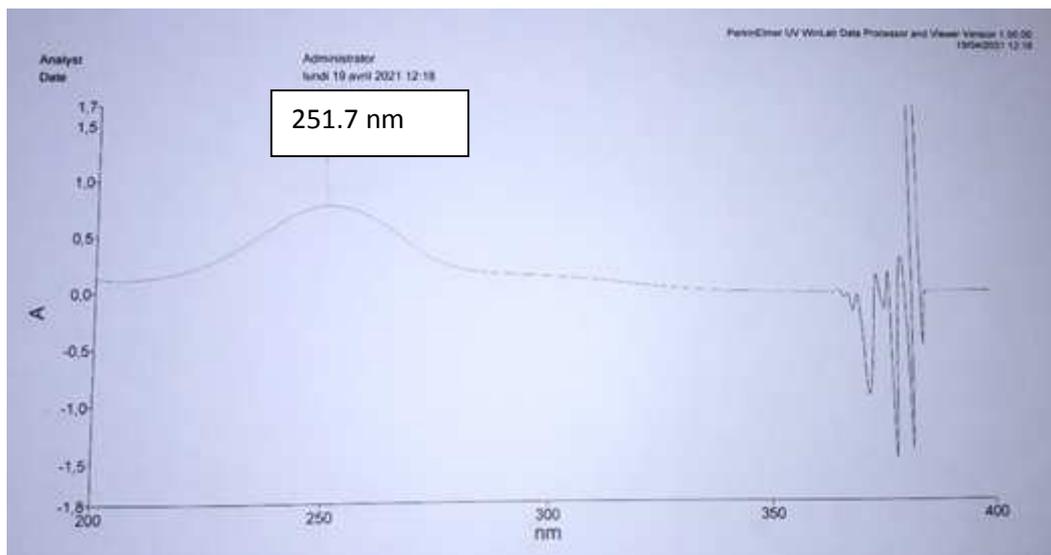


Figure 4.2 : Spectre UV de l'acide niflumique dans NaOH 0,01 N

Discussion

L'acide niflumique absorbe dans le domaine UV, car sa structure chimique contient des doubles liaisons conjuguées.

L'acide niflumique présente un maximum d'absorption à 254 nm avec l'éthanol 96% et un maximum d'absorption à 252 nm avec le milieu alcalin NaOH 0,01 N. Donc, λ_{max} de l'acide niflumique se présente à $253 \text{ nm} \pm 1 \text{ nm}$.

Le maximum d'absorption se présente à des longueurs d'ondes d'environ 250 nm, ce résultat confirme les informations disponibles dans la littérature. (Voir ANNEXE 1).

Analyse par IR

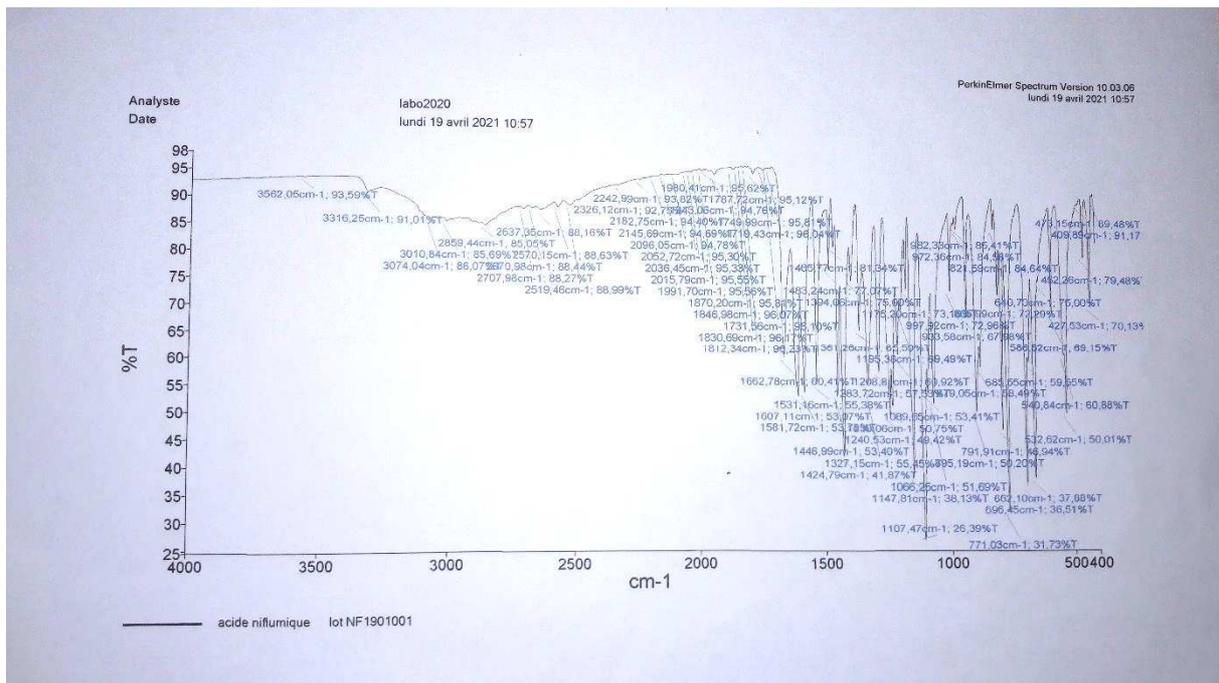


Figure 4.3 : Spectre IR de l'acide niflumique (matière première)

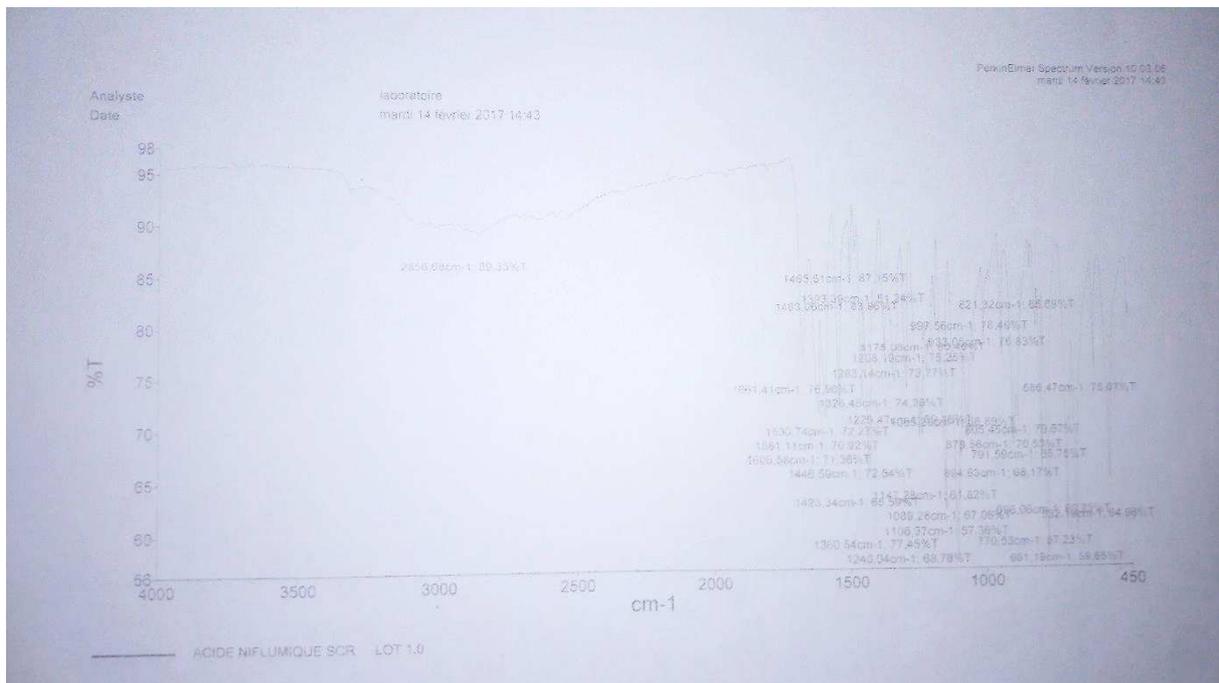


Figure 4.4 : Spectre IR de l'acide niflumique SCR

Discussion

Le spectre IR de l'acide niflumique (matière première) est illustré dans la figure 4.3 qui montre des bandes à différentes fréquences. Les premières bandes apparaissent à 427 cm^{-1} jusqu'à 696.45 cm^{-1} représentant les bandes d'élongations des liaisons -C-C-, cela nous confirme la présence des liaisons C-C saturées dans notre substance active. [82]

En outre, des bandes bien définies ont été observées à partir de 771 cm^{-1} et qui, selon la littérature, sont attribuées à la présence de l'élongation du groupement =C-H.

D'autres bandes caractéristiques de l'acide niflumique ont été identifiées et attribuées aux élongations de différents groupes tels que l'élongation 1327 cm^{-1} qui représente le groupement amine -C-N, l'élongation de la fonction acide -OH à 1425 cm^{-1} , une vibration du cycle aromatique est observée à 1531 cm^{-1} , une fonction d'amine secondaire à 1582 cm^{-1} et un groupement -C-F à 1447 cm^{-1} .

Notant aussi, que l'analyse par IR réalisée sur la Substance Chimique de Référence (SCR de l'EDQM) présente un spectre identique à celui de notre matière.

4.1.2. Analyse par DLS

La taille des particules de la matière première « Acide niflumique » ainsi que celle de la « Dispersion solide de l'acide niflumique », déterminés par DLS, sont représentés dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 4.1 : Tailles des particules de la matière première « Acide niflumique »

	Total Mean (nm)	Total S. D (nm)	Total Mode (nm)	Moyen (nm)	Z-Average (nm)	PI
Analyse 1	5747.7	1033.4	6689.2	4490.1	29811.9	13.357
Analyse 2	5760.3	902.4	6187.1	4283.3	17722.2	5.667

Tableau 4.2 : Taille des particules de la « Dispersion solide d'acide niflumique »

	Total Mean (nm)	Total S. D (nm)	Total Mode (nm)	Moyen (nm)	Z-Average (nm)	PI
Analyse 1	270.5	24.3	268.1	187.6	13389.0	9.9
Analyse 2	269.7	25.4	269.0	188.0	17257.8	20.27

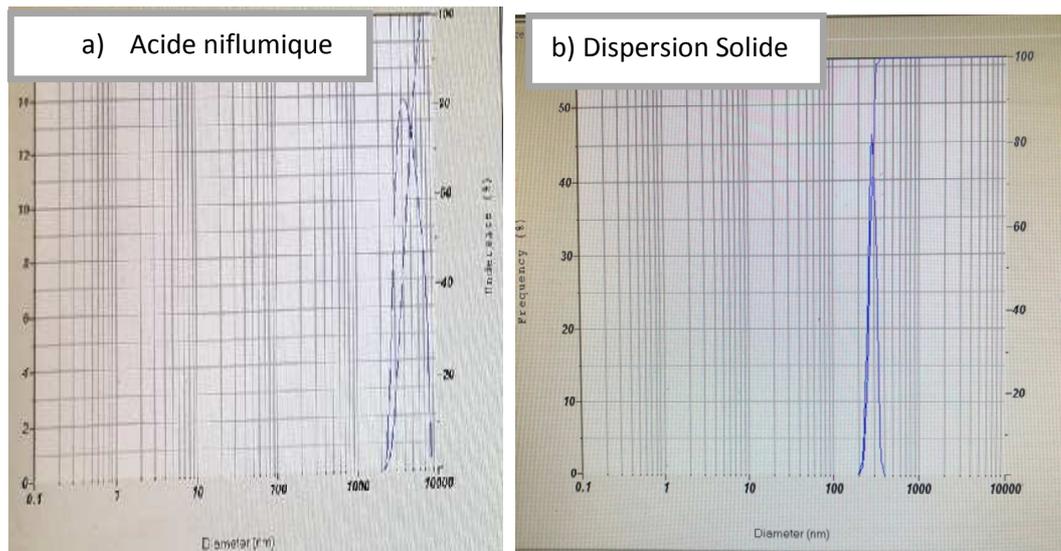


Figure 4.5 : Présentation de l'acide niflumique et la dispersion solide par DLS

Discussion

Des résultats présentés dans les tableaux ci-dessus, on observe que l'acide niflumique sous forme de dispersion solide présente une taille moyenne des particules d'ordre 200 nm, ce qui confirme la bonne dispersion de l'acide niflumique dans le véhicule PVP K30 avec diminution des tailles des particules, ce qui permettra l'amélioration de la solubilité de cette substance médicamenteuse.

Le profil présenté dans la figure (a) 4.5 a montré une répartition granulométrique des particules polydispersée pour l'acide niflumique matière première. La taille des particules est d'ordre 4,5 μm , contrairement la figure (b) 4.5 a montré une répartition granulométrique des particules monodispersée pour l'acide niflumique (dispersion solide). La taille des particules de la dispersion solide formulée est d'ordre 200nm.

4.1.3. Analyse par DRX

Les diffractogrammes des deux matières (acide niflumique commercial et sous forme de dispersion solide) sont représentés sur les figures ci-dessous :

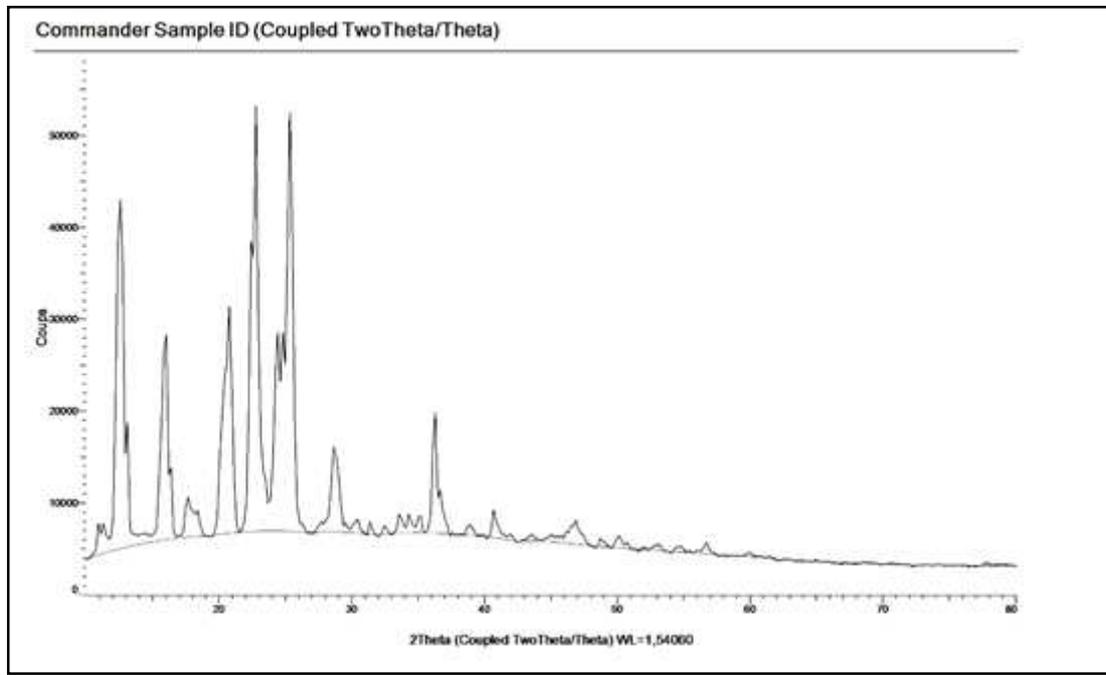


Figure 4.6 : Diffractogramme de la matière Acide niflumique

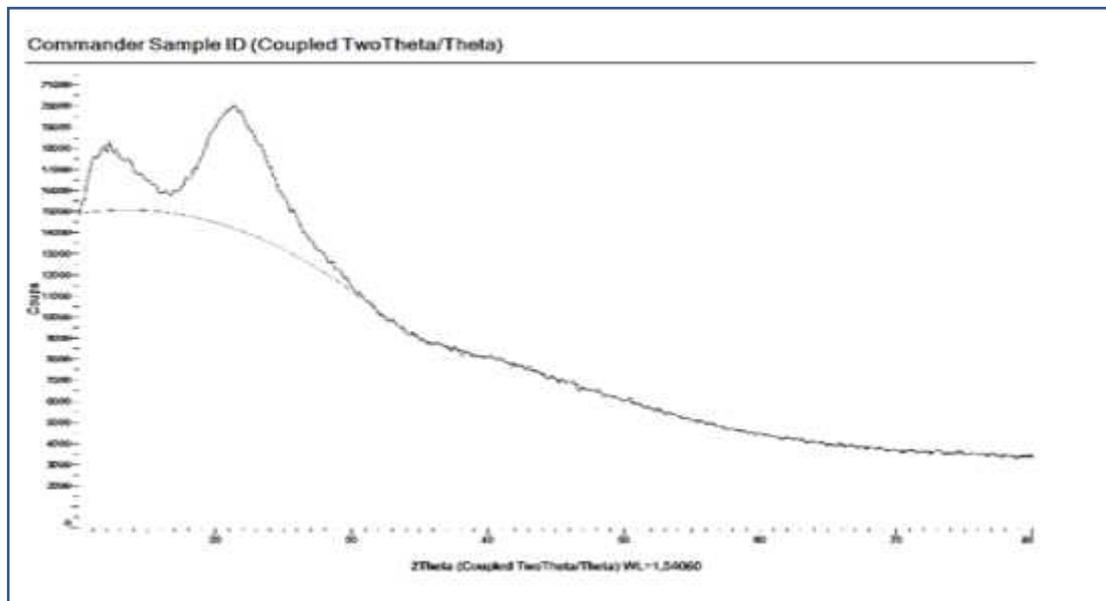


Figure 4.7 : Diffractogramme de la dispersion solide de l'acide niflumique

Discussion

Le diffractogramme ci-dessous correspondant à la matière première « Acide niflumique », confirme que cette dernière est présente sous forme cristalline, ce qui correspond à ce qui est mentionné dans la pharmacopée Européenne.

En exploitant la figure 4.7 correspondant à la formulation d'une dispersion solide à base de l'acide niflumique cristalline, on remarque l'absence des pics caractéristiques de l'acide niflumique, ce qui implique que l'acide niflumique a changé de forme vers l'état amorphe.

Ce résultat confirme que la solubilité de l'acide niflumique sous forme de dispersion solide sera nettement améliorée et que la taille des particules de l'acide niflumique a été diminuée en formulant une dispersion solide, ce qui confirme aussi le résultat obtenu par DLS.

Notre formulation de la dispersion solide par évaporation de solvant dans des conditions bien définies et bien maîtrisées nous a permis de changer la forme de l'acide niflumique d'une forme cristalline à une forme amorphe, que selon la littérature sa solubilité est meilleure [83]

4.1.4. Analyse par MEB-EDX

La figure ci-dessous illustre les images prises par microscopie électronique à balayage des échantillons de l'acide niflumique avant et après dispersion

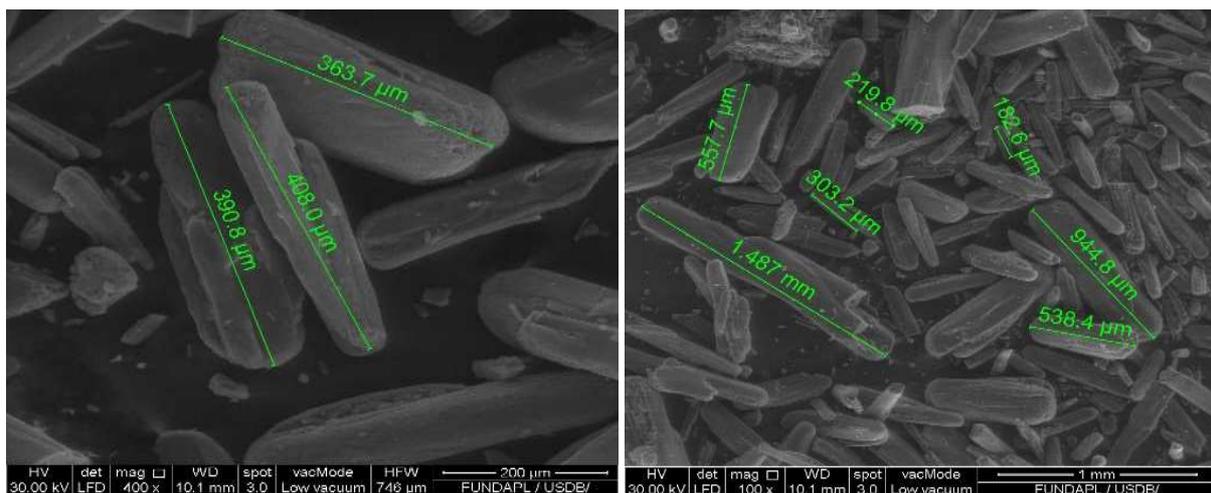


Figure 4.8 : images de l'acide niflumique prises par MEB

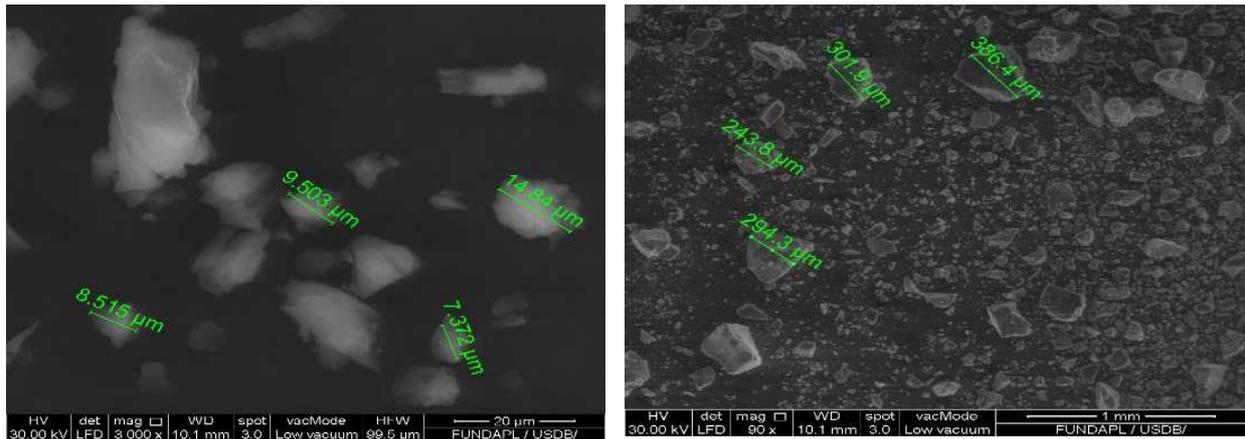


Figure 4.9 : Dispersion solide de l'acide niflumique par MEB

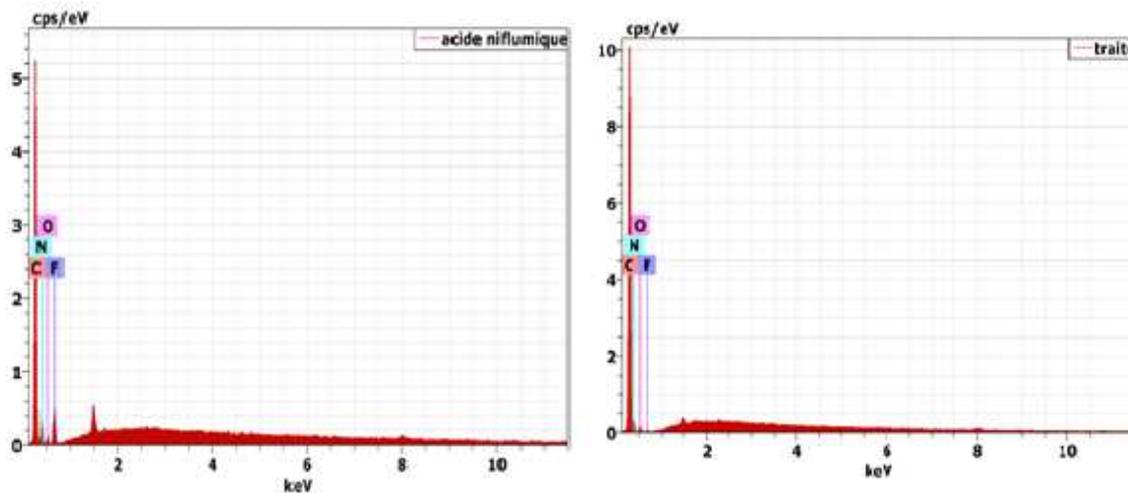


Figure 4.10 : Acide niflumique et la dispersion solide par MEB-EDX

Discussion

Les images des figures 4.7 et 4.8 ont montré une morphologie de particules sous forme bâtonnets pour l'acide niflumique matière première, présentant une taille de l'ordre micrométrique ce qui confirme les résultats obtenus par DLS et par DRX.

Cependant la figure 4.9 présente la dispersion de l'acide niflumique dans le véhicule PVP K30, qui est traduite par la diminution de la taille des particules de ces derniers et confirme le résultat obtenu par DLS.

La figure 4.10 obtenue à l'aide du MEB-EDX présente des pics dû au Carbone, Azote, Oxygène et Fluorure, éléments présent dans la formule chimique de l'acide niflumique et le PVP. Donc l'EDX est l'une des techniques d'identification et les résultats présentés confirment les résultats obtenus par IR.

4.2. Contrôle physico-chimique de l'acide niflumique et de la dispersion solide de l'acide niflumique

4.2.1. Aspect de l'acide niflumique et la dispersion solide :

La figure ci-dessous confirme que l'acide niflumique se présente sous forme de poudre cristalline jaune pâle, conformément aux spécifications de la Pharmacopée Européenne 10^{ème} édition 2020, et la dispersion solide apparut comme une poudre blanche non cristalline.



Figure 4.11 : Aspect de l'acide niflumique et la dispersion solide

4.2.2. Solubilité de l'acide niflumique et de la dispersion solide d'acide niflumique

La figure ci-dessous illustre l'aspect des solutions de l'acide niflumique dans l'eau avant et après dispersion.

Dans la photo a), on confirme que l'acide niflumique est pratiquement insoluble dans l'eau. Les grains adhèrent à la paroi du bécher même avec une longue période d'agitation. Par contre dans l'image b), l'acide niflumique forme avec l'eau une solution bien homogène qui met en évidence l'augmentation de la solubilité. Dans la photo c), l'acide niflumique forme une solution homogène bien transparente dans l'éthanol, ce qui prouve qu'il est soluble dans l'éthanol 96% et donc répond à la Pharmacopée Européenne.

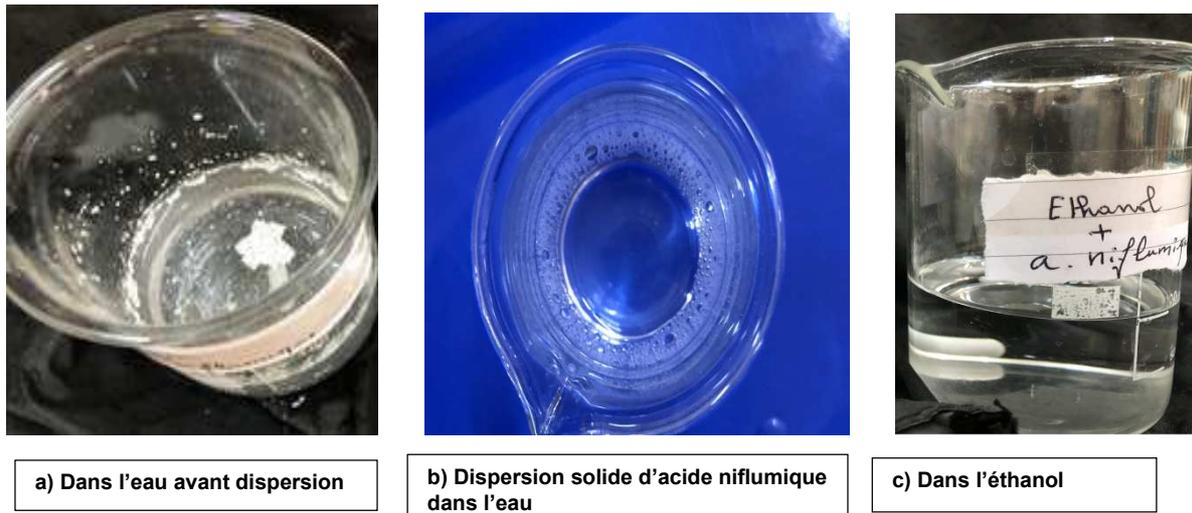


Figure 4.12 : Aspects des solutions d'acide niflumique

4.2.3. Dosage par potentiométrie de l'acide niflumique

En appliquant le protocole décrit dans la Pharmacopée Européenne 10^{ème} édition 2020, le titrage de l'acide niflumique a été effectué par potentiomètre en présence de l'Hydroxyde sodium 0,1M (Figure 4.13).

Formule de calcul :

$$T = \frac{V \times C \times F \times 100}{P_E \times (1 - LOD)}$$

Avec :

T : Titre de l'acide niflumique, exprimé en pourcentage.

V : Volume de l'hydroxyde de sodium à 0,1M.

C : Correspondance « 1ml d'hydroxyde de sodium 0,1 M correspond à 28,22mg de $C_{13}H_9F_3N_2O_2$ ».

F : Facteur de correction de la molarité de l'hydroxyde de sodium utilisé.

P_E : Prise d'essai de l'échantillon, exprimée en mg.

LOD : Perte à la dessiccation de l'acide niflumique

Résultat du calcul :

Moyennant la formule ci-dessous :

$$T = \frac{7 \times 28,22 \times 1,005 \times 100}{200 \times (1 - 0,013)}$$

On trouve un titre $T = 99,4\%$.

Le titre de l'acide niflumique est conforme aux spécifications de la pharmacopée Européenne, car le critère d'acceptation est de : 98,5 % à 101,5 % (calculé par rapport à la substance desséchée).

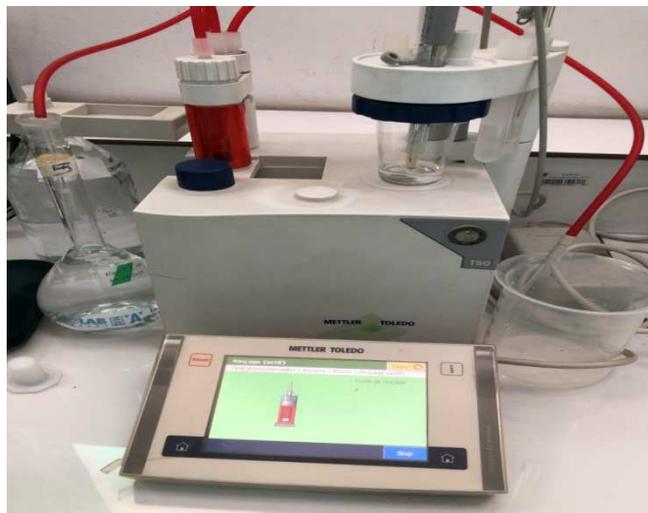


Figure 4.13 : Dosage de l'acide niflumique par potentiométrie

4.2.4. Dosage de l'acide niflumique dans la dispersion solide

Discussion

L'identification et le dosage de l'acide niflumique dans la dispersion solide ont été réalisés par HPLC. Le temps de rétention de l'acide niflumique est d'environ 5,3 min.

Le chromatogramme de la solution témoin correspond au chromatogramme de la solution à examiner (Dispersion solide).

Le chromatogramme correspondant à la solution placebo ne présente aucun pic au temps de rétention de l'acide niflumique. La méthode d'analyse est dite sélective (Absence d'interférences)

La teneur en acide niflumique obtenue est de 96,1%. Conforme, car le critère d'acceptation est de 90,0 à 110,0 %.

Les chromatogrammes de la solution placebo, la solution standard et la solution à examiner (Dispersion solide) sont joints en Annexe.

4.3. Mise en évidence de l'amélioration de la dissolution de la dispersion solide

Le contrôle de la dissolution de notre produit « dispersion solide à base de l'acide niflumique » et un produit commercialisé a été réalisé par un dissolutest, équipement conforme aux exigences des pharmacopées internationales. L'analyse a été réalisée sur 6 gélules par produits, dans les mêmes conditions.

L'expression du taux de dissolution de l'acide niflumique à chaque temps de prélèvement a été faite par HPLC. Les chromatogrammes HPLC sont joints en Annexe.

Les résultats sont présentés dans le tableau et la figure ci-dessous

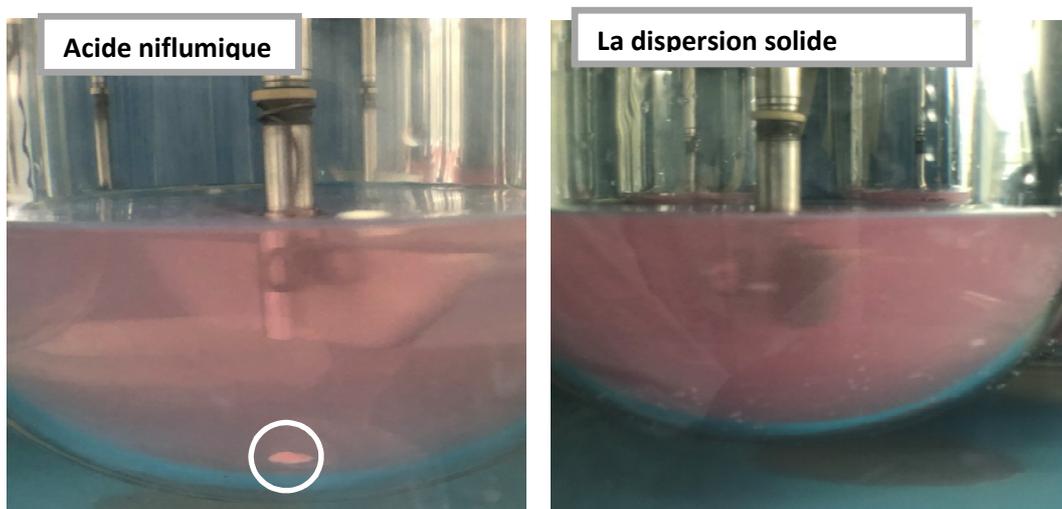


Figure 4.14 : Représentation schématique du test de dissolution

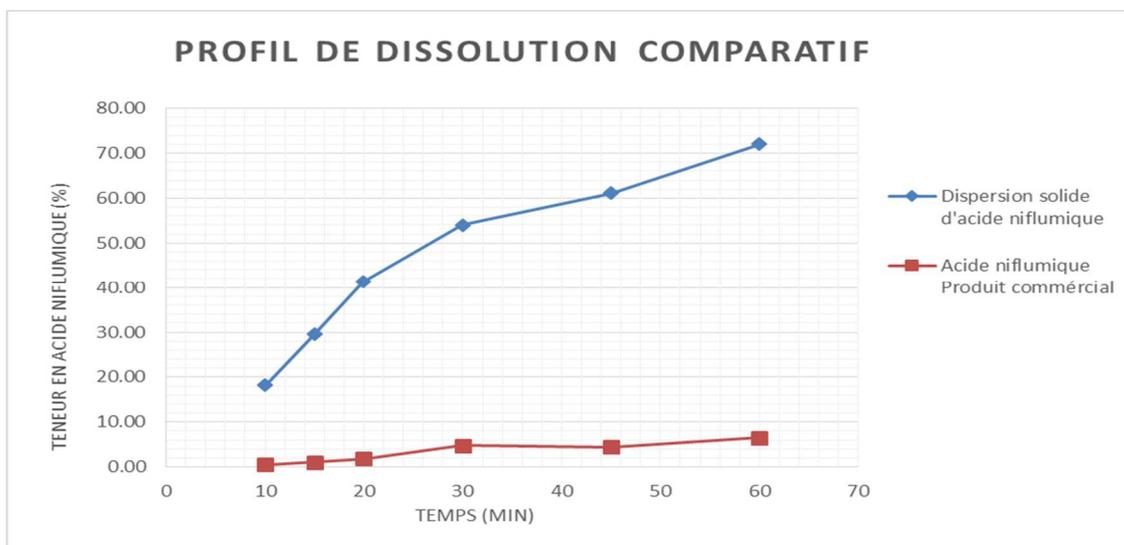


Figure 4.14 : Profil de dissolution comparatif entre la dispersion solide et un produit commercial

Discussion

A partir des résultats obtenus, on observe une nette amélioration de la solubilité et de la dissolution de l'acide niflumique « Dispersion solide » par rapport à l'acide niflumique « produit commercialisé » et ce en utilisant comme milieu de dissolution « Eau distillée ».

La matière « Acide niflumique » appartenant à la classe II du SCB, elle est pratiquement insoluble dans l'eau, c'est pourquoi le taux de dissolution de l'acide niflumique dans le produit commercialisé est très faible (ne dépassant pas 5,0 % et 7,0 % à 45min et 60 min respectivement), tandis que le taux de dissolution de l'acide niflumique dans notre produit « Dispersion solide » est supérieur à 60% et 70% à 45 min et 60 min.

On peut conclure que la solubilité de la forme amorphe de la dispersion solide de l'acide niflumique est améliorée 11 fois plus par rapport à la forme cristalline.

Conclusion générale

La biodisponibilité limitée d'un nombre croissant de principes actifs ayant prouvé leurs efficacités thérapeutiques a incité les chercheurs à mettre au point de nouvelles techniques pour améliorer la solubilité de ces molécules.

L'objectif principal de ce présent travail est d'augmenter la solubilité de l'acide niflumique par le procédé de dispersion solide moyennant la méthode d'évaporation par solvant en associant le PA à un vecteur tel que le polyvinylpyrrolidone, dans le but de réduire les tailles des particules.

Au terme de cette étude, il ressort que :

- ✓ La caractérisation des dispersions solides par diffusion dynamique de la lumière et microscopie électronique à balayage a confirmé la micronisation des particules de l'acide niflumique de la taille micrométrique (environ 4.5 μm) jusqu'à des diamètres ne dépassant pas les 0.2 μm soit 200 nm.

- ✓ La technique de dispersion solide s'est avérée efficace pour améliorer la solubilité et la vitesse de dissolution de l'acide niflumique. L'augmentation du taux de dissolution permettrait l'action rapide après la prise du médicament par voie orale, ceci a été confirmé par la cinétique de dissolution.

- ✓ La technique de caractérisation par DRX a mis en évidence la structure cristalline du PA conformément à la pharmacopée Européenne, ceci fait apparaître clairement que la méthode de préparation de cette dispersion joue un rôle prépondérant puisque le meilleur taux de dissolution a été obtenu pour la dispersion solide préparée par le procédé d'évaporation par solvant. En effet, le taux de dissolution de l'acide niflumique a atteint des valeurs allant jusqu'à 70% pour la dispersion solide préparée en comparaison à un taux ne dépassant pas 10% pour la matière première commerciale.

Enfin, il ressort de cette étude l'intérêt de l'utilisation de la dispersion solide par évaporation par solvant dans le processus de formulation des médicaments peu solubles 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 la dissolution du principe actif, garantissant ainsi une meilleure biodisponibilité et une efficacité thérapeutique certaine.

Ce travail est loin d'être achevé mais il semble constituer une contribution fructueuse dans la mise au point de procédés innovants améliorant ainsi la biodisponibilité des principes actifs peu solubles dans l'eau. On recommande ainsi :

- ✓ L'optimisation des conditions opératoires du procédé de dispersion solide pour avoir le meilleur rapport qualité/prix.
- ✓ Tester ce procédé sur d'autres molécules à fortes utilisations et dont la faible solubilité constitue un obstacle
- ✓ Réaliser la caractérisation par des moyens plus poussés afin de confirmer le polymorphisme de la molécule tels que DSC, ATG, ATD

Cette contribution qui est au cœur de notre formation en pharmacie industrielle, pourrait être un support supplémentaire pour l'entreprise Sidal.

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 selfemulsifying 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]: National Center for Biotechnology Information, PubChem Database, Niflumicacid, CID=4488, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Niflumic-acid>, accessed on June 10, 2020.
- [10] : B.R. Constantinet, I. Rău, Z.R. Gabriela, *C. R. Chim.*, 2014, 17(1), 12-17.
- [11]: Tanaka N, Imai K, Okimoto K, Ueda S, RintaIbukiY T, Higaki K and Kimura T. Development of novelsustained-release system, disinmtegration-controlledmatrix tablet (DCMT) withsolid dispersiongranules of nilcadipine (II): In vivo evaluation.*Journal of controlled release* 122, 2006, 51-56.
- [12]: Duncan Q M C. The mechanism of drug release from solid dispersions in water-soluble polymers.*Int. J. Pharm.* 231, 2002, 131-144.

- [13] : Moussaoui A, Dahman M. Contrôle physico-chimique, microbiologique et pharmacotoxicologique d'un anti-inflammatoire Kétoprofène [Mémoire]. Blida : Université Saad Dahlab ; 2012.
- [14] : Muster D. Médicaments de l'inflammation. *Encycl Med Chir* (Elsevier SAS, Paris), stomatologie, 22-012-C-10, 2005.
- [15] : Dangoumau J, Moore N, Molimard M, Latry K, Haramburu F, TitierK, et al. *Pharmacologie générale*. Bordeaux: Université Victor Segalen ; 2006.
- [16] : Souaga K, Adou A, Amantchi D, Angoh Y. Plaidoyer pour une utilisation raisonnée des anti-inflammatoires en odontostomatologie. *Service de Pathologie et Chirurgie odontostomatologique et Maxillo-faciales*. C.H.U Cocody – Abidjan.
- [17] : TALBERT M.(1998). *Guide pharmacologique*, LAMMARIE ,3éd, Paris, 49-61
- [18] : MOULIN M, QOQUELT A. (2002).*Pharmacologie : connaissances et pratiques*, 2éd, Masson, Paris, 393-406.
- [19] : SCHMI H. (1987).*Eléments de pharmacologie*, Flammarion, Paris, 196-201.
- [20] : COHEN Y. (1981).*Abrégé de pharmacologie*, Masson, Paris, 245-251.
- [23]: National Center for Biotechnology Information, PubChem Database, Niflumicacid,CID=4488,<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Niflumic-acid>, accessed on June 10, 2020.
- [24] : B.R. Constantinet, I. Rău, Z.R. Gabriela, *C. R. Chim.*, 2014, *17(1)*, 12-17.
- [25] : K. Takács-Novák, A. Avdeef, K.J. Box, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 1994, *12*, 1369-1377.
- [26]: M. Iervolino, F. Quaglia, A. Miro, A. Calignano, B. Cappello, *J. Drug Del. Sci. Tech.*, 2004, *14 (1)*, 93-96.
- [30] M. Iervolino, F. Quaglia, A. Miro, A. Calignano, B. Cappello, *J. Drug Del. Sci. Tech.*, 2004, *14 (1)*, 93-96.
- [31] O.E. Khoukhi, Z.ElBahri, K. Diaf, M. Baitiche, *Chem. Pap.*, 2016, *70(6)*, 828-839.
- [32] A.M. Calafiore, A. Totaro, N. Testa, C. Sacra, E. Calvo, M. Di Mauro, *J. Card. Surg.*, 2020, *35*, 916-919.
- [33] T. Szunyogh, R. Ambrus, P. Szabó-Révész, *J. Drug Del. Sci. Tech.*, 2012, *22 (4)*, 307-312.
- [34] C.N. Banti, S.K. Hadjidakou, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 2016, *2016(19)*, 3048-3071.
- [35] J. Cuzick, F. Otto, J. A. Baron, P.H. Brown, J. Burn, P. Greenwald, J. Jankowski, C. La Vecchia, F. Meyskens, H.J. Senn, M. Thun, *Lancet Oncol.*, 2009, *10*, 501-507.
- [36] N.S. Krstić, R.S. Nikolić, M.N. Stanković, N.G. Nikolić, D.M. Đorđević, *Trop. J. Pharm. Res.*, 2015, *14*, 337-349.
- [37] F.T. Greenaway, E. Riviere, J.J. Girerd, X. Labouze, G. Morgant, B. Viossat, J.C. Daran,

- M. Roch Arveiller, N.H. Dung, *J. Inorg. Biochem.*, 1999, 76, 19-27.
- [38] R. Smolkova, V. Zelenak, L. Smolko, J. Kuchar, M. Rabajdova, M. Ferencakova, M. Marekova, *Eur. J. Med. Chem.*, 2018, 153, 131-139.
- [39] N. Assas, Z. Elbahri, M. Baitiche, F. Djerboua, *Asia-Pac J. Chem Eng.*, 2019, 14(2), 2283.
- [40] W. Badri, K. Miladi, Q.A. Nazari, H.G. Gerges, H. Fessi, A. Elaissari, *Int. J. Pharm.*, 2016, 515, 757-773.
- [41] R. Langer, *Sciences*, 1990, 249(4976), 1527-1533.
- [42] G. Murtaza, *Acta Pol. Pharm. Drug. Res.*, 2012, 69(1), 11-22.
- [43] K. Ghosal, S. Chakrabarty, A. Nanda, *Der Pharmacia Sinica.*, 2011, 2(2), 152-168
- [44].<https://dl.ummt0.dz/bitstream/handle/ummt0/2040/Reghal%2C%20Lydia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- [45] :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
- [46] : Yvonne Perrie, Thomas Rades, « *Pharmaceutics: Drug Delivery and Targeting* », 2ème édition Pharmaceutical Press, p. 6 – 7 et p. 25 -52 (2012).
- [47] : A. Lehir, J.P. Chaumeil, « *Abrégé de pharmacie galénique* », 9ème Edition Masson p. 127 – 128 (2008).
- [48] : Anil J Shinde, « *Solubilization of Poorly Soluble Drugs: A Review* », *Latest Reviews*, Vol. 5, issue 6 (2007).
- [49] : 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.
- [50] : 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).
- [51] : 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).
- [52] : World Health Organization, the 12th Model List of Essential Medicines, [www.who.int/medicines/] (2002).
- [53].:<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01748564/document>

- [54] : W.L. Chiou, S. Riegelman, « Pharmaceutical applications of solid dispersion systems », *J.Pharm. Sci.*, 60 : 1281-1302 (1971).
- [55] : 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).
- [56] : 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).
- [57] : 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).
- [58] : 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).
- [59] : 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).
- [60] : Samer Al-Dhalli, , thèse de doctorat intitulée « Preparation and evaluation of fenofibrate – gelucire 44/14 solid dispersions » , p. 3 – 10, Mars (2007).
- [61] T. Vasconcelos, B. Sarmiento, P. Costa, Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs, *Drug Discov. Today* 12 (2007) 1068–1075
- [62] C. L.-N. Vo, C. Park, et B.-J. Lee, « Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs », *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 85, no 3, Part B, p. 799-813, nov. 2013
- [63] T. Vasconcelos, B. Sarmiento, et P. Costa, « Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs », *Drug Discovery Today*, vol. 12, no 23, p. 1068-1075, déc. 2007
- [64] AKBARPOUR, N. L., SINGH.G and FAZAELI KAHKESHAN, K. 2012. Solid Dispersion: Methods and Polymers to increase the solubility of poorly soluble drugs. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 2, 10,170-175.
- [65] CHOWDARY, K.P.R., PAVAN KUMAR, A.2013. Recent Research on Formulation Development Of Class II Drugs: A Review. *International Reserch Journal of Pharmaceutical*

and Applied Sciences.3, 1,173-181.

[66] ZAPATA-MASSOT, C., LE BOLAY, N. Le Co-Broyage En Voie Sèche : une alternative pour la formulation de mélanges de poudres et la production de matériaux composites. Laboratoire de Génie Chimique, Toulouse 1.

[67] C. L.-N. Vo, C. Park, et B.-J. Lee, « Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs », *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 85, no 3, Part B, p. 799-813, nov. 2013

[68] N. Genina, B. Hadi, et K. Löbmann, « Hot Melt Extrusion as Solvent-Free Technique for a Continuous Manufacturing of Drug-Loaded Mesoporous Silica », *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 107, no 1, p. 149-155, janv. 2018

[69] TAGALPALLEWAR, V.R., UGHADE, M.A., INDURWADE, N.H., KUBARE, P.G., C HINTAWAR, A.A. 2015. Enhancement of Solubility of poorly water soluble drug by solid dispersion technique. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 6, 677-9492.

[70] Verma S, Rawat A, Kaul M and Saini S. Solid dispersion: A strategy for solubility enhancement. *IJPT* 2011 ; 3 (2): 1062-1099.

[71] Kalia A, Poddar M. Solid dispersions: an approach towards enhancing dissolution rate. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2011;3 (4): 9-19.

[72] Kumar D S, Roy S, Kalimuthu Y, Khanam J, Nanda A. Solid Dispersions : An Approach to Enhance the Bioavailability of Poorly Water-Soluble Drugs. *International Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Technology (IJPPT)*, ISSN: 2277 – 3436, Volume-I, Issue-1

[83]. Shrawan Baghel et al., Polymeric Amorphous Solid Dispersions: A Review of Amorphization, Crystallization, Stabilization, Solid-State Characterization, and Aqueous Solubilization of Biopharmaceutical Classification System Class II Drugs », *Journal of Pharmaceutical Sciences* xxx (2016) 1-18.

Sites bibliographies:

[21]:http://untori2.crihan.fr/unspf/2015_Bordeaux_Nuhrich_AINS/co/oxicams_structure.html

[22] :<http://www.doctissimo.fr/html/médicament/articles/sa.4093.ains.htm>. Consulté le 02-03-2009

[27]:<https://www.vidal.fr/medicaments/substances/acide-niflumique->

